

کشت خون افراد مبتلا به بروسلوز جهت جدا کردن باکتری بروسلا، تای پینگ باکتریهای ایزوله شده و مقایسه یافته‌های هماتولوژی این افراد با استانداردهای موجود

رضا مقصودی *

خلاصه:

بروسلوز یک بیماری عفونی مشترک بین انسان و دام (Zoonotic) است که مشکلات پزشکی و اقتصادی عظیمی را در کشور ما ایجاد کرده است.

در این مطالعه از ۱۱۲۰ نفر افراد مشکوک به بروسلوز ابتدا آزمایش‌های سرولوژی coomb's wright test, بعمل آمد و افرادی که در تست رایت و کمبس رایت بترتیب دارای تیتراژ آنتی بادی سرم $\frac{1}{16} >$ و $\frac{1}{80} >$ بودند مثبت تلقی گردیدند. از این افراد آزمایش‌های هماتولوژی Het , CBC , ESR و آزمایش باکتریولوژی کشت خون بعمل آمد.

در آزمایش‌های سرولوژی تعداد ۱۱۰ نفر مثبت بودند در آزمایش‌های هماتولوژی لنفوسیتوز در ۸۷٪ نوتروپنی در ۷۸٪ و افزایش سرعت رسوب گلبولها در ۵۵٪ موارد دیده شد. لکوپنی و آنمی در بیماران ما مشاهده نشد.

از کشت خون این افراد ۲۹ مورد (۲۷٪) باکتری بروسلا ایزوله گردید. مؤسسه انستیتوی رازی ایران همه این باکتری‌ها را بروسلا ملی تنیس بیوتاایپ یک (Biotype 1) تشخیص داد.

واژه‌های کلیدی: بروسلوز، سرولوژی، هماتولوژی، باکتریولوژی، تای پینگ.

مقدمه:

مصرف پنیر تازه، خامه، شیر و بستنی آلوده و غیر پاستوریزه همچنین استنشاق باکتری و تماس آن با مخاط سبب ابتلا به بروسلوز در انسان می‌شود. در حالیکه بیماری در بسیاری از کشورهای اروپایی، آمریکای شمالی، ژاپن، استرالیا ریشه کن گردیده یا تحت کنترل درآمده است در بسیاری از کشورهای

بروسلوز یک بیماری عفونی مهمی است که توسط گونه‌های مختلف باکتری بروسلا ایجاد می‌شود. این بیماری در انسان تب مواج و در حیوانات سقط جنین ایجاد می‌کند. در ایران گاو، گوسفند و شتر مهمترین حیوانات اهلی هستند که به آن مبتلا و سبب انتقال آن به انسان می‌گردند.

محیط بروسلا آگار منتقل نموده و پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون و رشد باکتری، آنها را در داخل یخچال نگهداری می‌کردیم سپس همه نمونه‌ها را به انستیتو رازی ایران جهت تای پینگ منتقل نمودیم. در آن محل حساسیت باکتری به رقت‌هایی از رنگهای فوشین دو رقت ($\frac{1}{50000}$ و $\frac{1}{100000}$) و تسیونین سه رقت ($\frac{1}{35000}$ و $\frac{1}{50000}$ و $\frac{1}{100000}$) و عمل اوره‌آز و حساسیت به آنتی‌سرمهای اختصاصی بروسلا ابورتوس و ملی تنیس سویه‌های (smuth, Rough) و حساسیت به فاز Tbilisi انجام و نتایج یادداشت گردید.

نتایج:

از تعداد ۱۱۲۰ نفر افراد مشکوک به بروسلاز ۱۱۰ نفر از نظر سرولوژی (۱۰۴ نفر با تست رایت و فقط ۶ نفر از آنها که تست رایت منفی بودند در تست کمبس رایت) مثبت شدند. در آزمایش هماتولوژی این افراد لکوسیتوز در ۸۷٪، نوتروپنی در ۷۸٪ و افزایش سرعت رسوب گلبولها در ۵۵٪ موارد دیده شدند. بیماران ما آئمی نداشتند (جدول ۱). در کشت خون، کلنی‌های کرمی رنگ، اسموس (smuth) به قطر ۴ - ۲ میلی متر معمولاً پس از گذشت ۱۲ - ۵ روز در کشت‌های مثبت ظاهر می‌شدند. (بیماران مرحله حاد بیشتر موارد کشت مثبت را تشکیل دادند). کلنی‌هایی که در ۳ - ۱ روز اول پس از کشت ظاهر می‌شدند مربوط به آلودگی بوده (دیفترئیدها یا استافیلوکوک کوآگولاز منفی و...) و عملاً ما در کشت‌های بعد از ۱۶ روز هیچ نمونه مثبت (رشد باکتری بروسلا) نداشتیم. از مجموع ۱۱۰ مورد کشت خون فوق تعداد ۲۹ مورد (۲۷٪) باکتری بروسلا ایزوله گردید.

