آزمایشات سرولوژیکی برای تشخیص سل و جذام

مترجم: دکتر همایون شمس عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقاتی رازی

مقدمه:

سل هنوز به عنوان بیماری ویرانگر باقیست و در بسیاری از نقاط جهان با بی تفاوتی با این بیماری برخورد شده است. براساس برآوردهای جهانی، یك میلیارد نفر در سراسر جهان، به عامل بیماری سل آلوده شده‌اند که نتیجه آن، ۱۰ تا ۲۰ میلیون مورد جدید بیماری و ۳ میلیون مورد مرگ و میر ناشی از سل در هرسال میباشد. همچنین این واقعیت را از نظر نباید دور داشت که معمولاً ۱ تا ۲ موارد بیماری قابل تشخیص هستند. جذام هم اکنون ۱۰ تا ۲۰ میلیون نفر را مبتلا کرده و عموماً موجب معلولیت فیزیکی آنها شده است و باید توجه داشت که از مبتلایان به جذام در اکثر موارد بعنوان لکهٔ ننگ اجتماعی یاد میشود. ضمناً این یك واقعیت است که کمتر از نصف بیماران مشخص گردیده و تحت درمان قرار گرفته‌اند.

با توجه به افزایش تعداد شهرها و بالا بودن نرخ رشد جمعیت و وجود جوامع چند میلیونی در کشورهای در حال توسعه و فقیر و وجود فاجعه مربوط به ایدز در افریقا، سل میتواند بعنوان مهمترین مخاطره بهداشتی در جهان مطرح شود و مطالعات مورد نیاز برای یافتن راههای درمانی بهتر و کنترل اپیدمیولوژیکی آن باید مورد عنایت خاص قرار گیرد. مایه‌کوبی مسلماً، مؤثرترین استراتژی است اما ب ث ژ قادر به ایجاد ایمنی قابل قبول نبوده و تحقیق درباره واکسنهای جدید تا دست‌یابی به نتیجه مطلوب باید در دستور کار قرار گیرد.

شیمی‌درمانی مطلوب، دارای کارآئی بالائی است، اگرچه در عمل محدودیت‌های جدّی در درمان بیماری وجود دارد. تشخیص و درمان افرادی که اخیراً به عامل بیماری آلوده شده‌اند و یا در مراحل اولیه بیماری و قبل از ظهور علائم بالینی هستند، بسیار دیر انجام شده و نتیجتاً پیگیری از انتقال بیماری با تأخیر توأم است. طبعاً پیشرفت در تشخیص بموقع و سریع آلودگی میتواند موجب کاهش صدمات همه‌گیرشناسی و شیمی درمانی و بالطبع کاهش میزان پراکندگی بیماری در جمعیت گردد.

تشخیص با مونوکلونال آنتی بادی و تجزیه ساختمان پادگنی مایکوباکتریومهای بیماریزا، بر روی سویه‌های خاصی از مایکوباکتریوم متمرکز گردیده است. این تمرکز حداقل باعث پیشرفتهائی در تحقیقات مربوط به توسعهٔ روشهای تشخیص ایمنی در سل و جذام گردیده است. نتیجه این تحقیقات انتشار اطلاعات مربُوط به وضعیت ساختمانی بسیاری از پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدهای مایکوباکتریومهای بیماریزا بوده است.

بدلیل حضور اپی توپ‌های اختصاصی سویه‌ها، که از سرولوژیکی، ایمنی‌زا نیستند، مطالعات روشهای تشخیص بیماری به پادگنهائی محدود شده است که هم در سویه اختصاصی حضور دارند و هم دارای قدرت ایمنی‌زائی بالائی هستند. برای مثال میتوان از پادگن 12 KDa سویهٔ ML 06 یا 65 KDa/ E1119 مربوط به مایکوباتریوم پرانام برد. این نمادها، فقط برای سنجش پاسخهای پادتنی، مورد ارزیابی دقیق قرار گرفته‌اند و برای این منظور، مطالعات سرولوژی با آنتی ژنهای محدود و مشخصی صورت پذیرفته است. مقاله حاضر جهت بحث در تشخیص سرمی توبرکولوزیس که برپایه اپی توپهای پادگنی و پادتنهای مونوکلونال استوار میباشد، بوده و مروری است براطلاعات مربوط به ساختمان مولکولی پادگن‌های مایکوباکتریومهای بیماریزا.

تکنیك‌های سرولوژی:

ساده‌ترین و رایج‌ترین روش مورد استفاده، روش الیزائی است که در آن پادگن تخلیص شده که با سرم انسانی برروی فاز جامد (کاغذ صفحات مایکروتیتر ۹۶ گوده‌ای) واکنش نشان میدهد و نسبت به آنزیم نشاندار ضد ایمونوگلوبولین انسانی حساس است، استفاده میگردد. کاهش اولیه دقت سرم (۱/۱۰۰ تا ۱/۵۰۰) جهت کاهش واکنشهای غیراختصاصی ایمونوگلوبولینهای انسانی به سطح پلاستیك (حتی اگر با حضور شیر و یا دترجنت توین (Tween) بلوك شده باشد) موجب کاهش حساسیت تست میگردد. همچنین پاگنهای سویه اختصاصی و اپی توپهای مؤثر در واکنش متقاطع در اختصاصی بودن تست دخالت می کنند. (مانند آنتی ژنهای 65 KDa).

