ارزیابی روشهای مختلف تشخیصی در عفونتهای قارچی ناخن

دکتر مطهره کریم زادگان نیا[1]، اکرم میرامین محمدی[2]، دکتر علیرضا فیروز[3]، دکترمحمدرضا شیدفر[4]

۱ـ متخصص آسیب شناسی، ۲ـ کارشناس ارشد قارچ شناسی، ۳ـ استادیار، گروه پوست؛ مرکز آموزش و پژوهش بیماریهای پوست و جذام، ٤ـ استادیار قارچ شناسی، دانشکده بهداشت؛ دانشگاه علوم پزشکی تهران

مقدمه : در حال حاضر تشخیص انیکومایکوزیس بر اساس علائم بالینی، آزمایش مستقیم و کشت قارچ می‌باشد اما بر اساس بررسیهای انجام شده، روشهای آسیب‌شناسی از حساسیت بالاتری نسبت به سایر روشهای موجود برخوردار است.

هدف: ارزیابی روش آسیب‌شناسی در تشخیص انیکومایکوزیس در مقایسه با روشهای اسمیر و کشت.

روش اجرا: از ۹٦ بیمار مشکوک به انیکومایکوزیس یک نمونه ناخن توسط ناخن‌گیر گرفته شد. سپس ناخن گرفته شده را به ٤ قسمت تقسیم کرده و یک قسمت آن را ذخیره کردیم. یک قسمت دیگر در فرمالین ٤٪ گذاشته شد و به روش آسیب‌شناسی بررسی گردید (PATH-PAS). یک قسمت دیگر آن در محیط مایکوزیل آگار و سابورودکستروزآگار کشت داده شد و کشتها به مدت ٤ هفته در محیط اتاق نگهداری گردید. قسمت دیگر توسط اسمیر مستقیم با پتاس ۱۰٪ آزمایش شد. جوابهای هر آزمایش بدون اطلاع از جوابهای دیگر ثبت گردید. وجود علائم بالینی به همراه حداقل یک آزمون مثبت به عنوان تشخیص انیکومایکوزیس در نظر گرفته شد وحساسیت روشهای فوق در تشخیص انیکومایکوزیس مقایسه گردید.

یافته‌ها: حساسترین روش ترکیب دو آزمون PATH-PAS و اسمیر بود (حساسیت ۹۸٪). اختلاف معنی‌داری بین حساسیت اسمیر و آسیب‌شناسی وجود نداشت. ولی دو روش PATH-PAS و کشت اختلاف معنی‌دار داشتند.

نتیجه‌گیری: روش PATH-PAS یک روش ساده و بسیار حساس در تشخیص عفونتهای قارچی ناخن می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ناخن، انیکومایکوزیس، پاتولوژی، تشخیص

فصلنامه بیماریهای پوست، زمستان ۱۳۸۲؛ ۲٦: ۱۰۰-۹۵

مقدمه

انیکومایکوزیس عفونت قارچی ناخن است که بوسیله قارچهای درماتوفیت، قارچهای غیردرماتوفیتی و یا مخمرها ایجاد می‌شود. انیکومایکوزیس تنها علت اختلالات ناخنی نیست اما مهمترین علت است و ٤۰٪-۱۸٪ تغییرات ناخنی را شامل می‌شود. از سوی دیگر ۳۰٪ از عفونتهای قارچی را انیکومایکوزیس تشکیل می‌دهد(٤). تشخیص انیکومایکوزیس بایستی توسط روشهای آزمایشگاهی تائید گردد زیرا بیماریهای متنوعی شامل پسوریازیس، لیکن پلان، اگزما و همچنین بسیاری از گونه‌های قارچی ممکن است علائم بالینی مشابه انیکومایکوزیس ایجاد کنند. بنابراین آزمایشهای قارچ شناسی ضرورتاً بایستی بر روی

مؤلف مسئول: دکتر علیرضا فیروز- تهران، خیابان طالقانی غربی، شماره ۷۹

نمونه صورت گیرد.

