ارزش تشخیصی IgG Elisa در بیماران مشکوک به بروسلوز

پرویز صالح*[1] ، بهروز نقیلی[2] ، ژینوس بیات ماکو[3] ، مجتبی ورشوچی[4]

۱. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، استادیار دانشگاه علوم پزشکی تبریز
۲. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، استاد دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری
۳. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، استادیار دانشگاه علوم پزشکی تبریز
۴. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری

* **نشانی برای مکاتبه:** تبریز، خیابان آزادی، نرسیده به چهارراه حافظ، مرکز آموزشی و درمانی سینا، بخش بیماریهای عفونی، تلفاکس ۵۴۱۳۵۸۹، P.ZZSS@yahoo.com

دریافت مقاله: بهمن هشتاد و هفت پذیرش برای چاپ: فروردین هشتاد و هشت

چکیده

سابقه و هدف: *بروسلوز هنوز هم یک مشکل عمده بهداشتی و آندمیک در بسیاری از مناطق دنیا شامل خاورمیانه، آمریکای لاتین، حاشیه مدیترانه ای و از جمله کشور ما می باشد.مطالعات متعدد در آزمایشگاههای مختلف برای به دست آوردن روشهای بهتر تشخیصی انجام پذیرفته است. تست Elisa برای آنتی بادی های اختصاصی ضد بروسلا در تشخیص بروسلوز، موثر ارزیابی شده است و هدف اصلی ما بررسی نقش تست IgG Elisa در تشخیص بیماران مشکوک به بروسلوز می باشد.*

روش کار: *در این بررسی تست IgG Elisa همراه با تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای در بیماران مشکوک به بروسلوز مطالعه گردید. بیماران مراجعه کننده به درمانگاه با تشخیص احتمالی بروسلوز و بیماران بستری در بخش عفونی بیمارستان سینا و امام خمینی تبریز که یکی از تشخیصهای احتمالی آنها بروسلوز بود به صورت ساده و بدون در نظر گرفتن محدوده سنی خاص انتخاب شده و تست های رایت، کومبس رایت و IgG Elisa بعمل آمد. در مواردی که بیمار علائم بالینی کاملاًمشکوک و در عین حال نتیجه تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای پایین تر از ۱/۱۶۰ داشت، دو هفته بعد تست ها جهت بررسی افزایش احتمالی تیتر تکرار شدند. برای آنالیز نتایج بیشترین تیتر آگلوتیناسیون (رایت یا کومبس رایت) و بیشترین تیتر IgG Elisa در هر بیمار مورد استفاده قرار گرفت.*

یافته ها: *از ۸۰ بیمار بررسی شده تنها ۲۶ بیمار سرولوژی مثبت داشتند که ۸ مورد تیتر با ارزش آنتی بادی هم از نظر IgG Elisa و هم آگلوتیناسیون را نشان دادند. کشتهای خون در هیچکدام از بیماران مثبت نشد. از ۱۸ نمونه باقیمانده در ۱۵ نفر علیرغم آگلوتیناسیون پائینتر و غیر بارز، مقادیر متفاوتی از تیترهای بالای IgG Elisa بدست آمد. در سه نمونه باقیمانده نیز تیترهای معنی دار آگلوتیناسیون(بیش از ۱/۱۶۰) وجود داشت در حالیکه IgG Elisa منفی گزارش شد. در این مطالعه حساسیت تست Elisa ۷۲٪ و ویژگی تست Elisa ۷۸٪ بدست آمد.*

نتیجه گیری: *تست IgG Elisa به تنهایی در تشخیص بیماران مشکوک به بروسلوز از ارزش کمتری برخوردار است. به منظور تکمیل ارزیابی بیماران مشکوک به بروسلوز به روش Elisa، حداقل انجام همزمان IgG Elisa و IgM Elisa توصیه می شود. IgG Elisa به تنهایی، در ارزیابی جواب به درمان و تصمیم گیری در مورد عود یا ازمان بیماری شاید مفید باشد.*

واژگان کلیدی: ***بروسلوز – آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای – IgG Elisa***

