مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۷، شماره ۱۲، اسفند ۱۳۹۹ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله مروری

تشخیص بیماری سل: روش‌های نوین آزمایشگاهی

رضا قوطاسلو: گروه باکتری شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، و مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

حامد ابراهیم زاده لیل آبادلو: کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، و مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران (* نویسنده مسئول) hamedebr7@gmail.com

چکیده

بیماری سل (توبرکلوزیس) علی‌رغم پیشرفت در علم پزشکی در سال‌های اخیر، همچنان یک معضل بهداشتی مهم در سراسر جهان است. در حال حاضر، نرخ سالانه کاهش میزان سل در حدود ۱-۲ درصد می‌باشد، درحالی‌که به‌منظور دستیابی به هدف پایان دادن به همه گیری تا سال ۲۰۳۰ باید تا سال ۲۰۲۰ از ۵ تا ۵ درصد می رسید و تا سال ۲۰۲۵ بیش از ۱۰ درصد باشد. اگرچه روش‌های آزمایشگاهی متعددی برای تشخیص بیماری سل وجود دارد، اما تاخیر در تشخیص نهایی سل همچنان یک مشکل اساسی در بحث درمان است. به دلیل آهسته رشد بودن عامل ایجاد کننده بیماری سل یعنی *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* (*Mycobacterium Tuberculosiss*)، جداسازی، شناسایی و آزمایش حساسیت و مقاومت به دارو چندین هفته یا بیشتر طول می‌کشد. در طی چند سال گذشته، روش‌های زیادی برای تشخیص مستقیم، شناسایی گونه‌ها و آزمایش حساسیت به آنتی‌بیوتیک فراهم شده است. برای بهبود تشخیص، درک مناسب اثربخشی و محدودیت‌های عملی این روش‌ها اهمیت دارد. این مقاله مروری پیشرفت‌های اخیر مورد استفاده در تشخیص بیماری سل را براساس روش‌های مولکولی و غیرمولکولی را بررسی کرده است.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

کلیدواژه‌ها

بیماری سل،

تشخیص،

مقاومت در برابر چند دارو

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۸/۱۱

تاریخ چاپ: ۹۹/۱۲/۰۳

شیوه استناد به این مقاله:

Ghotaslou R, Ebrahimzadeh Leylabadlo H. Diagnosis of Tuberculosis: Novel laboratory methods. Razi J Med Sci. 2021;27(12):10-22.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-16]

Razi Journal of Medical Sciences. 2021;27(12):10-22. http://rjms.iums.ac.ir

Review Article

Diagnosis of Tuberculosis: Novel laboratory methods

Reza Ghotaslou: Department of Bacteriology and Virology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran, & Infectious and Tropical Diseases Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Hamed Ebrahimzadeh Leylabadlo: Student Research Committee, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran, & Infectious and Tropical Diseases Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran (* Corresponding author) hamedebr7@gmail.com

Abstract

Despite advances in medical sciences in recent years, tuberculosis remains a worldwide health problem. The World Health Organization (WHO) global tuberculosis report 2016 states that tuberculosis killed 1.4 million individuals (1.2 to 1.6 million) HIV-negative and 0.39 million (0.32 million to 0.46 million) HIV-positive people in 2015. The 30 high-tuberculosis burden countries represented 87% of all assessed incident cases around the world. Of these, China, India and Indonesia alone represented 45% of worldwide cases in 2015. Currently, the annual rate of decline in tuberculosis incidence is around 1–2% while the rate would need to be 4–5% by 2020 and over 10% by 2025 to achieve the goal of ending the epidemic by 2030. Although there are many laboratory methods to accelerate the diagnosis, a delay in the definitive diagnosis of the disease is still a major clinical problem. Due to the slow growth of the causative agent, (*Mycobacterium tuberculosis*), isolation, identification, and other clinically important mycobacteria can take several weeks or longer. During the past few years, many methods have been provided for direct detection, species identification, and susceptibility testing of tuberculosis agents. Understanding the effectiveness and practical limitations of these methods is important to improve diagnosis. This article describes recent advances in the diagnosis of tuberculosis based on molecular and non-molecular methods. In the current review, we aim to perform a literature review in different library databases and electronic searches (Science Direct, PubMed, and Google Scholar) which were randomly obtained. For each stage of diagnosis, there are new methodologies. New tests are accessible by level of laboratory and period of application. Overall, the innovation for the diagnosis of tuberculosis and antibiotic resistance in pulmonary specimens is all well advanced, with high particularity and progressively high sensitivity. Ongoing advances in molecular science and molecular epidemiology, and a superior comprehension of the molecular basis of drug resistance in tuberculosis, have given new devices to fast diagnosis; however, the high cost of most of these strategies, and their prerequisite for the high cost of most and skilled personnel have blocked their execution on a routine basis, particularly in low-income countries. Improving the process of identifying the spectrum of tuberculosis, including active, drug-resistant strains as well as latent tuberculosis, can have a profound impact on global health. For example, an experiment with and 85% sensitivity and a 97% specificity in identifying people with tuberculosis could

Keywords

Tuberculosis,

Diagnosis,

Multidrug-Resistant

Received: 01/11/2020

Published: 21/02/2021

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-16]

prevent 392,000 deaths per year. New methods allow rapid detection of active tuberculosis in patients with negative sputum smear for fast acid bacilli and enable rapid and accurate identification of tuberculosis-resistant strains in respiratory samples. Rapid isolation and diagnosis of *M. tuberculosis* have improved the early detection of tuberculosis. Molecular methods play an important role in the diagnosis of *M. tuberculosis* and have many advantages such as reducing the detection time, rapid detection of mutations related to drug resistance and clinical use. Despite the obvious advantages of molecular detection methods, they have some disadvantages and some molecular methods have not yet been approved by the Food and Drug Administration. Molecular methods are mainly useful in cases of positive smear and are recommended in patients with negative smear when there is a high clinical suspicion of tuberculosis. On the other hand, despite the advantages of molecular methods, the genetic basis of drug resistance of any tuberculosis drug is not fully understood, so the results of molecular tests must always be confirmed by phenotypic methods. Tuberculosis control strategies are personally identified with the availability of powerful tests for the determination of active tuberculosis and the identification of inactive tuberculosis infection. Improved tuberculosis diagnostics, along with different interventions, are vital to arriving at the objective of entering the pre-elimination phase by 2035 in countries with a low incidence of the disease. At present that many of these techniques are only economically viable in the developed nations, it is hoped that recent advances will lead to the development of novel diagnostic strategies applicable to use in developing nations, where the burden of tuberculosis is maximum and effective intervention is most urgently required. Thus, more consideration and examination are needed to create effective and cheap methods in various settings to overcome this overall issue and more evidence is needed to survey the operational effect of noncommercial, low-cost, rapid diagnostic techniques in field conditions.

Conflicts of interest: None
Funding: Student Research Committee, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Cite this article as:
Ghotaslou R, Ebrahimzadeh Leylabadlo H. Diagnosis of Tuberculosis: Novel laboratory methods. Razi J Med Sci. 2021;27(12):10-22.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-16]

مقدمه

بیماری سل (توبرکلوزیس)، یک بیماری مهم و یکی از مهم‌ترین دلایل عفونی منجر به فوت است و علی‌رغم تلاش‌های زیاد برای ریشه‌کن کردن آن، متأسفانه همچنان یک مشکل عمده بهداشت جهانی است (۱). به‌منظور بهبود سریع و کاهش انتقال بیماری سل، تشخیص دقیق و سریع اهمیت زیادی داشته و مسائلی مانند اسمیر منفی از نظر *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* و مقاومت در برابر دارو نقش اساسی در پیش‌آگهی بیماری دارد. از آنجا که تشخیص موارد مرتبط با بیماری سل هنوز وابسته به آزمایش اسمیر میکروسکوپی نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با زیل نلسون یا اورامین است، تشخیص بیماری با کشت نمونه‌های ارسالی و آزمون حساسیت و مقاومت برای کنترل بهینه حداقل ۲-۳ هفته طول می‌کشد (۲، ۳).

