بررسی مقایسه‌ای دو روش مولکولی و کشت جهت تشخیص عوامل میکروبی در بیماران مبتلا به استئومیلیت و آرتریت سپتیک

چکیده:

مقدمه: عفونت از مشکلات شایع ارتوپدی، به ویژه پس از تعویض زانو است. یکی از بزرگ‌ترین خطرات پس از عمل، عفونت می‌باشد. در بیماران تصادفی یا مجروح با زخم‌های باز، عفونت از عوارض خطرناک محسوب می‌شود و نیازمند درمان طولانی‌مدت آنتی‌بیوتیکی و بستری در بیمارستان است. در بسیاری از موارد، جراحی اصلاح پروتز برای جایگزینی مفصل و دبریدمان مکرر در استئومیلیت ضروری می‌شود که این امر منجر به آسیب‌های جدی و ناتوانی بیماران می‌گردد. با توجه به مصرف خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها توسط بیماران و نتایج منفی تست کشت در عفونت‌های مفصلی، این مطالعه به مقایسه دو روش مولکولی و کشت برای تشخیص عوامل میکروبی در بیماران مبتلا به استئومیلیت و آرتریت سپتیک پرداخته است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تحلیلی مقطعی، ۱۰۰ نمونه از بیماران مبتلا به عفونت مفصلی و استئومیلیت در یک بیمارستان با دو روش کشت میکروبی و PCR بررسی شدند. داده‌های دموگرافیک (سن و جنس)، بیماری‌های زمینه‌ای و علائم بالینی مانند تب، لرز، تورم، ترشح، درد و محدودیت حرکتی از پرونده بیماران استخراج گردید. تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS22 انجام شد.

نتایج و بحث: از ۱۰۰ نمونه، ۸۰ مورد در PCR و ۵۵ مورد در کشت میکروبی مثبت بودند. ۲۰٪ نمونه‌ها در PCR و ۴۵٪ در کشت منفی گزارش شدند. اختلاف معناداری بین دو روش از نظر درصد مثبت/منفی بودن مشاهده شد ($P < ۰/۰۴$).

نتیجه‌گیری: روش مولکولی (PCR) در مقایسه با کشت، سریع‌تر و دقیق‌تر بوده و می‌تواند به درمان زودهنگام بیماران کمک کند.

واژگان کلیدی: آرتریت عفونی، استئومیلیت، کشت سلولی، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

پذیرش مقاله: ۳۶ روز قبل از چاپ

دکتر حسین عبدالهی، دکتر محمد کاظم امامی میبدی، دکتر شهرام شیروانی بروجنی، دکتر مرتضی ایزدی، دکتر مرتضی حسینی، دکتر سجاد محمد نبی

