پژوهش در پزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی
سال ۲۳ ، شماره ۴ ، صفحات ۲۳۸ - ۲۳۳ (زمستان ۱۳۷۸)

Original Article

تعیین مشخصات انگل لیشمانیا جدا شده در ایران با استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال

دکتر صدرالدین اردهالی *، آفاق معطری *، دکتر غلامرضا حاتم **، دکتر سید محمد حسین حسینی ***، دکتر ایرج شریفی ****

* دانشگاه علوم پزشکی شیراز

** دانشگاه علوم پزشکی فسا

*** انستیتو پاستور ایران

**** دانشگاه علوم پزشکی کرمان

خلاصه

از آنجا که لیشمانیوز با علایم بالینی متفاوت در ایران شایع است و انواع انگل‌های لیشمانیا که عامل چنین گستره وسیعی از بیماری می‌باشند، به خوبی شناسایی نگردیده‌اند، این تحقیق به منظور مشخصات انگل لیشمانیا جدا شده در ایران با استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال انجام گرفت.

پژوهش حاضر بر روی ۱۵۶ سوش لیشمانیای جدا گردیده از بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی و یک نمونه جدا شده از موش صحرایی با استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال و روش‌های Elisa و IFA صورت پذیرفت و این انگل با روش‌های مذکور بررسی و تعیین هویت گردیدند.

۱۵۶ سوش جدا شده مورد بررسی از نظر پراکندگی و محل جداسازی به ترتیب متعلق به شیراز (۳۰ نمونه)، کرمان (۲۸ نمونه) و تهران (۹۸ نمونه) بودند. در این بررسی، ۶۳، ۷۲ و ۳ نمونه جدا گردیده به ترتیب با آنتی بادی منوکلونال علیه لیشمانیا تروپیکا، لیشمانیا ماژور و لیشمانیا اینفانتوم واکنش نشان دادند. از سه نمونه‌ای که لیشمانیا اینفانتوم بودند، دو نمونه از بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی بدون علایم احشایی جدا گردیده که از اهمیت خاصی برخوردار است و نمونه دیگر از موش صحرایی از شمال غرب ایران (منطقه‌ای که بیماری لیشمانیوز احشایی در آن شایع می‌باشد) جدا شده بود. در بین تعدادی از سوش‌ها، واکنش مشترک با دو آنتی بادی مشاهده گردید. پنج نمونه با آنتی لیشمانیا تروپیکا و آنتی‌لیشمانیا اینفانتوم، یک نمونه با آنتی‌لیشمانیاماژور و آنتی‌لیشمانیا اینفانتوم و ۶ نمونه با آنتی لیشمانیا تروپیکا و آنتی لیشمانیا ماژور واکنش نشان دادند. آنتی‌بادی‌های منوکلونال مورد استفاده با ۶ نمونه جدا گردیده هیچ گونه واکنشی ندادند.

واژگان کلیدی: لیشمانیا، آنتی‌بادی منوکلونال، شکل‌های لوپوییدی، الیزا، IFA

مقدمه

لیشمانیوز با علایم بالینی متفاوت در ایران شایع می‌باشد. در انواع پوستی، این تظاهرات طیفی را تشکیل می‌دهند که بستگی به نوع انگل و واکنش میزبان دارد و خود را از یک زخم کوچک خشک با بهبودی سریع تا زخم‌های گسترده مرطوب و شکل‌های مزمن لوپوییدی نشان می‌دهند (۱،۲). شکل‌های کشنده احشایی و آلوده کردن غدد لنفاوی بدون علایم بالینی دیگر نیز مشاهده گردیده است (۳،۴). انواع انگل‌های لیشمانیا که عامل چنین گستره وسیعی از بیماری می‌باشند، به خوبی شناسایی نشده و به جز تعداد معدودی از سوش‌هایی که جهت تعیین هویت به خارج از کشور ارسال گردیده‌اند، تعیین

