جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

دارای رتبه علمی – پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

مقایسه آزمایش آگلوتیناسیون رایت و الایزا در افراد مشکوک به بروسلوز

حسین انصاری نیا
دانشجوی کارشناسی علوم آزمایشگاهی،
دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی،یزد، ایران

فاطمه زارع
دانشجوی کارشناسی ارشد ایمونولوژی، دانشگاه
علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

حسین هادی ندوشن
دانشیار ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید
صدوقی، یزد، ایران

نویسنده مسئول : حسین هادی ندوشن

پست الکترونیک :hhadin@ssu.ac.ir

تلفن : ۰۹۱۳۳۵۷۶۶۲۰

آدرس: ایران، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد

دریافت:۹۱/۷/۱۵
ویرایش پایانی:۹۱/۱۱/۱۸
پذیرش:۹۱/۱۱/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: *در کشور ما اغلب از آزمایش رایت برای تشخیص بروسلوزاستفاده می شود. به علت حساسیت پایین این آزمایش موارد منفی کاذب بالا گزارش می شود. در این مطالعه نتایج آزمون های رایت و الایزادر افراد مشکوک به بروسلوز مورد مقایسه قرار گرفت.*

روش بررسی *: نتایج آزمون رایت، 2MEرایت، کومبس رایت و تعیین کلاس های IgG ، IgM علیه بروسلا به روش الایزا مورد ارزیابی قرار گرفت. از مجموع ۱۱۸۳ افراد با آزمایش رایتارجاع داده شده ، ۱۴۸ مورد آزمون کومبس رایت و ۲۲۸ مورد آزمون 2ME رایتبرای آنها درخواست شده بود. برای ۳۲ نفر از آنها علاوه بر آزمون رایت، آزمایش های سنجش آنتی بادی بر علیه بروسلا از کلاس های IgG و IgM نیز انجام شد .*

یافته ها : *آزمونرایت در ۹۵/۴ درصد موارد منفی بود. ۸/۷ درصد موارد از لحاظ آزمایش کومبس رایت و ۴/۷ درصد از آن ها از لحاظ آزمایش 2ME رایت مثبت بودند و در ۲/۳ درصد موارد رایت منفی ،کومبس رایت مثبت بود. ۱۶ نفر از لحاظ آزمون رایت و الایزامنفی بودند. در ۸ مورد رایتمنفی ، الایزااز کلاس IgM مثبت و IgG منفی و ۴ مورد رایت منفی ، الایزا از لحاظ IgM منفی و IgG مثبت بود. همچنین ۴ مورد از لحاظ رایت مثبت و آنتی بادی از کلاس IgM و IgG مثبت بودند.*

نتیجه گیری *: به علت عدم هم خوانی نتایج آزمایش های رایت و الایزاو با توجه به در دسترس بودن، حساسیت بالا و تعیین نوع کلاس آنتی بادی در روش الایزا این روش برای تشخیص بروسلوز مورد تاکید می باشد.*

واژه های کلیدی : *بروسلوز، رایت، الایزا*

آدرس مقاله:
انصاری نیا ح، زارع ف، هادی ندوشن ح " مقایسه آزمایش آگلوتیناسیون رایت و الایزا در افراد مشکوک به بروسلوز" مجله علوم آزمایشگاهی، ویژه نامه باکتری شناسی ۱۳۹۲دوره هفتم(شماره۵) :۴۵-۵۰

