ترجمه فا

TarjomeFa.Com

ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

یک بررسی در مورد روش های تشخیصی بروسلوز

چکیده

ما روشهای تشخیصی مختلف بروسلوز در حیوانات و انسانهای مختلف را مورد بررسی قرار دادیم. تشخیص باکتریولوژیکال ، ایمونوهیستوشیمی (یک تکنیک جایگزین برای تشخیص مستقیم) و روش های مولکولی مختلف برای ژنوتایپ گونه های بروسلا ،از روش های مستقیم برای تشخیص بروسلوز در این بررسی هستند. روشهای غیرمستقیم برای تشخیص بروسلوز ؛ آزمایشات سرولوژیکی و پوستی آلرژیک بروسلین[1] که به مدت طولانی است مورد استفاده قرار می گیرند ، نیز مورد بررسی قرار گرفتند. در نهایت، برای کنترل موثر و جلوگیری از بروسلوز در سراسر جهان، روش های تشخیصی مستقیم برای ایجاد واکسن علیه گونه های شایع بروسلا در کشورخاص توصیه می شود.

کلید واژگان: تست پوستی آلرژیک؛ بروسلوز ، ایمونوهیستوشیمی؛ ابزار مولکولی؛ آزمایش های سرولوژیکی

مقدمه

بروسلوز یک بیماری قدیمی است که ریشه آن احتمالا به پنجمین طاعون در مصر در حدود ۱۶۰۰ سال پیش از میلاد بر می گردد . بررسی اخیر استخوان های باستانی مصری، که مربوط به حدود ۷۵۰ سال قبل از میلاد هستند ، نشان دهنده شواهد و مدارکی از ساکرویلیت[2] و سایر ضایعات مفصلی استخوانی[3]، که از عوارض شایع بروسلوز هستند ، است [۱]. دیوید بروس در سال ۱۸۸۷ از طحال یک سرباز بریتانیایی که از بیماری تب دار (تب مالت) که در میان افراد نظامی مستقر در مالت شایع بود، جان خود را از دست داد ، بروسلا ملیتنسیس[4] را (B. melitensis) را ایزوله کرد. در آن زمان بروسلا ملیتنسیس با نام میکروکوکوس ملیتنسیس[5] شناخته شد.

---

[1] brucellin allergic skin tests
[2] sacroilitis
[3] osteoarticular lesions
[4] Brucella melitensis
[5] Micrococcus melitensis

تقریبا تا ۲۰ سال پس از ایزوله کردن M. melitensis، تب مالت به عنوان یک راز باقی ماند و به نظر می رسید که یک بیماری وابسته به وکتور[6] است ،تا اینکه که Nymuocles Zammit به طور تصادفی ماهیت زئونوزی این بیماری را در سال ۱۹۰۵ با جداسازی B melitensis از شیر بز نشان داد. اعتقاد بر این بود که بزها منبع عفونت نبودند ،زیرا هنگامی که با کشت بروسلا انکوبه شدند، بیمار نشدند. او کشف کرد که بزهای سالم می توانند حامل بیماری باشند،که یکی از بزرگترین پیشرفت هایی بود که تاکنون در مطالعه اپیدمیولوژی انجام شده بود [۲،۳].

بروسلوز توسط کوکوکوباسیل های گرم منفی از جنس بروسلا ایجاد می شود. در دام، این بیماری منجر به زیان های اقتصادی قابل توجهی به علت اختلال در تولید مثل ، سقط جنین، مرده زایی و یا ضعیف شدن گوساله و مرگ نوزادان و ناباروری می شود [۶]. در انسان، عفونت با گونه هایBrucella باعث بیماری تب داری می شود که ممکن است با طیف وسیعی از علائم همراه باشد و در بعضی موارد ممکن است کشنده باشد (۵،۷). در حال حاضر ده گونه وجود دارد که در جنس Brucella توصیف شده اند. هر کدام از این گونه ها ممکن است میزبان مختلف را آلوده کنند، اما هر گونه بروسلا میزبان خاصی را ترجیح می هد ، برای گوسفندان میزبان آن، B. melitensis (گوسفند و بز)، B. abortus (گاو)، B. suis (خوک)، B. ovis (قوچ)، B. canis (سگ)، B. microti (جوندگان - Microtus arvalis)، B. neotomae (جوندگان - Neotoma lepida)، B. pinnipedialis (باله‌پایان)، B. ceti (cetacea) و B. inopinata (که در ابتدا از یک بیمار انسانی جدا شده اند اما میزبان ترجیحی آن شناخته نشده است) [۸،۹]. سه تا از این گونه های بروسلا می توانند به بیوتیپ هایی تقسیم شوند [۱۰،۱۱].

بنابراین، سه بیوتایپ (۱-۳) در B. melitensis شناسایی شده است؛ هشت بیوتایپ (۱-۷،۹) در B. abortus؛ و پنج بیوتایپ (۱-۵) در B. suis شناسایی شده است. همه گونه های Brucella spp به جز B. neotomae، B. microti و B. ovis به عنوان پاتوژن برای انسان شناخته شده اند.

---

[6] vector-borne

تشخیص دقیق عفونت گونه های بروسلا ، برای کنترل بیماری در حیوانات و متعاقبا انسان مهم است. تشخیص بالینی معمولا بر اساس سابقه نقص تولید مثل در دام ها است، اما این تشخیص فرضی است [۱۳] و باید با روش های آزمایشگاهی تایید شود [۱۳،۱۴]. "استاندارد طلا" در تشخیص بروسلوز، جداسازی باکتری از نمونه های خون یا مغز استخوان است که نیاز به دوره های طولانی کشت (۴ تا ۷ روز تا ۴۰ روز) دارد و اغلب کشت خون آنها ناموفق است [۱۵]. آزمایش های سرولوژیکی مانند آزمون آگلوتیناسیون سرم[۷] (SAT)، تست پلیت بنگال[۸] (RBPT)، تست تثبیت کمپلمان (CFT) و enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) همچنان مورد استفاده قرار می گیرند [۵،۱۶]. از آنجایی که شناسایی روتین و تشخیص هویت نمونه های مشکوک به بروسلوز، بر اساس ایزوله از کشت و خصوصیات فنوتیپیک، مستلزم هود بیولوژیک سطح ۳ (BSL-3) پروتکل های برای عفونت های آزمایشگاهی با خطر بالا است [۱۷]، روش های مولکولی برای غلبه بر این مشکلات مورد بررسی قرار گرفته اند. علاوه بر این، آزمایشات مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلیمریزاسیون (PCR) حساسیت بیشتری نسبت به آزمایش میکروبیولوژیک استاندارد برای تشخیص بروسلوز نشان داده است [۱۸].

بنابراین هدف از این مقاله، بررسی روشهای تشخیصی است که برای جداسازی، غربالگری، نظارت و پایش اپیدمیولوژیک و تکمیل یا تایید بروسلوز در دام و انسان استفاده می شود.

روش های مستقیم برای تشخیص بروسلوز

تشخیص باکتریولوژیک

جداسازی ارگانیسم به عنوان روش تشخیصی استاندارد طلایی برای بروسلوز در نظر گرفته می شود، زیرا اختصاصی است و امکان بیوتایپینگ ایزوله ها را فراهم می کند که از دیدگاه اپیدمیولوژیک مورد است [۱۰،۱۹]. با این حال، با وجود اختصاصیت بالای آن، کشت گونه های چالش برانگیز است. گونه های بروسلا سخت رشد هستند و به محیط های غنی برای کشت اولیه نیاز دارند. علاوه بر این، جداسازی آن به تعداد زیادی از باکتری های زنده در نمونه های بالینی، ذخیره سازی مناسب و تحویل سریع به آزمایشگاه تشخیصی نیاز دارد [۹،۲۰]. آلودگی نمونه های بالینی یک

---

[7] serum agglutination test
[8] rose Bengal plate test

عامل دردسر ساز برای جداسازی گونه های بروسلا است. بنابراین از محیط های غنی از مواد مغذی حاوی آنتی بیوتیک ها (Polymixin B ۵۰۰۰ UI / L؛ باسیتراسین ۲۵۰۰۰ UI / L؛ سیکلوهگزامید ۱۰۰ میلی گرم در لیتر؛ اسید نالیدیکسیک ۵ میلی گرم در لیتر؛ نیستاتین ۱۰۰،۰۰۰ UI / L و ونکوماسین ۲۰ میلی گرم در لیتر) برای جلوگیری از رشد آلاینده ها که ممکن است از جداسازی گونه های Brucella جلوگیری کنند، استفاده می شود [۲۱].