در طی دهه‌های گذشته شاهد پیشرفت‌های اساسی در روش‌های تشخیصی *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* بوده‌ایم مانند روش تقویت اسید نوکلئیک (Nucleic acid amplification test) و روش‌های دیگر که تشخیص سریع‌تر و با حساسیت بالاتر در سطح بالینی را ممکن می‌سازد (۴، ۵).

تشخیص هرچه سریع‌تر منجر به کاهش عوارض ناشی از بیماری سل، کاهش میزان مرگ‌ومیر و همچنین کاهش خطر انتقال فرد به فرد را فراهم می‌کند. با توجه به اینکه کشت زمان‌بر و طولانی است، روش‌های مولکولی مبتنی برای تشخیص بیماری سل، باعث کاهش زمان لازم برای تشخیص هرچه بهتر بیماری شده است (۶). در سال‌های اخیر برای تشخیص بیماری سل روش‌های زیادی برای رفع چنین معضلاتی معرفی شده و هم اکنون چندین روش دیگر تحت بررسی می‌باشد. در این مقاله مروری، پیشرفت‌های اخیر در تکنیک‌های پیشرفته تشخیص بیماری سل و تعیین حساسیت و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها را بررسی خواهیم کرد.

روش‌های مبتنی بر میکروسکوپ و رنگ‌آمیزی

روش اصلی تشخیص بیماری سل در کشورهای جهان سوم و کم‌درآمد، با استفاده از تهیه اسمیر میکروسکوپی و روش رنگ‌آمیزی زیل نلسون می‌باشد؛ زیرا این روش ساده، ارزان و سریع است و فقط در طی چند ساعت نتیجه آماده می‌شود (۷). از طرفی حساسیت این آزمایش ۲۰٪ تا ۶۰٪ متغیر می‌باشد (۸). استفاده از میکروسکوپ فلورسانس (رنگ‌آمیزی فلوروکروم و فن‌آوری دیودی ساطع کننده نور)، در مقایسه با رنگ‌آمیزی معمولی حساسیت تشخیص سل را تقریباً ۱۰٪ افزایش می‌دهد.

روش‌های مبتنی بر کشت

هنوز هم روش مرجع تشخیص *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*، روش کشت مبتنی بر رشد در محیط کشت جامد یا مایع می‌باشد. به طور سنتی، از محیط‌های کشت جامد مانند محیط Lowenstein-Jensen استفاده می‌شود و در عرض ۴ تا ۸ هفته نتیجه آماده می‌شود. توجه داشته باشید که کشت نیاز به آزمایشگاه مجهز و تخصصی و افراد ماهر دارد. سیستم‌های کشت مایع با استفاده از سیستم‌های خودکار مانند روش رادیومتری BACTEC (BACTEC-460)، سیستم MB/BacT و لوله نشانگر رشد مایکوباکتریایی Mycobacterial growth (MGIT) indicator tube دارای حساسیت بیشتری بوده و رشد را در طی ۱ تا ۳ هفته در ۹۶۰ نمونه به طور هم‌زمان تشخیص می‌دهند (۹).

سیستم MB / BacT bioMerieux, Durham, NC, USA)، اساس سیستم کشت مایع غیر رادیومتری، نظارت به طور مداوم بر سیستم کشت مایع، با استفاده از روش تشخیص پیشرفته رنگ سنجی و کاهش دی اکسید کربن و الگوریتم پیچیده رایانه‌ای می‌باشد (۱۰). روش MGIT، بر پایه تشخیص فلورسانس رشد مایکوباکتریوم در لوله حاوی محیط اصلاح شده Middle-brook 7H9 است و با کمک یک سنسور اکسیژن بر پایه فلورسانس که در انتهای لوله تعبیه شده است کار می‌کند. با افزایش رشد *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*، اکسیژن آزاد مورد استفاده قرار گرفته و با دی اکسید کربن جایگزین می‌شود. نتایج فناوری MGIT در طی ۴ تا ۱۳ روز آماده می‌شود (۱۱).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-16]

روش‌های مولکولی در تشخیص بیماری سل

روش‌های مبتنی بر تقویت تکثیر اسید نوکلئیک Nucleic acid amplification (NAAT)در سال‌های اخیر یکی از مهم‌ترین تحولات در تشخیص *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* می‌باشد و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز Polymerase chain reaction (PCR) برای تشخیص هرچه بهتر مایکوباکتریوم ارایه شده است (12). در طی چند سال گذشته، روش‌های جدید مولکولی معرفی شده‌اند، من جمله RFLP PCR–، PCR Real time، تعیین توالی DNA و نوار DNA به عنوان ابزارهای تشخیصی مایکوباکتریومی هستند و منجر به بهبود قابل توجه سرعت و دقت در شناسایی مایکوباکتریوم شده است. در سال ۲۰۰۹، مراکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها (CDC) استفاده از حداقل یک تکنیک مولکولی را در هر بیمار برای تشخیص *M. tuberculosis* را توصیه کرده‌اند (۱۳).

تکثیر اسید نوکلئیک (Nucleic acid amplification)

تست Cobas Amplicor MTB: تکنیک Cobas Amplicor MTB از دهه ۱۹۹۰ در دسترس بوده و یکی از پرکاربردترین آزمایشات مولکولی در شناسایی *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* است. این تکنیک برای تشخیص مستقیم *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* در نمونه‌های ریوی در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته مورد استفاده قرار می‌گیرد. به عنوان یک روش مبتنی بر تکثیر اسید نوکلئیک که سریع و دارای حساسیت است شناخته می‌شود (۱۴). گزارش شده است که حساسیت کلی تست Amplicor در مقایسه با روش‌های کشت برای نمونه‌های تنفسی ۷۹/۴٪ - ۹۱/۹٪، ویژگی ۹۹/۶٪ -۹۹/۸٪، ارزش پیش‌بینی کننده مثبت ۹۲/۶٪ -۹۶/۶٪ و حساسیت آن برای نمونه‌های اسمیر منفی تا حدودی پایین و ۴۰٪-۷۳/۱٪ می‌باشد (۱۵).