اپی توپهای اختصاصی از پپتیدهای سنتیتك قابل تهیه هستند، بشرطی که این پپتید داری توالی خطی باشند. این اپی توپها را با پادتن‌های مونوکلونال متعددی مورد آزمایش قرار داده‌اند و آنها را مربوط به پادگن مشترك 65 KDa تشخیص داده‌اند. ولی هیچیك از این اپی توپها با پادتنهای سرم انسانی که دارای عیال اتصال بالائی با پادگن کامل 65 KDa هستند، واکنش نشان ندادند، و نشان داده شده که تماس سویه‌های اختصاصی و اپی توپهای مایکوباکتریوم که در ایمنی مؤثر بوده و قبل از این تشخیص داده شده اند، دارای طبیعتی تغییرپذیر بوده و بنابراین قابل استفاده در ELisa نمی‌باشند. حضور این اپی توپها میتواند در اثر فعالیت ژن‌های ناقص منابع کوچك DNA نوترکیب شده باشد.

در قسمت رقابتی پادتن در فاز جامد SACT صفحات مایکروتیتری که با عصاره محلول مایکوباکتریوم خام پوشانیده شده، مورد استفاده قرار گرفته است. در این تست از اتصال آنزیم یا پادتن مونوکلونال نشاندار شده با سرم مورد آزمایش ممانعت میشود. بنابراین فقط سرمهائی قابلیت رقابت با پادتنهای مونوکلونال را دارا خواهند بود که دارای پادتنهای اختصاصی مشابه پادتن مونوکلونال انتخاب شده باشند. پیوندهای استری در آنالیز پلی ساکاریدها در مولکلوهای مشابه بین اپی توپها که موجب تکرار اپی توپها میگردند، دخالت می نمایند ولی تأثیری در واکنشهای پروتئین پادگنها ندارند. استفاده از آنزیم‌های نشاندار شده کاراتر اخیراً جایگزین استفاده از پادتن های مونوکلونال نشاندار شده با Iodine-125 گردیده است.

قبلاً یك روش تغییریافته ساندویچ ایمنی (SACT-SC) با واکنش بین پادتن مونوکلونال نشاندار نشده که در دقت بالا شسته میشد و با آنزیم ضد ایمونوگلوبولین موش متصل میگردید، مورد استفاده قرار

گرفت. این تست مخصوصاً برای ارزیابی پادتنهای مونوکلونال، جهت استفاده از عامل اتصال آنزیمی واحد مناسب است.

آزمایش SACT ، روشی برای تشخیص بسیار اختصاصی و مؤثر ایمنی سرمی اپی‌توپها در سل بوده است. این آزمایش در آزمایش سرمهائی با رقت پائین $\frac{1}{5}$ دارای حساسیت بالاتری نسبت به الیزا بوده است. از آزمایش SACT-SE برای آزمایش سرمها، حتی بدون نیاز به رقیق کردن استفاده شده است. این نکته قابل ذکر است که در مطالعات اولیه روی SACT سطوح پادتنی بعنوان رقتهای ممانعت‌کننده سرم یا ID50 titres عمل میکردند که وجود آن مارا قادر به تخمین بسیار صحیح و دقیق‌تر مرز بین گروههای بیمار و کنترل نسبت به ارزش OD از یك رقت واحد سرم که اکثراً در الیزا مورد استفاده قرار میگیرید، نمود. پائین بودن سطح پادتنی در برخی از اپی‌توپهای اختصاصی مایکوباکتریوم توبرکولوزیس از مهمترین مسائل مربوط به حساسیت آزمایش میباشد. این نکته ضروریست که باید تعریفی اختصاصی در مورد نقاط مرزی بین نمونه‌های سرمی کنترل و بیمار در هرمورد اپی‌توپ پادگنی که مورد استفاده قرار می‌گیرد صورت پذیرد و از نمونه‌های سرمی کنترل جهت مناطق جغرافیایی مشابه استفاده شود. این مورد مخصوصاً در مورد پادگنهای مؤثر در ایمنی که دارای واکنش متقاطع هستند (مانند لیپوآرابینوموانان LAM) بسیار مهم است چرا که نتایج سرولوژیکی مثبت در این پادگن با میزان نسبتاً بالای تیتر سرمی در افراد سالم قابل مقایسه است.

