

## إسهام في التشخيص المصلي لداء الليشمانيّة الحشوي (rK39) في سورية باستخدام المستضد المُخلّق

\* الدكتورة سمر النحاس

### الملخص

نظراً للصعوبة التي يواجهها الأطباء في تشخيص داء الليشمانيّة الحشوي بسبب حداثة ظهوره في سورية، وتشابه أعراضه السريرية مع غيرها من الأمراض الأخرى (البرداء، التوكسوبلاسما، السل، البلهارسيا) حاولنا من خلال هذه الدراسة تأكيد على وجود إصابة بداء الليشمانيّة الحشوي عند بعض الأطفال من خلال الفحص المجهرى للأطوار غير المسوّطة وربط ذلك بتشخيص الإصابات باستخدام المستضد المخلّق (النوعي) لطفيلي الليشمانيّة الحشوي وذلك أول مرة في سورية. أخضع الأطفال المصابون بالليشمانيّة الحشوية إلى المعالجة الدوائية بأملح الأنتيموان (الغلوكانتيم®) وقد سجلنا تراجعاً ملحوظاً في شدة الأعراض السريرية وانخفاضاً واضحاً في الكثافة الطفيلية المترافق مع انخفاض في نسبة الأضداد النوعية المتشكلة في مصول هؤلاء الأطفال المعالجين.

ونظراً لارتفاع درجة حساسية ونوعية المستضد (rK39) في الكشف الكيفي عن وجود الأضداد النوعية في مصول المصابين بداء الليشمانيّة الحشوي نرى أنه يمكن استخدام هذا المستضد لإجراء مسح شامل (للمصابين والمشكوك بهم من الإنسان والحيوانات الخازنة) في المناطق الموبوءة في سورية ليُصار إلى تطبيق المعالجة الدوائية بشكل سريع ومبكر.

### Contribution in the serodiagnosis of visceral leishmaniasis in Syria by using the recombinant antigen (rK39)

\* قسم علم الحيوان - كلية العلوم - جامعة دمشق.

Samar Al-Nahhas \*

---

---

### Abstract

The diagnosis of visceral leishmaniasis (VL) remains problematic for physicians in Syria, because the appearance of this disease is new and its clinical criteria are similar to Malaria, Tuberculosis, and Toxoplasmosis symptoms. For this reason, we used the specific antigen (rK39) of *Leishmania donovani complex*, in order to certify the appearance of visceral leishmaniasis in some patients. Then we followed the infected cases with VL during treatment (15 days) and after treatment (10 days) with Glucantime®. We noted an improvement in clinical criteria and a significant decrease in the parasite numbers as well as in the specific *L. donovani* antibodies.

These data demonstrate the utility of this specific antigen (rK39) in the serodiagnosis of VL. For this reason, we suggest the application of this antigen for sensitive and specific serodiagnosis in the endemic areas in Syria, in order to treat the infected patients early and rapidly.

---

---

\* Zoology Department-Faculty of Sciences -Damascus University-Damascus-Syria



## المقدمة

المصابين بالليشمانيّة الحشوية في المناطق الموبوءة [8, 10, 13].

ونظراً لأهمية المستضد (rK39) في الكشف عن الأضداد النوعية في مصول المصابين بداء الليشمانيّة الحشوي [5,8,10] فقد قمنا باستخدامه أول مرة في سورية للإسهام في الكشف الكيفي عن وجود الأضداد النوعية للليشمانيّة الحشوية في مصول عدد من الأطفال الذين يعانون من أعراض سريرية تشبه إلى حد كبير أعراض البرد داء والتوكسوبلاسما والسل

يُسبب طفيلي الليشمانيّة أعراضاً سريرية عديدة التباين حسب مكان توضعه وتكاثره، فهو يؤدي مثلاً للإصابة بداء الليشمانيّة الحشوي الذي ينتشر انتشاراً كبيراً في أكثر بلدان العالم مسبباً نسبة عالية من الوفيات خاصة عند الأطفال [1,2]. وتسجل إحصائيات منظمة الصحة العالمية سنوياً نحو 0,5 مليون إصابة حشوية في مختلف أنحاء العالم [21]. أما في سورية ووفقاً لإحصائيات وزارة الصحة في الفترة الأخيرة فقد بلغ عدد المصابين بداء الليشمانيّة الحشوي ٤٥، ٥٨ مصاباً في العامين ١٩٩٨، ١٩٩٩ على التوالي موزعة على جميع محافظات القطر العربي السوري [25].

