مجله دانشکده پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی تهران
سال ۶۲، شماره ۴، صفحات ۲۸۰ تا ۲۹۰، (۱۳۸۳)

مقایسه کارآیی دو روش ایمنوفلورسانس غیر مستقیم و کشت آزمایشگاهی جهت تشخیص نوکاردیوز ریوی

دکتر سعید اشراقی، دکتر عبدالفتاح صراف‌نژاد، حمیده طاهری رودسری
دانشگاه علوم‌پزشکی تهران، بیمارستان شریعتی

چکیده

مقدمه: نوکاردیوز ریوی عفونت غیر شایعی است که بنظر میرسد بروز آن بعلّت افزایش فاکتورهای کلینیکی و عوامل تضعیف کننده سیستم ایمنی رو به گسترش است. هدف اصلی این مطالعه عبارت بود از تشخیص نوکاردیوز ریوی در بیماران بستری شده در بیمارستان دکتر شریعتی تهران بروش کشت آزمایشگاهی و ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم **Indirect Immunofluorescence Assay** (IFA) و مقایسه کارآیی این دو روش. ارتباط موجود بین متغیرها و میزان هم خوانی آنها با مطالعات انجام شده با استفاده اطلاعات آماری و اپیدمیولوژیکی بدست آمده در خصوص جمعیت مورد مطالعه، از اهداف دیگر این مطالعه بود.

مواد و روشها: در این مطالعه ۱۰۱ بیمار ریوی پیشرفته، ۷۲ نفر از کادر درمانی بیمارستان و ۱۰۶ نفر نیز از افراد سالم مجموعاً ۲۷۹ نفر و بمدت ۲۰ ماه مورد بررسی قرارگرفتند. نمونه برداری شامل نمونه‌های خلط، مایع شستشوی برونش (BAL) و ۵ میلی لیتر خون وریدی بود. از هر نمونه سه لام میکروسکپی تهیه و همزمان در محیط‌های سابورو، ژلوز خوندار و پارافین کشت داده شد. نمونه‌های سرم خون نیز جهت جستجوی آنتی‌بادی بروش ایمنوفلورسانس غیر مستقیم مورد بررسی قرار گرفت، ضمن اینکه برای هر بیمار پرسشنامه مناسب پرگردید.

یافته‌ها: از بین ۱۰۱ بیمار بستری شده تعداد ۴۱ نفر دارای تیتر آنتی‌بادی از $\frac{۱}{۴}$ تا $\frac{۱}{۵۱۲}$ بودند و یک مورد هم از نظر وجود نوکاردیا در محیط کشت و هم تست ایمنوفلورسانس غیر مستقیم مثبت گردید. بررسی‌های تکمیلی نشان داد که گونه بدست آمده نوکاردیا استروئیدس کمپلکس میباشد. تست ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم این بیمار تا رقت ۱/۵۱۲ واکنش نشان داد و لذا از سرم این بیمار بعنوان آنتیژن در تست IFA استفاده گردید. بیمار مردی ۲۸ ساله ای بود که بعلت بیماری واسکولیت وگنر مزمن با سابقه ۱/۵ سال و مصرف مداوم داروهای ایمنو ساپرسیو در بیمارستان بستری شده بود. بیماران آنتی‌بادی مثبت از نظر جنس شامل ۲۶ نفر مرد (٪۶۳/۴)، ۱۵نفر زن (٪۱۴/۸) و از جهت شغل، ۱۵ نفر خانه دار (٪۳۶/۵) و ۹ نفر کارگر بودند که در محدوده سنّی ۷ تا ۸۰ سال قرار داشتند

نتیجه گیری و توصیه ها: یافته‌ها این بررسی نشان میدهد که عفونت ریوی ثانویه که در افراد در معرض خطر و بدنبال ضعف عوامل دفاعی خون، ضعف و آسیب دیدگی سیستم ایمنی و دفاع ناقص ریه ها، بیماریهای زمینه ای، پیوند عضو، مصرف مداوم داروهای ایمنو ساپرسیو (کورتیکوستروئیدها) و غیره بوجود میآید، اندکس بسیار مهمی در تشخیص اولیه نوکاردیوز ریوی میباشد. حتّی اگر پاسخ کشت منفی باشد، علائم فوق کمک کننده هستند، بنابراین استفاده از روشهای تشخیصی مکمل مانند آزمون ایمونوفلوئورسانس، اثر غیر قابل انکاری در تشخیص زودرس بیماری دارد. با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه بنظر میرسد بیماران با عیار آنتی‌بادی ۱/۶۴ حداقل بعنوان افراد مشکوک به نوکاردیوز تلقی میگردند، ضمن اینکه عیارهای پائینتر و بالاتر نیز احتمال مثبت بودن بیماری را منتفی نمیکند.

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:27 IRST on Saturday September 28th 2013
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-15]

مقدمه

شیوع بیماریهای عفونی در سالهای اخیر نظیر سل، ایدز و افزایش بیماریهای ایمنوساپرسیو، اشکال مختلف سرطانها، انجام عمل پیوند اعضاء و نیز ارتباط این بیماریها با ضعف سیستم ایمنی، توجه دانشمندان را به میکروارگانیزمهای فرصت طلب جلب کرده است (۵-۱). یکی از باکتری‌های فرصت طلب نوکاردیاست که گزارشات متعددی درخصوص ایجاد عفونت ریوی در بیماران نقص ایمنی در سراسر جهان منتشر شده است (۱۱-۶). از آنجایی که منشاء این میکروارگانیسم خاک بوده و در مطالعات انجام شده داخلی نیز از خاک مناطق مختلف کشورمان جدا شده است (۱۴-۱۲)، لذا مطالعه در این زمینه در کشور ما نیز بسیار حائز اهمیت است. از طرف دیگر موارد زیادی از نوکاردیوز ریوی ممکن است در افراد نقص سیستم ایمنی موجود باشد در حالی که از دید پزشک معالج مخفی مانده است (۲،۳).

