

## مقایسه روش‌های سرولوژیک آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) و ایمونوفلئورسانس غیرمستقیم (IFAT) در تشخیص لیشمانیوز احشایی

محمود محامی<sup>۱</sup>، دکتر مهدی محبعلی<sup>۲</sup>، دکتر حسین کشاورز<sup>۳</sup>، ذبیح‌الله زارعی<sup>۳</sup>

E-mail: mahmood\_mahamiy@yahoo.com

<sup>۱</sup> استاد انگل شناسی دانشکده بهداشت و انسیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی مشکین شهر

نویسنده مسئول: کارشناس ارشد انگل شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

<sup>۲</sup> استاد انگل شناسی دانشکده بهداشت و انسیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران

### چکیده

**زمینه و هدف:** لیشمانیوز احشایی (کالا آزار) بیماری عفونی خطرناکی است که در بیشتر مناطق ایران به صورت اسپورادیک و در بعضی از مناطق استان‌های اردبیل، آذربایجان شرقی، بوشهر و فارس به صورت آندمیک دیده می‌شود. این مطالعه با هدف ارزیابی و مقایسه روش‌های سرولوژیک DAT، IFAT و ELISA در تشخیص لیشمانیوز احشایی به دنبال یک بررسی سروابیدمیولوژیک در شهرستان گرمی از استان اردبیل انجام گرفته است.

**روش کار:** روش نمونه‌برداری به شکل خوش‌ای و گروههای تحت مطالعه شامل بچه‌های زیر ۱۲ سال و ۱۰٪ بزرگسالان بوده است. در مجموع ۱۱۵۵ نمونه خون از افراد مذکور تهیه شد که با روش‌های سرولوژیک آگلوتیناسیون مستقیم (DAT)، IFAT و ELISA به منظور اندازه گیری آنتی‌بادی ضد لیشمانیائی مورد آزمایش قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** با استفاده از روش DAT ۳۲ نفر (۲/۸٪) دارای آنتی‌بادی اختصاصی ضد لیشمانیا با عیار ۱:۸۰۰ بوده و در کل نمونه‌ها ۷ نفر (۰/۰۶٪) با عیار ۱:۳۲۰۰ ≥ از نظر سرولوژی مثبت بودند. در تست IFA نیز ۳۲ نفر (۲/۸٪) دارای عیار ۱:۴۰ بوده و در کل نمونه‌ها ۶ نفر (۰/۰۵٪) با عیار ۱:۳۲۰ ≥ از نظر سرولوژی مثبت بودند. در تست ELISA ۸ نمونه مثبت و بقیه منفی شدند.

**نتیجه گیری:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که هر چند آزمونهای IFAT و ELISA جهت تشخیص بیماران مبتلا به کالا آزار از کارایی خوبی برخوردارند ولی نیازمند آزمایشگاه مجهز و پرسنل ورزیده می‌باشد در صورتی که DAT یک روش ساده، ارزان، بدون نیاز به تجهیزات پیچیده و قابل اجرا در مناطق آندمیک برای تشخیص لیشمانیوز احشایی و مطالعات سروابیدمیولوژی بوده و می‌تواند جایگزین مطمئن برای روش‌های پرهزینه IFAT و ELISA باشد.

**واژه‌های کلیدی:** لیشمانیوز احشایی، کالا آزار، DAT، IFAT، ELISA

دریافت: ۸۵/۱۰/۲۵ پذیرش: ۸۷/۲/۲۰

سگ‌سانان می‌باشد [۲]. در حال حاضر کالا آزار در بعضی از مناطق استانهای اردبیل، آذربایجان شرقی، فارس و بوشهر به شکل آندمیک و در سایر مناطق به صورت اسپورادیک دیده می‌شود [۳]. روش‌های سرولوژیک مختلفی از جمله DAT، IFAT، CIEP، CF، ELISA و Dipstick rk39 و لاتکس آگلوتیناسیون در تشخیص بیماری کالا آزار به کار می‌روند که هر کدام دارای مزایا

### مقدمه

لیشمانیوز احشایی (کالا آزار) بیماری عفونی خطرناکی است که اگر به موقع تشخیص و درمان نشود میزان مرگ و میر بالای خواهد داشت [۱]. کالا آزار در ایران از نوع مدیترانه‌ای بوده و عامل آن لیشمانیا اینفاتوم، ناقل آن گونه‌های به خصوصی از پشه خاکی‌های جنس فلبوتوموس و مخزن انگل سگ و

