Downloaded from journal.bums.ac.ir at 12:57 IRDT on Wednesday May 23rd 2018

مقایسه روشهای میکروسکوپی فلورسنت و زیل- نلسن در تشخیص باسیل مقاوم به اسید و الکل

دکتر مسعود ضیائی[1]- دکتر قدسیه آذرکار[2]- پیمان مالکی‌نژاد[3]

چکیده

زمینه و هدف: امروزه از فناوری پیشرفته‌ای برای تشخیص بیماری سل استفاده می‌شود ولی به دلیل عدم دسترسی و هزینه بالای آن در بیشتر مراکز، مطالعه حاضر با هدف تعیین ارزش و مقایسه دو روش قدیمی رنگ‌آمیزی Ziehl-Neelsen (ZN) و Fluorescence Microscopy (FM) در تشخیص بیماری‌سل انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی- تحلیلی در دو مرحله انجام شد. در مرحله اول ۳۱۲۵ نمونه از ۱۴۳۰ بیمار مشکوک به سل با علائم بالینی (ارجاع شده به آزمایشگاه مرکزی سل شهر بیرجند) از فروردین ۱۳۷۴ تا فروردین ۱۳۸۱ از نظر وجود Acid-Fast Bacilli (AFB) به وسیله رنگ‌آمیزی ZN و FM مورد بررسی قرار گرفتند. در مرحله دوم۵۰۰ بیمار از ۱۴۳۰ بیمار با هر دو روش ZN و FM بررسی شدند. اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از آزمونهای آماری ضریب توافق کاپا در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ مورد تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: در این بررسی ۱۱۶ (۸/۱٪) بیمار با روش FM، اسمیر مثبت را نشان دادند؛ از این تعداد ۴۱ نفر (۲/۹٪) با روش ZN هم اسمیر مثبت بودند. رنگ‌آمیزی ZN حساسیت ۳۵ درصدی را در نمونه‌های مثبت باFM نشان داد. زمانی که نمونه‌های اول و دوم هر دو با هم بررسی شدند، حساسیت ZN از ۳۵٪ به ۴۲٪ افزایش پیدا کرد. ۵۰۰ بیمار با هر دو روش ZN و FM بررسی شدند که ۳۰ نمونه با FM و ۲۶ نمونه با ZN اسمیر مثبت را نشان دادند؛ در کل ۳۷ نمونه با هر دو روش مثبت بودند. ضریب توافقی کاپا برای دو روش تشخیصی ZN و FM ۰/۶۶۰ به دست آمد (P<۰/۰۰۱). در این بررسی بر اساس معیار قرارگرفتن FM، روش رنگ‌آمیزی ZN حساسیت ۷۷/۳٪، ویژگی ۹۸/۵، ارزش اخباری مثبت ۸۵٪ و ارزش اخباری منفی ۹۷/۶ را نشان داد.

نتیجه‌گیری: با توجه به ضریب توافق بالای FM وZN هر دو روش برای بیماری سل تشخیصی است؛ اما زمانی که یک نمونه در دسترس باشد، FM ارجح است؛ بنابراین پیشنهاد می‌شود در مراکزی که امکان انجام رنگ‌آمیزی FM وجود دارد، جهت افزایش سرعت و حساسیت آزمایشها، ابتدا نمونه‌ها با FM بررسی و سپس نمونه‌های مثبت با ZN تأیید شوند.

واژه‌های کلیدی: سل؛ فلورسنت میکروسکوپ؛ زیل‌نلسن؛ باسیل‌اسیدفست

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند (دوره ۱۱، شماره ٤، سال ۱۳۸۳)

[1] (نویسنده مسؤول) متخصص بیماریهای عفونی؛ استادیار گروه آموزشی داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند
آدرس: بیرجند- خیابان غفاری- دانشگاه علوم پزشکی بیرجند- دانشکده پزشکی
تلفن: ۹-۰۵۶۱-۴۴۴۳۰۴۱ دورنگار: ۰۵۶۱-۴۴۴۳۰۰۱ پست الکترونیکی: npziaee@yahoo.com
[2] پزشک عمومی
[3] دانشجوی پزشکی

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 12:57 IRDT on Wednesday May 23rd 2018

مقدمه

بیماری سل یکی از قدیمی‌ترین بیماریها است که گریبانگیر بشر می‌باشد. بر اساس آمارهای موجود سالانه حدود ۸ میلیون بیمار مسلول جدید در دنیا شناسایی می‌شوند؛ ضمن آن که همه ساله حدود ۳ میلیون نفر در دنیا به دلیل ابتلا به این بیماری جان خود را از دست می‌دهند (۱).

