مجله تازه های زیست فناوری سلولی - مولکولی
دوره اول، شماره اول، زمستان ۱۳۸۹
Archive of SID

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

ارزیابی روش بیوشیمی مولکولی برای تشخیص سل در مایع پلور از نمونه بیماران پلورال افیوژن

سعید ذاکر بستان آباد[۱]، دنیا خسروانی*[۲]، مصطفی قلمی[۳]، محمد کریم رحیمی[۴]، ایمان فلاح[۲]، هانی انصاری[۵]

[۱] استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده ی علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، تهران-ایران
[۲] پزشک عمومی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران پزشکی، تهران- ایران
[۳] کارشناس آزمایشگاه، بخش مایکوباکتریولوژی، آزمایشگاه مسعود، تهران- ایران
[۴] استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران پزشکی شناسی، تهران- ایران
[۵] کارشناس، گروه میگروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم- ایران

چکیده

سابقه و هدف: پلورال افیوژن، در زمینه کثیری از بیماری ها رویت می گردد که دو گروه عمده آن، بد خیمی ها و سل می باشند. در مطالعه حاضر به منظور بررسی سودمندی تشخیص اندازه گیری ایزو آدنوزین دی آمیناز (ADA) و آنزیم های آن و اینترفرون گاما آزمون در مایع پلور با توجه به علل مختلف در جامعه ایران روی بیماران پلورال افیوژن انجام شد و مقایسه آن روی سه گروه بیماران سل افیوژنی، بدخیمی ها و بیماران غیر سلی انجام گردید.

مواد و روش ها: روش انجام مطالعه توصیفی- تحلیلی و به صورت انتخاب ۳ گروه با روش Cross-Sectional انجام گردید. تعداد ۱۰۳ بیمار مبتلا به پلورال افیوژن، سل و غیر سلی مورد بررسی قرار گرفت. ۶۰ نفر مرد و بقیه زن بودند در ۴۶٪ از بیماران (۴۵ بیمار) بر اساس تعریف مطالعه، سل پلور تشخیص داده شد. آدنوزین دی آمیناز (ADA1)، ایزو آنزیم آدنوزین دی آمیناز (ADA2) و غلظت اینترفرون گاما توسط برنامه های آنالیزی و منحنی ها تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: افزایش از هر سه شاخص آنزیمی بیماران سلی مشاهده شد، ولی در بیماران غیر سلی این افزایش تشخیص داده نشد. برش مقدار برای آدنوزین دی آمیناز، ایزوآنزیم آدنوزین دی آمیناز و اینترفرون گاما به ترتیب ۴۰ ، ۲۶ و ۲۹۹ پیکو گرم بر میلی لیتر بود. افزایش قابل توجهی در میزان آنزیم های آدنوزین دی آمیناز، ایزو آنزیم آدنوزین دی آمیناز در بیماران سلی نسبت به بیماران با عفونت های بد خیمی نمایش داده شد. متوسط غلظت اینترفرون گاما در مایع پلور بیماران سلی ۱۵۱۴,۲ پیکو گرم بر میلی لیتر (۹۳۱,۲-۲۱۸۷,۵ پیکو گرم بر میلی لیتر) بود که ده برابر بیشتر از مقدار متوسط از گروه دیگر از بیماران بود. تفاوت معنی داری بین بیماران مبتلا به عفونت بدخیم و افراد بیمار غیر سلی وجود داشت.

نتیجه گیری: ADA2 ، ADA مایع پلور یک تست تشخیصی با حساسیت و اختصاصیت مناسب برای تشخیص التهاب پلورای سلی می باشد و اندازه گیری هر سه مارکر آنزیمی نشانگر عملکرد بالای تشخیصی برای سل در بیماران مبتلا به سل پلور بوده و بالا بودن میزان ADA بیش از ۹۵٪ احتمال بیماری سل را تایید می نماید.

