پاتولوژی

نشریه علمی-خبری انجمن آسیب شناسی ایران

دوره جدید - شماره بیست و هفتم (پیاپی۳۹) - مرداد و شهریور ۸۹

صاحب امتیاز : انجمن آسیب‌شناسی ایران

نام: نشریه پاتولوژی

مدیر مسئول: دکتر حسین دارآفرین

سردبیر : دکتر فرید کرمی

مدیر اجرایی: دکتر محمدرضا جلالی‌ندوشن

ویراستار: دکتر آمنه طاهری‌کلورزی

مسئول روابط عمومی: منظر عباسپور

حروف نگارا : سمیه قاسمی‌پور

صفحه آرایی: مهدی نداف زاده

لیتوگرافی و چاپ : قلم آذین

تهران- خ انقلاب، خ دانشگاه بین چهاراه سزاوار و مشتاق پلاک ۲۰، ۶۶۴۱۷۷۴۸

شمارگان : ۵/۰۰۰

قیمت : ۱۰/۰۰۰ ریال

سازمان امور آگهی‌ها : ۶۶۵۹۶۹۹۳ و ۶۶۹۱۲۶۴۶

آدرس دفتر انجمن : تهران، میدان توحید، خیابان توحید، خیابان شهید طوسی (شباهنگ)، نرسیده به خیابان دکتر قریب، پلاک ۶۳، واحد یک

تلفن و فاکس : ۶۶۹۱۲۶۴۶ -۶۶۵۹۶۹۹۳

Website: www.Iranpath.org

E-mail: info@iranpath.org

اعضای هیات تحریریه نشریه

دکتر سعید آزادارمکی - دکتر پیام آزاده - دکتر آرزو آقاخانی- دکتر نوید احدی - دکتر فاطمه اصفهانی - دکتر پیمان امیدوار – دکتر رعنا امینی - دکتر رباب انبیائی- دکتر مسلم بهادری- دکتر فرحناز بیداری‌زره‌پوش – دکتر عیسی جهانزاد - دکتر محمدرضا جلالی‌ندوشن- دکتر سیما حقیقی- دکتر محمدتقی حقی‌آشتیانی - دکتر محمود خانیکی- دکتر حسین دارآفرین- دکتر مسعود دونلو- دکتر فرزانه (بتول) رحیمی– دکتر نازیلا رستگار راد- دکتر مرجان رهنمای‌فرزامی- دکترهانیه ژام - دکتر سید علی‌اکبر سیدمهدی - دکتر بهروز شفقی- دکتر نوش‌آفرین صفادل- دکتر آمنه طاهری‌کلورزی– دکتر علیرضا عبداللهی- دکتر فرشیدعلی یاری- دکتر محمد فرهادی‌لنگرودی - دکتر محمدفودازی - دکتر محمدحسین قینی- دکتر وحید فلاح‌آزاد – دکتر آتوسا قریب - دکتر مجتبی قدیانی – دکتر فرید کرمی- دکتر کتایون گوهری‌مقدم- دکتر فاطمه محجوب - دکتر پیمان محمدی‌تربتی - دکتر میرغلامرضا مهبد

این نشریه به زبان فارسی و دو ماهانه منتشر و جهت تمامی‌اعضای انجمن‌های آسیب شناسی، رادیوتراپی انکولوژی، هماتولوژی انکولوژی اطفال و بالغین، مراکز آزمایشگاهی دولتی و خصوصی، بخش‌های جراحی، داخلی، زنان و انکولوژی بیمارستان‌های آموزشی، گروه‌های آموزشی دانشگاه‌ها، نهادهای تابعه وزارتی، شرکت‌ها و موسسات تولیدی، خدماتی و آزمایشگاهی به صورت رایگان توزیع می‌گردد.

رسالت اصلی نشریه اطلاع رسانی علمی‌و صنفی، انتقال خرد و تجربه، ایجاد پل ارتباطی موثر بین کارکنان حرف مختلف پزشکی، ترویج بستر پژوهشی و ترغیب به دانش اندوزی در جامعه است.

نشریه پاتولوژی در انتخاب و ویراستاری مطالب وارده آزاد می‌باشد، اصل مقالات ارسالی مسترد نخواهد شد. انعکاس و درج نظرات و دیدگاه‌های گوناگون لزوماً به منزله تأیید آن نبوده و مسؤولیت مندرجات هر نوشتار با حفظ معنوی آن، متوجه نویسنده مطلب خواهد بود.

فهرست مطالب **صفحه**

خاستگاه آزمایشگاه بالینی ۲

تهاجم به پاتولوژی، تهاجم به طب ۴

مروری بر شاخص‌های بیوشیمیایی ضایعات حاد و مزمن کبدی ۸

جایگاه علوم آزمایشگاهی در برنامه های آموزشی پزشکی عمومی ۱۱

آموزش طب آزمایشگاهی به دانشجویان پزشکی ۱۲

تحلیل مسایل بالینی ۲۲

آزمایش شمارش رتیکولوسیت ۲۶

درمان با ایمونوگلبولین داخل وریدی (IVIG) و استروئیدها ۳۰

مروری بر ویژگی‌های مورفولوژیک، جنبه‌های بیماریزایی و آشنایی با روش‌های ملکولی شناسایی گونه‌های کاندیدا ۳۴

شرح روی جلد: آهکی شدن دیستروفیک ، دریچه آئورت

خاستگاه
آزمایشگاه بالینی

دکتر حسین دارآفرین
مدیر مسئول نشریه

رشـته کلینـیکال پاتولوژی در سـال ۱۹۰۸ با انتشـار کتـاب A Manual of Clinical Diagnosis در شکل نوین و امروزی متولد شد. James C.Todd مولف کتاب به دلیل بهره گیری از روش‌های آزمایشگاهی در تشخیص بالینی توانسته بود در طول سال‌ها طبابت به نتایج جالبی از نمونه‌های بیماران دست یابد. او علاوه بر اخذ شرح حال و انجام معاینات فیزیکی، از بیماران خود نمونه می گرفت و در زیر میکروسکوپ به مشاهده سلول‌ها پرداخت. همچنین در مواردی نمونه بیماران را کشت می داد و کلنی‌های به دست آمده را مورد بررسی قرار می داد. تا آن زمان طبابت رایج با اخذ شرح حال و معاینه فیزیکی شروع می شد و پزشک بر مبنای این شواهد تشخیص خود را مطرح می کرد اما با انتشار کتاب Todd دریچه ای فراخ بر روی تشخیص بیماری‌ها گشوده شد. پس از انتشار کتاب به دعوت دانشگاه دنور کلورادو Todd یافته‌های خود را به دانشجویان پزشکی ارائه می داد و از آن زمان به بعد علاوه بر شرح و حال و معاینات فیزیکی، یافته‌های آزمایشگاهی کم کم جای خود را در تشخیص و اداره بیماری‌ها باز کرد. امروزه ویرایش بیست و یکم کتاب فوق تحت عنوان Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods مرجع اصلی رشته کلینیکال پاتولوژی است که سالهاست علاوه بر پاتولوژیست‌ها سایر متخصصان نیز از آن به عنوان مرجعی قابل اعتماد استفاده می کنند .

نام کتاب نمایانگر فلسفه وجودی کلینیکال پاتولوژی که همانا تشخیص و اداره بیماری‌ها با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی است. تشخیص و درمان و پیگیری بیماری‌ها فرآیندهای به هم تنیده ای هستند که همگی به منظور دستیابی به سطوح بالاتری از کسب سلامت برای فرد و جامعه به کار می آیند و روش‌های آزمایشگاهی، تصویربرداری، رادیوایزوتوپ و ... دریچه‌های نوین برای کشف بیماری هستند. این روش‌ها از معاینه فیزیکی گرفته تا روش‌های تصویربرداری و آزمایشگاهی در ماهیت خود روش هستند و تاریخ پزشکی مملو است از تحقیقات جهت یافتن روش‌های جدید و مشخص ساختن زوایای مختلف بیماری‌ها.

شکل گیری آزمایشگاه بالینی در روند تکامل پزشکی امری اجتناب ناپذیر بود چرا که دستیابی به یافته‌های نوین در شاخه‌های مختلف علوم پایه امکانات بیشتری را چه برای تشخیص بیماری‌ها و چه برای باز تعریف و

طبقه بندی بیماری‌ها پیش روی پزشکان قرار داد و از اینرو کلینیکال پاتولوژی به عنوان پلی ما بین علوم پایه و علوم بالینی عمل می کند. آزمایشگاه بالینی بخشی از سیستم تشخیصی است که از یک طرف با انجام آزمایش‌ها نتایج حاصله را جهت حصول یافته‌های قابل اعتماد برای تشخیص بیماری‌ها فراهم می کند و از طرف دیگر به دلیل حضور کلینیکال پاتولوژیست نسبت به تطبیق یافته‌های حاصله با وضعیت بیمار و رد یا تائید تشخیص‌های مطرح شده عمل می کند.

تاریخچه کلینیکال پاتولوژی موید این واقعیت مهم است که آزمایشگاه بالینی نه از آزمایشگاه‌های میکروب شناسی کخ و پاستور بلکه از مطب افرادی همچون Todd ریشه می گیرد. بدین سان آنانی که تصور می کنند که با فراگیری شاخه‌های مختلف علوم پایه می توانند توان اداره آزمایشگاه بالینی را کسب کنند و به تفسیر نتایج بیماران اقدام کنند سخت در اشتباهند. بلکه کلید تشخیص و تفسیر نتایج آزمایشگاهی در آموزش های طب عمومی نهفته است متاسفانه فقدان آموزش کلینیکال پاتولوژی در دوره طب عمومی از یک طرف وضعیتی را به وجود آورده است که فارغ التحصیلان طب عمومی از امکانات بالقوه آزمایشگاهی بی اطلاع هستند و از اینرو در حالیکه یک آزمون آزمایشگاهی قابل دسترس راهگشای تشخیص بیماری است فقدان دانش کلینیکال پاتولوژی توسط پزشکان عمومی و متخصصان سایر رشته ها بیمار را از دسترسی به چنین امکانات تشخیص محروم می سازد و از طرف دیگر این ذهنیت غلط که تشخیص آزمایشگاهی مستقل از تشخیص بالینی است زمینه را برای ایجاد رشته های موازی با پاتولوژی فراهم می سازد.

در حال حاضر که شاهد شکوفایی رشته پزشکی در بسیاری از زمینه‌ها در کشور می باشیم، به کارگیری نابجای متخصصان در شاخه‌های مختلف علوم پایه ضربات جبران ناپذیری بر نظام سلامت و آموزشی پزشکی کشور وارد خواهد نمود که تا سالیان متمادی اثرات مخرب خود را برای نظام تحمیل خواهد نمود. یک بار دیگر توجه مسئولان نظام سلامت کشور را به اهمیت آموزش اصولی، صحیح و به روز پزشکی جلب کرده و تاکید می کنیم که گذشته چراغ راه آینده است و با درس گرفتن از آن می توان از گذر زمان استفاده بهینه کرد.

تهاجم به پاتولوژی ، تهاجم به طب

دکتر فرید کرمی
سردبیر و مسئول روابط عمومی انجمن آسیب شناسی

در مورخ ۸۹/۰۳/۲۷ دومین اجلاس روسای استانی جامعه علمی آزمایشگاهیان ایران در تهران برگزار گردید که موضوعات مختلفی از جمله آیین نامه دوره تکمیلی تخصصی علوم آزمایشگاهی، وضعیت بخش‌های تخصصی آزمایشگاه‌های بیمارستان‌ها، سیاست و برنامه‌های آزمایشگاه مرجع سلامت و ... مورد بحث و بررسی قرار گرفتند و قطعنامه جلسه علاوه بر وزیر بهداشت به معاونان وزارتخانه و روسای دانشگاه‌های علوم پزشکی و آزمایشگاه مرجع سلامت ارسال گردید.

در بند اول قطعنامه به چالش‌های عظیم موجود در عرصه آموزش خدمات آزمایشگاهی مراکز دولتی، بخش خصوصی و بیمارستان‌های آموزشی اشاره شده است و عدم وجود مسئول فنی در قریب به ۱۶۰۰ آزمایشگاه تشخیص پزشکی کشور دوباره به رخ مسئولان کشانده شده طبق معمول برای حل معضل تصویب یک رشته تحصیلی موازی با پاتولوژی تحت عنوان دوره تکمیلی پیشنهاد شده است.

داستان چالش‌های عظیم در آموزش و ارائه خدمات و نبود مسئول فنی در آزمایشگاه‌های کشور همان مدخلی است که نظام سلامت کشور یکبار از طریق آن گزیده شد و پس از ۲۷ سال عده ای قصد دارند دوباره از همان در و با همان استدلالات وارد شوند تا به بهانه ارتقای آموزش و تامین مسئولان فنی برای آزمایشگاه‌های دولتی یک رشته تحصیلی موازی دیگر با پاتولوژی ایجاد کنند تا از طریق آن و با تاسیس آزمایشگاه‌های خصوصی از مزایای قانونی آن بهره مند گردند!

راه اندازی دوره دکترای حرفه ای علوم آزمایشگاهی از مقطع کاردانی نیز با چنین استدلالاتی صورت گرفت و قرار بود که فارغ التحصیلان آن برای تقویت نظام شبکه بهداشتی در شرف استقرار در سمت تصدی فنی آزمایشگاه‌های بهداشتی فعالیت نمایند و آنچه که پس از ۲۷ سال از آن بر جای مانده آزمایشگاه‌های رنگارنگ در نقاط مرکزی شهرهای بزرگ هستند که بعضا با اجاره غرفه‌های تبلیغاتی در کنگره‌ها و سمینارها به سبک و سیاق شرکت‌های تجهیزاتی، خدمات ارائه شده در آزمایشگاه خود را به پزشکان عرضه می‌کنند.

