

# دستورالعمل‌های استاندارد، پیشرفته و جدید در تشخیص بیماری سل ریوی

## • محمد جواهریان

کارشناس علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، شبکه بهداشت و درمان شهرستان پارس آباد

## • خلیل گلستانی گیکلو

کارشناس علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، شبکه بهداشت و درمان شهرستان پارس آباد

## • دکتر اکبر گنجی

پزشک مسئول مبارزه با بیماری‌های دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، شبکه بهداشت و درمان شهرستان مشگین شهر

## • عادل نصیری

کارشناس علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، شبکه بهداشت و درمان شهرستان مشگین شهر

## • غلامرضا یوسفی

کارشناس آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، شبکه بهداشت و درمان شهرستان مشگین شهر

## چکیده

افزایش کلی سن جمعیت و افزایش مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مقاوم به دارو نیاز به بهبود تشخیص سریع و روش‌های جدید جهت تشخیص بیماری سل و بیماری سل مقاوم به درمان را بیشتر می‌کند. تشخیص زود هنگام و دقیق بیماری سل ریوی باید با استفاده از اشعه X، بررسی میکروسکوپی خلط، کشت در هر دو محیط مایع و جامد و تکثیر اسید نوکلئیک انجام شود. سی تی اسکن سینه، آزمون هیستوپاتولوژی بیوپسی نمونه‌ها و آزمون‌های تشخیص مولکولی جدید می‌توانند جهت تشخیص زود هنگام بیماران به خصوص در بیماران با بیماری سل ریوی اسمیر منفی و بیماری سل مقاوم به دارو استفاده شوند.

**واژه‌های کلیدی:** مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، بیماری سل، سل مقاوم به دارو، تشخیص سل ریوی، بررسی میکروسکوپی خلط، سل ریوی اسمیر منفی، تشخیص مولکولی

## مقدمه

بیماری سل از نظر بهداشت جهانی یک موضوع نگران‌کننده برای کشورهای پیشرفته و در حال توسعه

است. در معاینه بالینی، تشخیص سریع بیماری سل می‌تواند مشکل باشد و شناسایی زود هنگام بیماری سل ریوی همچنان برای پزشکان به عنوان یک مشکل باقی مانده است. تشخیص فوری بیماری سل فعال ریوی، برای کنترل بیماری سل، یک اولویت به شمار می‌رود. رادیوگرافی قفسه سینه روش مفیدی است اما برای تشخیص بیماری سل ریوی اختصاصی نیست. از این گذشته بیماری سل می‌تواند با علائم و یافته‌های غیر معمول رادیولوژیک همراه باشد که از علائم ناشی از پنومونی اکتسابی از جامعه، غیر قابل تشخیص می‌باشند، بنابراین اسمیر باسیل‌های اسید فاست و آزمون کشت باکتریولوژیک باید برای بیماران دارای علائم بیماری سل، انجام شود. با این حال کشت مایکوباکتریوم که حساسیت بالایی برای تشخیص و تأیید بیماری سل فعال دارد، جهت تفسیر به ۲ تا ۶ هفته زمان نیاز دارد. اگر چه بررسی میکروسکوپی اسمیر خلط، ابزار سریع، ساده و ارزان جهت تشخیص بیماری سل ریوی است اما حساسیت پایین و متغیری دارد. اخیراً آزمون‌های مولکولی و غیر مولکولی جهت شناسایی زود هنگام بیماری سل فعال با یا بدون شناسایی مقاومت دارویی گسترش یافته‌اند. تشخیص بیماری سل به علت شرایط خاص از روی

علائم و نشانه‌های بالینی انجام می‌شود. بر اساس تعاریف استاندارد بیماری برای بیماری سل که توسط سازمان بهداشت جهانی تدوین شده است، بیماری سل ریوی به هر گونه بیماری سل تأیید شده از نظر باکتریولوژیک و تشخیص داده شده از نظر بالینی اشاره دارد که پارانیشیم ریه یا درخت تراکتوبرانشیال را درگیر می‌کند. در این مقاله، پیشرفت‌های اخیر که امکان تشخیص بهتر و زود هنگام بیماری سل فعال ریوی را می‌دهند، خلاصه شده و دستورالعمل‌های تشخیصی استاندارد و جدید در آزمایش بالینی توصیه شده‌اند.

