Journal of Shaheed Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 18, No. 6, Jan-Feb 2011
Pages: 578-586

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۱۸، شماره ٦، بهمن و اسفند ۱۳۸۹
صفحه: ٥٨٦-٥٧٨

مقاله خودآموزی

بر اساس تصویب اداره کل آموزش مداوم جامعه پزشکی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی به پاسخ‌دهندگان به پرسش‌های مطرح شده در این مقاله اعم از پزشکان عمومی، متخصصین عفونی و داخلی، یک امتیاز تعلق می‌گیرد.

کاربرد PCR برای تشخیص بیماری‌های عفونی

جمشید آیت اللهی[۱]، علی ملت[*۲]، جهانگیر آیت اللهی[۳]، اعظم السادات هاشمی[۴]، شکوه تقی پور ظهیر[۵]، نسرین قاسمی[۶]

۱- دانشیار و متخصص بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۲- متخصص نورولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۳- متخصص چشم، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۴-استادیار گروه اطفال، فوق تخصص بیماری های خون و انکولوژی اطفال، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۵- استادیار آسیب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
۶- استادیار گروه ژنتیک، مرکز تحقیقات ناباروری یزد دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد

اهداف

هدف این مقاله آشنا نمودن پزشکان عمومی و متخصصین بیماری‌های عفونی و گرمسیری و سایر متخصصین، با PCR می‌باشد به طوری که در پایان:

- موارد کاربرد آن را در انواع بیماری‌های عفونی بدانند.
- برتری آن را بر سایر روش‌های تشخیصی بیان کنند.
- با محدودیت‌های آن آشنا شده باشند.

[*]نویسنده مسئول؛ مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری، تلفن :۰۳۵۱-۸۲۲۴۰۰۴ ، پست الکترونیکی: ali_mellat@ssu.ac.ir

مقدمه

اساس PCR(Polymerase Chain Reaction) بر کپی‌برداری از سکانس DNA یا RNA نمونه مورد نظر می‌باشد که بر این اساس می‌توان بیماری‌های مختلفی از جمله بیماری‌های خونی و ژنتیکی مانند بتا تالاسمی، آنمی سیکل سل و سیستیک فیبروزیس و غیره را تشخیص داد. PCR علاوه بر انسان در حیوانات نیز برای تشخیص بیماری‌های مختلف از جمله عفونی کاربرد دارد.

در این مقاله در مورد کاربرد انواع PCR در تشخیص و پیگیری بیماریهای عفونی و برتری آن بر سایر روش‌ها و همچنین در مورد محدودیت‌های آن صحبت خواهد شد(۱،۲).

قابل ذکر است که به کمک PCR توانسته‌اند رابطه عوامل عفونی را با تعداد زیادی از بیماری‌هایی که قبلاً تصور می‌شد منشا عفونی ندارد را پیدا کنند، برای مثال:

- هپاتیت B با پلی آرتیت نودوزا، آرتریت گذرا و کرایوگلوبولینمی
- هیاتیت c با آرتریت روماتوئیداروزیو، پلی میوزیت، درماتومیوزیت و کرایوگلوبولینمی تیپ ۲
- پارووویروس B19 با آرتریت روماتوئید اروزیو
- سرخجه با آرتریت حاد و مزمن
- آلفاویروس با عفونت حاد و تظاهرات مختلف آرتریت، پلی‌آرتریت اپیدمیک و پلی آرتریت مزمن
- آدنوویروس با آرتریت قرینه یا پلی‌آرتریت مزمن عود کننده
- HIV-1 با آرتریت راکتیو، اسپوندیلو آرتروپاتی و آرتریت پسوریاتیک
- EBV با آرتریت راکتیو

و همچنین رابطه باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی مانند شیگلا، پروتئوس، کلامیدیا تراکئوماتیس، انواع استرپتوکک و سالمونلا با آرتیت راکتیو و تب روماتیسمی(۱۱-۳).

کاربرد PCR در بیماریهای عفونی به صورت خلاصه به شرح زیر می‌باشد(۱۸-۱۲):

۱- شناسایی میکروارگانیسم‌هایی که بطور معمول قابل کشت نیستند.

۲- شناسایی میکروارگانیسم‌هایی که رشد آهسته دارند.

