ترجمه فا

TarjomeFa.Com

ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

اهمیت تشخیص آزمایشگاهی در درمان بروسلوز

بروسلوز یک بیماری زئونوز جهانی است که تاثیر اقتصادی زیادی بر روی حیوانات و بهداشت عمومی دارد. تشخیص بروسلوز انسانی ممکن است زمان بر باشد، زیرا این بیماری در ابتدا به صورت تب با علل ناشناخته با علائم و نشانه های بالینی غیرقابل تشخیص(غیر اختصاصی) دیده می شود. میزان جدا سازی عامل مسبب از کشت خون کم است، بنابراین تشخیص آزمایشگاهی عمدتا بر اساس آزمایش سرولوژیک و مولکولی است. در هر صورت ، بیماران مبتلا به بروسلوز که از لحاظ سرولوژیک منفی هستند؛ توصیف شده اند، و تعیین تیترآنتی بادی های تشخیصی دشوار است. این که آیا تشخیص مولکولی DNA بروسلا در نمونه های بالینی بایستی با درمان آنتی بیوتیکی طولانی مدت همراه باشد یا نه ، مورد بحث است. هدف از این مقاله بررسی و بحث در مورد اهمیت نتایج آزمایشگاهی در تشخیص بروسلوز انسان در درمان بیماری است.

کلیدواژگان: درمان آنتی بیوتیکی • بروسلا • کشت • بروسلوز انسان • تشخیص آزمایشگاهی • تشخیص مولکولی • تست سرولوژیک

بروسلوز یکی از گسترده ترین بیماری های باکتریایی زوئونوز در جهان است که منجر به زیان های اقتصادی فراوانی در مناطق اندمیک و عوارض جدی در بیماران مبتلا می شود. این عفونت ممکن است از طریق تماس مستقیم با حیوانات منتقل شود، اما معمولا از طریق مصرف مواد غذایی آلوده با منشا حیوانی، به ویژه از طریق شیر و پنیر غیر پاستوریزه ایجاد می شود. علاوه بر این، بروسلوز شایع ترین عفونت های باکتریایی آزمایشگاهی در سراسر جهان است [۱]. اگر چه برنامه های ملی و بین المللی بسیاری برای ریشه کن کردن پاتوژن و کنترل گسترش آن در دامداری ایجاد شده است، اما بروسلوز هنوز یک بیماری نوظهور[1] است. نظارت بر بروسلوز حیوانات به علت پایداری باکتری ها در حیات وحش و مخازن زیست محیطی و انتقال آن به حیوانات خانگی دشوار است [۲].

[1] re-emerging

بروسلوز توسط اعضای جنس(Brucella (B ایجاد می شود که کوکوباسیل های داخل سلولی اختیاری منفرد گرم منفی هستند که از لحاظ تاریخی، با میزبان حیوانی ترجیحی خود ، پاتوژنزایی متفاوت و چند ویژگی فنوتیپی افتراق داده می شوند. این جنس شامل شش گونه کلاسیک است: B. melitensis bv ۱-۳ (به طور عمده از گوسفند و بز ها جدا شده است)؛ B. abortus bv ۱-۶ و ۹ (از گاو و دیگر گاوسانان)؛ B. suis bv ۱-۳ (از خوک)، ۴bv (از گوزن شمالی)، ۵bv (از جوندگان کوچک)؛ B. Canis (از سگ ها)؛ B. Ovis (از گوسفند)؛ و B. neotomae (از موش صحرایی). اخیرا، دو گونه جدید از گونه های دریایی، B. pinnipedialis (جدا شده از خوک آبی) و B. ceti (از دلفین ها و نهنگ ها) [۳]، B. microti جدا شده از موش حرارتی معمولی Microtus (arvalis)، روباه قرمز (Vulpes vulpes) و از خاک [۶] و B. inopinata جدا شده از زخم ایمپلنت پستان یک بیمار زن ۷۱ ساله [۷] شرح داده شده است. در گذشته، بسیاری از گونه های غیر معمول بروسلا بوجود آمدند. این می تواند گونه های جدید یا گونه های از قبل تعریف شده را نشان دهد، به عنوان مثال، گونه های مختلف بروسلا که از گونه های جوندگان بومی وحشی در شمال کوئینزلند استرالیا ایزوله شده اند [۸]، یک ایزوله جدید بروسلا در ارتباط با دو مورد تولد نوزاد در پریمات های غیر انسانی [۹] و یک سویه مشابه B. inopinata (BO۲) که از بیوپسی ریه یک بیمار ۵۲ ساله استرالیایی مبتلا به پنومونی مزمن جدا شده بود[۱۰].

آگاهی پزشکان از عفونت در بسیاری از کشورها بسیار ضعیف است و اکثر موارد زمانی به درستی تشخیص داده شده اند که بیماری از نظر بالینی در مرحله پیشرفته است. به علت تظاهرات بالینی مختلف، بروسلوز انسانی می تواند به آسانی با سایر بیماری های عفونی و غیر عفونی اشتباه گرفته شود، که منجر به تاخیر در تشخیص و در نهایت تاخیر در شروع درمان می شود. جداسازی ارگانیسم های سخت رشد اغلب ناموفق است و یا زمان زیادی طول می کشد، به همین دلیل تشخیص بالینی احتمالی معمولا با آزمایش های سرولوژیک تایید می شود. با این حال، مواردی که از نظر سرولوژیک منفی هستند، واکنش متقابل آنتی بادی ضد بروسلا با بسیاری از باکتری های بالینی دیگر، باعث ایجاد محدودیت هایی در سیستم های آزمایش های سرولوژیکی و غیره می توانند و تفسیر تیترهای اندازه گیری شده را بسیار دشوار می کند. به جای آن، روش های مولکولی را می توان برای تشخیص

آزمایشگاهی بروسلوز انسان استفاده کرد، اما تشخیص DNA بروسلا عفونت فعال با باکتری های زنده را اثبات نمی کند و بنابراین به طور موثر به تصمیم گیری درمانی کمک نمی کند.

اپیدمیولوژی جهانی بروسلوز

تقریبا نیم میلیون نفر از موارد بروسلوز انسانی سالانه گزارش می شوند، اما این آمارها تعداد کامل افرادی که آلوده هستند را نشان نمی دهد. به علت تشخیص نادرست، بسیاری از موارد هنوز شناخته نشده اند و بنابراین به عنوان بیماری های دیگر یا به عنوان تب با منشا ناشناخته درمان می شوند. با توجه به برآوردهای WHO، شیوع حقیقی ۱۰ تا ۲۵ برابر بیشتر از موارد گزارش شده است [۱۱] داده های پایش نشان دهنده یک شکاف کوچکتر بین موارد گزارش شده و واقعی هستند، اما تفاوت در این ارقام به وضوح ناشی از تعریف متغیر است.

از آنجا که گونه های جدید به طور مداوم در حال ظهور هستند و در حال حاضر گونه های شناخته شده بروسلا خود را با تغییرات محیطی انطباق می دهند ، اپیدمیولوژی بروسلوز هنوز مبهم است. از یک طرف، استراتژی های تشخیصی بهبود یافته و اقدامات فرامرزی برای نظارت بهتر به ریشه کنی و کنترل بیماری در مناطق بومی کمک کرده است. از سوی دیگر، تغییرات در سیستم های اجتماعی اقتصادی و سیاسی، افزایش جهانی شدن از جمله تجارت بین المللی حیوانات و گردشگری در سراسر جهان، و کاهش آگاهی توسط کارورها[۲] و مقامات بهداشت عمومی منجر به ظهور دوباره کانون های اندمیک جدید شد [۱۲]. در حال حاضر، B. melitensis به طور عمده علت اصلی بیماری بالینی در انسان در سراسر جهان است، هرچند توزیع بروسلوز گوسفند / بز از لحاظ جغرافیایی محدود است [۱۳]. بروسلوز بز / گوسفند در کشورهای اطراف دریای مدیترانه و خلیج عربی، آسیای مرکزی و بخش هایی از آمریکای لاتین، به ویژه مکزیک، پرو و شمال آرژانتین، شایع است [۱۴-۱۶]. علاوه بر این، عفونت های B. melitensis در گوسفند در مناطق جنوب صحرای آفریقا دیده شده است [۱۷]. در ایالات متحده آمریکا، کانادا، شمال اروپا، استرالیا، نیوزیلند و جنوب شرقی آسیا، B. melitensis انزوتیک(مرض فراگیر در دام ها) نیست و تنها

[2] practitioner

موارد تهاجمی تک گیر گزارش شده است. در کشورهای جنوب اروپا وضعیت اپیدمیولوژیک کمتر مطلوب است [۱۸]، و شبه جزیره بالکان هنوز هم یک نقطه مهم[۳] است. این مناطق اندمیک احتمالا یک منبع مهم توزیع بیماری در سراسر اروپا از طریق واردات غیر قانونی مواد غذایی آلوده و گردشگری بین المللی است [۱۹]. بالاترین میزان بروز سالانه از کشورهای خاورمیانه مانند سوریه، عراق، ایران و عربستان سعودی گزارش شده است [۱۲].

بروسلوز گاوی در کانادا، استرالیا، ژاپن و شمال اروپا با موفقیت ریشه کنی شده است، در حالی که B. abortus هنوز هم در میان گاوها در کشورهای جنوب صحرای آفریقا شایع است[۲۰]. سوئد، دانمارک، فنلاند، آلمان، انگلستان (به استثنای ایرلند شمالی)، اتریش، هلند، بلژیک و لوکزامبورگ، اتحادیه اروپا عاری از بروسلوز بودند. نروژ و سوئیس نیز عاری از بروسلوز گاو و گوسفند / بز در نظر گرفته شده اند.

برنامه های نظارت ملی بر میزان شیوع بروسلوز خوکی در احشام کم است، اما شیوع آن در مزارع پرورش خوک در بیشتر مناطقی که خوک ها در خارج از منزل نگهداری می شوند، مشاهده می شود. در آسیا، آمریکای جنوبی (عمدتا در آرژانتین)، ایالات متحده جنوب شرقی ایالات متحده و در کوئینزلند استرالیا، پاتوژن های انسانی بیوارهای ۱ و ۳ سویس از گراز وحشی، خوک های وحشی و خوک های اهلی جدا شده اند [۲، ۲۲].

در اروپا، بروسلا سویس بیوار ۲ بیشترین بیوار جدا شده در بروسلوز خوکی است، اما به عنوان تنها عامل استثنایی ایجاد کننده بروسلوز انسان شرح داده شده است. هیچ کدام از گونه های بروسلا پاتوژن انسانی که در بالا ذکر شد، در سطح جهانی کنترل نشده و یا از بین نرفته اند. بروسلوز هنوز یک بیماری در حال ظهور در سطح منطقه است و به راحتی مشمول کنترل های مرزی نمی شود [۲۳].

تظاهرات بالینی و درمان بروسلوز انسانی

بروسلوز انسانی با تظاهرات بالینی مختلف مشخص می شود و تقریبا هر سیستم ارگانی می تواند تحت تاثیر قرار گیرد. اختلالات پوستی، هماتولوژیک، گوارشی، تولید کثلی، تنفسی، استئو آرتیکولار، قلب و عروق و اختلالات نورولوژیکی ممکن است رخ دهد [۲۴]. پس از دوره انکوباسیون که از چند هفته تا چند ماه متغیر است، عفونت حاد

[3] hotspot

معمولا به صورت یک بیماری آنفلوانزا مانند تب دار برئز می یابد. از آنجایی که تب ممکن است افزایش و کاهش یابد، بروسلوز انسانی قبلا به نام "تب مواج" نامگذاری شده است. به دلیل طیف گسترده ای از علائم بالینی آن، بروسلوز شبیه بسیاری از بیماری های غیر عفونی و غیر عفونی است و بنابراین تشخیص بالینی و آزمایشگاهی اغلب با تأخیر یا عدم تشخیص همراه است. بیماران مبتلا به بروسلوز در ابتدا از سردرد، آرترالژیا و درد عضله ، خستگی، بی قراری، کاهش وزن، لرز و عرق رنج می برند.

