ORIGINAL ARTICLE

Diagnostic Value of Elisa Versus Wright in Human Brucellosis with Positive PCR

Narges Najafi[1],
Lotfollah Davoodi[2],
Mehran Fazli[3],
Alireza Davoudi[4],
Jamshid Yazdani Charati[5]

[1] Associate Professor, Department of Infection Diseases, Antimicrobial Resistance Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Resident in Infectious Diseases, Antimicrobial Resistance Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Medical Student, Faculty of Medicine, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Infection Diseases, Antimicrobial Resistance Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Department of Biostatistics, Health Sciences Research Center, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received November 7, 2013 ; Accepted January 18 , 2013)

Abstract

Background and purpose: Brucellosis is a zoonotic disease with worldwide distribution. Humans are usually infected through contact with infected animals or unpasteurized dairy products. We observed contradictory diagnostic value of ELISA and Standard tubal agglutination test (wright) in other studies. Therefore, we designed this study to compare the diagnostic value of ELISA and Standard tubal agglutination test (wright) in patients with positive PCR brucellosis.

Material and Methods: We designed a diagnostic study and selected 59 suspected patients and 45 healthy individuals during March 2012 to March 2013 in Razi Hospital at Ghaemshahr City. We did all the tests including: PCR, 2-Mercaptoethanol, Wright, Coombs and Wright and Elisa for all patients and healthy subjects. Clinical manifestation and laboratory data were collected. Data were analyzed by SPSS version 16.

Results: The patients' mean age was 37.98±13.79 years and 71.2% were males. All patients had previous exposure to risk factors. The most common signs were fever (86.4%), sweating (71.2%) and arthralgia (71.2%). On the base of PCR, sensitivity, specificity, positive predict value (PPV), negative predict value (NPV) and the overall accuracy of Wright test was 94.73%, 63.63%, 60%, 95.45% and 75%, Elisa IgM test 57.89%, 77.27%, 59.45%, 76.11% and 70.19% and Elisa IgG test 78.94%, 71.21%, 61.22%, 85.45% and 74%.

Conclusion: In our study, Wright test has higher sensitivity, NPV and overall accuracy in comparison with ELISA. In ELISA test, ELISA IgG has higher sensitivity, PPV, NPV and overall accuracy in comparison with ELISA IgM.

Keywords: Brucellosis, wright, Elisa, PCR

J Mazand Univ Med Sci 2014; 24(Supple 1): 21-28 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و سوم ویژه نامه ۱ اسفند سال ۱۳۹۲ (۲۸-۲۱)

مقایسه ارزش تشخیصی دو روش سرولوژی الایزا و رایت در بیماری بروسلوز انسانی با PCR مثبت

نرگس نجفی[۱]
لطف اله داودی[۲]
مهران فضلی[۳]
علیرضا داودی بدابی[۴]
جمشید یزدانی چراتی[۵]

چکیده

سابقه و هدف: بروسلوز بیماری زئونوز با انتشار جهانی است انسان به‌طور عمده ازطریق تماس با دام آلوده یا محصولات لبنی غیر پاستوریزه آلوده می‌شود. با توجه به این‌که در مطالعات مختلف آمارهای متناقضی در مورد ارزش تشخیصی تست الایزا و رایت وجود دارد، هدف از مطالعه حاضر مقایسه آزمون الایزا و رایت در موارد بروسلوز با PCR مثبت می باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ارزش تشخیصی، برای ۵۹ بیمار مشکوک به بروسلوز و ۴۵ فرد سالم (گروه شاهد) که در سال ۱۳۹۱، در بیمارستان رازی قائم شهر بستری شدند، تست‌های PCR، رایت، کومبس رایت، 2ME و الایزا (IgM ،IgG) انجام شد. هم‌چنین علایم بالینی بیماران و نتایج تست‌های آزمایشگاهی آنان ثبت شد و به کمک برنامه SPSS 16 مورد آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین سنی بیماران ۱۳/۷۹±۳۷/۹۸ سال بود که۴۲ نفر آن‌ها (۷۱/۲ درصد) مرد بودند. همه بیماران سابقه تماس با ریسک فاکتورهای بروسلا را داشتند. شایع‌ترین علامت بیماران تب (۸۶/۴ درصد)، تعریق (۷۱/۲ درصد) و آرترالژی (۷۱/۲ درصد) بود. برای ۵۹ بیمار مشکوک تست های PCR، رایت، الایزا IgM و الایزا IgG انجام شد که به ترتیب در ۳۸، ۵۷، ۳۶ و ۴۷ بیمار نتایج مثبت بود. بر اساس PCR، حساسیت، اختصاصیت، ارزش اخباری مثبت، ارزش اخباری منفی و دقت کلی تست رایت برابر ۹۴/۷۳، ۶۳/۶۳، ۶۰، ۹۵/۴۵، ۷۵ درصد و برای تست الایزا IgM برابر ۵۷/۸۹، ۷۷/۲۷، ۵۹/۴۵، ۷۶/۱۱ و ۷۰/۱۹ درصد و برای الایزا IgG برابر با ۷۸/۹۴، ۷۱/۲۱، ۶۱/۲۲، ۸۵/۴۵ و ۷۴ درصد محاسبه شد.

