تشخیص باکتریمی در بیماران مشکوک به سپتی‌سمی با استفاده از روش واکنش زنجیره پلیمراز

اعظم شیرعلی‌نژاد[۱]، فرزانه فیروزه[۱و۲*]، منصوره مومن هروی[۳]، عصمت آقاداوود[٤]، مجتبی صحت[٥]

۱- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.
۲- مرکز تحقیقات مکمل‌های غذایی و پروبیوتیک‌ها، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران.
۳- گروه بیماری عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.
٤- مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.
٥- گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

*نویسنده مسئول: کاشان، بلوار قطب راوندی، خیابان پزشک، دانشکده پزشکی، گروه میکروب‌شناسی.
تلفن: ۰۳۱-٥٥٥٤٠٠٦٦
E-mail: ffiroozeh@ut.ac.ir

چکیده

دریافت: ۱۳۹۸/۰٦/۲٥ ویرایش: ۱۳۹۸/۰۷/۰۲ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳ آنلاین: ۱۳۹۸/۱۰/۳۰

زمینه و هدف: سپسیس یک سندرم بالینی است که به‌دنبال پاسخ التهابی نامنظم به عفونت همراه با علایم سیستمیک ایجاد شده و در صورت عدم درمان سریع با مرگ‌ومیر بالایی همراه می‌باشد. امروزه روش‌های مولکولی به‌دلیل حساسیت، اختصاصیت و سرعت بالا منجر به تشخیص سریع و دقیق سپسیس باکتریال در طی چند ساعت می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی شیوع باکتریمی در بیماران مشکوک به سپتی‌سمی، با استفاده از تکثیر ژن 23S rRNA به روش واکنش زنجیره پلی‌مراز می‌باشد.

روش بررسی: این مطالعه مقطعی از آذرماه ۱۳۹۵ تا دی‌ماه ۱۳۹٦ در بیمارستان شهید بهشتی کاشان در دو مرحله‌ی آنالیتیکی و کلینیکی انجام گرفت. نمونه خون ۲٦٥ بیمار مشکوک به سپتی‌سمی مراجعه‌کننده به اورژانس بیمارستان شهید بهشتی کاشان با روش Polymerase chain reaction (PCR) و با استفاده از پرایمر ژن 23S rRNA مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج آزمون PCR نشان داد، از میان ۲٥٦ نمونه خون گردآوری شده از بیماران با علایم بالینی سپسیس، (۳۰/۲٪) ۸۰ دارای عفونت باکتریمی بودند. از این تعداد موارد باکتریمی، (٥۷/٥٪) ٤٦/۸۰ بیمار مرد و (٤۲/٥٪) ۳٤/۸۰ بیمار زن بودند. بیشترین موارد PCR مثبت در میان افراد با سابقه بیماری زمینه‌ای دیابت و زخم بستر (۲۱/۳٪) به‌دست آمد. آنالیز آماری نشان داد، بین نتیجه آزمون PCR و سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک ارتباط معناداری وجود دارد.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد، روش مولکولی PCR با استفاده از پرایمر همگانی 23S rRNA آزمون مناسب جهت تشخیص باکتریمی در نمونه‌های خون بیماران می‌باشد.

کلمات کلیدی: باکتریمی، نمونه خون، مطالعات مقطعی، واکنش زنجیره پلیمراز، سپسیس، 23S rRNA.

