بررسی قدرت تشخیصی آزمون روزبنگال در مقایسه با الایزا در بروسلوز حاد و مزمن

دکتر حمید باغچه سرایی[۱] ، عبدالرضا اسماعیل زاده [۲]

خلاصه

سابقه و هدف : *با توجه به شیوع بالای بروسلوز درایران و اهمیت تشخیص سریع و درمان به موقع آن، انتخاب و انجام روش آزمایشگاهی حساس، اختصاصی و در دسترس، ضروری می‌نماید. از این رو تحقیق حاضر با هدف تعیین قدرت تشخیصی روش سریع روزبنگال در مقایسه با روش انتخابی الایزا در بیماران مبتلا به بروسلوز در سال ۱۳۸۱ در شهر زنجان انجام گرفت.*

مواد و روش ها: *این تحقیق از نوع مقایسه آزمون های تشخیصی بوده و نمونه گیری از کلیه‌ی افراد مشکوک به بیماری بروسلوزیس که پس از معاینه توسط پزشک متخصص به آزمایشگاه ارجاع داده شده بودند، به صورت مستمر انجام گرفت. پس از ثبت سن و محل زندگی افراد، از همه‌ی بیماران ۵ سی سی خون جهت آزمایش‌های روزبنگال و اندازه گیری ایمونوگلبولین M و ایمونوگلبولین G اختصاصی بروسلا به روش الایزا به عنوان تست استاندارد، اخذ و تا زمان آزمایش در ۲۰ - درجه سانتی گراد فریز شد. نتایج آزمون روزبنگال با آزمون کمی الایزا از نظر حساسیت، ویژگی، ارزش پیش بینی مثبت و منفی مقایسه شد.*

یافته‌ها : *از ۱۷۶ فرد مورد مطالعه، ۹۲ نفر (۵۲/۳ درصد) مرد و۸۴ نفر (۴۷/۷ درصد) زن بودند. محدوده‌ی سنی افراد بین ۱۵ الی ۶۵ سال بود و بیشتر افراد در گروه سنی بین ۱۸ الی ۴۰ سال بودند. ۷۲/۴ درصد مراجعین را ساکنین روستایی و ۲۷/۶ درصد موارد را ساکنین شهری تشکیل می‌دادند. تشخیص بروسلوز با تست الایزا در ۷۲ نفر (۴۰/۹ درصد) قطعی شد. ولی آزمون روزبنگال در ۲۴ مورد (۳۳/۳ درصد) از بیماران مثبت شد. قدرت تشخیصی، حساسیت، ویژگی، ارزش پیش بینی مثبت و منفی آزمون روزبنگال در مقایسه با آزمون انتخابی ایمونوگلبولین M الایزا به ترتیب برابر ۱۰۰، ۹۵/۶، ۷۰/۸ و۱۰۰درصد ودر مقایسه با آزمون ایمونوگلبولین G الایزا به ترتیب برابر ۳۶/۹، ۱۰۰، ۱۰۰ و ۷۳ در صد بود.*

نتیجه‌گیری و توصیه ها : *درتشخیص بروسلوز حساسیت آزمون روزبنگال در مرحله‌ی حاد بیماری مشابه الایزا است و انجام آن در این مرحله توصیه می شود ولی در مرحله‌ی مزمن بیماری حساسیت آن پایین است. برای تشخیص بروسلوز در مرحله‌ی مزمن استفاده از یک روش معتبر مثل الایزا توصیه می‌شود.*

واژگان کلیدی : ***بروسلوز، تشخیص سرولوژیک، الایزا، روزبنگال***

مقدمه

بروسلوزیس بیماری بومی ایران است وتظاهرات بالینی متنوعی دارد. ویژگی‌های خاص بالینی، تشخیصی و درمانی این بیماری اغلب مشکلاتی در اداره‌ی بیماران برای پزشکان ایجاد می نماید. از طرف دیگر شرایط جغرافیایی کشور ما و مسئله‌ی نیاز به دامپروری وکشاورزی، کنترل این بیماری در دام را با مشکل مواجه کرده است. به نظر سیمپسون (۱) هیچ بیماری به استثنای سیفلیس وسل از نظر تظاهرات بالینی متنوع‌تر از بروسلوز نیست. سالیانه ۵۰۰ هزار بیمار مبتلا به بروسلوز در دنیا گزارش می‌شود. گمان می‌رود به ازای هر مورد ثابت شده‌ی بروسلا، ۲۶ مورد تشخیص داده نشده وجود دارد که گزارش نمی‌شوند (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 می‌باشد (۵ــ۲). شرایط جغرافیایی ایران، وابستگی غذایی به مواد لبنی غیر پاستوریزه وارتباط شغلی کارگران کشتارگاه‌ها، قصاب‌ها، دامپزشکان و پرسنل

