

تشخیص تیفوئید با آزمایش تغییر یافته ویدال و مقایسه آن با آزمایش ویدال

شمس اله رفیعی*

خلاصه:

بعضی از گزارشات مختلف از نقاط اندمیک و غیر اندمیک جهان که به بررسی ارزش تشخیصی آزمایش ویدال پرداخته‌اند حاکی از آنست که آزمایش ویدال در تشخیص تب تیفوئید بخصوص در مناطق اندمیک، ارزش محدودی دارد. با توجه به این مسئله، کاربرد تکنیک حساستری که بتواند بر اساس روشهای سرولوژیکی تشخیص قطعی‌تر بیماری را میسر سازد، مورد توجه و مطالعه قرار گرفت. در روش تغییر یافته یا اصلاح شده آزمایش ویدال^۱ که توسط مؤلف این مقاله جهت تشخیص تب تیفوئید بکار رفته است، از محلول کلروفورم دار جهت رقیق نمودن آنتی‌ژن استفاده گردید.

آزمایش به دو روش فوق‌الذکر بر روی سرم ۵۷ نفر از بیماران تب دار تیفوئیدی و ۳۲ نفر بیماران تب دار غیر تیفوئیدی انجام شد. با روش تغییر یافته ۸۷/۷٪ بیماران تب دار تیفوئیدی از نظر آگلوتینین O تتری ≤ 320 و با روش متداول ۴۵/۶٪ بیماران تیفوئیدی تتری ≤ 320 را نشان دادند. نتایج بدست آمده حاکی از آنست که روش تغییر یافته می‌تواند بعنوان یک روش حساستر جایگزین روش متداول ویدال گردد.

واژه‌های کلیدی: سالمونلاتیفی، تب تیفوئید، ویدال، ویدال تغییر یافته

مقدمه:

تیفوئید بیماری حاد و اغلب شدیدی است که اولین تظاهرات بالینی آن غیر اختصاصی هستند و شامل تب، بیحالی، بی‌اشتهایی، سردرد و دردهای عضلانی می‌باشد (۲).

در سال ۱۸۸۶ ویدال^۳ آگلوتیناسیون باسیل را با سرم خون بیماران مبتلا به حصبه انجام داد و در سال ۱۹۰۰ شوت مولر^۴ راه تازه‌ای برای تشخیص بیماری بوسیله کشت خون عرضه داشت (۱ و ۲).

تب روده‌ای^۲ یک سندرم بالینی بوده که بطور کلاسیک توسط باکتری سالمونلا تیفی ایجاد میشود. دیگر سروتیپ‌های سالمونلا، گاهگاهی می‌توانند تصویر بالینی تب روده‌ای را ایجاد نمایند. تب روده‌ای که عامل آن سالمونلا تیفی باشد، تب تیفوئید یا حصبه خوانده میشود. تب روده‌ای ناشی از دیگر سروتیپ‌های سالمونلا را تب پاراتیفوئید یا شبه حصبه می‌نامند (۱).

* دانشکده پیراپزشکی

- 1- Modified widal test
- 2- Enteric Fever
- 3- Widal
- 4- Schott Mueller

دریافت مقاله: ۷۹/۱۲/۲۰ دریافت مقاله اصلاح شده: ۸۱/۱۲/۶ اعلام قبولی: ۸۱/۱۲/۲۵

- ۱- این آزمایش می‌بایست تحت شرایط استاندارد انجام شود. در صورت تغییر چنین شرایطی مثلاً استفاده از آنتی‌ژنهایی که از استاندارد ضعیفی برخوردارند می‌تواند نتایج غلطی را به همراه داشته باشد (۵ و ۷ و ۸ و ۶).
- ۲- تأثیرات درمانی آنتی‌بیوتیکها (۸).
- ۳- آگلوتینین‌های سالمونلایی ممکن است بعلت تحریکات کم آنتی‌ژنیکی، وجود نقص در تولید آنتی‌بادی یا فرار میکروارگانیسم از دسترس سیستم ایمنی، تولید نشوند (۶).
- ۴- مشکل عمده دیگر مربوط به نتایج آزمایش ویدال در مناطقی است که سالمونلاتیفی بصورت آندمیک حضور دارد. جایی که غالباً عیار طبیعی جامعه نامعلوم و ناشناخته می‌باشد (۸).

