

بررسی وجود آنتی‌بادی ضد کلامیدیائی IgM و IgG در افراد بدون عفونت چشمی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۰۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۰۴/۰۹

چکیده

زمینه و هدف: کلامیدیا تراکوماتیس عامل بیماری‌های تراخم، کنژنکتیویت نوزادان، عفونت انکلوژیونی چشمی بزرگسالان، عفونت‌های جنسی و عفونت‌های ریوی در نوزادان می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی شیوع آنتی‌بادی ضد کلامیدیا تراکوماتیس در جمعیت بدون عفونت چشمی می‌باشد. **روش بررسی:** در یک مطالعه مقطعی ۲۵۰ نفر از افراد با گروه‌های سنی مختلف مراجعه‌کننده به آزمایشگاه بیمارستان فارابی که بدون عفونت چشمی بوده‌اند انتخاب شدند و با روش الیزا آنتی‌بادی IgG و IgM در آن‌ها اندازه‌گیری شد و از نظر جنس، توزیع سنی، وجود آنتی‌بادی‌ها IgM و IgG ارتباط مثبت بودن آنتی‌بادی با سن و جنس فرد بررسی شد. **یافته‌ها:** از ۲۵۰ نفر، ۱۲۵ نفر (۵۰٪) زن و ۱۲۵ نفر (۵۰٪) مرد. با میانگین سنی ۴۰ سال (یک تا ۸۳ سال) بودند. تعداد ۱۱ نفر (۴/۴٪) IgG مثبت داشتند که پنج نفر زن و شش نفر مرد بودند. افرادی که دارای IgG مثبت بودند همگی بالای ۳۱ سال بودند. تعداد ۱۸ نفر (۷/۲٪) IgM مثبت داشتند که ۱۳ نفر زن و پنج نفر مرد بودند که تعداد زن‌ها از مردها بیشتر بوده است. هیچ کدام از افراد به طور هم‌زمان آنتی‌بادی IgG و IgM نداشتند. **نتیجه‌گیری:** جمعیت مورد مطالعه دارای شیوع پایین از نظر وجود آنتی‌بادی ضد کلامیدیائی بوده‌اند. پیشنهاد می‌گردد که از روش‌های سرولوژی برای اسکرینینگ عفونت چشمی در مراکز که تست‌های دیگر در دسترس نمی‌باشد استفاده شود و در صورت مثبت بودن از تست‌های تاییدی آنتی‌ژنی استفاده گردد.

کلمات کلیدی: کلامیدیا تراکوماتیس، آنتی‌بادی IgG، آنتی‌بادی IgM، ELISA

فهیمه اسدی آملی

مژگان اکبرزاده جهرمی*

منصوره عطار

فروش آزادبخت

گروه پاتولوژی، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

*نویسنده مسئول، انتهای بلوار کشاورز، بیمارستان امام خمینی، انستیتو کانسر، بخش پاتولوژی تلفن: ۶۱۱۹۲۵۰۲ email: makbarzadeh@razi.tums.ac.ir

مقدمه

گیمسا جهت مشاهده انکلوژیون‌های داخل سیتوپلاسمی کلامیدیائی که روش روتین در اکثر مراکز می‌باشد. کشت سلول روش مرجع برای تشخیص عفونت‌های کلامیدیائی است.^۱ روش‌های تعیین آنتی‌ژن در نمونه‌ها شامل: Direct Immuno fluorescent Ab test (DIF)^۱، ELISA، PCR است و ارزیابی سرولوژیک جهت تعیین Ab ضد کلامیدیائی در سرم بیماران به وسیله روش‌های فیکساسیون کمپلمان، Micro IF و ELISA صورت می‌گیرد.^۳ تفاوت روش‌های فوق در حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت می‌باشد. مناسب‌ترین روش در هر جا بر اساس ترکیب چند فاکتور مشخص می‌شود شامل: جمعیت در معرض خطر، تسهیلات در دسترس، قیمت مواد مصرفی، مهارت تکنولوژیستو نوع نمونه در دسترس.^۴ در کشور ما تعداد محدودی از روش‌های تشخیصی عفونت کلامیدیائی قابل اجرا در دسترس می‌باشد. انجام کشت سلولی محدود به مراکز تحقیقاتی

