محاسبه Cut-off point مناسب برای آزمون ELISA جهت تشخیص بروسلوز انسانی در ایران

عبدالرضا سودبخش،[۱] حبیب‌الله مرتضوی،[۱] محبوبه حاجی‌عبدالباقی، مهرداد حسیبی،[۱*] سیروس جعفری،[۱] حمید عمادی کوچک،[۱] غلامرضا اسماعیلی جاوید[۲]

۱- گروه بیماریهای عفونی
۲- گروه آمار و اپیدمیولوژی، مرکز تحقیقات ایدز (IRCHA)

دانشگاه علوم پزشکی تهران

*نویسنده مسئول، تهران، خیابان انقلاب، خیابان سعدی شمالی، بیمارستان امیراعلم، دفتر معاونت آموزشی بیمارستان تلفن: ۶۶۷۰۴۱۳۶
email: Mehrdad_hasibi@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۰۳/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۰۵/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: در این مطالعه ما روایی آزمون ELISA را در تشخیص بروسلوز مورد بررسی قرار داده و با تعیین دقیق cut-off point برای ELISA حساسیت و ویژگی این آزمون را مشخص کردیم. ***روش بررسی:*** در این مطالعه ما ۵۶ مورد قطعی بیماری بروسلوز را بر اساس نتیجه کشت خون و سرولوژی جمع‌آوری و همراه با ۱۲۶ مورد کنترل شامل ۷۳ فرد سالم و ۵۳ بیمار تب‌دار غیر بروسلوزی مورد مطالعه قرار دادیم. مقادیر IgG و IgM به روش ELISA در گروه شاهد و بیمار تعیین و به‌وسیله نمودار Box plot و ROC Curve مورد مقایسه قرار گرفت. مقادیری از IgG و IgM که ماکزیمم حساسیت و ویژگی را داشت به عنوان cut-off point تعیین گردید. ***یافته‌ها:*** ۱۹ بیمار کشت خون مثبت از نظر بروسلا ملی تنسیس و ۵۴ بیمار تیتر سرولوژی ۱/۱۶۰ و بالاتر داشتند. نمودار Box plot درجه بالای پراکندگی مقادیر IgG و IgM را در بیماران مبتلا به بروسلوز نسبت به کنترل سالم و کنترل تب‌دار نشان داد. البته مقادیر IgM در بیماران و افراد گروه شاهد تا حدی با یکدیگر همپوشانی داشتند. منحنی ROC روایی و قابلیت اعتماد ELISA را در تشخیص بیماری بروسلوز نشان داد. سطح زیر منحنی در مورد IgG بیشتر از IgM بود. در نهایت حساسیت و ویژگی ELISA IgG و ELISA IgM در چند cut-off point محاسبه گردید. ***نتیجه‌گیری:*** ELISA به‌خصوص ELISA IgG آزمون قابل اعتمادی برای تشخیص بیماری بروسلوز است. در مورد IgG ELISA بیشترین حساسیت (۹۲/۹٪) و ویژگی (۱۰۰٪) به‌ترتیب در cut-off point برابر ۱۰IU/ml و ۵۰IU/ml دیده می‌شود.

