Original Article

Paramedical Sciences and Military Health
Volume 14, Number 1, Spring 2019

Evaluation of new microbiological methods in the diagnosis of bloodstream infections

Amir Darb Emamie[1], Mohammadreza Rajabpour[1], Mahdi Ghorbani[2]*, Mojgan Mohajeri Iravani[3]

[1] *Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.*
[2] *Department of Laboratory Sciences, Paramedical Faculty, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran.*
[3] *Department of Anesthesiology, Paramedical Faculty, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

Abstract

Introduction: Rapid identification and antibiotic susceptibility testing (AST) of bloodstream infections (BSIs) are essential for the initiation of antimicrobial therapy and can provide benefits for both clinical treatment and reducing costs. The aim of this study was to investigate and discuss the advantages and disadvantages of recent technologies and advances in culture-based and molecular-based methods including magnetic resonance, mass spectrometry, PCR-based methods, direct inoculation methods, and nucleic acid and peptide fluorescence hybridization. Being familiar with new microbiological methods can provide new insights for improvement of diagnosis and treatment of patients with septicemia and the diagnosis of bloodstream infections.

Materials and methods: this study is a review article extracted from several databases including PubMed, Scopus, google scholar, SID and magiran.

Results: Overall, in recent studies, it can be concluded that there are still limitations in the use of novel diagnostic methods to identify the microorganisms present in the bloodstream infection. One of these limitations is the lack of new equipment in laboratories, as well as the lack of skilled staff in most hospitals and clinics. Also, there has not been review articles about cost management and the use of new equipment. In sum, new diagnostic methods are increasing in use, but it is necessary to optimize them.

Conclusion: Although blood culture is still the gold standard for diagnosing bloodstream infections, new methods are still in development and there are need to do more investigation about their sensitivity and specificity.

Keywords: Bloodstream infections, Blood culture, Molecular methods, Antimicrobial susceptibility testing

*(Corresponding Author) Mahdi Ghorbani, Department of Laboratory Sciences, Paramedical Faculty, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: m.ghorbani@ajaums.ac.ir

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

مقاله تحقیقاتی

مجله علوم پیراپزشکی و بهداشت نظامی
سال چهاردهم، شماره یک، بهار ۱۳۹۸

بررسی و ارزیابی روش‌های نوین آزمایشگاهی در تشخیص عفونت‌های دستگاه گردش خون

امیر درب امامیه[۱]، محمدرضا رجب‌پور[۱]، مهدی قربانی[۲]*، مژگان مهاجری ایروانی[۳]

[۱] گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۲] گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران
[۳] گروه هوشبری، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: تشخیص سریع و آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی عوامل ایجاد کننده عفونت‌های سیستم گردش خون برای آغاز فوری درمان ضد میکروبی موثر ضروری است. هدف از این مطالعه بررسی و بحث در مورد داده‌های تجربی، مزایا و معایب تکنولوژی‌ها و پیشرفت‌های اخیر روش‌های نوین آزمایشگاهی در تشخیص عفونتهای دستگاه گردش خون می‌باشد، که شناخت و درک آنها می‌تواند دیدگاه‌های جدیدی را برای بهبود، تشخیص و درمان بیماران مبتلا به سپتی سمی و تشخیص عفونت فراهم کند.

مواد و روش‌ها: مطالعه حاضر یک مقاله مروری بوده که اطلاعات مورد نیاز با جستجو در پایگاه‌ها و منابع اطلاعاتی معتبر شامل: pubmed، schopus، google scholar، SID و magiran استخراج گردیده است.

نتایج: بصورت کلی در مطالعات بررسی شده می‌توان به این نتیجه رسید که هنوز هم مشکلات و محدودیت‌هایی در استفاده از روش‌های تشخیصی نوین برای شناسایی عوامل موجود در عفونت سیستم گردش خون وجود دارند. از جمله این محدودیت‌ها می‌توان به عدم وجود تجهیزات و لوازم جدید در آزمایشگاه‌ها و همچنین نبود پرسنل و نیروی متخصص کافی در همه بیمارستان‌ها و مراکز درمانی اشاره کرد. همچنین در مطالعات بررسی شده، در حوزه مدیریت هزینه‌ها و استفاده از نیروها و تجهیزات جدید بررسی کاملی انجام نگرفته است. در مجموع روش‌های نوین تشخیصی در حال گسترش بوده اما لازم است تا در بسیاری از این روش‌ها بهینه‌سازی صورت گیرد.

نتیجه‌گیری: اگرچه کشت خون هنوز یک روش استاندارد طلایی برای تشخیص عفونت‌های سیستم گردش خون در نظر گرفته می‌شود، اما روش‌های مدرن و جدیدی که هنوز هم در حال توسعه و پیشرفت هستند نیز برای تشخیص سریع و دقیق عوامل عفونی موجود در خون و همچنین انجام آزمون حساسیت میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

کلمات کلیدی: عفونت دستگاه گردش خون، کشت خون، روش‌های مولکولی، آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی

مقدمه

عفونت‌های سیستم گردش خون (Bloodstream infections) یکی از علل اصلی مرگ و میر در بیماران مبتلا به بیماری‌های وخیم و یا دارای نقص سیستم ایمنی است. علیرغم تلاش‌های انجام شده برای بهبود و مدیریت روش‌های تشخیصی، میزان بروز و تعداد مرگ و میر ناشی از این عفونت‌ها در حال افزایش بوده که اغلب به دلیل عدم درمان مناسب آنتی بیوتیکی در طی ۲۴ ساعت اول بروز عفونت می‌باشد (۱-۳). علاوه بر این، درمان ضد میکروبی تجربی (Empiric antimicrobial therapy) می‌تواند سبب افزایش و گسترش پاتوژن‌های مقاوم به آنتی بیوتیک شده و فراوانی عفونت‌های قارچی

* (نویسنده مسئول) مهدی قربانی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران.
آدرس الکترونیکی: m.ghorbani@ajaums.ac.ir

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

مهاجم را نیز افزایش دهد (۴). تست تشخیص سریع و آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی (Antibiotic susceptibility testing) عوامل ایجاد کننده عفونت‌های سیستم گردش خون یکی از مهمترین وظایف آزمایشگاه میکروب شناسی بالینی است؛ زیرا این اطلاعات برای پزشکان لازم و ضروری بوده تا مناسب‌ترین پروتکل درمان ضد میکروبی را انتخاب کنند (۵).

هدف از مطالعه حاضر بررسی و بحث پیرامون پیشرفت‌های اخیر روش‌های مبتنی بر کشت و آزمون‌های ملکولی برای تشخیص عفونت‌های دستگاه گردش خون است و درک آن می‌تواند دیدگاه‌های جدیدی را برای بهبود، تشخیص و درمان بیماران مبتلا به سپتی سمی فراهم کند.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر یک مقاله مروری بوده که اطلاعات مورد نیاز با جستجو در پایگاه‌ها و منابع اطلاعاتی معتبر شامل: PubMed، Scopus، google scholar، SID و magiran استخراج گردیده است.

یافته‌ها

کشت خون: روش استاندارد تشخیصی: کشت خون روش استاندارد طلایی برای تشخیص عفونت گردش خون است. کشت خون به طور گسترده‌ای بمنظور افتراق و تمایز بین میکروارگانیسم‌های موجود در عفونت خون مورد استفاده قرار می‌گیرد تا مشخص شود که علت تب در بیمار عفونی است یا غیر عفونی و در صورت عفونی بودن باید اطلاعاتی در مورد نوع گونه و حساسیت آنتی بیوتیکی آن نیز مشخص گردد. بیشترین پیشرفت‌ها در فناوری‌های مرتبط با کشت خون در دهه‌های گذشته قرن بیستم با معرفی سیستم‌های اتوماتیک کشت خون انجام شده که قادرند تا به طور مداوم رشد میکروبی را کنترل و بررسی کنند (۶).

پیش از این، جزئیات و اقدامات لازم در مدیریت زمان برای جمع‌آوری نمونه‌های خون، انتقال و پردازش آنها، روش‌های کشت، گزارش و تفسیر نتایج بطور مفصل توسط دانشمندان و پژوهشگران ارائه شده بود (۷، ۸). این اطلاعات برای افزایش سطح دانش پرسنل آزمایشگاهی و پزشکان بالینی به منظور بهینه سازی جمع‌آوری نمونه خون و سایر اقدامات مربوط به آزمایش آن بسیار ضروری است. باید مراقبت و احتیاط خاصی در جمع‌آوری نمونه خون در نظر گرفته شود، زیرا نمونه‌گیری نادرست، موجب آلودگی نمونه خون توسط میکروارگانیسم‌هایی می‌گردد که معمولا بصورت فلور میکروبی در سطح پوست انسان وجود دارند. برای این منظور کارآیی ترکیبات ضدعفونی کننده پوست و همچنین میزان اثربخشی نسبی آنها در جلوگیری از آلودگی نمونه‌های گرفته شده مورد آزمایش قرار گرفته است (۷). حجم نمونه و تعداد دفعات انجام کشت خون به دلیل غلظت‌های بسیار پایین از میکروارگانیسم‌های زنده در خون نیز خود از اهمیت بالایی برخوردار است. بنابراین، توصیه می‌شود تا از تکنیک‌های تشخیصی سریع (در مدت زمان حدود ۱ ساعت) استفاده شود (۸). می‌توان نمونه‌های خون را با سیستم‌های اتوماتیک مانند BACTEC (Becton Dickinson)، یا BACT / ALERT (BioMerieux) مورد ارزیابی قرار داد (۹، ۱۰). حساسیت و همچنین مدت زمان لازم برای مثبت شدن نتیجه کشت خون ممکن است تا حدود زیادی به نوع عامل عفونی و حجم نمونه خون وابسته باشد. برای اکثر میکروارگانیسم‌ها، حد تشخیصی کشت خون کمتر از ۱۰ CFU در هر میلی لیتر خون است، به استثنای استرپتوکوکوس‌هایی که ممکن است ۱۰ برابر بیشتر از حد تشخیصی در نمونه حضور داشته باشند (۱۱). به طور کلی مدت زمان لازم برای رشد باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت و مخمرها کوتاه‌تر است. در یک مطالعه که بر روی ۸۸۶ جدایه باکتریایی انجام شده، ۶۸٪ از جدایه‌ها در عرض ۲۴ ساعت و ۸۸٪ در عرض ۴۸ ساعت مثبت گزارش شدند، که در این بین باکتری اشریشیا کلی دارای کوتاه‌ترین زمان رشد (حدود ۱۱ ساعت) و کاندیدا دارای طولانی‌ترین زمان رشد (حدود ۶۱ ساعت) بودند (۱۲). به طور کلی، اگر نتیجه کشت خون در سیستم‌های اتوماتیک بعد از ۵ روز منفی شود، نتیجه نهایی که گزارش می‌شود نیز منفی خواهد بود (۹). در مواردی مثل اندوکاردیت عفونی که کشت خون در آن منفی شده لازم است تا مدت زمان انکوباسیون در سیستم‌های اتوماتیک افزایش یابد تا عوامل عفونی که از لحاظ نیازهای تغذیه‌ایی پر نیاز هستند، فرصت رشد کامل در محیط کشت را داشته باشند (۱۳، ۱۴). همچنین استفاده از محیط‌های اختصاصی کشت خون و یا افزودن ترکیبات غنی کننده برای رشد این نوع میکروارگانیسم‌ها، توصیه نمی‌شود زیرا این کار کمک

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

چشمگیری به جداسازی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای بالینی در خون نمی‌کند (۱۵).

