

عامل بیماری سیفیلیس (Syphilis) باکتری از خانواده اسپروکتها، به نام تریپونما پالیدوم (Treponema Pallidum) می باشد (شکل ۱). این باکتری قادر نیست در محیط های کشت مصنوعی رشد کند. در آزمایشگاه، میکروب تریپونما پالیدوم را با تزریق در بیضه خرگوش تکثیر داده و نگهداری می کنند. تنها میزبان طبیعی این باکتری، انسان است. بیماری سیفیلیس جزء بیماری های مقاربتی (Venereal) است، و در ۹۹ درصد موارد از طریق تماس جنسی منتقل می شود. همچنین در صورتی که لایه اپیتلیال صدمه دیده باشد، در نتیجه تماس با یک زخم سیفیلیسی، می تواند از راه پوست و یا مخاط نیز، وارد بدن شود. بخصوص پزشکان، پرستاران و کادر آزمایشگاه به علت وضعیت شغلی که دارند، بیشتر در معرض خطر ابتلا به این بیماری می باشند.



شکل ۱) اسپروکت تریپونما پالیدوم

مراحل بالینی بیماری سیفیلیس

سیفیلیس را از نظر علائم بالینی به سه مرحله تقسیم بندی می کنند:

۱) مرحله اولیه (Primary): دوره کمون (Incubation) بیماری سیفیلیس، به طور متوسط ۲۱ روز است. بعد از ورود میکروب به بدن، در محل ورود، زخمهایی به نام شانکر (Chancre) به وجود می آید. زخم شانکر در ۹۵ درصد موارد در نواحی تناسلی ظاهر می شود. در ۵ درصد موارد هم ممکن است زخم شانکر در مقعد، روی لب، زبان، لوزه ها، پلک، پستان و نوک انگشت ظاهر شود. پس از ورود تریپونما پالیدوم به بدن، باکتری می تواند از طریق خون و لنف در سرتاسر بدن پخش شود. زخم شانکر در صورتی که به باکتری های ثانویه آلوده نشود، بدون درد است و قطر آن به ۳ تا ۲۰ میلی متر می رسد. در این مرحله شانس انتقال سیفیلیس از طریق مقاربت جنسی، ۳۰ تا ۵۰ درصد است.

۲) مرحله ثانویه (Secondary): حدود شش هفته تا شش ماه بعد از ورود باکتری به بدن، آغاز می شود. علائم مشخصه این مرحله، ایجاد ضایعات پوستی و مخاطی می باشد. باکتری را می توان از این ضایعات جدا کرد.

۳) مرحله سوم یا فاز نهفته (Tertiary or Latent): فقط حدود سی درصد افراد مبتلا به سیفیلیس وارد مرحله سوم بیماری می شوند. این مرحله ممکن است دو سال یا حتی سی سال پس از ورود میکروب به بدن، اتفاق بیفتد. از بین بیمارانی که وارد مرحله سوم بیماری سیفیلیس می شوند، حدود ۲۰ درصد، مبتلا به ضایعات عصبی سیفیلیس (Neurosyphilis)، ۳۰ درصد مبتلا به ضایعات قلبی و عروقی (Cardiovascularsyphilis) و ۵۰ درصد مبتلا به نوعی تومور، تحت عنوان گوما (Gumma) می شوند. ضایعات گوما، احتمالاً پیامد واکنشهای ایمنی سلولی بدن بیمار

نسبت به میکروب می باشد و در نقاط مختلف بدن از قبیل مغز، کبد، استخوان و پوست، ممکن است ظهور کند. در هر سه مرحله، احتمال انتقال بیماری از مادر به جنین وجود دارد، که باعث سفلیس نوزادی می شود. تریپونما پالیدوم می تواند پس از ماه چهارم حاملگی به جنین منتقل شود و باعث سقط جنین شود. ولی اگر در اواخر حاملگی و یا در حین زایمان منتقل شود، نوزاد زنده به دنیا می آید اما مبتلا به سفیلیس نوزادی می باشد. باکتری می تواند سیر طبیعی خود را در بدن نوزاد طی کند، با این تفاوت که در سفیلیس نوزادی مرحله شانکر را نداریم.

