زهرا رخشیدن، کارشناس علوم آزمایشگاهی و کارشناس ارشد ژنتیک، شبکه بهداشت و درمان مشگین شهر، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
مهناز نوبخت مللو، کارشناس علوم آزمایشگاهی، شبکه بهداشت و درمان مشگین شهر، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
عباس حسین زاده ایواتلو، کارشناس علوم آزمایشگاهی، شبکه بهداشت و درمان مشگین شهر، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
یگانه نعمتی خیاوی، کاردان علوم آزمایشگاهی، شبکه بهداشت و درمان مشگین شهر، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

روش های استاندارد تشخیص بیماری سل ریوی

باوجود دستاوردهای تازه‌ی تشخیص و درمانی و در دسترس بودن درمان کوتاه مدت، ارزان و مؤثر، سل هنوز علت عمده مرگ‌ومیر در بیماران بسیاری از کشورها است. کنترل بالینی بیماران در کشورهای در روند پیشرفت، به علت فقدان آزمون تشخیصی ساده و مؤثر کارایی ندارد. سل فعال با دیدن باسیل مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در نمونه‌های دستگاه تنفسی(سل ریوی) یا در نمونه‌های دیگر بدن (سل خارج ریوی) تشخیص داده می‌شود. اگرچه روش‌های تشخیصی مولکولی تازه ی زیادی گسترش یافته‌است، بررسی میکروسکوپی اسمیر باسیل‌های اسید فاست (AFB) و کشت بر روی محیط Lowenstein–Jensen همچنان استاندارد طلایی برای تشخیص سل فعال به‌ویژه در کشورهای با منابع کم هست و تنها روش در دسترس برای تأیید سل در بیمارانی است که از نظر بالینی بیماری آن‌ها سل فعال پنداشته می‌شود.

بررسی میکروسکوپی اسمیرAFB سریع و ارزان است، بنابراین در شناسایی بیماران دارای بیماری مسری، روش بسیار سودمندی است. کشت برای شناسایی نمونه های که دارای بار کم مایکوباکتریال استفاده می‌شود. در موارد دارای خطر سل مقاوم به دارو یا در مواردی که شک به ایجاد بیماری در اثر اعضای دیگر مایکوباکتریوم وجود دارد، آزمون کشت درخواست می‌شود. از بررسی میکروسکوپی اسمیر AFB و کشت نیز می‌توان برای پایش کارایی درمان استفاده کرد و می‌توانند در زمانی که احتمال عفونی بودن بیماری کم است، کمک‌کننده باشند.

مراحل بررسی کامل پزشکی افراد مشکوک به بیماری سل

- سابقه پزشکی شامل نشانه ها، تیمار درمانی قبلی برای سل و فاکتورهای خطر
- غربالگری ویروس نقص ایمنی انسان (HIV)
- معاینه جسمانی
- آزمون توبرکولین پوست (TST) یا آزمایش رهاسازی اینترفرون گاما (IGRA)
- رادیوگرافی قفسه سینه
- بررسی باکتریولوژیکی

پیشینه ی پزشکی

پزشک باید درباره سابقه ی قرار گرفتن در معرض باکتری سل، عفونت و یا بیماری سل پرسش کند. همچنین در نظر گرفتن فاکتورهای دموگرافیک مثل کشور اصلی، سن، گروه قومی یا نژادی، شغل مهم است، زیرا ممکن است خطر قرارگیری در معرض سل یا سل مقاوم به دارو را در بیمار افزایش دهند. پزشک باید بیماری های زمینه ساز این بیماری به ویژه عفونت HIV را در نظر آورد، که سبب افزایش خطر پیشرفت عفونت سل نهفته به بیماری سل می‌شود؟

غربالگری ویروس نقص ایمنی انسان

مشاوره و آزمون اختیاری برای HIV به تمام بیماران دارای سل توصیه می‌شود. مشاوره و آزمون HIV برای افراد تماس یافته با سل سفارش می‌شود. مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری (CDC) اعمال زیرین را توصیه می‌کند:

- غربالگری روتین HIV برای تمام بیماران ۱۳-٦٤ ساله جستجو کننده خدمات بهداشتی به هر دلیلی و بدون توجه به هر فرد بیماری که خطر شناخته‌شده برای عفونت HIV دارد.
- غربالگری سالانه HIV بیمارانی که در معرض خطر شناخته شده‌اند.