یکی دیگر از عوامل محدود کننده برای کشت گونه های بروسلا ،نیازمند شرایط مناسب آزمایشگاهی و آموزش پرسنل است، بنابراین این روش باید با رعایت کامل ایمنی انجام شود [۲۲]. بروسلا به عنوان یک ارگانیزم سطح بیولوژیکی ۳ طبقه بندی می شود که کار با آن باید در آزمایشگاههای بیولوژیکی سطح ۳ انجام شود [۲۳]. مهمتر از همه، بروسلوز یکی از شایع ترین عفونت های آزمایشگاهی اتفاقی ، به ویژه در آزمایشگاه های تحقیقاتی است[۲۴،۲۵].

نمونه ها برای جداسازی گونه های بروسلا از گاوها شامل غشاهای جنینی، بخصوص کوتیلدون[9] جفتی است که در آن تعداد ارگانیسم ها بسیار زیاد است. علاوه بر این، اندام های جنین مانند ریه ها، گره های لنفاوی برونشیا، طحال و کبد، و همچنین محتویات گوارشی جنین، شیر، ترشحات واژینال و مایع منی، نمونه های انتخابی برای جداسازی باکتری هستند [۲۳،۲۶]. نمونه برداری از ترشحات واژینال باید پس از سقط جنین یا بعد از زایمان ،ترجیحا با استفاده از سواب و محیط کشت انتقالی انجام شود ، که امکان جداسازی ارگانیزم را تا شش هفته پس از زایمان یا سقط جنین فراهم می کند. نمونه های شیر باید از هر چهار غدد پستان باشد. محصولات لبنی غیر پاستوریزه نیز می توانند نمونه برداری شوند[۱۳،۲۳].

نمونه های انتخابی در کشتارگاه ها عبارتند از پستان، ایلیاک، گلو، گره های لنفاوی گردن و پاروتید و طحال.

نمونه ها باید بلافاصله به آزمایشگاه فرستاده شوند، ترجیحا در دمای ۲۰ - درجه سانتیگراد فریز شوند، و باید به عنوان عفونت مظنون به گونه های بروسلا شناسایی شوند. [۱۳]. سواب واژینال و مایع منی دارای تعداد کمی از

[9] Cotyledons

ارگانیسم های زنده هستند و بنابراین جداسازی سخت تراست و اغلب منجر به نتایج منفی کاذب می شود. محیط های غنی حاوی آنتی بیوتیک های انتخاب شده می توانند حساسیت در این موارد را بهبود بخشد [۲۱،۲۷].

کلنی های گونه های بروسلا برجسته، شفاف، محدب، با حدود مشخص، صاف و سطح درخشان هستند. کلنی ها زیر نور دارای رنگ عسلی هستند. دمای مطلوب برای کشت ۳۷ درجه سانتیگراد است، اما ارگانیسم می تواند تحت دمای ۲۰ تا ۴۰ درجه سانتیگراد رشد کند، در حالیکه pH مطلوب از ۶,۶ تا ۷,۴ است. برخی ازگونه های بروسلا برای برای رشد به CO_2 نیاز دارد. کلنی های معمولی بعد از ۲ تا ۳۰ روز انکوباسیون ظاهر می شوند، اما کشت تنها در صورتی منفی در نظر گرفته می شود که بعد از ۲ تا ۳ هفته انکوباسیون، هیچ کلنی مشاهده نشود [۲۸]. از آنجا که حساسیت کشت کم است، باید در صورت عدم رشد باکتری ها، نتایج منفی کاذب را نیز باید در نظر گرفت [۱۳].

معمولا برای جداسازی اولیه بروسلا، محیط های جامد مانند دکستروز آگار، تریپتوز آگار و ترپتیکاز سوی آگار توصیه می شوند، اما بعضی از گونه ها، یعنی B. ovis و B. canis، نیاز به افزودن ۵ تا ۱۰ درصد سرم استریل گاو یا اسب به محیط های کشت دارند. در مورد خون یا شیر، محیط های کشت دو فازی مانند محیط کاستاندا برای بهبود حساسیت توصیه می شود [۱۳].

ایمونوهیستوشیمی

ایمونوهیستوشیمی یک تکنیک جایگزین برای تشخیص مستقیم عفونت گونه های بروسلا است. این مورد به طور گسترده ای در مطالعات پاتوژنز و تشخیص بروسلوز استفاده شده است و امکان لوکالیزه شدن ارگانسیم زنده در ضایعات ناشی از بروسلا را فراهم می کند [۲۹]. مزیت این تکنیک این است که به باکتری های زنده نیازی ندارد و امکان انجام مطالعات گذشته نگر را فراهم می کند [۳۰]. اگرچه ایمونوهیستوشیمی ساده است، ممکن است چندین عامل ، از جمله پروتوکل فیکساسیون و انتخاب آنتی بادی اولیه در نتیجه آن تأثیر بگذارند. [۳۱]

روش های مولکولی برای ژنوتیپ گونه های بروسلا

تکنیک های مولکولی ابزار مهمی برای تشخیص و مطالعات اپیدمیولوژیک هستند، و اطلاعات مربوط به شناسایی گونه ها و بیوتایپ های بروسلا را فراهم می کنند و امکان تمایز بین گونه های سرطانی و واکسن را فراهم می

کند(۳۲،۳۳). تشخیص مولکولی گونه های بروسلا می تواند به طور مستقیم بر روی نمونه های بالینی بدون جداسازی قبلی ارگانیسم انجام شود. علاوه بر این، این تکنیک ها می توانند برای تکمیل نتایج حاصل از آزمایش های فنوتیپی استفاده شوند [۳۴].

واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) و / و انواع مختلف آن ، براساس تکثیر توالی ژنومی خاص گونه یا حتی بیوتایپ های.Brucella spp ، وسیع ترین تکنیک مولکولی برای تشخیص بروسلوز است [۱۰]. این روش بر اساس نوع نمونه بیولوژیکی و هدف، یعنی تشخیص یا مشخصه مولکولی یا بررسی اپیدمیولوژیک انتخاب شده است.. بیشتر روش های تشخیصی مولکولی بروسلوز دارای حساسیت از ۵۰ تا ۱۰۰ درصد و اختصاصیت بین ۶۰ تا ۹۸ درصد است. پروتکل استخراج DNA، نوع نمونه بالینی و محدودیت های تشخیصی هر پروتکل، عواملی هستند که می توانند کارآیی روش را تحت تأثیر قرار دهند [۳۵]

از آنجایی که شناسایی روتین و شناسایی نمونه های مشکوک بروسلوز براساس جداسازی از کشت و خصوصیات فنوتیپی، مستلزم پروتکل های بیولوژیک سطح ۳ (BSL-3) برای عفونت های آزمایشگاهی با خطر بالا است [۱۷]، روش های مولکولی به منظور غلبه بر این مشکلات کشف شدند. علاوه بر این، آزمایشات مبتنی بر PCR حساسیت بالاتری نسبت به آزمایش میکروبیولوژیک استاندارد برای تشخیص بروسلوز نشان داده است [۱۸].

تایپینگ با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز مولتیپلکس[۱۰]

چندین multiplex PCRsکه ژن Brucella را در سطح گونه و تا حدی در سطح بیوار شناسایی می کنند با استفاده از ترکیبات پرایمرهای مختلف ، گزارش شده است. اولین Multiplex PCR، AMOS PCR[۱۱](AMOS مخفف از 'abortus-melitensisovis-suis' است) نامیده شد و در بردارنده ی پنج پرایمر الیگونوکلئوتیدی برای شناسایی بیوارهای انتخابی چهار گونه بروسلا بود. این آزمایش از پلی مورفیسم ناشی از لوکالیزه شدن مختص گونه ی عنصر ژنتیکی IS ۷۱۱ در کروموزوم بروسلا استفاده می کرد. شناسایی با استفاده از اندازه محصول تکثیر شده از هیبریداسیون پرایمرها در فاصله های مختلف از IS ۷۱۱ ،صورت گرفت.