۳- شناسایی میکروارگانیسم‌هایی که تازه کشف شدند و هنوز روشهای دیگری برای تشخیص آنها وجود ندارد، مانند Tropheryma whippelii(۱۹).

۴- غربالگری، تشخیص و پیگیری پاسخ به درمان عفونت‌های ویروسی.

در حال حاضر به کمک PCR حدود ۱۰۰ میکروارگانیسم مختلف را می‌توان شناسایی کرد و به کمک این روش می‌توان حتی Subtype آنها و مقاومت به دارو در آنها را مشخص نمود(۲۹-۲۰).

این نکته نیز قابل ذکر است که برای انجام PCR می‌توان از نمونه‌هایی مانند بافت و مایعات بدن کمک گرفت و حتماً لازم نیست نمونه تازه باشد و حتی می‌توان بعد از مصرف آنتی‌بیوتیک نیز آزمایشات را انجام داد و یا حتی از نمونه‌های بایگانی شده نیز استفاده نمود(۱۵،۳۰).

PCR به دو دسته عمده تقسیم می‌شود: نوع کیفی که نوع میکروارگانیسم را مشخص می‌کند و نوع کمی که تعداد میکروارگانیسم را بیان می‌کند و هرکدام از این روش‌ها نیز انواع مختلفی دارند که بر هم مزیت‌هایی دارند.

برتری PCR بر کشت: کشت نمونه‌ها حداقل ۲۴ ساعت و گاهی چندین هفته طول می کشد تا مثبت شود. اگر بیمار آنتی بیوتیک مصرف کرده باشد ممکن است کشت منفی شود. حتی اگر نمونه‌های بالینی با تاخیر به آزمایشگاه فرستاده شود کشت بعضی از عوامل عفونی منفی می‌شود.

کشت بعضی از عوامل عفونی مانند ویروس‌ها، کلامیدیاها، مایکوپلاسما و ریکتزیاها به روش‌های معمولی قابل کشت نبوده و احتیاج به محیط‌های کشت اختصاصی دارند(۱۳،۱۸).

با کمک PCR حتی نمونه‌های فوق قابل بررسی بوده و نتیجه آن در عرض چند ساعت آماده می‌شود(۳۱،۳۲).

انواع PCR: به منظور نتیجه‌گیری بهتر، غیر از PCR معمولی روش‌های جدیدی از PCR ارائه شده است که به صورت اجمالی به برخی از آنها اشاره می‌شود.

۱- آر تی- پی سی آر (Reverse Transcriptase PCR)

الگوی اولیه در RT-PCR، مولکول RNA تک زنجیره‌ای است. از

آنجایی که DNA پلیمراز قادر به استفاده از RNA به عنوان الگو نمی‌باشد، مرحله دیگری بـه PCR اضـافه شـده اسـت. طـی ایـن مرحله، با استفاده از آنـزیم رورس تـرانس کریپتـاز RT، از الگـوی RNA، مکمـــل آن DNAC (Complementary DNA) ســـنتز می‌شود و به وسیله تکنیک PCR تکثیر می‌یابد. به منظـور تعیـین گونه و حساسیت دارویی در ویروس شناسی و مایکوباکتریولوژی، از این روش برای تکثیر RNA ریبوزومی استفاده می‌شود.

۲- نستد- پی سی آر(Nested-PCR): در ایـن روش بـه منظـور افزایش حساسیت PCR از دو جفت پرایمر استفاده می‌شود. ابتدا با یک جفت پرایمر اول در طول ۳۰-۱۵ چرخه، قطعات مشخصی از DNA هدف تکثیر می‌یابند. سپس محصول PCR حاصل به لولـه دیگری منتقل شده و به عنوان الگو استفاده می‌شـود و بـه وسـیله جفت پرایمرهای دوم مرحله دوم PCR انجام می‌شود.

۳ – مالتیپلکس- پی سی آر(Multiplex-PCR): در این روش از چند جفت پرایمر اختصاصی برای هدف‌هـای مختلـف اسـتفاده می‌شود. در میکروب شناسی بالینی، با استفاده از این روش امکـان شناسایی چندین عامل بیماری در یک نمونه به طور همزمان وجود دارد و می‌توان عفونت‌های مخلوط را تشخیص داد.