در حال حاضر تشخیص انیکومایکوزیس بر اساس علائم بالینی، آزمایش مستقیم و کشت قارچ انجام می گیرد. این آزمایشها نه تنها از نظر روش انجام مشکل است و نتایج آزمایشات به چگونگی نمونه گیری بستگی دارد بلکه وقت گیر هم هست. در ۳۰٪ موارد، به عنوان مثال وقتی که نمونه گیری صحیح نباشد، نمونه به مقدار کافی نباشد و یا گاهی به دلیل مرده بودن قارچ، جواب کشت منفی کاذب گزارش می‌شود که با انجام آزمون بافت‌شناسی می توان این مواد را کاهش داد. همچنین در برخی موارد قارچهای ساپروفیت و کاندیدا به عنوان ساپروفیت روی ناخن قرار می گیرند و موجب جواب مثبت کاذب می‌شوند که با انجام روشهای بافت‌شناسی می‌توان عامل پاتوژن را در کراتین مشخص نمود و به تشخیص نهایی رسید. در ضمن با این روش می‌توان بیماریهای نظیر پسوریازیس و لیکن پلان را نیز تشخیص داد، زیرا در ۶۰٪ مواردی که از نظر بالینی انیکومایکوزیس تشخیص داده می‌شود، تشخیص آزمایشگاهی ثانویه، قارچ است و فقط در ۴۰٪ موارد ممکن است قارچ عامل واقعی ضایعه باشد.

هدف از این بررسی ارزیابی PATH-PAS در تشخیص انیکومایکوزیس در مقایسه با روشها اسمیر و کشت می‌باشد.

روش اجرا

۹۶ بیمار مشکوک به انیکومایکوزیس توسط متخصص پوست تحت بررسی قرار گرفتند. این بیماران بر اساس نوع ضایعه به سه دسته تقسیم می‌شوند:

Superficial White Onychomycosis(SWO)

Distal Lateral Superficial Onychomycosis (DLSO)

Full Thickness Onychomycosis (FTO)

بیماران با تغییرات ناخنی محدود به قسمت پروکسیمال ناخن از مطالعه خارج شده و سایر بیماران جهت نمونه گیری به آزمایشگاه مرکز آموزش و پژوهش بیماریهای پوست و جذام، دانشگاه علوم پزشکی تهران فرستاده شدند. در آزمایشگاه برای تمامی بیماران پرسشنامه‌ای تکمیل گردید و سپس ناخن بیمار از کناره آزاد لبه ناخن همراه با دبریدهای متصل زیر ناخن توسط ناخن گیر گرفته شد، بطوریکه بزرگترین قطر ناخن کمتر از ۳ میلیمتر نبوده و هیچگونه ناراحتی نیز برای بیمار ایجاد نکند. نمونه‌های ناخن را در ظرف استریل قرار داده و برچسب زدیم و بعد ناخن گرفته شده را به ٤ قسمت تقسیم کردیم و یک قسمت آن را ذخیره کرده و یک قسمت را نیز در فرمالین ٤٪ گذاشته و به روش آسیب‌شناسی بررسی نمودیم (تصاویر شماره ۱،۲). قسمت دیگر ناخن در محیط مایکوزیل آگار و سابور و دکستروز آگار کشت داده شد و کشتها به مدت ٤ هفته در محیط اتاق نگهداری گردید. قسمت دیگر ناخن نیز توسط اسمیر مستقیم و پتاس ۱۰٪ آزمایش شد.

جوابهای هر آزمایش بدون اطلاع از جوابهای دیگر ثبت گردید. علائم بالینی به همراه حداقل یک آزمون مثبت به عنوان انیکومایکوزیس در نظر گرفته شده و در انتها نتایج دو روش فوق در تشخیص انیکومایکوزیس مقایسه گردید.

