

تست‌های تشخیصی سریع بیماری مالاریا

شهلا خشاوه¹، صفا آریامند¹، شهرام خادم وطن²

1. گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
 2. دانشیار، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران
- نویسنده مسنول: صفا آریامند

مقدمه:

مالاریا مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری انگلی دنیا و یکی از مسائل مهم بهداشتی تعدادی از کشورها بخصوص کشورهای گرمسیری دنیا است. بیماری مالاریا با نام‌های دیگری چون پالودیسیم، تب و لرز، تب‌نویه، تب متناوب، تب رومی، تب شاگرس و تب مارش نامیده می‌شود. کلمه مالاریا یک کلمه ایتالیایی و به معنای هوای بد (Mal-Aria) است و منظور از آن تعریف بیماری با ویژگی‌های تب متناوب است که ایتالیایی‌ها در گذشته وجود آن را ناشی از هوای بد و مناطق باتلاقی می‌دانستند. چارلز لویی آلونس لاوران برای اولین بار در سال 1907 وجود انگل مالاریا را در خون افراد مبتلا به مالاریا توضیح داد. روز ۲۵ آوریل، روز جهانی مالاریا است که یکی از ۸ روز جهانی سلامت همگانی می‌باشد که به رسمیت شناخته شده است.

انگل‌های مالاریای انسانی گونه‌هایی از جنس پلاسمودیوم و از رده‌ی اسپوروزوا هستند که چرخه‌ی غیرجنسی (شیزوگونی) آن‌ها در گلبول‌های قرمز مهره‌داران و چرخه‌ی جنسی (اسپوروگونی) آن‌ها در پشه‌ها صورت می‌گیرد. پلاسمودیوم فالسی‌پاروم بالاترین میزان انگل در خون (پارازیتمی) را ایجاد می‌کند و گاهی 40 - 10% گلبول‌های قرمز را آلوده می‌کند.

بیماری به‌صورت حملات پرئودیک ایجاد می‌شود و چهار مرحله دارد: لرز، تب، عرق و فاز مزمن. از عوارض مزمن بیماری مالاریا می‌توان به بزرگی طحال مناطق گرمسیری، لنفوم بورکیت و همین‌طور سندرم نفروتیک اشاره نمود.

بیماری مالاریا به دلایل گستردگی و شیوع بالای بیماری، شیوع مقاومت علیه داروها و حشرمکش‌ها، موربیدیته و مورتالیتی بالا و تحمیل هزینه‌های گزاف به جامعه از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. از نظر مرگومیر، سالانه 3 میلیون نفر در دنیا به این بیماری مبتلا می‌شوند. در قاره آفریقا سالیانه 800 هزار کودک زیر 5 سال به این بیماری مبتلا شده و جان خود را از دست می‌دهند که بیشترین میزان مرگ در کشور کنگو گزارش شده است. این بیماری در 30 سال گذشته، بیش از 100 بیلیون دلار به آفریقا ضرر وارد کرده، هر سال حدود یک بیلیون دلار برای کنترل بیماری نیاز است و هر سال حدود 84 میلیون دلار خرج تحقیقات برای این بیماری می‌شود. مالاریا در ایران بیشتر در استان‌های جنوب شرقی از جمله در سیستان و بلوچستان، هرمزگان و قسمتی از کرمان دیده می‌شود. این بیماری

در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری و نیز در بسیاری از مناطق معتدل انتشار وسیعی دارد و همواره با گرم شدن زمین، شیوع این بیماری افزایش می‌یابد (1, 2).

تشخیص:

تشخیص قطعی مالاریا با شناسایی میکروسکوپی انگل در گسترش خونی صورت می‌گیرد. از جمله روش‌های میکروسکوپی روش بررسی از طریق گسترش نازک و گسترش ضخیم می‌باشد. در تشخیص معمولاً از گسترش رنگ‌شده خون محیطی به‌عنوان روش طلایی تشخیص استفاده می‌شود. رنگ‌آمیزی گیمسا به این منظور استفاده می‌شود. حساسیت گسترش ضخیم در تشخیص موارد کم انگل از گسترش نازک بیشتر است.