واژه های کلیدی: آدنوزین دی آمیناز (ADA۱)، ایزوآنزیم آدنوزین دی آمیناز (ADA۲)، غلظت اینترفرون گاما، مایع پلور

مقدمه

در سراسر جهان، بیماری سل شایع ترین علت ایجاد مرگ توسط عامل عفونی است و عامل بیماری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس حدود ۱/۳ مردم جهان را آلوده نموده است. آمار محققین نمایش می دهد که سالانه ۸ میلیون سل جدید و دو میلیون مرگ از این بیماری رخ می دهد. سل، از عوامل موثر شایع پلورال افیوژن بوده ولی تعداد باسیل موجود در پلوریت سلی بسیار کم می باشد. به نظر می رسد مکانیسم آسیب آن ایمونولوژی بوده که وجود گرانولوم در نمونه های بیوپسی پلور، گویای این ادعا می باشد. تشخیص سل در مایع پلور (سل پلوری) باید در هر بیمار مبتلا به افیوژن پلور اگزوداتیو در نظر گرفته شود. با این حال، گاهی اوقات مشکل تشخیص به علت استفاده از روش های معمولی دشوار است. علائم قابل اعتماد

آدرس نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران پزشکی، دانشکده ی پزشکی، گروه میکروب شناسی
Email: doniakhosravani@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۸/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۰/۱۳
www.SID.ir

Archive of SID

بالینی اجازه تشخیص سریع و دقیق از سل پلوری است تا حد زیادی مورد نیاز است (Aoe et al., 2003; Akio et al., 2004). انواع متغیر های بیولوژی به منظور تسهیل در تشخیص سل پلوری پیشنهاد شده است، که از آن جمله می توان افزایش غلظت آنزیم آدنوزین دی آمیناز در مایع پلور، اینترفرون گاما، اینترلوکین یک، اینترلوکی - ۱۸ سرکوب کننده سیستم ایمنی پروتئین اسیدی و محلول اینترلوکین - ۲ گیرنده را نام برد. تشخیص سل در مایع جنب به خودی خود بسیار دشوار است، اما انجام درمان مناسب در زمان مناسب نیاز به تعریف روشنی از علل آن است. هزینه های بالا و تاخیر زمانی بین روش های تشخیصی نیز به اثر بیوپسی پلور و نرم افزار آزمون باکتریولوژیک کمک می کنند. روش های مختلفی جهت تشخیص علت پلورال افیوژن وجود دارد، من جمله کشت که از نظر وجود باسیل سل اسید فست در مایع پلور، فقط در حدود ۲۵-۲۰٪ از موارد مثبت می باشد و در مواردی که نمونه بیوپسی در اختیار باشد تا ۸۵٪ از موارد مثبت گزارش می گردد. روش دوم که تهیه لام و رنگ آمیزی اسید فست روش دیگری است که حساسیت ۴۵-۳۰٪ دارد. حساسیت روش مولکولی Polymerase Chain Reaction (PCR) برای بیماری فعال حدود ۸۰٪ می باشد و لذا بطور تقریبی ۲۵٪ از موارد پلورال افیوژن ناشی از سل به درستی تشخیص داده نمی شود. این روش تشخیصی کشت باسیل در محیط لون اشتاین جانسون که بعنوان «استاندارد طلا» در نظر گرفته می شود، به علت زمان طولانی مشکلاتی را در درمان به موقع بیماران خواهد داشت. حساسیت نسبتا کم در روش رنگ آمیزی زیل نلسون نمونه بیمار و دیدن باسیل زیر میکروسکوپ از دیگر روش های معمول مورد استفاده تشخیصی مشکلات مطرح در تشخیص به موقع را دارد (Barbas et al., 1991; Gorguner et al., 2000). مایع پلور، شامل نشانگرهای بیوشیمیایی حساس است که می