مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۳ شماره‌های۲ و۳ تابستان و پائیز ۱۳۸۸، صفحات ۸ – ۱

بررسی همبستگی نتایج روش Microscopic-observation drug susceptibility، رنگ‌آمیزی زیل نلسون و کشت در محیط لون اشتاین جانسن در بیماران مشکوک به سل ریوی

زهره امین زاده[۱*]، فاطمه فلاح[۲]، بنفشه منافیان[۳]، پروانه بقایی[۴]

۱) گروه بیماری‌های عفونی و گرمسیری، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲) گروه میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، بیمارستان کودکان مفید
۳) گروه بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۴) مرکز تحقیقات سل و بیماری‌های ریه، بیمارستان مسیح دانشوری
نویسنده رابط: زهره امین زاده، تهران، خیابان کارگر جنوبی، خیابان کمالی، بیمارستان لقمان حکیم
تلفن : ۵۵۴۱۱۷۱۷ zohrehaminzadeh@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله : ۸۸/۱/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله : ۸۸/۱۱/۲۵

چکیده:

زمینه و اهداف: رنگ‌آمیزی زیل نلسون نمونه خلط، روش ابتدایی تشخیص بیماری سل ریوی است. تشخیص بیماری با کشت تایید می‌شود. در برخی مطالعات، رشد سریع‌تر میکروارگانیسم و حساسیت و ویژگی بالای محیط کشت مایع، نشان داده شده است . هدف از این مطالعه تعیین همبستگی نتیجه روش Microscopic-observation drug susceptibility (MODS) با روش‌های استاندارد در مبتلایان به سل ریوی بود.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی به روش مشاهده‌ای– مصاحبه‌ای بود. بررسی بر روی ۱۰۰ بیمار مشکوک به سل ریوی بستری در بیمارستان مسیح دانشوری انجام شد. از هر بیمار یک نمونه خلط صبحگاهی جهت رنگ آمیزی زیل نلسون، کشت در محیط لون اشتاین جانسن و روش MODS جمع آوری شد. مقاومت *مایکوباکتریوم توبرکولوزیس* جدا شده به روش MODS تعیین گردید.

یافته ها: رنگ آمیزی زیل نلسون در ۴۰ نفر (۴۰٪)، کشت در محیط لون اشتاین جانسن در ۳۰ نفر (۳۰٪) و روش MODS در ۴۷ نفر (۴۷٪) مثبت شد. بین نتایج روش MODS و کشت رابطه معنی‌دار و همبستگی بین آن‌ها مستقیم ومعنی‌دار بود($P<0.0001$, $r=+0.39$). رابطه بین وجود پلورزی با نتیجه روش MODS معنی‌دار و همبستگی بین آن دو معکوس و معنی‌دار بود($P<0.05$, $r=-0.23$). مقاومت چند دارویی (Multidrug resistance:MDR) ۵۵٪ بود. میزان مثبت شدن روش‌های تشخیصی فوق در موارد MDR کمتر بود. همبستگی ابتلا به سل مقاوم و نتیجه روش MODS معنی‌دار، مستقیم و قوی بود. ($P<0.0001$, $r=+0.96$)

نتیجه گیری : با افزایشMDR ، تسریع در شناخت وضعیت مقاومت حائز اهمیت است. این امر با روشMODS ممکن می‌باشد. ولی با توجه به شیوع کمتر مثبت شدن این روش در بیماران MDR ،بایستی کشت استاندارد نیز در بیماران مشکوک به سل ریوی انجام شود.