يُعتمد في تشخيص الإصابة بداء الليشمانيّة الحشوي بالإضافة إلى الفحص المجهرى المباشر، الكشف عن وجود الأضداد النوعية في مصول المصابين بهذا الداء بتطبيق تقانات مناعية عديدة (التألق المناعي غير المباشر IFAT, 20, 24 [3, 18, 19] التراص المباشر DAT, 23, 24 [6, 17, 20] المقاييس المناعية الأنزيمية ELISA [1, 4, 7, 20, 22, 24] وذلك باستخدام الخلاصة الطفيلية الخام كمستضد. إلا أن استعمال هذه الخلاصة سيّب حدوث تفاعلات تصالبيه مع الأضداد الموجودة في مصول المصابين بأمراض أخرى كالبرد داء والتوكسوبلاسما وغيرهما [21, 10, 15].

لذلك كان لا بد من استخدام مستضدات نوعية تتشكل ضدها نسبة عالية من الأضداد خاصة في داء الليشمانيّة الحشوي. لقد كشف Burns وزملاؤه في عام ١٩٩٣ [5] عن مستضد نوعي Kinesin-related antigen لكل أنواع الليشمانيّة الحشوية ينتمي إلى فوق عائلة البروتينات المحركة عُرف بالمستضد (rK39) لاحتوائه على موضع مستضدي (epitope) مكرر ومؤلف من ٣٩ ثمالة حمض أميني. ووجد أن هذا المستضد يؤدي دور مركب مستضدي ذي درجة حساسية ونوعية عالية عند استخدامه في التفاعلات المصلية للكشف عن

السحايا، وبعد ثلاثة أشهر من الشفاء، بدأ الطفل يعاني من ترفع حروري وتعرق غزير وارتعاش وفقدان الشهية ونقص في الوزن (بمعدل ١,٥ كغ من وزنه الطبيعي البالغ ١١ كغ) وضخامة حشوية إضافة إلى التهاب العقد اللمفية. وعند إجراء الفحص الدموي له، تبين وجود فقر دم ونقص حاد في عدد الكريات البيض والصفائح.

■ **الحالة الرابعة:** طفلة عمرها ١٨ شهراً من درعا. تعاني منذ شهر تقريباً من ترفع حروري وضخامة حشوية، ترافقت بوهن شديد ونقص في الوزن (بمعدل ١ كغ من وزنها الطبيعي البالغ ١ كغ). وبيّن الفحص الدموي لهذه الطفلة وجود نقص حاد في عدد الكريات البيض والصفائح إضافة إلى فقر الدم.

■ **الحالة الخامسة:** طفلة عمرها ١٠ أشهر من منطقة الصنمين. تعاني منذ ثلاثة أسابيع تقريباً من نقص في الوزن (بمعدل ١ كغ من وزنها الطبيعي البالغ ٩,٥ كغ) وإسهالات وإقياءات وظهور انتفاخ حاد في منطقة البطن. لوحظ نتيجة إجراء الفحص الدموي لها وجود فقر دم حاد ونقص في عدد الكريات البيض والصفائح وانخفاض في نسبة الهيموغلوبين.

■ **الحالة السادسة:** طفل عمره ٣٦ شهراً من إدلب. أدخل إلى المشفى لمعاناته منذ شهرين تقريباً من ترفع حروري وإسهالات حادة وضعف الشهية وفقدان في الوزن (بمعدل ١,٥ كغ من وزنه الطبيعي البالغ ١٥ كغ) ووهن عام وضخامة في العقد اللمفية الرقبية. لوحظ بالفحص الدموي نقص حاد في عدد الكريات البيض والصفائح وزيادة طفيفة في عدد اللبائحات.

■ **الحالة السابعة:** طفل عمره ٢٤ شهراً من درعا. يعاني منذ ثلاثة أشهر تقريباً من ارتفاع في درجة الحرارة وإسهالات حادة خضراء اللون وفقدان في الوزن (بمعدل ٢,٥ كغ من وزنه الطبيعي البالغ ١٢ كغ) وضخامة عقدية. بيّن الفحص الدموي لهذا الطفل وجود نقص في عدد

وغيرها. أملين أن يتم استخدام هذا المستضد النوعي مستقبلاً لتأكيد تشخيص حالات الإصابة بالليشمانيّة الحشوية (خاصة المشكوك فيها أو اللاعرضية) ولإجراء مسح شامل في المناطق الموبوءة في سورية ليُصار إلى معالجة المصابين بشكل سريع ومبكر.

## مواد البحث وطرائقه

### ١- الحالات المدروسة

تمت دراسة الأعراض السريرية للحالات\* التي أدخلت إلى مشفى الأطفال (أربع حالات) ومشفى دمشق (خمس حالات) منذ بداية عام ١٩٩٩ حتى نهاية تشرين الثاني من العام نفسه، وذلك بالتعاون مع الأطباء المتخصصين.

■ **الحالة الأولى:** طفل عمره ٩ أشهر من منطقة اللجاة. أدخل إلى المشفى لمعاناته خلال فترة خمسة أسابيع من ترفع حروري مترافق مع تعرق شديد ونقص في الوزن (بمعدل ١ كغ من وزنه الطبيعي البالغ ٩ كغ) وضخامة حشوية. أظهر الفحص الدموي لهذا الطفل وجود نقص حاد في عدد الكريات البيض وعدد الصفائح خاصة.