مشکلات موجود در تشخیص سریع و دقیق نوکاردیوز ریوی، نیاز مبرم به طراحی و استفاده از راههای پیشرفته تر درکنار روش کشت باکتری را آشکارتر میکند. در نتیجه امکاناتی جهت تشخیص زودرس بیماری و کاهش میزان مرگ و میر فراهم می‌آورد. تشخیص به روش ایمنوفلورسانس و تحریک پاسخ ایمنی میتواند به عنوان یک ابزار مهم در این راه مورد استفاده قرار گیرد (۱۷-۱۵). از بین تکنیک‌های مختلف سرولوژیک که برای تشخیص بیماری به کار گرفته شده است، روشهای مبتنی بر استفاده آنتی بادیهای نشاندارشده توسط آنزیم یا فلوروکروم موجب افزایش حساسیت آزمون میشوند (۲۰،۱۹،۱۸). بنابراین اگر در کنار روش کشت آزمایشگاهی، روش هائی مانند الایزا و ایمونوفلورسانس نیز انجام شود(۲۲،۲۱،۱۹)، می‌توان علاوه بر مقایسه حساسیت و ویژگی روشهای مورد استفاده، معایبی را که در مورد تشخیص بیماری از طریق کشت وجود دارد بر طرف نمود.

اهداف پژوهش:

هدف اصلی از انجام این مطالعه عبارت بود از تشخیص نوکاردیوز ریوی در بیماران بستری شده در بیمارستان دکتر شریعتی تهران با استفاده از روش ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم (IFA)[1] و کشت آزمایشگاهی و نیز مقایسه کارآیی این دو روش. از دیگر اهداف این مطالعه میتوان به ارتباط موجود بین متغیرها و میزان هم خوانی آنها با مطالعات انجام شده با استفاده اطلاعات آماری و اپیدمیولوژیکی بدست آمده در خصوص جمعیت مورد مطالعه اشاره کرد.

مواد و روش‌ها

الف- جمعیت مورد مطالعه عبارت بودند از:

۱. تعداد ۱۰۱ بیمار(High Risk) بستری شده در بخش ریوی بیمارستان دکتر شریعتی تهران. از این بیماران که همگی مبتلا به عفونت پیشرفته ریوی بودند، نمونهٔ خون، خلط و بعضاً لاواژ و نیز اطلاعات مکتوب در پرسشنامه تهیه گردید.

۲. ۷۲ نفر از کادر درمانی بیمارستان شامل پزشکان، پرستاران، پرسنل خدماتی و رفتگران

۳. ۱۰۶ نفر نیز از افراد سالم بدون هیچگونه تماس با بیمار (اهداء کنندگان خون). از دو گروه آخر فقط نمونه سرم جهت آزمون ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم تهیه گردید.

ب- مواد و وسایل مورد نیاز:

محیط‌های کشت آزمایشگاهی، مواد، معرفها، رنگها و محاولهای شیمیایی، بافر، کونژوگه، آنتی ایمنو گلوبولین انسانی، ظروف شیشه ای، لام فلورسانس و غیره از شرکتهای داخلی و خارجی تهیه گردید. دستگاه اسپکتروفتومتر (طول موج مناسب ۵۸۰ نانومتر و بهترین دانسیته میکروبی برای تهیه آنتیژن حدود ۰/۰۳۲تعیین گردید)، میکروسکوپ فلورسانس مدل CETI، روتاتور و سایر دستگاها از آزمایشگاههای مجهز دانشکده بهداشت استفاده گردید

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:27 IRST on Saturday September 28th 2013
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-15]

ج- روش کار:

پس از تکمیل پرسشنامه، نمونه‌های بیمار شامل خلط و لاواژ (BAL) برای آزمایش مستقیم و کشت، و نیز ۵ میلی لیتر خون جهت انجام آزمون ایمونوفلوئورسانس جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. سرم از نمونه‌های خون جدا و هر یک در ۲ ویال جداگانه تا زمان انجام آزمون در حرارت ۲۰- سانتیگراد نگهداری گردید. بررسی‌های باکتری شناسی شامل تهیه لام مستقیم از نمونه ها، کشت در محیط‌های معیّن و اختصاصی انجام گرفت. شناسائی و جدا سازی باکتری و مطالعه لامهای رنگ آمیزی شده حداکثر ۲ ساعت پس از نمونه برداری انجام شد. در بررسی سرولوژیک از آزمون ایمونوفلوئورسانس غیر مستقیم استفاده گردید. برای کنترل صحت آزمون، از سرم‌هایی که واکنش مثبت نشان می‌دادند رقتهای بالاتر تهیه و آزمایش برروی آنها تکرار گردید.