فرضیه پژوهش:

با توجه به اینکه بخش اعظم دیواره سلول‌های باکتری گرم منفی و در این رابطه باکتری سالمونلا از جنس ترکیبات لیپیدی است (۹) به نظر می‌رسد، استفاده از آنتی‌ژن رقیق شده کلروفرمی (بدلیل حل شدن ترکیبات لیپیدی توسط کلروفرم) می‌تواند در ایجاد واکنش آگلوتیناسیون تأثیر مثبت و افزایش دهنده داشته باشد.

نمونه گیری و روش آزمایش:

در این مطالعه تجربی آزمایش به دو روش بروی سرم دو گروه از بیماران جهت تعیین عیار آگلوتینین O (آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن پیکری سالمونلا) بشرح زیر انجام شد. گروه اول: شامل ۵۷ نفر بیمار (با میانگین سنی ۱۶ سال از ۳ تا ۴۵ سال) مبتلا به تب تیفوئید که

تشخیص قطعی تب تیفوئید براساس جدا نمودن ارگانیسم از خون، ادرار و دیگر مایعات بدن می‌باشد (۱). امکان بدست آوردن باکتری از خون در هفته اول بیشتر می‌باشد (۳).

در بیماری تیفوئید کشت خون در هفته اول ۹۰٪، در هفته دوم ۷۰٪ و در هفته سوم ۶۰٪ موارد مثبت می‌شود (۴).

در کشورهای در حال رشد که از نظر تیفوئید اندمیک محسوب می‌شوند. بعلت محدود بودن امکانات باکتریولوژیکی، عدم مراجعه بموقع بیماران به مراکز درمانی و استفاده غیر علمی از آنتی‌بیوتیکها قبل از تشخیص بیماری، کشت و جداسازی عامل بیماری همیشه امکان‌پذیر نیست. تحت این شرایط تشخیص براساس علائم بالینی و تیترا بالای آنتی‌بادی در سرم بیماران می‌باشد. آزمایش ویدال یا داشتن سابقه طولانی همچنان بطور وسیعی در تشخیص سرولوژیکی بیماری مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵).

با توجه به اینکه ادعا شده است که آنتی‌بادیهای سالمونلایی ممکن است بدنبال بیماریهای تسبدار غیر تیفوئیدی بطور غیر اختصاصی تیترا بالایی را نشان دهند، لذا مطالعه در مورد عیار آنتی‌بادیهای سالمونلایی در بیماران تسبدار غیر تیفوئیدی هر منطقه نیز حائز اهمیت بوده و تفسیر نتایج و تصمیم‌گیری در مورد اعلام عیار با ارزش تشخیصی می‌بایست با توجه به نتایج حاصل از چنین مطالعاتی صورت پذیرد (۶).

بعضی از گزارشات محققان مختلف که به بررسی ارزش تشخیصی آزمایش ویدال پرداخته‌اند، حاکی از آنست که این آزمایش در تشخیص تیفوئید بخصوص در مناطق اندمیک ارزش محدودی دارد (۵ و ۷ و ۸).

چندین فاکتور بر این عدم اعتماد در مورد آزمایش ویدال نسبت داده می‌شود:

تغییر یافته، آزمایشهای متعددی با استفاده از سرم بیماران تیفوئیدی و آنتی ژن H رقیق شده کلروفرمی توسط نگارنده مقاله انجام شد و لسی هیچگونه واکنش آنتی ژن آنتی بادی (واکنش آگلوتیناسیون) حتی در رقتهای $\frac{1}{40}$ و کمتر مشاهده نگردیده (آنتی ژن H، از جنس پروتئین و حساس می باشد که جهت پایداری، تثبیت و نگهداری آن و همچنین انجام آزمایش به روش ویدال از فرمالین استفاده می شود) بهمین علت فقط میزان آنتی بادی ضد آنتی ژن O، اندازه گیری شد.

