AJCM
Avicenna Journal of Clinical Medicine

Avicenna J Clin Med, 2022; 29(2): 74-80. Doi: 10.32592/ajcm.29.2.74

https://sjh.umsha.ac.ir

Original Article

Investigation of the Necessity of Petroff Method for More Accurate Diagnosis of Tuberculosis in Tuberculosis Reference Laboratory of Hamadan Province, Iran, During the COVID-19 Pandemic

Hosein Ghaderi[1], Fatemeh Shahbazi[2], Marzieh Moiedi Dana[3], Maryam Adabi[4,*]

[1] Hamadan veterinary Council (NGO), Hamadan, Iran
[2] School of Health, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[3] Tuberculosis Reference Laboratory, Deputy of Health, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[4] Brucellosis Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Article history:
Received: 05 May 2022
Revised: 30 June 2022
Accepted: 09 August 2022
ePublished: 14 September 2022

***Corresponding author:** Maryam Adabi, Brucellosis Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.
Email:
maryam_adabi@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: A definitive diagnosis of tuberculosis is based on the identification of tubercle bacilli in sputum using microscopy and culture. Although direct smear microscopy is the most common diagnostic method, the Petroff method is recommended for a better diagnosis of tuberculosis. This study aimed to evaluate the Petroff method for a more accurate diagnosis of tuberculosis in health centers of Hamadan province, Iran, during the COVID-19 pandemic.
Materials and Methods: In this descriptive cross-sectional study, 210 sputum specimens from patients who were referred to the tuberculosis reference laboratory in Hamadan province were collected in health centers. All of the samples were processed for the presence of mycobacteria using the Petroff method and the direct smear technique, and the results of both techniques were compared afterward.
Results: Among 210 samples, 9 (4.28%) and 12 (5.71%) cases were reported as smear-positive samples by direct smear method and Petroff method, respectively. A comparison of the results showed that the sensitivity for acid-fast bacilli (AFB) smears was increased using the Petroff method.
Conclusion: Petroff method improved the sensitivity of AFB identification. It was methodologically simpler and less expensive and can be used as a promising candidate in primary TB control programs. Therefore, we recommend the Petroff method for the improvement of the sensitivity of AFB microscopy.

Keywords: Decontamination, Direct Method, Petroff Method, Tuberculosis

Please cite this article as follows: Ghaderi H, Shahbazi F, Moiedi Dana M, Adabi M. Investigation of the Necessity of Petroff Method for More Accurate Diagnosis of Tuberculosis in Tuberculosis Reference Laboratory of Hamadan Province, Iran, During the COVID-19 Pandemic. *Avicenna J Clin Med.* 2022; 29(2): 74-80. DOI: 10.32592/ajcm.29.2.74

Copyright © 2022 Avicenna Journal of Nursing and Midwifery Care. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (*http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/*) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite

AJCM
مجله پزشکی بالینی ابن سینا
دوره ۲۹، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱، صفحات: ۸۰-۷۴
https://sjh.umsha.ac.ir

مقاله پژوهشی

بررسی لزوم انجام روش پتروف برای تشخیص دقیق‌تر سل در آزمایشگاه رفرانس سل استان همدان در زمان پاندمی کووید-۱۹

حسین قادری[۱]، فاطمه شهبازی[۲]، مرضیه مؤیدی دانا[۳]، مریم آدابی[۴،*]

[۱] نظام دام‌پزشکی استان همدان، همدان، ایران
[۲] دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
[۳] آزمایشگاه رفرانس سل، معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
[۴] مرکز تحقیقات بروسلوز، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۱۵
ویرایش: ۱۴۰۱/۰۴/۰۹
پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۱۸
انتشار: ۱۴۰۱/۰۶/۲۳

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است.

* **نویسنده مسئول:** مریم آدابی، مرکز تحقیقات بروسلوز، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
ایمیل: maryam_adabi@yahoo.com

چکیده

سابقه و هدف: تشخیص قطعی سل بر اساس شناسایی باکتری در نمونه خلط با استفاده از میکروسکوپ و کشت است. اسمیر مستقیم رایج‌ترین روش برای تشخیص سل است، اما استفاده از روش پتروف برای تشخیص دقیق‌تر بیماری توصیه می‌شود. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی روش پتروف برای تشخیص دقیق‌تر سل در آزمایشگاه رفرانس سل همدان در دوران همه‌گیری کووید-۱۹ انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی-توصیفی، ۲۱۰ نمونه خلط از بیماران ارجاع‌شده از مراکز بهداشتی درمانی به آزمایشگاه رفرانس سل همدان جمع‌آوری شد. تمام نمونه‌ها با استفاده از روش اسمیر مستقیم و روش پتروف به‌منظور شناسایی حضور مایکوباکتریوم بررسی شدند و نتایج حاصل از هر دو روش مقایسه شد.