باید از برگزارکنندگان دومین اجلاس روسای استانی جامعه علمی آزمایشگاهیان ایران سوال کرد که وزارت بهداشت نتوانست دکترای حرفه ای علوم آزمایشگاهی را که از مقطع کاردانی دوره را شروع کردند، به یاری نظام شبکه بهداشتی بفرستند و طبق آمار ارائه شده در قطعنامه قریب ۱۶۰۰ آزمایشگاه بدون مسئول فنی هستند. حال چگونه می‌توان انتظار داشت که جای خالی دکترای حرفه ای در آزمایشگاه‌های مراکز بهداشتی و درمانی توسط متخصصان علوم آزمایشگاهی پر شود که از مقطع PhD وارده دوره شده اند و طبق بندهای بعدی قطعنامه داعیه آموزش دستیاران پاتولوژی را نیز دارند!

نکته عجیب آن که در قسمت آخر بند اول آمده است: تاخیر در راه اندازی دوره تکمیلی تخصصی علوم آزمایشگاهی موجب تضییع حقوق شهروندی و محرومیت از برخورداری از خدمات برتر آزمایشگاهی خواهد شد.

این هم یک روش قدیمی در فرهنگ ماست که آنچه را که می‌خواهیم از زبان دیگران بیان می‌کنیم و معمولا به طور صریح خواسته خود را مطرح نمی‌کنیم و خود را مدعی بی جیره و مواجب خواسته‌های مردم نشان می‌دهیم و قصد جلوگیری از تضییع حقوق شهروندی را داریم و البته بعد از این که به خواسته خود رسیدیم می‌توان این گونه نتیجه گیری کرد که ما هم از همین شهروندانیم که به حقمان رسیده ایم!

در بند دوم قطعنامه به رکود و افت چشمگیر خدمات آزمایشگاهی در بیمارستان‌ها اشاره شده است و راه حل مسئله، حضور استادان در اداره این بخش‌ها توسط گروه‌های آموزشی آزمایشگاهی علوم پایه پیشنهاد شده است.

مشخص نیست که ادعای افت خدمات آزمایشگاهی در بیمارستان‌های دولتی است یا خصوصی، اما از پیشنهاد اینگونه بر می‌آید که منظور بخش‌های آموزشی بیمارستان‌های دانشگاهی هستند که در آن صورت می‌توان ادعا کرد که تنظیم کنندگان قطعنامه هیچ اطلاعی از معضلات نظام سلامت موجود ندارند و از اینرو راهکار ارائه شده نه مبتنی بر واقعیت موجود بیمارستان‌های آموزشی است و نه رنگ و بوی اصول اولیه علمی را دارد!

آنچه که امروز در بخش‌های آموزشی اتفاق می‌افتد عبارت است از مشکلات عدیده مالی ناشی از تعرفه پایین دولتی و تاخیر در پرداخت وجوهات توسط سازمان‌های بیمه گر که منجر به رکود

قابل ملاحظه ارائه خدمات آموزشی و تخصصی در بیمارستان‌ها شده است و از همه بدتر راهکار سیاستگزاران و مسئولان به جهت حل معضل درست در جهت عکس عمل کرده منجربه سیر قهقرایی این مراکز گردیده است. برای مثال واگذاری بخش‌های آموزشی بیمارستان‌ها به افراد فاقد صلاحیت علمی باعث شده که آموزش دچار ضربات جبران ناپذیری می‌گردد و چنین بخش‌هایی دیگر نه وجهه آموزشی داشته باشند و نه وجهه درمانی! پیشنهاد قطعنامه برای حل مشکلات بخش‌های آموزشی از طریق حضور استادان (توجه داشته باشید که کلمه اساتید در قطعنامه منظور استادان علوم پایه می‌باشند و استادان پاتولوژی که در بخش‌های آموزشی فعالیت دارند از نظر صادر کنندگان قطعنامه استاد تلقی نمی‌گردند!) و اداره این بخش‌ها توسط گروه‌های آموزشی علوم پایه آنقدر از واقعیات علمی فاصله دارد که کاملا واضح و آشکار است که این پیشنهاد بدون هر گونه آشنایی با نظام سلامت موجود صورت گرفته است.

در بند چهارم قطعنامه آمده: با توجه به ... لزوم برخورداری دستیاران پاتولوژی از آموزش مناسب، خاطر نشان می‌سازد که این مهم جز با نظارت و هدایت گروه‌های آموزشی ذیربط دانشگاهی که تربیت کننده دانشجویان PhD و کارشناسی ارشد هستند میسر نمی‌باشد.

مسلما استادان پاتولوژی پاسخ مناسب به چنین توهین بزرگی را خواهند داد اما آنچه از این پیشنهاد برمی‌آید عدم درک درست نویسندگان قطعنامه از رشته کلینیکال پاتولوژی است که منجربه چنین نتیجه گیری شده است. در نظر جامعه علمی آزمایشگاهیان ایران، رشته کلینیکال پاتولوژی مجموع رشته‌های علوم پایه در یک رشته تحصیلی است و از اینرو تصور می‌کنند با ایجاد یک دوره تکمیلی و فراگیری سایر رشته‌های علوم پایه می‌توانند کلینیکال پاتولوژیست شوند!

در حقیقت کلینیکال پاتولوژی یک رشته بالینی است که از یافته‌های علوم پایه به عنوان ابزار برای تشخیص بالینی استفاده می‌کند. کلینیکال پاتولوژیست یک پزشک است که طبابت می‌کند و همانطور که به عنوان مثال یک کاردیولوژیست با استفاده از یافته‌های الکتروفیزیولوژی به تشخیص ایسکمی قلبی می‌رسد و رادیولوژیست برای افتراق کیست‌ها و توده‌های توپر از تکنولوژی اولتراسونوگرافی استفاده می‌کند، پاتولوژیست نیز از یافته‌های حاصل از مطالعات بیوشیمیایی، میکروب شناسی و ایمونولوژی به تشخیص بیماری‌ها می‌رسد.

آزمایشگاه بالینی پدیده ای فراتر از جمع بخش‌های بیوشیمی، میکروب شناسی و ایمونولوژی است. اهداف و وظایف آزمایشگاه بالینی به عنوان جزء لاینفک فرآیند تشخیص و پیگیری بیماری‌ها عبارتند از :

- تائید یا رد یک تشخیص
- ارائه خطوط مشخص در درمان بیماران
- مشخص نمودن پیش آگهی
- تشخیص بیماری‌ها از طریق موارد خاص یا غربالگری
- پایش و هدایت درمان‌های پیگیرانه

عنوان کتاب مرجع آزمایشگاه بالینی (Henry) :
Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods

نمایانگر فلسفه وجودی رشته کلینیکال پاتولوژی است که در آن از روش‌های آزمایشگاهی برای تشخیص بالینی استفاده می‌شود. یک فارغ التحصیل PhD در رشته بیوشیمی با فراگیری ایمونولوژی، هماتولوژی و ... نمی‌تواند توان تشخیص بیماری‌ها را بیابد بلکه کلید تشخیص در آموزش‌های دوره طب عمومی است.

متاسفانه در کشور ما چنان آفتاب در پشت ابر پنهان مانده است که اصول بدیهی علم را باید دائما تکرار کرد تا مبادا عناوین پر طمطراق یک انجمن یا جلساتی مانند اجلاس روسای استانی یک جامعه علمی باعث انحراف افکار مسئولان و سیاستگزاران نشود. شاهد این مدعا نامه شماره ۶۸/آ مورخ ۸۵/۰۲/۲۷ معاون آموزشی و امور دانشجویی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی است. در این نامه معاون آموزشی وزارتخانه، نامه رئیس مرکز مدیریت بیماری‌ها در خصوص ثبت موارد سرطانی و کدگزاری ICD-O را به رئیس جامعه علمی آزمایشگاهیان آن هم با عنوانی دیگر (ریاست محترم جامعه آزمایشگاهیان کشور) ارجاع می‌دهد. در حقیقت عنوان یک انجمن یا جامعه تعیین کننده مقصد ارجاع نامه‌ها است نه جایگاه و وزن آن انجمن در برنامه‌های کشوری!

انجمن آسیب شناسی ایران به عنوان یکی از قدیمی ترین انجمن‌های تخصصی پزشکی کشور با همکاری پاتولوژیست‌های سراسر ایران نقش اصلی را در موفقیت برنامه کشوری ثبت موارد سرطان بر مبنای گزارش‌های پاتولوژی داشته همچنین در طرح ممیزی رشته‌های تخصصی پزشکی که توسط نهاد ریاست جمهوری برگزار گردید، گزارش نهایی انجمن آسیب شناسی ایران به عنوان گزارش برتر شناخته شد.

انجمن آسیب شناسی ایران قطعنامه دومین اجلاس روسای استانی جامعه علمی آزمایشگاهیان ایران را در تضاد آشکار با اصول اولیه طب می‌داند و آن را تهاجمی به پاتولوژی به عنوان رشته مادر طب ارزیابی می‌کند و بر این باور است که این قطعنامه با هدف تامین منافع صنفی و مالی عده ای قصد تهاجم به آموزش پزشکی و ارائه خدمات بالینی را دارد. لذا از مسئولان و سیاستگزاران درخواست می‌گردد که با بررسی دقیق تک تک موارد ارائه شده در قطعنامه و با در نظر گرفتن وزن و جایگاه انجمن‌های علمی و تخصصی از اشتباهی دوباره در راه اندازی رشته‌های موازی جدا پرهیز نمایند.

مروری بر شاخص‌های بیوشیمیایی ضایعات حاد و مزمن کبدی

دکتر محمدحسین قینی
عضو هیات علمی دانشکده پزشکی شاهد

راهنما

ضایعه کبدی به معنی آسیب به هپاتوسیت‌ها است که به صورت معمول به دو شکل حاد و مزمن تقسیم می‌شود. گرچه بسیاری از این ضایعات با عنوان هپاتیت شناخته می‌شود، اما در بعضی از آن‌ها اثری از التهاب نبوده یا این مسئله در حداقل است؛ و از این رو اصطلاح آسیب کبدی مناسب تر می‌باشد. این مطالعه به مروری بر شاخص‌های بیوشیمیایی این دو نوع ضایعه کبدی پرداخته و کاربرد و محدودیت‌های هر آزمون را مشخص می‌سازد. مطالعه آن برای متخصصان آسیب شناسی و علوم آزمایشگاهی و نیز همکاران متخصص داخلی، گوارش و کبد و نیز پزشکان عمومی‌خالی از فایده نیست.

فرد آموزش گیرنده در پایان مطالعه باید قادر باشد:

۱. ضایعه حاد کبدی را توضیح دهد.
۲. ضایعه مزمن کبدی را توضیح دهد.
۳. معیارهای شدت ضایعه و شاخص‌های بیوشیمیایی در آسیب حاد کبدی را بیان نماید.
۴. نحوه بررسی آزمایشگاهی (شاخص‌های بیوشیمیایی) ضایعه مزمن کبدی را بیان نماید.

مقدمه

امروزه شناسایی ضایعات کبدی با توجه به پیشرفت‌هایی که در وسایل تشخیصی صورت گرفته، متفاوت از سابق است. بدین صورت که گاه با افرادی مواجه می‌شویم که بدون علامت بالینی خاصی، به واسطه داشتن آزمایش غیر طبیعی در روند پی گیری ضایعه کبدی قرار می‌گیرند. از آن جا که بسیاری از این ضایعات سیر مزمنی دارند، پی گیری آن‌ها سال‌ها به طول می‌انجامد و گاه علاوه بر خود فرد، تاثیراتی بر زندگی اطرافیان و خانواده وی نیز دارد. برای دسته بندی بهتر ضایعات کبدی می‌بایست ابتدا آن را به حاد و مزمن تقسیم نمود.

الف) ضایعه حاد کبدی

آسیب حاد به کبد به صورت ناگهانی و در مدت زمان کوتاه روی داده و ثابت ترین یافته آزمایشگاهی آن افزایش آنزیم‌های آمینوترانسفراز (AST=SGOT , ALT=SGAT) می‌باشد که معمولا به سطح ۸ برابر حد طبیعی رسیده و اغلب همراه افزایش بیلیروبین می‌باشد. در ضایعات کبدی، اعم از حاد و مزمن، به شرط سلامت و عدم انسداد راه‌های صفراوی، سطح آلکالن فسفاتاز طبیعی می‌باشد.

سطح پروتئین توتال با توجه به تغییرات سطح ایمونوگلبولین‌ها، کاربرد چندانی در ضایعات حاد و مزمن کبدی ندارد و اندازه گیری مجزای آلبومین و ایمونوگلبولین‌ها به مراتب بهتر است. در مجموع برای بررسی ضایعات کبدی، پانلی شامل آزمون‌های بیوشیمیایی آمینوترانسفرازها آلکالن فسفاتاز، بیلیروبین (توتال و مستقیم) و آلبومین توصیه می‌شود.

با در نظر گرفتن کلیاتی که در بالا گفته شد، به بررسی بیشتر ضایعات حاد کبدی می‌پردازیم. این ضایعات با زردی یا علایم غیر اختصاصی و افزایش آمینوترانسفرازها مشخص می‌شوند. افزایش بیش از ۱۰ برابر سطح ترانسفرازها عملا تشخیصی غیر از ضایعه حاد کبدی ندارد؛ ولی باید در نظر داشت که بعضی از ضایعات حاد به این حد از افزایش نمی‌رسند.

با توجه به کاهشی که ظرف دو دهه اخیر در ابتلا به هپاتیت ویروسی (خصوصا انواع B و C) دیده می‌شود، سایر علل به صورت نسبی افزایش یافته اند؛ به طوری که حتی علتی چون انسداد مجاری صفراوی که معمولا افزایش بارز در آمینوترانسفرازها نمی‌دهد، در ۲ ٪ مبتلایان می‌تواند سطح آنزیمی بالای ۲۰۰۰ واحد در لیتر دهد که حتی در این صورت هم ظرف یک هفته تا ده روز، با وجود تداوم انسداد، سطح آنزیم‌ها کاهش می‌یابد.