۴- آرمز پی‌سی آر(ARMS-PCR)

(Amplification Refractory Mutation System-PCR)

روش آرمز پی سی آر برای تشخیص موتاسیون‌های نقطـه‌ای بکار می‌رود و از دو جفت پرایمر استفاده می‌شود. در این روش، واکنش در دو لوله جداگانه انجام می‌شود که یکی از آنها حـاوی پرایمرهای نوع موتاسیون یافته و دیگری حاوی پرایمرهای نـوع معمولی است. چنانچه تکثیر در لوله حـاوی پرایمـر موتاسـیون یافته انجام شود، در DNA هدف، موتاسیون اتفاق افتاده است و تکثیر در لوله حاوی پرایمر معمولی، نشان دهنده آن اسـت کـه موتاسیونی اتفاق نیفتاده است. از این متد می‌توان در تـشخیص موتاسیون‌های مولد مقاومت دارویی در باکتری‌ها استفاده کرد.

سل: کشت مایکوباکتریوم معمولاً چند هفته طول مـی کـشد در حالی که به کمک PCR در عرض ۲۴ ساعت جواب آن آماده می‌شود و حساسیت آن ۹۰ تا ۹۸٪ برای بیماران اسمیر مثبـت، ولی حساسیت آن در بیماران اسمیر منفی ۴۶٪ می‌باشد.

اختصاصی بودن PCR عالی و بیش از ۹۸٪ می‌باشد(۳۵-۳۳).

در مواردی که کشت از نظر باسیل‌های اسـید فاسـت مثبـت می‌باشد می‌توان برای تعیـین نـوع مایکوبـاکتریوم نیـز از PCR استفاده نمود که در حال حاضر پروب‌هـای لازم جهـت تعیـین مایکوبـاکتریوم توبرکلـوزیس، آویـوم کمـپلکس، کانزاسـی و مایکوباکتریوم گوردونا(Gordonae) وجود دارد.

حتی در مواردی که عفونت توام مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و مایکوباکتریوم آویوم اینتراسلولار وجود دارد، PCR می‌تواند هـر دو را تشخیص دهد(۳۶،۳۷).

مرکز کنترل بیماری‌های آمریکا در حال حاضر توصیه می‌کند که هر بیماری که با شک به سل مراجعه می‌کند در اولین نمونه خلط آزمایش اسـمیر و PCR هـر دو انجـام شـود. اگـر هـر دو آزمایش مثبت باشد با احتمال زیاد بیماری سـل دارد ولـی اگـر اسمیر مثبت و PCR منفی بود بایـد PCR، مجـدداً روی همـان نمونه خلط انجام شود که اگر مجـدداً منفـی بـود نمونـه خلـط بعدی بیمار آزمایش شود و اگر PCR این نمونه نیز منفـی بـود احتمـالاً بیمـار بـه نـوع دیگـری از مایکوبـاکتریوم بـه جـز مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مبتلا می‌باشد.

اگر از نظر بالینی برای بیمار سل مطرح ولی اسمیر خلط منفـی ولی PCR مثبت باشد، تشخیص احتمالی سل مطرح می‌شود.

اگر شک بالینی به سل ضعیف و اسـمیر منفـی باشـد، PCR نباید درخواست شود.

در کسانی که اخیراً درمان ضد سل دریافت کرده‌اند نیز نباید PCR درخواست نمود زیرا احتمال مثبت کـاذب بـرای بیمـاری فعال وجود دارد.

انواعی از PCR که m-RNA را شناسایی می‌کننـد فقـط وقتـی مثبت می‌شوند که مایکوبـاکتریوم زنـده وجـود داشـته باشـد و در نتیجه برای پیگیری چگونگی پاسخ به درمان ارزشمند می‌باشند.

در سل خارج ریوی نسبت به سل ریوی، اسمیر و کشت کمتر کمک کننده می‌باشد که در این موارد PCR بسیار کمک کننده می‌باشد که بسته به نوع PCR حـساسیت آن بـین ۶۷ تـا ۱۰۰ درصد می‌باشد.

اختصاصی بودن PCR در روش‌های مختلف در نمونه‌های خارج

ریوی زیاد می‌باشد. برای مثال نمونه‌هایی که به وسیله PCR قابل انجام است، مایع نخاع، مایع پلور و مایع آسیت می‌باشد.