یافته‌ها: ۹ مورد (۴/۲۸ درصد) با استفاده از روش اسمیر مستقیم و ۱۲ مورد (۵/۷۱ درصد) با استفاده از روش پتروف به‌عنوان نمونه‌های اسمیر مثبت در نظر گرفته شدند. مقایسه نتایج به‌دست‌آمده نشان داد حساسیت شناسایی موارد اسمیر مثبت در روش پتروف افزایش یافته است.

نتیجه‌گیری: روش پتروف حساسیت شناسایی باسیل اسید-فست را بهبود بخشید. انجام این روش ساده و ارزان است و می‌تواند به‌عنوان یک روش معمول تشخیص اولیه سل استفاده شود.

واژگان کلیدی: آلودگی‌زدایی، اسمیر مستقیم، روش پتروف، سل

استناد: قادری، حسین؛ شهبازی، فاطمه؛ مویدی دانا، مرضیه؛ آدابی، مریم. بررسی لزوم انجام روش پتروف برای تشخیص دقیق‌تر سل در آزمایشگاه رفرانس سل استان همدان در زمان پاندمی کووید-۱۹. مجله پزشکی بالینی ابن سینا، تابستان ۱۴۰۱؛۲۹(۲): ۸۰-۷۴.

مقدمه

بیماری سل از نظر بهداشت جهانی موضوعی نگران‌کننده برای کشورهای پیشرفته ودرحال‌توسعه است. در حال حاضر با توجه به پاندمی کووید-۱۹ و تشابه بعضی از علائم تنفسی و آسیب‌های ریوی این دو بیماری و همچنین اثر هم‌افزایی آن‌ها بر یکدیگر، توجه خاص و دقیق برای شناسایی دقیق‌تر و سریع‌تر بیماری سل بیش از پیش آشکار شده است [۱]. از عوامل خطرساز در ابتلا به بیماری سل می‌توان به دیابت، نارسایی‌های کلیوی، آلودگی به HIV، مصرف دخانیات، مواد مخدر، الکل، فقر و ... اشاره کرد. در تمام این موارد، نقص سیستم ایمنی قابل توجه است. با توجه به اینکه اختلال در عملکرد سیستم ایمنی به‌خصوص لنفوسیت‌ها از عوارض کووید-۱۹ است، این بیماری به‌عنوان عامل خطر در افزایش موارد سل اهمیت دارد [۱]. در حال حاضر پاندمی کووید-۱۹ به‌عنوان بزرگ‌ترین چالش قرن برای سلامت عمومی، اقتصاد بین‌المللی و سیاست‌های ملی در بسیاری از کشورها مطرح است. اگر پاسخ‌های سیستم ایمنی در برابر ویروس کافی و مناسب نباشد، بیماری وارد حالت شدید می‌شود. آسیب ریوی ناشی از کووید-۱۹ زمینه را برای ابتلا به سایر بیماری‌های ریوی به‌ویژه سل فراهم می‌سازد. همچنین با توجه به تشابه بعضی از علائم تنفسی و آسیب‌های ریوی این دو

بیماری، لزوم تشخیص دقیق و سریع بیماری سل بیش از پیش اهمیت دارد [۱].

یکی از اساسی‌ترین و مهم‌ترین فعالیت‌های برنامه شبکه مبارزه و کنترل سل، بیماریابی و شروع به‌هنگام و صحیح درمان برای بیماران مسلول است. در معاینات بالینی، تشخیص سریع بیماری سل مشکل است و شناسایی زودهنگام بیماری سل ریوی همچنان برای پزشکان مشکل است. تشخیص فوری بیماری سل، به‌خصوص فرم 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 ممکن است با علائم و یافته‌های غیرمعمول رادیولوژیک همراه باشد که تفریق آن از انواع پنومونی بسیار مشکل است؛ بنابراین، بررسی اسمیر باسیل‌های اسید-فست و آزمون کشت باکتریولوژیک باید برای بیماران دارای علائم انجام شود. با این حال کشت مایکوباکتریوم که حساسیت زیادی در تشخیص و تأیید بیماری سل فعال دارد، برای تفسیر به ۲ تا ۶ هفته زمان نیاز دارد. اگرچه بررسی میکروسکوپی اسمیر خلط ابزار سریع، ساده و ارزانی برای تشخیص بیماری سل ریوی است، حساسیت کم و متغیری دارد [۲،۳،۴].

مطابق تعاریف استاندارد، بیماری که حداقل دو آزمایش اسمیر خلط مثبت از نظر باسیل‌های اسید-فست (Acid fast bacilli: AFB) داشته باشد (جدول ۱) یا بیماری که فقط یک آزمایش اسمیر خلط مثبت از نظر باسیل‌های اسید-فست همراه با تغییرات رادیوگرافیک قفسه سینه داشته باشد یا یک آزمایش اسمیر خلط مثبت از نظر باسیل‌های اسید-فست همراه کشت خلط مثبت داشته باشد، به‌عنوان سل اسمیر مثبت تلقی می شود [۱،۵].

