● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ هفدهم، شمارهٔ ٤، ص ٣٦٠-٣٥٥، ١٣٨٩

مقالهٔ پژوهشی

کفایت تست رایت در تشخیص بیماری بروسلوز کودکان

علی حسینی‌نسب*[1]، عبدالوهاب البرزی[2]

خلاصه

مقدمه: بیماری بروسلوز از مسائل مهم بهداشتی در کشورهای در حال توسعه از جمله کشور ما می‌باشد. تشخیص بیماری بر اساس شرح حال، علائم بالینی و تست مثبت سرولوژی آگلوتیناسیون سرمی (تست رایت)، می‌باشد. هدف این مطالعه ارزیابی این تست در تشخیص بروسلوز کودکان می‌باشد.

روش: این مطالعه به‌صورت آینده‌نگر به مدت ۲ سال انجام شده است و در آن ۵۲ کودک که تشخیص بالینی بروسلوز برای آنها مطرح بود مورد مطالعه قرار گرفتند. با این فرض که بیماران دارای بروسلوز فعال در منطقه ما دارای تست رایت ۱/۸۰ و بالاتر هستند همه نمونه‌های خون از نظر کشت با روش BACTEC و تست رایت مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: از مجموع ۵۲کودک با علائم بالینی بروسلوز، تست رایت در ۲۵ بیمار وکشت خون در ۱۰ مورد مثبت بود. در نهایت ۲۶ نفر با تشخیص بروسلوز تحت درمان قرار گرفتند. در ۲۶ بیمار تست رایت و کشت خون هر دو منفی بود و تشخیص نهایی، بیماری دیگری غیر از بروسلوز بود. کشت خون به‌عنوان استاندارد طلایی تشخیص بروسلوز در نظر گرفته شده است. حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی تست رایت در تشخیص بروسلوز کودکان به‌ترتیب ۹۰ درصد، ۶۴/۲ درصد، ۳۷/۵درصد و ۹۶/۲ درصد محاسبه گردید.

نتیجه‌گیری: در شرایط بهداشتی کشور تست رایت روشی مطمئن، آسان، ارزان و در دسترس برای رد یا اثبات بیماری بروسلوز در کودکان می‌باشد.

کلمات کلیدی: بروسلوز،کودکان، تست رایت

۱- استادیار گروه کودکان، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۲- استاد گروه کودکان، مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی استاد البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

* **نویسنده مسؤول، آدرس:** گروه کودکان، مرکز آموزشی –درمانی افضلی‌پور، انتهای بلوار ۲۲ بهمن، کرمان ● **آدرس پست الکترونیک:** Ali4221@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۱۰/۲۰ **دریافت مقاله اصلاح شده :** ۱۳۸۹/۲/۲۵ **پذیرش مقاله:** ۱۳۸۹/۳/۱۳

مقدمه

بیماری بروسلوز از مسائل مهم بهداشتی در کشورهای در حال توسعه از جمله کشور ما می‌باشد. بیماری در بسیاری از افرادی که زندگی سنتی دارند و از شیر و لبنیات غیرپاستوریزه استفاده می‌کنند و در تماس مستقیم و نزدیک با دام‌ها هستند دیده می‌شود. گونه‌های مختلف باکتری عامل بیماری از بز، گوسفند، شتر، گاو، سگ و خوک به انسان منتقل می‌شوند. این بیماری علائم بالینی گسترده‌ای همچون تب طولانی، درد استخوان و مفاصل و درگیری قلب و سیستم عصبی مرکزی ایجاد می‌کند. از آنجایی که این بیماری دارای علائم متعددی است بنابراین باید در تشخیص افتراقی همه بیماران تب‌دار و بدون تبی که درگیری ارگان‌های مختلف دارند در نظر گرفته شود (۱). بیماری حتی می‌تواند به‌صورت ترومبوسیتوپنی وابسته به ایمنی تظاهر کند (۲). تشخیص قطعی بر اساس جدا کردن باکتری از خون، مغز استخوان و سایر بافت‌های بدن به روش کشت صورت می‌گیرد. کشت به زمانی حدود ۷-۵ روز نیاز دارد و در بهترین شرایط در کمتر از نیمی از بیماران مثبت می‌شود (۳). در اکثر موارد بر اساس شرح حال، علائم بالینی و تست مثبت سرولوژی، بیماران به‌عنوان تشخیص بروسلوز تحت درمان قرار می‌گیرند (۴). در بیشتر مناطق کشور ما امکان استفاده از روش‌های جدید کشت خون همانند سیستم Bactec وجود ندارد به علاوه کشت خون فقط در ۱۵ تا ۳۵ درصد موارد بیماری فعال مثبت می‌شود. تست رایت به‌عنوان شایع‌ترین روش تشخیصی مورد استفاده در بیماری بروسلوز دارای موارد مثبت و منفی کاذب نیز می‌باشد (۷-۵). بنابراین ارزیابی کارایی آن در شرایط جامعه ما ضروری به نظر می‌رسد. این مطالعه برای اولین بار در ایران به ارزیابی کارایی تست مذکور در تشخیص بیماری بروسلوز کودکان می‌پردازد.