مشخصات انگل‌های جدا شده از بیماران بر حسب تظاهرات بالینی تزریق انگل و مشاهده واکنش در حیوانات آزمایشگاهی نظیر موش سفید و هامستر طلایی انجام گرفته است (۵،۶). با توجه به محدودیت اطلاعات موجود در زمینه انگل لیشمانیا در ایران وجود مسایلی از قبیل بروز تظاهرات جلدی متفاوت از آنچه قبلا شناخته شده بود، بیماری زایی انگل در افراد دچار نقص سیستم دفاعی بدن و شروع مقاومت دارویی انگل در مقابل ترکیبات آنتی موان به عنوان داروی اصلی موثر بر این تک‌یاخته، لزوم شناخت بیشتر این انگل به خوبی احساس می‌گردد (۷).

با تهیه آنتی‌بادی‌های منوکلونال علیه آنتی‌ژن‌های مختلف در اواخر سال‌های ۱۹۷۰، در اوایل سال ۱۹۸۰ علیه لیشمانیا نیز آنتی‌بادی تهیه گردید. یکی از کاربردهای این آنتی‌بادی‌ها شناسایی و مشخصات این انگل‌ها می‌باشد (۸،۹). روش‌های دیگری نیز چون بررسی ایزوآنزیم‌ها و استفاده از بیولوژی مولکولی جهت تعیین هویت انگل به کار می‌رود (۱۰،۱۱). در پژوهش به عمل آمده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال که از طریق سازمان بهداشت جهانی در دسترس قرار گرفته بودند، جهت شناسایی انگل لیشمانیا جدا گردیده از بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی ارجاعی از مناطق ایران استفاده شد.

مواد و روشها

بیمارانی که از نظر بالینی مشکوک به لیشمانیوز جلدی بودند توسط متخصصان پوست به آزمایشگاه‌های تخصصی جهت تشخیص در تهران و شیراز ارجاع گردیدند. از نمونه برداشته شده از اطراف زخم گسترش تهیه و همین طور با سواب استریل نمونه جهت کشت بر روی محیط NNN قرار گرفت. گسترش تهیه گردیده با گیمسا رنگ‌آمیزی و کشت در ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

۲۸ سوش لیشمانیا جدا گردیده از بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی جهت تعیین مشخصات از کرمان به شیراز ارسال شد، این سوش‌ها از مناطق جغرافیایی جدا گردیده بود که در حال حاضر پروژه واکسیناسیون علیه لیشمانیوز جلدی با لیشمانیوز ماژور و BCG در حال انجام می‌باشد.

جهت تهیه آنتی ژن لیشمانیا، انگل پس از کشت بر روی محیط RPMI - 1640 و یا Schneider همراه با ۲۰ - ۱۰ درصد سرم جنین گوساله حرارت دیده مورد استفاده قرار گرفتند.

سوش‌های مرجع از مرکز بین المللی لیشمانیا در مدرسه بهداشت و طب گرمسیری لندن دریافت شده و عبارتند از:

۱ - لیشمانیا ماژور	MHOM/SU/73/5ASKH
۲ - لیشمانیا تروپیکا	MHOM/SU/74/K27
۳ - لیشمانیا اینفانتوم	MHOM/TN/80/IPTI
۴ - لیشمانیا دونوانی	MHOM/IN/80/DD8

این سوش‌ها در ۱۹۶ - درجه سانتی‌گراد در ازت مایع و سپس در محیط کشت نگهداری گردیدند.