■ **الحالة الثانية:** طفلة عمرها ٢٥ شهراً من درعا. أدخلت إلى المشفى لمعاناتها لفترة شهرين من ترفع حروري واصفرار في الوجه، ووهن عام، وضعف الشهية، وضخامة حشوية. ولدى إجراء الفحص الدموي لها تبين وجود نقص في عدد الكريات البيض والصفائح مع انخفاض في نسبة الهيموغلوبين.

■ **الحالة الثالثة:** طفل عمره ١٢ شهراً من منطقة ازراع. أدخل إلى المشفى لمعاناته من التهاب

\* تقصينا فقط الحالات التي وردت إلى مشفى دمشق ومشفى الأطفال، الذين تمكنا من إقناع ذويهم بضرورة متابعة حالتهم الصحية.

وذلك في اليوم ١٥ من بدء المعالجة وفي اليوم العاشر بعد انتهاء المعالجة. حُفظت جميع العينات المأخوذة في الدرجة -١٠ درجة مئوية إلى حين الاستعمال.

#### تحري وجود أضداد الليشمانيّة

لتحري وجود الأجسام الضدية الموجهة ضد طفيلي الليشمانيّة الحشوية في العينات المصلية، قمنا بتطبيق اختبار سريع وكيفي يعتمد على استخدام شرائح ورقية (strips)، حُمّل عليها المستضد النوعي والبروتين الكاشف Protein-A Colloidal gold. يُوضع ٢٠ ميكروليتر من العينة المصلية على أسفل الشريحة الورقية لتأخذ بهجرة بعملية الاستشعراب (Chromatography) بمساعدة الدارئة الفسفاتيّة (pH=7.2) وتشاهد نتائج التفاعل بعد مضي ٥ أو ١٠ دقائق.

### النتائج

لاحظنا من خلال جميع الحالات المدروسة أن أعمار الأطفال كانت تتراوح ما بين عدة أشهر (٩ أشهر) وعدة سنوات (أقل من خمس سنوات). كما سجلنا من خلال دراسة هؤلاء الأطفال وجود أعراض سريرية هامة ومشتركة عند معظم الأطفال. وتمثلت هذه الأعراض بالترفع الحروري (حرارة متموجة وغير منتظمة ترتفع صباحاً إلى ٤٠ درجة مئوية وتهبط في أثناء النهار إلى ٣٨ درجة ثم تعود وترتفع مساءً إلى ٤٠ درجة مئوية تقريباً) وبظهور ضخامة حشوية (كبدية-طحالية) splenohepatomegaly "شكل ١" (زيادة هائلة في حجم الطحال تصل إلى ١٥ سم تقريباً وفي حجم الكبد تصل إلى ٨ سم تقريباً)، وعدم وجود أي تصبغات جلدية وأخيراً ضعف في الشهية وفقدان في الوزن (بمعدل ١ كغ/الشهر تقريباً).

الكريات البيض.

■ **الحالة الثامنة:** طفل عمره ٤٣ شهراً من منطقة اللجاة. أُدخل إلى المشفى لمعاناته منذ ثلاثة أشهر من ترفع حروري وارتعاش شديد وضخامة طحالية هائلة وإسهالات وإقياءات حادة. بيّن الفحص الدموي له وجود فقر دم ونقص في عدد الكريات البيض والصفائح.

■ **الحالة التاسعة:** طفلة عمرها ٢٦ شهراً تقريباً من السويداء. أُدخلت إلى المشفى لظهور ضخامة في العقد اللمفية وضخامة في الكبد، إضافة إلى معاناتها من ارتفاع في درجة الحرارة لفترة خمسة أسابيع. أظهر الفحص الدموي لهذه الطفلة وجود زيادة في نسبة المفاويات.

هذا ويبين الجدول ١ ملخصاً للأعراض السريرية آنفة الذكر المشاهدة عند هؤلاء الأطفال.

### ٢- التشخيص المخبري

لكي نتعرف على العامل الممرض المسؤول عن ظهور الأعراض السريرية السابقة، كان لا بد لنا من تطبيق:

#### أ- الفحص المجهرى المباشر

قمنا بتحضير لطاخات مأخوذة من بزل نقي العظم لجميع الأطفال المرضى، وتلوينها بملون غيمزا Giemsa تمهيداً لدراستها بالمجهر الضوئي على التكبير (100×) للتأكد من وجود العناصر الطفيلية للليشمانيّة أو غيابها.

