Downloaded from ijmm.ir at 20:37 +0330 on Tuesday October 16th 2018

Short Review

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 12, Number 1 (March - April)

Journal homepage: www.ijmm.ir

The Challenges in Diagnosis of Brucellosis Serological Tests and Available Approaches

Massoud Hajia

Professor of Medical Microbiology Health Reference Laboratory, Ministry of Health and Higher Education, Tehran, Iran

Article Information

Article history:
Received: 2018/01/27
Accepted: 2018/02/26
Available online: 2018/05/14

Article Subject:
Clinical Microbiology

IJMM 2018; 12(1): 01-05

Corresponding author:

Massoud Hajia
Professor of Medical Microbiology Health Reference Laboratory, Ministry of Health and Higher Education, Tehran, Iran

Email:
masoudhajia@yahoo.com

Use your device to scan and read the article online

Abstract

Brucellelosis has been almost eradicated in developed countries while in under developed areas from Mediterranean regions to Arabic countries and even in Indian subcontinental can cause serious health problems. This point can be found out easily in released reports. It is over a century that various serological methods have been introduced and applied for diagnosis of brucella infection, but all were not able to provide satisfactory results. Therefore, clinicians treat the patients with various unspecific treatment protocols based on clinical signs and symptoms, consequently causing treatment failure or possible relapse later on. This article aimed to have short survey on serological diagnosis of brucellosis and proposed an approach at present situation of brucellosis diagnostic specifically for local laboratories.

Keywords: Brucellosis, Diagnosis, Tube Agglutination Test

Copyright © 2018 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Hajia M. The Challenges in Diagnosis of Brucellosis Serological Tests and Available Approaches . Iran J Med Microbiol. 2018; 12 (1) :01-05

Downloaded from ijmm.ir at 20:37 +0330 on Tuesday October 16th 2018

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۱۲ – شماره ۱ – فروردین-اردیبهشت ۱۳۹۷

Journal homepage: www.ijmm.ir

مروری کوتاه

چالش‌های تشخیص آزمایش‌های سرولوژیکی بروسلوز و رویکردهای در دسترس

مسعود حاجیا

استاد میکروب‌شناسی پزشکی، آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۰۷

پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۰۷

انتشار آنلاین: ۱۳۹۷/۰۲/۲۴

موضوع:

میکروب شناسی بالینی

IJMM1397;12(1): 01-05

نویسنده مسئول:

مسعود حاجیا

استاد میکروب‌شناسی پزشکی، آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

پست الکترونیک:

masoudhajia@yahoo.com

چکیده

در حالی‌که بروسلوزیس در کشورهای توسعه‌یافته و پیشرفته تقریباً ریشه‌کن شده است، در کشورهای در حال توسعه از نواحی مدیترانه تا شبه قارهٔ هندوستان و کشورهای عربی سبب مشکلات جدی بهداشتی می‌شود که این موضوع در بررسی گزارش‌ها بسیار مشاهده می‌شود. بیش از صد سال است که روش‌های متعدد سرولوژیک در تشخیص این بیماری معرفی و به‌کارگیری شده‌اند، اما هیچ یک قادر نبوده‌اند تا به‌حال نتایج رضایت‌بخشی را فراهم کنند لذا پزشکان پیوسته در موارد مذکور براساس علائم بارز کلینیکی اقدام به درمان بیماران با رژیم‌های درمانی گوناگون و بعضاً غیراختصاصی می‌کنند که حداقل نتیجهٔ آن شکست درمان و عود بروسلوزیس است. در این مطالعه کوشش شده است با بررسی اجمالی عوامل موثر در تشخیص سرولوژیک بیماری، مشکلات کنونی بررسی شده و راهکارهایی برای بهبود وضعیت تشخیصی بروسلوزیس به‌ویژه برای آزمایشگاه‌های بومی پیشنهاد شود.