کلمات کلیدی: بروسلوز، ELISA، cut-off point، ویژگی، حساسیت

مقدمه

بروسلوز (Brucellosis) بیماری عفونی سیستمیک و پیشرونده‌ای است که در منطقه مدیترانه یک مشکل جدی بهداشتی محسوب می‌گردد.[۱] در کشور ما نیز این بیماری آندمیک بوده و میزان آن در سال‌های اخیر افزایش داشته است.[۲] این بیماری عوارض ناتوان‌کننده فراوانی داشته که در صورت تاخیر در تشخیص و درمان موجب صدمات جدی و حتی به خطر افتادن حیات بیمار می‌شود. جهت تشخیص بروسلوز علاوه بر اپیدمیولوژی مثبت و علامت‌های بالینی مرتبط، به شواهد آزمایشگاهی نیز احتیاج داریم. آزمایشاتی که در تشخیص بیماری استفاده می‌شود عبارتند از: ۱- روش‌های کشت ۲- polymerase chain reaction (PCR) ۳- روش‌های سرولوژی بر مبنای تشخیص آنتی‌بادی ضد بروسلا. تشخیص قطعی بروسلوز از طریق کشت خون، مغز استخوان، بافت‌ها و ترشحات دیگر بدن (مایع مفصلی، مایع مغزی- نخاعی، ادرار و بیوپسی کبد) حاصل می‌شود. کشت خون یا دیگر مایعات و ترشحات بدن حساسیت بالایی (۵۰ تا ۷۰ درصد) نداشته و ممکن است به دوره طولانی انکوباسیون (تا شش هفته) نیاز داشته باشد.[۳] بنابراین در صورت شک به تشخیص بروسلوز مشورت با آزمایشگاه ضروری بوده، چون اکثر آزمایشگاه‌ها محیط‌های کشت منفی را پس از یک هفته به‌طور معمول دور می‌ریزند. بهتر است جهت کشت میکروارگانیسم از محیط‌های بی‌فازیک نظیر Castaneda استفاده شود. با کاربرد روش BACTEC نتیجه کشت مثبت ممکن است ظرف هفت تا ۱۰ روز عاید شود.[۳] روش‌های اصلاح شده کشت از جمله انجام Lysis centrifugation و روش Buffy coat میزان مثبت شدن نمونه‌های کشت را افزایش

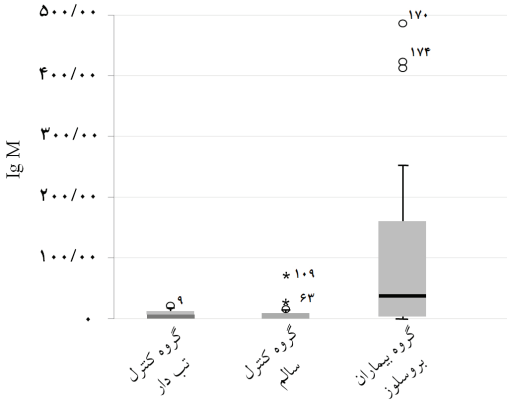
می‌دهند[۳] لیکن به‌دلیل عدم دسترسی به‌طور روتین استفاده نمی‌شوند. PCR خون محیطی نیز گرچه حساسیت بیشتری در مقایسه با کشت خون دارد ولیکن کاربرد آن برای تشخیص بروسلوز هنوز استاندارد نشده است.[۳و۴] در ایران PCR فقط در بعضی آزمایشگاه‌های مرجع انجام شده و هنوز به‌صورت یک روش متداول تشخیصی پذیرفته نشده است. در عمل تشخیص آزمایشگاهی بروسلوز بیشتر با روش‌های سرولوژی بر مبنای تشخیص آنتی‌بادی ضدبروسلا انجام می‌گیرد. مهمترین و شایع‌ترین آزمون سرولوژی که در حال حاضر مورد استفاده قرار می‌گیرد تست اگلوتیناسیون استاندارد SAT می‌باشد.[۳و۵] SAT می‌تواند با نتایج مثبت یا منفی کاذب همراه شود. عفونت با یرسینیا انتروکولیتیکا، فرانسیسلا تولارنسیس و ویبریوکلرا و همچنین واکسیناسیون و با می‌تواند نتایج مثبت کاذب SAT را به‌همراه داشته باشد.[۳] همچنین نتایج منفی کاذب آزمون در موارد وجود آنتی‌بادی‌های بلوکان و پدیده prozone (ناشی از زیادی بار آنتی‌بادی بروسلا می‌باشد) مشاهده می‌شود. حال با توجه به شیوع بیماری بروسلوز در منطقه، کمبود روش‌های تشخیصی، نداشتن حسّاسیت ۱۰۰٪ در مورد کشت و روش‌های سرولوژی نظیر SAT، نیاز به آزمون‌های دیگر همواره احساس می‌شود. از بین تست‌های سرولوژیک ELISA روشی بسیار حساس برای تعیین آنتی‌بادی‌های بروسلایی است.[۶] با این حال برای استفاده بهینه از این آزمون نیاز به یک cut-off point دقیق و قابل اعتماد داریم که بتواند موارد مثبت واقعی را از موارد منفی افتراق دهد. از این رو برآن شدیم که در مورد آزمون ELISA در بیماران مبتلا به بروسلوز مطالعه‌ای انجام شود و cut-off point آزمون تعیین گردد.