مرکز تحقیقات تروما، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

نویسنده مسئول:
دکتر سجاد محمد نبی
Email address:
Drsajjadmohammadnabi@gmail.com

مقدمه

استئومیلیت، عفونت استخوان در نتیجه باکتریهای پیوژن و مایکوباکتریها می باشد، این عفونت غالبا در کودکان و بصورت هماتوژن دیده میشود. در بزرگسالان، استئومیلیت اغلب بصورت تحت حاد و مزمن میباشد و ثانویه به یک کانون عفونی مجاور و یا به علت ورود مستقیم عفونت در نتیجه جراحی و یا تروما ایجاد می شود[۱-۴]. بیش از ۹۵ استئومیلیتهای حاد هماتوژن تک میکروبی است و در ۵۰ ٪ از موارد استافیلوکوک اورئوس جدا می شود. بر خلاف استئومیلیت حاد، استئومیلیت مزمن اغلب چند میکروبی است و علاوه بر استافیلوکوک اورئوس، احتمال وجود باکتریهای گرم منفی و بی هوازی وجود دارد[۵]. از علایم و نشانه های استئومیلیت مزمن می توان به تخلیه چرک از خلل سینوسی بر روی استخوان درگیر، درد، تندرنس و دیگر نشانه های التهابی در محل ضایعه و تب خفیف در برخی بیماران اشاره نمود. این بیماری دارای خصوصیات مهمی چون سیر بالینی طولانی مدت، دوره های طولانی مدت خاموشی، موارد عود مکرر و عوارض جدی چون دفورمیتی ها، محدودیت حرکتی و نقایص نورولوژیک میباشد که درمان بیماری را بسیار مشکل می نماید و از لحاظ اقتصادی هزینه زیادی را در بر می گیرد[۶،۷]. آرتریت سپتیک، ممکن است یک حمله مستقیم به فضای مفصلی توسط میکروارگانیسم های مختلف باشد، که بیشتر به علت باکتری ها ایجاد می شود. با این حال، ویروس ها، مایکوباکتریا، و قارچها نقش دارد. آرتریت واکنشی یک فرآیند التهابی استریل است که می تواند از یک فرآیند عفونی فوقانی مفصلی حاصل شود. باکتری پاتوژن به دلیل ماهیت مخرب در آرتریت سپتیک مهم است به همین دلیل ، عدم به رسمیت شناختن و به درمان مناسب نتایج مرگباری داشته باشد[۸-۱۰]. حدود ۲۰۰۰۰ مورد از آرتریت سپتیک در هر سال (۷۰۸ مورد در هر ۱۰۰ هزار، نفر در سال) در ایالات متحده رخ می دهد، با بروز مشابه در اروپا اتفاق می افتد[۴،۵].

