

مقایسه حساسیت و ویژگی واکنش زنجیره پلی‌مراز و اسمیر خلط نسبت به کشت در تشخیص سل ریوی

چکیده

دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۲۷ ویرایش: ۱۳۹۷/۰۲/۰۳ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۲۰ آنلاین: ۱۳۹۷/۰۷/۳۰

زمینه و هدف: تشخیص مولکولی به‌روش تقویت اسیدهای نوکلئیک که تحت عنوان واکنش زنجیره پلی‌مراز (Polymerase chain reaction, PCR) شناخته می‌شود به‌تازگی مطرح گردیده است. هدف از انجام این مطالعه، مقایسه روش تشخیصی اسمیر و واکنش زنجیره پلی‌مراز نسبت به کشت از نظر حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی در تشخیص بیماری سل ریوی بود.

روش بررسی: در این مطالعه مقطعی، نمونه خلط ۵۸ بیمار مشکوک به سل ریوی مراجعه‌کننده به بیمارستان قائم (عج) مشهد، از ابتدای فروردین تا پایان اسفند ۱۳۹۶، گردآوری گردید. نمونه‌ها در کمتر از ۷۲ ساعت تحویل آزمایشگاه شد. از بیماران سه نوبت نمونه گرفته شد، در بیمارانی که قادر به تولید خلط نبودند برونکوسکوپی و برونکوآلئولار لاواژ انجام شد. پس از ۲۴ ساعت، جواب اسمیر گزارش شد. روش کشت به‌عنوان استاندارد طلایی در نظر گرفته شد و حساسیت و ویژگی واکنش زنجیره پلی‌مراز و اسمیرخلط با آن مقایسه گردید.

یافته‌ها: بیماران در محدوده سنی بین ۱۸ تا ۸۹ سال بودند. از بین ۵۸ سل ریوی مشکوک، در روش کشت وجود بیماری در ۲۵ مورد (۴۳/۱٪)، روش اسمیر اسید فست وجود بیماری در ۲۷ بیمار (۴۶/۶٪) و روش واکنش زنجیره پلی‌مراز در ۲۴ بیمار (۴۱/۴٪) تایید و به اثبات رسیده است. حساسیت اسمیر خلط در تشخیص سل ریوی ۱۰۰٪ و ویژگی ۹۳/۹٪ می‌باشد. ارزش اخباری مثبت این تست ۹۲/۶٪ و منفی ۱۰۰٪ می‌باشد. حساسیت روش واکنش زنجیره پلی‌مراز، ۸۸٪ و ویژگی ۹۳/۹٪ می‌باشد. ارزش اخباری مثبت این تست ۹۱/۷٪ و منفی ۹۱/۲٪ می‌باشد.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه از بین دو روش اسمیر و واکنش زنجیره پلی‌مراز، روش اسمیر اسید فست دارای حساسیت بالاتری در تشخیص سل ریوی نسبت به واکنش زنجیره پلی‌مراز داشته و ویژگی هر دو روش یکسان بوده است.

کلمات کلیدی: کشت، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، واکنش زنجیره پلی‌مراز، اسمیر.

مرضیه کازرانی^۱، ناهید جلالیان الهی^۲،
نجمه مهاجری^۳، کبارش قزوینی^۴،
سارا تقدیسی^۵، محمدرضا قفقازی^۶،
مهديه متقی^۷، رزیتا داودی^{۸*}

۱- گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد مشهد، مشهد، ایران.

۲- گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

۳- گروه آمار، مرکز تحقیقات ایمنی بیمار، دانشکده علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

۴- گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

۵- دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد مشهد، مشهد، ایران.

۶- گروه مهندسی پزشکی، دانشکده مهندسی، دانشگاه آزاد مشهد، مشهد، ایران.

۷- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

۸- مرکز تحقیقات ایمنی بیمار، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

* نویسنده مسئول: مشهد، بلوار فکوری، شهرک دانش و سلامت.