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

بروسلوز یکی از بیماری های شایع مشترک بین انسان وحیوان در جهان است که به طور عمده در کشاورزان، کارگران کشتارگاه ها و دامپزشکان از طریق تماس مستقیم یا غیر مستقیم با حیوانات آلوده یا محصولات آن ها رخ می دهد(۲،۱). عامل این بیماری گونه های مختلف بروسلوز هستندکه باسیل هایی گرم منفی، کوچک، هوازی، غیرمتحرک، فاقدکپسول واسپور می باشند(۵). تشخیص قطعی بروسلوز جداکردن باکتری از خون، مایعات یا بافت های بدن است، اما این روش به دلیل محدودیت هایی از جمله رشد آهسته ی باکتری، عدم رشد در محیط های کشت معمولی واحتمال آلودگی کارکنان آزمایشگاه معمولا در تشخیص بروسلوز استفاده نمی شود. همچنین در اکثر موارد، کشت خون در عفونت های تحت حاد منفی می شود. حساسیت کشت خون در مطالعات مختلف بین ۱۵ تا ۳۵ درصد گزارش شده است(۹،۸). روش های متداول مورداستفاده برای تشخیص سرولوژیک بروسلوز شامل آزمایش آگلوتیناسیون(Coombs Wright,2ME Wright, Wright,)، آزمایش فیکساسیون کمپلمان (CFT) و ELISA(IgM,IgG) می باشد(۱۱،۱۰). یکی از روش های سرولوژیکی، سروآگلوتیناسیون یا آزمایش رایت می باشد که به طور شایع در تشخیص بروسلوز استفاده می شود. آزمایش کومبس رایت در مواردی که آزمایش رایت منفی می شود و ممکن است این جواب منفی به علت وجود آنتی بادی های بلوکان باشد، استفاده می گردد. الایزا یکی از روش های سنجش پاسخ سیستم ایمنی بوده که در فاز جامد انجام می گیرد و به همین دلیل بسیاری از عیوب روش های سنجش ایمنی در فاز مایع از جمله زمان طولانی روش، آماده سازی اولیه واتصالات غیراختصاصی بالا در این روش مشاهده نمی شود(۱۲). در آزمایش آگلوتیناسیون از Brucella Abortus به عنوان آنتی ژن استفاده می شود که با سایر گونه های بروسلا به جز Canis واکنش متقاطع دارد. همچنین امکان ایجاد واکنش متقاطع سرولوژیکی بین گونه های بروسلا، یرسینیا، فرانسیلا تولارنسیس، ویبریو کلرا وگونه های سالمونلا وجوددارد. آزمایش الایزاتوانایی اندازه گیری تمام آنتی بادی هایی که توسط گونه های مختلف بروسلوز در بدن انسان ایجاد می شود را دارد (۱۳، ۱۴). در مطالعه Araj و همکاران مشخص شد که روش‌الایزاباید در موارد مزمن و مواردی که تشخیص بروسلوز دشوار است، استفاده شود(۱۵). مطالعه دیگر در عربستان نشان داد که الایزاآزمون مناسبی است و حساسیت و ویژگی آن در مقایسه با کشت خون به ترتیب ۹۹ و ۱۰۰ درصد تعیین شد(۱۶). در مطالعه ای که در اسپانیا توسط Serra و همکاران صورت گرفت نشان داده شد که حساسیت و ویژگی آزمون الایزادر مقایسه با کشت خون به ترتیب ۹۹ و ۹۸/۸ درصد می باشد(۱۷). در مطالعه ای که توسط محرز و همکاران برای ارزیابی آزمون سرولوژی الایزا در تشخیص بروسلوز در بیمارستان امام خمینی در سال ۱۳۷۹ انجام گرفت مشاهده شد که حساسیت و ویژگی ELISA(IgG) ۹۳ و ۱۰۰ درصد و ELISA(IgM) ۹۶ و ۱۰۰ درصد می باشد(۱۸). با توجه به نتایج متفاوت به دست آمده در مطالعات مختلف به دلیل استفاده از کیت های متنوع از شرکت های مختلف، این مطالعه به منظور مقایسه آزمون های رایت و الایزا در افراد مشکوک به بروسلوز انجام گرفت. هدف از این مطالعه تعیین حساسیت و ویژگی آزمایش آگلوتیناسیون در مقایسه با الایزادر تشخیص افراد مشکوک به بروسلوز بود.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی - مقطعی اطلاعات دموگرافیک و نتایج آزمون Coombs Wright,2ME Wright,Wright, (به روش آگلوتیناسیون لوله ای) و بروسلا lgG ،lgM (به روش ELISA) از فروردین ماه تا اسفند ماه ۱۳۸۹ در افراد مشکوک به بروسلوز ارجاعی به آزمایشگاه بوعلی یزد مورد ارزیابی قرار گرفت. از مجموع ۱۱۸۳ فرد با آزمایش رایت ارجاع داده شده، ۱۴۸ مورد آزمایش کومبس رایت و ۲۲۸ مورد آزمون برای آنها درخواست شده بود. برای ۳۲ نفر از آنها علاوه بر آزمون رایت، آزمایش های سنجش