استنتاج: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تست رایت در مقایسه با تست الایزا حساسیت بیش‌تر، اختصاصیت کم‌تر، ارزش اخباری مثبت تقریباً برابر، ارزش اخباری منفی بیش‌تر و در مجموع دقت کلی بالاتری دارد. بین دو تست الایزا IgM و IgG، به غیر از اختصاصیت، در سایر موارد الایزا IgG از IgM برتر بود.

واژه های کلیدی: بروسلوز، PCR، تست رایت، تست الایزا

مقدمه

بروسلوز یک بیماری زئونوز با انتشار جهانی است انسان به طور عمده از طریق تماس با دام آلوده یا محصولات لبنی غیر پاستوریزه آلوده می‌شود(۱). عامل این بیماری کوکوباسیل کوچک گرم منفی بدون

مولف مسئول: علیرضا داودی بدابی- مرکز آموزشی درمانی رازی قائم شهر، مرکز مقاومت های میکروبی E-mail:eiy_iran@yahoo.com
۱. دانشیار، گروه عفونی، مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دستیار بیماری های عفونی و گرمسیری، مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. استادیار، گروه عفونی، مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. دانشیار، گروه آمار حیاتی، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۲/۸/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۲/۹/۶ تاریخ تصویب : ۱۳۹۲/۱۰/۲۸

اسپور است که سوش‌های مختلفی دارد شامل؛ بروسلا ملیتنسیس که عمدتاً در گوسفند، بز و شتر وجود دارد، ابورتوس که در گاو، سویس در خوک و کانیس که در سگ یافت می‌شود. شایع‌ترین سویه‌ای که انسان را مبتلا می‌کند ملیتنسیس است(۲). تظاهرات این بیماری متنوع و غیر اختصاصی بوده و شامل تب، تعریق، ضعف و بی‌اشتهایی، سردرد، کمردرد و درد عضلانی اسکلتی می‌باشد. این بیماری سیستمیک، هر ارگان و سیستمی اعم از گوارشی،کبدی، صفراوی، قلبی- عروقی، تنفسی، ژنیتال، ادراری، جلدی، هماتولوژیک و چشمی را درگیر می کند. هم‌چنین می‌تواند با ایجاد کانون‌های پایدار به فرم مزمن تبدیل شده و عوارضی مثل آندوکاردیت، مننژیت، آنسفالیت، آرتریت، استئومیلیت، بورسیت، تنوسینوویت، ساکروایئلیت و هپاتیت را ایجاد نماید(۲).

این بیماری در کشور ما خصوصاً در منطقه شمال جزء بیماری‌های اندمیک محسوب شده و بروزآن طبق آخرین آمار وزارت بهداشت در سال ۱۳۹۱، ۱۵/۹ نفر در ۱۰۰ هزار نفر گزارش شده است. استان مازندران جزو مناطق با شیوع متوسط محسوب می‌شود(۴،۳). خصوصیات سیستمیک و غیراختصاصی بودن بروسلا تشخیص افتراقی آن را از سایر بیماری‌های سیستمیک غیر عفونی و بدخیمی‌ها مثل لنفوم و آرتریت روماتوئید مشکل می سازد. تشخیص سریع و درمان به موقع این بیماری می‌تواند از عوارض زیادی پیشگیری کند(۱). تشخیص عمدتاً بر اساس سرولوژی استوار است و بیش‌تر از تست‌های رایت استفاده می‌شودکه آنتی‌بادی ضد بروسلا از نوع IgGو IgM را به روش ایجاد آگلوتیناسیون لوله‌ای STA با آنتی ژن ابورتوس می‌سنجد. بیش‌تر رفرانس‌ها تیتر بزرگ‌تر یا مساوی ۱/۱۶۰ در مناطق غیر اندمیک و تیتر ۱/۳۲۰ را در مناطق اندمیک به عنوان مثبت در نظر می‌گیرند(۲،۱). اما در پروتکل کشوری ما برای بروسلوز، تیتر ۱/۸۰ را برای رایت و کومبس رایت و تیتر ۱/۴۰ را برای 2ME مثبت در نظر می‌گیرند(۳). این امر به این علت است که نوع سوش غالب کشور ما ملیتنسیس می‌باشد ولی در آزمایش اگلوتیناسیون از آنتی‌ژن ابورتوس استفاده می‌شود. با این وجود این اعداد به هیچ وجه قطعی نبوده و حساسیت و ویژگی متغیری برای آن در رفرانس ها ذکر شده دارند(۱، ۲، ۵). هم‌چنین واکنش متقاطع با آنتی‌بادی ناشی از بسیاری از باسیل‌های گرم منفی مثل یرسینیا و سالمونلا و ای کولای و ویبریو کلرا دارند. کشت از بافت‌های مختلف از جمله خون، مغز استخوان و سایر نواحی درگیر بسته به روش آزمایش در ۹۰-۱۵ درصد موارد مثبت می‌شود که موارد مثبت و منفی در آن دیده می شود(۲،۱). روش PCR برای شناسایی DNA ارگانیسم، تستی حساس و اختصاصی می‌باشد. در این روش نیر معضل استاندارد نبودن روش‌های انجام آن در آزمایشگاه‌های مختلف و نیز قابل شناسایی بودن DNA ارگانیسم، علی‌رغم درمان رو به رو هستیم(۱). اخیراً از روش الایزا جهت سرولوژی در کنار تست رایت استفاده می‌شود. این آزمون سریع بوده و کیت‌های آن ماندگاری طولانی‌تر دارند(۶). این روش به‌خصوص در شرایط مثبت یا منفی کاذب یا تیترهای مثبت متوسط و پایین رایت، جهت تأیید تشخیص کاربرد دارد. در مطالعات مختلف آمارهای متناقضی در مورد ارزش تشخیصی تست الایزا و مقایسه آن با رایت وجود دارد(۸،۷،۲،۱). این مطالعه به منظور مقایسه آزمون الایزا و رایت در موارد ثابت شده بروسلوز با استاندارد طلایی تشخیص این بیماری یعنی PCR در بین بیماران مشکوک از لحاظ بالینی و اپیدمیولوژیکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه ارزش تشخیصی است که در طی سال ۱۳۹۱ در بیمارستان رازی قائم‌شهر به منظور تعیین ارزش تشخیصی تست‌های رایت، الایزا IgM و الایزا IgG در بیماری بروسلوز انسانی و مقایسه آن بر اساس PCR انجام شد.