## روش‌های تشخیصی

### ۱- بررسی رادیولوژیکی

هر فرد با سرفه ای که دو هفته یا بیشتر طول می‌کشد یا با تب مزمن مبهم و یا با کاهش وزن، باید از نظر وجود بیماری سل مورد بررسی قرار بگیرد. اشعه X سینه ارزیابی رادیولوژیک اولیه برای افراد مشکوک یا تأیید بیماری سل ریوی است. علائم رادیولوژیکی بیماری سل ممکن است متغیر باشند اما در بیشتر موارد ویژگی منحصر به فردی دارند. رادیولوژی اطلاعات ضروری جهت کنترل و پیگیری این بیماران فراهم کرده و برای پایش بروز عوارض فوق‌العاده ارزشمند است. اشعه X سینه سودمند است اما برای تشخیص بیماری سل ریوی اختصاصی نیست و می‌تواند حتی زمانی که بیماری وجود دارد نرمال باشد، بنابراین تشخیص مستقل و قاطعی ارائه نمی‌کند و نیازمند پیگیری با آزمون خلط است. بسیاری از تظاهرات غیر معمول بزرگسالان مبتلا به بیماری سل، در واقع تظاهرات معمول بیماری اولیه می‌باشد. بیماری سل بعد از مرحله اولیه در بزرگسالان به طور معمول به صورت ناهمگن، اغلب با کدورت حفره در بخش‌های رأسی و خلفی لوب‌های بالایی و بخش‌های فوقانی لوب‌های پایینی، ظاهر می‌شود. لنفادنوپاتی نادر است. غارهای سلی مشخصه بیماری سل ثانویه است و در نیمی از بیماران ظاهر می‌شود. هر چند فعالیت بیماری بعد از مرحله اولیه را نمی‌توان به درستی با استفاده از رادیوگرافی سینه بررسی کرد. ثبات رادیولوژی به مدت ۶ ماه و کشت خلط منفی،

نشانهگر بهتری از بیماری غیرفعال است. باید به جای اصطلاح توصیفی بیماری سل غیر فعال یا قدیمی از واژه بیماری سل پایدار از نظر رادیولوژیکی استفاده شود زیرا باسیل‌های زنده ممکن است علیرغم درمان کافی باقی بمانند. بیماری سل بعد از مرحله اولیه، ایجاد بافت اضافی با اسکار پارانیشیال و ندول می‌کند. تعیین این که چگونه این یافته‌های پسمانده، نشان دهنده بیماری فعال هستند، وظیفه مهم رادیولوژی است. برای این کار اشعه X قفسه سینه ارزش محدودی دارد و فقط می‌تواند بگوید که ضایعه پایدار است و ضایعات پایدار می‌توانند حاوی باسیل‌های فعال باشند. اگر چه اشعه X قفسه سینه ابزار تشخیصی اولیه جهت بررسی بیماری سل ریوی است، به طور کلی سی‌تی‌اسکن قفسه سینه جهت تشخیص ضایعات مشکوک، یا بررسی عوارض ناشی از بیماری مورد نیاز است. این روش، زمانی روش تشخیصی موثری است که فیلم‌های ساده نرمال باشند، نیز اطلاعات ارزشمندی جهت کنترل بیماران فراهم کرده و می‌تواند اطلاعات با ارزشی برای شناسایی فعالیت باکتریایی ارائه کند. کدورت‌های منشعب، غارهای سلی، نشانه‌های روشن بیماری سل فعال هستند اما بیماری فعال باید با استفاده از آنالیز خلط جهت وجود باسیل‌ها نیز تأیید شود. یافته رادیولوژیک قابل توجه در سی تی اسکن قفسه سینه الگوی «درخت در حال شکوفه» است که شامل ساختار خطی با چندین انشعاب است که انتشار برونشی بیماری را با نکروز پنی در برونشبول‌های تنفسی و انتهایی نشان می‌دهد. این کدورت‌های منشعب توزیع لویی یا قطعه ای دارند و مارکرهای قابل اعتماد فعالیت در نظر گرفته می‌شوند. این روش برای توضیح یافته‌های بالینی گمراه کننده سودمند است با این حال اثر قابل توجهی در کنترل بیماری ندارد، بنابراین باید به دنبال این آزمون تشخیص میکروبیولوژیکی بیماری سل با استفاده از کشت انجام شود.