مرحله حاد بیماری معمولا با باکترمی و گسترش بروسلا به سیستم های مختلف بدن، به طور عمده به بافت های رتیکولواندو تلیالی، به عنوان مثال، سیستم هماتوپویتیک ،کبد، طحال، اسکلتی همراه است. متعاقبا ، یافته های بالینی اصلی، شامل هپاتومگالی و اسپلنومگالی می باشد [۲۵]. از آنجا که بروسلا قادر به زنده ماندن و تکثیر در سلول های فاگوسیتیک تک هسته ای است، بروسلوز انسانی اغلب با عوارض موضعی، دوره های طولانی مدت و مزمن، نارسایی های اولیه درمان و عود بیماری شناخته می شود.

درگیری استئوارتیکولار ، به عنوان مثال اسپوندیلیت، ساکرویلییت و آرتریت، به عنوان شایع ترین عارضه موضعی شناخته شده اند [۲۴،۲۵]. آندوکاردیت و بروسلوز عصبی مسئول اکثریت موارد مرگ و میر هستند. اگر چه این عوارض موضعی می تواند تهدید کننده زندگی باشد، اما میزان مرگ و میر ناشی از بروسلوز انسانی پایین است (۱٪).

بروسلوز یک بیماری عفونی قابل پیشگیری و درمان است.هدف اصلی از درمان مناسب آنتی بیوتیک، کاهش روند طبیعی بیماری علامتدار ، کاهش میزان بروز عوارض و پیشگیری از عود مجدد است. با این حال، علائم مختلف بالینی اغلب منجر به تشخیص اشتباه یا تاخیر در تشخیص می شود که هر دو؛ عارضه و میزان مرگ و میر را افزایش می دهند [۲۶].

گرچه مقاومت دارویی جدی در ایزوله های بروسلا هنوز مشاهده نشده است، اما تک درمان یا درمان آنتی بیوتیکی کوتاه مدت، هیچ یک ، برای درمان بروسلوز انسانی کافی نیست . کاربرد طولانی مدت داروهای آنتی بیوتیک به طور مداوم خطر ابتلا به نارسایی اولیه و عود را کاهش می دهد. به طور خاص، بیماران مبتلا به بیماری موضعی مانند اندوکاردیت یا اسپوندیلیت ممکن است نیاز به درمان طولانی مدت آنتی بیوتیکی و مداخلات جراحی اضافی داشته

باشند. رژیم های آنتی بیوتیکی که به طور گسترده استفاده شده اند شامل ؛داکس سیکلین خوراکی (DOX) ۱۰۰ میلی گرم دو بار در روز همراه با ریفامپین (RIF) ۶۰۰ -۹۰۰ میلی گرم در روز در یک دوز خوراکی یک بار طی یک دوره ۶ هفته ای است. به جای ریفامپین، استرپتومایسین (STR)۱ گرم (۱۵ میلی گرم / کیلوگرم در روز) می تواند به صورت عضلانی یک بار در روز به مدت ۲-۳ هفته تزریق شود [۲۸].آمینوگلیکوزید استرپتومایسین را می توان با استفاده از جنتامایسین (GENTA) در رژیم های چند دارویی برای بروسلوز بدون از دست دادن کارایی، جایگزین کرد [۲۹]. اگر چه میزان شکست کلی (به طور عمده به علت میزان عود بالا) در بیماران تحت درمان با DOX-RIF در مقایسه با DOX-STR (خطر نسبی ۲,۸۰ [۹۵٪ :CI۱,۸۱-۴,۳۶]،(۱۳ مورد) بیشتر است (۲۹). اولین مورد درمان که در بالا ذکر شد، به عنوان اولین خط درمانی در بروسلوز انسان توصیه می شود [۲۷]. دلایل اصلی برای ترجیح رژیم DOX-RIF، مصرف خوراکی و اثرات جانبی کمتر است. ترکیبات سه گانه شامل DOX، RIF و GENTA اثربخشی بیشتری نسبت به DOX با آمینوگلیکوزید داشتند [۲۹]. با این حال، درمان سه گانه باید به طور جدی مورد ارزیابی قرار گیرد، به ویژه برای بیماران مبتلا به بیماری حاد بدون عوارض موضعی. در درمان کودکان کمتر از ۸ سال، تتراسایکلین منع مصرف دارد و باید با استفاده از تریمتوپریم سولفامتوکسازول (TMP-SMX، کوتریموکسازول) در رژیم های دارویی دوگانه جایگزین شود (۳۰). در شرایط استثنایی، TMP-SMX ممکن است به صورت مونوتراپی برای مدت زمان طولانی (تا ۶ ماه) مورد استفاده قرار گیرد [۲۹]. در عمل بالینی، رژیم های توصیه شده نمی توانند به طور کلی مورد استفاده قرار گیرند، بلکه باید برای هر فرد جداگانه تجویز شوند. رمز درمان موفقیت آمیز، ادامه درمان آنتی بیوتیکی و ماهیت رژیم خاص است. مقایسه رژیم های مختلف آنتی بیوتیکی در درمان بروسلوز انسانی دشوار است، زیرا آزمایش های بالینی دوسوکور، کنترل شده با دارونما، آزمایشات بالینی چند مرکزی هنوز در دسترس نیستند،همچنین بیماران، به وضوح تعریف نشده اند.

به طور خاص معیارهای تشخیصی برای تشخیص بیماری و درمان موفق بسیار متغیر است. از این رو، بیماران مبتلا به بروسلوز ممکن است شامل افرادی باشند که بیماری آنها با کشت تایید شده باشد، مواردی که تیتر آنتی بادی ضد بروسلا در آنها قابل توجه است، افزایش قابل توجه در تیتر یا seroconversion در چندین آزمایش سرولوژیکی،

موارد بر اساس تشخیص DNA بروسلا در خون، بافت ها و بدن، و یا حتی موارد منفی از لحاظ سرولوژیک با تشخیص بالینی احتمالی بروسلوز و انسجام اپیدمیولوژیک باشد.

جداسازی و شناسایی گونه های بروسلا از نمونه های بالینی

تشخیص قطعی بروسلوز انسانی مستلزم جداسازی عامل اتیولوژی از خون، مغز استخوان یا سایر بافتها و بدن است. میزان ایزولاسیون باکتری بسته به مرحله بیماری، استفاده قبلی از آنتی بیوتیک ها، نمونه بالینی و روش های کشت متغیر است [۳۱]. از آنجا که تعداد باکتری های موجود در خون بیماران مبتلا به بروسلوز پایین است، جداسازی موفقیت آمیز بروسلا بسیار وابسته به حجم کل نمونه است. زمان جداسازی با غلظت ارگانیسم های زنده در نمونه خون ارتباط عکس دارد [۳۲]. از این رو، چندبار نمونه گیری از خون در موارد بروسلوز حاد و مواد نمونه برداری از سایت های آلوده در بیماران مبتلا به عوارض موضعی ممکن است به تایید عفونت فعال از طریق جداسازی باکتری کمک کند. باکتریمی یک رویداد اولیه در پاتوژنز عفونت های بروسلا است و میزان ایزولاسیون در موارد حاد بیماری با علائم کمتر از ۲ هفته، بیشتر است [۳۳]. از آنجایی که بیماران باکتریمی نسبت به بیماران فاقد باکتریمی بیشتر در معرض تب و لرز هستند [۳۴]، میزان جداسازی بروسلا از نمونه های خون گرفته شده در فاز تب دار افزایش می یابد. در موارد بروسلوز حاد، حساسیت کشت گونه های بروسلا از خون ممکن است از ۸۰ تا ۹۰ درصد متغیر باشد، در حالیکه در موارد مزمن، تایید باکتریولوژیکال کمتر موفقیت آمیز است و بسته به تکنیک مورد استفاده از ۳۰ تا ۷۰ درصد متفاوت است [۳۵،۳۶]. از اینرو، بازیابی موفقیت آمیز بروسلا از نمونه های خون به مرحله بیماری و تکنیک های کشت بستگی دارد. در کشورهای توسعه یافته غیر اندمیک، تشخیص اغلب با وجود تکنولوژی های مدرن و مناسب با شکست مواجه می شود، زیرا دوره های مزمن به دلیل عدم وجود ظن بالینی اتفاق می افتند، ، در حالیکه در کشورهای اندمیک به دلیل کمبود امکانات آزمایشگاهی ، تشخیص با شکست مواجه می شود.

با استفاده از کشت مغز استخوان به جای کشت خون، میزان ایزولاسیون در هر مرحله از بیماری افزایش می یابد (جدول ۱)، و میانگین زمان تشخیص به طور قابل ملاحظه ای کوتاه می شود [۳۷،۳۸]. در بیمارانی که قبل از مصرف آنتی بیوتیک مورد آزمایش قرار گرفتند، کشت مغز استخوان همچنین در شناسایی گونه های بروسلا حساس

تر است. اگرچه آسپیراسیون مغز استخوان و بیوپسی ممکن است دردناک باشد، این روش در موارد خاص مانند بیمارانی که از لحاظ سرولوژیک منفی هستند و به تب با منشا ناشناخته مبتلا هستند؛ در صورتی که بروسلوز به علت تاریخچه پزشکی وتظاهرات بالینی بیمار مشکوک باشد، ممکن است ارزش داشته باشد، [۳۷].

گونه های بروسلا در اکثر محیط های استاندارد رشد می کنند، مثلا آگار خون دار، آگار شکلات، تریپتیکاز سوی آگار و آگار سرم-دکستروز. سرم گاو یا اسب (۵-۲٪)، که برای رشد سویه های مختلف مورد نیاز است، به طور معمول به محیط اولیه اضافه می شود. کشت های خون باید در دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتیگراد در اتمسفر با ۱۰ تا ۱۰ درصد CO ۲ انکوبه شود. از آنجایی که جداسازی بروسلا از نمونه های بالینی با رشد آهسته آن ممانعت می شود، کشت ارگانیسم های سخت رشد ممکن است چندین روز یا حتی هفته ای تا قبل از اینکه کلنی های بدون پیگمان ، ریز و فاقد همولیز بروسلا ظاهر شود، ممکن است طول بکشد. کلنی های بروسلا صاف ،برجسته ، محدب، دایره ای، شفاف و قطر ۰,۵-۱ میلی متر دارند. گونه های اکسیداز و اوره آز مثبت Brucella بسیار کوچک و کوکوباسیل در رنگ آمیزی گرم به صورت رنگ پریده[۴] هستند، و در زیر میکروسکوپ به شکل " ماس ریز [۵]" دیده می شوند.

برای به حداکثر رساندن میزان بازیابی از نمونه های بالینی، روش های کشت برای کشت به طور سنتی برای غنی سازی اولیه مورد استفاده قرار می گیرند، دوره های انکوباسیون در موارد احتمالی طولانی هستند و به طور مرتب انجام می شوند. با این حال، درمان آنتی بیوتیک قبلی در بیماران تب دار، ممکن است از جدا کردن بروسلا از نمونه های بالینی؛ به خصوص از مایعات استریل بدن که در آن میزان باکتری تلقیح شده اغلب کم است.جلوگیری کند یا آنرا با تاخیر مواجه کند.

در دهه های گذشته، پیشرفت های مختلف تکنیکی (به عنوان مثال، روش کاستاندا دوفازی، سیستم های خودکار و روش های بهینه سازی عملکرد مانند سانتریفیوژ لیز) به تدریج حساسیت روش های کشت را افزایش داده و به طور قابل ملاحظه ای زمان را برای شناسایی گونه های بروسلا در نمونه های بالینی کوتاه تر کرده است [۳۲].

---

[4] faintly stained
[5] fine sand

جدول ۱. عملکرد تشخیصی تکنیک های کشت، آزمایش های سرولوژیکی و روش های مولکولی در تشخیص آزمایشگاهی بروسلوز انسانی بسته به مرحله بیماری.