[10] Multiplex polymerase chain reaction typing
[11] abortus-melitensisovis-suis

این روش می توانست سه بیوار (۱، ۲ و ۴) از B. abortus، هر سه بیوار B. melitensis، همه بیوارهای B. ovis و بیوار ۱ B. suis را شناسایی کند. برای تمایز سویه های واکسن B. abortus یعنی ۱۹S و ۵۱RB از سویه های دیگر(وحشی[12])، یک آزمایش کوتاه شده PCR AMOS multiplex با استفاده از سه primer اضافی ایجاد شد [۳۶]. در سال ۲۰۰۵، شناسایی حذف[13] در کنار یکی از نسخه های IS ۷۱۱ در B. abortus بیوارهای ۵، ۶، ۹ و در برخی از سویه های وحشی بیووار ۳ از B. abortus امکان طراحی و اضافه کردن یک Primer خاص به ترکیب ۸ پرایمر از AMOS PCR، را فراهم می کند و به این ترتیب قدرت تمایز این آزمایش افزایش می یابد.

یک DNA پلیمورفیک به طور تصادفی تکثیر شده (RAPD-PCR) برای توسعه multiplex PCR استفاده شد که در آن از پرایمرهای AMOS، لوکوس های خاص اضافی عنصر IS ۷۱۱ و سایر جایگزینی ها [14] و حذف ها نیز استفاده می شود.

این تست جدید PCR امکان تمایز بین تمام گونه های شناخته شده در حال حاضر بروسلا، از جمله گونه های به تازگی توصیف شده B. Ceti (قبلا به نام B. maris یا B. cetaceae)، B. pinnipedialis (قبلا به نام B. maris یا B . pinnipediae) و B. microti، شامل برخی از گونه های جدیدتر از گونه های اخیرا شناسایی شده را فراهم می کند[۳۷-۳۹]، و همچنین امکان تمایز دقیق بیوارهای خاصی از B. abortus و B. Suis را فراهم می کند.

Real-time PCR

Real-time PCR سریع تر و حساس تر از PCR معمولی است. این تکنیک به مراحل بعد از تکثیر که در PCR معمولی انجام می شود ، نیازی ندارد و بنابراین خطر آلودگی آزمایشگاهی و نتایج مثبت کاذب را کاهش می دهد. Real-time PCR به تازگی برای آزمایش سلول های بروسلا [۴۱]، ادرار [۴۲]، خون و بافت های غوطه ور شده در پارافین [۴۳]، انجام شده است.

---

[12] feild
[13] deletion
[14] insertions

سه Real-time PCR جداگانه برای شناسایی اختصاصی هفت بیوار B. abortus ، سه بیوار از B. melitensis و بیووار یک B. suis با استفاده از انتقال انرژی رزونانس فلوئورسانس توسعه داده شد. پرایمرهای بالادست استفاده شده در Real-time PCR از عنصر جایگزین شده IS۷۱۱ مشتق شده اند . در حالی که پرایمر ریورس[۱۵] و پروب FRET از گونه های منحصر به فرد و یا لوکوس های کروموزومی خاصی بیوار انتخاب شده است. حساسیت آزمایش اختصاصیB. abortus به اندازه 0.25 pg DNA مطابق با ۱۶-۲۵ کپی ژنومی بود و همچنین سطح تشخیص مشابهی برای آزمایشات مختص B. melitensis و B. suis مشاهده شد [۴۱].

ذوب شدن با وضوح بالا[۱۶]

توسعه تکنیک مولکولی استفاده کننده از real-time PCR و سپس تجزیه و تحلیل منحنی ذوب با وضوح بالا (HRM) برای اعضای قابل اعتماد این جنس توسط Winchell و همکاران توصیف شده است. [۴۴] این تست لوکوس های متمایز کننده را در ژنوم های بروسلا مورد هدف قرار داد. و از طریق آنالیز منحنی تفکیک امکان شناسایی دقیق ایزوله های بروسلا در سطح گونه و ایزوله های غیر معمول بروسلا مانند BO ۱ و BO۲ را فراهم می کند. این تست برای تشخیص B. suis از B. canis نیز موفق بوده است، اما قادر به تفکیک دقیق بیوار ۴ B. suis از B. canis نبود. با این حال، این بیوار B. suis خاص قبلا گزارش شده است که یک الگوی ژنتیکی مشابه با B. canis را نشان می دهد، و هنوز هم بحث می شود که آیا این واقعا یک بیووار از B. suis است.

روش های مبتنی بر چند شکلی طولی قطعات محدود کننده

PCR-RFLP یک رویکرد رایج برای تایپ کردن گونه های بروسلا است که ابزار خوبی برای مطالعات طبقه بندی، اپیدمیولوژیکی، تکاملی و تشخیص است. این روش به ویژه در مطالعات ژنهای پروتئین غشای خارجی (OMP) مورد استفاده قرار گرفته است (۴۷).

تایپینگ مبتنی بر پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی[۱۷]

---

[15] reverse
[16] High resolution melt
[17] Single nucleotide polymorphisms typing

پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNPs) معرف نشانگرهای قدرتمندی است که امکان توصیف دقیق چارچوب فیلوژنتیک یک گونه، به ویژه در یک گروه حفاظت شده ژنتیکی مانند Brucella را فراهم می کند. ین رویکرد مبتنی بر مجموعه ای از آزمون های تمایزی بررسی کننده SNPs است که نشان داده شده است که مختص یک گونه خاص Brucella است. اسکات و همکاران [۴۸] استفاده از SNP ها را برای توسعه یک روش تشخیص SNP چندتایی توصیف کرد، که بر اساس تکنولوژی توسعه پرایمر است که می تواند به سرعت و به طور مشخص یک ایزوله را به عنوان یک عضو از شش گونه کلاسیک Brucella یا به عنوان یک عضو از گروه پستاندار دریایی که اخیرا شناسایی شده است ، شناسایی کند.

یک رویکرد جایگزین بر اساس پروب های پروتئینی متصل شونده به شکاف کوچک (MGB) که در یک پلتفرم real-time PCR استفاده می شود، توصیف شد [۴۹،۵۰].

این آزمایش تمام اعضای گونه کلاسیک را متمایز می کند، اما تمایز گونه های B. suis و B. canis به دلیل عدم وجود SNP اختصاصی B. suis ،دشوار است. با این حال، از آنجایی که SNP خاص B. canisشناسایی شده است [۴۵]، تمایز با SNP خاص B. suis / B. Canis و SNP خاص B. canis امکان پذیر است.

تکنیک MALDI-TOF Mass Spectrometry[۱۸]

شناسایی باکتری ها بر اساس طیف پپتیدی به دست آمده از MALDITOF ۳۰ سال پیش پیشنهاد شده است. این روش نشان دهنده یک ابزار تشخیصی جدید در آزمایشگاه های میکروبیولوژی است [۵۱]. پایگاه های داده ای توسعه یافته اند که حاوی میکروارگانیسم های بیماریزای اصلی هستند، بنابراین استفاده از این روش در شناسایی باکتری های روتین از کشت پلیت امکان پذیر است. اخیرا برای شناسایی گونه های بروسلا، یک کتابخانه مرجع با استفاده از ۱۲ گونه بروسلا ساخته شد. با این کتابخانه بروسلا، تمایز تا سطح گونه امکان پذیر نبود [۵۲].

تایپینگ مبتنی بر تکرارهای پشت سر هم [۱۹]

[18] Matrix-assisted laser desorption ionization timeofflight
[19] Tandem repeat based typing

در سالهای اخیر، دسترسی به توالی ژنوم میکروبی، توسعه روشهای تایپینگ بر مبنای توالی چندگانه از جمله (MLVA) (VNTR) را تسهیل کرده است. VNTR، تغییرات فراوانی آللی مربوط به تغییرات در تعداد توالی های مکرر تکرار شده در چندین لوکوس ژنی در ژنوم های بروسلا، برای تمایز گونه های باکتریایی که تنوع ژنتیکی بسیار کمی دارند، مورد استفاده قرار گرفت. اولین کاربرد تایپ کردن گونه های بروسلا بر اساس VNTR ، طرح HOOF-Prints (ردیابی اولیگونوکلئوتید اکتومریک بسیار متغیر[۲۰]) منتشر شده توسط Bricker و همکاران بود. [۵۳]. این رویکرد بر مبنای مقایسه تکرارهای ژنومی تازه تکمیل شده باکتری B. suis و B. melitensis همراه با توالی پیشنهاد شده B. abortus بود که توالی هشت جفت بازی تکراری پشت سر هم را در نه لوکوس ژنی متمایز شناسایی کرد [۱۲].