در ابتدای سال ۱۹۹۰ سالیانه ۳/۸ میلیون مورد سل جدید که ۹۰٪ آن در کشورهای در حال توسعه بود، به سازمان بهداشت جهانی گزارش شد. با این حال به دلیل سطح محدود بیماریابی و گزارش‌دهی ناکافی در بسیاری از برنامه‌های ملی، این رقم تنها مشتی از خروار است. در سال ۱۹۹۵، این رقم ۸/۸ میلیون نفر تخمین زده شد که ۹۵٪ آنها در کشورهای در حال توسعه بود (۲). میزان آلودگی جدید به این باسیل در سال ۲۰۰۴ در آمریکا با توجه به تمامی اقدامات پیشگیری انجام شده، ۱۴۵۱۱ نفر برآورد شد (۳).

تا سال ۱۹۸۴، بیماری سل در آمریکا و کشورهای اروپایی رو به کاهش و پس از آن رو به افزایش نهاد که به طور عمده به دلیل شیوع ایدز و عوامل دیگری مثل افزایش تعداد بی‌خانمان‌های شهری، معتادان تزریقی و اهمیت ندادن به برنامه‌های کنترل سل بود (۴). مشکلات عدیده‌ای از جمله کمبود آگاهی جامعه درباره این بیماری، تشخیص با تأخیر این بیماری، درمان غلط یا قطع درمان در زمان نامناسب، مقاومت دارویی در مایکوباکتریوم‌ها و در نهایت گسترش بیماری ایدز سبب شده تا هنوز بشر نتواند بر این بیماری مهلک غلبه نماید (۲).

همان‌طور که ذکر شد یکی از مشکلات عمده موجود بر سر راه مبارزه با این بیماری، عدم تشخیص صحیح و بموقع می‌باشد. با توجه به موارد ذکر شده، نیاز به روشهای تشخیصی دارای ویژگیهای زیر، بشدت احساس می‌شود:

۱- از حساسیت و اختصاصی بودن بالایی برخوردار باشند.

۲- سرعت بالایی در کسب نتایج داشته باشند.

۳- هزینه بالایی برای انجام آنها نیاز نباشد.

بررسی میکروسکوپی نمونه‌های کلینیکی از نظر وجود باسیل مقاوم به اسید و الکل، سریعترین، راحت‌ترین و ارزان‌ترین روش تشخیص بیماری سل بخصوص در جمعیتی از بیماران که بیماری را به دیگران منتقل می‌نمایند، می‌باشد (۵). موضوع از این نظر که این شیوه، تنها شیوه تشخیص بیماری در بسیاری از کشورهای فقیر می‌باشد، اهمیت ویژه‌ای می‌یابد؛ گرچه بررسی میکروسکوپی نمونه‌ها از نظر باسیل اسید فست [§](AFB) از اختصاصیت خوب و بی‌نظیری برای شناسایی مایکوباکتریوم‌ها برخوردار است اما حساسیت این روش مطلوب نمی‌باشد (۵).

حساسیت بررسی میکروسکوپی تحت تأثیر عوامل متعددی مانند شدت بیماری، نوع نمونه، کیفیت جمع‌آوری نمونه، تعداد مایکوباکتریوم‌های موجود در نمونه، روش فرآوری نمونه، روش رنگ‌آمیزی نمونه و در نهایت کیفیت بررسی نمونه می‌باشد (۶-۱۲).

در حال حاضر دو روش رنگ‌آمیزی AFB در آزمایشگاههای مایکوباکتریولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرند. یکی از اینها روش رنگ‌آمیزی با استفاده از کربول فوشین[**] (زیل نلسن[††] یا کاینیون[‡‡]) و دیگری روش استفاده از رنگهای فلئوروکروم[§§] (اورامین یا اورامین- ردامین[***]) می‌باشد.

