Archive of SID

استاندارد طلایی در تشخیص آزمایشگاهی عفونتهای کلامیدیایی

دکتر مسعود حاجیا*

چکیده

عفونت‌های کلامیدیایی هرگز به آسانی و با اطمینان تشخیص داده نشده‌اند. سالها روش کشت سلولی که ابتدا در سال ۱۹۶۵ با استفاده از سلولMcCoy توسعه یافت، بعنوان استاندارد طلایی در نظر گرفته می‌شد. این تکنیک با اینکه دارای ویژگی ۱۰۰ درصد می‌باشد اما از حساسیت بمراتب پایینی برخوردار بوده و بسیار پرزحمت و وقت‌گیر است.، همچنین تحت تأثیر فاکتورهای متعدد میزان حساسیت آن می‌تواند در گزارش های ارائه شده متفاوت باشد. البته هرگز در بهترین شرایط ایده‌ال و مجهزترین آزمایشگاه‌ها حساسیت آن از۸۰ -۷۵ درصد بیشتر گزارش نگردیده است. توسعه دو تکنیک (Direct Fluorescent Antibady) DFA ، (Enzyme Immunoassay) EIA و مثبت شدن برخی نمونه‌های کشت منفی، بخوبی روشن نمود که کشت سلولی نمی‌تواند بعنوان یک شاخص اصلی در تشخیص عفونتهای کلامیدیایی در نظر گرفته شود. البته تست‌های بکار گرفته شده نیز هنوز نتوانسته‌اند ویژگی بالایی را همراه با حساسیت مطلوب که برای یک تست تشخیصی ضروری است ارائه نمایند.

در ظرف چند سال گذشته چندین تکنیک جدید آمپلیفیکاسیون معرفی گردیده است. بواسطهٔ حساسیت و ویژگی بالای آنها، نمونه‌های تناسلی، چشمی و نمونه‌های غیر تهاجمی نظیر ادرار می‌تواند به آسانی برای غربالگری گونه‌های کلامیدیا بویژه کلامیدیا تراکوماتیس مورد استفاده قرار گیرند. بر خلاف تست‌های قبلی، این تکنیکها برای آزمایش تعداد زیادی نمونه از نظر هزینه مناسب‌تر میباشد. اگرچه، هنوز مطالعات بیشتری برای ارزیابی ارزش پیشگویی مثبت و منفی این آزمون‌ها در جمعیت‌های با شیوع پایین، متوسط، و بالای عفونت مورد نیاز میباشد.

واژه‌های کلیدی: استاندارد طلایی، کلامیدیا، تشخیص

مقدمه

روشهای تشخیصی عفونتهای کلامیدیایی همچنان در حال تحول و دگرگونی است و هر روز یافته‌های جدید، سهولت بیشتری را در امر تشخیص فراهم می‌نماید که در کنترل هر چه بیشتر عفونت تأثیر بسزایی می‌تواند داشته باشد(۱). این تحول در ارتباط با نمونه‌های کلینیکی، بکارگیری روشهای جدید، دستگاههای نوین و یا یافته‌های تازه در تشخیص عفونت کلامیدیایی همراه بوده است. تأمین حساسیت و ویژگی بالا، سهولت انجام آزمایش و کاهش هزینهٔ تمام شده از عوامل اصلی در جهت‌دهی و هدایت این تحول بوده است.

در میان عفونتهای ناشی از چهار گونهٔ شناخته شده کلامیدیا (۳،۲) تنها تراخم را میتوان از طریق علایم بالینی تشخیص داد(۴). علائم و نشانه‌های افتراقی برای سایر موارد بسیار مشکل بوده، لذا

* - استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده پزشکی، همدان، مؤلف مسئول

www.SID.ir

Archive of SID

تشخیص آزمایشگاهی ضروری بنظر میرسد (۶ ،۵). تستهای تشخیصی که در آزمایشگاهها بکار گرفته میشوند هر کدام دارای محدودیتهایی بوده و پارامترهای متعددی در حساسیت و ویژگی آن میتواند تأثیر گذار باشد. این نکته سبب گردیده که تأیید عفونت با یک روش خاص و واحد امکان پذیر نباشد (۷).