یافته‌ها

از بین ۱۰۱ بیمار بستری شده تعداد ۴۱ نفر دارای تیتر آنتی‌بادی از $\frac{۱}{۴}$ تا $\frac{۱}{۵۱۲}$ بودند (نمودار شماره۱)، ولی تنها یک مورد، از هر دو نظر (وجود نوکاردیا در محیط کشت و تست ایمنوفلورسانس غیر مستقیم تا رقت $\frac{۱}{۵۱۲}$) مثبت گردید (شکل شماره۱). این بیمار مردی ۲۸ ساله بود که در بخش روماتولوژی بعلت بیماری و اسکولیت واگنر با سابقه ۱/۵ سال بستری گردیده بود. بیمار سابقه ابتلا به هرپس زوستر و نیز مصرف داروهای ایمنوساپرسیو را داشت که بدنبال آن دچار عفونت ریه شده بود. بررسی‌های باکتریولوژیک از نمونه خلط بیمار بر روی محیطهای جامد آزمایشگاهی شامل آگار خوندار، سابورو دکستروز و پارافین آگار، کلنی‌های واضح و مشخص نوکاردیا را روی محیط کشت نشان داد که با لام مستقیم هم خوانی داشت. برای تعیین گونهٔ نوکاردیا از تست‌های افتراقی هیدرولیز سوبسترا استفاده شد که هیچگونه هالهٔ شفافی در اطراف کلنی نوکاردیا در پلیت‌های تیروزین، زانتین، هیپوزانتین و کازئین مشاهده نشد که نشانگر حضور نوکاردیا آستروئیدس میباشد (شکل شماره ۲). سرم خون این بیمار جهت تست IFA در دو مرحله (سرم دوم سه ماه بعد از اولین سرم) مورد بررسی قرار گرفت که هر دو سرم از نظر وجود آنتی‌بادی تیتر بالایی را نشان دادند. لازم به ذکر است که جهت حذف احتمال واکنش متقاطع سرم‌های مورد بررسی با مایکو باکتریوم در جمعیت مورد مطالعه، بیماران مبتلا به باکتری اسید فست از جمع نمونه‌ها حذف شدند. همچنین سوش نوکاردیای بدست آمده از این بیمار بعنوان آنتی ژن در تست IFA بکار گرفته شد. نتیجه آزمون IFA بر روی نمونه سرم افراد سالم با مواجههء شغلی (کادر درمانی بیمارستان) و بدون مواجههء شغلی (اهداء کنندگان خون) هیچگونه واکنش آنتی بادی- آنتیژن دیده نشد (جدول شماره۱). از بررسی‌های آماری بر روی این بیماران، اطلاعاتی بشرح ذیل بدست آمد:

از نظر جنس۲۶ نفر مرد (۶۳/۴٪) و ۱۵ نفر زن (۳۶/۶٪)، از نظر شغل ۱۵ نفر (۳۶/۵٪) خانه‌دار، ۹ نفرکارگر (۲۱/۹٪)، ۷ نفر کارمند (۱۷٪)، ۵ نفر محصل (۱۲/۱٪) و ۵ نفر شغل آزاد (۱۲/۱٪) داشتند. تعداد ۲۵ نفر (۶۰/۹٪) از این افراد در محدودهٔ سنی ۵۵-۱۷ سال قرار داشتند که نشان دهنده احتمال وقوع عفونت نوکاردیایی در این سنین است. ۲۶ نفر (۶۳/۴٪) دارای سابقه مصرف داروهای ایمونوساپرسیو در طول دوران بیماری، ۱۳ نفر دارای سابقه بیماریهای ریوی (۳۱/۷٪)،۶ نفر دارای سابقه بیماریهای ریوی در خانواده (۱۴/۶٪) و ۱۰ نفر دارای سابقه مصرف دخانیات (۲۴/۳٪) بودند.

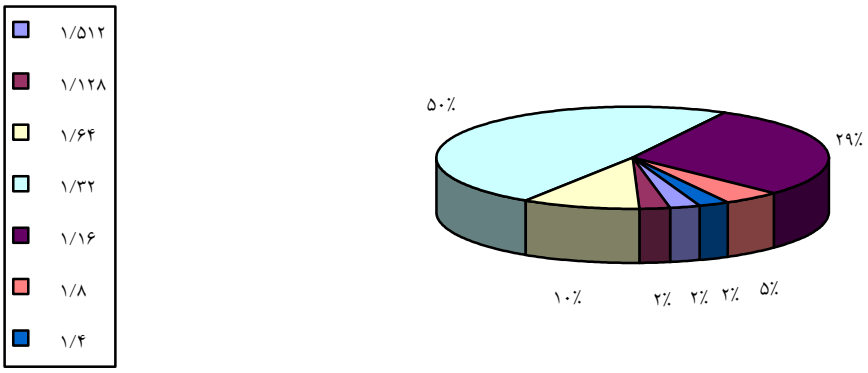
از نظر پراکندگی بیماریهای عفونی زمینه‌ای ۳۶ نفر دارای عفونت ریوی (۷۸/۸٪)، ۱۸ نفر بیماریهای خونی (۴۳/۹٪)، ۱۶ نفر دارای عفونتهای غیر ریوی (۳۹٪)، ۱۰ نفر پیوند عضو (۲۴/۴٪) بودند. لازم به ذکر است که تعدادی از بیماران واجد ۲ یا ۳ بیماری زمینه‌ای بطور تواماً بودند. تعداد ۹ نفر (۲۲٪) از بیماران با تیتر $\frac{۱}{۱۶}$ $\frac{۱}{۳۲}$ و $\frac{۱}{۱۲۸}$ با سابقه ۳-۱ ماه بستری در بیمارستان متأسفانه فوت کردند.

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:27 IRST on Saturday September 28th 2013

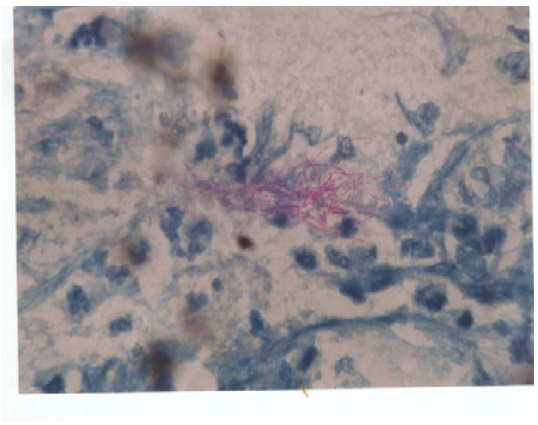
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-15]

جدول شماره ۱- توزیع فراوانی مطلق و نسبی جمعیّت مورد مطالعه براساس نتیجه آزمایش ایمنوفلورسانس غیر مستقیم علیه نوکاردیا