نقطه مرز بشرطی قابل اعتماد است که رقت سرم در این نقطه در افراد سالم، ۹۵ تا ۱۰۰ درصد منفی باشد و نقطه مطلقی جهت مقبولیت اختصاصی بودن آزمایش ارائه دهد. بهرحال این ارزیابی نیاز به موشکافی بیشتر دارد، خصوصاً از زمانی که در آزمایشات مشخص شده که افزایش اختصاصی بودن آزمایش موجب کاهش غیرقابل انتظار در حساسیت آن گردیده است. آزمایش آگلوتیناسیون نیز جنبه عمومی پیدا کرده‌اند. اخیراً کشف پادتن‌های ضد PGL1 که با استفاده از ذرات ژلاتینی پوشیده از تری‌ساکارایدـ فنیل پروپیونات در سرم آلبومین گاوی تهیه شده، توسعه یافته است. حساسیت ذرات آگلوتیناسیون در تشخیص IgM سرم در بیماران جذامی بعنوان ایزوتایپ غالب، بالاتر بوده و ارزش علمی خاصی را به آن، بعنوان یك روش تشخیصی ایمونولوژی از طرف مبتکر آن داده و در آن به توسعه کنترل کیفی کیستهای تشخیصی جهت تشخیص سریع جذام اشاره شده است. ولی تستهای آگلوتیناسیون غیرفعال در شخص IgG از حساسیت کمی برخوردار است.

آنتی‌ژنها:

پروتئین KDa ۳۸:

این پروتئین بعنوان ایمنی‌زاترین پادگن در بیماران مبتلا به سل ریوی و همچنین مبتلایان به سل غیرریوی که کشت خلط آنها مثبت است، شناخته شده است.

این پروتئین دارای دوایی توپ مشخص مونوکلونال آنتی بادی است که اختصاصی می باشد در صورتیکه با مایکوباکتریوم توبرکولوزیس بسیار کم واکنش نشان میدهند.

ردیفهای این آنتی‌ژن مشابه (۳۰٪ یکسان بوده و ۵۱٪ مشابه هستند) ژن PHOS در E.coli میباشند. معهذا مشاهده ارتباط زیاد تیترها و اختصاصی بودن پادتن در مولکول کامل با TB 72 و یا اپی توپهای TB 72 ، این فرضیه را که هیچ واکنشی بین اپی توپهای محرك یاخته‌های B موجود در این پادگن وجود ندارد را پیشنهاد میکند. تفوق این پادگن در ایجاد ایمنی سرمی اول، اخیراً توسط روش western blotting نیز تأیید گردیده است.

پروتئین KDa ۱۹:

این پروتئین تفوق سرولوژی اپی توپی را بدنبال دارد که با پادتن مونوکلونال TB 23 واکنش نشان میدهد و واکنش متقاطع محدودی با کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکولوزیس دارد. دومین اپی توپ این پروتئین با پادتن مونوکلونال F 29-47 مشخص شده است.

ژن مربوط به این پروتئین کلون شده و در توالی DNA مشخص گردیده که در توالی رشته‌ها یك اتصال لیپیدی در آمینواسید انتهائی موجود است. تجزیه اجزاء ژن هم پوشان در اپی توپ TB 23 ، پیشنهاد وجود دو اتصال سیستئینی در ترمینالهای مولکول را جهت تطابق شکل مولکول، مطرح ساخته است. که این مطلب میتواند نارسائی اتصال TB 23 در تست Western blott را توجیه سازد. بهرحال هنوز نیز اپی توپهای نامشخص با قدرت ایمنی زائی در مبتلایان به سل ریوی با گسترش خلط منفی و مبتلایان به سل پوستی مشاهده میشود.

پروتئین KDa ۱۴:

ایمنی زائی این اپی توپ با مونوکلونال آنتی بادی TB 68 مشخص شده است و برای کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکولوزیس اختصاصی میباشد. ژن مربوط به این پروتئین کلون شده ولی توالی آن تاکنون مشخص نگردیده است. مضافاً در سل فعال، افزایش سطح پادتنی علیه این پادگن ژن در افراد آلوده و سالم مشاهده میشود. از دیگر اختصاصات پروتئین ۱۴ کیلودالتونی، کنترل ضعیف ژنتیکی در پاسخهای پادتنی به این پادگن در موش میباشد.

پروتئین ۳۲ کیلودالتونی:

این پروتئین که دارای اتصالات فیبرونکتین میباشد، اصولاً بعنوان پادگن BCG-85A شناخته شده است. و از تخلیص کشت مایکو باکتریوم- بویس در محیط فاقد روی (Zinc) تهیه شده است. و توالی رشته‌های آن توسط نوترکیبی DNA مشخص گردیده است. پادتن ضد این پادگن در ۵۲٪ بیماران مبتلا به سل ریوی که دارای گسترش خلط مثبت بوده‌اند و در ۳۵٪ بیماران مبتلا به سل ریوی که گسترش خلط آنها منفی بوده مشاهده گردیده است. قدرت ایمنی زائی یك پادگن با وزن مولکول مشابه این پروتئین، در آنالیزاسرم مبتلایان به سل با روش Western blot و مبتلایان به جذام مشخص گردیده است.

