وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة القادسية
كلية العلوم
قسم علوم الحياة

دراسة تشخيصية وبائية لمرض اللشمانية الاحشائي Visceral Leishmaniasis في محافظة الديوانية

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية العلوم / جامعة القادسية

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير علوم في علوم الحياة / الطفيليات

من قبل

ساره فارس فتح الله الصياد

بكالوريوس علوم حياة/2008

إشراف

ا.م.د. نجم عبد الواحد عبد الخضر الحساني د. جواد كاظم كريف الجنابي

1432هـ 2011 م

((ٱقۡرَأۡ بِٱسۡمِ رَبِّكَ ٱلَّذِي خَلَقَ ۝١ خَلَقَ ٱلۡإِنسَٰنَ مِنۡ
عَلَقٍ ۝٢ ٱقۡرَأۡ وَرَبُّكَ ٱلۡأَكۡرَمُ ۝٣ ٱلَّذِي عَلَّمَ بِٱلۡقَلَمِ
۝٤ عَلَّمَ ٱلۡإِنسَٰنَ مَا لَمۡ يَعۡلَمۡ ۝٥))

صدق الله العلي العظيم

(العلق / 1-5)

الإهـــــداء

إلى /

حضرة سيد الخلق أجمعين..... محمد صلى الله عليه واله وسلم

من نور لي طريقي وانعم عليّ بالمحبة والدعاء ..... والدي

من تحمل ألآمي قبل ألآمها إلى من غمرتني بحنانها الدائم.....والدتي

من تحلو أيامي بوجودهم.....إخوتي احمد وأمين وعبد الله

اهدي ثمرة جهدي

ســـــاره

شكر و تقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة وأفضل الصلاة وأتم التسليم على نبينا محمد المبعوث رحمةً للعالمين وعلى آله الطيبين الطاهرين .

فمن نعم الباري جلّ وعلا أن وضع في طريقي نخبة من أصحاب النفوس الطيبة التي كانت خير عون وسند لي في مشوار بحثي والتي تستحق أن تذكر بكل ثناءٍ وامتنان .

وبادئ ذي بدء لا يسعني إلا أن أقدم الشكر والاحترام العظيمين إلى أستاذيّ الفاضلين الأستاذ المساعد الدكتور نجم عبد الواحد عبد الخضر والدكتور جواد كاظم كريف لاقتراحهما موضوع البحث والإشراف على الرسالة وإبداء الملاحظات القيمة لتطويرها .

كما أقدم الشكر والامتنان إلى رئاسة قسم علوم الحياة في كلية العلوم ممثلاً برئيس القسم الأستاذ المساعد الدكتور عبد الأمير سمير سعدون لما قدمه من تسهيلات لغرض إجراء البحث .

ويطيب لي أن أقدم مزيد من الشكر والعرفان لأسرتي العزيزة لتوفيرها الدعم المعنوي والمادي طيلة مدة الدراسة .

وأوجه الشكر والامتنان العظيمين للسيدة بان حمزة ، وسميرة رشيد ، وسوسن عبد الحسن منتسبات شعبة الفيروسات في مستشفى النسائية والأطفال التعليمي .

كما أقدم الشكر والعرفان إلى الدكتور فائق فتح الله كرم والأستاذ عباس حياوي وزهراء عبد الحمزة و رؤى ماجد لما قدموه لي من دعم علمي ومعنوي خلال مدة انجاز البحث .

ولا يفوتني أن أذكر كلمة شكر وتقدير لزملائي وزميلاتي من طلبة الدراسات العليا ، وعذرا لمن فاتني ذكره.

سـاره

إقرار المشرفين

نشهد أن رسالة الماجستير الموسومة بـ (**دراسة تشخيصية وبائية لمرض اللشمانية الأحشائي Visceral Leishmaniasis في محافظة الديوانية**) قد جرت تحت إشرافنا ، وهي جزء من نيل درجة الماجستير علوم في علوم الحياة / الطفيليات .

التوقيع :
الاسم : د. نجم عبد الواحد عبد الخضر
اللقب العلمي : أستاذ مساعد
العنوان : كلية العلوم / جامعة القادسية
التاريخ : / / 2011

التوقيع :
الاسم : د. جواد كاظم كريف
اللقب العلمي : دكتوراه أحياء مجهرية / وزارة الصحة
العنوان : مستشفى النسائية والأطفال التعليمي
التاريخ : / / 2011

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة إلى التوصية المقدمة من قبل الأستاذيّن المشرفيّن أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها و بيان الرأي فيها .