مقدمه

بروسلوز بیماری مشترک بین انسان و دام است که از طریق حیوانات به انسان منتقل می شود. نمای بالینی بروسلوز غیر اختصاصی است. علت نامگذاری بروسلوز و عوامل مولد آن به تلاشهای David Bruce برمی گردد. وی که یک پزشک اسکاتلندی بود، در طی اقامت خود در مالت در سال ۱۸۸۷ عامل بیماری را کشف کرد(۱). از زمان شناخت، بروسلوز به عنوان یک مشکل بهداشتی مطرح بوده و مطالعات متعددی جهت بررسی چهره های اپیدمیولوژیک و کلینیک بیماری به کار گرفته شده است(۲). مطالعات زیادی نیز در مورد تشخیص سرولوژیک این بیماری بعمل آمده است(۳). غالباً تشخیص بالینی بروسلوز با مشکل مواجهه می شود که به علت تشابه آن با بسیاری از بیماریهای عفونی، غیر عفونی و نیز شکست متدهای تشخیصی در مواردی از بیماری است(۴).

پس از ظن بالینی، تایید تشخیص بروسلوز در آزمایشگاه بطور عمده بر پایه کشت باکتری و تست های سرولوژیک استوار بوده است. از آنجائی که کشت خون ممکن است هفته ها طول کشیده و در عین حال در جدا سازی ارگانیسم مسبب ناموفق باشد تشخیص آزمایشگاهی اغلب موارد بروش سرولوژی انجام می گیرد. روشهای متداول مورد استفاده برای تشخیص سرولوژیک بروسلوز شامل تست آگلوتیناسیون سریع با اسلاید (RSAT)، تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای (SAT) ، 2ME، تست فیکساسیون کمپلمان (CFT) و Elisa می باشد(۵و۴و۱). اخیراً تکنیک PCR در تشخیص بروسلوز در مقایسه با سایر روشها بررسی شده است(۶و۴) که مسلماً کاربردی عملی محدودتری دارد.یکی از مشکلات اصلی تشخیص بیماری به روش سرولوژیک واکنش های متقاطع است که بین بروسلاها و باکتریهای دیگر (نظیر سالمونلوز، تولارمی، کلرا) و حتی تعداد زیادی از بیماریهای غیر عفونی (روماتولوژیک، بدخیمی و ...) از جمله لوپوس اریتماتو و مولتیپل میلوما و لنفوم اتفاق می افتد(۱و ۸-۶). مشکل دیگر آن است که تشخیص بروسلوز نمی تواند فقط با تعیین عیار آنتی بادی اثبات گردد. چون افراد سالم مرتبط با دام و نگهداری حیوانات در نواحی آندمیک ممکن است عیارهای بالایی از آنتی بادی های بروسلوز نشان دهند(۶و۴و۱).تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای می تواند جوابهای منفی کاذب آنهم به دلیل پدیده منطقه ای و وجود آنتی بادیهای بلوکان داشته باشد و همچنین بدون تست تکمیلی 2ME موارد حاد را از مزمن تشخیص نمی دهد. علاوه بر این تمام کلاسهای ایمونوگلوبولین (IgM- IgG -IgA) باعث آگلوتیناسیون مستقیم می گردند(۷و۵و۱). بنابراین تناسب ایمونوگلوبولین های اختصاصی که تیتر آنتی بادی را مشخص می کنند ممکن است مبهم و غامض باشد. لذا نظر می رسد تعیین کلاس آنتی بادی در مواجهه با مراحل حاد، تحت حاد و مزمن بیماری برای تشخیص و پیگیری مهم باشد(۳). نقایص تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای در پیگیری بیماران معمولاً بواسطه تست 2ME و به منظور رفع اثر آنتی بادی (ساب آگلوتینین) با کمک گیری از تست کومبس جبران می شود که مستلزم صرف زمان بیشتری است(۷و۵و۱).