معاینه جسمانی

معاینه جسمانی می‌تواند اطلاعات ارزشمندی درباره شرایط کلی بیمار و دیگر فاکتورهایی که می توانند شیوه ی تیمار سل را تحت تأثیر قرار می‌دهند، مثل عفونت HIV یا دیگر بیماری‌ها، فراهم کند.

آزمون های پوستی برای عفونت سل

آزمون توبرکولین پوست، مانتو یا آزمون خون اختصاصی سل می‌توانند برای آزمون عفونت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس استفاده شوند. دیگرآزمون‌ها نیز برای تأیید بیماری سل مورد نیاز هستند.

آزمون توبرکولین پوست مانتو با تزریق مقدار کمی از مایعی بنام توبرکولین به داخل پوست بخش پایینی بازو انجام می‌شود.

آزمون ظرف ۴۸-۷۲ ساعت توسط کارمند آموزش‌دیده خدمات بهداشتی که واکنش سفت شدگی را بر روی بازو بررسی می‌کند، خوانده می‌شود. آزمون خون اختصاصی سل، واکنش سیستم ایمنی بیمار به مایکوباکتریوم توبرکلوزیس را اندازه‌گیری می‌کند.

➢رادیوگرافی قفسه سینه

رادیوگرافی سینه برای شناسایی ناهنجاری قفسه سینه استفاده می‌شود. ناهنجاری ها می تواند در هر جای ریه دیده شوند و بیشتر در اندازه، شکل، تراکم و کاویتاسیون متفاوت هستند. این ناهنجاری ها شاید همراه بیماری سل دیده شوند، اما نمی‌توان آن‌ها را به‌طور قطعی برای تشخیص سل استفاده کرد. رادیوگرافی قفسه سینه می تواند برای رد احتمال سل ریوی در فردی که نتیجه مثبت واکنش بهTSTتست پوستی یا آزمون خون اختصاصی سل دارد، و علائم بیماری را ندارد، کمک کننده باشد.

➢میکروبیولوژی تشخیصی

وجود باسیل‌های اسید فاست(AFB) در اسمیر خلط یا دیگر نمونه‌ها در بیشتر نمونه های بیماری سل را نشان می‌دهد. بررسی میکروسکوپی اسید فاست آسان و سریع است، اما تشخیص سل را تأیید نمی‌کند زیرا برخی باسیل‌های اسید فاست مایکوباکتریوم توبرکلوزیس نیستند؛ بنابراین برای تایید تشخیص، کشت برای تمام نمونه‌های نخست انجام می‌شود. (بااین‌وجود، نتیجه مثبت کشت همیشه برای شروع یا ادامه درمان سل ضروری نیست). نتیجه مثبت کشت برای مایکوباکتریوم توبرکلوزیس تشخیص بیماری سل را تأیید می‌کند. بررسی‌های کشت باید به‌طور کامل بر روی تمام نمونه‌ها بدون توجه به نتایج اسمیر AFB انجام شود. آزمایشگاه‌ها باید نتایج مثبت اسمیرها و کشت‌ها را ظرف۲۴ ساعت به‌وسیله تلفن یا فاکس به ارائه‌کننده خدمات بهداشتی اولیه و برنامه کنترل محلی یا ایالتی اگر طبق مقررات نیاز باشد، گزارش دهند.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

جداسازی موفق پاتوژن نیازمند جمع‌آوری صحیح، انتقال فوری و پردازش دقیق بهترین نمونه‌ها است. انواع بسیار زیادی از نمونه‌های بالینی ممکن است برای تشخیص میکروبیولوژیکی تهیه شده باشند. اگر بیمار مشکوک به سل ریوی باشد باید نمونه‌های جداشده از دستگاه تنفسی مثل خلط، خلط تحریک شده، شستشوی برونکوآلوئولار یا بیوپسی ریه، جمع‌آوری شوند. برای تشخیص سل ریوی، بیشترتهیه سه نمونه خلط اول صبح پس از یک سرفه عمیق در روزهای غیر متوالی توصیه می‌شود. بااین‌وجود چندین مطالعه نشان داده که اگر تمام موارد از نمونه اول و یا دوم شناسایی شوند. ارزش خلط سوم برای تشخیص سل قابل‌چشم‌پوشی است.