امروزه از کیت‌های تشخیصی سریع مالاریا جهت تشخیص زودهنگام و سریع این بیماری استفاده می‌گردد. هدف از کیت‌های تشخیصی سریع مالاریا، در راستای رسیدن به هدف شروع درمان تمامی موارد مالاریا با تشخیص آزمایشگاهی در کمتر از 48 ساعت است. همچنین استفاده از این کیت‌ها به بهورزان، مأمورین مراقب، داوطلبین و ... کمک می‌کنند تا در مناطقی که دسترسی آسان به آزمایشگاه مالاریا وجود ندارد بتوانند جهت تشخیص بیماری مالاریا استفاده نمایند، همچنین در مناطق روستایی که به آزمایشگاه مالاریا با تسهیلات میکروسکوپی دسترسی ندارند و نیز در اپیدمی مالاریا، بیمارستان‌ها، قرنطینه‌های مرزی، شک بالینی و لام منفی، مطب‌ها و کلینیک‌های خصوصی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

تست‌های سریع تشخیصی بیماری مالاریا:

تست‌های سریع تشخیصی¹ (RDTs) در بیماری مالاریا قادر به تشخیص برخی از آنتی‌ژن‌های پروتئینی موجود در خون افراد آلوده هستند. بیش از 200 نوع RDT در مورد بیماری مالاریا طراحی شده که اصول آزمایشات مشابه هستند و با مکانیسم آنتی‌ژن / آنتی‌بادی و ایمونوکروماتوگرافی عمل می‌نمایند. برخی از تست‌های سریع تشخیصی قادرند یک گونه واحد آلوده‌کننده (فالسپاروم و یا ویواکس) را تشخیص دهند، گروهی از آنها قادر به تشخیص گونه‌های متعدد آلوده‌کننده پلاسمودیوم و برخی نیز قادر به ایجاد افتراق بین فالسپاروم و غیر فالسپاروم می‌باشند.

در حال حاضر این آزمایشات می‌توانند پروتئین غنی از هیستیدین 2 مترشحه از پلاسمودیوم فالسپاروم، آلدولاز پلاسمودیوم و لاکتات دهیدروژناز انگل را هدف قرار دهند.

1- پروتئین غنی از هیستیدین 2 از پلاسمودیوم فالسپاروم (pFHRP2) یک پروتئین محلول در آب است که توسط مراحل غیرمعمول و گامتوسیت فالسپاروم، بر روی سطح غشاء قرمز بیان شده و نشان داده شده که در خون حداقل برای 28 روز بعد از شروع درمان ضد مالاریا باقی می‌ماند. این تست قادر به تشخیص 40 عدد پارازیت در هر میکرولیتر خون می‌باشد.

2- آلدولاز، یک آنزیم ترشح شده از مسیر گلیکولیت انگلی است که توسط مراحل خونی پلاسمودیوم فالسپاروم بیان می‌شود.

¹ Rapid diagnostic tests

3- آلدولاز توسط پارازیت‌های غیر مالاریایی (PMA) نیز ترشح می‌شود که در هنگام انجام تست، انجام آزمایش ترکیبی pfHRP2 نیز ضروری است.

4- لاکتات دهیدروژناز انگل (pLDH) یک آنزیم گلیکولیت محلول است که توسط مراحل نابالغ و جنسی انگل تولید می‌شود. این آنزیم توسط هر چهار گونه آلوده‌کننده پلاسمودیوم تولید می‌گردد و ایزومرهای مختلف pLDH برای هر یک از چهار گونه وجود دارد. pLDH قادر به تشخیص 100 تا 200 پارازیت در هر میکرولیتر خون می‌باشد (3-7).

نحوه انجام تست:

5 میکرولیتر از نمونه خون با استفاده از میکروپیپت برداشته و آن را بر روی قسمت مربوط به نمونه خون از کیت قرار داده (به این ترتیب حدود 5 میکرولیتر خون به قسمت موردنظر کیت منتقل می‌شود). دو قطره از مایع بافر در قسمت بافر چکانده و بعد از 20 دقیقه نتیجه از روی کیت خوانش می‌شود. در صورت عدم مشاهده رنگ، تا 30 دقیقه بعد کیت بایستی مورد بازبینی قرار گیرد و زمان رؤیت رنگ ذکر شود.



- 3. پنجره خواندن نتایج
- 1. محل قرار دادن نمونه خون
- 2. محل ریختن بافر

تفسیر نتایج:

نتیجه منفی: فقط یک نوار صورتی-بنفش در قسمت کنترل (قسمت C) از قسمت نتایج کیت مشاهده می‌شود.