کلید واژه‌ها: سل، MODS ، زیل نلسون ، لون اشتاین جانسن ، مقاومت

مقدمه:

بیماری سل به عنوان علت مهم مرگ ومیر و ناتوانی در دنیا شناخته شده است. سازمان جهانی بهداشت تخمین می‌زند که یک سوم جمعیت دنیا به مایکوباکتریوم توبرکولوزیس آلوده بوده و سالانه بیشتر از ۸ میلیون مورد جدید از سل فعال رخ می‌دهد(۳-۱). مدت کوتاهی پس از شروع درمان بیماری سل، سل مقاوم به درمان با مقاومت به استرپتومایسین توسط pyke در سال ۱۹۴۷ گزارش شد(۴) ودر سال ۱۹۴۸ جامعه تحقیقات پزشکی انگلستان گزارشی از مرگ و میر به‌دنبال درمان با استرپتومایسین را در بیماران مبتلا به سل ریوی ارائه نمود(۵). سل با مقاومت چند دارویی Multidrug resistance (MDR) که با مقاومت به حداقل دو داروی ایزونیازید و ریفامپین مشخص می‌شود(۶) در اوایل ۱۹۹۰ به صورت اپیدمی‌هایی در چند ایالت آمریکا گزارش گردید(۷). امروزه سل مقاوم به دارو به عنوان یک مشکل جهانی در آمده است(۸). مشاهده باسیل اسید فاست از طریق رنگ آمیزی زیل نلسون با میکروسکوپ، روش ابتدایی در تشخیص سل در سراسر دنیاست. ولی این روش تشخیصی قادر به تعیین مقاومت دارویی نیست، حساسیت آن هم زیاد نمی‌باشد(۶). لذا، لازم است تشخیص بیماری سل با کشت تایید شود(۹). کشت مایکوباکتریوم توبرکولوزیس به روش سنتی در محیط لون اشتاین جانسن انجام می‌شود. رشد باکتری به طور متوسط ۳ هفته طول می‌کشد که علاوه برآن جهت تعیین وضعیت حساسیت به دارو به ۳ تا ۴ هفته دیگر هم نیاز دارد(۱۰).

کنترل موفق بیماری سل نیازمند تشخیص به موقع و درمان موثر این بیماری است. مایکوباکتریوم توبرکولوزیس در محیط مایع سریع‌تر از محیط جامد رشد می‌کند(۱۱). مطالعات مختلفی حساسیت و ویژگی بالای روش microscopic –observation drug susceptibility (MODS) در تشخیص و نیز امکان تشخیص سریع‌تر بیماری را گزارش کرده‌اند. همچنین این مطالعات شناخت مقاومت میکروبی سل در کوتاهترین زمان ممکن راتایید می‌نمایند(۱۷-۱۲). اما، در مطالعات مذکور همبستگی نتیجه کشت به روشMODS با روش‌های استاندارد بررسی نشده است.در مطالعه حاضر نتیجه کشت به روش MODS با دو روش رنگ آمیزی زیل نلسون و کشت در محیط لون اشتاین جانسن بر روی نمونه خلط بیماران مشکوک به سل ریوی مقایسه شد. همبستگی نتیجه روش MODS با روش‌های استاندارد سنتی نیز محاسبه گردید.

مواد و روش‌ها:

روش تحقیق توصیفی و تکنیک انجام آن مشاهده‌ای- مصاحبه‌ای بود. نمونه‌گیری به صورت متوالی انجام شد. بر اساس امکانات تیم تحقیق در مدت پنج ماه ۱۰۰ بیمار مشکوک به سل ریوی بستری در بیمارستان مسیح دانشوری که برای ورود به طرح اعلام آمادگی نموده بودند، انتخاب شدند. بعد از کسب شرح حال از بیماران، در صورتی که طبق معیارهای بالینی و براساس قضاوت متخصص بیماری‌های عفونی مشکوک به ابتلا به سل ریوی بودند، رادیوگرافی قفسه سینه درخواست گردید. در صورتی که بر اساس نظر رادیولوژیست تغییرات رادیوگرافی بیمار هم توجیه‌کننده بیماری سل ریوی بود، بیمار به عنوان مشکوک به سل ریوی تلقی شده و وارد مطالعه می‌شد. کلیه بیماران این مطالعه موارد جدید ابتلابه سل بودند.

