ارزیابی واکنش زنجیره پلیمراز خون و ادرار برای تشخیص بیماری سل

علی اکبر حیدری[۱و۲*]

۱. دانشیار، دکتری تخصصی بیماریهای عفونی و گرمسیری، گروه بیماریهای عفونی، مرکز آموزشی پژوهشی و درمانی امام رضا(ع)، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۲. مرکز تحقیقات کنترل عفونت و بهداشت دست، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

نویسنده مسؤول: علی اکبر حیدری
نشانی نویسنده مسؤول: مشهد، میدان امام رضا(ع)، مرکز آموزشی پژوهشی و درمانی امام رضا(ع)، مرکز تحقیقات کنترل عفونت و بهداشت دست. تلفن:۰۵۱۳۸۵۱۵۰۰۱ پست الکترونیکی: HeydariAA@mums.ac.ir

سل در سال ۲۰۱۱ عامل مرگ حدود ۱٫۴میلیون نفر بود و مانند ویروس نقص ایمنی (HIV) علت اصلی مرگ ناشی از عوامل عفونی در جهان به شمار می رود [۱]. برای کنترل بیماری سل، نیاز به تشخیص سریع و مناسب داریم که بتوانیم با شروع به موقع درمان زنجیره انتقال را قطع کنیم. روشهای استاندارد مثل اسمیر خلط حساسیت لازم را ندارد و از آن مهمتر نیازمند وجود خلط هستند. کشت خلط نیزحدود ۸ هفته زمان می‌برد.

در بیماران بدحال که قادر به دادن خلط نیستند و روشهای تشخیصی مهاجم برای آنها امکان پذیر نیست، استفاده از پی‌سی‌آر که ویژگی ۱۰۰٪ دارد می‌تواند به تشخیص سریع کمک کرده با شروع درمان زنجیری انتقال را قطع کندو در نتیجه مدت زمان بستری بودن بیمار و میزان عفونتهای بیمارستانی را کاهش دهد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز قادر به یافتن کمتر از ۱۰باسیل را در هر سی‌سی نمونه‌های مختلف بالینی است، که تعداد قابل توجهی محسوب نمی شود.

روشهای جدیدتر پی سی آر مثل نستد پی سی آر [۱۹])هم حساسیت و هم ویژگی بالاتری دارد. برای کاهش هزینه و کاربرد منطقی، بایستی این روش فقط برای بیمارانی انجام می‌شود که روشهای تشخیصی در مورد آنها به سختی قابل انجام است یا در بیمارانی که تعداد اندک باسیل دارند. بسته به شدت بیماری و احتمال مرگ بیمار این روش می تواند از دیدگاه منطقی در برخی از نمونه‌های حساس مانندسل منتشر سالمندان کمک کننده باشد. از آنجا که ما این روش را باید فقط در آزمایشگاههای محدود تحقیقاتی معتبر و تنها برای بیماران خاص انجام دهیم، لذا با تشخیص سریعتر می‌توانیم زنجیره انتقال را در جامعه قطع کنیم و این مهم به خودی خود باعث کاهش هزینه نهایی درمان خواهد شد.

شایان ذکر است که اسمیر، کشت و رنگ‌آمیزی نمونه‌های بالینی اولین گام برای ارزیابی بیماران مشکوک به سل ریوی است؛ با این حال در بعضی موارد، خلط وجود ندارد یا دریافت آن، به علت وضعیت بدبیماران، غیرممکن است. علاوه بر این، در بعضی موارد نمونه برداری برای اسمیر و کشت نیاز به انجام روشهای تهاجمی دارد، که گاهی اوقات به دلیل وضعیت بالینی بیمار امکان‌پذیر نیست. همچنین، در بسیاری از موارد، میکوباکتریوم سل با استفاده از میکروسکوپ یا کشت قابل شناسایی نیست.بنابراین بایستی روشهای سریعتر یا دقیقتری را، مخصوصا برای بیماران بدحال، پیدا کنیم. یکی از این روشها واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[۲۰](PCR) خون و ادرار برای میکروب سل است.

[19] Nested PCR

[20] Polymerase Chain Reaction

در سالهای اخیر، روشهای تشخیصی مولکولی (RNAAT)[۲۱] جایگزین روشهای سنتی تشخیص شده است [۲]. این روش می تواند میزان بسیار کمی میکروب را در نمونه‌های بالینی شناسایی کند. در یک مطالعه در بورکینافاسو ارزش تشخیصی PCR ادرار برای سل مورد بررسی قرار گرفت. نویسندگان نتیجه گرفتند که این آزمون روشی مناسب برای تشخیص موارد جدید سل در ازمایشگاههای معمولی نیست؛ با این حال، برای مواردی که تشخیص بالینی و باکتریولوژیک سل قطعی نیست می‌تواند مفید باشد [۳] .

ریبولو[۲۲] نمونه‌های خون و ادرار بیماران مبتلا به سل را در موارد متعدد مطالعه کرد [۴]. PCR-TB نمونه‌های ادرار حساسیت تشخیصی PCR خون را ۱۰٪ افزایش داد. در مطالعه دیگری محققان در ایتالیا ثابت کردند که حساسیت PCR ادرار79 ٪ است و نتیجه گرفتند که می توان قطعات DNA میکروب توبرکلوز را در ادرار بیماران سل ریوی فعال اندازه‌گیری کرد [۵].