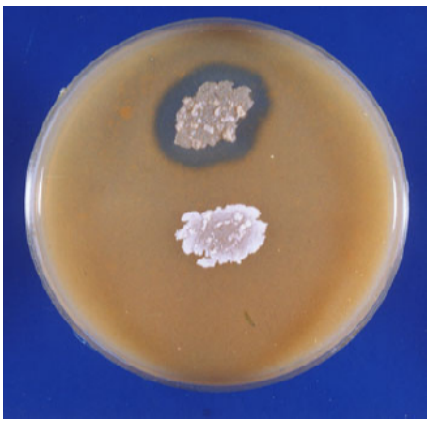
جمعیت تحت مطالعه	مثبت	در صد	منفی	درصد	جمع
گروه سالم دارای مواجههء شغلی	۰	۰	۷۲	۱۰۰	۷۲
گروه سالم بدون مواجههء شغلی	۰	۰	۱۰۶	۱۰۰	۱۰۶
جمع	۴۱	۱۴/۷	۲۳۸	۸۵	۲۷۹
بیماران بستری تحت مطالعه	۴۱	۴۰/۶	۶۰	۵۹/۴	۱۰۱



نمودار شماره ۱- پراکندگی بیماران مشکوک به نوکاردیوز ریوی بر اساس عیار آنتی بادی



شکل شماره ۱- رنگ آمیزی اسید فست سرد از سوش نوکاردیای جدا شده از نمونه خلط بیمار



شکل شماره۲- تست افتراقی کازئین (عدم تشکیل هیدرولیز در اطراف سوش نوکاردیای جدا شده)

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:27 IRST on Saturday September 28th 2013
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-15]

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:27 IRST on Saturday September 28th 2013

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-15]

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:27 IRST on Saturday September 28th 2013

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-15]

بحث

در این مطالعه با توجه به میزان۴۰ در صدی موارد مثبت تیتر آنتی بادی، میتوان گفت که احتمال آلودگی افراد بخصوص بیماران در معرض خطر به نوکاردیا بسیار زیاد است و میتوان از روش IFA در جهت شناسایی این گونه افراد بهره گرفت. بنابراین در بیماران علامت دار میتوان، قبل از آنکه با پیشرفت بیماری، عوارضی غیر قابل برگشت بوجود آید، با اندازه گیری تیتر افزایش یابنده حداقل به تشخیص اولیه رسید و از عواقب ناگوار جلوگیری و گاهی میزان مرگ و میر بیماران را کاهش داد.

در نوکاردیوز ریوی، با ورود باکتری به دستگاه تنفسی، عفونت ریوی ایجاد می‌شود. فعالیت این باکتری در افراد سالم بوسیله سیستم ایمنی محدود می‌شود ولی درافراد مستعد بصورت حاد، پیشرونده و یا مزمن در می‌آید (۱۰،۶،۱،۲۳،۲۴). این باکتری از طریق تستهای آزمایشگاهی از قبیل بررسی کلنی‌ها در محیط کشت، یافتن باکتری در لام مستقیم و روشهای سرولوژیکی شناسایی می‌شود (۲۴،۱۹،۶). هر یک از این روشها دارای مزایا و معایبی هستند که برای رسیدن به روش بهتر به مطالعهٔ این موارد می‌پردازیم:

۱) روش کشت از سالها پیش بعنوان یک روش پایه و اساسی در تمامی آزمایشگاهها حتی با امکانات محدود قابل اجرا می‌باشد. این روش با توجه به خصوصیاتی مانند سادگی عمل و عدم نیاز آن به وسایل گران قیمت آزمایشگاهی همچنان بعنوان روش معمول در مطالعهٔ باکتریائی مورد استفاده قرار میگیرد(۲۵). اما به دلیل کندی رشد نوکاردیا و در نتیجه تاخیر در تشخیص بیماران بد حال، روش مناسبی نیست.

۲) اگر چه روش کشت دارای ویژگی لازم برای تشخیص نوکاردیا آستروئیدس می‌باشد و با کشت این میکروب در محیط‌های اختصاصی مانند پارافین آگار می‌توان از رشد سایر میکروارگانیسم‌ها جلوگیری کرد (۲۶)، اما دارای حساسیت لازم برای رشد میکروبهای ضعیف شده نمی‌باشد زیرا گاهی نمونه‌های تهیه شده ممکنست حاوی باکتری نبوده یا محل نمونه برداری فاقد باکتری باشد و یا در نمونه‌های مخلوط، رشد سریع میکروارگانیسم‌های مزاحم در محیطهای کشت باعث اشتباه در تشخیص رشد نوکاردیا شود (۲۷).

۳) در صورت استفاده از محیطهای کشت آنتی بیوتیک دار که برای کشت قارچ استفاده می‌شود گاهی رشد نوکاردیا کند یا متوقف می‌شود (۲۸).

۴) استفاده از مواد شیمیایی رفع کننده آلودگی و موکولیتیک خلط مانند سود یا پتاس، ان استیل سیستئین و مخلوط کلرید بنزالکونیوم در تری سدیم سیترات برای نوکاردیاها سمی است (۲۸).

۵) تهیه لام مستقیم از نمونه خلط که در تشخیص آزمایشگاهی نوکاردیوز ریوی معمول است معایبی دارد و آن مخلوط شدن خلط با ترشحان دهان میباشد، لذا برای رفع این کاستی از روشهای تهاجمی مانند برونکوسکوپی، بیوبسی و غیره استفاده میشود.

۶) اگر چه استفاده از روشهای تهاجمی و تهیه نمونه‌های مناسب لاواژ بسیار مفید است ولیکن بعلّت سرعت کند تشخیص و حساّسیت کم آن نیاز به استفاده از روشهای سریع و مطمئن سرولوژی احساس میشود.

