

ارزیابی روش ایمنوفلورسانسی غیرمستقیم (IFA) در تشخیص

بیماری بروسلاز در مقایسه با سایر روش های سرولوژی

ماریا قسمتی*

*کارشناس ارشد میکروبیولوژی عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی - واحد لاهیجان

چکیده

مقدمه: جنس بروسلا شامل ۶ گونه می باشد که از میان آنها تنها چهار گونه در انسان بیماری زا است: بروسلا آبورنوس، بروسلا ملی تنیس، بروسلا سوئیس و بروسلا کانیس.

بروسلاها باکتری های کوچک غیرمتحرک، گرم منفی، بدون کپسول و به فرم کوکوباسیل می باشند و این باکتری انگل داخل سلولی سیستم ریکولوآندوتلیال است و عفونت ناشی از بروسلا انتشار جهانی دارد.

اهداف: در این بررسی نتایج تست های سرولوژیک بدست آمده از ۵۰۰ نمونه مشکوک به بیماری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها: روش های مختلف آزمایش شامل: رزینگال، رایت سریع، رایت لوله ای، کومیس رایت، 2ME و IFA می باشند که نتایج حاصل از آزمایشات فوق به ترتیب زیر مورد مقایسه قرار گرفته اند.

نتایج: تیتراژ آنتی بادی ضدبروسلایی در آزمایش رزینگال ۲۴/۴٪، رایت سریع ۲۲/۲٪، رایت لوله ای ۲۱/۲٪، کومیس رایت ۲۳/۸٪ و ایمنوفلورسانس غیرمستقیم ۲۱/۴٪ بود.

میانگین هندسی (GMRT) تیتراژ آنتی بادی ضدبروسلایی نیز به ترتیب زیر بود: رایت لوله ای ۲۸۴/۵، کومیس رایت ۲۹۴/۴ و IFA ۳۲۶/۳. توزیع فراوانی نسبی تیتراژ آنتی بادی ضدبروسلایی براساس سن و جنس، مشخص می کرد که درصد آلودگی مردان با ۳۸/۳٪ بیشتر از زنان (۱۵/۶٪) بود و بیشترین موارد مثبت مربوط به گروه های سنی کمتر از ۲۰ سال و کمترین به گروه های سنی بیش از ۴۶ سال تعلق داشت.

توزیع فراوانی نسبی آنتی بادی ضدبروسلایی براساس فصل نیز نشان می داد که در فصول مختلف درصد موارد آلودگی دارای اختلاف معنی داری نبود.

ویژگی تست IFA بیشتر از آزمایش رایت لوله ای نشان داده شده است (۹۸٪) و حساسیت تست IFA بیشتر از آزمایش 2ME مشخص گردید (۱۰۰٪).

نتیجه گیری: بطور کلی، بکارگیری تست IFA در مورد مبتلایان به بروسلاز دارای موارد مثبت کاذب و منفی کاذب کمتری می باشد.

کلید واژه ها: بروسلا

مقدمه

گرفت و در سال ۱۳۲۳ از گاوداری های اطراف تهران جدا گردید گرچه در قرن اخیر تحولات بزرگی در رابطه با مبارزه با این بیماری صورت گرفته است اما بسیاری از مشکلات هنوز لاینحل مانده است (۵ و ۲۱).

تشخیص این بیماری در آزمایشگاه توسط تست های باکتریولوژی و سرولوژی و همچنین بررسی آنتی

بروسلاز، یکی از بیماری های مشترک بین انسان و حیوانات، بخصوص حیوانات اهلی می باشد. نام بیماری براساس افرادی که بروسلا را کشف نموده اند، محل شیوع بیماری و حالات بالینی انتخاب گردیده است (۱۲ و ۲۳).

در ایران وجود این بیماری در سال های ۱۳۱۰ و ۱۳۱۱ به وسیله انیستیتو پاستور مورد تأیید قرار

بطور کلی با توجه به اینکه گاهی بیماری با علائم متغیر تظاهر می نماید (۲۳) و باعث گمراهی می گردد لازم دانسته که وضعیت این بیماری را در شهرستان رشت مورد بررسی قرار داده و با انجام آزمایش های سرولوژیک و ایمنوفلورسانس غیرمستقیم، میزان ویژگی و حساسیت تست های فوق را با یکدیگر مقایسه کرده و مشخص گردد که آیا بکارگیری تست (IFA) در مورد مبتلایان به بروسلوز موارد منفی کاذب و مثبت کاذب را کاهش می دهد یا خیر؟

مواد و روش ها:

نمونه هایی که در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفته است، سرم افراد مشکوک به بروسلوزیس بوده که به درخواست پزشک معالج جهت انجام آزمایش ها به آزمایشگاههای تشخیص طبی مراجعه نموده اند افراد معرفی شده ضمن پرکردن پرسشنامه تنظیمی تحت نمونه برداری قرار گرفتند و تعداد نمونه های جمع آوری شده ۵۰۰ مورد بوده است که جهت انجام آزمایشات بطور همزمان در ۲۰ درجه نگهداری می شدند و سپس مورد آزمایش های رزبنگال، رایت سریع، رایت لوله ای، ۲مرکاپتواتانل، کومبس رایت و (IFA) قرار گرفتند لازم به ذکر است که آزمایش های فوق با روش استاندارد و با استفاده از آنتی ژن های استاندارد مورد توصیه سازمان جهانی بهداشت انجام گردید (۶ و ۱۱).