در کشورهای درحال‌توسعه، بررسی میکروسکپی اسمیر خلط بهترین گزینه تشخیص است. این روش حساسیتی بین ۲۵ تا ۷۵ درصد در مقایسه با کشت دارد و نیاز به حضور تعداد زیادی باسیل (حداقل 10^5 باسیل در هر میلی‌لیتر خلط) برای مثبت شدن دارد. همچنین این روش تحت تأثیر عوامل مختلفی از قبیل شیوع و شدت بیماری، نوع و کیفیت نمونه، تعداد باکتری در نمونه، کیفیت نمونه اسمیر، رنگ‌آمیزی، خوانش و بررسی اسمیر است [۶].

در تشخیص سل می‌توان از روش‌های تست پوستی (تست PPD)، کشت، تشخیص سریع با آزمایشات سرولوژیکی، روش‌های سریع کشت مایع، تکثیر اسید نوکلئیک، فاژتایپینگ، کروماتوگرافی مایع و تست پاتو (Patho-TB test) استفاده کرد [۷]، اما این روش‌های تشخیصی بیشتر روش‌های نوینی هستند و نیاز به تجهیزات پیشرفته و کارکنان آموزش‌دیده دارند و هنوز در مطالعات محدودی بررسی شده‌اند [۷].

در حال حاضر، بررسی اسمیر سریع‌ترین و ضروری‌ترین روش تشخیص سل به‌ویژه برای بیمارانی است که بار میکروبی در آن‌ها بسیار زیاد است و خطر انتقال بیماری از آن‌ها به افراد دیگر زیاد است یا برای تشخیص بیمارانی است که نیازمند درمان سریع هستند [۸،۹]. برای افزایش حساسیت روش اسمیر مستقیم از روش‌هایی مثل هضم و آلودگی‌زدایی نمونه‌ها مانند استفاده از روش پتروف و رنگ‌آمیزی فلورسنت (اورامین و رودامین) و روش‌های دیگر استفاده می‌شود [۷]. نمونه خلط یا سایر نمونه‌هایی که از بیمار گرفته می‌شود، معمولاً حاوی فلور نرمال بدن، قارچ‌ها و سایر باکتری‌ها هستند که برای بررسی نمونه‌ها از نظر وجود باسیل سل باید آلودگی‌زدایی شوند، به‌طوری‌که فقط *مایکوباکتریوم*‌ها باقی بماند. بدین منظور از روشی به نام پتروف استفاده می‌کنیم. روش پتروف اولین بار در سال ۱۹۶۸ میلادی توصیف شد و امروزه به‌طور گسترده استفاده می‌شود تا حساسیت روش آزمون مستقیم را به‌خوبی روش کشت افزایش دهد. این روش به‌طور گسترده در کشورهای درحال‌توسعه به‌خاطر سادگی نسبی آن و سهولت در تهیه مواد و معرف‌ها استفاده می‌شود [۱۰].

بیشتر آزمایشگاه‌های مایکوباکتریولوژی در ایران برای تهیه اسمیر از دو روش استفاده می‌کنند؛ یکی تهیه اسمیر به روش مستقیم از نمونه خلط و دیگری از نمونه هموژنیزه با روش پتروف. متأسفانه در مناطق روستایی و شهرستان‌های کشور امکانات لازم برای تشخیص دقیق سل محدود است و روش پتروف فقط در آزمایشگاه‌های مراکز استان‌ها انجام می‌شود.

با توجه به اینکه احتمال بروز موارد سل در شهرستان‌ها و مراکز روستایی بیشتر است و همچنین با توجه به ضرورت تشخیص دقیق‌تر و به‌موقع این بیماری، مطالعه حاضر به‌عنوان مطالعه پایلوت و با هدف بررسی لزوم انجام روش پتروف برای تشخیص دقیق‌تر و سریع‌تر سل در آزمایشگاه رفرانس سل استان همدان در زمان پاندمی کووید-۱۹ و مقایسه نتایج آن با روش اسمیر مستقیم انجام شد.

جدول ۱: نحوه گزارش نتایج بررسی میکروسکوپی خلط از نظر باسیل سل و تعیین درجه مثبت بودن خلط

زیرگروه	وجود یا نبود باسیل اسید-فست	تعداد میدان میکروسکوپی (x100)	نتیجه
۱	نبود باسیل اسید-فست	در ۱۰۰ میدان میکروسکوپی	منفی
۲	۱ تا ۹ باسیل اسید-فست	در ۱۰۰ میدان میکروسکوپی	گزارش تعداد
۳	۱۰ تا ۹۹ باسیل اسید-فست	در ۱۰۰ میدان میکروسکوپی	۱+
۴	۱ تا ۱۰ باسیل اسید-فست	در هر میدان میکروسکوپی	۲+
۵	بیش از ۱۰ باسیل اسید-فست	در هر میدان میکروسکوپی	۳+

روش کار

این مطالعه توصیفی-مقطعی در بازه دو ماهه دی و بهمن ۱۴۰۰ در آزمایشگاه رفرانس سل همدان انجام شد. بدین منظور ۲۱۰ نمونه خلط از بیماران مشکوک به سل ریوی ارجاع‌شده از مراکز بهداشتی درمانی به آزمایشگاه رفرانس سل استان همدان جمع‌آوری شد. از مجموع ۲۱۰ نمونه گرفته‌شده، برای هر نمونه با رعایت کامل پروتکل‌های ایمنی و بهداشتی بخش سل، دو اسمیر تهیه شد؛ یکی به صورت مستقیم از خلط و دیگری از رسوب حاصل از هضم و آلودگی‌زدایی به روش پتروف.