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

آنتی بادی بر علیه بروسلا از کلاس های IgG وIgM (IBL,Germany Sensitivity >95%,.Specificity >95%) نیز انجام شد. نتایج به دست آمده با نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت .

یافته ها

میانگین سنی افراد مراجعه کننده ۱۷± ۳۸/۷ سال بود. حداقل سن، ۲ سال و حداکثر ۸۵ سال بود. ۵۸/۱ درصد آنها زن و ۴۱/۹ درصد مرد بودند. نتیجه آزمایش رایت در ۹۵/۴ درصد موارد منفی بود. ۰/۴درصد تیتر ۱/۸۰ ، ۲/۱درصد تیتر ۱/۱۶۰ ، ۱/۶درصد تیتر ۱/۳۲۰ و ۳/ درصد تیتر ۱/۶۴۰ و بالاتر را نشان می دادند . ۸/۷ درصد موارد از لحاظ آزمایش کومبس رایتو ۴/۷ درصد از آنها از لحاظ آزمایش 2ME رایت مثبت بودند و در ۲/۳ درصد موارد رایت منفی ،کومبس رایت مثبت بود. از مجموع ۳۲ نفر که آزمون رایت و ELISA(IgG , IgM) برای آنها انجام گرفت در ۱۶ مورد (۵۰٪) افراد از لحاظ آزمون رایت و الایزا منفی بودند. ۸ مورد رایت منفی، الایزا از کلاس IgM مثبت و IgG منفی و ۴ مورد رایت منفی، الایزا از لحاظ IgM منفی و IgG مثبت بود. همچنین ۴ مورد از لحاظ رایت مثبت و همچنین آنتی بادی از کلاس IgM و IgG مثبت بودند. در این مطالعه حساسیت آزمون رایت در مقایسه با آزمون الایزا، ۲۵ درصد و ویژگی این آزمون ۱۰۰ درصد بود.