روش بررسی

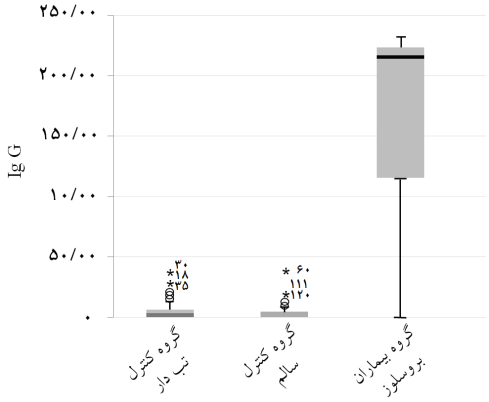
نوع مطالعه بررسی روش‌ها بود. بیمارانی که از تاریخ ۱۳۸۴ تا ۱۳۸۷ به بیمارستان امام‌خمینی تهران مراجعه و برای آنها تشخیص بروسلوز به قطعیت رسیده بود در نظر گرفته شدند. معیارهای ورود بیماران به مطالعه عبارت بودند از: تشخیص بروسلوز براساس تابلوی بالینی به‌علاوه کشت خون مثبت و یا SAT≥۱/۱۶۰ و 2ME≥۱/۴۰ معیارهای خروج بیماران به مطالعه عبارت بودند از: سابقه دریافت داروهای آنتی‌بروسلوز در اپیزود اخیر. وجود نقص ایمنی (مادرزادی یا اکتسابی) و سابقه ابتلا به بروسلوز. جهت انجام مطالعه دو گروه کنترل نیز در نظر گرفته شد. گروه کنترل سالم که مبتلا به تب یا بیماری عفونی نبوده و سابقه قبلی ابتلا به بیماری بروسلوز و دریافت رژیم ضد بروسلوز، تماس مداوم با دام یا مصرف لبنیات محلی را نیز نداشتند. بیماران با تب طولانی غیر بروسلوزی که تب طول کشیده داشتند و بیماری بروسلوز در مورد آنها رد شده بود. از کلیه بیماران و هر دو گروه کنترل پس از گرفتن شرح حال کامل پنج میلی‌لیتر خون جهت آزمون ELISA IgM و ELISA IgG اخذ گردید. قبل از انجام نمونه‌گیری شرایط مطالعه برای بیماران و افراد شاهد شرح داده شد و از همه آنها رضایت‌نامه کتبی اخذ گردید. جهت انجام آزمون ELISA از کیت تجارتی آی‌بی‌ال ساخت کشور آلمان استفاده شد. در تمامی افراد گروه شاهد و بیمار تیتر ELISA IgM ELISA IgG اندازه‌گیری شد و با استفاده از ROC Curve (Receiver-operator characteristic) و نمودار Box plot مقادیر اندازه‌گیری شده مورد مقایسه قرار گرفت و در نهایت حساسیت و ویژگی IgG و IgM در cut-off point های ۱۰ و ۲۵ و ۵۰ و ۷۵ محاسبه گردید.

یافته‌ها

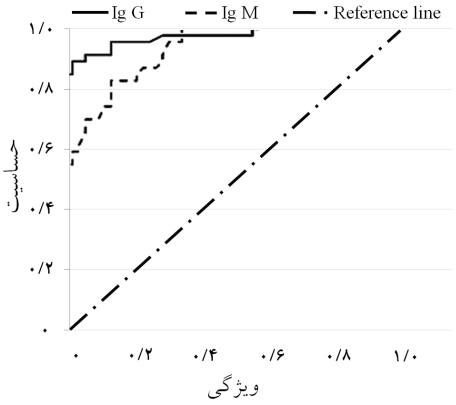
در کل ۱۸۲ نفر مورد آزمایش قرار گرفتند که (۳۱٪)۵۶ نفر آنها بیماران مبتلا به بروسلوز بودند و (۴۰٪)۷۳ نفر افراد سالمی بودند که هیچ بیماری خاصی نداشتند و (۲۹٪)۵۳ نفر نیز افرادی بودند که تب طول کشیده داشتند و تشخیص دیگری به غیر از بروسلوز در مورد آنها به اثبات رسیده بود. بیماران مبتلا به بروسلوز (۱۰٪)۱۸ مورد زن و (۲۱٪)۳۸ مورد مرد بودند. (۱۰/۵٪)۱۹ بیمار کشت خون مثبت از نظر بروسلا ملی تنسیس و (۲۹/۵٪)۵۴ بیمار تیتر سرولوژی ۱/۱۶۰ و بالاتر داشتند. گروه افراد شاهد با تب طول کشیده شامل (۵۱٪)۲۷ نفر زن و (۴۹٪)۲۶ نفر مرد بود. همچنین شاهدین سالم نیز شامل (۵۶٪)۴۱ نفر زن و (۴۴٪)۳۲ نفر مرد بودند. میانگین ELISA IgG در گروه بیماران بروسلوزی ۱۶۰/۴۲ در گروه افراد سالم ۳/۷۱ و در گروه افراد با تب طول کشیده ۴/۹۲ بود. میانگین ELISA IgM در گروه بیماران بروسلوزی ۱۰۲/۴۱ در گروه افراد سالم ۴/۰۹ و در گروه افراد با تب طول کشیده مساوی ۱/۵ بود. در نمودار ۱ و ۲ با استفاده از Box plot نشان داده شده که پراکندگی ELISA IgG و ELISA IgM در گروه بیماران بروسلوز زیاد می‌باشد ولی در گروه بیماران با تب طول کشیده و در افراد سالم این پراکندگی دیده