در یک مطالعه که توسط نویسنده و قزوینی به صورت آینده نگر انجام شد [۶] و شامل ۶۵ بیمار مبتلا به سل ریه و ۲۸ نمونه از افراد کاملا سالم بود، مشاهده شد که PCR در خون ۲۳ نفر از ۶۵ بیمار مبتلا به سل، مثبت است، اما هیچ کدام از افراد گروه کنترلPCR مثبت ندارند (حساسیت ۳۵/۷٪ و ویژگی۱۰۰٪).

در یکی دیگر از مطالعات موردی شاهدی که توسط نویسنده و موحد دانش انجام شد، [۷] ۷۷ مورد سل ریه ثابت شده و ۳۰ مورد فرد کاملا سالم مورد مطالعه قرار گرفتند وکشت نمونه خلط و ادرار بیماران برای میکروب سل انجام گرفت. از ۷۷ بیمار ۴۸ مورد (۶۲/۳٪) کشت خلط مثبت داشتند، ولی کشت ادرار و اسمیر اسید فست منفی بود. PCR ادرار در۴۸٪ (۳۷/۷۷ نفر) از بیماران مثبت بودو PCR در ۵۶/۲٪ (۲۷/۴۸ نفر) از بیمارانی که کشت مثبت داشتند و ۳۴/۴٪ (۲۹/۱۰ نفر) از بیمارانی که کشت منفی داشتند، مثبت بود. درگروه کنترل PCR ادرار همه افراد منفی بود. (حساسیت ۵۶,۲٪ و ویژگی ۱۰۰٪)

در مطالعات مختلف حساسیت PCR خون برای تشخیص سل منتشر و خارج ریه از ۲۰ تا ۹۵ درصد گزارش شده است[۸،۹]. این مقادیر برای سل ریوی پایینتر است (۰ تا ۴۳/۸٪) [۱۰،۱۱]؛ اگر چه در برخی تا ۹۳٪ هم گزارش شده است [۱۲]. با این حال، نتایج بیشتر این مطالعات مشابه نتایج مطالعات فعلی است. با در نظرگرفتن نکات ذکر شده و این واقعیت که جمع آوری خون و ادرار کاری ساده و غیر تهاجمی است، لذا PCR. خون و ادرار می تواند ابزار تشخیصی مناسب برای تشخیص سل ریوی یا میلیر باشد.

References

1. Glaziou P, Falzon D, Floyd K, Raviglione M (2013) Global epidemiology of tuberculosis. Semin Respir Crit Care Med 34: 3-16.

2. Lima AS, Duarte RS, Montenegro LM, Schindler HC (2013) Rapid detection and differentiation of mycobacterial species using a multiplex PCR system. Rev Soc Bras Med Trop 46: 447-452.

3. Torrea G, Van de Perre P, Ouedraogo M, Zougba A, Sawadogo A, et al.(2005) PCR-based detection of the Mycobacterium tuberculosis complex in urine of HIV-infected and uninfect pulmonary and extra pulmonary tuberculosis patients in Burkina Faso. J Med Microbiol 54:39-44.

4. Rebollo MJ, San Juan Garrido R, Folgueira D, Palenque E, Díaz-Pedroche C, et al. (2006) Blood and urine samples as useful sources for the direct detection of tuberculosis by polymerase chain reaction. Diagn Microbiol Infect Dis 56: 141-146.

[21] Rapid Nucleic Acid Amplification Tests

[22] Rebollo

5. Cannas A, Goletti D, Girardi E, Chiacchio T, Calvo L, et al. (2008) Mycobacterium tuberculosis DNA detection in soluble fraction of urine from pulmonary tuberculosis patients. INT J TUBERC LUNG DIS 12:146-151.

6. Heydari AA, Ghabooli MJ, Ghazvini K, Mojtabavi M (2012) Evaluation of blood PCR in the diagnosis of pulmonary tuberculosis; Journal of Birjand University of Medical Sciences 19: 34-43

7. Heydari AA, Danesh M (2014) Urine PCR Evaluation to Diagnose Pulmonary Tuberculosis. J Microbiol 7: e9311.

8. Folgueira L, Delgado R, Palenque E, Aguado JM, Noriega AR (1996) Rapid diagnosis of Mycobacterium tuberculosis bacteremia by PCR. J Clin Microbiol 34: 512-515.

9. Condos R, McClune A, Rom WN, Schluger NW (1996) Peripheral-bloodbased PCR assay to identify patients with active pulmonary tuberculosis.Lancet 347: 1082-1085.

10. Kolk AH, Kox LF, Kuijper S, Richter C (1994) Detection of Mycobacterium tuberculosis in peripheral blood. Lancet 344: 694.

11. Ahmed N, Mohanty AK, Mukhopadhyay U, Batish VK, Grover S (1998) PCR-based rapid detection of Mycobacterium tuberculosis in blood from immunocompetent patients with pulmonary tuberculosis. J Clin Microbiol 36: 3094-3095.

12. Gamboa F, Manterola JM, Lonca J, Matas L, Viñado B, et al. (1997) Detection and identification of mycobacteria by amplification of RNA and DNA in pretreated blood and bone marrow aspirates by a simple lysis method. J Clin Microbiol 35: 2124-2128.