#### ب- الاختبار المصلي

##### جمع المصول

تم أخذ عينة مصلية من كل طفل على حدة لتأكيد الإصابة بداء الليشمانيّة الحشوي. كما تم جمع عينات مصلية أخرى من الأطفال الذين أخضعوا للمعالجة الدوائية (بعد تأكيد إصابتهم بهذا الداء)

الشكل رقم ١ - صورة لطفلة (الحالة الثانية) تظهر فيها الضخامة الحشوية  
(كبديّة-طحالية) التي كانت تُعاني منها.

العظم المأخوذة من هؤلاء الأطفال (عندما أدخلوا إلى المشفى) والملونة بغيرمزا لاحتظنا وجود عدد من عناصر الليشمانية عديمة السوط amastigotes (أكثر من ٢٠ عنصراً في الساحة المجهرية) داخل الخلايا البلعمية وأحياناً مبعثرة خارج هذه الخلايا نتيجة لانفجارها وذلك في سبع حالات من أصل الحالات التسع المدروسة (شكل ٢).

أما بالنسبة للفحص الدموي، فقد لاحظنا أن معظم هؤلاء الأطفال يعانون من نقص حاد في عدد الكريات البيض وعدد الصفيحات وعدد الكريات الحمر إضافة إلى انخفاض في نسبة الهيموغلوبين، وصل في حده الأدنى وسطيّاً إلى ٣٠٠٠ كرية/ملم<sup>٣</sup> - ١٠١٠٠٠ صفيحة/ملم<sup>٣</sup> - ٢,١ مليون كرية/ملم<sup>٣</sup> - ٦ غرام/د.لتر على التوالي. ولدى إجراء الفحص المجهرى للطاخات بذل نقي

الشكل رقم ٢ - يبيّن وجود عدد كبير من العناصر الطفيلية عديمة السوط داخل إحدى الخلايا البلعمية (→) وأحياناً خارجها (►) في لطاخة بذل نقي عظم ملونة بغيمازا

تظهر إلا العصابة العلوية فقط (المماثلة للعصابة الناتجة لدى تطبيق هذا التفاعل على مصول أطفال أصحاء كشاهد) عند استخدام مصل العينة السابعة والتاسعة (شكل ٣) وهذا يدل على سلبية التفاعل أي على عدم وجود أعداد نوعية لطفيلي الليشمانيّة الحشوية في مصل هذين الطفلين.

يتضح من خلال ما تقدم عرضه من نتائج أنّ الحالات (من ١ إلى ٦ والحالة ٨) المدروسة من الناحية السريرية والمجهرية والمناعية، تعاني من الإصابة بداء الليشمانيّة الحشوي. وبناءً على ذلك فقد تمّ إخضاع الأطفال المصابين للمعالجة الدوائية بأملح الأنتيموان (الغلوكانتيم® Glucantime) بجرعة ٢٠ ملغ/كغ/يوم عن طريق الحقن العضلي

ولتأكيد المشاهدة المجهرية، فقد قمنا بتحري وجود الأجسام الضدية النوعية لليشمانيّة الحشوية في مصول هؤلاء الأطفال باستخدام المستضد النوعي (rK39)، فحصلنا على تفاعل إيجابي في الحالات السبع نفسها التي وجدت في لطاقتها عناصر الليشمانيّة الطفيلية، في حين حصلنا على تفاعل سلبي في حالتين فقط (السابعة والتاسعة). وتمثل التفاعل الإيجابي (شكل ٣) بظهور عصبانيتين ملونتين (السفلية نتيجة ارتباط المستضد مع الجسم الضدي النوعي anti-rK39 والثانية العلوية الأكثر كثافة وهي ناتجة عن ارتباط البروتين الكاشف protein-A/ colloidal gold بالغلوبولين المناعي البشري بشكل عام). بينما لم



الشكل رقم ٣ - يبين التفاعل المصلي باستخدام الشرائح الورقية. يلاحظ إيجابية التفاعل في الحالات ١-٦ و ٨ بظهور عصاباتين (علوية → وسفلية →) وسلبية التفاعل في الحالتين ٧ و ٩ (عصابة فقط →).

**Con: تفاعل شاهد باستخدام مصول أطفال أصحاء (عصابة واحدة فقط →)**

قمنا بمتابعة حالة هؤلاء الأطفال للتأكد من نجاح المعالجة الدوائية عن طريق دراسة الأعراض السريرية وإجراء الفحص المجهرى وتطبيق الاختبار المناعي المصلي. ف سجلنا في اليوم الخامس عشر من بدء المعالجة تراجعاً في المظاهر السريرية تمثل في انخفاض درجة الحرارة وعودتها إلى وضعها الطبيعي وتراجع حجم الضخامة الحشوية (للطحال من ١٥ إلى ٨ سم وللكبِد من ٨ إلى ٥ سم) مع ارتفاع في عدد الكريات البيض وفي عدد الصفيحات وفي عدد الكريات الحمر وزيادة في نسبة الهيموغلوبين وصلت في حدها الأدنى وسطيّاً إلى ٦٦٠٠ كرية/ملم<sup>٣</sup> - ١٧٢٠٠٠ صفيحة/ملم<sup>٣</sup> - ٣٢٠٠٠٠٠ كرية/ملم<sup>٣</sup> - ٨.٣ غرام/د.لتر على الترتيب. كما بيّن الفحص المجهرى للطاخات مأخوذة من بذر نقي العظم للأطفال المعالجين تناقصاً في عدد العناصر الطفيلية الليشمانية "شكل ٤" (أقل من ١٠ عناصر في الساحة المجهرية).