التوقيع :
الاسم : **د. عبد الأمير سمير سعدون**
اللقب العلمي : أستاذ مساعد
العنوان : كلية العلوم – جامعة القادسية
التاريخ : / /2011

إقرار المقوم اللغوي

اشـهد انـه قد تـم التقـويم اللغـوي لرسـالة الماجـستير للطالبـة (**سـارة فـارس فـتح الله الـصياد**) الموسـومة بـــ(**دراســة تشخيـصية وبائيــة لــداء اللــشمانية الأحــشائي Visceral Leishmaniasis في محافظة الديوانية**) ولأجله وقعت .

التوقيع :

الاسم : **د. فاضل ناهي عبد عون**

اللقب العلمي : أستاذ مساعد

العنوان : جامعة القادسية / كلية التربية / قسم اللغة العربية

التاريخ : / / 2011

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.

الخلاصة Summary

أجريت الدراسة الحالية لمعرفة انتشار مرض الحمى السوداء Black fever الذي يسببه الطفيلي *Leishmania donovani* في محافظة الديوانية ، إذ تم جمع العينات في مستشفى النسائية والأطفال التعليمي في المحافظة خلال المدة الزمنية الممتدة من 1 / 9 / 2009 ولغاية 31 / 8 / 2010 .

استندت النتائج التي قدمت في هذه الدراسة على تحليل 215 عينة دم لأطفال مشكوك بإصابتهم بمرض الحمى السوداء ، أجري عليها نوعان من الفحوصات المصلية، هما فحص الشريط المناعي Immunochromatograghy test وفحص الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA .

بينت نتائج الدراسة أن (83) عينة من مجموع العينات الكلي أظهرت تفاعلاً مصلياً موجباً وبنسبة (38.60%) باستعمال فحص الشريط المناعي ، بينما سجلت (85) عينة من مجموع العينات الكلي تفاعلاً موجباً وبنسبة (39.53%) باستعمال فحص الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم .

سجلت أعلى نسبة للإصابة بمرض اللشمانيه الأحشائي Visceral leishmaniasis في شهر كانون الاول وكانون الثاني وبنسب 75% و 80% على التوالي في كلا الفحصين ، كما أظهرت النتائج إن كلا الجنسين معرض للإصابة بالمرض بصورة متساوية ، وإن الفئة العمرية (1-3) سنة قد سجلت أعلى نسبة للإصابة بلغت (41.48%) في فحص الشريط المناعي ، و (42.96%) في فحص الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم .

أظهر التوزيع الجغرافي إن نسبة الإصابة بين سكان مناطق الريف كانت أعلى منها بين سكان المناطق الحضرية إذ بلغت (41.43%) في فحص الشريط المناعي ، و (42.45 %) في فحص الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم .

كما توزعت نسب الإصابة على أقضية المحافظة المختلفة ونواحيها وسجلت أعلى نسبة للإصابة في قضاء الحمزة في كلا الفحصين إذ بلغت 64% و 68 % في فحصي الشريط المناعي والـ ELISA على التوالي .

لوحظ خلال الدراسة الحالية وجود تغييرات في مكونات الدم للأطفال المصابين ، إذ سجل انخفاضاً معنوياً في مستوى خضاب الدم Hb وحجم الخلايا المرصوص PCV والعدد الكلي لخلايا الدم البيض WBCs ، أما بالنسبة لتوزيع فصائل الدم وعلاقتها بالإصابة فلم تظهر النتائج وجود فروق معنوية بين فصائل الدم للمصابين بمرض اللشمانية الاحشائي .

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.

