# میزان توافق تست‌های رزبنگال، رزبنگال اصلاح‌شده و رایت سریع در تشخیص نمونه سرم‌های مثبت

علی گرگین‌کرجی[1]*؛ فیروزه عبدی [2]؛ منصور رضایی [3]

## چکیده

**زمینه:** رزبنگال یک تست شایع در تشخیص سرولوژیک تب مالت است. هدف از این مطالعه بررسی میزان توافق شکل اصلاح‌شده این تست با رزبنگال معمولی و تست رایت سریع در تشخیص نمونه‌های مثبت از نظر آنتی‌بادی بود.

**روش‌ها:** در یک مطالعه مقطعی، تعداد 941 نمونه سرم مراجعه‌کنندگان به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، به‌صورت نمونه‌گیری در دسترس، با سه تست رزبنگال، رزبنگال اصلاح‌شده و رایت سریع مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های مثبت‌شده با هر یک از این سه تست، به روش رایت لوله‌ای تأیید و تیتر آن تعیین گردید.

**یافته‌ها:** تعداد نمونه‌هایی که با تست رزبنگال اصلاح‌شده مثبت شدند بیش از دو برابر نمونه‌های مثبت‌شده با رزبنگال بود ($P<0/001$)، این تعداد تمام نمونه‌های مثبت‌شده با رزبنگال را نیز شامل می‌شد. از طرفی هرچند تعداد نمونه‌های مثبت‌شده با رزبنگال اصلاح‌شده حدود دو برابر رایت سریع بود ($P<0/001$)، اما تمام نمونه‌هایی که با این تست مثبت شده بودند را شامل نمی‌شد. در کل میزان توافق قابل قبولی بین هر سه تست وجود داشت ($K\geq0/583$).

**نتیجه‌گیری:** رزبنگال اصلاح‌شده به‌دلیل تشخیص موارد مثبت بیشتر نسبت به رزبنگال معمولی، می‌تواند جایگزین این تست شود. اما به‌دلیل اینکه تمامی موارد مثبت‌شده با تست رایت سریع را پوشش نمی‌دهد، باید در کنار آن از رایت سریع نیز استفاده شود.

**کلیدواژه‌ها:** رزبنگال، رزبنگال اصلاح‌شده، رایت سریع

«دریافت: 1388/11/9 پذیرش: 1389/4/15»

1. گروه ایمنی‌شناسی و مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

2. آزمایشگاه مرکزی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

3. گروه آمار زیستی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

***عهده‌دار مکاتبات:** کرمانشاه، میدان دانشگاه، خیابان دانشگاه، دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی، تلفن: 21- 08314274618، فکس: 08314276423

Email: ali4459@gmail.com

## مقدمه

**تب مالت (بروسلوز)، بیماری مشترک بین انسان و دام و ناشی از عفونت با باکتری‌های جنس بروسلا است. انتقال این بیماری به انسان از طریق تماس با جنین سقط‌شده، جفت جنین، مدفوع، خون و ترشحات واژینال حیوان آلوده، مصرف فراورده‌های لبنی غیرپاستوریزه، مصرف گوشت یا فراورده گوشتی خام و یا تماس با نمونه بافتی یا محیط کشت‌های آلوده در آزمایشگاه و از طریق عبور از مخاط یا پوست آسیب‌دیده (یا حتی سالم) صورت می‌گیرد (1). این بیماری در کشورهای پیشرفته صنعتی ریشه‌کن شده، اما هنوز در خاورمیانه (از جمله ایران)، هند، مکزیک، آمریکای مرکزی و جنوبی به‌صورت آندمیک وجود داشته و یک مشکل بهداشتی مهم به‌شمار می‌رود (2). باتوجه به این‌که بیماری بروسلوز علایم بالینی اختصاصی ندارد، مطمئن‌ترین راه تشخیص آن جداسازی میکروب بروسلا از نمونه خون یا مغز استخوان بیمار است. اما کارایی این روش بسیار پایین است، بنابراین نتیجه منفی کشت، دلیل بر سالم**

بودن فرد نیست، به‌ویژه هنگامی که بیماری به‌صورت مزمن باشد(3). به‌همین دلیل تشخیص بیماری بروسلوز، بیشتر به کمک تست‌های سرولوژیک انجام می‌شود. پاسخ آنتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن‌های عامل این بیماری در شروع عفونت ظاهر شده و ممکن است تا ماه‌ها و حتی سال‌ها تداوم داشته باشد، به این دلیل تشخیص بیماری عمدتاً براساس افزایش تیتر آنتی‌بادی و یا تیتر بالای آنتی‌بادی صورت می‌گیرد (4).