روش پتروف

به‌طور خلاصه، ابتدا به میزان هم‌حجم یا دو برابر حجم نمونه‌ها، سود ۴ درصد (یک نرمال) اضافه شد. سپس نمونه‌ها به لوله‌های فالکون منتقل شدند و به مدت ۱ ساعت برای مخلوط شدن نمونه‌ها روی دستگاه میکسر قرار گرفتند. در مرحله بعد، نمونه‌ها به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از سانتریفیوژ نمونه‌ها، مایع فوقانی تخلیه شد، به‌طوری‌که فقط رسوب باقی ماند. به دلیل استفاده از سود، رسوب به‌دست‌آمده قلیایی بود و برای رشد بهتر باکتری‌ها باید این محیط قلیایی خنثی می‌شد. برای این منظور از اسید کلریدریک یک نرمال (۳/۲ درصد) استفاده شد [۱۱]. در پایان، یک تا دو قطره از رسوب به‌دست‌آمده روی لام قرار گرفت و مانند روش اسمیر مستقیم، برای تهیه گسترش و رنگ‌آمیزی ذیل-نلسون استفاده شد.

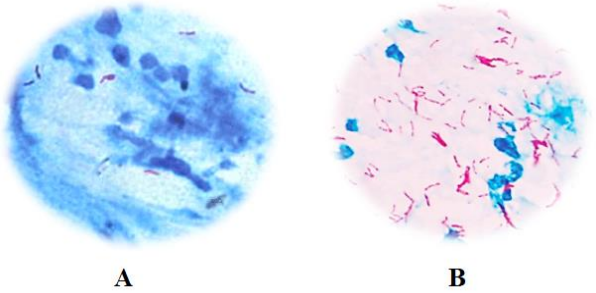
رنگ‌آمیزی ذیل-نلسون

ابتدا رنگ فوشین بازی روی گسترش ریخته شد و برای نفوذ رنگ، به آن حرارت داده شد. در مرحله بعد، سه بار شست‌وشوی گسترش با آب مقطر انجام شد. سپس مرحله رنگ‌زدایی با اسید-الکل (۳ میلی‌لیتر اسید کلریدریک نرمال + ۹۷ میلی‌لیتر الکل اتیلیک) به مدت سه دقیقه انجام شد. در ادامه ۳ بار شست‌وشوی گسترش با آب مقطر و درنهایت ریختن رنگ زمینه متیلن بلو روی سطح گسترش به مدت دو دقیقه انجام شد. باسیل‌های قرمز در زمینه آبی‌رنگ به‌عنوان باکتری‌های اسید-فست در نظر گرفته شدند [۱۲]. تمام اسمیرها با میکروسکوپ نوری و به‌منظور شناسایی حضور مایکوباکتریوم آزمایش شدند و نتایج حاصل از هر دو روش مقایسه شد. درنهایت، نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ بررسی شد.

نتایج

در مجموع، ۲۱۰ نمونه خلط از بیماران ارجاع‌شده از طرف مراکز بهداشتی و درمانی به آزمایشگاه رفرانس سل استان همدان ارسال شد که از این تعداد، ۵۸ نمونه (۲۷/۶۲ درصد) مربوط به زنان و ۱۵۲ نمونه (۷۲/۳۸ درصد) مربوط به مردان بود. میانگین سنی افراد بین ۴۰ تا ۸۰ سال گزارش شد. پس از تهیه گسترش و رنگ‌آمیزی نمونه‌ها، در بررسی میکروسکوپی با روش اسمیر مستقیم و بدون آلودگی‌زدایی ۹ نمونه (۴/۲۸ درصد) و با استفاده از روش پتروف ۱۲ نمونه (۵/۷۱ درصد) به‌عنوان نمونه‌های اسمیر مثبت گزارش شد (شکل ۱). جدول ۲ نشان‌دهنده جزئیات نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از هر دو روش اسمیر مستقیم و پتروف بر اساس دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی است.

مقایسه نتایج به‌دست‌آمده از هر دو روش نشان داد ۳ نمونه که در روش اسمیر مستقیم با نتیجه منفی گزارش شده بود، در بررسی مجدد با استفاده از روش پتروف در زیرگروه ۲ قرار گرفت. همچنین مشخص شد تمام نمونه‌ها در مواردی که با استفاده از روش اسمیر مستقیم در یک زیرگروه مشخص قرار داشتند، در بررسی مجدد با استفاده از روش پتروف در زیرگروه بالاتر قرار گرفتند (جدول ۳). تعداد نمونه‌های اسمیر مثبت در زیرگروه‌های ۲ تا ۵ در شکل ۲ نشان داده شده است.