با توجه به این که در آزمایشگاه سل مرکز بهداشت شهرستان بیرجند از هر دو روش رنگ‌آمیزی برای بررسی نمونه‌های بیماران مشکوک به سل استفاده می‌شود، در این مطالعه نتایج بررسیهای به عمل آمده از ۱۴۳۰ بیمار مشکوک به سل و میزان حساسیت این دو روش با هم مقایسه شد.

لازم به ذکر است طبق بررسی انجام شده، تا زمان انجام این تحقیق، مشابه این مطالعه در ایران انجام نشده بود.

---

§ Acid-Fast Bacilli (AFB)
** Carbol-Fucin
†† Ziehl-Neelsen (ZN)
‡‡ Kinyoun
§§ Fluorochorom
*** Auramin-Rhodamin

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 12:57 IRDT on Wednesday May 23rd 2018

روش بررسی

این بررسی در دو قسمت و به صورت گذشته‌نگر انجام شد. در یک مطالعه توصیفی- تحلیلی ابتدا تمامی نمونه‌های کلینیکی پذیرش‌شده آزمایشگاه سل مرکز بهداشت بیرجند از ابتدای سال ۱۳۷۴ تا پایان سال ۱۳۸۱ که از نظر AFB به هر دو روش رنگ‌آمیزی ZN و اورامین- رودامین مورد بررسی قرار گرفته بودند و نتایج اسمیر آنها با روش رنگ‌آمیزی اورامین- رودامین از نظر AFB، مثبت گزارش شده بود، مورد مطالعه قرار گرفتند. در این گروه از نمونه‌ها نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی ZN با نتیجه حاصل از رنگ‌آمیزی اورامین- رودامین مقایسه شدند.

در بخش دوم این مطالعه ۵۰۰ نمونه کلینیکی پذیرفته‌شده در آزمایشگاه سل مرکز بهداشت بیرجند از ابتدای سال ۱۳۷۴ که از نظر AFB به هر دو روش رنگ‌آمیزی ZN و اورامین- رودامین مورد بررسی قرار گرفته بودند، بدون در نظر گرفتن نتیجه حاصل از بررسی اسمیر مورد مطالعه قرار گرفتند. در این گروه از نمونه‌ها، نتایج حاصل از بررسی نمونه از نظر AFB با هر یک از روشهای رنگ‌آمیزی فوق‌الذکر با هم مقایسه شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها در بخش آمار توصیفی از جداول توزیع فراوانی و در بخش آمار تحلیلی و مقایسه نتایج حاصل از آزمون ضریب توافق کاپا استفاده گردید؛ $P\leq ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این بررسی در مرحله اول ۱۴۳۰ نمونه از بیماران مشکوک به سل مورد بررسی قرار گرفتند که ۱۱۶ (۸/۱٪) بیمار با روش FM، اسمیر مثبت را نشان دادند و از این عده ۴۱ نفر (۲/۹٪ کل بیماران) با روش ZN هم اسمیر مثبت بودند.

رنگ‌آمیزی ZN حساسیت ۳۵ درصدی را در نمونه‌های مثبت با FM نشان داد و زمانی که اسمیرهای خلط نوبت اول و دوم بیماران هر دو با هم بررسی شدند، حساسیت رنگ‌آمیزی ZN از ۳۵٪ به ۴۲٪ افزایش پیدا کرد.

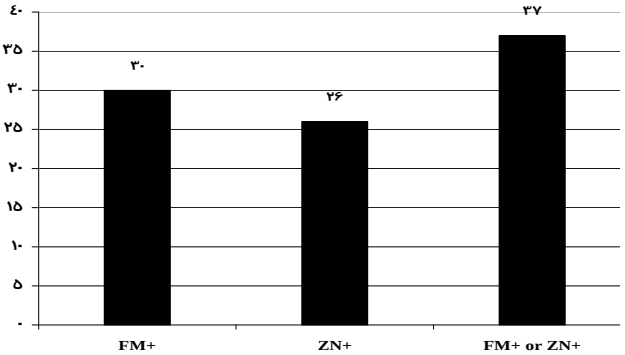
بر اساس شدت آلودگی نیز این مقایسه انجام گردید که در نمونه‌های یک مثبت با رنگ‌آمیزی FM، ZN حساسیت ۲۸٪ و دو مثبت ۴۳٪، سه مثبت ۵۰٪ و چهار مثبت ۸۰٪ را نشان داد.