تواند مورد استفاده برای تسهیل در تشخیص افتراقی مایکوباکتریم توبرکلوزیس در بیماران مشکوک به سل باشد (Hlraki et al., 2003; lee et al., 2001). از میان روش هایی که امروزه به نظر می رسد در تشخیص زود هنگام سل مفید باشند، می توان اندازه گیری آدنوزین دی آمیناز (ADA) و یا ایزو آنزیم های مرتبط با آنزم آدنوزین دی آمیناز (ADA1, ADA2)، اینتر فرون گاما و لیزوزیم را نام برد (Metz et al., 1978; Rariglione et al., 1961). در پاسخ به تحریک آنتی ژن توسط مایکوباکتریوم توبرکلوزیس واکنش سلول با واسطه ایمنی بدن شروع می شود که منجر به تولید اینترفرون گاما توسط لنفوسیت T می گردد. توانایی اینترفرون گاما به تشدید فعالیت سلول بیگانه خوار است که ماکروفاژها را در برابر مایکوباکتریوم ها فعال می سازد (Aoe et al., 2003; Lee et al., 2001). آنزیم ADA، که نقش بیولوژیک آن مسئول تکثیر و تمایز لنفوسیت ها (به ویژه لنفوسیت های T) و به عنوان یک نشانگر ایمنی با واسطه سلول می باشد، که شامل واکنش های افزایش حساسیت تاخیری نامیده می شود. این آنزیم در اکثر سلول های بدن یافت شده و باعث تبدیل آدنوزین به اینوزین می گردد. چند ایزوفرم ADA وجود دارد، اما آن هایی که برجسته هستند ADA1 و ADA2 هستند. ایزو آنزیم ADA1 در تمام سلول ها با بالاترین غلظت در لنفوسیت ها و مونوسیت ها وجود دارد، در حالی که ADA2 تنها در مونوسیت و ماکروفاژ است که آن را در عرضه آنتی ژن هنگامی که با حضور میکروارگانیسم های زنده تحریک شده است، ترشح می نماید و ADA2 نشانگر کارآمد تر از پلورال سل است. فعالیت ADA و غلظت اینترفرون گاما نشانگرهای بیوشیمیایی ارزشمند با حساسیت و ویژگی بالا برای تشخیص بیماری سل هستند، ولی ارزش تشخیصی خود را نیز در محل شیوع سل و قومیت مردم را نشان می دهند. در برخی ازکارگران نشان داده شد که کاهش سطوح غلظت ADA در میان آسیایی ها ممکن است مفید بودن آن در تشخیص سل را در این جمعیت خدشه دار کنند. مطالعات متخصصین در ژاپن و سنگاپور نشان داده است که حساسیت ها و اختصاصیت اندازه گیری در مورد این آنزیم ها در بیماران که از تایلند و هند بودند موثر در تشخیص به موقع داشته است. در یک مطالعه که در تایلند روی ۱۲۳ بیمار پلورال افیوژن انجام شد که ۵۰ مورد مبتلا به سل بودند و حساسیت روش اندازه گیری ADA ۸۰٪ و ویژگی ۸۱٪ جهت تشخیص سل گزارش شد. در مطالعه ای که در بیمارستان آتاتورک ترکیه انجام گردید، ۸۷ بیمار بررسی شد که علاوه بر ADA، ایزو آنزیم های ADA1 و ADA2 نیز اندازه گیری شد که افزایش ADA2 برای افیوژن های ناشی از سل و افزایش ADA1 برای افیوژن های پاراپنومونیک گزارش شد. در مطالعه LeeYe و همکارانش در بیمارستان Thomas آمریکا بررسی شد که میزان ADA در کسانی که تحت عمل جراحی بای پس کرونر قرار گرفته اند، همانند بد خیمی ها، افت می نماید. به علت این که تشخیص علت افیوژن مایع پلور از اهمیت بالایی برخوردار است و از عوامل مهم علل آن در درجه اول سل و دوم بدخیمی می باشد. در مطالعه حاضر به منظور بررسی سودمندی تشخیص اندازه گیری ADA و ایزو آنزیم های