قائمة المحتويات

الموضـــوع	الصفحة
قائمة الجداول	ر- س
قائمة الأشكال	ش
قائمة المختصرات	ص- ض
الفصل الأول : المقدمة	**2 -1**
الفصل الثاني : استعراض المراجع	**47 -3**
2-1 مراجعة تاريخية	3
2-2 تصنيف الطفيلي	4
2-3 أنواع مرض اللشمانية وتوزيعها	5
2-3-1 مرض اللشمانية الجلدي	5
2-3-2 مرض اللشمانية الجلدي المخاطي	6
2-3-3 مرض اللشمانية الاحشائي	6
2-4 شكل الطفيلي ودورة الحياة	8
2-4-1 الشكل عديم السوط	9
2-4-2 الشكل أمامي السوط	9
2-4-3 دورة الحياة	10
2-5 الوبائية	13
2-5-1 وبائية الكالازار في العراق	15
2-5-2 الصفات الوبائية للكالازار في العراق	17
2-6 طرائق الانتقال	21
2-7 الإمراضية	22

الموضـــوع	الصفحة
2-7-1 مرض اللشمانية المشترك مع فيروس HIV	25
2-8 المضيف الناقل	26
2-9 المضيف الخازن	27
2-10 المناعة	29
2-10-1 الاستجابة المناعية الخلطية	31
2-10-2 الاستجابة المناعية الخلوية	32
2-11 التشخيص	34
2-11-1 الأعراض السريرية	34
2-11-2 الفحوصات المختبرية	35
2-11-3 الفحوصات المناعية	37
2-11-4 الطرائق الجزيئية	44
2-12 علاقة مجاميع الدم بمرض اللشمانية الاحشائي	45
2-13 العلاج	46
الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل	**61- 60**
3-1 جمع العينات	48
3-2 الفحوصات المصلية	49
3-2-1 فحص الشريط المناعي	49
3-2-2 فحص الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA	50
3-3 فحوصات الدم	53
3-3-1 الطرائق اليدوية	53
3-3-2 الفحوصات الدموية التي أجريت باستعمال جهاز (Sysmex KX-12N)	55

الموضـــوع	الصفحة
3-4 اختبار مجاميع الدم	56
3-5 قياس الحساسية والخصوصية	56
3-6 التحليل الإحصائي	60
الفصل الرابع : النتائج	**78 -61**
4-1 الدراسة التشخيصية	61
4-2 الدراسة الوبائية	62
4-2-1 نسبة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب أشهر الدراسة باستعمال فحص الشريط المناعي Dipstick	62
4-2-2 نسبة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب الفئات العمرية باستعمال فحص الشريط المناعي Dipstick	63
4-2-3 نسبة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب الفئات العمرية والجنس باستعمال فحص الشريط المناعي Dipstick	63
4-2-4 نسبة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب طبيعة السكن باستعمال فحص الشريط المناعي Dipstick	64
4-2-5 نسبة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب طبيعة السكن والجنس باستعمال فحص الشريط المناعي Dipstick	65
4-2-6 نسبة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب مناطق السكن باستعمال فحص الشريط المناعي Dipstick	66
4-2-7 نسبة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب مناطق السكن والجنس باستعمال فحص الشريط المناعي Dipstick	68
4-2-8 نسبة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي بحسب أشهر الدراسة باستعمال فحص الـ ELISA	69

الموضـــوع	الصفحة
4-2-9 نسبة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب الفئات العمرية باستعمال فحص الـ ELISA	70
4-2-10 نسبة الاصابة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب الفئات العمرية والجنس باستعمال فحص الـ ELISA	70
4-2-11 نسبة الاصابة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب طبيعة السكن باستعمال فحص الـ ELISA	71
4-2-12 نسبة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب طبيعة السكن والجنس باستعمال فحص أل ELISA	72
4-2-13 نسبة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب مناطق السكن باستعمال فحص الـ ELISA	73
4-2-14 نسبة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب مناطق السكن والجنس باستعمال فحص أل ELISA	75
4-3 علاقة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي ببعض معايير الدم	76
4-4 علاقة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي مع فصائل الدم	77
4-5 الحساسية والخصوصية	78
الفصل الخامس **المناقشة**	**85 -79**
5-1 الدراسة الوبائية	79
5-1-1 علاقة الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي مع أشهر السنة باستعمال فحصي Dipstick و ELISA	79
5-1-2 العلاقة بين الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي والفئات العمرية باستعمال فحصي Dipstick و ELISA	80