	عملکرد تشخیصی بسته به مرحله بیماری (طول علائم بالینی) (٪)				رفرنس
	بروسلوز حاد (≥۸ هفته)	**بروسلوز تحت حاد (۸-۵۲ هفته)**	**بروسلوز مزمن (≤۵۲ هفته)**	**عود**	
کشت خون کامل					
بروسلا براث و ساب کالچر (۵۰)	66.6	23.5	0.0		[106]
محیط دوفازی کاستاندا	42.3	41.7	11.0	8.3	[35]
محیط دوفازی کاستاندا	54.7	36.4	28.6		[38]
محیط دوفازی کاستاندا	71.8		33.3		[42]
محیط دوفازی کاستاندا	83.3	40.0	25.0		[37]
سانتریفیوژ لیز	48.1	58.3	22.2	16.6	[35]
سانتریفیوژ لیز	90.9		74.1		[42]
کشت مغز استخوان					
بروسلا براث و ساب کالچر	83.3	52.0	33.0		[106]
محیط دوفازی کاستاندا	97.2	90.0	50.0		[37]
محیط دوفازی کاستاندا	92.2	72.7	64.3		[38]
سرولوژی					
آگلوتیناسیون لوله (۵۰)	91.7	70.0	75.0		[37]
آگلوتیناسیون سرم (۹۲)	21.0	50.0	27.5		[67]
تجاری IgM- و IgG-ELISA	49.1	66.6	82,7		[67]
تشخیص مولکولی					
Real-time quantitative PCR (18)	100			100	[95]

روش کاستاندا دوفازی کلاسیک ، که بر اساس یک فاز جامد و مایع در یک بطری یکسان کشت خون است، نیاز به زیر کشت های مکرر را از بین می برد. با این حال، زمان بازیابی بروسلا از خون هنوز می تواند تا ۳۰ روز طول بکشد. در مقابل، سیستم های کشت خون به طور قابل توجهی زمان را برای تشخیص کاهش می دهد. از این رو، عامل مسبب می تواند از خون بیماران آلوده در طی ۴ روز با استفاده از BACTEC (Becton Diacinson Systems، Sparks، MD، USA) یا BacT / Alert ™ (BioMérieux Inc. Durham، NC، USA) جدا شود. که به طور مداوم آزاد شدن CO ۲ از میکروارگانیسم های در حال رشد را کنترل می کند [۳۹]. علاوه بر این، میزان بازیابی میکروارگانیسم های بیماریزا شامل گونه های Brucella spp. از مایعات استریل بدن با استفاده از سیستم های کشت خون اتوماتیک بالاتر است . علی رغم عملکرد بهتر سیستم های کشت خودکار در مقایسه با محیط کشت جامد و سیستم های نیمه اتوماتیک، دوره انکوباسیون طولانی مدت و ساب کالچرهای دوره ای حداقل ۴ هفته ای، هنوز به طور قابل اعتماد برای جلوگیری از عفونت بروسلا توصیه می شود [۳۲]. غنی سازی باکتری ها با استفاده از تکنیک کشت لخته خون[۶] یا لیز سانتریفوژ باعث افزایش میزان جداسازی بروسلا از نمونه های خون می شود [۳۵،۴۱].

روش سانتریفیوژ لیز، بالاترین عملکرد را در بین تکنیک های کشت به خوبی اثبات شده مستقل از مرحله بیماری نشان می دهد (جدول ۱) و میانگین زمان تشخیص در خون و مایعات استریل بدن می تواند به طور معنی داری به چند روز کاهش یابد (۳۵، ۴۰، ۴۲]. با استفاده از سانتریفیوژ لیز، متوسط زمان تشخیص از ۲ تا ۳ روز متغیر است و بیشتر جدایه های بروسلا قبل از رشد باکتری در کشت های مرسوم ایزوله می شوند [۴۲]. سیستم BACTEC Myco / F-Lytic به طور موفقیت آمیز ،فعالیت لیتیک و اتوماتیک بودن را ترکیب می کند [۴۳].

اگر تعداد بروسلا قابل کشت شود بسیار کم باشد، به عنوان مثال در نمونه های بالینی مانند چرک، shell vial culture ممکن است یک روش جایگزین باشد که امکان جدا شدن پاتوژن های داخل سلولی اختیاری را فراهم می آورد [۴۴]. کلنی هایی که مشکوک به گونه های Brucella هستند را می توان با استفاده از تست آگلوتیناسیون

[6] blood clot culture technique

اسلایدی با استفاده از آنتی سرم پلی والانت رقیق نشده بروسلا (سرم ضد $S^{۷}$) همراه با سوسپانسیون تهیه شده از کلنی ها در سالین تایید کرد. شناسایی بیشتر گونه های Brucella و بیوارها معمولا بر اساس نیاز به $CO_۲$ ، تولید H_2S ، فعالیت اوره، آگلوتیناسین با سرم(A و M)، مهار رشد انتخابی بر روی محیط حاوی رنگ مانند تیونین یا فوشین بازی و فاژ تایپینگ است [۳۱، ۴۵]. از آنجا که این روش ها زمان گیر، خطرناک و تفسیر آن ها متغیر است، برای آزمایشگاه های میکروبیولوژیکی بالینی مناسب نیستند. با استفاده از آزمایش های بیوشیمیایی تجاری موجود مانند API 20 NE® (bioMérieux, Nürtingen, Germany,) گونه های بروسلا ممکن است که ؛ به عنوان مثال با، Psychrobacter phenylpyruvicus (که قبلا Moraxella phenylpyruvica نامیده می شد یا Ochrobactrum anthropi اشتباه شوند و منجر به تشخیص اشتباه شود. اخیرا یک سیستم نیمه اتوماتیک بیوتایپ متابولیک (Micronaut ™، Merlin Diagnostika، Bornheim-Hersel، Germany) بر اساس انتخاب ۹۳ سوبسترای مختلف برای شناسایی بروسلا و تمایز گونه ها و بیوارهای آن ساخته شده است [۴۸]. این فن آوری جدید ممکن است جایگزین یا حداقل تکمیل کننده آزمایشهای زمانبر لوله ای ، بخصوص در مورد سویه های غیر معمول شود. با این حال، تعیین زیرتیپ گونه های Brucella. برای تصمیم گیری در مورد اقدامات درمانی ضروری نیست. در مقابل، شناسایی سریع جنس بروسلا برای شروع درمان آنتی بیوتیک در ابتدای بیماری بسیار مهم است، بنابراین از دوره های مزمن و عوارض موضعی جلوگیری می شود. توسعه تکنیک های تشخیصی جدید که به تشخیص سریع بروسلا از کشت کمک می کنند و خطر عفونت های آزمایشگاهی را به حداقل می رسانند اهمیت زیادی دارند. تست اوره آز مستقیم برروی کشت مثبت خون، که نشان دهنده وجود Brucella است، می تواند تشخیص احتمالی بروسلوز انسان و تشخیص باکتریمی بروسلا را با وجود آلودگی های موجود در سلول های خون، تسریع کند [۴۹،۵۰]. Fluorescence in situ hybridization (FISH)، که از پروب های مختص Brucellaاستفاده می کند نیز یک ابزار ارزشمند برای شناسایی جدایه های کشت شده و برای تشخیص مستقیم بروسلا در کشت مثبت خون است [۵۱]. از این رو، بدون نیاز به ساب کالچر و تست های

[7] smooth

فنوتیپی، باکتری ها می توانند به سرعت شناسایی شوند. یک تکنولوژی جدید جریان جانبی بر مبنای تبدیل فسفر ، به صورت کمی بروسلا را از هر دو کشت خالص و نمونه های بافتی شناسایی کرد [۵۲]. به تازگی، طیف سنجی جرمی واجذبی/یونشی لیزری به کمک ماتریس و طیفسنج جرمی جذب- یونیزاسیون لیزری سطحی ارتقاء یافته ثابت شده است که در شناسایی مستقیم اعضای جنس بروسلا از پلیت های کشت و بطری های کشت خون سودمند است [۵۴،۵۴]. با این حال، پایگاه های جامعی از جمله مشخصات پروتئینی گونه های بروسلا در دسترس نیستند، که در حال حاضر استفاده از این فناوری های جدید را در آزمایشگاه های میکروبیولوژی بالینی محدود می کند. باکتریهایی که در طی عود بیماری جدا شده اند الگوی حساسیتی ضد میکروبی مشابه ایزوله هایی که از اولین واقعه بروز بیماری به دست می آید ، نشان می دهند و بیشتر موارد عود به خوبی به یک دوره تکراری از درمان استاندارد آنتی بیوتیک پاسخ می دهند [۵۵]. از این رو، مقاومت به داروهای آنتی بیوتیکی اساسا به شکست و عود بیماری کمک نمی کند و اهمیت بالینی آزمایشات تعیین حساسیت در شرایط درون تنی [۸] برای بروسلا سوال برانگیز است.

تشخیص سرولوژیک در بیماران مبتلا به بروسلوز

از آنجا که تکنیک های کشت زمان گیر، خطرناک و غیر حساس هستند، اکثر پزشکان به اثبات غیر مستقیم عفونت های بروسلا مبتنی بر افزایش یا بالا رفتن تیترهای آنتی بادی های خاص متکی هستند. علاوه بر این، آزمایش های سرولوژیکی نه تنها برای تشخیص اولیه بروسلوز انسانی، بلکه برای پیگیری درمان نیز مورد استفاده قرار می گیرند. با این حال، مفید بودن سرولوژی در پیگیری درمان، به میزان کم به اثبات رسیده است.

پروفایل های آنتی بادی و آزمایش های سرولوژیکی در طول بیماری

غلبه آنتی بادیهای ایزوتایپ IgM در هفته اول بعد از تلقیح، معمولا در هفته دوم با تغییر به IgG و افزایش پیوسته در تیتر هر دو ساب تایپ که طی ۴ هفته به اوج می رسد ،ادامه پیدا می کند(۵۶). در اوایل این بیماری، آزمایش های سرولوژیکی می تواند منفی باشد و بنابراین تست های آزمایشگاهی باید پس از ۱-۲ هفته در موارد مشکوک بالینی تکرار شود. تست های سرولوژیک پیوسته نیز امکان نظارت بر پاسخ درمان را فراهم می کند. تیتر

[8] in vitro

آنتی بادی ها معمولا پس از شروع درمان مناسب آنتی بیوتیک کاهش می یابد، اما ممکن است نشانه های قابل توجه برای چند ماه یا حتی سال ها، با وجود موفقیت درمانی و کشت خون منفی، ادامه یابد [۵۷،۵۸]. این واقعیت، تمایز بین عفونت فعال و سابقه بروسلوز یا حافظه ایمنی بدون ارتباط بالینی مانند مواجه مجدد با عامل مسبب، پیچیده می کند. در نتیجه، تیترهای افزایش یافته ممکن است منجر به درمان آنتی بیوتیکی درازمدت غیر ضروری شوند. با توجه به فقدان معیارهای تشخیصی آزمایشگاهی برای درمان قطعی، تیترهای آنتی بادی پایدار در طول پیگیری برای تفسیر دشوار است. بیماران مبتلا به بیماری فعال نمی توانند به راحتی از افرادی که در گذشته به بروسلوز مبتلا بوده اند ، با نتایج آزمایش های سرولوژیکی، تمایز داده شوند. از یک طرف، شناسایی تنها آنتی بادی ضد بروسلا شواهدی برای حضور پاتوژن ارائه نمی دهد. از طرف دیگر، در طی مراحل بعد از درمان، تیترهای بالا اغلب در ارتباط با تیترهای بالا در طول مرحله بیماری اولیه هستند و همیشه نشانه ای از نارسایی اولیه درمان، بیماری مزمن یا عود نیستند. به خصوص در مناطق اندمیک، بخش بزرگی از جمعیت ممکن است دارای آنتی بادی های اختصاصی پایدار به دلیل مواجه مداوم با بروسلا باشند. ارزیابی سایقه شیوع در افراد سالم به منظور تعیین مقادیر قابل قبول قطعیت[۹] برای روشهای سرولوژیک در مناطق آندمیک و غیر اندمیک مهم است. کاهش سریع آنتی بادی IgG یک شاخص پیش آگهی برای درمان موفق است، در حالیکه تیتر IgG بالا به صورت پایدار بعد از درمان می تواند نشانه ای از بیماری فعال باشد [۵۹]. تیتر آنتی بادی در بیماران مبتلا به عوارض موضعی آهسته کاهش می یابد [۵۸]، و عود با اوج ثانویه[۱۰] IgG و IgA ضد بروسلا، اما نه ایمونوگلوبولین های IgM مشخص می شود. پاسخ سرولوژیک در طی دوره بروسلوز عمدتا بر اساس آنتی بادی هایی است که به طور مستقیم علیه لیپوپلی ساکارید صاف (s-LPS) تولید می شوند. اکثر آزمایشات سرولوژیک کلاسیک همراه با ELISA قابل دسترس، از عصاره های باکتریایی حاوی غلظت های بالا s-LPS استفاده می کنند و به همین ترتیب تشخیص قابل اطمینان آنتی بادی های آگلوتینین و / یا غیر آگلوتینین را امکان پذیر می کند. از آنجایی که اپی توپ غالب ایمنی[۱۱] بروسلا -Oپلی ساکارید شبیه به باکتری های مختلف است، به عنوان مثال Yersinia enterocolitica O: 9، سالمونلا اوربانا گروه N، Vibrio

[9] cutoff
[10] second peak
[11] immunodominant

Stenotrophomonas و Escherichia coli O: 157 ،Francisella tularensis ،cholerae maltophilia، واکنش متقاطع ممکن است اتفاق بیفتد و اختصاصیت آزمایشات مبتنی بر LPS می تواند کم باشد [۵۶].