به وسیله انواعی از PCR مقاومت دارویی را خیلی سریع در نمونه‌های خلط اسمیر مثبت و یا از نمونه های قبلاً کشت داده شده می‌توان تشخیص داد.

جذام: مایکوباکتریوم لپرا عامل بیماری جذام قابل کشت نمی‌باشد و تشخیص با دیدن باسیل اسید فاست و یا تغییرات هیستوپاتولوژیک می‌باشد در صورتی که PCR بتواند DNA مایکوباکتریوم لپرا را نشان دهد احتیاج به آزمایش دیگری نبوده و می‌توان درمان را شروع کرد (۱۸،۳۷).

ویروس‌ها: انواع PCR می‌توانند عوامل هپاتیت B(۲۹)، هپایت C(۲۵،۳۸)، HIV(۳۹)، HSV (۴۰-۴۲)، سایتومگالوویروس‌ها و انتروویروس‌ها را شناسایی کنند از این تست جهت غربالگری و پیگیری پاسخ به درمان نیز می‌توان استفاده نمود.

در بانک‌های خون کانادا 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٪ و اختصاصی بودن ۹۴٪، PCR مایع نخاع می‌باشد و با این آزمایش می‌توان از بیوپسی مغز جلوگیری نمود.

در حال حاضر تشخیص هپاتیت G فقط با PCR امکان پذیر است، هر چند هنوز این تست نیز استاندارد نشده و همه جا در دسترس نیست.

از PCR می‌توان برای تشخیص CMV در پلاسما و مایع نخاعی نیز می‌توان استفاده نمود که حساسیت آن حدود ۹۸-۹۵ درصد و اختصاصی بودن آن ۱۰۰-۹۸ درصد می‌باشد در حالی که حساسیت کشت CMV حدود ۴۲درصد می‌باشد(۴۳).

انتروویروس‌ها یکی از شایع‌ترین علل مننژیت ویرال بوده و با PCR در عرض یک روز می‌توان آن را در مایع نخاع شناسایی نمود در حالی‌که کشت آن پنج روز طول می‌کشد(۴۴).

برای تشخیص سریع کنژیکتیویت ناشی از آدنو ویروس نیز می‌توان از PCR استفاده نمود(۴۵).

برای پیگیری پاسخ به درمان از PCR کمی که تعداد ویروس را مشخص می‌کند در بیماری‌های HIV, CMV, HCV می‌توان استفاده نمود(۳۹).

برای تشخیص عفونت‌های HSV و تعیین سروتایپ آن می‌توان به کمک PCR نمونه‌های بزاق، سرم و یا مایع مغزی نخاعی را آزمایش نمود. به کمک PCR توانسته‌اند ثابت کنند که HSV-2 عامل اصلی مننژیت لنفوسیتیک عود کننده خوش‌خیم است.

ویروس واریسلازوستر را نیز می‌توان به کمک PCR از بزاق، حلق، اشک و بثورات پوستی جدا نمود و اهمیت آن در این است که در مراحل خیلی ابتدایی بیماری می‌توان ویروس را در ضایعات وزیکولر و حتی نواحی اریتماتو غیروزیکولر تشخیص داد.

تشخیص سارکوم کاپوسی گاهی مشکل ولی به کمک PCR و با حساسیت و اختصاصی بودن خیلی زیاد می‌توان هرپس ویروس انسانی تیپ ۸ را در ضایعات تشخیص داد.

انگل‌ها: انگل‌های متعددی توسط PCR قابل شناسایی می‌باشند، مانند آسکاریس، توکسوپلاسما، لیشمانیا و کلونورشیس سی نن سیس(۴۹-۴۶).

حتی قبل از تولد نیز می‌توان به کمک PCR آلودگی جنین به توکسو پلاسما را تشخیص داد(۵۰) و از نمونه‌های مختلف بدن مانند خون، مایع آمنیوتیک، مدفوع و غیره برای تشخیص آلودگی به این انگل استفاده کرد(۵۲-۵۱).

قابل ذکر است که در ایران نیز از PCR برای تشخیص بیماری‌های عفونی به صورت‌های مختلف استفاده و در این رابطه مقالات زیادی به انگلیسی و فارسی نوشته شده است که برای مثال، برای مطالعه مقالات فارسی می‌توان به منابع ۱ و ۲ و ۳۴ و ۳۵ مراجعه کنید.