الموضـــوع	الصفحة
5-1-3 العلاقـة بـين الإصـابة بمـرض اللـشمانية الاحـشائي والجـنس باستعمال فحصي Dipstick و ELISA	81
5-1-4 العلاقـة بـين الإصـابة بمـرض اللـشمانية الاحـشائي وطبيعـة مناطق السكن باستعمال فحصي Dipstick و ELISA	81
5-1-5 العلاقة بين الإصابة بمرض اللشمانية الأحشائي وفصائل الدم	82
5-2 تأثير الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي على بعض معايير الدم	83
5-2-1 مستوى خضاب الدم Hb	83
5-2-2 حجم الخلايا المرصوص PCV	84
5-2-3 العدد الكلي لخلايا الدم البيض WBCs	84
5-3 الحساسية والخصوصية	85
الاستنتاجات والتوصيات	**87-86**
المصادر	**119-88**
الملاحق	**123-120**
الخلاصة باللغة الانكليزية	**A – B**

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
.1	مجموع الإصابات بمرض اللشمانية الاحشائي VL المسجلة في محافظة الديوانية للمدة (2002 – 2009).	17
.2	أعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الأحشائي بحسب نوع الفحص .	61
.3	أعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب الفئات العمرية والجنس باستعمال فحص الشريط المناعي (Dipstick).	64
.4	أعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب طبيعة السكن (ريف ، مدينة) باستعمال فحص (Dipstick) .	65
.5	أعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب طبيعة السكن والجنس باستعمال فحص الشريط المناعي (Dipstick)	66
.6	أعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب مناطق السكن والجنس باستعمال فحص الشريط المناعي (Dipstick).	68
.7	أعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب الفئات العمرية والجنس باستعمال فحص الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA.	71

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
.8	أعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب طبيعة السكن (ريف ، مدينة) باستعمال فحص الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA.	72
.9	أعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة بمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب طبيعة السكن (ريف – مدينة) والجنس باستعمال فحص الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA.	73
.10	أعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب مناطق السكن والجنس باستعمال فحص الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA.	75
.11	معدل العدد الكلي لخلايا الدم البيض ومعدل حجم الخلايا المرصوصة ومعدل تركيز خضاب الدم في مجموعة المرضى ومجموعة السيطرة.	76
.12	أعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي موزعة بحسب فصائل الدم.	77
.13	الحساسية والخصوصية لفحص الـ ELISA	78

قائمة الأشكال

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
1-2	الطور غير المسوط لطفيلي اللشمانيا الاحشائية في نخاع العظم	10
2-2	الطور المسوط لطفيلي اللشمانيا الاحشائية في الوسط الزرعي NNN .	10
3-2	دورة حياة طفيلي اللشمانيا الاحشائية *Leishmania donovani*	12
1-3	استمارة الاستبانة	58
1-4	اعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي بحسب اشهر الدراسة باستعمال فحص الشريط المناعي	62
2-4	اعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي بحسب الفئات العمرية باستعمال فحص الشريط المناعي .	63
3-4	اعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي بحسب مناطق السكن (اقضية ، نواحي) باستعمال فحص الشريط المناعي .	67
4-4	اعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي بحسب اشهر الدراسة باستعمال فحص الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم .	69
5 -4	اعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي بحسب الفئات العمرية باستعمال فحص الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم .	70

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
4- 6	اعداد العينات المفحوصة والموجبة والنسب المئوية للحالات الموجبة لمرض اللشمانية الاحشائي بحسب مناطق السكن باستعمال فحص الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم .	74

List of abbreviations قائمة المختصرات

Abbreviate	Total Meaning
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
ATP	Adenosine Tri Phosphate
BGA	Blood Group Antigens
CD4	Cluster of differentiation 4
CD8	Cluster of differentiation 8
cu.mm	Cubic millimeter
CL	Cutaneous leishmaniasis
DTH	Delayed type Hypersensitivity
DNA	Dioxy nucleic acid
ELISA	Enzyme linked Immuno Sorbent assay
E. S. R.	Erythrocyte Sedimentation Rate
EDTA	Ethylene diamine Tetra Acetic acid
gp63	Glycoprotein 63
Hb	Haemoglobin
IgG	Immunoglobulin G

Abbreviate	Total Meaning
IgM	Immunoglobulin M
IFN-γ	Interferon-gamma
IL	Interleukin
LPG	Lipophosphoglycan
mg/dL	Milligram per deciliter
MCL	Muco- Cutaneous Leishmaniasis
N. K	Natural killer
NO	Nitric oxide
NNN	Novy, Mcneal, Nicolle medium
O. P.	Optical density
PCV	Packed cell volume
PCR	Polymerase chain reaction
PKDL	Post Kala-azar Dermal leishmaniasis
TNF	Tumor necrosis factor
VL	Visceral leishmaniasis
WBCs	White Blood Corpuscles
WHO	World Health Organization

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.