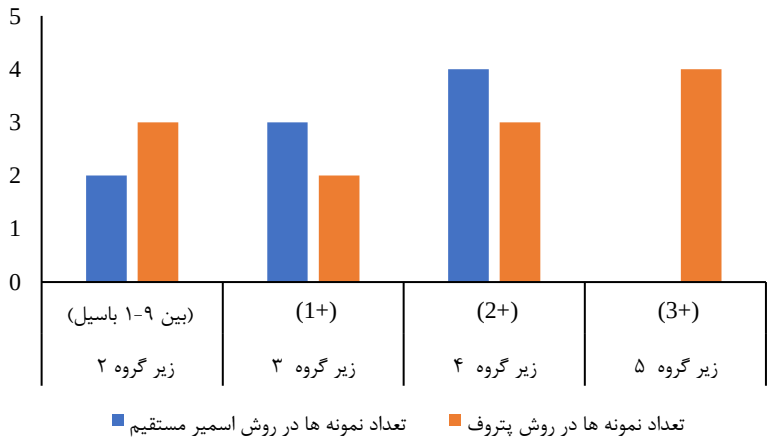
شکل ۱: A: تصویر میکروسکوپی نمونه خلط با استفاده از روش اسمیر مستقیم بعد از رنگ‌آمیزی ذیل-نلسون؛ B: تصویر میکروسکوپی همان نمونه در بررسی مجدد با استفاده از روش پتروف بعد از رنگ‌آمیزی ذیل- نلسون

جدول ۲: نتایج بررسی میکروسکوپی خلط از نظر وجود یا نبود باسیل سل و تعیین درجه مثبت بودن خلط

ردیف	زیرگروه (شدت بیماری)	تعداد نمونه‌ها در روش اسمیر مستقیم	تعداد نمونه‌ها در روش پتروف
۱	۱ (منفی)	۲۰۱	۱۹۸
۲	۲ (بین ۱ تا ۹ باسیل)	۲	۳
۳	۳ (+۱)	۳	۲
۴	۴ (+۲)	۴	۳
۵	۵ (+۳)	-	۴
	جمع کل	۲۱۰	۲۱۰

جدول ۳: مقایسه دقت روش‌های مورد استفاده در یافتن باسیل سل در نمونه میکروسکوپی

زیرگروه	نمونه			
	نمونه‌های ۱ تا ۳	نمونه‌های ۴ تا ۵	نمونه‌های ۶ تا ۸	نمونه‌های ۹ تا ۱۲
در روش اسمیر مستقیم	زیرگروه ۱ (منفی)	زیرگروه ۲ (۹-۱ باسیل)	زیرگروه ۳ (+۱)	زیرگروه ۴ (+۲)
در بررسی مجدد با روش پتروف	زیرگروه ۲ (۹-۱ باسیل)	زیرگروه ۳ (+۱)	زیرگروه ۴ (+۲)	زیرگروه ۵ (+۳)



شکل ۲: تعداد نمونه‌های اسمیر مثبت در زیرگروه‌های ۲ تا ۵

بحث

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد میزان بروز موارد سل در مردان بیشتر از زنان است. همسو با نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه تبریزی و همکاران، میزان بروز و مرگ‌ومیر ناشی از سل در مردان بیشتر از زنان گزارش شد [۱۳]. مطالعه بابا محمودی و همکاران در شمال ایران میزان بروز سل را در مردان ۱/۶ برابر بیشتر از زنان نشان داد [۱۴]. به‌طور مشابه، مطالعات یزدانی و همکاران در مازندران [۱۵]، و مینوسپهر و همکاران در یزد [۱۶] نیز میزان بروز سل را در مردان بیشتر از زنان گزارش دادند. بیشتر بودن درصد ابتلای مردان احتمالاً به دلیل فعالیت بیشتر آن‌ها در جامعه ایران و تماس بیشتر آن‌ها با ناقلان یا افراد مسلول است. همچنین مصرف بیشتر دخانیات و مواد مخدر در این گروه ممکن است یکی دیگر از عوامل مهم در این زمینه باشد.

مشاهده میکروسکوپی گسترش مستقیم یکی از پرکاربردترین روش‌های میکروبیولوژیکی به‌منظور تأیید سل ریوی در برنامه‌های پیشگیری و کنترل سل، به‌ویژه در کشورهای کم‌درآمد است. روش مستقیم روشی سریع و ارزان برای تشخیص باسیل اسید-فست در خلط است. مهم‌ترین نقص این روش، حساسیت کم آن در برنامه‌های کنترلی سل می‌باشد. کم بودن حساسیت این روش موجب افزایش بروز سل ریوی اسمیر منفی در جامعه می‌شود [۱۷].