تست‌های سرولوژی معمول برای تشخیص تب مالت در ایران شامل رزبنگال، رایت سریع (Rapid Wright یا agglutination Plate)، رایت لوله‌ای (برای تعیین تیتر آنتی‌بادی)، کومبس رایت، تست 2-مرکاپتواتانول (2-ME) و تست الیزا برای IgM و IgG است. تشخیص اولیه و غربالگری نمونه‌های سرم، اغلب به‌وسیله تست‌های رایت روش سریع و یا تست رزبنگال انجام می‌شود. تست رزبنگال یک تست آگلوتیناسیون سریع است که بر روی اسلاید انجام می‌شود و متشکل از سوسپانسیون 8 درصد از بروسلا آبورتوس سویه 19 یا 99 است که در محیط اسیدی با 3/65±0/05 =pH تهیه و نگه‌داری می‌شود(5). اما تست رایت سریع متشکل از سوسپانسیون 11 درصد بروسلا آبورتوس سویه 19 یا 99 رنگ‌آمیزی‌شده با کریستال ویوله و سبز درخشان است که در سرم فیزیولوژی با 6/4-7/0=pH نگه‌داری می‌شود. از مزایای تست رزبنگال نسبت به تست رایت، روش اسلاید (رایت سریع)، تشخیص آنتی‌بادی‌های آگلوتینان و غیرآگلوتینان و عدم وقوع پدیده پروزون در این تست است(6). در سال‌های اخیر، شکل اصلاح‌شده‌ای از تست رزبنگال معرفی شده است که گفته می‌شود حساسیت آن در تشخیص آنتی‌بادی بیشتر از رزبنگال معمولی است (7). از آن‌جا که شکل اصلاح‌شده رزبنگال در کشور ما ناشناخته بوده و تاکنون در جایی از آن استفاده نشده است، عملیاتی شدن این تست نیاز به شواهدی دارد که کارایی و میزان حساسیت آن را در تشخیص سرم‌های مثبت از نظر آنتی‌بادی در مقایسه با رزبنگال نشان دهد. ازطرف دیگر اغلب آزمایشگاه‌ها به تشخیص خود از یکی از دو تست رایت سریع یا رزبنگال برای بررسی سرولوژیک تب مالت استفاده می‌کنند و هیچ‌کدام دلیل قانع‌کننده‌ای برای این انتخاب ندارند. بنابراین لازم است نتایج این دو تست نیز در تشخیص سرم‌های مثبت از نظر آنتی‌بادی مورد بررسی قرار گیرد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی میزان توافق تست رزبنگال، رزبنگال اصلاح‌شده و تست رایت سریع در تشخیص نمونه سرم‌های مثبت از نظر آنتی‌بادی در سرم بیماران مراجعه‌کننده به آزمایشگاه مرکزی شهر کرمانشاه برای انجام تست رایت می‌باشد. همچنین لزوم انجام هریک از این تست‌ها بررسی شده است.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه مقطعی در آزمایشگاه مرکزی شهر کرمانشاه، با همکاری پرسنل بخش سرولوژی و با مساعدت مدیریت این آزمایشگاه انجام شد. برای این منظور نمونه‌های سرمی که از تاریخ بهمن 1387 تا اول مرداد 1388 برای تست رایت به آزمایشگاه مرکزی مراجعه کردند، با روش نمونه‌گیری در دسترس انتخاب شدند. در کنار تست رایت روش سریع و تست رزبنگال که به‌صورت معمول انجام می‌شد، روش اصلاح‌شده تست رزبنگال نیز انجام گردید. نمونه‌هایی که با هر یک از این سه روش، نتیجه مثبت (آگلوتیناسیون) دادند با استفاده از روش رایت لوله‌ای، تعیین تیتر شدند. در مجموع، 941 نمونه سرم مورد مطالعه قرار گرفت. بر روی همه آن‌ها تست رزبنگال و رزبنگال اصلاح‌شده انجام شد ولی تنها روی 881 مورد از آن‌ها تست رایت سریع انجام پذیرفت. به این دلیل که در ابتدا قرار بود تنها میزان توافق بین دو تست رزبنگال و رزبنگال اصلاح‌شده انجام گیرد، اما بعد تصمیم گرفته شد تست رایت نیز اضافه شود. برای انجام تست رزبنگال، بر روی یک صفحه اسلاید یا کاشی با زمینه سفید، یک قطره (معادل