بهترین راه تشخیص بیماری سفیلیس، نمونه گیری مستقیم از زخمهای شانکر در مرحله اول و ثورات جلدی و مخاطی در مرحله دوم بیماری سفیلیس، و مشاهده مستقیم عامل بیماری در زیر میکروسکوپ دارک فیلد (Dark field) می باشد. همچنین آزمایشهای سرولوژی مختلفی برای تشخیص بیماری سفیلیس وجود دارد که در ادامه در مورد آنها بحث می شود.

آزمایشهای سرولوژی تشخیص بیماری سفیلیس

پاسخ ایمنی هومورال بدن نسبت به عامل بیماری سفیلیس، منجر به ظهور سه نوع آنتی بادی در سرم بیمار می شود:

۱) آنتی بادی غیر اختصاصی به نام رآژین سفیلیسی (Syphilitic Reagin Antibody) از کلاس IgM

۲) آنتی بادی غیر اختصاصی ضد میکروبهای گروه تریپونما (Group Treponemal Antibody) از کلاس IgG

۳) آنتی بادی اختصاصی ضد تریپونما پالیدوم (Specific Treponemal Antibody) از کلاس IgG

تشخیص وجود یا عدم وجود هر کدام از این نوع آنتی بادیها در سرم بیماران، مبنای آزمایشهای سرولوژی مختلف تشخیص بیماری سفیلیس می باشد. به عنوان مثال، تشخیص وجود یا عدم وجود آنتی بادی غیر اختصاصی رآژین سفیلیسی در سرم بیماران، مبنای آزمایشهای سرولوژی غیر اختصاصی VDRL و RPR، تشخیص وجود یا عدم وجود آنتی بادی غیر اختصاصی ضد میکروبهای گروه تریپونما در سرم بیماران، مبنای آزمایش سرولوژی غیر اختصاصی کلمر یا ثبوت مکمل پروتئین رایتر (RPCFT) و تشخیص وجود یا عدم وجود آنتی بادی اختصاصی ضد تریپونما پالیدوم در سرم بیماران، مبنای آزمایشهای سرولوژی اختصاصی تشخیص بیماری سفیلیس، FTA-ABS می باشد.

آزمایشهای سرولوژی غیر اختصاصی تشخیص بیماری سفیلیس

آزمایشهای VDRL و RPR

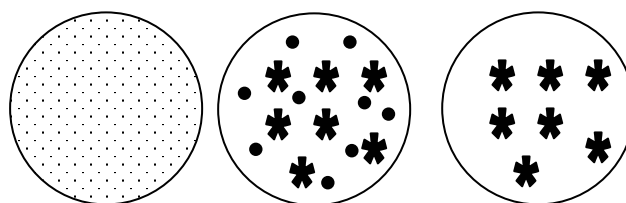
در بیماران مبتلا به سفیلیس، نوعی آنتی بادی ایجاد می شود که بطور غیر اختصاصی قادر است به فسفولیپیدهای بسیاری از بافتها، نظیر کاردیولیپین (Cardiolipin) قلب گاو متصل شود، که به آن، آنتی بادی رآژین سفیلیسی، آنتی لیپوئیدال و آنتی بادی واسرمن (Wasserman) می گویند و از کلاس IgM می باشد. در آزمایشهای VDRL (Venereal