کلمات کلیدی: بروسلوزیس، تشخیص، آزمایش آگلوتیناسیون لوله‌ای

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

بروسلوزیس بین بیماری‌های عفونی، یکی از گرفتاری‌هایی است که برای تشخیص آن به مجموعه‌ای از اطلاعات اپیدمیولوژیکی، بالینی و آزمایشگاهی نیاز است (۱). متاسفانه در سال‌های اخیر علی‌رغم اتخاذ تدبیرهای متعدد میزان بروسلوزیس گزارش شده، در برخی مناطق افزایش یافته است. عده‌ای از محققان تاخیر تشخیصبروسلوزیس را فاکتور اصلی در افزایش فراوانی بیماری دربرخی مناطق معرفی کرده‌اند (۲،۳). در حالی که در برخی گزارش‌های دیگر، نقش عوامل محیطی و جغرافیایی به‌ویژه دسترسی نداشتن افراد به تسهیلات بهداشتی ـ درمانی از دلایل احتمالی تاخیر عنوان شده است. براساس گزارش پاکزاد و همکاران که در سطح کل کشور انجام شده فراوانی بیماری در مجاورت رشته کوه زاگرس کوهرنگ و استان چهارمحال و بختیاری و آذربایجان شرقی بیشتر است. به گونه‌ای که میزان فراوانی بروسلوزیس در مقایسه با متوسط کشوری چندین برابر بوده است و از ۳۱۷ در صد هزار در سال ۲۰۱۱ به ۳۸۴، ۵۳۴ و ۵۸۳ در سال‌های ۲۰۱۲، ۲۰۱۳ و ۲۰۱۴ افزایش پیدا کرده است (۲). در این گزارش میزان بالای فراوانی بروسلوزیس را به‌سبب عوامل جغرافیایی دانسته‌اند و تاکید شده ارتفاعات کم و رطوبت متوسط باعث ایجاد مناطقی با پوشش گیاهی می‌شوند و شرایط

Downloaded from ijmm.ir at 20:37 +0330 on Tuesday October 16th 2018

آب‌وهوایی محیط مناسب برای بقا و گسترش بیماری را فراهم می کند.

در این گزارش‌ها به تاثیر سایر عوامل توجهی نشده است. سطح نامناسب پوشش برنامهٔ واکسیناسیونِ دام‌ها، نبودن برنامهٔ کشوری کنترل ورود دام‌های آلوده از کشورهای همسایه، همچنین نظارت کافی نداشتن بر بهداشتِ شیر و سایر محصولات لبنی دامداری‌های محلی، از سایر مواردی است که می‌تواند سبب گسترش انتشار بروسلوزیس باشد. البته مشکلات تشخیص و توانمند نبودنِ آزمایشگاه‌های محلی این مناطق در شناسایی بیماری‌های بومی هم از دیگر عوامل گسترش این بیماری است. در دسترس نبودن کیت‌های قابل اعتماد تشخیصی حتی در آزمایش های روتین آگلوتیناسیون، حساس نبودنِ یکسان کیت‌های تشخیصی در گونه‌های ملی‌تنسیس و آبورتوس، مشخص نبودن فراوانی گونه‌های بروسلوزی در ایران به‌ویژه آبورتوس و ملی تنسیس هم از دیگر مشکلات این عرصه است. در کنار این موارد باید به بررسی نکردن مقاومت دارویی بروسلا نیز اشاره کرد. وجود ۶/۶۴٪ عود بروسلوزیس موید وجود مقاومت دارویی یا موثر نبودن برخی از رژیم‌های درمانی است (۴). در بررسی‌ای که عبدالمقصود در مصر انجام داده، میزان مقاومت به ریفامپین ۶۴٪ گزارش شده است (۵). در حالی که در بررسی‌های مقایسه‌ای رژیم‌های گوناگون درمانی اختلاف معنی‌داری با تجویز و بدون استفاده از ریفامپین گزارش نشده است (۶،۷).