40 میکرولیتر) سرم بیمار را با یک قطره آنتی‌ژن رزبنگال مجاور کرده، پس از مخلوط کردن به‌مدت 4-3 دقیقه حرکت دورانی دادیم. سپس نمونه را از نظر آگلوتیناسیون بررسی کردیم. نتیجه آزمایش در صورتی که مثبت خیلی ضعیف بود، مثبت-منفی(±) و چنانچه مثبت بود بر حسب شدت آگلوتیناسیون از 1+ تا 4+ تعیین گردید. تست رایت روش سریع نیز به‌روشی همانند تست رزبنگال انجام شد، اما برای انجام تست رزبنگال اصلاح‌شده، نسبت آنتی‌ژن به سرم به نسبت 3:1 تغییر یافت، برای این منظور 25 میکرولیتر سوسپانسیون آنتی‌ژن را با 75 میکرولیتر سرم مجاور کرده و نتیجه همانند تست رزبنگال معمولی بررسی گردید(7). همچنین اطلاعات مربوط به سن و جنس مراجعین در کنار نتایج تست رایت سریع، رزبنگال و رزبنگال اصلاح‌شده و تیتر به‌دست‌آمده در تست رایت لوله‌ای، برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ثبت گردید. آنتی‌ژن مورد استفاده برای تست رایت سریع، رایت لوله‌ای و رزبنگال، همه از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید.

نتایج حاصل از این مطالعه به‌کمک نرم افزار SPSS نگارش 16 و با استفاده از تست آماری ضریب توافق کاپا، آزمون مک‌نمار و آزمون مجذور کای، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

## یافته‌ها

از مجموع 941 مراجعه‌کننده به آزمایشگاه مرکزی شهر کرمانشاه برای بررسی سرولوژیک بیماری بروسلوز، طی دوره زمانی 1387/11/1 لغایت 1388/4/30، 565 نفر زن (60%)، 373 نفر مرد (39/6%) و 3 نفر نامشخص (0/3%) بودند. بیشترین فراونی مربوط به افراد 49-40 ساله و کم‌ترین فراونی مربوط به مراجعین 70 سال به بالا بود. به‌طورکلی بیشتر مراجعین در محدوده سنی 59-20 سال قرار داشتند. میانگین سنی مراجعین 39 سال بود.

بررسی نمونه‌ها با استفاده از تست رایت روش سریع نشان داد که از مجموع 881 مورد نمونه بررسی‌شده با این تست، تعداد 99 مورد (11/2%) مثبت و تعداد 782 مورد (88.8 %) منفی بودند. در نمونه‌های مثبت، 4 مورد (0/5%) مثبت خیلی ضعیف (P±)، 36 مورد (4/1%) مثبت ضعیف (P1+)، 28 مورد (3/2%) مثبت متوسط (P2+) و 31 مورد (3/5%) مثبت شدید (P3+) بودند (جدول 1).

از مجموع 941 نمونه سرم ارزیابی‌شده با تست رزبنگال، 855 مورد (90/9%) منفی و 86 مورد (9/1%) مثبت بودند. در نمونه‌های مثبت، 16 مورد (1/7 درصد) مثبت ضعیف (P1+)، 19 مورد (2%) مثبت متوسط (P2+)، 50 مورد (5/3%) مثبت شدید (P3+) و 1 مورد (0/1%) مثبت خیلی شدید (P4+) بودند (جدول 1).

**جدول 1- توزیع فراوانی نتایج در هر سه تست مورد بررسی**

| نتیجه آزمایش | تست رزبنگال اصلاح‌شده | | تست رزبنگال | | تست رایت | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | تعداد | درصد | تعداد | درصد | تعداد | درصد |
| منفی | 756 | 80/3 | 855 | 90/9 | 782 | 83/1 |
| ± | 1 | 0/1 | 0 | 0 | 4 | 0/4 |
| 1+ | 49 | 5/2 | 16 | 1/7 | 36 | 3/8 |
| 2+ | 71 | 7/5 | 19 | 2/0 | 28 | 3/0 |
| 3+ | 63 | 6/7 | 50 | 5/3 | 31 | 3/3 |
| 4+ | 1 | 0/1 | 1 | 0/1 | 0 | 0 |
| داده‌های گمشده | 0 | 0 | 0 | 0 | 60 | 6/4 |
| جمع کل | 941 | 100 | 941 | 100 | 941 | 100 |