روش های غیر مستقیم برای تشخیص بروسلوز

آزمایش های سرولوژیکی

آزمایشات سرولوژیک برای تشخیص آزمایشگاهی بروسلوز بسیار مهم هستند زیرا اکثر برنامه های کنترل و ریشه کن سازی بر این روش ها تکیه دارند. کل باکتری غیر فعال شده یا قسمت های خالص شده (به عنوان مثال، لیپوپلی ساکارید یا پروتئین های غشایی) به عنوان آنتی ژن برای تشخیص آنتی بادی های تولید شده توسط میزبان در طی عفونت استفاده می شوند. آنتی بادی در برابر گونه های صاف بروسلا (به عنوان مثال، B. abortus، B. melitensis، و B. suis) با آنتی ژن B. abortus واکنش متقاطع نشان می دهند، در حالی که آنتی بادی هایی علیه گونه های خشن بروسلا (مانند B. ovis و B. canis) با آنتی ژن B. ovis واکنش متقاطع نشان می دهند. اگرچه چندین روش سرولوژیکی در حال حاضر در دسترس هستند، این آزمایش ها می تواند به عنوان آزمایش های غربالگری (به عنوان مثال، آزمایش‌آنتی‌ژن‌بافری BPAT)، تست های پایش یا نظارت اپیدمیولوژیک (به عنوان مثال، آزمون حلقه شیر) و آزمایش های تکمیلی یا تاییدی(مانند مرکاپتواتانول، تثبیت کمپلمان ، الایزا و تست پلاریزاسیون

[20] Hyper Variable Octomeric Oligonucleotide Finger-Prints

فلورسنت)، دسته بندی شوند. انتخاب یک آزمون معین باید به گونه ای باشد که گونه تحت تاثیر و همچنین تنظیمات محلی را در نظر بگیرد [۱۳،۱۴].

آزمون آگلوتیناسیون لوله ای آهسته استاندارد

آزمون آگلوتیناسیون لوله ای آهسته استاندارد (SAT)، که اولین آزمایش سرولوژیک توسعه یافته برای تشخیص بروسلوز بود، بر اساس آگلوتیناسیون آنتی ژن باکتریایی ، به ویژه به وسیله IgM، تحت pH خنثی است. این آزمون دارای اختصاصیت پایین است و بنابراین توصیه نمی شود [۱۳،۱۴،۵۳].

آزمایش حلقه شیر

آزمایش حلقه شیر بر پایه آگلوتیناسین آنتی بادی هایی است که به شیر ترشح می شوند. این تست امکان غربالگری تعداد زیادی از گاو ها را با استفاده از نمونه های شیر از مخازن یا تانک های شیر چند گاو فراهم می کند. این تست برای نظارت بر گله گاو یا مناطق عاری از بروسلوز مفید است، بنابراین به عنوان تست مراقبتی یا نظارت ، طبقه بندی شده است [۵۳]. مهمتر از همه، تعداد نتایج مثبت کاذب متناسب با تعداد گاوانی است که شیر اسیدی را به علت کلستروم یا ماستیت ترشح می کنند [۵۳]. یک نتیجه مثبت نشان دهنده حضور گاوهای آلوده در گله است، بنابراین باید با آزمون تست سرولوژیکی در کل گله همراه باشد.

۲-مرکاپتواتانول

۲-مرکاپتواتانول یک آزمون تاییدی است که امکان اندازه گیریIgG انتخابی ضد بروسلا را به دلیل غیر فعال شدن IgM در نمونه آزمون ، فراهم می کند. تولید IgG معمولا با عفونت مزمن همراه است، بنابراین نتیجه مثبتی با این آزمون یک شاخص قوی از بروسلوز است. با این حال، این آزمایش دارای نقایصی از قبیل سمیت مرکاپتواتانول است که نیاز به یک محافظ(برای جلوگیری از استشمام بخار) برای کار کردن با آن دارد و احتمال تخریب IgG به وسیله ۲-مرکاپتواتانول ، که ممکن است منجر به نتایج منفی کاذب شود [۱۳]. حساسیت آزمون ۲-مرکاپتواتانول از ۸۸/۴ و ۹۹/۶ درصد و اختصاصیت آن از ۵/۹۱ و ۸/۹۹ درصد است [۵۴].

تست تثبیت کمپلمان

با توجه به دقت بالای آن، تست تثبیت کمپلمان به عنوان آزمون تاییدی برای عفونت B. abortus ، B. melitensis و B. ovis استفاده می شود و این آزمون مرجع توصیه شده توسط OIE برای حمل و نقل بین المللی حیوانات است [۵۵،۵۶]. با این حال، این روش دارای معایبی مانند هزینه بالا، پیچیدگی اجرایی و نیاز به تجهیزات ویژه و پرسنل آزمایشگاهی آموزش دیده است. علاوه بر این، تست دارای محدودیت هایی با نمونه های سرم همولیز شده یا سرم با فعالیت ضد کمپلمان برخی سرم ها و وقوع پدیده ی پروزون است [۵۴]. حساسیت تثبیت کمپلمان از ۷۷,۱ به ۱۰۰٪ و ویژگی آن از ۶۵ تا ۱۰۰٪ [۵۶,۵۷] می باشد.

تست پلیت رز بنگال

تست رز بنگال (RBT) یک تست آگلوتیناسیون سریع و اسلایدی است که با محلول رنگ آمیزی شده بروسلا آبورتوس در pH۳,۶-۳,۷ و سرم معمولی انجام می شود. سادگی آن، آنرا به یک آزمایش غربالگری مناسب برای آزمایشگاه های کوچک با منابع محدود تبدیل کرده است. نقص های RBT عبارتند از: حساسیت کم به ویژه در موارد مزمن، اختصاصیت نسبتا پایین در مناطق اندمیک و پروزون ها سرم های بسیار مثبت در RBT را بصورت منفی نشان می دهند [۵۸].

حساسیت کلی ۹۲,۹٪ است، بنابراین استفاده از RBT باید در مناطق اندمیک، به ویژه در افراد مبتلا به بروسلوز و کسانی که دارای سابقه عفونت بروسلا هستند، با دقت انجام شود. تست پلیت رز بنگال [RBT] یک آزمایش آگلوتیناسیون است که بر اساس واکنش پذیری آنتی بادی ها در برابر لیپوپلی ساکارید صاف (LPS) است.

از آنجایی که حساسیت آن بالا است ، نتایج منفی کاذب به ندرت دیده می شوند. برای افزایش اختصاصیت، ممکن است رقت های سریالی (۱: ۲ تا ۱۶:۶۴) از نمونه های سرمی تهیه شود [۶۰]. دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی (WHO) تایید RBT را با سایر آزمایشات مانند آزمایش های آگلوتیناسیون سرم توصیه می کند. [۶۰،۶۱].

بررسی های ایمنی مرتبط با آنزیم

آزمایش الایزا به عنوان یک روش استاندارد برای تشخیص بروسلوز، از لحاظ سرولوژیک، محبوب است. الایزا آنتی بادی های IgG، IgA و IgM را اندازه گیری می کند و این به تفسیر بهتر وضعیت بالینی کمک می کند. تشخیص

بروسلوز مبتنی بر تشخیص آنتی بادی های ضد LPS صاف است. تشخیص آنتی بادی IgG حساسیت بیشتری نسبت به تشخیص آنتی بادی IgM برای تشخیص موارد بروسلوز دارد، اما اختصاصیت آن قابل مقایسه است (۶۱-۶۳). در مقایسه با روش های متداول آگلوتیناسین، ELISA در موارد حاد و مزمن بروسلوز حساس تر است و مزایای تشخیصی قابل توجهی را برای تشخیص بروسلوز در مناطق اندمیک ارائه می دهد. برای تشخیص بیماری و تشخیص دقیق موارد مشکوک، باید ترکیبی از آزمایشات IgM ELISA و IgG استفاده شود زیرا ترکیب این تست های آزمایشگاهی به عنوان موثر ترین روش شناسایی و تشخیص بروسلوز شناخته شده است. برای پیگیری و نظارت بر پیش آگهی، ELISA Ig M و ۲- مرکاپتو اتانول (MET-۲) بیشتر امیدوار کننده هستند [۶۴،۶۵].