تعیین سطوح آنتی بادی های اختصاصی (IgM- IgG -IgA) از طریق روش Elisa به لحاظ تئوریک شاید بتواند نقایص فوق الذکر برای تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای که کل آنتی بادی ها را در واکنش با آنتی ژن سطحی بروسلا نشان می دهد، مرتفع سازد و از آشفتگیها و پیچیدگیهای ایجاد شده توسط آنتی بادیهای بلوکان یا ناکامل به دور باشد(۳). اما آیا مطالعه هر یک از ساب کلاسها (از جمله IgG) به تنهایی می تواند مشکل تشخیصی بیماران مشکوک به بروسلوز را مناسبتر و دقیقتر از تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای حل کند. ما در این مطالعه به بررسی ارزش تشخیصی تست IgG Elisa در تایید تشخیص بیماران مشکوک به بروسلوز می پردازیم.

روش کار

افراد مورد مطالعه مراجعین به درمانگاه عفونی بیمارستان سینا که در ویزیت اولیه تشخیص احتمالی بروسلوز داشته اند، و همچنین بیماران بستری در بخشهای عفونی بیمارستان سینا و بیمارستان امام خمینی تبریز که تشخیص اولیه بروسلوز داشتند، به صورت ساده و بدون در نظر گرفتن محدوده سنی خاص انتخاب و وارد مطالعه شدند. بیماران تشخیص داده شده تا ۳-۲ ماه بعد از درمان پیگیری می شدند. همچنین پرونده بیماران بستری مورد مطالعه قرار گرفته و اطلاعات لازم از آنها استخراج می شد. طول مدت مطالعه ۲۰ ماه بود. ۸۰ نمونه سرم از بیمارانی که مشکوک به بروسلوز بودند در این مطالعه بررسی شدند. اطلاعات جمع آوری شده از بیماران شامل مشخصات دموگرافیک، محل سکونت، سابقه مصرف لبنیات تازه، تاریخ شروع بیماری، علائم بیماری، و یافته های آزمایشگاهی شامل: تعداد گلبولهای سفید خون، ESR، CRP، آنزیمهای کبدی، بیلی روبین، کشت خون، نتیجه تست wrigh ، Coombs wright، IgG Elisa بود.قبل از معاینه در مورد هدف معاینه و اهمیت آن اطلاعاتی جهت همکاری بهتر بیمار داده می شد. سپس پرسشنامه مورد نظر تکمیل و برای تستها آگلوتیناسیون و Elisa خونگیری می شد. به بعضی از بیماران که در آنان نتایج اولیه بررسی آزمایشگاهی منفی یا حد وسط بود و در عین حال همچنان قویاً از نظر کلینیکی مشکوک به بروسلوز بودند، توصیه می شد دو هفته بعد مراجعه نمایند و در ویزیت های بعدی مجدداً معاینه و خون گیری به عمل می آمد تا هم یافته های جدید فیزیکی و هم تغییرات آنتی بادی مشخص گردد. در این مطالعه تست آگلوتیناسیون، رایت، کومبس رایت با استفاده از آنتی ژنهای ساخت انیستیتوپاستور و برای تست IgG Elisa کیت ساخت کارخانه IBL HAMBURG استفاده شد.

جهت بررسی آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای (تست رایت) مطابق جدول ۱ عمل شد. لوله ها پس از تهیه به این روش ۲۴ ساعت در 37^{oc} انکوبه و پس از ۱۰ دقیقه سانتریفوژ، از نظر آگلوتیناسیون بررسی می شدند.

جدول ۱. تست رایت به روش لوله ای(اعداد به میلی لیتر است)

لوله ها / مواد	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	(شاهد)
سرم فیزیولوژی	۰/۹	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
سرم بیمار	۰/۱	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	دور ریخته می شود
Ag رایت لوله ای	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
رقتها	۱/۲۰	۱/۴۰	۱/۸۰	۱/۱۶۰	۱/۳۲۰	۱/۶۴۰	۱/۱۲۸۰	شاهد