بروز آرتریت به علت عفونت گنوکوکی منتشر ۲۰۸ مورد در هر ۱۰۰ هزار نفر در سال است. روش های تشخیصی استئومیلیت و ارتریت سپتیک شامل کشت مایع مفصلی و PCR می باشد. مایع مفصلی نرمال روشن و بی رنگ است و زمانی که از یک سرنگ خارج می شود، یک ساختار رشته ای تولید می کند که نشان دهنده ویسکوزیته طبیعی است. مایع مفصلی آلوده معمولا زرد متمایل به سبز به دلیل افزایش میزان سلول های هسته دار و تعداد سلول است که معمولا افزایش قابل توجهی و برتری در لکوسیت پلیمورفونوکلتر دارد. یک ارزیابی از مایع سینوویال (از طریق شمارش لکوسیت، ظاهر در رنگ آمیزی گرم، بررسی میکروسکوپی) با ارزش ترین رویکرد در ارزیابی یک مفصل به طور بالقوه آلوده است. لکه ها و یا کشت مجدد باید بسته به تشخیص های افتراقی در نظر گرفته شود. تغییرات در غلظت گلوکز و پروتئین مایع سینوویال غیر اختصاصی است که این باید به طور معمول اندازه گیری نشود[۱۰-۱۲]. عفونت یکی از خطرناک ترین عوارض احتمالی می باشد که نیاز به درمان طولانی مدت آنتی بیوتیک و بستری طولانی و در بسیاری از افراد نیاز به عمل های مجدد از جمله ریویژن پروتز در تعویض مفاصل و دبریدمان های مکرر در استئومیلیت ها دارد که خود آن سبب آسیب های بسیار خطرناک در بیماران و ناتوان شدن آنها می شود با توجه به اینکه مصرف آنتی بیوتیک خودسرانه توسط بیماران درصد آزمایش کشت منفی در بیماران به عفونت مفاصل زیاد می باشد و تصمیم گرفتیم که مطالعه ای روی روش جدید مولکولی تشخیص میکروب در این بیماران و مقایسه ی آن با روش کشت داشته باشیم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به روش تحلیلی مقطعی انجام شد، جامعه پژوهش بیماران بستری در بیمارستان بقیه الله (عج) با تشخیص عفونت مفاصل و استخوان بود. حجم مطالعه بر اساس فرمول حجم نمونه تعداد ۱۰۰ نفر در نظر گرفته شد. روش نمونه گیری به صورت در دسترس بود. بعد از انتخاب حجم نمونه و بیماریابی ۱۰۰ نمونه از بیماران بستری در بیمارستان بقیه الله با تشخیص عفونت مفاصل و استئومیلیت که هر دو به روش کشت میکروبی و PCR بر روی آن ها انجام شده بود، بررسی شدند. متغیرهایی از جمله سن، جنس و علایم بالینی مثل تب، لرز، تورم، ترشح و درد و محدودیت حرکت مفصل بر اساس سوابق بیماران درج شده در پرونده آن ها استخراج شد. کیت های مورد استفاده در این مطالعه به شرح ذیل بود: Multiplex: کیت master diagnostic از کشور اسپانیا، Culture: کیت rousha از کشور آلمان Antibiogram: کیت mast انگلیس از شرکت پادتن طب ایران، در نهایت برای انجام کار از ژل آگارز ۲ درصد استفاده شد. بدین منظور طبق حجم تانک الکتروفورز و سینی مخصوص ژل، مقدار مطلوب از پودر آگارز را در بافر TBE حل کرده و با استفاده از دستگاه مایکروویو حرارت داده و طی چند مرحله خوب مخلوط تا آگارز کاملا حل و یکنواخت و شفاف شود. در مرحله بعدی به این محلول زمان داده می شد تا سرد شود و وقتی دمای آن به حدود ۶۰-۵۰ درجه ی سانتیگراد می رسید، زنگ DNA Green Viewer که از رنگ های بی ضرر بوده و سرطان زا نیست، اضافه می شد. به ازای هر ۱۰ سی سی از ژل ۱ میکرولیتر از رنگ باید استفاده می شد. سپس محلول ژل در سینی که قبلا شانه ی مخصوص در آن قرار داده و تنظیم شده بود ریخته می شد. پس از حدود ۱۵ دقیقه که ژل کامل بسته با خارج کردن شانه، چاهک های مورد نظر جهت Load کردن نمونه ها آماده می شد. سپس سینی حاوی ژل را به تانک مخصوص الکتروفورز منتقل کرده و تانک را با بافر TBE پر می شد تا حدی که ۳-۵ میلی متر بالاتر از ژل قرار گیرد. میزان کمتر و بیشتر بافر به ترتیب باعث خشک شدن زود هنگام ژل و دیر حرکت کردن محصولات و همچنین داغ شدن دستگاه می شود؛ اما در حالت کلی از loading dye های x۶ استفاده می شود که حاوی دو رنگ بروموفنل بلو و زایلن سیانول به همراه گلیسرول هستند. حضور گلیسرول باعث می شود که نمونه سنگین شده، به خوبی در ته چاهک قرار بگیرد و از چاهک خارج نشود. استفاده از رنگ ها نیز به دلیل ردیابی چشمی نوکلوئیک اسید بر روی ژل است. باید ۱ میکرولیتر از نمونه را با ۵ میکرولیتر از این loading dye مخلوط کرده و سپس در چاهک قرار داد. پس از جمع آوری و طبقه بندی اطلاعات، تجزیه و تحلیل های آماری داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ صورت گرفت. آنالیز آماری داده ها در مورد متغیر های کمی با استفاده از آزمون تی تست و در مورد متغیرهای کیفی با استفاده از آزمون کای اسکوئر صورت گرفت. در تمامی آزمون ها سطح معنی دار عدد ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