با توجه به مطالعات انجام شده در خصوص تشخیص نوکاردیوز بکمک تستهای سرولوژیکی مانند:

IFA ,ELISA,Western-blot ,Enzyme Immunoassay توسط محققان مختلف جهان، نتایج قابل توجهی بدست آمده است (۲۰،۱۸و ۳۳-۲۸). روش IFA یک تکنیک ساده، سریع، ارزان و با حساسیت بالاست. در این تکنیک با استفاده از سلول کامل نوکاردیا بعنوان آنتی ژن، حساسیت تست IFA در مقایسه با آزمون‌های سرولوژیکی دیگر بالا می‌رود. معیار قضاوت در مورد روشهای کشت، لام مستقیم و ایمونوفلورسانس براساس مقایسه نتایج بدست آمده با نتایج واقعی است. برای رسیدن به بیمار واقعی (یعنی کسی که باکتری در بدنش فعال است، می‌توان به دو روش عمل کرد:

۱- زیر نظر داشتن افرادی که احتمالاً بیمارند (علائم کلینیکی اختصاصی برای نوکاردیوزریوی وجود ندارد) برای مدت طولانی و دنبال کردن سیر بیماری برای چندین سال، این روش به دلیل طولانی بودن کار تحقیقی و مشکل بودن

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:27 IRST on Saturday September 28th 2013

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-15]

ردگیری بیماران در ایران بعلت عدم وجود پروندهٔ پزشکی در سطح ملی و تعداد بسیار زیاد بیمار، در این پروژه قابل مطالعه نیست.

۲- با تزریق مقدار معینی باکتری خالص نوکاردیا به میزبان طبیعی و مطالعه رشد باکتری و بررسی پاسخ سیستم ایمنی در برابر میکروارگانیسم (مانند مطالعه Kjelstrom در سال ۱۹۹۳ در موش)، واضح است که انجام این عمل در انسان غیر ممکن است و در صورت استفاده از نتایج تست برروی حیوانات آزمایشگاهی(۲۰)، باز هم ممکن است برای انسان به مشکلاتی برخورد کنیم. در نتیجه با توجه به شرایط زمانی و امکانات تحقیق حاضر امکان تعیین بیمار بصورت قطعی وجود ندارد و بنابراین باید از روش احتمالات (Probability approach) استفاده نمود(۳۲). یعنی به طور صریح نمی‌توان گفت که فرد بیمار است یا خیر، بلکه میتوان گفت که فرد چند درصد احتمال بیمار بودن دارد.

یکی از سؤالات این است که چه عیار آنتی‌بادی را بعنوان معیار بیماری در نظر بگیریم؟

در نمودار شماره ۲ نقطهٔ پایانی مشاهده عیار آنتی‌بادی که ایمونوفلورسانس در آنها مثبت بوده است، بر مبنای نتایج مطالعات قبلی آمده است (۲۰،۳۳،۳۴). یک معیار مناسب برای تعیین عیار آنتی‌بادی نشان دهندهٔ بیماری، می‌تواند میانگین نتایج مطالعات قبلی و کنونی باشد، ضمن اینکه لگاریتم عیار آنتی‌بادی رابطهٔ مناسبتری را با احتمال بیماری نمایش میدهد. بنابراین میانگین لگاریتم عیار آنتی بادیها را بدست میآوریم. همانطورکه در نمودار شماره۲ دیده می‌شود میانگین لگاریتم عیار آنتی‌بادی برابر با ۱/۷۰۳- است. بنابراین عیار آنتی‌بادی نظیر آن برابر با ۰/۰۱۹۸ و رقم تقریبی آن برابر با $\frac{۱}{۶۴}$ خواهد بود.

برای تعیین عیار آنتی‌بادی مبنا در تشخیص بیماری یا احتمال آن، می‌توان به روش دیگری نیز مطالعه کرد. اگر فرض کنیم که یک متغیر از توزیع نرمال تبعیت کند، قطعاً ۹۵٪ داده‌ها بین $\overline{X}-2SD$ و $\overline{X}+2SD$ و نیز ٦٨٪ داده‌ها بین $\overline{X}-SD$ و $\overline{X}+SD$ قرار می‌گیرند (۳۲). اگر فرض کنیم که نتایج بدست آمده در این تحقیق نیز از توزیع نرمال تبعیت کرده باشد، بر این مبنا انحراف معیار و میانگین برای عیار آنتی‌بادی و لگاریتم آنتی‌بادی محاسبه میگردد (نمودار شماره ۳و ۴). در اینصورت ۹۵ درصد مقادیر بین $\frac{۱}{۶}$ و $\frac{۱}{۱۳۱}$ و ٦٨ درصد مقادیر بین $\frac{۱}{۱۳}$ و $\frac{۱}{۶۰}$ قرار میگیرند. بنابراین می‌توانیم نتیجه‌گیری کنیم:

الف) اگر در تیترهای رقیق تر از $\frac{۱}{۶۰}$ (مانند $\frac{۱}{۶۴}$) با IFA مثبت مواجه شویم، آنگاه ٨٤ درصد احتمال مثبت بودن بیماری وجود دارد.

ب) اگر در تیترهای رقیق تر از $\frac{۱}{۱۳۱}$ (مانند $\frac{۱}{۲۵۶}$) با IFA مثبت مواجه شویم، می‌توانیم ۹۷/۵ درصد احتمال مثبت بودن بیماری را بدهیم.