روش بررسی

این مطالعه آینده‌نگر به مدت ۲ سال ازمهرماه ۱۳۸۵تامهر ماه ۱۳۸۷در بیمارستان نمازی شیراز بر روی کودکان مراجعه کننده با علائم بالینی بیماری بروسلوز برای ارزیابی تست سرولوژی رایت صورت گرفته است. کشت خون و تست رایت در ۵۲ کودک از یک منطقه جغرافیایی که تشخیص بالینی بروسلوز برای آنها مطرح بود انجام شد. کشت خون به روش BACTEC 9240 instrument (Becton Dickinson, Baltimore, Maryland) و تست رایت (Genzyme Virotech GmbH, Lowenplatz, Russelsheim, Germany) هر دو در مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی استاد البرزی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شده است. ایزوله‌های بروسلا به روش‌های بیوشیمیایی مشخص می‌گردیدند (۸). سرم بیماران به روش آگلوتیناسیون سرمی مورد آزمایش قرار می‌گرفت. برای جلوگیری از پدیده پروزون همه نمونه‌های سرم رقیق می‌شدند. تیتر بیشتر یا مساوی $\frac{۱}{۸۰}$ مثبت در نظر گرفته شده است (۹). شرح حال بیماران، نتایج معاینه بالینی و نتیجه آزمایشات در فرم مخصوص جمع‌آوری و همه اطلاعات بیماران محرمانه نگه داشته می‌شد. اطلاعات به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزارSPSS15 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است. برای بررسی ارزش تست از محاسبه حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی استفاده شده است.

نتایج

از مجموع ۵۲ کودکی که با علائم بالینی بروسلوز بستری شدند، ۲۶ بیمار با توجه به تست رایت مثبت یا بدون کشت خون مثبت به‌عنوان بروسلوز تحت درمان قرار گرفتند که همه موارد در پی‌گیری‌های بعدی بهبودی کامل داشتند. از مجموع ۲۶ بیمار با تشخیص نهایی بروسلوز، کشت خون در ۱۰ مورد (۳۸/۴٪) باکتری بروسلا را نشان

داد. تست رایت در ۲۵ بیمار (۹۶/۱٪) مثبت گزارش گردید. در ۲۶ بیمار، تست رایت و کشت خون منفی گزارش گردید. سابقه مصرف لبنیات غیر پاستوریزه در این موارد وجود نداشت و تشخیص نهایی آنها بیماری غیر از بروسلوز مانند بیماری‌های روماتیسمی، آرتریت‌های واکنشی، کالاآزار، بدخیمی و عفونت‌های ویروسی بود.

گرچه کشت خون در بیمارانی که تیتر تست رایت در آنها بالاتر یا مساوی $\frac{۱}{۳۲۰}$ بود بیشتر از کسانی که این تیتر در آنها کمتر یا مساوی $\frac{۱}{۱۶۰}$ بود مثبت گزارش گردید (۶ بیمار در مقابل ۳ بیمار) ولی این رقم از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول۱). کشت خون به‌عنوان استاندارد طلایی تشخیص بروسلوز در نظر گرفته شده است. حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی تست رایت در تشخیص بروسلوز کودکان به‌ترتیب ۹۰ درصد، ۶۴/۲ درصد، ۳۷/۵درصد و ۹۶/۲ با ضریب اطمینان ۹۵ درصد محاسبه گردید.