روش‌های سرولوژیک

در بیماری بروسلوزیس در پی تحریک سیستم ایمنی و پاسخ ایمنی هومورال، آنتی‌بادی‌های IgA, IgG, IgM و مقدار جزئی از IgE در سرم حضور خواهد داشت. به‌دنبال عفونت بروسلوزیس معمولا IgM از روز ۷-۵ ظاهر شده و در ۳-۲ هفته بعدی به اوج خود می‌رسد، تولید IgG1 و IgG2 از روز ۲۱-۱۴ شروع شده و در عرض ۳-۲ هفته بعدی به میزان نهایی رسیده و دوام بیشتری خواهد داشت و در ۸۰٪ درصد موارد تیتر آن در مرحلهٔ حاد به ۸ برابر یا حتی بیشتر افزایش می‌یابد (۸،۹). ممکن است در شکل مزمن بیماری فقط این آنتی بادی حضور داشته باشد. درصورت درمان کامل تیتر آن ظرف ۶ ماه تا یک‌سال پس از اتمام درمان به میزان چشمگیری کاهش یافته یا اصولا محو می شود. البته چنانچه درمان کامل صورت نگیرد، میزان آنتی‌بادی همچنان بالا خواهد ماند. البته تیتر آنتی‌بادی‌های اختصاصی افراد مناطق آندمیک بیش از حد طبیعی بوده که می‌تواند برای تشخیص گمراه‌کننده باشد (۹). البته در کنار آن وجود واکنش متقاطع با طیفی از ارگانیسم‌ها را هم باید در نظر داشت (۱۰،۱۱) بنابراین در بررسی آزمایش سرولوژیک جدا از شرایط اپیدمیولوژیک و پاتولوژیک، زمان انجام آزمایش سرم، اهمیت بسیاری دارد.

روش‌های قدیمی مبتنی بر مشاهده آگلوتیناسیون سال‌ها است که در تشخیص آنتی‌بادی‌های اختصاصی بروسلوزیس به کارگرفته می‌شود. این آزمایش‌ها معمولا با تهیه رقت‌های سریالی از ۱/۲۰ تا ۱/۲۵۶۰ تهیه می‌شود. در دستورالعمل راهنمای بروسلوزیس که سازمان مدیریت بیماری‌ها انتشار داده‌اند، تیتر ۱/۸۰ و بالاتر به معنی وجود بیماری معرفی شده، گرچه منطقی است که در مناطق آندمیک حداقل یک تیتر بالاتر یعنی ۱/۱۶۰ به‌عنوان وجود بیماری در نظر گرفته شود. کاهش ارزش تشخیصی تست از ۱/۳۲۰ به ۱/۱۶۰ و در نهایت به ۱/۸۰ سبب افزایش حساسیت تست در بیماران بروسلوزی شده است اما این الزاماً به معنی وجود بروسلوزیس در افراد واجد تیتر ۱/۸۰ نیست چون برای افرادی که در مناطق آندمیک زندگی می‌کنند، تیتر ۱/۱۶۰ به‌عنوان تیتر پایهٔ تشخیصی قبول می‌شود یا در افرادی که مستقیماً با دام سروکار دارند، ممکن است تیتر ۱/۳۲۰ مبنیِ قضاوت قرار گیرد (۱۲،۱۳). به‌نظر می‌رسد با توجه به ابهام‌های متعدد در این زمینه، ضروری است طی بررسی دقیق‌تری میزان حساسیت و ارزش تشخیصی تست در بیماران بروسلوزی اندازه گیری شود.