نتایج:

توزیع فراوانی عیار آگلوتینین O در ۵۷ نفر بیمار تیفوئیدی در جدول (۱) نشان داده شده است.

روش اول $50 / 45\%$ بیماران عیاری $\leq \frac{1}{320}$ (مساوی یا بیشتر) داشتند، در صورتیکه در روش دوم (روش تغییر یافته) $87/7\%$ بیماران عیاری $\leq \frac{1}{320}$ را نشان دادند. همچنین توزیع فراوانی عیار آگلوتینین O در ۳۲ نفر بیماران تب دار غیر تیفوئیدی در جدول (۲) نشان داده شده است که در روش تغییر یافته $93/80\%$ بیماران عیاری $\geq \frac{1}{80}$ (مساوی یا کمتر) و $67/20\%$ بیماران عیار مساوی $\frac{1}{160}$ را نشان دادند.

بحث:

غالباً در اواخر هفته اول دوره حاد بیماری تیفوئید، آنتی بادهایی از نوع آگلوتینین ها، علیه آنتی ژن O در سرم ظاهر می گردد که بتدریج عیار آن افزایش

بیماریشان با کشت خون یا کشت مغز استخوان مثبت، تأیید شده بود. بخش اعظم این بیماران کسانی بودند که با تظاهرات بالینی تب تیفوئید در بخشهای عفونی و اطفال بیمارستانهای اهواز بستری شده بودند و تعداد کمی از آنها (۳٪) بیماران سرپائی بودند که کشت خون آنها نیز از نظر سالمونلا مثبت شده بود.

گروه دوم: شامل ۳۲ نفر بیمار (با میانگین سنی ۱۵ سال از ۱ سال تا ۴۰ سال) که بععلل بیماریهای تب دار غیر تیفوئیدی در بخشهای عفونی، اطفال و اورولوژی بیمارستانهای اهواز بستری شده بودند. برای انتخاب افراد این گروه وجود سابقه حداقل یک هفته تب و نتیجه کشت خون منفی از نظر سالمونلا لازم بود.

روش آزمایش:

۱- در روش متداول لوله ای ویدال از آنتی ژن رقیق شده به نسبت $\frac{1}{20}$ که با محلول آب نمک فیزیولوژی $0/5\%$ فرمله رقیق شده بود استفاده گردید.

۲- در روش اصلاح شده یا تغییر یافته لوله ای ویدال از آنتی ژن رقیق شده به نسبت $\frac{1}{20}$ که با محلول آب نمک فیزیولوژی $0/5\%$ کلروفرمی رقیق شده بود استفاده شد. تنها عامل تغییر داده شده در روش دوم نسبت به روش اول استفاده از کلروفرم بجای فرمل جهت تهیه نمودن محلول آنتی ژن بود.

سپس طبق روش معمول، رقت های مختلف سرم تهیه و مورد آزمایش قرار گرفتند.

در هر دو روش، آنتی ژن O (آنتی ژن پیکری) سالمونلا تیفی ساخت انستیتو پاستور ایران مورد استفاده قرار گرفت. لازم به ذکر است جهت اندازه گیری عیار آنتی بادی ضد آنتی ژن H، با روش

این مطالعه نشان می‌دهد که آزمایش ویدال با روش متداول از قدرت تشخیصی با حساسیت $71/4\%$ و از ویژگی 100% برخوردار می‌باشد و با روش تغییر یافته در مطالعه حاضر از حساسیت $87/7\%$ و از ویژگی $94/1\%$ برخوردار می‌باشد.

Collard و همکاران اظهار نمودند که عیار آگلوتینین‌ها که برای تشخیص تب تیفوئیدی یا پار تیفوئیدی با اهمیت تلقی می‌شود، نمی‌بایست عیاری باشد که در 5% و یا بیشتر، از جمعیت سالم وجود دارد (۱۰).

افزایش عیار مبنا از $\frac{1}{80}$ در روش متداول به

$\frac{1}{160}$ در روش تغییر یافته نشان از افزایش حساسیت آزمایش بوده که قابلیت نشان دادن مقدار کم آنتی‌بادی را دارا می‌باشد.