درحال حاضر روش فعلی برای تشخیص عفونت سیستم گردش خون مستلزم یک کشت مجدد (Subculture) از محیط‌های کشت‌های خون مثبت توسط سیستم‌های خودکاری مانند Vitek ۲ و Phoneix بوده و به دنبال آن شناسایی گونه و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی در ایزوله‌های جدا شده است (۱۶، ۱۷). بنابراین، نتایج تعیین گونه و آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی با روش فعلی قبل از ۴۸ ساعت پس از مثبت شدن نتیجه کشت خون گزارش نمی‌گردد، در حالی که نتایج رنگ آمیزی گرم ممکن است بعد از مثبت شدن کشت خون بصورت تلفنی به پزشک گزارش شود. گزارش نتایج رنگ آمیزی گرم در کمتر از یک ساعت در انتخاب موقتی درمان ضد میکروبی موثر بوده و موجب کاهش چشمگیر میزان مرگ و میر در بین بیماران دارای عفونت خون می‌گردد (۱۸).

علیرغم تلاش‌ها و اقدامات انجام شده جهت کاهش آلودگی محیط‌های کشت خون بوسیله باکتری‌های (CoNS: Coagulase-negative staphylococci)، این میکروارگانیسم‌ها هنوز مسئول حدود ۳۰٪ تا ۴۰٪ از نتایج مثبت در کشت خون بوده اما تنها تعداد کمی از آنها با مشکلات و تظاهرات بالینی مرتبط هستند (۱۹–۲۲). همچنین برخی دیگر از آلوده کننده‌های شایع محیط کشت خون شامل گونه‌های پروپیونی باکتریوم، کورینه باکتریوم، میکروکوکوس و باسیلوس می‌باشند (۲۳). در میان باکتری‌های گرم منفی نیز حدود ۷۵٪ از آنها جزو خانواده انتروباکتریاسه و ۲۲٪ نیز غیرتخمیری‌ها هستند. یکی از باکتری‌های شایع کلبسیلا پنمونیه بوده و علاوه بر این، تعداد سویه‌های کلبسیلا پنمونیه مقاوم به داروهای خط اول درمانی نیز رو به افزایش بوده که این خود ضرورت انجام روش‌های سریع ارزیابی حساسیت آنتی بیوتیکی را به حداکثر می‌رساند.

تشخیص عفونت سیستم گردش خون از طریق اسپکترومتری جرمی بصورت MALDI-TOF

MALDI-TOF یا تکنیک جذب و یونش لیزری بوسیله ماتریکس (Matrixassisted laser desorption/ionization time of flight) یک روش بسیار دقیق تحلیلی است که می‌تواند شناسایی و یا اندازه‌گیری پلی پپتیدها و نیز انواع ترکیبات دیگر را با اندازه‌گیری نسبت جرم به شارژ (m / z) و شدت پیک‌های مربوطه آن امکان پذیر سازد. در سال‌های اخیر MALDI-TOF یک ابزار بسیار موثر برای شناسایی میکروارگانیسم‌ها بوده و اکنون به طور معمول برای شناسایی میکروبی در بسیاری از آزمایشگاه‌ها استفاده می‌شود (۲۴، ۲۵).

تکنیک MALDI-TOF می‌تواند ظرف چند دقیقه ایزوله باکتریایی را شناسایی کند (۲۶، ۲۷). همچنین با استفاده از این روش می‌توان در عرض حدود ۳۰ دقیقه میکروارگانیسم مورد نظر را به خوبی شناسایی کرد (۲۸، ۲۹). مشخص شده است که باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت نتایج بهتری را در کشت مستقیم نشان می‌دهند. همچنین تفاوت در روش‌های پردازش نمونه خون می‌تواند نقش موثری در شناسایی دقیق باکتری مورد نظر ایفا کند (۳۰، ۳۱). به منظور به حداقل رساندن تداخل احتمالی توسط پروتئین‌های دیگر در نتیجه آزمایش، پروتکل‌های مختلفی از آماده سازی و پردازش نمونه طراحی شده است که موجب جداسازی پروتئین‌های باکتریایی و سلول‌های میزبان از طریق لیز سلولی و یا استفاده از سانتریفوژهای جداکننده گردیده و در نهایت می‌تواند میزان دقت این روش را بهبود بخشد (۳۲–۳۴).

محدوده آنالیز جرم مولکولی برای شناسایی میکروبیولوژیکی بین ۲ تا ۲۰ کیلودالتون است که مشخص شده سیگنالی ثابت و بدون نویز را در دستگاه ایجاد می‌کند. نرم افزاری که طیف ایجاد شده را مقایسه می‌کند، یک مقدار عددی (ارزش نمره) را بر اساس شباهت بین مجموعه داده‌های مشاهده شده و ذخیره شده ایجاد می‌کند. به طور کلی، مقدار نمره بالاتر از ۰٫۲ از نظر شناسایی گونه ارزشمند بوده، در حالیکه مقادیر بین ۱٫۷ تا ۲٫۰ نشان دهنده صحت و درستی شناسایی جنس میکروارگانیسم است، اگرچه که می‌توان این حدود گفته را شده را کاهش داد اما طبیعتا میزان صحت و درستی نتایج حاصله نیز کاهش می‌یابد (۳۵–۳۷). تشخیص سریع پاتوژن‌های میکروبی بوسیله MALDI-TOF، اطلاعات مفیدی جهت تسهیل درمان ضد میکروبی تجربی در بیماران مبتلا به عفونت سیستم گردش خون در اختیار پزشک متخصص قرار می‌دهد. مطالعه‌ای در فرانسه در سال ۲۰۱۶ نشان داد که این تکنیک می‌تواند نمونه‌های خون مشکوک به عفونت در محیط‌های کشت خون را در روز اول مورد بررسی قرار داده که مشخص شده استفاده از این تکنیک برای تشخیص اولیه و نهایی عوامل عفونی در خون و همچنین ارائه

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

گزارش نهایی به پزشکان جهت تجویز آنتی بیوتیک‌ها برای درمان بیمار نقش بسزایی را ایفا کرده است (۳۸).

مطالعات متعدی نشان داده که تعیین داروهای مناسب درمانی در مجموع توانسته تا مجموعه پروتکل‌های درمان دارویی برای این عفونت‌ها را در اختیار پزشکان قرار دهد (۳۹–۴۲). تجزیه و تحلیل میزان هزینه کردها قبل و بعد از اجرای تکنیک MALDI-TOF به همراه نظارت و مداخله در سیستم بهداشتی در سال ۲۰۱۶ توسط دانشگاه میشیگان انجام شد (۴۳). در مجموع ۴۸۰ بیمار مبتلا به عفونت خون در این مطالعه شرکت کردند، ۲۳۳ نفر در گروه پس از مداخله و ۲۴۷ نفر در گروه قبل از مداخله قرار گرفتند. نتایج آنالیز این مطالعه نشان داد که میزان مرگ و میر پس از یک دوره ۳۰ روزه در گروه پس از مداخله به طور معنی‌داری پایین بود (۱۲٪ در مقابل ۲۱٪، P<۰/۰۱) و در کل می‌توان گفت مجموع هزینه کرد هر بیمارستان برای تشخیص و درمان بیماران مشکوک به عفونت خون به طرز محسوسی کاهش یافت. البته با وجود مطالعات مختلف، هنوز میزان تاثیرات مثبت در روند بهینه درمانی و کاهش هزینه‌ها با استفاده از تکنیک MALDI-TOF در همه کشورهای جهان اثبات نشده است.

ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی و تایپینگ گونه‌ها با استفاده از روش MALDI-TOF

طیف سنجی جرمی به روش MALDI-TOF به طور بالقوه برای تشخیص مقاومت آنتی بیوتیکی، به خصوص آنهایی که توسط بتالاکتامازها القا می‌گردند بسیار ارزشمند است (۴۴، ۴۵). می‌توان بروز مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام را توسط طیف سنجی جرمی مورد بررسی قرار داد. در این پدیده حلقه بتالاکتام بوسیله بتالاکتاماز هیدرولیز شده و در نتیجه آن عملکرد آنتی بیوتیک از بین رفته و محصولات ثانویه مربوطه نیز تولید می‌گردد (۴۶). بدیهی است که بروز مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام صرفا از طریق بتالاکتامازها ایجاد نمی‌گردند، بلکه این مقاومت می‌تواند از طریق بروز جهش در پورین‌ها یا افزایش بیان ژن پمپ افلاکس نیز بوجود بیاید که با روش طیف سنجی جرمی نمی‌توان آن را شناسایی کرد. مطالعات متعددی انجام شده است که هدف آنها شناسایی شاخص‌های مقاومت دارویی یا فاکتورهای ویرولانس در باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با استفاده از طیف سنجی جرمی به روش MALDI-TOF بوده است (۴۷–۴۹). تفاوت‌های قابل تشخیص با استفاده از MALDI-TOF در سویه‌های مختلف (MRSA: Methicillin-resistant staphylococcus aureus) مشاهده شده است که نشان دهنده قدرت تمایزی و افتراقی ایجاد شده مبتنی بر MALDI-TOF در بین سویه‌های MRSA است (۵۰، ۵۱). با این حال، در یک مطالعه با استفاده از آنالیزهای پیشرفته آماری مشخص شد که استفاده از این روش دارای برخی محدودیت‌ها برای شناسایی و ایجاد تمایز در باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و همچنین انتروکوکوس فیسیوم در سطح زیر گونه هستند (۵۲). همانطورکه اشاره شد، ممکن است تفاوت ژنومیک و پروتئومیک بین سویه‌های MRSA و (MSSA: Methicillin-sensitive staphylococcus aureus) بسیار جزئی باشد و لزوما این تفاوت توسط طیف سنجی جرمی MALDI-TOF قابل تشخیص نیست. لازم به یادآوری است که تعداد بسیاری از پیک‌ها (قله‌ها) در طیف سنجی MALDI-TOF میکروبی بعلت حضور پروتئین‌های ریبوزومی می‌باشد، در حالی که سیگنال‌های بسیاری از پروتئین‌های دیگر ممکن است در حین مطالعه از دست رفته باشد (۵۳).

یکی دیگر از کاربردهای بالینی استفاده از MALDI-TOF امکان تشخیص سویه‌های حساس به ونکومایسین در بین سویه‌های مقاوم به ونکومایسین در باکتری‌های انتروکوکوس می‌باشد. در این زمینه، بروز مقاومت در بین سویه‌های انتروکوکوس فیسیوم با واسطه ژن‌های vanA و vanB و همچنین نتایج حاصل از آن در باکتری‌ها مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است (۵۲، ۵۴، ۵۵). Lasch و همکاران در سال ۲۰۱۴ طیف‌های حاصل از MALDI-TOF در سویه‌های یکسان انتروکوکوس فیسیوم که از طریق پلاسمید کونژوگاتیو vanA و ترانسپوزون کونژوگاتیو vanB ترانسفورمه کرده بودند را مورد مطالعه قرار دادند که مشخص شد همگی الگوی مشابهی را از نظر حساسیت به ونکومایسین نشان دادند. می‌توان به این نتیجه رسید که مقاومت vanA-type یا vanB-type با استفاده از طیف سنجی جرمی MALDI-TOF قابل پیش بینی نیست (۵۲). مطالعات بیشتر به روشن شدن این مسئله پیچیده کمک خواهد کرد تا ارزیابی کند که آیا تشخیص مقاومت به ونکومایسین و یا سایر آنتی بیوتیک‌ها توسط تکنیک MALDI-TOF قابل اعتنا و اعتماد بوده یا فراتر از حدود افتراقی این تکنولوژی است.

