

مقدمه

آزمایش ویدال برای تشخیص سرولوژی بیماری حصبه (Typhoid) و شبه حصبه (Paratyphoid) می باشد. عامل بیماری حصبه (تب روده ای - تیفوئید) باکتری سالمونلا (Salmonella)، از دسته باسیلهای روده ای (Enteric Bacilli) می باشد. این باسیلهای، از راه دستگاه گوارش وارد بدن انسان می شوند و موجب پیدایش بیماریهای مهم زیر می شوند:

۱) تبهای تیفوئیدی و پاراتفوئیدی که به نام تبهای روده ای (Enteric Fever) معروف است، و عامل آنها، باسیلهای سالمونلا تیفی دی (S. Typhi D)، سالمونلا پاراتیفی آ (S. Paratyphi A)، سالمونلا پاراتیفی بی (S. Paratyphi B) و سالمونلا پاراتیفی سی (S. paratyphi C) می باشند.

۲) سپتی سمی و عفونت خون (Septicemia)، که عامل آن، سالمونلا کلراسویس (S. Cholerae suis) می باشد.

۳) مسمومیتهای غذایی، که عامل آن، سالمونلا تیفی موریوم (S. Typhi murium) و سالمونلا انتریتیدیس (S. Enteritidis) می باشند.

باکتری گونه سالمونلا، با سیلی گرم منفی، هوازی تا بی هوازی اختیاری، متحرک (فلاژلهای محیطی دارد) و متعلق به گروه انتر و باکتریاسه می باشد. راه انتقال سالمونلاها به انسان، از طریق دستگاه گوارش یعنی غذا و آب آلوده می باشد، خصوصاً آبهای که با مدفوع انسان آلوده هستند.

سیر گسترش سالمونلا در بدن به این صورت می باشد:

ورود از راه دهان (خوردن آبها و غذاهای آلوده)، استقرار در قسمت ایلئوم روده کوچک، از طریق عروق لنفاوی روده کوچک وارد جریان خون شده و از طریق خون، به قسمت های مختلف بدن، بخصوص پلاکهای پییر (Peyer' Patches) در قسمت ایلئوم روده کوچک رفته و در آنجا مستقر می شود. سالمونلا می تواند در صفرا به صورت نهفته باقی مانده و در این مدت از طریق مدفوع از بدن دفع شود.

علائم بالینی

ضعف عمومی، تب، سردرد و سوراخ شدن روده. در این میان مهمترین علامت بالینی، اسهال خونی است که در اثر خونریزی روده کوچک ظاهر می شود. از علائم دیگر می توان، به بزرگی کبد و طحال (هیپاتواسپلنومگالی) اشاره کرد.

درمان

درمان حصبه با تجویز آنتی بیوتیکهایی نظیر آمپی سیلین، ترمتوپریم – سولفومتاکسازول انجام می گیرد.

ایمونولوژی بیماری حصبه

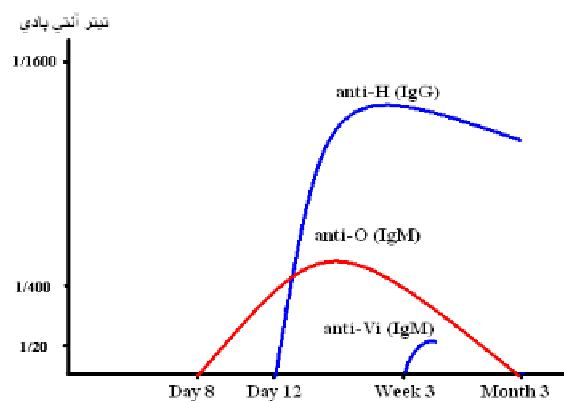
سه نوع آنتی ژن مهم سالمونلا، که علیه آنها در بدن آنتی بادی ساخته می شود، عبارتند از:

(۱) آنتی ژن O (سوماتیک، LPS یا اندوتوکسین). این آنتی ژن ساختار لیپو پلی ساکاریدی دارد.

(۲) آنتی ژن H (تازک یا فلاژل باکتری، که از پروتئین فلاژلین ساخته شده است).

۳) آنتی ژن K (کپسولی یا Vi (Virulence)، که در بیماریزایی باکتری نقش زیادی دارد و از جنس پلی ساکارید می باشد. این آنتی ژن، ممکن است در بعضی سالمونلا ها وجود نداشته باشد.