پروتئینهای ناشی از استرس:

پروتئین ۶۵ کیلودالتونی در مایکوباکتریوم توبرکولوزیس دارای تشابه زیادی با پروتئینهای بسیاری از دیگر باکتریها دارد. و بنابراین بعنوان یك عامل اصلی واکنش متقاطع در تشخیص اختصاصی بیماری اختلال ایجاد می‌نماید. سطح پادتنی ضدپروتئین خالص شده ۶۵ کیلو دالتونی، تغییراتی تا میزان یکصد برابر را در افراد سالم نشان میدهد، و در نهایت برخی از این تغییرات میتواند به آلودگی به کاندیدا مربوطه باشد یك اپی توپ که با مونوکلونال آنتی بادی TB 78 مشخص شده، واکنش متقاطع و محدودی با کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکولوزیس داشته و ایمنی‌زا هم میباشد و براساس گزارش Botha Jeey etal 1988, 1990 در تشخیص توبرکولوزیس مفید میباشد.

پروتئین استرس دیگر، پروتئین ۷۰ کیلودالتونی میباشد که از نظر ایجاد ایمنی سرمی بسیار ضعیف است. ارزش سرولوژیکی پروتئین ۱۰ کیلودالتونی Groes در مایکوباکتریوم توبرکولوزیس و پروتئین ۱۸ کیلودالتونی در مایکوباکتریوم لپرا حداقل تاکنون مشخص نشده است.

گلیپولیپید فنولیك I:

ساختمان شیمیائی این پادگن، برای مایکوباکتریوم لپرا بی همتا بوده و دقیقاً شناخته شده است.

اپی توپ دی‌ساکارید آن سنتز شده و در بسیاری از مطالعات سرولوژیکی مورد استفاده قرار گرفته است.

پروتئین ۳۵ کیلودالتونی:

این پادگن از سویه ML 04 جدا شده و با پادتن مونوکلونال اختصاصی مایکوباکتریوم لپرا واکنش نشان میدهد. و دارای اثر ایمنی‌زائی در جذام پروماتوز است.

پیشرفت در مطالعات تعیین وضعیت ساختمانی اپی توپ ML 04 (که در Western blott) واکنش نشان نمی‌دهد) بسیار کند بوده است. این پروتئین از مدتها قبل بعنوان یك پروتئین ایمنی‌زای اصلی در مایکوباکتریوم لپرا شناخته شده و مورد مطالعه قرار گرفته است.

پروتئین ۳۶ کیلودالتونی:

پادتن مونوکلونال F 47-9 این پروتئین را در مایکوباکتریوم لپرا بعنوان عامل فعال سرمی در جذام مشخص کرده و اطلاعات مربوط به نوترکیبی DNA و توالی رشته‌های منتشر شده از این اپی توپ ایمونوژن،

دلالت بروجود توالیهای مکرر غنی از پرولین در منطقه ایمنو اسیدهای ترمنیال مولکول دارد.

لیپوآرابینومانان :LMA :

ساختمان شیمیائی این پادگن بخوبی شناخته شده است. اگرچه پادتنهای موجود در سرم افراد سالم به اندازه پادتن مونوکلونال ML 34 با مولکول کامل این پادگن واکنش نشان نمی‌دهد، ولی عیار سری پادتن برضد این پادگن در افراد مبتلا به سل و جذام بمیزان معنی‌داری بالا میباشد.

بزرگترین ارزش تشخیص این پادگن از طریق تشخیص IgG موجود در مایع مغزی نخاعی بیماران مبتلا به منتژیت سلی است. لازم به ذکر است که بطور طبیعی مایع مغزی نخاعی، فاقد پادتن میباشد. از دیگر راههای تشخیصی، جدا کردن LAM از مایع نخاعی است ولی در مورد مایکو باکتریوم لپرا ML 34، اصول آزمایش تشخیص براساس هماگلوتیناسیون فعال معکوس میباشد که این تست از نظر اختصاصی بودن نیاز به تکامل بیشتری دارد. همانطوری که از نظر حساسیت نیز به اندازه کافی قابل اعتماد نیست.

پروتئین MPB 70 :

در سل گاوی، اکثریت حیوانات دارای پادتن ضدپادگن MPB 70 هستند. این پادگن یك پروتئین ۴۶ کیلودالتونی است که به وفور در کشت مایکوباکتریوم بویس وجود دارد.

پادتن‌های ضد MBP 70 ، پنج ماه پس از آلوده کردن آزمایشی گاوها به مایکوباکتریوم بویس، ظاهر میشوند (در صورتیکه در پاسخ به M. avian و M. paratuberculosis ظاهر نمی‌شوند) و سطح این پادتنها بدنبال تست پوستی با PPD که حاوی پادگن MPB 70 است بوضوح افزایش می‌یابد.

سایر آنتی‌ژنها:

یکی از پروتئینهای مایکوباکتریوم توبرکولوزیس که ۲۸ کیلودالتونی وزن داشته و توسط تست Western blot از مواردی از کودکان مبتلا به سل و همچنین از مبتلایان به سل پوستی جدا گردیده است.