یافته‌ها

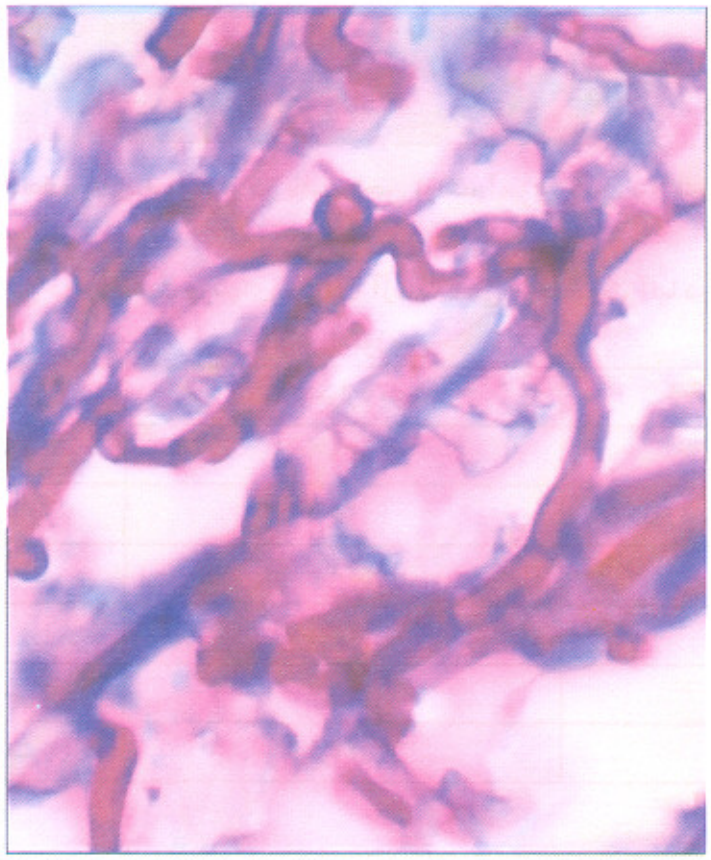
٤۷ مورداز ۹۶ بیمار مشکوک به انیکومایکوزیس حداقل یک آزمون مثبت داشتند (جواب مثبت عبارت بود از وجودمیسلیوم درماتوفیت یا کاندیدا و مخمرهای آن در بافت و یا رشد کولونی‌های قارچ در محیط‌های قارچی). از نظر علائم بالینی، ضایعات ناخن شامل ۳۳ مورد (۷۰٪) FTO، ۱۱ مورد (۲۳٪) DLSO و ۳ مورد (۶/۳٪) SWO بود. از ٤۷ مورد، ۳۰ مورد (٦٤/۸٪) درگیری در ناخن پا و

۱۷ مورد (۳۶/۱۷٪) درگیری در ناخن دست بوده است. از ۱۸ مورد اسمیر تشخیص داده شده به عنوان درماتوفیت، ۹ مورد کشت مثبت داشتند که در ٦ مورد Trichophyton Mentagrophytes و در ۳ مورد Trichophyton rubrum از کشت جدا شد.

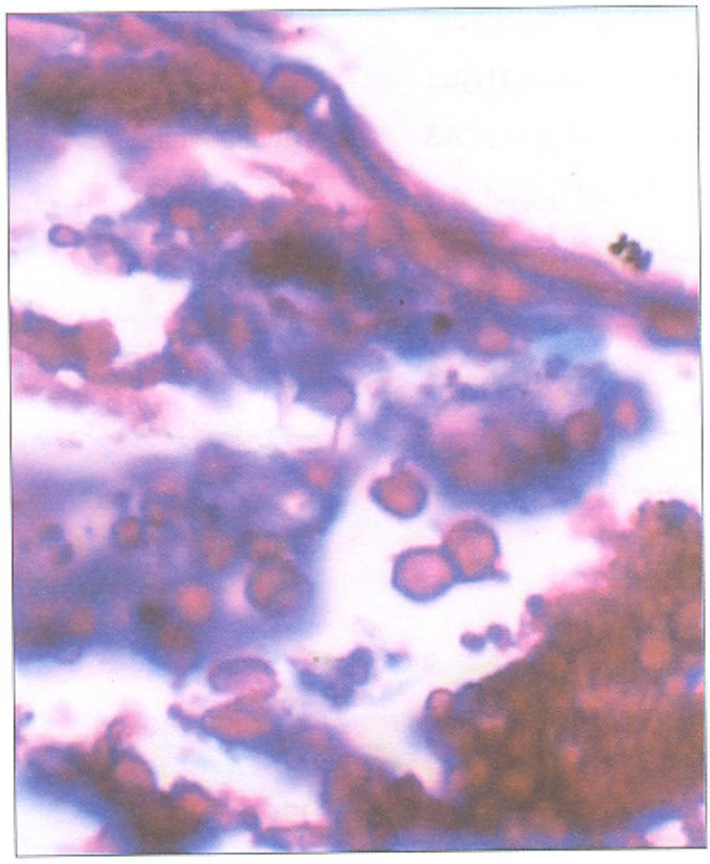
از ۱۵ مورد اسمیر تشخیص داده شده به عنوان کاندیدا، ۱۳ مورد نتیجه کشت مثبت بود.

از ۳ مورد اسمیر تشخیص داده شده به عنوان ساپروفیت، ۳ مورد آسپرژیلوس و ۱ مورد فوزاریوم از کشت جدا شد.