در بدن بیمار مبتلا به حصبه (تیفوئید)، علیه هر سه دسته آنتی ژن فوق آنتی بادی ساخته می شود. ترتیب بروز این آنتی بادیها، بصورت زیر می باشد (نمودار ۱):



نمودار ۱: ترتیب بروز آنتی بادیها، در بیماری حصبه

حدود یک هفته پس از ورود باکتری سالمونلا به بدن، آنتی بادی از کلاس IgM، علیه آنتی ژن O ساخته می شود. تیتراژ این آنتی بادی، بتدریج در سرم بالا رفته و بعد از سه ماه فروکش می کند. وجود این آنتی بادی در سرم، از نظر تشخیص کلینیکی ارزش زیادی دارد و نشان دهنده عفونت حاد می باشد.

آنتی بادی ضد آنتی ژن H از کلاس IgG، و از روز دهم به بعد، در سرم ظاهر می شود. تیتراژ این آنتی بادی در سرم، سرعت بالا رفته و تا مدتها، حتی پس از بهبودی در بدن باقی می ماند، بنابر این، اثبات وجود این آنتی بادی در سرم شخص، بدون اثبات وجود آنتی بادی علیه آنتی ژن O، از نظر بالینی ارزش زیادی ندارد. علاوه بر این، متعاقب تزریق واکسن حصبه نیز، تیتراژ آنتی بادی در سرم افزایش می یابد.

آنتی بادی علیه آنتی ژن K از هفته سوم به بعد ساخته می شود و از کلاس IgM است. تیتراژ این آنتی بادی در سرم افزایش چندانی نمی یابد. تشخیص حضور این آنتی بادی در سرم، بیشتر در رابطه با افراد ناقل باکتری سالمونلا، مطرح است. ناقلین، باکتری سالمونلا را در کیسه صفراى خود حمل می کنند.

تشخیص آزمایشگاهی

بهترین راه تشخیص عامل یک بیماری عفونی، جدا کردن عامل بیماری از نمونه های بیولوژیک بیمار و مشخص کردن آن است. بنابراین در هفته اول بیماری حصبه، قبل از آنکه تیتراژ آنتی بادی در سرم بالا رود، باکتری سالمونلا را می توان به ترتیب، از خون، مدفوع و سپس ادرار، بر روی محیط های کشت میکروشناسی (مانند SS آگار، سالمونلا در محیط SS آگار، تولید H_2S می کند و کلونی های سیاه رنگ بوجود می آورد) جدا کرد.

در بسیاری از موارد، استفاده خود سرانه آنتی بیوتیک، باعث منفی شدن جواب کشتها می شود، در این حالت بهترین راه تشخیص بیماری حصبه، آزمایش سرولوژی ویدال (Widal) می باشد.

آزمایش ویدال (Widal)

آزمایش کلاسیک ویدال، اولین بار در سال ۱۸۹۶ توسط ویدال (Widal)، دانشمند فرانسوی، به مجمع پزشکان بیمارستانهای پاریس ارائه شد. در آزمایش ویدال به جستجوی حضور آنتی بادی در سرم بیمار و تیتراژ آن، پرداخته می شود. اساس آزمایش ویدال، آگلوتیناسیون فعال مستقیم (Direct Active Agglutination) می باشد. در آزمایش کلاسیک ویدال، خود میکروب بعنوان آنتی ژن بکار می رفت. اما امروزه در آزمایش ویدال، از آنتی ژنهای سوماتیک (آنتی ژن O) و فلاژل (آنتی ژن H) باکتریهای زیر استفاده می شود:

(۱) سالمونلا تیفی دی (*S. Typhi D*)

(۲) سالمونلا پاراتیفی آ (*S. Paratyphi A*)

(۳) سالمونلا پاراتیفی بی (*S. Paratyphi B*)

(۴) سالمونلا پاراتیفی سی (*S. Paratyphi C*)

در آزمایشگاه، سوسپانسیون آنتی ژنی برای آزمایش ویدال، بنفش رنگ می باشد، که علت آن، استفاده از مواد رنگی نظیر کریستال ویوله می باشد.