در بیمارانی که دارای علائم بالینی مشابه با بروسلوز هستند و یک پیش زمینه اپیدمیولوژیک مطابق با بروسلوز دارند و یا نتایج آزمون سرولوژیک با استفاده از روشهای استاندارد مبتنی بر آنتی ژنهای صاف بروسلا نامشخص است، باید از بروسلوز سگ صرف نظر کرد[۱۲][۶۰]. تشخیص سرولوژیک بروسلوز سگ نیاز به آماده سازی آنتی ژن خاص دارد، زیرا گونه های B. canis آنتی ژن LPS با واکنش متقابل با سایر گونه های Brucella را ندارند. از آنجایی که هنوز آنتی ژن استاندارد مرجع مورد استفاده در آزمایش های سرولوژیکی وجود ندارد، آماده سازی آنتی ژن می تواند بر تشخیص سرولوژیک بروسلوز انسانی تأثیر بگذارد. روش های سرولوژیک متعددی برای شناسایی آنتی بادی های بروسلوز در دسترس هستند. جزئیات تکنیکی تست های سرولوژیکی فعلی در تشخیص بروسلوز انسانی قبلا با جزئیات توصیف شده است[۴۵،۵۶،۶۱]. بیشترین آزمایش های سرولوژیک در تشخیص بروسلوز انسانی، آزمون آگلوتیناسین سرم (SAT)، آزمون رز بنگال (RBT)، آزمایش کومب (CT) و ELISA است. با توجه به دقت کلی آنها در شرایط بالینی، این سیستم های تست می توانند رتبه بندی شوند بصورت ELISA> RBT> SAT> CT رتبه بندی شوند. آزمون ثبوت مکمل که به طور گسترده ای به عنوان یک تست تأیید برای تشخیص سرولوژیک بروسلوز حیوانی مورد استفاده قرار می گیرد، برای تشخیص بیماری های انسانی در آزمایشگاه های بالینی غالبا استفاده نمی شود. تجربه قابل قیاس کمی در استفاده از آزمایش قطبش فلورسانس در تشخیص آزمایشگاهی بروسلوز انسانی وجود دارد [۶۲،۶۳]، در حالیکه این آزمایش برای نظارت بر بروسلوز حیوانات به طور گسترده ای مورد استفاده قرار گرفته است.

آزمایش SAT، RBT و جریان جانبی

[12] canine brucellosis

SAT به عنوان روش مرجع در تشخیص سرولوژیک بروسلوز شناخته شده است [۵۶]. با این حال، تست آگلوتیناسیون لوله کلاسیک (آزمایش رایت) پرکار و زمان بر است، و کاربرد آن در آزمایشگاه های معمول که با نمونه های خون سروکار دارند را با دشواری روبه رو می کند. فرمت های عملی از این روش عبارتند از اسلاید، اسلاید و پلیت کارد آگلوتیناسیون.

در کشورهای اندمیک، RBT، که یک آزمون کارت با استفاده از سوسپانسیون آنتی ژن محلول بروسلا آبورتوس سویه ۱۱۱۹-۳(USDA) (۸٪) رنگ آمیزی شده با رنگ رز بنگال بافر تا pH ۳/۰ ±۰/۶۵ است ، به طور سنتی به عنوان آزمون سریع غربالگری در اورژانس مورد استفاده قرار گرفته است . آزمون تشخیصی RBT در بیماران بدون مواجهه قبلی با بروسلا یا سابقه بروسلوز عالی است، اما در بیمارانی که به طور مکرر در معرض عوامل اتیولوژیک قرار گرفته اند یا در گذشته سابقه ابتلا داشتند، ضعیف است [۶۴]. بنابراین RBT نیاز به تایید با یک آزمون اختصاصی تر مانند ELISA دارد. به همین ترتیب، تیتر سرم های رقیق شده برای تست RBT ممکن است به شناسایی درست بیماران در یک جمعیت با خطر بالا با احتمال مواجهه قبلی کمک کنند. در کشورهای غیر اندمیک، ویژگی تستهای تشخیصی کمتر با نگرانی همراه است، زیرا برای پیگیری و ارزیابی مجدد تیتر مثبت پایین که ممکن است به صورت «عدم تشخیص» گزارش شود، می توان به آسانی سرم تهیه کرد.

علاوه بر این، یک احتمال بالقوه پیش آزمون براساس علائم بالینی نیز ممکن است احتمال نتیجه آزمایش سرولوژیک مثبت را در بیماران مبتلا به بروسلوز مشکوک افزایش دهد (۶۴). اگر چه تفسیر SAT و RBT تا حد زیادی تحت تاثیر فرد است، نتایج آزمایش بین آزمایشگاه های مختلف و سایر آزمون های سرولوژیکی هم قابل توجه است. یک روش جایگزین آسان برای انجام آزمایش سریع در مزرعه و در مناطق روستایی فقیر که به آزمایشگاه های مجهز دسترسی ندارند، آزمایش جریان جانبی است. ثابت شده است که آزمایش جریان جانبی بروسلا در شناسایی سطوح پایین آنتی بادیهای IgG یا IgM خاص نسبت به SAT حساسیت بیشتری دارد[۶۶]. تیترهای ≤۱ :۱۶۰ SAT اگر با یک دوره بالینی سازگار در بیماران با سابقه مواجهه با عامل بیماری همراه باشد ، به طور کلی بروسلوز فعال در نظر گرفته می شود. با این حال، مقادیر cutoff برای تیترهای مربوطه در آزمایش های آگلوتیناسیون هنوز هم

بحث برانگیز است. شیوع بالای آنتی بادیهای بروسلا در جمعیت سالم، اختصاصیت را کاهش می دهد و تیترهای ≤۱:۳۲۰ ممکن است در مناطق اندمیک اختصاصی تر باشند. SAT دارای موارد منفی کاذب در موارد پیچیده و مزمن است. در دوره اولیه بیماری، حتی بیمارهای دارای باکتریمی با تیتر ≤۱: ۱۶۰ ممکن است وجود داشته باشد. [۳۳،۳۵]. افزایش چهار برابر یا بیشتر در تیتر آگلوتیناسیون بروسلا بین نمونه های سرم در فاز حاد و نقاحت، که به فاصله حداقل دو هفته تهیه می شوند، ممکن است عفونت را اثبات کند.

بنابراین تنها یک تیتر آگلوتیناسیون ≤۱: ۱۶۰ نمی تواند از نظر تشخیصی دارای اهمیت باشد و بعضی از موارد بروسلوزیس که در مرحله حاد بیماری از لحاظ سرمی منفی هستند؛ ممکن است بدون آزمایش سرولوژی سرم زوج شده[۱۳] [۶۷] و یا انجام بیش از یک آزمون سرولوژیکی [۶۸] نادیده گرفته شود. ترکیبی از آزمایشات مختلف سرولوژیکی از جمله روش های مختلف آزمایش ممکن است به ارزیابی عملکرد کیفی کمک کند، زیرا می توان از نتایج منفی کاذب ناشی از کم بودن کیفیت آنتی ژن یا استانداردهای تکنیکی ضعیف جلوگیری کرد. درمان قطعی یک بیمار به خوبی با تیتر های پایین SAT همبستگی دارد. بنابراین بیماران مبتلا به بروسلوز باید از نظر بالینی و سرولوژیک پیگیری شوند [۶۹]. با این وجود، دوره های پیگیری پیشرفته سرولوژی ممکن است در بیمارانی که از لحاظ بالینی خوب هستند، معقول نباشد. تیترهای قابل توجهSAT در ۳ تا ۵ درصد موارد بروسلوز بالینی درمان شده ۲ سال پس از درمان موفق آنتی بیوتیکی مشاهده شده است. [۶۹] و این ارقام ممکن است در جمعیت های مختلف حتی بعد از یک رژیم آنتی بیوتیکی دیگر ، با استفاده از سایر آزمایش های سرولوژیکی و غیره بالاتر باشد.

آزمون کومبس و بروسلاکاپت

CT کلاسیک بیشتر به عنوان یک گسترش از SAT برای تشخیص آنتی بادی های ناقص، مسدود کننده یا غیر انعقادی استفاده می شود.CT برای تشخیص تغییرات جزئی در تیترهای آنتی بادی ضد بروسلا در دوره های مزمن و در طی عود بیماری مناسب ترین آزمون سرولوژیک است [۵۸]. نقص اصلی آزمونهای کلاسیک، مانند SAT و CT، این است که آنها پرکار و وقت گیر هستند. بروسلاکاپت (Vircell, Santa Fé, Granada, Spain), یک

[13] paired sera

آزمایش تک مرحله ای گیرنده ایمنی[14] برای تشخیص کل آنتی بادی ضد بروسلا، یک جایگزین ارزشمند برای CT است. سادگی Brucellacapt آن را به عنوان یک آزمون مکمل دوم مناسب می سازد. بیماران مبتلا به بیماری پایدار بیشتر با علائمی نظیر تیتر بالا در زمان پذیرش ، رگرسیون آهسته تر در طی پیگیری دیده می شوند و تیتر آنها در بروسلاکپت هیچ گاه به ≤۱:۳۲۰ نمی رسد [۵۹]. به ویژه در موارد عود، تیترهای تعیین شده توسط Brucellacapt و CT به آرامی کاهش می یابد و در مقایسه با SAT، چندین قله را نشان می دهد [۵۸].

این تغییرات در عود باکتریمیک بیشتر مشهود است. کاهش تیترها بعد از درمان موفقیت آمیز و درمان بالینی بیماران در Brucellacapt بیشتر و سریعتر از SAT و CT است. از این رو، تیترهای Brucellacapt نشانگر خوبی از فعالیت عفونت است که به ویژه در مورد پیگیری بیماران مفید است. با این حال، در بعضی موارد از عود و بیماری مزمن، تنها تغییرات اندکی در آنتی بادی های مرتبط مشاهده می شود که با CT بهتر تشخیص داده می شوند [۵۸].

الایزا

نتایج بدست آمده با استفاده از کیت تجاری ELISA نشان می دهد که این روش مطابقت بسیار خوبی با SAT و CT برای تشخیص آنتی بادی های بروسلا دارد [۷۰،۷۱]. بنابراین ELISA می تواند به طور قابل اعتماد در تشخیص بروسلوز انسانی مورد استفاده قرار گیرد. به خصوص در بروسلوز مزمن و گذشته، ELISA حساس تر از SAT است (جدول ۱). با این حال، در موارد حاد، آزمایش های آگلوتیناسیون نتایج مشابهی را نشان می دهد و ارزان ترند.

