

## اهمیت آزمون های آگلوتیناسیون در مقایسه با الایزا در تشخیص بیماران مبتلا به بروسلوزیس

عبدالرضا اسماعیل زاده<sup>۱</sup>، حمید باغچه سرایی<sup>۲</sup>

۱- مربی - عضو هیئت علمی ایمنولوژی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۲- استادیار - میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

یافته / دوره هفتم / شماره ۱ / بهار ۸۴ / مسلسل ۱۴

### چکیده

دریافت مقاله: ۸۳/۱۲/۸، پذیرش مقاله: ۸۴/۳/۸

**\* مقدمه:** بروسلوزیس بیماری بومی ایران و مشترک بین انسان و دام است. از آنجایی که تشخیص سریع، درمان به موقع و پیگیری درمان اهمیت دارد، انتخاب و انجام آزمایش حساس و اختصاصی و تشخیص و درمان به موقع برای حل این مشکل اساسی ضروری است، هدف از انجام این مطالعه، مقایسه آزمون رایج سولوژیت موجود در آزمایشگاههای تشخیص طبی با آزمون استاندارد الایزا بود.

**\* مواد و روش ها:** در این مطالعه مقایسه ای ۱۷۶ فرد مشکوک به بیماری بروسلوزیس پس از معاینه توسط پزشک متخصص به صورت مستمر به آزمایشگاه ارجاع داده شدند. برای همه بیماران آزمایشهای معمول تشخیص تب مالت شامل رایت سریع، رایت لوله ای استاندارد، کمبس رایت و آزمون انتخابی و استاندارد کمی الایزا انجام شد.

**\* یافته ها:** از ۱۷۶ فرد مطالعه شده ۹۲ نفر (۵۲/۲۷٪) مرد و ۸۴ نفر (۴۷/۷۳٪) زن بودند. از ۱۷۶ نفر فوق با روش های رایت سریع، رایت لوله ای استاندارد، کمبس رایت، الایزا توتال به ترتیب ۴۵ نفر (۲۵/۵۷٪)، ۴۹ نفر (۲۷/۸۴٪)، ۵۸ نفر (۳۲/۹۵٪)، ۷۲ نفر (۴۰/۹۱٪)، مثبت نشان دادند. محدوده سنی افراد بین ۱۵ الی ۶۵ سال بود. از نظر توزیع محل جغرافیایی ۷۲/۴٪ مراجعین، روستایی و ۲۷/۶٪ را ساکنین شهری بودند. حساسیت و آزمون های فوق در مقایسه با الایزا توتال به ترتیب ۶۲/۵، ۶۸ و ۸۰ درصد، و ویژگی همه ۱۰۰٪ بود.

**\* نتیجه گیری:** آزمون الایزا در مقایسه با سایر آزمون های رایج بالاترین قدرت تشخیص را داراست. بعد از الایزا به ترتیب آزمون کمبس رایت، رایت لوله ای استاندارد و رایت سریع بیشترین قدرت تشخیصی را دارند. با استفاده از نتایج این طرح از بین روش های سرولوژیک آزمون الایزا به دلیل سنجش کمی و تعیین کلاس آنتی بادی و مرحله بیماری به عنوان آزمون استاندارد و انتخابی توصیه می شود.

واژه های کلیدی: بروسلوزیس، تشخیص سرولوژیک، الایزا، آگلوتیناسیون

## مقدمه

می‌شود (۱۱،۱۰) از طرفی روش های باکتری شناسی با موارد منفی کاذب فراوان همراه است و تشخیص های مولکولی هنوز در همه جا قابلیت انجام ندارد و در مرحله تحقیقاتی و در آزمایشگاه های مرجع انجام پذیر است.