دست نمونه‌گیری می‌شد. نمونه‌ها همراه با پرسشنامه‌هایی که برای هر یک از افراد جداگانه تهیه می‌گردید در شرایط مطلوب به آزمایشگاه بیمارستان گرمی منتقل و توسط سانتریفوژ میکروهماتوکریت به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ می‌شد و پس از فرائت میزان هماتوکریت، پلاسمای آنها جداگردیده و فریز می‌شدند. سپس تمام نمونه‌های پلاسما در شرایط فریز به آزمایشگاه لیشمایوز دانشکده بهداشت و انتیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران جهت انجام آزمایشات لازم حمل گردیده و به روشهای سروولوژی IFAT و ELISA مورد آزمایش قرار می‌گرفتند. داده‌ها پس از جمع آوری، توسط آزمون آماری کای دو (Chi-square) و با استفاده از نرم افزار 9 SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

#### تست آگلوتیناسیون مستقیم (DAT)

آنتی‌زن تست DA در آزمایشگاه لیشمایوز واحد تکیاخته شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران بر اساس روش دکتر هربیت تهیه گردید [۷]. در این روش آنتی‌زن در مجاورت رقت‌های مختلف سرم یا پلاسمای فرد مشکوک قرار داده می‌شد که در صورت حضور آنتی‌بادی اختصاصی در سرم بیمار پس از گذشت ۱۸ ساعت آگلوتیناسیون صورت می‌گرفت. ابتدا به کمک محلول رقيق‌کننده و میکروپلیت‌های ۷ شکل (ساخت شرکت DYNATECH) رقت‌های مورد نیاز از پلاسمای بیمار تهیه شد و پس از افزودن آنتی‌زن در رقت‌های ۳۲۰۰: ۱ و ۸۰۰: ۱ میکروپلیت‌ها در داخل اطاک مرطوب قرار داده شدند و در یک سطح افقی در حرارت آزمایشگاه تا روز بعد (حداقل ۱۸ ساعت) باقی ماندند. در تفسیر آزمایش چنانچه حفره‌ای که آنتی‌زن ریخته شده بود انگلها بصورت یک دگمه کوچک آبی رنگ با حاشیه کاملاً مشخص جمع شده و در وسط حفره میکروپلیت تهیین شده بودند دال بر عدم وجود آگلوتیناسیون و نتیجه آزمایش از نظر تشخیص آنتی‌بادی لیشماییا منفی بحساب می‌آمد. اگر انگلها بحالت کلوئیدی ابری شکل آبی رنگ یکنواخت در تمام

و معایی هستند [۴]. هدف از این مطالعه مقایسه روش‌های سروولوژیک DAT، IFAT و ELISA به منظور دستیابی به یک آزمون ویژه، آسان، ارزان و قابل اجرا در مناطق آندمیک می‌باشد تا موارد مثبت کاذب و واکنش متقاطع را کم و یا حذف نموده و به تشخیص زودرس کالا آزار کمک نماید.

#### روش کار

این مطالعه به صورت مقطعی و به دنبال یک بررسی سروپیدمیولوژی در شهرستان گرمی از استان اردبیل برای تعیین ارزش تشخیصی و مقایسه روش‌های سروولوژیک [۶] DAT، IFAT و ELISA در تشخیص لیشمایوز احتشایی انجام گرفته است. روش نمونه‌برداری به شکل خوش‌ای، حجم نمونه محاسبه شده ۱۱۵۵ نفر و به این صورت بوده که پس از دریافت اطلاعات مربوط به تعداد موارد بیماری کالا آزار در روستاهای شهرستان گرمی طی سال‌های اخیر، با توجه به نقشه شهرستان تعداد ۸ روستا از روستاهای دارای موارد و ۴ روستا از روستاهای فاقد گزارش مربوط به کالا آزار طوری انتخاب گردیدند که کل شهرستان را از شمال، جنوب، شرق و غرب تحت پوشش قرار دهد. همچنین حدود ۱۵ درصد کل حجم نمونه به خود شهرستان گرمی اختصاص داده شد که این تعداد نمونه از مناطق سه گانه بهداشتی این شهرستان اخذ گردیدند. در تمام روستاهای انتخاب شده از افراد زیر ۱۲ سال به صورت توتال نمونه‌گیری به عمل آمد و در هر روستا ۱۰٪ حجم نمونه به افراد بالای ۱۲ سال اختصاص داده شد. در خود شهرستان گرمی نیز افراد زیر ۱۲ سال به اضافه ۱۰٪ افراد بزرگسال به میزان ۱۵٪ کل حجم نمونه انتخاب و نمونه‌گیری شد.