خلط، نمونه بسیار مهم برای آزمون آزمایشگاهی بیماری سل ریوی است. بررسی میکروسکوپی مستقیم اسمیر خلط، روشی با استفاده بسیار وسیع برای تشخیص بیماری سل ریوی است و در بسیاری از آزمایشگاه‌های اولیه خدمات بهداشتی در مراکز بیماری سلامتی وجود دارد. بیماران

باید چندین نمونه خلط در طی چند روز به آزمایشگاه تحویل دهند. خوشبختانه بررسی میکروسکوپی با کیفیت خوب از دو نمونه متوالی خلط اکثریت قریب به اتفاق (۹۸٪-۹۵٪) بیماران اسهال مثبت بیماری سل را شناسایی می‌کند. سیاست سازمان بهداشت جهانی شناسایی مبتلایان با استفاده از بررسی میکروسکوپی بوده است، از این رو پس از تجدید نظر، کاهش تعداد نمونه‌های مورد بررسی از سه به دو همراه با به کارگیری کنترل کیفی خارجی مناسب و میکروسکوپ مجهز و با کیفیت بالا توصیه شد.

بررسی اسهال مستقیم از خلط و رنگ آمیزی شده با روش ذیل نلسون در زیر میکروسکوپ نوری سنتی، آزمون تشخیصی بیماری سل با دسترسی بسیار وسیع در مراکز با منابع محدود است. بررسی میکروسکوپی ذیل نلسون بسیار اختصاصی است اما حساسیت آن متغیر بوده و بین ۲۰٪ تا ۸۰٪ است. بررسی میکروسکوپی فلورسانس مرسوم بسیار حساس تر (۱۰٪) نسبت به ذیل نلسون بوده و زمان کمی لازم دارد، اما به علت هزینه بالای منبع نوری بخار جیوه و نیاز به تعمیر و نگهداری منظم و نیاز به اتاق تاریک محدود شده است. دیودهای نشر نوری (LED) جهت ارائه بررسی میکروسکوپی فلورسانس بدون هزینه‌های مربوطه گسترش یافته‌اند. نتایج نشان داده که صحت بررسی میکروسکوپی LED برابر با استانداردهای مرجع بین المللی است و بسیار حساس تر از بررسی میکروسکوپی ذیل نلسون سنتی است و مزیت‌های کیفی، عملی و هزینه ای آن از بررسی میکروسکوپی سنتی و بررسی میکروسکوپی ذیل نلسون بیشتر است. بر اساس این یافته‌ها LED به مرور جایگزین بررسی میکروسکوپی ذیل نلسون مرسوم خواهد شد.

تشخیص آزمایشگاهی بیماری سل متکی بر بررسی میکروسکوپی مستقیم نمونه‌های خلط است. اگر چه این تکنیک اختصاصی است، ولی حساسیت کم و متغیری دارد و قادر به شناسایی سویه‌های مقاوم به دارو نیست. طبق توصیه پزشکان برای تأیید باید از کشت استفاده شود. کشت نه تنها تشخیص بیماری سل را تأیید می‌کند بلکه اطلاعاتی را برای آزمون مهم حساسیت دارویی (DST=Drug Susceptibility Testing) فراهم می‌کند. کشت مایکوباکتریال بسیار حساس است اما رشد باسیل‌های بیماری سل بر روی محیط‌های جامد سنتی به ۸-۴ هفته نیاز