[۱] دکترای میکروب‌شناسی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان

[۲] کارشناس ارشد ایمونولوژی، مربی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

آزمایشگاه بروسلوز را به عنوان یک بیماری شغلی مطرح می‌سازد (۱). بر اساس آمار اداره‌ی مبارزه با بیماری‌های واگیردار، سالیانه حدود ۵۰ هزار مورد بروسلوزگزارش می‌شود و در اکثر استان‌های کشور آلودگی به درجات مختلف از ۳/۵ تا ۱۰/۵ در هزار متغیر است (۱). روش‌های مختلفی جهت تشخیص، درمان وپی‌گیری درمان ابداع شده است که کشت میکروب راه اصلی و قطعی تشخیص بیماری است (٦). جدا سازی بروسلا از خون بسته به مرحله‌ی بیماری، روش کشت و نیز به علت دیر رشد بودن ونیاز به محیط استاندارد کاستاندا، از ۱۵تا ۸۰ در صد گزارش شده است. تکرار کشت خون وکشت مغز استخوان درصد موارد مثبت را افزایش می‌دهد (۸،۷). با گسترش روش‌های مولکولی مثل پی‌سی‌آر[1] به خصوص در درگیری منتشر و موارد پیچیده ومزمن بیماری که تعداد میکرو اورگانیسم کمتر است، امکان تشخیص بیشتر می‌شود (۱۰،۹). از آنجایی که روش‌های باکتریولوژیک با موارد منفی کاذب فراوان همراه است و تشخیص‌های مولکولی هنوز در همه جا قابلیت انجام ندارد و در مرحله‌ی تحقیقاتی و در آزمایشگاه‌های مرجع قابل انجام است، ساده‌ترین و ارزان‌ترین راه‌های تشخیص تب مالت، روش‌های مبتنی بر آزمون‌های سرولوژیک هستند (۱۲،۱۱). هر یک از آزمون‌های سرولوژیک رایج دارای مزایا و معایبی هستند. در این تحقیق آزمون رایج سرولوژیک روز بنگال (بر اساس آگلوتیناسیون) موجود در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی با آزمون استاندارد وانتخابی سرولوژیک الایزا (نوع واکنش‌های اولیه آنتی ژن و آنتی بادی) (۱٤،۱۳) از نظر قدرت تشخیص بیماری بر روی بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی استان زنجان در سال ۱۳۸۱ مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش ها

این مطالعه از نوع مقایسه‌ی آزمون های تشخیصی می باشد. در این تحقیق بیماران بعد از معاینه و گرفتن شرح حال توسط پزشک متخصص، در صورت مشکوک بودن به تب مالت جهت ارزیابی آزمایشگاهی به طریق سرولوژیک به آزمایشگاه ارجاع داده شدند. نمونه‌گیری به شکل مستمر انجام و از مراجعین ۵ سی‌سی خون وریدی اخذ وتا یک ساعت بعد از نمونه گیری، سرم از خون جدا شده و تا زمان انجام آزمایش در ۳ لوله‌ی مجزا برای انجام آزمایش‌های مورد نظر فریز شد. تست معیار(Gold) در این مطالعه آزمون الایزا بود. آزمون روز بنگال با استفاده از آنتی‌ژن موسسه‌ی رازی و اندازه‌گیری ایمونوگلبولین M و ایمونوگلبولین G اختصاصی بروسلا به روش الایزا با استفاده از کیت شرکت IBL هامبورگ و توسط دستگاه Elisa reader شرکت Awarnessآمریکا پس از راه اندازی و حصول اطمینان به صورت کنترل مجدد جهت افزایش صحت و دقت نتایج، انجام شد. سپس حساسیت و ویژگی وارزش پیش بینی مثبت[2] و منفی[3] آزمون روزبنگال در مقایسه با الایزا محاسبه شد. کلیه‌ی آزمایشات توسط یک نفر به صورت کور و بدون اطلاع از نتایج آزمون‌های قبلی به روش استاندارد سازمان بهداشت جهانی انجام شد.