ELISA یک روش عالی برای غربالگری جمعیت های بزرگ برای آنتی بادی های بروسلا و برای تمایز بین فاز های حاد و مزمن بیماری است. این آزمون انتخابی برای موارد پیچیده، موضعی یا مزمن است به خصوص زمانی مورد از لحاظ بالینی مشکوک است و سایر آزمایشها منفی هستند . الایزا می تواند ایمونوگلوبولین ها (IgG، IgA و IgM) را در عرض ۴ تا ۶ ساعت با حساسیت و اختصاصیت بالا مشخص کند. علاوه بر شناسایی کلاس های ایمونوگلوبولین، ELISA همچنین می تواند کلاس های IgG اختصاصی بروسلا و دیگر ایمونوگلوبولین های بروسلا مانند IgE را تشخیص دهد.

ELISA غیر مستقیم (i-ELISA[۲۱]) برای تشخیص سرولوژیک بروسلوز در گوسفند، بز و خوک مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین برای تشخیص با استفاده از سرم یا شیر گاوها استفاده شده است [۶۶،۶۷].I-ELISA O معمولا برای LPS Brucella spp استفاده شده است و برای B. abortus یا B. melitensis حساس و اختصاصی است، اما قادر به تشخیص آنتی بادی های القا شده توسط سویه واکسن ۱۹S یا ۱Rev نیست [۶۸،۶۹]. حساسیت i-ELISA از ۹۶ تا ۱۰۰ درصد و ویژگی آن از ۹۳،۸ و ۱۰۰ درصد [۵۶، ۷۰] متفاوت است.

الایزای رقابتی (c-ELISA[۲۲]) با Brucella LPS صاف به عنوان آنتی ژن برای تشخیص ضد بروسلا در نمونه های سرمی از گاو، گوسفند، بز و خوک استفاده می شود. این تست توانایی تمایز واکنش آنتی بادی القا شده توسط

[21] indirect ELISA
[22] competitive ELISA

واکسن و عفونت های واقعی را دارد و حساسیت آن از ۹۲ تا ۱۰۰ درصد متغیر است، در حالی که اختصاصیت آن از ۹۰ و ۹۹ درصد است [۵۷،۷۱].

تست پلاریزاسیون فلورسانس

تست پلاریزاسیون[۲۳] فلورسنت (FPA) ابتدا برای آزمایش سرم توسعه داده شد. با این حال، این تکنولوژی برای آزمایش خون و نمونه های شیر از حیوانات منحصر به فرد گسترش یافته است.

تست قطبی شدن فلورسانس (FPA) بر اساس تفاوت چرخشی بین مولکول های آنتی ژنی محلول کوچک در محلول و مولکول آنتی ژن کمپلکس با آنتی بادی آن است. این اندازه ی یک مولکول برچسب دار فلورسنت مانند یک آنتی ژن را اندازه گیری می کند. استفاده از زنجیر O جانبی LPS از گونه Brucella نشان دهنده نتایج دلگرم کننده است. این تست یک جایگزین با ارزش برای آزمایش های معمولی سرولوژیک است.

حساسیت FPAبرای بروسلوز انسانی تایید شده با محیط کشت،۹۶٪ است و ویژگی آن حدود ۹۸٪ است [۶۰،۷۲]. برای تشخیص عفونت بروسلا در انسان [۷۳] و چندین گونه حیوانی با استفاده از سرم، شیر یا کل خون در EDTA از روش قطبش فلورسنت استفاده شده است . این آزمایش را می توان در شرایط فیلد انجام داد [۱۴]. حساسیت تست قطبی شدن فلورسنس از ۸۷/۵ و ۱۰۰ درصد و اختصاصیت آن از ۸۴ تا ۱۰۰ درصد [۷۱] متفاوت است، که شبیه سطوح به دست آمده با c-ELISA است [۵۶].

آزمون ایمونودیفیوژن ژل آگار[۲۴]

آزمون ایمونودیفیوژن ژل آگار براساس رسوب کمپلکس آنتی ژن آنتی بادی است. این روش برای تشخیص عفونت B. ovis مورد استفاده قرار می گیرد. این آزمون دارای هزینه کم است، به راحتی انجام می شود و دارای سطوح حساسیتی است که قابل مقایسه با تثبیت کمپلمان است. با این حال، دارای برخی از معایب مانند کاهش قابل توجه حساسیت در عفونت مزمن و تغییرات بالا در کیفیت آنتی ژن های تجاری در دسترس است. به همین دلیل انجام

[23] fluorescence polarization assay
[24] Agar gel immunodiffusion test

تکنیک های تشخیصی مکمل مانند PCR [۷۴] به شدت توصیه می شود. حساسیت آزمون ایمونودیفیوژن ژل آگار ۵۰ تا ۹۲,۷ درصد و ویژگی آن ۹۴,۳ و ۱۰۰ درصد [۷۰، ۷۵] (جدول ۱) متفاوت است.

Species	Screening tests	Confirmatory test	Reference
B. abortus	BPAT,MRT	2ME,CF,ELISAc	OIE [53]
B. melitensis	BPAT	BPAT,CF	OIE [55]
B. suis	BPAT	2ME,CF,AGIT,ELISAc	Di Febo et al. [67]
B. canis	_	2ME,AGIT,ELISAi	Ebani et al. [76]
B. ovis	_	CF, AGIT, i-ELISA	Gall et al. [66]; OIE [55]

جدول ۱: آزمونهای غربالگری و تاییدی معمول مورد استفاده در تشخیص سرولوژیک عفونت گونه های بروسلا . ۲ مرکاپتواتانول، آزمایش ایمونودیوژن ژل آگار AGITA، آزمایش‌آنتی‌ژن‌بافری BPAT، CF: تثبیت کمپلمان، ELISAi- : الایزای غیر مستقیم،ELISAc -: الایزای رقابتی،FPA : آزمون پلاریزاسیون فلورسنت، MRT : آزمون حلقه شیر

آزمون کومبس

این آزمون مناسب ترین و حساس ترین تست برای تایید بیماران مبتلا به عود بیماری با بیماری پایدار است [۶۰]. آزمون کومبس، شکل پیشرفته ی SAT است، به عنوان مثال، اگر آزمون SAT به دلیل وجود آنتی بادی های مسدود کننده نتیجه منفی داشته باشد ، به جای آن، می توان از تست کومب استفاده کرد. آگلوتیناسیون را می توان با استفاده از آگلوتینوسکوپ یا یک قطره بر روی یک اسلاید مورد آزمایش در زیر میکروسکوپ، به صورت بصری مانند SAT تعیین کرد [۶۱]. آزمون کومب برای شناسایی IgG ناقص، مسدود کننده یا غیر آگلوتیناسیونی مورد استفاده قرار می گیرد. این آزمون وقت گیر است، از لحاظ فنی دشوار است، نیاز به پرسنل ماهر دارد و به طور معمول در آزمایشگاه های بالینی انجام نمی شود. این برای موارد پیچیده و مزمن مناسب است اما حدود ۷٪ موارد را در مقایسه با ELISA نادیده می گیرد[۷۶،۷۷].

آزمون Dipstick

آزمایش IgM dipstick یکی از آزمایشاتی است که برای شناسایی آنتی بادی IgM در برابر LPS مورد استفاده قرار می گیرد. این آزمایش حساسیت بالایی را برای بیماران مبتلا به بیماری کمتر از ۳ ماه نشان داده است. آزمایش

IgM dipstickحساسیت بالاتری از IgM ELISA را برای شناسایی آنتی بادیهای IgM تولید شده علیه گونه های بروسلا را ارائه می دهد و کار با آن آسان تر است و تفسیر نتایج را بهبود می بخشد و در نتیجه یک راه میانبر را ایجاد می کند. آزمایش IgM dipstick می تواند به عنوان یک جایگزین سریع و ساده برای IgM ELISA برای تشخیص سرولوژیک بیماران مبتلا به بروسلوز حاد استفاده شود.