دارد که درمان مناسب را در نبود تشخیص تأییدی به تأخیر می‌اندازد. کشت مایکوباکتریوم‌ها اساساً بر روی محیط جامد و شیب‌دار لون اشتاین جانسون یا در محیط برات انجام می‌شود. این روش‌ها کند هستند، به طوری که کشت موارد مثبت از نظر بررسی میکروسکوپی، ۲ تا ۴ هفته و کشت موارد منفی از نظر بررسی میکروسکوپی ۸-۴ هفته زمان می‌برد؛ بنابراین محیط مایع، روش استاندارد طلایی مایکوباکتریولوژی برای جداسازی اولیه باقی مانده است، زیرا برای جداسازی در مقایسه با محیط جامد به طور قابل توجهی سریع تر عمل کرده و در مدت ۱۰ تا ۱۴ روز نتیجه می‌دهد. برای DST این زمان ممکن است به مقدار ۱۰ روز کاهش یابد که در محیط‌های سنتی ۴ تا ۶ هفته وقت لازم بود. سیستم‌های مایع برای شناسایی مایکوباکتریوم‌ها بسیار حساس هستند و ممکن است بازده تشخیصی ۱۰٪ بیشتر از محیط جامد داشته باشند و همچنین به علت حساسیت زیاد و کم بودن زمان آزمایش، ممکن است به طور چشمگیری در کنترل بهتر بیماری، نقش موثری داشته باشند. با این حال این سیستم‌ها استعداد بیشتری برای آلودگی با میکروارگانیسم‌های دیگر دارند. در آزمایشگاه‌های مجهز، تقریباً ۱۰-۵ درصد نمونه‌ها به علت آلودگی نتایجی به بار نمی‌آورند. روش‌های کنترل آلودگی متقاطع (به علت انتقال باسیل‌ها از نمونه‌های مثبت به منفی) نیز باید به دقت پیگیری شوند، به ویژه زمانی که تعداد زیادی از نمونه‌های مثبت در کشورهای با شیوع بالا پردازش می‌شوند. محیط جامد از آگار، تخم مرغ و مالاشیت گرین ساخته می‌شود. مالاشیت گرین جهت محدود کردن آلودگی‌ها در محیط استفاده می‌شود. کشت مایع و سیستم‌های DST بسیار پیچیده و حساس تر از کشت جامد و محیط DST هستند. افزایش آلودگی باکتریایی و افزایش فراوانی ایزولاسیون مایکوباکتری‌های غیر از بیماری سل (non mycobacterium tuberculosis=NMT) باید گزارش شوند. روش سریع جهت تمایز کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس از دیگر گونه‌های مایکوباکتریال ضروری است. اخیراً تعدادی از تولید کنندگان ابزارهایی عرضه کرده‌اند که به طور خودکار در آزمایشگاه رشد مایکوباکتریوم توبرکلوزیس را شناسایی می‌کنند: مثل Bactec «تیوپ نشانگر رشد مایکوباکتریال 960»

(MGIT 960; Becton-Dickinson, Sparks, MD, USA)

(Biomérieux, Durham, NC, USA) MB/Bact Alert 10 3D.

متاسفانه این نشانگرهای خودکار گران قیمت هستند و قادر به شناسایی سریع گونه‌های مایکوباکتریال و کشت‌های آلوده یا مخلوط نمی‌باشند. در مقابل کشت بر روی محیط جامد تمام این اطلاعات را همراه با مشاهده کلنی‌ها فراهم می‌کند. تمام نمونه‌هایی که بر روی محیط مایع کشت شده‌اند جهت اطمینان از خلوص و قدرت کافی برای تشخیص بر روی محیط جامد تلقیح شوند.

### ۳- روش‌های مولکولی

#### ۱- آزمون تکثیر اسید نوکلئیک

##### (NAA=Nucleic acid amplification testing)

آزمون تکثیر اسید نوکلئیک (NAA) روش قابل اعتمادی جهت افزایش ویژگی تشخیص است؛ اما حساسیت آن برای رد کردن بیماری بسیار ضعیف است، به ویژه در بیماری اسمیر منفی که تشخیص بالینی مبهم بوده و نیاز به معاینه بالینی زیادتری دارد.

در مقایسه با بررسی میکروسکوپی اسمیر AFB، اهمیت بالای آزمون NAA در:

(۱) ارزش پیشگویی مثبت بالای آن (PPV) (>۹۵٪) با نمونه‌های اسمیر مثبت AFB در مراکزی که مایکوباکتریوم‌های آتپیک شایع هستند.

(۲) توانایی آن در تأیید سریع وجود مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در نمونه‌های کشت مثبت و ۵۰ تا ۸۰ درصد اسمیر منفی AFB.