ELISA یک روش عالی برای غربالگری سرم برای آنتی بادیهای بروسلا است و تشخیص اولیه تیترهای IgM برای تشخیص بروسلوز در اکثر بیماران با علائم، نشان دهنده بیماری حاد کافی است. با این حال، در همه بیماران مبتلا به بروسلوز، آنتی بادی IgM نمی تواند به طور موفقیت آمیز شناسایی شود. نتایج IgM منفی غلط ممکن است به

[14] immunocapture

علت اضافه شدن آنتی بادی IgG و نتایج مثبت کاذب به علت وجود عامل فاکتور روماتوئید باشد [۶۵،۷۲]. از این رو، قبل از آزمایش برای آنتی بادی IgM ضد بروسلا، باید روماتوئید فاکتور به طور معمول از طریق جذب حذف شود تا نتیجه مثبت کاذب را رد کند [۷۲]. اگر تنها یک زیرگروه از ایمونوگلوبولین ها با استفاده از ELISA اندازه گیری می شود، بسیاری از بیماران مورد آزمایش منفی کاذب خواهند شد [۶۸]. حداقل آنتی بادی های IgG و IgM باید برای تشخیص قطعی بروسلوز انسانی و طبقه بندی مرحله بیماری [۶۷،۷۳] تعیین شود.

تشخیص مولکولی بروسلا در نمونه های بالینی

در تشخیص آزمایشگاهی بروسلوز انسانی، ثابت شده است که PCR نسبت به کشت خون حساس تر است و از آزمایش های سرولوژیکی، در بیماری های حاد و مزمن اختصاصی تر است. علاوه بر این، کار بر روی DNA باعث کاهش خطر ابتلا به عفونت های آزمایشگاهی به علت عفونت زایی بالای کشت های زنده می شود. تعداد زیادی از روش های PCR برای شناسایی مستقیم بروسلا های کشت شده ایجاد شده اند و تعدادی از این تکنیک ها برای تشخیص بروسلوز انسانی ارزشمند است [۷۴، ۷۵].DNA بروسلا در نمونه های بالینی مختلف، از جمله سرم، نمونه خون کلیه و نمونه های ادرار، بافت های مختلف، مایع مغزی نخاعی، مایع سینوویال یا پلور و چرک قابل تشخیص می باشد [۷۶-۸۱].

با توجه به دسترسی آسان آنها، نمونه های خون کامل و سرم در حال حاضر برای تشخیص مولکولی بروسلوز انسانی مورد ارزیابی قرار می گیرند. این که آیا قسمت سرم نسبت به کل خون مناسب تر است یا خیر برای تشخیص مولکولی عامل مسبب یا برعکس، هنوز بحث برانگیز است [۸۲،۸۳]. غلظت مهارکننده های PCR در نمونه های سرم پایین تر است، اما تعداد کمتر باکتری ها در گردش خون، به عنوان مثال در دوره های مزمن یا پس از درمان آنتی بیوتیک، ممکن است منجر به عدم وجود DNA هدف شود که منجر به نتایج منفی کاذب می شود.

از آنجاییکه رژیم های آنتی بیوتیکی مستقل از گونه مسبب بروسلوز در انسان هستند ،تشخیص بروسلا از طریق PCR ژن خاص برای تشخیص سریع و شروع درمان مناسب است. اگر چه توالی های مختلف برای شناسایی جنس Brucella مورد استفاده قرار گرفته است، [۳۱] در شرایط بالینی اکثر آزمایشات PCR ژن bcsp31 را هدف قرار

می دهند که یک پروتئین غشای خارجی ایمونوژنیک -kDa ۳۱ محافظت شده در میان تمام گونه های بروسلا را کد می کند. یک روش مختص جنس که ژن bcsp۳۱ را هدف قرار می دهد برای غربالگری مناسب است، زیرا از نتایج منفی کاذب ناشی از گونه های نادر و بیوارها ممانعت می کنند. با این حال، یک هدف ژن دوم برای تایید تشخیص اولیه مولکولی ضروری است. استفاده از بیش از یک مارکر مولکولی ممکن است حساسیت و خاصیت را افزایش دهد [۸۵]. توالی ژن ۱۶S rRNA می تواند یک ابزار قابل اعتماد برای شناسایی تاییدی سریع گونه های بروسلا و تمایز آنها از میکروارگانیسم های مرتبط باشد [۸۶]. آزمایش های مختلف PCR ممکن است علاوه بر این امکان نظارت بر گونه های خاص را فراهم کند. برای این منظور اخیرا یک آزمایش PCR چندمنظوره مناسب برای شناسایی انواع گونه های بروسلا و گونه های واکسن B. abortus RB51, B. abortus S19 and B. melitensis Rev1 صورت گرفته است. در مطالعهٔ چندتایی در سراسر جهان، Bruce-ladder PCR ثابت کرده است که برای شناسایی سریع سویه های بروسلا در آزمایشگاه های میکروبیولوژی پایه مفید است. در آزمایشگاه های میکروبیولوژی ، real-time PCRامکان غربالگری سریع تر نمونه ها با کارایی بالاو عرضه ی نتایج در عرض چند ساعت را فراهم میکند. آنالیز های real-time PCR اختصاصی جنس به طور موفقیت آمیزی برای نمونه های مختلف انسانی انجام شده است. اثرات مهاری در نمونه های بالینی ممکن است رخ دهد. اما یک کنترل تکثیر داخلی می تواند به جلوگیری از مهار PCR کمک کند. علیرغم حساسیت تحلیلی بالا در آزمایشات real-time PCR ، تعداد کم باکتری در نمونه های بالینی هنوز در تشخیص مولکولی بروسلوز انسانی مشکل ایجاد می کند. بنابراین، روش های آماده سازی نمونه اولیه، باید باعث کاهش اثرات مهاری ناشی از اجزای ماتریکس شود و همچنین باید DNA را تغلیظ کنند.روش جوشاندن ساده سرم برای پردازش DNA قالب باکتریایی از مهار کننده های PCR جلوگیری نمی کند، اما کیت های تجاری مختلف مانند .QIAamp ™ DNA Mini Kit (Qiagen Inc، Valencia، CA، (USA و UltraClean ™ DNA BloodSpin کیت (.MO BIO Laboratories Inc، Carlsbad، CA، (USAبا موفقیت برای استخراج DNA بروسل از نمونه های خون، سرم و بافت مورد استفاده قرار گرفته است. با این حال، مطالعات ارزیابی جامع در مورد روش استخراج DNA در نمونه های مختلف انسان در حال

حاضر ناقص هستند. با استفاده از آنالیز های real-time PCR بروسلا، حدود پنج باکتری در هر واکنش می توانند شناسایی شوند . حساسیت را می توان با آزمایش چندین تکرار DNA خالص به موازات یا با استفاده از عنصر Insert IS۷۱۱ افزایش داد. این عناصر بروسلا به عنوان یک هدف برای تکثیر در نظر گرفته شده،که در نسخه های متعدد در کروموزوم های بروسلا یافت می شود. در دهه گذشته، بسیاری از مطالعات بالینی برای ارزیابی سودمندی روش های PCR در طول بروسلوز انسانی با شروع دوره انکوباسیون در طول پیگیری پس از درمان انجام شده است. تشخیص مولکولی کیفی DNA بروسلا عمدتا بروسلوز حاد یا سابقه بیماری را اثبات می کند. پس از شروع درمان با آنتی بیوتیک، مقدار DNA در نمونه های خون به طور واضح کاهش می یابد، که همزمان با ناپدید شدن علائم است، اما به طور ضعیف در حین پیگیری حتی در بیماران بدون علامت مثبت باقی می ماند. در مقایسه با روش های روتین میکروبی معیارهای واضح تعریف شده برای ایجاد موفقیت درمان یا پیش بینی عود در روش های مولکولی وجود ندارد. real-time PCR کمی یک ابزار ارزشمند در تشخیص اولیه بیماری غیرفعال علامت دار در بیمارانی است که روش های میکروبیولوژیکی کلاسیک در آن ها با شکست مواجه شده است. علاوه بر این، عفونت های فعال و گذشته بروسلا می تواند متفاوت باشد. با استفاده از یک تست PCR معمولی برای پیگیری پس از درمان، تشخیص DNA بروسلا در نمونه های خون به عنوان نشانه ای از عود، در حالی که یک نتیجه PCR منفی نتیجه نتیجه درمان موفقیت آمیز است. در مقابل، با استفاده از تکنیک های real-time PCR ، DNA بروسلا در اکثر بیماران مبتلا به بروسلوز در طول درمان و پیگیری، علیرغم درمان مناسب آنتی بیوتیک و بهبود بالینی بالینی، تشخیص داده می شود. مقدار DNA باکتریایی پس از پایان درمان به طور مداوم کاهش می یابد. با این حال، در تعداد قابل توجهی از بیماران، بروسلا DNA برای چندین ماه یا حتی سالهاپس از درمان بالینی قابل تشخیص است و در صورت عدم وجود علائم نشان دهنده بیماری مزمن یا عود بیماری آن است. از این رو، پاسخ بالینی به درمان آنتی بیوتیک به نظر نمیرسد با ریشه کنی پاتوژن در بیماران مبتلا به بروسلوز معادل باشد، این رویداد ممکن است با بقای و پایداری بروسلا در ماکروفاژهای بدن توضیح داده شود. با توجه به سرعت پائین تکثیرباکتریایی، سیستم ایمنی بدن بیمار قادر به کنترل باکتری های گذرا می باشد. علاوه بر این، آزمایش های real-time PCR عملکرد تشخیصی بالاتر از

تکنیک های متداول، منجر به تشخیص حساس میکروارگانیسم ها در حالت vbnc یا فاگوسیتوز شده نشان می دهد. با این حال امکان عود در بیمارانی که DNA بروسلا در آن ها شناسایی نشده نیز وجود دارد. مقدار DNA باکتریایی در جریان بیماری اساسا در بیماران مبتلا به عود و افراد بدون عود متفاوت نیست. با این وجود، real-time PCR ممکن است در تشخیص عفونت مزمن مفید باشد. DNA بروسلا را می توان در افراد بدون علامت با سابقه بروسلوز تشخیص داد، اگرچه به نسبت کمتراز گروه بیماران علامت دار که مبتلا به بیماری مزمن هستند. همانطور که در بالا ذکر شد، شناسایی گونه ها برای تصمیم گیری در مورد رژیم آنتی بیوتیک یا مدت زمان درمان ضروری نیست، اما ساب تایپینگ در سطح سویه بیشترمی تواند برای تشخیص بیماری جدید از عود، به ویژه در کشورهای اندمیک مفید باشد. لوکوس ژنتیکی حاوی تعداد متغیری از نواحی تکراری پشت سرهم علی رغم شباهت زیادی جنس ها از این نظر بهم (VNTRs) اخیرا اثربخشی خود را در تایپ مولکولی گونه های بروسلا نشان داده اند، به عنوان یک نتیجه، یک تجزیه و تحلیل چندگانه VNTR بر اساس ۱۶ نشانگر (MLVA-16) برای استفاده تشخیصی در بروسلوز انسانی توسعه داده شده است. ژنوتیپ های مشابه MLVA-16 از گونه های بروسلا جدا شده از همان بیمار قبل و بعد از درمان اولیه ممکن است یک عود را تایید کرده و تغییرات درمان مانند درمان طولانی مدت آنتی بیوتیک اعمال شود. در مقابل، اثر انگشت ژنتیکی ممکن است ژنوتیپ های مختلف را در مورد عفونت مجدد نشان دهد و درمان استاندارد بدون از دست رفتن اثر بخشی می تواند تکرار شود.

اهمیت تشخیص آزمایشگاهی در درمان

از آنجایی که درمان بروسلوز انسانی طولانی بوده و از از داروهای متعدد با عوارض جانبی زیاد استفاده می شود.، توصیه های درمانی باید به یک تشخیص آزمایشگاهی قطعی و دقیق تکیه کنند. اول از همه، تنها افراد مبتلا به قرار گرفتن در معرض بالقوه باید برای بروسلوز مورد آزمایش قرار بگیرند تا احتمال احتمال نتایج مثبت کاذب کاهش یابد. بیماران که نیاز به درمان دارند، باید قبل و بعد از درمان اولیه و در پی پیگیری به روشنی تعریف شوند. اگر چه عفونت ممکن است در موارد عودکننده و مزمن ثابت شده باشد، معیارهای تشخیصی نباید ضعیف باشند.