یافته ها

از۱۷٦ فرد مورد مطالعه ۹۲ نفر (۵۲/۳ درصد) مرد و ۸٤ نفر (٤۷/۷ درصد) زن بودند. محدوده‌ی سنی افراد مورد مطالعه ۱۵ الی ٦۵ سال بوده و بیشتر آن‌ها در گروه سنی ۱۸ تا ٤۰ سال قرار داشتند. ۷۲/٤ درصد مراجعین روستایی و ۲۷/٦ درصد آن‌ها ساکن شهر بودند. از ۱۷٦ نفر ارجاعی، ۷۲ نفر (٤۰/۹ درصد) با روش استاندارد الایزا، دارای بروسلوز تشخیص داده شدند. نتایج مثبت با روش‌های روز بنگال و الایزا IgG و الایزا IgM به ترتیب ۲٤ نفر (۱۳/٦ درصد)، ٦۵ نفر (۳٦/۹ درصد) و ۱۷ نفر (۹/٦ درصد) بود. تنها ۲٤ نفر از ۷۲ نفری که دارای بروسلا تشخیص داده شدند

[1] Polymerase chain reaction

[2] Positive Predictive Value.
[3] Negative Predictive Value

جدول ١ ـ مقـــایسه‌ی آزمون سریع روزبنگال بـا توتـال الایـزا در تشخیص بیماری بروسلوز، زنجان ١٣٨١

روزبنگال	توتال الایزا		
	مثبت	منفی	جمع
مثبت	٢٤	٠	٢٤
منفی	٤٨	١٠٤	١٥٢
جمع	٧٢	١٠٤	١٧٦

١٠٠% = ارزش پیش بینی مثبت ٣٣/٣% = حساسیت
٦٨/٤% = ارزش پیش بینی منفی ١٠٠% = ویژگی

به روش روزبنگال مثبت تشخیص داده شدند (٣٣/٣ درصد)، و هیچ موردی از بیماران با الایـزای منفـی توسـط روزبنگـال مثبت نشدند (جدول ١). حســـــاسیت، ویژگی، ارزش پـیش بینی مثبت و منفی تست روزبنگـــــال در مقایسه بـا آزمـون اســـتـــاندارد توتـال الایزا به ترتیب ٣٣/٣ درصد، ١٠٠ درصد، ١٠٠درصد و٦٨/٤ درصد بود. ایمنوگلبولین G ضد بروسلا در ٦٥ نفر از افراد مورد مطالعه مثبت گـزارش شـد. حـساسیت، ویژگی، ارزش پیش بینی مثبـت و منفـی بـرای روزبنگـال در مقایسه با آزمـون IgG الایـزا بـرای تـشخیص مـوارد مـزمن بروسلوز به ترتیب ٣٦/٩، ١٠٠، ١٠٠و ٧٣ درصد بـود. از کـل ٦٥ مورد، افرادی که دارای ایمونوگلبولین G مثبـت بـه روش الایزا بودند، ٢٤ مورد توسط روزبنگـال تـشخیص داده شـدند (حساسیت ٣٦/٩ درصد). هیچ یک از موارد منفی توسط IgG الایزا، به وسیله‌ی روز بنگال مثبت نشدند (جدول ٢).

جـدول ٢ ـ مقایسـه‌ی آزمـون روز بنگـال بـا روش الایـزا بـرای انـدازه‌گیـری ایمونوگلبـولین G در تـشخیص بروسـلوز مـزمن، زنجـــان ١٣٨١

روزبنگال	IgG الایزا		
	مثبت	منفی	جمع
مثبت	٢٤	٠	٢٤
منفی	٤١	١١١	١٥٢
جمع	٦٥	١١١	١٧٦

١٠٠% = ارزش پیش بینی مثبت ٣٦/٩% = حساسیت
٧٣% = ارزش پیش بینی منفی ١٠٠% = ویژگی

بعد از اندازه گیری ایمونوگلبولین M ضـد بروسـلا بـه روش الایزا برای مشخص کردن موارد حاد بیمـاری در مجمـوع ١٧ نفر (٩/٧ درصد) از افراد مثبت شدند که تمامی آن‌ها به وسیله آزمون روزبنگال نیـز تـشخیص داده شـدند (حـساسیت ١٠٠ درصد). ضمناً ٧ نفر نیز دارای آزمون مثبت با روزبنگال بودند که توسط روش الایزا برای اندازه گیـری IgM تاییـد نـشدند (جدول ٣). حساسیت، ویژگی، ارزش پیش بینی مثبت و منفی روش روزبنگال در مقایسه با آزمون IgM الایـزا بـه ترتیـب ١٠٠، ٩٥/٦، ٧٠/٨ و ١٠٠ درصد بود.

جـدول ٣ – مقایسـه‌ی آزمـون روز بنگـال بـا روش الایـزا بـرای انـدازه‌گیـری ایمونوگلبـولین M در تـشخیص بروسـلوز حـاد، زنجـــان ١٣٨١

روزبنگال	IgM الایزا		
	مثبت	منفی	جمع
مثبت	١٧	٧	٢٤
منفی	٠	١٥٢	١٥٢
جمع	١٧	١٥٩	١٧٦

٧٠/٨% = ارزش پیش بینی مثبت ١٠٠% = حساسیت
١٠٠% = ارزش پیش بینی منفی ٩٥/٦% = ویژگی

بحث

مطابق یافته‌های این تحقیق، از بین روش‌های سرولوژیکی تشخیص بروسلوز، آزمـون توتـال الایـزا بـا ٧٢ مـورد مثبـت (٤٠/٩ درصد) در مقایسه باتست رایج تشخیصی روزبنگال بـا ٢٤ مورد مثبت (١٣/٤ درصد)، قـدرت تـشخیص بـالاتری را دارا است. آزمون رایج روزبنگال برای تـشخیص مـوارد حـاد بیماری دارای حساسیت مناسب بوده ولی در تشخیص مراحل مزمن بیماری ناتوان است.

اراج و هم‌کاران در سال ١٩٨٦ (١٤)، گـاد و هـم‌کـارانش در سال ١٩٩٨ (٢) و اراج از دانشگاه آمریکایی بیروت در ١٩٩٩ (١٣) قدرت تـشخیص بـالای الایـزا را در مقایـسه بـا سـایر آزمون های سرولوژیک نشان دادند. مطابق یافته‌هـای تحقیـق حاضر، حساسیت آزمون روزبنگال در مرحله‌ی حـاد بیمـاری

مثل IgM الایزا است وتمامی موارد مثبت با روز بنگال با الایزا IgM نیز تایید شدند (حساسیت ۱۰۰ درصد) واین یافته با نتایج مطالعات اراج و همکاران در سال ۱۹۸٦ (١٤) که حساسیت روز بنگال را در مرحله‌ی حاد بیماری ۹۸ درصد گزارش کرده اند، هم‌خوانی دارد. دکترذوقی (۱۵) حساسیت روزبنگال را نزدیک به الایزا می داند البته در تحقیق ایشان مرحله‌ی حاد یا مزمن بیماری مشخص نشده است. طبق یافته‌های تحقیق حاضر آزمون روزبنگال در مرحله‌ی مزمن بیماری دارای حساسیت۳٦/۹ درصد است. در تحقیق اراج (١٤) در مرحله‌ی مزمن بروسلوز، حساسیت روزبنگال ٦٤ درصد گزارش شده است که با نتایج تحقیق ما متفاوت است. علت این مسئله شاید به کارگیری نوع آنتی ژن مورد مصرف در آزمایش روزبنگال است، کما این که در تحقیق دابدووب و عبد الله در سال ۲۰۰۰ (١٦) به کارگیری آنتی ژن روز بنگال شرکت بیومریو فرانسه (حساسیت ۱۰۰ درصد) با به کارگیری آنتی‌ژن روزبنگال عراقی تولیدی انستیتوی تحقیقاتی بغداد (حساسیت ۹۱ درصد) تفاوت نشان می داد. از آنجا که روش کشت بروسلا دارای مشکلات فنی است و روش‌های مولکولی هنوز جایگاه خود را در تشخیص بالینی باز نکرده است، آزمون الایزا به دلیل سنجش کمی تیتر آنتی‌بادی، تعیین ایزوتیپ آنتی‌بادی وتشخیص مرحله‌ی حاد ومزمن بیماری، حساسیت و ویژگی بالا نسبت به آزمون معمول روزبنگال در مرحله‌ی مزمن بیماری ترجیح داده می‌شود و انجام آن در مراکز تشخیصی و درمانی برای تشخیص و تعیین مرحله‌ی بیماری وپی‌گیری موفقیت درمان به عنوان آزمون انتخابی توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی و شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان، جناب آقای دکتر نورالدین موسوی نسب مشاور آمار، جناب آقای مصطفی شفقتیان کارشناس آزمایشگاه و جناب آقای دکترحمید رضا امیرمقدم به خاطر هم‌کاری در انجام تحقیق تقدیر و تشکر می شود .