کلامیدیا انگل اجباری داخل سلولی می‌باشد که سه گونه Trachomatis chlamydia، psittaci، chlamydo- و chlamydo- pneumoniae برای انسان پاتوژن می‌باشند. کلامیدیا تراکوماتیس بر اساس مشخصات پلی ساکاریدی دارای ۱۵ سروتایپ است که در چشم انواع مختلف بیماری عفونی را ایجاد می‌کند. تراخم، که مهمترین عامل کوری در جهان بوده و توسط سروتایپ A-C ایجاد می‌شود.^۱ کنژنکتیویت انکلوژیونی یا پاراتراخم که به وسیله سروتایپ D تا K ایجاد می‌شود که در نوزادان به صورت عفونت چرکی حاد نوزادان تظاهر می‌یابد و در بالغین به صورت کنژنکتیویت فولیکولر تحت حاد است.^۱ برای اثبات وجود عفونت کلامیدیائی روش‌های متعدد آزمایشگاهی وجود دارد از جمله بررسی سیتولوژی بر روی نمونه‌های به دست آمده از خراش ملتحمه و رنگ آمیزی

اساس تیتراژ cutoff تعریف شده در کیت، موارد مثبت تعیین شد. در موارد مثبت، آنتی‌بادی IgM برای حذف کردن اثر فاکتور روماتوئید بر روی آنتی‌بادی IgM، سرم بیماران را با anti human IgG مواجه کرده و سپس آزمایش مجدداً تکرار شده و موارد مثبت کاذب ناشی از فاکتور روماتوئید در سرم بیماران حذف گردید. در مورد IgG نیز موارد مثبت دوباره تکرار شد و تنها سرم‌هایی که در هر دو بار طبق cut off تعریف شده در کیت مثبت بودند انتخاب شدند. آزمایشات فوق بر روی باقیمانده سرم مراجعه‌کنندگان که برای آزمایشات دیگری از فرد گرفته شده بود انجام شد و ضرری برای فرد مورد مطالعه نداشت. آنالیز آماری با برنامه SPSS ویراست ۱۳ انجام شده است. وجود آنتی‌بادی IgM و IgG در زن‌ها و مرد‌ها و در گروه‌های سنی مختلف با استفاده از تست آماری χ^2 با هم مقایسه گردید. مقادیر معنی‌دار p کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از ۲۵۰ نفر، ۱۲۵ نفر (۵۰٪) زن و ۱۲۵ نفر (۵۰٪) مرد هستند. حداقل سن یک‌سال و حداکثر سن ۸۳ سال، میانگین سنی ۴۰ سال با انحراف معیار ۱۹/۵ (۴۰±۱۹/۵) بوده است. تعداد ۱۱ نفر (۴/۴٪) IgG مثبت داشتند. افرادی که دارای IgG بودند دارای توزیع سنی (بر حسب دهه‌های سنی) زیر بودند: در دهه سنی ۳۱-۴۰، یک نفر، ۴۱-۵۰، دو نفر، ۵۱-۶۰، سه نفر، ۶۱-۷۰، دو نفر، ۷۱-۸۰، سه نفر، افراد دارای IgG مثبت، همگی بالای ۳۱ سال و میانگین سنی ۶۱/۸ سال داشتند. از ۱۱ نفر با IgG مثبت، پنج نفر زن و شش نفر مرد بودند. با بررسی آماری χ^2 تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند و ارتباطی بین مثبت شدن IgG و جنسیت وجود نداشت. تعداد ۱۸ نفر IgM مثبت داشتند و توزیع سنی (بر حسب دهه‌های سنی) ذیل می‌باشند: ۰-۱۰ سال، سه نفر، ۱۱-۱۲ سال، دو نفر، ۳۰-۴۱، هفت نفر، ۴۰-۴۱، یک نفر، ۴۱-۵۰، یک نفر، ۵۱-۶۰، دو نفر، ۶۱-۷۰، دو نفر، ۷۱-۸۰، یک نفر، ۸۱-۹۰، یک نفر که دارای میانگین سنی ۳۰/۶ سال بودند. از بین ۱۸ نفر (۷/۲٪) ۱۳ نفر زن و پنج نفر مرد بودند که با بررسی آماری χ^2 تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (p < ۰/۰۵). ۲۳۲ نفر تیتراژ IgM آن‌ها منفی بود که ۱۱۲ نفر زن و ۱۲۰ نفر مرد بودند. هیچ‌کدام از افراد به‌طور هم‌زمان دارای آنتی‌بادی IgG و IgM نبودند. با بررسی آماری χ^2 مثبت نبودن هم‌زمان IgG و IgM از نظر آماری معنی‌دار بود.