کدپستی: ۹۱۷۷۸۹۹۱۹۱ | تلفن: ۰۵۱-۳۸۰۴۹۵۵۵

E-mail: davoodir@mums.ac.ir

مقدمه

تشخیص زود هنگام سل (Tuberculosis, TB) یکی از چالش‌های اصلی در کاهش انتشار سل است و یک گام مهم برای برنامه کنترل سل در سراسر جهان است.^۱ تشخیص احتمالی سل براساس یافتن باسیل اسید فاست در امتحان

میکروسکوپی خلط و یا بافت انجام می‌شود. اگرچه این روش سریع و ارزان است اما حساسیت کمی (۶۰-۴۰٪) دارد. تشخیص نهایی با جدا کردن مایکوباکتریوم توبرکلوزیس از نمونه کلینیکی و یا تشخیص سکانس DNA با روش واکنش زنجیره پلی‌مراز است. این تست‌ها سریع بوده و حساسیت و ویژگی بالایی نزدیک به کشت دارد.^۲ در گذشته دو روش رنگ‌آمیزی اسمیر اسید فاست و کشت

خلط صبحگاهی خود را به دنبال یک سرفه عمیق در داخل ظرف مخصوص ریخته و درب آن را بسته و در کیسه نایلونی قرار داده، سپس نمونه‌ها در کمتر از ۷۲ ساعت تحویل آزمایشگاه داده شد. از بیماران سه نوبت نمونه خلط گرفته شد و برای بیمارانی که قادر به تولید خلط نبودند برونکوسکوپی و برونکوالوئولار لاواژ انجام شد. در آزمایشگاه از نمونه‌های خلط، ابتدا یک گستره از باکتری روی لام تهیه می‌کنیم. سطح لام را با رنگ کریول فوشین آغشته کرده لام حرارت داده شد تا رنگ تبخیر شود. به موازات تبخیر رنگ از روی لام، کریول فوشین بیشتری به آن اضافه می‌کنیم. این عمل را ۵ دقیقه ادامه می‌دهیم. سپس لام را سرد کرده و بعد شستشو می‌دهیم. لام را کج کرده تا رنگ اضافه خارج شود و بعد دوباره آن را می‌شویم. پس از آن با اسید-الکل ۳٪ رنگ‌بری انجام می‌دهیم. اسید الکل به مدت ۳ تا ۴ دقیقه بر روی لام پخش شده و در آخر برای افزایش کنتراست از یک رنگ زمینه مانند متیلن‌بلو به مدت ۱ دقیقه استفاده می‌کنیم. پس از مدت زمان ۲۴ ساعت، جواب آزمایش اسمیر توسط آزمایشگاه گزارش می‌شود. همچنین نمونه‌ها جهت انجام آزمایش کشت به آزمایشگاه تحقیقاتی سل بیمارستان قائم فرستاده شدند. نمونه‌ها در محیط کشت Lowenstein Jensen مایه‌کوبی شده و برای ۸ هفته نگهداری شدند، برای بررسی خواهد رشد، محیط‌های کشت هر هفته بررسی گردیدند. در این محیط کشت، کلونی‌های مایکوباکتریوم توبرکلوزیس شبیه خوشه‌های انگور یا گل کلمی رشد می‌کنند. جواب حاصل از کشت پس از ۴ تا ۸ هفته توسط آزمایشگاه گزارش می‌شوند و حداکثر تا ۴۰ روز، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در این محیط‌های کشت رشد می‌کند. پس از اعلام نتایج کشت توسط آزمایشگاه، نمونه‌ها به مدت ۲ ماه در آزمایشگاه نگهداری می‌شوند. نمونه خلط بیماران جهت انجام واکنش زنجیره پلی‌مراز به آزمایشگاه تحقیقاتی سلولی و مولکولی بیمارستان قائم فرستاده شدند. در آماده‌سازی نمونه‌ها جهت انجام PCR به هم حجم نمونه‌های خلط، بافر فسفات سالیین اضافه کرده و در ۵۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. مایع رویی را دور ریخته و سپس به محتویات باقیمانده ۵ μl پروتیین از اضافه و در دمای ۵۵ درجه به مدت ۳ ساعت و سپس در دمای ۹۵ درجه به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. نمونه DNA باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس در هر نمونه بیمار با استفاده از DNA extraction kit (Takapouzist Co., Tehran, Iran) استخراج گردید و سپس جهت تکثیر ژن باکتری و توالی پرایمر از PCR thermal cycler

مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به‌عنوان روش‌های استاندارد تشخیصی مطرح و مورد استفاده بودند اما این دو روش دارای محدودیت‌هایی می‌باشند. به طوری که روش اسمیر حساسیت پایینی دارد و نیازمند ۱۰^۴-۱۰^۳ باسیل در هر میلی‌متر نمونه بوده همچنین قابلیت افتراق بین مایکوباکتریوم توبرکلوزیس از سایر مایکوباکتریوم‌های غیر توبرکلوزیسی را ندارد، روش کشت به‌علت رشد آهسته ارگانیزم نیازمند زمان طولانی ۶-۳ هفته‌ای جهت رشد باکتری می‌باشد. هرچند با استفاده از تکنیک‌های مدرن این زمان را می‌توان به ۶-۹ روز کاهش داد اما منجر به انتشار عامل بیماری‌زا شده، وقت‌گیر بودن این روش و در مواردی دقت پایین مطرح‌کننده نیازمندی به روش سریع‌تر است.^{۳-۵} در سال‌های اخیر تشخیص مولکولی به روش‌های تقویت اسیدهای نوکلئیک که تحت عنوان واکنش زنجیره پلی‌مراز (Polymerase chain reaction, PCR) شناخته می‌شود، مطرح شده است. هدف اصلی این روش تعیین یک قطعه DNA اختصاصی در ارگانیزم‌های مختلف می‌باشد که به روش PCR مورد شناسایی قرار می‌گیرد. این روش قادر به شناسایی تعداد بسیار اندک میکروارگانیزم کمتر از ۱۰ می‌باشد که جهت تشخیص مایکوباکتریوم توبرکلوزیس به دلیل سادگی، سرعت و دقت بالاتری که از دو روش اسمیر و کشت دارد، بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد.^{۶-۸}

روش‌های اسمیر Acid-fast bacilli (AFB)، کشت مایکوباکتریال و روش Nucleic acid amplification assay (NAA) می‌تواند در تشخیص بیماری سل به کار رود.^۹ بنابراین هدف از این مطالعه مقایسه روش تشخیصی اسمیر و PCR نسبت به کشت از نظر حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی در تشخیص بیماری سل ریوی بود.

روش بررسی

در این مطالعه مقطعی ۵۸ بیمار مشکوک به سل ریوی که به بخش داخلی و عفونی بیمارستان قائم (عج) مشهد مراجعه کردند و بستری شدند وارد مطالعه شدند. پس از ارایه توضیحات کامل در مورد اهداف و ویژگی‌های طرح از آنان نمونه خلط گرفته شد. نمونه خلط بیماران، برای تهیه اسمیر با رنگ‌آمیزی زیل نلسون به آزمایشگاه تحقیقاتی سل بیمارستان قائم فرستاده شدند. بدین صورت که از بیماران خواسته شد

کاذب ۳ مورد بوده است. حساسیت روش واکنش زنجیره پلی‌مراز (نسبت به کشت به‌عنوان معیار استاندارد) در تشخیص سل ریوی ۸۸/۰٪ و ویژگی آن ۹۳/۹٪ می‌باشد. یعنی قدرت واکنش زنجیره پلی‌مراز در تشخیص واقعی موارد مثبت بیماری ۸۸/۰٪ و قدرت آن در تشخیص عدم وجود بیماری ۹۳/۹٪ بوده است. همچنین صحت واکنش زنجیره پلی‌مراز در افتراق افراد بیمار از غیربیمار ۹۱/۴٪ می‌باشد. افزون‌براین ارزش اخباری مثبت این تست ۹۱/۷٪ و ارزش اخباری منفی آن ۹۱/۲٪ می‌باشد. ضریب توافق کاپا بین نتیجه واکنش زنجیره پلی‌مراز و کشت نیز ۸۲٪ می‌باشد که این توافق از نظر آماری نیز معنادار است ($P < 0.0001^{**}$, $\kappa = 0.82$).

حساسیت روش اسمیر خلط (نسبت به کشت به‌عنوان معیار استاندارد) در تشخیص سل ریوی هم در بین زنان و هم در بین مردان ۱۰۰/۰٪ و ویژگی آن در مردان و زنان به‌ترتیب ۹۰/۰٪ و ۱۰۰/۰٪ می‌باشد. همچنین صحت اسمیر خلط در مردان ۹۳/۱٪ و در زنان ۱۰۰/۰٪ می‌باشد. افزون‌براین ارزش اخباری مثبت این تست در زنان و مردان به‌ترتیب ۱۰۰/۰٪ و ۸۱/۸٪ و ارزش اخباری منفی آن نیز در هر دو جنس ۱۰۰/۰٪ می‌باشد. ضریب توافق کاپا بین نتیجه اسمیر خلط و کشت نیز در بین مردان ۸۵٪ و در بین زنان ۱۰۰٪ می‌باشد که هر دو ضریب از نظر آماری نیز معنادار هستند ($P < 0.0001^{**}$).