بحث

به دلیل شناخت علایم بالینی ضعیف، ناکافی و ناهمگون، تشخیص بروسلوز همواره نیازمند یک روش تشخیص حساس، اختصاصی، سریع، تکمیل شونده، ارزان وساده درطراحی واجرا هست. این روش ها می تواند بسیاری ازمحدودیت های روش های سنتی را برطرف سازد(۱۹). آزمون آگلوتیناسیون رایت روشی ارزان و ساده برای تشخیص بروسلوز می باشد. اما ۹۵/۴ درصد موارد منفی در آزمایش های درخواستی توسط پزشکان جای تأمل دارد. ایـن درصـد بـالای نـتـایـج مـنفی می تواند به علت درخواست این آزمایش ها توسط پزشک برای غربالگری بیمارانی که علائم غیراختصاصی بروسلوز را دارند باشد. عدم همخوانی نتایج آزمایش های آگلوتیناسیون رایت و روش الایزا در تعیین آنتی بادی علیه بروسلا نیز باید مورد توجه قرار گیرد. نتیجه منفی کاذب رایت ممکن است به علت وجود آنتی بادی های بلوکان، وجود پدیده پروزون و همچنین در مبتلایان به بروسلوز ناشی از گونه Canis دیده شود، زیرا این گونه از بروسلا معمولا آنتی ژن استاندارد بروسلا را به علت نداشتن تشابه آنتی ژنی با یکدیگر، آگلوتینه نمی کند و نتایج کاذب مثبت ممکن است به علت عفونت به باکتری های Salmonella spp, Yersinia,Vibrio cholera ایجاد شود(۲۰). چون در آزمایش الایزا از اپی توپ های آنتی ژن که اختصاصی بروسلا است استفاده می شود، احتمال ایجاد واکنش متقاطع با باکتری های دیگر کاهش می یابد؛ بنابراین با توجه به در دسترس بودن، حساسیت بالا و تعیین نوع کلاس آنتی بادی در روش الایزاوعدم مشاهده پدیده پروزون یا آنتی بادی های بلوکان در آن پیشنهاد می شود که این روش جایگزین آزمایش رایت در آزمایشگاه شود. استفاده از آزمایش حساس الایزا برای بیمارانی که در مراحل اولیه بیماری هستند و یا مقادیر آنتی بادی تولیدی در آنان کم است و این میزان کم آنتی بادی در سرم آنها با روش های رایت و کومبس رایت قابل شناسایی نیست، توصیه می شود. در این مطالعه حساسیت آزمون رایت در مقایسه با آزمون الایزا، ۲۵ درصد و ویژگی این آزمون ۱۰۰ درصد بود. نتایج شاخص حساسیت مطالعه ما درمقایسه با بررسی های دیگر کمتر به دست آمده است که به نظر می رسد، علت آن تفاوت در کیت های مورد استفاده و شرایط متفاوت آزمایشگاهی باشد. حساسیت و ویژگی آزمایش الایزادر مطالعات مختلف، متفاوت گزارش شده است. براساس مطالعه ای که در عربستان توسط Memish و همکاران در سال ۲۰۰۲ بر روی ۶۸ بیمار مبتلا به بروسلوز با کشت خون مثبت و۷۰ نفر گروه شاهد انجام شده است. حساسیت آزمایش آگلوتیناسیون برای بیماران مبتلا به بروسلوز ۹۵/۶ درصد و ویژگی آن ۱۰۰ درصد

گزارش شده است. در حالی که حساسیت آزمایش الایزا-IgG ۴۵/۶ درصد و ویژگی آن ۹۷/۱ درصد و حساسیت آزمایش الایزا IgM- ۷۹/۱ درصد و ویژگی آن ۱۰۰ درصد بوده است(۲۱). در مطالعه ای که توسط سلیمانی و همکاران در درمانگاه تخصصی عفونی شهر کاشان در سال ۱۳۸۳ برای تشخیص بروسلوز بر روی ۳۱ نفر انجام شد، نتایج آزمایشات نشان داد که آزمون آگلوتیناسیون رایت و کومبس رایت در ۲۰ نفر از افراد مورد مطالعه مثبت بود. نتیجه آزمون الایزا(IgM) در ۲۴ نفر از بیماران و نتیجه آزمون الایزا(IgG) در ۲۳ نفر از بیماران مثبت بود. به این ترتیب حساسیت و ویژگی آزمون الایزا (IgM) در مقایسه با آزمون آگلوتیناسیون به ترتیب ۱۰۰ و ۶۳/۳ درصد و آزمون الایزا (IgG) به ترتیب ۱۰۰ و ۷۲/۷ درصد تعیین گردید(۲۲). همچنین در مطالعه وکیلی و همکاران، ویژگی آزمون الایزا (IgG)۷۰/۶ درصد و IgM۱۰۰ درصد محاسبه شد و حساسیت آزمون الایزا(IgG) ۹۳/۷ درصد و IgM ۱۲/۵ درصد به دست آمد. در این مطالعه آزمون آگلوتیناسیون به عنوان روش طلایی در نظر گرفته شده بود(۲۳). در مطالعه Gómez و همکاران حساسیت IgG و IgM۸۴ درصد و ۶۰ درصد و ویژگی هر دو ۱۰۰ درصد گزارش شد(۲۴). در مطالعه Ciftci در ترکیه که از کشت خون به عنوان استاندارد طلایی استفاده شده بود، حساسیت الایزا(IgG) ۹۷/۱ درصد، الایزا(IgM) ۷۱/۴ درصد گزارش شده است(۲۵). در مطالعه ERTEK و همکاران حساسیت روش IgG ۸۱/۳ درصد و روش IgM ۹۳/۸ درصد و اختصاصیت IgG ۹۵ درصد و IgM ۸۵ درصد گزارش شد(۲۶). باتوجه به این مطالعات انجام شده می توان نتیجه گرفت که آزمایش الایزا IgG,IgM از حساسیت و ویژگی نسبتا بالایی درتشخیص قطعی افراد مشکوک به بروسلوز برخوردار است.