مقدمه

سپسیس یک سندرم بالینی است که به‌دنبال پاسخ التهابی نامنظم و نابجا به یک عفونت ایجاد می‌شود. این اختلال با وجود عفونت به همراه علایم سیستمیک عفونت تشخیص داده می‌شود.[۱و۲] باوجود سال‌ها تلاش و انجام مطالعات گسترده به منظور بهبود درمان، کماکان آمار مرگ‌ومیر ناشی از سپسیس حتی در کشورهای پیشرفته افزایش داشته و پس از پنومونی و ایدز سومین عامل مرگ‌ومیر ناشی از عفونت به‌شمار می‌رود.[۳و٤] بروز سپسیس رو به افزایش است و یکی از مهمترین دلایل آن، افزایش تعداد جمعیت دارای عوامل خطرزا می‌باشد.[٥] کشت خون یکی از روش‌های بکارگیری شده در تشخیص ابتلای بیماران به سپسیس است که مزایایی همچون قیمت ارزان، سهولت در روش انجام و در دسترس بودن دارد، ولی به‌علت کم بودن تعداد ارگانیسم در خون و یا تجویز آنتی‌بیوتیک پیش از انجام

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-05]

آزمایش، جداسازی ارگانیسم عامل سپسیس به این روش دشوار است.[۵-۷] امروزه روش‌های مبتنی بر DNA به‌دلیل سرعت و حساسیت بالا، منجر به تشخیص سپسیس باکتریال در طی تنها چند ساعت می‌گردند.[۸و۹] شناسایی سریع سپسیس به‌ویژه در درمان سریع بیماران دچار عفونت شدید و کشنده بسیار سودمند است.[۱۰] تکثیر نواحی حفاظت شده ژنوم به‌ویژه ژن 23S rRNA جهت شناسایی موارد باکتریمی، از تکنیک‌های بسیار سودمند است که از مزایای آن این است که تمام باکتری‌های ایجادکننده باکتریمی را با حساسیت بالا شناسایی می‌کند.[۸]

هدف از مطالعه حاضر تشخیص سریع باکتریمی در بیماران مشکوک به باکتریمی، با استفاده از پرایمر همگانی 23S rRNA و به روش Polymerase chain reaction (PCR) می‌باشد.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی مقطعی-تحلیلی، تعداد ۲۶۵ بیمار دارای علایم بالینی مشکوک به سپسیس که به اورژانس بیمارستان شهید بهشتی کاشان از آذر ۱۳۹۵ تا دی ۱۳۹۶ مراجعه کرده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. معیارهای ورود به مطالعه شامل داشتن تب بالای $38^{\circ}C$ و یا کاهش درجه حرارت بدن به زیر $36^{\circ}C$، افزایش میزان تنفس به بیش از ۲۰ تنفس در دقیقه، افزایش شمارش گلبول‌های سفید به بیش از ۱۲۰۰۰ سلول در میلی‌لیتر مکعب خون و یا کاهش شمارش گلبول‌های سفید به کمتر از ۴۰۰۰ سلول در میلی‌لیتر مکعب خون بود و بیمارانی که معیارهای یادشده را نداشتند، از مطالعه خارج شدند. تمام مراحل مورد استفاده در مطالعه حاضر با کد اخلاق (IR.Kaums.Rec.1395.13) مورد تایید و تصویب کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی کاشان قرار گرفت. جهت انجام کشت خون و بررسی به روش PCR، از تمامی بیماران نمونه‌های خون در شرایط کاملا استریل تهیه گردید، بدین‌منظور از هر بیمار میزان چهار میلی‌لیتر خون گرفته شد و در لوله‌های استریل ونوجکت حاوی آنتی‌کواگولانت (Vacuette® K3-EDTA tube, Greiner Bio-One, USA) گردآوری گردید.

