Archive of SID

مقاله مروری
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۷، آذر ۱۳۹۷، ۸۸۰-۸۶۵

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

تشخیص عفونت‌های باکتریایی؛ روش های سنتی و مولکولی: یک مرور سنتی

علی دره‌کردی[۱]، ابراهیم رضازاده زرندی[۲]، سپیده آثار[۳]، امید رضاحسینی[۴]، شکرالله آثار[۵]

دریافت مقاله: ۹۷/۲/۸ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۷/۴/۲۶ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۷/۷/۲ پذیرش مقاله: ۹۷/۷/۱۶

چکیده

به طور سنتی، تشخیص عوامل بیماری‌های عفونی بر اساس روش‌های معمول یا فنوتیپی است. با توجه به فقدان رشد برخی از عوامل عفونی، این روش‌ها برای تشخیص تعدادی از باکتری‌ها بسیار دشوار یا غیرممکن است. با ظهور فنون مولکولی، تشخیص عفونت‌های میکروبی تحت تأثیر قرارگرفته است. این مقاله به مزایا و معایب روش‌های تشخیصی مولکولی و سنتی در تشخیص میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌پردازد. روش‌های تشخیصی سنتی مانند روش‌های فنوتیپیک، شیمیایی و ویژگی‌های سرولوژیکی هنوز برای تشخیص بسیاری از بیماری‌های عفونی استفاده می‌شود. علاوه بر تشخیص عوامل باکتریایی، روش‌های مختلف مولکولی می‌توانند عوامل بیماری‌زایی و ژن مقاومت ضد میکروبی را در میزان، حساسیت و دقت بالاتر مورد تشخیص قرار دهند. به‌نظر می‌رسد که روش‌های پیشرفته مولکولی می‌توانند سبب کاهش زمان تشخیص، میزان مرگ و میر و هزینه‌های تشخیص آزمایشگاهی شوند و طول مدت بستری را کوتاه نمایند.

واژه‌های کلیدی: تشخیص، بیماری‌های عفونی، سنتی، مولکولی، روش

مقدمه

میکروارگانیسم‌ها موجودات کوچکی هستند که تنها با میکروسکوپ دیده می‌شوند [۱]. به‌طور معمول میلیاردها عدد باکتری بر روی پوست، درون دستگاه‌های گوارش و ادراری تناسلی بدن انسان زندگی می‌کنند. اکثریت قریب به اتفاق آن‌ها نه تنها بیماری ایجاد نمی‌کنند، بلکه برای سلامت میزبان مفید و حتی لازم هستند. این باکتری‌ها

۱- دانشیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان، ایران
۲- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران
۳- استادیار، گروه پاتولوژی، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بندرعباس، بندرعباس، ایران
۴- پزشک، متخصص بیماری‌های عفونی و گرمسیری، مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره)، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۵- (نویسنده مسئول) مربی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران
تلفن: ۳۱۳۱۵۰۲۱-۰۳۴، دورنگار: ۳۱۳۱۵۰۰۳-۰۳۴، پست الکترونیکی: assar_sh@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

گاهی اوقات به‌عنوان "باکتری‌های خوب" یا "باکتری سالم" مطرح می‌شوند [۲].

باکتری‌های مضر باعث عفونت‌های باکتریایی شده و بیماری‌زا نامیده می‌شوند. عفونت‌های باکتریایی در صورتی رخ می‌دهند که باکتری‌های بیماری‌زا یا فرصت طلب در بدن شروع به تکثیر نموده و بر جمعیت باکتری سالم برتری پیدا کنند، و یا به رشد در بافت‌هایی بپردازند که به‌طور معمول استریل می‌باشند. برخی از این باکتری‌های بیماری‌زا می‌توانند بیماری با عوارض جدی یا تهدیدکننده زندگی مانند مسمومیت خون (باکتریمی)، نارسایی کلیه و سندرم شوک توکسیک را به وجود آورند [۳]. باکتری‌های عفونت‌زا به علت تکثیر سریع در بدن و تولید مواد شیمیایی که سم نامیده می‌شوند، سبب تخریب بافت‌ها شده و تولید بیماری می‌نمایند [۴]. در مجموع بیماری‌های عفونی باکتریایی می‌توانند کمیت و کیفیت زندگی را تحت تأثیر قرار دهند و در قرن گذشته با بیماری‌های خطرناکی چون؛ طاعون، تیفوس، حصبه، ذات‌الریه، کزاز و دیگر عفونت‌های شدید، یکی از علل عمده مرگ و میر در جامعه انسانی بوده است [۶-۵].

به‌طورمعمول تشخیص بیماری‌های باکتریایی به دلیل داشتن علائم بالینی غیراختصاصی، با تأخیر صورت می‌پذیرد [۷]. علائم یک بیماری عفونی ساده مانند آنفلوانزا می‌تواند شامل تب، لرز، گلودرد، آب‌ریزش بینی، سردرد شدید و بدن درد و یا حتی تهوع و استفراغ باشد. این علائم بالینی کمابیش در مراحل ابتدایی یک عفونت باکتریایی خطرناک مانند مننژیت مننگوکوکی نیز وجود دارد. لذا با توجه به علائم بالینی مشترک، تشخیص این دو از یکدیگر بسیار مشکل است. درحالی‌که تشخیص زود هنگام مننژیت مننگوکوکی بسیار مهم بوده و چنان‌چه قبل از شروع علائم بالینی پیشرفته مننژیت، مورد تشخیص قرار گیرد، می‌تواند کمک شایانی به بهبود و درمان زودهنگام فرد و به‌ویژه جلوگیری از عوارض شدید احتمالی و حتی مرگ بیمار نماید [۳].

به دلایل مختلف همه‌گیری‌های عفونت‌های باکتریایی یکی از پر چالش‌ترین عوامل تأثیرگذار بر زندگی انسان بوده است [۵،۸]، به‌گونه‌ای که سرنوشت ملت‌ها و امپراتوری‌ها را تحت تأثیر قرار داده و باعث زوال و یا توسعه بسیاری از تمدن‌های بشری شده است. انسان برای مقابله با عفونت‌های باکتریایی پژوهش‌های بسیاری انجام داده است تا بتواند راه‌هایی برای تشخیص، درمان، کنترل و پیش‌گیری از آن‌ها پیدا کند. از همین رو است که تاکنون هزاران مقاله در زمینه‌های بهداشت عمومی و پزشکی چاپ شده است [۹-۸]. بیماری‌های عفونی را می‌توان به دلایلی چون تأثیر زیاد و غیر قابل پیش‌بینی، مصونیت پایدار در مقابل ابتلاء مجدد، قابلیت انتقال، پیش‌گیری، ریشه‌کنی، تکثیر، جهش و سازگار شدن با انسان، جدا شدن از گونه‌های حیوانی و یا در همراهی با آن‌ها، داشتن امکان درمان و این‌که می‌توان از ایجاد عفونت در افراد مستعد پیش‌گیری کرد، از سایر بیماری‌ها جدا می‌کند [۸].