الشكل رقم - ٤ - يبيّن تناقص عدد العناصر الطفيلية غير المسوّطة (→) في  
لطاخة بزل نقي عظم ملونة بغمزاً وذلك في اليوم ١٥ من بدء المعالجة  
بالغلوكانتيم.

أما في حالة الاختبار المناعي المصلي فقد لاحظنا استمرار ظهور تفاعل إيجابي متوسط الشدة (الشدة اللونية للعصابة السفلية أقل مما هي عليه قبل المعالجة) وذلك نتيجة لانخفاض نسبة وجود الأضداد النوعية في مصول هؤلاء الأطفال (شكل ٥).

الشكل رقم - ٥ - الاختبار المصلي للأطفال المصابين بعد انقضاء ١٥ يوماً من بدء المعالجة. يُلاحظ إيجابية التفاعل المترافقة مع انخفاض الشدة اللونية للعصابة السفلية (→). (Con):  
(شاهد)

أخيراً وبعد عشرة أيام من انتهاء المعالجة بالغلوكانتم سجلنا عند هؤلاء الأطفال تراجعاً جديداً في الأعراض السريرية تمثل بتناقص حجم الضخامة الحشوية (تقريباً إلى ٣ سم بالنسبة للطحال والكبد) وبارتفاع في عدد الكريات البيض وعدد الصفائح وبارتداد طفيف في نسبة الهيموغلوبين وصل في حده الأدنى وسطياً إلى ٨٩٠٠ كرية/ملم<sup>٣</sup> - ٢٣٠٠٠٠٠ صفيحة/ملم<sup>٣</sup> - ٨,٩ غرام/ل. ليتر على الترتيب، إضافة إلى اختفاء جميع العناصر الطفيلية عديمة السوط في لطاخات بزل نقي العظم (شكل ٦).

الشكل رقم ٦ - صورة للطاخة بذل نقي عظم خالية تماماً من العناصر  
الطفيلية الليشمانية عديمة السوط وذلك بعد ١٠ أيام من توقف المعالجة  
الدوائية

### المناقشة

حاولنا من خلال هذه الدراسة التأكيد على أهمية  
تطبيق الفحوص المخبرية إلى جانب دراسة  
الأعراض السريرية للمصابين بداء الليشمانية  
الحشوي بسبب تشابه هذه الأعراض مع العديد من  
الأمراض الأخرى كالبرداء والتوكسوبلاسما  
والسل والبلهارسيا [10, 15, 21].

وبالرغم من ذلك، ما زلنا نشاهد تفاعلاً إيجابياً  
(ظهور العصاة السفلية) عند تطبيق الاختبار  
المناعي المصلي بوجود المستضد rK39، إلا أن  
هذا التفاعل ضعيف الشدة اللونية (شكل ٧) نتيجة  
لحدوث انخفاض كبير في نسبة وجود الأضداد  
النوعية (anti-rK39) في مصول هؤلاء الأطفال  
بعد انتهاء المعالجة الدوائية.

الشكل رقم - ٧ - الاختبار المصلي بعد انتهاء المعالجة بعشرة أيام. يُلاحظ استمرار الإيجابية في التفاعل المترافقة مع ضعف شديد في شدة الكثافة اللونية للعصابة الثانية السفلية (→). (Con: شاهد)

مشتركة مع الحالات الأخرى (تثبت مؤخرًا إصابتهما بداء التوكسوبلازما والسل على التوالي). لذلك حاولنا في هذا البحث التأكيد على ما ورد ذكره في دراسات سابقة [5, 8, 13, 15] اعتمدت في تشخيصها لداء الليشمانيات الحشوي على استخدام مستضد نوعي شديد الحساسية يُعرف بالمستضد rK39. وقد بين Badaro وزملاؤه في عام ١٩٩٦ [8] ضرورة استخدام المستضد rK39 في الاختبارات المصلية للكشف عن وجود أو غياب الأضداد النوعية في مصول الأشخاص العرضيين (الذين يُبدون أعراضاً سريرية واضحة) وغير العرضيين (الذين لا يُبدون أية أعراض واضحة ولكن يمكن ملاحظة عدد قليل من عناصر الليشمانيات في لطاخاتهم) والمشكوك بهم (الذين يُبدون أعراضاً سريرية مشابهة لأمراض أخرى).

ففي البداية عرضنا الأعراض السريرية التي تشابه معظمها في أغلب الحالات المدروسة. وقد توافقت هذه الأعراض مع تلك التي أشار إليها عدد من الباحثين لدى وجود إصابة شديدة بداء الليشمانيات الحشوي [8, 10, 11, 12]. وبعد إجراء الدراسة المجهرية المباشرة تمكنا من رؤية عناصر طفيلي الليشمانيات داخل الخلايا البلعمية وأحياناً خارجها في عدد من هذه الحالات. وقد توافقت ذلك مع نتائج العديد من الباحثين الذين أكدوا ضرورة إجراء الدراسة المجهرية لرؤية طفيلي الليشمانيات الحشوية ولتحديد مدى شدة الإصابة [8, 9, 10, 11, 12]. أخيراً كان لا بد من تحري وجود الأضداد النوعية في مصول هؤلاء الأطفال خاصة بعد ظهور حالتين مرضيتين لم يشاهد في لطاخاتهما أي أثر لوجود طفيلي الليشمانيات على الرغم من ظهور أعراض سريرية

عن حدوث الإصابة بداء الليشمانية الحشوي. وبناءً على ذلك يمكننا تفسير نتائج التفاعلات متبدلة الشدة أو الكثافة اعتماداً على وجود الأشكال الطفيلية غير المسوّطة. ففي بداية الإصابة يكون عدد هذه الأشكال مرتفعاً مما يؤدي لتشكيل نسبة مرتفعة من الأضداد النوعية للمستضد rK39 (anti-rK39). أما في أثناء المعالجة فينخفض عدد هذه الأشكال ومن ثمّ تنخفض نسبة الأجسام الضدية النوعية المتشكلة لتصل إلى حد الاختفاء تقريباً بعد الانتهاء من المعالجة الدوائية، التي أدت إلى القضاء التام على جميع الأشكال غير المسوّطة لطفيلي الليشمانية. كما سجلنا أيضاً في أثناء المعالجة الدوائية وبعدها تراجعاً واضحاً في شدة الأعراض السريرية الملاحظة عند بداية الإصابة. وهذا يتوافق مع النتائج التي توصل إليها العديد من الباحثين [8, 14, 21] باستخدام إما أملاح الأنتيموان (الغلوكانتيم®) أو مركب الأمفوتريسين D لمعالجة داء الليشمانية الحشوي.

أخيراً لا بد لنا من الإشارة إلى ضرورة العمل على إكمال هذه الدراسة الأولية لتحديد نسبة الأضداد النوعية المتشكلة في مصول المصابين بداء الليشمانية الحشوي. ولكن على الرغم من ذلك فقد حاولنا من خلال النتائج التي حصلنا عليها تسليط الضوء على أهمية المستضد النوعي rK39 في الكشف الكيفي عن وجود الأضداد النوعية في مصول الأشخاص العرضيين وغير العرضيين والمشكوك بهم. أملين الاستفادة مستقبلاً من استخدام هذا المستضد النوعي في الدراسات الوبائية لتقصي وجود داء الليشمانية الحشوي (عند الإنسان وعند الحيوان الخازن) في المناطق الموبوءة في سورية ليُصار إلى معالجة المصابين بشكل سريع ومبكر.

لذلك قمنا باستخدام المستضد rK39 المحمّل مع البروتين الكاشف Protein-A colloidal gold على الشرائح الورقية strips للتحري كفيّاً عن وجود الأضداد أو غيابها في مصول الحالات التسع المدروسة. وقد أعطى هذا الاختبار المصلي نتيجة إيجابية عند الحالات السبع التي شوهد فيها طفيلي الليشمانية بالدراسة المجهرية، مؤكداً بذلك إصابة هؤلاء الأطفال السبعة بداء الليشمانية الحشوي.

بيّنت دراسة Ghosh وزملاؤه في عام ١٩٨٠ [16] إضافة إلى تقرير منظمة الصحة العالمية [19] ١٩٨٤، أنّ مصول الأشخاص المصابين بداء الليشمانية الحشوي تحوي نسبة منخفضة جداً من الأضداد IgM ونسبة مرتفعة جداً من الأضداد IgG الموجهة ضد المستضد rK39. وتتغير نسبة الأضداد IgG بشكل كبير تبعاً لشدة الأعراض السريرية التي يبيدها المرضى [15].

كما أكد Qu وزملاؤه في عام ١٩٩٤ [13] وجود علاقة مشتركة بين نسبة وجود الأضداد في المصل وشدة الكثافة العددية للطفيلي عند المرضى، وذلك عن طريق بعض الاختبارات المصلية باستخدام المستضد النوعي rK39.