www.SID.ir

Archive of SID

آن و اینترفرون گاما آزمون در مایع پلور با توجه به علل مختلف در جامعه ایران روی بیماران پلورال افیوژن انجام شد و مقایسه آن روی سه گروه بیماران سل افیوژنی، بدخیمی ها و بیماران غیر سلی انجام گردید (Reechaipichidkul et al., 2001; Tag hipoor et al., 2007).

مواد و روش ها

مجموعه نمونه: این مطالعه آینده نگر بر روی ۱۰۳ بیمار بالغ بودند که از شهریور سال ۱۳۸۸ تا شهریور ۱۳۸۹ که به آزمایشگاه مسعود و دکتر ظریفی مراجعه داشتند، نمونه مایع پلور آن ها بررسی شد. نمونه مایع پلور مربوط به سه گروه بالینی بود:

گروه ۱: سل

گروه ۲: غیر سل پلورال (ذات الریه، ذات الجنب بعد از عمل)

گروه ۳: پلورال بدخیم (آدنوکارسینوم، کارسینوم epidermoid، کارسینوم سلول کوچک، سرطان متاستاتیک، لنفوم و mesothelioma).

نمونه مایع پلور توسط روش های نمونه برداری به دست آمد که در حدود ۳۰ میلی لیتر بود و برای تجزیه و تحلیل تعداد سلول، سیتولوژی، اسید مقاوم در برابر لکه، غلظت پروتئین و فعالیت لاکتات دهیدروژناز بهره برداری شد. بقیه مایع جمع آوری شده را برای ۱۰- ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژشد؛ مایع رویی جدا شده و در منهای ۲۰ برای ADA و اینترفرون گاما ذخیره شد مایع پلور و نمونه بافت برای انجام تست های پاتولوژی و میکروبیولوژی فرستاده شد.

تشخیص سل در تحقیقات ذکر شده: وجود مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در مایع پلور و یا نمونه های بیوپسی پلور، تشخیص گرانولوم در بافت پلور با مثبت بودن اسید مقاوم باسیل مایکوباکتریوم و یا منفی بودن اسید مقاوم باسیل مایکوباکتریوم در گرانولوم بافت پلور به همراه انجام تست بررسی مقاومت دارویی انجام شد. پلورال بدخیم در سیتولوژی مثبت مایع پلور یا وجود سلول های بدخیم در نمونه های بیوپسی پلور تشخیص داده شد.

اندازه گیری فعالیت از ADA1 و ADA2: فعالیت ADA توسط Giusti و روش Galanti تعیین شد. این تکنیک بر روی واکنش Bertholet از رنگی تولید indophenol پیچیده با کمک آمونیاک آزاد بر اساس برآورد از آدنوزین و اسپکترو فتومتری غلظت آن است. نمونه با سوبسترا برای یک ساعت در حمام آب ۳۷ درجه انکوبه شد. برای تمایز بین فرم های دو آنزیم مورد نظر ADA1 – ADA2 به مقدار ۲۰۰ میکرومول بر لیتر:

Erythro -9- (2 -hydroxy -3-nonyl) adenosine hydr) chlrit (ENHA مربوط به شرکت سیگما در آمریکا را به محلول واکنش اضافه شده است، چرا که ENHA مهار کننده قوی ایزوآنزیم ADA1 است. روش های مشابه برای پیدا کردن مقدار ADA2 تکرار شد و سپس با فعالیت کم کردن ADA1، فعالیت ADA2 از فعالیت کل ADA محاسبه شد.

اندازه گیری غلظت اینترفرون گاما: غلظت اینترفرون گاما با استفاده از روش آنزیمی وابسته به - enzyme - linked immun sorbent assay Vector - best ,Russia مشخص شد. محدوده غلظت قابل سنجش ۰- ۲۰۰۰ پیکو گرم بر میلی لیتر بود، حساسیت تجزیه و تحلیل ۲۰ پیکو گرم بر میلی لیتر بود. نتایج حاصله از اندازه گیری ADA با استفاده از نرم افزار SPSS version 10 و آزمون chi - square مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $P< 0.05$ به عنوان محدوده قابل توجه پذیرفته شد. انتخاب برش امتیاز در استاندارد گیرنده اپراتور مشخصه (Receiver Operator Characteristic ROC) تجزیه و تحلیل استوار بود. ارزش تشخیصی اندازه گیری پارامترها از نظر حساسیت و ویژگی مورد مطالعه قرار گرفت و ارزش اخباری مثبت و ارزش ارزش اخباری مثبت و ارزش تشخیصی با توجه به قطع ارزش ارزیابی شده است.

یافته ها

در این تحقیق ۴۵ بیمار مبتلا به سل پلورال، ۳۰ بیمار غیر سلی و ۲۸ بیمار بدخیمی مورد ارزیابی قرار گرفتند و نتایج به شرح جداول و نوشتار ذیل بدست آمد. در جدول ۱ سن بیماران در محدوده ۲۰ - ۷۵ سال و مشخصات آن ها نمایش داده شده است.

