آزمایشگاه پاتوبیولوژی نانو

PCR (Polymerase Chain Reaction)
infectious disease

اساس PCR بر کپی برداری از سکانس DNA or RNA نمونه مورد نظر میباشد که قابلیت PCR در ازدیاد اسیدهای نوکلئیک موجود در نمونه مورد آزمایش موجب شناسایی سریع و اختصاصی نوع سلول یا میکروارگانیسم مورد نظر در نمونه مذکور می گردد که این ویژگی علاوه بر بکارگیری PCR در تشخیص آزمایشگاهی بیماریها، شناسایی انواع سلولها، آنرا به عنوان ابزاری مطمئن و حساس در زمینته پژوهش های علمی مطرح می سازد. بر این اساس امروزه با استفاده از این روش میتوان بیماری های مختلفی از جمله بیماری های عفونی را تشخیص داد. در حال حاضر به کمک PCR حدود ۱۰۰ میکروارگانیسم مختلف را میتوان شناسایی کرد و با این روش میتوان حتی Subtype آنها و مقاومت به دارو در آنها را نیز مشخص نمود.

PCR :

۱: کمی: تعداد میکروارگانیسم / پیگیری پاسخ به درمان
۲: کیفی: نوع میکروارگانیسم / تشخیص نوع بیماری
قابل ذکر است که به کمک PCR توانسته اند رابطه عوامل عفونی را با تعداد زیادی از بیماریهایی که قبلا تصور می شد منشا عفونی ندارند را پیدا کنند، برای مثال: هپاتیت B/ هپاتیت C پارو ویروس / آلفا ویروس /سرخچه / آدنو ویروس / HIV / EBV-۱ و همچنین رابطه باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی مانند شیگلا، پروتئوس، کلامیدیا تراکئوماتیس ، انواع استرپتوکک و سالمونلا با آرتریت راکتیو و تب روماتیسمی.

کاربرد PCR در بیماریهای عفونی:
تهیه ی نسخه های متعدد از یک ژن
بررسی حضور یا عدم حضور یک ژن خاص در یک قطعه DNA
شناسایی میکروارگانیسم هایی که بطور معمول قابل کشت نیستند.
شناسایی میکروارگانیسم هایی که رشد آهسته دارند.
شناسایی میکروارگانیسم هایی که تازه کشف شده و روشهای دیگری برای تشخیص آنها وجود ندارد.
غربالگری ، تشخیص و پیگیری پاسخ به درمان عفونت های ویروسی.

مزیت PCR:
نیاز حتمی به نمونه تازه ندارد و حتی میتوان از نمونه ها بایگانی شده استفاده کرد.
انجام آزمایشات حتی بعد از مصرف آنتی بیوتیک ها.
عدم نیاز به محیط های کشت اختصاصی هر ارگانیسم.
انجام سریع آزمایشات در عرض چند ساعت.
حساسیت و دقت بالای این آزمایشات.
به علت دارا بودن ویژگی، حساسیت بالا، سرعت و سهولت این روش، جایگاه ویژه ای درتحقیقات و تشخیص های مولکولی پیدا کرده است بطوری که WHO & FDA نیز استفاده از PCR جهت تشخیص در آزمایشگاه را توصیه نموده اند. باتوجه به این موضوع ما در آزمایشگاه نانو با کمک و همکاری اساتید دانشگاهی و علمی برآن شدیم تا این روش بروز را در تشخیص و کمک به پزشکان محترم در جهت پیگیری و بهبود سلامت بیماران، راه اندازی کنیم.

NANO LABORATORY

HDV Ab:

این ویروس دارای ژنوم RNA منفی، تک رشته ای، حلقوی و کوچک است که همیشه همراه با HB (هپاتیت ب) مشاهده می شود، چرا که برای همانند سازی خود از ویروس HBو نیز امکانات سلول میزبان استفاده میکند. تقریبا ۱۵ میلیون نفر در دنیا به ویروس هپاتیت D آلوده هستند. با توجه به اهمیت این مقدار آلودگی و همراهی آن با ویروس HB، تشخیص این عفونت امری ضروری تلقی میشود. حساس ترین روش برای تشخیص HDV روش PCRیا واکنش زنجیره ای پلی مراز می باشد و با توجه به کیت های تجاری موجود و تخصصی مربوط از HDV AB جهت تشخیص و نیز فالو آپ بیماری استفاده می شود.