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، احتمال یافتن باسیل اسید-فست در نمونه رنگ‌آمیزی‌شده با استفاده از روش پتروف در مقایسه با روش اسمیر مستقیم بیشتر گزارش شد. افزایش حساسیت در روش پتروف با افزایش چشمگیری در تراکم باسیل در هر میدان میکروسکوپی مشهود بود. همچنین کاهش بقایای سلول‌ها و موکوس در این روش، میدان میکروسکوپی روشن و شفافی را پدید آورده بود. در این رابطه، نتایج تعداد زیادی از مطالعات در سرتاسر دنیا هم‌جهت با نتایج مطالعه حاضر مبنی بر استفاده از روش‌های آلودگی‌زدایی و تغلیظ نمونه‌ها (مانند روش پتروف) به‌عنوان روشی مؤثر در تشخیص دقیق‌تر و به‌موقع بیماران مسلول منتشر شده است.

Ängeby و همکاران در سال ۲۰۰۰ در هندوراس، طی مطالعه‌ای روش اصلاح‌شده هضم خلط با هیپوکلرید سدیم (NaOCl) را برای تشخیص با حساسیت بیشتر سل ریوی بررسی کردند. اختصاصیت و حساسیت در این روش زیاد و روش مذکور ایمن، ارزان و آسان است. انجام این روش به‌ویژه در محیط‌های آزمایشگاهی که امکانات ضعیفی دارند و امکان کشت وجود ندارد، توصیه شد [۱۸]. Salem و همکاران درسال ۲۰۰۷ در برزیل روش Petroff Kudoh Ogawa (PKO) را برای جداسازی باکتری سل از خلط بررسی کردند. نتایج مطالعه نشان داد این روش و روش پتروف کارایی لازم را برای جداسازی باسیل سل دارند، اما درصد تشخیص در روش پتروف بیشتر است [۱۹].

علوی نائینی و همکاران مطالعه‌ای را با موضوع مقایسه ارزش تشخیصی اسمیر خلط به روش میکروسکوپی در بیماران مشکوک به سل ریوی با و بدون استفاده ازهیپوکلریت سدیم در سال ۲۰۱۶ انجام دادند. نتایج مطالعه آنان نشان داد در روش اسمیر مستقیم با رنگ‌آمیزی ذیل-نلسون بدون هیپوکلریت سدیم ۶۳ نفر (۳۲ درصد)، با اضافه کردن هیپوکلریت سدیم ۶۹ نفر (۳۵ درصد) و در

روش رنگ‌آمیزی اورامین رودامین بدون و با اضافه کردن هیپوکلریت سدیم به ترتیب ۶۶ نفر (۳۳ درصد) و ۷۱ نفر (۳۶ درصد) مثبت شدند [۲۰].

Ganoza و همکاران در مطالعه‌ای در پرو بر لزوم استفاده از روش‌های آلودگی‌زدایی و تغلیظ‌سازی برای حصول نتیجه بهتر در بررسی‌های میکروسکوپی و کشت تأکید کردند [۲۱]. همچنین در مطالعات Chaudhary و همکاران در هند [۲۲]، Bunkhong و همکاران در تایلند [۲۳] و Kang و همکاران در کره جنوبی [۲۴] نتایج مشابهی در زمینه استفاده از روش‌های آلودگی‌زدایی و تغلیظ‌سازی به‌منظور دستیابی به نتایج دقیق‌تر در بررسی‌های میکروسکوپی و کشت نمونه‌ها گزارش شد.

Tripathi و همکاران در هند در سال ۲۰۱۴ به مقایسه روش‌های پتروف و پتروف اصلاح‌شده در آلودگی‌زدایی و تغلیظ‌سازی نمونه‌ها در بررسی‌های میکروسکوپی و کشت پرداختند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد استفاده از هر دو روش پتروف و پتروف اصلاح‌شده در مقایسه با روش اسمیر مستقیم و همچنین کشت مستقیم نمونه‌ها بدون آلودگی‌زدایی و تغلیظ‌سازی، نتایج قابل قبول‌تر با حساسیت بیشتر و خطای کمتری را ارائه می‌دهد [۲۵]. به‌طور مشابه، نتایج مطالعات Athira و همکاران در هند در سال ۲۰۲۱ [۲۶] بر لزوم استفاده از روش‌های آلودگی‌زدایی به‌منظور به‌دست‌آوردن نتایج مؤثرتر در بررسی‌های میکروسکوپی و کشت تأکید کردند.