۵۰۰ بیمار از ۱۴۳۰ بیمار با هر دو روش ZN و FM بررسی شدند که ۳۰ نمونه با FM و ۲۶ نمونه با ZN اسمیر مثبت را نشان دادند. در کل ۳۷ نمونه با یکی از هر دو روش مثبت بودند (نمودار ۱). ضریب توافقی کاپا برای هر دو روش تشخیصی ZN و FM ۰/۶۶۰ به دست آمد ($P<۰/۰۰۱$).

در این بررسی بر اساس معیار قرار گرفتن FM، روش رنگ‌آمیزی ZN حساسیت ۷۷/۳٪، ویژگی ۹۸/۵، ارزش اخباری مثبت ۸۵٪ و ارزش اخباری منفی ۹۷/۶٪ را نشان داد.

بحث و نتیجه‌گیری

روشهای رنگ‌آمیزی ZN و فلورسنت میکروسکوپ (FM)[†††] به عنوان روشهای معمول برای تشخیص آزمایشگاهی سل به کار می‌روند. این روشها هر کدام دارای مزایا و معایب خاص خود می‌باشند. تاکنون مطالعات متعددی جهت بهبود حساسیت روش بررسی میکروسکوپی نمونه‌ها صورت گرفته است. بخشی از این مطالعات در جهت مقایسه حساسیت دو روش رنگ‌آمیزی ZN و فلئوروکروم بوده است.



نمودار ۱- میزان شیوع بیماران اسمیر مثبت با دو روش رنگ‌آمیزی زیل- نلسن و اورامین- رودامین

[†††] Fluorescence Microscopy (FM)

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 12:57 IRDT on Wednesday May 23rd 2018

در مطالعه Habeenzu و همکاران، از ۴۸۸ نمونه مورد بررسی۶۶ نمونه از نظر باسیل AFB با رنگ‌آمیزی ZN مثبت گزارش شدند؛ در حالی که این میزان با روش رنگ‌آمیزی اورامین- فنل (یکی از روشهای رنگ‌آمیزی با رنگهای فلئوروکروم) ۱۵۲ نمونه مثبت از ۴۸۸ نمونه به دست آمد (۱۳). در این مطالعه حساسیت روش رنگ‌آمیزی FM ۲/۳ برابر حساسیت روش رنگ‌آمیزی ZN بود؛ در مطالعه حاضر حساسیت روش رنگ‌آمیزی FM ۲/۸ برابر بود؛ مطالعه Murray و همکاران نیز اختلاف معنی‌دار حساسیت این دو شیوه رنگ‌آمیزی را نشان داد (۱۴).

در بررسی دیگری که توسط Ulukanligil و همکاران بر روی ۴۶۵ بیمار مشکوک به سل انجام شد، مشخص گردید در مواردی که فقط یک نمونه در دسترس است، روش FM از حساسیت ۸۵/۲٪ و روش ZN از حساسیت ۶۷/۱٪ برخوردار است. با تکرار نمونه‌ها در سه نوبت، حساسیت ZN ۸۰٪ و حساسیت FM ۹۲٪ می‌گردد؛ به پیشنهاد این محققان در مواردی که چند نمونه برای ارزیابی تشخیصی از نظر سل در دسترس است، هر دو روش ZN و FM حساسیت قابل توجهی دارند ولی در مواردی که یک نمونه در دسترس است، روش FM ارجح است (۱۵).

Kivihya Ndugga و van Cleeff در مطالعه‌ای بر روی ۱۳۹۸ بیمار مشکوک به سل، دریافتند که در تشخیص سل، روش FM نسبت به روش ZN از حساسیت بیشتری برخوردار است و از نظر اقتصادی نیز با توجه به سرعت تشخیص بیشتر و حساسیت بالاتر، مقرون به صرفه‌تر می‌باشد؛ همچنین روش FM در تشخیص بیماران HIV مثبت حساس‌تر عمل می‌کند و در این مطالعه پیشنهاد کردند که از این روش به عنوان یک روش اولیه در تشخیص بیماران مشکوک به سل استفاده شود (۱۶). در مطالعه حاضر نیز با تکرار نمونه‌ها حساسیت روش ZN ۷٪ افزایش پیدا نمود (از۳۵٪ به ۴۲٪).