نمودار- ۱: پراکندگی IgM در بیماران و گروه‌های کنترل

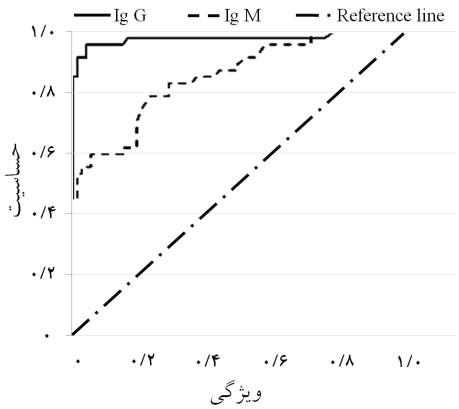


نمودار- ۲: پراکندگی IgG در بیماران و گروه‌های کنترل



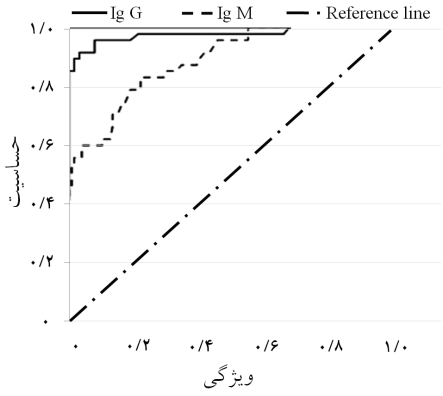
(بروسلوز در مقایسه با افراد سالم)

نمودار- ۳: منحنی برای تشخیص بروسلوز با استفاده از IgG و IgM سرم. سطح زیر منحنی ۰/۹۷۵ برای IgG و ۰/۹۳۱ برای IgM می‌باشد.



(بروسلوز در مقایسه با افراد تب دار غیر بروسلوز)

نمودار- ۴: منحنی برای تشخیص بروسلوز با استفاده از IgG و IgM سرم. سطح زیر منحنی۰/۹۷۸ برای IgG و ۰/۸۵۴ برای IgM می‌باشد



(بروسلوز در مقایسه با کلیه افراد کنترل)

نمودار- ۵: منحنی برای تشخیص بروسلوز با استفاده از IgG و IgM سرم. سطح زیرمنحنی ۰/۹۷۷ برای IgG و ۰/۸۸۶ برای IgM می‌باشد.

نمی‌شود. همچنین در نمودار ۱ با استفاده از Box plot نیز نشان داده شد که پراکندگی ELISA IgM در گروه بروسلوز تا حدودی منطبق بر دو گروه شاهد می‌باشد و در حقیقت در قسمتی با یکدیگر همپوشانی دارند در صورتی که در نمودار ۲ در مورد ELISA IgG این مساله دیده نشد و تغییرات ELISA IgG در بیماران بروسلوزی به صورت کاملا مجزا و مستقل از دو گروه شاهد قرار گرفته و در هیچ قسمت همپوشانی بین مقادیر ELISA IgG بیماران و افراد شاهد مشاهده نمی‌شود. منحنی‌های ROC (نمودارهای ۳ و ۴ و ۵) تغییرات حساسیت و ویژگی آزمون ELISA IgM و ELISA IgG را با استفاده از cut-off pointهای مختلف نشان می‌دهد که در آن بیماران بروسلوز با گروه‌های کنترل مورد مقایسه قرار گرفته است. هر مقدار سطوح