نمونه‌هایی که برای تشخیص بیمار مبتلا به سل خارج ریوی جمع‌آوری می‌شود، بستگی به محل بیماری دارد. شایع‌ترین نمونه‌هایی که توسط آزمایشگاه دریافت می‌شوند، بیوپسی‌ها، آسپیراسیون، چرک، ادرار و مایعات طبیعی و استریل بدن شامل مایع مغزی نخاعی، سینوویال، جنبی، پریکاردیال و مایع صفاقی هستند. هنگام گمان به سل روده‌ای ونمونه ی مشکوک به عفونت مایکوباکتریوم اویوم در بیماران ایدز می‌توان مدفوع را جمع‌آوری کرد.

اسمیر ABF

بررسی میکروسکوپی اسمیر AFB نقش مهمی در تشخیص زودهنگام عفونت مایکوباکتریال بازی می‌کند، زیرا بیشتر مایکوباکتری ها به‌آرامی رشد می‌کنند و نتایج کشت هفته‌ها پس از انکوباسیون به دست می‌آید. افزون بر این بررسی میکروسکوپی اسمیر AFB شاید تنها روش تشخیصی قابل‌دسترس در کشورهای درروندگسترش است. رنگ‌آمیزی اسمیر بر پایه محتوای لیپیدی زیاد دیواره سلولی مایکوباکتری هاست، که آن‌ها را پس از رنگ‌آمیزی اولیه به رنگ‌زدایی توسط اسید الکل مقاوم می‌کند.

برای تعیین اینکه کدام نمونه دارایAFB است، نمونه بر روی اسلاید میکروسکوپی گسترش داده می‌شود و پس از فیکس کردن به‌وسیله حرارت با رنگ‌آمیزی اولیه رنگ می‌شود. سپس به دنبال رنگ‌زدایی با محلول اسید الکل نمونه به‌منظور حصول تمایز بهتر بین میکروارگانیسم‌ها و زمینه اسلاید با رنگ متضاد رنگ‌آمیزی می‌شود. اکنون اسلاید برای شناسایی ABF زیر میکروسکوپ قابل مشاهده است.چندین روش را می‌توان برای تعیین طبیعت اسید فاست یک ارگانیسم استفاده کرد.

روش‌های تشخیصی در شناسایی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به‌صورت زیر است:

۱) روش‌های برپایه ی کشت

۲) روش‌های مبتنی بر غیر کشت

♦ روش‌های مبتنی بر کشت

کشت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس روش استاندارد طلایی برای هر دو آزمون تشخیص و حساسیت دارویی است. این بخش، آزمون کشت مورد استفاده امروزی و تکنیک‌های جدید ایجادشده را مرور می‌کند. روش‌های کشت مرسوم با استفاده ازLowenstein–Jensen (LJ) یا محیط 7H11 بوده که با وجود اینکه ارزان‌قیمت و ساده است

ولی عیب آن‌ها کند بودن هست. کشت‌های LJ برای تشخیص، ۲۰-۵۶ روز و برای آزمون حساسیت دارویی چهار تا شش هفته پس از شروع کشت زمان می‌برند. محیط 7H11 اندکی فرایند را تسریع می‌کند اما نیاز به انکوباتور CO_2 و آنتی‌بیوتیک برای جلوگیری از آلودگی دارد. تشخیص با محیط 7H11، ۱۷-۲۱ روز زمان می‌برد، اطلاعات زمانی ذخیره روشنایی روز (DST) پس از سه تا شش هفته در دسترس قرار می‌گیرد. برخی روش‌های کشت بسیار سریع توسعه‌یافته و به‌صورت تجاری در دسترس هستند، بسیاری از آن‌ها در زمینه اجرا به علت پیچیدگی تکنیک یا نیاز به تجهیزات، دشوار هستند. برخی تکنیک‌های کشت ساده در حال ظهور نیز وجود دارند، که می‌توانند زمان شناسایی یا DST را کاهش دهند که به نظر می‌رسد در مراکز با منابع محدود، بسیار مناسب باشند.

حساسیت کشت به‌وسیله نیاز به باسیل‌های موجود در نمونه‌ای که باید کشت شود محدود می‌شود، بیماران HIV مثبت و کودکان مشکلی در تولید خلط دارند و کشت خلط شکل‌های خارج ریوی (EP) سل را شناسایی نخواهد کرد. سل خارج ریوی در بیماران HIV مثبت بسیار معمول بوده و کشنده است. حتی در بیماران دارای سل فعال ریوی، باسیل‌ها می توانند در حفرات ریه پنهان شود یا در نمونه خلط خاص وجود نداشته باشد، یا ممکن است در طی ضدعفونی موردنیاز در پردازش خلط برای کشت مایکوباکتریال از بین رفته باشد. تمام این فاکتورها سودمندی تکنیک را محدود می‌کند.

