بهارافشان

آنتی‌سرم چنددودمانی بروسلا آبورتوس

Brucella Abortus Antiserum

بروسلاها پارازیت‌های داخل سلولی سیستم رتیکولواندوتلیال‌اند که قدرت تهاجمی بالایی دارند. این باکتری‌ها عامل عفونت لوکالیزه در مغز استخوان، بافت‌ها و دیگر ارگان‌های انسان به شمار می‌روند.

بروسلوزیس ***Brucellosis*** بیماری ایجاد شده توسط این ارگانیسم می‌باشد. این بیماری معمولا سه تا چهار هفته پس از تماس اولیه با عامل عفونت بروز می‌کند. علائم بیماری شامل تب، درد استخوان‌ها (بدن درد) سردرد، لرز، بی‌حالی و تعریق است. تظاهر کلینیکی این بیماری به سه فرم حاد، تحت حاد و یا به صورت لوکالیزه می‌باشد.

1

www.bird-bahar.com
E-mail:bahar@bird-bahar.com

مراجع:

1. *Balous A. and Duerden B.1998*, Topley and Wilson,s Microbiology and Microbial Infections (Vol and Vol 2). Amold Company, London,U.K.
2. *Murray P.R, Barron j. ,Pfaller M.A. et al.* 1999, Manual of Clinical Microbiology.
American Societies of Microbiology press, U.S.A.
3. *Mandel G.L. Bennet J.E. and Dolin* R.2000, Principles and practice of infectious disease. Churchill :ivingstone, New york U.S.A.
4. *Encyclopedia of Microbioloy*, 2000, Vol 2 Acadenic press.

علائم جهانی مربوط به فرآورده‌های تشخیص آزمایشگاهی

فقط برای مصرف در آزمایشگاه	IVD	*in-vitro* diagnostic use only
شماره سفارش فرآورده	REF	Product Code
شماره ساخت فرآورده	LOT	Lot Number
تاریخ پایداری		Use by/ Expiry date
درجه حرارت نگهداری فرآورده		Store at
برای روش استفاده فرآورده با سازنده تماس بگیرید		Consult instructions for use

تهران، خیابان کارگر شمالی، نرسیده به پمپ‌بنزین، ساختمان آزمایشگاه بهار
شماره ۱۶۲۷، صندوق پستی: ۷۶۸-۱۴۱۸۵
تلفن: ۸۸۹۶۶۲۴۶-۸۸۹۶۱۸۶۹، نمابر: ۸۸۹۶۰۴۴۵

وقتی بروسلوز به صورت تحت حاد ظهور می‌کند ممکن است با توبرکلوزیس اشتباه شود که این به دلیل داخل سلولی بودن این ارگانیسم همانند ***M.tuberculosis*** است که واکنش ایمنی بدن در این موارد با تشکیل گرانولوماتا همراه می‌باشد. بیشتر موارد بروسلوزیس به علت تماس با حیوانات و کشت خالص باکتری جدا شده در آزمایشگاه رخ می‌دهد. تاریخچه بیمار معمولاً شامل تماس با محصولات دامی یا با گوشت آلوده است. محل ورود عفونت، بینی یا حلق (از طریق تنفس)، دستگاه گوارش (از طریق خوراکی) کنژنکتیو (از طریق تماس با چشم) و خراش‌های پوستی است.

پاسخ ایمنی انسان در مقابل ورود میکروارگانیسم به بدن موجب تولید آنتی بادی قابل اندازه‌گیری می‌باشد که در اغلب موارد در تشخیص کلینیکی بیماری مؤثر است و اساس تشخیص سرولوژیک محسوب می‌شود.

اما درهرحال ***تشخیص قطعی*** بروسلوزیس مبتنی بر جداسازی این ارگانیسم توسط ***کشت*** است. استفاده از آنتی سرم بروسلا در تشخیص جنس این باکتری نقش اساسی دارد (جدول ۱) و سال‌هاست که در کنار سایر آزمون‌های بیوشیمیایی جهت تأیید این جنس باکتریایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. ***به‌علت تشابه آنتی‌ژنیک گونه‌های بیماریزا شایع در انسان که عبارتند از بیوار ۲ و ۳ ملیتنسیس با آبورتوس؛ بیوار ٤ و ۵ و ۷ آبورتوس با ملیتنسیس؛ بیوار ۱ و ۲ و ۳ سویس با آبورتوس؛ بیوار ٤ سویس با ملیتنسیس و آبورتوس؛ بیوار ۵ سویس*** با آبورتوس. این آنتی سرم به‌صورت پلی‌والان و به نام ***abortus*** عرضه می‌شود.

جمع‌آوری، انتقال و آماده‌سازی نمونه:

نمونه‌ها پس از جمع‌آوری، بلافاصله باید کشت داده شوند و درغیر این صورت در یخچال نگهداری شوند. بروسلا بیشتر از خون و مغز استخوان جدا می‌شود اما گاهی جداسازی آن از نمونه‌های بیوپسی طحال و کبد و آبسه‌ها نیز گزارش شده است.