یک فرد در صورتی بعنوان یک بیمار دارای بروسلوز در نظر گرفته می شود که اگر علائم بالینی و نشانه های بیماری را داشته و همچنین با ت تشخیص بالینی آزمایشگاه تایید شده باشد (شکل ۱)؛ به عنوان مثال، بروسلا را می توان از خون، سایر مایعات بدن یا نمونه های بافت جدا کرد، تیتر آگلوتیناسیون اولیه بیش از ۱: ۱۶۰، seroconversion و یا افزایش چهار برابر درتیتر آگلوتیناسیون در یک سرم تحت کنترل ، یا تشخیص DNA بروسلا در یک نمونه بالینی. در صورت جداسازی گونه های بروسلا از نمونه های بالینی باید ملاحظات درمانی را به سرعت باید آغاز شود. به ویژه در مناطق اندمیک، ایزوله از محیط کشت باید در اولویت قرار گیرد تا تشخیص بالینی را تضمین کند، زیرا تفسیر تیترهای آنتی بادی آگلوتیناسیون می تواند با وجود تیترهای پایه بالاتر در جمعیت مخدوش شود. cut-off برای نتیجه مثبت آزمایش سرولوژی یک فرد به میزان زیادی بستگی به فرکانس تماس با فرد سویه های Brucella دارد. عفونت های تک علامتی و بدون علامت، خود که بصورت خود محدود شونده اند در بروسلوز اناسنی شایع اند. تیر آنتی بادی IgG ضد بروسلایی ممکن است پس ازگذشت زمان زیادی از تماس با عامل اتیولوژیک آن یا حتی بعد از درمان با آنتی بیوتیک بالا باقی بماند. بنابراین، نتایج آزمایش های سرولوژیکی فقط باید به عنوان شواهد حمایتی برای عفونت اخیر شناخته شوند و بایدبری تشخیص هم وجود بیماری بالقوه سازگار و تاریخ در معرض قرار گرفتن تفسیر شود. علاوه بر این، تجویز درمان طولانی مدت آنتی بیوتیک بر اساس یک نتیجه آزمایش یک سرولوژیک به نظر نمی رسد که توجیه شود. برای یک تشخیص سرولوژیک قابل اعتماد از بروسلوز انسانی، حداقل دو آزمایش مختلف بر اساس یک روش بسیار حساس برای غربالگری و یک روش خاص برای تایید نتیجه اولیه آزمایش لازم است.

تکنیک های مولکولی مانند آزمایش های real-time PCR کمی ثابت کرده اند که کارآمدتر از روش های معمول در تشخیص عفونت های ناشی از میکروارگانیسم های سخت رشد مانند .Brucella هستند. تشخیص DNA بروسلا در نمونه های خون یا نمونه های بافتی بیماران دارای علائم که تا کنون درمان نشده اند، ممکن است ضرورت درمان آنتی بیوتیک را با وجود کشت منفی خون و یا آزمایش های منفی سرولوژی نشان می دهد، در حالی

که بیماران بدون علامت با نتایج مثبت PCR باید از نظر زمینه بالینی دوباره ارزیابی شوند، اهمیت تشخیص DNA در بیماران درمان شده بروسلوز هنوز مبهم است.

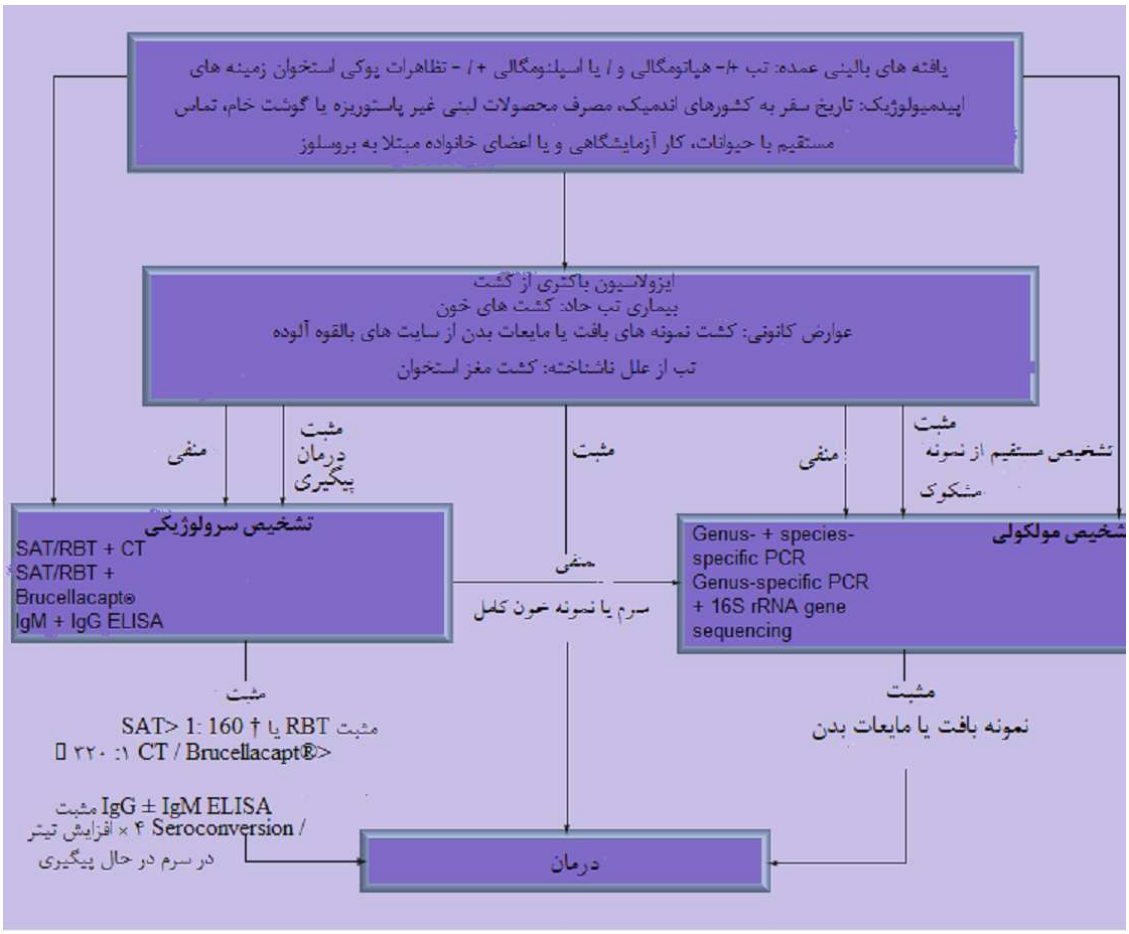
دیدگاه کارشناسان و دیدگاه پنج ساله

به علت عدم وجود یک آزمایش قابل اعتماد، بروسلوز انسانی یک بیماری با تشخیص مشکل است. کشت خون زمان بر و تست های فنوتیپی متعاقب آن هنوز گلد استاندارد تشخیص بروسلوز انسانی است. با این حال بازده پائین کشت های بروسلا ، اغلب به تاخیر تشخیصی و در تاخیر در شروع درمان مناسب آنتی بیوتیک منجر می شود. سرولوژی یک وسیله موثرتر برای ارزیابی تشخیصی است، اگر چه عدم دسترسی به آزمایشات استاندارد شده در سطح بین المللی، شیوع بالای بک گراند آنتی بادی های ضد بروسلا در کشورهای اندمیک، تداوم طولانی مدت آنتی بادی های قابل توجه بعد از درمان موفق، آنتی بادی های متقابل و غیره ممکن است تشخیص آزمایشگاهی را مختل کند. نقاط cut-off مناسب باید برای هر یک از سیستم های سرولوژیک آزمایشگاهی و برای جمعیت های مختلف از نظر اندمیک بودن متفاوت هستند، تعریف شود. مطالعات گسترده در مورد شیوع سرمی در جمعیت عمومی ممکن است به تعیین اهمیت نتایج مثبت آزمایش های سرولوژی کمک کند. در آینده ای نزدیک، تکنیک های مولکولی ممکن است انقلابی در تشخیص آزمایشگاهی بروسلوز انسانی ایجاد کند. تکنولوژی Real-time PCRبا تمام الزامات تشخیص سریع آزمایشگاه های میکروبیولوژی بالینی مطابقت دارد. کاهش چشمگیر تاخیر تشخیصی پیامدهای پیش آگهی مهمی به خصوص در عوارض بیماری تهدید کننده زندگی مانند نوروبروزلوس و بروسلا اندوکاردیت دارد.

با این حال، معیارهای آزمایشگاهی اثبات عفونت فعال یا درمان قطعی نه برای سرولوژی و نه برای آزمایش های مولکولی هنوز مشخص نشده است،. مطالعات همبستگی تیترهای آنتی بادی یا مقدار DNA باکتریایی در نمونه های خون با یافته های کشت و نتایج بالینی، به عنوان مثال شدت بیماری، تمایل به عود و نیاز به درمان آنتی بیوتیک افزایش یافته، در حال حاضر کم است. علاوه بر این، آزمایش های سرولوژیک و مولکولی باید با توجه به مرحله بیماری در شرایط بالینی مجددا تایید شوند. دوره های پیگیری طولانی مدت برای تعیین اینکه آیا میزان آنتی بادی های ضد Brucella و مقدار DNA باکتریایی موقت است یا نشان دهنده ریشه کن شدن عامل اتیولوژیک بیماری

است ، مورد نیاز است. آخرین، اما نه کم، روش های مولکولی نسبتا گران هستند، به همین دلیل است که آزمایش های سرولوژی ممکن است برای آزمایشگاه های معمول در مناطق اندمیک که با وضعیت اجتماعی پایین اقتصادی شناخته می شوند، بیشتر باشد. برای این منظور، آزمونهای ارزان، ساده و سریع برای مراقبت از بیماران بالقوه در کشورهای اندمیک ضروری است.

موارد بالینی مظنون



شکل ۱: درخت تصمیم گیری در تشخیص آزمایشگاهی بروسلوز انسانی.

† مقادیر قطع می تواند در جمعیت های مختلف و در بیماران بستگی به مرحله بیماری داشته باشد.

CT: آزمون کومبس؛ RBT: آزمون رز بنگال؛ SAT: تست آگلوتیناسیون سرم

تقدیر و تشکر

ما از همکاران مان در کالج Anne Mayer-Scholl به خاطر خواندن انتقادی این دست نویس سپاسگزاریم.

افشای منافع مالی و رقابتی

نویسندگان ارتباطات وابسته یا مشارکت مالی با هیچ سازمان یا نهاد با وابستگی مالی یا درگیری مالی با موضوع یا مواد مورد بحث در دستنوشته ندارند. این شامل اشتغال، مشاوره، حق امتیاز، مالکیت سهام یا موارد دیگر، تصدیق متخصص، کمک های مالی یا اختراع دریافت شده یا مورد انتظار و یا حق امتیاز است. هیچ گونه کمک نوشتاری در تولید این دستنوشته مورد استفاده قرار نگرفت.

مسائل کلیدی

- با وجود کنترل دام های بسیاری از کشورهای توسعه یافته، بروسلوز هنوز یک بیماری زئونوزی منطقه ای است که در حال گسترش است و با توجه به جهانی شدن تجارت حیوانات و گردشگری در سراسر جهان، نگرانی عمده بهداشت عمومی در مناطق اندمیک و غیر اندمیک است.
- تشخیص سریع و قابل اعتماد برای درمان موثر، در کاهش مرگ و میر و مرگ و میر ناشی از بروسلوز انسانی اهمیت اساسی دارد. با توجه به علائم و نشانه های پلی مورفیک بیماری، مشاهده یک شاخص مشکوک قوی برای انجام تست آزمایشات ضروری است.
- قبل از متعهد شدن به درمان طولانی مدت آنتی بیوتیک برای بروسلوز، یافته های بالینی مربوطه، زمینه اپیدمیولوژیک و تشخیص آزمایشگاهی باید ادغام شوند. به خصوص تشخیص آزمایشگاهی قطعی برای اثبات عفونت فعال قبل از شروع درمان ضروری است. بنابراین، معیارهای تشخیصی موثر برای مشخص کردن یک مورد بروسلوز انسانی در مراحل مختلف بیماری باید بیان شود.
- جداسازی بروسلا از خون، مغز استخوان یا سایر بافت ها و مایعات بدن، عفونت را تایید می کند، اما کشت به خصوص در دوره های مزمن بیماری ،غالبا ناموفق است.
- به علت خطر بالای عفونت های آزمایشگاهی در هنگام برخورد با کشت و بروسلاهای زنده، روش های سرولوژیکی و مولکولی در تشخیص معمول بروسلوز توسط آزمایشگاه های میکروبیولوژی بالینی نقش کلیدی ایفا می کند.