حجم نمونه با نظر متخصص آمار مطالعه، با در نظر گرفتن قدرت ۸۰ درصد و خطای ۰/۰۵ برای به دست آوردن حساسیت ۹۰ درصد، حداقل ۳۲ نفر در گروه بیمار و برای به دست آوردن اختصاصیت ۸۵ درصد، حداقل ۴۵ نفر در گروه شاهد سالم تعیین شد. بیماران بستری یا سرپایی که توسط متخصصین گروه عفونی این مرکز با شک بالینی و اپیدمیولوژیک به بیماری بروسلوز جهت آزمایشات لازم به آزمایشگاه بیمارستان ارجاع شده بودند، کاندید ورود به مطالعه شدند. بیمارانی که مبتلا به بیماری‌هایی بودند که سبب مثبت کاذب شدن تست رایت می‌شدند مثل وبا، یرسینیوز، سالمونلا، تولارمی و آنمی و مواردی که منجر به منفی کاذب شدن رایت می‌شدند، مثل هیپوگاماگلوبولینی از مطالعه خارج شدند. کشت خون برای تشخیص موارد منفی و مثبت کاذب انجام شد. با در نظر گرفتن معیار ورود و خروج بیماران، از ۱۰۵ نفری که با علایم بالینی و شواهد اپیدمیولوژیک بروسلوز مراجعه کرده بودند، در نهایت ۵۹ نفر از بیماران به عنوان بیمار مشکوک در نظر گرفته شدند. هم‌چنین ۴۵ فرد سالم که سابقه بیماری بروسلوز و علایم بیماری را نداشتند پس از معاینه توسط متخصص بیماری‌های عفونی و تأیید بودن به عنوان گروه شاهد سالم برای تعیین اختصاصیت تست‌های مورد بررسی وارد مطالعه شدند. هم‌چنین جهت رد عفونت‌های باسیل گرم منفی که سبب مثبت کاذب شدن سرولوژی می‌شود از کلیه افراد مورد مطالعه کشت خون در محیط بایفازیک انجام شد ولی به‌دلیل در دسترس نبودن محیط کشت باکتک، کشت جهت بروسلا موفقیت‌آمیز نبود. پس از انتخاب بیماران با علایم حاد کم‌تر از ۳ ماه، ارائه توضیحات لازم و اخذ رضایت کتبی، مشخصات بیمار و علایم وی را پرسشنامه مخصوص وارد شد و علاوه بر آزمایشات درخواستی خون‌گیری از بیماران جهت تستPCR، آگلوتیناسیون لوله‌ای (رایت) و الایزا انجام شد و نمونه‌ها در همان روز به آزمایشگاه طرف قرارداد ارسال شد. تست‌های Standard Tube Agglutination در رقت‌های ۱/۲۰ تا ۱/۱۲۸۰ انجام شد و تست الایزا جهت تعیین غلظت آنتی‌بادی IgM و IgG ضد بروسلوز از سرم، با کیت IBL (آلمان) و با دستگاه ELISA reader Lab System Multi Scan (ایتالیا)، به روش Double Sandwich انجام گرفت. ابتدا آنتی‌بادی‌های سرمی با آنتی‌ژن‌های موجود در چاهک‌ها باند شده و پس از شست و شو، آنتی‌بادی های اختصاصی IgM و IgG انسانی کونژوگه شده با آنزیم، اضافه شد. شدت رنگ ایجاد شده در طول موج ۴۹۰ نانومتر که متناسب با میزان آنتی بادی است، خوانده شد. معیار مثبت در نظر گرفتن تست رایت در فرد علامت‌دار، تیتر بیش تر یا مساوی ۱/۸۰ و معیار مثبت بودن تست الایزا (IgG, IgM) تیتر بیش تر یا مساوی ۱۲ بوده است. PCR هم به روش کیفی با دستگاه Real Time PCR CORBET ساخت کشور استرالیا و با کیت Amplisens Brucellaspp FRT PCR ساخت کشور روسیه انجام شد. بررسی نمونه خونی که اریتروسیت‌های آن شسته شده و DNA استخراج شده به روش کلروفورم انجام شد. لازم به ذکر است که تمامی تست ها در یک آزمایشگاه و توسط یک کارشناس خبره در این زمینه انجام شد.