از تعداد ۱۰۰ بیمار شرکت کننده در این مطالعه ۴۶ نفر (۴۶ درصد) زن و ۵۴ نفر (۵۴ درصد) مرد بودند. افراد شرکت کننده در این مطالعه بین رنج سنی ۱۸ تا ۶۹ سال بود، میانگین سنی افراد شرکت کننده در این مطالعه ۴۳/۴۱ سال بود. آنالیز واریانس نشان داد که ارتباط بین سن افراد مورد بررسی و ابتلا به استئومیلیت و ارتریت سپتیک از نظر آماری معنی دار نبود (P= ۰/۶۵). ۷۶ نفر (۷۶ درصد) سابقه بستری داشتند و ۲۴ نفر (۲۴ درصد) سابقه بستری نداشتند. تعداد ۵۸ نفر (۵۸ درصد) بیماری زمینه ای داشتند و ۴۲ نفر (۴۲ درصد) بیماری زمینه ای نداشتند. تعداد ۵۷ نفر از بیماران دارای درگیری مفاصل بوده اند که ۱۶ درصد از این بیماران دارای درگیری هیپ، ۱۰ درصد درگیری زانو، ۷ درصد درگیری شانه، ۸ درصد درگیری آرنج، ۶ درصد درگیری مچ پا، ۶ درصد درگیری هیپ و شانه، ۴ درصد درگیری هیپ و زانو داشته اند. در بین بیماران مورد مطالعه که دارای استئومیلیت و یا ارتریت سپتیک بوده اند ۵۴ نفر دارای تب، ۴۳ نفر دارای لرز، ۶۵ نفر دارای درد، ۵۵ نفر دارای تورم، ۳۲ نفر دارای ترشح و ۳۲ نفر نیز دارای محدودیت حرکات مفاصل بوده اند. از ۱۰۰ نمونه مورد بررسی که مبتلا به استئومیلیت و یا ارتریت سپتیک بوده‌اند، ۸۰ نمونه از نظر PCR مثبت بودند و ۵۵ نمونه از نظر کشت

میکروبی نیز مثبت بودند. از طرفی ۲۰ درصد از نمونه ها از نظر تست PCR منفی و ۴۵ درصد نیز از نظر بررسی های کشت میکروبی منفی بوده اند. نتایج انالیز نشان می دهد که بین دو روش مورد بررسی از نظر درصد مثبت یا منفی بودن تست تفاوت معنی داری وجود دارد (P≤ ۰/۰۴). بطوری که در روش PCR درصد نمونه هایی که از نظر عوامل عفونی مثبت شده اند بیشتر از روش کشت میکروبی بوده است که این تفاوت از نظر آماری معنی دار بوده است. همچنین درصد منفی بودن نمونه های مورد بررسی از نظر عوامل عفونی برای بیماران تحت ارزیابی با استفاده از تست PCR کمتر از کشت میکروبی بوده است که این تفاوت نیز معنی دار می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱: تعیین درصد آزمایش منفی و مثبت در روش PCR و روش کشت

نوع آزمایش	درصد منفی	درصد مثبت	P value
PCR	۲۰	۸۰	P<۰/۰۴
کشت	۴۵	۵۵	

با توجه به اینکه همه نمونه ها از بیماران مبتلا به استئومیلیت و ارتریت سپتیک گرفته شده است مواردی که توسط تست PCR و کشت میکروبی تشخیص داده نشده جز منفی کاذب در نظر گرفته شده اند. بطوری که وجود منفی کاذب با استفاده از تست PCR بسیار کمتر از منفی کاذب با استفاده از روش کشت میکروبی بوده است .بطوری که این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود(جدول ۲).

جدول ۲: تعیین درصد منفی کاذب در دو روش PCR و کشت میکروبی

نوع آزمایش	درصد منفی	درصد مثبت	P value
PCR	۲۰	۸۰	P<۰/۰۴
کشت	۴۵	۵۵	

با توجه به اینکه در روش PCR ۸۰ درصد از نمونه ها مثبت شده اند حساسیت این روش در مطالعه ما ۸۰ درصد بوده است و این حساسیت برای روش کشت میکروبی نیز ۵۵ درصد می باشد. از آنجایی که تست PCR توانسته است ۸۰ درصد از نمونه های بیمار را مثبت تشخیص دهد این روش نسبت به روش کشت میکروبی دارای دقت بالاتری برای تشخیص بیماران مبتلا به استئومیلیت و ارتریت عفونی می باشد.