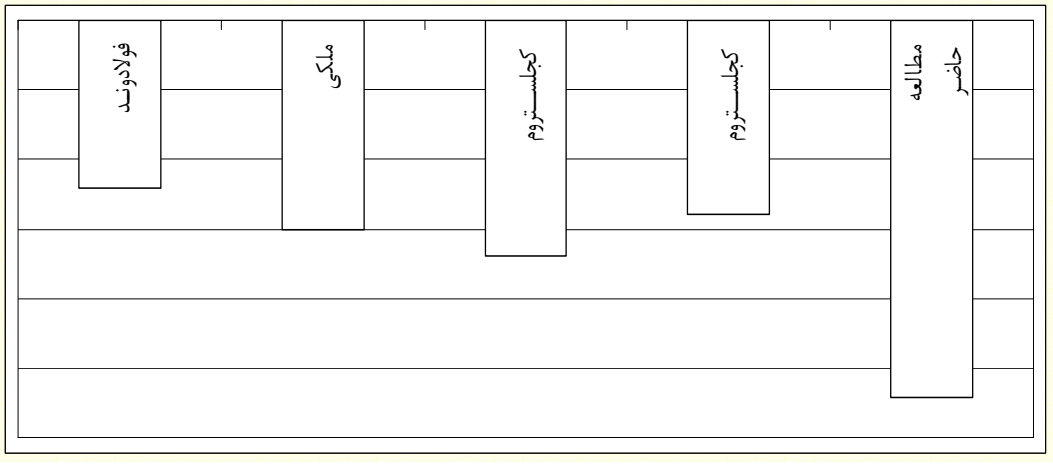
نتیجه‌گیری

در این تحقیق از ۱۰۱ بیمار ٤١ نفر دارای تیتر آنتی‌بادی قابل قبول یا بعبارتی واجد احتمال نسبی برای ابتلا به نوکاردیوز ریوی هستند. تعداد مردها تقریباً ۲ برابر زنها است و در همهٔ سنین احتمال ابتلا به این عفونت وجود دارد. از نظر شغلی تعداد افراد خانه‌دار و کارگر به علت تماس بیشتر با گرد و خاک آمار بیشتری را در جمعیت بیمار نشان می‌دهند. همچنین نقش بیماری‌های زمینه‌ای و مصرف داروی ایمنوساپرسیو با توجه به آمار بدست آمده قابل توجه است.

با توجه به نادر بودن بیماری و وجود تنها یک نمونهٔ مثبت از نظر کشت و لام مستقیم و IFA در جمعیت مورد مطالعه، مقایسه نتایج کشت و ایمونوفلورسانس غیر مستقیم بطور توام و محاسبهٔ حساسیت و ویژگی برای این دو تست از نظر آماری ممکن نیست و تنها می‌توان به بررسی توصیفی این مجموعه پرداخت و برای رسیدن به نتایج آماری باید جمعیت بزرگتری با موارد مثبت بیشتر در آینده مطالعه شوند.

در این مطالعه متأسفانه ۹ نفر از بیماران با تیتر آنتی‌بادی $\frac{۱}{۱۶}$، $\frac{۱}{۳۲}$ و $\frac{۱}{۱۲۸}$ فوت کردند که می‌توان احتمال مرگ بعلت آبسهٔ مغزی ناشی از نوکاردیا را بیان کرد. با توجه به مشکلات موجود در تشخیص قطعی و زودرس نوکاردیوز

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:27 IRST on Saturday September 28th 2013
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-15]

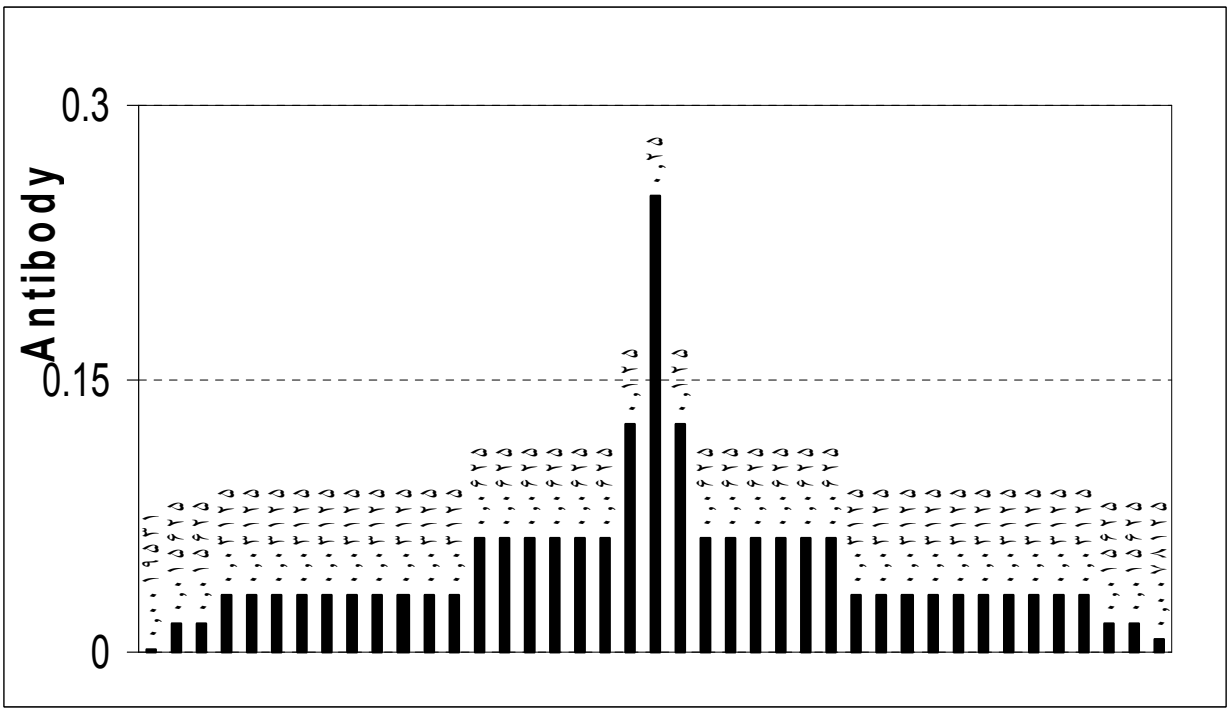


نمودار شماره ۲- مقایسه عیار آنتی‌بادی در آزمون IFA با مطالعات محقّقین دیگر در بیماران نوکادیوز ریوی

نام محقّق	مطالعه حاضر	Kjelstrom	Kjelstrom	ملکی	فولادوند
عیار آنتی‌بادی	$\frac{1}{512}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{16}$
لگاریتم آنتی‌بادی	-۲/۷۰۹	-۱/۳۹۸	-۱/۶۹۹	-۱/۵۰۵	-۱/۲۰۴