منابع

۱ـ حاجی عبد الباقی محبوبه، رسولی نژاد مهرناز، یعقوب زاده محمد رضا، لوطی شاهرخ بهرام. بررسی اپیدمیولوژیکی، بالینی، تشخیصی و درمانی ۵۰۵ بیمار مبتلا به بروسلوزیس. ***مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران*** ۱۳۸۰؛ سال ۵۹، شماره ٤: صفحات ٤٦ـ۳٤.

2 – Gad MO, Rad EL, Kambel AM. Evaluation of brucella enzyme immunoassay test (Elisa) in comparison with bacteriological culture and agglutination. ***J Infec*** 1998; 36:197-201.

3 – Hall WH. Modern chemotherapy for Brucellosis in human. ***Rev of Infec Dis*** 1995; 12(6): 87-9.

4 - Sadler WW. Present evidence on the role of meta in the epidemiology of human brucellosis. ***Am J Public Health*** 1960; 50: 540-4.

5 - Hall WH. ***Brucellosis.*** In: Evans AS, feldman HA. ***Bacterial Infection of Human Epidemiology and Control.*** New York: Plenum; 1982:156-9.

6 - 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.

7 - Gotuzzo E, Carrillo C, Guerray L. An evaluation of diagnostic methods for Brucellosis: the value of bone marrow culture. ***J Infect Dis*** 1986;153:122-5.

8 - Yaqupsky P, peled N, press J, Abramson O, Abu-Rashid M. Comparison of Bactec 9240 peds

plus medium and isolator on 1.5 microbial tube for detection of Brucella Melitensis from blood culture. ***J Clin Microbiol*** 1997; 35 (6): 1382-4.

9 - Matar FM, Khreissir IA, Abdonnor AM. Rapid laboratory of a target sequence on the 31 kilodalton Brucella antigen DNA. ***J Clin Microbiol*** 1996; 34 : 477-8.

10 – Navarro E. PCR assay for diagnosis of human Brucellosis. ***J Clin Microbiol*** 1999; 35(5): 1654-5.

11 - Jawetz E ,Melnick JL, Adelberg EA. ***Med Microbiol.*** London: Appelton & Lange; 1991: 244-7.

۱۲ ـ ادیب‌فر پرویز. ***میکروب‌شناسی پزشکی.*** تهران: چاپ بهمن، ١٣٦٨، صفحات: ٤١ـ٦٣٩.

13- Araj GF. Human Brucellosis : a classical infectious disease with persistent diagnostic challenges. ***Clin Lab Sci*** 1999; 12(4): 207-12.

14 – Araj GF, Lulu AR, Mustafa MY, khateeb MI. Evaluation of ELISA in the diagnosis of acute and chronic Brucellosis in human beings. ***J Hyg*** 1986; 97(3):457-69.

۱۵ـ ذوقی اسماعیل. روش‌های آزمایشگاهی استاندارد در تشخیص بروسلوز انسان. ***مجله علمی گشتک*** ١٣٧٤؛ سال ۳، شماره ۲: صفحات ۷ـ۳.

16 – Dabdoob WA, Abdullah ZA. A panel of eight tests in the serodiagnosis and immunological evaluation of acute Brucellosis. ***Eastern Meditarranean Health Journal*** 2000; 6(2-3): 304-12.