آنالیز آماری

آنالیز آماری با استفاده از SPSS16 انجام شد. تفاوت در درصدها (متغیرهای کیفیت) به وسیله آزمون کای دو آنالیز شد. اختلاف ازمیانگین به با آزمون Student's t Test سنجیده شد و سطح معنی‌داری کم‌تر از $p< ۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد(۴).

یافته ها

از ۴۵ نفر فرد سالم (به عنوان گروه شاهد) ۳ نفر رایت مثبت و ۲ نفر الایزا مثبت گزارش شدند، در حالی که PCR در تمام این بیماران منفی گزارش شد. میانگین سنی این افراد ۱۱/۶۵±۳۵/۴۷ سال بود و ۲۸ نفر آنان را

را مردان تشکیل می‌دادند (۶۲/۲۲ درصد). میانگین سنی بیماران مشکوک ۱۳/۷۹±۳۷/۹۸ سال بود و ۴۲ نفر (۷۱/۲ درصد) از بیماران این گروه مرد بودند. بین دو گروه در جنس و سن اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت (p>۰/۰۵). همه بیماران مشکوک حاضر در مطالعه، سابقه تماس با ریسک فاکتورهای بروسلا را داشتند.

۳۸ بیمار از ۵۹ بیمار مشکوک تست PCR مثبت داشتند که به عنوان مورد قطعی جهت مقایسه در نظر گرفته شدند. شایع‌ترین شکایت اصلی بیماران قطعی به ترتیب تب در ۱۸بیمار (۴۷/۴ درصد)، کمردرد در ۱۱بیمار (۲۸/۹ درصد)، آرترالژی در ۵ بیمار (۱۳/۲ درصد)، درد بیضه در ۴ بیمار (۱۰/۵ درصد) و کاهش وزن در یک بیمار (۱/۷ درصد) بود. شایع‌ترین علامت بیماران قطعی نیز به ترتیب تب در ۳۴ بیمار (۸۹/۵ درصد)، تعریق در ۲۸ بیمار (۷۳/۸ درصد) و آرترالژی در ۲۴ بیمار (۶۳/۲ درصد) بوده است. سایر علایم بیماران در جدول شماره ۱ آورده شده است.

در بررسی یافته‌های آزمایشگاهی بیماران، آنمی در ۲۶ بیمار (۶۸/۴ درصد)، ترومبوسیتوپنی در ۱۰ بیمار (۲۶/۳ درصد) و لکوپنی در دو بیمار (۵/۳ درصد) دیده شد. هم‌چنین سرعت رسوب اریتروسیت (ESR) غیرطبیعی در ۲۹ بیمار (۷۶/۳ درصد) دیده شد. سایر یافته‌های آزماشگاهی در جدول شماره ۲ آورده شده است.

از ۵۹ بیمار مشکوک مورد بررسی، تست‌های رایت، الایزا IgM و الایزا IgG به ترتیب در ۵۷، ۳۶ و ۴۷ بیمار مثبت گزارش شد. هم‌چنین این تست‌ها در ۴۵ فرد سالم نیز انجام شد که رایت در ۳ نفر و الایزا IgG در دو نفر از افراد سالم نیز مثبت گزارش شد. تست الایزا IgM در تمام افراد سالم منفی گزارش شد. از ۳۸ بیمار قطعی (PCR مثبت) مورد مطالعه، ۳۵ بیمار (۹۴/۷۳ درصد) تست رایت مثبت، ۲۲ بیمار (۵۷/۸۹ درصد) الایزا IgM مثبت و ۳۰ بیمار (۷۸/۹۴ درصد) الایزا IgG مثبت داشتند. با در نظر گرفتن این موارد حساسیت، اختصاصیت، ارزش اخباری مثبت (PPV)، ارزش اخباری منفی (NPV) و دقت کلی تست رایت به ترتیب برابر ۹۴/۷۳، ۶۳/۶۳، ۶۰، ۹۵/۴۵ و ۷۵ درصد بود. هم‌چنین، تست الایزا IgM حساسیت ۵۷/۸۹ درصد، اختصاصیت ۷۷/۲۷ درصد، ارزش اخباری مثبت ۵۹/۴۵ درصد، ارزش اخباری منفی ۷۶/۱۱ و دقت کلی ۷۰/۱۹ درصد داشت. تست الایزا IgG نیز حساسیت ۷۸/۹۴ درصد، اختصاصیت ۷۱/۲۱ درصد، ارزش اخباری مثبت ۶۱/۲۲ درصد، ارزش اخباری منفی ۸۵/۴۵ درصد و دقت کلی ۷۴ درصد را نشان داد (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۱: فراونی علایم بیماران بر اساس مثبت شدن تست‌های مورد مطالعه