بررسی نمونه‌ها با استفاده از تست رزبنگال اصلاح‌شده، مشخص کرد که از تعداد **941** نمونه، **756** مورد **(80/3%)** منفی و **185** مورد **(19/7%)** مثبت هستند. در نمونه‌های مثبت، **1** مورد **(0/1%)** مثبت خیلی ضعیف (P±)، **49** مورد **(5/2%)** مثبت ضعیف (P1+)، **71** مورد **(7/5%)** مثبت متوسط، **63** مورد **(6/7%)** مثبت شدید و **1** مورد **(0/1%)** مثبت خیلی شدید بودند **(جدول 1)**.

بر اساس یافته‌های این مطالعه، اکثر نمونه‌های مثبت، تیتر پایینی داشتند، به‌طوری‌که تیتر **1/20** با **56** مورد **(29/5%)** و تیتر **1/40** با **36** مورد **(18/9%)** بیشترین فراونی را داشتند. پس از آن، تیترهای صفر با **30** مورد **(15/8%)**، **1/80** با **22** مورد **(11/6%)** و **1/160** با **10** مورد **(5/3%)** قرار داشتند. تیترهای بالا فراوانی کمی نشان دادند، به‌طوری‌که تیتر بالاتر از **1/320** مجموعاً **25** مورد **(13/2%)** بود و کم‌ترین فراوانی مربوط به تیتر **1/2560** بود **(جدول 2)**.

نتایج سه تست رزبنگال، رایت سریع و رزبنگال اصلاح‌شده از نظر میزان سازگاری، توافق نتایج مثبت و نتایج منفی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. همچنین

**جدول 2** - توزیع فراوانی تیتر آنتی‌بادی در نمونه‌های مثبت‌شده با هر یک از سه تست.

| تیتر آنتی‌بادی | تعداد | درصد |
|---|---|---|
| 0 | 30 | 15/8 |
| 1/20 | 56 | 29/5 |
| 1/40 | 36 | 18/9 |
| 1/80 | 22 | 11/6 |
| 1/160 | 21 | 11/1 |
| 1/320 | 10 | 5/3 |
| 1/640 | 8 | 4/2 |
| 1/1280 | 6 | 3/2 |
| 1/2560 | 1 | 0/5 |
| جمع کل | 190 | 100/0 |

حساسیت تست‌ها در تشخیص آنتی‌بادی مورد بررسی قرار گرفت و تست حساس‌تر تعیین گردید. از تعداد **881** نمونه سرمی که با تست‌های رایت سریع و رزبنگال بررسی شدند، **760** نمونه در هر دو تست، پاسخ منفی داشتند که معادل **97/2** درصد پاسخ‌های منفی در تست رایت و **95/2** درصد پاسخ‌های منفی در تست رزبنگال بود. تعداد **61** نمونه در هر دو تست مثبت شدند که معادل **61/6** درصد پاسخ‌های مثبت در تست رایت و **73/5** درصد پاسخ‌های مثبت در تست رزبنگال بود. **(جدول 3)**. از طرف دیگر، **22** مورد از نمونه‌هایی که در تست رایت منفی شدند در تست رزبنگال، جواب مثبت داشتند، در مقابل، **38** مورد از نمونه‌هایی که در تست رزبنگال منفی شدند در تست رایت، پاسخ مثبت داشتند. با این وجود ضریب توافق کاپا این دو تست، حدود K=**0/633** بود که مؤید وجود سازگاری قابل‌قبول بین این دو تست است. در کل، اختلاف معناداری بین نتایج حاصل از تست رایت سریع و تست رزبنگال مشاهده نگردید.

از تعداد **881** نمونه، **701** مورد در هر دو تست رایت سریع و تست رزبنگال اصلاح‌شده منفی شدند، که معادل **89/6** درصد پاسخ‌های منفی در تست رایت و **99/3** درصد موارد منفی در تست رزبنگال اصلاح‌شده بود. همین‌طور تعداد **94** نمونه در هر دو تست مثبت شدند که معادل **94/9** درصد موارد مثبت در تست رایت و **53/7** درصد موارد مثبت در تست رزبنگال اصلاح‌شده بود **(جدول 4)**. از طرف دیگر درحالی‌که **81** مورد از نمونه‌هایی که در تست رایت منفی شدند در تست رزبنگال اصلاح‌شده مثبت شدند، تنها **5** مورد از نمونه‌هایی که با تست رزبنگال اصلاح‌شده، پاسخ منفی داشتند با تست رایت سریع جواب مثبت داشتند. در کل، در مقایسه با تست رایت سریع، با انجام تست رزبنگال اصلاح‌شده، تعداد بیشتری از نمونه سرم‌ها مثبت شدند **(P<0/001)**، با این وجود سازگاری و توافق مناسبی میان این دو تست مشاهده گردید **(K=0/634)**.