جدول ۲ فعالیت ADA و A DA2 در مایع پلور را در هر گروه نشان می دهد. مقادیر قابل توجهی بالاتر در بیماران مبتلا به سل نسبت به پلورال در بیماران مبتلا به افیوژن بدخیم پلور (با بیش از۵ بار) و بیماران مبتلا به ذات الجنب غیر سل عفونت (با بیش از ۴ بار) قرار گرفت. نسبت ADA2 / ADA1 در گروه سل کمترین و تا ۶۴ ٪ از متوسط متناظر برای «ذات الجنب غیر سلی» گروه و ۶۸ ٪ از متوسط متناظر در بیماران مبتلا به پلورال بدخیم ساخته شده و می باشد. غلظت اینترفرون گاما در مایع پلور بیماران سلی ۱۵۱۴,۲ پیکو گرم بر میلی لیتر (۹۳۱,۲ - ۲۱۸۷,۵) است بود که به طور قابل توجهی بالاتر از (< ۱۰ بار) متوسط ارزش های گروه های دیگر بوده است. تفاوت معنی داری بین بیماران مبتلا به پلورال بدخیم و غیر سل پلورال (شکل ۱) وجود دارد در تمام موارد انجام بررسی غلظت های این فراورده های لنفوسیتی در بدن بیماران سه گروه مورد ارزیابی

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- شناسنامه بیماران : رقت دو آنزیم ADA2 و ADA1 در سه گروه بیماران

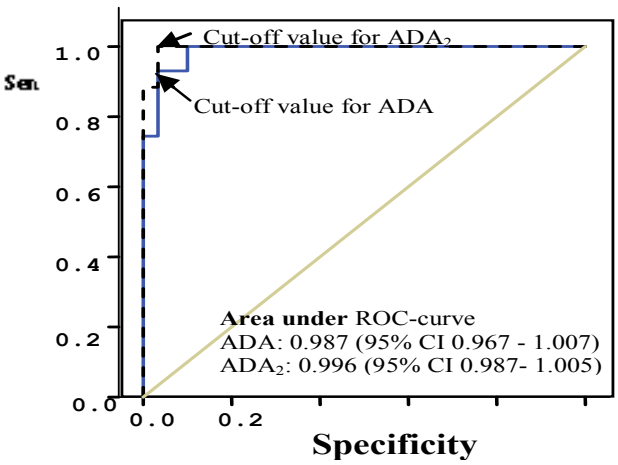
Determined indices	Examined groups		
	Non-tuberculous infection	Malignant	Tuberculous pleurisy
ADA U/l	18.7 (12.6–21.7)	15.5 (13.1-21.1)	80.0 # (51.2-110.6
ADA۲ U/l	11.4 (7.9 -16.8)	12.1 (9.6–16.5)	57.9 * (45.0-77.2)

# p<0.05 in comparison with “non-tuberculous infection” group;
* p<0.05 in comparison with “malignant” group.

جدول۲- فعالیت ADA در مایع پلور بیماران سل پلورال در سنین مختلف

گروه	تعداد	مرد	زن	متوسط سن
سل پلورال	۴۵	۲۸	۱۷	۲۰-۷۵
بیمارغیرسلی	۳۰	۱۷	۱۳	۲۴-۷۵
پلور بدخیم	۲۸	۱۵	۱۳	۲۹-۷۳

به لحاظ حساست و اختصاصیت در جدول ۳ آمده است. برای بهترین برش از هر دو ADA2 حساسیت و ارزش اخباری منفی برای تشخیص شیوه آن ۱۰۰ ٪ بود، در حالی که ویژگی و ارزش اخباری منفی برای تشخیص شیوه آن ۱۰۰ ٪ بود، در حالی که ویژگی و ارزش اخباری مثبت ۹۵,۷ ٪ و ۹۶,۳ ٪ بود. دو ویژگی دوم، تقریبا برابر با کسانی که برای بهترین برش از ADA (۹۵,۷ و ۹۶,۶ درصد بود). از سوی دیگر انتخاب برش برای ADA منجر به حساسیت کمتر (۹۲,۰ درصد) و ارزش اخباری منفی (۸۹,۶ ٪). بنابر این بهره وری با استفاده از آزمون های تشخیصی از آدا بود کمی پایین تر (۹۲,۵ ٪) نسبت به ADA۲ (۹۷,۶ ٪) و اینترفرون گاما (۹۵,۳ ٪) بود. تفاوت در حساسیت بین ADA و دو مارکر های دیگر منجر به دلیل سه جواب کاذب منفی با ADA (جدول۳) بود. همه بیماران مبتلا به سطح کم اینترفرون