علائم	PCR مثبت تعداد(درصد)	تست رایت تعداد(درصد)	الایزا IgM تعداد(درصد)	الایزا IgG تعداد(درصد)
تب	۳۴ (۸۹/۵)	۴۹ (۸۶)	۳۲ (۸۶/۵)	۴۰ (۸۵/۱)
تعریق	۲۸ (۷۳/۸)	۴۱ (۷۱/۹)	۲۷ (۷۳)	۳۱ (۶۶)
آرترالژی	۲۴ (۶۳/۲)	۴۰ (۷۰/۲)	۳۱ (۸۳/۸)	۳۳ (۷۰/۲)
آرتریت	۷ (۱۸/۴)	۸ (۱۴)	۳ (۸/۱)	۶ (۱۲/۸)
LBP	۲۱ (۵۵/۳)	۲۶ (۴۵/۶)	۱۵ (۴۰/۵)	۲۴ (۵۱/۱)
هپاتومگالی	۱ (۲/۶)	۱ (۱/۸)	۱ (۲/۷)	۱ (۲/۱)
اسپلنومگالی	۷ (۱۸/۴)	۹ (۱۵/۸)	۸ (۲۱/۶)	۸ (۱۷)
لنفادنوپاتی	۷ (۱۸/۴)	۸ (۱۴)	۷ (۱۸/۹)	۸ (۱۷)
ایکتر	۲ (۵/۳)	۲ (۳/۵)	۱ (۲/۷)	۱ (۲/۱)
اپیدیمواورکیت	۴ (۱۰/۵)	۴ (۷)	۲ (۵/۴)	۳ (۶/۴)

جدول شماره ۲: فراونی یافته ها آزمایشگاهی در بیماران قطعی (PCR مثبت) مورد مطالعه

	PCR مثبت
آنمی	۲۶ (۶۸/۴)
لکوپنی	۲ (۵/۳)
ترومبوسیتوپنی	۱۰ (۲۶/۳)
ESR غیرطبیعی	۲۹ (۷۶/۳)
ALT غیرطبیعی	۲۳ (۶۰/۵)
AST غیرطبیعی	۱۹ (۵۰)
ALP غیرطبیعی	۲۸ (۷۳/۷)

ESR: سرعت رسوب اریتروسیت‌ها، ALT: آلانین آمینوترانسفراز، AST: آسپارتات آمینوترانسفراز، ALP: آلکالین فسفاتاز

جدول شماره ۳: بررسی حساسیت، اختصاصیت، ارزش اخباری مثبت و منفی و دقت کلی تست های مورد بررسی بر اساس PCR

تست مورد بررسی	حساسیت	اختصاصیت	ارزش اخباری مثبت	ارزش اخباری منفی	دقت کلی
تست رایت (تیتر ≤ ۱:۱۶۰)	۹۴/۷۳	۶۳/۶۳	۶۰	۹۵/۴۵	۷۵
الایزا IgM	۵۷/۸۹	۷۷/۲۷	۵۹/۴۵	۷۶/۱۱	۷۰/۱۹
الایزا IgG	۷۸/۹۴	۷۱/۲۱	۶۱/۲۲	۸۵/۴۵	۷۴

بحث

بروسلوز یکی از شایع‌ترین بیماری‌های زئونوتیک در بسیاری از نقاط جهان، به‌ویژه در ایران است که شیوع آن رو به افزایش است(۹،۱۰). این بیماری می‌تواند تظاهرات دیگر بیماری‌های عفونی را تقلید کند و هر ارگانی را در بدن انسان درگیر سازد(۱۱،۱۲). در نتیجه به دلیل تنوع تظاهرات بالینی و هم‌پوشانی این تظاهرات با بعضی از بیماری‌های عفونی دیگر، تشخیص این بیماری به صورت بالینی قطعی نبوده و نیازمند تست های آزمایشگاهی می‌باشد(۱۳،۱۴). تست‌های آزمایشگاهی که برای تشخیص بروسلوز مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل کشت خون، PCR، الایزا، آگلوتیناسیون و روزبنگال هستند(۱۰،۱۵،۱۶). هدف از مطالعه حاضر مقایسه آزمون الیزا و رایت با استاندارد PCR در بیماران مشکوک به بروسلوز از لحاظ بالینی و اپیدمیولوژیکی می‌باشد. میانگین سن بیماران مطالعه حاضر مشابه تقریباً با مطالعه Cetinkaya و همکارانش بود و همان‌طور که در مطالعه کاظمی و همکارانش بیان شده بود، در مطالعه ما نیز بیش‌تر بیماران با تشخیص قطعی در سنین ۳۰ تا ۳۹ سال بودند(۱۷،۱۸).