می‌باشد. روش DAF فقط در مراکز خاص قابل انجام است و به صورت معمول در دسترس نیست. روش PCR بسیار گران است. روش متداول فعلی روش خراش ملتحمه رنگ‌آمیزی با گیمسا است که گرچه ویژگی خوبی دارد ولی حساسیت آن پایین است. در نتیجه عفونت در تعداد زیادی از بیماران تشخیص داده نمی‌شود. با توجه به موارد فوق به نظر می‌رسد که در کشور ما روش‌های سرولوژی به نسبت روش‌های دیگر ارزانتر، قابل دسترس و اجرائی‌تر می‌باشد. و کیت‌های آن در همه آزمایشگاه‌های معمولی نیز وجود دارد و می‌تواند روش مناسبی برای تشخیص در ایران باشد. از آنجایی که اطلاعاتی از شیوع دقیق عفونت‌های کلامیدیایی چشمی و جنسی و متعاقب آن پاسخ ایمنولوژیک در وضعیت سرمی در افراد جامعه ایران نداریم و اکثر مطالعاتی که در مورد روش‌های تشخیصی کلامیدیا تراکومایتیس در کشورهای مختلف و نیز در ایران صورت گرفته است در باره عفونت‌های اوروژنیتال بوده و در ارتباط با عفونت‌های چشمی مطالعات بسیار اندک و انگشت شمار صورت گرفته است. به نظر می‌رسد در بیماری که دارای تظاهرات چشمی مطابق با کنژنکتیویت کلامیدیایی مثل کنژنکتیویت فولیکولر باشد تعیین آنتی‌بادی ضد کلامیدیایی فاز حاد می‌تواند در تشخیص کمک‌کننده باشد و برای اینکه ارزیابی از تست‌های سرولوژیک داشته باشیم باید اطلاعات پایه‌ای از شیوع این آنتی‌بادی‌ها در جامعه نرمال داشته باشیم. لذا بر آن شدیم که در یک جمعیت نمونه بدون عفونت چشمی، وضعیت سرمی آنتی‌بادی‌های ضد کلامیدیایی را مشخص کنیم.

روش بررسی

در این مطالعه مقطعی ۲۵۰ نفر که از فروردین ماه ۱۳۸۵ به بعد به آزمایشگاه بالینی بیمارستان فارابی مراجعه کرده‌اند انتخاب شدند. با توجه به میزان شیوع در مقالات مختلف، شیوع ۲۰ درصد فرض شده و حجم نمونه محاسبه گردید. این افراد شامل همه گروه‌های سنی، اطفال و بزرگسال بودند. عدم وجود عفونت چشمی در هنگام نمونه‌گیری توسط شرح حال بالینی و معاینه تایید شد. افراد با عفونت چشمی از مطالعه حذف شدند. سرم‌های بیماران در روز مراجعه جدا شده و در فریژر ۲۰- سانتی‌گراد نگهداری شده و سپس با روش ELISA و استفاده از کیت‌های شرکت medac آلمان آنتی‌بادی‌های IgG و IgM ضد کلامیدیایی، Lps کلامیدیا تراکومایتیس اندازه‌گیری و بر

بحث

pneumonia می‌تواند دیده شود ولی اکثر کلینیسین‌ها آن را به‌عنوان مثبت کاذب یا غیر اختصاصی در نظر می‌گیرند مگر این‌که توسط seroconversion به IgG تأیید شود. در مواردی، سرم بعدی بیمار seronegative می‌شود و عفونت ثابت نمی‌شود.^{۲۸} نکته مهم دیگر در مورد آنتی‌بادی‌های کلامیدیائی وجود واکنش متقاطع بین گروه‌های مختلف کلامیدیائی است و این‌که آزمایش‌های سرولوژی آنتی‌بادی اختصاصی گونه را شناسائی می‌کند و برای کلامیدیا تراکوماتیس اختصاصی نیستند.^۱ طبق تعریف، جمعیت با شیوع پائین کمتر از ۵٪ عفونت و جمعیت با شیوع بالا ۳۰ تا ۶۰ درصد عفونت دارند.^۲ وجود آنتی‌بادی ضد کلامیدیائی در مطالعه ما (IgG: ۴/۴٪ و IgM: ۷/۲٪) در مقایسه با کشورهای دیگر کمتر بود. در مطالعه‌ای در سبیری در افراد بزرگسال ۱۸/۶٪ بوده که میزان مثبت شدن IgM در زن‌ها دو برابر مردها بوده است.^۹