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

یکی دیگر از کاربردهای اخیر طیف سنجی جرمی MALDI-TOF برای تشخیص مقاومت آنتی‌بیوتیکی بر پایه شناسایی پلاسمیدهای ژنی blaKPC کد کننده کارباپنماز بوده که موجب بروز مقاومت به کارباپنم‌ها می‌شود (۵۶). با استفاده از روش طیف سنجی MALDI-TOF می‌توان در عرض ۱۰ دقیقه در کلنی‌های ایزوله مورد نظر و یا به مدت ۳۰ دقیقه در نمونه مثبت از نظر کشت خون پلاسمید حاوی کارباپنماز را شناسایی کرد که این خود مزیت مهمی برای این روش است.

مطالعات متخلفی برای شناسایی سویه‌های مقاوم به دارو در گونه‌های کاندیدا از طریق مقایسه طیف جرمی آنها هنگام انکوباسیون در غلظت‌های بالا، متوسط و پایین از ترکیب ضد قارچی انجام شده است. در یک مطالعه که بمنظور بررسی کارایی روش MALDI-TOF در مقایسه با روش رایج تعیین حساسیت دارویی در کاندیدا آلبیکنس، کاندیدا تروپیکالیس و کاندیدا گلابراتا انجام شده است مشخص شد که قابلیت تکرار پذیری در این روش‌ها بترتیب ۵۴٫۳٪ و ۸۲٫۹٪ بوده که بسته به نوع گونه قارچی این عدد متفاوت است. همچنین، مشخص شد مدت زمان مورد نیاز برای دریافت نتایج حاصل از MALDI-TOF در مقایسه با روش رایج تعیین حساسیت دارویی تفاوت چشمگیری با یکدیگر ندارند (۵۷، ۵۸).

در مجموع، طیف سنجی جرمی MALDI-TOF امکان شناسایی سریع و دقیق میکروارگانیسم‌ها را فراهم می‌آورد و می‌تواند اطلاعات مفیدی در مورد مقاومت آنتی بیوتیکی با واسطه بتالاکتامازها را در اختیار پزشکان و محققان قرار دهد. البته باید به این مساله اشاره کرد که قدرت تفکیک، افتراق و تایپینگ سویه‌ها با استفاده از MALDI-TOF هنوز در دست مطالعه و بررسی است (۵۹).

روش‌های مبتنی بر تلقیح مستقیم نمونه: بمنظور کوتاه شدن زمان مورد نیاز برای تشخیص عفونت سیستم گردش خون، می‌توان باکتری‌هایی که در محیط کشت خون مثبت بوده‌اند را بصورت مستقیم در سیستم‌های اتوماتیک برای شناسایی و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی تلقیح کرده که در اصطلاح به این روش، روش تلقیح مستقیم گفته می‌شود. مطالعات مختلفی برای ارزیابی نتایج روش کشت رایج و تلقیح مستقیم نمونه انجام شده است (۶۰-۶۲). نتایج روش تلقیح مستقیم برای باکتری‌های گرم منفی بسیار مناسب‌تر از باکتری‌های گرم مثبت است (این روش برای اعضای خانواده انتروباکتریاسه دارای نتایج بهتری در مقایسه با سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد). البته اخیرا استفاده از این روش برای شناسایی کوکسی‌های گرم مثبت نیز توصیه شده است (۶۲، ۶۳). اگرچه ممکن است بعضی از جدایه‌ها با روش‌های تلقیح مستقیم از دست رفته یا به اشتباه شناسایی شوند، اما بصورت کلی بین روش‌های کشت رایج خون و روش تلقیح مستقیم نمونه بخصوص در مورد آزمون تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی اختلافات بارزی مشاهده نشده است (۶۲). علت اصلی اشتباهات و خطاهای ایجاد شده در روش‌های مستقیم، استفاده از مقادیر محدود و اندک محیط کشت مورد آزمایش است. بنابراین، نتایج به دست آمده با روش‌های مستقیم باید تا زمانی که نتیجه کشت ثانویه نمونه تایید نشده باشند بصورت اولیه در نظر گرفته شوند. این کار گزارش نتایج را به تاخیر نمی‌اندازد بلکه با کشت ثانویه نمونه می‌توان نتیجه آن را ارزیابی کرد. یکی دیگر از روش‌های آنالیز مستقیم که اخیرا معرفی شده بر اساس لیز شیمیایی سلول‌های خونی است و پس از آن می‌توان با عمل فیلتراسیون، باکتری‌ها را بازیابی کرد (۶۴). مقدار کمی از محلول حاوی میکروارگانیسم‌ها پس از تصفیه بوسیله فیلتراسیون به طور مستقیم بر روی صفحه مورد نظر برای شناسایی سریع توسط تکنیک MALDI-TOF قرار می‌گیرد و نتایج حاصله می‌تواند در تعیین روند درمان آنتی‌بیوتیکی به پزشکان بسیار کمک کننده باشد. نتایج این روش به میزان حدود ۹۳٫۵٪ با نتایج استفاده از سیستم اتوماتیک Vitek ۲ برابری می‌کند (۶۴).

یکی دیگر از روش‌های ترکیبی شناسایی سریع با استفاده از تکنیک MALDI-TOF تلقیح مستقیم باکتری‌ها به یک سیستم خودکار بمنظور تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی آنها بوده که اخیرا معرفی شده است. در این مطالعه، باکتری‌ها را از نمونه کشت‌های خون مثبت با استفاده از لوله‌های جداساز سرم، جداسازی کرده و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی مستقیم باکتری توسط سیستم

خودکار Alfred ۶۰AST (Alifax SpA, Polverara, PD, Italy) انجام شد. میزان کلی صحت نتیجه حساسیت آنتی بیوتیکی با این روش ۹۰٫۳٪ بوده که دارای عملکرد بهتری برای باکتری‌های گرم مثبت (۹۳٫۱٪) نسبت به باکتری‌های گرم منفی (۸۷٫۸٪) در آن مشاهده شد (۶۲). انجام مطالعات بیشتر برای بهینه‌سازی و اعتبارسنجی انجام آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی بصورت تلقیح مستقیم امری ضروری

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

است. روش‌های سریع تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی نشان دهنده پیشرفت مهمی در تشخیص عفونت‌های سیستم گردش خون می‌باشند، زیرا نتایج حاصله ۱۲ تا ۲۴ ساعت زودتر از روش‌های فعلی بسته به روش انتخاب شده و نحوه عملکرد و سازماندهی سیستم آزمایشگاهی ارائه می‌گردد.

شناسایی سریع با استفاده از روش‌های مبتنی بر PCR

تست‌های مبتنی بر PCR یکی دیگر از رویکردهای نوین آزمایشگاهی جهت شناسایی پاتوژن‌های موجود در محیط کشت خون و یا نمونه‌های خونی بصورت مستقیم می‌باشد. به طور کلی، اسید نوکلئیک میکروبی استخراج، خالص و به سرعت بوسیله تکنیک‌های مبتنی بر PCR تکثیر می‌شود و توالی‌های خاص ایجاد شده می‌توانند با استفاده از تجزیه و تحلیل منحنی ذوب با وضوح بالا (High resolution melt)، هیبریدیزاسیون microarray (۶۵)، الکتروفورز در ژل (۶۶)، تجزیه و تحلیل توالی‌ها (۶۷) و یا حتی با استفاده از Real-time PCR بررسی شوند، که می‌تواند در مواردی که چندین پاتوژن در عفونت خون نقش داشته باشند برای تعیین میکروارگانیسم شایع در نمونه بکار گرفته شود. برخی از ارزیابی‌ها برای تشخیص پاتوژن‌های میکروبی در محیط‌های کشت خون مثبت ساخته شده‌اند. ممکن است این روش‌ها موجب افزایش دقت در شناسایی میکروارگانیسم مورد نظر شوند اما زمان مورد نیاز برای تایید نتایج به مدت زمان مثبت شدن نتیجه کشت خون وابسته است. در مقابل، روش‌های دیگر می‌توانند به طور مستقیم در نمونه‌های خون مورد استفاده قرار بگیرند (۶۸)، بنابراین زمان لازم برای شناسایی میکروارگانیسم را به میزان ۵ تا ۸ ساعت کاهش می‌دهند. با این حال، غربالگری مستقیم خون برای شناسایی میکروارگانیسم‌ها بسیار ضروری بوده، بخصوص در مواردی که بار میکروبی در نمونه بسیار پایین است. بازیابی موثر و خالص سازی DNA از نمونه‌های خون و همچنین حساسیت بالا و تکثیر اختصاصی بخشی از DNA هدف نیز در این روش از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است (۶۹، ۷۰). در این زمینه، مطالعه مروری اخیر توسط Pitt و همکاران در سال ۲۰۱۶ مزایا و معایب روش‌های مختلف برای جداسازی باکتری از خون شامل فیلتراسیون، غربالگری، سانتریفیوژ، رسوب‌گذاری، فوکوس هیدرودینامیکی، جذب شیمیایی روی سطوح اختصاصی، جداسازی با میدان مغناطیسی و دی الکروفورز با تأکید ویژه بر تکنیک‌هایی که می‌تواند در کمتر از ۱۰ دقیقه بر روی مقادیر بسیار کم (چند میلی لیتر) خون کامل انجام شود، مثل رسوب، غربالگری (به عنوان مثال با استفاده از فیلترهای مختلف) و اتصال مغناطیسی به دانه‌های bead را مورد بررسی قرار داده است (۷۱). انتظار می‌رود با گسترش فناوری‌های نوین، تشخیص سریع عفونت‌های سیستم گردش خون با سرعت بیشتری انجام گردد.

یکی از روش‌هایی که به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است، استفاده از Real-time PCR بر روی ژن‌های ۱۶S rRNA و یا ۲۳s rRNA و پایروسکانسینگ آنهاست. این روش را می‌توان برای شناسایی باکتری‌ها بعد از یک دوره انکوباسیون کوتاه (۵–۸ ساعت) و یا به طور مستقیم از بر روی نمونه خون بیمار انجام داد (۱۶، ۲۰، ۷۲). بطور کلی، از مزایای استفاده از روش‌های مبتنی بر PCR نسبت به روش‌های کشت رایج خون می‌توان به سرعت بالاتر و میزان نرخ شناسایی بیشتر عوامل عفونی خون حین درمان آنتی بیوتیکی اشاره کرد. بعلت محدودیت اخصاصیت کشت خون در شناسایی عوامل عفونی سیستم گردش خون در بیماران دریافت کننده آنتی‌بیوتیک (۲۰)، بسیاری از محققان توصیه کرده‌اند که ثبت نتایج بالینی و آزمایشگاهی بمنظور ارزیابی نتایجی که در کشت منفی و در PCR مثبت بوده‌اند بسیار ضروری است (۲۱، ۲۲). به طور کلی تفسیر نتایج بر اساس تشخیص بالینی، سایر آزمایش‌های تشخیصی و دیگر پارامترهای آزمایشگاهی است. این روش امکان دستیابی به حساسیت بالایی در تشخیص پاتوژن‌ها را در مقایسه با کشت خون فراهم می‌کند، هرچند استانداردهای مرجع و دستورالعمل‌های ارزیابی داده‌های بالینی و آزمایشگاهی بایستی بهتر تعریف شوند. معایب اصلی تکنیک‌های مبتنی بر PCR: ۱. وجود محدودیت‌هایی در شناسایی مجموعه‌ای از گونه‌های میکروبی که می‌تواند به علت عدم وجود آن در پروتکل سیستم یا محدودیت‌های نرم افزاری باشد؛ ۲. متغیر بودن نتایج بین آزمایشگاه‌های مختلف، حتی با وجود استفاده از تکنیک PCR یکسان، که ممکن است به عوامل مختلفی مثل خصوصیات فردی بیمار، شرایط آزمایشگاه و میزان تجربه و مهارت اپراتور آزمایشگاه وابسته باشد (۷۳). ۳. امکان محدودیت تشخیص شاخص‌های مقاومت آنتی بیوتیکی‌که در ادامه به آن اشاره خواهد شد.