**جدول 3** - میزان توافق نتایج تست رایت سریع با تست رزبنگال

| تست رایت سریع | | تست رزبنگال | | کل |
|---|---|---|---|---|
| | | مثبت | منفی | |
| منفی | تعداد | 22 | 760 | 782 |
| | درصد نسبت به رایت | %2/8 | %97/2 | %100/0 |
| | درصد نسبت به رزبنگال | %26/5 | %95/2 | %88/8 |
| | درصد کل | %2/5 | %86/3 | %88/8 |
| مثبت | تعداد | 61 | 38 | 99 |
| | درصد نسبت به رایت | %61/6 | %38/4 | %100/0 |
| | درصد نسبت به رزبنگال | %73/5 | %4/8 | %11/2 |
| | درصد کل | %6/9 | %4/3 | %11/2 |
| کل | تعداد | 83 | 798 | 881 |
| | درصد نسبت به رایت | %9/4 | %90/6 | %100/0 |
| | درصد نسبت به رز بنگال | %100/0 | %100/0 | %100/0 |
| | درصد کل | %9/4 | %90/6 | %100/0 |

**جدول 4** - میزان توافق نتایج تست رایت سریع با تست رزبنگال اصلاح‌شده

| تست رایت سریع | | تست رزبنگال اصلاح‌شده | | کل |
|---|---|---|---|---|
| | | مثبت | منفی | |
| منفی | تعداد | 81 | 701 | 782 |
| | درصد نسبت به رایت | %10/4 | %89/6 | %100/0 |
| | درصد نسبت به رزبنگال اصلاح شده | %46/3 | %99/3 | %88/8 |
| | درصد کل | %9/2 | %79/6 | %88/8 |
| مثبت | تعداد | 94 | 5 | 99 |
| | درصد نسبت به رایت | %94/9 | %5/1 | %100/0 |
| | درصد نسبت به رزبنگال اصلاح شده | %53/7 | %0/7 | %11/2 |
| | درصد کل | %10/7 | %0/6 | %11/2 |
| کل | تعداد | 706 | 175 | 881 |
| | درصد نسبت به رایت | %80/1 | %19/9 | %100/0 |
| | درصد نسبت به رزبنگال | %100/0 | %100/0 | %100/0 |
| | درصد کل | %80/1 | %19/9 | %100/0 |

**جدول 5 -** میزان توافق نتایج تست رزبنگال با تست رزبنگال اصلاح شده

| | تست رزبنگال | تست رزبنگال اصلاح‌شده | | کل |
|---|---|---|---|---|
| | | مثبت | منفی | |
| منفی | تعداد | 99 | 756 | 855 |
| | درصد نسبت به رزبنگال | %11/6 | %88/4 | %100/0 |
| | درصد نسبت به رزبنگال اصلاح شده | %53/5 | %100/0 | %90/9 |
| | درصد کل | %10/5 | %80/3 | %90/9 |
| مثبت | تعداد | 86 | 0 | 86 |
| | درصد نسبت به رزبنگال | %100/0 | %0 | %100/0 |
| | درصد نسبت به رز بنگال اصلاح شده | %46/5 | %0 | %9/1 |
| | درصد کل | %9/1 | %0 | %9/1 |
| کل | تعداد | 185 | 756 | 941 |
| | درصد نسبت به رزبنگال | %80/3 | %19/7 | %100/0 |
| | درصد نسبت به رزبنگال اصلاح شده | %100/0 | %100/0 | %100/0 |
| | درصد کل | %80/3 | %19/7 | %100/0 |