حساسیت روش واکنش زنجیره پلی‌مراز (نسبت به کشت به‌عنوان معیار استاندارد) در تشخیص سل ریوی در زنان ۸۷/۵٪ و در مردان ۸۸/۹٪ و ویژگی آن در مردان و زنان به‌ترتیب ۹۰/۰٪ و ۱۰۰/۰٪ می‌باشد. همچنین صحت واکنش زنجیره پلی‌مراز در مردان ۸۹/۶٪ و در زنان ۹۳/۱٪ می‌باشد. افزون‌براین ارزش اخباری مثبت این تست در زنان و مردان به‌ترتیب ۱۰۰/۰٪ و ۸۰/۰٪ و ارزش اخباری منفی آن نیز به‌ترتیب برای مردان و زنان ۹۴/۷٪ و ۸۶/۷٪ می‌باشد. ضریب توافق کاپا بین نتیجه واکنش زنجیره پلی‌مراز و کشت نیز در بین مردان ۷۶٪ و در بین زنان ۸۶٪ می‌باشد که هر دو ضریب از نظر آماری نیز معنادار هستند ($P < 0.0001^{**}$).

۲۱ نفر از بیماران در گروه سنی زیر ۵۰ سال و ۳۷ نفر بالای ۵۰ سال سن داشته‌اند. حساسیت روش اسمیر خلط در تشخیص سل ریوی در هر دو گروه سنی ۱۰۰/۰٪ و ویژگی آن در گروه سنی بالای ۵۰ سال بیشتر از گروه سنی زیر ۵۰ سال است (۹۴/۷٪ در برابر ۹۲/۹٪). همچنین صحت اسمیر خلط در بیماران در سن بالای ۵۰ سال ۹۷/۳٪

(Model PC808, ASTEC, Fukuoka, Japan) استفاده شد و جهت تایید تکثیر ژن از روش الکتروفورز ژل آگارز استفاده گردید. پروسه انجام واکنش زنجیره پلی‌مراز حدود ۳ تا ۴ ساعت طول می‌کشد و پس از مدت زمان ۲۴ ساعت جواب آزمایش واکنش زنجیره پلی‌مراز توسط آزمایشگاه گزارش می‌شود. در این مطالعه روش کشت به‌عنوان استاندارد در نظر گرفته شده است و حساسیت و ویژگی روش‌های واکنش زنجیره پلی‌مراز و اسمیر خلط با آن سنجیده شده است. برای ارزیابی توان این دو روش در تشخیص سل ریوی در مقایسه با کشت، به‌کمک SPSS software, version 23 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) و با استفاده از جداول توافقی، حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی تعیین گردید و در ادامه میزان توافق دو روش توسط ضریب کاپا ارزیابی شد. سطح معناداری آزمون کمتر از ۰.۰۵٪ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

این مطالعه بر روی ۵۸ بیمار مشکوک به سل ریوی با میانگین سنی 56.7 ± 19.8 سال در محدوده‌ی سنی بین ۱۸ تا ۸۹ سال بوده است. نیمی از بیماران مورد بررسی زن و نیمی مرد بوده‌اند. توزیع فراوانی سل ریوی برحسب روش تشخیصی در جدول ۱ نشان داده شده است.

در مقایسه‌ی نتایج اسمیر خلط با کشت، فراوانی مثبت حقیقی ۲۵ مورد، مثبت کاذب ۲ مورد، منفی حقیقی ۳۱ مورد و منفی کاذب ۰ مورد بوده است. حساسیت روش اسمیر خلط (نسبت به کشت به‌عنوان معیار استاندارد) در تشخیص سل ریوی ۱۰۰/۰٪ و ویژگی آن ۹۳/۹٪ می‌باشد. یعنی قدرت اسمیر خلط در تشخیص واقعی موارد مثبت بیماری ۱۰۰/۰٪ و قدرت آن در تشخیص عدم وجود بیماری ۹۳/۹٪ بوده است. همچنین صحت اسمیر خلط در تشخیص افراد سالم از غیر سالم ریوی ۹۶/۵٪ می‌باشد. افزون‌براین ارزش اخباری مثبت این تست ۹۲/۶٪ و ارزش اخباری منفی آن ۱۰۰/۰٪ می‌باشد. ضریب توافق کاپا بین نتیجه اسمیر خلط و کشت نیز ۹۳٪ می‌باشد که این توافق از نظر آماری نیز معنادار است ($P < 0.0001^{**}$, $\kappa = 0.93$).