برای انجام تست کومبس رایت لوله هایی را که بروش توصیف شده تهیه شده بودند پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد و ۱۰ دقیقه سانتریفوژ، ۱ سی سی از مایع رویی را با سمپلر برداشته و مجدداً به هر کدام از لوله ها ۱ سی سی سرم فیزیولوژی ریخته ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده مایع رویی را دور می ریزیم این عمل را ۳ بار تکرار می کنیم. در مرحله آخر بعد از برداشت مایع رویی به هر کدام از لوله ها ۲-۱ قطره آنتی هیومن گلبولین می ریزیم و ۱ ساعت در بن ماری یا انکوباکتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار می دهیم بعد از اتمام این یک ساعت دوباره داخل لوله ها ۱ سی سی سرم فیزیولوژی ریخته و ۲۴ ساعت انکوبه می کنیم. بعد از اتمام این مدت دوباره ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کرده آگلوتیناسیون را بررسی می کنیم. در همه بیماران، بالاترین تیتر بدست آمده از سرولوژی تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای (رایت یا کومبس رایت) و IgG Elisa در آنالیز آماری مورد محاسبه قرار دادیم. علائم بالینی سازگار، تیتر تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای بیش از ۱/۱۶۰ ، جواب به درمان و نتیجه گیری بالینی تا ۳-۲ ماه بعد از درمان معیار تشخیص بروسلوزیس در این مطالعه بود.

برای تشخیص بروسلا به روش IgG Elisa به طریق زیر عمل گردید:

۱- ۱۰۰ میکرو از سرم ۱/۱۰۰ رقیق شده بیماران به همه ولهای (چاهک) Coat شده با آنتی ژن بروسلا اضافه و به مدت ۱ ساعت در دمای اطاق انکوبه کرده تا آنتی بادیهای احتمالی ضد آنتی ژن های بروسلا در طی مرحله انکوباسیون به آنها وصل شود.

۲- سه بار شستشو با بافر شستشو بعد از یک ساعت انکوباسیون انجام می گیرد.

۳- ۱۰۰ (میکرو) از آنزیم کونژگه به تک تک چاهک ها اضافه و به مدت نیم ساعت در دمای اطاق انکوبه می شود.

۴- مطابق مرحله ۲ مجدداً شستشو انجام می گیرد.

۵- سوبسترا-کرومون (Tetramethyl benzidine) به مقدار ۱۰۰ میکرو به همه چاهک ها اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در محل تاریک در دمای اطاق انکوبه می شود.

۶- واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرو از محلول Stoppin متوقف می شود.

۷- جذب چاهک در طول موج ۴۵۰ و ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه Elisa reader قرائت می شود.

یافته ها

این بررسی بر روی ۸۰ بیمار (۳۷ زن و ۴۳مرد) بدون در نظر رفتن محدوده سنی خاص در طی ۲۰ ماه، با ارزیابی تست IgG Elisa در مقایسه با تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای در بیمارستان سینا و امام خمینی انجام گرفت. به جز ۶ بیمار که در درمانگاه مورد مطالعه قرار گرفتند، ۷۴ بیمار بستری به صورت ساده که یکی از تشخیصهای احتمالی آنها بروسلوزیس بود انتخاب شده و ضمن انجام کشت خون، سرولوژی به روش آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای و IgG Elisa انجام گرفت. از این بیماران هیچ مورد کشت خون مثبت بدست نیامد. جدول ۲ نتیجه مقایسه ای بررسی سرولوژیک (آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای و IgG Elisa) را در بیماران نشان می دهد. هماهنگونه که مشخص است نتیجه تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای (SAT) و تست IgG Elisa کاملاً همسو نیستند. به این معنی که از میان ۲۶ بیمار که سرولوژی مثبت (SAT یا IgG Elisa) از نظر بروسلوز داشتند، ۱۱ مورد سرولوژی به روش آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای مثبت داشتند($SAT \geq$ ۱/۱۶۰) که بعنوان بیماران مبتلا به بروسلوز لحاظ شدند. از این ۱۱ مورد، ۸ مورد تیتر بارزی از IgG Elisa (بیشتر از cut off pint) داشتند. مطابق جدول ۲، اما در ۳ مورد IgG Elisa منفی بود. از ۱۸ مورد باقی مانده در ۱۵ مورد تیتر آگلوتیناسیون پایین بود (<۱/۱۶۰) و در هفته بعد نیز افزایش چهار برابر اتفاق نیفتاد. بنابراین از نظر تشخیص بالینی بروسلوز به عنوان منفی در نظر گرفته شد.