به نظر می‌رسد عوامل احتمالی تأثیرگذار در تأخیر یا اشتباه در تشخیص بیماری سل که به آزمایشگاه‌های مایکوباکتریولوژی مربوط است، ممکن است به‌عنوان دلایل مهم‌تر تلقی شوند که با استفاده از روش‌های آلودگی‌زدایی و تغلیظ‌سازی نمونه‌ها می‌توان تا حدود زیادی این نواقص را برطرف کرد و با شناسایی به‌موقع، از پیشرفت بیماری در افراد مسلول و همچنین گسترش بیماری در جامعه تا حد زیادی جلوگیری کرد. در این خصوص می‌توان به عواملی همچون الف) گزارش نتایج آزمایشات اسمیر مستقیم به صورت منفی کاذب (False Negative) که موجب تأخیر در تشخیص و درنهایت پیشرفت بیماری می‌شود، ب) موفق نبودن آزمایش‌های معمولی در ارائه نتایج دقیق و مشخص بیماری سل در حد معیارهای مورد انتظار، ج) نبود تجربه و مهارت لازم در تشخیص باکتری در میدان دید میکروسکوپی در آزمایش اسمیر مستقیم، اشاره کرد. به نظر می‌رسد نواقص ذکرشده را، می‌توان با استفاده از روش‌های آلودگی‌زدایی و تغلیظ‌سازی نمونه‌ها تا حدود زیادی برطرف کرد و با شناسایی به‌موقع، صحیح و دقیق، پیشرفت بیماری را در افراد مسلول و همچنین گسترش آن را در جامعه محدود کرد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، مقایسه نتایج حاصل از دو روش اسمیر مستقیم و پتروف نشان داد در روش پتروف شانس یافتن باسیل سل در نمونه‌ها به صورت میکروسکوپی بیشتر است که درنتیجه موجب افزایش دقت و سرعت در تشخیص بیماری می‌شود که این خود باعث جلوگیری از شدت یافتن بیماری در فرد مسلول و جامعه و همچنین افزایش شانس درمان به‌موقع و مؤثر می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله از طرح تحقیقاتی به شماره ۹۹۱۰۰۲۶۷۰۷ مصوب دانشگاه علوم پزشکی همدان گرفته شده است. بدین‌وسیله نویسندگان از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه و آزمایشگاه رفرانس سل استان همدان تشکر و قدردانی می‌کنند.

تضاد منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان با شناسه IR.UMSHA.REC.1399.733 تأییدیه دارد.

سهم نویسندگان

نویسنده اول (پژوهشگر همکار): جمع‌آوری نمونه‌ها و داده‌ها، مشارکت در نگارش مقاله (۳۰ درصد)؛ نویسنده دوم (پژوهشگر همکار): تحلیلگر آماری طرح، تدوین بخش روش‌شناسی (۱۰ درصد)؛ نویسنده سوم (پژوهشگر همکار): مشارکت در جمع‌آوری نمونه‌ها و داده‌ها، بازنگری متون و مبانی نظری، انجام آزمایش‌ها (۳۰ درصد)؛ نویسنده چهارم (پژوهشگر اصلی): مسئول مکاتبات، تدوین چارچوب اصلی طرح، نگارش بخش‌های مختلف طرح، نگارش و ویرایش علمی مقاله (۳۰ درصد).

حمایت مالی

این طرح از سوی دانشگاه علوم پزشکی همدان حمایت مالی شده است.

REFERENCES

1. World Health Organization. Information note: Tuberculosis and COVID-19. Geneva: WHO; 2020.
2. Gupta S, Shenoy VP, Mukhopadhyay C, Bairy I, Muralidharan S. Role of risk factors and socio-economic status in pulmonary tuberculosis: a search for the root cause in patients in a tertiary care hospital, South India. *Trop Med Int Health*. 2011;**16**(1):74-8. PMID: 21091857 DOI: 10.1111/j.1365-3156.2010.02676.x
3. Najafi Vosogh R, Roshanaei G, Khazaei S, Safari M, Zahiri A, Bothaei J. Study of tuberculosis epidemiology and its affected factors in Hamadan province, during the years 2007-2013. *Pajouhan Sci J*. 2015;**14**(1) :64-71. [Persian]
4. Ryu YJ. Diagnosis of pulmonary tuberculosis: recent advances and diagnostic algorithms. *Tuberc Respir Dis*. 2015;**78**(2):64-71. PMID: 25861338 DOI: 10.4046/trd.2015.78.2.64
5. Pollett S, Banner P, O'Sullivan MVN, Ralph AP. Epidemiology, diagnosis and management of extra-pulmonary tuberculosis in a low-prevalence country: a four year retrospective study in an Australian Tertiary Infectious Diseases Unit. *Plos One*. 2016;**11**(3):0149372. PMID: 26963244 DOI: 10.1371/journal.pone.0149372
6. Kodmon C. Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods for the European Union: ECDC; 2018.
7. Alavi Naini R, Sharifi Mood B, Metanat M, Hashemi SA. Rapid diagnostic tests for tuberculosis. *Zahedan J Res Med Sci*. 2011;**13**(7):1-7. [Persian]