بنابراین جدا از هزینه و سهولت انجام تست در مقایسه با سایر تستهای روتین، این سؤال مطرح است که متدهای متفاوت تشخیصی که جدیداً مطرح می‌شوند تا چه میزان مناسب می‌باشند؟ در پاسخ باید ابتدا توجه نمود که یک تست چه تعداد از موارد مثبت را از دست می‌دهد، همچنین میزان موارد منفی کاذب آن چه اندازه می‌باشد؟ برای پاسخ اول باید به آزمایشگاههای رفرانس و معتبر که امکانات انجام چندین تست را دارند همچنین در دسترس بودن کشت سلولی رجوع شود، و تنها با انجام این ارزیابی میتوان در مورد کارایی یک تست قضاوت نمود. البته آنچه مسلم است این نکته می‌باشد که حساسیت و ویژگی هر تست باید با نوع نمونه‌ای که مورد آزمایش قرار داده شده سنجیده شود. طبیعی است زمانی که نمونه مورد بررسی ادرار باشد این ارزیابی نتایج متفاوتی را از نمونه آندوسرویکس ارائه نماید.

در این مقاله بر آن هستیم تا با مرورکلیه تستهای بکار گرفته شده برای تشخیص گونه‌های متفاوت کلامیدیا به این سؤالات پاسخ دهیم که اولاً معیار تشخیصی برای تعیین هر یک از گونه‌های کلامیدیا در عفونتها چه میباشد؟ ثانیاً در صورتیکه نتوان جداسازی ارگانیسم را بیش از این بعنوان یک روش استاندارد مورد استفاده قرار داد، چه تستی برای تعیین هر یک از گونه‌های کلامیدیا و نمونه‌های متفاوت ارسالی به آزمایشگاه مناسب میباشد؟ ثالثاً در صورت وجود اختلاف بین نتایج حاصل از تست‌های تازه توسعه یافته و یک تست استاندارد، این تفاوت را چگونه باید مورد تفسیر قرار داد؟ و نهایتاً آیا تست‌های جدید قادرند در نمونه‌های غیر تهاجمی ویژگی و حساسیتی معادل نمونه‌های تهاجمی تأمین نمایند یا خیر؟

تست‌های تشخیصی

نتیجه خوب و مطمئن در آزمایشات مستقیم و کشت، زمانی بدست می‌آید که نمونه به بهترین نحو تهیه شده باشد. در تمامی شیوه‌های مطرح شده به استثناء سرولوژی، نمونه ارسالی برای آزمایشگاه سواب می‌باشد. از آنجا که کلامیدیاها ارگانیسم‌های داخل سلولی هستند، ضروریست توجه شود که سواب‌ها به دقت داخل ناحیه عفونی شده و با فولیکول‌ها تماس پیدا کنند. اخیراً در تشخیص عفونت کلامیدیایی از First void urine (FVU) استفاده شده که با گزارشات موفقیت‌آمیزی نیز همراه بوده است، و این خود در سهولت کار و راحتی بیمار در تهیه نمونه از اهمیت وافری برخوردار خواهد بود(۱).

تعیین کلامیدیا در نمونهٔ کلینیکی با روشهای گوناگونی امکان پذیر است. این روشها را می‌توان با توجه به وجود تشابهات در شیوه‌های بکار گرفته شده در چند دسته مورد مطالعه قرار داد. در ادامه سعی میگردد تا با مرور بر این روشها محدویتها و توانایی‌های هر یک بررسی گردد.

۱- مشاهدهٔ مستقیم ارگانیسم در نمونهٔ کلینیکی با روشهای رنگ‌آمیزی:

سوابهای تهیه شده میتواند مستقیماً پس از تهیه اسمیر مورد مطالعه میکروسکپی قرار گیرد. اسمیرهایی که کمتر از ۱۰۰ سلول اپیتلیال دارند ممکن است جواب رضایت بخشی ندهند. با توجه به غیر اختصاصی بودن رنگ‌آمیزی، باید توجه نمود که انکلوژن کلامیدیایی با انکلوژن ناشی از هرپس و یا آدنو ویروسها، اشتباه نگردد. رنگ‌آمیزی گیمسا و ید یک متد کلاسیک بوده که ابتدا برای تعیین انکلوژن داخل سیتوپلاسمی مطرح شد. این روش امروزه دیگر از محبوبیتی برخوردار نمی‌باشد چرا که از حساسیت پایینی برخوردار بوده و علاوه بر آن بسیار وقت‌گیر نیز می‌باشد. تنها موردی که استفاده از آن توصیه می‌شود کنژنکتیویت حاد نوزادی است که عفونت معمولاً با تعداد زیادی ارگانیسم همراه بوده و انکلوژن‌ها به راحتی دیده می‌شوند. همچنین

www.SID.ir

Archive of SID

بکارگیری این دو روش رنگ‌آمیزی جهت تعیین ارگانیسم در نمونه‌های تناسلی نیز رضایت بخش نمی‌باشد (۸).