- **روش‌های غیر کشت**

تعدادی راهکار برای شناسایی و گزارش وجود مایکوباکتریوم توبرکلوزیس گسترش یافته است. باوجود چندین دهه کار، روش های سرولوژی هیچ آزمون گویا و قابل‌اعتمادی ایجاد نکرده است. شناسایی آنتی‌ژن‌ها رویکرد بسیار نویدبخشی است چون وجود ارگانیسم را شناسایی می‌کند، درنتیجه به تشخیص عفونت فعال می انجامد. استفاده از آزمون تکثیر اسید نوکلئیک (NAA) نیاز به آزمایشگاه‌های اختصاصی دارد. نشان داده شده است که این تکنیک‌ها ویژگی بالایی دارند، اما شاید آزمون با نمونه‌های بیمار، دارای حساسیت پایین و بسیار متغیر باشد. برای این آزمون‌ها می‌توان از کشت اولیه نیز استفاده کرد. اگرچه این حساسیت را بهبود می‌بخشد، تکنیک پس‌ازآن بسیار کند است. آزمون‌هایی نیز توسعه یافته‌اند که پاسخ‌های ایمنی (سنجش اینترفرون گاما) را شناسایی می‌کنند. این آزمون‌ها نسبتاً گران بوده و از نظر اجرایی پیچیده هستند و هنوز در نواحی اندمیک نیاز به معتبرسازی دارند و تفسیر آن‌ها شفاف نیست.

تکثیر اسید نوکلئیک (NAA)

آزمون NAA مثبت سند خوبی برای عفونت در نظر گرفته می‌شود. اما نتیجه منفی توانایی تفسیر کافی را ندارند. استفاده از آزمون‌های NAA برای بیماران اسمیر منفی خلط توصیه نمی‌شود. به خاطر این‌که این آزمون‌ها باکتری‌های زنده را از مرده تشخیص نمی‌دهند آن‌ها را نمی‌توان برای بیماران تحت درمان استفاده کرد. با اینکه برخی آزمایشات NAA کارایی خوبی دارند، نمی‌توانند جایگزین بررسی میکروسکوپی یا کشت شوند و فقط باید همراه با این آزمون‌ها استفاده شوند.

مقاومت دارویی

برای همه بیماران، باکتری ایزوله نخست مایکوباکتریوم توبرکلوزیس باید برای وجود مقاومت دارویی آزمایش شود. شناسایی مقاومت به دارو بسیار مهم و حیاتی است و امکان درمان مؤثر را نوید می‌دهد. الگوی حساسیت دارویی باید برای بیمارانی که به مقدار کافی به درمان پاسخ نمی‌دهند، یا کسانی که باوجود درمان سه‌ماهه، نتایج کشت مثبت دارند، تکرار شود. نتایج حساسیت باید بی درنگ از آزمایشگاه به ارائه‌کنندگان خدمات بهداشتی اولیه و برنامه کنترل محلی یا ایالتی سل گزارش شود.

منابع:

1. Suresh Jaiswal, Jay Prakash Sah, Bhoopendra Sharma: Standard Diagnostic Procedure for Tuberculosis: A Review. RRJoLS(2013) :1-10 : STM Journals :2013.

2. American Thoracic Society (ATS) and CDC. Diagnostic standards .and class ification of tuberculosis in adults and children. Am. J. Respir Crit. Care. Med. 2000; 161: ttp://ajrccm.atsjournals.org/cgi/content/fu ll/161/4/1376 :

3. ATS, CDC, IDSA. Controlling Tuberculosis in the United States Recommendations from the American Thoracic Society, CDC, and the :(Infectious Diseases Society of America. MMWR 2005; 54(No. RR-12 ,51p. 7. CDC. Revised Recommendations for HIV Testing of Adults Adolescents, and Pregnant Women in Health-Care Settings. MMWR .2006; 55(No. RR-14): 1–17p

4. CDC. Medical Evaluation. In: Chapter 5: diagnosis of TB. Core Curriculum on Tuberculosis (2000) [Division of Tuberculosis //:Elimination Web site]. Updated November 2001. Available at: http ,www.cdc.gov/tb/education/corecurr/ index.htm. Accessed March 11 .2011

5. J.Cunningham, Presented at 36th Union World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung .Disease, Paris 2005

6. CDC. Guidelines for using the QuantiFERON®-TB Gold test for .Detecting Mycobacterium Tuberculosis Infection, United States .MMWR 2005; 54(No. RR-15): 52p