بحث

در مطالعات اخیر گزارش شده است که پاتوژن عفونی در بسیاری از موارد کشت منفی می شود، این بدان معناست که محیط کشت مورد استفاده نمی تواند عوامل میکروبی را شناسایی نماید زمانی که به پاتوژن های غیر معمول مشکوک می شوند، احتمال عدم تشخیص از طریق کشت سلولی بیشتر شده و احتمال موربیتی و مورتالینی بیمار افزایش می یابد. از طرف دیگر مدت زمان آماده شدن کشت سلولی چند روز طول می کشد .در حالی که مطالعات اخیر نشان داده بعضی از گونه ها مانند کلید ویلا در محیط کشت عادی رشد نمی کنند ولی امکان تشخیص آن ها در PCR بسیار بالا می باشد و روش جایگزین برای کشت می تواند باشد .از طرفی PCR مدت زمان این تشخیص را به ۳ ساعت کاهش می دهد. بطور کلی PCR مدت زمان تشخیص را به ۳ ساعت کاهش می دهد. بطور کلی PCR به نسبت کشت میکروبی روشی دقیق تر و حساسیت بالاتر برای تشخیص عوامل عفونی می باشد لذا استفاده از آن در موارد بیماری های استئومیلیت و همچنین ارتریت سپتیک می تواند در تشخیص بیماری و همچنین عوامل عفونی کمک شایانی نموده و در نهایت به درمان به موقع و موثر بیماران کمک نماید که می تواند موجب کاهش مرگ و میر در این بیماران و کاهش هزینه های جانبی برای نظام سلامت گردد. اصولا دقت PCR به عوامل متعددی از جمله به مقدار DNA موجود در نمونه بالینی و به تعداد باکتری های زنده یا مرده موجود در آن بستگی دارد. همچنین عوامل مهار کننده PCR مانند هموگلوبین نیز در دقت آن تاثیر گذار می باشد. بر اساس نتایج این مطالعه PCR می تواند در تشخیص سریع بیماری موثر باشد و موارد منفی کاذب آن قابل توجه نبوده است (حساسیت PCR در مطالعه حاضر ۸۰ درصد بود). کم بودن دقت تام PCR را می توان به اشتباه های تکنیکی، عدم کارائی مواد شیمیائی مصرفی، کم بودن مقدار DNA در نمونه، مزمن شدن بیماری و نیز مصرف قبلی آنتی بیوتیک ها نسبت داد .در تمام این موارد جواب آزمایش PCR می تواند منفی کاذب شود. اختصاصی بودن PCR در روشهای مختلف در نمونه های خارج ریوی زیاد می باشد .برای مثال نمونه هایی که به وسیله PCR قابل انجام است، مایع نخاع، مایع پلور و مایع آسیت می باشد.

به وسیله انواعی از PCR مقاومت دارویی را خیلی سریع در نمونه های خلط اسمیر مثبت و یا از نمونه های قبلا کشت داده شده می توان تشخیص داد. همچنین PCR و روش های مولکولی می توانند در زمانی که بدنبال عوامل عفونی ای هستیم که قابلیت کشت میکروبی را ندارند می تواند بسیار مفید بوده و موجب تشخیص هر چه سریعتر این عوامل شده و در نهایت می تواند موجب درمان به موقع بیماران مبتلا گردد. بعنوان مثال مایکوباکتریوم لیرا عامل بیماری جذام قابل کشت نمی باشد و تشخیص با دیدن باسیل اسید فست و یا تغییرات هیستوپاتولوژیک می باشد در صورتی که PCR بتواند DNA مایکوباکتریوم لپرا را نشان دهد احتیاج به آزمایش دیگری نبوده و می‌توان درمان را شروع کرد[۱۳] در نتیجه استفاده از روش های مولکولی در این موارد و مواردی که کشت میکروبی نتواند موجب تشخیص عامل عفونی گردد می تواند بسیار مفید و کمک کننده باشد .که همانطوری که در مطالعه حاضر نیز نشان داده است، استفاده از این روش مولکولی می تواند موجب تشخیص مواردی از عوامل عفونی گردد که با استفاده از روش کشت قابل شناسایی نبوده یا منفی کاذب را نشان می دهد.

