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 ٦ 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

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:55 +0330 on Sunday February 25th 2018

علائم و نشـانه‌های بالینی انجام می‌شود. بر اساس تعاریف اسـتاندارد بیماری برای بیماری سـل که توسـط سـازمان بهداشـت جهانی تدوین شده اسـت، بیماری سل ریوی به هر گونه بیماری سـل تأیید شـده از نظر باکتریولوژیک و تشـخیص داده شده از نظر بالینی اشـاره دارد که پارانشیم ریه یـا درخت تراکئوبرانشـیال را درگیر می‌کنـد. در این مقاله، پیشـرفت‌های اخیر که امکان تشـخیص بهتر و زود هنگام بیماری سـل فعال ریوی را می‌دهند، خلاصه شده و دسـتورالعمل‌های تشخیصی استاندارد و جدید در آزمایش بالینی توصیه شده‌اند.

روش‌های تشخیصی

۱- بررسی رادیولوژیکی

هر فرد با سـرفه ای که دو هفته یا بیشـتر طول می‌کشد یـا با تب مزمن مبهم و یا با کاهش وزن، باید از نظر وجود بیماری سل مورد بررسی قرار بگیرد. اشعه X سینه ارزیابی رادیولوژیـک اولیه برای افراد مشـکوک یـا تأیید بیماری سـل ریوی اسـت. علائم رادیولوژیکی بیماری سل ممکن اسـت متغیر باشـند اما در بیشـتر موارد ویژگی منحصر به فـردی دارند. رادیولوژی اطلاعات ضـروری جهت کنترل و پیگیـری ایـن بیماران فراهـم کرده و بـرای پایش بروز عوارض فوق‌العاده ارزشـمند است. اشعه X سینه سودمند اسـت اما برای تشـخیص بیماری سـل ریوی اختصاصی نیسـت و می‌تواند حتی زمانی که بیماری وجود دارد نرمال باشـد، بنابراین تشخیص مسـتقل و قاطعی ارائه نمی‌کند و نیازمند پیگیری با آزمون خلط اسـت. بسیاری از تظاهرات غیـر معمول بزرگسـالان مبتلا بـه بیماری سـل، در واقع تظاهرات معمول بیماری اولیه می‌باشـد. بیماری سـل بعد از مرحله اولیه در بزرگسـالان به طـور معمول به صورت ناهمگن، اغلـب با کدورت حفره در بخش‌های رأسـی و خلفـی لوب‌هـای بالایـی و بخش‌های فوقانـی لوب‌های پایینی، ظاهر می‌شـود. لنفادنوپاتی نادر است. غارهای سلی مشـخصه بیماری سـل ثانویه اسـت و در نیمی از بیماران ظاهر می‌شـود. هر چند فعالیت بیماری بعد از مرحله اولیه را نمی‌توان به درستی با استفاده از رادیوگرافی سینه بررسی کرد. ثبات رادیولوژی به مدت ٦ ماه و کشـت خلط منفی، نشـانگر بهتـری از بیماری غیرفعال اسـت. بایـد به جای اصطلاح توصیفی بیماری سـل غیر فعال یا قدیمی از واژه بیماری سـل پایدار از نظر رادیولوژیکی اسـتفاده شود زیرا باسـیل‌های زنده ممکن اسـت علیرغم درمـان کافی باقی بمانند. بیماری سـل بعد از مرحله اولیه، ایجاد بافت اضافی با اسکار پارانشـیمال و ندول می‌کند. تعیین این که چگونه این یافته‌های پسـمانده، نشـان دهنده بیماری فعال هستند، وظیفه مهم رادیولوژی اسـت. برای این کار اشعه X قفسه سینه ارزش محدودی دارد و فقط می‌تواند بگوید که ضایعه پایدار اسـت و ضایعات پایدار می‌توانند حاوی باسیل‌های فعال باشـند. اگر چه اشـعه X قفسه سـینه ابزار تشخیصی اولیه جهت بررسـی بیماری سل ریوی است، به طور کلی سی‌تی‌اسکن قفسه سینه جهت تشخیص ضایعات مشکوک، یا بررسـی عوارض ناشـی از بیماری مورد نیاز است. این روش، زمانی روش تشـخیصی موثری اسـت که فیلم‌های سـاده نرمال باشـند، نیز اطلاعات ارزشمندی جهت کنترل بیماران فراهـم کرده و می‌تواند اطلاعات با ارزشـی برای شناسایی فعالیت باکتریایی ارائه کند. کدورت‌های منشعب، غارهای سـلی، نشانه‌های روشـن بیماری سل فعال هستند اما بیماری فعال باید با اسـتفاده از آنالیز خلط جهت وجود باسـیل‌ها نیز تأیید شـود. یافته رادیولوژیک قابل توجه در سی تی اسکن قفسه سینه الگوی «درخت در حال شکوفه» اسـت که شامل سـاختار خطی با چندین انشعاب است که انتشار برونشی بیماری را با نکروز پنیری در برونشیول های تنفسی و انتهایی نشـان می‌دهد. این کدورت‌های منشعب توزیـع لوپی یا قطعـه ای دارند و مارکرهـای قابل اعتماد فعالیت در نظر گرفته می‌شـوند. ایـن روش برای توضیح یافته‌هـای بالینی گمراه کننده سـودمند اسـت با این حال اثـر قابل توجهـی درکنترل بیماری نـدارد، بنابراین باید به دنبال این آزمون تشـخیص 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، روشـی با استفاده بسیار وسـیع برای تشخیص بیماری سل ریوی است و در بسـیاری از آزمایشگاه‌های اولیه خدمات بهداشـتی در مراکز بیماری سـلامتی وجـود دارد. بیماران