از میان ۲۳ بیماری که IgG Elisa مثبت نشان دادند ۸ مورد تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای مثبت ($SAT \geq$ ۱/۱۶۰) و ۱۵ مورد بعدی تیتر آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای پایین داشتند (مطابق جدول ۳) و افزایش تیتر دو هفته بعد نیز ملاحظه نشد و لذا از نظر تشخیص بروسلوز منفی در نظر گرفته شدند. در این ۱۵ نمونه مقادیر متفاوتی از تیترهای بالای IgG Elisa بدست آمد. در این بررسی حساسیت تست IgG Elisa ۷۲٪ و ویژگی این تست ۷۸٪ بدست آمد.

جدول ۲. مقایسه نتیجه تیتر آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای با نتیجه تست IgG Elisa در کل بیماران

تعداد بیماران	تیتر SAT	نتیجه IgG Elisa	تعداد بیماران
۴۸	صفر	کمتر از cut off point (منفی)	۴۲ مورد
		بیشتر از cut off point (مثبت)	۶ مورد
۲۱	۱/۲۰-۱/۸۰	کمتر از cut off point (منفی)	۱۲ مورد
		بیشتر از cut off point (مثبت)	۹ مورد
۳	۱/۱۶۰	کمتر از cut off point (منفی)	۲ مورد
		بیشتر از cut off point (مثبت)	۱ مورد
۲	۱/۳۲۰	کمتر از cut off point (منفی)	۰
		بیشتر از cut off point (مثبت)	۲ مورد
۳	۱/۶۴۰	کمتر از cut off point (منفی)	۱ مورد
		بیشتر از cut off point (مثبت)	۲ مورد
۳	۱/۱۲۸۰	کمتر از cut off point (منفی)	۰
		بیشتر از cut off point (مثبت)	۳ مورد
جمع	۱۱ مورد مثبت		۲۳ مثبت
۸۰	۶۹ مورد منفی		۵۷ منفی

جدول ۳. تیتر آنتی بادی در ۸ نمونه سرم با آگلوتیناسیون بالای ۱/۱۶۰ و تیتر بالای IgG Elisa (cut off برای الیزا ۲±۹ و برای تست آگلوتیناسیون بیش از ۱/۱۶۰)

نمونه	تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای		IgG Elisa[1]
	رایت	کومبس رایت	
۱	۱/۸۰	۱/۳۲۰	۳۲
۲	۱/۱۶۰	۱/۱۶۰	۴۹
۳	۱/۳۲۰	۱/۳۲۰	۲۸۴
۴	۱/۶۴۰	۱/۶۴۰	۲۵۴
۵	۱/۶۴۰	۱/۶۴۰	۲۶۹
۶	۱/۶۴۰	۱/۱۲۸۰	۸۳۱
۷	۱/۱۲۸۰	۱/۱۲۸۰	۲۹
۸	۱/۱۲۸۰	۱/۱۲۸۰	۲۹۳

جدول ۴. مقایسه موارد با مقادیر بالای IgG Elisa و تیترهای آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای پایینتر از ۱/۱۶۰ (cut off برای الیزا ۲±۹ و برای تست آگلوتیناسیون بیش از ۱/۱۶۰)

نمونه	تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای		IgG Elisa[1]
	رایت	کومبس رایت	
۱	منفی	منفی	۱۰۶۶
۲	منفی	منفی	۱۹۰
۳	منفی	منفی	۶۳۸
۴	منفی	منفی	۹۰۱
۵	منفی	منفی	۱۰۷۷
۶	منفی	منفی	۶۶۲
۷	۱/۲۰	۱/۲۰	۲۵/۶
۸	۱/۲۰	۱/۲۰	۳۵۴
۹	۱/۲۰	۱/۲۰	۱۱۷۴
۱۰	۱/۲۰	۱/۲۰	۱۲/۹
۱۱	۱/۲۰	۱/۲۰	۳۱/۸
۱۲	۱/۴۰	۱/۴۰	۱۴۱
۱۳	۱/۴۰	۱/۵۰	۳۱/۷
۱۴	۱/۸۰	۱/۸۰	۱۴۰
۱۵	۱/۸۰	۱/۸۰	۳۰۹