در این بررسی تمامی نمونه‌ها در داخل لوله‌های میکروهماتوکریت هپارینه از نوک انگشت وسطی دست چپ افراد مورد مطالعه به میزان ۳ لوله میکروهماتوکریت برای هر نفر تهیه گردید. در نوزادان و بچه‌های زیر یکسال از پاشنه پا و یا انگشت شست پا یا

### تست الایزا (ELISA)

در این بررسی، آنتی‌ژن مصرفی پلیت‌های پوشانده شده با آنتی‌ژن فیگوره فرم پروماستیگوت لیشمانیا اینفاغاتوم بود [۱۱]. ابتدا رقت مورد نیاز از نمونه، کنترل PBS (Phosphate) و کنترل منفی به کمک Tween 20 (Tween 20 Buffered Saline) حاوی میکروپلیت ته صاف ELISA (ساخت از حفره‌های میکروپلیت) به مقدار لازم اضافه می‌شد. در حفره PBS (Phosphate Buffered Saline) بلانک فقط Tween 20 ریخته می‌شد. پس از انکوباسیون ۵۵ دقیقه‌ای در دمای آزمایشگاه و اتفاق مرطوب مراحل شستشو انجام و سپس کونژوگه Alkaline phosphatase conjugate anti-human IgG (whole molecule) ساخت کارخانه سیگما، با رقت (۱:۱۰۰۰) برای هر حفره اضافه و دوباره مراحل انکوباسیون و شستشو انجام می‌شود. سپس سوبسترات PNP (P-Nitrophenyl Phosphate) رقیق شده با بافر دی‌اتانول آمین به هر حفره اضافه و پس از ۲۰ دقیقه انکوباسیون در محل تاریک و اتفاق مرطوب، جهت جلوگیری از ادامه واکنش سود ۳ نرمال به هر یک از حفرات اضافه شده و نتایج به کمک دستگاه ELISA-reader در طول موج ۴۰۵ نانومتر خوانده شدند [۱۲].

### یافته ها

در این مطالعه تعداد ۱۱۵۵ نمونه سرم از گروههای سنی مختلف تهیه شد که با روش های سرولوژی IFA و ELISA در آزمایشگاه لیشمانیوز واحد تک‌باخته‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران به همراه سرم کنترل‌های مثبت و منفی آن مرکز مورد آزمایش قرار گرفتند.

جهت ارزیابی نتایج سه روش DAT, IFAT و ELISA از جداول توافقی استفاده گردید (جداول یک، دو و سه).

در تست DA کلاً ۳۲ نفر (٪۲/۸) با تیتر ۸۰۰ ≥ ۱ بودند. از این تعداد یک نفر با تیتر ۱:۱۰۴۰۰، یک نفر با تیتر ۱:۶۴۰۰، ۵ نفر با تیتر ۱:۳۲۰۰ و ۲۵ نفر با

مایع موجود در حفره پراکنده شده یا به اصطلاح آگلوتینه شده بودند نتیجه آزمایش از نظر تشخیص آنتی‌بادی لیشمانیا مثبت محسوب می‌گردید. بالاترین رقت از نمونه سرمی که آگلوتیناسیون در آن ایجاد شده به عنوان حداقل عیار مثبت تست آگلوتیناسیون مستقیم در نظر گرفته شد. در این صورت برای تعیین عیار، نمونه‌ها مجدداً در رقت‌های بالاتری آزمایش شدند. با هر سری از نمونه‌های مورد آزمایش یک سرم یا پلاسمای مثبت به عنوان شاهد مثبت و یک سرم یا پلاسمای منفی به عنوان شاهد منفی به همان ترتیب آزمایش شدند. عیارهای  $1:3200 \geq 1:1600 \geq 1:800$  مشکوک و  $1:1 <$  منفی تلقی شدند [۸].