محیط کشت مایع حاوی پروماستیگوت‌های لیشمانیا در مرحله رشد لگاریتمی با دوز ۲۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شده و پس از ۳ بار شستشو با PBS (pH=۷/۲) به همراه ۰/۰۵ درصد توین ۲۰، تعداد انگل در هر سی سی به میزان 10^7 رسانده شد. سپس، ۲ درصد فرمالین به کشت اضافه گردید. پس از یک ساعت، ابتدا انگل‌ها را شستشو داده و به دنبال آن به هر حفره از ظروف مخصوص محیط الیزا، ۵۰μL از این انگل افزوده شد. این ظروف به مدت ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. عمل بلوکه کردن با استفاده از آلبومین سرم گاوی ۵ درصد (BSA) صورت پذیرفت و پس از اضافه کردن این ماده به حفرات، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از آن پلیت‌ها با محلول شستشو دوباره شسته گردیدند تا برای مراحل بعدی مورد استفاده قرار گیرند.

پروماستیگوت‌های لیشمانیا در مرحله لگاریتمی سانتریفوژ شده و پس از سه بار شستشو با PBS، ته نشین را که بر روی یخ نگهداری می‌گردید با Sonicator به قدرت ۸۰ هرتز به مدت ۱۰ دقیقه شکسته و پروتئین آن با روش Lowery اندازه گیری شد و در حد ۱۰۰ میکروگرم در سی‌سی با استفاده از PBS حاوی ۰/۱ درصد سدیم آزید

رقیق گردید. آنتی ژن تهیه شده به میزان ۵۰μL، در حفرات ظروف مخصوص قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. پلیت‌ها پس از شستشو و بلوکه کردن با BSA و شستشو مجدد مورد استفاده قرار گرفتند.

پس از ۳ بار شستشوی پروماستیگوت‌ها با PBS (pH=۷/۲)، انگل‌های ته نشین شده شمارش و غلظت نهایی آن به 10^6 انگل در هر میلی لیتر رسانده شد، ۱۰ میکرولیتر انگل در قسمت‌های خاص اسلایدهایی که از قبل تهیه شده بودند، قرار گرفته و در دمای اتاق خشک گردیدند. سپس، به مدت ۱۰ دقیقه با استون ثابت شده و تا هنگام استفاده در فریزر ۲۰ - درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

آنتی بادی‌های منوکلونال از طریق قسمت تحقیقات بیماری‌های گرمسیری سازمان بهداشت جهانی دریافت گردید که شامل:

۱ - LXXVIII-2ES-AB (D-2) علیه لیشمانیا دونوانی و لیشمانیا اینفانتوم

۲ - IS2-2B4-A11 علیه لیشمانیا تروپیکا

۳ - XCIV-H_2-AB (TIO) علیه لیشمانیا تروپیکا

۴ - XLVI-5B8-B3 (TI) علیه لیشمانیا ماژور

۵ - آنتی بادی T7 با لیشمانیا تروپیکا و لیشمانیا ماژور واکنش نشان می‌دهد و به عنوان شاهد مثبت استفاده می‌شود.

۶ - رقت ۱/۱۰۰۰ سرم مخلوط شده از چند موش طبیعی به عنوان شاهد منفی به کار رفت.

روش IFA - اسلایدهای حاوی آنتی ژن از فریزر خارج و با PBS حاوی ۵ درصد سرم جنین گوساله غیر فعال شدند و به مدت ۱۵ دقیقه بلوکه گردیدند. سپس، این اسلایدها شسته شده و آنتی‌بادی‌های منوکلونال به رقت ۱/۱۰۰۰ بر روی آنتی‌ژن‌ها قرار گرفتند و به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در ظروف با رطوبت بالا (Humid chamber) گذاشته شدند و سپس با محلول PBS سه بار شسته و خشک گردیدند. سرم کونژوگه فلورسین ضد موش (Sigma chemical) به رقت ۱/۴۰ بر روی آنتی‌ژن‌ها قرار داده و در درجه حرارت اتاق به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید. پس از سه بار شستشو و خشک کردن اسلایدها، محلول PBS (pH=۸/۰) حاوی ۹۰ درصد گلیسرول بر روی آنها گذاشته شد و پس از گذاشتن لامل در زیر میکروسکوپ فلورسنت با عدسی ۴۰X مورد بررسی قرار گرفتند.