آزمون‌های NAA در مقایسه با کشت می‌توانند وجود مایکوباکتریوم توبرکلوزیس را هفته‌ها قبل از کشت نمونه در ۹۰٪-۸۰٪ بیماران مشکوک به بیماری سل ریوی که بیماری سل آن‌ها نهایتاً با کشت تأیید شده است تشخیص دهند. اگرچه انجام آزمون NAA جهت تشخیص اولیه افراد مشکوک به بیماری سل پیشنهاد شده است. آزمون‌های NAA قابل دسترس امروزی، زمانی که احتمال وجود بیماری سل پایین هست نباید استفاده شوند زیرا PPV آزمون NAA برای چنین مواردی کمتر از ۵۰٪ می‌باشد.

نتیجه آزمون منفرد NAA منفی نباید به عنوان نتیجه قطعی جهت جداسازی انحصاری نمونه بیماری سل استفاده شود به ویژه زمانی که شک بالینی به بیماری سل

متوسط به بالا است. نتیجه منفی آزمون NAA باید به عنوان اطلاعات اضافی در تصمیم‌گیری بالینی، آزمون سریع برای تشخیص جایگزین یا جهت جلوگیری از درمان‌های غیرضروری بیماری سل استفاده شود. پزشکان باید تمام نتایج آزمایشگاهی را براساس شرایط بالینی تفسیر کنند. آزمون‌های NAA نمی‌توانند جایگزین کشت و بررسی میکروسکوپی باشند اما باید همراه با آزمون‌های سنتی و داده‌های بالینی تشخیص بیماری سل، تفسیر شوند. آزمون‌های NAA برای پایش پیشرفت درمان نیز سودمند نیستند زیرا می‌توانند باکتری‌های غیر زنده را نیز شناسایی کرده و نتایج مثبت کاذب ارائه کنند. با این حال می‌توانند مایکوباکتریوم توبرکلوزیس را از NMT (مایکوباکتریوم‌های آتپیک) تشخیص دهند. بررسی میکروسکوپی اسمیر یا علائم بالینی نمی‌توانند بیماری سل و NMT را از هم تمایز دهند و سرعت بهبودی NMT از نمونه‌های خلط اسمیر مثبت به طور پیوسته در حال افزایش است؛ بنابراین آزمون‌های NAA می‌توانند آزمون تشخیصی سودمندی برای بیماران با خلط AFB اسمیر مثبت جهت شناسایی سریع بیماری سل ریوی و تمایز آن از NMT، باشد.

#### ۲- سنجش پروپ خطی (LPA=Line probe assay)

روش‌های سنتی کشت مایکوباکتریولوژیک برای شناسایی کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و DST کند و طاقت فرسا هستند؛ بنابراین DST سریع ایزونازید و ریفامپیسین یا ریفامپیسین به تنهایی با استفاده از تکنیک‌های مولکولی بر آزمون سنتی خلط اسمیر مثبت یا کشت تأییدی بیماران در معرض خطر بیماری سل مقاوم به چند دارو (multi drug resistat=MDR) مانند بیماران درمان شده قبلی ترجیح داده می‌شود. سنجش پروپ خطی (LPA) معمولاً برای این منظور جهت انجام سریع DST در دسترس است و نوعی از آزمایش مولکولی است که امکان شناسایی مارکرهای ژنی پیوسته با مقاومت ریفامپیسین را به تنهایی یا در ترکیب با ایزونازید فراهم می‌کند. مقاومت به ایزونازید اساساً در اثر جهش در katG به دنبال جهش در جایگاه فعال Inha در ۲۰ تا ۳۰ درصد ایزوله‌ها و در ناحیه پروموتری ahpC رخ می‌دهد. جهش

در جایگاه rpoB در ۹۶٪ ایزوله‌های مقاوم به ریفامپیسین مایکوباکتریوم توبرکلوزیس یافت می‌شود. تکنولوژی LPA در مراحل زیر انجام می‌شود:

- استخراج DNA از ایزوله‌های مایکوباکتریال یا به طور مستقیم از نمونه‌های بالینی
- تکثیر ناحیه تعیین کننده مقاومت در ژن توسط واکنش زنجیری پلیمرز (PCR)
- هیبریداسیون فرآورده‌های PCR نشان دار شده با پروپ‌های اولیگونوکلوئوتیدی ثابت شده بر روی نوار و انجام روش رنگ سنجی که امکان مشاهده جایگاه پروپ‌ها را به صورت خطوط، می‌دهد.