همچنین از آنالیزرسوب ایمنی در سرم مبتلایان به سل نیز در تشخیص این پروتئین استفاده شده است.

یك پروتئین ۲۸ کیلودالتونی نیز از مایکوباکتریوم لپرا و به کمك پادتنهای موجود در سرم از مبتلا به جذام لپرومانور جدا گردیده و نوترکیبی DNA و کلون نیز شده است. ولی هنوز مشخص نیست که چه ارتباطی با سایر پادگنهای کلون شده که دارای فون مولکول مشابه هستند، وجود دارد.

سل:

قضاوت در مورد ارزش آزمایشهای تشخیص سرمی در سل، باید با توجه به محدودیتهای موجود در رادیوگرافی قفسه صدری، گسترش میکروسکوپی خلط و یا کشت باکتریولوژیکی انجام گیرد. به این محدودیتها همچنین میتوان فقدان حساسیت، طولانی بودن زمان آزمایش و مسائل مربوط به اجزاء آزمایشات فوق در مناطق آندمیك را افزود. روشهای ایمنی شناسی هنوز هم از نظر ایده‌آل بودن در سطح مناسب قرار ندارند ولی چشم‌انداز پیشرفتهای آتی این تکنیك، بر مقبولیت بالقوه و عملی این روشها جهت دست‌یابی به سرعت تشخیص بالا دلالت دارد.

پادگن ۳۸ کیلودالتونی مایکوباکتریوم توبرکولوزیس، برجسته‌ترین پادگن ایمنی‌زا در تشخیص سرمی سل میباشد. با استفاده از روش SACT و ELISA ، این پادگن در تشخیص موارد سل ریوی که از نظر گسترش یا کشت خلط مثبت بودند. تا ۸۰ درصد اختصاصی عمل کرده است. در ارزیابی که اخیراً برروی ۳۶ نمونه بافتی سل غیرریوی انجام گرفته، نتایج مشابه فوق بدست آمده است. مضافاً با استفاده از سایر پادگنها، شاید بتوان حساسیت این تست را حدود ۵٪ هم افزایش داد. همچنین توجه به اهمیت همه‌گیرشناسی سل ریوی در انتقال بیماری به افراد حساس، غربالگری مستمر جمعیت در معرض خطر در مناطق اندمیك بیماری، بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است. مواردی از سل ریوی که از نظر کشت و گسترش خلط منفی هستند و موارد غیرریوی از مهمترین مسائل تشخیص موارد مشکوك به سل محسوب میگردند. تشخیص قطعی با استفاده از آزمایشهای سرمی در این موارد بین ۵۰ تا ۷۰ درصد متفاوت بوده و برای تشخیص قطعی بیماری باید از پادگنهای بیشتری مخصوصاً پروتئین‌های ۱۹ و ۱۴ کیلودالتونی مدد جست. آنالیز ساختمان اپی‌توپها و مطالعه ایمنی‌زائی این پادگن و پادگنهای دیگر (مانند اپی‌توپ ۶۵ کیلودالتونی TB 78 و پروتئین ۳۲ کیلودالتونی) میتواند باعث حصول نتایج بهتری در آزمایشهای تشخیص گردد. معهذا حتی آزمایشات تشخیص سرمی سل با حساسیتهای فعلی نیز در روند تشخیص میتوانند بسیار مفید باشند. تأکید این مورد ضروریست تشخیص موارد مشکوك بیماری سل که تائید آن از طریق بالینی امکان‌پذیر نباشد، در ظرف دو هفته با کارآئی بالا از طریق آزمایشهای سرمی قابل انجام است.

منتژیت سلی، شکل غیرریوی و خطرناك این بیماریست که با علائم غیراختصاصی همراه بوده و مرگ و میر زیادی را بدنبال دارد. تأخیر در درمان این بیماری، پیش‌بینی ناگواری را برای بیمار بدنبال داشته و بنابراین تشخیص بموقع بیماری از اهمیت خاصی برخوردار است. در آنالیز مایع مغزی نخاعی (CSF) مبتلایان به منتژیت سلی با روش ایمنواسی، وجود پادتنهای ضد مایکوباکتریوم توبرکولوزیس که قابل مقایسه با پادتنهای سرمی موجود در سل ریوی بودند، کاملاً مشخص گردیده است. بیشترین پاسخ ایمنی در مایع مغزی نخاعی بیماران مبتلا به منتژیت سلی، (که از نظر کشت ۲۶ مورد مثبت و ۴۸ مورد منفی بودند) مربوط به ایمونوگلوبولین G ضدلیپوآرابینومانان (LAM) و پروتئین ۱۴ کیلودالتونی بود که مجموعاً ۵۳ درصد موارد مثبت را تشکیل می‌دادند و در صورت محاسبه پادتنهای ضد پروتئینهای ۱۹ و ۳۸ کیلودالتونی، این مقدار به ۶۱ درصد افزایش می‌یابد.