جدول۱. *نتیجه کشت خون و تیتر تست رایت در ۲۶ کودک مبتلا به بروسلوز*

نتیجه کشت خون	تیتر تست رایت						جمع کل
	منفی	$\frac{۱}{۸۰}$	$\frac{۱}{۱۶۰}$	$\frac{۱}{۳۲۰}$	$\frac{۱}{۶۴۰}$	$\frac{۱}{۱۲۸۰}$	
مثبت	۱	۱	۲	۲	۲	۲	۱۰
منفی	۰	۲	۴	۴	۴	۲	۱۶
کل موارد	۱	۳	۶	۶	۶	۴	۲۶

میانگین سنی بیمارانی که در نهایت با تشخیص بروسلوز تحت درمان قرار گرفتند ۱۰ سال و نسبت پسر به دختر ۱/۸ به ۱ می‌باشد. ۵۳/۸ درصد از بیماران در شرح حال مصرف لبنیات غیر پاستوریزه را ذکر کردند. شکایت اصلی در ۵۷/۷ درصد بیماران درد مفاصل و در ۴۲/۳ درصد تب بود. ۶۱/۵ درصد از بیماران از تعریق بیش از حد معمول شاکی بودند. بزرگی طحال و غدد لنفاوی در ۲۶/۹ درصد بیماران وجود داشت (جدول۲). میانگین تعداد گلبول‌های سفید خون، هموگلوبین، تعداد پلاکت‌ها و سدیمان خون به‌ترتیب ۷۶۵۱ در میلی‌لیتر مکعب، ۱۱/۶گرم در دسی‌لیتر، ۲۴۸۰۰۰ در میلی‌متر مکعب، و ۳۸/۶ میلی‌متر در ساعت گزارش شد (جدول ۳).

جدول ۲. *فراوانی علائم و نشانه‌های بالینی در ۲۶ کودک مبتلا به بروسلوز*

علائم و نشانه‌ها	تعداد	درصد
تب	۲۳	۸۵/۵
بی‌اشتهایی	۱۲	۴۶/۲
تعریق	۱۶	۶۱/۵
کاهش وزن	۵	۱۹/۲
درد مفصلی	۱۸	۶۹/۲
سردرد	۱۲	۴۶/۲
بزرگی غدد لنفاوی	۷	۲۶/۹
بزرگی طحال	۷	۲۶/۹

جدول۳. *یافته‌های آزمایشگاهی در ۲۶ کودک مبتلا به بروسلوز*

مشخصه	تعداد	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار
سن (سال)	۲۶	۱	۱۷	۱۰/۰۳	۳/۸۶۹
گلبول‌های سفیدخون (10^3/ml)	۲۵	۳/۳	۱۴/۴	۷/۱۵۶	۲/۳۴۷۹
هموگلوبین (g/dl)	۲۵	۶/۳	۱۳/۸	۱۱/۶۶۸	۱/۶۱۷۵
شمارش پلاکت‌ها (10^3/ml)	۲۴	۸۰	۴۷۹	۲۴۸/۳۳	۹۵/۵۳۵
سدیمان (mm/h)	۲۵	۱۱	۱۰۸	۳۸/۶	۲۳/۰۶۲

بحث

حساسیت تست رایت ۹۰ درصد و ارزش اخباری منفی آن در رد بیماری بروسلوز در منطقه ما ۹۶ درصد می‌باشد که بسیار عالی است (۱۰). برای همکارانی که در مقطع بالینی به تشخیص و درمان بیماران اقدام می‌کنند ارزش اخباری یک تست جهت رد یا قطعی کردن تشخیص یک بیماری از اهمیت بالایی برخوردار است. گرچه ویژگی و ارزش اخباری مثبت تست تا حدودی کم به نظر می‌رسد. این موارد می‌تواند ناشی از تعداد نسبتا کم نمونه‌ها باشد. بروسلوز در گروه سنی کودکان کمتر شایع است و کشت خون که به‌عنوان استاندارد طلایی تشخیص بیماری در نظر گرفته شده است نیز در تعداد کمی از بیماران مثبت می‌شود.

گرچه شدت باکتریمی و شدت بیماری ارتباطی با تیتر تست رایت ندارد، بیشتر موارد کشت خون مثبت در کسانی اتفاق افتاده که تیتر تست رایت آنها بالاتر بوده است. در مطالعه مشابه دیگری نیز این موضوع قبلا گزارش شده است (۱۱).