همچنین انواع PCR می توانند عوامل هپاتیت B، هپاتیت C، HIV، HSV، سایتومگالوویروس‌ها و انتروویروس ها را شناسایی کنند از این تست جهت غربالگری و پیگیری پاسخ به درمان نیز می توان استفاده نمود. در بانک‌های خون نیز برای شناسایی هپاتیت C و HIV از این تست استفاده می‌شود، در حال حاضر استاندارد طلایی تشخیص آنسفالیت و مننژیت ناشی از HSV با حساسیت ۹۵ درصد و اختصاصی بودن ۹۴ درصد، PCR مایع نخاع می باشد و با این آزمایش می توان از بیوپسی مغز جلوگیری نمود[۱۴-۱۶]. در نتیجه استفاده از روش های مولکولی می تواند برای تشخیص عوامل عفونی ویروسی نیز مفید باشد. از PCR می توان برای تشخیص CMV، در پلاسما و مایع نخاعی نیز می توان استفاده نمود که حساسیت آن حدود ۹۵-۹۸ درصد و اختصاصی بودن آن ۹۸-۱۰۰ درصد می باشد. در حالی که حساسیت کشت CMV حدود ۴۲ درصد می باشد. انترو ویروس ها یکی از شایع ترین علل مننژیت ویرال بوده و با PCR در عرض یک روز می توان آن را در مایع نخاع شناسایی نمود در حالی که کشت آن پنج روز طول می کشد. همچنین برای پیگیری پاسخ به درمان از PCR کمی که تعداد ویروس را مشخص می کند در بیماری های CMV، HIV، HCV، می‌توان استفاده نمود[۱۷،۱۸]. برای تشخیص عفونت های HSV و تعیین سروتایپ آن می توان به کمک PCR نمونه های بزاق، سرم و یا مایع مغزی نخاعی را آزمایش نمود .به کمک PCR توانسته اند ثابت کنند که HSV 2 عامل اصلی مننژیت لنفوسیتیک عود کننده خوش خیم است. ویروس واریسلا زوستر را نیز می توان به کمک PCR از بزاق، حلق، اشک و بثورات پوستی جدا نمود و اهمیت آن در این است که در مراحل خیلی ابتدایی بیماری می توان ویروس را در ضایعات وزیکولر و حتی نواحی اریتماتو غیر وزیکولر تشخیص داد .همچنین تشخیص سارکوم کاپوسی گاهی مشکل ولی به کمک PCR و با حساسیت و اختصاصی بودن خیلی زیاد می توان هرپس ویروس انسانی تیپ ۸ را در ضایعات تشخیص داد. همچنین انگل های متعددی توسط PCR قابل شناسایی می باشند، مانند آسکاریس، توکسوپلاسما، لیشمانیا می باشد[۱۹،۲۰].