$\frac{1}{64}$ # ۰/۰۱۹۸ = متوسط عیار آنتی‌بادی

۱/۷۰۳- = متوسط لگاریتم آنتی بادی



نمودار شماره ۳- مشاهده تیتر آنتی‌بادی در افراد مشکوک به نوکاردیوز ریوی در منحنی نرمال ارقام طبیعی در منحنی نرمال

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:27 IRST on Saturday September 28th 2013
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-15]

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:27 IRST on Saturday September 28th 2013

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-15]

نمودار شماره ۴- مطالعه آماری داده‌های مثبت از نظر عیار آنتی‌بادی در افراد مشکوك به نوکاردیوز ریوی

Antibody (fraction)	۱/۵۱۲	۱/۶۴	۱/۸	۱/۴	۱/۱۶	۱/۳۲	۱/۱۲۸
Antibody (decimal)	۰/۰۰۲۰	۰/۰۱۵۶	۰/۱۲۵۰	۰/۲۵۰۰	۰/۰۶۲۵	۰/۰۳۱۳	۰/۰۰۷۸
Number of cases	۱	۴	۲	۱	۱۲	۲۰	۱

0	Value (decimal)	1/[Value (decimal)]	Approx.Value
Average of antibody	۰/۰۴۷۵	۲۱/۱	۱/۲۰
SD of Antibody	۰/۰۴۱۴	۲۴/۱	۰
Mean + SD	۰/۰۸۸۹	۱۱/۲	۱/۱۱
Mean - SD	۰/۰۰۶۰	۱۶۵/۴	۱/۱۶۵
Mean + 2SD	۰/۱۳۰۴	۷/۷	۱/۸
Mean - 2SD	-۰/۰۳۵۴	-۲۸/۲	۰

0	Value (Log)	Approx. antibody
Average of Log(antibody)	-۱/۴۳۹۰۷۰۲۲۳	۱/۲۷
SD of Log(Antibody)	-۰/۳۳۹۹۹۱۹۹۲	۰
(Mean + SD) of Log	-۱/۰۹۹۰۷۸۲۳۱	۱/۱۳
(Mean - SD) of Log	-۱/۷۷۹۰۶۲۲۱۵	۱/۶۰
(Mean + 2SD) of Log	-۰/۷۵۹۰۸۶۲۳۹	۱/۶
(Mean - 2SD) of Log	-۲/۱۱۹۰۵۴۲۰۸۱	۱/۱۳۱

ریوی و احتمال سیستمیک شدن عفونت بعلت تمایل باکتری به انتشار سریع از ریه به سایر اعضای بدن و در نتیجه ایجاد آبسه مغزی، جهت کاهش ریسک ایجاد بیماری در افراد مستعد و تشخیص زودرس بیماری و کاهش میزان مرگ و میر، می‌توان از روش سرولوژیکی IFA در کنار روش کشت و لام مستقیم استفاده کرد و بر اطمینان از درستی تشخیص بیماری افزود. از آنجایی که تکنیک ایمونوفلورسانس غیر مستقیم یک روش ساده، ارزان و سریع می‌باشد و از نظر تشخیص نوکاردیوزدر اکثر موارد نتایج خوبی داده است،می‌توان از آن در ارزیابی و تشخیص کلینیکی بیماران با توجه به پروندهٔ پیشین آنها در درمان سریع بیماران استفاده کرد. بنابراین پیشنهاد می‌شود:

الف- با بکار بردن روش‌های دیگر سرولوژیکی مانند ELISA بر روی سرمهای مطالعه شده با IFA، ویژگی و حساسیت روش بکار گرفته شده با هم مقایسه شوند.

ب- مطالعه اینکه آیا روش‌های سرولوژیکی می‌توانند بجای روش کشت بعنوان یک گلد استاندارد مطرح شده و در نتیجه بتوانند معایبی را که در مورد تشخیص بیماری از طریق کشت ذکر شده برطرف نمایند. استفاده از IFA برروی سرم بیمارانی که عفونت آنها با نوکاردیا آستروئیدس اثبات شده است و بدست آوردن عیار آنتی‌بادی مناسب برای انسان.

منابع

1. Sorrel TC، Iredell JR، Mitchell DH. "Nocardia species" In: Principles and Practice of Iinfectious Diseases.5th .edition.(GL Mandell، RGJr Douglas، and JE Bennett) 2000; Vol.4. pp. 2637-2643. Churchill Livingstone London

2. Rippon، J.W، Medical Mycology، Introduction to pathogenic actinomycetes. 3rd edition; 1998: PP 15-29، Philadelphia، WB Saunders

3. Rodriguez. Mand et al. "Nocardia asteroides peritonitis in a patient with cirrhosis and human immunodeficiency virus infection". Clin. Infect. Dis.، 1994; 18:1010-1011

4. Reddy، S.S.، Holley، J.L.، "Nocardiosis in a recently transplanted renal patient". Clinical Nephrol. 1998; 50(2):123-127

5. Lee، C.C. Loo، L.W. and Lam، M.S. "Case reports of Nocardiosis in patients with HIV infection". Ann. Acad. Med. Singapore 2000; 29-31

6. Filice GA. " Nocardiosis" In: "Harrison's Principals of internal Medicine. Section 7 "Miscellaneous Bacterial Infections" 15th edition. 2001; vol.1 pp. 1006– 1008. McGraw-Hill Companies، Inc. USA

7. Menendez، R.، Cordero، P.J.، Santos، M.، Goberando، M. and Marco، V. " Pulmonary infection with Nocardia species: a report of 10 cases and review". Euro. Respir. J. 1997; 10 (7) 1542-1546

8. Pourmand G. and et al. "Nocardiosis report of four cases in raenl transplant recipients transplantation proceedings". 1995; 27(5):2731-2733

9. Van Burik، J.A.، Hackman، R.C.، Nadeem، S.Q.،Hiemenz، J.W.، White، M.H.، Folwers، M.E. and Bowden، R.A. "Nocardiosis after bonemarrow transplantation". A retrospective study . Clin. lnfect. Dis. 1997; 24(6): 1154-1160