جهت استخراج DNA از نمونه خون کامل از کیت Exgene™ Cell SV mini kit (GeneAll Biotechnology, Seoul, Korea) استفاده و براساس دستورکار کیت عمل گردید. به‌طور خلاصه ابتدا ۲۰۰ µl از خون کامل بیمار مشکوک به همراه ۱۸۰ µl لیزوزیم ۰/۰۳ به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری $37^{\circ}C$ گرم‌خانه‌گذاری شد، سپس از بافر لیزکننده BL به میزان ۲۰۰ µl و پروتیناز K ۰/۰۲ به میزان ۲۰ µl استفاده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در $56^{\circ}C$ گرم‌خانه‌گذاری شد، سپس ۲۰۰ µl اتانول مطلق (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) اضافه و به ستون SV انتقال داده شد و با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس ستون به لوله جدید انتقال داده شد و ۶۰۰ µl از بافر شستشو BW اضافه گردید و با همان دور سانتریفوژ تکرار گردید، سپس ستون بار دیگر به لوله جدید منتقل شد و با بافر شستشوی TW این مرحله تکرار شد و در نهایت پس از انتقال ستون به لوله جدید ۱۰۰ µl از بافر آزاد کننده DNA به نام AE روی ستون ریخته شد و به مدت یک دقیقه با سرعت ۱۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید.

پس از خارج کردن ستون، مایع عبور کرده از ستون حاوی DNA استخراج شده می‌باشد. جهت بررسی کیفی کیت استخراج DNA از سویه‌های استاندارد باکتری‌های *استافیلوکوک اورئوس* به‌شماره ATCC: 25923 و *اشرشیاکلی* به شماره ATCC: 25922 تهیه شده از انستیتو پاستور ایران، سوسپانسون میکروبی با غلظت نیم مک فارلند تهیه شد و پس از سنجش Optical density (OD) هر یک از آن‌ها، با خون انسان مخلوط کرده و جهت بررسی توانایی کیت استخراج برای استخراج DNA باکتری از DNA انسانی، استخراج انجام گرفت. DNA استخراج شده تا زمان انجام آزمون PCR در $-20^{\circ}C$ نگهداری گردید.

جهت انجام آزمون PCR از پرایمر ژن 23S rRNA استفاده گردید. توالی پرایمرهای استفاده شده در واکنش PCR براساس جدول ۱ می‌باشد.[۸] واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ µL انجام شد. بدین‌منظور از مخلوط واکنش 2*PCR Master Mix, Red-Mgcl 2:2 Mm (Gene Fanavaran Co., Iran) استفاده گردید. هر واکنش PCR شامل مخلوط ۱۲/۵ µL از مخلوط واکنش، ۰/۵ µL از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت، ۱ µL از DNA الگو و ۱۰/۵ µL از آب مقطر دو بار تقطیر می‌باشد. برنامه دمایی واکنش PCR شامل واسرشت‌سازی اولیه در $95^{\circ}C$ به مدت پنج دقیقه، سپس ۳۵ چرخه PCR شامل واسرشت‌سازی در $95^{\circ}C$ به‌مدت ۳۰ ثانیه، اتصال

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-05]

پرایمر در $58^{\circ}C$ به مدت ٦٠ ثانیه، طویل‌سازی در $72^{\circ}C$ به‌مدت ٥٠ ثانیه و در نهایت مرحله طویل‌سازی نهایی در $72^{\circ}C$ به‌مدت ١٠ دقیقه تنظیم گردید. محصول PCR روی ژل آگارز ١/٥٪ الکتروفورز (Gel electrophoresis systems, NanoPAC-500, Cleaver Scientific Ltd., Warwickshire, United Kingdom) گردید، سپس رنگ‌آمیزی ژل با DNA Gel Stain انجام و درنهایت عکسبرداری توسط دستگاه ترانس‌لومیناتور (Bio-Rad, UK) انجام گرفت. همزمان از آب مقطر دوبار تقطیر (DEPC-treated water (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) استریل به عنوان کنترل منفی و از DNA استخراج شده از سوش‌های استاندارد به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. در موارد مشکوک نیز آزمایش تکرار شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها براساس توزیع با تست‌های پارامتریک آزمون تحلیل واریانس (ANOVA, analysis of variance) و ناپارامتریک کروسکال–والیس (Kruskal-Wallis test) انجام گرفت. از نرم‌افزار SPSS software, version 17 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) استفاده گردید و سطح معناداری کمتر از ٠/٠٥ در نظر گرفته شد.