جدول- ۱: تعیین حساسیت و ویژگی ELISA IgM, ELISA IgG در چند Cut-off Point (مقایسه بیماران بروسلوزی با کلیه افراد گروه کنترل)

Cut-off Point	ELISA IgM		ELISA IgG	
	ویژگی	حساسیت	ویژگی	حساسیت
۱۰	۹۶/۸	۵۵/۳	۹۲/۱	۹۲/۹
۲۵	۹۹/۲	۵۳/۲	۹۶/۸	۸۷/۵
۵۰	۹۹/۲	۴۶/۸	۱۰۰	۷۵
۷۵	۱۰۰	۴۴/۷	۱۰۰	۶۹/۶

زیر منحنی بزرگتر و به عدد یک نزدیک‌تر باشد روایی و دقت آزمون بیشتر است. در نمودار ۵ که شامل مقایسه بیماران مبتلا به بروسلوز با کلیه افراد شاهد می‌باشد سطح زیر منحنی ROC در مورد IgG و IgM به‌ترتیب عبارت است از ۰/۹۷۷ و ۰/۸۸۶که نشان می‌دهد که ناحیه زیر منحنی IgG بزرگتر از IgM است. در جدول ۱ مقادیر ۱۰ و ۲۵ و ۵۰ و ۷۵ به عنوان cut-off point در نظر گرفته شده و حساسیت و ویژگی ELISA IgM و ELISA IgG در بیماران مبتلا به بروسلوز در مقایسه با افراد گروه‌های شاهد محاسبه شده است.

بحث

بروسلوز یک مشکل بزرگ بهداشتی در کشور ما ایران می‌باشد. یافتن یک روش تشخیصی مطمئن و آسان جهت بیماریابی سریع و دقیق مهمترین دغدغه متخصصین بوده که در حوزه این بیماری مشغول به فعالیت هستند. تحقیقات قبلی نشان دادند که آزمون ELISA یک تست ساده و سریع در تشخیص موارد بروسلوز بوده که از حساسیت بالایی نیز برخوردار است.[۷] در یک مطالعه که بر روی ۷۷ بیمار مبتلا به بروسلوز در ترکیه انجام شد حساسیت تشخیصی SAT، ELISA IgG و ELISA IgM به‌ترتیب عبارت بود از:۹۴/۳٪، ۹۷/۱٪، ۷۱/۴٪.[۸] تست ELISA به‌دلیل تفکیک IgG و IgM می‌تواند مرحله و وضعیت فعالیت بیماری را به شکل بهتری نشان دهد.[۹-۱۱] در بررسی دیگری نشان داده شد حساسیت تشخیصی ELISA IgG در کنار ELISA IgM مشابه SAT می‌باشد.[۱۲] کاربرد دیگر این تست علاوه بر کمک در تشخیص بیماری در مناطق آندمیک، بیماریابی در جوامعی است که میزان بروسلوز پائین است.[۱۳] مشکل این تست آزمایشگاهی وجود موارد بالای مثبت کاذب بوده که در عمل متخصصین را در تفسیر نتایج آن ناتوان ساخته و نهایتا کاربرد آزمون را زیر سوال برده است. برای رفع این مشکل ما ابتدا قابلیت اعتماد این آزمون را در افتراق بیماران از افراد غیر بیمار مورد بررسی قرار داده و سپس با تعیین cut-off point مناسب حساسیت و ویژگی این آزمون را مشخص کردیم. در این مطالعه ما تعداد ۵۶ مورد بروسلوز داشتیم که با روش‌های متداول آزمایشگاهی تشخیص آنها به اثبات رسیده بود. همچنین جهت مقایسه بهتر و دقیق‌تر نتایج از دو گروه شاهد نیز استفاده شد که از این بابت این مطالعه کم نظیر است. نتایج این بررسی اختلاف قابل ملاحظه‌ای را در میزان میانگین IgG و IgM در بیماران مبتلا به بروسلوز در مقایسه با هر دو گروه شاهد نشان داد. البته ما برای نشان دادن بهتر روایی آزمون از نمودار Box plot استفاده کردیم. مشاهده نمودارهای ۱ و۲ پراکندگی زیاد مقادیر IgM و IgG را در بیماران مبتلا به بروسلوز نشان می‌دهد در صورتی که در افراد شاهد مقادیر به صورت متمرکز قرار گرفته است. این مسئله دلالت بر حساسیت بالای آزمون ELISA در تشخیص بیماری است. همچنین بررسی نمودار ۱ نشان می‌دهد که محل قرارگیری مقادیر IgM در گروه‌های بیماران و شاهد در قسمتی با یکدیگر همپوشانی دارند این مسئله می‌تواند بیانگر وجود موارد مثبت کاذب در کاربرد تست ELISA IgM باشد. در حالی که در نمودار ۲ مقادیر IgG در افراد بیمار به‌صورت کاملا مجزا نسبت به دو گروه شاهد قرار گرفته است که حاکی از ارزش بیشتر ELISA IgG در تشخیص بیماری است. در همین باب جهت تفسیر بهتر نتایج منحنی‌های ROC رسم شد. نمودارهای ۳ و ۴ و ۵ با استفاده از نتایج IgM و IgG سرمی است که به‌ترتیب بیماران مبتلا به بروسلوز را با افراد سالم، بیماران تب‌دار غیر بروسلوزی و کلیه افراد شاهد مورد مقایسه قرار داده است. منحنی‌های ROC رفتار ELISA IgM و ELISA IgG در بیماری بروسلوز نشان می‌دهد. بررسی این نمودارها مشخص کرد که اولا در هر سه نمودار منحنی‌های IgM و IgG از خط قطری وسط Reference line (که سطح زیر آن ۰/۵ می‌باشد) فاصله داشته به‌طوری‌که سطوح