در مقایسه‌ی نتایج واکنش زنجیره پلی‌مراز با کشت، فراوانی مثبت حقیقی ۲۲ مورد، مثبت کاذب ۲ مورد، منفی حقیقی ۳۱ مورد و منفی

جدول ۱: توزیع فراوانی سل ریوی بر حسب روش تشخیصی

سل ریوی دارد	کشت		اسمیر		واکنش زنجیره پلی‌مراز	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
سل ریوی دارد	۲۵	۴۳/۱	۲۷	۴۶/۶	۲۴	۴۱/۴
سل ریوی ندارد	۳۳	۵۶/۹	۳۱	۵۳/۴	۳۴	۵۸/۶
کل	۵۸	۱۰۰/۰	۵۸	۱۰۰/۰	۵۸	۱۰۰/۰

پلی‌مراز مثبت داشتند و ۸۳٪ یا دارای اسمیر و یا واکنش زنجیره پلی‌مراز مثبت بودند.^{۱۱} بنابراین، چنین نتیجه گرفتند که استفاده از دو روش با هم امکان تشخیص موارد بیشتری را فراهم می‌سازد. در این مطالعه، در مقایسه‌ی نتایج واکنش زنجیره پلی‌مراز با کشت، قدرت واکنش زنجیره پلی‌مراز در تشخیص واقعی موارد مثبت بیماری ۸۸/۰٪ و قدرت آن در تشخیص عدم وجود بیماری ۹۳/۹٪ بوده است. همچنین صحت واکنش زنجیره پلی‌مراز در افتراق افراد بیمار از غیربیمار ۹۱/۴٪ می‌باشد. افزون‌براین ارزش اخباری مثبت این تست ۹۱/۷٪ و ارزش اخباری منفی آن ۹۱/۲٪ می‌باشد.

در مطالعه‌ای دیگر توسط Gupta و همکارانش نشان داده شد که حساسیت و ویژگی واکنش زنجیره پلی‌مراز به ترتیب ۹۱/۵ و ۸۶٪ می‌باشد که نتایج آن مشابه مطالعه کنونی می‌باشد.^{۱۲} در مطالعه‌ای توسط Singh و همکارانش نشان داده شد که واکنش زنجیره پلی‌مراز در مقایسه با اسمیر دارای حساسیت بیشتری می‌باشد.^{۱۳} در مطالعه Mousavi و همکاران، PCR مثبت دارای حساسیت ۵۰٪ و ویژگی ۱۰۰٪ بوده و ارزش اخباری مثبت ۱۰۰٪ و منفی ۹۳٪ داشت.^{۱۴} در مطالعه Querol و همکاران، واکنش زنجیره پلی‌مراز مثبت حساسیت ۶۲٪ و ویژگی ۸۰٪ با ارزش اخباری مثبت ۳۳٪ و منفی ۹۳٪ داشت.^{۱۱} بین دو روش اسمیر و PCR، روش اسمیر اسید فست دارای حساسیت بالاتری در تشخیص سل ریوی نسبت به PCR بود.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل (بخشی از) پایان‌نامه تحت عنوان "مقایسه حساسیت و ویژگی واکنش زنجیره پلی‌مراز و اسمیر خلط نسبت به کشت در تشخیص سل ریوی" در مقطع دکتری عمومی در سال ۱۳۹۶ و کد ۹۶۰۱۸۵ می‌باشد که با حمایت دانشگاه آزاد مشهد اجرا شده است.