نتایج

با توجه به جدول شماره یک معلوم می شود که از کل ۵۰۰ نمونه ی مورد بررسی به لحاظ آنتی بادی ضد بروسلاهی در شهرستان رشت، بیشترین درصد موارد مثبت به آزمون رزبنگال اختصاص یافته با ۲۴/۴ درصد و کمترین به رایت لوله ای با ۲۱/۲

ژن های باکتری صورت می گیرد (۱۰، ۱۱، ۱۲ و ۱۶). ساختار آنتی ژنیک این باکتری شامل آنتی ژن های سطحی (M 6 A و گروه های پروتئینی)، آنتی ژن های درونی می باشد که برخی از آنها تحت عنوان آنتی ژن های تشخیصی در آزمایش های سرولوژیک مانند رزبنگال، رایت، ثبوت عناصر مکمل، ۲ مرکاپتواتانل، کومبس رایت و ایمنوفلورسانس مبنای تشخیص می باشند و آنتی ژن A2 که از آنتی ژن های درونی می باشد، جهت روش های تشخیصی پرسی پیتاسیون، ایمنودیفیوژن، ایمنوالکتروفورز رادیوایمنواسی، الیزا و وسترن بلات مورد استفاده قرار می گیرد (۱۲، ۱۳، ۱۴ و ۲۲).

حیواناتی شامل بز، گاو، گوسفند، خوک و سگ های خانگی جزء مخازن اصلی بروسلا بوده و البته در اسب، قاطر، گاو میش، گوزن، خرگوش، موش و حتی کهنه، ساس و کک نیز یافت می شوند (۱، ۴ و ۱۹).

راه های ورود این باکتری در انسان بالغ از طریق: دستگاه گوارش، دستگاه تنفس، خراش های پوستی، بافت ملتحمة چشم، مقاربت (نادر) و از طریق انتقال خون می باشد.

شیوع این بیماری می تواند تحت تاثیر عوامل؛ فصل، سن، جنس، شغل، عوامل فیزیکی و شیمیایی باشد (۲۰ و ۲۳).

عوارض بروسلوز شامل عوارض مفصلی، استخوانی، ادراری تناسلی، قلبی و عروقی، هماتولوژیک، ریوی، طحالی، کبدی، گوارشی، عصبی، چشمی، پوستی و افسردگی می باشد (۲، ۱۲، ۲۰ و ۲۳).

برای پیشگیری از بروسلوز انسانی، بهترین و مؤثرترین شیوه، ریشه کنی و نابودی بروسلوز حیوانی است که از طریق واکسیناسیون صورت می گیرد (۱۰، ۲۰ و ۲۳).

به کمک آزمون نسبت در هر دو روش با $P < 0/05$ اختلاف معنی دار به لحاظ موارد مزمن و حاد وجود دارد. بطوریکه درصد موارد مزمن از موارد حاد بیشتر است. از طرفی در مقایسه با دو روش برحسب وضعیت مزمن و حاد بودن بیماری نیز معلوم گردید که بین IFA و 2MF اختلاف معنی دار مشاهده نگردید. یعنی علی رغم اینکه تعداد موارد مزمن بیماری در بررسی با IFA بیشتر از 2MF است، اما در مقایسه آماری یکسان می باشد.

با توجه به جدول شماره ۴ معلوم می شود که ۳۶ درصد مراجعین را مردان و بقیه یعنی ۶۴ درصد را زنان شامل شده اند. از این میان ۳۸/۳ درصد مردان مثبت و ۱۵/۶ درصد زنان به لحاظ آزمون راییت لوله و کومبس راییت، مثبت شده اند و به لحاظ آماری آزمون Z معلوم گردید که با $P < 0/05$ و $Z = 5/72$ اختلاف معنی دار در مورد آنتی بادی در زنان و مردان مشاهده گردید. به این مفهوم علی رغم افزایش تعداد مراجعین زن نسبت به مردان، موارد مثبت آنتی بادی کمتر از گروه مردان شده است و از طرف دیگر در گروه های سنی مختلف نیز روند فوق ادامه داشته؛ یعنی درصد آلودگی در مردان علی رغم مراجعات کمتر در گروه های سنی مختلف بیشتر از زنان می باشد که برعکس مراجعاتشان که بیشترین درصد موارد مثبت به گروه های سنی پائین تر در هر دو جنس اختصاص یافته است. به عبارت دیگر بیشترین موارد مثبت مربوط به گروه سنی کمتر از ۲۰ سال و کمترین به گروه های سنی بیش از ۶۶ سال تعلق یافته است.

جدول شماره ۵، توزیع آلودگی را بر حسب جنس و فصول مختلف نشان می دهد. بطوریکه درصد موارد آلودگی در فصول پائیز و زمستان بیشتر از بهار و تابستان می باشد، اما به لحاظ آماری با

درصد بوده است بطور کلی درصدهای موارد مثبت با کلیه روشهای سرولوژیک مورد نظر در محدوده فوق الذکر قرار گرفته اند و این نشان دهنده شیوع نقطه ای بالای موارد آنتی بادی مثبت بروسلائی در منطقه می باشد که به لحاظ آماری با ۹۵ درصد اطمینان و اختلاف معنی دار در درصد موارد مثبت با روش های فوق دریافت نمی گردد.