از بیماران یک نمونه خلط به آزمایشگاه ارسال و طبق روش استاندارد (۱۰) با استفاده از سدیم هیدروکسید N استیل L سیستئین آلودگی‌زدایی گردید. بخشی از هر نمونه برای رنگ آمیزی زیل نلسون ، بخشی برای تلقیح در محیط کشت لون اشتاین جانسن ، و قسمتی هم برای بررسی با روش MODS استفاده می‌شد. برای کشت در محیط لون اشتاین(Gold standard method) ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه آماده شده تلقیح می‌شد و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه می‌گردید. سپس دوبار در هفته از روز هفتم تا شصتم به منظور مشاهده رشد کلنی‌ها کلیه نمونه‌ها بررسی می‌شدند. در روش MODS (۱۸) به پلیت‌های ۲۴ خانه کشت بافت، محیط مایع میدل بروک 7H9، (broth base; Becton Dickinson: Oxalic acid ، Dextrose , Catalase)OADC ، 5.9gr/L) nalidixic acid ، (, Albumin و amphotricin B اضافه

می‌شد. ۷۲۰ میکرولیتر از نمونه آماده شده به هر خانه اضافه می‌گردید. برای هر نمونه ۱۲ خانه منظور شده و کنترل‌های منفی و مثبت نیز لحاظ می‌شدند. بعد از انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد ، روزانه همه نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری معکوس (invert) بررسی می‌شدند. نمونه‌های مثبت با مشاهده تشکیل cord که مشخصه رشد باسیل سل است، شناسایی می‌شدند. با افزودن آنتی بیوتیک‌های ایزونیازید، ریفامپین ، اتامبوتول و پیرازنیامید به ترتیب با غلظت‌های ۰/۲ µg/ml ، ۲µg/ml، ۲/۵&۷/۵µg/ml و ۶µg/ml ، به خانه‌های پلیت به‌طور همزمان مقاومت داروئی هم بررسی می‌شد.مقاومت به حداقل ۲داروی ایزونیازید، ریفامپین به عنوان سل با مقاومت چند دارویی(MDR) محسوب می‌گردید(۶).

با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS (version 11.5 , Inc. USA) و آزمون‌های آماری (Spearman , X^2) داده‌ها تجزیه و تحلیل شدند. $P<0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

مشخصات دموگرافیک بیماران در جدول ۱ نشان داده شده است. ۴۸ لبمار (۴۸٪) بیمار در گروه سنی ۲۰ تا ۶۰ سال قرار داشتند، ۹ نفر (۹٪) کمتر از ۲۰ سال و ۴۳ نفر (۴۳٪) بیش از ۶۰ سال داشتند. دامنه شنی بیماران ۱۵ تا ۸۷ سال و میانگین آن ۲۱/۸۳ ± ۵۲/۹ سال بود.

نتایج آزمایشگاهی در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱: مشخصات دموگرافیک، علایم بالینی و رادیولوژی در بیماران مشکوک به سل ریوی

مشخصات و علائم بیماران	تعداد	درصد
جنس : مرد	۴۸	۴۸
زن	۵۲	۵۲
علایم بالینی:		
سرفه	۹۶	۹۶
خلط	۸۹	۸۹
هموپتزی	۲۵	۲۵
کاهش وزن	۸۵	۸۵
تب	۷۵	۷۵
تعریق	۷۴	۷۴
تظاهرات رادیوگرافی قفسه سینه:		
درگیری قله ریه	۸۸	۸۸
در گیری لوب میانی و تحتانی	۷۹	۷۹
درگیری دو طرفه پارانشیم	۶۴	۶۴
کاویتی	۵۵	۵۵
نمای ارزنی	۷	۷
لنفادنوپاتی ناف ریه	۴	۴