DNA، ماکرو مولکولی است که تمام اطلاعات ژنتیکی یک موجود زنده را کد می‌کند. بنابراین با بررسی اطلاعات ذخیره شده در آن می‌توان به بسیاری ویژگی‌های موجود و حتی بیماری‌های ژنتیکی آن پی برد [۱۰]. پزشکی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

مولکولی شاخه‌ای از علوم است که از روش‌های فیزیکی، شیمیایی، بیولوژیکی، آمار زیستی و روش‌های پزشکی برای تشریح ساختار و ساز کارهای مولکولی بیماری‌ها و روش‌هایی جهت تشخیص مولکولی بیماری‌های عفونی و غیر عفونی و برطرف نمودن خطاهای ژنتیکی استفاده می‌کند. بنابراین درک درست از سلامتی، بیماری، چگونگی برقراری سلامتی، اساس و مکانیسم بیماری‌های انسانی از اهداف پزشکی مولکولی است. در نتیجه با درک درست از فرآیندهای بیماری، راه‌های جدیدی برای پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری‌ها پیدا می‌شود [۱۱].

تشخیص مولکولی، وضعیت بیولوژیکی موجود زنده را در سطح ژنتیکی ارزیابی می‌کند و با مشخص نمودن کدهای ژنتیکی DNA موجود زنده، تفاوت بین افراد مستعد ابتلاء به یک بیماری و گزینه‌های درمانی آن ممکن می‌شود. تشخیص مولکولی ترادف‌های خاصی از مولکول DNA که برای تعیین جهش‌های ژنتیکی در یک باکتری، ویروس و یا سرطان بیان می‌شوند را مشخص می‌کنند [۱۲].

روش‌های سنتی از دیرباز در تشخیص عفونت‌های میکروبی کاربرد داشته و هنوز هم دارند. در دهه‌های اخیر روش‌های مولکولی متعددی برای تشخیص میکروب‌ها و یا فرآورده‌های آن‌ها ارائه شده است که در تشخیص عفونت‌های میکروبی و یا عوامل بوجود آورنده آن کاربرد گسترده‌ای پیدا کرده‌اند. در مقاله مروری حاضر و در جهت آگاهی بهتر سعی شده است به تاریخچه، کاربرد، مزایا و معایب آن‌ها پرداخته شود.

روش‌های تشخیص میکروارگانیسم‌ها

روش‌های سنتی

به‌طور معمول باکتری‌ها به‌وسیله آزمون‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی شناسایی می‌شوند و توسط آزمون‌های تکمیلی تخصصی نظیر آزمایش‌های سرم شناختی و الگوهای حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی بر روی محیط کشت جامد مشخص می‌گردند. روش‌های سنتی و معمول تشخیص عامل باکتریایی عفونت شامل مشاهده میکروسکوپی (مانند رنگ‌آمیزی گرم)، بررسی فنوتیپی خصوصیات باکتری بر پایه کشت بر روی محیط‌های مصنوعی، شناسایی آنتی‌بادی‌های ضد ساختارهای باکتری با کمک روش‌های سرولوژیک و تعیین حساسیت ضدمیکروبی (آنتی‌بیوگرام) است [۱۴-۱۳]. اگرچه برخی از این روش‌ها را می‌توان در عرض چند دقیقه انجام داد (رنگ‌آمیزی گرم برای مشاهده میکروسکوپی باکتری‌ها)، اما از دقت و قدرت تشخیصی کافی برای جداسازی میکروارگانیسم عامل برخوردار نیست. بنابراین روش‌های سنتی برای تعیین هویت دقیق یک باکتری، قطعی و ارزش‌مند نمی‌باشند. از طرفی در مورد برخی آزمایش‌ها مانند بررسی خصوصیات فنوتیپی و آنتی‌بیوگرام نیز صرف وقت زیادی لازم است و در مورد برخی از آن‌ها مانند روش‌های سرولوژیک ممکن است واکنش‌های متقاطع سبب عدم تشخیص قطعی عامل عفونت شود [۱۵].

روش‌های مولکولی

از دهه ۸۰ میلادی از روش‌های تعیین هویت مولکولی برای تشخیص بیماری‌های عفونی استفاده می‌شوند [۱۶].

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

با توجه به این‌که باکتری‌ها در سطح جنس، گونه، زیرگونه و حتی سویه دارای توالی‌های خاص و منحصر به فرد در ژنوم خود می‌باشند، بنابراین واکنش زنجیره پلی‌مراز در تکثیر توالی خاصی از اسید نوکلئیک باکتری به‌سرعت فراگیر شد و امکان تشخیص سریع دامنه بسیار وسیعی از عوامل بیماری‌های عفونی را امکان‌پذیر کرد (جدول ۱ و ۲) [۱۹-۱۷]. آزمایش‌های مولکولی در تشخیص و شناسایی میکروارگانیسم‌ها انقلابی اساسی به وجود آورند. این روش‌ها ساده، نسبتاً کم‌هزینه و از حساسیت ارزشمندی به‌ویژه در مورد تشخیص باکتری‌های غیرقابل کشت و یا سخت رشد برخوردار می‌باشند [۲۰]. شناسایی یک عامل عفونی باکتریایی در سطح جنس، گونه، زیرگونه و سویه به دلایل ارتباط موارد فردی به شیوع بیماری‌های عفونی، ایجاد ارتباط بین شیوع مسمومیت غذایی و یک وسیله حمل و نقل مواد غذایی خاص، به‌منظور بررسی تغییرات در بیماری‌زایی، حدت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های خاص داخل یک‌گونه، برای ردیابی منبع آلایندگی در فرآیند تولید، به‌منظور بررسی اکولوژی میکروبی جوامع پیچیده باکتریایی مانند بیوفیلم، و برای مشخص کردن میکروارگانیسم‌ها درگیر در برنامه‌های مهم صنعتی بسیار مهم است. پزشک معالج بر اساس حدسی که از عامل به وجود آورنده عفونت دارد، آزمایش یا آزمایش‌هایی را در نظر می‌گیرد. چنان‌چه میکروب عامل عفونت ناشایع یا غیرقابل کشت باشد و یا یافته‌های بالینی و روش‌های هیستوپاتولوژیک قادر به تعیین عامل عفونت نباشند، آزمایشگاه می‌تواند با استفاده از روش‌های مولکولی بر پایه اسید نوکلئیک، نسبت به تعیین هویت و شناسایی آن اقدام نماید [۲۳-۲۱].