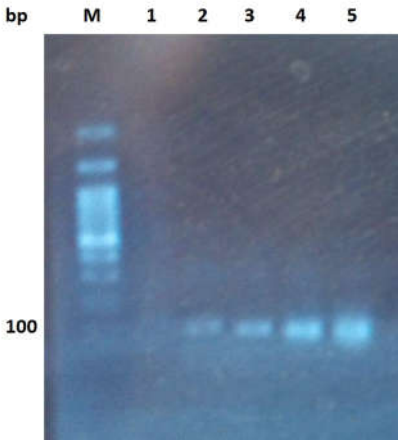
یافته‌ها

از ٢٦٥ نمونه خون گردآوری شده از بیماران دارای علایم بالینی سپسیس، (٥٥/٨٪)١٤٨ بیمار مرد و (٤٤/٢٪)١١٧ بیمار زن بودند. رنج سنی بیماران مطالعه شده بین دو ماه تا ٩٦ سال با میانگین سنی ٦٨/٠٨ سال بود. همچنین ١١٠ بیمار (٤١/٥٪) دارای سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک بودند (جدول ٢). نتایج آزمون PCR با استفاده از پرایمر همگانی 23S rRNA نشان داد، ٨٠ نمونه (٣٠/٢٪) دارای عفونت باکتریمی می‌باشند (شکل ١).

از این تعداد موارد باکتریمی، (٥٧/٥٪)٤٦/٨٠ بیمار مرد و (٤٢/٥٪)٣٤/٨٠ بیمار زن بودند. از میان ٨٠ بیمار PCR مثبت و دارای عفونت خون باکتریال، ٤٩ بیمار (٦١/٣٪) دارای سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک بودند. بیشترین موارد PCR مثبت در میان افراد با سابقه بیماری زمینه‌ای دیابت و زخم بستر و به تعداد (٢١/٣٪)١٧ به‌دست آمد (جدول ٢). بررسی آماری نشان داد که بین بیماران با نتیجه آزمون PCR مثبت و منفی و سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک، ارتباط معناداری وجود دارد ($P<0/05$) (جدول ٢).

بحث

در مطالعه کنونی شیوع باکتریمی با بررسی به روش PCR با استفاده از پرایمر همگانی 23S rRNA، ٣٠/٢٪ برآورد گردید. در مطالعات دیگر در این زمینه مانند مطالعه انجام شده توسط Wellinghausen و همکاران با بهره‌گیری از روش PCR، میزان شیوع باکتریمی در ٣٤٢ نمونه خون به‌دست آمده از بیماران ٢٥/٧٪ گزارش شده است.[10] همچنین در مطالعه Menezes و همکاران بر روی ١٦٠ نمونه خون به‌دست آمده از بیماران دارای بدخیمی خونی با استفاده از روش PCR، ٢٣/١٪ دارای عفونت خون، تشخیص داده شدند درحالی‌که با روش کشت خون، باکتریمی در ٢٠٪ از بیماران تشخیص داده شد.[11] نتایج مطالعه حاضر همسو با مطالعات بالا نشان می‌دهد که روش PCR نسبت به سایر روش‌های مرسوم مانند کشت خون حساسیت بالاتری دارد و قادر به شناسایی سطوح پایین‌تر باکتری در خون نسبت به سطوح لازم جهت شناسایی در کشت خون می‌باشد. سابقه‌ی مصرف آنتی‌بیوتیک یکی از مواردی است که کمابیش در بیماران دچار سپسیس به‌دلیل بیماری زمینه‌ای وجود دارد و موجب می‌گردد که علیرغم وجود علایم بالینی، نتایج کشت خون منفی گردد.[12] در مطالعه حاضر نیز سابقه‌ی مصرف آنتی‌بیوتیک در کل