جدول ۲: نتایج آزمایشگاهی دربیماران مشکوک به سل ریوی

نتایج مثبت	تعداد	درصد
رنگ‌آمیزی زیل‌نلسون	۴۰	۴۰
کشت لوین‌اشتاین	۳۰	۳۰
کشت روش MODS	۴۷	۴۷
مقاومت به:		
ایزونیازید	۶۲	۶۲
اتامبوتول	۶۱	۶۱
ریفامپین	۶۰	۶۰
پیرازینامید	۵۵	۵۵
مقاومت چند دارویی (MDR)	۵۵	۵۵
مثبت شدن توام رنگ آمیزی و روش MODS	۳۳	۳۳
مثبت شدن توام رنگ آمیزی وکشت در محیط لون اشتاین حانسن	۲۳	۲۳
مثبت شدن توام کشت در محیط لون اشتاین جانسن و روش MODS	۲۶	۲۶
نتایج مثبت توام سه روش رنگ آمیزی زیل نلسون و کشت MODS و کشت محیط لون اشتاین	۱۹	۱۹

بین نتیجه روش MODS با رنگ آمیزی زیل نلسون نمونه خلط رابطه معنی دار آماری وجود داشت (P<0.0001). به این صورت که از ۵۳ نمونه کشت منفی MODS ، ۴۶ نمونه اسمیر خلط منفی و فقط ۷ مورد اسمیر خلط مثبت داشتند و همبستگی بین نتیجه MODS و نتیجه رنگ‌آمیزی زیل نلسون مستقیم و معنی‌دار (r=+0.581 , P<0.00001) بود.

بین نتیجه روش MODS با نتیجه کشت در محیط لون اشتاین جانسن از نمونه خلط بیماران رابطه معنی دار وجودداشت (P<0.0001) بدین ترتیب که از ۵۳ نمونه کشت منفی MODS ، ۴۹ نمونه نتیجه منفی در محیط کشت محیط لون اشتاین جانسن داشتند. همبستگی بین نیتجه MODS ونتیجه محیط لون اشتاین جانسن مستقیم و معنی دار (r=+0.52 P<0.0001) بود.

رابطه آماری معنی داری بین نتیجه روش MODS با نتیجه انجام دو روش تشخیصی زیل نلسون وکشت در محیط لون اشتاین جانسن توام با هم وجود داشت. (P<0.0001) بدین صورت که از ۵۳ بیمار با نتیجه منفی کشت MODS ، فقط در چهار نمونه نتیجه توام دو روش تشخیصی فوق مثبت بود. همبستگی ضعیفی بین نتیجه روش MODS با نتیجه انجام دو روش تشخیصی زیل نلسون و کشت در محیط لون اشتاین جانسن توام به صورت مستقیم و معنی دار (r=+0.39 , P<0.0001) وجود داشت.

رابطه اماری معنی‌داری بین شکایت سرفه با نتیجه روش MODS نمونه خلط بیماران مشاهده گردید (P<0.05) بدین ترتیب که از ۴۷ بیمار با کشت مثبتMODS ، ۴۳ بیمار (۹۱/۵٪) از سرفه شکایت می‌کردند. همبستگی بین نتیجه MODS و شکایت سرفه به صورت معکوس و معنی دار (r= -0.28 P<0.05) بود.

رابطه معنی‌دار آماری بین شکایت سرفه با نتیجه رنگ آمیزی زیل نلسون خلط بیماران وجود نداشت. (P>0.05) از ۴۰ بیمار با رنگ آمیزی مثبت زیل نلسون ۳۷ بیمار(۹۲/۵٪) از سرفه نیز شکایت داشتند.