روش الیزا - پس از خارج کردن پلیت‌های الیزا دو بار شستشو شدند و سپس مایع آسیت حاوی آنتی‌بادی‌های منوکلونال که به غلظت ۱/۱۰۰۰ در PBS رقیق گردیده بودند، به میزان ۵۰ میکرولیتر به هر حفره آنتی ژن اضافه و به مدت دو ساعت در گرم خانه ۳۷ درجه نگهداری شدند. پلیت‌ها سه بار شستشو و در هر حفره به میزان ۵۰ میکرولیتر آنتی سرم ضد موش کونژوگه با پراکسیداز (سیگما) رقیق گردیده به میزان ۱/۲۰۰۰۰ به PBS حاوی ۲ درصد سرم جنین گوساله اضافه شد. پلیت‌ها به مدت یک ساعت در گرم خانه ۳۷ درجه قرار گرفته و پس از چهار بار شستشو به هر حفره به میزان ۱۰۰ میکرولیتر اورتوفنیلن دی آمین افزوده گردید و در درجه حرارت اتاق به مدت یک ساعت قرار گرفت. سپس، با اسپکتروفتومتر و طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شدند.

یافته‌ها

محدوده سنی بیماران ۸ تا ۸۴ سال و محدوده تعداد ضایعه‌ها بین ۱ تا ۵۵ بود. ۴۴ بیمار فقط دارای یک ضایعه، ۱۴ بیمار بیش از ۶ ضایعه و سایر بیماران بین ۲ تا ۵ ضایعه داشتند. محل ضایعه‌ها در صورت و در روی گونه‌ها، بینی، چانه و پلک‌ها مشاهده می‌گردیدند.

میزان واکنش بیشتر یا برابر با ۳ (نسبت جذب نوری آنتی‌بادی‌های منوکلونال به عنوان شاهد منفی دستگاه الیزا) در آزمایش الیزا در مقایسه با شاهد مثبت تلقی گردید. سوش‌های جدا شده از ۲۳ بیمار لیشمانیا تروپیکا بودند؛ دو سوش لیشمانیا ماژور، ۴ سوش با هر دو آنتی‌بادی لیشمانیا تروپیکا و لیشمانیا اینفانتوم و یک سوش هم با آنتی‌بادی لیشمانیا ماژور و لیشمانیا اینفانتوم واکنش نشان داد (جدول ۱).

از ۲۸ سوش جدا شده در کرمان، ۱۸ سوش لیشمانیا تروپیکا، ۵ سوش لیشمانیا ماژور و ۳ سوش با هر دو آنتی‌بادی لیشمانیا تروپیکا و لیشمانیا ماژور، یک سوش با

