بررسی واکنش آزمون جلدی لیشمنین با آنتی‌ژنهای مختلف در بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی

دکتر علی‌مؤمنی[1]، دکتر علی خامسی‌پور[2]، دکتر افشین باقرزاده[3]، دکتر ملیح‌السادات امین‌جواهری[4]

۱ - استادیار گروه پوست، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان؛ ۲ - استادیار مرکز آموزش و پژوهش بیماریهای پوست و جذام، دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ ۳ - پزشک عمومی؛ ۴ - متخصص آسیب‌شناسی

مقدمه : ایمنی سلولی نقش عمده را در ایجاد مصونیت علیه بیماری سالک ایفا می‌کند. یکی از روشهای بررسی واکنش سیستم ایمنی در برابر سالک، انجام آزمون پوستی لیشمنین (تست مونته‌نگرو) می‌باشد.

آنتی‌ژن استاندارد مورداستفاده در ایران و جهان، ساخت انستیتو پاستور ایران - تهران بوده که از سوی سازمان بهداشت جهانی (WHO) مورد تأئید قرار گرفته است. دو آنتی‌ژن دیگر که از سوی انستیتو رازی - حصارک کرج ساخته شده و از همان سویه‌ها تهیه شده است،تحت عنوان‌های Killed Leishmania Major (K.L.M) و Autoclaved Leishmania Major (A.L.M) خوانده می‌شوند که با نظارت WHO به عنوان واکسن سالک مراحل تحقیقاتی خود را می‌گذرانند.

هدف : در این مطالعه بین آنتی‌ژنهای K.L.M و A.L.M و آنتی‌ژن استاندارد انستیتو پاستور ایران به عنوان آزمون پوستی مقایسه‌ای به عمل آمده است.

بیماران و روش‌ها : پنجاه بیمار مبتلا به سالک مراجعه‌کننده به درمانگاه‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بطور تصادفی انتخاب شده و هر سه آنتی‌ژن به صورت داخل جلدی به آنها تزریق شد. نتایج واکنش به صورت اندازه‌گیری قرمزی و سفتی محل تزریق آنتی‌ژنها بعد از ۴۸ ساعت، مورد بازبینی و اندازه‌گیری قرار گرفته و ثبت شد. نتایج حاصله با آزمون ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها : اختلاف بین میانگین قرمزی و سفتی حاصل از آنتی‌ژنهای K.L.M، A.L.M و آنتی‌ژن استاندارد انستیتو پاستور تهران در مقایسه دو به دو با همدیگر، معنی‌دار بوده و میانگین قرمزی و سفتی حاصل از K.L.M بیش از A.L.M و آنتی‌ژن A.L.M بیش از آنتی‌ژن استاندارد انستیتو پاستور بود (P-value<۰/۰۰۰۱).

نتیجه‌گیری : اگر چه میانگین قرمزی و سفتی حاصل از K.L.M بیش از دو آنتی‌ژن دیگر بوده ولی نظر به روش نگهداری مشکل آن در مقابل ساده بودن روش نگهداری A.L.M، به نظر می‌رسد که استفاده از آنتی‌ژن A.L.M با توجه به داشتن میانگین قرمزی و سفتی بیشتر از آنتی‌ژن استاندارد انستیتو پاستور تهران، عملی‌تر بوده و نتیجهٔ مطلوبتری را عاید گرداند.

واژه‌های کلیدی : لیشمانیوز جلدی، تست مونته‌نگرو، K.L.M، A.L.M، آزمون پوستی لیشمنین

مقدمه

اصطلاح لیشمانیوز به گروهی از بیماریها اطلاق می‌شود که به وسیله گونه‌های متعددی از انگل *Leishmania* ایجاد می‌شوند. این بیماری از نظر همه‌گیرشناسی بیماریهای گرمسیری احتمالاً در درجهٔ دوم اهمیت بعد از مالاریا قرار دارد (۱).

