



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 آیت‌اللهی^۱، علی ملت^{۲*}، جهانگیر آیت‌اللهی^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 بیماری‌های 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: ۰۲۵۱-۸۲۲۴۰۰۴، 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:

- هیپاتیت B با پلی آرتریت نودوزا، آرتریت گذرا و کرایوگلوبولینمی
- هیپاتیت C با آرتریت روماتوئیداروزیو، پلی میوزیت، درماتومیوزیت و کرایوگلوبولینمی تیپ ۲

- پاروویروس B19 با آرتریت روماتوئیداروزیو
- سرخچه با آرتریت حاد و مزمن
- آلفاویروس با عفونت حاد و تظاهرات مختلف آرتریت، پلی آرتریت اپیدیمیک و پلی آرتریت مزمن

- آدنوویروس با آرتریت قرینه یا پلی آرتریت 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 استرپتوکوک و سالمونلا با آرتریت راکتیو و تب روماتیسمی (۱-۳).

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 (۳۰،۱۵).

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 هر کدام 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 می‌کشد تا مثبت شود. اگر بیمار آنتی‌بیوتیک 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 (۱۸،۱۳).

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

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

اختصاصی بودن PCR عالی و بیش از ۹۸٪ می‌باشد (۳۳-۳۵). در مواردی که کشت از نظر باسیل‌های اسید فاست مثبت می‌باشد می‌توان برای تعیین نوع مایکوباکتریوم نیز از PCR استفاده نمود که در حال حاضر پروب‌های لازم جهت تعیین مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، آویوم کمپلکس، کانزاسی و مایکوباکتریوم گوردونا (Gordonae) وجود دارد.

حتی در مواردی که عفونت توام مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و مایکوباکتریوم آویوم اینتراسلولار وجود دارد، PCR می‌تواند هر 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 اسمیر و PCR هر دو انجام شود. اگر هر دو آزمایش مثبت باشد با احتمال زیاد بیماری سل دارد ولی اگر اسمیر مثبت و PCR منفی بود باید PCR مجدداً روی همان نمونه خلط انجام شود که اگر مجدداً منفی بود نمونه خلط بعدی بیمار آزمایش شود و اگر PCR این نمونه نیز منفی بود احتمالاً بیمار به نوع دیگری از مایکوباکتریوم به جز مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مبتلا می‌باشد.

اگر از نظر بالینی برای بیمار سل مطرح ولی اسمیر خلط منفی ولی PCR مثبت باشد، تشخیص احتمالی سل مطرح می‌شود. اگر شک بالینی به سل ضعیف و اسمیر منفی باشد، PCR نباید درخواست شود.

در کسانی که اخیراً درمان ضد سل دریافت کرده‌اند نیز نباید PCR درخواست نمود زیرا احتمال مثبت کاذب برای بیماری فعال وجود دارد.

انواعی از PCR که m-RNA را شناسایی می‌کنند فقط وقتی مثبت می‌شوند که مایکوباکتریوم زنده وجود داشته باشد 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 حساسیت آن بین ۶۷ تا ۱۰۰ درصد می‌باشد.

اختصاصی بودن PCR در روش‌های مختلف در نمونه‌های خارج

آنجایی که DNA پلیمرز قادر به استفاده از RNA به عنوان الگو نمی‌باشد، مرحله دیگری به PCR اضافه شده است. طی این مرحله، با استفاده از آنزیم رورس ترانس کریپتاز RT، از الگوی RNA، مکمل آن DNAC (Complementary DNA) سنتز می‌شود و به وسیله تکنیک PCR تکثیر می‌یابد. به منظور تعیین گونه و حساسیت دارویی در ویروس شناسی و مایکوباکتریولوژی، از این روش برای تکثیر RNA ریبوزومی استفاده می‌شود.

۲- نسته- پی سی آر (Nested-PCR): در این روش به منظور 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 لوله دیگری منتقل شده و به عنوان الگو استفاده می‌شود و به وسیله جفت پرایمرهای دوم مرحله دوم PCR انجام می‌شود.

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

۴- آرمز پی سی آر (ARMS-PCR)

(Amplification Refractory Mutation System-PCR)

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

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

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 نمونه‌های 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 هیپاتیت B (۲۹)، هیپاتیت C (۲۵،۳۸)، HIV (۳۹)، HSV (۴۰-۴۲)، سابتومگالوویروس‌ها 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 هیپاتیت C و HIV از این تست استفاده می‌شود، در حال حاضر استاندارد طلائی 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 هیپاتیت 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 ۹۵-۹۸ درصد و اختصاصی بودن آن ۹۸-۱۰۰ درصد می‌باشد در حالی که حساسیت کشت CMV حدود ۴۲ درصد می‌باشد (۴۳).

انتروویروس‌ها یکی از شایع‌ترین علل مننژیت ویرال بوده و با PCR در عرض یک روز می‌توان آن را در مایع نخاع شناسایی

منابع:

نمود در حالی که 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 خوش خیم است.

ویروس واریسلوزستر را نیز می‌توان به کمک PCR از بزاق، حلق، اشک و بشورات 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، لیشرمانیا و کلونورشیس سی نن سیس (۴۶-۴۹).

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

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.

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, Lebowitz 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, Ferreira 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- Haghghi 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, Nejsun 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 است؟
- 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- بیماری‌های ژنتیکی
ب- بیماری‌های خونی
ج- بیماری‌های عفونی
د- تمام موارد
- ۳- به کمک PCR رابطه هپاتیت با تمام بیماری‌های 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 باکتری‌های زیر ثابت شده است بجز:
- الف- شیگلا
ب- استافیلوکوک ارئوس
ج- پروتئوس
د- کلامیدیاتراکئوماتیس
- ۵- در عفونت‌های 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 می‌کشد.
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 نوبت PCR
د- PCR نباید درخواست شود.
- ۹- برای تشخیص بیماری سل، PCR کدامیک از نمونه‌های 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 سؤالات 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 خانوادگی: نام: نام پدر:
تاریخ تولد:
محل فعالیت: استان: شهرستان: بخش:
نوع فعالیت: هیأت علمی آزاد رسمی پیمانی قراردادی 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

نظری	کلاً	تأیدی	کاملاً	خواهشمند است نظر خود را با گذاردن علامت (x) در زیر گزینه مربوطه اعلام نمایید
مخالفم	مخالفم	موافقم	موافقم	
				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 پیشنهادات خود در جهت توسعه کیفی مقالات خودآموزی، برنامه ریزان و مجریان برنامه های آموزش مداوم را باری فرمایید				

لطفاً با گذاردن علامت (x) در زیر گزینه صحیح به سؤالات پرسشنامه 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				