نتیجه گیری

اگر چه آزمایش رایت به علت ارزانی و سهولت در اجرا، ممکن است در بروسلوز حاد نسبت به روش الایزا ترجیح داده شود اما حساسیت پایین این آزمون باعث می شود که موارد کاذب منفی آن زیاد باشد. با توجه به یافته های حاصل از این تحقیق می توان نتیجه گرفت که نمی توان به صحت آزمایش رایت امیدوار بود و با در دسترس بودن، حساسیت بالا، تعیین نوع کلاس آنتی بادی و عدم مشاهده پدیده پروزون یا آنتی بادی های بلوکان در روش ELISA، پیشنهاد می شود که این روش جایگزین آزمایش آگلوتیناسیون رایت در آزمایشگاه ها شود.

تشکر و قدردانی

از همکاری کلیه کارکنان آزمایشگاه پاتوبیولوژی بوعلی یزد که در انجام آزمون ها ما را یاری دادند و نیز آقای مهدی دهقان منشادی که در ویرایش مقاله مشارکت داشته اند، قدردانی و تشکر به عمل می آید.

References

1. Park SH, Lee YH, Chu H, Hwang SD, Hwang KJ, Choi HY, et al. *Application of the Microaggutination Test for Serologic Diagnosis of Human Brucellosis.* Osong Public Health and Research Perspectives. 2012; 3(1): 19-23.

2. Aliskan H. *The value of culture and serological methods in the diagnosis of human brucellosis*. Mikrobiyol Bul. 2008; 42(1): 185-95.

3. del Pozo SG, Solera J. *Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials in the Treatment of Human Brucellosis.* PloS one. 2012;7(2):e32090.

4. Citak EC, Citak FE, Tanyeri B, Arman D. *Hematologic manifestations of brucellosis in children: 5 years experience of an anatolian center*. J Pediatr Hematol Oncol. 2010; 32(2): 137-40.

5. Parsa N, Almasi Hashiani A. *Brucella bacterium induces infection and human cancers: Review Article.* Arak Medical University Journal(AMUJ). 2012; 14(7): 95-99.[Persian]

6. Mantecon Mde L, Gutierrez MP, Zarzosa Mdel P, Fernandez-Lago L, Colmenero Jde D, Vizcaino N, et al. *Influence of brucellosis history on serological diagnosis and evolution of patients with acute brucellosis*. J Infect. 2008; 57(5): 397-403.

7. Pappas G, Christou L, Akritidis N, Tsianos EV. *Quinolones for brucellosis: treating old diseases with new drugs*. Clin Microbiol Infect. 2006; 12(9): 823-5.

8. Delpino MV, Fossati CA, Baldi PC. *Occurrence and potential diagnostic applications of serological cross-reactivities between Brucella and other alpha-proteobacteria*. Clin Diagn Lab Immunol. 2004; 11(5): 868-73.

9. Sanaei Dashti A, Karimi A, Javad V, Shiva F, Fallah F, Alaei MR, et al. ELISA *Cut-off Point for the Diagnosis of Human Brucellosis; a Comparison with Serum Agglutination Test*. Iran J Med Sci. 2012; 37(1): 9-14.