اطلاعات بسیار زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد

مؤلف مسئول:دکتر علی مؤمنی-اصفهان، صندوق‌پستی : ۱۱۹۱-۸۱۴۶۵

ایمنی سلولی نقش عمده را در مقاومت علیه لیشمانیوز جلدی ایفا می‌کند (۲). در مطالعات ایمنی‌شناسی به عمل‌آمده بر روی موشهای آزمایشگاهی، سلولهای T-helper 1(Th1) و T-helper 2(Th2) به عنوان زیر گروههای سلولهای T به ترتیب مسئول بروز ایمنی و شعله‌ور شدن بیماری شناخته شده‌اند. سلولهای Th1 باعث تولید اینترفرون‌گاما (IFN-γ) شده که این ماده باعث فعال کردن ماکروفاژها و کشتن انگلها می‌شود. سلولهای Th2، در عوض اینترلوکین 4(IL-4) و اینترلوکین 10(IL-10) را تولید می‌کنند که این مواد باعث وقفه فعالیت IFN-γ شده و باعث شعله‌ور شدن مجدد بیماری می‌شوند (۳). علاوه بر این نشان داده شده است که سلولهای Th1 واکنش افزایش حساسیت تأخیری وابسته به آنتی‌ژن خاص را ایجاد می‌نمایند (Antigen-Specific delayed-type hypersensitivity) (۴).

به هر حال مهمترین مکانیسمی که باعث تخریب و انهدام آماستیگوت‌های داخل سلولی می‌شود، بازوی مؤثر و نیرومند افزایش حساسیت تأخیری یعنی لنفوکینها و سلولهای T حساس شده می‌باشد (۲). واکنشهای افزایش حساسیت تأخیری که به وسیله آزمون پوستی سنجیده می‌شوند، روش عملی جهت بررسی ایمنی سلولی می‌باشند (۵). این آزمون جلدی به نام تست لیشمنین و یا مونته‌نگرو نامیده می‌شود.

این آزمون که میزان افزایش حساسیت را در سالک نشان می‌دهد، اولین بار در سال ۱۹۲۳ توسط Wagener در خرگوشهایی که قبلاً به وسیله انگلهای کشته شده تلقیح شده بودند، نشان داده شد. در سال ۱۹۲۹ آقای مونته‌نگرو این آزمون پوستی را جهت تشخیص سالک بکار گرفت و به همین علت این روش به نام ایشان معروف می‌باشد (۶).

واکنش در این آزمون شبیه آزمون توبرکولین است که ناشی از افزایش حساسیت تأخیری می‌باشد و معمولاً بعد از ۵-۴ هفته از شروع عفونت مثبت می‌شود و برای سالها نیز مثبت باقی می‌ماند. این آزمون در موارد لیشمانیوز منتشر جلدی منفی بوده و در مورد کالا آزار، طی فاز حاد بیماری منفی بوده و بعد از بهبودی مثبت می‌شود (۷).

انجام آزمون به صورت تزریق ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول آنتی‌ژن به طریقه داخل جلدی (Intradermal) و قرائت نتیجه بعد از ۷۲-۴۸ ساعت می‌باشد. آنتی‌ژن به صورتی استاندارد تهیه شده است که بروز سفتی ۵ میلیمتر و بیشتر، مثبت تلقی می‌شود. روش اندازه‌گیری نیز باید به صورت Ball-pointed باشد (۸). مثبت بودن آزمون به معنای وجود یک عفونت بالینی و تحت بالینی در زمان حال و یا در گذشته می‌باشد (۲).

هدف از این تحقیق تعیین اندازه واکنشهای ناشی از آنتی‌ژنهای Killed Leishmania Major (K.L.M) و Autoclaved Leishmania Major (A.L.M) در بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی (سالک)، مراجعه‌کننده به درمانگاههای پوست بیمارستانهای آموزشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در مهرماه ۱۳۷۵ و مقایسه آن با آزمون پوستی با لیشمنین استاندارد تهیه شده در انستیتو پاستور ایران بود.