آزمایش ویدال به دو طریق سریع (روش اسلایدی) و کند (روش لوله ای) انجام می شود. سرم بیمار می بایست حداقل با آنتی ژنهای O و H سه باکتری سالمونلا (سالمونلای گروه A، B و D) آزمایش شود. روش لوله ای، چون وقت گیر است فقط برای آنتی ژنهایی که در روش اسلایدی مثبت شده اند، انجام می گیرد.

روش اسلایدی

بر روی یک اسلاید شیری رنگ (بهتر است از کاشی استفاده شود)، در شش ردیف، سرم بیمار

را در حجمهای مختلف (۸۰، ۴۰، ۲۰، ۱۰ و ۵ میکرولیتر) بریزید (شکل ۱).

آنتی ژنهای مربوطه (آنتی ژنهای O و H سه سالمونلای A، B و D) را در صوت نیاز، مطابق دستور

شرکت سازنده رقیق نموده، و به هر کدام از حجمهای مختلف سرم بیمار در مرحله قبل، یک

قطره آنتی ژن مربوطه بیافزایید.

با استفاده از اپلیکاتور، قطره ها را مخلوط کرده و به اندازه دایره ای به قطر دو سانتی متر، پهن

نمایید. اسلاید را به آرامی، به مدت سه دقیقه در دست و یا روی روتاتور حرکت دهید.

پس از این مدت، قطره ها را از نظر آگلوتیناسیون بررسی نموده و جواب را به صورت زیر،

یادداشت نمایید.

صد در صد آنتی ژن، آگلوتینه شده است: ++++(۴+)

تقریباً ۷۵ درصد آنتی ژن، آگلوتینه شده است: +++(۳+)

تقریباً ۵۰ درصد آنتی ژن، آگلوتینه شده است: ++(۲+)

تقریباً ۲۵ درصد آنتی ژن، آگلوتینه شده است: +(۱+)

آگلوتیناسیون دیده نمی شود: - (منفی)

روش لوله ای را برای آنتی ژنهایی که جواب آگلوتیناسیون مثبت داده اند، انجام دهید.

۵ میکرولیتر ۱۰ میکرولیتر ۲۰ میکرولیتر ۴۰ میکرولیتر ۸۰ میکرولیتر

D					
d					
A					
a					
B					
b					

شکل ۱: روش اسلایدی آزمایش ویدال

D: آنتی ژن O سالمونلا تیفی D، **d:** آنتی ژن H سالمونلا تیفی D، **A:** آنتی ژن O سالمونلا پاراتیفی A، **a:** آنتی ژن H سالمونلا پاراتیفی A، **B:** آنتی ژن O

سالمونلا پاراتیفی B، **b:** آنتی ژن H سالمونلا پاراتیفی B

روش لوله ای

ده عدد لوله آزمایش تمیز، را انتخاب کرده و پس از شماره گذاری در جا لوله ای قرار دهید.

در لوله اول ۰/۹ سی سی، و به لوله های شماره ۲ تا ۱۰، ۰/۵ سی سی سرم فیزیولوژی اضافه نمایید.

سپس به لوله شماره ۱، ۰/۱ سی سی سرم بیمار اضافه کرده، محتویات داخل لوله را، با تکان دادن لوله مخلوط نمایید.

از لوله شماره ۱، ۰/۵ سی سی برداشته، به لوله شماره ۲، اضافه نمایید. محتویات داخل لوله را، با

تکان دادن لوله مخلوط نمایید. سپس از لوله شماره ۲، ۰/۵ سی سی برداشته و به لوله شماره ۳

اضافه نمایید. این کار را تا لوله شماره ۱۰، ادامه دهید. و از لوله شماره ۱۰، ۰/۵ سی سی برداشته،

بیرون بریزید (جدول ۱).

۵/۰ سی سی از آنتی ژن مورد نظر را به لوله های ۱ تا ۱۰، اضافه نمایید. محتویات داخل لوله ها را، با تکان دادن لوله ها مخلوط نمایید.

لوله ها را به مدت ۵ دقیقه، در دور rpm ۲۵۰۰ سانتریفوژ نمایید.

لوله ها را به آرامی از سانتریفوژ درآورده، به ترتیب از لوله شماره ۱ تا ۱۰، از نظر آگلوتیناسیون بررسی نمایید.

نتیجه آزمایش را در تک تک لوله ها بصورت زیر خوانده و یادداشت نمایید.