وهذا يؤكد ما لاحظناه عند تطبيق الاختبار المصلي باستخدام المستضد rK39 حيث كان الارتباط متباين الشدة بين الأضداد النوعية وهذا المستضد. وتمثل هذا الارتباط الإيجابي بظهور العصابة الثانية (السفلية) متبدلة الكثافة أو الشدة اللونية (شديدة الكثافة قبل المعالجة، متوسطة نسبياً في اليوم ١٥ من بدء المعالجة، ضعيفة جداً في اليوم العاشر بعد انتهاء المعالجة). وقد توافقت نتائجنا مع نتائج Badaro وزملاؤه في عام ١٩٩٦ [8] الذين أكدوا أنّ المستضد rK39 هو المسيطر في الأشكال غير المسوّطة amastigotes المسؤولة

## الجدول ١ - يبين ملخصاً للأعراض المرضية المتشابهة في الحالات المدروسة

رقم الحالة	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩
الجنس	ذكر	أنثى	ذكر	أنثى	أنثى	ذكر	ذكر	ذكر	أنثى
العمر (أشهر)	٩	٢٥	١٢	١٨	١٠	٣٦	٢٤	٤٣	٢٦
زمن التبليغ عن الإصابة (أسابيع)	٥	٨	١٢	٤	٣	٨	١٢	١٢	٥
ترفع حروري	+	+	+	+	-	+	↑ حرارة	+	↑ حرارة
ضخامة عقدية	-	-	+	-	-	+	+	-	+
ضخامة حشوية (كبد - طحال)	+	+	+	+	+	-	-	تضخم كبد	تضخم طحال
تعرق وارتعاش	+	-	+	-	-	-	-	+	-
إسهالات وإقياءات	-	-	-	-	+	+	+	-	-
ضعف شهية	-	+	+	-	-	+	-	-	-
فقدان وزن	+	-	+	+	+	+	+	-	-
وهن عام	-	+	-	+	-	+	-	-	-
انخفاض عدد الكريات الحمر (كرية/مم <sup>٣</sup> )	-	-	× <sup>١٠</sup> ٢,٤	× <sup>١٠</sup> ٢,٤	× <sup>١٠</sup> ٢,٤	× <sup>١٠</sup> ٢,٤	× <sup>١٠</sup> ٢,٤	× <sup>١٠</sup> ٢,٤	× <sup>١٠</sup> ٢,٤
انخفاض عدد الكريات البيض (كرية/مم <sup>٣</sup> )	٤١٠٠	٢٨٠٠	١٩٠٠	٣٤٠٠	٣٩٠٠	٢٦٠٠	٣٥٠٠	٢٢٠٠	-
انخفاض عدد الصفائح (صفحة/مم <sup>٣</sup> )	× <sup>١٠</sup> ١٢١	× <sup>١٠</sup> ١١٧	٧٥× <sup>١٠</sup>	× <sup>١٠</sup> ١١٥	٩٢× <sup>١٠</sup>	١١٠× <sup>١٠</sup>	-	× <sup>١٠</sup> ٨٣	-
ارتفاع اللمفاويات	-	-	-	-	-	٧٤%	-	-	٧٩%
انخفاض نسبة الهيموغلوبين	-	٥٥,٦ غ/دل	-	-	٦٤,٨ غ/دل	-	-	-	-

## كلمة شكر

نتوجه بالشكر والامتنان لكل العاملين في مديرية الأمراض السارية والمستوطنة في وزارة الصحة ولكل الأطباء في قسم الأمراض الدموية والخمجية وقسم الأطفال في كل من مستشفى الأطفال ومشفى دمشق لمساهماتهم الفعالة في إنجاح هذه الدراسة الأولية.

## المصادر

- 1- Badaro R. Jones TC. & Lorencio R. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. J. Infect. Dis. (1986) 154: 639-49.
- 2- World Health organization (WHO). Expert Committee on the control leishmaniasis. Control of the leishmaniasis. WHO Tech. Rep. Ser. (1990) 793: 139-58.
- 3- Badaro R. Reed SG. & Carvalho EM. Immunofluorescent antibody test in American visceral leishmaniasis: Sensitivity and specificity of different morphological forms of two *Leishmania* species. Am. J. Trop. Med. Hyg. (1983) 32: 480-4.
- 4- Badaro R. Reed SG. Barral A. Orge G. & Jones TC. Evaluation of the micro enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies in American visceral leishmaniasis: antigen selection for detection of infection specific responses. Am. J. Trop. Med. Hyg. (1986) 35: 72-8.
- 5- Burns JM Jr. Shreffler WG. Benson DR. Ghalib HW. Badaro R. & Reed SG. Molecular characterization of a kinesin-related antigen of *Leishmania chagasi* that detects specific antibody in African and American visceral leishmaniasis. Proc. Natl. Acad. Sci. (1993) 90: 775-9.
- 6- Harith AE. Kolk AHJ. & Kager PA. A simple and economical direct agglutination test for serodiagnosis and sero-epidemiological studies of visceral leishmaniasis. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. (1986) 80: 583-7.
- 7- Ho M. Leeu-wenburg J. Mbungua G. Wamachi A. & Voller A. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for field diagnosis of visceral leishmaniasis. Am. J. Trop. Med. Hyg. (1983) 32: 943-6.
- 8- Badaro R. Benson D. Eulalio MC. Freire M. Cunha S. Netto EM. Pedral-Sampaio D. Madureira C. Burns JM. Houghton RL. David JR & Reed SG. rK39: a cloned antigen of *Leishmania chagasi* that predicts active visceral leishmaniasis. J. Infect. Dis. (1996) 173: 758-61.
- 9- Chulay JD. & Bryceson AD. Quantitation of amastigotes of *Leishmania donovani* in smears of splenic aspirates from patients with visceral leishmaniasis. Am. J. Trop. Med. Hyg. (1983) 32: 475-9.
- 10- Ozensoy S. Ozbel Y. Turgay N. Ziya Alkan M. Gul K. Cilman-Sachs A. Chang KP. Reed SG. & Ozcel MA. Serodiagnosis and epidemiology of visceral leishmaniasis in Turkey. Am. J. Trop. Med. Hyg. (1998) 59: 363-369.
- 11- Harith AE. Kolk AHJ. Kager PA. Leeuwenburg J. Faber FJ. Muigai R. Kiugu S. & Laarman J. Evaluation of a newly developed direct agglutination test (DAT) for serodiagnosis and sero-epidemiological studies of visceral