شکل۱- غلظت اینترفرون گاما در مایع پلور بیماران سل پلورال

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- مشخصات توصیفی ابزار تشخیصی ADA، ADA2 و بر آورد اینترفرون گاما برای ذات الجنب سل

Parameters	ADA U/l	ADA_2 U/l	IFN-γ pg/ml
Cut-off value	38	25	288
True-positive	38	42	38
False-positive	2	2	3
False- negative	4	0	0
True-negative	28	28	33
Sensitivity %	92.0	100	100
Specificity %	95.7	95.7	92.5
Positive predictive value %	96.3	96.3	93.1
Negative predictive value %	89.6	100	100
Diagnostic efficacy %	93.5	97.6	95.3

گاما و همچنین فعالیت ADA2 آیا سل ندارد (سل) (بدون کاذب منفی وجود داشت). در میان بیماران مبتلا به میزان کم ADA، ۳ نفر از ۳۲ (۹,۳ ٪) به سل معلوم شد و از ۲۹ نفر باقی مانده در رابطه با فعالیت کم ADA سل را ندارند. فقط ۱ از ۴۱ و ۴۴ نفر (۲,۴ ٪، ۲,۲ ٪) ADA و فعالیت های ADA2 به ترتیب مقدار آستانه بالا بود، اما بیمار که سل را نداشته باشند، و تنها دارای رتبه ۲ از ۴۱ نفر (۴,۸ ٪) بود و سطح اینترفرون گاما بالاتر از مقدار آستانه، اما این بیماران سل را ندارند. برای ۴۳ بیمار مبتلا به سل اثبات شده است، ADA از دست رفته تشخیص در ۳ نفر (۶/۹٪)، بیش از آن چه توسط اینترفرون گاما و برآورد ADA2 از دست رفته بود. به این معنا که برای هر ۱۰۰ بیمار مبتلا به سل، اینترفرون گاما و نتایج برآورد ADA2 در شناسایی و از ۶,۹ نفر کسانی هستند که با محاسبه ADA از دست رفته است. زمانی که با تعیین ADA2 ترکیب شود، حساسیت بالا (۱۰۰ ٪) (جدول ۴) بدست می آید.

جدول۴- حساسیت ویژگی در خصوص ADA - ADA 2 و اینترفرون گاما

Parameters	ADA_+ ADA_2 IFN-γ	ADA_+ ADA_2	ADA_+ IFN-γ	ADA_2^+ IFN-γ
Patients with confirmed TP	۳۹	۳۹	۳۹	۳۹
Sensitivity ٪	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
Specificity ٪	۹۵.۷	۹۵.۷	۹۵.۷	۹۵.۷
Positive predictive value٪	۹۶.۳	۹۶.۳	۹۶.۳	۹۶.۳
Negative predictive value٪	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
Diagnostic efficacy ٪	۹۷.۶	۹۷.۶	۹۷.۳	۹۷.۶

www.SID.ir

Archive of SID

ترکیبی از دو مارکر که در آن هر دو این آزمایشات عبارتند از اثر مثبت از تمام روش های تشخیصی به جز ADA2 افزایش یافته ساخته شده است. PPVs و NPVs از تمام روش های ترکیبی تقریبا به همان اندازه بالا (۹۷،۶، ۹۷،۷ و ۱۰۰ درصد بود).