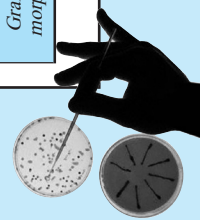
این باکتری به‌ندرت ازمناطق واجد میکروفلور، جدا گردیده است.

جدول ۱- افتراق جنس بروسلا از سایر کوکو باسیل‌های گرم منفی سخت رشد

Test	*Brucella sp*	*Bordetella bronchiseptica*	*Acinetobacter SP.*	Moraxella phenylpyruvica	Oligella ureolytica	Haemophilus influenzae
Agglutination in Brucella antiserum	+b	-	-	-	-	-
oxidase	+b	+	-	+	+	+
Motility	-	+	-	-	+/-	-
urea	+	+	+/-	+	+	+/-
Nitrate Reduction	+	+	-/+	+	+	NA
Growth on blood agar	+	+	+	+	+	-
Gram stain morphology	Tiny ccb stain faintly	Small rods and ccb, stain brightly	Large ccb,stain brightly	ccb,stain brightly	Tiny ccb	Small ccb

www.bird-bahar.com
E-mail:bahar@bird-bahar.com

تهران، خیابان کارگر شمالی، نرسیده به پمپ‌بنزین، ساختمان آزمایشگاه بهار
شماره ۱۶۲۷، صندوق پستی: ۷۶۸-۱۴۱۸۵
تلفن: ۸۸۹۶۶۲۴۶-۸۸۹۶۱۸۶۹ نمابر: ۸۸۹۶۰۴۴۵



بهار افشان

(زیرا در رقابت با ارگانیسم‌های دیگر اغلب ناموفق است)

پس از جمع‌آوری نمونه، تلقیح آن در محیط کشت مناسب صورت می‌گیرد. محیط کشت اولیه جهت جداسازی این باکتری از خون، مغز استخوان و... محیط کشت دو فازی Castaneda «بهارافشان» می‌باشد و در هر حال روش ***Blind subculture*** برای جداسازی ارگانیسم توصیه می‌شود.

روش مفید دیگر در جداسازی این ارگانیسم Lysis Centrifuge است که به علت داخل سلولی بودن ارگانیسم کارآیی بالایی در جداسازی دارد.

بهترین نمونه برای جداسازی باکتری مغز استخوان است که در بیماران تحت حاد، اغلب مثبت باقی می‌ماند.

جداسازی و شناسایی باکتری:

بروسلا، کوکوباسیل گرم منفی بسیار کوچک، غیر متحرک و بدون کپسول است. ارگانیسم در شرایط هوازی رشد کرده و رشد آن به وسیله انکوباسیون در شرایط Co2 می‌باشد که از این خصوصیت در شناسایی آن‌ها نیز بهره گرفته می‌شود.

تاکنون ۷ گونه بروسلا شناسایی گردیده‌اند که نام آن‌ها به همراه میزبان اصلی‌شان در اینجا قید گردیده است. ***B.abortus***(گاو)، ***B.suis***(خوک)، ***B.melitensis*** (بز و گوسفند)، ***B.canis*** (سگ)، ***B.ovis*** (گوسفند)، ***B.neotomae*** (جوندگان) و یک سویه جدید به‌نام ***B.maris*** (پستانداران دریایی).

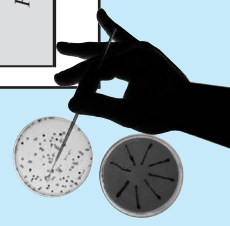
رشد این باکتری با افزودن سرم یا خون بهبود می‌یابد اما افزودن فاکتور ***X (Hemin)*** و فاکتور ***V(NAD)*** نیازی نیست که این وجه تمایز این جنس از جنس هموفیلوس می‌باشد. (رشد Blood agar مثبت) برخی سویه‌ها به صورت ضعیف بر روی مک‌کانکی رشد می‌کنند. ارگانیسم اکسیداز و کاتالاز مثبت بوده و جهت شناسایی آن از آزمون هیدرولیز اوره، تولید H_2S حساسیت به رنگ و آنتی سرم استفاده می‌شود. (جدول ۲)

جدول ۲ - مشخصات کلیدی در جداسازی گونه‌های بروسلا

Test	*B.abortus*	*B.melitensis*	*B.suis*	*B.canis*
Dye senlsitvity Basic fuchsin	R	R	S	S
Thionine	S	R	R	R
Urea hydrolysis	>90 min	>90 min	<90 min	<90 min
H2 S production	2-5 days	None	1-6 days	None
Lysis by Tb phage	+	-	-	-
Requirenent for C02	+/-	-	-	-

www.bird-bahar.com
E-mail:bahar@bird-bahar.com

تهران، خیابان کارگر شمالی، نرسیده به پمپ‌بنزین، ساختمان آزمایشگاه بهار
شماره ۱۶۲۷، صندوق پستی: ۷۶۸-۱۴۱۸۵
تلفن: ۸۸۹۶۶۲۴۶-۸۸۹۶۱۸۶۹، نمابر: ۸۸۹۶۰۴۴۵