ساده ترین و ارزان ترین راه های تشخیص تب مالت امروزه روش های مبتنی بر آزمایش های سرولوژیک هستند (۱۳،۱۲)، (۱۴). آزمون های سرولوژیک رایج، هر یک دارای مزایا و معایبی هستند. در این تحقیق در نظر است تا آزمون های رایج سرولوژیک موجود در آزمایشگاه های تشخیص طبی و مراکز آموزشی و درمانی در مقایسه با آزمون استاندارد و انتخابی سرولوژیک الایزا (۱۵،۱۴) روی بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه های تشخیص طبی استان زنجان از نظر قدرت تشخیص بیماری در سال ۱۳۸۱ با هم مقایسه شوند. نتایج این تحقیق شاید بتواند راه گشای متخصصان و بیماران در تشخیص سریع و دقیق بیماری و درمان آن و پیگیری مناسب درمان با استفاده از روش های سرولوژیک باشد واز عوارض پیشرفته بیماری که ناشی از فقدان تشخیص سریع است بکاهد.

## مواد و روش ها

این مطالعه از نوع کاربردی و مقایسه آزمون هاست. در این تحقیق بیماران بعد از معاینه و شرح حال گیری توسط پزشک متخصص در صورت مشکوک بودن به تب مالت برای ارزیابی آزمایشگاهی به طریقه سرولوژیک به آزمایشگاه ارجاع داده شدند. از ۱۷۶ نفر از مراجعین به صورت مستمر<sup>۲</sup> ۵ سی سی خون اخذ و تا یک ساعت بعد از نمونه گیری، سرم از خون جدا و تا زمان انجام آزمایش در ۳ لوله مجزا برای انجام آزمایش های مورد نظر طرح فریز شد. آزمون معیار<sup>۳</sup> در این مطالعه آزمون الایزا بود. این آزمون از نوع واکنش های اولیه آنتی ژن و آنتی بادی است و در مقایسه با آزمون های رایج

بروسلوریز (تب مالت) بیماری بومی کشور ماست و تظاهرات بالینی متنوعی دارد و ویژگی های خاص بالینی، تشخیصی و درمانی آن ممکن است مشکلاتی در اداره بیماران برای پزشکان ایجاد نماید. از طرف دیگر شرایط جغرافیایی کشور ما مسئله نیاز به دامپروزی و کشاورزی کنترل این بیماری در دام را با مشکل مواجه سازد. سالیانه ۵۰۰ هزار بیمار مبتلا به بروسلوز در دنیا گزارش می‌شود و عده ای از مؤلفین حدس می زنند که در ازای هر مورد ثابت شده بروسلا (عامل بیماری) ۲۶ مورد تشخیص داده نشده وجود دارند که گزارش نمی‌شوند (۲۰،۱) علیرغم بهبود وضعیت بهداشتی مواد غذایی هنوز این بیماری یکی از مشکلات اقتصادی بهداشتی مطرح در بسیاری از نقاط دنیا از جمله خاورمیانه، اسپانیا، یونان، ترکیه، مکزیک، هند، پرو و غیره است (۳،۴،۵،۶). شرایط جغرافیایی ایران، وابستگی غذایی به مواد لبنی غیر پاستوریزه و ارتباط شغلی کارگران کشتارگاه ها، قصاب ها، دامپزشکان، کادر آزمایشگاه و غیره ... بروسلوریز را به عنوان بیماری شغلی مطرح می‌سازد (۲). بر اساس آمار اداره مبارزه با بیماری های واگیردار کشور سالیانه حدود ۵۰ هزار مورد بروسلوز گزارش می‌شود و در اکثر استان های کشور آلودگی به درجات مختلف از ۳/۵ تا ۱۰/۵ در هزار متغیر است (۲).