رابطه آماری بین وجود پلورزی با نتیجه روش MODS معنی دار بود(P<0.005). بدین گونه که ۶ بیمار از ۴۷ بیمار با کشت منفی MODS، پلورزی داشتند. همبستگی بین نتیجه روشMODS با وجود پلورزی به صورت معکوس و معنی‌دار (P<0.002 , r= -0.24) بود. بررسی مقاومت دارویی در روشMODS نشان داد که در ۵۵٪ موارد مقاومت توام مایکوباکتریوم توبرکولوزیس به ایزونیازید و ریفامپین(MDR) وجود داشته است. در ۵۳٪ موارد میاروارگانیسم جدا شده از بیماران علاوه بر مقاومت به ایزونیازید و ریفامپین به دو داروی اتامبوتول و پیرازنیامید هم مقاوم بود.

شیوع مثبت شدن روش‌های تشخیصی رنگ‌آمیزی زیل نلسون خلط، کشت در محیط لون اشتاین جانسن و روش MODS در بیماران با مایکوباکتریوم حساس به دارو (Non-MDR) به ترتیب در۶۹٪ ، ۵۵/۵٪ و ۱۰۰٪ موارد بود. در حالیکه شیوع مثبت شدن روش‌های تشخیصی فوق در بیماران با مایکوباکتریوم MDR به ترتیب ۱۶،۵٪، ۹٪، ۳/۵٪ بوده است. رابطه آماری معنی‌داری بین ابتلا به سل MDR با نتیجه رنگ آمیزی زیل نلسون خلط وجود داشت(P<0.0001). از ۵۵ بیمار مبتلا به MDR ، ۹ بیمار رنگ آمیزی زیل نلسون مثبت داشتند. همبستگی بین ابتلا به سل MDR با نتیجه رنگ آمیزی زیل نلسون مسقیم و معنی دار بود (r=+0.53 P<0.0001).

رابطه آماری بین ابتلا به سل MDR با نتیجه کشت در محیط لون اشتاین جانسن معنی دار بود(P<0.0001). بدین ترتیب که از ۵۵ بیمار مبتلا به MDR ، ۵۰ بیمار کشت منفی و ۵ بیمار کشت مثبت در محیط لون اشتاین جانس داشتند. همبستگی بین ابتلاء به سل MDR با نتیجه کشت در محیط لون اشتاین جانسن مستقیم و معنی دار بوده است (r=+0.52 P<0.0001)

رابطه آماری معنی داری بین ابتلا به سل MDR با نتیجه روش MODS وجود داشت (P<0.001). از ۵۵ بیمارمبتلا به سل MDR در دو بیمار روش MODS مثبت بود. همه ۴۵ بیمار مبتلا به سل Non-MDR کشت خلط MODS مثبت داشتند. همبستگی بین ابتلا به سل MDR و نتیجه روش MODS قوی، مستقیم و معنی دار بود(r=+0.96 P<0.0001)

همچنین به لحاظ آماری رابطه بین ابتلا به سل MDR باوجود پلورزی در بیماران معنی دار بود (P<0.05).

۶ بیمار از ۵۵ بیمار مبتلا به سل MDR، پلورزی داشتند. همبستگی بین ابتلا به سل MDR باپلورزی معکوس، ضعیف و معنی دار بود (r=-0.23 P<0.05)

بحث:

در مطالعه حاضر میزان روش MODS مثبت ۱/۵ برابر کشت در محیط لون اشتاین جانسن است، که مشابه نتایج Oberhelman (۱۶) است.Oberhelman تحقیقی در کودکان ۱۲ ساله و کوچکتر باعلایم سل ریوی انجام داد. او نمونه ترشحات معده، مدفوع و آسپیراسیون ترشحات نازوفارنکس را بررسی کرد. در ۸۶/۸٪ کشت MODS مثبت و در ۵۳/۵٪ کشت در محیط لون اشتاین جانسن مثبت بود. MODS مثبت ۱/۵ برابر محیط لون اشتاین جانسن مثبت بوده است. این میزان با نتایج مطالعات Moore (۱۳)، Caviedes(۱۷) و Arias(۱۸) که میزان مثبت شدن دو روش کشت فوق تقریبا برابر بوده متفاوت است. مطالعه Moore (۱۳) بر روی ۵۷۷۱ نمونه و مطالعهArias (۱۸) در چند مرکز در کشورهای با شیوع بالای سل و مطالعه Caviedes (۱۷) بر روی ۱۷۲نمونه در پرو انجام گرفته است. با توجه به نکات فوق مطالعه حاضر نشان می‌دهد که MODS می‌تواند به عنوان یک روش تشخیصی در کشور ما استفاده شود.