آزمون آنتی سرمی:

پس از جداسازی باکتری جهت‌شناسایی و تأیید باکتری از آزمون آنتی سرمی استفاده می‌شود ***توجه به این نکته ضروری است که این آزمون برای شناسایی گونه به کار نمی‌رود. آنتی‌سرم موجود، آنتی‌سرم بروسلا آبورتوس است که به علت واکنش‌های متقاطع در بین گونه‌های بروسلا و تشابه آنتی‌ژنیک سه گونه B.aborts، B.suis، B.melitensis، باکتری به‌صورت B.abortus گزارش می‌شود.***

واکنش‌های متقاطع:

این واکنش به علت تولید آنتی بادی‌های هتروژن رخ می‌دهد. بنابراین شدت آن ضعیف‌تر از واکنش‌های هموژن می‌باشد. این واکنش‌ها بین ***Francisella tularensis*** و ***Yersinia enterocolitica serotype 9***، ***Vibrio cholerae***، ***Proteus OX19*** و ***Brucella*** رخ می‌دهد. آنتی سرم بروسلا آبورتوس یک آنتی سرم پلی‌کلنال است که به علت تشابه آنتی ژنتیک بین سه گونه ***B.melitensis***، ***B.suis***، ***B.abortus*** واجد واکنش‌های متقاطع سرولوژیک می‌باشد.

پایداری و نگهداری:

آنتی سرم باید در دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد نگهداری شود. تاریخ انقضاء هر آنتی‌سرم بر روی بر چسب آن نوشته شده است.

هشدار و احتیاط‌ها:

۱. این فرآورده تنها برای استفاده *in-vitro* می‌باشد.
۲. قبل از استفاده حتماً بروشور را مطالعه فرمائید.
۳. از استفاده پس از تاریخ انقضاء بپرهیزید.
۴. هنگام انجام آزمون از دستکش، ماسک و عینک استفاده کنید. کلیه عملیات باید در زیر هود بیولوژیک کلاس II انجام گیرد.
۵. پس از استفاده لام و اپلیکاتور استفاده شده را داخل ظرف محلول ۰/۵ درصد هیپوکلریت سدیم (آب ژاول) قرار دهید.

www.bird-bahar.com
E-mail:bahar@bird-bahar.com

تهران، خیابان کارگر شمالی، نرسیده به پمپ‌بنزین، ساختمان آزمایشگاه بهار
شماره ۱۶۲۷، صندوق پستی: ۷۶۸-۱۴۱۸۵
تلفن: ۸۸۹۶۶۲۴۶-۸۸۹۶۱۸۶۹، نمابر: ۸۸۹۶۰۴۴۵

۶. از آلوده شدن محلول بر اثر تماس با میکروب‌ها جلوگیری کنید.
۷. در صورت کدر بودن یا لخته بودن آنتی سرم‌ها، از استفاده آن‌ها بپرهیزید.
۸. در آنتی سرم‌های حاضر Thiomersal به عنوان یک نگهدارنده به‌کار رفته است که در صورت بلع می‌تواند موجب مسمومیت گردد. همچنین این ماده در صورت تماس با آلومینیوم می‌تواند ایجاد خوردگی کند.
۹. از ذوب و انجماد آنتی سرم‌ها بپرهیزید که می‌تواند موجب ایجاد رسوب و از دست رفتن آن‌ها گردد.
۱۰. برای انجام آزمایش حتما از نور مناسب و صفحه تیره استفاده کنید.

روش انجام آزمون و تفسیر نتایج:

کشت‌هایی که از طریق آزمون‌های بیوشیمیایی و خصوصیات مورفولوژیکی مشکوک به میکروب مورد نظر می‌باشند، می‌توانند جهت آزمون و تأیید با آنتی سرم مربوطه مورد استفاده قرار گیرد.

مراحل انجام آزمایش:

۱. آنتی‌سرم را قبل از آزمایش از یخچال بیرون آورده، به درجه حرارت اطاق برسانید.
۲. از لام‌های شیشه‌ای تمیز استفاده نموده و یک قطره از آنتی سرم را بر روی لام بریزید.
۳. به‌وسیله لوپ مقداری از کشت تازه ۴۸ تا ۷۲ ساعته رشد یافته بروی محیط‌های غیرمهاری را در قطره آنتی سرم برده، کاملاً حل نمایید به‌طوری که یک قطره سوسپانسیون غلیظ به وجود آید.
۴. لام را به‌صورت دورانی حرکت دهید و واکنش را قبل از ۶۰ ثانیه در مقابل یک صفحه سیاه و مات از نظر آگلوتیناسیون به دقت مورد بررسی قرار دهید.
۵. لخته شدن مشخص و یا آگلوتیناسیون کامل در این مدت باید به‌عنوان واکنش مثبت در نظر گرفته شود.