جالب توجه آنکه بیمارانی که فقط دارای پادتنهای ضدپادگن ۱۴ کیلودالتونی بودند، به شکل معنی‌داری نسبت به بیمارانی که دارای IgG ضدلیپوآرابینومانان LAM بودند ازسنجش‌پائین‌تری برخوردار بودند. این اختلاف پادتنی میتواند اختصاصاً مربوط به روند بیماریزائی و پیشرفت سل اولیه در کودکان و بازگشت یا گسترش سل ریوی در بزرگسالان باشد. همچنین میتوان تصور کرد که ترشح پادتنها میتواند تحت تأثیر لیپوآرابینومانان LAM که بعنوان محرك فعال عامل نکروزتومور می Tumour necrosis Factor در ماکروفاژها عمل می‌نماید، باشد. تعوق پادتنهای ضدپروتئین ۱۴ کیلودالتونی در کودکان مبتلاء به منتژیت سلی، در اثر ایمنی‌زائی این پادگن در مراحل کمون و اولیه بیماری میباشد. همچنین مشاهده شده است که در کارکنان بیمارستانها که بطور منظم با بیماران مبتلا به سل فعال در ارتباط بوده از نظر بالینی نیز سالم بوده‌اند و افراد خانواده‌های مبتلا قبلاً به سل که با BCG مایه‌کوبی شده بودند. و در بیماران مبتلا به سل اولیه غدد لنفاوی مدیاستیا میزان پادتنهای ضد اپی توپ TB 68 بطور انتخابی افزایش یافته است، با توجه به این موارد، مطالعه ساختمان مولکولی پادگن ۱۴ کیلودالتونی، همراه با افزایش حساسیت روشهای تشخیص ایمنولوژیکی از اهمیت خاصی در مطالعات اپیدمیولوژیکی بیماری و شناخت مکانیزم‌های سل اولیه برخوردار است. از تستهای سرولوژی، علاوه برموارد تشخیص، میتوان در جهت پیش‌بینی و ارزیابی و همچنین نحوه مراقبت از بیماران مبتلا به سل بهره جست بوضوح مشخص شده است که وجود پادتنهای ضدپادگن ۳۸ کیلودالتونی در ارتباط با شکل مولتی با سیلاری سل میباشد و افزایش نسبی سطح پادتنهای ضد اپی توپ TB 71 از مهمترین مشخصه‌های شکل حاد درمانگاهی این بیماریست. در مطالعه مشابهی که صورت گرفته، تذکر داده شده است که در بیماران مبتلا به سل که در حال احتضار هستند، مقدار پادتنهای ضد پادگن ۱۴ کیلودالتونی بسیار کم بوده و یا وجود ندارد.

از آزمایشگاههای متعددی گزارش شده که سطح پادتنهای سرمی در مبتلایان درمان شده بیش از مبتلایان درمان نشده در سل میباشد. این یافته موید رهاسازی و حضور پادگنهای ایمنی‌زا در باسیل کشته سل میباشد: آنالیز اختصاصی پادتنهای افراد مبتلا به سل که تحت درمان قرار گرفته‌اند حاکی از افزایش سریع پادتنهای ضد پروتئین ۳۸ کیلودالتونی در ظرف ۴-۲ هفته و متعاقب آن و کمی دیرتر، افزایش عیار پادتن ضد اپی توپ ۶۵ کیلودالتونی TB 78 ، ۴-۱ هفته بعد از شروع درمان بوده است. پادتنهای ضدپروتئین ۱۴ کیلودالتونی چند هفته پس از تأثیر درمان محو میشوند ولی در بیمارانی که درمان مؤثر واقع نمی‌شود، این پادتنها مجدداً مشاهده می‌شوند.

ضمناً مشاهده شده است که سطح پادتن در بیماران آلوده به سویه‌های مقاوم به ایزونیازید، اندکی افزایش می‌یابد. این اطلاعات نشان‌دهنده اهمیت کنترل

سرولوژی بیماران در طی درمان، جهت تشخیص عدم پذیرش درمان و مشخص نمودن تشخیص غلط بیماری و یا موارد ابتلا به سویه‌های مقاوم به دارو میباشد.

نهایتاً باید برای اختصاصی بودن آزمایشات سرولوژی در سل ارزش قائل شد هرچند که برخی اوقات، اختلاف فاحشی بین واکنشهای سرمی افراد مبتلا به سل ریوی مزمن و افراد سالم وجود ندارد. در بیماران مبتلا به شکل لپروماتوزی جذام (در شکل توبرکولوئیدی این چنین نیست) مشاهده شده است که سطح پادتنهای ضداپی توپهای اختصاصی مایکوباکتریوم توبرکولوزیس، افزایش می یابد. این مسئله احتمالاً مربوط به تشابهات ساختمان پادگن این دو باکتری میباشد که ممکنست باعث واکنش متقاطع پادگن برسطح یاخته‌های T در برخورد با مایکوباکتریوم توبرکولوزیس و مایکوباکتریوم لپرا میگردد. صرف‌نظر از مکانیسم بیماریزائی و ایمنی زائی، این مسئله نشاندهنده محدودیت اختصاصی بودن سرولوژی سل و موارد درمانگاهی جذام مولتی باسیلا میباشد.