بیماران و روش‌ها

الف) بیماران :

این مطالعه در ۵۰ بیمار مبتلابه سالک انجام گرفت. بیماران بطور تصادفی از بین افراد مبتلا به سالک مراجعه‌کننده به درمانگاههای پوست بیمارستانهای آموزشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان شامل درمانگاه بیمارستانهای امین و خورشید که بیماریشان با انجام آزمایش مستقیم و بررسی اسمیر محرز شده بود، انتخاب شدند. بیماران در گروههای سنی مختلف و از هر دو جنس بوده و برای اولین بار به بیماری سالک مبتلا شده و در ضمن قبلاً هیچ‌گونه درمانی برای بیماریشان دریافت نکرده بودند. هیچ یک از بیماران مبتلا به بیماری دیگری غیر از سالک نبودند و دارویی مصرف نمی‌کردند. بیماران به دو گروه سنی «۱۴-۱ سال» و «۱۵ سال و بیشتر» تقسیم شدند. این تقسیم‌بندی به دلیل شیوع بیشتر بیماری در بچه‌ها در نواحی هیپراندمیک (از جمله اصفهان) بود.

ب) آنتی‌ژنهای لیشمنین :

در این مطالعه از ۳ نوع آنتی‌ژن با سه کد متفاوت استفاده شد :

آنتی‌ژن A : این آنتی‌ژن ساخت انستیتو پاستور ایران بوده (Lot 121/2) و از سوی سازمان بهداشت جهانی (WHO) به عنوان لیشمنین مرجع جهت استفاده در تمام دنیا معرفی شده است. از این آنتی‌ژن به عنوان تست معتبر (Valid potency test) در این مطالعه استفاده شده است. روش تهیه آن بدین صورت است که بعد از برداشت آماستیگوت‌های L.Major MRHO/IR/75/ER از ضایعات بیماران مبتلا به سالک در ایران، ویرولانس انگل به وسیله پاساژ مکرر در موش BALB/C حفظ شده و سپس انگلها را در محیط کشت NNN وارد کرده و متعاقب آن به محیط کشت RPMI-1640 انتقال یافته‌اند. بعد از گذشت ۷-۵ روز تحت شرایط استریل، پروماستیگوت‌ها برداشت شده و دو بار در محلول استریل و فاقد مواد تب‌زای Phosphate Buffered Saline (PBS) شسته شده و مجدداً بعد از شمارش، در یک محلول PBS که حاوی ۰/۰۱ درصد تیمراسول است، با غلظت 1×10^{7} پروماستیگوت در میلی‌لیتر به حالت معلق در آورده شده است (۹).

آنتی‌ژنهای B و C : این دو آنتی‌ژن از سوی انستیتو رازی حصارک کرج تهیه شده و بنابه روش متفاوت ساخت آنها، به نامهای A.L.M و K.L.M خوانده شده‌اند. جهت تهیه این دو آنتی‌ژن نیز همانند آنتی‌ژن A از آماستیگوت‌های L.major MRHO/IR/75/ER استفاده شده که در محیط RPMI کشت داده شده و در طی روزهای ۲۰-۱۶ بعد از کشت به وسیلهٔ سانتریفوژ از محیط کشت برداشت و پنج بار در محلول PBS شسته شده‌اند. سپس تعدادی از این پروماستیگوت‌ها به وسیلهٔ محلول یک در ده‌هزار تیمراسول کشته شده و پنج‌بار Freeze-thaw شده و در نهایت با غلظت $1/2\times10^{7}$ پروماستیگوت در میلی‌لیتر و تحت عنوان K.L.M نگهداری شده‌اند (آنتی‌ژن C). تعداد دیگری از این پروماستیگوت‌ها بعد از قرار گرفتن در ویالهای کوچک با غلظت $1/2\times10^{7}$ پروماستیگوت در میلی‌لیتر، به مدت ۱۵ دقیقه در حرارت $121^{\circ}C$ و فشار ۱۵ پوند اتوکلاو شده تا انگلها کشته شوند. این آنتی‌ژن ALM نامیده می‌شود (آنتی‌ژن B) (۱۰).