با توجه به اینکه آزمایشات سریع موارد کاذب بیشتری نسبت به آزمایشات راییت لوله ای و کومبس راییت و IFA دارند، از طرفی آزمایشات راییت لوله ای و راییت سریع به عنوان آزمایشات روتین تشخیص در آزمایشگاههای تشخیص طبی مورد استفاده قرار می گیرد. ما نیز در این بررسی و در ادامه تفسیر نتایج موارد مثبت آزمون کومبس راییت را ملاک نظر قرار داده و آن را با آزمون

IFA که قبلاً نیز اشاره گردید، مورد مقایسه قرار داده ایم از اینرو همانطور که در جدول شماره ۲ آمده است، به تفکیک عیارهای راییت لوله ای، کومبس راییت و IFA آمده است، به نحوی که میانگین هندسی (GMRT) عیارهای فوق به ترتیب عبارتند از: ۲۸۴/۵، ۱، ۲۹۴/۳، ۱، ۳۲۶/۳. که به لحاظ آماری به کمک آنالیز واریانس یک طرفه با $p < 0/05$ و $F = 2/329$ ، میانگین های فوق معنی دار می باشد. یعنی بیشترین میانگین هندسی عیارهای مثبت متعلق به روش IFA و سپس کومبس راییت و کمترین به راییت لوله ای اختصاص یافته است.

با توجه به جدول شماره ۳، از میان کسانی که به لحاظ آزمون کومبس راییت مثبت شده بودند (۱۱۹ مورد مثبت) آزمون های اختصاصی 2MF و IFA با آنتی بادی منوالان صورت گرفت تا وضعیت حاد و مزمن بودن بیماری مشخص شود. از اینرو

اختلاف معنی دار دیده نمی شود، یا به $P < 0/05$ عبارت دیگر توزیع آلودگی در فصول سال یکسان است. از طرفی دیگر توزیع آلودگی کماکان در فصول مختلف در مردان بیشتر از زنان می باشد.

جدول شماره ۱: نتیجه آزمایشات مختلف سرولوژیک در تشخیص بروسلا در افراد مورد مطالعه بر حسب وضعیت بیماری

وضعیت بیماری		موارد مثبت		موارد منفی		جمع	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
رزینگال	۱۲۲	۲۴/۴	۳۷۸	۷۵/۶	۵۰۰	۱۰۰	
رایت سریع	۱۱۱	۲۲/۲	۳۸۹	۷۷/۸	۵۰۰	۱۰۰	
رایت لوله ای	۱۰۶	۲۱/۲	۳۹۴	۷۸/۸	۵۰۰	۱۰۰	
رایت لوله ای کومیس رایت	۱۱۹	۲۳/۸	۳۸۱	۷۶/۲	۵۰۰	۱۰۰	
IFA پلی والانت	۱۰۷	۲۱/۴	۳۹۳	۷۸/۶	۵۰۰	۱۰۰	

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی مطلق و نسبی عبارهای آنتی بادی ضدبروسلایی در مراجعین به آزمایشگاههای شهرستان رشت بر حسب روش های مختلف

وضعیت بیماری	۸۰:۱		۱:۱۶۰		۱:۳۲۰		۱:۶۴۰		۱:۱۳۸۰		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
رایت لوله ای	۲۱	۱۹/۸	۲۶	۲۴/۵	۲۴	۲۲/۶	۲۰	۱۸/۹	۱۵	۱۴/۲	۱۰۶	۱۰۰
کومیس رایت	۱۸	۱۵/۱۳	۲۳	۱۹/۳	۳۷	۳۲/۷	۲۴	۲۰/۱۷	۳۷	۲۲/۷	۱۱۹	۱۰۰
IFA پلی والانت	۱۹	۱۷/۸	۲۰	۱۸/۷	۲۴	۲۲/۴	۳۷	۳۵/۳	۱۷	۱۵/۹	۱۰۷	۱۰۰

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی مطلق عبارهای آنتی بادی ضدبروسلایی در مراجعین به آزمایشگاه های شهرستان رشت در بیماران با آزمون رایت لوله ای و کومیس رایت مثبت بر حسب حالت بیماری

وضعیت بیماری	مزمن		حاد		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
2ME	۸۹	۷۴/۸	۳۰	۲۵/۲	۱۱۹	۱۰۰
IFA منوالانت	۹۲	۷۷/۳	۲۷	۲۲/۷	۱۱۹	۱۰۰

جدول شماره ۴: توزیع فراوانی مطلق و نسبی عبارهای آنتی بادی ضدبروسلایی در مراجعین به آزمایشگاههای شهرستان رشت بر حسب و گروههای سنی مختلف

گروههای سنی (سال)	مرد												جمع					
	موارد مثبت				موارد منفی				جمع									
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد						
< ۲۰	۲۴	۷۵	۸	۲۵	۳۳	۱۰۰	۱۹	۳۲/۷	۳۹	۶۷/۳	۵۸	۱۰۰	۲۴	۹۰	۵۲/۲	۴۷	۴۷/۸	۴۳
۲۱-۳۵	۲۱	۵۲/۵	۱۹	۴۷/۵	۴۰	۱۰۰	۱۴	۲۰	۵۶	۸۰	۷۰	۱۰۰	۲۱	۱۱۰	۶۸/۲	۷۵	۳۱/۸	۳۵
۳۶-۴۵	۱۱	۲۳/۴	۳۶	۷۶/۶	۴۷	۱۰۰	۸	۹/۶	۷۵	۹۰/۴	۸۳	۱۰۰	۱۱	۱۳۰	۸۵/۴	۱۱۱	۱۴/۶	۱۹
> ۴۶	۱۳	۲۱/۳	۴۸	۷۸/۷	۶۱	۱۰۰	۹	۸/۳	۱۰۰	۹۱/۷	۱۰۹	۱۰۰	۱۳	۱۷۰	۸۷/۱	۱۴۸	۱۳/۹	۲۲
جمع	۶۹	۳۸۳	۱۱۱	۶۱/۷	۱۸۰	۱۰۰	۵۰	۱۵/۶	۲۷۰	۸۴/۴	۳۲۰	۱۰۰	۶۹	۵۰۰	۷۶/۲	۳۸۱	۲۳/۸	۱۱۹