شایع‌ترین علامت بیماران مورد مطالعه ما به ترتیب تب، تعریق و آرترالژی بود. در مطالعه Buzgana و همکارانش آرترالژی و تب شایع‌ترین علایم بیماران مبتلا به بروسلوز بود و در بیمارانی که بروسلوز حاد داشتند، مشابه مطالعه حاضر شایع‌ترین علایم به ترتیب تب، آرترالژی و تعریق بود(۱۹). در مطالعه Gur و همکاران نیز از سه علامت فوق به همراه لرز (Chilling)، به عنوان شایع‌ترین علایم یاد شده بود(۲۰).

در مطالعه حاضر تب، اسپلنومگالی، لنفادنوپاتی و آرتریت محیطی جزء شایع‌ترین یافته های حاصل از معاینه فیزیکی بودند. Gur و همکارانش هپاتومگالی (۲۸ درصد)، اسپلنومگالی (۲۷ درصد) و لنفادنوپاتی (۸ درصد) را به عنوان شایع‌ترین یافته حاصل از معاینه فیزیکی بیان کردند. Buzgana و همکارانش نیز تب، هپاتومگالی، اسپلنومگالی و لنفادنوپاتی را شایع‌ترین یافته‌های در معاینه فیزیکی عنوان کردند(۱۹،۲۰). در مطالعه ما هپاتومگالی تنها در ۱/۷ درصد بیماران وجود داشت که کم‌تر از پژوهش‌های ذکر شده می‌باشد. با این حال سایر یافته‌های ذکر شده با یافته‌های بیماران حاضر در مطالعه ما هم‌خوانی نزدیکی دارد.

در مطالعه Buzgana و همکارانش آنمی در ۴۳/۹ درصد، لکوپنی در ۱۵/۳درصد و ترومبوسیتوپنی در ۱۱/۸ درصد بیماران وجود داشت(۱۹). در مطالعه محسن پور و همکارانش نیز آنمی در ۲۱/۷ درصد، لکوپنی در ۲۱/۸ درصد و ترومبوسیتوپنی در ۱۰/۸ درصد بیماران دیده شده بود(۲۱). این در حالی است که در مطالعه ما آنمی و ترمبوسیتوپنی در تعداد بیش‌تری از بیماران دیده شد (به ترتیب در ۶۸/۴ و ۲۶/۳ درصد). از سوی دیگر در مطالعه Gur و همکارانش آنمی در ۷۰ درصد بیماران دیده شد که به مطالعه ما نزدیک بود(۲۰). در مطالعه حاضر درصد بیش‌تری از بیماران نسبت به مطالعات مشابه ESR بالا داشتند(۱۹،۲۰). در بیماران مورد بررسی در مطالعه Gur و همکارانش، AST و ALT غیرطبیعی در ۴۴ و ۳۹ درصد بیماران و در بیماران مورد بررسیBuzgana و همکارانش، در ۳۱/۳ درصد بیماران دیده شده بود که نسبت به مطالعه ما کم‌تر بوده است (۵۰ و ۶۰/۵ درصد)(۱۹،۲۰). این تفاوت ممکن است به این دلیل باشد که در مطالعه آنان AST و ALT بالاتر از ۵۰ واحد در لیتر طبیعی در نظر گرفته می‌شد اما در مطالعه ما AST بیش از ۳۵ و ALT بیش از ۳۶ واحد در لیتر غیرنرمال محسوب می‌شد.

در مطالعه محسن‌پور و همکارانش حساسیت، اختصاصیت، PPV و NPV تست رایت به ترتیب برابر ۳۲/۵، ۹۴/۶، ۹۶/۶ و ۹۳/۱ درصد بود که نسبت به مطالعه حاضر حساسیت کم‌تری داشته اما از اختصاصیت بیش‌تری برخوردار بوده است(۲۱). هم‌چنین در مطالعه Taleski و همکارانش تست رایت حساسیت ۸۴ درصد و اختصاصیت ۱۰۰ درصد داشت(۲۲). در هر دو مطالعه

از کشت به عنوان تشخیص قطعی استفاده شده بود. در مطالعه حکمتی مقدم و همکارانش، مشابه با مطالعه ما از PCR به عنوان روش قطعی تشخیص استفاده شده بود که حساسیت تست رایت در مطالعه آن‌ها ۸۰ درصد، اختصاصیت ۹۸/۹ درصد، PPV ۹۵/۲۳ درصد و NPV برابر با ۹۴/۹۴ درصد برآورد شده بود(۲۳).