HIV:

ویروس نقص ایمنی انسانی که عامل بیماری ایدز بوده و اولین عامل مرگ و میر ناشی از بیماری های عفونی در جهان میباشد. این تست به طور مستقیتم به بررسی ژنوم ویروس در خون فرد می پردازد. اگر شخصی به ویروس بیماری ایدز مبتلا شده باشد، DNA این ویروس در خون او یافت خواهد شد. میزان اطمینان به نتیجه تست HIV-PCR، است. انجام این آزمایش بین ۲ تا ۴ هفته پس از ارتباط مشکوک، توصیه می شود. باتوجه به اینکه در این آزمایش ژنوم ویروس مورد بررسی قرار می گیرد، لذا برای تشخیص زودرس بیماری و یا آلوده بودن نوزاد تازه متولد شده به این بیماری مفید است.

HBV:

بیماری هپاتیت B یکی از مشکلات عمده سلامت در دنیا و کشور ایران بوده و عامل یکی از شدیدترین عفونتهای ویروسی کبدی در جهان میباشد. این ویروس هر ساله مسئول مرگ حدود یک تا دو میلیون نفر در سراسر جهان است. ویروس هپاتیت B باعث بیماری هپاتیت مزمن، سیروز کبدی و سرطان کبد میشود. شناسایی DNA این ویروس با روش های مولکولی مانند PCR جهت شناسایی عفونت، تایید تشخیص عفونت و پیگیری پاسخ به درمان های ویروسی انجام میشود.

HCV:

نوعی عفونت ویروسی است که عمدتاً کبد را تحت تأثیر قرار می‌دهد. هپاتیت سی اغلب هیچ علائمی ندارد، اما عفونت مزمن موجب زخم شدن کبد می‌شود، و پس از چند سال به سیروز کبد می‌انجامد. در بعضی موارد افراد مبتلا به سیروز کبد همچنین دارای نارسایی کبد، سرطان کبد،یاعروق بسیار متورم مری و معده می‌باشند که این مورد آخر می‌تواند منجر به خون‌ریزی تا حد مرگ میشود. شناسایی RNA ویروس HCV با روش های مولکولی مانند PCR جهت شناسایی عفونت با ویروس، تاییدتشخیص عفونت و پیگیری پاسخ به درمان های ویروسی انجام میشود.

HSV:

ویروس‌های هرپس سیمپلکس ۱ و ۲ از مهم‌ترین ویروس‌های بیماری‌زای انسانی هستند. ویروس هرپس سیمپلکس ۱، موجب تبخال لب و ویروس هرپس سیمپلکس ۲، موجب تبخال تناسلی می‌شود. این ویروس ها، سلول‌های عصبی را آلوده می‌سازند. ویروس‌های هرپس سیمپلکس می‌توانند مناطق گوناگونی از بدن را آلوده سازند مانند ایجاد ضایعات در دهان و گلو، التهاب قرنیه وملتحمه چشم، تب خال‌های پوستی و انسفالیت. استاندارد طلایی تشخیص آنسفالیت ومنتژیت ناشی از HSV با حساسیت ۹۵٪ و اختصاصی بودن ۹۴٪ PCR مایع نخاع می باشد و با این آزمایش میتوان از بیوپسی مغز جلوگیری نمود. امروزه Real Time PCR یک روش ارزشمند در تشخیص ژنوم HSV (با نمونه های بزاق، سرم و مایع نخاعی) است. همچنین بار ویروسی بدست آمده توسط این روش در یک فرد میتواند به عنوان بهترین مارکر در دنبال کردن اثر درمانی به کار رود.

MTB(سل): توبرکلوز بعد از HIV دومین علت مرگ و میر ناشی از بیماریهای عفونی در جهان می باشد.روش‌های معمول تشخیص مثل کشت مایکوباکتریوم معمولا چند هفته طول می کشد در حالی که به کمک PCR در عرض ۲۴ ساعت جواب آن آماده میشود و حساسیت آن ۹۰ تا ۹۸٪ و اختصاصیت بیش از ۹۸٪ برای بیماران اسمیر مثبت می باشد. مرکز کنترل بیماری های آمریکا در حال حاضرتوصیه میکند که هر بیماری که با شک به سل مراجعه می کند در اولین نمونه خلط آزمایش اسمیر و PCR هردو انجام شود.