منابع:

1- Golbang N, Burnie JP. ***Development of a PCR-ELISA for diagnosing blood infection caused by gram negative bacteria.*** Research Bulletin of Isfahan University 2003; 17(1): 121-32. [Persian]

2- Parvizi P, Ready PD. ***Nested PCRs and sequencing of nuclear ITS-rDNA fragments detect three Leishmania species of gerbils in sandflies from Iranian foci of zoonotic cutaneous leishmaniasis.*** Trop Med Int Health 2008; 13: 1-13.[Persian]

3- Marks DJ, Mitchison NA, Segal AW, Sieper J. ***Can unresolved infection precipitate autoimmune disease?*** Curr Top Microbiol Immunol 2006;305:105-25.

4- Hochberg MC, Lebwohl MG, Plevy SE, Hobbs KF, Yocum DE. ***The benefit/risk profile of TNF blocking agents: finding of a consensus panel.*** Semin Arthritis Rheum 2005;34(6):819-36.

5- Belleza WG, Browne B. ***Pulmonary considerations in the immunocompromised patient.*** Emerg Med Clin North Am 2003;21(2):499-531.

6- Perl A. ***Mechanisms of viral pathogenesis in rheumatic disease.*** Ann Rheum Dis 1999;58(8):454-61.

7- Ebinger A, Rashid T. ***Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease triggered by Proteus urinary tract infection.*** Clin Dev Immunol 2006;13(1):41-8.

8- Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, Buchan I, Matteson EL, Montori V. ***Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials.*** JAMA 2006;295(19):2275-85.

9- Pratesi F, Tommasi C, Anzilotti C, Chimenti D, Migliorini P. ***Deiminated Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 is a target of anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis.*** Arthritis Rheum 2006;54(3):733-41.

10- Sigal LH. ***Synovial fluid-polymerase chain reaction detection of pathogens: what does it really mean?*** Arthritis Rheum 2001;44(11):2463-6.

11- Fredericks DN, Relman DA. ***Application of polymerase chain reaction to the diagnosis of infectious disease.*** Infect Dis 1999;29(3):475-88.

12- Cursons RTM, Jeyerajah E, Sleigh JW. ***The use of polymerase chain reaction to detect septicemia in critically ill patients.*** Crit Care Med 1999;27(5):927-40.

13- Relman DA. ***Detection and identification of previously unrecognized microbial pathogens.*** Emerg Infect Dis 1998;4(3):382-9.

14- Basgara O, Harris T. ***Latest development in in situ PCR.*** Methods Mol Biol 2006;334:221-40.

15- Eisenstein BI. ***The polymerase chain reaction: a new method of using molecular genetics for medical diagnosis.*** N Engl J Med 1990;322(3):178-83.

16- Wolk D, Mitchell S, Patel R. ***Principles of molecular microbiology testing methods.*** Infect Dis Clin North Am 2001;15(4):1157-204.

17- Orlando C, Pinzani P, Pazzagli M. ***Developments in quantitative PCR.*** Clin Chem Lab Med 1998; 36(5): 255-69.

18- Relman DA. ***The identification of uncultured microbial pathogens.*** J Infect Dis 1993;168(1):1-8.

19- O'Duffy JD, Griffing WL, Li CY, Abdelmalek M, Persing D. ***Whipple's arthritis: direct detection of Tropheryma whippelii in synovial fluid and tissue.*** Arthritis Rheum 1999;42(4):812-7.

20- Bekkaoui F, McNevin JP, Leung CH, Peterson GJ, Patel A, Bhatt RS, et al. ***Rapid detection of the mecA gene in methicillin resistant staphylococci using a calorimetric cycling probe technology.*** Diagn Microbiol Infect Dis 1990;34(2):83-90.

21- Cockerill FR. ***Genetic methods for assessing antimicrobial resistance.*** Antimicrob Agents Chemother 1999;43(2):199-212.

22- Cloney L, Marlowe C, Wong A, Chow R, Bryan R. ***Rapid detection of mecA in methicillin-resistant Staphylococcus aureus using cycling probe technology.*** Mol Cell Probes 1999;13(3):191-7.

23- Hawkins A, Davidson F, Simmonds P. ***Comparison of plasma viral loads among individuals infected with hepatitis C virus (HCV) genotypes 1, 2, and 3 by quantiplex HCV RNA assay versions 1 and 2, Roche, Monitor assay, and an in-house limiting dilution method.*** J Clin Microbiol 1997;35(1):187-92.