در مطالعه Githui و همکاران بر روی ۱۴۸۰ بیمار، حساسیت و اختصاصی‌بودن FM و ZN در مورد یک نوبت اسمیر با هم مقایسه گردید و حساسیت FM در یک نوبت ۸۰٪ و حساسیت ZN ۶۸٪ گزارش شد. در همین مورد، روش ZN اختصاصیت ۹۶٪ و روش FM اختصاصیت ۹۸٪ را نشان داد. محققان در گزارش خود پیشنهاد کردند، در مواردی که احتمال منفی‌بودن روش ZN به دلیل کم‌بودن تعداد باسیل زیاد است، روش FM می‌تواند به عنوان روشی حساس و مقرون به صرفه جایگزین روش ZN شود؛ همچنین در آزمایشگاههایی که به دلیل تعدد نمونه‌های ارسالی، وقت کمی برای تکرار ZN وجود دارد، می‌توان از روش FM به عنوان یک روش جایگزین حساس و قابل اعتماد استفاده کرد (۱۷). در مطالعه حاضر بر اساس شدت آلودگی، حساسیت روش ZN متفاوت بود و با افزایش شدت آلودگی حساسیت این روش افزایش نشان داد.

Yanagisawa و Shimada در مورد روشهای ارزیابی بیماران جهت نحوه پاسخ به درمان و ارزیابی معیارهای ترخیص از بیمارستان در بیمارستان City Ida در منطقه Kanto ژاپن، با مقایسه حساسیت و اختصاصی بودن روش ZN و FM با روش استاندارد کشت در محیط لون اشتاین جانسون، به این نتیجه رسیدند که ارزیابی بیماران با روش FM روش مطمئنی جهت تعیین نحوه پاسخ به درمان می‌باشد و علاوه بر این می‌تواند به عنوان روشی معتبر برای گذاشتن معیارهای ترخیص از بیمارستان نیز عمل نماید (۱۸).

در بیشتر مطالعات انجام‌شده، حساسیت رنگ‌آمیزی به روش ZN حدود ۲۵-۷۵٪ گزارش شده است (۳-۶). در مطالعه حاضر بر اساس معیار قرار گرفتن روش رنگ‌آمیزی FM، روش رنگ‌آمیزی ZN حساسیت ۷۷/۳٪ را نشان داد. عوامل مؤثر بر میزان حساسیت رنگ‌آمیزی به روش ZN عبارتند از:

۱- مطلوب بودن نمونه گرفته شده

۲- تعداد نمونه‌های بررسی شده

۳- شدت آلودگی نمونه‌های گرفته شده

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 12:57 IRDT on Wednesday May 23rd 2018

۴- میزان دقت و حوصله فرد انجام‌دهنده آزمایش

روش رنگ‌آمیزی ZN ساده‌ترین و قابل دسترس‌ترین روش برای تشخیص آزمایشگاهی سل است ولی به علت نیاز به بررسی حداقل ۱۰۰ شان میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر، نیازمند دقت و حوصله زیاد جهت انجام این آزمایش می‌باشد. روش رنگ‌آمیزی اورامین- رودامین با استفاده از میکروسکوپ FM این قابلیت را دارد تا با دیدن تنها ۱۰ شان با بزرگنمایی ۱۰ برابر همان میدان بینایی را اسکن نماید؛ با این تفاوت که مدت زمان لازم برای این کار چند دقیقه خواهد بود (۱۵).

ویژگیهای روش FM برای رنگ‌آمیزی AFB عبارتند از:

الف- قابلیت بررسی لام با بزرگنمایی کمتر

ب- قابلیت اسکن‌کردن سریع سطح لام در عرض چند دقیقه

ج- قابلیت بررسی نمونه‌های دارای باسیل کم که با روش ZN تشخیص داده نمی‌شوند.