۲- تعیین آنتی ژن‌های اختصاصی ارگانیسم در نمونه:

با کمک آنتی بادی اختصاصی میتوان به جستجوی ارگانیسم پرداخت. هر دو روش آنزیم ایمونواسی و ایمونوفلورسانس برای تعیین کلامیدیا بکار رفته است(۹).

ایمونوفلورسانس: یکی از روشهای ایمونوشیمی روش ایمونوفلورسانس می‌باشد. این روش به هر دو صورت ایمونوفلورسانس مستقیم و غیرمستقیم انجام می‌پذیرد. این روش قادر به تشخیص انکلوژن و اجسام اولیه (elementary body) می‌باشد. این تست گرچه از حساسیت بالایی برخوردار است معهذا فقط توسط پرسنلی که مهارت لازم را دارا باشند قابل انجام است. منوکلونال آنتی‌بادی بر علیه LPS[1] قادر به تعیین تمامی گونه‌های کلامیدیایی است، در حالی که آنتی‌بادی اختصاصی بر علیه MOMP قادر به تشخیص اختصاصی گونه‌ها می‌باشد. این تست ترجیحاً" برای عفونتهای مشکوک به کلامیدیا پسیتاسی که کشت آنها خطرناک می‌باشد. استفاده می‌گردد (۱۰). در بررسی که اخیراً" در تهران صورت گرفته گزارش شده که این روش از ویژگی بالایی برخوردار بوده است (۹۹٪) در حالیکه ویژگی MIF [2] در مقایسه با ایمونوفلورسنت مستقیم ۹۰ درصد بوده است (۱۱).

آنزیم ایمونواسی: اکثر کیت‌های تجارتی در دسترس، مبتنی بر تعیین LPS بوده و بنابراین کیت‌ها قادر به تعیین تمامی گونه‌های کلامیدیایی می‌باشد. اجرای کامل مراحل تست به چندین ساعت زمان نیاز داشته و عموماً" در آزمایشگاه‌هایی استفاده می‌گردد که با انبوهی از نمونه مواجه هستند. در این تست احتیاجی نیست که نمونه‌ها بعد از تهیه تا زمان ارسال به آزمایشگاه در یخ نگهداری شوند . بنابراین نمونه‌هایی که با فاصله زیادی از محل انجام آزمایش تهیه شده‌اند، میتوانند به راحتی مورد استفاده قرار گیرند.

در یک بررسی مقایسه‌ای، حساسیت تکنیک با استفاده از دو نمونهٔ سواب تناسلی و ادرار انجام گرفته است و گزارش شده که حساسیت تکنیک در نمونه ادرار بویژه در افراد بدون علامت از کاهش برخوردار بوده است(۱۲).

همچنین Gaydos و همکاران گزارش نمودند که ویژگی و حساسیت این تست اندکی از تست فلورسنت آنتی بادی مستقیم کمتر می‌باشد (۱۳). علاوه بر این مزیت دیگری که برای تست فلورسنت آنتی‌بادی مستقیم ذکر گردیده این است که در روش مزبور امکان مشاهده مستقیم مورفولوژی اجسام اولیه کلامیدیایی وجود دارد (۱۵،۱۴).

۳- جدا سازی تعیین هویت ارگانیسم ایزوله و تعیین ارگانیسم از محیط کشت

جداسازی در محیط کشت سلولی مدتها بعنوان تنها شیوهٔ مطمئن و استاندارد شناخته می‌شد (۸). در میان گونه‌های کلامیدیایی معمولاً" کلامیدیا تراکوماتیس در آزمایشگاه تشخیص طبی ایزوله می‌شود. بدلیل رشد ضعیف کلامیدیا پنومونیه جداسازی آن در محیط کشت، مشکل می‌باشد(۱۶). در ارتباط با سویه کلامیدیا پسیتاسی نیز باید توجه داشت که این ارگانیسم بسیار خطرناک بوده و بهتر است از سایر روشهای جدیدتر برای تشخیص آن استفاده کرد (۱۷).

این روش بسیار وقت‌گیر است، نمونه پس از تلقیح به لایهٔ سلولی که از قبل آماده شده و افزودن مواد متوقف کنندهٔ رشد سلولی به مدت ۷۲-۴۰ ساعت در ۳۷ درجه انکوبه شده و نهایتاً" جهت مشاهدهٔ میکروسکپی رنگ‌آمیزی میگردد.جدا از زمان طولانی مورد نیاز، دخالت برخی فاکتورها نظیر: مدت سپری شده از زمان تهیهٔ نمونه، نحوه و شرایط نگهداری نمونه‌های ارسالی، نوع و ردهٔ سلولهایی که جهت کشت مورد استفاده قرار میگیرد، روش

[1]- Lipopaly - saecharide
[2] - Micro-Immunofluorescent

www.SID.ir

Archive of SID

رنگ‌آمیزی و بسیاری از عوامل دیگر می‌تواند در حساسیت تست اثر چشم‌گیری داشته باشد (۱۸).