VDRL و RPR (Rapid Plasma Reagin)، با استفاده از آنتی ژن VDRL که مخلوطی از کاردیولپین، کلسترول و لیسیتین می باشد، به جستجوی وجود یا عدم وجود آنتی بادی رآژنیک سیفیلیسی می پردازند. از آزمایشهای VDRL و RPR بعنوان تست غربالگری (Screening Test) استفاده می شود. زیرا با استفاده از این دو آزمایش، تنها می توان موارد مشکوک به بیماری سیفیلیس را مشخص کرد. اگر در فردی، این آزمایشها در دفعات متعدد منفی شد، ارزش زیادی دارد و فرد مبتلا به بیماری سیفیلیس نمی باشد. ولی چنانچه آنتی بادی رآژین سیفیلیسی شخصی مثبت شد، باید علت آن را جستجو کرد. آزمایشهای VDRL و RPR ممکن است در بیماریهای غیر تروپنمایی دیگر نظیر لوپوس، آنمی همولیتیک، تب روماتیسمی و آرتریت روماتوئید نیز، بطور کاذب مثبت شود.

مزیت آزمایش RPR بر VDRL اینست که اولاً برای انجام آزمایش RPR نیازی به حرارت ۵۶ درجه سانتیگراد، جهت غیر فعال کردن کمپلمان نمی باشد، و ثانياً از آنجا که اساس آزمایش RPR بر واکنشهای آگلوتیناسیون استوار است (برخلاف آزمایش VDRL که اساس آن بر واکنشهای فلوکولاسیون استوار است) نتیجه آزمایش را می توان با چشم مسلح و بدون نیاز به میکروسکوپ مشاهده کرد.

روش انجام آزمایش VDRL

یک قطره از سرم بیمار را بر روی یک لام میکروشناسی، ریخته و به آن مقدار مشخصی از آنتی ژن VDRL (مخلوطی از کاردیولپین، کلسترول و لیسیتین) اضافه نمایید. دو قطره را با اپلیکاتور با یکدیگر مخلوط کرده و بعد از چهار دقیقه حرکت دورانی، لام را زیر میکروسکوپ، با عدسی ده از نظر واکنش فلوکولاسیون بررسی نمایید. واکنش فلوکولاسیون مثبت در زیر میکروسکوپ، بصورت تجمعات سوزنی شکل مشاهده می شود. بر اساس شدت واکنش (تعداد و بزرگی تجمعات سوزنی شکل) جواب آزمایش را، از منفی (عدم مشاهده تجمعات سوزنی شکل) تا واکنش ۴+ (+++++) گزارش نمایید (شکل زیر).



واکنش فلوکولاسیون (تجمعات سوزنی شکل)، از چپ به راست، واکنش فلوکولاسیون منفی، ۳+ و ۴+

روش انجام آزمایش RPR

آزمایش RPR با استفاده از کیت RPR انجام می شود.

اجزای موجود در کیت RPR

(۱) قطره چکان حاوی کنترل مثبت

(۲) قطره چکان حاوی کنترل منفی

(۳) قطره چکان حاوی ذرات ذغال که بر روی آن، آنتی ژن سیفیلیسی سوار شده است (به همین دلیل رنگ سوسپانسیون داخل این قطره چکان سیاه‌رنگ است).

(۴) لام زمینه سفید و اپلیکاتور

روش کار

بر روی لام زمینه سفید، یک قطره سرم بیمار، یک قطره کنترل مثبت و یک قطره کنترل منفی بریزید.

به هر کدام از قطره‌ها، یک قطره ذرات ذغال، که بر روی آنها آنتی ژن سیفیلیسی متصل شده است، اضافه نمایید.

با استفاده از اپلیکاتور، قطره‌ها را مخلوط نموده، به مدت دو دقیقه، بر روی روتاتور حرکت دورانی دهید.

جواب را از نظر آگلوتیناسیون بررسی نمایید.

بسته به شدت واکنش آگلوتیناسیون، جواب آزمایش را از منفی (عدم مشاهده آگلوتیناسیون) تا ۳++ (گزارش نمایید).