هر سه آنتی‌ژن در ویالهای ۴ میلی‌لیتری و با سه کد C، B، A نگهداری شده و بعد از انجام آزمون پوستی بر روی بیماران و استخراج داده‌ها و تجزیه و تحلیل آنها، محقق از محتوای کد آنها مطلع شد.

ج) روش :

این مطالعه به روش دو سو کور (Double Blind) انجام شده است. قبل از شروع مطالعه، به منظور حصول اطمینان از عدم واکنش دو آنتی‌ژن A.L.M و K.L.M بر روی افراد سالم، یک مطالعه مقدماتی بر روی ۷ نفر از افرادی که سابقهٔ هیچ‌گونه تماسی با بیماری سالک نداشته و هم‌اکنون نیز مبتلا به آن نبودند و در منطقهٔ هیپراندمیک از نظر سالک زندگی نمی‌کردند انجام شد. سه آنتی‌ژن فوق‌الذکر به همان روش مورداستفاده برای سایر بیماران، در این افراد تزریق شد که بعد از گذشت ۴۸ ساعت، هیچ‌گونه واکنشی اعم از قرمزی یا سفتی حتی در حد خیلی کم نیز مشاهده نگردید.

بعد از انتخاب بیماران و اثبات لیشمانیوز جلدی در آنها برای کلیه بیماران پرونده‌ای تشکیل داده شده و مشخصات بیمار شامل نام و نام‌خانوادگی، آدرس، سن، جنس، تعداد ضایعات، شکل بالینی ضایعات، طول مدت بیماری و محل ضایعات در آن ثبت گردید. در این پرونده همچنین نتیجه آزمایش مستقیم و مصرف سایر داروها نیز قید شد.

بعد از تکمیل پرونده قبل از شروع هر نوع درمانی برای بیمار، آزمون جلدی با آنتی‌ژنهای فوق به صورت سه کد C، B، A بطور تصادفی بر روی قسمت جلویی بازو و ساعد چپ و ساعد راست صورت گرفت. ۰/۱ میلی‌لیتر از آنتی‌ژنها با استفاده از سرنگ توبرکولین (سرنگ انسولین) یک میلی‌لیتری و به صورت داخل جلدی تزریق شد. سپس دور هر تزریق با خودکار علامت گذاشته و بیماران جهت مطالعه و قرائت آزمون به مراجعه ۴۸ ساعت بعد راهنمایی شدند.

بعد از مراجعه محل هر تزریق مورد بازبینی قرار گرفته و در صورت وجود قرمزی و سفتی میزان آن به وسیله خط‌کش میلیمتری اندازه‌گیری و در پرونده بیمار ثبت گردید. روش اندازه‌گیری بدین صورت بود که از چهار جهت و در دو محور عمود بر هم در مرکز ضایعه، از خارج

از محل واکنش توسط خودکار خطی به طرف قرمزی و سفتی کشیده شده و به محض رسیدن به سفتی قطع شد (۱۱). سپس فاصله داخلی‌ترین نقطه‌های رسم شده در طول دو محور، به وسیله خط‌کش اندازه‌گیری شده و اندازه آنها به عنوان سفتی یا ایندوراسیون ثبت شد. حد مرزی بین قرمزی و پوست سالم نیز به عنوان اندازه قرمزی در طول دو محور عمود بر هم اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس معدل دو عدد محورهای افقی و عمودی به عنوان اندازه قرمزی و یا سفتی در پرونده بیمار ذکر گردید. در نهایت کلیه اطلاعات جمع‌آوری شده در پرونده‌ها که شامل ۵۰ نمونه موردبررسی بود، توسط نرم‌افزار EPI-6 وارد کامپیوتر شده و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-under window مورد تجزیه و تحلیل آماری با تست آماری آنالیز واریانس (ANOVA) قرار گرفت. تستهای Tukey و Duncan نیز بر روی مجموع داده‌ها صورت گرفت.