بنابراین، حساسیت روشهای PATH-PAS، اسمیر و کشت به ترتیب ۸۱٪، ۷٦/۵٪ و ۵۳٪ می‌باشد(جدول شماره۱). حساسترین روشها ترکیب دو آزمون PATH-PAS و اسمیر است که دارای حساسیت ۹۸٪می‌باشد. دو روش اسمیر و کشت اختلاف معنی‌دار دارند(P<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری بین اسمیر و آسیب‌شناسی وجود نداشته ولی بین دو روش PATH-PAS و کشت اختلاف معنی‌دار است(P<۰/۰۵). ترکیب دو روش کشت و آسیب‌شناسی دارای حساسیت ۹٤٪ بوده و اختلاف معنی‌داری با انجام کشت به تنهایی دارد(P<۰/۰۵).



تصویر شماره ۱ ـ میسیلیوم درماتوفیت در بافت ناخن (رنگ آمیزی پاس، بزرگنمایی ٤۰ برابر)



تصویرشماره ۲ـ مخمرهای جوانه‌دار در بافت ناخن (رنگ آمیزی پاس، بزرگنمایی ٤٠ برابر)

جدول شماره ۱ـ فراوانی موارد مثبت روشهای مختلف آزمایشگاهی و حساسیت آنها در بیماران مشکوک به انیکومایکوزیس

روش آزمایشگاهی	تعداد موارد مثبت	حساسیت (٪)
اسمیر مستقیم KOH	٣٦	٧٦/٥
کشت	٢٥	٥٣
آسیب شناسی	٣٨	٨١
اسمیر و کشت	٣٧	٧٨/٨
اسمیر و آسیب شناسی	٤٦	٩٧/٨
آسیب شناسی و کشت	٤٤	٩٤

بحث

٤٠٪-١٨٪ تغییرات ناخنی به علت انیکومایکوزیس ایجاد می‌شود که برای تشخیص آن به روشهای دقیق با حساسیت بالا نیاز است(٧). در حال حاضر تشخیص انیکومایکوزیس بر اساس علائم بالینی و حداقل یک آزمون آزمایشگاهی مثبت می‌باشد. روشهای تشخیص سنتی انیکومایکوزیس که امروزه نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد شامل تهیه اسمیر مستقیم با پتاس ١٠٪ و کشت

روی محیط سابورودکستروز آگار و مایکوزیل آگار می‌باشد. این روشها اگرچه صحت تشخیصی در حدود ۷۰٪-۵۰٪ دارند ولی گرفتن جواب صحیح به نحوه جمع‌آوری و تهیه نمونه‌ها وابسته است(٤).

آزمایش اسمیر مستقیم با پتاس اگرچه ساده‌ترین و ارزانترین روش جهت تشخیص عفونتهای قارچی ناخن است اما حدود ۱۵٪-۵٪ جواب منفی کاذب دارد که ممکن است به علت کافی نبودن عامل قارچی در نمونه باشد(٤،۷). در این مطالعه نیز حدود ۱۰٪ جواب منفی کاذب با اسمیر مستقیم مشاهده شد.

کشت قارچ جهت تشخیص گونه قارچی تخصصی‌تر از آزمایش پتاس است، اما در این مورد نیز گاهی جوابهای منفی کاذب دیده می‌شود که ممکن است به علت مرده بودن ارگانیسم عامل بیماری، کافی نبودن نمونه و گاهی به این علت باشد که نمونه‌گیری صحیح انجام نگرفته است(۳).

در مطالعه‌ای که Clayton انجام داده ۳۰٪ نمونه‌ها با آزمایش پتاس مثبت گزارش شده که در همه این موارد کشت منفی بوده است(٦). در مطالعه ما ۲۳٪ نمونه‌ها از نظر آزمایش پتاس مثبت ولی کشت آنها منفی بوده است(٦).

گاهی به علت آلودگی نمونه‌های آزمایشگاهی با قارچهای پاتوژن یا غیرپاتوژن (فلور نرمال پوست) کشتهای مثبت کاذب ایجاد می‌شود(۷).

طی مطالعه‌ای که در استرالیا انجام شده از ۳۲۰۰۰ مورد ناخن، ٤۵٪ موارد اسمیر مستقیم و کشت مثبت بوده است(٤)، در ٤۰٪-۱۰٪ موارد فقط آزمایش پتاس مثبت بوده و ۳۰٪-۱۰٪ فقط کشت مثبت داشتند(٤).