### تست ایمونوفلورسانس غیرمستقیم (IFAT)

آنتی‌ژن فیگوره این تست در آزمایشگاه لیشمانیوز واحد تک‌باخته‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران به روش دکتر ادریسیان و همکاران تهیه PNP (Phosphate Buffered Saline) با pH ۷/۲ رقت‌های لازم از نمونه‌های مورد آزمایش و کنترل مثبت و منفی تهیه شدند. لامبای حاوی آنتی‌ژن کت شده از فریزر  $70^{\circ}\text{C}$ - خارج و پس از اینکه به حرارت آزمایشگاه رسیدند در مجاورت رقت‌های مختلف سرم یا پلاسما قرار می‌گرفتند و پس از انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه در محفظه مرطوب و PBS (Phosphate Buffered Saline) شستشو با (fluorescent-whole IgG anti-human IgG, Saline) کونژوگه شرکت حاب تک، رقیق شده (۴۰:۱) ساخت شدند. این نتایج با نتایج سه روش DAT, IFAT و ELISA مقایسه شدند. نتایج این تست به طریق گفته شده انجام می‌شوند. سپس به کمک محلول گلیسیرین - تامپون مونته شده و در زیر میکروسکوپ فلورسانس بررسی شدند [۱۰]. عیارهای  $1:160 \geq 1:80$  از نظر تشخیص آنتی‌بادی لیشمانیا مثبت، عیارهای  $1:1 <$  مشکوک و عیارهای  $1:40 <$  منفی تلقی شدند.

در تست DA تیتر ۸۰۰: ۱ داشته و یک مورد که در تست الایزا منفی ولی در تست DA با تیتر ۳۲۰: ۱ بوده است، در بقیه موارد این دو تست کاملاً همخوانی داشته‌اند (جدول ۲). همچنین به غیر از یک مورد که در تست IFA تیتر ۳۲۰: ۱ ولی در تست ELISA منفی و سه مورد که در تست ELISA مثبت ولی در تست IFA تیتر ۴۰: ۱ را نشان داده است در بقیه موارد این دو تست نیز کاملاً همخوانی داشته‌اند (جدول ۳).

SPSS در این بررسی با استفاده از نرم افزار ۹ اختلاف معنی داری بین جنس مذکور (٪ ۲/۷) و مؤنث (٪ ۲/۸) در ابتلاء به لیشمانیوز احساسی مشاهده نشد ( $P = 0/8$ ) و موارد عفونت ناشی از فرم احساسی لیشمانیا در کودکان زیر ۴ سال بیشتر بود ( $P < 0/05$ ).

### بحث

در تشخیص بیماریهای انگلی قطعی‌ترین روش بر پایه مشاهده انگل استوار است. در بیماری لیشمانیوز احساسی نیز روش تشخیص قطعی مشاهده آماتستیگوتها در بیوپسی یا آسپیره تمیه شده از ارگانهای احساسی از

تیتر ۸۰۰: ۱ بوده‌اند. بنابراین در تست DA از مجموع ۱۱۵۵ نمونه اخذ شده ۷ مورد (٪ ۶/۰) با عیار ۳۲۰: ۱ و بالاتر بودند.

در تست IFA نیز ۳۲ نفر (٪ ۲/۸) با تیتر ۴۰: ۱ ≥ ۱ که از بین این افراد یک نفر با تیتر ۱۰۴۰: ۱، یک نفر با تیتر ۶۴۰: ۱، چهار نفر با تیتر ۳۲۰: ۱، و ۲۶ نفر با تیتر ۴: ۱ در تست IFA بودند. به غیر از یک مورد که در تست IFA تیتر ۳۲۰: ۱ ولی در تست DA تیتر ۸۰۰: ۱ و دو مورد که در تست DA تیتر ۳۲۰: ۱ ولی در تست IFA تیتر ۴۰: ۱ را نشان داده است در بقیه موارد این دو تست کاملاً همخوانی داشته‌اند (جدول ۱). لازم به ذکر است که بر اساس محاسبات انجام شده، Geometric Mean of Reciprocal Titers (GMRT) برای تست DA در این بررسی ۱۲۳۰ و برای تست IFA ۵۸ به دست آمد. بالاترین GMRT مربوط به گروه سنی زیر یکسال و کمترین آن مربوط به گروه سنی ۱۲ سال و بالاتر می‌باشد.