8. Brown TJ, Power EG, French GL. Evaluation of three commercial detection systems for Mycobacterium tuberculosis where clinical diagnosis is difficult. *J Clin Pathol*. 1999;**52**(3):193-7. PMID: 10450178 DOI: 10.1136/jcp.52.3.193.
9. Styblo K. The global aspects of tuberculosis and HIV infection. *Bull Int Union Tuberc Lung Dis*. 1990;**65**(1):28-32. PMID: 2350607
10. Cadmus SIB, Falodun OI, Fagade OE. Methods of sputum decontamination with emphasis on local tuberculosis laboratories. *Afr J Med Sci*. 2011;**40**(1):5-14. PMID: 21834256
11. Tripathi K, Tripathi PC, Nema S, Shrivastava AK, Dwiwedi K, Dhanvijay AK. Modified petroff's method: an excellent simplified decontamination technique in comparison with petroff's method. *Int J RecTrend Sci Technol*. 2014;**10**(3):461-4.
12. Ghaderi H, Haghkhah M, Mosavari N, Keyvan T. Isolation, molecular identification and genomic pattern of mycobacterium bovis isolates collected from tuberculin-positive cattle in infected of Shiraz, Iran. *J Inflamm Dis*. 2020;**23**(6):526-39. Doi: 10.32598/JQUMS.23.6.5 [Persian]
13. Tabrizi JS, Fallah Rostami F, Ahmadi SS, Seyedi Dolatabad S. Socio-demographic factors affecting the prevalence of tuberculosis in Iran. *Crescent J Med Biol*. 2014;**1**(3):80-4. [Persian]
14. Babamahmoodi F, Alikhani A, Yazdani Charati J, Ghovvati A, Ahangarkani F, Delavarian L, et al. Clinical epidemiology and paraclinical findings in tuberculosis patients in north of Iran. *Biomed Res Int.* 2015;**2015**:1-5. PMID: 25695067 DOI: 10.1155/2015/381572
15. Yazdani Charati J, Kazemnejad A, Mosazadeh M. An epidemiological study on the reported cases of tuberculosisin Mazandaran (1999-2008) using spatial design. *J Mazandaran Univ Med Sci.* 2010;**19**(74): 9-16. [Persian]
16. Minoo Sepehr M, Fouladvand F, Mirzaei M. Evaluation of incidence and TB treatment success rates in Yazd Province (2005-2014). *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2019;**27**(8):1804-13. [Persian] DOI: 10.18502/ssu.v27i8.2035
17. Sattar A, Ansari Sh, Hussain M, Masood M, Anwar A, Reza A. Role of bleach sedimentation to improve the accuracy of sputum smear microscopy. *Ann Pak Inst Med Sci*. 2014;**10**(4): 212-4.
18. Angeby KA, Alvarado Galvez C, Pineda Garcia L, Hoffner SE. Improved sputum microscopy for a more sensitive diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2000;**4**(7):684-7. PMID: 10907772
19. Salem JI, Carvalho CM, Ogusku MM, Maia R, Ruffino Netto A. PKO: alternative method for isolating mycobacteria from sputum. *Acta Amazon*ica. 2007;**37**(3):419-24. DOI: 10.1590/S0044-59672007000300013
20. Alavi Naeini R, Niazi A, Metanat M, Keykha E, Ansari Moghadam A, Parsi Mood EN. Comparing the diagnostic value of sputum smear with and without sodium hypochlorite using light microscopy and fluorescent microscopy in patients suspected of pulmonary tuberculosis. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 201**6;** 26(137):42-9.
21. Ganoza CA, Ricaldi JN, Chauca J, Rojas G, Munayco C, Agapito J, Palomino JC, Guerra H. Novel hypertonic saline-sodium hydroxide (HS-SH) method for decontamination and concentration of sputum samples for Mycobacterium tuberculosis microscopy and culture. *J Med Microbiol*. 2008;**57**(9):1094-8. PMID: 18719178 DOI: 10.1099/jmm.0.2008/001339-0
22. Chaudhary SK, Mishra B. Comparison of hypertonic saline-sodium hydroxide method with modified petroff's method for the decontamination and concentration of sputum samples. *Int J Infect Microbiol*. 2013;**2**(3):81-78. DOI: 10.3126/ijim.v2i3.8664
23. Bunkhong A, Wonglumsom W, Pipatsatitpong D. Evaluation of hypertonic saline-sodium hydroxide method for concentration of sputum samples for mycobacterial culture. *Sci Technol Asia*. 2019;**24**(4):135–43.
24. Kang HK, Jeong BH, Lee H, Park HY, Jeon K, Huh HJ, et al. Clinical significance of smear positivity for acid-fast bacilli after ≥5 months of treatment in patients with drug-susceptible pulmonary tuberculosis. *Medicine.* 2016;**95**(31):1-7. PMID: 27495111 DOI: 10.1097/md.0000000000004540
25. Tripathi K, Tripathi PC, Nema S, Shrivastava AK, Dwiwedi K, Dhanvijay AK. Modified Petroff's method: an excellent simplified decontamination technique in comparison with Petroff's method. *Int J Rec Trend Sci Technol*. 2014;**10**(3):461-4.
26. Athira C, Joseph NM. Evaluation of hypertonic saline–sodium hydroxide method for isolation of mycobacterium tuberculosis on lowenstein–jensen medium. *J Cur Res Sci Med*. 2021;**7**(2):82-6.