در طول دهه‌های گذشته و پس از معرفی موفقیت‌آمیز فن‌آوری‌های تشخیص مولکولی تعداد پروتکل‌های تشخیصی مرتبط با باکتری‌شناسی پزشکی، غذایی، و محیطی به طرز چشم‌گیری افزایش یافته است. .علیرغم این‌که روش‌های مولکولی نمی‌توانند در آینده نزدیک جایگزین میکروب‌شناسی رایج و مبتنی بر کشت و تشخیص فنوتیپی گردند، در بعضی از آزمایشگاه‌ها با کمک فن‌آوری‌های تشخیصی مبتنی بر ریزآرایه (Microarray) و یا اندازه‌گیری‌های سریع بر پایه Real-time PCR (RT-PCR) تشخیص پاتوژن‌های مهم به امری عادی تبدیل‌شده است [۲۴]. با بهبود روش‌های مولکولی در تشخیص میکروب‌ها، مطالعات اپیدمیولوژیک و پژوهش‌های ناحیه‌ای و جهانی اهمیت و امکان انجام بیشتری پیدا کرده‌اند [۲۷-۲۵].

سنجش با روش‌های Multiplex PCR، ریزآرایه DNA، هیبریداسیون درجا، تعیین توالی DNA سنگین موازی (Massive parallel DNA)، پروفایل کردن میکروبیوم، تایپ‌بندی مولکولی پاتوژن‌ها، شناسایی ژن‌های مرتبط با مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و طیف‌سنجی توده، فن‌آوری‌های پیشرفته و نوظهوری هستند که در حال حاضر برای تشخیص عفونت‌های باکتریایی از نمونه‌های پاتولوژی و بالینی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۶].

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

جدول ۱- روش‌های آزمایشگاهی مولکولی مرتبط با تشخیص باکتری‌ها بر اساس پروتکل‌های مرکز کنترل بیماری‌ها و پیشگیری (CDC) [۱۹].

میکروارگانیسم تشخیصی	روش تشخیص مولکولی
اکتینومایسس‌های هوازی و غیر هوازی	16S SEQUENCING, MALDI-TOF
شناسایی مولکولی آناپلاسما	RT- PCR, 16S SEQUENCING
شناسایی باسیلوس آنتراسیس در نمونه‌های بالینی و تایپ‌بندی آن	PCR, RT – PCR AND GENOTYPING (MLVA)
شناسایی گونه‌های مختلف باسیلوس و به‌ویژه باسیلوس سرئوس نمونه‌های غذایی	PCR, 16S SEQUENCING , MALDI-TOF MLST
شناسایی بارتونلا، بردتلا (گونه پرتوسیس و غیر پرتوسیس)	PCR, RT- PCR, MULTIPLEX – PCR, MALDI-TOF, 16S SEQUENCING
تعیین زیرگونه‌های کلستریدیوم بوتولینوم مولد توکسین و تأیید آزمایشگاهی بوتولیسم	PFGE, PCR, MS
گونه‌های مختلف بروسلا و تایپ‌بندی آن	PCR, MLVA
بورخلدریا مالئی، سودومالئی و دیگر گونه‌های بورخلدریا	PCR, MALDI-TOF, 16S SEQUENCING , MLST, MLVA
کمپیلوباکتر، هلیکوباکتر و ارگانیسم‌های مشابه	PCR AND RT- PCR
کلامیدیا تراکوماتیس، ترپونما پالیدوم، هموفیلوس دوکره‌ای، گاردنرلا و نایسریا گونوره‌آ در نمونه‌های بالینی	RT-PCR, SDA, TC, TMA, DKA, HPA, HYBRID CAPTURE, MULTIPLEX PCR, PCR, HYBRIDIZATION
شناسایی مولکولی کلامیدوفیلا نمونیه، کلامیدوفیلا سیتاسی	RT-PCR
کلستریدیوم دیفیسیل و کلستریدیوم پرفرنجنس	LOOP AMPLIFICATION TECHNOLOGY, MULTIPLEX REAL-TIME PCR, ISOTHERMAL AMPLIFICATION AND CHIP-BASED PCR
کرینه‌باکتریوم دیفتریه، اولسرانس، سودوتوبرکلوزیس و دیگرگونه‌های کرینه‌باکتریوم	PCR, MALDI-TOF, 16S SEQUENCING
شناسایی مولکولی کوکسیلا بورنتی و ارلیشیا	RT - PCR, PCR, 16S SEQUENCING
انتروکوکوس فکالیس و دیگر انتروکوک مای مورد نظر	PNA-BASED ASSAY, FISH
اشریشیا و شیگلا	PCR FOR STEC AND OTHER PATHOTYPE-SPECIFIC VIRULENCE GENES, PNA-BASED ASSAY, FISH
فرانسیسلا تولرانسیس	RT-PCR
باسیل گرم منفی (غیر روده‌ای، غیر تخمیری)	MALDI-TOF, 16S SEQUENCING
کوکوس گرم منفی (به‌جز عامل مولد سوزاک یا مننگوکک)	MALDI-TOF, 16S SEQUENCING

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

باسیل گرم مثبت	MALDI-TOF, 16S SEQUENCING
هموفیلوس آنفلوانزا	RT-PCR
گونه‌های هموفیلوس (به‌جز هموفیلوس آنفلوانزا و دوکره‌ای)	MALDI-TOF, 16S SEQUENCING
کلبسیلا نمونیه	PNA-BASED ASSAY, PNA-BASED ASSAY, FISH
تعیین نوع گونه‌های لژیونلا	16S SEQUENCING , RT-PCR
تعیین ژنوم گونه‌های لپتواسپیرا	MLST, PCR
شناسایی مولکولی گونه‌های لپتواسپیرا	PCR
تعیین لیستریا مونوسیتوژنز و گونه دیگر لیستریا	PHENOTYPIC & GENETIC IDENTIFICATION, MLVA
گونه‌های موراکسلا	MALDI-TOF, 16S SEQUENCING
مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، کمپلکس مایکوباکتریوم‌های مولد سل و گونه‌های دیگر مایکوباکتریوم	TMA, 16S SEQUENCING, MALDI-TOF, HPA,
گونه‌های نایسریا (به‌جز مولد سوزاک و منگوکوک)	MALDI-TOF, 16S SEQUENCING
شناسایی و تایپ بندی ایزوله‌های نایسریا منتژیتیدیس جداشده از بیماران	RT-PCR AND MLST
گونه‌های نوکاردیا	MALDI-TOF, 16S SEQUENCING
شناسایی مولکولی اورینتیا	RT-PCR, PCR, 16S SEQUENCING
سودوموناس ایروژینوزا	PNA-BASED ASSAY, FISH
شناسایی مولکولی عوامل تنفسی (کلامیدیا، لژیونلا، مایکوپلاسما)	RT-PCR
شناسایی مولکولی ریکتزیا	RT-PCR, PCR, 16S SEQUENCING
سالمونلا	PHENOTYPIC & GENETIC IDENTIFICATION MLVA
تعیین زیرگونه سالمونلا	16S SEQUENCING, MALDI-TOF, PHENOTYPIC TESTING, PNA-BASED ASSAY, FISH
استافیلوکوکوس- میکروکوکوس و استافیلوکوکوس اورئوس. تعیین زیرگونه استافیلوکوکوس و MRSA در هنگام شیوع	16S SEQUENCING, MALDI-TOF, PHENOTYPIC TESTING, MOLECULAR STRAIN TYPING, RT – PCR, NASBA
ارزیابی تشخیص مولکولی باکتری‌های مولد بیماری منتقله جنسی	MOLECULAR CLONING, PCR, WGS
تضمین کیفیت بین‌المللی بیماری منتقله جنسی؛ نایسریا گونوره‌آ، کلامیدیا تراکوماتیس، مایکوپلاسما جنیتالیوم	PCR