یافته‌ها

[illegible] مرد (۳۸٪) و [illegible] (۶۲٪) [illegible] چهار سال و مسن‌ترین [illegible] سن داشت. میانگین سنی بیماران ۸/۲۷±۱۳/۱۸ سال بود. افراد به دو گروه سنی «۱۴ - ۰ سال» و «۱۵ سال و بیشتر» تقسیم‌بندی شده که در هر گروه به ترتیب ۳۸ نفر (۷۶٪) و ۱۲ نفر (۲۴٪) قرار گرفتند.

افراد براساس تعداد ضایعات به دو گروه دارای ۲-۱ ضایعه شامل ۳۰ نفر (۶۰٪) و دارای بیش از دو ضایعه شامل ۲۰ نفر (۴۰٪) تقسیم شدند.

براساس طول مدت بیماری یعنی از زمان بروز ضایعات پوستی تا زمان مراجعه بیمار، افراد به سه گروه ۲۹-۱ روز و ۵۹-۳۰ روز و ۶۰ روز و بیشتر تقسیم شدند که در گروه اول ۲۳ نفر (۴۶٪) و در گروه دوم ۱۷ نفر (۳۴٪) و در گروه سوم ۱۰ نفر (۲۰٪) جای گرفتند.

براساس محل ضایعات افراد به پنج گروه شامل دست، پا، تنه، گردن و صورت تقسیم شدند که در ۱۷ نفر (۳۴٪) ضایعات عمدتاً بر روی دستها، در ۲۲ نفر (۴۴٪) ضایعات بیشتر بر روی پاها، در ۳ نفر (۶٪) ضایعات عمدتاً در تنه و در ۸ نفر (۱۶٪) ضایعات در روی صورت قرار داشتند.

شکل بالینی ضایعات در ۷ نفر (۱۴٪) عمدتاً به صورت پاپول و در ۲۲ نفر (۴۴٪) ضایعات عمدتاً از نوع پلاک و در ۲۱ نفر باقی مانده (۴۲٪) به شکل ندول بود. افراد مورد پژوهش در این گروه ضایعات وزیکولر و یا زخمی و یا اشکال اسپوروتریکوئید و لوپوئید نداشتند.

میانگین قرمزی و سفتی محل تزریق برای آنتی‌ژنهای مختلف در گروههای مختلف در جداول شماره ۱ و ۲ خلاصه شده است. برای تمام افراد مورد پژوهش، میانگین قرمزی و سفتی محل تزریق برای آنتی‌ژن A به ترتیب ۵/۲۸±۷/۵ میلیمتر و ۳/۳۱±۹/۵ میلیمتر و برای آنتی‌ژن B به ترتیب ۵/۰±۱۲ میلیمتر و ۳/۵۳±۱۱/۰ میلیمتر و برای آنتی‌ژن C به ترتیب ۷/۳۱±۱۶/۹۴ میلیمتر و ۴/۲±۱۹//۸۷ میلیمتر بود (نمودار ۱) (P-value < ۰/۰۰۰۱).

بحث

[illegible] به وسیله آزمون پوستی سنجیده می‌شود، یک [illegible] ابزار بررسی ایمنی در عفونت با انگل *Leishmania* می‌باشد. این آزمون در مطالعات همه‌گیرشناختی، ایمنی‌شناختی و همچنین در تشخیص بیماری در مناطقی که سالک یک مشکل عمده محسوب می‌شود، بسیار باارزش است (۲).

تا قبل از سال ۱۹۹۳، آنتی‌ژنهای متعددی برای آزمون پوستی وجود داشت تا این که از آن پس به دنبال بررسیهای به عمل آمده از سوی واحد تحقیقات بیماریهای گرمسیری وابسته به سازمان بهداشت جهانی (TDR/WHO) آنتی‌ژن لیشمنین استاندارد انستیتوپاستور ایران به عنوان استاندارد جهانی معرفی شد (۹). به دنبال تصمیم TDR/WHO مبنی بر تهیه واکسن در سال ۱۹۸۴ میلادی، تلاشهای زیادی در دنیا و از جمله ایران صورت گرفت و نهایتاً دو واکسن به نامهای K.L.M و A.L.M از سوی ایران عرضه شد که از طرف همان سازمان به عنوان مرجع در مطالعات معرفی گردید (۱۳ و ۱۲).