د- این روش کاملاً مقرون به صرفه هم در زمان و هم در هزینه است و برای آزمایشگاههای با حجم نمونه بالا توصیه می‌شود (۱۵).

ذ- نکته دیگر در مورد روش رنگ‌آمیزی FM این است که روشهای مورد استفاده برای Cytocentrifugation، تأثیر زیادی بر افزایش حساسیت این روش ندارند و فقط هزینه آزمایشها را بالا می‌برند (۱۹).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ضریب توافق کاپای بالایی بین روش ZN و FM وجود دارد (۰/۶۶۰) (P<۰/۰۰۱)؛ بنابراین می‌توان گفت هر دو روش جهت تشخیص بیماری سل روشهای مناسبی می‌باشند.

پیشنهاد می‌شود در مراکزی که امکان رنگ‌آمیزی FM وجود دارد، به منظور افزایش سرعت و حساسیت آزمایشها، ابتدا نمونه‌ها با روش رنگ‌آمیزی اورامین- رودامین بررسی شوند، سپس نمونه‌های مثبت با روش رنگ‌آمیزی ZN تأیید گردند.

تقدیر و تشکر

از آقای علیرضا سعادت‌جو که بررسیهای آماری این تحقیق را بر عهده داشتند و نیز از آقای دکتر اویسی که در تدوین مقاله همکاری داشتند و از آقایان دکترسعید فردین‌فر و دکتر ایمان کاشانی که در جمع‌آوری اطلاعات همکاری داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع:

1- Ashok R, Awdhesh K, Nishat A. Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis: Molecular Perspectives. Emerging Infectious Diseases [serial online] 1998; 4 (2): 32-50. Available from: url:http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol4no2/contents.htm. Accessed Des 21, 2003.

2- Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. Harrison's Principles of Internal Medicine. 15th ed. New York: McGraw-Hill; 2001. pp: 1024-31.

3- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Trends in tuberculosis--United States, 2004. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2005 Mar 18;54(10):245-9.

4- Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. New York: Churchill-Livingstone; 2000. pp: 43, 2579, 2581-83, 2588-89, 2603.

5- Somoskovi A, Hotaling JE, Fitzgerald M, O'Donnell D, Parsons LM, Salfinger M. Lessons from a proficiency testing event for acid-fast microscopy. Chest. 2001; 120 (1): 250-57.

6- Sinha SK, Chatterjee M, Bhattacharya S, Pathak SK, Mitra RB, Karak K, et al. Diagnostic evaluation of extrapulmonary tuberculosis by fine needle aspiraton (FNA) supplemented with AFB smear and culture. J Indian Med Assoc. 2003; 101 (10): 588, 590-1.

7- Scott CP, Dos Anjos Filho L, De Queiroz Mello FC, Thornton CG, Bishai WR, Fonseca LS, et al. Comparison of

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 12:57 IRDT on Wednesday May 23rd 2018

C(18)-carboxypropylbetaine and standard N-acetyl-L-cysteine-NaOH processing of respiratory specimens for increasing tuberculosis smear sensitivity in Brazil. J Clin Microbiol. 2002; 40 (9): 3219-22.

8- Alp A, Pinar A, Hascelik G. Comparison of Cobas Amplicor system and microscopic examination with bactec radiometric method for the detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical samples. Mikrobiyol Bul. 2004; 38 (3): 193-201. Turkish.

9- Aljafari AS, Khalil EA, Elsiddig KE, El Hag IA, Ibrahim ME, Elsafi ME, et al. Diagnosis of tuberculous lymphadenitis by FNAC, microbiological methods and PCR: a comparative study. Cytopathology. 2004; 15 (1): 44-8.

10- Selvakumar N, Sudhamathi S, Duraipandian M, Frieden TR, Narayanan PR. Reduced detection by Ziehl-Neelsen method of acid-fast bacilli in sputum samples preserved in cetylpyridinium chloride solution. Int J Tuberc Lung Dis. 2004; 8 (2): 248-52.

11- Ashok R, Awdhesh K, Nishat A. Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis: Molecular Perspectives. Emerging Infectious Diseases [serial online] 1998 April- June; 4(2): 32-50. Available from: url:http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol4no2/contents.htm Accessed Des 21, 2003.