المقدمة : Introduction

يعد مرض اللشمانية Leishmaniasis من الأمراض الواسعة الانتشار خاصة في الدول النامية و دول العالم الثالث إذ ينتشر في مناطق ذوات ظروف بيئية مختلفة تنحصر بين مناطق صحراوية إلى غابات ممطـــرة أو مناطق ريفية أو حضرية (William *et al.*, 2000). لقد لوحظ في السنوات الأخيرة حدوث زيادة في أعداد المصابين وخاصة في الطبقة الفقيرة نتيجة نقص الوعي الصحي وانتشار الحشرة الناقلة ونقص في خدمات التشخيص والعلاج والوقاية (Chaves *et al.* , 2008) .

تسبب الأنواع التابعة لجنس *Leishmania* spp. أمراض مختلفة تختلف باختلاف أنواعها إذ تشمل إصابات جلدية بسيطة أو معتدلة إلى إصابات جهازية فتاكة قد تؤدي إلى الوفاة ،ينتقل مرض اللشمانية من شخص لأخـــر عن طريق لسعة الحـشرة الناقلـة المـصابة و هـي أنثـى ذبابـة الرمـل Sand fly مـن جـنس *Phlebotomus* spp. و قد تؤدي أفراد العائلة الكلبية والقـــوارض دور المضيف الخازن في دورة الحياة (شعبان ، 1986).

أشـارت الإحـصائيات المنـشورة إلـى حـدوث (1.5) مليـون إصـابة بمـرض اللـشمانية الجـــلدي (CL) Cutaneous Leishmaniasis و (500.000) إصـــابة بمرض اللشمانية الاحشائية (VL) Visceral Leishmaniasis سنوياً توزعت على (82) بلداً مختلفاً (WHO , 2009).

يتواجد طفيلي اللشمانيا بطورين مختلفين خلال دورة حياته الطور عديم السوط Amastigote الـذي يوجـد داخـل خلايـا المـضيف الفقـري و الطـور أمـامي الـسوط Promastigote الذي يوجد في الحشرة الناقلة (Arora & Arora , 2010) .

إن مرض اللشمانية الاحشائي أو ما يعرف بالحمى السوداء Black Fever أو الكالاآزار Kala-azar هو اشد أشكال مرض اللشمانية تأثيراً لأنه يستهدف الأحشاء الداخلية كالكبد Liver ، الطحال Spleen ، نخاع العظم Bone marrow و العقد اللمفاوية Lymph nodes مسببا أضرارا متفاوتة قد تؤدي بالشخص المصاب و

لاسيـــــــــما فـــي الحـــالات الـشـديدة و عنـــد إهمـــال العـــلاج إلـــى المـــوت (Gillespie & Pearson, 2001) .

ونظرا لأهمية الطفيلي من الناحية الصحية وانتشاره بشكل واسع في السنوات الأخيرة وظهور إصابات في محافظة الديوانية جاءت فكرة الدراسة الحالية التي هدفت إلى ما يأتي :-

1- دراسة مقارنة في تشخيص الإصابة بمرض اللشـــمانية الاحشائي بين طريقـتي اختبار الشريط المنـــاعي Immunochromatography test (Dipstick) وفحص الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم (Enzyme Linked (ELISA Immuno Sorbent Assay .

2- دراسة العوامل الوبائية المرتبطة بانتشار المرض (العمر ، الجنس ، أشهر الدراسة و مناطق السكن) .

3- تأثير الإصابة بالطفيلي على بعض معايير الدم .

4- علاقة الإصابة بالطفيلي مع أصناف الدم .

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.

2- استعراض المراجع Review of Literatures

2-1 مراجعة تاريخية : Historical Background

تعود معرفة مرض اللشمانية الاحشائي إلى عصور ما قبل التاريخ فقد ورد ذكره في كتاب أبو قراط في الطب Hippocrates (730 – 460 ق.م.) بأسم المطحول "وهو من كان به وجع وورم في طحاله وسال منه دم أحمر وظهر بيده قروح بيض لا تؤلم ويكون محموماً ويحدث ورم في الطحال بعد ورم الكبد " ، أما أبن سينا Avicenna (980 – 1037 م) ، فقد أشار للمرض في كتابه القانون في الطب بقوله " يسمن الطحال ويذبل البدن وتكون هناك حمى ويقل توالد الدم ويميل لون صاحبه إلى صفرةٍ وسواد " (الميالي ، 2004) .