24- Wolf DG, Spector SA. ***Early diagnosis of human cytomegalovirus disease in transplant recipients by DNA amplification in plasma.*** Transplantation 1993;56(2):330-4.

25- Hermida M, Ferreiro MC, Barral S, Laredo R , Castro A , Dizdios P. ***Detection of HCV RNA in saliva of patients with hepatitis C virus infection by using a highly sensitive test.*** J Virol Methods 2002;101(1-2):29-35.

26- Bouza E, Garcia-Lechuz J, Munoz P. ***Infections in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis.*** Infect Dis Clin North Am 2001;15(2):335-61.

27- Cook L. ***Hepatitis C virus diagnosis and therapeutic monitoring: methods and interpretation.*** Clin Microbiol Newslett 1999;21:67-72.

28- Ley BE, Linton CJ, Bennett DM, Jalal H, Foot AB, Millar MR. ***Detection of bacteraemia in patients with fever and neutropenia using 16S rRNA gene amplification by polymerase chain reaction.*** Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1998;17(4):247-53.

29- Abe A, Inoue K, Tanaka T, Kato J, Kajiyama N, Kawaguchi R, et al. ***Quantitation of hepatitis B virus genomic DNA by realtime detection PCR.*** J Clin Microbiol 1999;37(9):2899-903.

30- Baumforth KRN, Nelson PN, Dugby JE. ***The polymerase chain reaction.*** J Clin Pathol 1999;52:1-10.

31- Tang YW, Procop GW, Persing DH. ***Molecular diagnostics of infectious diseases***. Clin Chem 1997;43:2021-38.

32- Fredericks DN, Relman DA. ***Sequence-based identification of microbial pathogens: a reconsideration of Koch's postulates***. Clin Microbiol Rev 1996;9:18-33.

33- Franco Paredes C, Diaz Borjon A, Seuger MA. ***The ever-expanding association between rheumatologic diseases and tuberculosis.*** Am J Med 2006;119:470-7.

34- Alikhani y, Bahermand A, Zeinali S, Aslani MM ***.Clinical trials of PCR for diagnosis of M .tuberculosis in sterile body fluid.*** Iranian J Infect Dis Trop Med 2002; 7(18):51-53. [Persian]

35- Haghighi MA, Motazedian MH, Alyasin F, Ghane Shirazi R. ***Molecular epidemiology of tuberculosis using RAPD-PCR in Fars Province/Iran.*** ISMJ;1381:5(2):103-111. [Persian]

36- Lam A, Toma W, Schlesinger N. ***Mycobacterium marinum arthritis mimicking rheumatoid arthritis.*** J Rheumatol 2006;33(4):817-9.

37- Woods GL. ***Molecular methods in the detection and identification of mycobacterial infections.*** Arch Pathol Lab Med 1999;123(11):1002-6.

38- Detmer J, Lagier R, Flynn J, Zayati C, Kolberg J, Collins M, et al. ***Accurate quantification of hepatitis C virus(HCV)RNA from all HCV genotypes by using branched-DNA technology.*** J Clin Microbiol 1996;34(4):901-7.

39- Clarke JR, McClure MO. ***HIV-1 viral load testing.*** J Infect 1999;38:141-6.

40- Tang YW,Mitchell PS, Espy MJ, Smith TF, Persing DH. ***Molecular diagnosis of herpes simplex virus infections in the central nervous system.*** J Clin Microbiol 1999;37(7):2127-36.

41- Di Alberti L, Piatteli A, Artese L, Favia G, Patel S, Saunders N, et al. ***Human herpesvirus 8 variants in sarcoid tissues.*** Lancet 1997;350:1655-61.

42- Mitchell PS, Espy MJ, Smith TF, Toal DR, Rys PN, Berbariet EF, et al. ***Laboratory diagnosis of central nervous system infections with herpes simplex virus by PCR performed with cerebrospinal fluid specimens.*** J Clin Microbiol 1997;35(11):2873-7.

43- Abe T, Tsuchida K, Tamai M. ***A comparative study of the polymerase chain reaction and local antibody production in acute retinal necrosis syndrome and cytomegalovirus retinitis.*** Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 1996;234(7):419-24.