جدول ۱ - نتایج سوش‌های جدا شده از بیماران در شهر شیراز و استان فارس

سوش‌های جداشده از بیماران در شهر شیراز و استان فارس	C+T7	A11	T1	D2	سوش‌های تعیین هویت شده
۱	۶/۶۸	۲/۹	۵/۳۹	۴/۲	ماژور
۲	۱۲/۱	۹/۱۳	۵/۱	۵/۱	تروپیکا
۳	۱۰/۱	۵/۰۵	۱۳/۹۲	۹/۱	ماژور
۴	۹/۳۸	۱۰/۶	۴/۸	۶/۴	تروپیکا
۵	۱۰/۴	۱۲/۳	۱/۹	۳/۵	تروپیکا
۶	۴/۲	۴/۴	۱/۷۴	۲/۱	تروپیکا
۷	۵/۴۹	۲/۶	۵/۸	۵/۳	ماژور/اینفانتوم
۸	۴/۹	۱۱/۹	۲/۵	۳/۹	تروپیکا
۹	۴	۱۱/۸	۲/۲	۱/۱	تروپیکا
۱۰	۲۵/۱	۳۴/۱	۱۶/۱	۲۶	تروپیکا
۱۱	۶/۵	۷/۵	۲/۳	۳/۱	تروپیکا
۱۲	۱۳/۲	۱۳/۴	۴/۵	۱۳/۱	**تروپیکا/اینفانتوم**
۱۳	۷/۱	۶/۷	۲/۴	۱/۲	تروپیکا
۱۴	۶/۱	۷/۳	۲/۱	۱/۳	تروپیکا
۱۵	۶/۲	۸/۴	۳/۱	۲/۱	تروپیکا
۱۶	۸/۹	۹/۱	۴/۱	۲/۱	تروپیکا
۱۷	۴/۴	۵/۶	۱/۷	۱/۳	تروپیکا
۱۸	۷/۷	۶/۸	۳/۲	۶/۷	**تروپیکا/اینفانتوم**
۱۹	۱۰/۲	۱۳/۱	۵/۴	۳/۳	تروپیکا
۲۰	۹/۶	۱۰/۱	۵/۲	۳/۱	تروپیکا
۲۱	۶/۴	۷/۲	۳/۱	۲/۲	تروپیکا
۲۲	۷/۹	۸/۲	۳/۹	۳/۲	تروپیکا
۲۳	۵/۶	۶/۱	۳/۰	۲/۰	تروپیکا
۲۴	۶/۸۸	۵/۹	۳/۳	۳/۱	تروپیکا
۲۵	۸	۷/۵	۳/۹	۲/۱	تروپیکا
۲۶	۸/۲	۷/۴	۲/۹	۱/۷	تروپیکا
۲۷	۶	۷/۵	۲	۲	تروپیکا
۲۸	۴	۴	۱/۲	۱	تروپیکا
۲۹	۴/۸	۶/۴	۲/۱	۶/۰	**تروپیکا/اینفانتوم**
۳۰	۴/۶	۵/۲	۳/۱	۵/۲	**تروپیکا/اینفانتوم**

آنتی‌بادی‌های علیه لیشمانیا تروپیکا و لیشمانیا ماژور و سوش شماره ۱۷ با هیچ کدام از آنتی‌بادی‌های مورد استفاده واکنش نشان ندادند.

۱۰ سوش جداگردیده از کرمان با روش RAPD - PCR نیز مورد بررسی قرار گرفتند و تایید گردید که این سوش‌ها از نوع تروپیکا می‌باشند (۱۲). نتایج روش IFA با روش Elisa هم خوانی داشت. سوش‌هایی که در تهران مورد بررسی قرار گرفتند، متعلق به بیمارانی می‌باشند که از نقاط مختلف ایران مراجعه کرده بودند، تعدادی از آنان هم متعلق به مهاجرین افغانی بودند و نتایج آن بدین ترتیب بود که از ۹۸ سوش مورد بررسی قرار گرفته در تهران، ۲۲ سوش با آنتی‌بادی لیشمانیا تروپیکا، ۶۵ سوش با آنتی‌بادی لیشمانیا ماژور، ۳ سوش با آنتی‌بادی لیشمانیا اینفانتوم، ۳ سوش با آنتی‌بادی لیشمانیا تروپیکا و لیشمانیا ماژور واکنش دادند و ۵ سوش مورد بررسی با هیچ کدام از آنتی‌بادی‌ها مورد استفاده واکنشی نشان ندادند.

از ۳ سوش جدا شده که با آنتی لیشمانیا اینفانتوم واکنش نشان دادند، ۲ سوش از بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی یکی از اصفهان و دیگری در اطراف تهران جدا گردیده بود و سومین سوش از موش صحرایی در مشکین شهر در شمال غرب ایران که منطقه اندمیک بیماری کالاآزار است جدا شده بود.

تمام سوش‌های مذکور با روش ایزوآنزیم‌ها نیز مورد تایید قرار گرفتند (۱۳).

نتایج واکنش سوش‌های جداگردیده از بیماران مناطق مختلف ایران در جدول (۲) بیان شده است.