با وجود رعایت کلیه جوانب همانگونه که در ابتدا ذکر شد، حساسیت این روش برای کلامیدیا تراکوماتیس حتی با بکارگیری روش فلورسنت آنتی‌بادی بجای رنگ‌های شیمیایی بافتی جهت مشاهدهٔ میکروسکپی انکلوژن‌های رشد یافته، در بهترین آزمایشگاهها بیش از ۸۰-۷۵٪ نبوده است (تصویر شماره-۱) (۸).

۴- روشهای سرولوژیکی

از متداول ترین روشهای سرولوژیک که در تشخیص عفونتهای کلامیدیایی استفاده می‌شود می‌توان به کمپلمان فیکساسیون ، میکروایمونوفلورسنت و EIA اشاره نمود.

فیکساسیون کمپلمان[۳]: این تست بصورت تجارتی در دسترس است. این تست آنتی بادی اختصاصی بر علیه آنتی ژن های گروه (LPS) را در افراد مبتلا به کلامیدیاتراکوماتیس ، کلامیدیا پسیتاسی و کلامیدیا پنومونیه اندازه می‌گیرد. لذا این تست قادر به تشخیص افتراقی این گونه ها از یکدیگر نبوده و دارای نتایج منفی کاذب است. اگرچه تست قادر به واکنش با کلامیدیا پنومونیه بوده ولی تنها ۱۰ الی ۲۵٪ از بیماران مبتلا به آن دارای افزایش تیتر می‌باشند(۱۹). در پسیتاکوزیس افزایش تیترآنتی بادی CF معمولاً ۱ به ۶۴ و بالاتراست. نتیجه مثبت آزمایش اول سرم، و سابقه تماس با پرندگان بیمار می‌تواند حکایت از ابتلاء به عفونت ناشی از کلامیدیا پسیتاسی باشد(۲۱،۲۰).

آنزیم ایمونواسی(EIA): این تست نیز قادر است آنتی بادی تمام گونه‌های کلامیدیایی را تعیین نماید. اساس آن براندازه‌گیری آنتی بادی بر علیه LPS استوار بوده که آنتی ژن اختصاصی می‌باشد(۲۲). البته این تست در حال توسعه و تکمیل است. در بررسی مقایسه‌ای که بین MIF ، ELISA و CFصورت گرفته، حساسیت دو تست اول از تست CF بمراتب بالاتر گزارش شده است(۲۳).

تست میکروایمونوفلورسنت (MIF) : این تست حساس‌تر از تست فیکساسیون کمپلمان بوده و آنتی بادی های اختصاصی گونه‌های کلامیدیایی را اندازه می‌گیرد(۲۴). بنابراین قادر به تشخیص اختصاصی گونه‌ها می‌باشد. تیتر بالای آنتی بادی در نمونه اول می‌تواند عفونت فعلی و یا مقاوم را نشان دهد (جدول شماره -۱)

در بررسی که توسط نگارنده این مقاله در سال ۱۳۶۵ صورت گرفته از مجموع ۳۱۶ نمونه تست شده ۲۹ مورد با روش MIF مثبت بودند. در حالی که با روش کشت سلول تنها ۱ مورد مثبت گشت(۲۵).

انجام این تست دارای محدودیت‌هایی است که توجه به آنها ضروری می‌باشد. محدودیتهایی که می‌توان برای این روش عنوان نمودعبارت اند از:

۱- ترشح آنتی بادی‌ها آهسته بوده ، بنابراین توصیه می‌گردد سرم دوم بعداز ۳ الی ۴ هفته مجدداً مورد آزمایش قرار گیرد.

۲- بیمارانی که دارای کشت مثبت هستند ممکن است دارای نتیجه تستMIF منفی باشند. نتیجه مثبت کاذب در بیمارانی که دارای فاکتور روماتوئید در جریان خون می‌باشند نیز گزارش شده است. در این حالت توصیه می‌گردد که تیتر IgM اندازه‌گیری شود(۱۶).

۳- گزارش شده است که در پنومونی ناشی از کلامیدیا پنومونیه تیتر IgM چند ماه پس از بهبود نیز وجود دارد. تیتر IgG ممکن است در افراد بالای ۶۵ سال هم بیش از ۱: ۵۱۲ باشد(۱۹).