12- Laboratory Services in Tuberculosis Control: Part 2. Microscopy. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1998;258.

13- Habeenzu C, Lubasi D, Fleming AF. Improved sensitivity of direct microscopy for detection of acid-fast bacilli in sputum in developing countries. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1998; 92 (4): 415-16.

14- Murray SJ, Barrett A, Magee JG, Freeman R. Optimisation of acid fast smears for the direct detection of mycobacteria in clinical samples. J Clin Pathol. 2003; 56 (8): 613-15.

15- Ulukanligil M, Aslan G, Tasci S. A comparative study on the different staining methods and number of specimens for the detection of acid fast bacilli. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000; 95 (6): 855-58.

16- Kivihya-Ndugga LE, van Cleeff MR. A comprehensive comparison of Ziehl-Neelsen and fluorescence microscopy for the diagnosis of tuberculosis in a resource-poor urban setting. Int J Tuberc Lung Dis. 2003; 7 (12): 1163-71.

17- Githui W, Kitui F, Juma ES. A comparative study on the reliability of the fluorescence microscopy and Ziehl-Neelsen method in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. East Afr Med J. 1993; 70 (5): 263-66.

18- Yanagisawa N, Shimada H. Current status of the criteria for discharging patients with pulmonary tuberculosis results of questionnaire survey on the criteria for discharging patients from tuberculosis wards of the hospitals in Kanto area. Kekkaku. 2004; 79 (6): 375-80.

19- Woods GL. Concentration of sputum by cytocentrifugaion for preparation of smears for detection of acid fast bacilli doesn’t increase sensitivity of the flurochrome stain. J Clin Microbial. 1995; 33 (7): 1915-16.

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 12:57 IRDT on Wednesday May 23rd 2018

A comparison of Fluoresence microscipy with the Ziehl-Neelsen and technique for the detection of acid-fast bacilli

M. Ziaee*, Gh. Azarkar, P. Maleki Nejad*****

* Assistant Professor, Department of Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
** General Practitioner
*** Student of Medicine

Abstract

Background and Aim: Nowadays new methods are used to detect TB. But due to their costs and technological limitations for all, we compare two old staining methods, Ziehl-Neelsen (ZN) and fluorescence, and their diagnostic values in detection of TB.

Materials and Methods: This descriptive analytical study was done in two steps. First, 1430 patients of suspected having TB who were referred to central TB laboratory of Birjand and 3125 specimens were collected between April 1995 and April 2002. These specimens were stained by carbolfuchsin (Ziehl-Neelsen) and auramin – 0 (fluorochorom) to detect acid fast bacilli (AFB). In the second step 500 patients out of 1430 cases were studied applying ZN and FM methods. Among these, 30 cases of FM and 26 cases of ZN had positive smear. On the whole, 37 cases were positive, using either method. The gathered data were analyzed by means of kappa agreement multiplex statistical test.

Results: In this study 116 patients (8.1%) were smear positive with fluorescence microscopy (FM) and 41 patients of this group (2.9%) were also positive with ZN. ZN staining showed 35% sensitivity in positive FM specimens. When the first and second specimens, were simultaneously studied, sensitivity of ZN rose from 35% to 42%. The 500 patients were studied with both ZN and FM. 30 specimens were positive with FM, and 26 were positive with ZN, and in addition 37 specimens were positive with both techniques. Agreement multiplex kappa for these detective methods-ZN and FM- was 0.660 ($P<0.001$). In this study by setting FM as a basement, ZN sensitivity was 77.3%, specificity was 98.5%, positive predictive value 85%, and negative predictive value 97.6%.

Conclusion: These results showed that due to high agreement between ZN and FM, both FM and ZN methods have detective value for the diagnosis of TB, but when only one specimen is available, FM is preferred. So, we suggest that, where possible, suspected specimens are first stained by FM [to improve velocity and sensitivity] then positive specimens be checked with ZN staining.

Key Words: Mycobacterium tuberculosis; Fluorescence microscopy; Ziehl-Neelsen; Acid fast bacilli

Downloaded from journal.bums.ac.ir at 12:57 IRDT on Wednesday May 23rd 2018