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

B و A استرپتوکوک گروه	HPA, PNA-BASED ASSAY, FISH, RT – PCR, HPA, LOOP AMPLIFICATION TECHNOLOGY
جمع‌آوری، آنالیز و تفسیر پیوسته و نظام‌مند استرپتوکوک مای گروه ABC	
تعیین نوع استرپتوکوک (استرپ بتا همولیتیک)	PHENOTYPIC TESTING, MOLECULAR TESTING
استرپتوکوکوس (کاتالاز منفی، کوکوس گرم مثبت)	
تعیین نوع استرپتوکوکوس نمونیه	
شناسایی مولکولی ترپونما پالیدوم	PCR
تعیین نوع مولکولی ترپونما پالیدوم	PCR, 16S SEQUENCING , RFLP
ویبریو، ایروموناس و ارگانیسم‌های مرتبط	PHENOTYPIC & GENETIC ID
یرسینیا پستیس	RT – PCR
یرسینیا (به‌جز یرسینیا پستیس) و دیگر انتروباکتریاسه	PHENOTYPIC & GENETIC ID
تعیین زیرگونه یرسینیا (به‌جز یرسینیا پستیس) و دیگر انتروباکتریاسه	PFGE, LMST

جدول ۲ –روش‌های آزمایشگاهی مرتبط با فرآورده‌ها و دیگر اجزای مرتبط با باکتری‌ها [۱۹]

تشخیص فراورده‌ها یا اجزای باکتریایی	و یا تیپ‌بندی روش مولکولی تشخیصی
تعیین وجود ژن‌های مرتبط با مقاومت به ترکیبات ضد میکروبی	RT-CR و PCR
شناسایی ژن سم کرینه باکتریوم دیفتریه	RT-PCR
شناسایی ژن مولد توکسین شیگا در ایزوله‌های بالینی شیگلا و اشریشیا	RT-CR و PCR
ارزیابی پاتولوژیک عفونت‌های سیستم عصبی مرکزی، تنفسی و مرگ ناگهانی و غیرقابل توصیف شیرخواران مشکوک به عفونت بر اساس اتیولوژی عفونی محتمل	16S Sequencing و PCR
شناسایی ژن مولد شوک توکسیک (TSST-1) در استافیلوکوکوس اورئوس	16S Sequencing, MALDI-TOF, PCR
وجود شاخصه‌های بیماری‌زایی در ویبریو کلرا	PCR

تحقیقات مولکولی بیشتر و توسعه فن‌آوری‌های پیچیده‌تر، دانش ژنوم میکروبی را توسعه بخشیده و برای بررسی تنوع، بیماری‌زایی و رابطه میکروارگانیسم‌ها با میزبان، فرصت‌های بزرگی را فراهم آورده است. به‌طور طبیعی به کار گیری فن‌آوری‌های جدید نه‌تنها بر ساختار جهانی آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی، بلکه بر آموزش و

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

توزیع منابع در دسترس نیز تأثیر وافری گذاشته است. تکنیک‌های مولکولی جدید این شرایط را فراهم می‌کنند که یک‌گونه باکتریایی به‌وسیله توالی‌های ژنتیکی خود به‌طور مستقیم حتی در نمونه‌های بالینی مورد تشخیص قرار گیرد. کارکنان آزمایشگاه‌های بالینی در پاسخ به درخواست پزشک معالج، میکروب‌های مرتبط با بیماری‌های عفونی را مورد تشخیص، جداسازی، شناسایی و تعیین الگوهای حساسیت ضد میکروبی قرار می‌دهند و با آزمایشگاه‌های بهداشت عمومی در ارتباط می‌باشند [۶، ۱۵-۱۶، ۲۸].

روش‌های شناسایی مولکولی ضمن هزینه نسبتاً پایین می‌توانند نسبت به روش‌های سنتی کشت نمونه به‌طوری حساس‌تر و سریع‌تر عمل نموده و از طریق شناسایی سویه‌های خاص، اهداف اپیدمیولوژیک بیماری‌های عفونی را هموار کنند. در یک مطالعه که بر روی ۱۶۸ نمونه بالینی زخم مزمن انجام گرفته است. ۱۷ نوع باکتری با روش‌های مبتنی بر کشت (فنوتیپی) و ۳۳۸ نوع باکتری با روش مولکولی مبتنی بر توالی 16S rDNA تشخیص داده شده‌اند. در روش مولکولی علاوه بر باکتری‌های هوازی، هوازی اختیاری و باکتری‌های بی‌هوازی اجباری نیز تشخیص داده شده‌اند. این مطالعه بیان‌گر حساسیت بالای روش‌های مولکولی نسبت به کشت در تشخیص باکتری‌ها است [۲۹]

علاوه بر این در انجام آزمایش‌های مولکولی به حجم و مقادیر بسیار کم نمونه نیاز است و این باعث می‌شود حساسیت و توان انجام آزمایش بهبود پیدا کند. از همه مهم‌تر، انتقال نمونه ساده‌تر است و خطر آلودگی نمونه کاهش می‌یابد. هم‌چنین از آنجا که در آزمایشگاه مبتنی بر تشخیص مولکولی، تمام مراحل در یک دستگاه انجام می‌شود، به‌راحتی قابل استاندارد شدن است. کوچک‌سازی، استاندارد سازی و قابل حمل بودن دستگاه‌ها از مزیت‌های عمده روش‌های مولکولی است. حتی تشخیص عوامل بیماری‌ها می‌تواند در محل بستری بیمار انجام شود [۳۰].

در یک مطالعه نشان داده شده است که تغییر مختصر در گردش کار آزمایشگاه، بررسی نتایج و گزارش آن‌ها را به‌جای یک‌بار در روز، به دو بار در روز (۵ ساعت) بهبود می‌بخشد. این تغییر منجر به کاهش ۱/۷ درصدی میزان مرگ و میر شده و کاهش متوسط اقامت بیماران در بیمارستان به مدت ۲ روز را داشته است [۳۱]. تسریع در تشخیص باکتری عامل عفونت مستقیماً بر هزینه‌های بیمار تأثیر می‌گذارد. برای مثال در آمریکا، به‌طور متوسط سبب ۱۷۵۰ دلار صرفه‌جویی در هزینه‌های بیمار شده است [۳۲].

در یک مطالعه دیگر، روش‌های مبتنی بر آزمایش‌های مولکولی سبب پیشرفت و تسریع در گزارش حساسیت ضد میکروبی باکتری عامل عفونت، کاهش ۱/۴درصد درصدی در میزان مرگ و میر و کاهش ۱/۲درصد روز از طول اقامت شده است. این پژوهش نشان داده که به‌طور متوسط مجموعاً ۱۴۶۶ دلار صرفه‌جویی در هزینه به ازای هر بیمار و بالغ بر حدود ۳ میلیون دلار در سال در آمریکا شده است [۶].

کاربردها (فواید) روش‌های تشخیص مولکولی در باکتری‌شناسی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

هر آزمایش مولکولی برای یک میکروارگانیسم خاص طراحی شده است و تنها همان نوع میکروارگانیسم را تشخیص می‌دهد. این‌گونه آزمایش‌ها تنها زمانی این آزمایش‌ها توسط پزشک درخواست می‌شود که او به یک بیماری (عامل میکروبی) خاص مشکوک شده باشد [۱۷]. آزمایش‌های مولکولی به دو دسته کمی و کیفی تقسیم می‌شوند؛ در آزمایش‌های کمی علاوه بر تعیین شدت عفونت، امکان اندازه‌گیری مقدار ماده ژنتیکی یک میکروب خاص نیز وجود دارد (سودوموناس ایروژینوزا و استرپتوکوکوس آگالاکتیه). آزمایش‌های مولکولی کیفی برای تعیین وجود یک میکروارگانیسم طراحی شده‌اند و علاوه بر تشخیص باکتری عامل عفونت (مایکوباکتریوم توبرکلوزیس) ، کارآمدی داروهای مورد استفاده در درمان نیز قابل بررسی است [۲۹، ۱۷].

از آزمون‌های بر پایه اسید نوکلئیک می‌توان در بررسی ژن‌ها و یا جهش‌های ژنی موجود در باکتری که آن را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم کرده است، استفاده نمود. اما از آنجا که هنوز همه انواع مقاومت‌های میکروبی شناخته نشده‌اند، این آزمایش‌ها نمی‌توانند کاملاً قابل استناد باشند. بنابراین با این آزمایش‌ها نمی‌توان همه مقاومت‌های ضد میکروبی موجود در باکتری‌ها را شناسایی کرد. روش‌های مولکولی علاوه بر شناسایی میکروارگانیسم‌ها، پیشرفت زیادی در زمینه تعیین ژنوتیپ (به عبارتی تعیین ویژگی سویه‌ها) میکروب‌های مهم از نظر بهداشت عمومی داشته‌اند. پاسخ به درمان‌های ضد ویروسی از طریق تعیین مقاومت و آزمایش بار ویروسی، قابل ارزیابی و اندازه‌گیری شده است. از این‌رو، درمان عفونت‌های میکروبی سهولت یافته است [۷]. با ظهور روش‌های Multiplex PCR، RT - PCR و خودکارسازی کردن آن‌ها، هزینه‌های استفاده از روش‌های مولکولی کاهش یافته و مسیر را برای استفاده بیشتر از این روش‌ها هموارتر کرده است. به‌طوری‌که نقش آن‌ها در تشخیص میکروارگانیسم عامل عفونت افزایش و مدیریت بر بیماری‌های عفونی تمرکز بیشتری پیدا کرده است [۳۳]. هم‌چنین به‌وسیله روش مولکولی می‌توان باکتری‌های سخت رشد نظیر کلامیدیا تراکوماتیس، نایسریا گونوره‌آ، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس خلط سینه مثبت، بردتلا پرتوسیس، عوامل ذات‌الریه‌های غیرمعمول شامل لژیونلا نموفیلا، مایکوپلاسما نمونیه و کلامیدیا نمونیه؛ بورلیا بورگدورفری، ارلیشیا، آناپلاسما، گونه‌های بارتونلا، گونه‌های اکتینومایسس، سایر باکتری‌ها و هم‌چنین بسیاری از ویروس‌ها را مورد شناسایی قرار داد [۲۱، ۱۸-۱۷].

درمجموع پزشکی مولکولی و روش‌های تشخیصی بر پایه آن، سبب بالا رفتن علم و فن‌آوری درزمینه پیش‌بینی‌های پزشکی، پیش‌گیری و پزشکی-شخصی شود. درنتیجه، مزایای بالینی و اجتماعی-اقتصادی ارزشمندی را نصیب پزشکان، بیماران و سایر افراد کند. در حال حاضر در ایالات متحده آمریکا بیش از ۲۶۰۰۰ آزمون تشخیصی برای بیش از ۳۶۰۰ ژن و بیماری ژنتیکی وجود دارد. با دانش پزشکی مولکولی، پزشکی شخصی بدون شک از داغ‌ترین مباحث بخش‌های مراقبت‌های بهداشتی در سطح جهانی در آینده خواهد بود [۲۱].

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

محدودیت‌های روش‌های تشخیصی مولکولی در باکتری‌شناسی

بکارگیری جهانی روش‌های مولکولی به دلیل اینکه پزشک معالج بایستی ارگانیسم بوجود آورنده عفونت بیمار را حدس زده و سپس کیت مولکولی مناسب را انتخاب کنند، معمولاً دشوار است. انجام این آزمون‌ها در همه جا امکان‌پذیر نمی‌باشند و برای تعداد کمی از میکروارگانیسم‌ها استاندارد سازی شده‌اند [۳۴]. روش‌های متعدد با جزئیات فنی نسبتاً زیاد برای یک باکتری، وضعیت نامشخص باکتری در نمونه از نظر زنده بودن و تداخل عوامل محیطی متعدد از محدودیت‌های جدی استفاده از روش‌های تشخیصی مولکولی به‌حساب می‌آیند. در مورد برخی از روش‌های مولکولی به علت هزینه‌های بالای محلول‌ها و شناساگرهایی از جمله تراشه، کیت‌های تشخیصی و ابزارهای مورد نیاز از جمله اسکنر و محفظه هیبریداسیون، استفاده از ریزآرایه‌ها به خصوص در حیطه پزشکی محدود کرده است. در آینده نزدیک استفاده گسترده از فنّاوری تشخیصی مبتنی بر ریزآرایه‌ها مقرون به‌صرفه‌تر خواهد شد و به‌طور روزمره در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی بکار گرفته خواهد شد [۳۵].

یکی از محدودیت‌های عمده استفاده از روش‌های تشخیصی مولکولی، فراوانی نتایج مثبت کاذب و منفی کاذب است. حضور DNA در محیط زیست، آزمایشگاه و ابزارهای مورد استفاده برای آماده‌سازی واکنش، منجر به تشخیص نادرست عامل بیماری‌زا می‌شود [۳۶]. جدای از آلودگی سلول‌های زنده موجود که می‌توان آن‌ها را به‌راحتی از سطوح و تجهیزات آزمایشگاهی پاک کرد، DNA به‌راحتی قابل حذف نمی‌باشد. در برخی موارد میکروارگانیسم مورد بررسی باید کشت داده شود و سپس از کلنی‌های تشکیل‌شده برداشت کرده و پس از استخراج DNA، آزمون مولکولی انجام گیرد. بنابراین تکثیر آزمایشگاهی باکتری گامی ضروری برای تشخیص به‌حساب می‌آید. برای مثال در مورد باکتری‌ها و قارچ‌ها که دیواره سلولی ضخیمی دارند، بایستی بتوان با روش‌های تهاجمی (قبل از استخراج DNA و واکنش تکثیری) و با استفاده از معرف‌های شیمیایی و آنزیمی به‌طور مؤثر دیواره سلولی آن‌ها را از بین برد [۳۷-۳۶]. علاوه بر این، در بسیاری از موارد، برای تشخیص آلودگی با استفاده از روش‌های مولکولی نیاز به پیش‌بینی توالی هدف و جهش گاه‌به‌گاه در DNA ژنومی است که این موضوع می‌تواند کار تشخیص را پیچیده تر سازد. این مشکل را می‌توان با استفاده از پروب‌های زیادی ، و یا پرایمرهایی که بتوانند تغییری هم‌زمان در تمامی توالی هدف به وجود آورند و یا با به‌کارگیری پروب‌های طولانی و شرایط هیبریداسیون با شدت کمتر برطرف ساخت [۳۸]. در نهایت، روش‌های مبتنی بر DNA قادر به تشخیص هر دو عامل بیماری‌زای زنده و غیر زنده هستند. درحالی که می‌تواند به‌عنوان یک مزیت برای تشخیص عوامل بیماری‌زای غیرقابل کشت باشد، اما می‌تواند اشکالاتی را نیز در برداشته باشد. در واقع، DNA ژنوم ارگانیسم‌های بیماری‌زا از بین رفته هنوز در نمونه وجود دارد و می‌تواند نتیجه را به‌صورت مثبت کاذب درآورد. در این موارد یک نسخه پشتیبان توسط تکنیک‌های بر پایه RNA مانند

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

NASBA یا RT-PCR ارائه شده، زیرا پایداری RNA از DNA کمتر است [۳۹].

مقایسه روش‌های تشخیصی سنتی و مولکولی

در آزمایشگاه میکروب‌شناسی، تشخیص مبتنی بر اسید نوکلئیک به‌تدریج جایگزین یا مکمل روش‌های مبتنی بر کشت و ویژگی‌های بیوشیمیایی و هم‌چنین سنجش ایمنی در تشخیص باکتری‌ها شده است. پیشرفت‌های اخیر در فن‌آوری تشخیصی راه را برای توسعه روش‌های چندگانه با استفاده از ریز و درشت آرایه‌ها هموار کرده است [۴۰]. در حال حاضر RT- PCR ضمن کمک به تشخیص سریع عامل باکتری عفونت، خطر آلودگی نمونه را نیز کاهش داده است. استفاده از این فن‌آوری مولکولی جدید به تشخیص و شناسایی عوامل بیماری‌زای میکروبی محدود نبوده و می‌تواند به‌وسیله انگشت‌نگاری میکروبی برای تعیین نوع ژنتیکی و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نیز مورد استفاده قرار گیرد. برای مراقبت از یک بیمار عفونی، پیگیری یک بیماری فراگیر جهانی و افزایش کیفیت مراقبت‌های بهداشتی باید عامل میکروبی با روش‌هایی سریع و دقیق تشخیص داده شود. با وجود پیشرفت‌های چشم‌گیر در فن‌آوری‌های تشخیصی هم‌چنان آزمایشگاه‌ها برای بسیاری از بیماران مبتلا به عفونت، به جای استفاده از آزمون‌های مولکولی، هنوز از روش‌های تجربی یا فنوتیپی مانند بررسی مقاومت ضد میکروبی تجربی (روش انتشار دیسک) استفاده می‌کنند [۴۱]. نتیجه استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک برای درمان و یا پیش‌گیری از بیماری‌های عفونی سطح مقاومت ضد میکروبی افزایش داده است. به همین دلیل و روزبه‌روز از تعداد آنتی‌بیوتیک‌های موجود برای درمان بیماران کاسته می‌شود [۴۲]. تحقیقات مولکولی بیشتر و توسعه فن‌آوری‌های پیچیده‌تر دانش ژنوم میکروبی را افزایش داده و فرصت‌های بزرگی را برای بررسی تنوع و بیماری‌زایی میکروبی و رابطه‌شان با میزبان فراهم کرده است [۴۳]. طبیعی است که بکار گیری فن‌آوری‌های جدید نه تنها بر ساختار جهانی آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی، بلکه بر آموزش و توزیع منابع در دسترس نیز اثر خواهد گذاشت [۴۴]. چالش مهم آینده در تشخیص مولکولی، استخراج داده‌های بیولوژیک معنی‌دار مرتبط با تشخیص، پیش‌آگهی، پاسخ به درمان و در نهایت، پیشگیری از ارتباط بالینی مستقیم (تماس با بیمار و نمونه عفونی) خواهد بود [۴۵].

در مجموع روش‌های سنتی مبتنی بر کشت، وقت‌گیر و نیاز به کارشناس خبره برای تشخیص درست و دقیق باکتری عامل عفونت دارد. بنابراین برای تمایز بین عفونت‌های باکتریایی و ویروسی، شناسایی سریع و دقیق یک میکروب بیماری‌زای خاص و هم‌چنین برای داشتن الگوی حساسیت ضد میکروبی قطعی به کمک روش‌های مولکولی نیاز است [۶]. بنابراین استفاده از روش‌های مولکولی و سایر روش‌های مبتنی بر اسید نوکلئیک (به‌جز کشت میکروبی و تعیین آنتی‌بادی بر علیه عامل) و یا روش جدید تر مانند طیف سنجی توده (Mass Spectrometry, MS) و MALDI-TOF یک امتیاز بزرگ برای مراقبت‌های بهداشتی و تأمین سلامت جامعه محسوب می‌شوند [۴۶]. در آزمایش‌های مولکولی جدیدتر

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

می‌توان به‌طور همزمان چند عامل عفونی بیماری‌زا را در نمونه بیمار مورد جستجو قرار داد و حتی متخصصین آزمایشگاهی می‌توانند با استفاده از این روش‌ها ژنوم ویروس موجود در نئوپلاسم‌های پوستی را مشخص و در تعیین هویت تومورها به پزشک معالج کمک نمایند. اگر چه روش‌های مولکولی زمان تشخیص تعدادی از میکروارگانیسم‌ها را کوتاه‌تر می‌کنند، اما هنوز برای تشخیص بسیاری از عوامل بیماری‌زای باکتریایی به روش‌های مبتنی بر کشت نیاز است [۴۷].

نتیجه‌گیری

این آزمایش‌های می‌توانند در حداقل زمان ممکن انجام شوند و نتیجه صحیحی را ارائه و تأثیر مثبتی در تشخیص و درمان زود هنگام بیماری عفونی فرد داشته باشند. زمان کوتاه بین نمونه‌گیری، تشخیص و دریافت نتایج صحیح‌تر و دقیق‌تر با روش‌های مولکولی قابل دسترس است و در نتیجه مصرف آنتی‌بیوتیک‌های غیر ضروری و با مقادیر زیاد که پزشک ناگزیر است تا دریافت نتیجه آزمایش‌های عفونت باکتریایی، آن‌ها را برای بیمار تجویز کند را کاهش داده است. در مورد بیماران بستری در بیمارستان، روش‌های تشخیصی مولکولی می‌توانند طول زمان دریافت وریدی آنتی‌بیوتیک‌ها را کوتاه نموده و ریسک افزایش مقاومت ضد میکروبی به آنتی‌بیوتیک‌ها را کاهش دهند و هزینه‌های بیمارستانی بیماران عفونی را به حداقل برسانند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان در فراهم آوردن امکان انجام این مقاله مروری اعلام می نمایند.

References

[1] Murray KA, Preston N, Allen T, Zambrana-Torrelio C, Hosseini PR, Daszak P. Global biogeography of human infectious diseases. *PNAS* 2015; 112(41): 12746-51.

[2] Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Med* 2016; 8(1): 51.

[3] Boyles T, Wasserman S. Diagnosis of bacterial infection. *SAMJ* 2015; 105(5).

[4] Zarandi ER, Mansouri S, Nakhaee N, Sarafzadeh F, Moradi M. Toxin production of *Clostridium difficile* in sub-MIC of vancomycin and clindamycin alone and in combination with ceftazidime. *Microb Pathog* 2017; 107: 249-53.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

[5] Assar Sh, Ravari A, Vakilian AR, Rezahosseini O, Hosseini F, Assar S. A study of the status of the elderly; bacterial infections, their causes, prevention, and control methods. *JOHE* 2016 15(3): 182-93.

[6] Caliendo AM, Gilbert DN, Ginocchio CC, Hanson KE, May L, Quinn TC, et al. Better tests, better care: improved diagnostics for infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2013; 57(suppl_3): S139-S70.

[7] Tenover FC, Reller LB, Weinstein MP. Rapid detection and identification of bacterial pathogens using novel molecular technologies: infection control and beyond. *Clin Infect Dis* 2007; 44(3): 418-23.

[8] Fauci AS, Morens DM. The perpetual challenge of infectious diseases. *N Engl J Med* 2012; 366(5): 454-61.

[9] Jalalpour S, Assar S, Ayoobi F, Rahmani M, Rezaeian M. Overview of the most prestigious journals of medical microbiology, Spring 2014. *JRUMS* 2015; 13(10): 973-90. [Farsi]

[10] Kumar A, Ryan A, Kitzman JO, Wemmer N, Snyder MW, Sigurjonsson S, et al. Whole genome prediction for preimplantation genetic diagnosis. *Genome Med* 2015; 7(1): 35.

[11] Milunsky A, Milunsky JM. Genetic disorders and the fetus: diagnosis, prevention, and treatment: John Wiley & Sons. 2015.

[12] Akhmetov I, Bubnov R. Assessing value of innovative molecular diagnostic tests in the concept of predictive, preventive, and personalized medicine. *EPMAJ* 2015; 6: 19.

[13] Sadeghi M, Assar S. An in vitro antimicrobial activity of ten Iranian-made toothpastes. *Dent Res J (Isfahan)*. 2009;6(2):87-92.

[14] YaghootiKhorasani MM AS, Rezahosseini O, Assar Sh. Comparison of inhibitory dilutions of a thymol-based mouthwash (ORION Ò) with chlorhexidine on Streptococus mutans and Streptococcus sanguis. *Dent Res J (Isfahan)* 2011; 7(2): 122-9.

[15] Pfaller MA. Molecular approaches to diagnosing and managing infectious diseases: practicality and costs. *Emerg Infect Diseases* 2001; 7(2): 312.

[16] Cai H, Caswell J, Prescott J. Nonculture molecular techniques for diagnosis of bacterial disease in animals: a diagnostic laboratory perspective. *Vet Pathol* 2014; 51(2): 341-50.

[17] Emmadi R, Boonyaratanakornkit JB, Selvarangan R, Shyamala V, Zimmer BL, Williams L, et al. Molecular methods and platforms for infectious diseases testing: a review of FDA-approved and cleared assays. *J Mol Diagn* 2011; 13(6): 583-604.

[18] Gwinn M, MacCannell DR, Khabbaz RF. Integrating advanced molecular technologies into public health. *J Clin Microbiol* 2017; 55(3): 703-14.

[19] CDC. Centers for Disease Control & Prevention; Infectious Diseases Laboratory Test Directory. 2017.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

[20] Rezazadeh Zarandi E, Mansouri S, Nakhaee N, Sarafzadeh F, Iranmanesh Z, Moradi M. Frequency of antibiotic associated diarrhea caused by Clostridium difficile among hospitalized patients in intensive care unit, Kerman, Iran. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2017; 10(3): 229-34.

[21] Barken KB, Haagensen JA, Tolker-Nielsen T. Advances in nucleic acid-based diagnostics of bacterial infections. *Clin Chimica Acta* 2007; 384(1-2): 1-11.

[22] Zhao Y, Ma X, Han W. Basic laboratory techniques in molecular biology. Beijing: Qinghua University Publishing House. 2006.

[23] Hosler GA, Murphy KM. Infectious Disease Testing. Molecular Diagnostics for Dermatology: Springer. 2014. p. 313-40.

[24] Zarandi ER, Mansouri S, Nakhaee N, Sarafzadeh F, Moradi M. Effect of sub-MIC of vancomycin and clindamycin alone and in combination with ceftazidime on Clostridium difficile surface layer protein A (slpA) gene expression. *Microb Pathog*. 2017; 111: 163-7.

[25] Yang S, Rothman RE. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute-care settings. *Lancet Infect Dis* 2004; 4(6): 337-48.

[26] Merritt A, Inglis TJ, Chidlow G, Harnett G. PCR-based identification of Burkholderia pseudomallei. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 2006; 48(5): 239-44.

[27] Jannes G, De Vos D. A review of current and future molecular diagnostic tests for use in the microbiology laboratory. Diagnostic Bacteriology Protocols: Springer. 2006. p. 1-21.

[28] Podglajen I, Bellery F, Poyart C, Coudol P, Buu-Hoï A, Bruneval P, et al. Comparative molecular and microbiologic diagnosis of bacterial endocarditis. *Emerg Infect Diseases* 2003; 9(12): 1543.

[29] Rhoads DD, Wolcott RD, Sun Y, Dowd SE. Comparison of culture and molecular identification of bacteria in chronic wounds. *Int J Mol* 2012; 13(3): 2535-50.

[30] Lauri A, Mariani PO. Potentials and limitations of molecular diagnostic methods in food safety. *Genes Nutr* 2009; 4(1).

[31] Kaleta EJ, Clark AE, Cherkaoui A, Wysocki VH, Ingram EL, Schrenzel J, et al. Comparative analysis of PCR–electrospray ionization/mass spectrometry (MS) and MALDI-TOF/MS for the identification of bacteria and yeast from positive blood culture bottles. *Clin Chem* 2011; 57(7): 1057-67.

[32] Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Virdi JS. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front microbiol* 2015; 6: 791.

[33] Eftekhari Y, Kazemi Arababadi M, Hakimi H, Rezazadeh Zarandi E. Common HBV genotype in southeastern Iranian patients. *Arch Iran Med* 2010; 13(2): 147-9.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019

[34] Law JW-F, Ab Mutalib N-S, Chan K-G, Lee L-H. Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: principles, applications, advantages and limitations. *Front microbiol* 2015; 5: 770.

[35] Fraser D, Kaern M. A chance at survival: gene expression noise and phenotypic diversification strategies. *Mol Microbiol* 2009; 71(6): 1333-40.

[36] Speers DJ. Clinical Applications of Molecular Biology for Infectious Diseases. *Clin Biochem Rev* 2006; 27(1): 39-51.

[37] Timothée H CJ, Grojsman R, Bellahsene L, Colas G, Moulet H, et al. Ultrafast, sensitive and large-volume on-chip real-time PCR for the molecular diagnosis of bacterial and viral infections. *Lab on a Chip* 2016; 16(8): 1401-11.

[38] Umesha S, Manukumar H. Advanced molecular diagnostic techniques for detection of food-borne pathogens: Current applications and future challenges. *Crit. Rev. Food Sci Nutr* 2018; 58(1): 84-104.

[39] Cangelosi GA MJ. Dead or alive: molecular assessment of microbial viability. *Appl Environ Microbiol* 2014; 80(19): 5884-91.

[40] Weile J, Knabbe C. Current applications and future trends of molecular diagnostics in clinical bacteriology. *Anal Bioanal Chem* 2009; 394(3): 731-42.

[41] Matuschek E, Brown DF, Kahlmeter G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clin. Microbiol Infect* 2014; 20(4): O255-O66.

[42] Roca I, Akova M, Baquero F, Carlet J, Cavaleri M, Coenen S, et al. The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New Microbes New Infect* 2015; 6: 22-9.

[43] Brown ED, Wright GD. Antibacterial drug discovery in the resistance era. *Nature* 2016; 529(7586): 336.

[44] E K. Bacterial Identification Where Mass Spectrometry Meets Microbiology. *AACC* 2012.

[45] Sin ML, Mach KE, Wong PK, Liao JC. Advances and challenges in biosensor-based diagnosis of infectious diseases. *Expert Rev Mol Diagn* 2014; 14(2): 225-44.

[46] Nomura F. Proteome-based bacterial identification using matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS): A revolutionary shift in clinical diagnostic microbiology. *Biochim Biophys Acta Bioenerg* 2015; 1854(6): 528-37.

[47] Lagier J-C, Hugon P, Khelaifia S, Fournier P-E, La Scola B, Raoult D. The rebirth of culture in microbiology through the example of culturomics to study human gut microbiota. *Clin Microbiol Rev* 2015; 28(1): 237-64.

www.SID.ir

Archive of SID

Diagnosis of Bacterial Infections; Traditional and Molecular Methods: A Narrative Study

A. Darekordi[1], E. Rezazadeh Zarandi[2], S. Assar[3], O. Rezahosseini[4], Sh. Assar[5]

Received: 28/04/2018 Sent for Revision: 17/07/2018 Received Revised Manuscript: 24/09/2018 Accepted: 08/10/2018

Background and Objectives: Traditionally, diagnosis of the agents of infectious diseases is based on conventional or phenotypic methods. Due to the lack of growth of some infectious agents, these methods are very difficult or impossible for diagnosis of some bacteria. The advent of molecular techniques has more or less influences on the detection of microbial infections. This article addresses the advantages and disadvantages of diagnostic molecular and conventional methods in detecting pathogenic microorganisms. Traditional diagnostic methods such as phenotypic, chemical and serologic characteristics are still used for detection of infectious diseases. In addition to diagnosing the bacterial agents, varient molecular methods may also detect virulence factors and antimicrobial resistance genes at a higher rate, sensitivity and accuracy. It seems that the advanced molecular methods can reduce diagnosis time, mortality rate and costs of laboratory diagnosis, and shorten the duration of hospitalization.

Key words: Diagnosis, Infectious diseases, Traditional, Molecular, Method

Funding: This study did not have any funds.

Ethical approval: None declared.

Conflict of interest: None declared.

How to cite this article: Darekordi A, Rezazadeh Zarandi E, Assar S, Rezahosseini R, Assar Sh. Diagnosis of Bacterial Infections; Traditional and Molecular Methods: A Narrative Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2018; 17 (9): 865-80. [Farsi]

1- Associate Prof., Dept. of Chemistry, Faculty of Science, Vali-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran ORCID: 0000-0002-4382-6713.
2- Assistant Prof., Dept. of Microbiology, Medical School, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran ORCID: 0000-0001-7067-2214
3- Assistant Prof., Dept. of Pathology, Dental School, Bandar Abbas University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran ORCID: 0000-0001-6231-9234
4- MD, Specialist of Infectious and Tropical Diseases, Imam Khomeini Hospital Complex, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0003-2198-1904
5- Instructor, Dept. of Microbiology, Medical School, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran ORCID: 0000-0001-6721-7069.
(Corresponding Author) Tel: (034)3431315021, Fax: (034)34315003, Email: assar_sh@yahoo.com

www.SID.ir

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 10:06 +0330 on Wednesday February 6th 2019