۴- در تشخیص کلامیدیا تراکوماتیس گزارش شده است که استفاده از یک آنتی ژن ممکن است سبب شناخته نشدن ۲۵٪ از عفونت گردد (۲۶).

۵- عفونت مجدد با کلامیدیا پنومونیه بویژه در بالغین بسیار متداول است. در این حالت فقدان حضور IgM سبب مشکل شدن تشخیص می‌گردد.

۶- وجود واکنش متقاطع با کلامیدیا پسیتاسی و کلامیدیا پنومونیه نیز در سه بیماری که مبتلا به آندوکاردیت ناشی از Bartonella quintana بودند نشان داده شده است(۲۷).

آلودگی آنتی ژن های تجارتی به مایکوپلاسما: مشکل دیگری که در تست‌های

[۳] - Complement fixation

www.SID.ir

Archive of SID

سرولوژیک مشاهده شده آلودگی آنتی ژن‌های کلامیدیایی با مایکوپلاسماها میباشد. با توجه به انتشار بسیار زیاد مایکوپلاسماها که بالغ بر ۹۰ گونه می‌باشند و ابعاد بسیار کوچک آنها امکان آلودگی محیط‌های کشت سلولی به آن قابل توجه است. اخیراً گزارش شده که در حدود ۱۵ در صد از رده‌های سلولی به این ارگانیسم آلوده بوده است(۲۸). این آلودگی در کیتهای تجارتی MIF با روش PCR[۴] نشان داده شده است(۲۹).

۵- تکنیک های ملکولی

در میان تکنیک‌های ملکولی ، PCR جهت تشخیص کلامیدیا مکرراً مورد بررسی قرار گرفته است(۳۶،۳۳) این روش بویـــــــــــژه برای کلامیدیا پسیتاسی و کلامیدیا پنومونیه موفقیت آمیز گزارش شده است. در ارتباط با کلامیدیا تراکوماتیس عمدتاً تأکید بر روش LCR[5] میباشد که حساسیت بالاتری حتی در مقایسه با PCR برای آن گزارش میشود. علاوه بر مزیت‌هایی که اشاره شد این تکنیک سبب تحول در امر تشخیص عفونت های تناسلی شده است. به این معنی که با ارائه حساسیت بالا سبب سهولت در امر نمونه گیری شده و امکان استفاده از آنرا بعنوان یک تست مناسب برای غربالگری مطرح می‌نماید(۳۰،۱) همچنین گزارش شده است که حساسیت آن در نمونه های تناسلی بدست آمده از مردان و زنان در مقایسه با کشت سلولی بمراتب بالاتر می‌باشد(۳۲،۳۱،۱۲). بواسطه وجوداین حساسیت مطلوب تکنیک مذکور در تعیین عفونت تناسلی با استفاده از نمونه ادراراولیه (FVU)در تعیین ارگانیسم در مردان و زنان نیز بسیار مؤثر گزارش شده است(جدول شماره -۲).

ژن های هدف و کیت‌های تشخیصی: برای این منظور نواحی متفاوت ژنهای omp2 , omp1 و 16srRNA در روش PCR در تحقیقات متفاوت برای کلامیدیا پسیتاسی و کلامیدیا پنومونیه مورد استفاده قرار گرفته است. در حالی که بیشترین توجه در تشخیص کلامیدیا تراکوماتیس مبتنی بر شناسایی پلاسمید می‌باشد، شرکت‌های تجارتی برای تشخیص این ارگانیسم‌ها کیت‌های متفاوتی به بازار عرضه نموده‌اند.با توجه به اینکه در اتباط با میزان حساسیت این تحقیقات نتایج متفاوتی بدست آمده است، استفاده از این کیتها محدود شده است.

مشکلات و مـزیتهای تـکنیـک‌های DNA amplification : از مزیتهایی که می‌توان برای این تکنیک در نظر گرفت موارد زیر است:

۱- حساسیت مطلوب این تکنیک، در مواردی که شواهد سرولوژیکی در بیمار دیده نمی‌شود. با این روش میتوان مرحله بیماری را مشخص کرده و حتی وجود عفونت مزمن را تعیین نمود.

۲- افراد آسمپتوماتیک که بعنوان مخزن عمل می‌نمایند با این تکنیک می‌توانند به آسانی شناخته شوند.

۳- پس از بهبود، افراد ممکن است دارای تعداد اندکی از ارگانیسم باشند، با بکار گیری این تکنیک‌ها امکان پیگیری سیر پیشرفت درمان تا حذف کامل پاتوژن فراهم می‌باشد.

۴- روش فوق کاملاً بی‌خطر بوده و خطرات کار با میکروارگانیسمهای زیان‌آور را در بر نخواهد داشت.