جدول شماره ۵: توزیع فراوانی مطلق و نسبی عبارهای آنتی بادی ضدبروسلایی در مراجعین به آزمایشگاههای شهرستان رشت

برحسب فصول

جنس گروههای سنی(سال)	مرد			زن			کل												
	موارد مثبت		جمع	موارد مثبت		جمع	موارد مثبت		جمع										
	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد											
بهار	۲۰	۳۷/۰۴	۳۴	۶۲/۹۶	۵۴	۱۰۰	۱۵	۱۵/۶۳	۸۱	۸۴/۳۷	۹۶	۱۰۰	۱۱۵	۲۳/۳	۳۵	۱۰۰	۱۵۰	۷۶/۷	۱۰۰
تابستان	۲۰	۴۰	۳۰	۶۰	۵۰	۱۰۰	۱۳	۱۴/۴	۷۷	۸۵/۶	۹۰	۱۰۰	۳۳	۲۳/۶	۳۳	۱۰۰	۱۴۰	۷۶/۴	۱۰۰
پاییز	۱۷	۳۹/۵	۲۶	۶۰/۵	۴۳	۱۰۰	۱۲	۱۵/۶	۶۵	۸۴/۴	۷۷	۱۰۰	۲۹	۲۴/۱۷	۲۹	۱۰۰	۱۳۰	۷۵/۸۳	۱۰۰
زمستان	۱۲	۳۶/۴	۲۱	۶۳/۶	۳۳	۱۰۰	۱۰	۱۷/۵	۴۷	۸۲/۵	۵۷	۱۰۰	۲۲	۲۴/۴	۲۲	۱۰۰	۹۰	۷۵/۶	۱۰۰
جمع	۶۹	۳۸/۳	۱۱۱	۶۱/۲	۱۸۰	۱۰۰	۵۰	۱۵/۶	۲۷۰	۸۴/۴	۳۲۰	۱۰۰	۱۱۹	۲۳/۸	۳۸۱	۱۰۰	۵۰۰	۷۶/۲	۱۰۰

با توجه به آمار فوق، از نظر تعیین ویژگی و حساسیت تست IFA نسبت به رایت لوله ای با توجه به فرمول زیر مشخص می گردد.

$$\text{مثبت حقیقی (TP)} = 99 \text{ و منفی حقیقی (F.P)} = 386$$

$$\text{مثبت کاذب (F.P)} = 8 \text{ و منفی کاذب (F.N)} = 7$$

$$93/4 = 100 \times TP/TP+FN = \text{حساسیت}$$

$$98 = 100 \times TN/TN+FP = \text{ویژگی}$$

جدول شماره ۶: مقایسه تست سرولوژیک رایت لوله ای

و ایمنوفلورسانس غیرمستقیم (IFA) پلی والانت

رایت لوله ای		IFA پلی والانت
+	-	
۹۹	۸	+
۷	۳۸۶	-

جدول شماره ۷: مقایسه تست سرولوژیک 2ME و IFA

منووالانت جهت تفکیک موارد حاد از مزمن

2ME IFA منووالانت		مزمن
حاد	مزمن	
۳	۸۹	مزمن
۲۷	۰	حاد

با توجه به جدول شماره ۶ به منظور مقایسه روشهای سرولوژیک رایت لوله ای و IFA و اعتبار روشهای فوق را مورد بررسی قرار داده ایم. در نتیجه معلوم گردید که با استفاده از روابط آماری حساسیت آزمایش IFA در مقایسه با روش لوله ای ۹۳/۴ درصد و ویژگی آن ۹۸ درصد می باشد. به این مفهوم که در رابطه با حساسیت نسبت ارتباط تعداد موارد مثبت روش لوله ای که بطور صحیح بوسیله روش IFA تشخیص داده شده اند، به تعداد کل موارد مثبت لوله ای نشان می دهد یا می توان ابراز نمود که روش IFA نسبت به روش لوله ای اختصاصی تر می باشد.

جدول شماره ۷، نیز مقایسه تست سرولوژیک 2ME و IFA را نشان می دهد، به این مفهوم که حساسیت آزمایش IFA در مقایسه با 2ME صد در صد و ویژگی آن ۱۰۰ درصد می باشد. به عبارت دیگر حساسیت آزمایش IFA در مقایسه با 2ME در ارتباط با تشخیص موارد حاد بیماری صد درصد می باشد و ویژگی آزمایش IFA در مقایسه با 2ME در ارتباط با تشخیص موارد مزمن بیماری ۹۰ درصد می باشد.

بحث و نتیجه گیری

شهرستان رشت در شمال کشور واقع شده است و دارای آب و هوای معتدل و بافت اجتماعی، صنعتی و کشاورزی می باشد. از ۵۰۰ نمونه افراد دارای علائم بالینی مشکوک به بروسلوزیس بطور متوسط ۲۲ درصد از نظر عیار آنتی بادی ضد بروسلائی مثبت بودند. با توجه به ارقام فوق نتیجه می گیریم که بروسلوزیس از بیماری های مطرح و قابل تعمق در شهرستان می باشد.