کمپانی Roche Diagnostics (Taipei, Taiwan)، یک سیستم جدید آزمایشی Cobas TaqMan MTB، مبتنی بر فن‌آوری Real time PCR، برای جایگزینی روش Cobas Amplicor MTB ارائه کرده است. آزمایش Cobas TaqMan MTB اخیراً جایگزین روش Cobas Amplicor MTB شده که بسیار اختصاصی عمل می‌کند (۱۶). این روش بر اساس Real time PCR و مبتنی بر کیت تجاری است که از پروب‌های هیدرولیز TaqMan و آغازگرها استفاده می‌شود و به یک منطقه خاص و بسیار محافظت شده از ژنوم مایکوباکتریوم حاوی ژن 16 S rRNA متصل می‌شود (۱۷). روش Cobas TaqMan MTB که شامل دو مرحله اصلی استخراج DNA و تکثیر با استفاده از PCR است، طبق دستورالعمل‌های شرکت سازنده انجام می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که سنجش Cobas TaqMan MTB حداقل به همان اندازه سیستم نسل قبلی خود Cobas Amplicor MTB حساسیت دارد (۱۸). روش‌های تجاری مانند آزمایش Cobas Amplicor MTB یا روش Cobas TaqMan MTB در ۲۰ سال گذشته در آزمایشگاه‌های مایکوباکتریوم شناسایی بالینی برای تشخیص مستقیم نمونه DNA در کمپلکس *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* (MTBC) مورد استفاده قرار گرفته است (۱۲). این سیستم‌ها می‌توانند به‌طور قابل‌توجهی زمان تشخیص را از هفته‌ها به ساعت کاهش دهد که این امر مراقبت‌های بیمار و کنترل عفونت را تا حد زیادی بهبود می‌بخشد.

سنجش خودکار Abbott RealTime MTB

اخیراً، کمپانی Abbott Molecular (Des Plaines, IL, USA) یک سیستم خودکار مبتنی بر Abbott RealTime MTB assay را برای تشخیص آزمایشگاهی سل معرفی کرده است. این روش تشخیصی آزمایشگاهی (CE-IVD) شامل یک مرحله استخراج خودکار بوده و توانائی انجام حداکثر ۹۶ نمونه را دارد و مبتنی بر real-time MTB PCR است. این روش خودکار دو ژن MTBC را (توالی الحاقی ۶۱۱۰ IS6110 و آنتی‌ژن پروتئین B) را در یک واکنش واحد انجام می‌دهد. مطمئناً وجود چندین نسخه از ژن IS6110 در برخی از MTBC ها می‌تواند حساسیت تشخیصی آزمایش را افزایش دهد (۱۹). سنجش خودکار Abbott به زمان بسیار کوتاه حدود نیم ساعت نیاز دارد و این امر می‌تواند به بهبود مدیریت آزمایشگاهی تشخیص سل کمک شایان توجهی کند. در یک مطالعه، حساسیت و ویژگی آزمایش Abbott RealTime MTB در نمونه‌های اسمیر مثبت ۱۰۰٪ گزارش شده است، درحالی‌که در نمونه‌های اسمیر منفی

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-16]

به ترتیب ۹۶/۷ و ۹۶/۱ درصد بود. این میزان حساسیت و ویژگی در این مطالعه در مقایسه با تست Amplicor برای نمونه‌های اسمیر منفی زیاد بود (۲۰). روش جدید MTB Abbott RealTime به نظر می‌رسد در آزمایشگاه‌های بالینی یک ابزار تشخیصی مفید برای تشخیص سریع MTBC باشد.

آزمایش تقویت مستقیم مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (AMTD) Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct test

آزمایش تقویت مستقیم *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* (AMTD; Gen-Probe, San Diego, CA, USA) اولین آزمایش مولکولی بود که توسط سازمان غذا و دارو (FDA) صرف‌نظر از اینکه اسمیر آن‌ها مثبت یا منفی باشد برای آزمایش نمونه‌های تنفسی مورد تأیید قرار گرفت (۲۱). روش AMTD یک روش تقویت ایزوترمال (۴۲ سانتی گراد) با واسطه رونویسی است که در آن هدف (16S rRNA) توسط واسطه‌های DNA تقویت می‌شود. حساسیت این روش در نمونه‌های تنفسی ۹۰/۹٪ تا ۹۵/۲٪ و ویژگی آن ۹۷/۶٪ تا ۱۰۰٪ گزارش شده است (۲۲). برگمان و همکاران، گزارش کرده‌اند که حساسیت کلی در نمونه‌های تنفسی (در مقایسه با کشت و تشخیص بالینی) از ۸۵/۷٪ تا ۹۷/۸٪ است و برای نمونه‌های اسمیر مثبت شده بالاتر (۹۱/۷٪ تا ۱۰۰٪) بود، درحالی‌که در نمونه‌های اسمیر منفی کاهش یافته و به ۶۵/۵ تا ۹۲/۹ درصد می‌رسد (۲۳).

سیستم BD ProbeTec ET TB

سیستم BD ProbeTec ET (DTB) یک سیستم نیمه‌خودکار مبتنی بر real-time PCR است که امکان تقویت هم‌زمان یک توالی ژنی و شناسایی *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* را فراهم می‌کند. هدف اصلی آن، تقویت توالی *IS6110* مایکوباکتریوم است (۲۴). مطالعات مختلف نشان داده است که روش DTB یک تکنیک بسیار حساس و اختصاصی است. نتایج بیماران در طی ۳ تا ۴ ساعت آماده می‌شود. میزان حساسیت آن در نمونه‌های خلط مثبت ۹۸/۵٪ تا ۱۰۰٪ متغیر است، اما برای موارد اسمیر منفی بسیار متغیر گزارش شده است (۰/۳۳٪-۱۰۰٪)، اما شایان ذکر است که این سیستم هنوز توسط FDA تأیید نشده است (۲۵).

آزمایش‌های مولکولی با تعیین حساسیت دارویی

روش Xpert MTB / RIF

در اوایل سال ۲۰۱۱، سازمان بهداشت جهانی (WHO) دستگاه جدید، سریع و خودکاری را معرفی کرد که با استفاده از فن‌آوری مولکولی برای تشخیص توالی DNA تقویت شده در hemi-nested real-time PCR انجام می‌گیرد. این روش می‌تواند به طور هم‌زمان *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* را شناسایی و مقاومت به ریفامپین (Rifampicin (RIF را تشخیص دهد. سازمان بهداشت جهانی استفاده از روش Xpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA) به‌منظور تشخیص بیماری سل را توصیه کرده است. در واکنش چندگانه، پنج پروب هیبریداسیون مختلف استفاده می‌شود، هر پروب اسید نوکلئیک مکمل یک توالی هدف متفاوت در ژن *rpoB* از *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* حساس به RIF استفاده شده است و با یک فلوروفور رنگی متفاوت نشانه‌گذاری می‌شود (۲۶). تست‌های Xpert MTB / RIF (Cepheid) گران قیمت هستند، اما به عنوان تست‌های در بالین (Point-of-care testing) هستند و تقریباً نیازی به آموزش عالی و زیرساخت آزمایشگاهی نداشته و در منزل و مطب قابل انجام است. روش مذکور همچنین برای شناسایی سریع و هم‌زمان *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* طراحی شده‌اند و جهش‌های مرتبط با مقاومت RIF را طی ۲ ساعت مشخص می‌کند (۲۷). سازمان بهداشت جهانی توصیه‌های اولیه‌ای را در مورد Xpert MTB / RIF ارایه کرده است، به‌خصوص برای افرادی که مظنون به مقاومت در برابر چند دارو Multi-drug-(MDR-TB) resistant tuberculosis باشند (۲۸). این روش از حساسیت بالاتری برای تشخیص سل در بیماران دارای اسمیر مثبت نسبت به بیماران دارای اسمیر منفی برخوردار است. با این وجود، این آزمایش ممکن است به عنوان یک آزمایش الحاقی پس از تهیه اسمیر میکروسکوپی خصوصاً در بیمارانی که قبلاً به نظر می‌رسند اسمیر منفی باشند، ارزش بیشتری دارد (۲۹). استانداردهای بین‌المللی مرتبط با مراقبت از سل توصیه کرده‌اند که Xpert MTB / RIF و یا کشت خلط باید در بیمارانی که اسمیر خلط منفی و مشکوک به بیماری