۵- توانایی بازیافت DNA از نمونه‌های قدیمی، این موقعیت را فراهم می‌نماید که بتوان نمونه را به هر مرکزی ارسال نمود.

۶- افزایش تعداد نمونه‌های مورد تشخیص در زمان مشخص و یا تشخیص دو گونه یا بیشتر در یک تست واحد.

۷- کاهش وسایل مورد نیاز و هزینهٔ تمام شده برای بیمار.

اما با توجه به اینکه خالص سازی DNA واجد مراحل متعدد بوده است، این تکنیکها بسیار وقت‌گیر هستند که در طولانی‌شدن نتیجه تست نقشی مهم خواهد داشت. بمنظور قابل رقابت ساختن این تکنیک با سایر متدها نظیر روشهای سرولوژیک و کاهش زمان مورد نیاز برای اعلام نتیجه آنچه ضروری بنظر می رسد افزایش سرعت آمپلیفیکاسیون و مرحله خالص سازی می‌باشد. در روشهای معمولی آماده سازی نمونه برای آزمایش، هر چه که تعداد

[۴]- Poly merase chain reaction
[۵]- Lygase chain reaction

www.SID.ir

Archive of SID

مراحل خالص سازی بیشتر باشد و در زمان طولانی‌تری صورت گیرد تست از حساسیت بالاتری برخوردار بوده و هر چه تعداد مراحل خالص سازی کمتر و زمان آماده کردن نمونه کوتاهتر باشد، حساسیت تست کمتر خواهد بود. هم اکنون کوششهای متعددی صورت می‌گیرد که سرعت آماده سازی DNA با استفاده از روشهای متفاوت با حفظ حساسیت افزایش یابد (۳۴). از مشکلات دیگری که می‌توان به آن اشاره نمود انتشار محصولات واکنش در محیط است که به واسطهٔ ایجاد آلودگی می‌تواند سبب واکنش مثبت کاذب گردد.

استاندارد طلایی در روشهای تشخیص کدام تست میباشد؟

سؤالی که مطرح میباشد این است که چه تستی بعنوان استاندارد طلایی میتواند در تشخیص ارگانیسم در نمونه بعنوان معیار قطعی در نظر گرفته شود؟ سالها روش کشت سلولی که ابتدا در سال ۱۹۶۵ با استفاده از سلول McCoy ارائه شد بعنوان استاندارد طلایی در نظر گرفته می‌شد.

با اینکه این تکنیک دارای ویژگی ۱۰۰ درصد می‌باشد(۹) اما از حساسیت بمراتب پایینی برخوردار است. همچنین حساسیت این روش که بسیار پرزحمت و وقت‌گیر است و تحت تأثیر فاکتورهای متعددی می‌باشد(۸) با معرفی روشهای EIA و DFA در تعدادی از نمونه های کشت منفی که دارای نتایج مثبت بودند، این دو روش بتدریج جایگزین کشت شدند.

توسعه این تکنیکها بخوبی روشن نمود که دیگر بیش از این کشت سلولی نمی‌تواند بعنوان یک استاندارد طلایی در نظر گرفته شود. بدیهی است برای جایگزینی هر روشی بعنوان یک تست استاندارد طلایی، ضروریست علاوه بر حساسیت مطلوب، روش مورد نظر از ویژگی کاملی برخوردار باشد. متأسفانه این دو تست نتوانستند به این هدف دست یابند.

کدام تست باید استفاده گردد؟

با مرور آنچه گذشت میتوان به این نتیجه دست یافت که برای هر یک از گونه های متفاوت کلامیدیایی باید از روش متناسب با ویژگی های آن گونه و شرایط بیماری استفاده نمود. همچنین ضروریست توجه شود در ارتباط با کلامیدیا تراکوماتیس حتی نوع نمونه، وضعیت و سن بیمار، بکارگیری روشهای متفاوت میتواند نتایج گوناگونی را بدنبال داشته باشد. بعنوان مثال در مواردی مثل کونژنکتیکویت‌های حاد نوزادی با رنگ آمیزی ساده توسط گیمسا میتوان به تشخیص رسید و نیازی به استفاده از روشهای ملکولی و تستهایی که اخیرا توسعه یافته نمیباشد. همچنین در برخی موارد که جستجوی ارگانیسم در ادرار صورت می‌گیرد، ضروری است از روش‌های ملکولی استفاده بعمل آید تا حداکثر حساسیت کسب گردد. پزشک و بیمار بکارگیری این روش‌ها را که بعنوان روشهای غیرتهاجمی شناخته میشوند با توجه به آنکه با نتایج رضایت‌بخشی همراه میباشند ترجیح میدهند.