در این مطالعه بین اندازه واکنش این دو آنتی‌ژن اخیر، نه از جهت انجام واکسیناسیون، بلکه به جهت انجام آزمون پوستی، مقایسه‌ای صورت گرفته و از آنتی‌ژن لیشمنین استاندارد انستیتوپاستور ایران نیز به عنوان آزمون معتبر و ارزشمند (Valid potency test) کمک گرفته شده است. از آنجایی که این مطالعه بر روی بیمارانی که مبتلا به سالک بوده و بیماری آنها نیز با انجام لام مستقیم از زخم محرز شده، صورت گرفته است، در نوع خود اولین مطالعه‌ای است که انجام می‌گیرد.

در این مطالعه اختلاف معنی‌داری بین میانگین اندازه قرمزی و سفتی محل تزریق حاصل از آنتی‌ژنها برای هر آنتی‌ژن به تفکیک گروههای سنی و جنسی و تعداد ضایعات وجود نداشت (P-value=۰/۹۳۷ و P-value=۰/۹۲۹). بین میانگین اندازه قرمزی و سفتی محل تزریق حاصل از آنتی‌ژنها به تفکیک شکل بالینی ضایعات و طول مدت بیماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P-value=۰/۸۶۰ و P-value=۰/۸۹۵).

در تمام موارد ذکر شده در بالا، اگر چه عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌توانست ناشی از حجم کم نمونه باشد، ولی مطالعات قبلی نیز مؤید این نکته است که اصولاً گروه سنی، جنس، تعداد و محل ضایعات اثری بر روی آزمون پوستی مونته‌نگرو و آنتی‌ژن لیشمنین اعم از نوع آن ندارد (۹).

ولی در مجموع بین میانگین اندازه قرمزی حاصل از آنتی‌ژنها اختلاف معنی‌دار وجود داشته (P-value=۰/۰۰۰۱) و به این ترتیب با اطمینان ۹۵٪ می‌توان گفت که بالاتر بودن میانگین اندازه قرمزی ناشی از K.L.M (۱۶/۹۴±۷/۳۱mm) در مقایسه با میانگین اندازه قرمزی ناشی از A.L.M (۹/۱۲±۵/۰۳mm) معنی‌دار است. بین میانگین اندازه سفتی حاصل از آنتی‌ژنها نیز، اختلاف معنی‌دار بود. (P-value=۰/۰۰۰۱) به این ترتیب می‌توان گفت که بالاتر بودن میانگین اندازه سفتی K.L.M (۱۹/۸۷±۴/۲mm) در مقایسه با A.L.M (۱۱/۰±۳/۵۳mm) و در مقایسه با آنتی‌ژن لیمشنین انستیتوپاستور تهران (۹/۵±۳/۳۱mm) همگی معنی‌دار بوده و K.L.M می‌تواند قرمزی و سفتی بیشتر از دو آنتی‌ژن دیگر ایجاد نماید.

این نکته می‌تواند ناشی از غلظت بیشتر دو آنتی‌ژن K.L.M و A.L.M در مقایسه با آنتی‌ژن لیشمنین انستیتوپاستور تهران و یا ناشی از بیشتر بودن محتوای آنتی‌ژنیسیته K.L.M در مقایسه با A.L.M باشد که تمام این نکات با مطالعات بیوشیمیایی کاملاً محرز شده است (۱۳).

اگر چه در این مطالعه میانگین اندازه قرمزی و سفتی محل تزریق K.L.M بیش از A.L.M بود، ولی به دلیل روش تهیه و شرایط نگه‌داری ساده‌تر A.L.M نسبت به K.L.M و آنتی‌ژن لیشمنین انستیتوپاستور تهران (K.L.M بایستی در سرمای ۷۰°C - نگهداری شود در حالی که A.L.M در دمای ۴°C قابل نگهداری است)، استفاده از A.L.M به عنوان آزمون پوستی در مقایسه با K.L.M آسانتر و در مقایسه با آنتی‌ژن لیشمنین پاستور تهران، واکنش بیشتری نشان می‌دهد.