در این مطالعه بین نتیجه روش MODS با نتیجه رنگ آمیزی زیل نلسون و همچنین بانتیجه کشت در محیط لون اشتاین جانسن رابطه معنی دار آماری و همبستگی قابل قبول مستقیم و معنی دار وجود دارد. نتایج نشان می‌دهد ۳ درصد بیماران مورد مطالعه فقط با انجام رنگ آمیزی زیل نلسون بر روی نمونه خلط شناسایی شدند. سازمان جهانی بهداشت انجام آزمایش میکروسکپی خلط با رنگ آمیزی اسید فاست را در بیماران علامت دار جهت تشخیص سل ریوی در سه نوبت (نوبت اول در روز مراجعه بیمار، نوبت دوم نمونه خلط روز بعد overnight و نمونه سوم در صبح روز دوم مراجعه) توصیه می‌نماید(۱۹، ۲۰)

بین شکایت سرفه با نتیجه رنگ آمیزی زیل نلسون نمونه خلط رابطه معنی‌دار آماری وجود نداشت . اما، این رابطه

با روش MODS وجود داشت. روش رنگ آمیزی اسید فاست می‌تواند بیمارانیرا که از نظر اپیدمیولوژی در انتقال عفونت به اطرافیان نقش دارند شناسایی نماید. این رنگ آمیزی ویژگی بسیار بالایی دارد، ولی وجود مشکلاتی نظیر نیاز به تجهیزات، پرسنل آموزش دیده ونیز حداقل ۱۵ دقیقه زمان جهت هر لام قبل از گزارش پاسخ منفی ازمحدودیت‌های آن می‌باشد (۲۱، ۲۲). ولی روش مثبت MODS در مطالعه Menqatto(۲۳) که در کمتر از ۱۰ روز گزارش شد از امتیازات این روش است. مطالعه حاضر نشان می‌دهد شیوع مثبت شدن رنگ آمیزی زیل نلسون ، کشت در محیط لون اشتاین جانسن و روش MODS در بیماران مبتلا به سل Non-MDR بیش از نتایج در بیماران مبتلا به سل MDR است. به عبارت دیگردر بیماران مبتلا به سل MDR احتمال مثبت شدن کشت در محیط لون اشتاین جانسن ۲/۵ برابر روش MODS است . پس، انجام کشت در محیط لون اشتاین جانسن همراه با MODS ضروری به نظر می‌رسد. در بیماران مبتلا به سل Non-MDR احتمال مثبت شدن روش MODS دو برابر کشت در محیط لون اشتاین جانشن می‌باشد. با توجه به اینکه مدت زمانی که صرف بررسی روشMODS می‌شود بسیار کوتاه‌تر از روش کشت در محیط لون اشتاین جانسن می‌باشد (۱۸،۱۳، ۲۴،۲۳) به نظر می‌رسد با انجام روش MODS می‌توانیم در زمان کوتاه‌تری به تایید تشخیص سل دست یابیم. اگر چه احتمال مثبت شدن آن در بیماران MDR کمتر است.