زیر منحنی‌های IgM و IgG نزدیک به عدد یک می‌باشد که این نکته نشانه قابلیت ELISA در تشخیص بیماری بروسلوز است. ثانیا در هر سه نمودار سطح زیر منحنی IgG بیشتر از IgM است که در تائید قابلیت تشخیصی بیشتر ELISA IgG در مقایسه با ELISA IgM است. همچنین ما برای cut-off points ۱۰، ۲۵، ۷۵، ۵۰ واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر، حساسیت و ویژگی ELISA IgM و ELISA IgG را در بیماران مبتلا به بروسلوز در مقایسه با گروه‌های شاهد محاسبه کردیم که نتایج مشخص نمود (جدول ۱) که در cut-off point ۱۰IU/ml، حساسیت و ویژگی ELISA IgG به ترتیب ۹۲/۹ و ۹۲/۱٪ و در cut-off point ۵۰IU/ml، حساسیت و ویژگی ELISA IgG به ترتیب ۷۵ و ۱۰۰٪ می‌باشد. بنابراین میتوان اذعان نمود که ELISA IgG آزمون قابل اعتمادی برای تشخیص موارد بیماری بروسلوز است. cut-off point ۱۰IU/ml برای ELISA IgG بیشترین حساسیت (۹۲/۹٪) و cut-off point ۵۰IU/ml بیشترین ویژگی (۱۰۰٪) را دارا می‌باشند. در پایان نظر به آندمیک بودن بیماری بروسلوز در کشور و نیاز به روش‌های مطلوب تشخیصی پیشنهاد می‌شود مطالعات مشابهی در همین زمینه با تعداد بیشتر صورت گیرد که بتواند کارایی آزمون ELISA را هر چه بیشتر از قبل به اثبات برساند و جامعه پزشکی کشور از این تست متداول و مهم تشخیصی محروم نگردد. در خاتمه لازم است از گروه بیماری‌های عفونی بیمارستان امام‌خمینی و مرکز تحقیقات ایدز دانشگاه علوم پزشکی تهران که در انجام این پروژه تحقیقاتی ما را یاری دادند کمال تشکر و قدردانی را داشته باشیم.