در مطالعه اخیر کارایی Xpert MTB/RIF از میان ۵۶۱ بیمار کشت مثبت (561/1730) یک آزمون مستقیم Xpert MTB/RIF، ۹۸/۲ درصد موارد بیماری سل خلط اسمیر مثبت و ۷۲/۵٪ نمونه‌های خلط اسمیر منفی بیماری سل را شناسایی کرده است. این آزمون در ۹۹/۲ درصد بیماران اختصاصی بوده و تحت تأثیر بیماری سل قرار نگرفته است. آزمون Xpert MTB/RIF دوم، در میان بیماران با نمونه‌های خلط اسمیر منفی و بیماری سل کشت مثبت حساسیت شناسایی را ۱۲/۶٪ و در آزمون سوم حدود ۵/۱٪ افزایش داده و به ۹۰/۲٪ رسانده است. زمانی که با DST فنوتیپی مقایسه می‌شود، آزمون Xpert MTB/RIF 6 در ۹۷٪ از بیماران دارای سویه‌های مقاوم به ریفامپیسین و ۹۸/۱٪ بیماران دارای سویه‌های حساس به ریفامپیسین را شناسایی می‌کند.

سازمان بهداشت جهانی توصیه اولیه را برای استفاده از Xpert MTB/RIF به ویژه در افراد مشکوک به بیماری سل مقاوم به چند دارو صادر کرده است. Xpert MTB/RIF حساسیت بالایی برای شناسایی بیماری سل در بیماران اسمیر مثبت نسبت به بیماران اسمیر منفی دارد، با این وجود این آزمون می‌تواند به عنوان آزمون اضافی به دنبال بررسی میکروسکوپی اسمیر در بیمارانی ارزشمند باشد که قبلاً اسمیر منفی گزارش شده‌اند. با این حال در مراکزی که مقاومت به ریفامپیسین نادر است، ارزش پیشگویی کننده مثبت Xpert MTB/RIF به طور منفی تحت تأثیر قرار می‌گیرد و زمانی که شیوع مقاومت به ریفامپیسین زیر ۵٪ باشد به طور قابل توجهی پایین است.

در جایگاه rpoB در ۹۶٪ ایزوله‌های مقاوم به ریفامپیسین مایکوباکتریوم توبرکلوزیس یافت می‌شود. تکنولوژی LPA در مراحل زیر انجام می‌شود:

- استخراج DNA از ایزوله‌های مایکوباکتریال یا به طور مستقیم از نمونه‌های بالینی
- تکثیر ناحیه تعیین کننده مقاومت در ژن توسط واکنش زنجیری پلیمرز (PCR)
- هیبریداسیون فرآورده‌های PCR نشان دار شده با پروپ‌های اولیگونوکلوئوتیدی ثابت شده بر روی نوار و انجام روش رنگ سنجی که امکان مشاهده جایگاه پروپ‌ها را به صورت خطوط، می‌دهد.

بر طبق مقالات مروری سیستماتیک و متا آنالیزها جهت ارزیابی کارایی آزمایش، نتایج نشان می‌دهد که در مقایسه با روش‌های DST مرسوم، LPA به تنهایی (حساسیت  $\geq 97\%$  و ویژگی  $\geq 99\%$ ) یا در ترکیب با ایزونیازید (حساسیت  $\geq 90\%$  و ویژگی  $\geq 99\%$ ) حساسیت و ویژگی بالایی جهت شناسایی مقاومت به ریفامپیسین در ایزوله‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و در نمونه‌های اسمیر مثبت خلط، دارد. با این وجود LPA نمی‌تواند جایگزین کشت مرسوم با DST و کشت مایکوباکتریولوژیک برای نمونه‌های اسمیر منفی با DST باشد زیرا خط دوم داروهای ضد بیماری سل همچنان مورد نیاز است.