بررسی‌های فراوانی که در مورد اعداد و ارقام سطح آنزیمی صورت گرفته، نشان می‌دهد که بهترین مقدار برای تشخیص ضایعه حاد کبدی، سطح آنزیمی ۲۰۰ واحد در لیتر برای AST و ۳۰۰ واحد در لیتر برای ALT است؛ البته چنان که ذکر شد در بیش از نیمی از موارد ضایعات حاد کبدی سطح آنزیمی بالای ده برابر مقدار طبیعی است. در این جا توجه به وضعیت خاص هپاتیت الکلی ضروری است. در این عارضه، به شرط آن که مسئله دیگری بر آن اضافه نشده باشد، تقریبا هرگز سطح آنزیم‌های آمینوترانسفراز از ده برابر بیشتر نشده و در ۸۰ ٪ موارد نسبت AST به ALT بیش از ۲ است و در ۲۰ ٪ مبتلایان، افزایش آلکالن فسفاتاز دیده می‌شود.

از لحاظ بالینی، زردی علامت متغیری است؛ برای مثال در

ابتلا به هپاتیت ویروسی، زردی در بچه‌ها نادر بوده و زمانی که هست، شدت آن کمتر از بالغان است. در بالغان برحسب اتیولوژی، شیوع زردی متفاوت است؛ به طوری که در هپاتیت A، ۷۰ ٪ بالغان زردی داشته، حال آن که در هپاتیت B و C این میزان به ترتیب به ۵۰-۳۳ ٪ و ۳۳-۲۰ ٪ می‌رسد. در بچه‌ها ارتباط مستقیمی بین سن و میزان بیلیروبین است؛ حال آن که چنین ارتباطی در بالغان دیده نشده است. نسبت بیلیروبین مستقیم به توتال در ضایعه حاد کبدی و انسداد صفراوی مشابه بوده (در هر دو بالای ۵۰ ٪ است) و نمی‌تواند به افتراق این دو که مسئله مهمی است کمک کند. تنها در ۱۶ ٪ مبتلایان به ضایعه حاد کبدی، نسبت بیلیروبین مستقیم به توتال کمتر از ۵۰٪ بوده که در چنین مواقعی حتما باید همولیز را بررسی کرد.

معیارهای شدت ضایعه در آسیب حاد کبدی

از لحاظ بررسی شدت ضایعه، آمینوترانسفرازها کمک چندانی نمی‌کنند و ارتباطی بین حداکثر مقدار آمینوترانسفراز و پیش اگهی عارضه وجود ندارد؛ در حدی که گاه کاهش سطح آنزیم با تشدید علایم بالینی بیمار همراه است. در میان شاخص‌های موجود، آزمون انعقادی PT بهترین مورد است که اگر بیش از ۲۰ ثانیه شد یا بیش از ۴ ثانیه از زمان کنترل افزایش یافت و یا INR بالای ۶/۵ علایم وخامت ضایعه کبدی است.

در هپاتیت ویروسی، بیلیروبین توتال بالای ۱۵ میلی گرم درصد و در هپاتیت الکلی، بیلیروبین توتال بالای ۲۵ یا آلبومین زیر ۲/۵ گرم درصد احتمال مرگ را بالا می‌برد. در ضایعات حاد کبدی با چند تشخیص اصلی هپاتیت ویرال، الکل و علل توکسیک یا ایسکمیک مواجه هستیم.

چنانکه ذکر شد در بررسی آزمایشگاهی ALT بالای ۳۰۰ که به صورت حاد ایجاد شده باشد معادل ضایعه حاد کبدی شناخته می‌شود. حال برای تعیین علت باید توجه داشت که اگر مقدار ALT بیش از ۲۰۰۰ بود، تشخیص نخست ضایعات توکسیک یا ایسکمیک می‌باشد. طبعا در این گونه موارد معاینه فیزیکی و شرح حال دقیق، خصوصا مصرف داروها اهمیت زیادی دارد. در ضایعه حاد کبدی ناشی از مسمومیت با استامینوفن، حداکثر سطح ALT در ۹۰ ٪ موارد بالای ۳۰۰۰ است و از طرف دیگر در ۹۰ ٪ موراد ضایعه حاد کبدی با ALT بیش از ۳۰۰۰، علت موارد توکسیک یا ایسکمیک بوده است. علاوه بر مقادیر آنزیم توجه به سیر زمانی هم اهمیت دارد. باید دقت داشت که چنین سطوح بالای آنزیمی محدود به ابتدای بیماری بوده که غالبا پس از ۲۴ ساعت اول به سرعت کاهش می‌یابد که با توجه به طول عمر کوتاهتر AST نسبت به ALT ، کاهش AST بارزتر است.

در صورت رد شدن علل توکسیک و ایسکمیک، باید هپاتیت ویروسی را مد نظر داشت. در این قسمت ارزیابی آزمایشگاهی IgM anti-HAV و HBsAg برای هپاتیت B و نیز Anti-HCV و HCV RNA برای هپاتیت C کمک کننده است.

چنانچه مقادیر آمینوترانسفراز کمتر بود و حتی مواردی که کمتر از ۳۰۰ بوده ولی علایم بالینی دلالت بر ضایعه حاد کبدی دارد، می‌بایست نسبت AST به ALT را بررسی نمود که چنانچه این نسبت بالای ۲ بود، در صورت سابقه مصرف الکل، هپاتیت الکلی است.

علل غیر شایع ضایعه کبدی به صورت حاد، شامل بیماری ویلسون، هپاتیت اتوایمیون، هپاتیت E و سایر ویروس‌ها می‌باشد که ذکر جزییات آن‌ها در این مقاله خلاصه نمی‌گنجد.

ب) ضایعه مزمن کبدی

ضایعه مزمن کبدی، عارضه ای نسبتا شایع با علایم خفیف و غیراختصاصی است که در دراز مدت خطراتی به همراه دارد. در اصل تشخیص این ضایعه با بیوپسی و بررسی بافتی کبد است که درجاتی از التهاب و نکروز در بافت دیده شده و اغلب همراه با فیبروز است. احتمال تبدیل به سیروز دارد که بنابر علت آن درصدها متفاوت بوده و گاه خطر سرطان کبد به دنبال دارد.

در غیاب بیوپسی کبدی، تداوم افزایش ALT برای بیش از ۶ ماه پس از هپاتیت حاد یا افزایش ALT بدون توضیح بیش از یکبار در فاصله ۶ ماه به معنی ضایعه مزمن کبدی است. البته باید در نظر داشت که گاه با وجود طبیعی بودن ALT ، ضایعه مزمن کبدی وجود دارد که نمونه آن در هپاتیت C مزمن است که در ۵۰-۱۵ ٪ موارد ALT طبیعی دارند. راه رفع مشکل تکرار آزمایش در طول زمان است که اگر سه بار ALT طبیعی دیده شد، احتمال ضایعه مزمن کبدی خیلی اندک است. البته در آنان که با وجود ALT طبیعی، در بیوپسی هپاتیت مزمن داشته، میزان التهاب، فیبروز و احتمال تبدیل به سیروز کمتر از آنان است که ALT بالا دارند.

در تمامی ضایعات مزمن کبدی ALT بیش از AST است، به استثنا الکل و زمان بروز سیروز که AST بیش از ALT می‌شود. در اکثر بیماران دچار ضایعات مزمن کبدی، مقدار بیلی روبین توتال و مستقیم و نیز آلکالن فسفاتاز طبیعی بوده و کاربردی در پانل تشخیصی ضایعات مزمن ندارد. با این حساب، عملا مفیدترین شاخص برای ارزیابی این گونه ضایعات، اندازه گیری ALT است که در این مورد، می‌بایست سه نکته را مد نظر داشت:

۱. چنانچه در جریان آزمایش‌های روتین و بدون وجود علامت بالینی، ALT بالا دیده شد، می‌بایست با اندازه گیری مجدد، این افزایش را اثبات نمود.

۲. برخلاف ضایعات حاد که میزان ALT اثری در پیش آگهی نداشت، افزایش خفیف ALT در حد ۲ برابر طبیعی معمولا گذرا بوده و ناشی از بیماری نیست. البته در ۳۰ ٪ هپاتیت C مزمن ALT کمتر از ۲ برابر طبیعی است.

۳. از آنجا که ALT علاوه بر کبد در عضله مخطط هم هست، در افزایش آن، باید تمرینات شدید بدنی و عوارض عضلانی را هم در نظر داشت. اندازه گیری کراتین کنیاز هم به تشخیص کمک می‌کند.

آسیب مزمن کبدی در طول زمان طولانی (معمولا دوره

بیش از ۶ ماه) روی داده و با افزایش نسبی ALT در حد ۴ برابر طبیعی همراه شده که تنوع گسترده ای هم دارد؛ بدین معنی که گاه در دوره‌های فعال بیماری به حد سطوح آسیب حاد رسیده و گاه چنان غیر فعال یا برعکس چنان پیشرفته (مراحل پایانی بیماری) شده که سطوح آنزیمی در حد طبیعی است. دفع بیلیروبین و سنتز پروتئین در آسیب مزمن کبدی که در مرحله استقرار باشد، در حد طبیعی است که ناشی از رزرو بالای کبدی برای این عملکردهاست. در بررسی ضایعه مزمن کبدی، علاوه بر اندازه گیری سریال ALT ، توجه به نکات زیر مفید است:

۱. بررسی ابتدایی شامل معاینه فیزیکی، شرح حال با تاکید بر مصرف دارو و آزمون‌های آزمایشگاهی از بابت هپاتیت ویروسی.

۲. در صورت منفی بودن اقدامات فوق، بررسی اتوآنتی بادی‌ها نظیر آنتی بادی ضد هسته یا آنتی بادی ضد عضله صاف، خصوصا در زنان جوان یا بچه‌ها از بابت ابتلا به هپاتیت اتوایمیون.

۳. بررسی سرولوپلاسمین در افراد زیر ۴۰ سال برای بیماری ویلسون.

۴. بررسی آهن، ترانسفرین و فریتین در صورت شک به هموکروماتوز.

۵. بررسی آنتی بادی ضد میتوکندری و آنتی بادی ضد سیتوپلاسم نوتروفیل (ANCA) در صورت افزایش مزمن آلکالن فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT) برای تشخیص بیماری‌های سیروز صفراوی اولیه و کلانژیت اسکلروزان اولیه.

۶. دست آخر بیوپسی کبد برای تعیین آثار التهابی و فیبروز ضایعه مزمن و نیز بررسی استئاتوز و تشخیص هپاتیت غیر الکلی خصوصا در افراد چاق.

خلاصه

التهابات کبدی جز بیماری‌های شایع در بخش‌های داخلی و گوارش هر بیمارستانی است که قسمتی از روش‌های تشخیصی و ارزیابی شدت عارضه بر عهده آزمایشگاه بیوشیمی است. در بررسی این ضایعات با توجه به سیر زمانی آن‌ها، می‌بایست از پانلی از آزمون‌های آزمایشگاهی استفاده کرد که مورد ثابت آن اندازه گیری آمینوترانسفرازهاست. سایر موارد بر حسب شرایط بالینی تعیین شده و در تفسیر جواب‌های آزمایشگاه هم می‌بایست وضعیت بالینی بیمار را در نظر داشت.

References

1. Doumas BT, et al The Measurement of bilirubin Fractions in Serum. Crit Rev Clin Lab Sci 1991, 28:415-445.
2. Fuchs S, et al: Ischemic hepatitis. J Clin Gastroenterol 1995,26:183-186.
3. Kelley, DA, et al: Hemostasis in Liver disease. Semin Liv Dis 1987, 7: 182-191.
4. Robert A, et al: Prothrombin time in liver Failure. Hepatology 1996,24: 1392-1394.

پیام تسلیت

همکار محترم سرکار خانم دکتر یاسمن خادمی

غم از دست دادن خواهر گرامیتان را به شما و خانواده محترم تسلیت عرض نموده و بقای عمر شما و بازماندگان را از درگاه خداوند بزرگ خواستاریم.

هیات مدیره انجمن آسیب شناسی ایران

پرسش‌های مربوط به مقاله «مروری بر شاخص‌های بیوشیمیایی ضایعات حاد و مزمن کبدی»

۱. در ضایعه حاد کبدی، معمولا کدام یک از تست‌های زیر طبیعی است؟

الف) AST
ب) بیلیروبین
ج) آلکالن فسفاتاز
د) هیچکدام

۲. تشخیص اول در افزایش حاد ALT به میزان ۳۰۰۰ واحد در لیتر کدام است؟

الف) هپاتیت ویروسی
ب) هپاتیت الکلی
ج) سنگ کیسه صفرا
د) مسمومیت با استنامینوفن

۳. زردی ناشی از هپاتیت ویروسی در کدام گروه سنی نادر است؟

الف) بچه‌ها
ب) جوانان
ج) میانسال
د) کهنسال

۴. کدام یک از تست‌های زیر برای بررسی شدت ضایعه حاد کبدی بهتر است؟

الف) ALT
ب) آلکالن فسفاتاز
ج) PT
د) ESR

۵. در هپاتیت الکلی بیلیروبین بالای چند میلی گرم درصد شاخص خطر می‌باشد؟

الف) ۱۰
ب) ۱۵
ج) ۲۵
د) هیچکدام

۶. در کدام مورد، افزایش AST بیش از ALT است؟

الف) هپاتیت ویروسی
ب) سیروز
ج) هر دو
د) هیچکدام

۷. ALT در کدام یک از بافت‌های زیر وجود دارد ؟

الف) بافت عصبی
ب) کلیه
ج) چربی
د) عضله مخطط

۸. در عارضه مزمن کبدی که در مرحله استقرار است، کدام آزمون غیر طبیعی ایت؟

الف) بیلیروبین
ب) آلبومین
ج) هر دو
د) هیچکدام

۹. اگر در عارضه مزمن کبدی، همراه با افزایش ALT، آلکالن فسفاتاز هم به صورت مداوم باشد، کدام تشخیص مطرح است؟

الف) ویلسون
ب) کلانژیت اسکلروزان
ج) مسمومیت دارویی
د) هپاتیت الکلی

۱۰. بررسی آنتی بادی ضد عضله صاف برای تشخیص کدام عارضه ارزشمند است؟

الف) هپاتیت اتوایمون
ب) کلانژیت اسکلروزان اولیه
ج) سیروز صفراوی اولیه
د) هیچکدام

بسمه تعالی

وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی

معاونت آموزشی – اداره کل آموزش مداوم جامعه پزشکی

مجوز تخصیص امتیاز آموزش مداوم به شرکت‌کنندگان در برنامه‌های خودآموزی

شماره : ۴۰۱۷۰/۶/آ
تاریخ : ۱۳۸۹/۰۲/۰۶

سلام علیکم ؛

احتراما ، بازگشت به نامه شماره ۳۵۷۱/پ/۸۹ مورخ ۸۹/۰۱/۲۱ در مورد تخصیص امتیاز به مقاله « **مروری بر شاخص‌های بیوشیمیایی ضایعات حاد و مزمن کبدی**» باستحضار میرساند که اعطای ۱ امتیاز متخصصان آسیب شناسی، داخلی، گوارش، علوم آزمایشگاهی، پزشکان عمومی و دکترای حرفه ای علوم آزمایشگاهی، کارشناسان ارشد و کارشناسان علوم آزمایشگاهی به عنوان شرکت در برنامه خودآموزی (موضوع نوع پنجم بند ۵ ماده ۳ ضوابط نحوه اجرای برنامه‌ها) مورد تایید می باشد .