نتایج حاصل از آزمایشات SAT و IgM dipstick می تواند نشانه ای از مرحله بیماری را برای بیمارانی که در آن ها شروع علائم بالینی مشخص نیست، فراهم کند[۸۰].

آزمون آگلوتیناسیون Immunocapture؛ Brucella Capt

به تازگی، آگلوتیناسیون Immunocapture جدید برای بررسی ضد بروسلا (BCAP) برای تشخیص آنتی بادی های آگلوتیناسیون و غیر آگلوتیناسیون با حساسیت بالا ایجاد شده است [۸۱]. این آزمون مبتنی بر سیستم ELISA ساندویچ است، که در آن یک میکرو ول با آنتی بادیهای کومبس علیه آنتی بادی IgG، IgA و IgM انسانی، پوشیده شده است. این تست آگلوتیناسیون بروسلا در یک میکروول و با آنتی بادی های کومب انجام می شود و ۳ آنتی بادی را که علیه بروسلوز تشکیل می شوند را تعیین می کند. این آزمون به عنوان یک جایگزین احتمالی برای آزمون کومبس و یک نشانگر بهتر برای فعالیت بیماری یشنهاد شده است [۸۱].

در مقایسه با آزمایش کومبس، حساسیت و اختصاصیت مشابهی دارد اما هر دو می توانند در مدت زمان طولانی پس از درمان در بیماران درمان شده مثبت باقی بمانند. BCAP آنتی بادی های مسدود کننده را در تشخیص و در طی پیگیری بیماران مبتلا به بروسلوز تعیین می کند.این آزمون در طی ۲۴ ساعت ، بدون انجام مرحله دوم ضروری که در آزمایش کومبس انجام می شود، انجام می شود و ساده تر است [۸۲]. در مقایسه با سایر آزمونها: پیچیده تر، گران تر و کند است. این به سختی می تواند جایگزین آزمایش های غربالگری سریع مانند RBT و dipstick به عنوان آزمون های غربالگری یا اولین تست ، شود. با این حال، این می تواند به تشخیص بیماری در بیماران مبتلا به ترویج طولانی مدت بروسلوز کمک کند که توسط SAT تشخیص داده نشده است. بنابراین، مانند آزمون کومبوس،

بروسلا کپت که مبتنی بر آگلوتیناسین Immunocapture کلیه آنتی بادی های ضد بروسلا است، می تواند یک آزمایش سرلوژیک سطح دوم باشد [۶۰،۷۹].

آزمون جریان جانبی

آزمایش ایمونوگروماتوگرافی جریان جانبی IgM / IgG بروسلا یک نسخه ساده از آزمایش ELISA است و دارای یک پتانسیل عالی به عنوان یک روش سریع ارزیابی مراقبت است. این آزمون حساسیت و اختصاصیت بالایی برای بروسلا IgM و IgG دارد. این آزمون از یک قطره خون به دست آمده از انگشت استفاده می کند. این آزمون می تواند به عنوان یک روش بالینی انجام داد. بنابراین یک آزمون سریع و ساده تشخیصی است که به راحتی قابل تفسیر است [۶۰].

تست آگلوتیناسین سریع اسلایدی

از آنجایی که تشخیص معمول بروسلوز شامل بررسی B. canis نیست، عفونت با این گونه ممکن است بیشتر از آنچه در حال حاضر مشکوک است، باشد. تست آگلوتیناسین سریع اسلایدی (RSAT) می تواند یک آزمون غربالگری مناسب برای تشخیص بروسلوز انسانی باشد و یک تکنیک تکمیلی مانند ELISA، بر روی تمام نمونه های مثبت RSAT که با آنتی ژن های B. abortus منفی بودند، می تواند اختصاصیت تشخیصی را تضمین و تأیید کند و تشخیص را تایید کند. استفاده از MAT و ۲-ME / RSAT برای بررسی سرم بیمارانی که دارای علائم بروسلوز هستند اما برای بروسلوز با استفاده از آنتی ژن بروسلا صاف [۸۳،۸۴] منفی شده اند، توصیه می شود.

تست پوستی آلرژیک بروسلین

تست پوستی یک آزمایش آلرژیک است که پاسخ ایمنی سلولی اختصاصی ایجاد شده علیه عفونت گونه های Brucella را تشخیص می دهد. تزریق brucellergene، یک عصاره پروتئین از یک ماده خشن بروسلا، پس از یک پاسخ التهابی محلی در یک حیوان حساس شده دنبال می شود. تزریق brucellergene،که یک عصاره پروتئینی از گونه خشن بروسلا است، باعث یک پاسخ التهابی موضعی در حیوان حساس شده می شود. این واکنش ازدیاد حساسیت نوع تاخیری با افزایش ضخامت پوست در محل تلقیح اندازه گیری می شود. این آزمایش در

تشخیص بین موارد واقعی بروسلوز و واکنشهای سرولوژی مثبت کاذب بسیار موثر است. آزمایش پوست بسیار اختصاصی است، اما حساسیت ضعیف آن باعث می شود که آزمایش خوبی برای گله ها باشد اما نه برای تک تک افراد. این تست نمی تواند بین عفونت و واکسیناسیون تبعیض قائل شود [۸۵]. Pouillot et alارزش تشخیصی تست پوستی آلرژیک بروسلین (AST) را در یک واکنش سرولوژی مثبت نادرست بروسلوز مورد ارزیابی قرار داد و گزارش داد که آزمایش پوستی آلرژیک اختصاصی تر از RBT و CFT است. بنابراین، این آزمون می تواند به عنوان یک آزمون تأییدی در مورد گاوهایی که علیه بروسلوز واکسینه نشده اند، استفاده شود. این آزمون به عنوان یک آزمون جایگزین توسط OIE تجویز می شود [۵۳].

نتیجه

تشخیص دقیق عفونت گونه های بروسلا ، برای کنترل بیماری در حیوانات و در نتیجه در انسان اهمیت دارد. تشخیص بالینی بر اساس تاریخچه نقص تولید مثل در دام هاست، اما این تشخیص احتمالی است که باید با روش های آزمایشگاهی تایید شود. تشخیص مستقیم بروسلوز شامل روش های باکتریولوژیکی، ایمونوهیستوشیمی- و مولکولی است. از دیدگاه اپیدمیولوژیک، ایزوله کردن باکتری از نمونه های مختلف مناسب تر است، زیرا اختصاصی تر است و امکان بیوتایپ کردن ایزوله ها را فراهم می کند، اما به پروتکل BSL- ۳برای عفونت های آزمایشگاهی با خطر بالا نیاز دارد. برای مطالعات گذشته نگر، ایمونوهیستوشیمی امکان لوکالیزه شدن محلی ارگانیسم های موجود در ضایعات ناشی از بروسلا را فراهم می کند ، زیرا به باکتری های زنده نیاز ندارد. تکنیک های مولکولی ابزارهای مهمی برای تشخیص و مطالعات اپیدمیولوژیک هستند، و اطلاعات مربوط به شناسایی گونه ها و بیوتایپ های گونه های بروسلا را فراهم می کنند، و امکان تمایز بین گونه های سرطانی و واکسن را فراهم می کند. روش های سرولوژیک از جمله روش های تشخیص غیر مستقیم آزمایشگاهی تشخیص بروسلوز است که به خوبی شناخته شده است؛ زیرا اکثر برنامه های کنترل و ریشه کن سازی بر این روش متکی هستند، در حالی که آزمایش پوستی آلرژیک بروسلین می تواند به عنوان یک آزمون تأییدی در حیوانات غیر واکسینه شده علیه بروسلوز استفاده شود و از RBT و CFT اختصاصی تر است.