- leishmaniasis: comparison with IFAT and ELISA. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. (1987) 81: 603-606.
- 12-Ashford DA. Badaro R. Eulalio C. Freire M. Miranda C. Zalis MG. & David JR. Studies on the control of visceral leishmaniasis: validation of the Falcon assay screening test-enzyme-linked immunosorbent assay (FAST-ELISA) for field diagnosis of Canine visceral leishmaniasis. Am. J. Trop. Med. Hyg. (1993) 48: 1-8.
- 13-Qu JQ. Zhong L. Masoom-Yasinzai M. Abdur-Rab M. Aksu HSZ. Reed SG. Chang KP & Gilman-Sachs A. Serodiagnosis of Asian leishmaniasis with a recombinant antigen from the repetitive domain of *Leishmania* kinesin. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. (1994) 88: 543-545.
- 14-Sundar S. & Murray HW. Cure of Antimony unresponsive Indian visceral leishmaniasis with Amphotericin B lipid complex. J. Infect. Dis. (1996) 173: 762-5.
- 15-Singh S. Gilman-Sachs A. Chang KP. & Reed SG. Diagnostic and prognostic value of rK39 recombinant antigen in Indian leishmaniasis. J. Parasitol. (1995) 81: 1000-1003.
- 16-Ghosh Ac. Halsar JP. Pal. SC. Mishra BP. & Mishra KK. Serological investigations on Indian Kala-Azar. Clin. Exp. Immun. (1980) 40: 318-325.
- 17-Singla N. Singh GS. Sundar S. & Vinayak VK. Evaluation of the direct agglutination test as an immunodiagnostic tool for Kala-Azar in India. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. (1993) 87: 276-278.
- 18-Choudhary A. Guru PY. Saxena RP. & Saxena KC. An indirect fluorescent antibody (IFA) test for the serodiagnosis of Kala-Azar. J. Com. Dis. (1992) 24:32-36.
- 19-World Health Organization (WHO). Leishmaniasis. Geneva: WHO Tech. Rep. Ser. (1984) N°: 701.
- 20-Kar K. Serodiagnosis of leishmaniasis. Critical Rev. Microbiol. (1995) 21: 123-152.
- 21-World Health Organization (WHO). Manual on visceral leishmaniasis control. WHO/Leish/ 96.40 (1996).
- 22-Gupta S. Srivastava JK. Ray S. Chandra R. Srivastava VK. & Katiyar JC. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay in the diagnosis of Kala-Azar in Malda district (West Bengal). Indian J. Med. Res. (1993) 97:242-246.
- 23-Zijlstre EE. Siddig AM. El Hassan AM. El Toun IA. Satti M. Ghalib HW. & Kager PA. Direct agglutination test for diagnosis and seroepidemiological survey for Kala-Azar in th Sudan. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. (1991) 85: 474-476.

- 24-Shiddo SA. Aden Mohamed A. Huldt G. Loftenius A. Nilson LA. Jonsson J. Ouchterlony O. Thorstesson R. Visceral leishmaniasis in Somalia. Circulating antibodies as measured by DAT, immunofluorescence and ELISA. Trop. Geograph. Med. (1995) Vol: 47: 68-73.
- ٢٥- إحصائيات وزارة الصحة - دمشق - الجمهورية العربية السورية. للعامين ١٩٩٨ و١٩٩٩.

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق: ٢٠٠٠/١/١٧.  
تاريخ قبوله للنشر: ٢٠٠٠/٤/١٢.