بحث

شناسایی عوامل لیشمانیوز جلدی در گذشته با علایم بالینی، پراکندگی جغرافیایی میزبان، مخزن و واکنش حیوانات آزمایشگاهی نسبت به این انگل انجام می‌گرفت (۵،۶). در سال‌های گذشته روش‌های مختلفی جهت شناسایی و تعیین هویت انگل به کار رفته که عبارتند از: بررسی ایزوآنزیم‌ها، استفاده از آنتی بادی‌های منوکلونال اختصاصی و روش‌های بیولوژی مولکولی (۹،۱۰،۱۱).

در دست داشتن آنتی‌بادی‌های منوکلونال علیه لیشمانیا تروپیکا، لیشمانیا ماژور و لیشمانیا اینفانتوم به شناسایی انگل‌ها از نظر تشخیصی و همین طور بررسی‌های اپیدمیولوژیک کمک می‌نماید و چنانچه مشاهده گردید،

جدول ۲ - نتیجه واکنش لیشمانیا از مناطق ایران با آنتی‌بادی‌های منوکلونال اختصاصی

آنتی‌بادی منوکلونال / محل جداسازی	ترویپکا A11	ماژور T1	اینفانتوم D2	ترویپکا/ماژور T1/A11	ترویپکا/اینفانتوم D2/A11	ماژور/اینفانتوم D2/T	واکنش نشان ندادند	جمع
شیراز	۲۳	۲	۰	۰	۴	۱	۰	۳۰
کرمان	۱۸	۵	۰	۳	۱	۰	۱	۲۸
تهران	۲۲	۶۵	۳*	۳	۰	۰	۵	۹۸
جمع	۶۳	۷۲	۳	۶	۵	۱	۶	۱۵۶

* دو سوش از بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی و یک سوش از موش صحرایی جبریل جدا گردیده بود.

نتیجه بررسی با این آنتی‌بادی‌ها و سوش‌های جدا شده از بیماران با آنچه انتظار می‌رفت، متفاوت بود.

نسبت جذب نوری آنتی‌بادی‌های منوکلونال به شاهد منفی که همان رقت ۱/۱۰۰۰ سرم‌های موش طبیعی بود، تفاوت زیادی را نشان می‌داد. این نسبت با آنتی سرم شاهد مثبت (T7) بین ۲۸/۳۳ - ۳/۴ و نسبت به آنتی‌بادی‌های منوکلونال اختصاصی بین ۳۴/۱ - ۰/۳ بود. بعضی از سوش‌های جدا شده مربوط به کرمان با شماره‌های ۸، ۱۷ و ۲۱۸ واکنش چندانی با آنتی‌بادی‌های آزمایش شده نشان ندادند.

اختلاف واکنش سوش‌ها نسبت به آنتی‌بادی‌های منوکلونال می‌تواند مربوط به تفاوت بین انواع انگل باشد. چنانچه در مطالعه‌های ایزوآنزیمی انجام گرفته در تهران، ۱۴ نوع انگل لیشمانیا ترویپکا در بررسی بعضی آنزیم‌ها متفاوت بود، این تفاوت در ۱۹ مورد لیشمانیا ماژور بررسی شده از قسمت‌های مختلف ایران نیز مشاهده گردید (۱۳). محققانی نظیر Le Blancq و همکاران ۱۸ زایمودیوم مختلف از ۲۷ نمونه لیشمانیای جدا شده به دست آوردند که در ارتباط با منطقه جغرافیایی آنها نبود (۱۰). از ۲۸ سوش جدا شده در کرمان ۳ نمونه با آنتی‌لیشمانیا ترویپکا و آنتی‌لیشمانیا ماژور واکنش نشان دادند و در مورد سوش‌های شیراز ۴ نمونه با آنتی‌لیشمانیا ترویپکا و لیشمانیا اینفانتوم و همین طور یک نمونه هم با آنتی‌لیشمانیا ماژور واکنش نشان داد.