در مطالعه دیگری که در بچه‌ها در ایتالیا انجام شده است شیوع آنتی‌بادی ضد کلامیدیائی در گروه سنی ۱۰-۱۲ سال ۳۱/۷٪ بوده است.^{۱۰} در مطالعه ما شیوع مثبت آنتی‌بادی IgM در گروه سنی زیر بیست سال ۲٪ بود و آنتی‌بادی IgG در هیچ‌کدام از افراد زیر ۲۰ سال مثبت نشد. با توجه به نتایج فوق به نظر می‌رسد جامعه مورد مطالعه ما دارای شیوع پایین آنتی‌بادی ضد کلامیدیائی بوده است و می‌توان از تست‌های سرولوژیک برای بررسی و اسکرینینگ اولیه جهت عفونت‌های چشمی کلامیدیائی استفاده کرد. در واقع، گاهی با توجه به شرایط بالینی تست سرولوژی می‌تواند تعیین کننده باشد. مثلاً در کونژکتویت نوزادان IgM منفی می‌تواند رد کننده عفونت کلامیدیائی باشد.^۲ ولی در سایر موارد مثل عفونت کونژکتوئیتیس انکلوژیونی بزرگسالان تست‌های سرولوژیک مثبت باید با تست‌های تکمیلی یافتن آنتی‌ژن از جمله DIF، PCR و ELISA برای آنتی‌ژن کلامیدیائی تأیید شود. پیشنهاد مطالعه ما استفاده از تست‌های سرولوژیک به عنوان آزمایش اسکرین اولیه در بیماران با علائم بالینی منطبق با کونژکتیویت‌های کلامیدیائی عفونت چشمی در مراکز که تست‌های دقیق‌تر در دسترس ندارند می‌باشد. در بعضی از دیگر مقالات نیز این روش تأیید شده است.^{۱۱} با این وجود، با توجه به حساسیت و ویژگی بالای DIF به عنوان یک روش آزمایشگاهی نسبتاً راحت و دقیق انجام این آزمایش در مراکز ارجاعی چشم پزشکی که از تعداد نمونه‌های کافی برخوردارند ضروری است.

کلامیدیا در چشم چندین بیماری ایجاد می‌کند. تراخم که شایع‌ترین علت کوری در جهان است، neonatal conjunctivitis که در طی عبور نوزاد از کانال زایمان ایجاد می‌شود و paratrachoma که به صورت یک کونژکتیویت فولیکولار می‌باشد. کونژکتیویت انکلوژیونی مشخصاً یک بیماری sexually Transmitted است. میزان شیوع عفونت چشمی کلامیدیائی به موازات شیوع بیماری ژنیتال می‌باشد و در مناطقی که شیوع STD بالا است بیماری چشمی هم زیاد دیده می‌شود و شیوع آن بسته به گروه سنی، بین ۲۰٪ تا ۹۰٪ متغیر است.^۱ مقدار قابل توجهی از بیماران با کونژکتیویت کلامیدیائی هم‌زمان دارای یک عفونت کلامیدیائی ژنیتال هستند. اکثر عفونت‌های ژنیتال بدون علامت هستند.^{۱۲} طبق نتایجی که از مطالعه ما به دست آمد در افراد مورد مطالعه که بدون عفونت چشمی حاد بودند تعداد ۱۱ نفر (۴/۴٪) دارای آنتی‌بادی IgG بودند که میزان مثبت بودن آن در زنان و مردان تقریباً مساوی بود. آنتی‌بادی IgG ارتباط معنی‌داری با متغیر سن داشت. به این صورت که در افراد بالای ۲۰ سال میزان مثبت بودن آنتی‌بادی بیشتر بود که می‌تواند مطرح کننده شیوع بیشتر در افراد دارای فعالیت جنسی باشد. شیوع IgG ضد کلامیدیائی در افراد بزرگسال با فعالیت جنسی می‌تواند زیاد (۶۰٪-۳۰٪) باشد. این افراد ممکن است عفونت جنسی فعال نداشته باشند و به علت وجود عفونت قدیمی دارای این عارضه شده باشند.^۲ تعداد ۱۸ نفر (۷/۲٪) دارای آنتی‌بادی IgM بودند که ۱۳ نفر زن و پنج نفر مرد بوده‌اند. هیچ‌کدام از افراد به طور هم‌زمان آنتی‌بادی IgG و IgM در سرم خود نداشتند. در مورد مثبت بودن IgM نظرات مختلفی ارائه شده است. مثبت بودن IgM به تنهایی می‌تواند یک مثبت کاذب در سرم‌هایی که دارای فاکتور روماتوئید دارند باشد که با مواجه کردن سرم قبل از آزمایش با anti-human IgG می‌توان آن را حذف کرد. در مطالعه ما نیز تمام سرم‌هایی که IgM مثبت داشتند آزمایش با anti-human IgG human IgG تکرار شد و موارد مثبت کاذب حذف شدند.^۷ در ضمن مثبت شدن IgM به تنهایی می‌تواند نشان‌دهنده یک مثبت شدن غیر اختصاصی باشد یا این‌که نشانه مراحل ابتدائی یک reinfection باشد. بعضی از نویسندگان اعتقاد دارند که مثبت شدن IgM به تنهایی در عفونت‌هایی با chlamydia Trachomatis و chlamydia