بنابراین به علت حساسیت پایین اسمیر و طولانی بودن کشتهای قارچ و همچنین جواب مثبت و منفی کاذب، آزمایش بافت‌شناسی روش مناسبتری برای تشخیص قارچ می‌باشد. گاهی دیستروفی ناخن عامل قارچی ندارد که با آزمایش بافت شناسی می‌توان بیماریهای دیگر مثل پسوریازیس و لیکن پلان را نیز تشخیص داد.

مطالعه حاضر ۳ روش را در ارزیابی روشهای تشخیصی انیکومایکوزیس مقایسه کرده است. در این مطالعه از ۹٦ بیمار مشکوک به انیکومایکوزیس، ٤۷ مورد دارای حداقل یک آزمون مثبت بوده‌اند. در ۳۷٪ موارد ناخن دست و در ٦۵٪ موارد ناخن پا مبتلا بوده است. حساسیت روشهای PATH-PAS و اسمیر و کشت به ترتیب ۸۱٪، ۷۷٪، ۵۳٪ بوده است. در مطالعه Jeffery حساسیت آزمونها به ترتیب ۹۲٪، ۸۰٪ و ۵۹٪ گزارش شده است(۱۰).

بر اساس این مطالعه روش PATH-PAS بیشترین حساسیت (۸۱٪) را در بین آزمونها داشته است که با مطالعه‌ای که Lawry و همکاران در سال ۲۰۰۰ انجام داده‌اند (حساسیت ۸۵٪) نیز مطابقت دارد. در این مطالعه روش کشت دارای حساسیت ۵۳٪ بود اما در مطالعه Lawry روش کشت ۳۲٪ حساسیت داشته است(۷).

در ترکیب روشها، آزمون اسمیر و آسیب‌شناسی بیشترین حساسیت (۹۷/۸٪) و آسیب‌شناسی و کشت ۹۳/٦٪ حساسیت داشته‌اند. در مطالعه Lawry حساسیت روش کشت و آسیب‌شناسی ۹٤٪ بوده است. در مطالعه Jeffery نیز آزمون اسمیر و آسیب‌شناسی حساسیت بیشتری نسبت به کشت داشته است(۹).

طبق نتایج بدست آمده روش PATH-PAS از حساسیت بیشتری نسبت به روشهای دیگر برخوردار است که با مطالعات Jeffery و Lawry نیز مطابقت دارد و آزمون اسمیر مستقیم با پتاس ۱۰٪، بسیار ساده و سریع و نسبتاً حساس (۷۷٪) می‌باشد. برای کاهش موارد منفی کاذب، انجام روش PATH-PAS در کنار اسمیر مستقیم توصیه می‌شود.

این مطالعه طرح مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه می‌باشد و تمام هزینه‌های آن توسط معاونت پژوهشی دانشگاه پرداخت شده است.

منابع

1-Monica A, Lawry MD. Methods for diagnosing onychomycosis. Arch Dermatol 2000; 136.

2-Machler BC, Kirsner RS. Routin histologic examination for the diagnosis of onychomycosis: an evaluation of sensitivity and specificity. Cutis 1998; 61: 217-219.

3-Mehregan DA, Mehregan DR. Onychomycosis. Cutis 1997; 59: 247-48.

4-Elewkksi BE. Diagnosis techniques for confirming onychomycosis. Cuths 1996; 35: 6-9.

5-Sylvia M, Suarez MD. Histologic evaluation of nail clippings for diagnosing onychomycosis. Arch Dermatol 1991; 127: 1517-19.

6-Clayton YM. Clinical and mycological diagnostic aspects of onychomycosis and dermatomycoses. Clin Exp Dermatol 1992; 17: 37-40.

7-Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes Clin Microbiol Rev 1995; 8: 240-59.

8-Lawry MA, Haneke E. Methods for diagnosing onychomycosis: a comparatic study and review of the literature. Arch Dermatol 2000; 136: 1112-16.

9-pontes ZB, Lima Ede O. Onychomycosis in Joao pessoe city. Rev Argent Microbiol 2002; 34: 95-99.

10-Jeffery M, Weinberg MD. Comparison of diagnostic methods in the evaluation of onychomycosis. Am Dermatol 2003; 49: 193-97.