شکل ١: الکتروفروز محصول PCR. ستون M: DNA سایز مارکر ١٠٠ جفت‌بازی (Ladder Excel Band DM2300)، ستون ١: کنترل منفی، ستون ٢: *استافیلوکوک اورئوس* ATCC: 25923، ستون ٣: *استافیلوکوک اپیدرمیدیس* (نمونه بالینی بیمار)، ستون ٤: *انتروکوک* ATCC: 29212، ستون ٥: *اشرشیاکلی* ATCC: 25923.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-05]

جدول ۱: پرایمرهای ژن 23S rRNA

ژن	نام پرایمر	توالی پرایمر	اندازه محصول (جفت‌باز)	منبع
23S rRNA	PAN23S-F	TCGCTCAACGGATAAAAG	۹۷	(۸)
23S rRNA	PAN23S-R	GATGAnCCGACATCGAGGTGC	۹۷	(۸)

جدول ۲: ارتباط بین نتیجه آزمون PCR و فاکتورهای مربوط به بیمار

فاکتورهای مربوط به بیمار	نتیجه آزمون PCR مثبت تعداد(درصد)	نتیجه آزمون PCR منفی تعداد(درصد)	P*
جنس			
مرد	٤٦(١٧/٤)	٩٩(٣٧/٤)	
زن	٣٤(١٢/٨)	٨٦(٣٢/٤)	
سن (سال)			٠/٤٣
٠-٢٠	١(٠/٣)	٢(٠/٨)	
٢١-٤٠	٦(٢/٣)	٧(٢/٧)	
٤١-٦٠	١٧(٦/٤)	٤٧(١٧/٧)	
٦١-٨٠	٣٧(١٤/٠)	٩١(٣٤/٣)	
٨١-١٠٠	١٩(٧/٢)	٣٨(١٤/٣)	
بیماری زمینه‌ای			٠/١٦
نارسایی کلیوی	١٠(٣/٨)	١٢(٤/٥)	
نارسایی ریوی	٥(١/٨)	٨(٣/١)	
بیماری عفونی	١٢(٤/٥)	١٨(٦/٨)	
دیابت و زخم بستر	١٧(٦/٤)	٣٠(١١/٣)	
سرطان	٣(١/٢)	١١(٤/١)	
نوزاد بستری در NICU	٠(٠/٠)	٢(٠/٨)	
بدون بیماری زمینه‌ای	٣٣(١٢/٥)	١٠٤(٣٩/٢)	
سابقه مصرف آنتی‌بیوتیک			*<٠/٠٠١
دارد	٤٩(١٨/٥)	٦١(٢٣/٠)	
ندارد	٣١(١١/٧)	١٢٤(٤٦/٨)	

* آزمون آماری: ANOVA، P<٠/٠٥ معنادار در نظر گرفته شد.

بیماران ٤١/٥٪ می‌باشد، درحالی‌که سابقه‌ی مصرف آنتی‌بیوتیک بیمارانی که عفونت خون باکتریال در آن‌ها با استفاده از روش PCR مثبت شده است، دارای فراوانی بسیار بالاتری می‌باشد و بین نتیجه آزمون PCR و سابقه‌ی مصرف آنتی‌بیوتیک ارتباط معناداری وجود دارد. مطالعات مختلف نشان داده معیارهای تشخیصی مانند میزان تب و نیز اندازه‌گیری آزمایشگاهی میزان سلول‌های سفید خون (WBC)،

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-05]