### ۳- Xpert MTB/RIF (Cepheid)

آزمایش Xpert MTB/RIF (USA, CA, Sunnyvale-Cepheid) NAA جدید، سریع، خودکار و بر پایه کارتريج است که می‌تواند بیماری سل را همراه با مقاومت ریفامپیسین به طور مستقیم از خلط جمع آوری شده در ۲ ساعت، شناسایی کند. کارتريج GeneXpert از پیش با تمام مواد ضروری جهت پردازش نمونه، استخراج و تکثیر DNA و شناسایی لیزری ژن هدف rpoB تکثیر شده، بارگذاری شده است. مزیت عمده آزمون Xpert MTB/RIF این است که می‌توان آن را به طور دقیق با حداقل زمان انجام داد. حساسیت و ویژگی این آزمون برای شناسایی بیماری سل قابل قبول است. آزمون

## دستورالعمل‌های تشخیصی بیماری سل ریوی

### ۱. بیماری سل ریوی اسمیر مثبت

افراد مشکوک به بیماری سل باید برای ارزیابی پزشکی ارجاع داده شوند. اشعه X بخش قدامی - خلفی قفسه سینه باید گرفته شود و اشعه X قفسه سینه مشکوک به بیماری سل باید با بررسی‌های تشخیصی بیشتر پیگیری شود. چندین نمونه خلط (حداقل دو، در صورت ممکن سه) یا حداقل نمونه اول خلط باید در صورت امکان برای بررسی میکروسکوپی بیماری سل و کشت برای بیماری سل تنفسی مشکوک قبل از شروع درمان فرستاده شود.

آزمون NAA می‌تواند جهت تأیید سریع تشخیص بیماری سل و تمیز مایکوباکتریوم توبرکلوزیس از NMT در خلط فرد اسمیر مثبت استفاده شود. نتایج مثبت برای هر دوی آزمون‌های NAA و اسمیر AFB قویاً دال بر ابتلا بیمار به سل ریوی می‌باشد و درمان ضد بیماری سل باید همزمان با انتظار برای نتایج کشت شروع شود. ارزش پیشگویی‌کننده مثبت آزمون NAA تأیید شده توسط FDA برای بیماری سل در ایالت متحده در نمونه‌های ABF اسمیر مثبت  $>95\%$  است. اگر نتایج NAA منفی است و نتیجه اسمیر AFB مثبت است می‌توان فرض کرد که بیمار عفونت NTM دارد. کشت روش استاندارد طلایی برای تأیید آزمایشگاهی بیماری سل است و برای جداسازی باکتری‌ها جهت DST و تعیین ژنوتیپ مورد نیاز است.

### ۲. بیماری سل ریوی اسمیر منفی

تشخیص امروزه بیماری سل همچنان کارایی کمتری به ویژه برای بیماری سل اسمیر منفی دارد؛ زیرا بیماری سل می‌تواند همراه با علائم بسیار مختلف باشد، اولین مانع در تشخیص بیماری سل اسمیر منفی تمایز علائم بالینی مختلف جهت تعیین این که کدام شرایط بسیار مشکوک است و باید تشخیص افتراقی داده شود می‌باشد. روش تشخیصی برای بیمار اسمیر منفی AFB با بیماری سل احتمالی بر اساس محل اخذ نمونه، تاریخچه دقیق پزشکی و معاینه بالینی و همچنین بررسی‌های راپولوژیکی، میکروبیولوژیکی، مولکولی و بافت شناسی است. در بیماران مشکوک به بیماری سل با اسمیر منفی، کشت برای آزمون تشخیصی

ضروری است و زمانی که بیماران بررسی شده، مشکوک به بیماری سل با خلط اسمیر منفی باشند باید انجام شود. کشت هنگامی که به طور صحیح انجام شود حساسیت تشخیص افزایش می‌یابد که نتایج ایده آلی در شناسایی زود هنگام بیماری دارد. شرایط تشخیصی اغلب از ترکیب آزمون‌های ذکر شده در بالا استفاده می‌کند و ابزارهای تشخیصی اضافی مثل خلط تحریک شده، تصویربرداری CT قفسه سینه، برونکوسکوپی با شست‌وشو و بیوپسی ریه برخی اوقات انجام می‌شوند.