حتی قبل از تولد نیز می توان به کمک PCR آلودگی جنین به توکسوپلاسما را تشخیص داد[۲۱] و از نمونه‌های مختلف بدن مانند خون، مایع آمنیوتیک، مدفوع و غیره برای تشخیص آلودگی به این انگل استفاده کرد[۲۲]. همچنین هینباج و شوام در مطالعات خود برای بررسی ژنوم باکتری پرسینیا پستیس در تحت گونه‌های مختلف آسیا، آفریقا و آمریکا از پرایمرهای ژن pla جهت شناسایی قطعی باکتری استفاده کردند و نتایج تحقیقات آنها نشان داد که انجام واکنش PCR در جهت نیل به اهداف تشخیصی و کنترلی بیماری و بررسی های اپیدمیولوژی قابل استناد است. تفاوت با آزمایش حاضر در این است که روش مورد استفاده تنها یونی پلکس پی سی آر است؛ اما تحقیق ما روش مولتی پلکس پی سی آر استفاده شده که باعث صرفه جویی در زمان و مواد مورد استفاده و تشخیص گونه های مختلف باکتری‌ها همزمان با هم شده است[۲۳]. بطور کلی نتایج اکثر مطالعات نشان دهنده ی این موضوع می باشند که استفاده از روش های مولکولی می تواند تاثیر بسزایی در تشخیص انواع عوامل عفونی داشته باشد که نتایج حاصل از این مطالعات با نتایج حاصل از مطالعه ی حاضر همراستا بوده که نشان داده شد استفاده از روش مولکولی می تواند عوامل عفونی را بیشتر از روش کشت تشخیص بدهد .در نتیجه استفاده از این روش می تواند کمک شایانی به درمانگر نموده تا بتواند در زمان مناسب درمان های مناسب را انجام داده و در نهایت میزان مرگ و میر را کاهش داده و همچنین ایجاد هزینه های اضافی برای نظام سلامت را کم نماید.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق روش مولتی پلکس پی سی آر می تواند جهت تشخیص سریع و همزمان باکتری های مختلف بخصوص در بیماران مبتلا به استئومیلیت و ارتریت سپتیک مورد استفاده قرار گیرند .این مطالعه می تواند ابزاری برای تشخیص سریع، دقیق برای ردیابی این باکتری ها فراهم نماید .حساسیت این روش بسیار بالا است، به طوری که قادر است یک نوع باکتری را در بین هزاران نوع باکتری متفاوت تشخیص دهد، انجام این روش بسیار ساده است و با توجه به اینکه به طور همزمان صورت می گیرد نیاز به انجام PCR های متعدد جهت تشخیص هر عامل به طور جداگانه نمیباشد .انجام PCR ترکیبی جهت تشخیص سریع و همزمان چند عامل در نمونه های مجهول از مزایای ارزشمند این روش می باشد . بطور کلی نتایج حاصل از این مطالعه در مقایسه دو روش مولکولی و کشت جهت تشخیص عوامل میکروبی در بیماران مبتلا به استئومیلیت و آرتریت سپتیک نشان می دهد که روش مولکولی روشی سریع تر و دقیق تر نسبت به روش کشت میکروبی بوده و استفاده از این روش می تواند کمک شایانی برای درمان زودهنگام در این بیماران نماید.

منابع

1 Concia E, Prandini N, Massari L, Ghisellini F, Consoli V, Menichetti F, et al. Osteomyelitis: clinical update for practical guidelines. Nuclear medicine communications. 2006;27(8):645-660. doi.org/10.1097/00006231-200608000-00007
2 Gross T, Kaim AH, Regazzoni P, Widmer AF. Current concepts in posttraumatic osteomyelitis: a diagnostic challenge with new imaging options. Journal of Trauma and Acute Care Surgery. 2002;52(6):1210-1219. DOI: 10.1097/00005373-200206000-00032
3 Calhoun JH, Manring MM. Adult osteomyelitis. Infectious Disease Clinics. 2005;19(4):765-786. DOI: 10.1016/j.idc.2005.07.009
4 Courjon J, Lemaignen A, Ghout I, Therby A, Belmatoug N, Dinh A, et al. Pyogenic vertebral osteomyelitis of the elderly: Characteristics and outcomes. PLoS One. 2017;12(12):e0188470. DOI: 10.1371/journal.pone.0188470
5 Peltola H, Pääkkönen M. Acute osteomyelitis in children. New England Journal of Medicine. 2014;370(4):352-360. DOI: 10.1056/NEJMra1213956