جذام:

مطالعات سرولوژیکی که اخیراً برروی اپی توپهای اختصاصی مایکوباکتریوم لپرا صورت گرفته، موید الگوهائی است که قبلاً ارائه شده‌اند. در این بررسی مشخص گردیده که سطح پادتنی در اکثر بیماران مبتلا به جذام لپروماتوز، بمیزان قابل توجهی افزایش می یابد. ولی در شکل توبرکولوئیدی جذام از افزایش بسیار کمتری برخوردار است. نتیجتاً این مطالعات با گزارشات تائید نشده قبلی مبنی بروجود پادتنهای اختصاصی بالاخص پادتنهای ضدپروتئین ۳۶ کیلودالتونی و یا پروتئین ۱۵ کیلودالتونی در جذام توبرکولوئیدی در تضاد می باشند. مشکلات تحلیل نتایج سرولوژی جذام توبرکولوئیدی مربوط به نتایج گسترده‌ای است که در مالاوی برروی ۶۰۰۰ نمونه خون انجام گرفته و در آن اختلافی در سطح پادتنی بیماران مبتلا به اشکال پاسی باسیلار (Pauci Bacie-lar) و یا مولتی باسیلار جذام آزمایش PGL1-ELISA/ مشاهده نگردید. تحقیقات آتی در مورد پادگنهای فعال در جذام توبرکولوئیدی احتمالاً با استفاده از روش کلون کردن DNA نوترکیب شده جهت مشخص کردن بسیاری از پادگنهای جدید انجام خواهد پذیرفت. پاسخ سرولوژی در جذام لپروماتوز بصورت انتخابی و عمده بسیاری از اجزاء باکتری که بالقوه دارای خاصیت پادگنی هستند صورت میگیرد.

آنالیز مقایسه‌ای جهت تعیین حساسیت آزمایش SACT و ELISA تشخیص بیماران مبتلاء به جذام حساسیت روش SACT را پروتئین ۳۸ کیلودالتونی، ۹۸ درصد و حساسیت روش ELISA را با PGL1 ۸۲ درصد تعیین کرده است. همچنین آنالیز مقایسه‌ای نتایج سرمی بیمارانی که دارای پادتن ضد پادگن ۳۵ کیلودالتونی بودند ولی از نظر پادتن‌های ضد PG L1 منفی بودند. هیچگونه ارتباطی را بین نوع جذام،مدت و نوع درمان و باسیل عامل بیماری را مشخص نکرد. در مطالعه‌ای دیگر برروی ۶۴ نمونه سرمی افراد مبتلا به جذام، پادتن ضدپادگن ۳۵ کیلودالتونی در ۸ نمونه و پادتن ضد PGL1 فقط در دو نمونه مشاهده گردید. اگرچه هردوی این اپی توپها دارای حساسیت قابل قبول و بالائی هستند و ایمنی‌زا نیز میباشند. ولی اکثر مطالعاتی که اخیراً انجام گرفته با استفاده از پادگن PG L1 disaccharide و به روش الیزا بوده است.

با توجه به سهولت نسبی تشخیص درمانگاهی جذام از روی علائم بالینی، مطالعات سرولوژیکی در جذام جهت دست‌یابی به اهداف زیر صورت پذیرفته است:

الف- مراقبت از بیمار در طی درمان و حل مسائل مربوط به طبقه‌بندی انواع جذام جهت کمك به تجویز صحیح دارو.

ب- کمك به تشخیص جذام در مرحله پیش درمانگاهی و در افرادی که با بیماران جذامی در تماس هستند.

پادتنهای ضد PG L1 و ضدپروتئین ۳۵ کیلودالتونی در بیمارانی که تحت درمان هستند، کاهش می یابند. برخلاف وجود استثنائات فراوان، این نکته مشخص شده است که سطح پادتنی با مشخصه باکتریائی، بیش از طول درمان در ارتباط میباشد. قبلاً این فرضیه که افزایش سطح پادتنی در برخی از بیماران که باکتری از آنها جدا نشده است، بدلیل ترسیب پادگن در بافتها میباشد، مطرح بود ولی مطالعات اخیر براین مطلب تأکید دارد که این افزایش سطح پادتنی میتواند دلیلی برتحریك پادگنی توسط کانون‌های مخفی بیماری و کاهش سطح پادتنی میتواند دلیلی برتأثیر درمان باشد. تستهای سرولوژیکی در پیش‌بینی احتمال عود بیماری پس از درمان دارای اهمیت بسزائی هستند و اگرچه نتیجه تستهای سرولوژی در موارد انفرادی بسیار جالب بوده است. ولی ارزیابی عمومی از این تستها هنوز بعمل نیامده است. تغییر نتایج سرمی افراد سالمی که از نظر سرمی مثبت هستند و با افراد جذامی درارتباط میباشند، همواره مورد بحث بوده است.