در مطالعه حاضر حساسیت، اختصاصیت، ارزش اخباری مثبت و منفی و دقت کلی الایزا IgM به ترتیب برابر با ۵۷/۸۹، ۷۷/۲۷، ۵۹/۴۵، ۷۶/۱۱، ۷۰/۱۹ درصد و الایزا IgG به ترتیب برابر با ۷۸/۹۴، ۷۱/۲۱، ۶۱/۲۲، ۸۵/۴۵ و ۷۴ درصد گزارش شد. نتایج مطالعه حاضر بیان‌گر آن است که به‌جز اختصاصیت، در سایر موارد آزمون الایزا IgG نسبت به IgM برتر بوده است. برخلاف این مطالعه در مطالعه وکیلی و همکاران، حساسیت آزمون الایزا IgM و IgG به ترتیب ۹۳/۷ درصد و ۱۲/۵ درصد، ویژگی آزمون الایزای IgM و IgG به ترتیب ۷۰/۶ و ۱۰۰ درصد گزارش شد. PPV آزمون الایزا IgM و IgG به ترتیب ۱۹/۴ درصد و ۱۰۰ درصد و در نهایت NPV آزمون الایزا IgM و IgG به ترتیب ۹۹/۳ و ۹۴ درصد بوده است(۲۴). حساسیت آزمون الایزا IgG در مطالعه حاضر با مطالعه سیسیراک و همکاران در سارایوو (۵۶ درصد) و کولمنر و همکاران (۶۸ درصد) در اسپانیا تقریباً مشابه است(۲۵،۲۶)، اما نسبت به مطالعه ممیش و همکاران در عربستان (۴۵/۶ درصد) بالاتر بوده(۲۷) و نسبت به مطالعه محرز و همکاران (۹۳ درصد) و آراج و همکاران در لبنان (۹۱ درصد) کم‌تر می‌باشد(۲۸، ۲۹). در مطالعه اصالت منش و همکاران آزمون الایزا IgM و IgG حساسیت بالاتری داشتند (۱۰۰ درصد) اما ویژگی این دو آزمون به ترتیب ۶۳/۳ و ۷۲/۷ درصد بود که به نتایج مطالعه ما شبیه بود. علاوه بر این PPV هر دو آزمون در مطالعه آنان ۱۰۰ درصد بود که نسبت به مطالعه حاضر بیش‌تر بود، اما NPV مطالعه آن‌ها به ترتیب ۸۳/۳ درصد و ۸۶/۹ درصد بود که به این مطالعه نزدیک است(۷).

در پایان مطالعه ما نشان داد که تست رایت در مقایسه با تست الایزا حساسیت بیش‌تر، اختصاصیت کم‌تر، PPV تقریباً برابر، NPV بیش‌تر و در مجموع دقت کلی بالاتری دارد. بین دو تست الایزا IgM و IgG، به غیر از اختصاصیت، در سایر موارد الایزا IgG از IgM برتر بود.

سپاسگزاری

از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران به خاطر حمایت مالی این طرح تشکر می‌گردد. این مقاله حاصل پایان‌نامه دستیاری دکتر لطف اله داودی می‌باشد.

References

1. Young EJ. Mandell, Douglas, bennets, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. USA: Natasha Andjelcovic; 2010. p. 2921-2925.
2. Kasper DL, Fauci AS. In: Braunwald EA, editor. Harrison's principles of internal medicine. 17th ed. New York: MCGraw-Hill; 2011. p. 973-976.
3. Zeinali M. Iranin national of guideline for brucellosis controlMinistery of health and medical education Health deputy center for disease control zoonoses office. 2012: 17-18.
4. Najafi N, Ghassemian R, Davoody AR, Tayebi A. An unusual complication of a common endemic disease: clinical and laboratory aspects of patients with brucella epididymoorchitis in the north of Iran. BMC Research Notes 2011; 4(1): 286.
5. Seyednozadi M, Erfanian MR. Evaluation of diagnostic validity of Wright's serologic test

in Brucellosis. J Birjand Univ Med Sci 2009; 16(3): 13-18.