پروتیین واکنشی C (CRP) و سرعت رسوب گلبول‌های قرمز (ESR)، تست‌های غربالگری مناسبی جهت تشخیص بالینی سپسیس می‌باشند که به‌راحتی در دسترس بوده، ارزان هستند و حساسیت بالایی جهت تشخیص سپسیس دارند و همراه با متدهای مولکولی می‌توانند در تفسیر و تشخیص دقیق باکتریمی سودمند باشند.[۱۳] در این پژوهش نیز در بیماران دچار باکتریمی معیارهایی مانند میزان CRP و ESR نیز به‌عنوان فاکتورهای پیشگویی‌کننده‌ی باکتریمی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که میزان این دو فاکتور در تمامی بیماران دچار باکتریمی بالا می‌باشد و اختلافات کمی در میزان CRP گزارش شده وجود دارد که می‌تواند به‌خاطر تفاوت در معیارهای تشخیصی شامل زمان شروع عفونت و خطا در روش‌های اندازه‌گیری باشد. همچنین بین یافته‌های آزمایشگاهی و شدت تب در بین بیماران با نتایج PCR مثبت و بیماران با نتیجه آزمون PCR منفی اختلاف معناداری مشاهده گردید. در مطالعه انجام شده توسط Isaacman و همکاران در بیماران دچار باکتریمی با استفاده از روش PCR نشان داده شد که بیماران دارای کشت خون مثبت درجه حرارت بالاتر و شمارش WBC بیشتری نسبت به موارد کشت منفی بدون در نظر گرفتن آزمون PCR داشته‌اند و از لحاظ این یافته‌های بالینی بین بیماران دارای PCR مثبت و کشت منفی و بیماران با PCR و کشت منفی اختلاف معناداری وجود نداشته است.[۱۴]

براساس نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از پرایمر همگانی 23S rRNA آزمون مناسب جهت تشخیص سریع باکتریمی در نمونه‌های خون بیماران مشکوک به باکتریمی بود.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی شایعترین علل باکتریمی به‌روش Real-time PCR در بیماران مشکوک مراجعه‌کننده به اورژانس بیمارستان شهید بهشتی کاشان در سال ۹۶-۱۳۹۵" در مقطع کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی در سال ۱۳۹۵ و کد IR.Kaums.Rec.1395.13 می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان اجرا شده است.

References

1. Mahmoudi H, Ghasemi Bassir HR, Hosseini SM, Arabestani MR, Alikhani MY. The frequency of bacteria isolated from blood cultures and antibiotic susceptibility patterns among admitted patients in Hospital of Hamedan University of Medical Sciences. *Iran J Med Microbiol* 2016;10(4):69-74.
2. Sheldon IM. Detection of pathogens in blood for diagnosis of sepsis and beyond. *EBioMedicine* 2016;9:13-4.
3. Kamisoglu K, Haimovich B, Calvano SE, Coyle SM, Corbett SA, Langley RJ, et al. Human metabolic response to systemic inflammation: assessment of the concordance between experimental endotoxemia and clinical cases of sepsis/SIRS. *Crit Care* 2015;19:71.
4. Amiri A, Firoozeh F, Moniri R, Zibaei M. Prevalence of CTX-M-type and PER extended-spectrum β-Lactamases among Klebsiella spp. isolated from clinical specimens in the teaching hospital of Kashan, Iran. *Iran Red Crescent Med J* 2016;18(3):e22260.
5. Loonen AJ, Wolffs PF, Bruggeman CA, van den Brule AJ. Developments for improved diagnosis of bacterial bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014;33(10):1687-702.
6. Vendemiato AV, von Nowakonski A, Marson FA, Levy CE. Microbiological characteristics of sepsis in a University hospital. *BMC Infect Dis* 2015;15:58.
7. Henry NK, McLimans CA, Wright AJ, Thompson RL, Wilson WR, Washington JA 2nd. Microbiological and clinical evaluation of the isolator lysis-centrifugation blood culture tube. *J Clin Microbiol* 1983;17(5):864-9.
8. Gholami A, Arabestani MR. Comparison of Real-time PCR method and blood culture in diagnosis of septicemia. *Tehran Univ Med J* 2016;73(11):784-90.
9. Mancini N, Carletti S, Ghidoli N, Cichero P, Burioni R, Clementi M. The era of molecular and other non-culture-based methods in diagnosis of sepsis. *Clin Microbiol Rev* 2010;23(1):235-51.
10. Wellinghausen N, Kochem AJ, 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. *J Clin Microbiol* 2009;47(9):2759-65.
11. Menezes LC, Rocchetti TT, Bauab Kde C, Cappellano P, Quiles MG, Carlesse F, et al. Diagnosis by real-time polymerase chain reaction of pathogens and antimicrobial resistance genes in bone marrow transplant patients with bloodstream infections. *BMC Infect Dis* 2013;13:166.
12. Afsharpaiman Sh, Mamishi S. Diagnosis of bacteremia in febrile patients: PCR versus other routine methods. *Tehran Univ Med J* 2008;66(3):169-75.
13. Ahmed Z, Ghafoor T, Waqar T, Ali S, Aziz S, Mahmud S. Diagnostic value of C- reactive protein and haematological parameters in neonatal sepsis. *J Coll Physicians Surg Pak* 2005;15(3):152-6.
14. Isaacman DJ, Zhang Y, Reynolds EA, Ehrlich GD. Accuracy of a polymerase chain reaction-based assay for detection of pneumococcal bacteremia in children. *Pediatrics* 1998;101(5):813-6.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-05]