بحث

ویژگی سطح فعالیت ADA مایع پلور جهت تشخیص سل، ٪۹۵.۷ بدست آمد که این رقم در مطالعه مشابه در هند انجام شد که ٪۹۳.۴، در تایلند ٪۸۰.۵، در ترکیه ٪۸۹ و در تحقیقی در ایران ٪۹۲ بودکه نتایج ما با تمام یافته های ایشان مطابقت دارد (۷،۸،۹،۱۰). گزارش های قبلی نشان داده اند که این نشانگر زیستی مفید هستند برای تشخیص سل pleuritis. با این حال، کدام یک از این شش شاخص مناسب ترین روش برای تشخیص سل pleuritis نشده است تعیین می شود. ساخت یک تشخیص افتراقی بین سل و پلورال nontuberculous پلور مشکل بالینی مهم است، و روش های متعارف تشخیص اغلب ناکافی باشد. پژوهش حاضر نشان می دهد که نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده در ایران برای اولین بار است که به حالت آزمایشگاهی در تشخیص افتراقی پلورال افیوژن از مایع پلور و فعالیت ADA و اینترفرون گاما بکار رفته است. رشد فعالیت در کل ADA در مایع پلور است که عمدتا توسط فرم ایزوآنزیم ADA2 ایجاد می شود. پدیده ای مشابه نیز توسط محققان دیگر مشاهده شد. در مقابل دو مطالعه نشان داده اند که سطوح ADA از ارزش محدود شده است. با این حال، یکی در منطقه شیوع کم سل انجام شد، و از سوی دیگر شامل گروه ضعیف تعریف جمعیت سلی بود. انجام کل فعالیت ADA آزمون تعریف در مطالعه ما نشان داد که با حساسیت بالاتر و ارزش ویژگی (۹۲.۰ ٪ و ۹۵.۷ ٪) در مقایسه با نتایج گزارش های دیگر مشخص می شود. تعیین فعالیت ADA2 در مایع جنب به حتی حساس تر (۱۰۰ ٪) در مورد شیوه یافت شد. با مطالعه مقالات، برش ارزش فعالیت ADA در مایع پلور بیماران مبتلا به پلورال سل از کشورهای اروپایی و آسیایی متنوع ۴۱ - ۷۰ واحد بوده در حالی که حساسیت تست متنوع از ۷۹ - ۱۰۰ ٪ می باشد. مقادیر برش از اینترفرون گاما به حال تغییرات حتی بیشتر (۱۲ - ۲۴۰ پیکوگرم / میلی لیتر). تفاوت موجود در ظرفیت تشخیصی اینترفرون گاما و ADA ممکن است به علت استفاده از روش مورد استفاده سنجش آنزیم وابسته به immunosorbent (ریا) و یا به طیف وسیعی از بیماری های موجود در مطالعات باشد. علاوه بر این، برش سطوح مختلف، شاید به این دلیل تنوع interlaboratory، شیوع سل در جمعیت و خصوصیات جمعیت خود مورد استفاده باشد. داده های ما شبیه به گزارش از محققان دیگر، که سطوح بالای اینترفرون گاما در مایع پلور در نمونه بیماران سل می باشد، سطح پایین از اینترفرون گاما در بیماران مبتلا به پلورال بدخیم پلور، پلورال غیر اختصاصی پلور، پلورال parapneumonic، و جنب ترانسودا بود. در مطالعه ما، افزایش غلظت اینترفرون گاما در مایع پلور بیماران مبتلا به سل است حساسیت بسیار بالا حدود صد درصد و نه ویژگی بالا ۹۲.۵ درصد بود. اینترفرون گاما، سایتوکاین در ارتباط با Th1 نوع پاسخ ایمنی با واسطه سلول به شدت با علت سل از تجمع مایع جنب در ارتباط بود. معاینه مستقیم از مایع پلور توسط رنگ آمیزی زیل - نلسون با حساسیت کم است. روش کشت باکتری هم که استاندارد طلایی است، اما وابسته به تخصص و نیاز به چندین هفته زمان تا رشد کامل باسیل رادارد (Akio et al.,2004، Hirak et al.,2003). در صورتی که بررسی میزان این آنزیم ها در مایع پلور از تعداد نشانگرهای زیستی به عنوان کمک در تشخیص سل pleuritis پیشنهاد می گردد. به این ترتیب، هر سه مورد از نشانگرهای آنزیمی، عامل سودمندی برای بررسی بیماری سل، ضایعات بدخیمی و موارد غیر سلی می باشد. با این حال هیچ یک از این که به دلیل ویژگی مطلق آن ها ۱۰۰ ٪ از دسترس نیست. اطلاعات ما نشان می دهد که در کنار یکدیگر، استفاده مثبت از اندازه گیری سطح اینترفرون گاما و تعیین ADA و فعالیت ADA2 می تواند در هر یا ترکیبی و یا ویژگی (در صورت اینترفرون گاما) را به حساسیت ترجیحا در بهینه سازی ترکیبی نیاز به هر دو روش استفاده می شود. در این رابطه لازم است توجه داشته باشید که در میان بیماران مورد بررسی قرار سه بیمار با تشخیص سل تایید کرد که ADA فعالیت کمتر از تعیین برش ارزش وجود داشت و در آنجا یک بیمار مبتلا به ذات الجنب fibrinous - اگزوداتیو غیر سل بود که ADA و ADA2 فعالیت های بالاتر از تعیین برش ارزش بودند. تحقیقات نشان دادند که در کل تعیین فعالیت ADA اثر نه تنها بالینی در مایع پلور است بلکه به عنوان مقرون به صرفه این روش آسان و نیاز به تجهیزات گران قیمت و معرف نیاز ندارد. در نتیجه می تواند در عرض دو ساعت نتیجه را برای پزشک مشخص نماید. با توجه به نتایج و مقایسات انجام شده می توان چنین عنوان کرد که بالا بودن میزان سطح فعالیت