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-16]

سل ریوی هستند انجام شود (۳۰). همچنین در سیاست‌های اخیر WHO آزمایش مکرر Xpert MTB / RIF در یک نمونه تازه توصیه شده است که می‌تواند در شناسایی سل مفید بوده و هم‌زمان مقاومت به RIF را تشخیص می‌دهد خصوصاً در بیمارانی که در معرض خطر کم MDR-TB قرار دارند (۳۰). در یک بررسی مروری بررسی حساسیت با استفاده از روش Xpert MTB/RIF صورت گرفت که ۲۷ مطالعه مجزا و شامل ۹،۵۵۷ شرکت‌کننده را گزارش کرده است. در میکروسکوپ اسمیر منفی حساسیت به ترتیب ۶۷٪ و ویژگی ۹۹٪ ارایه شده است. همچنین، برای تشخیص مقاومت در برابر RIF، حساسیت تلفیق ۹۵٪ (95% CrI, 90% to 97%) یافت شده است و ویژگی تلفیقی ۹۸٪ (95% CrI, 97% to 99%) است، همچنین گفته شده است که احتمال تشخیص سل با روش Xpert MTB/RIF در موارد تایید شده با کشت را ۲۳٪ افزایش می‌دهد (95% CrI, 15% to 32%) (۳۱).

روش پروب خطی (LiPA) Line probe assay

سنجش پروب خطی (LiPA) یک روش مبتنی بر NAAT است که به طور هم‌زمان عفونت با *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* را تشخیص و نواحی مرتبط با مقاومت دارویی را تقویت می‌کند. LiPA می‌تواند MTBC را هم‌زمان با جهش‌های ژنتیکی در منطقه ژن *rpoB* مربوط به مقاومت RIF را شناسایی کند، طول زمان انجام آن در حدود ۱۲ ساعت است (۳۲). مقاومت به RIF در سویه‌های *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* توسط گروه متنوعی از جهش‌ها در ناحیه‌ای بسیار متغیر از ژن *rpoB* ایجاد می‌شود که برای زیر واحد بتا RNA پلیمراز کد شده و بیش از ۹۵٪ از ایزوله‌های مقاوم در برابر RIF دارای جهش‌هایی در این منطقه تغییرپذیر هستند (۳۳). نتایج متاآنالیز به دست آمده برای تست LiPA RIF، نشان داده است که LiPA از حساسیت و ویژگی بالایی در مواقعی که در ایزوله‌های *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* جدا شده از کشت مورد استفاده قرار می‌گیرد به دست می‌آید. ۱۲ مطالعه از ۱۴ مطالعه که در آن LiPA مورد استفاده قرار گرفته‌اند، حساسیت شناسایی این روش در ایزوله‌ها بیشتر از ۹۵٪ بود و در ۱۲ مطالعه از ۱۴ مطالعه ویژگی ۱۰۰٪ داشتند. در چهار مطالعه که LiPA را به طور مستقیم در نمونه‌های بالینی مورد استفاده قرار داده بودند، ویژگی ۱۰۰٪ و حساسیت بین ۸۰ تا ۱۰۰ درصد گزارش شده است (۳۲). با وجود ارزش این روش به عنوان ابزار تشخیصی سریع و دقیق، آزمایش‌های مبتنی بر فناوری LiPA هنوز به دلیل هزینه بالا و در حال حاضر عدم تأیید FDA در کشورهای در حال توسعه رایج نیست.

روش GenoType MTBDRplus

تکنیک GenoType MTBDRplus (Hain Lifescience, Nehren, Germany) یک تکنیک تجاری در دسترس است که ترکیبی از تشخیص MTBC با پیش‌بینی مقاومت در برابر RIF و ایزونیازید (INH) است. با این روش به راحتی قادر به تشخیص MDR-TB است. در این روش، یک PCR Multiplex توسط هیبریداسیون آمپلیکون‌های DNA به پروب‌های متصل به غشاء انجام می‌گردد. در نسخه جدید سنجش GenoType MTBDR شناسایی مقاومت در برابر INH حذف شده است. در روش MTBC متداول‌ترین جهش‌های مقاومت در ژن *rpoB* (مقاومت RIF)، *katG* و *inhA* (مقاومت در برابر INH) مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۴).GenoType MTBDRplus نسل جدید نسبت به نسل قبلی حساسیت بهتری را به‌منظور شناسایی مقاومت در برابر INH ایفا می‌کند (۹۲٪ در مقابل ۸۸٪ از نسخه قبلی). این روش برای استفاده در نمونه‌های در حال رشد محیط کشت و همچنین برای نمونه‌های خلط اسمیر مثبت مورد تأیید قرار گرفته است. نسخه‌های قبلی و جدید این تکنیک زمانی که با آزمایش سنجش حساسیت معمولی مقایسه می‌شوند می‌توانند در ۹۸/۷٪ به طور صحیح مقاومت به RIF را تشخیص دهند. با توجه به طول انجام آزمایش MTBDRplus (کمتر از ۴۸ ساعت) دارای حساسیت و ویژگی خوبی برخوردار است و ممکن است ابزاری مفیدی برای تشخیص سریع سل مقاوم به چند دارو در مراکز درمانی باشد (۳۵). در مطالعه انجام شده در هند، تکنیک GenoType MTBDRplus با تست حساسیت به روش فنوتیپی (DST) مقایسه شده است و نشان می‌دهد که حساسیت و ویژگی تشخیص مقاومت در برابر RIF به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۷/۳٪ و به ایزونیازید به ترتیب ۹۱/۹٪ و ۹۸/۴٪ می‌باشد (۳۶).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-16]

سایر روش‌های تشخیص مقاومت

تست حساسیت به آنتی‌بیوتیک در محیط کشت مایع

از چند سال پیش تاکنون سیستم BACTEC 460TB (Becton Dickinson Biosciences, Sparks, MD, USA) به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته است و مطابق با توصیه‌های مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها (CDC) در آزمایشگاه‌های بالینی قابل‌اعتماد بوده و آزمایش سریع سنجش حساسیت دارویی *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* به داروهای خط اول مانند استرپتومایسین، INH، RIF، اتامبوتول و پیرازینامید محسوب می‌شود. پس از آن، سیستم BACTEC MGIT960، یک محصول توسعه یافته غیر رادیومتر، کاملاً خودکار، با سیستم نظارت مداوم (Becton Dickinson Biosciences)، به عنوان گزینه ای برای سیستم رادیومتری BACTEC 460TB معرفی شده است (۳۷). اکنون مطالعات بسیاری در مورد کاربرد سیستم‌های MGIT960 و BACTEC 460TB برای تشخیص سریع مقاومت در برابر داروهای خط اول و دوم ضد *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* منتشر شده است، به عنوان مثال، نتایج چندین مطالعه نشان داده است که سیستم‌های BACTEC 460 و BACTEC MGIT 960 روش‌های دقیقی به عنوان آزمایش سریع حساسیت *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* به داروهای خط اول و دوم هستند (۳۸).

مشاهده ماکروسکوپی کشت های حساس به دارو (MODS) Microscopic observation drug susceptibility

در سال ۲۰۱۰، گروه مشاوره استراتژیک و فنی WHO یک سیاست جدید را در مورد استفاده از محیط‌های کشت غیر تجاری و روش‌های DST ارایه کرده است (۳۹). بر طبق این اصول، روش مشاهده ماکروسکوپی حساسیت به داروها (MODS) برای غربالگری بیماران مشکوک به MDR-TB توصیه شده است. بر اساس حضور فاکتور طنابی (cord) *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* با استفاده از میکروسکوپ معکوس در محیط مایع بصورت میکروسکوپی، روش MODS برای تشخیص *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* و MDR-TB، به طور مستقیم از خلط، به سه اصل متکی است: اول، *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* در محیط کشت مایع سریع‌تر از محیط کشت جامد رشد می‌کند، دوم، شکل گیری فاکتور طنابی می‌تواند در مرحله اولیه از نظر میکروسکوپی در محیط مایع مشاهده شود و سوم، ترکیب داروها آزمایش سریع و مستقیم حساسیت به دارو را همزمان با تشخیص رشد باکتری ها انجام می‌دهد (۴۰). توجه داشته باشید که روش MODS نسبت به روش معمولی که در محیط کشت جامد انجام می‌شود سریع‌تر می‌باشد. روش MODS نسبت به روش‌های کشت مایع تجاری و روش‌های مولکولی سنجش خطی پروب ارزانتر است. این تکنیک برای به دست آوردن نتایج DST به بیش از هفت روز زمان نیاز ندارد. در اتیوپی مطالعه ای صورت گرفته است، در این تحقیق عملکرد تشخیصی MODS برای MDR-TB عالی بود و حساسیت و ویژگی ۹۵٪ و ۱۰۰٪ را به ترتیب در مقایسه با سیستم MGIT/۹۶۰ داشت. چندین آزمایش مختلف مطابقت بالایی را برای INH (۹۷٪)، RIF (۱۰۰٪) و فلوروکینولون (۱۰۰٪) در مقایسه با تکنیک‌های استاندارد مرجع که مورد استفاده قرار می‌گیرد نشان داده است (۴۱).

روش طیف سنجی جرمی

واجذب-یونش لیزری به کمک ماتریس زمان پرواز- طیف‌سنجی جرمی (MALDI-TOF MS) Matrix-assisted laser desorption/ionization (time-of-flight mass spectrometry

شناسایی باکتری ها توسط طیف سنجی جرمی به دهه ۱۹۷۰ بر می‌گردد و محققان ابتدا استفاده از طیف سنجی جرمی را برای شناسایی باکتری ها توصیف کردند (۴۲). جذب لیزر به کمک ماتریس/ زمان پرواز (طیف سنجی جرمی) (MALDI-TOF MS) یک فناوری جدید برای شناسایی باکتری ها در آزمایشگاه‌های میکروب شناسی بالینی است و استفاده از MALDI-TOF MS روند تشخیص را تقریباً ۲۴ ساعت کاهش می‌دهد (۴۳). این روش یک ابزار جدید برای شناسایی سریع و قابل‌اعتماد میکروارگانیسم ها با تجزیه و تحلیل پروفایل پروتئینی سلول های تخریب شده یا سلول های باکتریایی است. همچنین، از MALDI-TOF MS برای تشخیص پروتئین های

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-16]

احتمالی یا الیگونوکلئوتیدهای مرتبط با مقاومت بر اساس اثر انگشت مخصوص توالی پپتید در بانک اطلاعات پروتئین‌ها استفاده می‌شود و همچنین حساسیت به دارو *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* را هم معین می‌کند. برخی از نویسندگان از MALDI-TOF MS را برای شناسایی مایکوباکتریوم ها استفاده کرده‌اند. نشان داده شده است که این روش پتانسیل تشخیص را داشته و بستر مناسبی برای شناسایی و تایپینگ گونه های مایکوباکتریوم و تشخیص مقاومت آنتی‌بیوتیکی را دارا می باشند، اما داده های مربوط به انجام آزمایش‌هایی که در کل دنیا انجام گرفته کاملاً محدود هستند. با این حال، تشخیص مقاومت دارویی توسط طیف سنجی جرمی هنوز در مراحل اولیه است. با این وجود، MALDI-TOF MS یک روش قدرتمند، سریع، دقیق و مقرون به صرفه برای شناسایی باکتری های دست نخورده در مقایسه با تکنیک‌های فنوتیپی معمولی یا زیست شناسی مولکولی است (۴۴، ۴۵). در برخی مطالعات، MALDI-TOF MS همراه با دانه های مغناطیسی تبادل کاتیونی ضعیف (WCX) Weak cationic exchange استفاده شده است، به عنوان مثال، چنین روشی در تحقیقات بر روی بیماران مبتلا به سل فعال و افراد فاقد بیماری سل انجام شد. این مدل می‌تواند بیماران مبتلا به سل فعال را از افراد فاقد بیماری سل با حساسیت ۹۸/۳٪ و ویژگی ۸۴/۴٪ تفکیک کند. مجموعه آزمایش‌های مختلف به‌منظور تأیید عملکرد استفاده می‌شود و حساسیت و ویژگی خوبی ۸۵/۷٪ و ۸۳/۳٪ دارد (۴۶)؛ بنابراین، MALDI-TOF MS همراه با دانه های مغناطیسی WCX می‌تواند به عنوان یک ابزار تشخیصی مناسب برای بیماری سل فعال محسوب شود.

سنجش انتشار اینترفرون-گاما (Interferon-gamma release assays) (IGRAs)

سنجش انتشار اینترفرون-گاما (IGRA) یک تست ایمنی آزمایشگاهی (in vitro) است که در سال‌های اخیر به عنوان جایگزینی برای تست پوستی سل (TST) Tuberculin skin test و به‌منظور تشخیص عفونت سل نهفته (LTBI) معرفی شده است و بر اساس تشخیص پاسخ ایمنی سلول T به آنتی‌ژن های TB (ESAT-6) و (CFP-10) که در اکثر مایکوباکتریوم های محیطی و باسیل های کالمت گرین (BCG) وجود ندارند، مورد توجه خاصی قرار دارد. روش IGRA از ویژگی زیادی برخوردار است زیرا واکسیناسیون BCG بر نتایج آن بی تاثیر است (۴۷، ۴۸). با اینکه IGRA برای تشخیص LTBI در نظر گرفته شده است و نقش مهمی در حمایت از تشخیص سل فعال دارد. با این وجود، IGRA ها به طور موثری نمی‌توانند LTBI را از سل فعال تشخیص دهد. در یک بررسی متاآنالیز، چن و همکاران نشان دادند که IGRA در تشخیص سل فعال در بیماران آلوده به ویروس نقص ایمنی اکتسابی (HIV) دقت محدودی دارند. اگرچه، روش IGRA برای تشخیص LTBI در بسیاری از کشورهای پردرآمد توصیه می‌شود، اما WHO آنرا به عنوان جایگزین TST برای تشخیص LTBI در کشورهای با درآمد کم و متوسط توصیه نمی‌کند. استفاده از IGRA ها برای تشخیص سل فعال ریوی بسیار مشکل ساز است و این نگرانی به همان اندازه در مورد استفاده از TST برای سل فعال نیز صادق است. با این وجود، در بسیاری از کشورهای با بار زیاد بیماری سل، این نگرانی در حال افزایش است که IGRA (و به میزان کمتر TST) خصوصاً در مراکز خصوصی برای تشخیص سل فعال استفاده می‌شود (۴۵، ۴۹).

دو سیستم تجاری در دسترس است که میزان تولید اینترفرون-گاما را به دنبال تحریک آنتی‌ژن (خارج از بدن) ex vivo اندازه گیری می‌کند. دو تکنیک IGRA، QuantiFERON-TB Gold In-Tube test (QFT-G-IT و T-SPOT.TB (Oxford Immunotec Oxford, UK) اکنون به صورت تجاری در دسترس بوده و استفاده از آن‌ها در حال گسترش می‌باشد. در آزمون‌های QFT-G-IT، مقداری از اینترفرون-گاما به داخل ماده رویی آزاد می‌شود و با استفاده از روش الایزا اندازه گیری می‌شود، درحالی‌که در آزمون T-SPOT.TB، تعداد سلول های T تولید کننده اینترفرون-گاما توسط ELISPOT اندازه گیری می‌شود (۵۰). در یک مطالعه متاآنالیز، دیل و همکاران نشان دادند که ویژگی کلی IGRA در عفونت سل نهفته ۹۸٪-۱۰۰٪ است. در مطالعه متاآنالیز دیگری درباره QFT-

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-16]

G و T-SPOT.TB انجام شده است و برای تشخیص سل فعال، از نمونه‌های خون و مایعات خارجی بدن استفاده شده است. در این مطالعه مشخص شد که حساسیت کلی برای تشخیص سل فعال در خون و مایعات خارج از بدن، ۸۰٪، برای QFT-G ۴۸٪، برای T-SPOT.TB حدود ۸۱٪ و ۸۸٪ برآورد شده است (۴۷، ۵۱).

ارزیابی لیپوآرابینومانان ادرار (Lipoarabinomannan)

لیپوآرابینومانان (LAM) یک گلیکولیپید مقاوم در برابر حرارت و ۱۷/۵ کیلو دالتونی است که در دیواره سلولی *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* یافت می‌شود و نشانگر بالقوه سل فعال است (۵۲). تشخیص آنتی‌ژن‌های LAM در ادرار چندین مزیت بالقوه نسبت به تشخیص موجود در حال حاضر دارد. با استفاده از پتانسیل استفاده از آن به عنوان یک تست ساده POCT (قابل انجام در منزل)، عدم نگرانی در مورد ایمنی زیستی، غیر تهاجمی بودن و دسترسی آسان و مناسب به نمونه بیمار، آزمایش LAM برای توسعه تجاری سریع پیشنهاد شده است. جمع آوری و ذخیره سازی نمونه‌های ادرار ساده است. در مقایسه با خلط نگرانی های مربوط به کنترل عفونت به مراتب کمتر است. ادرار نمونه ای منحصر به فرد در کودکان خردسال است که اغلب قادر به ارایه خلط نمی باشند. بر اساس داده‌های اولیه، یک آزمایش تشخیصی LAM در نمونه ادرار توسط شرکت Chemogen Inc. (Portland, ME, USA) تولید شده و هم اکنون به عنوان TMTB ELISA (Alere Inc. [formerly, Inverness Medical Innovations Inc.], Waltham, MA, USA) در بازار موجود است (۵۳، ۵۴). لازم به ذکر است که برای اولین بار یک نمونه اولیه قبل از تجاری سازی (MTB LAM ELISA Test؛ Chemogen Inc) در سال ۲۰۰۵ در تانزانیا مورد آزمایش قرار گرفت (۵۵). کودکان آلوده به HIV/TB ممکن است از آزمایش‌های مبتنی بر LAM برای کمک به تشخیص زودرس سل بهره مند شوند و تأثیر مثبت آن بر عوارض و مرگ‌ومیر گزارش شده است. یک بررسی متا آنالیز که در پنج مطالعه جداگانه انجام شده است، صحت آن را در موارد بالینی و سل تأیید کرده، حساسیت آن از ۸٪ تا ۸۰٪ و ویژگی از ۸۸٪ تا ۹۹٪ گزارش شده بود (۵۶). در یک مطالعه دیگر، حساسیت آزمایش در کودکان با HIV مثبت در مقابل HIV منفی به ترتیب: ۷۰٪ (۹۳٪-۳۵٪ CI ۹۵٪) در مقابل ۱۳٪ (۵۳٪-۰٪) برای MTB-LAM-ELISA، ۵۰٪ و ۰٪ با استفاده از TB-LAM بود. در ۳۵ کودک (۲۷٪) مبتلا به سل فعال، هر دو روش ویژگی ۹۷/۱٪ (۸۵٪ -۱۰۰٪) را نشان دادند (۵۷). اگرچه در گروه های بالینی مختلف دقت تشخیصی بسیار متغیری مشاهده شده است، اکنون مشخص شده است که این روش از حساسیت مناسبی برای تشخیص سل ناشی از HIV در بیماران مبتلا به نقص ایمنی پیشرفته و تعداد سلولهای CD4 کم برخوردار است (۵۸٪ ۵۹).

نتیجه‌گیری

بهبود روند شناسایی طیف بیماری سل، از جمله سویه های فعال، مقاوم به دارو و همچنین سل نهفته، می تواند تأثیر عمیقی بر سلامت جهانی داشته باشد. به عنوان مثال، آزمایشی با حساسیت ۸۵٪ و ویژگی ۹۷٪ در شناسایی افراد مبتلا به سل می‌تواند از مرگ ۳۹۲۰۰۰ نفر در سال (۲۲٪ از مرگ‌ومیر جهانی بیماری سل) جلوگیری کند. روش های نوین امکان تشخیص سریع سل فعال در بیماران مبتلا با اسمیر خلط منفی را برای باسیل اسید فست فراهم کرده و به سرعت قادر به شناسایی دقیق و مستقیم گونه های مقاوم به داروی سل را در نمونه‌های تنفسی فراهم می‌کند. اخیراً، جداسازی سریع و تشخیص *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس*، تشخیص زودرس بیماری سل را بهبود بخشیده است. روش‌های مولکولی نقش مهمی در تشخیص *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* داشته و مزیت های زیادی از جمله کاهش زمان تشخیص، شناسایی سریع جهش‌های مرتبط با مقاومت به دارو و قابلیت استفاده در بالین را دارد. با وجود مزایای بارز روش‌های مولکولی برای تشخیص، آن‌ها دارای برخی معایب بوده و برخی از روش‌های مولکولی هنوز مورد تایید FDA قرار نگرفته است. روش‌های مولکولی عمدتاً در موارد اسمیر مثبت مفید بوده و در بیماران با اسمیر منفی، هنگامی توصیه می‌شود که شک بالینی به بیماری سل زیاد باشد. از طرفی با وجود مزایای روش‌های مولکولی،

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-16]

اساس ژنتیکی مقاومت دارویی هیچکدام از داروهای سل به طور کامل و جامع درک نشده است، بنابراین نتایج آزمایش‌های مولکولی همیشه باید با روش‌های فنوتیپی مورد تأیید قرار گیرد.

نقطه ضعف دیگر آزمایش های مولکولی هزینه بالای آنها است. روش‌های مولکولی برای استفاده در آزمایشگاه‌ها و کلینیک‌های کشورهای توسعه یافته ارایه شده است، اما هنوز کمک کمی برای یافتن موارد اولیه در جوامع فقیر ایفا می کند. اگرچه روش‌های مولکولی در تشخیص سریع بیماری سل مفید هستند، روش‌هایی مانند MALDI-TOF MS می‌تواند یک انقلابی در شناسایی روتین *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* ایجاد نماید، زیرا این روش تشخیص آسانتر و سریع تر بوده و در شناسایی گونه های جدا شده از نمونه‌های بالینی سریع‌تر از تکنیک‌های توالی یابی و مبتنی بر هیبریداسیون نقش دارد. علاوه بر این، روش های دیگر مانند روش MODS یک روش ساده، سریع، اقتصادی، روش عملی برای تشخیص مقاومت سل در برابر داروهای خط اول و دوم فراهم می نماید. از طرف دیگر، پزشکانی که مدیریت بیماران مشکوک به سل را انجام و می دهند باید این امر را تضمین نمایند که روش های تشخیصی آنها مطابق با دستورالعمل های سل کشوری و برای بررسی بیماران بزرگسال مبتلا به سل فعال از میکروسکوپ و کشت اسمیر خلط استفاده می نمایند.

در حال حاضر بسیاری از این تکنیک های نوین فقط در کشورهای توسعه یافته قابل استفاده هستند، امید است که در آینده این روش ها و استراتژی های جدید در کشورهای در حال توسعه مورد استفاده قرار گیرند، مناطقی که میزان بیماری سل بالا و مداخله مؤثر فوری مورد نیاز می‌باشد؛ بنابراین، برای ایجاد روش‌های موثر و ارزان توجه و همت ویژه به تحقیقات برای رفع این مشکل در سراسر جهان لازم است.

References

1. Dye C. After 2015: infectious diseases in a new era of health and development. Royal Society. 2014;369(1645):20130426.
2. Lin HH, Dowdy D, Dye C, Murray M, Cohen T. The impact of new tuberculosis diagnostics on transmission: why context matters. Bullete World Health Organiz. 2012;90:739-47.
3. Ghotaslou R, Leylabadlo HE, Akhi MT, Sadeghi J, Yousefi L, Somi MH. The importance of Helicobacter pylori tnpA, tnpB, and cagA genes in various gastrointestinal diseases. Mol Gen Microbiol Virol. 2017;32(1):62-5.
4. Lange C, Mori T. Advances in the diagnosis of tuberculosis. Respirology. 2010;15(2):220-40.
5. Leylabadlo HE, Zeinalzadeh E, Akbari NAR, Kafil HS. Malassezia species infection of the synovium after total knee arthroplasty surgery. GMS Hyg Infect Control. 2016;11.
6. Brodie D, Schluger NW. The diagnosis of tuberculosis. Clin Chest Med. 2005;26(2):247-71.
7. Slesak G, Inthalad S, Basy P, Keomanivong D, Phoutsavath O, Khampoui S, et al. Ziehl-Neelsen staining technique can diagnose paragonimiasis. PLoS neglected tropical diseases. 2011;5(5):e1048.
8. Desikan P. Sputum smear microscopy in tuberculosis: is it still relevant? IJMR. 2013;137(3):442.
9. Bemer P, Palicova F, Rüsch-Gerdes S, Drugeon HB, Pfyffer GE. Multicenter evaluation of fully automated BACTEC Mycobacteria Growth Indicator Tube 960 system for susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis. J Clin Microbiol. 2002;40(1):150-4.
10. Ängeby K, Werngren J, Toro J, Hedström G, Petrini B, Hoffner S. Evaluation of the BacT/ALERT 3D system for recovery and drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis. Clin Microbiol Infect. 2003;9(11):1148-52.
11. Bergmann JS, Fish G, Woods GL. Evaluation of the BBL MGIT (Mycobacterial growth indicator tube) AST SIRE system for antimycobacterial susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis to 4 primary antituberculous drugs. Arch Pathol Lab Med. 2000;124(1):82-6.
12. Palomino JC. Molecular detection, identification and drug resistance detection in Mycobacterium tuberculosis. FEMS Microbiol Immunol. 2009;56(2):103-11.
13. Peto HM, Pratt RH, Harrington TA, LoBue PA, Armstrong LR. Epidemiology of extrapulmonary tuberculosis in the United States, 1993–2006. Clin Infect Dis. 2009;49(9):1350-7.
14. D'Amato RF, Wallman AA, Hochstein LH, Colaninno PM, Scardamaglia M, Ardila E, et al. Rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis by using Roche AMPLICOR Mycobacterium tuberculosis PCR test. J Clin Microbiol. 1995;33(7):1832-4.
15. Hazbón MH. Recent advances in molecular methods for early diagnosis of tuberculosis and drug-resistant tuberculosis. Biomedica. 2004;24:149-62.
16. Hsu M-C, Chen K-W, Lo H-J, Chen Y-C, Liao M-H, Lin Y-H, et al. Species identification of medically important fungi by use of real-time LightCycler PCR. J Med Microbiol.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-16]