این مجوز از زمان صدور بمدت یکسال اعتبار دارد .

کد برنامه : ۵۱۰۰۰۵۴۱ کد نشریه : ۱۱۵۵۳

دکتر نادر ممتاز منش

مشاور عالی علمی معاون آموزشی

بسمه تعالی

وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی

معاونت آموزشی - اداره کل آموزش مداوم جامعه پزشکی

فرم ثبت نام در برنامه خودآموزی

عنوان مقاله : نام نشریه :

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

تاریخ تولد : جنس : مرد ☐ زن ☐

محل فعالیت : استان : شهرستان : بخش : روستا :

نوع فعالیت : هیات علمی ☐ آزاد ☐ رسمی ☐ پیمانی ☐ قراردادی ☐ طرح ☐ سایر ☐

مقطع آخرین مدرک تحصیلی و سال اخذ مدرک :

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

آدرس دقیق پستی : کدپستی : شماره تلفن :

امضاء ، شماره نظام پزشکی و مهر متقاضی : تاریخ تکمیل و ارسال فرم :

امضاء و مهر مسئول ثبت‌نام

پاسخنامه

(حرف گزینه صحیح را در جای خالی بنویسید)

سؤال	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
پاسخ										

همکاران محترم لازم است مبلغ ۲۵۰۰۰ ریال برای پزشکان و ۱۵۰۰۰ ریال برای کارشناسان به حساب شماره ۱-۶۵۹۶۹۹۳-۸۵۰-۱۳۴ بانک اقتصاد نوین به نام انجمن آسیب شناسی ایران واریز نموده و کپی آن را همراه با این فرم به آدرس دفتر نشریه ارسال نمایید.

سه عنوان پیشنهادی خود را برای ارائه مقالات خودآموزی ذکر نمایید:

فرم نظرسنجی

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 ارائه شده است. ۲-محتوای مقاله با نیازهای حرفه‌ای من تناسب داشته است. ۳-محتوای مقاله در جهت تحقق اهداف آموزشی نوشته شده است. ۴-در نگارش مقاله شیوایی و سهولت بیان در انتال مفاهیم رعایت شده است.					

قابل توجه شرکت‌کنندگان 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 و پاسخگویی به سوالات پرسشنامه و اعلام نظر خود درخصوص مقاله مطالعه شده در فرم نظرخواهی نسبت به ارسال اصل هر سه نسخه فرم تکمیل شده حداکثر تا ۹۰/۰۲/۰۶ به آدرس میدان توحید، خیابان توحید، خیابان شهید طوسی (شباهنگ) ، نرسیده به خیابان دکتر قریب ، پلاک۶۳ ، انجمن آسیب شناسی، دفتر نشریه 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 .

جایگاه علوم آزمایشگاهی در برنامه های آموزشی پزشکی عمومی

دکتر علیرضا عبدالهی
استادیار گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران
دکتر محمدرضا جلالی ندوشن
دانشیار گروه پاتولوژی دانشگاه شاهد

یکی از راههای مهم و حیاتی در تشخیص، غربالگری، درمان و پیگیری بیماری‌های مختلف انجام آزمایش‌های بالینی است. این اصل در پزشکی نوین مورد قبول همگانی است. طبق مطالعه ای در کشور ایالات متحده آمریکا علیرغم اینکه خدمات آزمایشگاهی، ۲/۳ از کل هزینه‌های مراقبت بهداشتی را شامل شده ولی با این حال نقشی برجسته در ارتباط با تصمیمات در مراقبت‌های بهداشتی داشته است. همچنین استفاده مناسب، به موقع و به جا از آزمایش‌های بالینی در بالاتر بردن کیفیت مراقبت‌های بهداشتی و سلامت افراد یک جامعه اهمیت اساسی دارد.

با تمام این تفاسیر در برنامه‌های آموزش پزشکی عمومی‌توجه کمی به آموزش طب آزمایشگاهی به دانشجویان پزشکی شده. این مطلب در گزارش سالانه مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها The Centers for Disease control and Prevention (CDC) در سال ۲۰۰۹ هم آمده است. در این گزارش به صراحت بیان شده آموزش پزشکی در زمینه طب آزمایشگاهی کافی نیست و با وجود نقش اساسی آزمایش‌های پزشکی، آموزش رسمی طب آزمایشگاهی، بخش نسبتا فراموش شده در برنامه درسی دانشکده‌های پزشکی است و بدون دانش کافی از آزمایش‌های طبی احتمال تفسیر و انجام نادرست آزمایش‌ها توسط دست اندرکاران بهداشت و سلامت جامعه بیشتر می‌گردد و این امر می‌تواند منجر به درمان نادرست بیمار، افزایش هزینه سرانه بیماران و پیامدهایی وخیم گردد.

در ایالات متحده آمریکا در آستانه صدمین سالگرد تدوین برنامه آموزش پزشکی فلکسنر جهت آموزش دانشجویان پزشکی مسئله آموزش طب آزمایشگاهی به دانشجویان پزشکی مورد توجّه جدی قرار گرفته است. براساس مطالعه ای که در ایالات متحده امریکا انجام شده دانشجویان پزشکی اغلب با مهارت‌های طب آزمایشگاهی مانند آزمایش میکروسکوپی ادرار، که در کار روزمره بالینی به آن نیاز دارند آشنایی کافی ندارند. همچنین نتایج یک تحقیق در کشور انگلستان، نشاندهنده این است که ٪۲۰-۱۸ از فارغ التحصیلان پزشکی، صلاحیت خود را در استفاده از آزمایش تشخیص طبی «کمتر از حد لازم» می‌دانستند.

در گزارش سال ۲۰۰۹ انجمن دانشکده‌های پزشکی آمریکا Association of American Medical Colleges (AAMC) تصریح شده است گنجاندن چنین برنامه ای (آموزش طب ازمایشگاهی به دانشجویان پزشکی) در کوریکولوم درسی حائز اهمیت است و گنجاندن اصول طب آزمایشگاهی در طول کلیه مراحل برنامه درسی دانشجویان پزشکی، برای افزایش بازدهی برنامه‌های تلفیقی آموزشی ضروری دانسته شده است. در این گزارش همچنین تصریح شده که در پایان تحصیلات مقدماتی پزشکی، دانشجویان باید بدانند که از آزمایش‌های تشخیص طبی جهت مقاصد بالینی متعددی مانند مراقبت، ارزیابی خطر ایجاد بیماری‌ها، تشخیص، رد یا تایید یک تشخیص، پیش بینی سیر بیماری، تصمیم به اتخاذ روش درمانی ویژه، و ارزیابی پیشرفت بیماری یا پاسخ به درمان می‌توان بهره برد. آنها باید بدانند که تفسیر آزمایش‌ها در شرایط مختلف فرق می‌کند و نیز باید بدانند که تفسیر آزمایش‌ها با در نظر گرفتن همه شرایط بالینی بیمار قابل انجام است. آنها نه تنها باید بتوانند تمامی آزمایش‌های لازم برای شرایط بالینی ویژه را درخواست نمایند، بلکه باید انواع مفید برای بیمار را هم توصیه نمایند. آنها باید مهارت‌های لازم در زمینه چگونگی کسب مشاوره مناسب از آسیب شناسان بالینی، کارکنان آزمایشگاه و سایر متخصصان آزمایشگاهی را جهت به حداکثر رساندن مراقبت مناسب از بیمار را کسب کنند. آنها باید به منظور استفاده صحیح از آزمایش‌های در دسترس، اصول علمی طب آزمایشگاهی را بفهمند و با روش‌های جدید آشنا شوند. آنها باید با امکانات درمانی که آزمایشگاه‌های تشخیص طبی در آن نقش دارند، همچون استفاده مناسب از فرآورده‌های خونی، سلول درمانی، و سایر درمان‌های ویژه بیماران آشنا باشند و کاربرد مقرون به صرفه و مستدل آنها را متوجه باشند.

در کشور ما ایران هم برنامه مدون و کلاسیک آموزش طب آزمایشگاهی برای دانشجویان پزشکی وجود ندارد ولی با توجه به اهمیت روز افزون این علم نیاز به وارد شدن این مبحث در برنامه آموزش پزشکان عمومی ضروری به نظر می‌رسد. دانشجوی پزشکی فارغ التحصیل در کشور ما باید بتواند درک و توانایی به کارگیری مفاهیم حساسیت و ویژگی تشخیصی یک تست را برای یک وضعیت بالینی خاص را داشته باشد، ارزش اخباری مثبت و منفی را بداند، چگونگی استنتاج و استفاده از محدوده مرجع (Reference Interval) را در جمعیت‌های مختلف بداند، مفهوم تغییر پذیری در سنجش‌های مکرر و همچنین تغییرپذیری در یک فرد و میان افراد مختلف را بداند، عوامل موثر در عدم قطعیت آنالیزها را بداند، نقش متغیرهای پیش از آنالیز (pre analytical) و پس از آنالیز (post analytical)را بر نتایج آزمایش و در تاثیر بر مراقبت از بیمار بداند، مقادیر بحرانی (critical value) و زمان لازم برای هر آزمایش (turnaround time) را تعریف کند، اولویت درخواست آزمایش «فوری» و «عادی» را بداند، شرایطی را که می‌توانند سبب تداخل در آزمایش‌ها شوند مانند کمبود و یا ازدیاد نمونه در لوله نمونه گیری، همولیز، لیپمی، بیلی روبینمی و ... را بداند، مفهوم آزمایش بر بالین بیمار (Point of Care(POC را بداند و به کار برد و ... به نظر می‌رسد با توجه به نکات فوق دانشکده‌های پزشکی کشور ما نیز همگام با کشورهای پیشرفته باید اهداف بلند و کوتاه و میان مدتی را مرتبط با طب آزمایشگاهی و تدریس مطلوب و شیوه‌های ارزیابی آن تعیین و وارد برنامه‌های آموزشی در دوره پزشکی عمومی نمایند.

References:

1-Micheal L, Wilson MD.Educating Medical Students in Labortory Medicine.Am J Clin Pathol 2010;133:525-8.

2-Brian RS, Aguero-Rosenfeld M,Anastasi J, Baron B, Berg A, Bock JL, et al. Educating Medical Students in Labortory Medicine.Am J Clin Pathol 2010;133:533-542.

آموزش طب آزمایشگاهی به دانشجویان پزشکی

برنامه پیشنهادی

مترجمان:
دکتر فاطمه محجوب، دانشیار پاتولوژی
خانم فرشته ایرانمنش، میکروبیولوژیست
دکتر علیرضا عبداللهی، استادیار پاتولوژی
دکتر فاطمه نیلی، رزیدنت پاتولوژی

برگرفته از:
American Journal of Clinical Pathology 2010;133:533-542

کلیدواژه‌ها: دانشجوی پزشکی؛ برنامه؛ آسیب شناسی؛ طب آزمایشگاهی؛ آموزش پزشکی

چکیده

در آستانه صدمین سالگرد گزارش فلکسنر، آموزش دانشجویان پزشکی، در سطوح مختلف در حال بازبینی است. یکی از موضوعات مورد توجه، که در گزارش‌های اخیر برخی از سازمان‌های بهداشتی آمده است، کفایت آموزش در رشته طب آزمایشگاهی (که پاتولوژی کلینیکال هم نامیده می‌شود) است. آکادمی پزشکان و دانشمندان طب آزمایشگاهی، یک کمیته تخصصی را برای بازبینی این موضوع و تدوین یک برنامه پیشنهادی که متعاقبا برای بررسی به کلیه اعضا ارسال شد، منصوب نمود. برنامه پیشنهادی طب آزمایشگاهی برای دانشجویان پزشکی، دستورالعمل‌هایی برای شیوه‌های تدریس و مثال‌هایی از چگونگی ارزیابی نتیجه در بر دارد. این برنامه، به عنوان یک طرح کلی سودمند برای استفاده در دانشکده‌های پزشکی و کمیته‌های برنامه ریزی ارائه می‌شود.