و در افراد زیر ۵۰ سال ۹۵/۲٪ می‌باشد. افزون‌براین ارزش اخباری منفی تست نیز در هر دو گروه سنی ۱۰۰/۰٪ می‌باشد. ارزش اخباری مثبت روش اسمیر خلط نیز در گروه سنی بالای ۵۰ سال بیشتر از گروه سنی زیر ۵۰ سال است (۹۴/۷٪ در برابر ۸۷/۵٪). ضریب توافق کاپا بین نتیجه اسمیر خلط و کشت نیز در بین بیماران بالای ۵۰ سال ۹۵٪ و در بین بیماران زیر ۵۰ سال ۹۰٪ می‌باشد که هر دو ضریب از نظر آماری نیز معنادار هستند ($P < 0/0001^{**}$).

حساسیت روش واکنش زنجیره پلی‌مراز در تشخیص سل ریوی در گروه سنی زیر ۵۰ سال ۱۰۰٪ و در گروه سنی بالای ۵۰ سال ۸۳/۳٪ می‌باشد. همچنین ویژگی این روش در گروه‌های سنی مورد بررسی به ترتیب ۹۲/۹٪ و ۹۴/۷٪ می‌باشد. صحت واکنش زنجیره پلی‌مراز نیز در بیماران زیر ۵۰ سال ۹۵/۲٪ و در بیماران بالای ۵۰ سال ۸۹/۲٪ می‌باشد. افزون‌براین ارزش اخباری مثبت این تست در بیماران زیر ۵۰ سال و بالای ۵۰ سال به ترتیب ۸۷/۵٪ و ۹۳/۷٪ می‌باشد. ضریب توافق کاپا بین نتیجه واکنش زنجیره پلی‌مراز و کشت نیز در بین بیماران بالای ۵۰ سال ۷۸٪ و در بین بیماران زیر ۵۰ سال ۹۰٪ می‌باشد که هر دو ضریب از نظر آماری نیز معنادار هستند ($P < 0/0001^{**}$).

بحث

مطالعه Gholoobi و همکاران که به مقایسه اسمیر میکروسکوپی با ۳ روش مبتنی بر واکنش زنجیره پلی‌مراز با استفاده از دو پروتکل متفاوت استخراج DNA پرداخته بودند نشان داد که اسمیر دارای حساسیت ۷۵٪ و ویژگی ۸۳/۳۳٪ می‌باشد.^{۱۰} در مطالعه Querol و همکاران، ۴۷٪ بیماران اسمیر مثبت و ۷۸٪ آن‌ها واکنش زنجیره

References

1. Thornton CG, MacLellan KM, Brink TL Jr, Lockwood DE, Romagnoli M, Turner J, et al. Novel method for processing respiratory specimens for detection of mycobacteria by using C18-carboxypropylbetaine: blinded study. *J Clin Microbiol* 1998;36(7):1996-2003.
2. Raviglione MC, O'Brien RJ. Tuberculosis. In: Kasper F, Hauser F, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York, NY: MacGraw-Hill; 2012. P. 1340-85.
3. Salajka F, Mezensky L, Pokorny 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.
4. Al Zahrani K, Al Jahdali H, Poirier L, René P, Gennaro ML, Menzies D. Accuracy and utility of commercially available amplification and serologic tests for the diagnosis of minimal pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162(4 Pt 1):1323-9.
5. 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 Apr;6(4):350-5.
6. Parsons LM, Brosch R, Cole ST, Somoskövi A, Loder A, Bretzel G, et al. Rapid and simple approach for identification of Mycobacterium tuberculosis complex isolates by PCR-based genomic deletion analysis. *J Clin Microbiol* 2002;40(7):2339-45.
7. Asnaashari AM, Towhidi M, Farid R, Abbaszadegan MR, Attaran D, Fatemi SS, Darban AA. Evaluation of polymerase chain reaction for diagnosis of "tuberculous pleurisy". *Tanaffos* 2011;10(1):12-8.
8. Sheykholslami FM, Ziaee AA, Reza MK, Mohammadi F, Farnia P, Masjedi MR, et al. The diagnosis of pulmonary tuberculosis by PCR method. *Tanaffos* 2005;13(4):63-70.
9. Kobayashi M, Ray SM, Hanfelt J, Wang YF. Diagnosis of tuberculosis by using a nucleic acid amplification test in an urban population with high HIV prevalence in the United States. *PLoS One* 2014;9(10):e107552.
10. Gholoobi A, Masoudi-Kazemabad A, Meshkat M, Meshkat Z. Comparison of culture and PCR methods for diagnosis of mycobacterium tuberculosis in different clinical specimens. *Jundishapur J Microbiol* 2014;7(2):e8939.
11. Querol JM, Farga MA, Granda D, Gimeno C, García-de-Lomas J. The utility of polymerase chain reaction (PCR) in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Chest* 1995;107(6):1631-5.
12. Gupta P, Singh KP, Tripathi AK, Jain A, Prasad R. Role of polymerase chain reaction as a diagnostic tool in pulmonary tuberculosis. *J Recent Adv Appl Sci* 2013;28:19-24.
13. Singh KK, Muralidhar M, Kumar A, Chattopadhyaya TK, Kapila K, Singh MK, et al. Comparison of in house polymerase chain reaction with conventional techniques for the detection of Mycobacterium tuberculosis DNA in granulomatous lymphadenopathy. *J Clin Pathol* 2000;53(5):355-61.
14. Mousavi SAJ, Barati M, Kochari MR, Javadinia S, Talebi Taher M. Evaluation of the diagnostic value of PCR and smear for diagnosis of tuberculosis in bronchoalveolar lavage. *Razi J Med Sci* 2013;19(105):56-60.