انستیتو رازی ایران همه این باکتریها را بروسلا ملی

آفریقایی، آمریکای جنوبی، آسیا و کشور ما شایع است. تشخیص بیماری از طریق کشت خون و مغز استخوان و آزمایش‌های سرولوژی امکانپذیر است.

روش کار:

در این بررسی از تعداد ۱۱۲۰ نفر افراد مشکوک به بروسلاز که از طریق پزشکان به آزمایشگاه معرفی می‌شدند آزمایش‌های سرولوژی comb's wright test wright بعمل آمد و افرادی که در تست رایت کمبس رایت بترتیب دارای تیتراژ آنتی بادی سرم $\frac{1}{160}$ و $\frac{1}{80}$ یا بیشتر بودند مثبت تلقی گردیدند. از این افراد در شرایط آسپتیک (Aseptic) به میزان ۱۲ - ۱۰ میلی لیتر خون جهت کشت خون و آزمایش‌های هماتولوژی Hct, CBC, ESR اخذ می‌شد. تست‌های هماتولوژی فوق به روش روتین انجام و نتایج ثبت گردید.

کشت خون در کنار شعله و با دقت کافی، با تلقیح خون به محیط کشت Biphase حاوی CO_2 (Castanda) انجام گرفت. نمونه‌ها بمدت ۵۱ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. در این فاصله از کلنی‌های مشکوک به بروسلا رنگ آمیزی گرام و کشت مجدد sub culture بر روی محیط کشت بروسلا آگار که داخل پتری دیش تهیه شده بود انجام و یک نمونه در هوای آزاد و دیگری در محیط حاوی CO_2 بمدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شد، همزمان قطعه‌ای از کاغذ صافی آغشته به استات دو پلمب را جهت بررسی تولید گاز SH_2 ، به نحوی که با محیط کشت در تماس نباشد (توسط چسب) داخل پتری دیش قرار می‌دادیم. پس از تهیه کشت خالص، نمونه‌ای از هر بیمار را داخل ویال‌های در پوش دار (یونیورسال) حاوی

جدول شماره ۱: مقایسه یافته‌های هماتولوژیکی در افراد مبتلا به بروسلوز با استاندارد

درصد هماتوکریت	سرعت رسوب گلوله	درصد لنوسیت‌ها	درصد منوسیت‌ها	درصد نوتروفیل‌ها	تعداد لکوسیت‌ها	افراد مورد آزمایش
42 ± 2	19 ± 9	۲	۲	51 ± 10	47 ± 10	بیماران بروسلوزی
۴۲	۱۵-۰	۳	۴	34 ± 4	62 ± 5	مقادیر نرمال

جدول شماره ۲: سن و جنس بیماران مبتلا به بروسلوز

گروه سنی / جنس	زن	مرد	جمع
۰-۹	۸	۷	۱۵
۱۰-۱۹	۱۵	۲۰	۳۵
۲۰-۲۹	۹	۱۲	۲۱
۳۰-۳۹	۵	۱۰	۱۵
۴۰-۴۹	۴	۶	۱۰
۵۰-۵۹	۴	۵	۹
۶۰ به بالا	۳	۲	۵
جمع	۴۸	۶۲	۱۱۰
درصد	۴۳	۵۷	۱۰۰

جدول شماره ۳:

علائم بالینی بیماران مبتلا به بروسلوز (از نظر سرولوژی) این جدول صرفاً سمپتومها را نشان می‌دهد

ارکیت	دل درد	لرز	خستگی	سردرد	بی حالی	بی اشتها	عرق کردن	تب	درد اندامها و مفاصل	علائم
۱	۱۱	۱۲	۲۵	۲۶	۲۷	۳۲	۵۶	۶۷	۸۲	تعداد
۱	۱۰	۱۱	۲۳	۲۴	۲۵	۳۰	۵۱	۶۲	۷۴	درصد

یافته‌های هماتولوژی ما در مورد لنفوسیتوز و نوتروپنی و افزایش ESR با اکثر محققین فوق هماهنگی دارد در صورتی که با لکوپنی و آنمی که توسط برخی از آنها گزارش شده هماهنگی ندارد.

بیوتایپ باکتری ایزوله شده در مطالعه ما با مطالعه ذوقی و عبادی یکسان است. پیشنهاد می‌گردد به دلیل مخاطراتی که کشت باکتری بروسلا به همراه دارد در هنگام کار با این باکتری نهایت دقت بعمل آید. نگارنده علی رغم احتیاط‌های زیاد (استفاده از عینک، ماسک و دستکش یکبار مصرف) پس از جدا کردن سومین نمونه باکتری، مبتلا به بروسلاز گردیده است.