در این مطالعه ۵۵ درصد به ایزونیازید و ریفامپین (MDR)، ۵۳ درصد به دو داروی اتامبوتول و پیرازینامید مقاوم بودند. بررسی وضعیت مقاومت مایکوباکتریوم توبرکولوزیس از نوع MDR با استفاده از روش MODS در مطالعات Moore(۱۳) ، park (۱۵)، Arise (۱۸) به عنوان تست دقیق‌تر و سریع‌تر از روش مرجع و نیز با حساسیت خوب بیش از ۹۰٪ تا ۱۰۰٪ نشان داده شده است. در هر صورت بعضی مطالعات نظیر Moore(۱۳) و Caviedes(۱۷) یک تشخیص بیش از حد بیماری از نوع MDR(0verdignosed) و بعضی مطالعات نظیر Shiferaw(۲۴) تشخیص کمتر بیماری سل از نوع MDR (Underdignesedc) را مطرح می‌نمایند. با همه تناقضات موجود می‌توان تسریع در تشخیص بیماری سل با روش کشت MODS (۱۴ ، ۱۷) و تعیین وضعیت مقاومت دارویی در مدت کوتاه (۲۴) و نیز نمای اختصاصی مایکوباکتریوم توبرکولوزیس در محیط کشت مایع(۲۵) را از محاسن این روش تشخیصی به حساب آورد.

مطالعه حاضر نشان داد که رابطه آماری معنی‌دار و همبستگی ضعیف، معکوس و معنی‌داری بین نتیجه روش MODS با پلورزی وجود دارد، و بیماران مبتلا به سل MDR کمتر دچار عارضه پلورزی شده بودند. توجیه این یافته نیاز به تحقیقات بالینی بیشتری دارد.

نتیجه‌گیری:

امروزه با افزایش سل MDR به عنوان یک خطر جهانی (۸)، تسریع در شناخت وضعیت مقاومت مایکوباکتریوم توبرکولوزیس جدا شده بسیار حائز اهمیت می‌باشد. ولی به دلیل آنکه روش‌های تعیین مقاومت استاندارد درمحیط‌های جامد در بسیاری از مناطق آندمیک بیماری سل به حداقل زمان ۳ تا ۵ هفته‌ای نیاز دارند(۲۶)، به نظر می‌رسد روش MODS راهی سریع در تشخیص بیماری و تعیین وضعیت مقاومت آن باشد. اما، به دلیل احتمال مثبت شدن کمتر این روش تشخیصی در بیماران مبتلا به سل MDR نسبت به بیماران مبتلا به سل Non-MDR ، لازم است کشت استاندارد در محیط لون اشتاین جانسن در بیماران مشکوک به سل ریوی حتما در کنار روش‌های کشت مایع انجام شود.

فهرست مراجع:

1.Raviglione MC, snider DE, kochi A. Global epidemiology of tuberculosis morbidity and mortality of a world wide epidemic. *JAMA* 1995; **273**:220-6

2.Dye C, Scheele S, Dolin P, , Pathania V, Raviglione MC. Global burden of tuberculosis : estimated incidence, prevalence, and mortality by country. *JAMA* 1999;**282**: 677-89.

3.World Health organization. World health report 1999: making a difference. Geneva : *world health organization*, 1999.

4.Pyle MM. Relative numbers of resistant tubercle bacilli in sputum of patients before and during treatment of streptomycin. *Proc staff Meetings Mayo Clinic* 1947;**22**: 465-473.

5.Medical research council. Streptomycin treatment of pulmonary tuberculosis. *Br Med J* 1948;**2**: 769-82.

6.Nachea JB, Chaisson RE. Tuberculosis drug resistance: A global threat *Clin Infec Dis* 2003; **36** (supp 1):S24-30.

7.Frieden TR, Sterling T, Pablos-Mendez A, Kilburn Jo, Cauthen GM, Dooley SW. The emergence of drug resistance tuberculosis in New york city. *N Engle J Med* 1993; **328**:521-6.

8.Schluger NW. The impact of drug resistance on the global tuberculosis epidemic. *Int J tuber lung dis* 2000; **4**:571-5.