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

شناسایی ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی با روش‌های مبتنی بر PCR

در حال حاضر تعداد محدودی از ژن‌های مقاومت را می‌توان با استفاده از آزمایشات مبتنی بر PCR تشخیص داد. به طور خاص، تعدادی تست مبتنی بر PCR تجاری سازی شده‌اند که توانایی شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین را در عرض چند ساعت پس از مثبت شدن کشت خون را دارا هستند (۷۴-۷۶). این آزمایشات مبتنی بر PCR به طور مطلوب در ترکیب با MALDI-TOF مورد استفاده قرار می‌گیرند، زیرا این امر به شناسایی به موقع جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و حذف سایر میکروارگانیسم‌ها (یعنی استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی) کمک می‌کند و از انجام تست‌های غیرضروری و افزایش هزینه‌ها جلوگیری می‌کند و بر اختصاصیت تست‌ها می‌افزاید. باکتریمی با استافیلوکوکوس اورئوس با نرخ بالای مرگ و میر همراه است (۷۷)، که ممکن است با درمان آنتی بیوتیکی مناسب کاهش یابد. مطالعات متعددی تشخیص MRSA با روش PCR را موثر بر مصرف دارو، بهبود وضعیت بیمار و همچنین کاش هزینه‌ها دانسته‌اند (۷۸). Brown و Paladino در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که آزمایش سریع PCR برای تشخیص MRSA دارای اهمیت بالایی در کاهش مرگ و میر است و این روش، ارزانتر از درمان تجربی است، حتی در مناطقی که شیوع پایین باکتری را دارند و هزینه‌های آزمایش PCR در آن مناطق بالا می‌باشد (۷۹). نتیجه‌گیری مشابهی توسط Nguyen و همکاران در سال ۲۰۱۰ پس از یک مطالعه گذشته‌نگر به دست آمد که نشان می‌دهد استفاده از آزمایش PCR برای شناسایی مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوک‌ها، در کاهش استفاده از آنتی بیوتیک، بهبود نتایج بالینی و کاهش هزینه‌های مراقبت‌های بهداشتی موثر می‌باشد (۸۰). بنابراین، توجهات زیادی بر این مسئله مهم متمرکز شده است. روش‌ها و آزمون‌های متعددی برای تشخیص مقاومت به متی‌سیلین در استافیلوکوک‌ها مورد بررسی قرار گرفته و به طور کلی با نتایج خوبی همراه بوده‌اند. همچنین برخی از این آزمایش‌ها می‌توانند شاخص‌های مقاومت به ونکومایسین در انتروکوک‌ها را شناسایی کنند. از میان مواردی که در این مطالعه شرح داده شده است، تست Xpert MRSA / SA BC در تعدادی از مطالعات نتایج بسیار خوبی از آن گزارش شده است (۸۱). این روش مبتنی بر Real-time PCR بوده که می‌تواند این توالی‌ها را شناسایی کند: ژن پروتئین A (spa)، ژن مقاومت به متی سیلین (mecA) و کاست کروموزومی استافیلوکوکوس (SCCmec) که به محل اتصال attB کروموزومی الحاق شده است. استفاده از سایت تزریق attB و ژن mecA امکان افتراق استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین از استافیلوکوکوس کوآگولاز منفی مقاوم به متی‌سیلین را فراهم می‌کند. این خطا ممکن است در آزمایش‌های مولکولی که فقط کاست SCCmec را هدف قرار می‌دهند رخ دهد. Gumez و همکاران در سال ۲۰۱۳ حساسیت ۹۶٪ و ویژگی ۱۰۰٪ تست Xpert MRSA SA BC / که در ترکیب با MALDI-TOF مورد استفاده قرار گرفته است، برای تجزیه و تحلیل ۹۱ بطری کشت خون که بطور تصادفی انتخاب شده بود استفاده کردند. این بطری‌ها دارای استافیلوکوکوس اورئوس بوده که ۲۵ عدد از آنها مقاوم به متی‌سیلین و ۶۱ عدد نیز حساس بوده‌اند. دقت روش ترکیبی ۹۸٫۹٪ بود که ارزش پیش بینی منفی و مثبت به ترتیب ۹۸٫۵٪ و ۱۰۰٪ گزارش شد (۸۲). در یک مطالعه دیگر، این آزمایش بر روی ۲۵۹ کشت خون مثبت حاوی کوکسی‌های گرم مثبت انجام شد و ۱۰۰٪ از میکروارگانیسم‌های MRSA و MSSA را تشخیص داد (۷۶). محدودیت Xpert به علت وجود جهش یا پلی مورفیسم در مناطق اتصال پرایمر و پروب است که ممکن است در تشخیص MRSAهای جدید یا ناشناخته مشکل ساز باشد. در این زمینه، Spencer و همکاران پیشنهاد می‌کنند که این مشکل ممکن است با تغییر تفسیر آزمایش به صورت زیر تا حدودی حل شود: نمونه‌های spa مثبت، mecA مثبت، SCCmec منفی، باید به صورت مقاومت حد واسط به متی سیلین در نظر گرفته شده و همچنین نمونه‌های مثبت برای هر یک از اهداف فوق باید در حداقل ۲۵ سیکل شناسایی شوند (۷۶).

تأثیر آزمایش Xpert MRSA / SA BC بر طول مدت استفاده از آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف داخل وریدی و طول مدت بستری بیمار در بخش زایمان، در بیمارانی که کشت خون مثبت حاوی کوکسی‌های گرم مثبت دارند، مورد بررسی قرار گرفت (۸۳). مدت زمان تزریق داخل وریدی از ۴۳/۵ تا ۵۵/۵ ساعت در هفته کاهش یافت و طول مدت بستری پس از تست در مقایسه با گروهی که این تست را نداشته‌اند ۵۶ تا ۶۶/۵ ساعت کاهش یافت. اخیرا در یک بررسی دیگر اثر آزمایش Xpert MRSA / SA BC بر روی درمان ضد میکروبی و نتایج بالینی در بخش مراقبت‌های ویژه نوزادان (ICU) مورد بررسی

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

قرار گرفت. برای این منظور، ۴۲ نوزاد در گروه پیش از مداخله و ۴۶ نفر در گروه بعد از مداخله، مورد مطالعه قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل نشان داد که مدت زمان استفاده‌ی از داروهای ضد میکروبی و طول مدت اقامت نوزادان در بخش مراقبت‌های ویژه نوزادان کاهش یافت، هرچند تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبودند. محدودیت اصلی هر دو مطالعه فوق، تعداد نمونه نسبتا کم بود. ارزیابی داده‌های مرکزی که تعداد بیشتری از بیماران را شامل می‌شود، به ایجاد نتایج آماری معنادار کمک می‌کند (۸۴). عملکرد آزمایش کشت خون گرم مثبت Verigene (BC-GP) در دو مرکز مراقبت‌های بهداشتی ژاپن برای تعیین تاثیر بالقوه آزمایش سریع کشت خون برای باکتری‌های گرم مثبت ارزیابی شد. به طور کلی، زمان لازم برای شناسایی و تشخیص مقاومت آنتی‌بیوتیکی در BC-GP به طور معنی‌داری نسبت به آزمایش‌های معمول روزمره کوتاه‌تر بود. با این‌حال، هنوز تاثیر بالینی آن به درستی بررسی نشده است (۸۱).

Avdic و همکاران تأثیر بالینی تست Verigene BC-GP پس از اجرای مداخلات AMS و بعد از قطع مداخلات AMS در بهینه سازی درمان ضد میکروبی در بیماران مبتلا به باکتریمی گرم مثبت را مورد بررسی قرار دادند. مداخلات AMS شامل راهنمایی در لحظه برای پزشکان در انتخاب آنتی بیوتیک مناسب بود. نتایج نشان داد که در مداخله و پس از قطع دوره‌های مداخله، مدت درمان به مدت ۱۴–۲۲ ساعت در بیماران مبتلا به باکتریمی با عامل MSSA کاهش یافت. با این حال، تفاوت در میزان مرگ و میر یا طول مدت اقامت در بیمارستان بین دوره‌های مختلف مورد مطالعه ثبت نشده است (۷۷).

مطالعه‌ی دیگری اثرات AMS را در ترکیب با دو تست سریع تشخیصی، MALDI-TOF و FilmArray Blood Culture Identification (BCID) بر روی بهبود درمان ضدمیکروبی و کم کردن زمان و میزان استفاده از آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف در بیماران با عفونت‌های خون با عامل گرم منفی را نشان داد. مداخلات این اثرات را در پی داشتند: پیشرفت قابل توجهی در درمان آنتی بیوتیکی تجربی مناسب (۹۵٪ در مقابل ۹۱٪، P=۰/۰۲) و کاهش قابل توجه در کاهش دوز دارو و در طول دوره درمان ضد میکروبی ترکیبی (۲/۸ در مقابل ۱/۵ روز) و یا بتالاکتام‌های ضد سودوموناس (۴در مقابل ۲/۵روز) یا کارباپنم‌ها (۴در مقابل ۲/۵روز). زمان میانگین برای کاهش دوز در درمان ترکیبی (۱ روز در مقابل ۲ روز P= ۰/۰۳) و یا بتالاکتام‌های ضد سودوموناس (۲/۲ در مقابل ۲/۷ روز، P=۰/۰۴) بعد از اجرای FilmArray BCID در مقایسه با MALDI-TOF کاهش یافت که این موارد تنها در دوره پس از مداخله مشاهده گردید (۶۳). اگر چه روش‌های مولکولی نمی‌توانند جایگزین روش‌های متداول میکروبیولوژی برای ارزیابی حساسیت آنتی‌بیوتیکی عوامل اتیولوژیک عفونت خون شوند، در حال حاضر فن آوری PCR/MS می‌تواند توانایی تشخیص پاتوژن‌های میکروبی در کشت خون را افزایش دهد و به سرعت اطلاعات مهمی در مورد چند عامل تعیین کننده‌ی مقاومت را به پزشک اعلام کند. شناسایی سایر ژن‌های مقاومت در برنامه‌های مبتنی بر روش PCR ممکن است در آینده بهبود یابد. توانایی توالی یابی کامل ژنوم یک گزینه جذاب و مطلوب برای تشخیص چندین عامل تعیین کننده‌ی مقاومت است (۸۵).