شوهدت طفيليات اللشمانيا الاحشائية لأول مرة من قبل العالم William Leishman عام 1900 في طحال جندي انكليزي توفي في الهند على أثر حمى شديدة ، وظن أن هذه الطفيليات هي من المثقبيات Trypanosomes (Kreier,1977) ، وفي عام 1903 تمكن العالم Charles Donovan من تشخيص الطفيلي في عينة طحال مصاب بالمرض نفسه وأطلق عليها أسم Leishman- Donovan bodies وعدّها المسبب للمرض الذي أطلق عليه أسم الكالا آزار Kala- azar وهي لفظة هندية تعني المرض الأسود ، وفي العام نفسه تم تسمية الطفيلي بـ *Leishmania donovani* من قبل العالم Ross نسبة لمكتشفيه (Berman & Gorgi, 1988) .

أستطاع بعض العلماء تنمية الطفيلي على الأوساط الزرعية ووصفوا الشكل الأمامي السوط Promastigote للطفيلي (Gillespie & Pearson , 2001) .

وضح Wenyon في عام 1911 دور الحشرة الناقلة (ذبابة الرمل Sand fly) في نقل الإصابة وأكد Garnham في عام 1963 أن مرض اللشمانية من الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان ، إذ لوحظ وجود الطفيلي في المضائف الخازنة

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.

3- المواد و طرائق العمل Materials & Methods

3-1 جمع العينات

3-1-1 مجموعة المرضى

تم جمع (215) عينة دم من الأطفال المراجعين إلى مستشفى النسائية و الأطفال التعليمي في محافظة الديوانية و للمدة من 2009/9/1 ولغاية 8/31 /2010 الذين يعانون من الأعراض السريرية لمرض اللشمانية الاحشائي ، إذ جمعت نماذج الدم عن طريق البزل الوريدي باستعمال محقنة طبية بسحب (5) مل لكل طفل ، تم وضع (3) مل منها في أنابيب اختبار سعة (10)مل خالية من مانع التخثر (AFCO- DISPO, Jordan) ، و تم فصلها لاحقا باستعمال جهاز الطرد المركزي (KOKUSAN H-19F, Japan) و بسرعة (3000) دورة / دقيقة لمدة (15) دقيقة ثم حفظ المصل Serum في أنابيب اختبار كتب عليها اسم المريض و تاريخ السحب و حفظت بدرجة حرارة (-20) مْ لحين إجراء الفحوصات المصلية .

أما المتبقي من الدم (2) مل فقد وضع في أنابيب اختبار حاوية على مانع التخثر EDTA (AFCO- DISPO, Jordan) لغرض إجراء اختبارات معايير الدم وفحص مجاميع الدم .

3 -1- 2 مجموعة السيطرة

تم اختيار (20) عينة دم من أطفال أصحاء لا يحملون أي مؤشر لإصابتهم بمرض اللشمانية الاحشائي ومن الفئات العمرية لمجموعة المرضى أجريت عليهم الاختبارات المصلية واختبارات معايير الدم وعدت كمجموعة سيطرة .

أولا : الدراسة التشخيصية

3-2 الفحوصات المصلية Serological Test

لغرض التحري عن الإصابة بمرض اللشمانية الاحشائي عند الأطفال المراجعين إلى مستشفى النسائية والأطفال التعليمي في مدينة الديوانية، تم استعمال الفحوصات المصلية ،فحص الشريط المناعي Immunochromatography test(Dipstick) وفحص الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA).

3-2-1 فحص الشريط المناعي Dipstick test

يعد اختبار الشريط المناعي من الاختبارات النوعية السريعة في الكشف عن الأضداد المناعية Antibodies الخاصة بطفيلي اللشمانيا الاحشائية في المصل ، اجري هذا الفحص بحسب التعليمات المرفقة مع العُدة والمجهزة من (CTK Biotech,Inc., USA)، و يعتمد مبدأ الفحص على ارتباط المستضد المتواجد في منطقة خط الاختبار Test Lineعلى الشريط مع الأجسام المضادة الموجودة في المصل إذ تمتز المعقدات المناعية Immunocomplexes المتكونة مع الصبغة الكاشفة الموضوعة على خط الاختبار وهذا يؤشر النتيجة الموجبة للفحص .