6 Belthur MV, Birchansky SB, Verdugo AA, Mason Jr EO, Hulten KG, Kaplan SL, et al. Pathologic fractures in children with acute Staphylococcus aureus osteomyelitis. JBJS. 2012;94(1):34-42. DOI: 10.2106/JBJS.J.01915
7 Walter G, Kemmerer M, Kappler C, Hoffmann R. Treatment algorithms for chronic osteomyelitis. Deutsches Ärzteblatt International. 2012;109(14):257. DOI: 10.3238/arztebl.2012.0257
8 Kremers HM, Nwojo ME, Ransom JE, Wood-Wentz CM, Melton III LJ, Huddleston III PM. Trends in the epidemiology of osteomyelitis: a population-based study, 1969 to 2009. The Journal of bone and joint surgery American volume. 2015;97(10):837. DOI: 10.2106/JBJS.N.01350
9 Tseng C-H, Huang W-S, Muo C-H, Kao C-H. Increased risk of dementia among chronic osteomyelitis patients. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2015;34(1):153-159. DOI: 10.1007/s10096-014-2200-1
10 Hassan AS, Rao A, Manadan AM, Block JA. Peripheral bacterial septic arthritis: review of diagnosis and management. JCR: Journal of Clinical Rheumatology. 2017;23(8):43. DOI: 10.1097/RHU.0000000000000588
11 Jordanov MI, Block JJ, Gonzalez AL, Green NE. Transarticular spread of Ewing sarcoma mimicking septic arthritis. Pediatric radiology. 2009;39(4):381-384. DOI: 10.1007/s00247-008-1124-2
12 Jaramillo D, Dormans JP, Delgado J, Laor T, St Geme III JW. Hematogenous osteomyelitis in infants and children: imaging of a changing disease. Radiology. 2017;283(3):629-643. DOI: 10.1148/radiol.201715192
13 Kumar R, KAgarwal K, Behera A. Positron Computed Emission Tomography: Tomography-Does It Have a Role in Tuberculosis? Imaging in Tuberculosis: Clinicopathological Correlation. 2019. DOI 10.1093/infdis/jiad425
14 Clarke JR, McClure MO. HIV-1 viral load testing. Journal of Infection. 1999;38(3):141-146. DOI: doi.org/10.1093/infdis/jiad425
15 Abe A, Inoue K, Tanaka T, Kato J, Kajiyama N, Kawaguchi R, et al. Quantitation of hepatitis B virus genomic DNA by real-time detection PCR. J Clin Microbiol. 1999;37(9):2899-2903. DOI: 10.1128/JCM.37.9.2899-2903.1999
16 Di Alberti L, Piatteli A, Artese L, Favia G, Porter SR, Scully CM, et al. Human herpesvirus 8 variants in sarcoid tissues. The Lancet. 1997;350(909).DOI 10.1016/s0140-6736(97)10102-7
17 Thorén A, Widell A. PCR for the diagnosis of enteroviral meningitis. Scandinavian journal of infectious diseases. 1994;26(3):249-254. DOI: 10.3109/00365549409011792
18 Cooper RJ, Yeo AC, Bailey AS, Tullo AB. Adenovirus polymerase chain reaction assay for rapid diagnosis of conjunctivitis. Investigative ophthalmology & visual science. 1999;40(1):90-95.
19 Carlsgart J, Roepstorff A, Nejsum P. Multiplex PCR on single unembryonated Ascaris (roundworm) eggs. Parasitology research. 2009;104(4):939-943. DOI: 10.1007/s00436-008-1307-7
20 Fazaeli A, Fouladi B, HASHEMI SS, Sharifi I. Clinical features of cutaneous leishmaniasis and direct pcrbased identification of parasite species in a new focus in Southeast of Iran. 2008;37(3):44-51.
21 Vidigal PVT, Santos DVV, Castro FC, Couto JCdF, Vitor RWdA, Brasileiro Filho G. Prenatal toxoplasmosis diagnosis from amniotic fluid by PCR. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2002;35(1):1-6. DOI: 10.1590/s0037-86822002000100001
22 Vidal JE, Colombo FA, de Oliveira ACP, Focaccia R, Pereira-Chioccola VL. PCR assay using cerebrospinal fluid for diagnosis of cerebral toxoplasmosis in Brazilian AIDS patients. Journal of Clinical Microbiology. 2004;42(10):4765-4768. DOI: 10.1128/JCM.42.10.4765-4768.2004
23 Hinnebusch J, Schwan T. New method for plague surveillance using polymerase chain reaction to detect Yersinia pestis in fleas. Journal of clinical microbiology. 1993;31(6):1511-1514. DOI: 10.1128/jcm.31.6.1511-1514.1993