نظر به اهمیت این بیماری روش های مختلفی برای تشخیص، درمان و پیگیری درمان ابداع شده است که کشت میکروب راه اصلی و قطعی تشخیص بیماری است. (۲،۷) جدا سازی بروسلا از خون بسته به مرحله بیماری روش کشت به علت دیر رشد بودن و نیاز به محیط استاندارد کاستاندا از ۱۵ تا ۸۰ درصد گزارش شده است و نکته مهم این است که تکرار کشت و کشت مغز استخوان درصد موارد مثبت را افزایش می‌دهد (۸،۹) با گسترش روش های مولکولی مثل  $PCR$ <sup>۱</sup> به خصوص در درگیری منتشر و موارد پیچیده و مزمن بیماری که تعداد میکرو اورگانیزم کمتر است امکان تشخیص بیشتر

1. polymerase chain reaction
2. Sequential
3.  $\frac{s\ standard}{Gold} \Rightarrow Gold\ s\ standard$

جدول شماره ۱- تعیین ارزش تشخیصی تست راییت سریع در مقایسه با الایزا توتال در بیماری بروسلوز

		الیزا توتال		ایت سریع
توتال		-	+	
		۴۵	۴۵	+
		۱۳۱	۲۷	-
توتال		۱۷۶	۷۲	
<sup>۵</sup> Sens = ۶۲/۵		ppv = ۱۰۰		
<sup>۶</sup> Spec = ۱۰۰		npv = ۷۹/۳		

مطابق جدول شماره ۲ حساسیت، ویژگی، PPV و NPV راییت لوله ای در مقایسه با آزمون استاندارد توتال Elisa به ترتیب: ۶۸/۰، ۱۰۰، ۱۰۰، ۸۱/۸ درصد است.

جدول شماره ۲- تعیین ارزش تشخیصی تست راییت لوله ای در

		الیزا توتال		راییت لوله ای
توتال		-	+	
		۴۹	۴۹	+
		۱۲۷	۲۳	-
توتال		۱۷۶	۷۲	
Sens = ۶۸		ppv = ۱۰۰		
Spec = ۱۰۰		npv = ۸۱/۸		

مطابق جدول شماره ۳ حساسیت اختصاصی بودن، PPV و NPV تست کمبیس راییت در مقایسه با آزمون استاندارد توتال الایزا به ترتیب ۸۰/۰، ۱۰۰، ۱۰۰، ۸۸/۱۰۰ درصد است.

سرولوژیک که از نوع واکنش های ثانویه آنتی ژن و آنتی بادی است، حساسیت و ویژگی بالایی دارد. نتایج آزمون های راییت سریع، راییت لوله ای استاندارد، کمبیس راییت (با آنتی ژن انسیتوپاستورایران) و الایزا IgM و IgG اختصاصی بروسلا آنتی ژن W99 (از شرکت IBL) به صورت Duplicate برای افزایش صحت و دقت نتایج، انجام و از نظر قدرت تشخیصی باهم مقایسه گردید. هر یک از آزمایش ها به تنهایی، به صورت یک سوکور و بدون اطلاع از نتایج آزمون های قبلی به روش استاندارد (WHO) آزمایش گردید. آزمایش های الایزا توسط دستگاه خوانش الایزا<sup>۱</sup> شرکت Awareness آمریکا بعد از راه اندازی و حصول اطمینان انجام شد. نتایج آزمون بعد از اتمام با هم مقایسه و تحلیل گردید.

## یافته ها

از ۱۷۶ نفر مورد مطالعه شده ۹۲ نفر (۵۲/۲۷٪) مرد و ۸۴ نفر (۴۷/۷۳٪) زن بودند. از ۱۷۶ نفر فوق با روش های راییت سریع، راییت لوله ای استاندارد، کمبیس راییت و الایزا توتال به ترتیب ۴۵ نفر (۲۵/۵۷٪)، ۴۹ نفر (۲۷/۸۴٪)، ۵۸ نفر (۳۲/۹۵٪) و ۷۲ نفر (۴۰/۹۱٪) مثبت نشان دادند. محدوده سنی افراد مورد مطالعه بین ۱۵ الی ۶۵ سال بود که بیشتر افراد در گروه سنی بین ۱۸ الی ۴۰ سال بودند. از نظر توزیع محل جغرافیایی ۷۲/۴ درصد مراجعین روستایی و ۲۷/۶ درصد موارد را ساکنین شهری بودند.