نتیجه مثبت پلاسمودیوم ویواکس:

دو نوار صورتی-بنفش در قسمت علامت‌گذاری شده PAN و کنترل (C) مشاهده می‌شود.

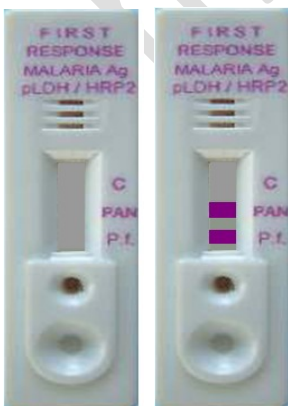


نتیجه مثبت پلاسمودیوم فالسی پاروم:

با سه نوار صورتی-بنفش در قسمت علامت‌گذاری شده P.f، PAN و کنترل (C) مشاهده می‌شود.



در صورتی که هیچ نوار رنگی بر روی تست پدید نیاید، یا دو نوار در قسمت P.f و PAN پدید آید، نتیجه منفی بوده و می‌بایست با کیت دیگری آزمایش شود (1, 8-12).



نتیجه‌گیری:

در تشخیص بیماری مالاریا روش‌های میکروسکوپی، آزمون مولکولی و تست‌های سریع تشخیصی مطرح می‌باشد که هر کدام از این روش‌ها مزایا و معایبی را همراه دارند. بررسی میکروسکوپی به‌عنوان تست طلایی تشخیص مالاریا مطرح می‌باشد، ولی جهت انجام این آزمون نیاز به امکانات برق، میکروسکوپ، رنگ‌آمیزی و یک فرد مجرب است، در مورد آزمایش‌های مولکولی زمان‌بر بودن و همچنین تحمیل هزینه‌های بالا عدم انجام این تست را در مناطق مالاریاخیز آفریقایی باعث شده، ولی انجام تست‌های سریع تشخیصی (RDTs) به علت سهولت در انجام تست، هزینه کم و سرعت بالا در دستیابی به نتیجه آزمایش در این مناطق پیشنهاد می‌گردد.

1. Palmer CJ, Lindo JF, Klaskala WI, Quesada JA, Kaminsky R, Baum MK, et al. Evaluation of the OptiMAL test for rapid diagnosis of *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* malaria. *Journal of clinical microbiology*. 1998;36(1):203-6.
2. Malaria WEC, Organization WH. WHO expert committee on malaria: twentieth report: World Health Organization; 2000.
3. Warhurst D, Williams J. ACP Broadsheet no 148. July 1996. Laboratory diagnosis of malaria. *Journal of clinical pathology*. 1996;49(7):533.
4. Reyburn H, Mbatia R, Drakeley C, Carneiro I, Mwakasungula E, Mwerinde O, et al. Overdiagnosis of malaria in patients with severe febrile illness in Tanzania: a prospective study. *Bmj*. 2004;329(7476):1212.
5. Wilson ML. Malaria rapid diagnostic tests. *Clinical infectious diseases*. 2012;54(11):1637-41.
6. Wongsrichanalai C, Barcus MJ, Muth S, Sutamihardja A, Wernsdorfer WH. A review of malaria diagnostic tools: microscopy and rapid diagnostic test (RDT). *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2007;77(6_Suppl):119-27.
7. Moody A. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. *Clinical microbiology reviews*. 2002;15(1):66-78.
8. Murray CK, Gasser RA, Magill AJ, Miller RS. Update on rapid diagnostic testing for malaria. *Clinical microbiology reviews*. 2008;21(1):97-110.
9. Organization WH. Malaria rapid diagnostic tests. 2017.
10. Organization WH. Malaria rapid diagnostic test performance. Results of WHO product testing of malaria RDTs: Round 2. Malaria rapid diagnostic test performance Results of WHO product testing of malaria RDTs: Round 2. 2010.

11. . Bell D, Peeling RW. Evaluation of rapid diagnostic tests: malaria. Nat Rev Microbiol. 2006 Sep;4(9 Suppl):S34-8.
12. Murray CK, Bell D, Gasser RA, Wongsrichanalai C. Rapid diagnostic testing for malaria. Tropical Medicine & International Health. 2003;8(10):876-83.

medlabnews.ir