- تفسیر تست های آزمایشگاهی در تشخیص بروسلوز انسانی، نیاز به درک مفصلی از روشهای مفید و مشکلات آنها دارد.
- روش های آزمایشگاهی برای تشخیص بروسلوز انسانی باید در سطح بین المللی استاندارد شود و باید تحت ارزیابی سیستم تضمین کیفیت (یعنی هماهنگ سازی استانداردهای تشخیصی در دامپزشکی و پزشکی انسانی، مدیریت کیفیت، دستیار آموزشی، انتقال پروتکل ها و آزمایشات حلقه ای دوره ای) قرار گیرد.
-

References

Papers of special note have been highlighted as:
• of interest
•• of considerable interest

1 Yagupsky P, Baron EJ. Laboratory exposures to brucellae and implications for bioterrorism. *Emerg. Infect. Dis.* 11(8), 1180–1185 (2005).

2 Godfroid J, Cloeckaert A, Liautard JP *et al.* From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. *Vet. Res.* 36(3), 313–326 (2005).

3 Foster G, Osterman BS, Godfroid J, Jacques I, Cloeckaert A. *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57(11), 2688–2693 (2007).

4 Scholz HC, Hubalek Z, Sedlácek I *et al.* *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58(2), 375–382 (2008).

5 Scholz HC, Hofer E, Vergnaud G *et al.* Isolation of *Brucella microti* from mandibular lymph nodes of red foxes, *Vulpes vulpes*, in lower Austria. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 9(2), 153–156 (2009).

6 Scholz HC, Hubalek Z, Nesvadbova J *et al.* Isolation of *Brucella microti* from soil. *Emerg. Infect. Dis.* 14(8), 1316–1317 (2008).

7 Scholz HC, Nöckler K, Göllner C *et al.* *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60(4), 801–808 (2010).

8 Tiller RV, Gee JE, Frace MA *et al.* Characterization of novel *Brucella* strains originating from wild native rodent species in North Queensland, Australia. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(17), 5837–5845 (2010).

9 Schlabritz-Loutsevitch NE, Whatmore AM, Quance CR *et al.* A novel *Brucella* isolate in association with two cases of stillbirth in non-human primates – first report. *J. Med. Primatol.* 38(1), 70–73 (2009).

10 Tiller RV, Gee JE, Lonsway DR *et al.* Identification of an unusual *Brucella* strain (BO2) from a lung biopsy in a 52 year-old patient with chronic destructive pneumonia. *BMC Microbiol.* 10, 23 (2010).

11 World Health Organization. Fact sheet N173. World Health Organization, Geneva, Switzerland (1997).

12 Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect. Dis.* 6(2), 91–99 (2006).

13 Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. *N. Engl. J. Med.* 352(22), 2325–2336 (2005).

14 Lucero NE, Ayala SM, Escobar GI, Jacob NR. *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. *Epidemiol. Infect.* 136(4), 496–503 (2008).

15 Refai M. Incidence and control of brucellosis in the Near East region. *Vet. Microbiol.* 90(1–4), 81–110 (2002).

16 Wolfram JH, Butaev MK, Duysheev A *et al.* Brucellosis: a transboundary zoonotic disease. Epidemiology chapter. *Vaccine* 28(Suppl. 5), F77–F84 (2010).

17 McDermott JJ, Arimi SM. Brucellosis in sub-Saharan Africa: epidemiology, control and impact. *Vet. Microbiol.* 90(1–4), 111–134 (2002).

18 Taleski V, Zerva L, Kantardjiev T *et al.* An overview of the epidemiology and epizootology of brucellosis in selected countries of Central and Southeast Europe. *Vet. Microbiol.* 90(1–4), 147–155 (2002).

19 Memish ZA, Balkhy HH. Brucellosis and international travel. *J. Travel Med.* 11(1), 49–55 (2004).

20 Marcotty T, Matthys F, Godfroid J *et al.* Zoonotic tuberculosis and brucellosis in Africa: neglected zoonoses or minor public-health issues? The outcomes of a multi-disciplinary workshop. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 103(5), 401–411 (2009).

21 Godfroid J, Käsbohrer A. Brucellosis in the European Union and Norway at the turn of the twenty-first century. *Vet. Microbiol.* 90(1–4), 135–145 (2002).

22 Godfroid J. Brucellosis in wildlife. *Rev. Sci. Tech.* 21(2), 277–286 (2002).

23 Gwida M, Al Dahouk S, Melzer F, Rösler U, Neubauer H, Tomaso H. Brucellosis – regionally emerging zoonotic disease? *Croat. Med. J.* 51(4), 289–295 (2010).

24 Colmenero JD, Reguera JM, Martos F *et al.* Complications associated with *Brucella melitensis* infection: a study of 530 cases. *Medicine* (Baltimore) 75(4), 195–211 (1996).

25 Buzgan T, Karahocagil MK, Irmak H *et al.* Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature. *Int. J. Infect. Dis.* 14(6), e469–e478 (2010).

26 Al Dahouk S, Neubauer H, Hensel A *et al.* Changing epidemiology of human brucellosis, Germany, 1962–2005. *Emerg. Infect. Dis.* 13(12), 1895–1900 (2007).

27 Ariza J, Bosilkovski M, Cascio A *et al.*; International Society of Chemotherapy; Institute of Continuing Medical Education of Ioannina. Perspectives for the treatment of brucellosis in the 21st century: the Ioannina recommendations. *PLoS Med.* 4(12), e317 (2007).

28 Corbel MJ. Treatment of human brucellosis. In: *Brucellosis in Humans and Animals (Chapter 5)*. Corbel MJ, Elberg SS, Cosivi O (Eds). World Health Organization, Geneva, Switzerland, 36–41 (2006).

29 Skalsky K, Yahav D, Bishara J, Pitlik S, Leibovici L, Paul M. Treatment of human brucellosis: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 336(7646), 701–704 (2008).

30 Solera J. Update on brucellosis: therapeutic challenges. *Int. J. Antimicrob. Agents* 36(Suppl. 1), S18–S20 (2010).

31 Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis – a review of the literature. Part I: techniques for direct detection and identification of *Brucella* spp. *Clin. Lab.* 49(9–10), 487–505 (2003).

32 Yagupsky P. Detection of brucellae in blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* 37(11), 3437–3442 (1999).

33 Memish Z, Mah MW, Al Mahmoud S, Al Shaalan M, Khan MY. *Brucella* bacteraemia: clinical and laboratory observations in 160 patients. *J. Infect.* 40(1), 59–63 (2000).

34 Kadanali A, Ozden K, Altoparlak U, Erturk A, Parlak M. Bacteremic and nonbacteremic brucellosis: clinical and laboratory observations. *Infection* 37(1), 67–69 (2009).

35 Espinosa BJ, Chacaltana J, Mulder M *et al.* Comparison of culture techniques at different stages of brucellosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 80(4), 625–627 (2009).

- **Valuable comparison of basic culture methods at different stages of human brucellosis.**

36 Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. *Lancet Infect. Dis.* 7(12), 775–786 (2007).

37 Gotuzzo E, Carrillo C, Guerra J, Llosa L. An evaluation of diagnostic methods for brucellosis – the value of bone marrow culture. *J. Infect. Dis.* 153(1), 122–125 (1986).

38 Mantur BG, Mulimani MS, Bidari LH, Akki AS, Tikare NV. Bacteremia is as unpredictable as clinical manifestations in human brucellosis. *Int. J. Infect. Dis.* 12(3), 303–307 (2008).

39 Baysallar M, Aydogan H, Kilic A, Kucukkaraaslan A, Senses Z, Doganci L. Evaluation of the BacT/ALERT and BACTEC 9240 automated blood culture systems for growth time of *Brucella* species in a Turkish tertiary hospital. *Med. Sci. Monit.* 12(7), BR235–BR238 (2006).

40 Cetin ES, Kaya S, Demirci M, Aridogan BC. Comparison of the BACTEC blood culture system versus conventional methods for culture of normally sterile body fluids. *Adv. Ther.* 24(6), 1271–1277 (2007).

41 Mantur BG, Bidari LH, Akki AS, Mulimani MS, Tikare NV. Diagnostic yield of blood clot culture in the accurate diagnosis of enteric fever and human brucellosis. *Clin. Lab.* 53(1–2), 57–61 (2007).

42 Mantur BG, Mangalgi SS. Evaluation of conventional Castañeda and lysis centrifugation blood culture techniques for diagnosis of human brucellosis. *J. Clin. Microbiol.* 42(9), 4327–4328 (2004).

43 Yagupsky P. Use of the BACTEC Myco/F Lytic medium for detection of *Brucella melitensis* bacteremia. *J. Clin. Microbiol.* 42(5), 2207–2208 (2004).

44 Rovery C, Rolain JM, Raoult D, Brouqui P. Shell vial culture as a tool for isolation of *Brucella melitensis* in chronic hepatic abscess. *J. Clin. Microbiol.* 41(9), 4460–4461 (2003).

45 Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. *Techniques for the Brucellosis Laboratory.* Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France (1988).

46 Barham WB, Church P, Brown JE, Paparello S. Misidentification of *Brucella* species with use of rapid bacterial identification systems. *Clin. Infect. Dis.* 17(6), 1068–1069 (1993).

47 Elsaghir AA, James EA. Misidentification of *Brucella melitensis* as *Ochrobactrum anthropi* by API 20 NE. *J. Med. Microbiol.* 52(5), 441–442 (2003).

48 Al Dahouk S, Scholz HC, Tomaso H *et al.* Differential phenotyping of *Brucella* species using a newly developed semi-automated metabolic system. *BMC Microbiol.* 10, 269 (2010).

49 Rich M, Bannatyne RM, Memish ZA. Direct urease test on BACTEC blood cultures: early presumptive diagnosis of brucellosis in an area of endemicity. *J. Clin. Microbiol.* 38(4), 1706 (2000).

50 Rich M, Memish ZA. Presumptive diagnosis of brucellosis from contaminated blood cultures in an area of endemicity. *Br. J. Biomed. Sci.* 61(2), 93–94 (2004).

51 Wellinghausen N, Nöckler K, Sigge A, Bartel M, Essig A, Poppert S. Rapid detection of *Brucella* spp. in blood cultures by fluorescence in situ hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 44(5), 1828–1830 (2006).

52 Qu Q, Zhu Z, Wang Y *et al.* Rapid and quantitative detection of *Brucella* by up-converting phosphor technology-based lateral-flow assay. *J. Microbiol. Methods* 79(1), 121–123 (2009).

53 Al Dahouk S, Nöckler K, Scholz HC, Tomaso H, Bogumil R, Neubauer H. Immunoproteomic characterization of *Brucella abortus* 1119-3 preparations used for the serodiagnosis of *Brucella* infections. *J. Immunol. Methods* 309(1–2), 34–47 (2006).

54 Ferreira L, Vega Castaño S, Sánchez-Juanes F *et al.* Identification of *Brucella* by MALDI-TOF mass spectrometry. Fast and reliable identification from agar plates and blood cultures. *PLoS ONE* 5(12), e14235 (2010).

55 Ariza J, Bosch J, Gudiol F, Liñares J, Viladrich PF, Martín R. Relevance of *in vitro* antimicrobial susceptibility of *Brucella melitensis* to relapse rate in human brucellosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 30(6), 958–960 (1986).

56 Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis – a review of the literature. Part II: serological tests for brucellosis. *Clin. Lab.* 49(11–12), 577–589 (2003).

57 Ariza J, Pellicer T, Pallarés R, Foz A, Gudiol F. Specific antibody profile in human brucellosis. *Clin. Infect. Dis.* 14(1), 131–140 (1992).

