Archive of SID

پژوهش در پزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
سال ۲۶، شماره۳، صفحات ۲۰۳ ـ ۱۹۹ (پاییز ۱۳۸۱)

Original Article

بررسی قدرت روش ELISA در تشخیص نازایی با عامل لوله‌ای ناشی از کلامیدیا تراکوماتیس

دکتر لطیف گچکار*، دکتر نوید اسفندیاری**، کوروش حمزه‌ای***

* استادیار، گروه بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

** استادیار، گروه ایمنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

*** کارشناس پژوهشی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

خلاصه

سابقه و هدف: *یکی از علل ایجاد نازایی در زنان آسیب لوله‌های رحمی (عامل لوله‌ای) ناشی از روندهای عفونی بخصوص بعلت کلامیدیاتراکوماتیس است. لاپاراسکوپی در تشخیص اختلال لوله‌ای بهترین روش و در عین حال پرهزینه‌ترین و تهاجمی‌ترین روش است. استفاده از هیستروسالپنگوگرافی نیز همراه با موارد مثبت و منفی کاذب قابل توجه است. با توجه به پیشنهاد روش ELISA بعنوان روش ساده، نسبتاً ارزان، دقیق و غیرتهاجمی در تشخیصی نازایی با عامل لوله‌ای ناشی از کلامیدیاتراکوماتیس، در این تحقیق بدنبال تعیین قدرت این روش در تشخیص چنین عارضه‌ای هستیم.*

مواد و روشها: *این تحقیق به روش کارآزمایی بالینی از نوع تشخیص انجام گردید. برای این منظور ۶۵ خانم نازای مراجعه‌کننده به مرکز پزشکی صارم در سال ۱۳۷۷ بطور غیراحتمالی و آماده در دسترس انتخاب شده و توسط متخصص زنان و زایمان تحت لاپاراسکوپی قرار گرفتند. کلیشه‌های هیستروسالپنگوگرافی آنان توسط متخصص رادیولوژی مورد بررسی قرار گرفت و بر روی نمونه‌های سرمی افراد فوق روش ELISA به صورت کیفی برای تعیین IgA, IgM, IgG اختصاصی ضد کلامیدیاتراکوماتیس بکار گرفته شد.*

یافته‌ها: *نتایج نشان داد که در cut off برابر یا بیش از ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر و با معیار قرار دادن یافته‌های لاپاراسکوپی حساسیت، اختصاصیت، ارزش پیش‌گویی کنندگی مثبت و منفی و کارآیی IgM به ترتیب ۹٪، ۸۰٪، ۳۳٪، ۴۳٪ و ۴۱٪ و برای IgG به ترتیب ۳۱٪، ۶۷٪، ۵۲٪، ۴۵٪ و ۴۸٪ بود. با بالابردن cut off به سطح برابر یا بیش از ۲۰۰ واحد در میلی‌لیتر موارد فوق برای IgG به ترتیب ۲۳٪، ۹۳٪، ۸۰٪، ۵۱٪ و ۵۵٪ بدست آمد. با تغییر معیار به یافته‌های هیستروسالپنگوگرافی در cut off برابر یا بیش از ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر موارد فوق برای IgM به ترتیب ۱۵٪، ۸۴٪، ۲۵٪، ۷۴٪ و ۶۷٪ و برای IgG به ترتیب۴۶٪، ۷۴٪، ۳۸٪، ۸۰٪ و ۶۷٪ محاسبه شد. در Cut off برابر یا بیش از ۲۰۰ واحد در میلی‌لیتر موارد فوق برای IgG به ترتیب ۲۳٪، ۸۴٪، ۳۳٪، ۷۶٪ و ۶۹٪ حاصل شد. در هیچکدام از افراد مورد بررسی سطح مثبتی از IgA بدست نیامد.*

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: *در cut off برابر ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر، IgG و IgM در مقایسه با لاپاراسکوپی از حساسیت و ارزش پیش‌گویی کنندگی مثبت و کارآیی مناسب برای تشخیص نازایی با عامل لوله‌ای ناشی از کلامیدیا تراکوماتیس برخوردار نبوده ولی اختصاصیت آنها قابل توجه است. با بالا بردن cut off به ۲۰۰ واحد در میلی‌لیتر اختصاصیت و ارزش پیش‌گویی کنندگی مثبت IgG بصورت قابل توجهی افزایش می‌یابد ولی حساسیت و کارآیی آن علیرغم تغییر محسوس هنوز به سطح مناسب ارتقا پیدا نمی‌کند. در Cut off برابر ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر و در مقایسه با هیستروسالپنگوگرافی فقط اختصاصیت IgG و IgM و نیز ارزش پیش‌گویی کنندگی منفی IgM در سطح مناسبی قرار می‌گیرد. با تغییر cut off به ۲۰۰ واحد در میلی‌لیتر نیز تغییر محسوسی در این یافته‌ها بدست نیامد.*

واژگان کلیدی: *کلامیدیا تراکوماتیس، نازایی با عامل لوله‌ای، آنتی‌بادی ضد کلامیدیا، الایزا.*

مقدمه

ناباروری مشکلی است که حداقل ۱۰٪ زوج‌ها به آن مبتلا هستند. این مشکل در زنان نازا بر اساس ناحیه آناتومیک به نازایی با و بدون آسیب لوله‌های فالوپ تقسیم شده که نوع همراه با آسیب‌لوله‌ای آن سهم قابل توجهی (۳۸ـ۱۰درصد) را تشکیل می‌دهد (۲،۱). مهمترین عامل ایجاد آسیب در لوله‌های فالوپ را روند التهابی و عفونی می‌دانند (۴،۳). کلامیدیا تراکوماتیس یکی از مهمترین ارگانیسم‌های

www.SID.ir

Archive of SID

ایجادکننده چنین آسیبی شناخته شده است (۴ـ۱).

استفاده از دو روش تهاجمی لاپاراسکوپی و هیستروسالپنگوگرافی بصورت مجزا و یا توأمان برای تشخیص آسیب در لوله‌های رحمی توصیه شده است. روش اول انتخابی بوده ولی دارای هزینه زیادی است و هیستروسالپنگوگرافی نیز دارای نتایج مثبت و منفی کاذب قابل توجهی است (۳ـ۱).

برای پی بردن به دخالت کلامیدیا تراکوماتیس گرچه جداکردن آن در محیط‌های کشت سلولی بهترین روش می‌باشد ولی بعلت وجود مشکلات فراوان این روش فقط در معدودی از آزمایشگاه‌های مجهز تحقیقاتی قابل انجام است (۵،۶). از طرفی بعلت بدون علامت بودن اکثریت موارد عفونت و نیز تداوم وجود آنتی‌بادی متعاقب آن، روش ایمنولوژی می‌تواند جایگزین مناسبی برای کشت بوده و به تبع آن جهت ردیابی کلامیدیاتراکوماتیس در آسیب لوله‌ای بکار گرفته شود (۴،۶). در این مورد اختلاف نظر وجود دارد بطوریکه برخی محققین کارایی روش ایمنولوژی و هیسترسالپنگوگرافی را یکسان دانسته (۳) و عده‌ای دیگر اختلاف شدید و واضحی بین دو روش فوق در تشخیص نازایی بعلت آسیب لوله‌ای قائل هستند (۹ـ۷).

هدف از این مطالعه تعیین حساسیت، اختصاصیت، ارزش پیش‌گویی کنندگی مثبت و منفی و کارآیی روش ایمنولوژی ELISA در تشخیص نازایی با عامل لوله‌ای ناشی از کلامیدیا تراکوماتیس در مقایسه با لاپاراسکوپی و هیستروسالپنگوگرافی می‌باشد.

مواد و روشها

این تحقیق به روش کارآزمایی بالینی از نوع تشخیصی انجام گردید. در این تحقیق بعد از اخذ رضایت شفاهی، زنان نازای مراجعه‌کننده به مرکز پزشکی صارم بر اساس اندیکاسیون تعیین شده توسط متخصص زنان و زایمان تحت لاپاراسکوپی قرار گرفتند. در صورت وجود چسبندگی‌های fimmbrial, peritubal, periovarian و یا وجود انسداد در یک یا هر دو لوله فالوپ نتیجه لاپاراسکوپی غیرطبیعی تلقی گردید.

کلیشه‌های هیستروسالپنگوگرافی بیماران توسط رادیولوژیست مشخص مورد بررسی قرار گرفت. در صورت عدم عبور ماده حاجب از یک یا هر دو لوله و یا عدم وجود علایمی از پخش ماده حاجب در حفره صفاقی و یا عدم وجود نشانی از ماده حاجب در کلیشه‌های تأخیری نتیجه هیستروسالپنگوگرافی غیرطبیعی تلقی گردید.

از هر کدام از افراد فوق ۱۰ میلی‌لیتر خون جهت بررسی وجود آنتی‌بادی‌های ضدکلامیدیا تراکوماتیس (IgG, IgM, IGA) اخذ شده و به آزمایشگاه گروه ایمنولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی منتقل گردید. تمام نمونه‌های سرمی به روش ELISA و با استفاده از کیت کارخانه IBL هامبورگ آلمان مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس توصیه کارخانه سازنده کیت برای IgM غلظت برابر یا بیش از ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر و برای IgG و IgA یکبار غلظت مشابه و بار دیگر غلظت برابر و یا بیش از ۲۰۰ واحد در میلی‌لیتر بعنوان cut off مثبت بودن در نظر گرفته شد.

اطلاعات بدست آمده با استفاده از آزمونهای آماری جهت محاسبه حساسیت، اختصاصیت، ارزش پیش‌گویی‌کنندگی مثبت (PPV)، ارزش پیش‌گویی‌کنندگی منفی (NPV) و کارآیی (efficiency) جستجوی ایمنوگلوبولین‌ها با روش ELISA با معیار قرار دادن نتایج لاپاراسکوپی و / یا هیستروسالپنگوگرافی بعنوان golden standard مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

در این تحقیق ۶۵ زن نازا با میانگین سنی ۵/۴۳ ± ۳۰ سال، مدت ازدواج ۷/۸±۴/۴ سال و طول دوره نازایی ۶/۸±۱/۴ سال مورد بررسی قرار گرفتند. از این تعداد در ۳۵ نفر (۵۴٪) نتیجه لاپاراسکوپی غیرطبیعی بود. با در نظر گرفتن cut off برابر یا بیش از ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر، ۲۱ نفر (۳۲٪) از نظر IgG و ۹ نفر (۱۴٪) از نظر IgM اختصاصی کلامیدیا تراکوماتیس مثبت بودند. هیچکدام از بیماران دارای تیتر مثبت IgA نبودند. در مجموع ۱۱ نفر (۱۷٪) از بیماران نتیجه لاپاراسکوپی غیرطبیعی همراه تیتر مثبت IgG داشتند و ۳ نفر (۵٪) دارای لاپاراسکوپی غیرطبیعی همراه تیتر مثبت IgM بودند. حساسیت، اختصاصیت، PPV، NPV و کارآیی IgG در مقایسه با نتایج لاپاراسکوپی به ترتیب ۳۱٪، ۶۷٪، ۵۲٪، ۴۵٪ و ۴۸٪ بدست آمد. این شاخص‌ها برای IgM به ترتیب ۹٪، ۸۰٪، ۳۳٪، ۴۳٪ و ۴۱٪

www.SID.ir

Archive of SID

محاسبه شد. با افزایش cut off مثبت بودن IgG به ۲۰۰ واحد در میلی‌لیتر، ۱۰ نفر از بیماران دارای تیتر مثبت شدند که در ۸ نفر (۱۲٪) از آنان تیتر مثبت IgG همراه نتیجه غیرطبیعی لاپاراسکوپی بود که در این صورت حساسیت، اختصاصیت، PPV، NPV و کارآیی این ایمنوگلوبولین به ترتیب ۲۳٪، ۹۳٪، ۸۰٪، ۵۱٪ و ۵۵٪ محاسبه شد.

کلیشه‌های هیستروسالپنگوگرافی ۵۱ نفر از افراد مورد بررسی در دسترس بود. این افراد دارای میانگین سنی ۶/۳ ± ۳۰/۶ سال، طول مدت ازدواج ۴/۵ ± ۸ سال و طول دوره نازایی ۳ /۴ ± ۶/۷ سال بودند. در ۱۳ نفر (۲۵٪) آنان نتیجه هیستروسالپنگوگرافی غیرطبیعی بود. در cut off برابر یا بیش از ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر ۱۶ نفر (۳۱٪) از نظر IgG و ۸ نفر (۱۶٪) از نظر IgM اختصاصی به کلامیدیا تراکوماتیس مثبت بودند. هیچکدام از بیماران دارای تیتر مثبت IgA نبودند. در مجموع ۶ نفر (۱۲٪) دارای هیستروسالپنگوگرافی غیرطبیعی و تیتر مثبت IgG و ۲ نفر دارای هیستروسالپنگوگرافی غیرطبیعی و تیتر مثبت IgM بودند. بر این اساس حساسیت، اختصاصیت، PPV، NPV و کارآیی IgG در مقایسه با هیستروسالپنگوگرافی به ترتیب ۴۶٪، ۷۴٪، ۳۷٪، ۸۰٪ و ۶۷٪ محاسبه شد. این شاخص‌ها برای IgM به ترتیب ۱۵٪، ۸۴٪، ۲۵٪، ۷۴٪ و ۶۷٪ محاسبه گردید. با افزایش cut off مثبت بودن IgG به حد ۲۰۰ میلی‌لیتر نتیجه مثبت در ۹ نفر بدست آمد. ۳ نفر (۸٪) از ۵۱ بیمار فوق هم دارای نتیجه غیرطبیعی هیستروسالپنگوگرافی بودند و هم تیتر مثبت IgG را داشتند که بر این اساس حساسیت، اختصاصیت، PPV، NPV و کارآیی تیتر برابر یا بیش از ۲۰۰ واحد در میلی‌لیتر IgG برای تشخیص نازایی با عامل لوله‌ای ناشی از کلامیدیا تراکوماتیس در مقایسه با هیستروسالپنگوگرافی به ترتیب ۲۳٪، ۸۴٪، ۳۳٪، ۷۶٪ و ۶۹٪ محاسبه شد.

بحث

در این تحقیق مشخص شد که در cut off برابر ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر IgG و IgM در مقایسه با لاپاراسکوپی از حساسیت، ارزش پیش‌گویی‌کنندگی مثبت و کارآیی مناسب برای تشخیص نازایی با عامل لوله‌ای ناشی از کلامیدیا تراکوماتیس برخوردار نبوده ولی اختصاصیت آنها قابل توجه است. با بالابردن عیار IgG به cut off ۲۰۰ واحد در میلی لیتر اختصاصیت و ارزش پیش‌گویی کنندگی مثبت آن بصورت قابل توجهی افزایش می‌یابد ولی حساسیت و کارآیی آن علیرغم تغییر محسوس هنوز به سطح مناسب ارتقاء پیدا نمی‌کند.

در cut off ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر و در مقایسه با هیستروسالپنگوگرافی فقط اختصاصیت IgG و IgM و نیز ارزش پیش‌گویی‌کنندگی منفی IgM در سطح مناسبی قرار می‌گیرد. با تغییر عیار IgG به cut off ۲۰۰ واحد در میلی‌لیتر تغییر محسوس در این یافته‌ها ایجاد نمی‌شود.

Tanikawa و همکارانش در سال ۱۹۹۶ نشان دادند که IgG و IgA اختصاصی ضد کلامیدیا تراکوماتیس با میزان چسبندگی آدنکس‌ها ارتباط داشته و نیز اختصاصیت و ارزش پیش‌گویی‌کنندگی مثبت آنها با افزایش تیتر بالا می‌رود (۱۱). این یافته‌ها نتایج بررسی ما را مبنی بر افزایش قابل قبول اختصاصیت و ارزش پیش‌گویی‌کنندگی مثبت IgG در تیتر ۲۰۰ واحد در میلی‌لیتر تأیید می‌کند در حالیکه نتایج این دو تحقیق در مورد IgA با یکدیگر متفاوت می‌باشد. چنین تفاوتی را می‌توان بر اساس مطالعه Samra و همکارانش در سال ۱۹۹۴ مبنی بر اینکه IgA سرمی در زنان نازا و زنان سالم بندرت یافته می‌شود (۱۰) و نیز تحقیق Robertson و همکارانش دال بر اینکه تعیین IgA سرمی ضد کلامیدیا برای افتراق نازایی از باروری کمک کننده نبوده و تنها در تشخیص عفونت حاد از جمله سالپنژیت سودمند است (۸) و نیز مطالعه دیگر Samra در سال ۱۹۹۲ که حاکی از وجود ارتباط مستقیم بین حضور آنتی‌ژن ارگانیسم با IgA سرمی است (۵)، توجیه نمود.

از طرفی با توجه به اینکه آسیب لوله‌ای در نتیجه ازمان عفونت کلامیدیایی رخ می‌دهد و اینکه در هیچکدام از بیماران مورد بررسی ما یافته لاپاراسکوپیک مبنی بر عفونت حاد وجود نداشت، علت منفی شدن همه نمونه‌ها از نظر IgA اختصاصی توجیه‌پذیر بوده و ناشی از عدم ابتلای افراد به شکل حاد و فعال بیماری تلقی می‌شود. تعداد کم موارد مثبت IgM (آنهم در تیترهای پائین) نیز تأییدی بر مطلب فوق می‌باشد.

با توجه به تحقیق Meikle و همکارانش در سال ۱۹۹۴ که حساسیت و ارزش پیش‌گویی‌کنندگی

www.SID.ir

Archive of SID

هیستروسالپنگوگرافی را در مقایسه با لاپاراسکوپی به ترتیب ۷۸٪ و ۸۵٪ اعلام کرده‌اند (۳) و با توجه به اینکه روش انتخابی برای تشخیص نازایی با عامل لوله‌ای لاپاراسکوپی بوده و هیستروسالپنگوگرافی دارای قدرت پائین برای تشخیص این عارضه در مقایسه با لاپاراسکوپی است (۳ـ۱) و با توجه به اینکه در تحقیق حاضر فقط اختصاصیت قابل قبول برای IgG و IgM و نیز ارزش پیش‌گویی کنندگی منفی برای IgM در مقایسه با هیستروسالپنگوگرافی بدست آمده است لذا می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از روش ELISA در تشخیص نازایی با عامل لوله‌ای حداکثر می‌تواند جایگزینی برای هیستروسالپنگوگرافی در نظر گرفته شود. البته در تحقیق Yuonne و Dabekausen حساسیت و اختصاصیت IgG اختصاصی ضد کلامیدیا تراکوماتیس بیش از هیستروسالپنگرافی اعلام شده است که با تحقیق ما و تحقیقات اشاره شده در بالا مغایرت دارد که علت احتمالی آن تفاوت در نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیقات می‌باشد.

بر اساس یافته‌های بدست آمده از این تحقیق علیرغم وجود اختصاصیت قابل قبول روش ELISA در جستجوی IgG و IgM اختصاصی کلامیدیا تراکوماتیس (در عیار ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر و بالاتر) و اختصاصیت و ارزش پیش‌گویی‌کنندگی مناسب این روش برای IgG (در عیار ۲۰۰ واحد در میلی‌لیتر و بالاتر) در مقایسه با لاپاراسکوپی و نیز علیرغم اختصاصیت قابل قبول ELISA برای یافتن IgG و IgM اختصاصی کلامیدیا تراکوماتیس (در عیار ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر و بالاتر) در مقایسه با هیستروسالپنگوگرافی با توجه به حساسیت و کارآیی پائین روش فوق چنین استنباط می‌گردد که روش ایمنولوژیک ELISA نمی‌تواند جایگزینی برای لاپاراسکوپی به منظور بررسی نازایی با عامل لوله‌ای ناشی از کلامیدیاتراکوماتیس گردد. جهت اجتناب از اقدامات تهاجمی بیشتر در زنان نازا زمانیکه انجام لاپاراسکوپی الزامی است شاید بتوان استفاده از روش ایمنولوژیک را برای بررسی ردپای کلامیدیا تراکوماتیس مدنظر قرار داد.

محدودیت‌های تحقیق

مهمترین محدودیت در این تحقیق عدم تجانس در روش‌های تشخیص مورد مقایسه می‌باشد. لاپاراسکوپی و هیستروسالپنگوگرافی روشهایی برای تشخیص آناتومیکی بوده در حالیکه ELISA روش تشخیصی ایمنولوژیک می‌باشد. فقط در جوامعی که عفونت کلامیدیاتراکوماتیس از شیوع بسیار زیادی برخوردار بوده و شیوع سایر عفونتها ناچیز باشد، می‌توان روشهای تشخیصی فوق را قابل مقایسه با هم دانست.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه بیماران مورد بررسی در این تحقیق و آقای دکتر ابوطالب صارمی و پرسنل مرکز جراحی محدود صارم به سبب همکاری صمیمانه و نیز از آقای دکتر نوذر گیوتاج رئیس آزمایشگاه تحقیقات ایمنولوژی بیمارستان قلب شهید رجایی به سبب ایجاد تسهیلات برای انجام آزمایشات تشکر و قدردانی می‌شود.

REFERENCES

1- Hornstein MD, Chust DS. Infertility. In: Berek JS, Adashi EY, Hillard PA (eds.), Novak's Textbook of Gynecology. 12th ed. Williams and Wilkins, New York. 1996; p:915-62.

2- Decherney AH. Infertility. In: Weingold AB, Gershenson DM (eds.). Principles and Practice of Clinical Gynecology. 2nd ed. Churchill Livingston, New York. 1990; p: 403-17.

3- Meikle SF, Zhang X, Marine WM, Calonge BN, Hamman RF, Betz G. Chlamydia trachomatis antibody titers and hysterosalpingography in predicting tubal disease in infertile patients. Fertil Steril 1994; 62(2): 305-12.

4- Dabekausen YA, Evers JL, Land JA, Stals FS. Chlamydia trachomatis antibody testing is more accurate than hysterosalpingography in predicting tubal factor infertility. Fertil Steril 1994; 61(5): 833-7.

5- Samra Z, Soffer Y. IgA antichlamydial antibody as a diagnostic tool for monitoring of active chlamydial infection. Eur J Epidemiol 1992 ; 8(6): 882-4.

6- Mead PB. Infections of the female pelvic. In: Mandell, Dauglas, Bennett (eds.). Principle and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Churchill Livingstone, New York. 2000; p:1235-42.

www.SID.ir

Archive of SID

7- Minassian SS, Wu CH. Chlamydia antibody by enzyme-linked immunosorbent assay and associated severity of tubal factor infer infertility. Fertil steril 1992; 58(6): 1245-7.

8- Robertson JN, Ward ME, Conway MD, Caul EO. Chlamydial and gonococcal antibodies in sera of infertile women with tubal obstruction. J Clin Pathol 1987; 40(4): 377-83.

9- Dieterle S, Mahong JB, Stibbe WW, et al. Chlamydial immunoglobulin G and A in serum and semen are not associated with the presence of chlamydia trachomatis DNA or rRNA in semen from male partners of infertile couples. Hum Reprod 1995; 10(2): 315-9.

10- Samra Z, Soffer Y, Pansky M. Prevalence of genital chlamydia and mycoplasma infection in couples attending a male infertility clinic. Eur J Epidemiol 1994; 10: 69-73.

11- Tanikawa M, Harada T, Katagiri C, Onohara Y, Yoshida S, Terakawa N. Chlamydia trachomatis antibody titers by enzyme linked immunosorbent assay are useful in predicting severity of adnexal adhesion. Hum Reprod 1996 ; 11(11) : 2418-21.

www.SID.ir