44- Thoren A, Widell A. ***PCR for the diagnosis of enteroviral meningitis.*** Scand J Infect Dis 1994;26(3):249-54.

45- Cooper RJ, Yeo AC, Bailey AC, Tullo AB. ***Adenovirus polymerase chain reaction assay for rapid diagnosis of conjunctivitis.*** Invest Ophthalmol Vis Sci 1999;40(1):90-5.

46- Jang Js, Kim Kh, Yu Jr, Lee Su. ***Identification of parasite DNA in common bile duct stones by PCR and DNA sequencing.*** Korean J Parasitol December 2007; 45(4): 301-6.

47- Parvizi P, Moradi G, Akbari G, Farahmand M, Ready PD, Piazak N, et al. ***PCR detection and sequencing of parasite ITS-rDNA gene from reservoirs host of zoonotic cutaneous leishmaniasis in central Iran.*** Parasitol Res 2008;103(6):1273-8.

48- Fazaeli A, Fouladi B, Hashemi-Shahri SM, Sharifi I. ***Clinical features of cutaneous leishmaniasis and direct pcrbased identification of parasite species in a new focus in Southeast of Iran***. Iranian J Pub Health 2008; 37(3):44-51.

49- Carlsgart J, Roepstorff A, Nejsum P. ***Multiplex PCR on single unembryonated Ascaris(roundworm) eggs.*** Parasitol Res 2009; 104(4):939-43.

50- Vidigal PVT, Santos DVV, Castro FC, de Faria Couto JC, de Almeida Vitor RV, Filho GB. ***Prenatal toxoplasmosis diagnosis from amniotic fluid by PCR.*** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2002;35(1): 1-6.

51- Fuentes I, Rodriguez M, Domingo CG, Del Castillo FD, Juncosa T, Alvar A. ***Urine sample used for congenital toxoplasmosis diagnosis by PCR.*** J Clin Microbiol 1996; 34(10): 2368-71.

52- Vidal JE, Colombo FA, Penalva de Oliveira AC, Focaccia R, Pereira-Chioccola VL. ***PCR assay using cerebrospinal fluid for diagnosis of cerebral toxoplasmosis in Brazilian AIDS patients.*** J Clin Microbiol 2004;42(10): 4765-8.

سؤالات بازآموزی کاربرد PCR برای تشخیص بیماری‌های عفونی

۱- اساس PCR بر کدامیک از موارد زیر ا ست؟

الف- کپی برداری از سکانس DNA

ب- کپی برداری از سکانس RNA

ج- هر دو

د- هیچکدام

۲-کدامیک از بیماریهای زیر با PCR قابل تشخیص می‌باشد؟

الف- بیماری های ژنتیکی

ب- بیماری های خونی

ج- بیماری های عفونی

د- تمام موارد

۳-به کمک PCR رابطه هپاتیت با تمام بیماری های زیر ثابت شده است بجز:

الف- آرتریت پسوریاتیک

ب- پلی آرتریت نودوزا

ج- آرتریت گذرا

د- کرایوگلوبولینمی

۴- به کمک PCR رابطه آرتریت راکتیو با تمام باکتری های زیر ثابت شده است بجز:

الف- شیگلا

ب- استافیلوکک ارئوس

ج- پروتئوس

د- کلامیدیاتراکئوماتیس

۵- در عفونت های ویروسی در کدامیک از موارد زیر PCR می‌تواند کمک کننده باشد؟

الف- تشخیص

ب- غربالگری

ج- پیگیری پاسخ به درمان

د- تمام موارد

۶- در مورد تشخیص مایکوباکتریوم توبرکلوزیس کدام گزینه غلط است؟

الف- کشت آن معمولا چند هفته طول می کشد.

ب- جواب PCR در عرض ۲۴ ساعت مثبت می‌شود.

ج- PCR نمی‌تواند آن را از بقیه مایکوباکتریوم‌ها تشخیص دهد.

د- حساسیت PCR بیش از ۹۰٪ است

۷- برای اولین نمونه خلط بیماری که با شک به بیماری سل مراجعه نموده است کدام آزمایش توصیه شده است ؟

الف- اسمیر

ب- PCR

ج- هر دو

د- هیچکدام

۸- اگر شک بالینی به سل ضعیف و اسمیر خلط منفی باشد کدامیک از موارد زیر باید انجام شود؟

الف- یک نوبت PCR

ب- دو نوبت PCR

ج- سه نوبتPCR

د- PCR نباید درخواست شود.