در مطالعه حاضر کشت خون $\frac{۱}{۳}$ بیماران مثبت بود که این مورد به‌دلیل استفاده از سیستم Bactec است که در بسیاری از مناطق در دسترس نمی‌باشد (۸ و۳). مواردی که کشت خون منفی است ممکن است به‌دلیل درمان‌های قبلی و یا کمی میزان باکتریمی باشد. هیچ‌کدام از بیماران قبل از مراجعه داروی مؤثر بر باکتری بروسلا دریافت نکرده بودند. در سایر مطالعات نیز میزان مثبت شدن کشت خون از ۱۵ تا ۳۰ درصد متغییر بوده است.

در یکی از بیماران باوجود مثبت بودن کشت خون از نظر بروسلوز، تست رایت منفی گزارش شد. در این مورد ۵ روز قبل علائم بیماری شروع شده بود. منفی کاذب تست رایت می‌تواند به علت عفونت اخیر یعنی گذشت کمتر از ۱۰ روز از شروع بیماری و یا وجود آنتی‌بادی‌های بلوک‌کننده در سرم بیمار باشد.

موارد مثبت کاذب تست رایت در بیماری‌هایی مثل عفونت ناشی از یرسینیا ممکن است ایجاد شود ولی هیچ‌کدام از بیماران ما دارای علائم عفونت یرسینیایی نبودند و به علاوه همه آنها علائم بالینی بروسلوز را داشتند و از نظر سبک زندگی و مصرف لبنیات غیر پاستوریزه نیز مطابق با تشخیص بیماری بروسلوز بودند. در مواردی که تست رایت مثبت است ولی تشخیص بیماری بروسلوز مورد شک می‌باشد از تست 2ME استفاده می‌شود. در این تست با اضافه کردن دو مرکاپتو اتانول، ایمونوگلوبولین M حذف می‌گردد و ایمونوگلوبولین G که نشاندهنده بروسلوز فعال است اندازه‌گیری می‌شود. تست مذکور در بیماران مطالعه حاضر مورد نیاز واقع نشده و انجام نگردیده است.

تست‌های سرولوژی دیگری مثل Complement Fixation Test، روش‌های ELISA و رادیو ایمیونو اسی نیز به‌عنوان تشخیص بروسلوز به‌کار می‌روند ولی هنوز استاندارد نشده‌اند و در بسیاری از مناطق در دسترس نمی‌باشند (۱۲). در یک

بررسی، حساسیت و ویژیگی PCR در تشخیص بروسلوز به‌ترتیب ۸۸ درصد و ۱۰۰ درصد بوده است (۱۳) که البته این روش تشخیصی به‌صورت گسترده و در همه مناطق در دسترس نمی‌باشد.

از نظر علائم بالینی و آزمایش‌ها، یافته‌های مطالعه حاضر مشابه سایر مطالعات از جمله یک مطالعه گسترده می‌باشد (۱۴) و در زمینه ارزیابی تست رایت به‌صورت اختصاصی در کودکان مطالعه‌ای صورت نگرفته است.

همان‌گونه که نتایج نشان می‌دهد علائم بالینی و آزمایشات رایج و معمولی در بیماری بروسلوز غیر اختصاصی هستند و کمک زیادی برای رسیدن به تشخیص نمی‌کنند.

نتیجه‌گیری

تست رایت ارزش اخباری منفی بسیار عالی و ارزش اخباری مثبت نسبتاً خوبی دارد. با توجه به سادگی و قابل اطمینان بودن آن، در شرایط جامعه ما این تست می‌تواند به‌عنوان یک روش آزمایشگاهی خوب در تشخیص و یا رد بیماری بروسلوز کودکان کمک‌کننده باشد

سپاسگزاری

لازم است مراتب تشکر و قدردانی خود را از کارکنان مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی استاد البرزی شیراز به‌دلیل انجام آزمایشات کشت خون و سرولوژی ابراز نمائیم.