اگرچه دامداری در این استان بیشتر از طریق صنعتی است و فرم سنتی آن کمتر رواج دارد. کمبود مواد لبنی پاستوریزه از یک طرف و علاقمندی مردم به مصرف لبنیات محلی از طرف دیگر و عدم رعایت موازین بهداشتی در تولید مواد غذایی، می تواند از عوامل مهم در گسترش این بیماری در منطقه باشد طی بررسی هایی که توسط همکاران در ایران و در مناطق اصفهان و چهار محال و بختیاری و سمنان و جنوب خراسان و کرمانشاه و سایر مناطق که از دامداری به طریق سنتی برخوردار بوده و فعالیت عشایر و دامپروری کوچ نشین تامین کننده بخش عمده موارد گوشتی و لبنی می باشد، صورت گرفته است، تفاوت عمده ای بین وفور بیماری در زنان و مردان به چشم نمی خورد (۳، ۴، ۷ و ۸).

این امر می تواند دخیل بودن زنان بخصوص در مناطق عشایری در ذیح و جمع آوری امعاء و احشاء و گوشت دام و نقش زنان در شیردوشی به مراتب بیشتر از مردان است. در حالیکه طی بررسی انجام شده در این شهرستان، موید این نکته می باشد که تعداد مراجعه کنندگان زن به آزمایشگاه از نظر داشتن علائم بالینی مشکوک به بروسلا نسبت به مردان ۴۴/۳۶ نفر می باشد در حالی که نسبت بیماری در مردان بیشتر و برابر ۱/۶

۱۵ درصد است. علت این امر را می توان مربوط به توجه بیشتر زنان به موازین بهداشتی و ارتباط بیشتر مردان با دام و مواد آلوده داشت و مشارکت نداشتن زنان در امر فوق نشان می دهد.

از نظر بررسی گروه های سنی مختلف؛ بیشترین درصد موارد مثبت به گروه های سنی پایین در هر جنس اختصاص یافته است و کمترین آن به گروه های سنی بیشتر از ۴۶ سال تعلق داشته و احتمالاً علت آن مواجهه و برخورد بیشتر با عامل بیماری در سنین نوجوانی و فعال به لحاظ اقتصادی می باشد و در این خصوص روند ثابتی را نمی توان ارائه نمود (جدول شماره ۴).

طبق جدول شماره ۵، محدوده مبتلایان در فصول مختلف سنین ۲۳/۳ الی ۲۴/۴ درصد بوده و اختلاف معنی دار از نظر فصل مشاهده نمی شود. اگرچه درصد میزان ابتلا در فصل پاییز و زمستان کمی بیشتر از سایر فصول می باشد و شاید بتوان طولانی بودن دوره سیر بیماری و مزمن بودن اکثر مراجعه کنندگان در این امر دخیل دانست (جدول شماره ۳)

جداول شماره ۱ و ۲ روشهای سرولوژیک را با آزمایش IFA مورد مقایسه قرار داده است. آزمایش های رزبنگال و رایت سریع به نسبت رایت لوله ای از تعداد موارد مثبت بیشتری برخوردار می باشند و نشان دهنده این موضوع است که دو آزمایش فوق می توانند به عنوان آزمایشات ابتدایی جهت غربالگری موارد بیماری مورد استفاده قرار گیرد، اما مثبت بودن تست های فوق نشانه بیماری نبوده و دارای موارد مثبت کاذب می باشد و آزمایش رایت لوله ای یکی از آزمایشات روتین بارزشی جهت تشخیص بیماری بوده و لیکن همانطور که قبلا اشاره شد، دارای موارد مثبت و منفی کاذب می باشد و به جهت از

می‌شود. در مقایسه روش 2ME و ایمونوفلورسانس تعداد موارد مزمن گزارش شده در تست IFA (۷۷/۳) درصد نسبت به 2ME (۷۴/۸) درصد بیشتر می‌باشد (جدول شماره ۳) و از طرفی ۳ مورد F.P مزمن در تست IFA گزارش شده که توسط آزمایشات 2ME حاد عنوان گردیده است و ۲۷ مورد TN در هر دو آزمایش حاد و ۸۹ مورد (T.P) در هر دو قسمت مزمن و هیچ مورد مزمنی در 2ME مشاهده نشده که با تست IFA حاد گزارش شده باشد (F.N) (جدول شماره ۷). با استفاده از فرمول حساسیت و ویژگی مشخص شده است که حساسیت آزمایشی IFA در مقایسه با 2ME در ارتباط با تشخیص موارد مزمن صددرصد و ویژگی آن ۹۰ درصد است. در نتیجه در روش IFA نسبت به 2ME از حساسیت بالاتری برخوردار است که براساس آزمایشاتی که توسط سایر همکاران صورت گرفته است به نتایج مشابهی دست یافته اند (۶).