بررسی تعداد **941** نمونه ارزیابی‌شده با دو تست رزبنگال و رزبنگال اصلاح‌شده نشان داد که تعداد **756** نمونه در هر دو تست جواب منفی داشتند که معادل **88/4** درصد پاسخ‌های منفی در تست رزبنگال و **100** درصد موارد منفی در تست رزبنگال اصلاح‌شده بود. همچنین تعداد **86** نمونه در هر دو تست مثبت شدند که معادل **100** درصد پاسخ‌های مثبت در تست رزبنگال و **46/5** درصد جواب‌های مثبت در تست رزبنگال اصلاح‌شده بود (جدول **5**). از طرف دیگر درحالی‌که تعداد **99** مورد از نمونه‌هایی که با تست رزبنگال، جواب منفی داشتند با تست رزبنگال اصلاح‌شده پاسخ مثبت داشتند، هیچ نمونه‌ای وجود نداشت که با تست رزبنگال اصلاح‌شده، منفی ولی با تست رزبنگال پاسخ مثبت ایجاد کند. به این ترتیب تست رزبنگال اصلاح‌شده ضمن شناسایی تعداد بیشتری نمونه سرم مثبت، در مقایسه با تست رزبنگال ($P<0/001$)، تمامی موارد مثبت‌شده در تست رزبنگال را نیز شامل گردید. ضمناً میزان توافـق در این دو تست در حد متوسط بود ($K=0/583$).

## بحث

این مطالعه به‌منظور بررسی میزان توافق و سازگاری تست‌های رایت سریع، رزبنگال و رزبنگال اصلاح‌شده در تشخیص نمونه‌های مثبت ازنظر آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن‌های بروسلا در سرم بیماران مراجعه‌کننده به آزمایشگاه مرکزی برای انجام تست رایت انجام شد. نتایج این بررسی نشان داد که ضمن این‌که سازگاری قابل‌قبولی بین این سه تست وجود دارد، تست رزبنگال اصلاح‌شده در مقایسه با تست رزبنگال معمولی و تست رایت سریع، توانایی تشخیص نمونه سرم‌های مثبت بیشتری دارد و قادر است آنتی‌بادی‌هایی که با دو تست اخیر، به‌ویژه تست رزبنگال، قابل تشخیص نیستند را نمایان سازد.

تست‌های رایت سریع و رزبنگال به‌دلیل سادگی، ارزان‌قیمت بودن، عدم نیاز به تجهیزات خاص و به‌ویژه جواب‌دهی سریع از محبوبیت و ارجحیت خاصی در بین

تست‌های تشخیصی تب مالت برخوردارند. به‌همین دلیل، این دو تست بیشترین کاربرد را در تشخیص سرولوژیک بروسلوز داشته و اولین تست درخواستی برای تشخیص این بیماری یا غربالگری آن هستند. یکی از موضوعات مورد بحث در خصوص این تست‌ها میزان ویژگی و حساسیت آن‌ها در تشخیص بیماری تب مالت است. ویژگی و حساسیت هر تست با مقایسه نتایج حاصل از انجام آن تست بر نمونه‌هایی که به مثبت یا منفی بودن آن‌ها مطمئن هستیم، تعیین می‌شود. در مطالعه‌ای که در سال 1992 در یک ناحیه آندمیک در اسپانیا انجام شده، ویژگی تست رزبنگال معمولی حدود 75 درصد گزارش شده است(8). دلیل پایین بودن ویژگی رزبنگال ناشی از پایداری آنتی‌بادی IgG ضد بروسلا در سرم افراد تا ماه‌ها پس از بهبودی از این بیماری (9 و 10) و نیز شیوع بالای آنتی‌بادی ضد بروسلا در نواحی آندمیک گزارش شده است (11 و 12). در یک مطالعه دیگر، ویژگی تست رزبنگال در افرادی که به‌طور مرتب در معرض عامل بیماری بودند 91 درصد، ولی در افرادی که در یکسال گذشته سابقه بیماری بروسلوز داشتند، 76 درصد گزارش شده است (6). ارزیابی تست‌های سرولوژیک مختلف (از جمله رزبنگال) برای تشخیص بروسلوز در بزها نیز نشان داده است که در بزهایی که بیماری آن‌ها با جداسازی میکروب بروسلا تأیید شده بود تست رزبنگال، حساسیتی برابر با 90 درصد در تشخیص بروسلوز داشته است، اما شکل تغییر یافته آن (رزبنگال اصلاح‌شده) حساسیتی برابر با 100 درصد نشان داده است(7). در مطالعه حاضر به‌دلیل عدم دسترسی به مراجعین و نبود درخواست کشت در برگه معرفی و نیز کارایی بسیار پایین کشت خون (به‌ویژه در شکل مزمن بیماری)، امکان مقایسه نتایج این سه تست با یک تست Gold Standard مانند کشت خون وجود نداشت، لذا تعیین ویژگی و حساسیت این تست‌ها در تشخیص بیماری تب مالت امکان‌پذیر نبود. به‌همین دلیل، در این‌جا تنها حساسیت این تست‌ها در تشخیص آنتی‌بادی در نمونه‌های سرم مراجعین، مورد مقایسه قرار گرفت و هر تستی که نمونه‌های مثبت بیشتری را تشخیص داد، به‌عنوان تست حساس‌تر در نظر گرفته شد.