طی دو سال مطالعه در پلی نزی فرانسه موارد سرمی مثبتی از این افراد که به جذام درمانگاهی مبتلا شده‌اند (۱۲/۵ درصد) غالباً بیش از افرادی بوده‌اند که از نظر سرمی منفی بودند. (۰/۲۳ درصد). در این مورد گزارش مشابهی هم از فیلیپین وجود دارد.

به هرحال در پاپواگینه‌نو که از نظر بیماری جذام هایپرآندمیك میباشد، استفاده از روش جستجوی پادتنهای ضد PGL-1 در تشخیص بیماری رد شده است. در این مطالعه ۲۰٪ افراد سالم از نظر سرمی مثبت بودند و نویسنده گزارش قادر به تفکیك نتایج سرمی آنها از افراد مبتلا به جذام با علائم درمانگاهی نبوده است و نتیجتاً رای به مردود بودن آزمایش سرولوژیکی جستجوی پادتنهای ضد PGL-1 از نظر کمی، داده است. مورد دیگری در مالاوی و ژاپن مشاهده شده است که اختلاف معنی داری در پادتنهای ضد PGL-1 در افرادی که با بیماران جذامی در ارتباط بوده‌اند در مقایسه با افرادی که با بیماران جذامی در ارتباط نبوده‌اند، مشاهده نشده است، مطالعه اولیه این اطلاعات نشاندهنده این مطلب است که اختلافات جغرافیائی از نظر آندمیك بودن جذام (مانند بالا بودن نتایج سرمی مثبت در مناطق هایپرآندمیك) و نوع جذام (مانند اختلاف کمی که در نتایج تستهای سرمی در افریقا که غالب جمعیت مبتلا آن دارای نوع پاسی Pauci Bacillary باسیلاری توبرکولوئید بیماری هستند) در نتایج آزمایش سرمی ضد pgL 1 میتواند مؤثر باشد.

نهایتاً، حداقل تعدادی از اختلافات بدست آمده در نتایج یاد شده میتواند بدلیل استفاده محققین از معیارهای فردی در ارزیابی آزمایشات سرولوژیکی باشد.

چشم اندازهای آتی:

مسئله اساسی در مطالعاتی که در گذشته با استفاده از پادگن خام انجام می‌پذیرفت، بالا بودن غیرقابل قبول عیار پادتن در سرم افراد سالم بود و اکنون که از پادگنهای اختصاصی استفاده میگردد، مهمترین مانع تشخیصی فقدان و یا پائین بودن تیتر پادتنهای سرمی در ۲۰ تا ۳۰ درصد بیماران مبتلا به سل میباشد. اگرچه سرعت ترشح پادتنها و سطح پادتنی سرم در افراد با گسترش یا کشت مثبت خلط، بسیار سریع‌تر و بالاتر از افراد خلط منفی میباشد، ولی سایر عوامل مانند قدرت هجوم باکتریائی نیز میتواند در تظاهرات بالینی بیماری نقش داشته باشند. با توجه به این مطلب که عفونتهای مایکوباکتریائی طبیعت درون یاخته‌ای دارند و همینطور اکثر بیمارانی که از نظر سرمی منفی هستند مبتلا به عفونت پاسی باسیلاراند، لذا چنین به‌نظر میرسد که پادتنها ممکنست موجب از بین رفتن کمپلکس ایمنی جریانی گردند.

مضافاً مشاهده شده است که ژنهای DR مربوط به HLA با سطح پادتنی و بالاخص با پادتنهای پروتئین ۳۸ کیلودالتونی درارتباط هستند. همچنین از زمانی که ارتباط بین بالا بودن عیار پادتنهای ضدپروتئین ۳۸ کیلودالتونی و وجود سل ریوی با HLADR2 شناخته شده است این بحث که نتیجتاً ممکنست پاسخهای ایمنی میزبان به این پادگن در پاتولژنز بیماری نقشی اساسی را ایفاء نماید مطرح گردیده است، مورد قابل تعمق دیگر، ارتباط پاسخ سرولوژی با تکامل یاخته‌های Th-1 (واسطه‌های ایمنی فعال، ماکروفاژ ها) نسبت به یاخته‌های Th2 (واسطه کمکی یاخته‌ای) میباشد که نتیجه آن کاهش ایمنی محافظت‌کننده میباشد.

سرولوژی سل و جذام وقتی که براساس اجزاء پادگنی اختصاصی پایه‌گذاری میشود، با اشکال در تشخیص بیماری و مراقبت از بیمار ممکنست بطور اتفاقی حارث شود. ولی ادامه تحقیقات در زمینه علوم پایه و علوم بالینی میتواند امکاناتی را جهت یافتن الگوهای جدید در ارتباط با ایمونوپاتوژنز مایکوباکتریاها و پیشگیری از بیماریهای ناشی از آنها مهیا سازد.

منبع مورد استفاده:

JuraJ Ivanyi, 1990. Serological tests for the Diagnosis of tuberculosis and Leprosy. Proceedings from the Sixth International Congress on Rapid Methods and Automation in Microbiology and Immunology. Helsinki 7-10-1990.