بطور کلی: تست رایت سریع و رزبنگال می‌تواند به عنوان آزمایشات ابتدائی در جهت غربالگری موارد بیماری مورد استفاده قرار گیرند و لیکن به علت گزارش موارد کاذب نمی‌توان به آنها اکتفا کرد (۱۵، ۱۷ و ۱۸). آزمایش رایت لوله ای یکی از تست های باارزشی جهت تشخیص بیماری بوده و لیکن دارای موارد مثبت و منفی کاذب می‌باشد که البته موارد منفی کاذب با تست تکمیلی کومبس رایت برطرف شده و لیکن موارد مثبت کاذب به قوه خود باقی است و در تست IFA به علت استفاده از PBS که محیط ایزوتونیک است، آنتی ژن به راحتی به آنتی بادی متصل می‌شود و منفی کاذب ایجاد نمی‌کند و نیاز به آزمایش مضاعف کومبس رایت نیست و پاسخ واقعی حاصل می‌گردد. از نظر مقایسه آزمایشی

بین بردن احتمال نتیجه منفی کاذب تست کومبس رایت به صورت تکمیلی انجام شده و نهایتاً موارد مثبت کومبس رایت به عنوان نتیجه مثبت موارد مزمن اعلام می‌گردد. البته موارد مثبت کاذب همچنان به قوت خود باقی مانده و با توجه به جدول شماره یک از ۱۱۹ مورد کومبس رایت مثبت، ۱۰۷ مورد توسط آزمایش IFA مورد تأیید قرار گرفته است و در مقایسه تست رایت لوله با آزمایش IFA (جدول شماره ۶) ۹۹ مورد مثبت آزمایش لوله ای توسط آزمایش IFA تأیید شده است، و هشت مورد در آزمایش IFA مثبت بود که در آزمایش رایت لوله ای منفی و هفت مورد در تست IFA منفی که با آزمایش رایت لوله ای مثبت گزارش شده است. علی‌رغم نزدیک بودن موارد مثبت آزمایش رایت لوله ای و IFA (جدول شماره ۲) میانگین عیار روش IFA در حد بالاتر (۳۲۶/۳: ۱) از روش رایت لوله ای (۲۸۴/۵: ۱) می‌باشد و از طرف دیگر در آزمایش کومبس رایت موارد مثبت بیماری از نظر تعداد بیشتر از (۱۱۹ مورد) IFA (۱۰۷ مورد) می‌باشد، در حالیکه میانگین هندسی عیار در این آزمایش (۲۹۴/۴: ۱) است.

با توجه به آمار ارائه شده از نظر تعیین ویژگی و حساسیت تست IFA مشخص گردید که روش ایمونوفلورسانس نسبت به رایت لوله‌ای اختصاصی‌تر بوده و از ویژگی بالاتری برخوردار است (۹۸٪). و با توجه به اینکه با بالا رفتن ویژگی میزان مثبت کاذب کاهش می‌یابد، بنابراین تست IFA از موارد مثبت کاذب کمتری نسبت به آزمایش های آگلوتیناسیون برخوردار است.

جدول شماره ۳ و ۷ نشان دهنده موارد حاد و مزمن بیماری می‌باشد و جهت مشخص شدن میزان IgG (تعیین موارد مزمن) از آزمایش 2ME استفاده می‌شود. در مقایسه روش 2ME استفاده

مزیت دیگر تست IFA سرعت عمل آن می باشد. بنابر مطالب یاد شده تست IFA بر تست های آگلوتیناسیون ارجحیت دارد.

IFA با 2ME از حساسیت بالاتری برخوردار است یا در واقع در تست 2ME حساسیت به اندازه IFA برای ردیابی آنتی کر IgG وجود ندارد.

منابع

۷- صباغیان، حسین: بررسی اپیدمیولوژی بروسلوز در قم. بهداشت ایران، ۱۳۵۲. سال دوم، شماره دوم، صص: ۱۱۱-۱۰۳.

۱- آسمار، مهدی؛ تلماده ای، زکیه: بررسی میزان آلودگی کنه های آرگازیده به بروسلا در استان مرکزی. مجموعه مقالات ارائه شده در اولین کنگره سراسری بروسلوز در ایران، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، ۱۳۷۱، صص: ۱۰۳-۹۹.

۸- صباغیان، حسین؛ غیاث الدین، حسین؛ ابوالحسنی، محمود: انتشار جغرافیایی و برخی از خصوصیات اپیدمیولوژی بروسلوز در روستاهای اطراف اصفهان. محله بهداشت ایران، زمستان ۱۳۵۱، سال اول شماره ۳، صص: ۲۴۹-۲۳۹.

۲- اعتمادی، مهدی؛ پناهی، محمود؛ اشرفی، حمید: تظاهرات عصبی تب مالت. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه مشهد، ۱۳۶۲، سال بیست و ششم شماره ۷ و ۸، صص: ۵۱-۴۷.

۹- فیض، جواد: بیماری بروسلوز. مجموعه کنفرانس های کنگره بیماری های عفونی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، ۱۳۶۲، صص: ۲۱۲-۲۰۳.

۳- اورنگ احمد، جلال؛ سیدی رشتی، محمد: بررسی پراکندگی و میزان آلودگی بروسلوز انسانی در چند شهرستان استان خراسان. مجله طب عمومی، سال هشتم، صص: ۲۳-۱۹.

۱۰- ذوقی، اسماعیل: تشخیص، درمان و پیشگیری بروسلوز. تهران: دانش پژوه، ۱۳۶۵، صص: ۵۰-۱۱.

۴- تاج بخش، حسن؛ همت زاده، فرید: بررسی سرمی عفونت بروسلوز در انسان و حیوانات در استان چهارمحال و بختیاری. مجموعه مقالات ارائه شده در اولین کنگره سراسری بروسلوز در ایران، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، سال ۱۳۷۱، صص: ۴۶-۳۹.