از آنجا که آگلوتیناسیون لوله‌ای، حساسیت کمتری در تشخیص IgG به‌ویژه IgG1 دارد، لذا درصورت به‌کارگیری آن همراه با روش ME ۲ که با حذف IgM به‌اندازه‌گیری اختصاصی IgG می‌پردازد، به همراه روش Coombs نشان داده در تعدادی از بیماران می‌تواند تفسیر بهتری از وضعیت بیمار ارائه کند. اتخاذ برخی اقدامات اصلاحی نظیر انجام تست در شرایط pH نزدیک به نرمال یا به‌کارگیری EDTA گزارش شده که می‌تواند سبب افزایش ویژگی تست شود. معهذا گزارش‌های مکرر موید آن است که این روش در درصد چشمگیری از بیماران، حساسیت مناسبی ندارد. معرفی روش‌های Immunocapture و روش Coombs Jel هم گرچه سبب افزایش حساسیت اندک تست، شده اما به‌واسطهٔ آن که اساس تمام این روش‌ها مشابه است، هنوز نتوانسته تاثیر محسوسی در افزایش حساسیت این روش‌ها داشته باشد. بررسی های مقایسه‌ای متعدد بین روش‌های مبتنی بر آگلوتیناسیون و ایمونو اسی در اکثر مقالات موید حساسیت بالاتر برای ایمونو اسی

بوده است (۱۴،۱۵) اما با توجه به آنکه روش‌های کلاسیک آگلوتیناسیون همراه با روش‌های ME ۲ و کومبس امکان تفسیر بهتری از وضعیت بیماری فراهم می‌کند، کماکان مراکز تشخیصی و پزشکان علاقه‌مند به استفاده از این روش‌ها در تشخیص موارد مشکوک به بروسلوزیس هستند. متاسفانه با توجه به ماهیت ارگانیسم و همچنین وِیژگی بیماری و به‌کارگیری روش کشت و جداسازی حتی در سیستم BACTEC نیز نتوانسته جایگزین مناسبی برای بیماران مشکوک به بروسلوزیس به‌دست دهد (۱۸-۱۶). روش PCR که به‌تازگی در تشخیص بروسلوز به‌کار گرفته شده است نیز با معضلات متعددی همراه بوده است (۱۶،۱۹،۲۰).

وضعیت تیتر آنتی بادی در بیماران

گزارش‌ها در زمینهٔ بررسی‌های سرواپیدمیولوژیک بسیار محدود است اما این تعداد محدود موید این نکته هستند که وجود بیماری گاه همراه با تایید حضور آنتی‌بادی یا در حد تشخیص نیست (۷). در گزارش چگینی و همکاران از ۳۱۲ بیمار در منطقهٔ عشایری که واجد بروسلوزیس بودند، فراوانی آنتی‌بادی‌ها در تست های رایت، کومبس و ME ۲ به ترتیب ۲۹/۵٪، ۲۹/۹٪ و ۲۱/۱٪ بود (۲۱). البته در این بررسی تیتر ۱/۸۰ و بالاتر به معنی وجود بیماری در نظر گرفته شده بود. در بررسی zargar روی بیماران بروسلوزی بستری در بیمارستان امام خمینی انجام داد،گزارش شده که آزمایش رایت فقط در ۳۲ مورد از ۴۵ مورد بیمار بستری شده واجد تیتر ۱/۱۶۰ و یا بالاتر بودند (۷۱/۱۱٪) یعنی ۲۸/۸۹٪ از بیماران فاقد شواهد قطعی در تست رایت بودند (۱۷).

جایگاه سیستم بهداشتی در تشخیص بروسلوزیس:

هم‌اکنون آزمایشگاه‌های سیستم بهداشتی متقبل انجام تعداد زیادی از درخواست‌های تشخیصی در این حوزه‌اند. خدمات و آزمایش‌های سطوح مختلف این آزمایشگاه‌ها در برنامهٔ پزشک خانواده و بیمهٔ روستایی در دو سطح یک و دوی مراکز بهداشتی روستایی و مراکز بهداشتی شهرستان و استان با تعرفه‌های مناسب در حال ارائهٔ خدمات به بیماران در کل کشور هستند که ضرورت دارد زیر نظر مسئول فنی حداقل در مراکز استانی بر نحوهٔ انجام تست نظارت دقیق‌تری به‌عمل آید. البته بدیهی است، همچنان نیازمند آنیم که نمونه‌هایی که با تشخیص صحیح آزمایشگاهی همراه نیستند، برای بررسی دقیق‌تر و سنجش سطح تشخیصی هر تست به یک مرکز رفرال ارسال شود. بدیهی است این مهم و تعیین مرکز رفرال بر عهدهٔ سیستم بهداشتی وزارت بهداشت است.