ترکیب PCR با طیف سنجی جرمی یونیزاسیون افشانه‌های الکترونی (ESI-MS: Electrospray ionization mass spectrometry) در تشخیص سریع عفونت خون

جایگزین امیدوارکننده برای آزمایش سریع مولکولی، مانند Real-time PCR، استفاده از PCR در ترکیب با ESI-MS است تا بتواند هر میکروارگانیسم موجود در نمونه‌های بالینی را شناسایی کند. با استفاده از MS، جرم هر هدف PCR تعیین می‌شود و ترکیب پایه نوکلئوتیدی محاسبه شده و با یک پایگاه داده مقایسه می‌شود، تا به شناسایی پاتوژن منجر شود (۱۹، ۸۶، ۸۷). دریک مطالعه گذشته نگر در مورد کشت‌های مثبت، PCR/ESI-MS با نتایج کشت خون در ۸۷/۵٪ نمونه‌ها مطابقت داشت. دقت روش PCR/ESIMS قابل مقایسه با PCR و تجزیه و تحلیل منحنی ذوب با وضوح بالا (PCR /HRMA) بود، هر چند این دو روش ممکن است مزایا و معایب مختلفی هم داشته باشد (۸۸). آزمایش PCR/HRMA بسیار سریع و نسبتا ساده انجام می‌شود، اما تعداد گونه‌های میکروبی قابل تشخیص محدود به پنل‌های از پیش تعریف شده و بین ۲۵–۶۰ گونه است. روش PCR/ESI-MS می‌تواند بیش از ۴۰۰ گونه از باکتری‌ها را در یک زمان معقول (۶–۸ ساعت) شناسایی کند و دارای ظرفیت بازدهی بالایی می‌باشد. با این وجود، از لحاظ فنی این تکنیک از PCR/HRMA پیچیده‌تر است و ممکن است قرار دادن آن در جریان کار معمول آزمایشگاهی دشوار باشد.

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

یک مطالعه نشان داد که PCR/ESI-MS نتایج بسیار دقیقی را در مقایسه با کشت خون نشان می‌دهد. حساسیت ۹۶٫۸٪، ویژگی ۹۸٫۵٪ و همچنین میزان مطابقت با روش‌های مرسوم میکروب شناسی ۹۴٫۲٪ می‌باشد. هنگامی که PCR / ESI-MS در نمونه‌های خون کامل انجام شد، مطابقت ۷۷٫۱٪ با حساسیت ۵۰٪ و ویژگی ۹۳٫۸٪ بود. چنین حساسیت کمی می‌تواند ناشی از غلظت کم میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های خون کامل باشد، که نشان می‌دهد که این روش می‌تواند ترجیحا در کشت خون مثبت استفاده شود (۸۹).

اخیرا یک پلتفرم مبتنی بر فناوری PCR / ESI-MS به نام IRIDICA توسعه یافته است و اکنون به شکل تجاری در دسترس است. آزمون IRIDICA BAC BSI شامل استخراج DNA خودکار، PCR، تخلیص و تجزیه و تحلیل ESI-MS است که منجر به شناسایی میکروبی از خون کامل در مدت زمان ۶ ساعت می‌شود. پیشرفت اصلی آن در مقایسه با روش‌های قبلی، به افزایش حجم خون مورد آزمایش و بهینه سازی شرایط PCR و واکنش دهنده‌ها مربوط می‌شود که حساسیت این روش را افزایش می‌دهد (۸۹). همچنین سیستم IRIDICA می‌تواند شاخص‌های خاصی از مقاومت آنتی بیوتیکی را مشخص کند: mecA، vanA، vanB و blaKPC. در یک مطالعه، مقایسه کشت خون با روش‌های معمول و IRIDICA برای نمونه‌های خون کامل انجام شد که تطابق دو روش ۶۸/۹٪ در میکروارگانیسم‌های شناسایی شده و ۷۶/۶٪ پس از حذف نمونه‌های حاوی چندیدن نوع از میکروارگانیسم‌ها بود (۸۹). حساسیت و اختصاصیت IRIDICA در بیماران ICU بیشتر از بیماران اورژانس بود؛ این اختلاف ممکن است به دلیل حجم بالای باکتری (ژنوم بیشتر) در بیماران ICU نسبت به بیماران اورژانس باشد (۸۹).

در یکی دیگر از مطالعات اخیر، روش IRIDICA BAC BSI از ۸۰ درصد از نمونه‌های کشت مثبت و ۴۶ میکروارگانیسم اضافی در نمونه‌های کشت منفی را تشخیص داد. هنگامی که میکروارگانیسم های آلوده کننده از مطالعه حذف شدند، تطابق با کشت خون مثبت به ۸۶٪ افزایش یافت. در IRIDICA ۳۴ میکروارگانیسم دیگر شناسایی شد که توسط کشت شناسایی نشده بودند که ۹ مورد آن توسط داده‌های دیگر پشتیبانی شده است و نشان می‌دهد که همان میکروارگانیسم از سایر نمونه‌های خون، بیوپسی یا نمونه‌های تنفسی از همان بیمار جدا شده است (۸۷).

از آنجا که روش IRIDICA BAC BSI نمی‌تواند فنوتیپ‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی را تعیین کند و در شناسایی ژنوتایپ‌های مرتبط با مقاومت محدودیت دارد، تعیین مقاومت ضد میکروبی وابسته به کشت و نتایج آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی میکروارگانیسم‌ها است. به همین دلیل، IRIDICA BAC BSI باید به عنوان یک روش همراه در نظر گرفته شود و جایگزین روش‌های مبتنی بر کشت نگردد. علاوه بر این، نتایج IRIDICA باید بر اساس بررسی شواهد پزشکی و معیارهای تحلیلی تفسیر شود.

آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش Nanomotion

اخیرا روش جالبی مطرح شده است که تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی را به صورت سریع و با حساسیت بالا انجام می‌دهد (۹۰). این روش با ترکیب استفاده از رسوب کشت خون با کمک یک تکنیک مستقل از کشت، بر اساس استفاده از سنسورهای نانومکانیکی انجام می‌شود که در صورت اتصال به باکتری‌های با متابولیسم فعال، فعالیت خواهند داشت (۹۱). این روش تغییرات سیگنال را در باکتری‌هایی که در معرض آنتی‌بیوتیک قرار گرفته‌اند اندازه‌گیری می‌کند؛ کاهش سیگنال به عنوان حساسیت به آنتی‌بیوتیک آزمایش شده تفسیر می‌شود. حرکات سنسور با حساسیت کمتر از ۰٫۱ نانومتر توسط میکروسکوپ اتمی تعیین می‌شود. تعداد باکتری‌هایی که برای دریافت سیگنال قابل اندازه‌گیری مورد نیاز است، بسیار کم و تقریبا ۱۰۲ است. در یک مطالعه، این روش به شناسایی و تمایز سویه‌های اشریشیا کلی مقاوم به سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین و آمپی‌سیلین از سویه‌های حساس به این آنتی بیوتیک‌ها در ۱۶ مورد از ۱۷ مورد کمک کرده است. مطالعات بیشتر برای ارزیابی پتانسیل این روش به وسیله‌ی آزمایش با معمولترین گونه‌های باکتریایی جدا شده از خون و طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها مورد نیاز است. کاربرد آینده این روش برای تشخیص روتین آزمایشگاهی و همچنین میزان اثربخشی آن نیز باید در مطالعات آینده مورد ارزیابی قرار گیرد (۹۰).

تست‌های تشخیصی سریع جهت شناسایی مستقیم میکروارگانیسم‌ها از خون

امکان تشخیص و شناسایی سریع پاتوژن‌های میکروبی به طور مستقیم در نمونه‌های خون بیماران مبتلا به سپسیس یک هدف جالب

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

توجه است زیرا باعث می‌شود تا اطلاعات تشخیصی ارزشمندی در عرض چند ساعت پس از رسیدن نمونه‌ی خون دریافت شود. اکثر راه حل‌های پیشنهادی شامل استفاده از آزمایشات PCR است که به طور خاص برای شناسایی میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های خون مورد استفاده قرار می‌گیرند (۹۲، ۹۳). برای این منظور، Gosiewski و همکاران چهار روش PCR، PCR Multiplex، qPCR و FISH را در کنار آزمایش SeptiFast با سیستم کشت خون / BacT ALERT (bioMerieux) ارزیابی کردند تا توانایی آنها در تشخیص ۷۱ نمونه خون مورد مقایسه قرار بگیرد. نتایج نشان داد که با استفاده از qPCR، FISH، SepiFast و کشت، به ترتیب، ۷۱/۸٪، ۲۹/۶٪، ۲۵/۳٪ و ۳۶/۶٪ از نمونه‌ها مثبت بودند. این مقایسه نشان داد که qPCR حساس‌تر از سایر روش‌ها است؛ باکتری‌های تشخیص داده شده با روش SeptiFast یا FISH در همه موارد توسط qPCR تایید شد. نویسندگان نتیجه گرفتند که ترکیب روش‌های qPCR و FISH امکان تشخیص اکثر گونه‌های میکروبی را فراهم می‌کند و qPCR کمک می‌کند تا تعداد قابل توجهی از میکروارگانیسم‌ها در مقایسه با آزمایش SeptiFast تشخیص داده شوند. با این حال، بر خلاف SeptiFast، qPCR توانایی شناسایی باکتری‌ها را در سطح گونه‌ها نداشته و در دو مورد که آزمون SepiFast حضور مخمرها را نشان داد، روش qPCR در تشخیص آنها عملکرد خوبی نداشت. علاوه بر این، نمی‌توان مطمئن بود که چه تعداد از نتایج مثبت qPCR و منفی کشت، مثبت حقیقی هستند و بنابراین نمی‌توان اختصاصیت روش qPCR را تعیین کرد (۹۴).

محدودیت‌های مشابهی توسط سایر نویسندگان در مورد استفاده از آزمایشات مبتنی بر PCR موجود و تجاری که برای شناسایی عوامل عفونی در نمونه‌های خون مورد استفاده قرار می‌گیرند، گزارش شده است (۹۵). به طور کلی، استفاده معمول از آزمایشات PCR در کار بالینی برای شناسایی میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های خون به میزان زیادی با هزینه‌های بالا، مشکلات در استاندارد سازی و تفسیر نتایج، مشکلات احتمالی آلودگی، حساسیت و یا اختصاصیت محدود همراه است.

رزونانس مغناطیسی T۲ (Magnetic resonance)

رزونانس مغناطیسی T۲ (T۲MR) یک تکنیک تشخیصی مبتنی بر تشدید مغناطیسی است که تغییرات در سیگنال پروتون T۲ را در حضور میدان‌های مغناطیسی اندازه‌گیری می‌کند. این روش شامل تکثیر DNA اختصاصی پاتوژن به واسطه‌ی PCR و سپس هیبریدیزاسیون امپلیکون‌ها به نانوذرات فوق مغناطیسی است. هیبریدیزاسیون باعث خوشه‌بندی نانوذرات می‌شود که تغییرات قابل تشخیصی در سیگنال T۲MR را نشان می‌دهد که بیانگر حضور DNA هدف است. تمام مراحل تست توسط ابزار T۲Dx به شکل خودکار انجام می‌شود. تجزیه سلول‌های خونی، رقت‌سازی سلول‌های میکروبی و لیز شدن آنها توسط ضربات بید، تکثیر DNA هدف و تشخیص به وسیله‌ی T۲MR. T۲MR کمک می‌کند تا مقدار بسیار کم اسید نوکلئیک هدف در هر نمونه در کمتر از ۵ ساعت شناسایی شود (۹۶).