آزمون NAA جهت انجام تشخیص اولیه بیماران مشکوک به بیماری سل حتی در بیماران اسمیر منفی توصیه می‌شود در این صورت:

● اگر نتایج NAA مثبت باشد و نتیجه AFB اسمیر منفی باشد، پزشک مورد را بیماری سل مثبت در نظر گرفته و درمان ضد بیماری سل را همزمان با انتظار برای نتایج کشت شروع می‌کند.

● اگر آزمون‌های اسمیر خلط و NAA منفی باشند و بیماری سل همچنان مشکوک باشد، کشت یک آزمون بسیار حساس برای تشخیص بیماری سل است؛ بنابراین کشت جهت تشخیص هردوی بیماری سل اسمیر منفی و بیماری سل مقاوم به دارو بسیار سودمند است.

اگرچه روش‌های تشخیصی جدید می‌توانند زمان انجام آزمون همراه با صحت و سهولت تشخیصی قابل توجه را کاهش دهند ولی جایگزینی برای کشت و DST مرسوم نیستند. با این وجود در موارد خاصی از بیماری سل که توسط بیماری پائوسی باسیلاری ایجاد می‌شود فقط تعداد کمی ارگانیسیم‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس وجود دارد و کشت می‌تواند منفی باشد علاوه بر این خطای نمونه‌گیری یا مسائل تکنیکی نیز می‌تواند رخ دهد. در مواردی که کشت منفی است استاندارد جهت مقایسه با آزمون تشخیصی برای پاسخ به درمان، مشخصه‌های بالینی یا کشت مثبت در آینده استفاده می‌شود.

### نتیجه‌گیری

تشخیص بیماری سل در جهان همچنان شامل روش‌هایی است که به منظور جداسازی پاتوژن عمل می‌کنند و زمانی

علیه کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس فعال هستند و احتمالاً سبب بهبودی موقتی افراد مبتلا بیماری سل می‌شوند و از استفاده آن‌ها باید در این فاز تشخیصی اجتناب شوند.

پزشکانی که بیماران مشکوک به بیماری سل را کنترل می‌کنند باید مطمئن باشند که روش‌های تشخیصی آن‌ها با دستورالعمل‌های بیماری سل مطابق بوده و جهت معاینه بیماران مسن مشکوک به بیماری سل فعال از بررسی میکروسکوپی اسمیر خلط و کشت استفاده کنند. روش‌های جدید اجازه تشخیص سریع بیماری سل فعال را در بیماران با اسمیر منفی خلط برای AFB داده و امکان شناسایی فوری و بسیار دقیق سویه‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مقاوم به دارو را به طور مستقیم از نمونه‌های تنفسی می‌دهند. برخی از محدودیت‌های ساختاری تشخیص امروزی بیماری سل احتمالاً توسط چنین ابزارهای جدید برطرف خواهند شد اما تحقیقات بیشتری همچنان مورد نیاز می‌باشند.

که مقدار مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کم است یا جایگاه عفونت به سهولت قابل دسترس نیست یک محدودیت بزرگ به شمار می‌رود. بدین دلیل تشخیص بیماری سل اسمیر منفی اغلب به تأخیر می‌افتد و چنین تشخیصی اغلب بر پایه پاسخ بالینی به درمان‌های تجربی ضد میکروبی بدون تأیید میکروبیولوژیکی است.

الگوریتم تشخیصی در نبود ابزارهای تشخیصی سریع، ساده و دقیق برای بیماری سل ریوی اسمیر منفی توصیه می‌شود. تشخیص بیماری سل ریوی اسمیر منفی حداقل در دو نمونه کافی یا چند نمونه خلط با اسمیرهای منفی، یافته‌های رادیولوژیک سازگار با بیماری سل و نبود حساسیت به تعدادی آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف همزمان با انتظار برای نتایج کشت به دست می‌آید. برای چنین بیمارانی، کشت خلط باید انجام گیرد و پیگیری فعال مورد نیاز است. چندین محدودیت جهت استفاده از مراحل تشخیصی بر پایه حساسیت آنتی بیوتیکی وجود دارد؛ زیرا فلئوئوروکینولون و آمینوگلیکوزیدها

## References

1- Yon Ju Ryu: *Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis: Recent Advances and Diagnostic Algorithms. Tuberc Respir Dis, 78:64-71, 2015.*