References

1. Pappas G, Papadimitriou P (2007) Challenges in Brucella bacteraemia. Int J Antimicrob Agents 30 Suppl 1: S29-31.
2. Wyatt HV (2005) How Themistocles Zammit found Malta Fever (brucellosis) to be transmitted by the milk of goats. J R Soc Med 98: 451-454.
3. Sriranganathan N, Seleem N, Olsen C, Samartino E, Whatmore M, et al. (2009) Brucella, In: Nene V, Kole C (Eds) : Genome mapping and genomics in animal-associated microbes. Springer-Verlag, Berlin, pp: 1-64.
4. Godfroid J, Cloeckaert A, Liautard JP, Kohler S, Fretin D, et al. (2005) 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: 313-326.
5. Pal M (2007) Zoonoses. (2nd Edn) Satyam Publishers, Jaipur, India, pp: 98-99.
6. Xavier N, Costa A, Paixão A, Santos L (2009) Genus Brucella and clinical manifestations. Ciência Rural 39: 2252-2260.
7. Cutler SJ, Whatmore AM, Commander NJ (2005) Brucellosis--new aspects of an old disease. J Appl Microbiol 98: 1270-1281.
8. de Jong MF, Tsolis RM (2012) Brucellosis and type IV secretion. Future Microbiol 7: 47-58.
9. Hadush A, Pal M (2013) Brucellosis: An infectious re-emerging bacterial zoonosis of global importance. Int J Livestock Health 3: 28-34.
10. Bricker BJ (2002) Diagnostic strategies used for the identification of Brucella. Vet Microbiol 90: 433-434.
11. Ocampo-Sosa AA, Agüero-Balbín J, García-Lobo JM (2005) Development of a new PCR assay to identify Brucella abortus biovars 5, 6 and 9 and the new subgroup 3b of biovar 3. Vet Microbiol 110: 41-51.
12. Whatmore AM (2009) Current understanding of the genetic diversity of Brucella, an expanding genus of zoonotic pathogens. Infect Genet Evol 9: 1168-1184.
13. Poester P, Nielsen K, Samartino E (2010) Diagnosis of brucellosis. Open Vet Sci J 4: 46-60.
14. Nielsen K (2002) Diagnosis of brucellosis by serology. Vet Microbiol 90: 447-459.
15. Rich M, Bannatyne RM, Memish ZA (2000) Direct urease test on BACTEC blood cultures: early presumptive diagnosis of brucellosis in an area of endemicity. J Clin Microbiol 38: 1706.
16. Gwida M, Al Dahouk S, Melzer F, Rösler U, Neubauer H, et al. (2010) Brucellosis - regionally emerging zoonotic disease? Croat Med J 51: 289-295.
17. Boschiroli ML, Foulongne V, O'Callaghan D (2001) Brucellosis: a worldwide zoonosis. Curr Opin Microbiol 4: 58-64.
18. Hoover D, Friedlander A (1997) Brucellosis: Medical aspects of chemical and biological warfare. Textbook of Military Medicine pp: 5013-5021.
19. Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D (2003) Laboratory-based diagnosis of brucellosis--a review of the literature. Part I: Techniques for direct detection and identification of Brucella spp. Clin Lab 49: 487-505.
20. Seleem MN, Boyle SM, Sriranganathan N (2010) Brucellosis: a re-emerging zoonosis. Vet Microbiol 140: 392-398.
21. De Miguel MJ, Marín CM, Muñoz PM, Dieste L, Grilló MJ, et al. (2011) Development of a selective culture medium for primary isolation of the main Brucella species. J Clin Microbiol 49: 1458-1463.
22. Nielsen H, Ewalt R (2004) Bovine brucellosis: In manual of standards for diagnostic tests and vaccines, (5th Edn) OIE, Paris, France, pp: 328-345.
23. Lage P, Poester P, Paixão A, Silva A, Xavier N, et al. (2008) Brucelose bovina: uma atualização. Revista Brasileira de Reprodução Anim 32: 202-212.
24. Singh K (2009) Laboratory-acquired infections. Clin Infect Dis 49: 142-147.

25. Sam IC, Karunakaran R, Kamarulzaman A, Ponnampalavanar S, Syed Omar SF, et al. (2012) A large exposure to Brucella melitensis in a diagnostic laboratory. J Hosp Infect 80: 523-525.

26. Poester FP, Gonçalves VS, Paixão TA, Santos RL, Olsen SC, et al. (2006) Efficacy of strain RB51 vaccine in heifers against experimental brucellosis. Vaccine 24: 5527-5534.

27. Her M, Cho DH, Kang SI, Cho YS, Hwang IY, et al. (2010) The development of a selective medium for the Brucella abortus strains and its comparison with the currently recommended and used medium. Diagn Microbiol Infect Dis 67: 15-21.

28. Carmichael E, Greene E (1990) Canine brucellosis: In infectious diseases of the dog and cat. Green E (Ed) Philadelphia: WB Saunders, pp: 573-584.

29. Xavier MN, Paixão TA, Poester FP, Lage AP, Santos RL (2009) Pathological, immunohistochemical and bacteriological study of tissues and milk of cows and fetuses experimentally infected with Brucella abortus. J Comp Pathol 140: 149-157.

30. Santos L, Peixoto D, Serakides R, Costa M, Martins E (1998) Detecção de Brucella abortus (cepa B19) por o complejo imunoenzimático avidina-biotina-peroxidasa em testículo y en el epidídimo de bovinos inoculados experimentalmente. Archivos Reproductive Animal, pp: 34-41.

31. Ramos-Vara JA (2005) Technical aspects of immunohistochemistry. Vet Pathol 42: 405-426.

32. Le Flèche P, Jacques I, Grayon M, Al Dahouk S, Bouchon P, et al. (2006) Evaluation and selection of tandem repeat loci for a Brucella MLVA typing assay. BMC Microbiol 6: 9.

33. López-Goñi I, García-Yoldi D, Marín M, De-Miguel J, Muñoz M, et al. (2008) Evaluation of a multiplex PCR assay (Bruce-ladder) for molecular typing of all Brucella species, including the vaccine strains. J Clin Microbiol 46: 3484-3487.

34. Bricker BJ (2002) PCR as a diagnostic tool for brucellosis. Vet Microbiol 90: 435-446.

35. Mitka S, Anastaki C, Sinakos E, Dita E, Kanaroutidou A (2007) Evaluation of different PCR assays for early detection of acute and relapsing brucellosis in humans in comparison with conventional methods. J Clin Microbiol 45: 1211-1218.

36. Ewalt DR, Bricker BJ (2000) Validation of the abbreviated Brucella AMOS PCR as a rapid screening method for differentiation of Brucella abortus field strain isolates and the vaccine strains, 19 and RB51. J Clin Microbiol 38: 3095-3096.

37. Scholz HC, Hubalek Z, Sedlacek I, Vergnaud G, Tomaso H, et al. (2008) Brucella microti sp. nov., isolated from the common vole Microtus arvalis. Int J Syst Evol Microbiol 58: 375-382.

38. Scholz HC, Hubalek Z, Nesvadbova J, Tomaso H, Vergnaud G, et al. (2008) Isolation of Brucella microti from soil. Emerg Infect Dis 14: 1316-1317.

39. Scholz HC, Huber B, Vergnaud G, Le Flèche P, Whatmore AM, et al. (2009) Isolation of Brucella microti from mandibular lymph nodes of red foxes, Vulpes vulpes, in lower Austria. Vector Borne Zoonotic Dis 9: 193-196.

40. Huber B, Scholz HC, Lucero N, Busse HJ (2009) Development of a PCR assay for typing and subtyping of Brucella species. Int J Med Microbiol 299: 565-573.

41. Redkar R, Rose S, Bricker B, DelVecchio V (2001) Real-time detection of Brucella abortus, Brucella melitensis and Brucella suis. Mol Cell Probes 15: 45-52.

42. Queipo-Ortuño MI, Colmenero JD, Reguera JM, García-Ordóñez MA, Pachón ME, et al. (2005) 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: 713-718.

43. Kattar M, Zalloua A, Araj F, Sanuba-K, Fouty J, et al. (2007) Development and evaluation of real-time polymerase chain reaction assays on whole blood and paraffin-embedded tissues for rapid diagnosis of human brucellosis. Diagn Microbiol Infect Dis 59: 23-32.

44. Winchell JM, Wolff BJ, Tiller R, Bowen MD, Hoffmaster AR (2010) Rapid identification and discrimination of Brucella isolates by use of real-time PCR and high-resolution melt analysis. J Clin Microbiol 48: 697-702.

45. Whatmore AM, Perrett LL, MacMillan AP (2007) Characterisation of the genetic diversity of Brucella by multilocus sequencing. BMC Microbiol 7: 34.