نتایج این مطالعه نشان داد که تست رزبنگال اصلاح‌شده در مقایسه با تست رزبنگال، قادر به تشخیص سرم‌های مثبت بیشتری بوده و میزان حساسیت آن در تشخیص سرم‌های مثبت بیش از دو برابر تست رزبنگال است. اما از طرف دیگر این احتمال وجود دارد که این افزایش حساسیت، موجب کاهش ویژگی تست رزبنگال اصلاح‌شده در مقایسه با تست رزبنگال شود و باعث افزایش میزان موارد مثبت کاذب آن، به‌ویژه در نواحی آندمیک گردد. با این وجود، به‌دلیل این‌که در بیماری بروسلوز، به‌ویژه شکل مزمن آن، گاهی تیتر آنتی‌بادی پایین است و در برخی افراد به‌دلایل مختلف، پاسخ آنتی‌بادی ضعیفی ایجاد می‌شود، رزبنگال اصلاح‌شده، به‌دلیل حساسیت بیشتر نسبت به رزبنگال معمولی، تست ارزشمندی برای تشخیص نمونه‌های سرم مثبت از نظر آنتی‌بادی محسوب می‌شود.

براساس یافته‌های این مطالعه، تست رزبنگال اصلاح‌شده از توانایی بیشتری در تشخیص سرم‌های مثبت بیشتر نسبت به تست رایت سریع نیز برخوردار است. در این زمینه، حساسیت آن حدود 2 برابر تست رایت است. بنابراین به‌نظر می‌رسد که با انجام این تست، نیازی به انجام تست رایت سریع نباشد. اما از آن‌جا که در برخی از موارد (حداقل 5 مورد در این مطالعه) نمونه‌هایی که با تست رزبنگال اصلاح‌شده، منفی شده بودند با تست رایت، جواب مثبت داشتند بنابراین، تست رایت سریع می‌تواند برای تشخیص آن دسته از آنتی‌بادی‌هایی که تست رزبنگال اصلاح‌شده، قادر به نمایان ساختن آن‌ها نیست مفید باشد. به این ترتیب درحالی‌که با انجام تست رزبنگال اصلاح‌شده، نیاز به انجام تست رزبنگال برطرف می‌شود ولی انجام تست رایت سریع، همچنان لازم است و باید در کنار تست رزبنگال اصلاح‌شده، تست رایت سریع نیز انجام شود.

از آن‌جا که مثبت واقعی با تعیین تیتر آنتی‌بادی نمونه‌ها مشخص می‌شود، بنابراین نمونه‌های مثبتی که تیتر آن‌ها صفر شده است در نهایت، منفی تلقی شده و به‌صورت جواب منفی گزارش می‌شوند. از 185 نمونه سرم مثبت‌شده با تست رزبنگال اصلاح‌شده، تیتر 29 نمونه برابر صفر شد، از 99 نمونه سرمی که با تست رایت مثبت شده بودند، تیتر آنتی‌بادی در 5 نمونه برابر صفر گردید و از تعداد 86 نمونه سرمی که با تست رزبنگال مثبت شده بودند، تعداد 4 نمونه تیتری برابر صفر داشتند. بالاتر بودن تعداد نمونه‌های مثبت با تیتر صفر در روش رزبنگال اصلاح شده، می‌تواند ناشی از تفاوت در آنتی‌ژن‌ها یا میزان در معرض بودن آنتی‌ژن‌های بروسلا در آنتی‌ژنهای تهیه‌شده در روش رزبنگال در مقایسه با روش رایت باشد. همچنین وجود موارد مثبت کاذب بیشتر در تست رزبنگال اصلاح‌شده و کم‌تر بودن ویژگی این تست نیز می‌تواند یکی از دلایل احتمالی باشد. بالطبع وجود نمونه‌های مثبت با تیتر صفر در روش رایت سریع، ناشی از وجود موارد مثبت کاذب در این تست است که میزان آن نیز بالا نیست.