بحث

بروسلوز بعنوان یک بیماری مشترک بین انسان و حیوانات اهلی (Zoonosis) همچنان مشکل بهداشتی مناطقی از دنیا از جمله ایران است که بیماری در آن آندمیک می باشد. مطالعات مختلف و زیادی جهت رسیدن به روشهای سریعتر و بهتر تشخیصی انجام گرفته است. اگر چه استاندارد طلایی تشخیص این بیماری ایزولاسیون باکتری از کشت خون، مغز استخوان یا تجمعات چرکی مشکوک است اما در عمل رسیدن به کشت خون مثبت و بکارگیری این شیوه تشخیصی برای بروسلوز، با مشکلات عدیده ای مواجه است. زیرا اولاً نتیجه گیری از آن تابعی از سابقه مصرف آنتی بیوتیک، متد آزمایشگاهی و مدت انکوباسیون می باشد بطوری که گاهی لازم است نمونه ها تا مدت ۴ هفته نگهداری شود. و بنابراین شیوه تشخیصی زمان بری خواهد بود. ثانیاً تحت شرایط ایده آل احتمال جدا سازی ۱۵ تا ۷۹ درصد بیشتر نیست (۹)، ثالثاً محیط های کشت در آزمایشگاه در صورت مثبت بودن، بالقوه از طریق استنشاقی می تواند برای کادر آزمایشگاه آلوده کننده باشند. در مطالعه حاضر علیرغم اینکه از همه بیماران مشکوک به بروسلوز کشت خون در محیط کاستاندا بعمل آمد، مورد مثبت کشت خون بدست نیامد. مبنای تشخیص نهایی بروسلوز در پیش بیماران ما علائم کلینیکی سازگار، تست آگلوتیناسیون مثبت باعیار برای یا بیش از ۱/۱۶۰، جواب به درمان و پیگیری درمانگاهی بیماران تا ۳-۲ ماه بعد، بود. تست های سرولوژیک متعددی بعنوان پیگیری ردپای عفونت بروسلایی جهت ارزیابی آنتی بادی علیه بروسلا بکار برده شده است که از جمله قدیمی ترین آنها تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای است که توسط wright و smit در سال ۱۸۹۷ ابداع شده است(۷و۵و۱). در این تست مقدار کلی آنتی بادی آگلوتینه کننده تعیین می شود ولی افتراق بین ایزوتایپهای ایمونوگلوبولین مشخص نمی شود. Reddin و colleaues تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای را با اضافه کردن ۲-مرکاپتواتانول برای تعیین آگلوتیناسیون IgG و حذف آگلوتیناسیون IgM بکار برده و نشان دادند که وجود IgG بخوبی با بیماری فعال ارتباط دارد و نتایج ترکیبی تست های آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای (SAT) و افزودن ۲-مرکاپتواتانول (2ME) در پی گیری بیماری و ارزیابی پاسخ به درمان مفید می باشد. واکنشهای منفی کاذب در تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای (SAT) می تواند بخاطر پدیده پروزون باشد در حالی که واکنشهای مثبت کاذب، ناشی از واکنش متقاطع با آنتی بادی های یرسینیا، کلرا یا تولارمی و حتی گاهی بیماریهای غیر عفونی می تواند باشد. واکنشهای مثبت کاذب و منفی کاذب را می توان با رقیق کردن فراتر از ۱/۳۲۰ جلوگیری کرد(۹). بندرت وجود آنتی بادی های بلوکان می تواند تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای (SAT) را منفی نشان دهد که می توان با آزمایش کومبس از آن جلوگیری کرد.از سوی دیگر یکی از معمول ترین مشکلات تشخیص سرولوژیک بروسلوز تداوم آنتی بادی علیه بروسلا در تیترهای مختلف، برای مدت طولانی بعد از بهبود کامل کلینیکی بیماران است (۱۰). بکارگیری روش Elisa برای تشخیص بروسلوز به لحاظ تئوریک مزیتهایی بر تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای دارد. این روش از طرفی ایمونوگلوبولینهای اختصاصی بروسلا را ردیابی می نماید و از طرف دیگر ضمن نشان دادن کل آنتی بادی های که در واکنش به آنتی ژن سطحی بروسلا ایجاد شده اند، می تواند از تمام آشفتگیها و پیچیدگی های ایجاد شده توسط آنتی بادی بلوکان یا ناکامل ممانعت کند(۳). اما در عمل مطالعات مختلف که به مقایسه روش آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای (SAT) و Elisa پرداخته اند، نتایج متفاوتی نشان داده اند. در برخی از این مطالعات مزیت خاصی برای Elisa در مقایسه با تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای (SAT) مشخص نشده است. مطالعه serra J ترکیب تست رزبنگال مثبت و تست کومبس (تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای به همراه افزودن آنتی گلوبولین انسان) با تیتر برابر یا بیش از ۱/۳۲۰ را بهترین معیار تشخیص بروسلوز نشان داده و بررسی IgM Elisa , IgG Elisa بصورت تنها و یا همزمان را دارای مزیت بیشتر در تشخیص بروسلوز ندانسته است(۱۱). Ertek M و همکاران در مطالعه ای که شامل ۳۲ بیمار با تشخیص بروسلوز بوده است. تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای (SAT) را در تشخیص بروسلوز حاد نسبت به Elisa (IgG, IgM) به لحاظ سهولت و هزینه کم تر ارزشمندتر یافته اند (۱۲). در مطالعه دیگری که توسط Gomez و همکاران در سال ۲۰۰۸ منتشر شده است حساسیت روش Elisa در تشخیص بروسلوز انسانی بیشتر از تست های رزبنگال، آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای و Brucellacapt نبوده است(۱۳). در یک مطالعه دیگر علیرغم استفاده موازی از بررسی همزمان دو ایمونوگلوبولین IgG و IgM به روش ELISA ، ارزش مشابهی با تست های کلاسیک از جمله آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای داشته است(۱۴) و این در حالی است که Araj GF و همکاران در مطالعه خود، ضمن بررسی مقایسه ای تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای (SAT)، روش Elisa را تست انتخابی در بیمارانی که از نظر کلینیکی مشکوک به بروسلوز باشند معرفی نموده است(۱۵). در مطالعه ما از ۱۱ مورد بیمار مبتلا به بروسلوز که بر اساس تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای، علائم بالینی سازگار، پاسخ به درمان مناسب و بهبودی کامل با پیگیری بالینی به مدت ۳-۲ ماه، تشخیص داده شده بودند، ۳ مورد IgG Elisa منفی داشتند. حالت فوق را می توان این گونه توضیح داد که احتمالاً این ۳ بیمار مبتلا به بروسلوز حاد بوده و اکثریت آنتی بادی ها از نوع IgM بوده است و چون IgM Elisa انجام نداده ایم نتیجه تست Elisa منفی بوده است. از طرف دیگر مثبت بودن IgG Elisa در ۱۵ بیماری که تیتر آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای (SAT) پایین داشته (۱/۱۶۰>) و افزایش تیتر بعدی نیز ملاحظه نشده و از نظر تشخیص بالینی بروسلوز، منفی در نظر گرفته شدند، می تواند به دلیل ارتباط شغلی، بدون بیماری فعال باشد. پایین بودن حساسیت و اختصاصی بودن تست Elisa در مطالعه ما که به ترتیب ۷۲٪ و ۷۸٪ بدست آمده است عمدتاً به این دلیل است که در این مطالعه فقط IgG Elisa بررسی شده و IgM Elisa اندازه گیری نشده است. از مجموع یافته های فوق الذکر می توان چنین نتیجه گیری کرد که بررسی IgG Elisa به تنهایی جایگزین مناسبی برای تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای نیست و می تواند با نتایج مثبت و منفی کاذب زیادی همراه باشد. این تست در شناسایی موارد حاد بروسلوز ممکن است ضعف داشته باشد چرا که در این شرایط آنتی بادی تولید شده عمدتاً از نوع IgM است. جهت تکمیل ارزیابی بیماران مشکوک به بروسلوز و پیشگیری از فراموش شدن تشخیصهای افتراقی دیگر تطبیق علائم بالینی، تکیه بر تیترهای بالا و یا فزاینده تست آگلوتیناسیون استاندارد لوله ای (SAT) و در صورت استفاده از سرولوژی به روش Elisa، حداقل انجام همزمان IgG Elisa و IgM Elisa توصیه می شود.