10. Murray PR، Rosenthal KS، Kobayashi GS، Pfaller MA. Nocardia، Rhodococcus، and Related Actinomycetes. In; Medical Microbiology. 2002; pp.359-365. A Harcourt Health Sciences Company، London

11. Bailey and Scott`s Diagnostic Microbiology، edited by Forbes B.A، Sahm D.F، Weissfeld A.S. Tenth edition ، 1998، by Mosby، Inc

۱۲. کرباسیان، محمّد علی، جدا سازی نوکاردیاهای بیماریزا از خاک منطقه زاهدان و بررسی بیماران مبتلا به مایستوما در سال ۱۳۷۱ . پایان نامه دکتری علوم آزمایشگاهی

۱۳. اشراقی، سعید ، نوکاردیوز(Nocardiosis) ،نشریه تشخیص آزمایشگاهی شمارهٔ ۳، سال ۱۳۷۷.

۱۴. مقدمی، مهین، بررسی نوکاردیوز در ایران، مجموعه مقالات کنگره مشهد، ۱۳۷۱، صفحه ۵۲.

15. Angeles A.M، Suger A.M Rapid diagnosis of nocardiosis with an enzyme immunoassay J.Infect .Dis، (1987)، 155:292-96

16. Magee CC، Halligan RD، Milford E.L، Sayegh MH. Nocardial infection in a renal

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:27 IRST on Saturday September 28th 2013
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-15]

transplant recipient on tacrolimus and mycophenolate mofetil. Clin-Nephrol; 1999; 52(1): 44-46

17. Hermoso، De.، Mendosa، J.، Nieto، C.G.، Arenas، A.، Alonso، J.U.، Rey، J.، Gil، M.C. and et al. "An indirect fluorescent antibody technique for detection of anti-Dermatophilus congolensis antibodies in sheep." Trop Anim. Health prod. 1994; 26 (2):74-76

18. Boiron P،provost F، use of partially purified 54 kilodalton antigen for diagnosis of nocardiosis by western blot (immunoblot) assay. J. clin microbiol ;1990، 28:328-331

19. Zane HD. Chapter 13: Labeled Immunoassays، In: Immunology; Theoretical & Practical Concepts in Laboratory Medicine.2001; pp. 270-289. W.B. Saunders Co.

20. Kjelstrom JA، Beaman BL. Development of a serologic panel for the recognition of nocardial infections in a murine model. Diagn Microbiol Infect Dis; 1993 16(4):291-301

21. Laurent، F.، Mick، V.، and Boiron، P.، "Nocardia infection: Clincal and biological aspect". Ann. Biol. Clin. (Pairs) 1999; 57(5): 545-555

22. Koffi، N.، Aka-Daguy، E.، Ngom، A.، Kouassi، B.، Yaga، B.A. and Dosso، M.، "Prevalence of Nocardiosis in an area of endemic tuberculosis". Rev Mal Respir". 1998; 15(5): 643-647

23. Mari B، Monton C، Mariscal D، Lujan M، Sala M، Domingo C. Pulmonary nocardiosis: clinical experience in ten cases. Respiration. 2001; 68(4): 382-388

24. Bowden، G. H. W. Actinomyces. In: Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 9th. edition. vol. 2، Systematic Bacteriology، (A. Balows and B. I. Duerden eds.)، 1998; PP. 445-460 Duerden، Oxford Univ. Press، Arnold

25. Garrett M.A، Holmes H.T، and Nolte F.S. Selective buffered charcoal – Yeast Extract Medium for isolation of nocardiae from mixed cultures. J. Clin microbiology، (1992)، 30 (7): 1891-1892.

26. Singh M، Sandhu R.S and Randhawa H.Comparison of Paraffin baiting and conventional culture techniques for isolation of Nocardia-asteroides from Sputum. J. Clin microbiology ، (1987)، 25(1) : 176-177.

27. Goodfellow M، Mordarski M، Williams ST. The Biology of the Actinomycetes، Academic Press Inc. (London) ، LTD. 1984.

28. Murray P.R ، Heeren R.L and Niles A.C، Effect of decontamination procedures on recovery of Nocardia spp. J.of clin Microbiol، (1987)، 25 (10): 2010-2011.

29. Urbaniak-Kujda D، Cielinska S، Kapelko-Slowik K، Mazur G، Bronowicz A. Disseminated nocardiosis as a complication of Evans' syndrome. Ann-Hematol. 1999; 78(8): 385-387

30. Ellis TN، Beaman BL. Murine polymorphonuclear neutrophils produce interferon-gamma in response to pulmonary infection with Nocardia asteroides.J Leukoc Biol. 2002; 72(2):373-381

31. Subhash HS، Christopher DJ، Roy A، Cherian AM. Pulmonary nocardiosis in human immunodeficiency virus infection: a

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:27 IRST on Saturday September 28th 2013

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-15]

مستقیم، سال ٧٨-١٣٧٧ ، دانشکده داروسازی- دانشگاه علوم پزشکی تهران، شماره پایان نامه : ٤٠٠٢.

٣۴. فولادوند، ولی – اجرا و استاندارد کردن روش ایمونوفلورسانس غیر مستقیم در شناسایی نوکاردیوز ریوی، سال تحصیلی ٧٨-١٣٧٧ دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران، شمارهٔ پایان نامه ٤٠٠٦.

tuberculosis mimic. J Postgrad Med. 2001; 47(1):30-32

32. Altman D.G، Practical statistics for medical research، (1994)، Chapman & Hall، 611p

٣٣. ملکی، مهدی _ بررسی میزان شیوع نوکاردیوزدر بیمارستانهای امام خمینی و دکتر شریعتی تهران و مقایسه نتایج بدست آمده از دو روش کشت و ایمنوفلوئورسانس غیر

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:27 IRST on Saturday September 28th 2013

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-08-15]