6. Mohraz M, Kariminia A, Sarafnejad A. The Evaluation of Serologic Test (Elisa) in Brucellosis identification at Imam Khomaini Hospital. Iran Journal of Infectious and Tropical Disease 2003; 8(23): 10-13.
7. Esalatmanesh K, Soleimani Z, Arj A, Akbari H, Salesi M. Diagnostic value of ELISA (IgG and IgM) test in brucellosis patients in Kashan during 2004. Feyz 2008; 12(3): 47-50.
8. Mantur B, Parande A, Amarnath S, Patil G, Walvekar R, Desai A, et al. ELISA versus conventional methods of diagnosing endemic brucellosis. Am J Trop Med Hyg 2010; 83(2): 314.
9. Alişkan H. The value of culture and serological methods in the diagnosis of human brucellosis. Mikrobiyoloji Bulteni 2008; 42(1): 185-195.
10. Karami AR, Movassagh MH. Seroprevalance of brucellosis in human population in northwest region of Iran. Global Vet 2010; 4: 626-627.
11. Gómez MC, Nieto JA, Rosa C, Geijo P, Escribano MÁ, Muñoz A, et al. Evaluation of seven tests for diagnosis of human brucellosis in an area where the disease is endemic. Clinical and Vaccine Immunology 2008; 15(6): 1031-1033.
12. Rajaii M, Naghili B, Pourhassan A. Comparison of ELISA and STA tests in diagnosis of Brucellosis. Iran J Clin Infect Dis 2006; 1(3): 145-147.
13. Richtzenhain LJ, Cortez A, Heinemann MB, Soares RM, Sakamoto SM, Vasconcellos SA, et al. A multiplex PCR for the detection of Brucella spp. and Leptospira spp. DNA from aborted bovine fetuses. Vet Microbiol 2002; 87(2): 139-147.
14. Leal-Klevezas DS, Martinez-Vazquez IO, Lopez-Merino A, Martinez-Soriano JP. Single-step PCR for detection of Brucella spp. from blood and milk of infected animals. J Clin Microbiol 1995; 33(12): 3087-3090.
15. Abdi-Liae Z, Soudbakhsh A, Jafari S, Tomaj HEK. Haematological manifestations of brucellosis. Acta Medica Iranica 2007; 45(2): 145-148.
16. Heydari F, Mozaffari NA, Tukmechi A. Comparison of Standard Seroagglutination Tests and ELISA for Diagnosis of Brucellosis in West Azerbaijan Province. Iran Res J Biol Sci 2008; 3: 1460-1462.
17. Cetinkaya Z, Aktepe OC, Ciftci IH, Demirel R. Seroprevalence of human brucellosis in a rural area of Western Anatolia, Turkey. J Health Popul Nutr 2005; 23(2): 137-141.
18. Kazemi B, YousefiNamin SA, Bandepour M, Kafilzadeh F, Gachkar L, Mahmoudinejad F, et al. Detection of Brucella by Peripheral Blood PCR and Comparison with Culture and Serological Methods in Suspected Cases. Iran J Publ Health 2008; 37(4): 96-102.
19. Buzgan T, Karahocagil MK, Irmak H, Baran AI, Karsen H, Evirgen O, et al. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature. International Journal of Infectious Diseases 2010; 14(6): e469-e478.
20. Gin A, Geyikz MF, Dikici B, Nas K, Qevik R, Sarags J, et al. Complications of brucellosis in different age groups: a study of 283 cases in southeastern Anatolia of Turkey. Yonsei Medical Journal 2003; 44(1): 33-44.
21. Mohsenpour B, Afrasiabian S, Hajibagheri K, Ghaderi E. Is Wright Test an Appropriate Screening Test for Diagnosis of Brucellosis?

American Journal of Infectious Diseases 2011; 7(2): 28-31.

22. Taleski V, Zerva L, Kantardjiev T, Cvetnic Z, Erski-Biljic M, Nikolovski B, et al. An overview of the epidemiology and epizootology of brucellosis in selected countries of Central and Southeast Europe. Veterinary Microbiology 2002; 90(1): 147-155.
23. Colmenero J, Reguera J, Martos F, Sanchez-De-Mora D, Delgado M, Causse M, et al. Complications associated with Brucella melitensis infection: a study of 530 cases. Medicine 1996; 75(4): 195-211.
24. Vakili Z, Momen Heravi M, Sharif A, Masoomi M. Sensitivity and specificity of ELISA test in diagnosis of brucellosis. Kowsar Medical Journal 2010; 15(2): 95-98.
25. Sisirak M, Hukić M. Evaluation and importance of selected microbiological methods in the diagnosis of human brucellosis. Bosnian journal of basic medical sciences 2009; 9(3): 198-203.
26. Colmenero J, Reguera J, Martos F, Sanchez-De-Mora D, Delgado M, Causse M, et al. Complications associated with Brucella melitensis infection: a study of 530 cases. Medicine 1996; 75(4): 195-211.
27. Memish ZA, Almuneef M, Mah MW. Comparison of brucella, standard agglutination test with the ELISA IgG and IgM in patients with brucella bacteremia. Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 44(2): 129-132.
28. Mohraz M, Kariminia A, Sarafnejad A, Almaee Z. Evaluation of DOT-ELISA indiagnosis of brucellosis in Imam Khomeini hospital, 2000. Iran J Infec Dis Trop Med 2003; 23(8): 10-13.
29. Araj GF, Kattar MM, Fattouh LG, Bajakian KO, Kobeissi SA. Evaluation of the PANBIO Brucella immunoglobulin G (IgG) and IgM enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of human brucellosis. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology 2005; 12(11): 1334-1335.