www.SID.ir

Archive of SID

ADA در مایع پلور از مقادیر بالاتر از ۳۵ واحد همراه با اگزودای لنفوسیتی و علایم بالینی بیمار، بیش از ٪۹۵، مشخص کننده بیماری سل خواهد بود و می توان با اطمینان بالاتری درمان را آغاز نمود. در صورتی که پایین بودن کمتر از ۳۵ واحد اگر چه از حساسیت خوبی برای تشخیص ضایعات بدخیم است ولی چون ویژگی سطح ADA پلور برای تشخیص ضایعات بدخیم، ٪۳۶.۷ بود، الزاماً مطرح کننده بد خیمی نیست و باید بیوپسی و اندازه گیری ADA و اینترفرون گاما صورت گیرد. این روش برای علم پزشکی و درمان سریعتر سل پلوری توصیه می گردد تا در آزمایشگاه های بالینی بکار رود و جایگزین روش های تشخیصی سل برای سل پلوریال - پلورال افیوژن در مقایسه با ضایعات بد خیم قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب قدر دانی خود را از مدیریت آزمایشگاه های مسعود و ضیا ظریفی اعلام داشته و از تمام پرسنل آن مجموعه تشکر می نمایند. ضمنا از جناب آقای پروفسور تیتوف از مرکز تحقیقات بیماری های عفونی روسیه سفید برای مشاوره و آنالیز داده ها کمال تشکر را دارند.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1- Aoe K, Hiraki A, Murakami T. Diagnostic significance of interferon-γ in tuberculous pleural effusions. CHEST, 2003; 123: 740-744.

2- Akio H, Keisuke A, Ryosuke E, Tadashi M, Kazuro S and Hiroyasu T. Comparison of Six. Biological Markers for the Diagnosis of Tuberculous Pleuritis. CHEST, 2004; 125: 3; 987-989.

3- Barbas CS, Cukier A, de Varvalho CR. The relationship between pleural fluid findings and development of pleural thickening in patients with pleural tuberculosis. CHEST, 1991; 100: 1264- 1267.

4- Gorguner M, Cerci M,Gorguner I. Determination of adenosis deaminase activity and its isoenzymes for diagnosis of pleural effusions. Respi, 2000; 5(4): 321- 4.

5- Hiraki A, Aoe K, Matsuo K. Simultaneous measurement of T-helper 1 cytokines in tuberculous pleural effusion. Int J Tuberc Lung Dis, 2003 ; 7: 1172-1177.

6- Lee YC, Rogers JT, Rodriguez RM, Miller KD, Light RW. Adenosine deaminase level in non tuberculous lymphocytic pleural effusions. CHEST, 2001; 120(20): 356-61.

7- Metz CE. Basic principles of ROC analysis. Semin Nucl Med, 1978; 8: 283-298.

8- Raviglione MC, Luelmo F. Update on the global epidemiology of tuberculosis. Curr Issues Public Health, 1996; 2: 192-197.

9- Reechaipichitkul W, Kaeamatawong T, Teerajetgul Y, Patjanasoorotorn B. Diagnostic role of pleural fluid adenosine deaminase in tuberculous pleural effusion. Southeast Asian J, 2001; 32(2): 383-9.

10- Taghipour Zahir S, Salehinia H. Evaluation of the Diagnostic Value of Measuring Adenosine Deaminase in Pleural Effusion to Differentiate between Tuberculosis and Malignancy by Comparison with Pleural Biopsy. J Iran Med, 2007;1: 63-69.

www.SID.ir