در خاتمه اقدامات زیر در مورد آزمون پوستی لیشمنین پیشنهاد می‌گردد:

۱ - استفاده از آنتی‌ژن A.L.M به عنوان آزمون پوستی مناسبتر از آنتی‌ژن لیشمنین انستیتوپاستور تهران می‌باشد.

۲ - نظر به حجم کم نمونه این مطالعه (۵۰ مورد)، توصیه به مطالعه‌ای مجدد با حجم نمونه‌ای در حدود ۵-۴ برابر حجم موجود می‌شود تا راجع به میانگین اندازه قرمزی و یا سفتی به تفکیک طول مدت بیماری و شکل بالینی ضایعات بتوان اظهارنظر قطعی‌تری کرد.

۳ - اگر چه اختلاف غلظت بین دو آنتی‌ژن A.L.M و K.L.M با آنتی‌ژن استاندارد انستیتوپاستور تهران چندان قابل ذکر نیست، ولی پیشنهاد می‌شود که جهت نتیجه‌گیری قطعی‌تر، این مطالعه با سه آنتی‌ژن فوق با یک غلظت کاملاً یکسان انجام شده و نتیجه موردبررسی قرار گیرد.

جدول ۱ – مقایسه میانگین اندازه قرمزی و سفتی محل تزریق آنتی‌ژنها برحسب جنس، گروه سنی، تعداد ضایعات و طول مدت بیماری (برحسب میلیمتر)

واکنش حاصل از تزریق آنتی‌ژن		جنس		گروه سنی (سال)		تعداد ضایعات سالک		طول مدت بیماری (روز)		
		مرد	زن	۰-۱۴	>۱۵	۱-۲	>۲	۱-۲۹	۳۰-۵۹	>۶۰
A	قرمزی	۵/۶۱	۸/۱۰	۷/۴۷	۶/۱۳	۸/۵۰	۵/۱۳	۵/۶۱	۸/۵۶	۸/۳۰
	سفتی	۹/۱۱	۹/۷۴	۹/۵۱	۹/۴۶	۹/۹۷	۸/۸	۸/۴۳	۹/۸۵	۱۱/۳۵
B	قرمزی	۶/۹۵	۴۰/۴۵	۹/۳۰	۸/۵۴	۹/۹۷	۷/۸۵	۷/۴۱	۹/۷۶	۱۱/۹۵
	سفتی	۱۰/۶۳	۱۰/۶۳	۱۰/۵۵	۱۲/۴۲	۱۰/۸۲	۱۱/۲۸	۹/۶۳	۱۱/۲۱	۱۳/۸۵
C	قرمزی	۱۴/۲۹	۱۸/۵۶	۱۷/۲۹	۱۵/۸۳	۱۸/۶۵	۱۳/۸۸	۱۴/۶۷	۱۷/۵۰	۲۱/۲۰
	سفتی	۱۸/۸۲	۱۸/۸۲	۱۹/۸۴	۱۹/۹۶	۲۰/۴۵	۱۹/۰۰	۱۷/۷۶	۲۰/۳۸	۲۳/۸۰
	جمع افراد	۱۹	۳۱	۳۸	۱۲	۳۰	۲۰	۲۳	۱۷	۱۰

A، B و C به ترتیب نمایانگر آنتی‌ژن لیشمنین استاندارد انستیتو پاستور ایران، آنتی‌ژن A.L.M و آنتی‌ژن K.L.M است.