TUMJ Tehran University Medical Journal, January 2020; Vol. 77, No. 10: 634-639 Original Article

Diagnosis of bacteremia in patients with suspected septicemia using polymerase chain reaction method

Azam Shiralinezhad M.Sc.[1]
Farzaneh Firoozeh Ph.D.[1,2*]
Mansooreh Momen Heravi M.D.[3]
Esmat Aghadavod Ph.D.[4]
Mojtaba Sehat Ph.D.[5]

1- Department of Microbiology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.
2- Dietary Supplements and Probiotic Research Center, Faculty of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran.
3- Department of Infectious Disease, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.
4- Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.
5- Department of Social Medicine, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

*Corresponding author: Department of Microbiology, School of Medicine, Pezeshk Ave., Ghotb-e-Ravandi Blvd., Kashan, Iran.
Tel: +98-31-5550066
E-mail: ffiroozeh@ut.ac.ir

Abstract

Received: 16 Sep. 2019 Revised: 24 Sep. 2019 Accepted: 13 Jan. 2020 Available online: 20 Jan. 2020

Background: Sepsis or blood stream infection is a clinical lethal syndrome with severe systemic inflammatory response to infection, if not treated quickly, is associated with dangerous consequences and high morbidity and mortality. The traditional and conventional method for identification of sepsis is blood culture method which is so time-consuming and long that it eliminates the possibility of rapid treatment. Although, new molecular methods, due to their high sensitivity, specificity, and speed, lead to the rapid and accurate and exact detection of bacterial sepsis within only a few hours. The aim of this study was diagnosis of bacteremia in patients with suspected sepsis using amplification of 23S rRNA gene by polymerase chain reaction (PCR).

Methods: This cross-sectional study was performed in two clinical and analytical steps at Shahid Beheshti University Hospital in Kashan City, Iran, in twelve months from November 2016 to December 2017. The blood samples of two hundred and fifty-six patients with suspected sepsis admitted to Shahid Beheshti Hospital were studied by PCR method using specific primers of 23S rRNA gene of the bacteria.

Results: The finding of molecular assays using PCR showed that of 256 blood samples that were collected from patients with clinical signs and symptoms of sepsis, 80 (30.2%) diagnosed with bacteremia. Of these patients diagnosed with sepsis, 46 out of 80 (57.5%) were male while 34 out of 80 (42.5%) were female. The most PCR positive results were obtained among patients with diabetes and bedsore as underlying diseases (21.3%). Statistical analysis showed that there was a significant correlation between results of molecular methods by PCR assays and history of antibiotic use.

Conclusion: Overall, the results of the present study showed that the molecular methods such as polymerase chain reaction using universal 23S rRNA primers is an appropriated test for diagnosis of bacteremia in blood samples of patients with suspected sepsis.

Keywords: bacteremia, blood specimen, cross-sectional studies, polymerase chain reaction, sepsis, 23S rRNA.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-05]