58 Casanova A, Ariza J, Rubio M, Masuet C, Díaz R. Brucellacapt versus classical tests in the serological diagnosis and management of human brucellosis. *Clin. Vaccine Immunol.* 16(6), 844–851 (2009).

- **Recent comparative study of the Brucellacapt® versus classical serologic tests in the course of human brucellosis.**

59 Bosilkovski M, Katerina S, Zaklina S, Ivan V. The role of Brucellacapt test for follow-up patients with brucellosis. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 33(5), 435–442 (2010).

60 Lucero NE, Escobar GI, Ayala SM, Jacob N. Diagnosis of human brucellosis caused by *Brucella canis*. *J. Med. Microbiol.* 54(5), 457–461 (2005).

61 Araj GF. Update on laboratory diagnosis of human brucellosis. *Int. J. Antimicrob. Agents* 36 (Suppl. 1), 12–17 (2010).

62 Konstantinidis A, Minas A, Pournaras S *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.* 26(10), 715–721 (2007).

63 Lucero NE, Escobar GI, Ayala SM, Silva Paulo P, Nielsen K. Fluorescence polarization assay for diagnosis of human brucellosis. *J. Med. Microbiol.* 52(10), 883–887 (2003).

64 Ruiz-Mesa JD, Sánchez-Gonzalez J, Reguera JM, Martín L, Lopez-Palmero S, Colmenero JD. Rose Bengal test: diagnostic yield and use for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas. *Clin. Microbiol. Infect.* 11(3), 221–225 (2005).

• **Important study evaluating the Rose Bengal test as a rapid point-of-care test in endemic areas.**

65 Sharma R, Chisnall C, Cooke RP. Evaluation of in-house and commercial immunoassays for the sero-diagnosis of brucellosis in a non-endemic low prevalence population. *J. Infect.* 56(2), 108–113 (2008).

•• **Overall comparison of commercial immunoassays with classical serologic tests for the diagnosis of human brucellosis in a nonendemic low-prevalence population.**

66 Zeytinoğlu A, Turhan A, Altuğlu I, Bilgiç A, Abdoel TH, Smits HL. Comparison of *Brucella* immunoglobulin M and G flow assays with serum agglutination and 2-mercaptoethanol tests in the diagnosis of brucellosis. *Clin. Chem. Lab. Med.* 44(2), 180–184 (2006).

67 Mantur B, Parande A, Amarnath S *et al.* ELISA versus conventional methods of diagnosing endemic brucellosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 83(2), 314–318 (2010).

68 Gómez MC, Nieto JA, Rosa C *et al.* Evaluation of seven tests for diagnosis of human brucellosis in an area where the disease is endemic. *Clin. Vaccine Immunol.* 15(6), 1031–1033 (2008).

69 Roushan MR, Amiri MJ, Laly A, Mostafazadeh A, Bijani A. Follow-up standard agglutination and 2-mercaptoethanol tests in 175 clinically cured cases of human brucellosis. *Int. J. Infect. Dis.* 14(3), e250–e253 (2010).

70 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. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 12(11), 1334–1335 (2005).

71 Prince HE, Lopez J, Yeh C *et al.* Performance characteristics of the Euroimmun enzyme-linked immunosorbent assay kits for *Brucella* IgG and IgM. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 65(2), 99–102 (2009).

72 Díaz R, Ariza J, Alberola I, Casanova A, Rubio MF. Secondary serological response of patients with chronic hepatosplenic suppurative brucellosis. *Clin. Vaccine Immunol.* 13(11), 1190–1196 (2006).

73 Cakan G, Bezirci FB, Kacka A *et al.* Assessment of diagnostic enzyme-linked immunosorbent assay kit and serological markers in human brucellosis. *Jpn. J. Infect. Dis.* 61(5), 366–370 (2008).

74 Al Dahouk S, Neubauer H, Tomaso H. *Brucella*. In: *Molecular Detection of Human Bacterial Pathogens (Chapter 54)*. Liu D (Ed.). Taylor & Francis CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 629–646 (2011).

•• **Comprehensive up-to-date review on molecular diagnosis of human brucellosis.**

75 Navarro E, Casao MA, Solera J. Diagnosis of human brucellosis using PCR. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 4(1), 115–123 (2004).

76 Colmenero JD, Morata P, Ruiz-Mesa JD *et al.* Multiplex real-time polymerase chain reaction: a practical approach for rapid diagnosis of tuberculous and brucellar vertebral osteomyelitis. *Spine* 35(24), 1392–1396 (2010).

77 Colmenero JD, Queipo-Ortuño MI, Reguera JM, Baeza G, Salazar JA, Morata P. Real time polymerase chain reaction: a new powerful tool for the diagnosis of neurobrucellosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 76(7), 1025–1027 (2005).

78 Debeaumont C, Falconnet PA, Maurin M. Real-time PCR for detection of *Brucella* spp. DNA in human serum samples. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 24(12), 842–845 (2005).

79 Queipo-Ortuño MI, Colmenero JD, Bermudez P, Bravo MJ, Morata P. Rapid differential diagnosis between extrapulmonary tuberculosis and focal complications of brucellosis using a multiplex real-time PCR assay. *PLoS ONE* 4(2), e4526 (2009).

80 Queipo-Ortuño MI, Colmenero JD, Muñoz N, Baeza G, Clavijo E, Morata P. Rapid diagnosis of *Brucella* epididymo-orchitis by real-time polymerase chain reaction assay in urine samples. *J. Urol.* 176(5), 2290–2293 (2006).

81 Queipo-Ortuño MI, Colmenero JD, Reguera JM *et al.* Rapid diagnosis of human brucellosis by SYBR Green I-based real-time PCR assay and melting curve analysis in serum samples. *Clin. Microbiol. Infect.* 11(9), 713–718 (2005).

82 Mitka S, Anetakis C, Souliou E, Diza E, Kansouzidou A. Evaluation of different PCR assays for early detection of acute and relapsing brucellosis in humans in comparison with conventional methods. *J. Clin. Microbiol.* 45(4), 1211–1218 (2007).

83 Zerva L, Bourantas K, Mitka S, Kansouzidou A, Legakis NJ. Serum is the preferred clinical specimen for diagnosis of human brucellosis by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 39(4), 1661–1664 (2001).

84 Baily GG, Krahn JB, Drasar BS, Stoker NG. Detection of *Brucella melitensis* and *Brucella abortus* by DNA amplification. *J. Trop. Med. Hyg.* 95(4), 271–275 (1992).

• **First description of the species-specific *bcsp31* PCR most widely used in clinical applications.**

85 Al Dahouk S, Nöckler K, Scholz HC, Pfeffer M, Neubauer H, Tomaso H. Evaluation of genus-specific and species-specific real-time PCR assays for the identification of *Brucella* spp. *Clin. Chem. Lab. Med.* 45(11), 1464–1470 (2007).

86 Gee JE, De BK, Levett PN, Whitney AM, Novak RT, Popovic T. Use of 16S rRNA gene sequencing for rapid confirmatory identification of *Brucella* isolates. *J. Clin. Microbiol.* 42(8), 3649–3654 (2004).

87 García-Yoldi D, Marín CM, de Miguel MJ, Muñoz PM, Vizmanos JL, López-Goñi I. Multiplex PCR assay for the identification and differentiation of all *Brucella* species and the vaccine strains *Brucella abortus* S19 and RB51 and *Brucella melitensis* Rev1. *Clin. Chem.* 52(4), 779–781 (2006).

• **Design and development of the Bruce-ladder PCR for the reliable identification and differentiation of all classical *Brucella* species and marine brucellae.**

88 Mayer-Scholl A, Draeger A, Göllner C, Scholz HC, Nöckler K. Advancement of a multiplex PCR for the differentiation of all currently described *Brucella* species. *J. Microbiol. Methods* 80(1), 112–114 (2010).

89 López-Goñi I, García-Yoldi D, Marín CM *et al.* Evaluation of a multiplex PCR assay (Bruce-ladder) for molecular typing of all

Brucella species, including the vaccine strains. *J. Clin. Microbiol.* 46(10), 3484–3487 (2008).

90 Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H. The detection of *Brucella* spp. using PCR-ELISA and real-time PCR assays. *Clin. Lab.* 50(7–8), 387–394 (2004).

91 Queipo-Ortuño MI, Colmenero JD, Macías M, Bravo MJ, Morata P. Preparation of bacterial DNA template by boiling and effect of immunoglobulin G as an inhibitor in real-time PCR for serum samples from patients with brucellosis. *Clin. Vaccine Immunol.* 15(2), 293–296 (2008).

92 Maas KS, Méndez M, Zavaleta M *et al.* Evaluation of brucellosis by PCR and persistence after treatment in patients returning to the hospital for follow-up. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 76(4), 698–702 (2007).

93 Queipo-Ortuño MI, Tena F, Colmenero JD, Morata P. Comparison of seven commercial DNA extraction kits for the recovery of *Brucella* DNA from spiked human serum samples using real-time PCR. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 27(2), 109–114 (2008).

94 Vrioni G, Pappas G, Priavali E, Gartzonika C, Levidiotou S. An eternal microbe: *Brucella* DNA load persists for years after clinical cure. *Clin. Infect. Dis.* 46(12), 131–136 (2008).

95 Navarro E, Segura JC, Castaño MJ, Solera J. Use of real-time quantitative polymerase chain reaction to monitor the evolution of *Brucella melitensis* DNA load during therapy and post-therapy follow-up in patients with brucellosis. *Clin. Infect. Dis.* 42(9), 1266–1273 (2006).

96 Bounaadja L, Albert D, Chénais B *et al.* Real-time PCR for identification of *Brucella* spp.: a comparative study of *IS711*, *bcsp31* and *per* target genes. *Vet. Microbiol.* 137(1–2), 156–164 (2009).

97 Hinić V, Brodard I, Thomann A *et al.* Novel identification and differentiation of *Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, and *B. neotomae* suitable for both conventional and real-time PCR systems. *J. Microbiol. Methods* 75(2), 375–378 (2008).

98 Castaño MJ, Solera J. Chronic brucellosis and persistence of *Brucella melitensis* DNA. *J. Clin. Microbiol.* 47(7), 2084–2089 (2009).

99 Queipo-Ortuño MI, Colmenero JD, Bravo MJ, García-Ordoñez MA, Morata P. Usefulness of a quantitative real-time PCR assay using serum samples to discriminate between inactive, serologically positive and active human brucellosis. *Clin. Microbiol. Infect.* 14(12), 1128–1134 (2008).

•• **Important study assessing the usefulness of quantitative real-time PCR in the initial molecular diagnosis and the differentiation between past and active brucellosis.**

100 Morata P, Queipo-Ortuño MI, Reguera JM, García-Ordoñez MA, Pichardo C, Colmenero JD. Posttreatment follow-up of brucellosis by PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 37(12), 4163–4166 (1999).

101 Le Flèche P, Jacques I, Grayon M *et al.* Evaluation and selection of tandem repeat loci for a *Brucella* MLVA typing assay. *BMC Microbiol.* 6, 9 (2006).

102 Whatmore AM, Shankster SJ, Perrett LL *et al.* Identification and characterization of variable-number tandem-repeat markers for typing of *Brucella* spp. *J. Clin. Microbiol.* 44(6), 1982–1993 (2006).

103 Al Dahouk S, Le Flèche P, Nöckler K *et al.* Evaluation of *Brucella* MLVA typing for human brucellosis. *J. Microbiol. Methods* 69(1), 137–145 (2007).

104 Al Dahouk S, Hagen RM, Nöckler K *et al.* Failure of a short-term antibiotic therapy for human brucellosis using ciprofloxacin. A study on *in vitro* susceptibility of *Brucella* strains. *Chemotherapy* 51(6), 352–356 (2005).

105 Young EJ. Human brucellosis. *Rev. Infect. Dis.* 5(5), 821–842 (1983).

106 Özkurt Z, Erol S, Tasyaran MA, Kaya A. Detection of *Brucella melitensis* by the BacT/Alert automated system and *Brucella* broth culture. *Clin. Microbiol. Infect.* 8(11), 749–752 (2002).

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

✔ لیست مقالات ترجمه شده

✔ لیست مقالات ترجمه شده رایگان

✔ لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی