

مقایسه ارزش تشخیصی اسمیر و PCR شستشوی برونش ها در تشخیص سل ریوی

دکتر سید علی جواد موسوی: دانشیار و فوق تخصص ریه، کلینیک چاقی، بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. dr_moosavi_pul@yahoo.com

*دکتر میترا براتی: دانشیار و متخصص عفونی، مرکز تحقیقات عفونی اطفال دانشگاه علوم پزشکی تهران، بیمارستان حضرت رسول اکرم، تهران، ایران. (مؤلف مسئول). m-barati@sina.tums.ac.ir

دکتر محمد رضا کوچری: متخصص داخلی، تهران، ایران. mkouchari@gmail.com

دکتر شیمای جوادنی: پزشک عمومی، تهران، ایران. shima_javadinia@yahoo.com

دکتر مهشید طالبی طاهر: دانشیار و متخصص عفونی، مرکز تحقیقات مقاومت میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. m-talebitaher@sina.tums.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۱/۶/۱۸

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: سل یکی از قدیمی ترین بیماری های شناخته شده در انسان است. با توجه به شیوع بالای آن در ایران، استفاده از روش تشخیصی که سرعتی بیش از کشت و دارای حساسیت و ویژگی بیش از اسمیر و در حد کشت داشته باشد (PCR)، می تواند موجب تشخیص سریع و صحیح بیماری و درمان آن ها شده و بدین ترتیب کنترل بیماری در جامعه شود. لذا تصمیم گرفته شد تا در این مطالعه به بررسی PCR در تشخیص سل در مایع شستشوی برونش ها (Bronchoalveolar Lavage-BAL) و مقایسه آن با اسمیر پرداخته شود.

روش کار: بیماران مراجعه کننده به بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص) در طی دو سال ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ که با تشخیص احتمالی سل تحت برونکوسکوپی قرار گرفتند، وارد مطالعه شدند. نمونه شستشوی برونش آن ها جهت اسمیر، کشت و PCR جهت تشخیص سل استفاده شد. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف معیار ارائه شد و pvalue کمتر از ۰/۰۵ با ارزش در نظر گرفته شد.

یافته ها: مجموعاً ۴۷ بیمار با تشخیص احتمالی سل ریوی تحت برونکوسکوپی قرار گرفتند که کشت شستشوی برونش در ۶ نفر (۱۲/۸٪) آن ها مثبت بود. در ۵ نفر (۱۰/۶٪) اسمیر مثبت و در ۳ نفر (۶/۴٪) PCR مثبت دیده شد. بر اساس این نتایج اسمیر مثبت دارای حساسیت ۸۳٪ و ویژگی ۱۰۰٪ بوده و ارزش اخباری مثبت ۱۰۰٪ و منفی ۹۸٪ داشت. حال آنکه PCR مثبت دارای حساسیت ۵۰٪ و ویژگی ۱۰۰٪ بوده و ارزش اخباری مثبت ۱۰۰٪ و منفی ۹۳٪ داشت.

نتیجه گیری: اگرچه PCR روش سریع و جدیدی برای تشخیص سل محسوب می شود ولی استفاده از روش قدیمی تر اسمیر کم هزینه تر و ساده تر بوده و امکان انجام آن در همه نقاط ایران مقدور است و کماکان راه مناسب تری برای تشخیص سل است.

کلیدواژه ها: سل ریوی، شستشوی برونش، PCR.

مقدمه

سل که یکی از قدیمی ترین بیماری های شناخته شده در انسان است، کماکان یکی از علل عمده مرگ در سراسر جهان محسوب می شود و در صورت عدم درمان می تواند منجر به مرگ ۵۰ تا ۶۵٪ بیماران در طی ۵ سال شود (۱).

تشخیص احتمالی سل بر اساس یافتن باسیل اسید فاست در امتحان میکروسکوپی خلط و یا بافت انجام می شود. اگرچه این روش سریع و ارزان است اما حساسیت کمی (۴۰-۶۰٪) دارد. تشخیص قطعی با جدا کردن مایکوباکتریوم توپرکلوزیز از نمونه کلینیکی و یا تشخیص

سکانس DNA با روش PCR است. جدا کردن ارگانیزم در محیط کشت لئون اشتاین و میدلبروک ۴-۸ هفته و در محیط کشت باکتک ۲-۳ هفته طول می کشد. تشخیص سکانس DNA با روش های مختلفی امکان پذیر است. این تست ها سریع بوده و حساسیت و ویژگی بالایی نزدیک به کشت دارند (۱).

در سال ۲۰۱۰ مرکز کنترل سل در ایران تعداد موارد گزارش شده سل را ۱۰۴۵۸ اعلام نموده است (۲). با توجه به شیوع بالای سل در ایران، استفاده از روش تشخیصی که سرعتی بیش از کشت و دارای حساسیت و ویژگی بیش از اسمیر

گرفته شد. سپس حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی اسمیر و PCR تعیین گردید.

یافته ها

مجموعاً ۴۷ بیمار با تشخیص احتمالی سل ریوی تحت برونکوسکوپی قرار گرفتند که ۲۶ نفر (۵۵/۳٪) مرد و ۲۱ نفر (۴۴/۷٪) زن بودند. میانگین سنی آن‌ها ۵۳/۸۴ با انحراف معیار ۱۸/۶ سال بود.

کشت شستشوی برونش در ۶ نفر (۱۲/۸٪) مثبت بود که در این مبتلایان به سل، میانگین سنی ۵۴/۱۷ با انحراف معیار ۲۴/۲۴ سال بود که اختلاف معنی‌داری با غیر مبتلایان نداشت. از این افراد ۳ نفر مرد و ۳ نفر زن بودند. در ۵ نفر (۱۰/۶٪) اسمیر مثبت و در ۳ نفر (۶/۴٪) PCR مثبت دیده شد. بر اساس این نتایج اسمیر مثبت دارای حساسیت ۸۳٪ و ویژگی ۱۰۰٪ بوده و ارزش اخباری مثبت ۱۰۰٪ و منفی ۹۸٪ و حدود اطمینان ۹۸٪ داشت. حال آنکه PCR مثبت دارای حساسیت ۵۰٪ و ویژگی ۱۰۰٪ بوده و ارزش اخباری مثبت ۱۰۰٪ و منفی ۹۳٪ و حدود اطمینان ۹۴٪ داشت (جدول ۱).

بحث و نتیجه گیری

تشخیص سل در برخی از موارد بسیار دشوار است و هیچ تست ایده‌آلی که به سرعت بتواند با حساسیت و ویژگی بالا در یک نوبت تشخیص دهنده باشد، شناخته نشده است (۳). این مطالعه ارائه کننده مقایسه مستقیم اسمیر و PCR در تشخیص سل ریوی در مایع شستشوی برونش است. جدا سازی مایکوباکتریوم توبرکولوزیز از اسمیر (۵ نفر از ۶ نفر) بیش از PCR (۳ نفر از ۶ نفر) بود.

تولر و همکاران در طی ۵ سال ۲۳۰ بیمار مبتلا

و در حد کشت داشته باشد (PCR)، می‌تواند موجب تشخیص سریع و صحیح بیماری و درمان آن‌ها شده و بدین ترتیب کنترل بیماری در جامعه شود. استفاده از این روش در نمونه مایع پلور و مغزی نخاعی مرسوم بوده، اما در نمونه خلط و مایع شستشوی برونش (BAL) (Bronchoalveolar lavage) به طور معمول مورد استفاده قرار نمی‌گیرد. با توجه به نتایج کاملاً متفاوت در ارزیابی PCR در مطالعات مختلف تصمیم گرفته شد تا در این مطالعه به بررسی PCR در تشخیص سل در مایع شستشوی برونش‌ها و مقایسه آن با اسمیر پرداخته شود.

روش کار

بیماران مراجعه کننده به درمانگاه ریه و عفونی و یا بستری در بخش‌های بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص) در طی دو سال ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ که مبتلا به بیماری ریوی با تغییرات رادیولوژیک با احتمال به سل بودند، تحت برونکوسکوپی قرار گرفتند. بیماران تحت درمان سل و یا خلط مثبت (اسمیر و کشت) از مطالعه حذف شدند. نمونه شستشوی برونش آن‌ها رقیق و آلودگی زدایی و سپس سانتریفوژ شده و رسوب آن رنگ‌آمیزی اسید فاست شد. همچنین نمونه وارد محیط کشت Loewenstien-Jensen شد که به مدت ۶ هفته نگهداری شد. PCR سل نیز روی نمونه BAL با روش Real-Time انجام شد. چک لیستی شامل مشخصات فردی بیماران پر شده و نتایج آزمایش‌ها به آن اضافه شد.

بیماران با کشت مثبت مبتلا به سل در نظر گرفته شدند (Gold standard test) و نتایج اسمیر و PCR با آن مقایسه شدند.

اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف معیار ارائه شد و p value کمتر از ۰/۰۵ با ارزش در نظر

جدول ۱- حساسیت و ویژگی اسمیر و PCR در مایع شستشوی برونش در بیماران مبتلا به سل ریوی

شستشوی برونش از نظر سل	حساسیت	ویژگی	ارزش اخباری مثبت	ارزش اخباری منفی
اسمیر	83%	100%	100%	98%
PCR	50%	100%	100%	93%

آن در حداقل ۵۰٪ موارد است. در این مطالعه PCR دارای ۲٪ جواب مثبت کاذب بود و حساسیت ۶۲٪ و ویژگی ۸۰٪ با ارزش اخباری مثبت ۳۳٪ و منفی ۹۳٪ داشت (۶). اگرچه پارامترهای به دست آمده در مطالعه آن‌ها با نتایج مطالعه حاضر اختلاف داشت (که می‌تواند ناشی از اختلاف در جمعیت مورد مطالعه حاضر باشد که بزرگسالان بودند)، اما نتیجه ۵۰٪ را برای PCR به دست آوردند.

لیفر و همکاران ۳۱۱۹ پناهنده بالغ جنگ کزوو را مورد بررسی قرار دادند. از آن‌ها در بدو ورود گرافی قفسه سینه گرفته شد. در صورت وجود انفیلتراسیون ریوی آن‌ها را بستری و آزمایش‌های بیشتری انجام شد. ۲۹ نفر مشکوک به سل بودند که از آن‌ها ۱۰۳ نمونه خلط و BAL گرفته شد و نمونه‌ها جهت اسمیر و کشت و PCR فرستاده شد. حساسیت PCR در هر نمونه ۶۴٪ و در هر فرد ۱۰۰٪ بود. حساسیت اسمیر در هر نمونه ۲۰٪ و در هر فرد ۳۷/۵٪ بود. ارزش اخباری منفی در PCR ۱۰۰٪ بود. آن‌ها چنین نتیجه گرفتند که تکرار PCR بسیار بهتر از اسمیر است و ۳ PCR منفی قویاً به ضرر سل بوده و می‌توان فرد را از ایرولاسیون خارج کرد (۷). اگرچه در مطالعه آن‌ها اسمیر مثبت بسیار کمتر از بررسی حاضر دیده شد اما نتیجه PCR مشابه مطالعه حاضر بود. مطالعات دیگری چون مطالعه چن و همکاران (۸)، تن و همکاران (۹) و سالاجاکا و همکاران (۱۰) نیز نتایج مشابه با حساسیت ۳۵-۶۷٪ و ویژگی ۹۹-۱۰۰٪ گزارش کرده‌اند. اما آنچه که در بسیاری از این مطالعات مشترک است ارزش تشخیصی پایین‌تر اسمیر است (۴، ۵ و ۱۰).

اگرچه مطالعه‌ای در ایران در زمینه‌ی PCR سل شستشوی برونش پیدا نشد، اما کالیزاده و همکاران در بررسی ترشحات معده ۱۲۶ کودک مبتلا به سل در ۵۵/۶٪ اسمیر مثبت و در ۵۳/۲٪ PCR مثبت پیدا کردند (۱۱). نکته قابل توجه آن است که آنان نیز مشابه مطالعه حاضر موارد مثبت اسمیر بیش از PCR داشتند.

محمدی و همکاران در بررسی ارزش PCR بر روی نمونه ادرار حساسیت ۳۱٪ و ویژگی ۹۶٪ و

به سل ریوی که با کشت خلط مثبت ثابت شده بودند را مورد بررسی قرار دادند. ۳۹٪ آن‌ها اسمیر خلط مثبت داشتند. ۱۲۰ نفر آن‌ها برونکوسکوپی و BAL شدند که ۵۶ (۴۷٪) نفر آن‌ها اسمیر مثبت و ۹۳ (۷۸٪) نفر آن‌ها PCR مثبت داشتند و ۸۳٪ یا دارای اسمیر و یا PCR مثبت بودند. لذا، چنین نتیجه گرفتند که استفاده از دو روش با هم امکان تشخیص موارد بیشتری را فراهم می‌سازد. در این مطالعه در ۵۶٪ افراد با اسمیر خلط منفی، PCR شستشوی برونش مثبت بود (۴ و ۳). اگرچه نتیجه BAL PCR در مطالعه آن‌ها مشابه مطالعه حاضر بود اما، در بررسی مطالعه حاضر اضافه کردن PCR به اسمیر خلط نتایج مثبت را افزایش نداد.

تامورا و همکاران ۲۰۱ بیمار مبتلا به سل ریوی که کشت مثبت داشته ولی اسمیر و PCR منفی خلط داشتند را مورد برونکوسکوپی قرار دادند. ۴۴٪ آن‌ها اسمیر مثبت BAL، ۶۲٪ PCR مثبت BAL، ۶۱٪ گرانولوم در نمونه بیوپسی و ۸۷٪ کشت مثبت BAL داشتند. در مطالعه آن‌ها نیز ترکیب دو آزمایش در برونکوسکوپی قدرت تشخیصی را به ۹۲٪ افزایش داد (۵).

اگرچه نتیجه PCR در مطالعه آن‌ها مشابه مطالعه حاضر بود، ولی در بررسی حاضر موارد اسمیر مثبت بالاتر بود و اضافه کردن PCR به اسمیر خلط موارد مثبت را افزایش نمی‌داد. علت این تفاوت را در دو نکته می‌توان دید. اول آنکه به علت شیوع بالای سل در ایران پرسنل آزمایشگاهی ما در شناسائی مایکوباکتریوم در نمونه اسمیر مهارت بیشتری دارند و دوم آنکه حجم نمونه ما کم بوده و افزایش آن می‌تواند دقت نتیجه گیری را افزایش دهد.

اوبرهام و همکاران در پرو ۲۱۸ کودک با علائم ریوی پیشنهاد کننده سل را مورد بررسی قرار دادند و از هر بیمار ۲ نمونه (آسپیراسیون معده، نازوفارنکس و یا مدفوع) گرفتند. ۲۳۸ کودک سالم با سن و جنس هماهنگ شده نیز مورد بررسی مشابه قرار گرفتند. در گروه بیماران ۲۲ مورد مثبت یافت شد که اکثریت (۲۱ نفر) آن‌ها در گروه پر خطر بودند و از این تعداد ۱۳ نفر PCR مثبت داشتند که نشان دهنده مثبت شدن

Fluckiger U. Polymerase chain reaction for Mycobacterium tuberculosis impact on clinical management of refugees with pulmonary infiltrates. *Chest*. 2004;125:981-6.

8. Chen NH, Liu YC, Tsao TC, Wu TL, Hsieh MJ, Chuang ML, et al. Combined bronchoalveolar lavage and polymerase chain reaction in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in smear-negative patients. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2002; 6(4):350-5.

9. Tan YK, Lee AS, Khoo KL, Ong SY, Wong SY, Ong YY. Rapid mycobacterial tuberculosis detection in bronchoalveolar lavage samples by polymerase chain reaction in patients with upper lobe infiltrates and bronchiectasis. *Ann Acad Med Singapore*. 1999;28(2):205-8.

10. Salajka F, Mezensky L, Pokorney A. Commercial polymerase chain reaction test (Amplicor set) in the diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis from sputum and bronchoalveolar lavage. *Monaldi Arch Chest Dis*. 2000;55(1):9-12

11. Khalizadeh S, Baghaie N, Zamani A, Shir Agahi Z, Boloorsaz MR, Velayati AA. Bacteriological evaluation for diagnosis of tuberculosis in children Tanaffos. 2009;8(2):42-45.

12. Mohammadi F, Jaber Ansari S, Varaham M, Shikholslami M, Karimi S, et al. Assessment of the diagnostic value of PCR method in detection of the mycobacterium tuberculosis in urine samples. *Med J Science of Islamic Azad Univer Tehran*. 2008;18(1):17-20. Persian.

13. Asnaashari AM, Towhidi M, Farid R, Abbaszadegan MR, Attaran D, Fatemi SS, et al. Evaluation of PCR for diagnosis of tuberculosis pleurisy. *Tanaffos*. 2011;10(1):12-18.

ارزش اخباری مثبت ۳۱٪ و ارزش اخباری منفی ۹۶٪ (۱۲) و اثنی عشری و همکاران در بررسی مایع پلور سلی به ترتیب حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی ۸۵٪، ۱۰۰٪، ۱۰۰٪ و ۸۸.۸٪ گزارش کردند (۱۳) که تقریباً مشابه مطالعه حاضر بوده است.

به نظر می‌رسد اگرچه PCR روش سریع و جدیدی برای تشخیص سل محسوب می‌شود، ولی استفاده از روش قدیمی‌تر اسمیر کم هزینه‌تر و ساده‌تر بوده و امکان انجام آن در همه نقاط ایران مقدور.

این مقاله با بودجه مرکز تحقیقات عفونی اطفال دانشگاه علوم پزشکی تهران و معاونت پژوهشی انجام شده و قسمتی از طرح تحقیقاتی به شماره ۱۴۹۱۸-۱۳۱-۰۳-۹۰ می‌باشد.

منابع

1. Raviglione MC, O'Brien RJ. Tuberculosis. In: Kasper F, Hauser F, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. New York: MacGraw-Hill; 2012. p. 1340-1385.

2. Azizi MH, Bahador M. A brief history of tuberculosis in Iran during the 19th and 29th centuries. *Arch Iran Med*. 2011;14(3):215-9.

3. Al Zahrani K, Al Jahadi H, Poirier L, Rene P, Gennaro ML and Menzies D. accuracy and utility of commercially available amplification and serological tests for diagnosis of minimal pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Cirt Care Med*. 2000;162:1323-9.

4. Tueller C, Chhajer PN, Buitrago-Tellez C, Frei R, Tamm M. Value of smear and PCR in bronchoalveolar lavage fluid in culture positive pulmonary tuberculosis. *Eur Respir J*. 2005; 26:767-72.

5. Tmura A, Shimada M, Matsui Y, Kawashima M, Suzuki J, Ariga H, et al. The value of fibroptic bronchoscopy in culture-positive pulmonary tuberculosis patients whose pre-bronchoscopic sputum specimens were negative both for smear and PCR analyses. *Inter Med*. 2010;46:95-102.

6. Oberhelman R, Soto-Castellares G, Gilman RH, Caviedes L, Castillo ME, Kolevic L, et al., Diagnostic approaches for pediatric tuberculosis by use of different specimen types, culture method, and PCR: a prospective case-control study. *Lancet Infect Dis*. 2010;10:612-20.

7. Laifer GM, Widmer AF, Frei R, Zimmerli W,

Evaluation of the diagnostic value of PCR and smear for diagnosis of tuberculosis in bronchoalveolar lavage

Seyed Ali Javad Mousavi, MD. Associate Professor of Pulmonology, Hazrat-e-Rasool Akram Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. dr_moosavi_pul@yahoo.com

***Mitra Barati**, MD. Associate Professor of Infectious Diseases, Hazrat-e-Rasool Akram Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (*Corresponding author).
m-barati@sina.tums.ac.ir

Mohammad Reza Kochari, MD. Internist, Tehran, Iran. mkouchari@gmail.com

Shima Javadinia, MD. General Physician, Tehran, Iran. shima_javadinia@yahoo.com

Mahshid Talebi Taher, MD. Associate Professor of Infectious Diseases, Hazrat-e-Rasool Akram Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. m-talebitaher@sina.tums.ac.ir

Abstract

Background: Tuberculosis (TB) is one of the oldest known diseases in human. According to its high prevalence in Iran, using a diagnostic procedure with more rapid result than culture, more sensitive and specific than smear and near to culture can help us to diagnose and treat the disease rapidly and accurately, and thus control it in the community. So we decided to evaluate PCR for the diagnosis of Tuberculosis in Broncho-alveolar Lavage (BAL) and compare it with smear.

Methods: Patients who were admitted at Hazrat Rasool Akram Hospital during 2 years of 2010-11 with the impression of tuberculosis and underwent bronchoscopy were included. Their BAL was sent for smear, culture and PCR for tuberculosis diagnosis. Data were analyzed by mean and standard deviation and p Value under 0.05 was considered significant.

Results: Forty seven patients with probable pulmonary tuberculosis underwent bronchoscopy. BAL cultures were positive in 6 (12.8%) patients, smears in 5 (10.6%) patients and PCR in 3 (6.4%) patients. According to this result smear had 83% sensitivity, 100% specificity, 100% PPV and 98% NPV. However PCR had 50% sensitivity, 100% specificity, 100% PPV and 93% NPV.

Conclusion: Although PCR is a rapid and new tool for TB diagnosis, smear- which is an older way- is simpler has lower cost and is feasible in all points of Iran and still is a better method for TB diagnosis.

Keywords: Pulmonary tuberculosis, Bronchoalveolar lavage, PCR.