این امکان وجود دارد که عامل ضایعه توام با لیشمانیا ترویپکا و لیشمانیا ماژور باشد. تهیه سلول‌های تک‌دودمانی Clone از این نمونه و بررسی آنها با روش‌های مختلف تعیین هویت انگل، می‌تواند روشنگر سوال مذکور باشد. چنانچه عفونت توام با لیشمانیا ماژور و لیشمانیا جربیلی (L.gerbilli) در موش صحرایی Rhombymus opimus از اتحاد جماهیر شوروی سابق گزارش گردیده است (۱۴).

نتایج حاصل بیانگر آن است که تعدادی از سوش‌های لیشمانیا ترویپکا جدا شده از شیراز، آنتی‌ژن Immunodominant آنها با انگل لیشمانیا اینفانتوم واکنش متقاطع نشان می‌دهند. اگرچه سعی شده بود که انگل‌ها در انتهای مرحله لگاریتمی مورد بررسی قرار گیرند، امکان تفاوت‌های آنتی‌ژنیک در مراحل مختلف جداسازی انگل وجود دارد و نشانه‌های آنتی‌ژنیک مخصوص در مرحله خاص ظاهر شود که منجر به واکنش متقاطع با دو آنتی‌بادی می‌گردد.

به نظر می‌رسد، تصویر ارایه گردیده از پراکندگی لیشمانیا با آن وضعیتی که در گذشته تصور می‌شد، متفاوت است. این تصویر می‌تواند دارای علل مختلف باشد، به عنوان مثال، در ۳۰ سال گذشته ایران میزبان بیش از ۳ میلیون مهاجر افغانی بوده و در این کشور انواع لیشمانیوز شایع می‌باشند. علل دیگر عبارتند از: مهاجرت و تحرک جمعیت در ایران از روستاها به شهر و برعکس، تخریب لانه جوندگان در حاشیه شهرها جهت خانه سازی و بالاخره روش‌هایی که امروزه جهت تشخیص و تعیین هویت انگل در دسترس می‌باشند.

با در نظر گرفتن شرایط مذکور، جهت برنامه ریزی در

تقلیل و نوع بیماری لیشمانیوز جلدی، شناخت بیشتری از انگل عامل بیماری مورد نیاز می‌باشد و امروزه با در دست داشتن آنتی‌بادی‌های منوکلونال و سایر روش‌های تعیین مشخصات به نظر می‌رسد که این آنتی‌بادی‌ها می‌توانند کمک زیادی در تعیین هویت انگل کنند.

References:

1 . *Nadim A, Faghih M. The epidemiology of cutaneous leishmaniasis in the Isfahan province of Iran I. The reservoir II. The human disease. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1968; 62: 534.*

2 . *Ardahali S, Sodeiphy M, Haghighi P, Rezai H, Vollum D. Studies on chronic (lupoid) leishmaniasis. Ann Trop Med Parasitol. 1980; 74: 439.*

3 . *Nadim A, Navid Hamidid A, Javadian E. Present of kala - azar in Iran. Am J Trop Med Hyg. 1978; 27: 25.*

4 . *Ardehali S, Sadeghi - Hassanabadie A, Abdollahi B, Malek - Hosseini Z, Evans D. The characterization of leishmania from patients with lymphadenopathy in Shiraz, Iran. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1995; 89: 370.*

5 . *Nadim A, Tahvildar - Bidruni GH, Farshian M, Heydari M. Differentiation of leishmania tropica major from leishmania tropica minor by inoculation of laboratory animals. Iran J Pub Health. 1973; 2: 115.*

6 . *Moaddeb A, Gettner S, Ardehali S. Studies on the causative agent of cutaneous leishmaniasis in Shiraz. Iran J Med Sci. 1993; 18(1,2): 28.*