در تست ۸ ELISA نمونه مثبت و بقیه منفی شدند. به غیر از دو مورد که در تست الایزا مثبت ولی

جدول ۱. جدول دو بعدی (توافقی) از فراوانی آنتی بادی لیشمانیا در روش های DAT و IFAT

DAT IFAT	< ۱:۸۰۰	۱:۸۰۰	۱:۳۲۰	≥ ۱:۶۴۰	جمع
≤ ۱:۱۰	۱۱۲۳	۱	-	-	۱۱۲۴
۱:۲۰	-	۱۵	-	-	۵
۱:۴۰	-	۱۸	۲	-	۲۰
۱:۳۲۰	-	۱	۳	-	۴
≥ ۱:۶۴۰	-	-	-	۲	۲
جمع	۱۱۲۳	۲۵	۵	۲	۱۱۵۵

جدول ۲. جدول دو بعدی (توافقی) از فراوانی آنتی بادی لیشمانیا در روش های DAT و ELLSA

DAT ELLSA	< ۱:۸۰۰	۱:۸۰۰	۱:۳۲۰	≥ ۱:۶۴۰	جمع
-	۱۱۲۳	۲۳	۱	-	۱۱۴۷
+	-	۲	۴	۲	۸
جمع	۱۱۲۳	۲۵	۵	۲	۱۱۵۵

جدول ۳. جدول دو بعدی (توافقی) از فراوانی آنتی بادی لیشمانیا در روش های ELLSA و IFAT

IFAT ELLSA	≤ ۱:۱۰	۱:۲۰	۱:۴۰	۱:۳۲۰	≥ ۱:۶۴۰	جمع
-	۱۱۲۴	۵	۱۷	۱	-	۱۱۴۷
+	-	-	۳	۳	۲	۸
جمع	۱۱۲۴	۵	۲۰	۴	۲	۱۱۵۵

۹۲٪ و اعتبار این تست ۸۵/۴٪ می باشد. همچنین حساسیت تست IFA ۶۲/۵٪، ویژگی آن ۹۵/۶٪، قدرت پیشگویی مثبت ۸۳/۳٪، قدرت پیشگویی منفی ۸۸٪ و اعتبار تست IFA ۷۹٪ محاسبه گردید.

در مطالعه ای که توسط هریت و همکاران با روش DAT انجام شد، ویژگی و حساسیت به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۸/۹٪ گزارش گردید که حساسیت بالا شاید به خاطر انجام تغییراتی در روش DAT و خصوصاً رقت و یا غلظت آتنی ژن مورد نظر بوده است [۱۵]. همچنین مطالعات مختلف انجام شده در ایران ویژگی ۱۰۰٪ و ۷۲-۹۲٪ حساسیت را برای روش DAT نشان داده است [۱۶].

با در نظر گرفتن تست DA به عنوان تست مبنای حساسیت تست IFA برابر ۷۱/۴٪، ویژگی آن ۹۶٪، قدرت پیشگویی مثبت ۸۳/۴٪، قدرت پیشگویی منفی ۹۲/۳٪ و اعتبار این تست ۸۳/۷٪ می باشد. همچنین حساسیت تست ELISA برابر ۸۵/۷٪، ویژگی آن ۹۲٪، قدرت پیشگویی مثبت ۷۵٪، قدرت پیشگویی منفی ۹۵/۸٪ و اعتبار تست الایزا ۸۵/۸٪ محاسبه گردید.

بر اساس مطالعات مختلف انجام شده در ایران IFAT و ELISA ذکر گردیده است [۱۴، ۱۱]. طبق این مطالعات در مواردی واکنش متقطع آتنی ژن لیشمانیا در هر دو تست ELISA و IFAT با بعضی از بیماریهای عفونی دیگر مانند مalaria، تیفوئید و آبسه کبدی با عیارهای پائین وجود دارد ولی در لیشمانیوز احشایی معمولاً عیار پادتن لیشمانیا در اکثر موارد به اندازه کافی بالا است و در موارد نادری ممکن است واکنش متقطع در تشخیص سرولوژی کالا آزار با تست های فوق الذکر ایجاد اشکال نماید [۳]. از آنجا که کالا آزار در ایران معمولاً در مناطق روستایی و دور افتاده ای شیوع دارد که فاقد امکانات لازم برای تشخیص آزمایشگاهی به روش های انگل شناسی یا سرولوژی اختصاصی IFAT و ELISA هستند، لذا سعی شده است که از یک روش سرولوژی قابل اعتماد که انجام آن در چنین مناطقی عملی باشد مثل روش آگلوتیناسیون مستقیم