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تست رزبنگال اصلاح‌شده در مقایسه با تست رزبنگال معمولی و تست رایت روش سریع، از توانایی بیشتری در تشخیص نمونه‌های مثبت از نظر آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن بروسلا برخوردار است و قادر است سرم‌های مثبتی را که به‌دلیل تیتر پایین آنتی‌بادی با تست‌های رزبنگال و رایت سریع قابل تشخیص نیستند شناسایی کند. گرچه حساسیت بالای این تست، ممکن است ویژگی آن‌را کاهش دهد، اما از آن‌جا که در شروع بیماری، همین‌طور در شکل مزمن بیماری و نیز در برخی افراد به‌واسطه وضعیت خاص سیستم ایمنی آن‌ها، ممکن است پاسخ آنتی‌بادی ضعیفی در مقابل آنتی‌ژن‌های عامل این بیماری ایجاد شود، بنابراین پیشنهاد می‌شود تست رزبنگال اصلاح‌شده، جایگزین تست رزبنگال معمولی شود و در کنار آن از تست رایت سریع برای تشخیص آن دسته از آنتی‌بادی‌هایی که به‌وسیله تست رزبنگال اصلاح‌شده قابل‌شناسایی نیستند، استفاده شود. در کل، انجام هم‌زمان تست رایت سریع و تست رزبنگال اصلاح‌شده بر روی نمونه سرم برای تشخیص اولیه بروسلوز ضروری به‌نظر می‌رسد.

## تشکر و قدردانی

این مطالعه با مساعدت و همکاری آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه و به‌ویژه با حمایت و مساعدت بی‌دریغ مدیریت آن، جناب آقای علی رضوانی انجام شده است، به این وسیله از مساعدت و حمایت‌های مدیریت و کارکنان آزمایشگاه مرکزی تشکر و قدردانی می‌کنیم.

## References

1. Young EJ, Human brucellosis. Rev Infect Dis, 1983;5(5): 821-42.
2. Young EJ, An overview of human brucellosis. Clin Infect Dis 1995;21(2): 283-9; quiz 290.
3. Gazapo E, Gonzalez Lahoz J, Subiza JL, Baquero M, Gil J, de la Concha EG. Changes in IgM and IgG antibody concentrations in brucellosis over time: importance for diagnosis and follow-up. J Infect Dis 1989; 159(2): 219-25.
4. Diaz RIM. Laboratory techniques in the diagnosis of human brucellosis. In: Corbel EJ. Brucellosis: clinical and laboratory aspect 1989: CRC, Boca Raton, F1.
5. Lucero NE, Bolpe JE. Buffered plate antigen test as a screening test for diagnosis of human brucellosis. J Clin Microbiol 1998; 36(5): 1425-7.
6. Ruiz-Mesa JD, S?nchez-Gonzalez J, Reguera JM, Mart?n L, Lopez-Palmero S. Rose Bengal test: diagnostic yield and use for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas. Clin Microbiol Infect 2005;11(3): 221-5.

7. Diaz-Aparicio E, Mar?n C, Alonso-Urmeneta B, Arag?n V, Pérez-Ortiz S, Pardo M. Evaluation of serological tests for diagnosis of Brucella melitensis infection of goats. J Clin Microbiol 1994; 32(5): 1159-65.
8. Martin Moreno S, Guinea Esquerdo L, Carrero Gonz?lez P, Visedo Orden R, Garc?a Carbajosa S, Calvo del Olmo T. [Diagnosis of brucellosis in an endemic area. Evaluation of routine diagnostic tests (Spanish)]. Med Clin (Barc), 1992; 98(13): 481-5.
9. Young EJ, Serologic diagnosis of human brucellosis: analysis of 214 cases by agglutination tests and review of the literature. Rev Infect Dis 1991;13(3): 359-72.
10. Ariza J, Pellicer T, Pallarés R, Foz A, Gudiol F. Specific antibody profile in human brucellosis. Clin Infect Dis 1992; 14(1): 131-40.
11. Abo-Shehada MN, Odeh JS, Abu-Essud M, Abuharfeil N. Seroprevalence of brucellosis among high risk people in northern Jordan. Int J Epidemiol 1996; 25(2): 450-4.
12. Tasei JP, Ranque P, Balique H, Traore AM, Quilici M. [Human brucellosis in Mali. Results of a seroepidemiological study (French)]. Acta Trop 1982; 39(3): 253-64.