Evaluation of Serum Agglutination Test in the Diagnosis of Pediatric Brucellosis

Hosseininasab A., M.D.[1*], Alborzi A., M.D.[2]

1. Assistant Professor of pediatrics, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
2. Assistant Professor of Pediatrics, Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

* Corresponding author, e-mail: Ali4221@yahoo.com

(Received: 18 Jan. 2010 Accepted: 3 June 2010)

Abstract

Background & Aims: Brucellosis is a public health problem in many developing countries, including Iran. Diagnosis is based on history, clinical manifestations and positive serum agglutination test (SAT) or Wright test. The purpose of this study was to evaluate the diagnostic value of SAT in pediatric Brucellosis.

Methods: In this prospective study, during 2 years, 52 patients with clinical features of Brucellosis were studied. Sera were obtained from all patients. Assuming that patients with active Brucellosis in our area have SAT ≥1:80, all blood samples were tested by SAT and blood culture with BACTEC system.

Results: Of 52 patients with clinical presentation of brucellosis, in 26 patients, the diagnosis was confirmed according to positive blood culture and/or SAT (≥1:80). Brucella spp were isolated in 10 patients (38.4%). SAT was found positive in 25 samples (96.1%). Blood culture and SAT both were negative in 26 cases and the final diagnosis of this group was a disease other than brucellosis. The sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of the test were 90%, 62%, 36% and 96.2%, respectively.

Conclusion: Wright test can be used as a reliable, convenient and cost – effective test in the diagnosis of pediatric brucellosis in our population.

Keywords: Brucellosis, Pediatrics, Agglutination test

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2010; 17(4): 355-360

References

1. Hadadi A, Rasoulinejad M, HajiAbdolbaghi M, Mohraz M, Khashayar P. Clinical profile and management of brucellosis in Tehran - Iran. *Acta Clin Belg* 2009; 64(1):11-5.
2. Citak EC, Citak FE, Tanyeri B, Arman D. Hematologic manifestations of brucellosis in children: 5 years experience of an anatolian center. *J Pediatr Hematol Oncol* 2010; 32(2):137-40.
3. Yagupsky P. Detection of Brucellae in blood cultures. *J Clin Microbiol* 1999; 37(11): 3437–42.
4. Memish Z, Mah MW, Al Mahmoud S, Al Shaalan M, Khan MY. Brucella bactraemia: clinical and laboratory observations in 160 patients. *Journal of Infection* 2000; 40: 59–63.
5. Corbel MJ. The relationship between the protective and cross reacting antigens of Brucella spp. Yersinia enterocolitica 0:9 and Salmonella serotypes of Kauffmann-White Group N. *Contrib Microbiol Immunol* 1979; 5: 50–63.
6. Corbel MJ. Recent advances in the study of Brucella antigens and their serological cross-reactions. *Veterinary Bulletin* 1985; 55:927–42.
7. Corbel MJ. Microbiological aspects of Brucellosis. *Saudi Med J* 1993; 14: 489–502.
8. Rich M, Bannatyne R. Memish Z. Direct urease test on BACTEC blood cultures: early presumptive diagnosis of Brucellosis in an area if endemicity. *J Clin Microbiol* 2000; 38(4): 1706.
9. Karimi A, Alborzi A, Rasooli M, Kadivar MR, Nateghian AR. Prevalence of antibody to Brucella species in butchers, slaughterers and others. *East Mediterr Health J* 2003; 9(1-2):178-84.
10. Konstantinidis A, Minas A, Pournaras S, Kansouzidou A, Papastergiou P, Mniatis A, Stathakis N, et al. Evaluation and comparison of fluorescence polarization assay with three of the currently used serological tests in diagnosis of human brucellosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007; 26(10):715-21.
11. Dimitrov Ts, Panigrahi D, Emara M, Awni F, Passadila R. Seroepidemiological and microbiological study of brucellosis in Kuwait. *Med Princ Pract* 2004 13(4):215-9.
12. Lopez-Merimo A, Lopez-Santiago R. Immunology of Brucellosis in humans. Brucellosis, London, Butterworths, 1989; PP 45–58.
13. Surucuoglu S, El S, Ural S, Gazi H, Kurutepe S, Taskiran P, Yurtsever SG. Evaluation of real-time PCR method for rapid diagnosis of brucellosis with different clinical manifestations. *Pol J Microbiol* 2009; 58(1):15-9.
14. Buzgan T, Karahocagil MK, Irmak H, Baran AI, Karsen H, Evirgen O, Akdeniz H. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature. *Int J Infect Dis* 2009 [Epub ahead of print].