HPV:

ویروس پاپیلومای انسانی شایع ترین عفونت ویروسی منتقله از راه های مختلف تماس جنسی میباشد. بطور متوسط از هر ۴ زن/ ۳نفر در طول زندگی به این ویروس مبتلا میشوند. البته با توجه به عدم بروز علائم؛ فرد از آلودگی خود بی خبر است که این خود اهمیت انتقال این بیماری را دو چندان میکند.

علائم:

۱/: علائم با ریسک پایین یا غیر سرطانی(ایجاد زگیل های تناسلی)

۲/: علائم با ریسک بالا یا سرطانی (عوارض در دهانه رحم/واژن/مخرج/پنیس/حنجره و ریه)

طبق آخرین آمار؛ سالانه در ایران ۹۱۷ زن مبتلا به سرطان گردن رحم میشوند که متاسفانه از این تعداد ۴۱۷ نفر منجر به فوت میشوند. با توجه به این موضوع که ۹۹٪ سرطان های گردن رحم مربوط به ویروس HPV میباشد و نیز توصیه های WHO&FDAروش های PCR و پاپ اسمیرجهت تشخیص و تعیین تایپ های مختلف این ویروس حیاتی به نظر میرسند و اهمیت این روش را دوچندان میکند.

HTLV :

یک رترو ویروس RNA دار، که عامل لوسمی و لنفومای سلول های T در بالغین است و توانایی نهفته ماندن در بدن تا سال ها را دارا می باشد. این ویروس در ۲ نوع خود که با شماره های ۱ و ۲ نام گذاری شده اند، باعث بیماری زایی که از جمله مهم ترین آن ها: لوسمی لنفوسیتیک سلول T و فلج اسپاستیک میشود.

متداول ترین روش تشخیص عفونت، شناسایی AB در سرم یا پلاسما با روش الایزا می باشد. اما این روش فقط قادر به شناسایی و تشخیص ویروس در گذشته و نیز امکان تشخیص بصورت مثبت کاذب در این حالت وجود دارد. بنابراین استفاده از روش تخصصی PCR بدلیل تشخیص ساب تایپ نوع ۱ و ۲ این ویروس و نیز تفکیک با شناسایی پپتیدهای خاص ساخته شده توسط خود ویروس را در آزمایشگاه راه اندازی نمودیم. در این روش همچنین میتوان نتایج مثبت کاذب ناشی از ورود AB های مادر به جریان خون نوزاد و حتی تعداد ویروس های داخل بدن بیمار با شمارش تعداد کپی های DNA ویروس، که یک شاخص مهم در تعیین، پیشرفت و پیگیری بیماری بخصوص در بیماران میلوپاتی است را، تشخیص دهیم.

Jack۲ :

پلی سیتمی ورا یک نوع بیماری خونی میلوپرولیفراتیو می باشد که از جمله بیماری های تکثیری مغز استخوان بوده، این حالت در اثر برداشته شدن اثر مهاری در تقسیمات سلول های میلوئیدی در مرحله بلوغ رخ میدهد. در نتیجه ی این بیماری تعداد غیر قابل کنترلی از گلبول های قرمز تولید و باعث افزایش خطرناک غلظت خون می شود. همه بیماری های کلونال (تکثیری مغز استخوان) از انواع سرطان ها می باشد، که در اثر یک یا بیشتر از یک جهش در مرحله بلوغ باقی می مانند. بیماری های میلوپرولیفراتیو دارای جهش در ژن های jak۲، MPL، CALR می باشد. که از بین این جهش ها جهش در ژن jak۲ مهمترین آن ها می باشد.

ژنjak۲ روی کروموزوم ۹ قرار دارد. تقریبا همه بیماران پلی لیستمی ورا دارای یک جهش در این ژن می باشند. بررسی جهش های موجود در این ژن یک تست خونی می باشد که در آن بعد از استخراج DNA از خون و تکثیر منطقه ژنی به روش PCR و تایید آن از طریق ژل اکتروفرز، و نیز آنالیز نتایج بدست آمده حاصل از تعیین توالی، نوع ژنوتیپ فرد بیمار مشخص می شود.

NANO LABORATORY

آزمایشگاه پاتوبیولوژی

نانو

ارومیه ، خیابان حسنی ، مجتمع پزشکی هاشمی طبقه اول

تلفن : ۰۴۴-۳۳۴۵۷۹۹۸ / ۰۴۴-۳۳۴۵۷۹۹۶

nanomedicallab

nanoteam2018

www.nanomedicallab.com

NANO LABORATORY