هم اکنون در آستانه صدمین سالگرد گزارش فلکسنر هستیم و یک بار دیگر، آموزش دانشجویان پزشکی، در سطوح مختلف بازبینی می‌شود. نقش آزمایشات در مراقبت از بیماران، به عنوان عنصری مهم در پزشکی نوین، مورد قبول همگان است. در واقع، مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها (Center for Disease Control: CDC)، در ماه می سال ۲۰۰۸، پژوهشی را با عنوان «طب آزمایشگاهی: گزارش وضعیت کشوری» منتشر کرد که در آن چنین آمده است: «یکی از عناصر اساسی مراقبت پزشکی، طب آزمایشگاهی است که در عرصه تحقیقاتی، آزمایشگاهی (نظارت، تشخیص، و درمان)، و بهداشت عمومی نقش دارد. علیرغم اینکه خدمات آزمایشگاهی، تنها ۲/۳ ٪ از کل هزینه‌های مراقبت بهداشتی را شامل می‌شوند؛ با این حال، نقشی برجسته در ارتباط با تصمیمات در مراقبت بهداشتی دارند. استفاده مناسب از آزمایشات پزشکی به منظور مراقبت ایمن، موثر و کارآمد از بیماران، اهمیتی اساسی دارد. با این حال، علیرغم شواهدی که افت توانایی پزشکان فعال را در توصیه و تفسیر درست آزمایشات با وجود افزایش اطلاعات کلی پزشکی آنها، نشان می‌دهند، توجه کمی به آموزش دانشجویان پزشکی در زمینه طب آزمایشگاهی شده است. این موضوع، در نسخه به روز شده ماه می سال ۲۰۰۹ گزارش یاد شده، به صراحت مورد توجه قرار گرفته است: «آموزش پزشکی در زمینه طب آزمایشگاه کافی نیست. با وجود نقش اساسی آزمایشات پزشکی در طبابت، آموزش رسمی طب آزمایشگاهی، بخشی نسبتا فراموش شده در برنامه درسی دانشکده‌های پزشکی است. ... بدون دانش کافی از آزمایشات طبی، احتمال توصیه و تفسیر نادرست نتایج آزمایشگاهی توسط دست اندرکاران بهداشتی بیشتر است که می‌تواند منجر به درمان نادرست بیمار، افزایش هزینه سرانه بیماران، و بروز پیامدهایی وخیم شود.»

الگوی سنتی آموزش آسیب شناسی و آزمایشگاهی، اصولا شامل یک دوره درسی با عنوان «آسیب شناسی سیستماتیک» در سال اول یا دوم، با تاکید بر مکانیسم‌های ایجاد بیماری است. اگرچه استثناءهای قابل توجهی وجود دارند اما این درس تنها به اصول کلی پاتوفیزیولوژی بیماری‌ها می‌پردازد و به جزئیاتی که به کار هر روزه پزشکان غیر پاتولوژیست می‌خورد، نمی‌پردازد. گرایشی قابل توجه به سوی حذف آسیب شناسی در برنامه به عنوان رشته ای مستقل و جایگزینی آن با روش تلفیقی آموزشی شکل گرفته است. در حالی که بسیاری از جنبه‌های تدریس بین رشته ای، تشریفاتی هستند، نگرانی از تاثیرات آموزش تلفیقی در «تضعیف» آمادگی دانشجویان در هنگام ورود به کلینیک، افزایش یافته است. در ضمن تدریس موضوعات سنتی آسیب شناسی به دست افراد غیرپاتولوژیست نیز مورد بحث است.

میزان مواجهه دانشجویان پزشکی با طب آزمایشگاهی توجه ویژه‌ای را می‌طلبد. تنها تحقیق موجود درباره دانشکده‌های پزشکی ایالات متحده که با حمایت مالی آکادمی پزشکان و دانشمندان طب آزمایشگاهی ACLPS:Academy of Clinical Laboratory Physicians and Scientists در سال ۱۹۹۲ انجام شد، وضعیت آموزش طب آزمایشگاهی را ارزیابی و میانگین زمان تدریس آن را در برنامه‌های درسی تخمین زد. نتیجه نشان داد که درس‌های ضروری، فقط در ۵۷٪ از دانشکده‌ها تدریس می‌شدند. در حالی که تعداد اندکی از دانشکده‌ها هیچ گونه آموزشی را در این جنبه از طبابت گزارش نکرده اند (۲ ٪ تا ۴ ٪)، بسیاری دیگر، عدم کفایت تدریس را

تایید کرده‌اند. گروهی، برای مقابله با وضعیت فوق، یک «دوره کوتاه» به صورت ترکیبی از تدریس نظری و عملی طب آزمایشگاه ترتیب داده‌اند. این شیوه آموزش، منجر به پیشرفتی قابل توجه در نمره‌های بخش آسیب شناسی آزمون مدرک پزشکی ایالات متحده (USMLE) شد. جالب است که شیوه‌ای مشابه برای تدریس تصویربرداری پزشکی، نتایجی مشابه را نشان داد. شیوه دیگر بهبود آموزش دانشجویان پزشکی در طب آزمایشگاهی و آسیب شناسی، ادغام آن در سال‌های دستیاری، به عنوان یک دوره گردشی کوتاه (روتیشن) اما اجباری بود.

اطلاعات به دست آمده، موفقیت تدریس فعلی طب آزمایشگاهی را در به کار بستن اصول اساسی در بالین، زیر سوال می‌برد. محققان دریافته‌اند که دانشجویان پزشکی شاید پس از مطالعه مقاله‌ای درباره یک آزمایش تشخیصی، قادر به پاسخگویی به سوالاتی انتزاعی درباره قضیه Bayes باشند، اما توانایی به کار بستن دقیق این اصول به هنگام چالش بالینی بر اساس آن مقاله را ندارند. رزیدنت‌های رشته‌های غیر آسیب شناسی هم بهتر از دانشجویان پزشکی نبودند، که این خود حاکی از ادامه نقصان آموزش پس از دوره پزشکی عمومی است. پزشکان شرکت کننده در تحقیق هم توانایی کمتر از حد مطلوبی را برای درخواست آزمایشات تشخیصی در شرایط گوناگون نشان دادند. دانشجویان اغلب با مهارت‌های طب آزمایشگاهی مانند آزمایش میکروسکوپی ادرار، که در کار روزمره بالینی به آنها نیاز است، آشنایی کافی ندارند. در تحقیقی در انگلستان، ۱۸ ٪ تا ۲۰ ٪ از فارغ التحصیلان پزشکی، صلاحیت خود را در استفاده از آزمایش تشخیص طبی «کمتر از حد لازم» می‌دانستند و بیش از ۲۰ ٪، تصور می‌کردند که در کلیه شیوه‌های تشخیصی، صلاحیتی کمتر از میزان لازم دارند. نگرانی زیادی درمورد یادگیری اصول طب انتقال خون، وجود دارد چرا که دانش ناکافی در این حیطه باعث پدید آمدن اشکالات عمده‌ای در سلامت و تحمیل هزینه‌های فراوان به سیستم بهداشتی می‌شود.

بر اساس این ملاحظات و پیشرفت‌های مهمی که در طب آزمایشگاهی صورت گرفته است، تلاش برای نیل به نوعی توافق بر سر آنچه باید در برنامه درسی دانشجویان پزشکی گنجانده شود، معقول به نظر می‌رسید. آن گونه که اخیرا در گزارش سال ۲۰۰۹ با عنوان «اصول علمی پزشکان آینده: گزارشی برای کمیته Association of American Medical Colleges: AAMC [انجمن دانشکده‌های پزشکی آمریکا] Howard Hughes Medical Institute: HHMI [انستیتو پزشکی هوارد هیوز] تصریح شده است، گنجاندن چنین برنامه ای در کوریکولوم درسی حائز اهمیت است. باید روش‌های آموزشی خاصی تدوین شوند که برای نیل به هدف آموزش دانشجویان جهت به کار بستن کامل آنچه در شرایط واقعی بالینی می‌آموزند و همچنین تشویق آنها به پرورش عادت یادگیری مادام العمر، موثرتر باشند. گنجاندن اصول طب آزمایشگاهی در طول کلیه مراحل برنامه درسی دانشجویان پزشکی در دوره چهارساله، برای افزایش بازدهی برنامه‌های تلفیقی ضروری است.

روش

برنامه‌های تدریس طب آزمایشگاهی از ۱۲ دانشکده پزشکی گرفته شدند (دانشگاه کلمبیا، در نیویورک؛ دانشکده پزشکی‌هاروارد در بوستون ماساچوست؛ دانشگاه ایالت نیویورک در استونی بروک؛ دانشگاه آلاباما در بیرمینگام؛ دانشگاه کالیفرنیا در سن دیگو؛ دانشگاه شیکاگو در ایلینوی؛ دانشگاه پیتسبرگ، پنسیلوانیا؛ دانشگاه یوتا در سالت لیک سیتی؛ دانشگاه ورمونت در برلینگتن؛ دانشگاه واشینگتن در سیاتل؛ دانشگاه ویسکانسین در میلواکی؛ و دانشگاه ییل در نیوهیون کانکتیکت). اگرچه میزان تحقیق درباره نیازهای دانشجویان پزشکی به آموزش طب آزمایشگاهی محدود است، اما کلیه منابع منتشر شده مرتبط و موجود به زبان انگلیسی بررسی شدند. این منابع، شامل برنامه‌های پیشنهادی برای برخی زیررشته‌های طب آزمایشگاهی، بهترین روش‌های آموزش و داده‌های اخیر درباره آن دسته از آزمایشات می‌شدند که دانشجویان پزشکی معمولا در طول دوره انترنی خود بیشتر تمایل به دانستن و به کار بردن آنها دارند.

سند اولیه، توسط یک کمیته تخصصی به نمایندگی ۱۵ دانشکده پزشکی تدوین شد. سپس، این سند به منظور بررسی به کل اعضای ACLPS ارسال شد که شامل رزیدنت‌ها و فلوهای آسیب شناسی در مراحل مختلف بودند. یک تحقیق چند گزینه‌ای از اهداف برنامه اولیه برای اعضای عمومی و یک گروه هدف به نمایندگی مقامات سازمان و اعضای صاحب منصب کمیته‌های ACLPS ارسال شد (رجوع به "اهداف دانشجویان پزشکی و اهداف طب آزمایشگاهی»). در این تحقیق ۲ سوال درباره هر هدف پرسیده شد: (۱) آیا با گنجاندن هدف موافق هستید یا موافق نیستید؟ (۲) در صورت گنجاندن، آیا باید رده ۱ باشد یا رده ۲؟ (توضیحات رده‌های ۱ و ۲ در «اهداف دانشجویان پزشکی در طب آزمایشگاهی» آمده‌اند). ۴۸ نفر (۶۰ ٪) از ۸۰ نفر در نظرسنجی شرکت کردند. بخش‌هایی از برنامه که حداقل ۸۵ ٪ پاسخگویان با آن موافق بودند، در سند باقی ماند. فرآیند تحقیق، منجر به حذف یک هدف شد؛ اهداف و نقش‌های مندرج در سند فعلی، همگی توسط حداقل ۹۰ ٪ پاسخگویان پذیرفته شدند. برنامه نهایی ارائه شده در این گفتار، نتیجه این فرآیند جامع است.

اهداف و مقاصد آموزش دانشجویان پزشکی در طب آزمایشگاهی

چشم انداز کلی

در پایان چهار سال تحصیل مقدماتی پزشکی، دانشجویان باید بدانند که از آزمایشات تشخیص طبی جهت مقاصد بالینی متعددی می‌توان بهره برد: مراقبت، ارزیابی خطر، تشخیص، رد یا تایید یک تشخیص، پیش بینی سیر بیماری، تصمیم به اتخاذ روش درمانی

ویژه، و ارزیابی پیشرفت بیماری یا پاسخ به درمان. آنها باید بدانند که تفسیر آزمایشات در شرایط مختلف فرق می‌کند و نیز بدانند که تفسیر آزمایشات با در نظر گرفتن کل شرایط بالینی بیمار قابل انجام است. آنها نه تنها باید بتوانند کلیه آزمایشات لازم برای شرایط بالینی ویژه را درخواست نمایند، بلکه باید انواع مفید برای بیمار را هم توصیه نمایند. آنها باید محدودیت‌های علمی خود را در این زمینه و چگونگی کسب مشاوره مناسب از آسیب شناسان بالینی، دانشمندان بالینی، کارکنان آزمایشگاه، و سایر متخصصان جهت به حداکثر رساندن مراقبت مناسب از بیمار را درک کنند. آنها باید به منظور استفاده صحیح از آزمایش‌های در دسترس، شالوده علمی طب آزمایشگاهی را بفهمند و با روش‌های جدید آشنا شوند. آنها باید با امکانات درمانی که آزمایشگاه‌های تشخیص طبی در آن نقش دارند، همچون استفاده مناسب از فرآورده‌های خونی، سلول درمانی، و سایر درمان‌های ویژه بیماران آشنا باشند و کاربرد مقرون به صرفه و مستدل آنها را درک نمایند.

کمیته یاد شده، اصول گسترده و موضوعات لازم برای کلیه شاغلان به طبابت را صرفنظر از ماهیت کارشان، در برنامه گنجاند. از فهرست‌های تفصیلی آزمایش‌های خاص پرهیز شده است. در حالی که کلیه موضوعات مندرج باید بخشی از برنامه دانشجویان پزشکی باشند ولی برخی مستلزم تاکید بیشتری هستند. موضوعات نیازمند به تاکید بیشتر در رده ۱ مشخص شده‌اند؛ موضوعات با تاکید کمتر به عنوان رده ۲ نشان داده شده‌اند. باز هم باید تذکر داده شود که این برنامه برای گنجاندن کلیه موضوعاتی که مرتبط با طب آزمایشگاهی هستند و پاسخگویان کمیته و تحقیق معتقد به لزوم گنجانیدن آنها در برنامه درسی دانشکده‌های پزشکی بودند، طراحی شده است اما این بدان معنی نیست که این موضوعات را باید به صورت یک درس آزمایشگاهی جداگانه تدریس کرد.

اصول طب آزمایشگاهی

دانشجوی پزشکی فارغ التحصیل باید بتواند:

۱. درک و توانایی به کارگیری مفاهیم حساسیت و ویژگی تشخیص یک آزمایش طبی برای وضعیت بالینی خاص را دارا باشد؛ ارزش اخباری مثبت و منفی را تعریف کند و چگونگی تاثیر شیوع (احتمال اولیه) بیماری در جمعیت‌های معین (نظریه Bayes) بر این ارزش‌ها را توضیح دهد؛ این مفاهیم را در شرایط بالینی به کار برد و شرایطی را که ارزش‌های اخباری، اطلاعات مهمی را برای بهبود مراقبت از بیمار، تشخیص، پیش‌بینی، و مسیر الگوهای درمان در اختیار می‌گذارند، توصیف کنند (رده ۱).