از طرف دیگر در تیرهای بالا، روش تغییر یافته، بوضوح از قابلیت بالایی برخوردار بوده و با نتایج بدست آمده در روش متداول اختلاف معنی داری را نشان می‌دهد، بطوریکه با روش متداول ۲۸

درصد بیماران تیفوئیدی عیار $\leq \frac{1}{640}$ (مساوی یا

بیشتر) و $10/5\%$ بیماران عیار $\leq \frac{1}{1280}$ را نشان دادند در صورتیکه در روش تغییر یافته $64/49\%$

بیماران (بیش از $2/3$ برابر) عیار $\leq \frac{1}{640}$ (مساوی

یا بیشتر) و $38/6\%$ بیماران عیار $\leq \frac{1}{1280}$ را نشان دادند.

نتایج بدست آمده حاکی از تأیید فرضیه پژوهش می‌باشد و در روش تغییر یافته حساسیت آزمایش نزدیک به دو برابر افزایش می‌یابد و گویای آنست که این روش می‌تواند بعنوان یک روش حساستر جایگزین روش متداول گردد.

می‌یابد (۱۰) و پس از ۳ تا ۵ هفته به حداکثر میزان خود می‌رسد (۱۱).

بطورکلی در بیماریهای عفونی قبل از دانستن عیار آنتی‌بادی افراد سالم در جامعه نمی‌توان از راه سرولوژی بوجود بیماری مربوطه پی‌برد و عیار آنتی‌بادی در مناطقی که حصبه و شبه حصبه بصورت اندمیک وجود دارد، بالا و در جوامعی که این امراض اندمیک نیستند، پائین است. با شرح مختصر فوق چنین استنباط می‌شود که معمولاً با یک آزمایش سرولوژی مشکل است به تشخیص بیماری پی برد، مگر اینکه عیار آنتی‌بادی مربوطه بسیار بالا باشد (۱۲).

Levine (۱۹۷۸) گزارش نمود که یک آزمایش ویدال تک در مناطق اندمیک که آنتی‌بادیهای سالمونلایی در جمعیت سالم از شیوع نسبتاً بالایی برخوردار هستند، کمک تشخیصی چندانی را نمی‌نماید (۱۲).

Thevanesam (۱۹۹۲) طی یک بررسی که در سریلانکا بعمل آورد، چنین استنباط نمود که حساسیت و ویژگی^۱ آزمایش ویدال که یک تست مهم در سریلانکا می‌باشد کاهش یافته و برای تشخیص تیفوئید به آزمایش دیگری نیاز می‌باشد (۱۳).

در مطالعه‌ای که بر روی بیماران تیفوئیدی و بیماران تب‌دار غیر تیفوئیدی به روش الیزا انجام شده نشان می‌دهد که الیزا در تشخیص آنتی‌بادیهای سالمونلایی (Anti - Lps) به میزان زیادی اختصاصی عمل نموده و از حساسیت 94% و ویژگی 92% برخوردار می‌باشد (۱۴).

I- Sensitivity and specificity

جدول شماره ۱ : توزیع عیار آگلوتینین O در ۵۷ نفر بیمار تیفوئیدی

عیار آنتی بادی	$\leq \frac{1}{40}$		$\frac{1}{80}$		$\frac{1}{160}$		$\frac{1}{320}$		$\frac{1}{640}$		$\geq \frac{1}{1280}$	
	تعداد	%	تعداد	%	تعداد	%	تعداد	%	تعداد	%	تعداد	%
روش اول *	۷	۱۲/۳	۱۵	۲۶/۳	۹	۱۵/۹	۱۰	۱۷/۵	۱۰	۱۷/۵	۶	۱۰/۵
روش دوم **	۲	۳/۵	۲	۳/۵	۳	۵/۳	۱۳	۲۲/۸	۱۵	۲۶/۳	۲۲	۳۸/۶