نتیجه‌گیری

آنچه ما در آزمایشگاه باید بدان توجه کنیم این مهم است که بپذیریم ماهیت بیماری بروسلوزیس با سایر بیماری‌ها متفاوت است. برای هر گروه از بیماران هر تستی نمی‌تواند جواب رضایت بخشی داشته باشد. برای عفونت‌های مزمن و افراد در دوران نقاهت و بیمارانِ با شرایط پیچیده و بستری در بیمارستان با توجه به ناکارآمدی روش‌های آگلوتیناسیون، می‌باید از روش‌های مناسب‌تر استفاده شود و سیستم بهداشتی بپذیرد که آزمایشگاه‌های بیمارستان‌ها و مراکز بهداشتی سایر روش‌های آلترناتیو را مدنظر قرار دهند. همچنین ضروریست آزمایشگاه‌های مرکزی شبکهٔ بهداشتی هر منطقه نسبت به گونهٔ بومی آن منطقه بررسی لازم را انجام دهند و با آگاهی از نوع عامل بیماری‌زا احتمال موفقیت آزمایش‌ها با انتخاب صحیح روش مناسب افزایش یابد. بدیهی است انتخاب روش آزمایش یا انجام آزمایش‌های تکمیلی برای این بیماران متوجه مسئول فنی آن مرکز خواهد بود. در کنار این موارد ضروریست دستورالعمل فنی اصلاح شده، به‌ویژه برای روش‌های مبتنی بر آگلوتیناسیون همراه با توضیح خطاهای احتمالی و راهکارهای برطرف کردن آن به‌دست متولیان امور تهیه و برای مراکز ارسال شود و با معرفی مرکز رفرال برای بررسی دقیق‌تر نمونه‌های مشکوکی که واجد جواب منفی بوده‌اند، سطح تشخیصی هر تست دقیق‌تر ارزیابی شود.

سپاسگزاری

نویسنده از تمام کسانی که در اجرای این تحقیق صمیمانه یاری رسانده‌اند، تقدیر و تشکر می‌کند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

Downloaded from ijmm.ir at 20:37 +0330 on Tuesday October 16th 2018

Downloaded from ijmm.ir at 20:37 +0330 on Tuesday October 16th 2018

References

1. Hajia M, Rahbar M, Keramat F. Epidemiological, clinical, diagnostic and treatment aspects of hospitalized brucellosis patients in Hamadan. Ann Trop Med Public Health. 2009; 2(2):42-5.

2. Pakzad R, Pakzad I, Safiri S, Shirzadi MR, Mohammadpour M, Behroozi A (et al.). Spatiotemporal analysis of brucellosis incidence in Iran from 2011 to 2014 using GIS. International Journal of Infectious Diseases. 2018;67:129-36. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2017.10.017 PMid:29122689

3. Eales KM, Norton RE, Ketheesan N. Short Report: Brucellosis in Northern Australi. Am J Trop Med Hyg. 2010;83(4):876-8. https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.10-0237 PMid:20889883 PMCid:PMC2946760

4. Hajia M. , Keramat F. Study On the rate of Brucellosis relaps efficiency Different Treatment Protocols in among Hospitalized Patient in Educational Hospital of Hamadan. J Mil Med 2003;5(3):195-9.