تمام آنتی ژن موجود در لوله آزمایش، آگلوتینه شده و مایع بالای رسوب شفاف است: ++++
(۴+)

تقریباً ۷۵ درصد آنتی ژن موجود در لوله آزمایش، آگلوتینه شده و مایع بالای نسبتاً کدر است: +++
(۳+)

تقریباً ۵۰ درصد آنتی ژن موجود در لوله آزمایش، آگلوتینه شده و مایع بالای رسوب نسبتاً کدر است: ++
(۲+)

تقریباً ۲۵ درصد آنتی ژن موجود در لوله آزمایش، آگلوتینه شده و مایع بالای رسوب کدر است: +
(۱+)

آگلوتیناسیون دیده نمی شود و سوسپانسیون داخل لوله، کاملاً کدر است: - (منفی)

در نهایت، آخرین رقتی از سرم را که در لوله مربوط به آن، ۵۰ درصد (۲+) آگلوتینه مشاهده می شود، بعنوان تیترنهایی آنتی بادی گزارش نمایید.

لازم به یادآوری است که، روش لوله ای، فقط برای آنتی ژنهایی که در روش اسلایدی مثبت

شده اند، انجام می گیرد. پس بسته به تعداد آنتی ژنهایی که در روش اسلایدی جواب مثبت داده

اند، تعداد لوله ها، در روش لوله ای مشخص می گردد. به عبارت دیگر برای هر آنتی ژنی که

در روش اسلایدی جواب مثبت داده است، ده لوله، در روش لوله ای انتخاب می شود.

شماره لوله	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
سرم فیزیولوژی (میلی لیتر)	۰/۹	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
سرم بیمار	۰/۱									
سرم رقیق شده (میلی لیتر)	→ ۰/۵	→ ۰/۵	→ ۰/۵	→ ۰/۵	→ ۰/۵	→ ۰/۵	→ ۰/۵	→ ۰/۵	→ ۰/۵	→ ۰/۵
آنتی ژن (میلی لیتر)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
رقت (تیتراژ نهایی)	۱/۲۰	۱/۴۰	۱/۸۰	۱/۱۶۰	۱/۳۲۰	۱/۶۴۰	۱/۱۲۸۰	۱/۲۵۶۰	۱/۵۱۲۰	۱/۱۰۲۴۰

جدول ۱: روش لوله ای آزمایش ویدال

نکته ها

۱) شیشه های حاوی آنتی ژن را حداقل ۱۵ دقیقه قبل از شروع آزمایش، از یخچال بیرون آورده

تا به دمای محیط برسند، و به مقدار نیاز، مطابق دستور شرکت سازنده رقیق نمایید.

۲) از آنجا که در بیماری حصبه، آنتی بادی ضد آنتی ژن O، از روز هشتم به بعد و آنتی بادی ضد آنتی ژن H از روز دهم دوازدهم به بعد در خون ظاهر می شود، به این دلیل ممکن است در هفته اول بیماری جواب آزمایش ویدال، منفی شود، بنابراین می بایست آزمایش ویدال را در روزهای بعد نیز تکرار کرد.

۳) حداقل تیتراژ قابل قبول در آزمایش ویدال، برای کشورهای مختلف متفاوت است. در ایران، چنانچه تیتراژ آنتی بادی ضد آنتی ژن O، $1/80$ و تیتراژ آنتی بادی ضد آنتی ژن H، $1/40$ باشد، بیمار مشکوک به حصبه یا شبه حصبه می باشد و در صورتی که تیتراژ آنتی بادی ضد آنتی ژن O، حداقل $1/160$ و تیتراژ آنتی بادی ضد آنتی ژن H، حداقل $1/80$ یا بیشتر باشد، بیمار به حصبه یا شبه حصبه مبتلاست.

۴) آنتی بادی ضد آنتی ژن H سالمونلا از کلاس IgG می باشد، و می تواند از طریق جفت، از مادر مبتلا به حصبه به جنین و بالطبع نوزاد، منتقل شده، آزمایش ویدال نوزاد را مثبت نماید. ولی آنتی بادی ضد آنتی ژن O، چون از کلاس IgM است، این توانایی را ندارد. بنابراین مثبت شدن آنتی H به تنهایی، در آزمایش ویدال نوزاد و حتی افراد بزرگسال ارزشی ندارد.

مطالب این قسمت با همکاری خانمها رضوان کارآمد و دهشیری تهیه شده است.