آزمایش کلمر یا ثبوت مکمل پروتئین رایتر (RPCFT: Reiter Protein complement fixation test)

علاوه بر ظهور آنتی بادی رآژین در بیماری سیفیلیس، آنتی بادی دیگری معمولاً از کلاس IgG در سرم این بیماران بوجود می‌آید که آنتی بادی ضد گروه ترپونما نامیده می‌شود. در واقع، این آنتی بادی بر ضد آنتی ژنهای اشتراکی بین میکروب ترپونما پالیدوم و ترپونماهای غیر بیماریزا می‌باشد. از جمله ترپونماهای غیر بیماریزا، سوش رایتر (Reiter) می‌باشد که می‌توان آن را در محیطهای کشت مصنوعی رشد داد.

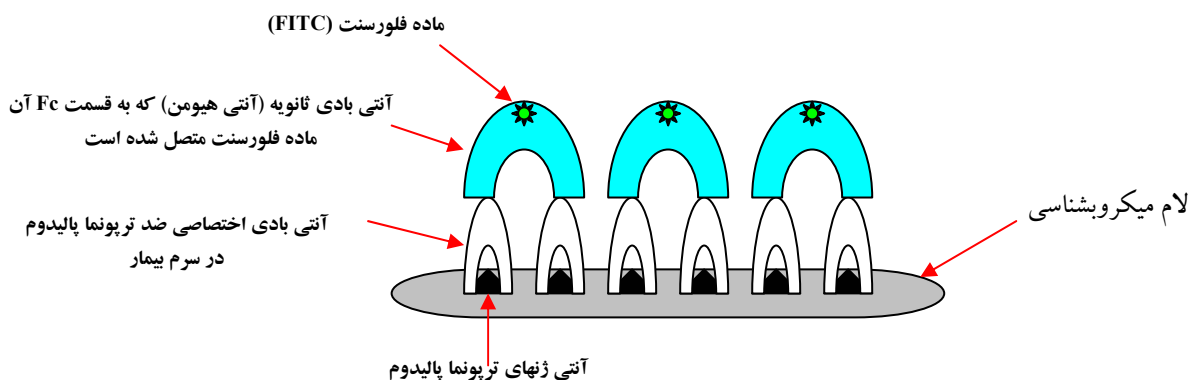
آزمایشی که برای تشخیص آنتی بادی ضد گروه ترپونما، در آزمایشگاه انجام می‌گیرد، آزمایش کلمر یا ثبوت مکمل پروتئین رایتر می‌باشد. در این آزمایش از سوش رایتر بعنوان آنتی ژن استفاده می‌شود. این آزمایش نیز، همانند آزمایشهای VDRL و RPR برای تشخیص بیماری سیفیلیس، اختصاصی نیست و در صورت مثبت شدن، بطور قاطع نمی‌تواند دلیل بر مبتلا بودن فرد به سیفیلیس باشد، ولی منفی بودن آن ارزش زیادی دارد. آزمایش کلمر در یک درصد افراد طبیعی مثبت می‌شود.

آزمایشهای اختصاصی تشخیص بیماری سیفیلیس

در آزمایشهای اختصاصی تشخیص بیماری سیفیلیس، به جستجوی وجود یا عدم وجود آنتی بادی اختصاصی (از کلاس IgG می‌باشد) ضد باکتری ترپونما پالیدوم، در سرم بیماران پرداخته می‌شود. از جمله آزمایشهای اختصاصی تشخیص

بیماری سیفیلیس، می توان به تست نلسن مایر (Nelson-Mayer) یا آزمایش بیحرکت سازی ترپونما پالیدوم (TPI): Treponema Pallidum immobilization Test) اشاره کرد. در این آزمایش از سوش نیکلس (Nichols) به منظور تشخیص آنتی بادی اختصاصی ضد ترپونما استفاده می شود. از آنجا که برای انجام این آزمایش احتیاج به سوش زنده می باشد، این آزمایش فقط در آزمایشگاههایی که قادرند میکروب ترپونما پالیدوم را در بیضه خرگوش نگهداری نمایند، انجام می شود. در این آزمایش، میکروب زنده ترپونما پالیدوم را در مجاورت سرم بیمار و کمپلمان قرار می دهند. در صورتی که سرم بیمار حاوی آنتی بادی اختصاصی ضد ترپونما پالیدوم باشد، در مجاورت کمپلمان باعث بیحرکت شدن میکروب می شود که در زیر میکروسکوپ زمینه سیاه قابل بررسی است. اما امروزه، این آزمایش به دلیل مشکلات نگهداری سوش نیکلس و طولانی بودن انجام آن، متداول نمی باشد. بنابراین امروزه از آزمایشهای دیگری نظیر FTA-ABS (Fluorescent Treponema Antibody Absorption) و الیزا (ELISA) به منظور تشخیص آنتی بادی اختصاصی ضد ترپونما استفاده می شود.