۱۱- عبادی، عبدالله؛ ذوقی، اسماعیل: روشهای آزمایشگاهی استاندارد برای تشخیص بروسلوز و سویه های بروسلائی. تهران: سازمان دامپزشکی کشور، ۱۳۶۱.

۵- حاتمی، حسین: اپیدمیولوژی بروسلوز. مجموعه مقالات ارائه شده در اولین کنگره سراسری بروسلوز در ایران، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، سال ۱۳۷۱، صص: ۲۵-۹.

۱۲- هاریسون، تنلی رادلف؛ [و دیگران]: اصول طب داخلی هاریسون: بیماری های عفونی باکتریها. ترجمه فریدون ملک زاده. تهران: چهر، ۱۳۶۶، صص: ۵۹۶-۵۸۹.

۶- رفیعی، شهناز: ایمنوفلورسانس وسیله ای برای تشخیص مرحله فعال بیماری بروسلوز. مجله دانشکده پزشکی تهران، ۱۳۶۸، بهمن و اسفند، صص: ۳۶-۳۲.

13. Cloeckaert A, kerkhofs p, Limet JN. Antibody Response to Brucella outer Membrane Proteins in Bovin Brucellosis. J Clin microbiol Dec 1992; 95: 3168 – 3174.

14. Cloeckaert A, Zygmunt Ms, Nicoll jc Dabray G, limet JN. O – chain Expression. J Gen microbiol jun 1992: 138 – 1209 – 1211.

15. Cooper cw. Prevalence of antibody to brucella in asymptomatic well individuals in saudi Arabic. J Trop Med Hyg 1992: 95: 140 - 142.
16. Corbel M. J. Identification of dye sensitive strains of brucella mellitensis. J clin microbiol 1991: 29 (5): 1066 – 1068.
17. Fox MD, Kaufman AF. Brucellosis in the united states. J infect Dis 1977: 136: 820 – 824.
18. Kiel F.W, khan My. Analysis of 506 consecutive positive serologic tests for brucellosis in saudi Arabia. J clin Microbiol 1987: 25: 1384 – 1387.
19. Rowen JL, England j. Brucellasis persennnting with cough. The pediatric infection diseae journal 1995: 8(14): 721 – 722.
20. young EJ. Human brucellosis. Rev infect Dis 1983: 5: 821 – 842.
21. Zowghi E, Edabi A. Tyding of Brucella strains isolated in Iran. Arch inst Razi 1982 : 33: 109 – 114.
22. Zygmunt MS, Gilbert FB, Dubray c. Purification, characterization and sero activity of a 20 kilo dalton Brucella protein antigen. J clin Microbiol 1992: 30(10): 2662 – 2667.
23. Williams E. Brucellosisoin oxford Textbook of Medicine. 2th edition oxford: oxford university press 1987: 351 – 362.

Evaluation of Indirect Immunofluorescent (IFA) in Diagnosis of Brucellosis vs. Other Serologic Methods

Ghesmati M

Abstract

Introduction: The genus *Brucella* consists of six species, four of which are associated with human Brucellosis, *B. Abortus*, *B. Melitensis*, *B. Suis* and *B. Canis*.

Brucella are small, non motile, non capsulated gram negative and coccobacilli. It is an intracellular parasite of the Reticuloendothelial system. *Brucella* infection has a worldwide distribution.

Objective: In this research, serologic test data results from 500 patients were evaluated.

Materials and Methods: Method of tests consisted slide and tube agglutination test, Rose Bengal, 2ME and Immunofluorescent test, that were compared.

Results: Relative frequency of Antibody titers was consisted:

Rose Bengal 24.4%, Rapid Wright 21.2%, Coombs'w 23.8% and IFA 21.4%.

GMRT (Geometric mean of reciprocal titers) of Anti – *Brucella* Antibody titers was consisted:

Tube Wright: 284.5, c.w: 294.39, IFA: 326.3.

Relative frequency of Anti- *Brucella* Antibody titers by sex and age groups was explained that percent of disease in male (38.3%) was more than female (15.6%) and relative frequency of Anti – *Brucella* Antibody by seasons of the year was not significant.

The specificity of the IFA was higher than of tube test.

The sensibility of the IFA was higher than 2ME test.

Conclusion: As a general rule, IFA test has less false positive and negative results.

Key words: *Brucella*

جدول شماره ۱: نتیجه آزمایشات مختلف سرولوژیک در تشخیص بروسلا در افراد مورد مطالعه بر حسب وضعیت بیماری

وضعیت بیماری		موارد مثبت		موارد منفی		جمع	
آزمایش		تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
رزینگال		۱۲۲	۲۴/۴	۳۷۸	۷۵/۶	۵۰۰	۱۰۰
رایت سریع		۱۱۱	۲۲/۲	۳۸۹	۷۷/۸	۵۰۰	۱۰۰
رایت لوله ای		۱۰۶	۲۱/۲	۳۹۴	۷۸/۸	۵۰۰	۱۰۰
رایت لوله ای کومیس رایت		۱۱۹	۲۳/۸	۳۸۱	۷۶/۲	۵۰۰	۱۰۰
IFA پلی والانت		۱۰۷	۲۱/۴	۳۹۳	۷۸/۶	۵۰۰	۱۰۰

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی مطلق و نسبی عیارهای آنتی بادی ضدبروسلاهی در مراجعین به آزمایشگاههای شهرستان رشت