7 . *Ardehali S. Leishmaniasis where do we stand? Iran J Med Sci. 1996; 21: 87.*

8 . *McMahon - Pratt D, David JR. Monoclonal antibodies that distinguish between new world species of leishmania nature (London). 1981; 291: 581.*

9 . *Jaffe CL, Bennett E, Grimaldi JG, McMahon - Pratt D. Production and characterization of species specific mon antibodies against leishmania donovani for immunodiagnosis. J Immunol. 1984; 133: 440.*

10 . *Le Blancq SM, Schnur LF, Peters W. Leishmania in the old world: The geographical and hostal distribution of l.major zymodemes. Trans R S Trop Med Hyg. 1986; 80: 99.*

11 . *Barker DC. Molecular approaches to DNA diagnosis. Parasitology. 1989; 99(suppl.): 125.*

12 . *Moatazedian H, Ardehali S. Rapid - PCR method for identification of leishmania parasite isolated from patients in Iran. Acta Parasitol Turcica. 1997; 21: 420.*

۱۳. حاتم غ. تعیین مشخصات انگل لیشمانیا با روش ایزوآنزیم الکتروفورز. پایان نامه جهت دریافت دکتری تخصصی رشته انگل‌شناسی. دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس؛ ۱۳۷۵: ۴۷ – ۲۳.

14 . *Strelkova MV, Shurkhal AV. A new species of leishmania isolated from the great gerbil rhombomys opimus. Parasitology. 1990; 101: 327 - 335.*

Determination of the characteristics of Leishmania parasite using monoclonal antibodies isolated in Iran

Ardehali, S[1]., Moattari, A.[1], Hatam, Gh.[2], Hosseini, M.H.[3], Sharifi, I.[4]

1. Shiraz Univ. Med. Sci.
2. Fasa Univ. Med. Sci.
3. Pasteur's Institute
4. Kerman Univ. med. Sci.

Considering the different clinical symptoms of leishmaniasis in Iran, and the wide distribution of its agent and the little information in this regard, this study was performed to characterize the responsible variants using monoclonal antibodies.

A total of 156 isolates of *Leishmania* from patients with cutaneous leishmaniasis and one isolate from rat were characterized using the standard monoclonal antibodies using ELISA and IFA tests.

Geographic distribution of 156 isolated L*eishmania* was 30 in Shiraz, 28 in Kerman, and 98 in Tehran. In this study, 63, 72, and 3 *Leishmania* isolates reacted with anti-L. tropica, anti-L. major and anti-infantum respectively. Of the three isolates that reacted with anti-L.infantum; two were isolated from patients with cutaneous leishmaniasis and one was the organism isolated from rat in a region with a high prevalence of visceral leishmaniasis. In this respect, mixed reactions with the monoclonal antibodies was also observed as six isolates reacted with anti-L.tropica and anti-L.major, five reacted with anti-L. tropica and L. infantum and one with anti-L. major and anti-L.infantum. The monoclonal antibiodies used did not react with none of the isolates.

Key words: Leishmaniasis, Monoclonal Antibodies, Lupoidal Forms, Eliza, IFA

The rate of stress in medical specialists and residents of Shaheed Beheshti University of Medical Sciences

Bahrinian,A.[1], Sabahi, A.[2]

1. Taleghani Teaching Hospital
2. Imam Hossein Teaching Hospital

Since medical practice is one of the stressful occupations as a result of high work-load, sleepless conditions and hyposomnia, management of severely ill patients and occasionally death of them, this study was performed to determine the rate of stress in a group of specialists and residents of different fields in Shaheed Beheshti University of Medical Sciences.

The descriptive and cross-sectional strategy of this study was performed on 202 of specialists and residents using a self-assessment stress questionnaire standardized for our country. For selection of cases, an easy sampling method and access to them in the studied hospitals.

The results showed that level of stress in physicians is high and 73.4% of them tolerate stresses from mild to severe degrees. This level was 75.5% in residents and 65%