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:55 +0330 on Sunday February 25th 2018

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:55 +0330 on Sunday February 25th 2018

بایـد چندین نمونـه خلط در طی چند روز به آزمایشـگاه تحویل دهند. خوشـبختانه بررسی میکروسکوپی با کیفیت خـوب از دو نمونـه متوالی خلط اکثریـت قریب به اتفاق (۹۸٪-۹۵٪) بیماران اسمیر مثبت بیماری سل را شناسایی می‌کند. سیاست سازمان بهداشت جهانی شناسایی مبتلایان با اسـتفاده از بررسی میکروسـکوپی 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.

بررسـی اسـمیر مسـتقیم از خلط و رنگ آمیزی شده با روش زیل نلسون در زیر میکروسکوپ نوری سنتی، آزمون تشـخیصی بیماری سل با دسترسی بسیار وسیع در مراکز با منابع محدود است. بررسی میکروسکوپی زیل نلسون بسیار اختصاصی است اما حساسیت آن متغیر بوده و بین ۲۰٪ تا ۸۰٪ است. بررسی میکروسکوپی فلورسانس مرسوم بسیار حسـاس تر (۱۰٪) نسبت به زیل 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 نشـان داده که صحت بررسی میکروسکوپی LED برابـر با اسـتانداردهای مرجع بین المللی اسـت و بسیار حساس تر از بررسی میکروسکوپی زیل نلسون سنتی اسـت و مزیت‌های کیفی، عملی و هزینه ای آن از بررسی میکروسـکوپی سنتی و بررسـی میکروسکوپی زیل نلسون بیشتر است. بر اساس این یافته‌ها LED به مرور جایگزین بررسی میکروسکوپی زیل نلسون مرسوم خواهد شد.