۲. چگونگی استنتاج و استفاده از محدوده مرجع (Reference Interval) و انواع مختلف آن، از جمله مواردی که محدوده مرجع در جمعیت خاصی تعیین می‌شود و یا براساس اجماع متخصصان و یا براساس تعیین آستانه از الگوریتم بالینی منتج شده است را توصیف کند؛ چگونگی تقسیم بندی محدوده مرجع براساس سن، جنس، نژاد، وضعیت بالینی (مثلا بارداری)، یا سایر عوامل را توضیح دهد؛ و دلیل اینکه جواب آزمایش ۵ ٪ از افراد طبیعی خارج از محدوده رجوع است را بداند (رده ۱).

۳. مفهوم تغییرپذیری در سنجش‌های مکرر و همچنین تغییرپذیری در یک فرد و میان افراد مختلف را توضیح دهد؛ عوامل موثر در عدم قطعیت آنالیزها (دقت، صحت، انحراف، ضریب انحراف) و چگونگی ارتباط دلایل تغییرپذیری با تفسیر بالینی نتایج را توضیح دهد (رده ۱).

۴. پیامدهای بلند مدت تجویز آزمایش‌های غیر ضروری را شرح دهد؛ بداند که آیا آزمایش‌های مراقبتی روزانه، به معنی درخواست آزمایش‌های غیرضروری است؟ بر اساس درک محدوده مرجع، منتهی شدن آزمایش‌های غیرضروری به تحمیل هزینه‌های بهداشتی سنگین‌تر و خطر بیشتر برای بیمار را توضیح دهد؛ همینطور، پیامدهای عدم به کارگیری اقدامات تشخیصی غیر تهاجمی یا کم تهاجمی را پیش از آغاز شیوه‌های تهاجمی شرح دهد (رده ۱).

۵. نقش متغیرهای پیش از آنالیز (Preanalytical) و پس از آنالیز (Postanalytical) را در تاثیر بر نتایج آزمایش و در نتیجه تاثیر بر مراقبت از بیمار توضیح دهد؛ دلایل عمومی خطاهای پیش از آنالیز را مشخص کند؛ اثرات شیوه خونگیری را بر نتایج آزمایش توصیف کند؛ استفاده از لوله‌های نمونه با درپوش‌های رنگی مختلف و همچنین سایر ظروف را مقایسه کند و علت عدم امکان جایگزینی آنها را با یکدیگر برشمارد؛ اهمیت داشتن برچسب با مشخصات درست بر روی نمونه را بداند (رده ۱).

۶. "مقادیر حیاتی(Critical Value)" و "زمان لازم برای هر آزمایش (Turnaround Time)" را تعریف کند و علت گزارش مستقیم مقادیر حیاتی را به مسئول مراقبت سلامتی جهت اقدام فوری توضیح دهد؛ اولویت درخواست آزمایش «فوری» و «عادی» را مقایسه کند (رده ۱).

۷. شرایطی را که می‌توانند موجب تداخل در آزمایش شوند توصیف کند (مثلا کمبود نمونه در لوله، همولیز، لیپمی، بیلیروبینمی، واکنش متقابل و مواد تداخل کننده) (رده ۱).

۸. علت تفاوت در نتایج آزمایشات و قابل انتظار بودن آن را بین آزمایشگاه‌هایی که برای سنجش آزمایش‌ها از شیوه‌های مختلف استفاده می‌کنند را توضیح دهد (رده ۱).

۹. توانایی خونگیری وریدی صحیح با سرنگ را داشته باشد (رده ۱).

۱۰. مفهوم آزمایش بر بالین بیمار (Point of Care: POC) را تشریح کند و علت تفاوت مقادیر حاصل از استفاده شیوه‌های POC را از مقادیر حاصل در آزمایشگاه تشخیص طبی شرح دهد؛ موارد مهم کنترل کیفی برای شیوه‌های POC را فهرست کند (رده ۲).

۱۱. پانل‌های آزمایش شناخته شده در سطح «جهانی» را

آن گونه که در آیین‌نامه فعلی انجمن پزشکی آمریکا تعریف شده است و «پانل‌های» تعریف شده توسط سایر دست اندرکاران را مقایسه کند؛ محاسن و معایب استفاده از پانل‌های آزمایش را به هنگام تجویز برای بیمار فهرست کند (رده ۲).

۱۲. تفاوت‌های عمده میان آزمایش‌های تایید شده توسط اداره غذا و دارو و آزمایش‌هایی که این تایید را ندارند و توسط آزمایشگاه‌های خاصی ابداع شده‌اند را توضیح دهد؛ ادارات مسئول بر نظارت آزمایشگاه‌ها و موضوعات مربوط به آزمایشگاه‌های مستقر در مطب پزشکان (Physician Office Laboratory) و انجام آزمایش در منزل را به اختصار بیان کند (رده ۲).

۱۳. بین آزمایش مناسب آزمایشگاه تشخیص طبی و آزمایش مناسب محیط تحقیقاتی تمایز قائل شود؛ چگونگی مراحل تایید دشوار خارجی و داخلی آزمایش‌های تشخیص طبی را پیش از آنکه برای تشخیص در بیماران مورد استفاده قرار گیرند را توضیح دهد (رده ۲).

پاتولوژی شیمیایی و ایمنی شناسی

دانشجوی پزشکی فارغ التحصیل باید بتواند:

۱. اصول اساسی سم شناسی را بیان کند: تشخیص و درمان الگوهای متداول سم شناسی آزمایشگاهی (مثل مصرف بیش از حد استامینوفن، ضد افسردگی، سالیسیلات، اتیلن گلیکول، اتانول، مخدرها، متانول)، و تفسیر نتایج پانل‌های «سوء مصرف مواد»، از جمله دلایل آزمایش‌های مثبت کاذب و منفی کاذب، نقش آزمایش تایید کننده، و تاثیر مواد تغییر دهنده بر روی نمونه (رده ۱).

۲. اصول نظارت بر دارو درمانی، از جمله تعیین سطوح بالا و پایین یا سطوح دارو در اندازه گیری تصادفی را بیان کند (رده ۱).

۳. کاربردهای آزمایشات متابولیک، از جمله الکترولیت‌ها، اسید و باز، اسمولالیته، و گازهای خون را توضیح دهد؛ نتایج آزمایشات یاد شده را تفسیر کند (رده ۱).

۴. آزمایش‌های مربوط به تشخیص انفارکتوس قلبی و سندروم‌های عروق کرونر، خطر قلبی عروقی و سکته، و نارسایی قلبی را تشریح کند؛ سندروم‌های هیپرلیپیدمی و علائم آزمایشگاهی آنها را تشخیص دهد (رده ۱).

۵. معیارهای تشخیص آزمایشگاهی دیابت را فهرست کند، و چگونگی استفاده از آزمایش در کنترل بیماری را شرح دهد؛ تغییرات بیوشیمیایی که در کمای‌هایپراسمولار غیرکتوتیک و کتواسیدوزیس دیده می‌شود را بیان کند (رده ۱).

۶. ارزیابی عملکرد کلیه‌ها را به اختصار بیان، و معیارهای بیماری مزمن کلیه را تعریف کند؛ تجزیه اولیه میکروسکوپی ادرار را بداند و یافته‌های کلیدی غیرعادی را توصیف کند (رده ۱).

۷. ارزیابی آزمایشگاهی آسیب شناسی کبد، لوزالمعده ، و دستگاه گوارش را بیان کند (رده ۱).

۸. آزمایش‌های متداول مورد استفاده برای بررسی پروتئین‌های پلاسما، از جمله پروتئین تمام، آلبومین، الکتروفورز پروتئین‌های سرم، و ایمونوفیکساسیون الکتروفورز و ارتباط بالینی آنها را توضیح دهد (رده ۱).

۹. آزمایش‌های تشخیص طبی موجود برای ارزیابی بیماری‌های خود ایمنی، واسکولیت‌ها ، و نقایص ایمنی، از جمله آزمایش اتوآنتی بادی، سطوح کمپلمان سرم، و زیرمجموعه‌های فنوتایپ ایمنی لنفوسیتی را بیان کند (رده ۱).

۱۰. نقش آزمایش را برای مارکرهای تومورال جهت غربالگری، تشخیص، تعیین پیش‌آگهی، و کنترل درمان تشریح کند (رده ۱).

۱۱. آزمایش‌های موجود برای استفاده در بیولوژی باروری هم پیش از زایمان و هم پس از زایمان را بیان کند (رده ۲).

۱۲. متداول‌ترین شیوه‌های مورد استفاده در آزمایشات غدد درون ریز، از جمله آزمایش محور هیپوفیز- آدرنال، پاراتیروئید و تیروئید را تشریح کند؛ فیزیولوژی تحریک و مهار این محورها و تفسیر آزمایشات را بیان کند (رده ۲)

تشخیص‌های مولکولی

دانشجوی پزشکی فارغ التحصیل باید بتواند:

۱. اصول کلی آزمایش تشخیص مولکولی را در کنترل، تشخیص، و/یا کنترل بیماری‌های عفونی، وراثتی، و انکولوژیک را توضیح دهد؛ و جایگاه آزمایش فارماکوژنتیک را در مراقبت بالینی شرح دهد (رده ۱).

۲. تبعات حقوقی، اخلاقی، و اجتماعی آزمایش ژنتیکی را توضیح دهد (رده ۱).

۳. فنون آزمایش ژنتیک را، از جمله آمپلیفیکاسیون، آزمایش‌های توالی- محور، سیتوژنتیک، آزمایش هیبریدیزاسیون درجا با فلوئورسانس، هیبریدیزاسیون ژنومیک مقایسه‌ای و سایر شیوه‌های متداول و محدودیت‌های هر یک، و همچنین منابع مثبت و منفی کاذب در این آزمایشات را بداند؛ با آزمایش واکنش کمی زنجیره پلیمر از (Polymerase Chain Reaction) آشنا باشد (رده ۲).

خون شناسی

دانشجوی پزشکی فارغ التحصیل باید بتواند:

۱. شیوه‌های تعیین شمارش کامل خون، از جمله مقادیر شمارش شده در برابر محاسبه شده، اندیکاسیون‌های شمارش افتراقی دستی لکوسیت‌ها در برابرشمارش خودکار و نیز عوامل مداخله‌گر را بیان کند؛ فیزیولوژی خونسازی طبیعی (اریتروسیت، لکوسیت، و پلاکت) را بداند و پاسخ دستگاه خونساز به محرک‌های پاتولوژیک را توصیف کند (رده ۱).

۲. اهمیت تفاوت‌های ریخت شناختی اریتروسیت، لکوسیت، و پلاکت را در گستره خون محیطی تشخیص دهد و درک کند؛ انواع لکوسیت‌های تعریف شده در شمارش افتراقی و اهمیت آنها را بداند (رده ۱).

۳. ارزیابی آزمایشگاهی و تشخیص‌های افتراقی کم خونی،

اریتروسیتوز، لکوپنی، لکوسیتوز، ترومبوسیتوپنی، و ترومبوسیتوز را توضیح دهد (رده ۱).

۴. ارزیابی آزمایشگاهی مایعات بدن از جمله ادرار، مایع مغزی نخاعی ، ریوی، شکمی، قلبی، و مفصلی، هم از نظر شمارش سلولی و هم شیمیایی را توضیح دهد (رده ۱).

۵. فیزیولوژی انعقاد، از جمله مکانیزم‌های عملکرد ضدانعقادهای طبیعی و درمانی را مورد مباحثه قرار دهد؛ آزمایش‌های تشخیص طبی مورد استفاده در تشخیص خونریزی عادی و ناهنجاری‌های ترومبوتیک، از جمله هموفیلی، ناهنجاری‌های پلاکت‌ها، بیماری فون ویلبراند، و اختلالات خونریزی دهنده اکتسابی را فهرست کند؛ شیوه‌های مناسب کنترل درمان‌های همواستاتیک و ضد انعقادی را توضیح دهد (رده ۱).

۶. ارزیابی هموگلوبینوپاتی‌ها را توضیح دهد و قادر به تشخیص هموگلوبینوپاتی‌هایی همچون بیماری سلول داسی در هنگام ارائه اطلاعات بیمار باشد (رده ۲)

۷. اصول کلی روش‌های فلوسیتومتری، مولکولی، و سیتوژنتیک مورد استفاده در ارزیابی لوکمی‌ها، لنفوم‌ها، و ناهنجاری‌های نئوپلاستیک مربوطه را توضیح دهد (رده ۲).

میکروبیولوژی

دانشجوی پزشکی فارغ التحصیل باید بتواند:

۱. متغیرهای پیش از آنالیز را که بر کیفیت و نتیجه آزمایش میکروبیولوژی تاثیر می‌گذارند را توصیف کند: (الف) وجود میکروفلورای عادی در سطح پوست و سطوح مخاطی؛ (ب) وجود آلاینده‌ها در نمونه‌ها و تاثیرشان بر نتایج کشت؛ (ج) تاثیرات شیوه‌های نمونه گیری، وسایل انتقال نمونه، زمان بندی و شرایط نگهداری؛ (د) اهمیت حجم نمونه در تشخیص ارگانیزم‌های پاتوژن که ممکن است به مقادیر کم در محیط‌های استریل عادی وجود داشته باشند؛ (ه) تاثیر نمونه گیری در زمان‌های خاص برای افزایش به دست آوردن پاتوژن‌های گوناگون؛ و چگونگی وابستگی تشخیص میکروبیولوژی به محل نمونه/ نوع نمونه و اصول بهینه سازی برای تشخیص را توضیح دهد (رده ۱).

۲. متداول‌ترین عوامل (باکتریایی، ویروسی، قارچی، انگلی) مولد عفونت در محل‌ها یا سیستم‌های مختلف بدن را توضیح دهد؛ چگونگی تاثیر پاتوژنز بیماری‌های باکتریایی، انگلی، و ویروسی بر انتخاب نمونه و تفسیر آزمایش را تشریح کند (رده ۱).