جدول ۲ – مقایسه میانگین اندازه قرمزی و سفتی محل تزریق آنتی‌ژنها برحسب محل و شکل بالینی ضایعات (برحسب میلیمتر)

واکنش حاصل از تزریق آنتی‌ژن		محل ضایعات				شکل بالینی ضایعات		
		دست	پا	تنه	صورت	پاپول	پلاک	ندول
A	قرمزی	۷/۲۹	۷/۵۷	۷/۳۳	۵/۶۳	۷/۴۳	۹/۱۸	۴/۹۳
	سفتی	۸/۷۶	۱۰/۵۵	۸/۸۳	۸/۴۴	۷/۸۶	۱۱/۰۹	۸/۳۸
B	قرمزی	۸/۹۱	۱۰/۶۸	۸/۰۰	۷/۹۴	۶/۳۶	۱۱/۰۰	۸/۰۷
	سفتی	۹/۵۹	۱۲/۰۷	۱۱/۱۷	۹/۷۵	۸/۲۱	۱۱/۷۳	۱۱/۱۴
C	قرمزی	۱۵/۹۷	۱۸/۵۰	۱۵/۶۷	۱۵/۱۹	۱۳/۹۳	۲۰/۴۵	۱۴/۲۶
	سفتی	۱۹/۲۱	۲۱/۱۴	۱۸/۸۳	۱۸/۱۹	۱۷/۴۳	۲۱/۹۵	۱۸/۵۰
	جمع افراد	۱۷	۲۲	۳	۸	۷	۲۲	۲۱

A، B و C به ترتیب نمایانگر آنتی‌ژن لیشمنین استاندارد انستیتو پاستور ایران، آنتی‌ژن A.L.M و آنتی‌ژن K.L.M است.

منابع

1 - Momeni AZ, Aminjavaheri M.Clinical picture of cutaneous leishmaniasis in Isfahan, Iran. Int J Dermatol 1994; 33: 260-265.

2 - De-Rossel R A, Bray R S, Alexander J. The correlation between delayed hypersensitivity, lymphocyte activation and protective immunity in experimental murine leishmaniasis. Parasite Immunol 1987; 9: 105-15.

3 - Mauel J, Behin R. Immunity: Clinical and experimental in the leishmaniasis. In: Biology and medicine. London: Academic Press Inc., 1977; 731-791.

4 - Muller I, Louis J A. Immunity to experimental infection with leishmania major: generation of protective L3T4+T cell clones recognizing antigen associated with Ia gp antigens. Eur J Immunol 1989; 19: 865-71.

5 - Moll H, Rollinghoff M. Resistance to murine cutaneous leishmaniasis is mediated by TH1 cell, but disease-promoting CD4+ cells are different from TH2 cells. Eur J Immunol 1990; 20: 2067-74.

6 - Melo M N, Mayrink W, Dacosta C A, et al. Standardization of Montenegro antigen. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1977; 19: 161-164.

7 - Reed S G, Badaro R, Masur H, et al. Selection of a skin test antigen for American visceral leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg 1986; 35: 79-85.

8 - Weigle K A, Valderman L, Arias A L. Leishmanin skin test standardization and evaluation of safety, dose, storage, longevity of reaction and sensitization. Am J Trop Med Hyg 1991; 44: 260-271.

9 - Alimohamadian M H, Hakimi H, Nikseresht M. The preparation and evaluation of reference leishmanin from leishmania major for use in man for diagnostic and experimental purposes. MJIRI 1993; 7: 23-28.

10 - Hashemi-Fesharaki R, Ale-Agha S, Ahourai P, et al. Vaccine preparation and quality control of killed leishmania major. Arch Inst Razi 1992; 42: 39-50.

11 - Sokal JE. Measurment of delayed skin test responses. N Engl J M 1975; 293: 501-5.

12 - Sharif L, Fekri A, Alibakhsh M, et al. Double-blind randomised controlled vaccine trial of a single dose of killed leishmania major plus Bacillus of Calmette Guerin (BCG) against anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Bam, Iran. Lancet 1998; 351: 1540-43.

13 - Momeni AZ, Jalayer T, Emamjomeh M, et al. A randomised, double blind controlled trial of a killed L.major vaccine plus BCG against zoonotic cutaneous leishmaniasis in Iran. Vaccine 1998; 17: 466-472.