چگونه می‌توان نتایج متفاوت حاصل از دو تست متفاوت را تفسیر نمود؟

در تفسیر نمونه‌هایی که کشت آنها منفی شده است ولی با تست‌های جدیدتر نظیر روشهای آمپلیفیکاسیونDNA مثبت شده‌اند ضروریست با روش سومی همان نمونه‌ها مورد آزمایش قرار گیرند. در بکارگیری تست سوم باید توجه نمود که روش بکارگرفته شده متفاوت باشد(۳۵). بعنوان مثال اگر تست اول کشت سلولی و تست دوم MOMP-PCR است، تست سوم نباید نوع دیگری از آمپلیفیکاسیون DNA باشد. چرا که در هر دو تست فاکتورهای مداخله‌گری که با کاهش حساسیت و ویژگی می‌توانند سبب مثبت و منفی کاذب گردند، یکسان خواهند بود.

استفاده از تکنیکهای جدیدتر در نمونه‌های کلینیکی همواره تعداد موارد مثبت بیشتری را نشان می‌دهد که در روش کشت دست نیافتنی است. سؤال مهمی که مطرح میباشد این است که موارد مثبتی که کشت آنها منفی است آیا واقعاً مثبت میباشد؟

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره-۱ استـــــــانـدارد‌ها بـرای تسـت MIF (۲۱،۱۶)

Aucte antibody	Positive result
C.pneumoniae:	Fourfold rise; or IgM≥16 IgG≥512 اولیه IgG 8-256
C.trachomatis(infant pneumonia)	IgM≥32

جدول شماره-۲ مقایسهٔ حساسیت نتایج کشت و PCR در نمونه آندوسرویکس و ادرار زنان و مجرای ادرار و ادرار مردان (۳۲، ۳۱، ۱۲)

حساسیت / روش	زنان		مردان	
	آندوسرویکس	ادرار	مجرای ادرار	ادرار
PCR	۹۴/۵	۹۲/۵	۹۳/۵	۹۸
کشت	۶۵	-	۶۸/۲	-

تصویر شماره-۱ تشخیص انکلوژن بادی در سلولهای آلوده شده با روش رنگ‌آمیزی فلورسنت آنتی‌بادی

www.SID.ir

Archive of SID

References:

Storey CC, Hajia M. Chlamydia infection: a natural history. Contemporary Review of Obstet Gynaecol 1996; 8:159-163.

Kuroda-Kitagawa Y, Suzuki-Muramatsu C, Yamagushi T. Antigenic analysis of Chlamydia pecorum and mammalian chlamydia psittaci by use of monoclonal antibodies to the major outer membrane protein and a 56-to 64-kd protein. Am J Vet Res 1993; 54:709-712.

Fukushi H, Hirai K. Proposal of chlamydia pecorum sp. nov. for chlamydia strains derived from ruminants. Int J Sys Bacteriol 1992; 42:306-308.

Mandell GL, Bennett JE, editors. Principles and practice of infectious diseases. 4th ed. Churchill Livingstone; 1995. p.1676-1692.

حاجیا مسعود. ارزیابی ماکرولیدها در درمان؛ عفونتهای کلامیدیایی. طب و تزکیه. ۱۳۷۸ صفحهٔ ۸۱

William RB. Treatment of chlamydial infections. Proceedings of the 8th International Symposium on Human Chlamydial Infections. Gouvieux-Chantilly, France. 1994. p. 621-630.

حاجیا مسعود. مروری بر عوامل باکتریایی پنومونی‌های آتیپیک. همدان. انتشارات باباطاهر. ۱۳۷۹، صفحهٔ ۱۳.

Joseph V, Schachter J. Evaluation of diagnostic tests for chlamydia trachematis infections. Proceedings 3rd Meeting of the European Society for Chlamydia Research. Angelika Stary Viena, Austria. 1996. p. 243.

Ridgway GL, Joseph V. Design of clinical trials to evaluate diagnostic tests. Proceedings 3rd Meeting of the European Society for Chlamydia Research. Angelika Stary. Viena, Austria. 1996. p. 247.

Collier LH, Parker MRýT. Topley & Wilson`s Principles of bacteriology, virology and immunology. 8th ed. London: Alfred Place; 1990. p. 629-649.

رحیمی فرزانه. مقایسهٔ قدرت تشخیصی آزمونهای ایمونوفلورسانس مستقیم نمونهٔ سرویکس با تست سرولوژی و سیتولوژی مهبل سرویسیت‌های کلامیدیایی، مجلهٔ پژوهشی دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ۱۳۷۵، شمارهٔ ۳۹ صفحهٔ ۴۹-۳۹.