در حال حاضر، این روش برای تشخیص سریع بیماری‌های ناشی از گونه‌های کاندیدا توسعه یافته است. پنل T۲Candida که بر روی ابزار T۲Dx خودکار اجرا شده است، یک آزمایش سریع تشخیصی تایید شده توسط FDA است که قادر به تشخیص پنج گونه کاندیدا به طور مستقیم از نمونه‌های خون کامل حاوی EDTA می‌باشد. این تست در سه دسته (آلبیکنز / تروپیکالیس، پاراپسیلوسیس، کروسی / گلابراتا) انجام می‌شود. پرایمرهای کلی برای کاندیدا جهت تکثیر ناحیه ITS۲ بوسیله PCR طراحی شده است، که در ژنوم هر مخمر ۵۰ تا ۱۰۰ نسخه از آن وجود دارد. شناسایی در حد گونه بوسیله هیبریدیزاسیون نانوذرات صورت می‌گیرد.

مطالعات پری‌کلینیکال با استفاده از نمونه خون اهداکنندگان سالم که به گونه‌های کاندیدا آلوده شده انجام شده تا عملکرد پنل T۲ را با دیگر تکنیک‌های اتوماتیک کشت خون مقایسه کند (۹۷، ۹۸). نتایج این مطالعات بسیار امیدوار کننده بود و حساسیت و اختصاصیت به ترتیب به ۱۰۰٪ و ۹۷٫۸٪ و قدرت تشخیص در حد CFU / ml ۱–۳ برای گونه‌های مختلف کاندیدا بود.

در یک کار آزمایی بالینی که توسط Mylonakis و همکاران گزارش شده است، ۱۵۰۱ بیمار مورد بررسی قرار گرفتند. هفت نفر از این بیماران برای گونه‌های کاندیدا توسط کشت خون مثبت بودند، که شش مورد از آن‌ها با پنل T۲Candida تشخیص داده شد. در نمونه‌های خون بعدی از همان بیمار، کاندیدا توسط سیستم T۲ به درستی شناسایی شد. میانگین زمان برای شناسایی گونه‌ها ۴/۴

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

ساعت برای T۲ در مقابل کشت با ۱۲۹/۹ ساعت بود. از طرفی، سیستم T۲ ۳۱ نمونه را که در کشت منفی بودند، مثبت گزارش کرد. علاوه بر این، T۲ قادر بود به درستی ۹۸,۱٪ از بیماران را به عنوان غیر کاندیدایی در ظرف ۴ ساعت از نمونه‌گیری نشان دهد، که ارزش اخباری منفی آن حدود ۹۹,۶٪ است. به طور کلی، این نتایج ممکن است پیشرفت قابل توجهی در تشخیص کاندیدمی را نشان دهد، زیرا حساسیت خوبی برای تشخیص گونه‌های کاندیدا دارد (۹۶). در کشت خون حساسیت تنها حدود ۵۰٪ است و نشان داده شده است که شروع درمان مناسب ضد قارچی در کمتر از ۱۲ ساعت می‌تواند میزان مرگ و میر را به طور قابل توجهی کاهش دهد. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که تست T۲ ممکن است یک روش موثر برای بهبود روش‌های فعلی برای کوتاه کردن زمان تشخیص عفونت‌های کاندیدا مهاجم در کودکان باشد (۹۹، ۱۰۰). گزارش شده است که استفاده از T۲ ممکن است بر میزان مرگ و میر و کاهش استفاده از داروهای ضد قارچی تاثیر داشته باشد (۹۹، ۱۰۱). محدودیت‌های این آزمایش عبارتند از: ۱. اطلاعاتی را در مورد مقاومت آنتی‌بیوتیکی پاتوژن شناسایی شده را ارائه نمی‌دهد؛ ۲. این روش بسیار گران است و منطقی است که استفاده از T۲ را محدود به موارد مشکوک به عفونت خون ناشی از کاندیدا کنند. با این حال، چنین انتخابی باعث می‌شود تا تعداد غیر قابل پیش بینی از نمونه‌های مثبت بررسی نشوند. برعکس، تجزیه و تحلیل تمام نمونه‌های خون هزینه اجرای این تکنولوژی را افزایش می‌دهد. مطالعات آینده برای ارزیابی اینکه آیا این محدودیت‌ها ممکن است برطرف شود یا خیر، و ارزیابی امکان استفاده از این روش برای تشخیص پاتوژن‌های باکتریایی مورد نیاز است.

بحث و نتیجه‌گیری

یک روش ایده‌آل برای تشخیص عفونت کشت خون باید به سرعت عوامل عفونی را تشخیص داده و نتیجه آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها را مشخص کند تا بتوان آنتی‌بیوتیک مناسب را به موقع انتخاب و تجویز کرد. در حال حاضر، یک درمان ضد میکروبی تجربی بر اساس داده‌های بالینی و اپیدمیولوژیک انتخاب شده است و بلافاصله پس از نمونه‌گیری خون اعمال می‌شود. شناسایی سریع دارای اهمیت بالینی مرتبط با درمان موثر ضد میکروبی است. برای این منظور، شناسایی میکروب توسط تکنیک MALDI-TOF سریع و قابل اعتماد است و شواهد قانع کننده‌ای برای میزان اثربخشی و هزینه‌ی مناسب آن وجود دارد. علاوه بر این، شناسایی سریع با استفاده از MALDI-TOF این امکان را برای تسهیل اجرای روش‌های سریع برای ارزیابی حساسیت آنتی‌بیوتیکی، فراهم می‌آورد. از سوی دیگر، روش‌های مولکولی می‌توانند عملکرد تشخیصی را نسبت به آزمون‌های مبتنی بر کشت افزایش دهند و می‌توانند اطلاعات گرانبها و البته محدودی در مورد الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی ارائه دهند. نتایج مفید (کاهش مرگ و میر) مرتبط با تکنیک‌های مولکولی و فنوتیپی سریع می‌تواند با ارتباطات مستقیم پزشک و آزمایشگاه افزایش یابد. همانطور که در بندهای قبلی گزارش شده است، پیشرفت‌های مهمی در نتایج بالینی می‌تواند توسط مداخلات AMS بدست آید. از دیگر مواردی که از مزایای روش‌های سریع مولکولی در ترکیب با AMS گزارش شده عبارتند از: کاهش طول مدت بستری بیمار، کاهش زمان درمان به کمک درمان هدفمند و کاهش استفاده از آنتی بیوتیک‌های وسیع الطیف. با این حال، در یک بررسی سیستماتیک و متاآنالیز در مورد تاثیر روش‌های تشخیص سریع برای بهبود زمان شناسایی و ارائه درمان هدفمند برای بیماران مبتلا به عفونت خون، نشان داده شد که ارزیابی اقتصادی برای این تست‌ها همچنان محل بحث است. این موضوع به این دلیل است که کاهش هزینه که در اغلب مطالعات به آن اشاره شده شامل هزینه‌های اضافی مرتبط با اجرای آزمایش سریع، فضای آزمایشگاهی و پرسنل متخصص برای آزمایش و ارتباط با پزشک، در نظر گرفته نشده است. علاوه بر این، باید در نظر داشت که برخی از مطالعات با موضوع نظارت بر مصرف آنتی بیوتیک، شامل یک تیم مدیریتی مصرف ترکیبات ضد میکروبی تخصصی است که ممکن است در همه بیمارستان‌ها به آسانی قابل دسترسی نباشد.

از آنجاییکه تأثیر تشخیص سریع در انتخاب آنتی بیوتیک‌ها به طور قابل توجهی بین مناطق با شیوع مختلف مقاومت آنتی‌بیوتیکی متفاوت است، طبق مطالعات انجام شده باید روش سریع، مولکولی و یا فنوتیپی برای شناسایی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نیز انجام شود. مطالعات متعدد نشان داده است که اثر مثبت آزمایش سریع PCR برای شناسایی MRSA بر شرایط بیمار، مصرف دارو و جنبه‌ی مالی آن موثر است. مطالعات مشابه ممکن است برای ارزیابی تاثیر

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

روش‌های مستقیم ترکیب شده به شناسایی سریع با MALDI-TOF نیز انجام شود.

در نتیجه، روش‌های جدید پیشنهاد شده اغلب نتایج سریع و دقیق را ارائه می‌دهند. با این حال، کشت خون از جنبه‌های کلیدی و مهم در تشخیص عفونت‌های گردش خون باقی می‌ماند و روش‌های جدید به عنوان تست‌های کمکی، روش‌های مطلوب و پرکاربردی هستند.

References

1- Carlet J, Collignon P, Goldmann D, Goossens H, Gyssens IC, Harbarth S, et al. Society's failure to protect a precious resource: antibiotics. The Lancet. 2011;378(9788):369-71.
2- Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, et al. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. Chest. 2009;136(5):1237-48.
3- Lagu T, Rothberg MB, Shieh M-S, Pekow PS, Steingrub JS, Lindenauer PK. What is the best method for estimating the burden of severe sepsis in the United States? Journal of critical care. 2012;27(4):414. e1-. e9.
4- Charles PE, Dalle F, Aube H, Doise JM, Quenot JP, Aho LS, et al. Candida spp. colonization significance in critically ill medical patients: a prospective study. Intensive care medicine. 2005;31(3):393-400.
5- Donner LM, Campbell WS, Lyden E, Van Schooneveld TC. Assessment of rapid-blood-culture-identification result interpretation and antibiotic prescribing practices. Journal of clinical microbiology. 2017;507-1496;(5)55.
6- Templier V, Livache T, Boisset S, Maurin M, Slimani S, Mathey R, et al. Biochips for direct detection and identification of bacteria in blood culture-like conditions. Scientific reports. 2017;7(1):9457.
7- Kirn T, Weinstein M. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. Clinical Microbiology and Infection. 2013;19(6):513-20.
8- Willems E, Smismans A, Cartuyvels R, Coppens G, Van Vaerenbergh K, Van den Abeele A-M, et al. The preanalytical optimization of blood cultures: a review and the clinical importance of benchmarking in 5 Belgian hospitals. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2012;73(1):1-8.
9- Cockerill III F, Wilson J, Vetter E, Goodman K, Torgerson C, Harmsen W, et al. Optimal testing parameters for blood cultures. Clinical infectious diseases. 2004;38(12):1724-30.
10- Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? Journal of clinical microbiology. 2007;45(11).;8-3546.
11- Dunne Jr WM, Case LK, Isgriggs L, Lublin DM. In-house validation of the BACTEC 9240 blood culture system for detection of bacterial contamination in platelet concentrates. Transfusion. 2005;45(7):1138-42.
12- Ning Y, Hu R, Yao G, Bo S. Time to positivity of blood culture and its prognostic value in bloodstream infection. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2016;35(4):619-24.
13- Arabestani MR, Rastiany S, Kazemi S, Mousavi SM. Conventional, molecular methods and biomarkers molecules in detection of septicemia. Advanced biomedical research. 2015;4.
14- Lamas CC, Fournier P-E, Zappa M, Brandão TJ, Januário-da-Silva CA, Correia MG, et al. Diagnosis of blood culture-negative endocarditis and clinical comparison between blood culture-negative and blood culture-positive cases. Infection. 2016;44(4):459-66.
15- Tattevin P, Watt G, Revest M, Arvieux C, Fournier P-E. Update on blood culture-negative endocarditis. Medecine et maladies infectieuses. 2015;45(1-2):1-8.
16- Jordan JA, Jones-Laughner J, Durso M. Utility of pyrosequencing in identifying bacteria directly from positive blood culture bottles. Journal of clinical microbiology. 2009;47(2):368-72.
17- Lee SY, Shin JH, Kim SH, Shin MG, Suh SP, Ryang DW. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based VITEK MS system for the identification of Acinetobacter species from blood cultures: comparison with VITEK 2 and MicroScan systems. Annals of laboratory medicine. 2015;35(1):8-62.
18- Barenfanger J, Graham DR, Kolluri L, Sangwan G, Lawhorn J, Drake CA, et al. Decreased mortality associated with prompt Gram staining of blood cultures. American journal of clinical pathology. 2008;130(6):870-6.
19- Laffler TG, Cummins LL, McClain CM, Quinn CD, Toro MA, Carolan HE, et al. Enhanced diagnostic yields of bacteremia and candidemia in blood specimens by PCR-electrospray ionization mass spectrometry. Journal of clinical microbiology. 2013;51(11):3535-41.
20- McCann CD, Moore MS, May LS, McCarroll MG, Jordan JA. Evaluation of Real-time PCR and pyrosequencing for screening incubating blood culture bottles from adults with suspected bloodstream infection. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2015;81(3):158-62.
21- Nieman A, Savelkoul P, Beishuizen A, Henrich B, Lamik B, MacKenzie C, et al. A prospective multicenter evaluation of direct molecular detection of blood stream infection

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

from a clinical perspective. BMC infectious diseases. 2016;16(1):314.

22- Wang HY, Kim J, Kim S, Park S, Kim H, Choi H, et al. Performance of PCR-REBA assay for screening and identifying pathogens directly in whole blood of patients with suspected sepsis. Journal of applied microbiology. 2015;119(5):1433-42.

23- Celandroni F, Salvetti S, Gueye SA, Mazzantini D, Lupetti A, Senesi S, et al. Identification and pathogenic potential of clinical Bacillus and Paenibacillus isolates. PLoS One. 2016;11(3):e0152831.

24- Clark AE, Kaleta EJ, Arora A, Wolk DM. Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. Clinical microbiology reviews. 2013;26(3):547-603.

25- van Belkum A, Chatellier S, Girard V, Pincus D, Deol P, Dunne Jr WM. Progress in proteomics for clinical microbiology: MALDI-TOF MS for microbial species identification and more. Expert review of proteomics. 2015;12(6):595-605.

26- Anderson NW, Buchan BW, Riebe KM, Parsons LN, Gnacinski S, Ledeboer NA. Effects of solid-medium type on routine identification of bacterial isolates by use of matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry. Journal of clinical microbiology. 2012;50(3):1008-13.

27- He Y, Li H, Lu X, Stratton CW, Tang Y-W. Mass spectrometry biotyper system identifies enteric bacterial pathogens directly from colonies grown on selective stool culture media. Journal of clinical microbiology. 2010;48(11):3888-92.

28- Clerc O, Prod'hom G, Vogne C, Bizzini A, Calandra T, Greub G. Impact of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry on the clinical management of patients with Gram-negative bacteremia: a prospective observational study. Clinical infectious diseases. 2012;56(8):1101-7.

29- Fiori B, D'Inzeo T, Di Florio V, De Maio F, De Angelis G, Giaquinto A, et al. Performance of two resin-containing blood culture media in detection of bloodstream infections and in direct matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) broth assays for isolate identification: clinical comparison of the BacT/Alert Plus and Bactec Plus systems. Journal of clinical microbiology. 2014;52(10):3558-67.

30- Barnini S, Ghelardi E, Brucculeri V, Morici P, Lupetti A. Rapid and reliable identification of Gram-negative bacteria and Gram-positive cocci by deposition of bacteria harvested from blood cultures onto the MALDI-TOF plate. BMC microbiology. 2015;15(1):124.

31- Loonen AJ, Jansz AR, Stalpers J, Wolffs PF, van den Brule AJ. An evaluation of three processing methods and the effect of reduced culture times for faster direct identification of pathogens from BacT/ALERT blood cultures by MALDI-TOF MS. European journal of clinical microbiology & infectious diseases. 2012;31(7):1575-83.

32- Christner M, Rohde H, Wolters M, Sobottka I, Wegscheider K, Aepfelbacher M. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting. Journal of clinical microbiology. 2010;48(5):1.91-584.

33- Schubert S, Weinert K, Wagner C, Gunzl B, Wieser A, Maier T, et al. Novel, improved sample preparation for rapid, direct identification from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. The Journal of Molecular Diagnostics. 2011;13(6):701-6.

34- Stevenson LG, Drake SK, Murray PR. Rapid identification of bacteria in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. Journal of clinical microbiology. 2010;48(2):444-7.

35- Buchan BW, Riebe KM, Ledeboer NA. Comparison of the MALDI Biotyper system using Sepsityper specimen processing to routine microbiological methods for identification of bacteria from positive blood culture bottles. Journal of clinical microbiology. 2012;50(2):346-52.

36- Lagacé-Wiens P, Adam H, Karlowsky J. a., Nichol K a., Pang PF, Guenther J, et al. Identification of blood culture isolates directly from positive blood cultures by use of matrix-assisted laser desorption ionizationtime of flight mass spectrometry and a commercial extraction system: Analysis of performance, cost, and turnaround time. J Clin Microbiol. 2012;50(10):3324-8.

37- Saffert RT, Cunningham SA, Mandrekar J, Patel R. Comparison of three preparatory methods for detection of bacteremia by MALDI-TOF mass spectrometry. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2012;73(1):21-6.

38- French K, Evans J, Tanner H, Gossain S, Hussain A. The clinical impact of rapid, direct MALDI-TOF identification of bacteria from positive blood cultures. PloS one. 2016;11(12):e0169332.

39- Huang AM, Newton D, Kunapuli A, Gandhi TN, Washer LL, Isip J, et al. Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia. Clinical infectious diseases. 2013;57(9):1237-45.

40- Nagel JL, Huang AM, Kunapuli A, Gandhi TN, Washer LL, Lassiter J, et al. Impact of antimicrobial stewardship intervention on coagulase-negative Staphylococcus blood cultures in conjunction with rapid diagnostic testing. Journal of clinical microbiology. 2014;52(8):2849-54.

41- Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, Cernoch PL, Davis JR, Peterson LE, et al. Integrating rapid diagnostics and

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

antimicrobial stewardship improves outcomes in patients with antibiotic-resistant Gram-negative bacteremia. Journal of Infection. 2014;69(3):216-25.

42- Ramos JM, Boix V, Gimeno A, Rodríguez JC, Riera G, Más-Serrano P, et al. Impact of a stewardship program on bacteraemia in adult inpatients. Rev Esp Quimioter. 2017;30(4):257-63.

43- Patel TS, Kaakeh R, Nagel JL, Newton DW, Stevenson JG. Cost analysis of implementing matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry plus real-time antimicrobial stewardship intervention for bloodstream infections. Journal of clinical microbiology. 2017;55(1):60-7.

44- Hooff GP, van Kampen JJ, Meesters RJ, van Belkum A, Goessens WH, Luider TM. Characterization of β-lactamase enzyme activity in bacterial lysates using MALDI-mass spectrometry. Journal of proteome research. 2011;11(1):79-84.

45- Sparbier K, Schubert S, Weller U, Boogen C, Kostrzewa M. Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry-based functional assay for rapid detection of resistance against β-lactam antibiotics. Journal of clinical microbiology. 2012;50(3):927-37.

46- Jung JS, Popp C, Sparbier K, Lange C, Kostrzewa M, Schubert S. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for rapid detection of beta-lactam resistance in Enterobacteriaceae derived from blood cultures. J Clin Microbiol. 2014;52(3):924-30.

47- Sparbier K, Lange C, Jung J, Wieser A, Schubert S, Kostrzewa M. MALDI biotyper-based rapid resistance detection by stable-isotope labeling. Journal of clinical microbiology. 2013;51(11):3741-8.

48- Burckhardt I, Zimmermann S. Using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry to detect carbapenem resistance within 1 to 2.5 hours. Journal of clinical microbiology. 2011;49(9):3321-4.

49- Gagnaire J, Dauwalder O, Boisset S, Khau D, Freydière A-M, Ader F, et al. Detection of Staphylococcus aureus delta-toxin production by whole-cell MALDI-TOF mass spectrometry. PloS one. 2012;7(7):e40660.

50- Abrok M, Lazar A, Szecsenyi M, Deak J, Urban E. Combination of MALDI-TOF MS and PBP2' latex agglutination assay for rapid MRSA detection. Journal of microbiological methods. 2018;144:.4-122.

51- Sogawa K, Watanabe M, Ishige T, Segawa S, Miyabe A, Murata S, et al. Rapid Discrimination between Methicillin-Sensitive and Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Using MALDI-TOF Mass Spectrometry. Biocontrol science. 2017;22(3):163-9.

52- Lasch P, Fleige C, Stämmler M, Layer F, Nübel U, Witte W, et al. Insufficient discriminatory power of MALDI-TOF mass spectrometry for typing of Enterococcus faecium and Staphylococcus aureus isolates. Journal of microbiological methods. 2014;100:58-69.

53- Suarez S, Ferroni A, Lotz A, Jolley KA, Guérin P, Leto J, et al. Ribosomal proteins as biomarkers for bacterial identification by mass spectrometry in the clinical microbiology laboratory. Journal of microbiological methods. 2013;94(3):390-6.

54- Griffin PM, Price GR, Schooneveldt JM, Schlebusch S, Tilse MH, Urbanski T, et al. Use of matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry to identify vancomycin-resistant enterococci and investigate the epidemiology of an outbreak. Journal of clinical microbiology. 2012;50(9):2918-31.

55- Nakano S, Matsumura Y, Kato K, Yunoki T, Hotta G, Noguchi T, et al. Differentiation of vanA-positive Enterococcus faecium from vanA-negative E. faecium by matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry. International journal of antimicrobial agents. 2014;44(3):256-9.

56- Lau AF, Wang H, Weingarten RA, Drake SK, Suffredini AF, Garfield MK, et al. A rapid matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry-based method for single-plasmid tracking in an outbreak of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. Journal of clinical microbiology. 2014;52(8):2804-12.

57- Vella A, De Carolis E, Vaccaro L, Posteraro P, Perlin DS, Kostrzewa M, et al. Rapid antifungal susceptibility testing by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry analysis. Journal of clinical microbiology. 2013;51(9):2964-9.

58- Saracli MA, Fothergill AW, Sutton DA, Wiederhold NP. Detection of triazole resistance among Candida species by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). Medical mycology. 2015;53(7):736-42.

59- Sanguinetti M, Posteraro B. Mass spectrometry applications in microbiology beyond microbe identification: progress and potential. Expert review of proteomics. 2016;13(10):965-77.