۳. عوامل موثر بر زمان تشخیص در میکروبیولوژی، از قبیل ارگانیزم‌های دشواری که مستلزم وسایل خاص و مدت نهفتگی طولانی‌تر هستند و همچنین آزمایش‌های غیرمتعارفی که گهگاه انجام می‌شوند را توضیح دهد (رده ۱).

۴. کاربرد و محدودیت‌های رنگ آمیزی‌ها را به عنوان ابزارهای تشخیصی سریع توضیح دهد؛ کاربرد رنگ آمیزی Gram را در نمونه‌هایی که حاوی فلور طبیعی هستند و یا در نمونه‌هایی که به طور طبیعی استریل هستند را بشناسد (رده ۱).

۵. کاربرد و محدودیت‌های روش‌های- سرولوژی را در بیماری‌های عفونی، جهت تعیین وضعیت ایمنی برای تشخیص عفونت حاد و به عنوان وسیله ای گذشته نگر به منظور تایید تشخیص ابتلا به عفونت در گذشته توضیح دهد؛ نیاز به استفاده از نمونه‌های دوگانه برای سرولوژی (نمونه در مرحله حاد و در دوره نقاهت) و استفاده از شیوه‌های غربالگری و تاییدی (همچون موارد مورد استفاده در سیفلیس) را بشناسد؛ علت اهمیت زمان و ماهیت پاسخ سرولوژیک در تشخیص بیماری‌های متداول از قبیل هپاتیت ویروسی و ایدز HIV توضیح دهد (رده ۱).

۶. مکانیزم‌های عمل داروهای ضد میکروبی گوناگون را توضیح دهد؛ گزارش حساسیت ضد میکروبی را تفسیر کند (رده ۱).

۷. متداول‌ترین مکانیزم‌های مقاومت باکتریایی به ضد میکروب‌ها و گسترش ارگانیزم‌های مقاوم در انستیتوها را تشریح کند؛ نقش مراقبان بهداشتی و اپیدمولوژی بیمارستانی و سایر کنترل کننده‌های عفونت در بیمارستان و جامعه را توضیح دهد (رده ۱).

۸. استفاده از شیوه‌های ایمنولوژیک یا مولکولی را علاوه بر کشت یا بجای آن برای ردیابی مستقیم عوامل بیماریزا در نمونه‌های آزمایشگاهی و علت برتری چنین شیوه‌هایی بر کشت در شرایط خاص را توضیح دهد؛ کاربرد و محدودیت‌های شیوه‌های تقویت اسید نوکلئیک، از جمله سنجش میزان بار ویروسی را تشریح کند (رده ۲).

طب انتقال خون

دانشجوی پزشکی فارغ التحصیل باید بتواند:

۱. موارد زیر را توضیح دهد: (الف) اجزا خونی موجود برای استفاده آزمایشگاهی؛ (ب) محدودیت‌ها واندیکاسیون‌های تایید شده برای انتقال اجزا گوناگون خونی؛ (ج) مقدار تایید شده مناسب اجزای خونی؛ (د) انواع تازه ساخت و سایر «جایگزین‌های اجزاء خونی» موجود؛ و (ه) جایگزین‌های تزریق فراورده‌های خونی آلوژنیک (از قبیل سیتوکین‌های هماتوپوئتیک، اهداهای فردی، و انتقال خون حین عمل جراحی) (رده ۱).

۲. طول عمر پلاکت‌ها، گلبول‌های قرمز، و عوامل لخته کننده موجود در پلاسما و چگونگی کنترل تاثیر تزریق فرآورده‌های خونی توسط آزمایش تشخیص طبی (مثلا هموگلوبین مورد انتظار و افزایش تعداد پلاکت‌ها) را تعریف کند (رده ۱).

۳. پاتوفیزیولوژی، علایم بالینی، و درمان سریع (پیشگیری) انواع مختلف واکنش‌های تزریقی را بداند (رده ۱).

۴. خطرات انتقال بیماری‌های عفونی از طریق فراورده‌های خونی را که با وجود کنترل خون اهداء کننده و فرآورده خونی باقی می‌ماند، و نیز اطلاعات موجود در رابطه با شیوع و نفوذ بیماری مسری ناشی از تزریق، را تعریف کند (رده ۱).

۵. اهمیت برچسب زدن روی نمونه خون و فرآیند تهیه و نظارت بر فرآورده‌های خونی، از جمله کنترل‌های ضروری ایمنی بیمار، دفعات ضروری تزریق، و محدودیت‌های ذخیره مناسب فرآورده خونی را بداند (رده ۱).

۶. معنی و مفهوم نوع فرآورده‌های خونی،آزمایش کراس مچ و محدودیت زمانی چنین آزمایشی را بداند؛ شرایط تهیه و استفاده از فرآورده‌های خونی مناسب در مواقع اضطراری و استفاده از خون «اهداء کننده همگانی» را توضیح دهد (رده۱).

۷. انتقال خون در حجم گسترده (Massive Transfusion) را تعریف کند، و نیازهای خاص بیماران از نظر اختلالات متابولیکی و درمان آنها را توضیح دهد (رده ۱).

۸. پاتوفیزیولوژی بیماری همولیتیک نوزادان و نقش آزمایش سازگاری والدین و نیز نقش پیشگیری کننده گلوبولین ایمنی ارهاش را در جلوگیری از بیماری همولیتیک نوزادان توضیح دهد (رده ۱).

۹. فرآیند تعدیل و تغییر فرآورده‌های خونی و مفهوم و کاربرد بالینی هر یک را بیان کند (مثلا لوکوریداکشن، پرتوافکنی گاما) (رده ۲).

۱۰. انواع مختلف اهداء کنندگان خون (مثل فردی، مستقیم، نوع‌دوستانه) و عناصر مهم کنترل پیش از اهداء را توضیح دهد (رده ۲)

۱۱. کاربرد بالینی فلبوتومی درمانی را توضیح دهد؛ انواع مختلف رویه‌های آفرزیس را فهرست کند و نمونه‌هایی از کاربرد هریک را مثال بزند (رده ۲).

۱۲. سیستم HLA را تشریح کند و نقش آن را در تزریق و پیوند توضیح دهد (رده ۲).

شیوه‌های تدریس

ملاحظات کلی

کمیته ACLPS، ارزش نگرش‌های خلاق را می‌داند اما اعتقاد دارد که به هرحال طرح پیشنهادهای کلی درباره اهداف و مقاصد طب آزمایشگاهی که شاید به گونه‌ای کارآمد، وارد ساختار کلاسیک شوند یا در برنامه ریزی مسیرهای جدید آموزشی مورد استفاده قرار گیرند، سودمند باشند. چون این رشته، عضو یا سیستم محور نیست، در عوض، کلیه تشخیص‌ها و درمان‌هایی را که موضوع مشترک شان، استفاده از آزمایشگاه تشخیص طبی است، مد نظر قرار می‌دهد و از یک طرف، چالش و از طرفی دیگر، فرصتی را برای خلاقیت ایجاد می‌کند. طب آزمایشگاهی، درست مانند فارماکولوژی می‌تواند با موفقیت در یک برنامه آموزشی ترکیبی، طی سالهای «پیش از کار بالینی» و «بالینی» ادغام شود. این کمیته باور دارد که موضوع حائز اهمیت، حصول اطمینان از پوشش دروس مناسب در طول چهار سال دانشکده پزشکی و تدریس توسط استادانی است که تخصصی ویژه در این رشته دارند.

عناصر اصلی اجرای یک برنامه آموزشی به شرح زیر هستند: (۱) تعیین اهداف و مقاصد خاص و قابل سنجش، (۲) انتخاب شیوه‌های مناسب تدریس، و (۳) ارزیابی دانشجویان از نظر نیل به اهداف و مقاصد. ارزیابی مستقیم اهداف و مقاصد، اختصاص زمان کافی به موضوعات و تناسب شیوه‌های تدریس را برای دانشکده روشن می‌کند. اگر چه، همان طور که گفته شد، کمیته، رویکرد خلاق به ساختار سنتی را ترغیب می‌کند، اما بسیاری دانشکده‌ها بخش وسیعی از برنامه را به زمان پیش از دوره بالینی اختصاص داده‌اند که به صورت «آموزش فشرده کلاسی» ارائه می‌شود و در کنار آن»آموزش فشرده بالینی»، نیز در دوره بالینی گنجانیده شده است. به این ترتیب، بازتاب نگرش سنتی در کنار ایجاد پتانسیلی برای استفاده از تجربیات بالینی در برنامه دیده می‌شود.

آموزش فشرده کلاسی

بر اساس مطالعه قبلی، ویژگی‌هایی که به موفقیت کلی تدریس طب آزمایشگاهی کمک کرده‌اند، شامل موارد زیر می‌شوند: (۱) گروهی کوچک از مدرسان متعهد و مشتاق با تخصص در طب آزمایشگاهی / آسیب شناسی بالینی، (۲) مباحثه گروهی کوچک با نسبت کم دانشجو به استاد که به رابطه نزدیک میان دانشجو و استاد می‌انجامد، و (۳) مباحثات موردی متمرکز بر ارتباطات بالینی و حل عملی مسئله با تکیه بر مسایل تکنیکی. کمیته، معتقد است که این‌ها، اصول بنیادینی هستند که کلیه دانشکده‌ها باید رعایت کنند. جزئیات دقیق می‌توانند و احتمالا باید از دانشکده به دانشکده فرق داشته باشند.

برای مثال، برخی دانشکده‌های پزشکی، دروس آزاد کاملا موفقیت آمیزی را با تمرکز بر طب آزمایشگاهی در برنامه خود ادغام کرده اند. مثلا، دانشگاه کالیفرنیا در سن دیگو، ۳۰ ساعت را به این موضوع اختصاص داده است. طی این دوره اجباری، دانشجویان اصول و مطالب ویژه طب آزمایشگاهی را فرا می‌گیرند. این درس به صورت سخنرانی تدریس می‌شود اما هر سخنرانی، حداقل ۲۰ دقیقه کار عملی موردی دارد. گرایش سخنرانی‌ها به سوی نمونه‌های عملی، نقطه قوت اصلی برنامه محسوب می‌شود.

سایر موسسات دارای دروس اختصاصی همچون تولان (نیو اورلئان، لوییزیانا)، وقتشان را بین سخنرانی و تمرین‌های آموزشی مسئله محور (PBL:Problem based Learning) تقسیم می‌کنند. PBL، مستلزم مشارکت بیشتر استادان است که بسیار هم پسندیده است، اما در هر دانشکده ای هم قابل اجرا نیست. شیوه دیگر، PBL اینترنتی است؛ که علاقه دانشجویان به این شیوه تدریس بسیار متفاوت است. اگر چه «اصول طب آزمایشگاهی» (بخش اول برنامه آموزشی) اغلب به صورت سخنرانی تدریس می‌شود، اما توصیه می‌شود که چنین سخنرانی‌هایی، حداقل تا حدی، بر پایه موارد بالینی باشند. تجربه ما، ارزش چنین شیوه ای را نشان می‌دهد.

دانشگاه نیومکزیکو در آلبوکرک، برنامه آموزشی طب

آزمایشگاهی را بر پانلی متمرکز از ۲۰ تا ۳۰ آزمایش انتخابی که بر روی خود دانشجویان پزشکی کلاس انجام یافته متمرکز کرده است (با شرکت داوطلبانه و تایید هیئت تجدید نظر دانشگاه). به این ترتیب، خود دانشجویان، تبدیل به موضوع مباحثه می‌شوند. در یک بررسی اتفاقی کنترل شده فراگیری دانش آزمایشگاهی، دانشجویانی که نتیجه آزمایش خود را پیش از جلسه سخنرانی دریافت داشته بودند، نسبت به دانشجویانی که نمونه خون داده بودند اما نتیجه آزمایش خود را نگرفته بودند، مطالب بیشتری را فراگرفته بودند.

بخش‌های ویژه برنامه آموزشی، همگی به خوبی معطوف مباحثات موردی و PBL می‌شوند. در حالی که موضوعات بخش‌های چهارم، پنجم، و ششم برنامه آموزشی که به ترتیب هماتولوژی، میکروبیولوژی، و طب انتقال خون می‌باشند، ظاهرا به خوبی به صورت بلوک، اگرچه با حضور چند رشته تخصصی، می‌شوند اما برای بخش دوم برنامه آموزشی که شامل آسیب شناسی بالینی و ایمنی شناسی است، بهتر است از شیوه تدریس بر پایه سیستم- عضو یا پاتوفیزیولوژی محور باشد. بنا به اطلاعات تحقیقاتی ۱۵ سال پیش، تقریبا همه دانشکده‌ها، نوعی تدریس آزمایشگاه محور برای دانشجویان را گنجانده بودند که طی آن مهارت‌های عملی مثل خون‌گیری و میکروسکوپی تدریس می‌شدند. با توجه به جایگزینی میکروسکوپی واقعی با «میکروسکوپی مجازی»، مشخص نیست که آیا تکرار چنین تحقیقی، همان نتیجه را نشان دهد.

مزیت واقعی برگزاری این دوره به عنوان درس ویژه، آن است که استادان آموزش دیده در طب آزمایشگاهی می‌توانند بر موضوع تسلط پیدا کنند، محیط آموزش را جهت دهند و با تحلیل عملکرد و ارزیابی دانشجو، باعث رشد کیفی درس شوند. با این حال، لازم به ذکر است که برای یک درس اختصاصی حتما نباید تدریس به صورت یک دوره متوالی صورت بگیرد. در دانشگاه ییل، همچون بسیاری دانشگاه‌های دیگر، تدریس طب آزمایشگاهی، هر جا که شیوه «آموزش سیستمی» اجازه دهد، به بلوک‌های جداگانه با سخنرانی‌ها، مباحثات موردی، و کارگاه یا آزمایشگاه‌های مختلف تقسیم شده است. برگزاری جلسات چند رشته ای با حضور دو استاد همکار هم مطلوب است. این شیوه، سنت بسیاری از دانشکده‌ها برای مواردی بوده است که می‌توانند به صورت مشترک توسط یک آسیب شناس و یک رادیولوژیست به علاوه یک متخصص داخلی یا جراح تدریس شوند. به همین ترتیب، همراهی یک متخصص طب آزمایشگاهی (آسیب شناسی بالینی) با یک متخصص داخلی، متخصص اطفال، زنان، یا جراح هم توصیه می‌شود. از آنجا که اغلب تشخیص‌های بالینی، حداقل با آزمایش‌های تشخیص طبی تایید می‌شوند، صرفنظر از الگوی آموزشی، طب آزمایشگاهی می‌تواند همیشه با هر مباحثه‌ای درباره فرآیند بیماری، ارتباط داشته باشد.