Stary A. DNA amplification, antigen detection tests and culture: which sample for wich technique? Proceedings 3rd Meeting of the European Society for Chlamydia Research. Angelika Stary. Viena, Austria; 1996. p. 251

Sillis M, White P, Caul EO. The differentiation of chlamydia species by antigen detection in sputum specimens from patients with community-acquired acute respiratory infections. J Infect 1992; 25 (Suppl I):77-86.

Thomas BJ, MacLeod EL, Taylor-Robinson D. Evaluation of sensitivity of 10 diagnostic assays for chlamydia trachomatis by use of a simple laboratory procedure. J Clin pathol 1993; 46:408-410.

Balows A. Manual of clinical microbiology. 5th ed. American Society of Microbiology, Washington DC; 1991. p. 1045- 1053.

Kuo CC, Jackson LA, Cambell LA. Chlamydia pneumoniae (TWAR). Clin. Microbiol Rev 1995; 8:451-461.

Crosse B. Psittacosis: A clinical review. J Infect 1990; 21:251-9.

CH Collins & JM Grange. Isolation and identifcation of microorganisms of medical and veterinary importance. New york: Academic press; 1985. p. 297-312.

Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. 4th ed. Churchill Livingstone; 1995. p. 1696-1700.

Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. 4th ed. Churchill Livingstone; 1995. p. 1693-1696.

Schachter J. BalowsA. Manual of clinical microbiology. 5th ed. American Society of Microbiology, Washington DC; 1991. p. 1045-1053.

Taylor-Robinson D. Laboratory methods for chlamydial infection. J Infect 1992; 25(suppl 1):61-67.

Ossewarde JM. Enzyme immunoassay with enhance specificity for detection of antibodies to chlamydia trachomatis. J Clin Microbiol 1994; 32:1419-1426.

Wong KH, Skeleton SK, Daugharty H. Utility of complement fixation and microimmunofluorescence assay for detecting serologic responses in patients with clinicaly diagnosed psittacosis. J Clin Microbiol 1994; 32: 2417-2421.

حاجیا مسعود بررسی کنژانکتیویتهای کلامیدیایی با روش MIF در سه منطقهٔ حومهٔ تهران، آوج، بندرعباس. پایان نامه تحصیلی. ۱۳۶۵ دانشگاه تربیت مدرس. صفحهٔ ۲-۱۹۱.

aikku P, Joseph V. Chlamydial serology in respiratory tract infections. Proceedings 3rd Meeting of the European Society for Chlamydia Research. Angelida Stary. Viena,Austria; 1996. p. 353.

Maurin M, EB F, Elienne J. Serological cross-reaction between bartonella and chlamydia

www.SID.ir

Archive of SID

species: implications for diagnosis. J Clin Microbiol 1997; 35: 2283-2287.
Messmer TO, Black CM, Thacker WL. Mycoplasma contamination of chlamydia isolated from clinical sample. APMIS. 1994; 102: 793-796.
Verkooyen RP, Sijmons M, Freis E. Widely used commercially available chlamydia pneumoniae antigen contaminated with mycoplasma. J Med Microbiol 1997; 64:419-424.
Lee HH, Joseph V. Aplication of DNA amplification technology for the detection of STD agents. Proceedings 3rd Meeting of the European society for Chlamydia Research. Angelika Stary. Viena, Austria; 1996. p. 268.
Quinn TC, Joseph V. Advances in the molecular diagnosis of chlamydia trachomatis. Proceedings 3rd Meeting of the European Society for Chlamydia Research. Angelika Stary. Viena, Austria; 1996. p. 263.
Verkooyen RP, Willemse D, Hiep-van Castern SCAM. J Clin Microbiol 1998; 36:3201-2307.
حاجیا مسعود. تشخیص افتراقی عوامل پنومونی کلامیدیایی C.pneumoniae و C.psittaci توسط Single PCR. مجلهٔ علمی دانشگاه علوم پزشکی همدان، ۱۳۷۸ شمارهٔ ۱۰ صفحهٔ ۵.
حاجیا مسعود. ارزیابی روش یک مرحله‌ای خالص سازی DNA با نمونه‌های کلینیکی برای استفادهٔ PCR. مجلهٔ علمی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ۱۳۷۸ صفحهٔ ۹۳.

HadguA. The discrepancy in discrepant analysis. Lancet 1996; 348: 592-593.
Hajia M, Storey CC. Simultaneous detection of Chlamydia pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae by PCR. Medical J of Islamic Republic of Iran 1999; 12: 287-391.

www.SID.ir