References

1. Woods GL, Waker DH. Chlamydial, Rickettsial and Mycoplasma infections. In: Mcpherson RA, Pincus MR. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 21th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. p. 1000-3.
2. Stamm WE, Jons RB, Batteiger B. Chlamydia trachomatis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Elsevier: Churchill Livingstone; 2005.
3. Elnifro EM, Cooper RJ, Klapper PE, Bailey AS, Tullo AB. Diagnosis of viral and chlamydial keratoconjunctivitis: which laboratory test? *Br J Ophthalmol* 1999; 83: 622-7.
4. Ridgway GL, Taylor-Robinson D. Current problems in microbiology: 1. Chlamydial infections: which laboratory test? *J Clin Pathol* 1991; 44: 1-5.
5. Postema EJ, Remeijer L, van der Meijden WI. Epidemiology of genital chlamydial infections in patients with chlamydial conjunctivitis; a retrospective study. *Genitourin Med* 1996; 72: 203-5.
6. Ostaszewska-Puchalska I, Zdrodowska-Stefanow B, Pucilo K. Oculogenital Chlamydia trachomatis infections in adults. *Wiad Lek* 2003; 56: 425-9.
7. Mahony JB, Chernesky MA, Bromberg K, Schachter J. Accuracy of immunoglobulin M immunoassay for diagnosis of chlamydial infections in infants and adults. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 731-5.
8. Hejnar P, Koukalová D. Serodiagnostics of chlamydial infections--significance of positivity in IgA and/or IgM antibody classes only. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2002; 146: 33-5.
9. Khryanin AA, Reshetnikov OV, Krivenchuk NA. Epidemiology of Chlamydial Infection (Chlamydia trachomatis) in a Large Industrial Center of Western Siberia, *Bulletin of Dermatology and Venerology*, 2001;
10. Ottolenghi A, Clerici P, Finazzi E, Ciccone A, Magliano EM. Presence of anti-Chlamydia antibodies in healthy children. *Pediatr Med Chir* 1986; 8: 541-3.
11. Numazaki K, Chiba S, Aoki K. Evaluation of serological tests for screening of chlamydial eye diseases. *In Vivo* 1999; 13: 235-7.

Chlamydial IgG and IgM assessment in patients with non infectious ophthalmic diseases

Received: April 16, 2008 Accepted: July 29, 2008

Abstract

Asadi Amoli F.*
Akbarzadeh Jahromi M.
Attar M.
Azadbakht F.

Department of Pathology,
Imam Khomeini Hospital,
Tehran University of Medical
Science

Background: Chlamydia Trachomatis is the most common cause of trachoma and subsequently give rise to neonatal chlamydial conjunctivitis (NCC), adult ophthalmic inclusion infection, sexually transmitted diseases (STD) and pneumonia. The goal of this study was to access the incidence of chlamydia trachomatis in the normal (ophthalmic infection free) population.

Methods: In a cross sectional study 250 patients referring to Farabi Eye university Hospital Tehran, Iran for non infectious ophthalmic disease in different age categories were selected and accessed for chlamydial IgM and IgG by ELISA method.

Results: 250 patients (50% men and 50% women) with the mean age of 40 (ranging from one to 83 years old) were tested. IgG was detected in 11 (five females and six males) patients (4.4%) All of them had more than 31 years old. IgM was detected in 18 (13 females and 5 males) patients (7.2%). No test revealed simultaneous high IgG and IgM titre in the same patient.

Conclusions: There was a low grade of chlamydial infection in our study population. So it is recommended to use serological methods for screening of ophthalmic infections in centers where no other test methods are available and in case of positive results confirmatory antigen tests to be used.

Keywords: Chlamydia trachomatis, IgG antibody, IgM antibody, ELISA

*Corresponding author: Imam
Khomeini Hospital, Keshavarz
Blvd., Tehran., Iran.
Tel: +98-21-61192502
email: makbarzadeh@razi.tums.ac.ir