3-2-1-1 مواد عدة الفحص Kit Materials

تضمنت العُدة الخاصة بالفحص المحتويات الآتية:-

1. أشرطة الفحص Test strips عددها 50 فحصاً .
2. محلول تخفيف النماذج Samples Diluent محلول ازرق اللون ، عبوتين بحجم 5 مل لكل عبوة .
3. قطارة بلاستيكية صغيرة Mini plastic dropper

2-1-2-3 طريقة العمل Procedure

1- أخرجت محتويات عدة الاختبار جميعها و تركت بدرجة حرارة الغرفة .

2- أخذت كمية مقدارها (5)مايكروليتر من المصل مع مراعاة عدم وجود الفقاعات الهوائية .

3- وضعت كمية المصل في المنطقة المخصصة لوضع المصل على شريط الاختبار و التي تسمى وسادة الفحص Sample pad .

4- أضيف مقدار قطرتين أي ما يعادل (100) مايكروليتر من محلول تخفيف النماذج Sample diluent إلى وسادة الفحص .

5- قرأت النتائج بعد (15) دقيقة إذ إن ظهور خط احمر اللون Red Line في منطقة خط الاختبار Test Line يؤشر النتيجة الموجبة للفحص ، أما عدم ظهور الخط فهذا يؤشر النتيجة السالبة للفحص و كما هو موضح في ملحق (1) .

2-2-3 فحص الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم ELISA

تم استعمال فحص ELISA في هذه الدراسة للكشف عن الضد المناعي IgG الخاص بطفيلي اللشمانيا الاحشائية ، تم إجراء هذا الفحص بحسب التعليمات المرفقة مع عدة الفحص والمجهزة من قبل (DIAGNOSTIC Automation , Inc , USA) ، ويعتمد مبدأ الفحص على التفاعل بين الأضداد المناعية الخاصة بالطفيلي مع المستضدات المثبتة في حفر wells أطباق مصنوعة من مادة polystyrene يضاف المصل المخفف إلى الحفر المغطاة بمستضدات الطفيلي ويحضن بعدها لمدة زمنية للسماح للأضداد المتواجدة في المصل بالارتباط مع المستضدات وبعد الحضن تغسل الحفر بمحلول الغسل لإزالة الأضداد غير المرتبطة ،ثم تضاف مادة الإنزيم المقترن لكي ترتبط بالمعقدات المناعية المتكونة وتحضن وتغسل مرة أخرى لإزالة الإنزيمات غير المرتبطة ، تضاف بعدها المادة الأساس(المادة الملونة)

إذ يتحول اللون عندها إلى الأزرق في حال وجود المعقدات الإنزيمية ثم يحضن ويضاف لها محلول إيقاف التفاعل بعدها تقرا بجهاز القراءة وتقارن مع عينات السيطرة .

3-2-2-1 مواد عدة الفحص Kit Materials

تضمنت عدة الفحص المواد الآتية :

1- طبق مسطح القعر (Flat Bottom Dish) ويكون مغطى بمستضد طفيلي اللشمانيا الاحشائي *Leishmania donovani* ويحتوي على (96) حفرة .

2- كاشف الأنزيم المقترن Enzyme conjugate reagent عبوة واحدة بحجم (11) مل .

3- مصل السيطرة الموجب Positive control مصل مخفف حاوي على أضداد الطفيلي عبوة واحدة بحجم (1) مل .

4- مصل السيطرة السالب Negative control مصل مخفف خالي من أضداد الطفيلي ، عبوة واحدة بحجم (1) مل .

5- محلول تخفيف النماذج Samples diluent solution : عبوتين بحجم (30) مل .

6- حامض إيقاف التفاعل Stop solution : عبوة واحدة بحجم (11) مل تحوي حامض الفسفوريك .

7- محلول الغسل المركز Wash buffer concentrates : عبوة واحدة بحجم (25) مل .

8- كاشف TMB reagents (TMB): عبوة واحدة بحجم (11) مل .

3-2-2-2 طريقة العمل Procedure

1- أخرجت محتويات عدة الاختبار جميعها و تركت بدرجة حرارة الغرفة .

2- حضر 500 مل من محلول الغسل و ذلك بإضافة (475) مل من الماء المقطر إلى (25) مل من محلول الغسل المركز (20x) Wash buffer .