* روش اول : روش متداول لوله‌ای ویدال با استفاده از آنتی ژن رقیق شده فرمله

** روش دوم : روش لوله‌ای با استفاده از آنتی ژن رقیق شده کلروفرمی

جدول شماره ۲ : توزیع عیار آگلوتینین O در ۳۲ نفر بیمار تب دار غیر تیفوئیدی

عیار آنتی بادی	$\leq \frac{1}{40}$		$\frac{1}{80}$		$\frac{1}{160}$		$\frac{1}{320}$		$\frac{1}{640}$		$\geq \frac{1}{1280}$	
	تعداد	%	تعداد	%	تعداد	%	تعداد	%	تعداد	%	تعداد	%
روش اول *	۳۰	۹۳/۸	۲	۶/۲	-	-	-	-	-	-	-	-
روش دوم **	۲۳	۷۱/۹	۷	۲۱/۹	۲	۶/۲	-	-	-	-	-	-

* روش اول : روش متداول لوله‌ای ویدال با استفاده از آنتی ژن رقیق شده فرمله

** روش دوم : روش لوله‌ای با استفاده از آنتی ژن رقیق شده کلروفرمی

منابع:

Diagnosis of typhoid fever by the detection of anti - LSP & anti Flagellin antibodies by ELISA . Indian . j . Med Res . May (1998) , 107 , 204 - 207 .

6 - Senewiratene , M . A . , chir , M . B . B . , : Reassessment of the Widal test in the diagnosis of typhoid : j . Gastroentro (1977) , Vol 73 , No 2 , 233 - 236 .

7 - Shafie , S . : The Widal test in a normal healthy population in the Sudan . East African . J . Med , Vol 68 , No 4 , April (1991) .

8 - Pang , T . , puthcheary , S . D . , : Significance and value of the Widal test in the diagnosis of typhoid fever in an endemic area . J . clin . pathol , (1983) : (36) : 471 - 475 .

9 - Waker . T . S . : Microbiology . W . B . Sunders Company . (1998)

1- Mandell , G . L , Douglas , R . G . and Bennet , j . E : Principle and practice of infectious diseases , 3 rd . Churchill livingstone . (1990)

۲ - صائبی اسماعیل : بیماریهای عفونی در ایران ، انتشارات روزبهان (۱۳۶۵) .

3 - Muray , R . G . E . , Brenner . D . j . , Bryant , M . P . Holt , j . G , and et al : s manual of systematic bacteriology , 9th edition , Vol 1 , Williams & Bergey

Wilkins , Baltimor . (1984)

۴ - جلالی فرزاد : اصول طب داخلی هاریسون ،

بیماریهای عفونی باکتریال ، ویراست دوازدهم ،

ناشر مؤسسه تحقیقاتی و انتشاراتی ذوقی . تهران)

(۱۳۷۰) .

5 - Jesudason . MV , Sridharan . G , Arulselvan . R , Babu . PA , John . Tj :

- 12 – Levin , M . M . , Grdos O . , Gilman , R , H , : Diaganostic value of Widal test in areas endemic for typhoid fever . American . j . Trop . Med & Hyg , (1978) , (27) , 795 – 800 .
- 13 – Thevanesanm , V . An evaluation of the SAT in the diagnosis of thyphoid : Caylon , Med . j . (1992) - jun , 37 (2) , 48 – 51 .
- 14 – Quioga , T . , Goycoolea , M . , Tagie , R . , : Diagnosis of typhoid fever by two serologic methods , ELISA and Widal test . J . Diagn - Microbiol – infect – Dis . (1992) , NoV – Dec : 15 (8) ; 340 – 351 .

- ۱۰ – رضایی پورکار دوست ربابه : سرولوژی ، ایمونولوژی و ایمونوشیمی آزمایشگاهی انتشارات جهاد دانشگاهی (۱۳۶۹) .
- ۱۱ – رضائی حمید رضا ، اردهانی صدرالدین ، خوارزمی ارسلان ، معتمدی سیده ، واردی معصومه . اصول و تفسیر آزمایشهای ایمونولوژی ، انتشارات ، دانشگاه شیراز (۱۳۶۳) .