در آزمایش FTA-ABS، سرم بیمار را بر روی لایه که بر سطح آن آنتی ژنهای میکروب ترپونما پالیدوم، متصل (Coat) شده است، اضافه می کنند. در صورت وجود آنتی بادهای اختصاصی در سرم بیمار، آنتی بادهای اختصاصی ضد ترپونما پالیدوم، به آنتی ژنهای سطح لام متصل شده و کمپلکسهای آنتی بادی-آنتی ژن را بوجود می آورند. در مرحله بعد به منظور شناسایی این کمپلکسها، آنتی بادهایی (آنتی بادی ثانویه یا آنتی هیومن) را که به قسمت Fc آنها یک ماده فلورسنت (به عنوان مثال، FITC یا PE) متصل شده است، بر روی لام اضافه کرده و پس از شستشوی لام آن را در زیر میکروسکوپ فلورسانس بررسی می کنند. مشاهده نقاط سبز رنگ بر روی لام، تایید کننده تشکیل کمپلکسهای آنتی بادی اختصاصی-آنتی ژنهای ترپونما پالیدوم، و در نتیجه حضور آنتی بادهای اختصاصی ضد ترپونما پالیدوم در سرم و سیفیلیسی بودن بیمار دارد (شکل زیر).



طرح شماتیکی از آزمایش FTA-ABS در بیماری که مبتلا به بیماری سیفیلیس می باشد.

انتخاب آزمایش مناسب تشخیص سیفیلیس، در مراحل مختلف بیماری

از آنجا که در ابتدای بیماری سیفیلیس (هفته اول)، آزمایشهای سرولوژی تشخیص بیماری سیفیلیس، منفی می باشد، بنابراین بهترین، سریعترین و ارزاترین راه تشخیص بیماری سیفیلیس در مرحله اولیه آن، نمونه برداری مستقیم از ترشحات شانکر و پیدا کردن اسپیروکتهای ترپونما پالیدوم در ترشحات، در زیر میکروسکوپ دارک فیلد می باشد.

بعد از ظهور شانکر بر روی پوست، آزمایشهای سرولوژی در سی درصد موارد پس از یک هفته، و حدود نود درصد موارد بعد از سه هفته، مثبت می شوند. در مرحله اول بیماری سیفیلیس، آزمایش اختصاصی FTA-ABS قدری زودتر از آزمایش غیر اختصاصی VDRL مثبت می شود.

برای تشخیص بیماری سیفیلیس در مرحله دوم بیماری، باز هم بهترین گزینه نمونه برداری مستقیم از زخمها و بثورات جلدی و پیدا کردن اسپیروکتهای ترپونما پالیدوم در ترشحات، در زیر میکروسکوپ دارک فیلد می باشد. بعلاوه اینکه در مرحله دوم بیماری سیفیلیس، آزمایشهای سرولوژی در نود و نه درصد موارد مثبت می شود.

در مرحله سوم بیماری سیفیلیس هم، بهترین آزمایش سرولوژی، آزمایش FTA-ABS می باشد. بعلاوه اینکه پیشنهاد می شود، در این مرحله آزمایش VDRL به منظور تشخیص سیفیلیس عصبی، بر روی مایع نخاعی انجام گیرد.

مطالب این قسمت با همکاری خانمها مهدیه محمودی و زهرا عاشوری تهیه شده است.