60- Lupetti A, Barnini S, Castagna B, Capria A-L, Nibbering P. Rapid identification and antimicrobial susceptibility profiling of Gram-positive cocci in blood cultures with the Vitek 2 system. European journal of clinical microbiology & infectious diseases. 2010;29(1):89.

61- Gherardi G, Angeletti S, Panitti M, Pompilio A, Di Bonaventura G, Crea F, et al. Comparative evaluation of the Vitek-2 Compact and Phoenix systems for rapid identification and antibiotic susceptibility testing directly from blood cultures of Gram-negative and Gram-positive isolates. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2012;72(1):20-31.

62- Barnini S, Brucculeri V, Morici P, Ghelardi E, Florio W, Lupetti A. A new rapid method for direct antimicrobial susceptibility testing of bacteria from positive blood cultures. BMC microbiology. 2016;16(1):185.

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

63- Florio W, Morici P, Ghelardi E, Barnini S, Lupetti A. Recent advances in the microbiological diagnosis of bloodstream infections. Critical reviews in microbiology. 2018;44(3):351-70.
64- Machen A, Drake T, Wang YFW. Same day identification and full panel antimicrobial susceptibility testing of bacteria from positive blood culture bottles made possible by a combined lysis-filtration method with MALDI-TOF VITEK mass spectrometry and the VITEK2 system. PloS one. 2014;9(2):e87870.
65- Leitner E, Kessler HH, Spindelboeck W, Hoenigl M, Putz-Bankuti C, Stadlbauer-Köllner V, et al. Comparison of two molecular assays with conventional blood culture for diagnosis of sepsis. Journal of microbiological methods. 2013;92(3):253-5.
66- Fujita S-i, Yosizaki K, Ogushi T, Uechi K, Takemori Y, Senda Y. Rapid identification of gram-negative bacteria with and without CTX-M extended-spectrum β-lactamase from positive blood culture bottles by PCR followed by microchip gel electrophoresis. Journal of clinical microbiology. 2011;49(4):1483-8.
67- Wellinghausen N, Kochem A-J, Disqué C, Mühl H, Gebert S, Winter J, et al. Diagnosis of bacteremia in whole-blood samples by use of a commercial universal 16S rRNA gene-based PCR and sequence analysis. Journal of clinical microbiology. 2009;47(9):2759-65.
68- Lupetti A, Barnini S, Dodi C, Menconi M, Favre C, Giagnoni M, et al. New rapid methods cannot replace the current method to diagnose bloodstream infections. Journal of medical microbiology. 2014;63(5):767-9.
69- Regueiro BJ, Varela-Ledo E, Martinez-Lamas L, Rodriguez-Calviño J, Aguilera A, Santos A, et al. Automated extraction improves multiplex molecular detection of infection in septic patients. PloS one. 2010;5(10):e13387.
70- Laakso S, Kirveskari J, Tissari P, Mäki M. Evaluation of high-throughput PCR and microarray-based assay in conjunction with automated DNA extraction instruments for diagnosis of sepsis. PloS one. 2011;6(11):e26655.
71- Pitt WG, Alizadeh M, Husseini GA, McClellan DS, Buchanan CM, Bledsoe CG, et al. Rapid separation of bacteria from blood—review and outlook. Biotechnology progress. 2016;3.39-823:(4)2.
72- Moore M, McCarroll M, McCann C, May L, Younes N, Jordan J. Direct screening of blood by PCR and pyrosequencing for a 16S rRNA gene target from emergency department and intensive care unit patients being evaluated for bloodstream infection. Journal of clinical microbiology. 2016;54(1):99-105.
73- Chang S-S, Hsieh W-H, Liu T-S, Lee S-H, Wang C-H, Chou H-C, et al. Multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis–a systemic review and meta-analysis. PloS one. 2013;8(5):e62323.
74- Wolk D, Struelens M, Pancholi P, Davis T, Della-Latta P, Fuller D, et al. Rapid detection of Staphylococcus aureus and methicillin-resistant S. aureus (MRSA) in wound specimens and blood cultures: multicenter preclinical evaluation of the Cepheid Xpert MRSA/SA skin and soft tissue and blood culture assays. Journal of clinical microbiology. 2009;47(3):823-6.
75- Ishikawa H, Kutsukake E, Chiba K, Fukui T, Matsumoto T. The performance of the BD geneOhm MRSA™ assay for MRSA isolated from clinical patients in Japan, including the effects of specimen contamination and ways to improve it. Journal of Infection and Chemotherapy. 2011;17(2):214-8.
76- Spencer DH, Sellenriek P, Burnham C-AD. Validation and implementation of the GeneXpert MRSA/SA blood culture assay in a pediatric setting. American journal of clinical pathology. 2011;136(5):690-4.
77- Avdic E, Wang R, Li DX, Tamma PD, Shulder SE, Carroll KC, et al. Sustained impact of a rapid microarray-based assay with antimicrobial stewardship interventions on optimizing therapy in patients with Gram-positive bacteraemia. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2017;72(11):3191-8.
78- Clerc O, Prod'hom G, Senn L, Jaton K, Zanetti G, Calandra T, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry and PCR-based rapid diagnosis of Staphylococcus aureus bacteraemia. Clinical Microbiology and Infection. 2014;20(4):355-60.
79- Brown J, Paladino JA. Impact of rapid methicillin-resistant Staphylococcus aureus polymerase chain reaction testing on mortality and cost effectiveness in hospitalized patients with bacteraemia. Pharmacoeconomics. 2010;28(7):567-75.
80- Nguyen DT, Yeh E, Perry S, Luo RF, Pinsky BA, Lee BP, et al. Real-time PCR testing for mecA reduces vancomycin usage and length of hospitalization for patients infected with methicillin-sensitive staphylococci. Journal of clinical microbiology. 2010;48(3):785-90.
81- Kikuchi K, Matsuda M, Iguchi S, Mizutani T, Hiramatsu K, Tega-Ishii M, et al. Potential impact of rapid blood culture testing for gram-positive bacteremia in Japan with the Verigene gram-positive blood culture test. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology. 2017;2017.
82- Romero-Gómez MP, Muñoz-Velez M, Gómez-Gil R, Mingorance J. Evaluation of combined use of MALDI-TOF and Xpert® MRSA/SA BC assay for the direct detection of methicillin resistance in Staphylococcus aureus from positive blood culture bottles. Journal of Infection. 2013;67(1):91-2.
83- Page A, O'Rourke S, Brennan M, Clooney L, Le Blanc D, Griffin J, et al. Impact of Xpert MRSA/SA blood culture PCR assay on management of positive blood cultures in obstetric patients: a retrospective audit. Irish Journal of Medical Science (1971-). 2017;186(4):995-8.
84- Koh L, O'Rourke S, Brennan M, Clooney L, Cafferkey M, McCallion N, et al. Impact of a rapid molecular test for

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]

positive blood cultures from neonatal intensive care patients on clinical management: a retrospective audit. Irish Journal of Medical Science (1971-)..7-423:(2)187;2018.

85- Dunne W, Westblade L, Ford B. Next-generation and whole-genome sequencing in the diagnostic clinical microbiology laboratory. European journal of clinical microbiology & infectious diseases. 2012;31(8):1719-26.

86- Bacconi A, Richmond GS, Baroldi MA, Laffler TG, Blyn LB, Carolan HE, et al. Improved sensitivity for molecular detection of bacterial and Candida infections in blood. Journal of clinical microbiology. 2014;52(9):3164-74.

87- Metzgar D, Frinder MW, Rothman RE, Peterson S, Carroll KC, Zhang SX, et al. The IRIDICA BAC BSI assay: rapid, sensitive and culture-independent identification of bacteria and candida in blood. PLoS One. 2016;11(7):e0158186.

88- Jeng K, Gaydos CA, Blyn LB, Yang S, Won H, Matthews H, et al. Comparative analysis of two broad-range PCR assays for pathogen detection in positive-blood-culture bottles: PCR–high-resolution melting analysis versus PCR-mass spectrometry. Journal of clinical microbiology. 2012;50(10):3287-92.

89- Jordana-Lluch E, Carolan HE, Gimenez M, Sampath R, Ecker DJ, Quesada MD, et al. Rapid diagnosis of bloodstream infections with PCR followed by mass spectrometry. PLoS One. 2013;8(4):e62108.

90- Stupar P, Opota O, Longo G, Prod'Hom G, Dietler G, Greub G, et al. Nanomechanical sensor applied to blood culture pellets: a fast approach to determine the antibiotic susceptibility against agents of bloodstream infections. Clinical Microbiology and Infection. 2017;23(6):400-5.

91- Aghayee S, Benadiba C, Notz J, Kasas S, Dietler G, Longo G. Combination of fluorescence microscopy and nanomotion detection to characterize bacteria. Journal of Molecular Recognition. 2013;26(11):590-5.

92- Mencacci A, Leli C, Montagna P, Cardaccia A, Meucci M, Bietolini C, et al. Diagnosis of infective endocarditis: comparison of the LightCycler SeptiFast Real-time PCR with blood culture. Journal of medical microbiology. 2012;61(6):881-3.

93- Ziegler I, Fagerstrom A, Stralin K, Molling P. Evaluation of a Commercial Multiplex PCR Assay for Detection of Pathogen DNA in Blood from Patients with Suspected Sepsis. PLoS One. 2016;11(12):e0167883.

94- Gosiewski T, Flis A, Sroka A, Kędzierska A, Pietrzyk A, Kędzierska J, et al. Comparison of nested, multiplex, qPCR; FISH; SeptiFast and blood culture methods in detection and identification of bacteria and fungi in blood of patients with sepsis. BMC microbiology. 2014;14(1):313.

95- Teranishi H, Ohzono N, Inamura N, Kato A, Wakabayashi T, Akaike H, et al. Detection of bacteria and fungi in blood of patients with febrile neutropenia by Real-time PCR with universal primers and probes. Journal of Infection and Chemotherapy. 2015;21(3):189-93.

96- Mylonakis E, Clancy CJ, Ostrosky-Zeichner L, Garey KW, Alangaden GJ, Vazquez JA, et al. T2 magnetic resonance assay for the rapid diagnosis of candidemia in whole blood: a clinical trial. Clinical Infectious Diseases. 2015;60(6):892-9.

97- Beyda ND, Alam MJ, Garey KW. Comparison of the T2Dx instrument with T2Candida assay and automated blood culture in the detection of Candida species using seeded blood samples. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2013;77(4):324-6.

98- Neely LA, Audeh M, Phung NA, Min M, Suchocki A, Plourde D, et al. T2 magnetic resonance enables nanoparticle-mediated rapid detection of candidemia in whole blood. Science translational medicine. 2013;5(182):182ra54-ra54.

99- Hamula CL, Hughes K, Fisher BT, Zaoutis TE, Singh IR, Velegraki A. T2Candida provides rapid and accurate species identification in pediatric cases of candidemia. American journal of clinical pathology. 2016;145(6):858-61.

100- Pana ZD, Vikelouda K, Roilides E. Diagnosis of invasive fungal diseases in pediatric patients. Expert review of anti-infective therapy. 2016;14(12):1203-13.

101- Walker B, Powers-Fletcher MV, Schmidt RL, Hanson KE. Cost-effectiveness analysis of multiplex PCR with magnetic resonance detection versus empiric or blood culture-directed therapy for management of suspected candidemia. Journal of clinical microbiology. 2016;54(3):718-26.

[Downloaded from jps.ajaums.ac.ir on 2026-01-01]