46. Huynh Y, Ert V, Hadfield T, Probert S, Bellaire H (2008) Multiple locus variable number tandem repeat (VNTR) analysis (MLVA) of Brucella spp. identifies species specific markers and insights into phylogenetic relationships. Humana Press, Totowa, NJ 47: 54.

47. Al-Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D, Scholz C (2005) Identification of Brucella species and biotypes using polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Crit Rev Microbiol 31: 191-198.

48. Scott C, Koylass S, Stubberfield R, Whatmore M (2007) Multiplex assay based on single-nucleotide polymorphisms for rapid identification of Brucella isolates at the species level. Appl Environ Microbiol 73: 7331-7337.

49. Foster JT, Okinaka RT, Svensson R, Shaw K, De BK, et al. (2008) Real-time PCR assays of single-nucleotide polymorphisms defining the major Brucella clades. J Clin Microbiol 46: 296-301.

50. Gopaul KK, Koylass MS, Smith CJ, Whatmore AM (2008) Rapid identification of Brucella isolates to the species level by real time PCR based single nucleotide polymorphism (SNP) analysis. BMC Microbiol 8: 86.

51. Seng P, Drancourt M, Gouriet F, La Scola B, Fournier P, (2009) Ongoing revolution in bacteriology: Routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Clin Infect Dis 49: 543-551.

52. Ferreira L, Vega Castaño S, Sánchez-Juanes F, González-Cabrero S, Menéndez P, et al. (2010) Identification of Brucella by MALDI-TOF mass spectrometry. Fast and reliable identification from agar plates and blood cultures. PLoS One 5: e14235.

53. OIE (2009) Bovine brucellosis in terrestrial manual.

54. Nielsen K, Gall D, Smith P, Balsevicius S, Garrido F, et al. (2004) Comparison of serological tests for the detection of ovine and caprine antibody to Brucella melitensis. Rev Sci Tech 23: 979-987.

55. OIE (2009) Bovine epididymitis (B. ovis) in terrestrial manual.

56. Gall D, Nielsen K, Forbes L, Cook W, Lucher D, et al. (2001) Evaluation of the fluorescence polarization assay and comparison to other serological assays for detection of brucellosis in cervids. J Wildlife Dis 37: 110-118.

57. Perrett LL, McGiven JA, Berv SD, Stack JA (2010) Evaluation of competitive ELISA for detection of antibodies to Brucella infection in domestic animals. Comp Med J 51: 314-319.

58. Díaz R, Casanova A, Ariza J, Moriyón I (2011) The Rose Bengal Test in human brucellosis: a neglected test for the diagnosis of a neglected disease. PLoS Negl Trop Dis 5: e950.

59. Ruiz-Mesa D, Sánchez-Gonzalez J, Reguera M, Martín L, López-Palmero S (2005) Rose Bengal test: Diagnostic yield and use for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas. Clin Microbiol Infect 11: 221-225.

60. Christopher S, Umapathy BL, Ravikumar KL (2010) Brucellosis: review on the recent trends in pathogenicity and laboratory diagnosis. J Lab Physicians 2: 55-60.

61. Araj GF (2010) Update on laboratory diagnosis of human brucellosis. Int J Antimicrob Agents 36 Suppl 1: S12-17.

62. Sathyanarayan S, Suresh S, Krishna S, Mariraj J (2011) A comparative study of agglutination tests, blood culture and ELISA in the laboratory diagnosis of human brucellosis. Int J Biol Med Res 2: 569-572.

63. Agasthya S, Ishor S, Krishnamurthy P (2012) Seroprevalence study of human brucellosis by conventional tests and indigenous indirect enzyme-linked immunosorbent assay. Sci World J 1: 1-5.

64. Mantur B, Patrade A, Amarnath S, Patil G, Walvekar R, et al. (2010) ELISA versus conventional methods of diagnosing endemic brucellosis. Am J Trop Med Hyg 83: 314-318.

65. Asaad AM, Alqahtani JM (2012) Serological and molecular diagnosis of human brucellosis in Najran, Southwestern Saudi Arabia. J Infect Public Health 5: 189-194.

66. Gall D, Nielsen K, Vigliocco A, Smith P, Perez B, et al. (2003) Evaluation of an indirect-linked immunoassay for presumptive serodiagnosis of B. ovis in sheep. Small Rum Res 48: 173-179.

67. Di Febo T, Luciani M, Portanti O, Bonfini B, Lelli R, et al. (2012) Development and evaluation of diagnostic tests for the serological diagnosis of brucellosis in swine. Vet Ital 48: 133-156.

68. Ko KY, Kim JW, Her M, Kang SI, Jung SC, et al. (2012) Immunogenic proteins of Brucella abortus to minimize cross reactions in brucellosis diagnosis. Vet Microbiol 156: 374-380.

69. Lim JJ, Kim DH, Lee JJ, Kim DG, Min W, et al. (2012) Evaluation of recombinant 28 kDa outer membrane protein of Brucella abortus for the clinical diagnosis of bovine brucellosis in Korea. J Vet Med Sci 74: 687-691.

70. Gall D, Nielsen K (2004) Serological diagnosis of bovine brucellosis: a review of test performance and cost comparison. Rev Sci Tech 23: 989-1002.

71. Godfroid J, Nielsen K, Saegerman C (2010) Diagnosis of brucellosis in livestock and wildlife. Croat Med J 51: 296-305.

72. Nielsen K, Gall D (2001) Fluorescence polarization assay for the diagnosis of brucellosis: a review. J Immunoassay Immunochem 22: 183-201.

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

74. Costa A, Sant'ana M, Carvalho S, Moustacas S, Silva S, et al. (2012) Diagnosis of B. ovis infection by serology and PCR in urine samples from naturally infected rams in the State of Piauí. Arquivo. Brasileiro de Medic. Vet Zootecnia 64: 751-754.

75. Estein SM, Baldi PC, Bowden RA (2002) Comparison of serological tests based on outer membrane or internal antigens for detecting antibodies to Brucella ovis in infected flocks. J Vet Diagn Invest 14: 407-411.

76. Ebani VV, Cerri D, Fratini F, Bey RF, Andreani E (2003) Serological diagnosis of brucellosis caused by Brucella canis. New Microbiol 26: 65-73.

77. Sargüzel M, Kayman T, Celik I, Koc N (2011) Comparison of standard tube agglutination, Coombs' and Brucella Capt tests in the diagnosis of brucellosis. New J Med 28: 113-115.

78. Lim L, Richman S (2004) Brucellosis. Infect Dis Clin Pract 12: 7-14.

79. Taleski V (2010) An overview of introducing various laboratory tests for diagnosis of human brucellosis in the republic of Macedonia. Maced J Med Sci 3: 239-245.

80. Clavijo E, Díaz R, Anguita A, García A, Pinedo A, et al. (2003) Comparison of a dipstick assay for detection of Brucella-specific immunoglobulin M antibodies with other tests for serodiagnosis of human brucellosis. Clin Diagn Lab Immunol 10: 612-615.

81. **Odemir M, Feyzioglu B, Kurtoglu MG, Dogan M, Dagi HT, et al. (2011) A comparison of immuncapture agglutination and ELISA methods in serological diagnosis of brucellosis. Int J Med Sci 8: 428-432.**

82. Casao MA, Navarro E, Solera J (2004) Evaluation of Brucellacapt for the diagnosis of human brucellosis. J Infect 49: 102-108.

83. Lucero NE, Escobar GI, Ayala SM, Jacob N (2005) Diagnosis of human brucellosis caused by Brucella canis. J Med Microbiol 54: 457-461.

84. Sayan M, Erdenlig S, Stack J, Kilic S, Guducuoglu H, et al. (2011) A serological diagnostic survey for Brucella canis infection in Turkish patients with Brucellosis-like symptoms. Jpn J Infect Dis 64: 516-519.

85. Saegerman C, Vo TK, De Waele L, Gilson D, Bastin A, et al. (1999) Diagnosis of bovine brucellosis by skin test: conditions for the test and evaluation of its performance. Vet Rec 145: 214-218.

86. Pouillot R, Garin-Bastuji B, Gerbier G, Coche Y, Cau C, et al. (1997) The Brucellin skin test as a tool to discriminate false positive serological reactions in bovine brucellosis. Vet Res 28: 365-374.

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