جمله طحال، کبد، غدد لنفاوی و مغز استخوان می باشد. اما تمام این روشها تهاجمی بوده و بنابراین از نظر عملی فقط در موارد خاص کلینیکی و در شرایطی که از تمام روشها دیگر نتیجه مطلوب به دست نیاید بهتر است از این روشها کمک گرفته شود. از طرف دیگر این روشها علاوه بر خطراتی که برای بیماران، به خصوص کودکان مبتلا در پی دارند از حساسیت و ویژگی بالاتری نسبت به روشها سرولوژیک نیز برخوردار نمی باشند در مقایسه با این روشها تهاجمی و خطرناک به نظر می رسد که روشها سرولوژیک می توانند جایگزین مناسبی باشند [۱۳، ۱۴].

در مطالعات مختلف از آزمون های سرولوژیک اختصاصی در تشخیص لیشمانیوز احشایی نظریر IFAT و ELISA با نتایج مطلوب استفاده شده است، اما روشها مذکور هر کدام به نحوی به دستگاهها و وسایل تخصصی و گرانقیمت نیاز دارند و کار با آنها باید توسط افراد با تجربه انجام شود که اصولاً در مناطق آندمیک کالا آزار عملی نمی باشد [۱۴، ۱۱]. بنابراین در این مطالعه سعی شد روش سرولوژی DAT که یک روش ساده و اقتصادی در تشخیص لیشمانیوز احشایی می باشد مورد ارزیابی و مقایسه با روش های IFAT و ELISA قرار گیرد. لازم به ذکر است که به دلیل محدودیت های پژوهشی موجود در این بررسی تست خاصی به عنوان روش استاندارد طلایی مورد استفاده قرار نگرفته و فقط نتایج حاصله از هر سه روش مذکور با هم دیگر مقایسه شدند.

با در نظر گرفتن تست DA به عنوان تست مبنای حساسیت تست IFA برابر ۸۳/۴٪، ویژگی آن ۹۲/۳٪، قدرت پیشگویی مثبت ۷۱/۴٪، قدرت پیشگویی منفی ۹۶٪ و اعتبار تست DAT ۸۷/۸٪ می باشد. همچنین حساسیت تست ELISA برابر ۸۳/۴٪، ویژگی آن ۹۲٪، قدرت پیشگویی مثبت ۶۲/۵٪، قدرت پیشگویی منفی ۹۲٪ و اعتبار آن ۸۷/۷٪ محاسبه شد.

با در نظر گرفتن تست ELISA به عنوان تست مبنای حساسیت تست DAT برابر ۷۵٪، ویژگی آن ۹۵/۸٪، قدرت پیشگویی مثبت ۷/۸٪، قدرت پیشگویی منفی

## تقدیر و تشکر

این مطالعه با همکاری مالی انسستیتو تحقیقات بهداشتی (طرح شماره ط - ۵۴/۶ / ۸۲ / ۲۴۱) در شهرستان گرمی و با پشتیبانی ایستگاه تحقیقات بهداشتی مشکین شهر انجام گرفته است. بر خود لازم می‌دانیم که از راهنمایی‌های ارزشمند استاد محترم جناب آقای دکتر ادریسیان تشرک و قدردانی نماییم. همچنین از زحمات آقایان دکتر حسینقلی زاده مدیریت محترم شبکه بهداشت و درمان شهرستان گرمی، دکتر پورزارع مسئول محترم مرکز مبارزه با بیماری‌های شهرستان گرمی، دکتر علوی ریاست محترم بیمارستان گرمی، خانمها دکتر حجاران، آخوندی، چاره دار، مهاجری و گروسوی در آزمایشگاه لیشمانيوز دانشکده بهداشت و انسستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران و سایر عزیزانی که ما را در اجرای این طرح یاری کردند تشکر و قدردانی می‌گردد.

(DAT) که به وسیله هریت (Harith) و همکارانش برای تشخیص و بررسی سروپیدمیولوژی لیشمانيوز احشایی پیشنهاد گردید استفاده شود [۳, ۱۵].

## نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که هر چند آزمون‌های IFA و ELISA چیزی تا حدودی بیماران مبتلا به کالآزار از کارائی خوبی برخوردارند ولی نیازمند آزمایشگاه مجهز و پرسنل ورزیده می‌باشد در صورتی که DAT یک روش ساده، ارزان، بدون نیاز به تجهیزات پیچیده و قابل اجرا در مناطق آندمیک برای تشخیص لیشمانيوز احشایی و مطالعات سروپیدمیولوژی بوده و می‌تواند جایگزین مطمئنی برای روش‌های پرهزینه IFAT و ELISA باشد.

## References

- Pearson RD. Leishmania Species, Visceral Kala-azar, In: Mandell GL, Doug Las RG, Bennet JE(Eds), Principles and practice of infectious diseases, 5<sup>th</sup> ed, New York, Churchill Livingstone, 2005: 2068-71.
- Nadim A, Navid-Hamidi A, Javadian E, Bidruni GT, Amini H. Present status of kala-azar in Iran. Am J Trop Med Hyg. 1978; 27: 25-8.
- ادریسیان غلامحسین. لیشمانيوز احشایی در ایران و نقش تست‌های سروپیدمیولوژی در تشخیص و بررسی اپیدمیولوژی آن. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دوره سوم، شماره ۲، ۱۳۷۵، صفحات ۹۷ تا ۱۰۸.
- Sinha R, Sehgal S. Comparative evaluation of serological tests in India . J Trop Med Hygine. 1994; 97: 333-40.
- Sendali G, Xiao-su H, Hoessli DC, Bordior C. Serological diagnosis of visceral leishmaniasis by a dot-enzyme immunoassay for the detection of a leishmania donovaani realated circulating antigen. J Immunol Methods. 2001; 193: 9-15.
- محامی محمود، محبعلی مهدی، کشاورز حسین، حجاران هما، آخوندی بیناز، زارعی ذبیح الله، چاره دار سرور. بررسی سروپیدمیولوژی لیشمانيوز احشایی (کالآزار) در شهرستان گرمی از استان اردبیل. مجلة دانشکده بهداشت و انسستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران، دوره چهارم، شماره ۱، بهار ۱۳۸۴، صفحات ۴۵ تا ۵۵.
- Harith A, Slappendel RJ, Reiter I, Van Knapen F, De Korte P, Huigen E, et al. Application of a direct-agglutination test for detection of specific anti - leishmania antibodies in the canine reservoir, J Clin Microbiol. 1989; 27: 2252-7.
- Edrissian GhH, Ahanchin AR, Gharachahi A, Ghorbani M, Nadim A, Ardehali S. Seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis and search for animal reservoirs in Fars province, southern Iran. Irn J Med Sci. 1993; 18: 99-105.
- Edrissian GhH, Akhavan E, Samar G. Immunofluorescence as a method of choice in diagnosis of visceral leishmaniasis. J Irn Med Council. 1977; 3: 185-90.

- 10- Voller A, O'Neill P. Immuno-fluorescence method suitable for larg-scale application to malaria. Bull World Health Org. 1971; 45(4): 524-9.
- 11- Khorshidian S, Hajjaran H, Sarkissian MT, Edrissian GhH. Evaluation of ELISA, using intact promastigotes as antigen, for the diagnosis of visceral Leishmaniasis. Iran J Med Sci. 1994; 19: 15-8.
- 12- Desjeux P. Manual on visceral leishmaniasis control. WHO. 1996 ; 40 : 1-79.
- 13- Zijlstra EE, Ali MS, El-hassan AM, el-Toum IA, Satti M, Ghalib HW, et al. Kala-azar a comparative study of parasitological methods and direct agglutination test in diagnosis. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1992; 86(5): 505-7.
- ۱۴- درستکار مقدم داود، حجازی سید حسین، قاسمی مهدی. ارزیابی و مقایسه روش های سروولوژیکی ایمونوفلئورسانس غیر مستقیم (IFAT) و آگلوتیناسیون مستقیم (DAT) با استفاده از آنتی ژن استاندارد شده در تشخیص لیشمانیوز احشایی. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دوره پانزدهم، شماره ۴۹، آذر و دی سال ۱۳۸۴، صفحات ۱ تا ۸.
- 15- Harith A, Kolk AH, Kager PA, Leeuwenburg J, Muigai R, Kiugu S, et al. A simple and economical direct agglutination test for serodiagnosis and seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1986; 80: 583-7.
- 16- Mohebali M, Edrissian GhH, Nadim A, Hajjaran H, Akhouni B, Hooshmand B, et al. Application of direct agglutination test (DAT) for the diagnosis and seroepidemiological studies of visceral leishmaniasis in Iran. Iranian J Parasitol. 2006; 1(1): 15-25