9.Dunlap NE, Bass J, Fujiwara P, Hopewell P, Horsburgh CR , Salfinoer M, *etal*.. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J respire crit care Med* 2000; **161(4)**:1376-95.

10.Kent BD, Kubica GP. A guide for the level III laboratory. Public health mycobacteriol 1985; 36-187.

11.Cheng Af, Li MS, Chan cy, Lyon D, wise R, lee JC. Evaluation of three culture media and their combinations for the isolation of *mycobacterium tuberculosis* from pleural aspirates of patients with tuberculous pleurisy. *J trop Med Hyg* 1994 ; **97**:249-253.

12.Moore DA, Evans C. Gilman RH. Microscopic – observation drug susceptibility assay for the diagnosis of TB. *N Engle J Med* 2006;**355** :1539-50

13.Moore DA, Mendoza D, Gliman Rh. Microscopic observation drug susceptibility assay, a rapid, reliable diagnostic test for multidrug resistant tuberculosis suitable for use in resource-poor settings. *J Clin Microbiol* 2004; **42**(10):4432-7.

14.Moore DA, Caviedes L, Cornel J. Infrequent MODS TB culture cross-contamination in a high burden resource-poor setting. *Diagn Microbial Infec Dis* 2006; **56**(1):35-43.

15.Park WG, Bishai ER, Chaissan TE, Dorman SE. Performance of the microscopic observation drug susceptibility assay in drug susceptiblity testing for *Mycobactetrium tuberculosis*. *J Clin Microbial* 2002;**40**(12):4750-2

16.Oberhelman RA, Soto-castellares G, Carvieds L. Improved recovery of *Mycobacterium tuberculosis* from children using the microscopic observation drug susceptiblity method. *Pediatrics* 2006;**118**(1):100-6

17.Caviedes L, Lee Ts, Gilman RH, Sheen P, Spellman E, Lee EH , *etal*. Rapid, efficient detection and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* broth cultures. *J Clinic Micobiol* 2000;**38**(3),1203-1208

18.Arias M, Mello F.C.Q , Pavoin A, Marsico AG, Alvarado-Ga'lvez c, Rosales S. Clinical evaluation of the micrpscopic – observation drug susceptibility assay for detection of tuberculosis.*CID* 2007;**44**:674-680.

19.Enarson DA, Reider HL, Arnadottir T, Trebucq A. Tuberculosis guide for low income countries. 4th ed; *IUATLD*, 1996.PP:120-156

20-APL Consensus Expert Committee. API TB Consensus Guidelines 2006; Management of pulmonary tuberculosis, extra-pulmonary tuberculosis and tuberculosis in special situations. *J Assoc physicians India* 2006;**54**:210-34.

21.Narain R, Subba-Roa MS, Chandrasekhar P. Microscopy positive and microscopy negative cases of pulmonary *tuberculosis. Am Rev Respir Dis* 1971; **103**:761-773.

22.Rouillon A,Perdizer S, Parrot R. Transmission of *tubercle bacilli*: the effect of chemotherapy. *Tubercle* 1976;57:275-299.

23.Mengatto L, Chiani Y, Imaz MS. Evaluation of rapid alternative methods for drug susceptibility testing in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mem Inst Oswoldo cruz* 2006**;101**(5):535-42.
24.Shiferaw G, Woldeamenuel Y, Gebeyehu M, Girmachew F, Demessie D, Lemma E. Evaluation of microscopic observation drug susceptibility assay for detection of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *J Cclin Microb* 2007;**45**(4):1093-1097.
25.Morris AJ, Reller LB. Relability of cord formation in BACTEC media for presumpative identification of *Mycobacteria*. *J Clin Microb* 1993; **31**:2533-2534.
26.Matthew S, Paramasivan CN, Rehman F, Balambal R, Rajaram K, Prabhakar R. A direct rifampicin sensitivity test for tubercle bacilli. *Indian J Med Res* 1995;**102**:99-103.