بر حسب روش های مختلف

وضعیت بیماری	۸۰:۱		۱:۱۶۰		۱:۳۲۰		۱:۶۴۰		۱:۱۳۸۰		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
رایت لوله ای	۲۱	۱۹/۸	۲۶	۲۴/۵	۲۴	۲۲/۶	۲۰	۱۸/۹	۱۵	۱۴/۲	۱۰۶	۱۰۰
کومیس رایت	۱۸	۱۵/۱۳	۲۳	۱۹/۳	۲۷	۲۲/۷	۲۴	۲۰/۱۷	۲۷	۲۲/۷	۱۱۹	۱۰۰
IFA پلی والانت	۱۹	۱۷/۸	۲۰	۱۸/۷	۲۴	۲۲/۴	۲۷	۲۵/۲	۱۷	۱۵/۹	۱۰۷	۱۰۰

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی مطلق عیارهای آنتی بادی ضدبروسلاهی در مراجعین به آزمایشگاه های شهرستان رشت در

بیماران با آزمون رایت لوله ای و کومیس رایت مثبت بر حسب حالت بیماری

وضعیت بیماری	مزمین		حاد		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
2ME	۸۹	۷۴/۸	۳۰	۲۵/۲	۱۱۹	۱۰۰
IFA منوالانت	۹۲	۷۷/۳	۲۷	۲۲/۷	۱۱۹	۱۰۰

جدول شماره ۴: توزیع فراوانی مطلق و نسبی عیارهای آنتی بادی ضدبروسلاهی در مراجعین به آزمایشگاههای شهرستان رشت

بر حسب و گروههای سنی مختلف

جنس	مرد			مرد			مرد			گروههای سنی (سال)		
	موارد مثبت	موارد منفی	جمع	موارد مثبت	موارد منفی	جمع	موارد مثبت	موارد منفی	جمع			
	تعداد	درصد	تعداد	تعداد	درصد	تعداد	تعداد	درصد	تعداد	تعداد	درصد	
< ۲۰	۲۴	۷۵	۸	۲۵	۳۳	۱۰۰	۱۹	۳۲/۷	۳۹	۶۷/۳	۵۸	۱۰۰
۲۱-۳۵	۲۱	۵۲/۵	۱۹	۴۷/۵	۴۰	۱۰۰	۱۴	۵۶	۲۰	۸۰	۷۰	۱۰۰
۳۶-۴۵	۱۱	۲۳/۴	۳۶	۷۶/۶	۴۷	۱۰۰	۸	۹/۶	۷۵	۹۰/۴	۸۳	۱۰۰
> ۴۶	۱۳	۲۱/۳	۴۸	۷۸/۷	۶۱	۱۰۰	۹	۸۳	۱۰۰	۹۱/۷	۱۰۹	۱۰۰
جمع	۶۹	۳۸/۳	۱۱۱	۶۱/۷	۱۸۰	۱۰۰	۵۰	۱۵/۶	۲۷۰	۸۴/۴	۳۲۰	۱۰۰

جدول شماره ۵: توزیع فراوانی مطلق و نسبی عبارهای آنتی بادی ضدپروسلائی در مراجعین به آزمایشگاههای شهرستان رشت برحسب فصول

جنس گروههای سنی(سال)	مرد			زن			کل											
	موارد مثبت			موارد منفی			موارد مثبت			موارد منفی								
	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد							
بهار	۲۰	۳۷/۰۴	۳۴	۶۲/۹۶	۵۴	۱۰۰	۱۵	۱۵/۶۳	۸۱	۸۴/۳۷	۹۶	۱۰۰	۱۱۵	۲۳/۳	۳۵	۷۶/۷	۱۵۰	۱۰۰
تابستان	۲۰	۴۰	۳۰	۶۰	۵۰	۱۰۰	۱۳	۱۴/۴	۷۷	۸۵/۶	۹۰	۱۰۰	۱۰۷	۲۳/۶	۳۳	۷۶/۴	۱۴۰	۱۰۰
پاییز	۱۷	۳۹/۵	۲۶	۶۰/۵	۴۳	۱۰۰	۱۲	۱۵/۶	۶۵	۸۴/۴	۷۷	۱۰۰	۲۹	۲۴/۱۷	۲۹	۷۵/۸۳	۱۳۰	۱۰۰
زمستان	۱۲	۳۶/۴	۲۱	۶۳/۶	۳۳	۱۰۰	۱۰	۱۷/۵	۴۷	۸۲/۵	۵۷	۱۰۰	۲۲	۲۴/۴	۲۲	۷۵/۶	۹۰	۱۰۰
جمع	۶۹	۳۸/۳	۱۱۱	۶۱/۲	۱۸۰	۱۰۰	۵۰	۱۵/۶	۲۷۰	۸۴/۴	۳۲۰	۱۰۰	۱۱۹	۲۳/۸	۳۸۱	۷۶/۲	۵۰۰	۱۰۰

جدول شماره ۶: مقایسه تست سرولوژیک رایت لوله ای و ایمنوفلورسانس غیرمستقیم (IFA) پلی والانت

رایت لوله ای IFA پلی والانت	-	+
+	۸	۹۹
-	۳۸۶	۷

جدول شماره ۷: مقایسه تست سرولوژیک 2ME و IFA

منووالانت جهت تفکیک موارد حاد از مزمن

2ME IFA منووالانت	حاد	مزمن
مزمن	۳	۸۹
حاد	۲۷	۰