مطابق جدول شماره ۱ حساسیت، ویژگی ارزش پیش بینی مثبت (PPV) و پیش بینی منفی (NPV) راییت سریع در مقایسه با آزمون استاندارد توتال (Elisa) به ترتیب عبارت است از: ۶۲/۵ و ۱۰۰ و ۱۰۰ و ۷۹/۳ درصد.

1. Elisa Reader
2. Positive predictive value
3. Negative predictive value
4. Engyme linked Immono sorbert Assay
5. Sensitivity
6. Specificity

جدول شماره ۳- تعیین ارزش تشخیصی آزمون کمبیس در مقایسه با

الایزا در بیماری بروسلاوز			
توتال	-	+	الیزل توتال
کمبیس رایت			
۵۸	-	۵۸	+
۱۱۸	۱۰۴	۱۴	-
۱۷۶	۱۰۴	۷۲	توتال
<i>Sens</i> = ۸۰		<i>ppv</i> = ۱۰۰	
<i>Spec</i> = ۱۰۰		<i>npv</i> = ۸۱/۸	

## بحث

مطابق یافته‌های به دست آمده از این طرح، از بین روش‌های سرولوژیکی تشخیص بروسلاوزیس آزمون الایزا با ۷۲ مورد مثبت (۴۰/۹۱٪) در مقایسه با سایر آزمایش‌های رایج تشخیصی بالاترین قدرت تشخیص را دارا است و این نتیجه با یافته‌های حاصل از تحقیقات اراج<sup>۱</sup> و همکاران او در سال ۱۹۸۶ (۱۵)، گد<sup>۲</sup> و همکاران او در سال ۱۹۹۸ (۳) و اراج از دانشگاه آمریکایی بیروت در ۱۹۹۹ (۱۴) همخوانی دارد.

مطابق یافته‌های ما آزمون الایزا توانسته است ۷۲ مورد (۴۰/۹۱٪) و افراد مبتلا را تشخیص دهد در حالیکه آزمون کمبیس رایت فقط ۵۸ نفر (۳۲/۹۵٪) افراد را شناسایی کرده است و این یافته با نتایج تحقیق اراج در سال ۱۹۹۹ (۱۴) که قدرت تشخیص الایزا را ۷ درصد بیشتر از کمبیس رایت می‌داند مطابقت دارد.

طبق یافته‌های ما قدرت تشخیصی آزمون کمبیس رایت بیشتر از آزمایش‌های آگلوتیناسیون رایت سریع و لوله ای است. این نتایج با یافته‌های کریمی نیا از انستیتو پاستور ایران (۱۷) و

ابدولاً<sup>۳</sup> و دب دوب<sup>۴</sup> در سال ۲۰۰۰ (۱۶) کاملاً مطابقت دارد. طبق یافته‌های حاصل از این تحقیق قدرت تشخیص آزمون‌های الایزا، کمبیس رایت، رایت استاندارد لوله‌ای و رایت سریع به ترتیب کم می‌شود و این نتایج مطابق با یافته‌های تحقیق اراج در سال ۱۹۹۹ (۱۴) است.

## نتیجه گیری

همچنان که از یافته‌ها طرح مشهود است از آنجایی که روش کشت بروسلا دارای مشکلات فنی است و روش‌های مولکولی هنوز جایگاه خود را در تشخیص بالینی باز نکرده است، از بین روش‌های سرولوژیکی آزمون *Elisa* به دلیل سرعت، زمان کوتاه، سنجش کمی تیترا آنتی‌بادی، تعیین ایزوتیپ آنتی‌بادی و کمک در تشخیص مرحله حاد و مزمن بیماری، حساسیت و اختصاصیت بالا نسبت به سایر آزمایش‌های معمول ترجیح داده می‌شود و انجام آن را در مراکز تشخیصی و درمانی برای تشخیص بیماری و پیگیری موفقیت درمان به عنوان آزمون انتخابی توصیه می‌کنیم.

## قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی و شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان به خاطر تصویب طرح، جناب آقای دکتر نورالدین موسوی نسب مشاور محترم آمار، جناب آقای مصطفی شفقتیان کارشناس محترم آزمایشگاه و جناب آقای دکتر حمید رضا امیرمقدم به خاطر انجام بخشی از آزمایش‌ها تقدیر و تشکر می‌شود.

## References

- ۱- عبدالرضا اسماعیل زاده، مهروی قاسمی. دات - ایمونوبلاتینگ. روشی سریع و حساس برای تشخیص بروسلوزیس در مناطق محروم. خلاصه مقالات اولین کنگره بیولوژی سلولی-مولکولی ایران-اهواز ۸-۹ اسفند ۱۳۸۱ ص: ۱۸۱
- ۲- باغچه سرایی حمید، اسماعیل زاده عبدالرضا، بررسی مقایسه ای قدرت تشخیصی آزمون روزبنگال در بروسلوزیس حاد و مزمن، مجله علمی-پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان. بهار ۱۳۸۲: سال ۱۱: شماره ۴۲: صص: ۲۵ الی ۲۹
3. Gad MO, Rad EL, Kambel AM. Evaluation of Brucella Enzyme Immunoassay test (Elisa) in comparison with Bacteriological culture and Agglutination. *J Infect* 1998; 36: 197-201
4. Hall WH. Modern chemotherapy for Brucellosis in Human. *Rev of Infect Dis* 1990; 12(6): 87-9
5. Sadler WW. Present evidence on the role of Meta in the epidemiology of Human brucellosis. *Am J Public Health* 1960; 50: 540-4
6. Hall WH. Brucellosis. In: Evans AS and Feldman HA. *Bacterial Infection of Human Epidemiology and Control*. New York: Plenum, 1982: 156-9
7. Young EJ. Serologic Diagnosis of human brucellosis: Analysis of 214 cases by agglutination test and review of the Literature. *Rev of Infect Dis* 1991; 13: 359 - 72
8. Gotuzzo E, Carrillo C, Guerra J, Liosa L. An evaluation of diagnostic methods for brucellosis: The value of bone marrow culture. *J infect Dis* 1986; 153: 122-5
9. Yaqupsky P, peled N, press J, Abramson O, Abu-Rashid M. Comparison of Bactec 9240 peds puls medium and isolator on 1.5 microbial tube for detection of *Brucella melitensis* from blood culture. *J Clin Microbiol* 1997; 35(6): 1382-4
10. Matar FM, Khreissir IA, Abdonnor AM. Rapid laboratory of a target sequence on the 31 kD *Brucella* antigen DNA. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 477-8
11. Navarro EF. PCR assay for diagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 1999; 35(5): 1654-5
12. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Medical Microbiology*. London, Appelton & Lange, 1991: 244-7
- ۱۳- ادیب فر پرویز، میکروبی شناسی پزشکی. تهران: ناشر مؤلف، چاپ بهمن ۱۳۶۸: ۴۱-۶۳۹
14. Araj GF. Human Brucellosis : a classical infectious Disease with persistent Diagnostic challenges. *Clin Lab Sci* 1999; 12(4): 207 - 12
15. Araj GF, Lulu AR, Mustafa My, khateeb MI. Evaluation of Elisa in the diagnosis of acute and chronic brucellosis in human beings. *J HyG (lond)* 1986; 97(3): 457-69
16. Dabdoob WA, Abdulla ZA. A panel of eight tests in the serodiagnosis and Immunological evaluation of acute brucellosis. *Eastern mediterranean Health journal* 2000; 6(2/3): 304-312
- ۱۷- کریمی نیا، آمینا: «دات ایمونوبلاتینگ: امیدی تازه برای تشخیص تب مالت» مجله علمی پژوهشی تشخیص آزمایشگاهی ۱۳۷۷. سال اول، شماره ۳، صص ۲۹-۳۱.