سپاسگزاری:

بدینوسیله از همکاری انسان والا، آقای دکتر اسماعیل ذوقی و همکاران در بخش بروسلاز انستیتو رازی ایران بخاطر همکاری در تایپینگ باکتری‌ها تشکر می‌نمایم.

کتابنامه:

- 1 - Crosby, E., L. Iliosa, M. Miroquelsada, C. Carrillo, and E. Gotuzzo. Hematologic changes in Brucellosis, Journal of infection diseases. 150(3):419-424, 1984.
- 2 - Fingold, M.S., and W.J. Martin. Microorganisms encountered in the Blood, P.P.41 - 49. in diagnostic microbiology. 8th ed. C.V. Mosby Company, 1990.
- 3 - Gaffarmohd, M., 1989. Brucellosis in the Gezira area central sudan. The journal of Tropical medicine and Hygiene. 92(2):86-88, 1989.
- 4 - Galanakis-E, et al: childhood brucellosis ... IN north - Greece. Eur J pediatr, 155(1): 1-6, 1996.

تنیس بیوتایپ یک تشخیص داد. سن و جنس بیماران و علائم بالینی آنها در جدولهای ۲ و ۳ آمده است.

بحث و پیشنهاد:

بیش از یکصد و شصت نوع بیماری مشترک انسان و دام وجود دارد. از بین این بیماریها بروسلاز دارای اهمیت ویژه‌ای است. این بیماری توسط محققین از دیدگاههای مختلف مورد بررسی قرار گرفته است.

ذوقی و عبادی ۱۹۸۶ بمدت ۱۰ سال در انستیتو رازی ایران از ۵۶۸ مورد کشت خون ۱۲۱ مورد (۲۵٪) باکتری بروسلا ملی تنیس بیوتایپ یک را جدا کردند. در بررسی دیگر همین محققین بمدت ۱۰ سال ۱۹۸۰ - ۱۹۷۱ تعداد ۱۱۰۷ مورد باکتری بروسلا را تایپینگ نمودند که اکثر آنها بیوتایپ یک بودند. در این بررسی مشخص شد که عامل بروسلاز در استانهای اصفهان، خراسان، گیلان، خوزستان، یزد و آذربایجان شرقی اختصاصاً بیوتایپ یک بوده است. در مطالعه ما نیز همه باکتریهای ایزوله شده از کشت خون بیوتایپ یک بودند. Gotuzzo و همکاران ۱۹۸۶ از ۵۰ بیمار بروسلازی پس از دو بار کشت خون توانستند ۷۰٪ باکتری بروسلا را ایزوله نمایند.

Sharda - DC و همکاران از کشت خون مکرر مبتلایان به بروسلاز توانسته است ۴۲٪ باکتری بروسلا ملی تنیس را جدا کند در ۹۲/۹٪ این بیماران لنفوسیتوز دیده شده است.

E. Crosby و همکاران، تغییرات هماتولوژی را در ۳۸ بیمار بررسی کرده‌اند و لنفوسیتوز را در ۶۳٪، لکوپنی در ۴۵٪، نوتروپنی در ۲۱٪ و آنمی را در ۷۴٪ و افزایش سرعت رسوب گلبولها را در اکثر بیماران خود دیده‌اند.

Malik - GM و همکاران ۱۹۹۷ در عربستان سعودی آنمی خفیف لنفوسیتوز و لکوپنی را در بیماران مبتلا به بروسلاز گزارش نموده‌اند.

- 5 - Gotuzzo , E.,C.Carrillo , J.Guerra, and L.Liosa. 1986.an evaluation of diagnostic methods for Brucellosis - The value of bone marrow culture. Journal Infection diseases.153(1):122, 1986.
- 6 - Jawetz, E., J.LMeInlck, and E.A.Adelberg . 1989 Hemophilus , Bordeatella & Brucella , P.P.226 - 232 In review of medical microbiology - 18th ed .A.L . (Appleton & Lange), 1993.
- 7 - Mallk - GM : A clinical Study of brucellosis ... , AM J Trop Med hyg , Apr , 56(4): 375 - 7, 1997.
- 8 - Sharada - DC, Lubani - M : A study of brucellosis in chilldhood , clin pediater phila ,oct . 25(10) : 492 - 5 , 1986.
- 9 - Zowghi , E., and A .Ebadi. 1986. A survey on human Brucellosis (Malta fever) in Iran. Arch . inst. Razi . 36, 37:69-74,1986.
- 10 - Zowghi , E., and A. Ebadi . 1982.typing of Brucella strains in Iran . Arch .inst . Razi.33:109 - 114, 1982.