۹- برای تشخیص بیماری سل ، PCR کدامیک از نمونه های زیر کمک کننده است؟

الف- مایع نخاع

ب- مایع پلور

ج- مایع آسیت

د- تمام موارد

۱۰- تشخیص جذام با کدامیک از روش‌های زیر امکان پذیر می‌باشد؟

الف- PCR

ب- کشت ضایعات پوستی

ج- کشت ترشحات بینی

د- تمام موارد

بسمه تعالی

قابل توجه شرکت کنندگان در برنامه خودآموزی:

شرکت کنندگان در برنامه خودآموزی لازم است فرم ثبت نام را بطور کامل تکمیل و به مهر نظام پزشکی ممهور نمایند و پس از مطالعه مقاله خودآموزی بعد از پاسخگویی به سؤالات پرسشنامه و اعلام نظر خود در خصوص مقاله مطالعه شده در فرم نظرخواهی نسبت به ارسال اصل هر سه فرم تکمیل شده حداکثر تا تاریخ ۱۳۹۰/۳/۲۵ به آدرس: **یزد** – **میدان باهنر- سازمان مرکزی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی – دفتر مجله علمی پژوهشی** اقدام نمایند تا در صورت پاسخگویی صحیح به حداقل ۷۰٪ از سوالات مقاله، گواهینامه شرکت در برنامه خودآموزی صادر و به آدرس مندرج در فرم ثبت نام ارسال گردد.

بسمه تعالی
جمهوری اسلامی ایران
وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی
معاونت آموزشی - اداره کل آموزش مداوم جامعه پزشکی

فرم ثبت نام در برنامه خودآموزی

عنوان مقاله: **کاربرد PCR برای تشخیص بیماری‌های عفونی** نام نشریه: **مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد**

نام خانوادگی: نام: نام پدر: شماره شناسنامه: صادره از:

تاریخ تولد: جنس: مرد○ زن○

محل فعالیت : استان: شهرستان: بخش : روستا:

نوع فعالیت: هیأت علمی ○ آزاد○ رسمی○ پیمانی ○ قراردای ○ طرح ○ سایر○

مقطع آخرین مدرک تحصیلی و سال اخذ مدرک :

رشته تحصیلی مقاطع : لیسانس: فوق لیسانس: دکترا: تخصص: فوق تخصص:

آدرس دقیق پستی : کدپستی: شماره تلفن: تاریخ تکمیل و ارسال فرم:

امضاء ، شماره نظام پزشکی و مهر متقاضی:

امضاء و مهر مسئول ثبت نام

لطفاً با گذاردن علامت (×) در زیر گزینه صحیح به سؤالات پرشسنامه مقاله خودآموزی پاسخ دهید:

سوال	الف	ب	ج	د	سوال	الف	ب	ج	د
۱					۱۶				
۲					۱۷				
۳					۱۸				
۴					۱۹				
۵					۲۰				
۶					۲۱				
۷					۲۲				
۸					۲۳				
۹					۲۴				
۱۰					۲۵				
۱۱					۲۶				
۱۲					۲۷				
۱۳					۲۸				
۱۴					۲۹				
۱۵					۳۰				

خواهشمند است نظر خود را با گذاردن علامت(×) در زیر گزینه مربوطه اعلام نمایید	کاملاً موافقم	تاحدی موافقم	تاحدی مخالفم	کاملاً مخالفم	نظری ندارم
۱-محتوای مقاله براساس منابع جدید علمی ارایه شده است. ۲-محتوای مقاله با نیازهای حرفه ای من تناسب داشته است. ۳- محتوای مقاله در جهت تحقق اهداف آموزشی نوشته شده است. ۴- در محتوای مقاله شیوایی و سهولت بیان در انتقال مفاهیم رعایت شده است.					
- سه عنوان پیشنهادی خود را برای ارایه مقالات خودآموزی ذکر نمایید					
همکار گرامی لطفاً با ارایه نظرات و پشنهادات خود در جهت توسعه کیفی مقالات خودآموزی، برنامه ریزان و مجریان برنامه های آموزش مداوم را یاری فرمایید					