5. Abdel-Maksoud M, Hose B, Wasfy M, Abdel Rahman B. In vitro antibiotic susceptibility testing of *Brucella* isolates from Egypt between 1999 and 2007 and evidence of probable rifampin resistance. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. 2012;11:24. https://doi.org/10.1186/1476-0711-11-24 PMid:22929054 PMCid:PMC3464789

6. Taghvaee MR, Nozadi MS, Hassani M. A Comparison Between Doxycycline-Refampin and Ciprofloxacin-Rifampin Regimes in Treatment of Acute Brucellosis. Indian Journal of Medical Sciences. 2011;65(11):436-47. PMid:23511044

7. Hashemi SH, Gachkar L, Keramat F, Mamani M, Hajilooi M, Janbakhsh A (et al.). Comparison of doxycycline–streptomycin, doxycycline–rifampin, and ofloxacin–rifampin in the treatment of brucellosis: a randomized clinical trial. International Journal of Infectious Diseases. 2012;16:e247-51. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.12.003 PMid:22296864

8. Hajia M, Rahbar M, Taghavi HA. Brucellosis Antibody Level of Hospitalized Patients in Hamadan, Western Iran. Shiraz E-Medical Journal. 2007;8(3):1-5.

9. Franco MP, Mulder M, Gilman R, Smits HL. Human Brucellosis. Lancet Infect Dis. 2007;7:775–86. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70286-4

10. Nielsen K, Smith P, Widdison J, et al. Serological relationship between cattle exposed to Brucella abortus, Yersinia enterocolitica O:9 and Escherichia coli O157:H7. Vet Microbiol 2004; 100**:** 25–30. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.12.010 PMid:15135510

11. Perry MB, Bundle DR. Lipopolysaccharide antigens and carbohydrates of Brucella. In: Adams LG, editor. Advances in brucellosis research. Austin, Texas A and M University; 1990. p. 76-88.

12. Memish Z, Mah MW, Suliman AM, Shaalan M, Khan Y. Brucella Bacteraemia: Clinical and Laboratory Observations in 160 Patients. Journal of Infection. 2000; 40: 59–63. https://doi.org/10.1053/jinf.1999.0586

13. Zoghi E, Samar G. Interpretation of brucellosis serology tests [in Persian]. Nabz J. 1996;6:30Y34

14. Hajia M, Fallah F, Angoti G, Karimi A,Rahbar M, Gachkar L, et al. Comparison of methods for diagnosing Brucellosis. *Lab Med. 2013; 44(1):29-33. https://doi.org/10.1309/LM4J9MWOBIPA6RBN*

15. Christopher S, Umapathy BL, Ravikumar KL. Brucellosis: review on the recent trends in pathogenicity and laboratory diagnosis. Journal of laboratory physicians. 2010;2(2):55–60. https://doi.org/10.4103/0974-2727.72149 PMid:21346896 PMCid:PMC3040083

16. Hajia M, Sohrabi A. Molecular Diagnostic Methods of Brucellosis: a Note on Pitfalls. Iran J Path. 2018…. PMid:29582635

17. Amirzargar A, Hassibi M, Maleknejad P, Hajia M, et al. Comparison of diagnostic methods in hospitalized patients with brucellosis in Iran. Inf Dis Clin Pract. 2009;17(4):239-42. https://doi.org/10.1097/IPC.0b013e31818718e8

18. Hajia M, Rahbar M. Isolation of Brucella from blood culture of hospitalized brucellosis patients. Iranian J Clin Infect Dis. 2006;1(2):5-10.

19. Golshani M, Buozari S. A Review of Brucellosis in Iran: Epidemiology, Risk Factors, Diagnosis, Control, and Prevention. Iranian Biomedical Journal. 2017;21(6):349-59. PMid:28766326 PMCid:PMC5572431

20. Mantur BG, Amarnath, Shinde RS. Review of Clinical and Laboratory features of human brucellosis. Indian J Med Microbiol 2007;25:188-202. https://doi.org/10.4103/0255-0857.34758

21. Chegini AS, Ezatpour B, Saki M, Mokhayeri H, Adavi S, Nasiri E, Azami M. Seroepidemiology of human brucellosis in nomads in a rural area of Iran. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 2014;4(4):333-6.

https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60584-3