2003;52(12):1071-6.
17. Pai M, Ling DI. Rapid diagnosis of extrapulmonary tuberculosis using nucleic acid amplification tests: what is the evidence? Future Medicine. 2008.
18. Kibiki GS, Mulder B, Van Der Ven AJ, Sam N, Boeree MJ, Van Der Zanden A, et al. Laboratory diagnosis of pulmonary tuberculosis in TB and HIV endemic settings and the contribution of real time PCR for M. tuberculosis in bronchoalveolar lavage fluid. Trop Med Int Health. 2007;12(10):1210-7.
19. Ciotti M, Marcuccilli F, Guenci T, Prignano MG, Perno CF. Evaluation of the Abbott RealTime HBV DNA assay and comparison to the Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan 48 assay in monitoring patients with chronic cases of hepatitis B. J Clin Microbiol. 2008;46(4):1517-9.
20. Chen JH, She KK, Kwong TC, Wong OY, Siu GK, Leung CC, et al. Performance of the new automated Abbott RealTime MTB assay for rapid detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory specimens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2015;34(9):1827-32.
21. Visca P, De Mori P, Festa A, Montrone M, Amicosante M, Pucillo L. Evaluation of the BDProbeTec strand displacement amplification assay in comparison with the AMTD II direct test for rapid diagnosis of tuberculosis. Clin Microbiol Infect. 2004;10(4):332-4.
22. Pfyffer GE, Kissling P, Wirth R, Weber R. Direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory specimens by a target-amplified test system. J Clin Microbiol. 1994;32(4):918-23.
23. Bergmann JS, Yuoh G, Fish G, Woods GL. Clinical evaluation of the enhanced Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test for rapid diagnosis of tuberculosis in prison inmates. J Clin Microbiol. 1999;37(5):1419-25.
24. Wang JY, Lee LN, Chou CS, Huang CY, Wang SK, Lai HC, et al. Performance assessment of a nested-PCR assay (the RAPID BAP-MTB) and the BD ProbeTec ET system for detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical specimens. J Clin Microbiol. 2004;42(10):4599-603.
25. Piersimoni C, Scarparo C, Piccoli P, Rigon A, Ruggiero G, Nista D, et al. Performance assessment of two commercial amplification assays for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex from respiratory and extrapulmonary specimens. J Clin Microbiol. 2002;40(11):4138-42.
26. Chakravorty S, Kothari H, Aladegbami B, Cho EJ, Lee JS, Roh SS, et al. Rapid, high-throughput detection of rifampin resistance and heteroresistance in Mycobacterium tuberculosis by use of sloppy molecular beacon melting temperature coding. J Clin Microbiol. 2012;50(7):2194-202.
27. Theron G, Pooran A, Peter J, van Zyl-Smit R, Mishra HK, Meldau R, et al. Do adjunct tuberculosis tests, when combined with Xpert MTB/RIF, improve accuracy and the cost of diagnosis in a resource-poor setting? Eur Respir J. 2012;40(1):161-8.
28. Organization WH. Xpert MTB/RIF implementation manual: technical and operational 'how-to'; practical considerations. World Health Organization, 2014 9241506709.
29. Ryu YJ. Diagnosis of pulmonary tuberculosis: recent advances and diagnostic algorithms. Tuberc Respir Dis. 2015;78(2):64-71.
30. Lawn SD, Mwaba P, Bates M, Piatek A, Alexander H, Marais BJ, et al. Advances in tuberculosis diagnostics: the Xpert MTB/RIF assay and future prospects for a point-of-care test. Lancet Infect Dis. 2013;13(4):349-61.
31. Steingart KR, Sohn H, Schiller I, Kloda LA, Boehme CC, Pai M, et al. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. Cochrane Database Syst Rev. 2013(1).
32. Juréen P, Werngren J, Hoffner SE. Evaluation of the line probe assay (LiPA) for rapid detection of rifampicin resistance in Mycobacterium tuberculosis. Tuberculosis. 2004;84(5):311-6.
33. Muthaiah M, Shivekar SS, Kapalamurthy VRC, Alagappan C, Sakkaravarthy A, Brammachary U. Prevalence of mutations in genes associated with rifampicin and isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis clinical isolates. J Clin Tuberc Other Mycobact Dis. 2017;8:19-25.
34. Lacoma A, Garcia-Sierra N, Prat C, Ruiz-Manzano J, Haba L, Roses S, et al. GenoType MTBDRplus assay for molecular detection of rifampin and isoniazid resistance in Mycobacterium tuberculosis strains and clinical samples. J Clin Microbiol. 2008;46(11):3660-7.
35. Somoskovi A, Dormandy J, Mitsani D, Rivenburg J, Salfinger M. Use of smear-positive samples to assess the PCR-based genotype MTBDR assay for rapid, direct detection of the Mycobacterium tuberculosis complex as well as its resistance to isoniazid and rifampin. J Clin Microbiol. 2006;44(12):4459-63.
36. Raveendran R, Wattal C, Oberoi J, Goel N, Datta S, Prasad K. Utility of GenoType MTBDRplus assay in rapid diagnosis of multidrug resistant tuberculosis at a tertiary care centre in India. Indian J Med Microbiol. 2012;30(1):58.
37. Udgirkar S, Jain S, Pawar S, Chandnani S, Contractor Q, Rathi P. Clinical profile, drug resistance pattern and treatment outcomes of abdominal tuberculosis patients in western india. Arq Gastroenterol. 2019;56(2):178-83.
38. Chen Y, Wu P, Fu L, Liu Y-h, Zhang Y, Zhao Y. Multicentre evaluation of Xpert MTB/RIF assay in detecting urinary tract tuberculosis with urine samples. Sci. Rep. 2019;9(1):1-6.
39. Organization WH. Multidrug-resistant

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-16]

tuberculosis in children and adolescents in the WHO European Region: expert opinion. 2019.

40. Alcántara R, Fuentes P, Antiparra R, Santos M, Gilman RH, Kirwan DE, et al. MODS-Wayne, a colorimetric adaptation of the microscopic-observation drug susceptibility (MODS) assay for detection of Mycobacterium tuberculosis pyrazinamide resistance from sputum samples. J Clin Microbiol. 2019;57(2):e01162-18.

41. Ejigu GS, Woldeamanuel Y, Shah NS, Gebyehu M, Selassie A, Lemma E. Microscopic-observation drug susceptibility assay provides rapid and reliable identification of MDR-TB. Int J Tuberc Lung Dis. 2008;12(3):332-7.

42. Mann M, Hendrickson RC, Pandey A. Analysis of proteins and proteomes by mass spectrometry. Annu Rev Biochem. 2001;70(1):437-73.

43. Croxatto A, Prod'hom G, Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. FEMS Microbiol Rev. 2012;36(2):380-407.

44. Zhang R, Long Y, He W, Hao X, Liu J. Application status of MALDI-TOF mass spectrometry in the identification and drug resistance of Mycobacterium tuberculosis. J Thorac Dis. 2014;6(5):512.

45. Shahsavari S, Baghi HB, Kafil HSA, Leylabadlo HE. Re-emerging tularemia in some Middle East countries: what are the reasons? Iran J Public Health. 2018;47(2):305-6.

46. Deng C, Lin M, Hu C, Li Y, Gao Y, Cheng X, et al. Exploring Serological Classification Tree Model of Active Pulmonary Tuberculosis by Magnetic Beads Pretreatment and MALDI-TOF MS Analysis. Scand J Immunol. 2011;74(4):397-405.

47. Sester M, Sotgiu G, Lange C, Giehl C, Girardi E, Migliori GB, et al. Interferon-γ release assays for the diagnosis of active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. Eur Respir J. 2011;37(1):100-11.

48. Keeler E, Perkins MD, Small P, Hanson C, Reed S, Cunningham J, et al. Reducing the global burden of tuberculosis: the contribution of improved diagnostics. Nature. 2006;444(1s):49.

49. Chen J, Zhang R, Wang J, Liu L, Zheng Y, Shen Y, et al. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of active tuberculosis in HIV-infected patients: a systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2011;6(11):e26827.

50. Moon H-W, Hur M. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of latent tuberculosis infection: an updated review. Ann Clin Lab Sci. 2013;43(2):221-9.

51. Faezi NA, Bialvaei AZ, Leylabadlo HE, Soleimani H, Yousefi M, Kafil HS. Viral infections in patients with acute respiratory infection in Northwest of Iran. Mol Gen Microbiol Virol. 2016;31(3):163-7.

52. Swaminathan S, Rekha VB. Antigen detection as a point-of-care test for TB: the case of lipoarabinomannan. Future Microbiol. 2012;7(5):559-64.

53. Hamasur B, Bruchfeld J, Van Helden P, Källenius G, Svenson S. A sensitive urinary lipoarabinomannan test for tuberculosis. PLoS One. 2015;10(4):e0123457.

54. Leylabadlo HE, Kafil HS, Aghazadeh M, Hazratian T. Nosocomial oral myiasis in ICU patients: occurrence of three sequential cases. GMS Hyg Infect Control. 2015;10.

55. Boehme C, Molokova E, Minja F, Geis S, Loscher T, Maboko L, et al. Detection of mycobacterial lipoarabinomannan with an antigen-capture ELISA in unprocessed urine of Tanzanian patients with suspected tuberculosis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2005;99(12):893-900.

56. Minion J, Leung E, Talbot E, Dheda K, Pai M, Menzies D. Diagnosing tuberculosis with urine lipoarabinomannan: systematic review and meta-analysis. Eur Respir J. 2011;38(6):1398-405.

57. Kroidl I, Clowes P, Reither K, Mtafya B, Rojas-Ponce G, Ntinginya EN, et al. Performance of urine lipoarabinomannan assays for paediatric tuberculosis in Tanzania. Eur Respir J. 2015;46(3):761-70.

58. Lawn SD. Point-of-care detection of lipoarabinomannan (LAM) in urine for diagnosis of HIV-associated tuberculosis: a state of the art review. BMC Infect Dis. 2012;12(1):103.

59. Leylabadlo HE, Baghi HB, Fallahi L, Kafil HS. From sharing needles to unprotected sex: a new wave of HIV infections in Iran? Lancet HIV. 2016;3(10):e461-e2.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-08-16]