نتیجه گیری

تست IgG Elisa به تنهایی در تشخیص بیماران مشکوک به بروسلوز از ارزش کمتری برخوردار است. به منظور تکمیل ارزیابی بیماران مشکوک به بروسلوز به روش Elisa، حداقل انجام همزمان IgG Elisa و IgM Elisa توصیه می شود. IgG Elisa به تنهایی، در ارزیابی جواب به درمان و تصمیم گیری در مورد عود یا ازمان بیماری شاید مفید باشد

REFERENCES

1. Young.Ej. Brucella Spcies. In Mandell GL, Benett JE, Dolin R. Principles and Practice of infectious Diseases. 6 th ed. New Yourk. Churchill Living Stome, 2005;P:2669-2674.

2. Araj.F, Azzam.RA. Seroprevalence of brucella antibodies among persons in high-risk occupation. Epidemiol-infect. 1999;117(2):281-8

3. Gad.EL, Rab.MO, Kambal.AM. Evaluation of brucella enzyme immunoassay test (ELISA) in compatison with bacteriological culture and agglitination. J infect. 1998;36(2): 197-201

4. AL-Attas.R, AL.Khalifa.M, AL.Qurashi.AR, Badawy M, ALGualy N. Evaluation of PCR, culture and serology for the diagnosis of Acute human Brucellosis. Ann Saudi Med. 2000; 20(3-4): 224-228

5. Salata RA. Brucellosis. In Goldman L, Ausiello O. CESIL Text book of Medicine. 22 thed. Philadelphia. Saunders, 2004; P:1887-1890

6. AL. Eissa.Y, Brucellosis in saudi Arabia: Past Present and future. Annals of saudi medicine. 1999; 19(5):403

7. Corbel MJ, Beeching NJ. Brucellosis: In Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL. Harrison's Principles of Internal Medicine. 16 thed. New Yourk Mcaraw-Hill, 2005; P:914-917

8. Gotuzzo.E, Carrillo.C. Brucella: In Gorbach. SL, Bartelett. JG, Blacklow. NR. Infectious disease. 2th ed. Philadelphia. Saunders, 1998, P: 1837-1845.

9. Detection of Antibodies to Brucella cytoplasmic proteins in the cerebrospind fluid of patients with Neurobrucellosis. Clin.inf.dis. 1996; 22. 446-455.

10. Almuneef M, Memish ZA. Persistence of brucella antibodies after successful treatment of acute brucellosis in an area of endemicity. J clin microbiol 2002; 40(6): 2313.

11. Serra J. Laboratory diagnosis of brucellosis in a rural endemic area in northeastern Spain. Int Microbiol 2004; 7(1): 53-58.

12. Ertek M, Yazgi H, Ozkurt Z, et al. Comparison of the diagnostic value of the standard tube agglutination test and the ELISA IgG and IgM in patients with brucellosis. Turk J Med Sci. 2006; 36(3): 159-163.

13. Gomez MC, Nieto JA, Rosa C, et al. Evaluation of seven tests for diagnosis of human brucellosis in an area where the disease is andemic. Clin, Vaccine Immunol. 2008; 15(6): 1031-1033.

14. Colmenero JD, Porras J, Cardenas A, et al. Evaluation of the chromotitre ELA test in the diagnosis of Human brucellosis. Enferm infec Microbiol Clin. 1994; 12(2):60-5

15. Araj GF, Kattar MM, Fattouh LG, et al. Evaluation of the PANBIO brucella Immunoglobulin G (IgG) and IgM Enzyme – linked immunosorbent assay for diagnosis of human brucellosis. Brucellosis\ EVALUA 1.HTM. July 2005.