تشخیص آزمایشگاهی بیماری سل متکی بر بررسی میکروسکوپی مسـتقیم نمونه‌های خلط اسـت. اگر چه این تکنیک اختصاصی اسـت، ولی حساسـیت کم و متغیری دارد و قادر به شناسـایی سـویه‌های 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) فراهـم می‌کنـد. کشـت مایکوباکتریال بسیار حساس اسـت اما رشد باسیل‌های بیماری سـل بر روی محیط‌های جامد سـنتی به ۸-۴ هفته نیاز دارد که درمان مناسـب را در نبود تشـخیص تاییـدی به تأخیر می‌اندازد. کشـت مایکوباکتریوم ها اساسـاً بر روی محیط جامد و شیب‌دار لون اشتاین جانسون یا در محیط براث انجام می‌شود. این روش‌ها کند هسـتند، به طوری‌که کشت موارد مثبت از نظر بررسـی میکروسـکوپی، ۲ تا ٤ هفته و کشت موارد منفی از نظر بررسی میکروسکوپی ۸-٤ هفته زمان می‌برد؛ بنابراین محیط مایع، روش استاندارد طلایی مایکوباکترویولوژی برای جداسازی اولیه باقی مانده اسـت، زیرا برای جداسازی در مقایسه با محیط جامد به طور قابل توجهی سـریع تر عمل کـرده و در مدت ۱۰ تا ١٤ روز نتیجه می‌دهد. برای DST این زمان ممکن اسـت به مقدار ۱۰ روز کاهـش یابد که در محیط‌های سـنتی ٤ تا ٦ هفته وقت لازم بود. سیستم‌های مایع برای شناسایی مایکوباکتریوم ها بسیار حساس هسـتند و ممکن است بازده تشـخیصی ۱۰٪ بیشتر از محیط جامد داشـته باشـند 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 آزمایشـگاه‌های مجهز، تقریبـاً ۱۰-۵ درصد نمونه‌ها به علت آلودگی نتایجی به بار نمی‌آورند. روش‌های کنترل آلودگی متقاطع (به علت انتقال باسـیل‌ها از نمونه‌های مثبت به منفی) نیز باید به دقت پیگیری شـوند، به ویژه زمانی که تعداد زیادی از نمونه‌های مثبت در کشورهای با شیوع بالا پردازش می‌شوند. محیط جامد از آگار، تخم مرغ و مالاشیت‌گرین ساخته می‌شود. مالاشیت‌گرین جهت محدود کردن آلودگی‌ها در محیط استفاده می‌شود. کشت مایع و سیسـتم‌های DST بسیار پیچیده و حساس تر از کشت جامد و محیط DST هستند. افزایش آلودگی باکتریایی و افزایش فراوانـی ایزولاسـیون مایکوباکتری های غیر از بیماری سـل (non mycobacterium tuberclusis=NMT) بایـد گـزارش شـوند. روش سـریع جهت تمایـز کمپلکـس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس از دیگر گونه‌های مایکوباکتریال ضروری اسـت. اخیـراً تعدادی از تولید کنندگان ابزارهایی عرضه کرده‌اند که به طور خودکار در آزمایشگاه رشـد مایکوباکتریوم توبرکلوزیس را شناسـایی می‌کننـد: مثـل Bactec «تیوپ نشـانگر رشـد 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 آتیپیک 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 قابل‌دسترس 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 تصمیم گیری 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 آتیپیک) 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 پروب خطی (LPA=Line probe assay)

روش‌های سنتی کشت مایکوباکتریولوژیک برای شناسایی کمپلکس مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و DST کند و طاقت فرسا هستند؛ بنابراین DST سریع ایزونیازید و ریفامپیسین یا ریفامپیسین به تنهایی با استفاده از تکنیک‌های مولکولی بر آزمون سنتی خلط اسمیر مثبت یا کشت تاییدی بیماران در معرض خطر بیماری سل مقاوم به چند دارو (multi drug resistat=MDR) مانند بیماران درمان شده قبلی ترجیح داده می‌شود. سنجش پروب 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 ایزونیازید فراهم می‌کند. مقاومت به ایزونیازید 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

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:55 +0330 on Sunday February 25th 2018

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 پلیمراز (PCR)
- هیبریداسیون فرآورده‌های PCR نشان دار شده با پروپ های اولیگونوکلئوتیدی 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 97≤٪ و ویژگی 99≤٪) یا در ترکیب با ایزونیازید (حساسیت 90≤٪ و ویژگی 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 (Cepheid، Sunnyvale، CA، USA) آزمون NAA جدید، سریع، خودکار و بر پایه کارتریج است که می‌تواند بیماری سل را همراه با مقاومت ریفامپیسین به طور مستقیم از خلط جمع آوری شده در ۲ ساعت، شناسایی کند. کارتریج 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 Xpert MTB/RIF ابزار جدید ارزشمند، با حساسیت و ویژگی بالا جهت شناسایی زود هنگام بیماری سل و تعیین مقاومت به ریفامپیسین است. باید توجه داشت که مقاومت انفرادی به ریفامپیسین در حدود ۵٪ سویه‌های مقاوم به ریفامپیسین یافت شده است در حالی‌که نسبت بالایی از مقاومت به ریفامپیسین با مقاومت همزمان به ایزونیازید (~۹۵٪) همراه است. بنابراین شناسایی مقاومت به ریفامپیسین را می‌توان به عنوان نشانگر MDR-TB با صحت بالا استفاده کرد.

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 پیشگویی‌کننده 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.

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:55 +0330 on Sunday February 25th 2018

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:55 +0330 on Sunday February 25th 2018

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 رایولوژیکی، 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 هنگامی‌که 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 ارگانیسم‌های 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.

نتیجه گیری

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

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 بیوتیک های 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 فلوئوروکینولون و آمینوگلیکوزیدها 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.

References

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

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:55 +0330 on Sunday February 25th 2018