References

1. Corbel MJ. Recent advances in brucellosis. *J Med Microbiol* 1997; 46(2): 101-3.
2. Hashemi SH, Keramat F, Ranjbar M, Mamani M, Farzam A, Jamal-Omidi S. Osteoarticular complications of brucellosis in Hamedan, an endemic area in the west of Iran. *Int J Infect Dis* 2007; 11(6): 496-500.
3. Corbel M, Beeching N. Brucellosis. In: Fauci A, Braunwald E, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jamson J, et al. Harrison's Principles of Internal Medicine. 17th ed. New York, NY: McGrow-Hill; 2008: p. 973-6.
4. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. *N Engl J Med* 2005; 352(22): 2325-36.
5. 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.
6. Almuneef M, Memish ZA. Prevalence of Brucella antibodies after acute brucellosis. *J Chemother* 2003; 15(2): 148-51.
7. Young EJ. Brucella species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. New York: Churchill Livingstone; 2005. p. 2669-73.
8. Ciftçi C, Oztürk F, Oztekin A, Karaoğlan H, Saba R, Gültekin M, et al. Comparison of the serological tests used for the laboratory diagnosis of brucellosis. *Mikrobiyol Bul* 2005; 39(3): 291-9.
9. Gad El-Rab MO, Kambal AM. Evaluation of a Brucella enzyme immunoassay test (ELISA) in comparison with bacteriological culture and agglutination. *J Infect* 1998; 36(2): 197-201.
10. Kiel FW, Khan MY. Analysis of 506 consecutive positive serologic tests for brucellosis in Saudi Arabia. *J Clin Microbiol* 1987; 25(8): 1384-7.
11. 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* 2003; 49(11-12): 577-89.
12. Memish ZA, Almuneef M, Mah MW, Qassem LA, Osoba AO. Comparison of the Brucella Standard Agglutination Test with the ELISA IgG and IgM in patients with Brucella bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 44(2): 129-32.
13. Karplus R, Ramlawi A, Banai M, Maayan S. The use of ELISA in a seroprevalence study of Brucella antibodies in West Bank Palestinian women of childbearing age. *Int J Infect Dis* 2007; 11(4): 367-8.

Tehran University Medical Journal; Vol. 67, No. 6, Sep 2009: 415-420

Determination of the optimal cut-off point for ELISA test for diagnosis of brucellosis in Iran

Soudbakhsh A.[1]
Mortazavi H.[1]
Hajiabdolbaghi M.[1]
Hasibi M.[1*]
Jafari S.[1]
Emadi H.[1]
Esmaili Djavid JH.[2]

1- Department of Infectious Diseases/ Emam Khomeini Hospital
2- Iranian Research Center for HIV/AIDS

Tehran University of Medical Sciences

*Corresponding author: Department of Infectious Diseases/ Amir-Alam Hospital, Tehran Iran.
Tel: +98-21-66704136
email: Mehrdad_hasibi@yahoo.com

Received: June 06, 2009 Accepted: August 04, 2009

Abstract

***Background*:** Finding a reliable diagnostic method for brucellosis is the most challengeable problem. In this study we determined the optimal diagnostic cut-off point for ELISA test.

***Methods*:** We gathered 56 confirmed cases of brucellosis. Furthermore blood samples from 126 controls including 73 healthy controls and 53 without brucellosis febrile patients were collected. In all of the cases and controls ELISA Ig G and ELISA Ig M levels were measured and compared with each other by Box plot graph and the Receiver Operating Characteristic (ROC) curve. The sensitivity and specificity of ELISA Ig G and Ig M were fixed in different cut-off values and Ig G and Ig M levels yielding maximal sensitivity plus specificity were selected for determination of optimal cut-off point.

***Results*:** The nineteen patients had positive blood cultures for Brucella melitensis. The standard agglutination test results were 1/160 or more in 54 patients. The Box plot graph indicated a high degree of dispersion for Ig G and Ig M data in patients with brucellosis compared with febrile patients without brucellosis and healthy controls. We observed partial overlap for Ig M data (not for Ig G) between cases and controls. The area under ROC curve for discrimination of cases and healthy controls was more for Ig G than Ig M.

Conclusions: The ELISA Ig G is more reliable test than ELISA Ig M in diagnosis of brucellosis. Using cut-off of 10 IU/ml and 50 IU/ml have the most sensitivity (92.9%) and specificity (100%) for ELISA Ig G test, respectively.

Keywords: Brucellosis, ELISA, cut-off point, sensitivity, specificity.