22. Esalatmanesh K, Soleimani Z, Arj A, Akbari H, Salesi M. *Diagnostic value of* ELISA *(IgG and IgM) test in brucellosis patients in Kashan during 2004.* KAUMS Journal (FEYZ). 2008; 12 (3) :47-50.

23. Vakili Z , Momen Heravi M , Sharif A , Masoomi M. *Sensitivity and specificity of* ELISA *test in the diagnosis of brucellosis.* Kowsar Medical Journal . 2010 ; 15 (2) :95-98.

24. Gomez MC, Nieto JA, Rosa C, Geijo P, Escribano MA, Munoz A, et al. *Evaluation of seven tests for diagnosis of human brucellosis in an area where the disease is endemic*. Clin Vaccine Immunol. 2008; 15(6): 1031-3.

16. Gad El-Rab MO, Kambal AM. *Evaluation of a Brucella enzyme immunoassay test (ELISA) in comparison with bacteriological culture and agglutination.* J Infect. 1998; 36(2): 197-201.

17. Serra J, Vinas M. *Laboratory diagnosis of brucellosis in a rural endemic area in northeastern Spain.* Int Microbiol. 2004; 7(1): 53-8.

18- Mohraz M, Kariminia A, Sarafnejad A, Almaee Z. Evaluation of DOT- ELISA in diagnosis of brucellosis in Imam Khomeini hospital, 2000. Iran J Infec Dis Trop Med. 2003; 23(8):10-13. [Persian]

19. Young EJ. *Human brucellosis*. Clin Infect Dis. 1983; 5(5): 821-842.

20. Gazapo E, Gonzalez Lahoz J, Subiza JL, Baquero M, Gil J, de la Concha EG. *Changes in IgM and IgG antibody concentrations in brucellosis over time: importance for diagnosis and follow-up*. J Infect Dis. 1989; 159(2): 219-25.

21. Memish ZA, Almuneef M, Mah MW, Qassem LA, Osoba AO. *Comparison of the Brucella Standard Agglutination Test with the* ELISA *IgG and IgM in patients* 2002; 44(2): 129-132.

25. Ciftci C, Ozturk F, Oztekin A, Karaoglan H, Saba R, Gultekin M, et al. *Comparison of the serological tests used for the laboratory diagnosis of brucellosis*. Mikrobiyol Bul. 2005; 39(3): 291-9.

26. Ertek M, Yazgi H, Ozkurt Z, Ayyildiz A, Parlak M. Comparison of the diagnostic value of the standard tube agglutination test and the الایزاIgG and IgM in patients with brucellosis. Turkish Journal of Medical Sciences. 2006;36(3):159-163.

10. Praud A, Gimenez O, Zanella G, Pozzi N, Antras V, Meyer L, et al. *Evaluation of five serological tests for the diagnosis of porcine brucellosis in French Polynesia*. Tropical Animal Health and Production. 2013; 45(4): 931-3.

11. Al-Attas RA, Al-Khalifa M, Al-Qurashi AR, Badawy M, Al-Gualy N. *Evaluation of PCR, culture and serology for the diagnosis of acute human brucellosis*. Ann Saudi Med. 2000; 20(3-4): 224-8.

12. Crowther JR. The ELISA guidebook: Humana Press. 2002;

13. Cutler SJ, Zygmunt MS, Garin Bastuji B. *Brucella Species: Brucellosis. in: BSL3 and BSL4 Agents.* Epidemiology, Microbiology, and Practical Guidelines. Wiley-Blackwell. 2012; 19-35.

14. Longo DL, Kasper DL, Jameson JL, Fauci AS, Hauser SL, Loscalzo J. *Harrison's™ Principles Of Internal Medicine.* McGraw-Hill; 2012;

15. Araj GF, Kattar MM, Fattouh LG, Bajakian KO, Kobeissi SA. *Evaluation of the PANBIO Brucella immunoglobulin G (IgG) and IgM enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of human brucellosis*. Clin Diagn Lab Immunol. 2005; 12(11): 1334-5.