Comparison of sensitivity and specificity of PCR and sputum smear compared to culture in diagnosis of tuberculosis

Marzieh Kazerani M.D.¹
Nahid Jalalian Elahi M.Sc.²
Najmeh Mohajeri M.Sc.³
Kiarash Ghazvini Ph.D.⁴
Sara Taghdisi M.D.⁵
Mohmadreza Ghafghazi B.Sc.
Student⁶
Mahdieh Motaghi Medical
Student⁷
Rozita Davoodi M.D.^{8*}

1- Department of Infection Diseases, Faculty of Medicine, Mashhad Azad University, Mashhad, Iran.

2- Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

3- Department of Statistic, Research Center for Patient Safety, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

4- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

5- School of Medicine, Mashhad Azad University, Mashhad, Iran.

6- Department of Medical Engineering, Faculty of Engineering, Mashhad Azad University, Mashhad, Iran.

7- Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

8- Research Center for Patient Safety, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

* Corresponding author: Shahrak Danesh Salamat, Fakori Blvd., Mashhad, Iran.
Postal Code: 9177899191
Tel: +98 51 38049545
E-mail: davoodir@mums.ac.ir

Abstract

Received: 16 Apr. 2019 Revised: 23 Apr. 2019 Accepted: 12 Oct. 2019 Available online: 22 Oct. 2019

Background: Molecular detection has recently been proposed by nucleic acid amplification, known as polymerase chain reaction (PCR). The aim of this study was to compare the diagnostic method of smear and polymerase chain reaction with culture in terms of sensitivity, specificity, positive and negative predictive value in the diagnosis of pulmonary tuberculosis.

Methods: In this cross-sectional study, sputum samples were collected from 58 patients with suspected pulmonary tuberculosis referred to Ghaem Hospital in Mashhad from the beginning of April 2017 to the end of March 2018. The samples were delivered to the laboratory in less than 72 hours. Patients were sampled for three times. Bronchoscopy and Broncho alveolar lavage were performed in patients who were unable to produce sputum. The smear test was reported by Ghaem's Laboratory after 24 hours. In our study, the culture method was considered as the gold standard and the sensitivity and specificity of the PCR methods and smear were compared with it.

Results: Patients ranged in age from 18 to 89 years. Among 58 suspected pulmonary tuberculosis, the method of cultivation confirmed the presence of the disease in 25 cases (43.1%). However, with smear, the presence of the disease has been proved in 27 patients (46.6%) and with the method of PCR in 24 patients was (41.4%). Sensitivity of smear in the diagnosis of pulmonary tuberculosis was (100%), and its specificity was 93.9%, the positive predictive value of this test was (92.6%) and the negative predictive value was (100.0%). The sensitivity of the PCR method in diagnosis of pulmonary tuberculosis was 88.0% and its specificity was 93.9%. The positive predictive value of this was (91.7%) and the negative predictive value was (91.2%).

Conclusion: In this study, between the two methods of smear and polymerase chain reaction, the acid fast smear method was more sensitive to the diagnosis of pulmonary tuberculosis than the polymerase chain reaction and the specificity of both methods were the same.

Keywords: culture, mycobacterium tuberculosis, polymerase chain reaction, smear.