در دانشکده‌هایی که تکیه زیادی بر PBL دارند، کلیه موارد PBL مورد استفاده در طی برنامه آموزشی باید توسط متخصصان طب آزمایشگاهی ارزیابی و بررسی شوند. متخصصان آزمایشگاه، ارائه اطلاعات آزمایشگاهی متناسب و به روز را در ضمن تحلیل هر مورد برعهده دارند که گروه را به سوی اهداف آموزشی طب آزمایشگاهی رهنمون می‌کند. به علاوه، به منظور حصول اطمینان از پوشش کلیه مواد درسی پیشنهادی در برنامه آموزشی ادغامی، استادان طب آزمایشگاهی باید در تهیه نقشه برنامه آموزشی که محل قرارگیری هریک از اهداف و مقاصد را در چهار سال دانشکده پزشکی مشخص می‌کند، مشارکت داشته باشند (یعنی هر یک از اهداف و مقاصد در کدام بلوک یا شیفت پوشش داده خواهند شد).

آموزش فشرده بالینی

شیوه‌های متعددی برای تدریس مهارت‌های طب آزمایشگاهی در سال‌های آموزش پزشکی ابداع شده‌اند که در پاراگراف‌های آتی شرح داده می‌شوند.

برنامه اصلی آموزش آسیب شناسی بالینی

در برخی دانشکده‌های پزشکی، دانشجویان در طول دوره انترنی پزشکی، مقدمه طب آزمایشگاهی را فرا می‌گیرند. دانشجویان، طی دیدار از آزمایشگاه، می‌توانند وارد مباحثات شوند، چگونگی انجام آزمایش‌ها را مشاهده، یا مهارت‌های اولیه را کسب کنند. اعضای کمیته در دانشگاه‌هایی که این شیوه انجام شده است، آن را روشی محبوب گزارش کرده‌اند، هر چند که هیچ گونه اطلاعات عینی برای مستند سازی سودمندی آموزشی آن از نظر نتایج در دست نیست. در یک مقاله، به یک دوره نیم روزه مهارت‌های آزمایشگاهی پرداخته شده است که طی آن، دانشجویان، نمونه‌های رنگ آمیزی Gram، تجزیه ادرار، و نمونه‌های خون محیطی را آزمایش و تفسیر کرده‌اند. استادان طب آزمایشگاهی می‌توانند با دعوت یا طبق برنامه‌ای منظم با حضور در بخش، موارد را بحث کنند. استادان، در مورد موضوعات مربوط به آزمایشگاه، برای دانشجویان سایر دپارتمان‌ها هم کنفرانس می‌دهند. در برخی امور (مثل میکروبیولوژی)، معمولا برای گروه‌های بالینی که شامل دانشجویان دستیاری می‌شوند، هر روز، تدریس در آزمایشگاه انجام می‌گیرد. در اندکی از دانشگاه‌ها، یک دوره دستیاری اجباری طب آزمایشگاهی وجود دارد که بر تشخیص‌های آزمایشگاهی و روش‌های درمانی به واسطه آزمایشگاه تاکید دارد (منظور از درمان آزمایشگاهی، طب انتقال خون است). در برخی موارد، بخش تشخیص، بر سم شناسی و پاسخ به مقادیر حیاتی تاکید و موضوعات مستقیما مربوط به طب آزمایشگاهی و درمان‌های سم شناسانه و اضطراری را ترکیب می‌کند. سوابق مربوطه، از اقبال خوب دانشجویان نسبت به چنین برنامه‌هایی و ارزش مطالعه و ارزیابی بیشترشان حکایت دارند.

برنامه انتخابی آموزش آسیب شناسی بالینی

بسیاری از دانشکده‌ها، در طول سال سوم یا چهارم، دروس انتخابی طب آزمایشگاهی را به عنوان بخشی از گزینه‌های آسیب شناسی عمومی یا دروس انتخابی تخصصی‌تر یا بخشی از یک درس انتخابی همراه با رادیولوژی ارائه می‌کنند. برخی از این دروس انتخابی، به صورت سخنرانی در کلاس ارائه می‌شوند و در بعضی موارد، دانشجویان، همراه رزیدنت‌ها و استادان آسیب شناسی به آزمایشگاه رفته و آنان را در حین انجام کار روزانه شان همراهی می‌کنند. این موارد به عنوان گزینه‌های بسیار محبوب دانشجویان هستند، به ویژه هنگامی که در شش ماه منتهی به پایان سال اول ارائه شوند. سایر دروس انتخابی، به دانشجویان امکان همراهی با یک یا چند تن از استادان را در آزمایشگاه می‌دهند. این دروس انتخابی می‌توانند تنها یک موضوع را در برگرفته و یا به تناوب بخش‌های اصلی آزمایشگاه را در برگیرند.

خودآموزی

برنامه‌های متعددی برای رسانه‌های الکترونیکی وجود دارند که مهارت‌های مربوط به آزمایشگاه تشخیص طبی را تقویت می‌کنند. برخی از این برنامه‌ها برای دانشجویان پزشکی در سال‌های کار بالینی مناسب هستند. مشخص شده است که برنامه‌هایی که مهارت‌های متعارف رویه‌های آزمایشگاهی، همچون تفسیر نمونه‌های خون محیطی و آزمایش میکروسکوپی رسوب ادرار را آموزش می‌دهند، عملکرد دانشجویان را بهبود می‌بخشند. مجموعه‌ای از مطالعات موردی متقابل در شیمی آزمایشگاهی برای تقویت استدلال تشخیصی ساخته شده اند. هم اکنون، اطلاعات درباره آزمایش‌های تشخیص طبی بر روی کامپیوترهای دستی موجود است و یک نمونه آن، اقبال مساعد دانشجویان را در یک دوره دستیاری پزشکی داخلی به همراه داشت. استفاده از سیستم اطلاعات بیمارستانی برای تهیه دستورالعمل تجویز و تفسیر آزمایش تشخیص طبی و همچنین هزینه‌های آزمایش، روشی دیگر برای فراهم آوردن فرصت‌های فوری و مادام العمر یادگیری است.

مشاوره آسیب شناسی بالینی

حرکت رو به رشدی به سوی بهبود خدمات مشاوره آسیب شناسی در مراکز بزرگ و کوچک پزشکی ایجاد شده است. شواهد نشان می‌دهند که چنین خدماتی، مراقبت از بیمار و نتایج کار را بهبود می‌بخشند. در واقع، این امر، موضوعی قابل پیشرفت در طب آزمایشگاهی است که در گزارش‌های یاد شده کمیته CDC از آن حمایت شده است. یکی از کارآمدترین ابزارهای تدریس به دانشجویان پزشکی در طب آزمایشگاهی، شاید استفاده موثر از چنین خدماتی در طول سال‌های کار عملی‌شان باشد. کمیته بر این باور است که این رویکرد آموزشی از مطالعه رسمی بیشتر، بهره بهتری خواهد داد.

ارزیابی شایستگی و نتایج

در بسیاری از حوزه‌های آموزش پزشکی، عموما ارزیابی توانایی دانشجو در شرایط عملی و اغلب بیمار محور، نسبت به توانایی پاسخ دادن به پرسش‌هایی که حفظ کردن موضوعات را تقویت می‌کنند، ارجحیت دارند. سوالات آزمایشگاه محور در آزمون‌های دستیاری و همچنین در بخش ۲ از USMLE که توسط هیئت ملی ممتحنان پزشکی تدوین شده است، گنجانده شده‌اند. مرحله ۳ از USMLE هم شامل مجموعه مسائلی است که برای نیل به این هدف تلاش می‌کنند. شرح «کاربرد مطالعات آزمایشگاهی و تشخیصی» برای USMLE شامل ۳ جمله زیر است: «دانشجو روند مناسب یا مطالعات اولیه آزمایشگاهی یا تشخیصی، بررسی لازم جهت تضمین کارآیی درمان مورد نظر، یا مطالعه‌ای که به احتمال قوی تشخیص را پی ریزی/تایید می‌کند، را انتخاب کرده؛ تاثیر بالینی یافته‌های آزمایشی تشخیصی را تفسیر می‌کند؛ محتمل‌ترین نتایج آزمایشی تشخیصی را پیش بینی می‌کند». با این حال، نمره‌های سوالات آزمایشگاه محور توسط هیئت ملی ممتحنان پزشکی در اختیار دانشگاه‌ها گذاشته نمی‌شود در نتیجه تعیین چگونگی کیفیت فراگیری طب آزمایشگاهی توسط دانشجویان از طریق عملکردشان در این آزمون‌های استاندارد، ممکن نیست. بنابراین چون اطلاعات درباره فراگیری آزمایشگاهی دانشجویان ناشی از تجربه دانشکده‌های پزشکی گوناگون است، هیچ معیاری ملی، همچون دستیاری‌های اصلی بالینی وجود ندارد. از این رو، تهیه شیوه‌ای استاندارد برای سنجش دانش و مهارت‌های دانشجویان در این زمینه، همچنان چالشی اساسی باقی مانده است. اگرچه ابزارهای سنجش در برنامه آموزشی اصلی رزیدنتی آسیب شناسی برای طب آزمایشگاهی، معطوف سطوح بالاتر و تفصیلی تر و تخصصی تر آموزش آسیب شناسی هستند، اما شاید برای ارزیابی دانشجویان پزشکی هم کاربرد داشته باشند.

بحث ونتیجه گیری

کسب دانش ژرف اصول طب آزمایشگاهی برای کلیه پزشکان دست اندر کار طبابت ضروری است. در شیوه‌های فراگیری اصول طب آزمایشگاهی توسط دانشجویان پزشکی تفاوت‌های عمده‌ای وجود دارد. جهت اطمینان ازدست یابی به اصول مهم ذکر شده، دانشکده‌های پزشکی باید اهداف و مقاصدی را مرتبط با طب آزمایشگاهی و تدریس مطلوب و شیوه‌های ارزیابی آن، تعیین کنند. اهداف و مقاصد پیشنهادی تدوین شده توسط این کمیته می‌تواند نقطه آغازی برای دانشکده‌های پزشکی جهت طراحی محتوای برنامه آموزشی و فنون ارزیابی باشند. ما همچنین امیدواریم که این گزارش، باعث گفتگو و تبادل نظر میان پزشکان متخصص غیر آسیب شناس در مورد سطح مناسب آموزش در این حوزه شود و از آن بالاتر، به مطالعات آکادمیکی بیانجامد که باعث بهبود آموزش طب آزمایشگاهی شده و هدف نهایی آنها تربیت پزشکانی است که تشخیص‌ها و درمان‌های وابسته به طب آزمایشگاهی را به نحو احسن به کار می‌بندند.

تحلیل مسایل بالینی

دکتر سعید آزادارمکی
متخصص آسیب شناسی

- یک مرد ۵۹ ساله برای بررسی تب که از سه هفته پیش آغاز شده است مراجعه کرد. یک پزشک برای وی بتا آگونیست استنشاقی و کلاریترومایسین تجویز کرده بود که اثری نداشته است. تب بیمار و هم چنین تنگی نفس کوششی وی بدتر شده بود. سرفه بدون خلط، سوزش گلو، راش اریتماتوی غیر خارش دار در تنه و پلورزی سمت راست به وجود آمده بودند. پزشک دیگری لووفلوکساین تجویز کرده بود.

• تشخیص‌های بسیاری می‌توانند این علایم را توجیه کنند. کوکسیدیومایکوز در نواحی آندمیک می‌تواند علت تنگی نفس کوششی باشد و به داروهای تجویز شده نیز پاسخ نمی‌دهد. علایم بعدی با این بیماری کمتر در ارتباط هستند و باید به علل دیگر درد پلورتیک قفسه سینه و همین طور اختلالات همراه با ایجاد تب و راش توجه شود. گونه‌های سم زای استرپتوکوک یا استافیلوکوک و در موارد نادر پنوموکوک، همه از علل ممکن هستند. من می‌خواهم بدانم که آیا بیمار عوامل خطری برای آمبولی ریوی داشته یا خیر و این که آیا لرز و علایم مفصلی همراه دارد یا خیر؟

- بیمار برای ارزیابی تب با علت نامشخص همراه با تعریق شبانه، تب، لرز و دردهای عضلانی پذیرفته شد. درد قفسه سینه و سرفه بیمار قطع شده و تنگی نفس کاهش یافته بود.

بیمار در مزرعه زندگی می‌کرد وبه جابجا کردن علوفه و یونجه خشک می‌پرداخت. وی سابقه سفر اخیر نیز داشت. بیمار فشار خون حد مرزی داشت و داروی روزمره ای مصرف نمی‌کرد و حساسیت دارویی نداشت. وی سیگار نمی‌کشید و مواد غیر مجاز مصرف نمی‌کرد.

• تعریق شبانه و تب و لرز، پاسخ طبیعی بدن به تغییر ناگهانی دمای بدن است. تنگی نفس بیمار از بین رفته بود. بنابراین پنومونی کسب شده از اجتماع می‌توانسته دلیل آن باشد. سابقه نامعمول بیمار، از جمله محل زندگی او، تماس با حیوانات و سابقه مسافرت، تشخیص‌های احتمالی دیگری را مطرح می‌کنند. زیر و رو کردن علوفه امکان پنومونی ازدیاد حساسیت به علت وجود اکتینومایست‌های گرما دوست را مطرح می‌کند. محل زندگی حیوانات می‌تواند محل زندگی پاتوژن‌های بسیاری از جمله لپتوسپیرا باشد که معمولا از طریق تماس با ادرار موش منتقل می‌شود. هر چند این احتمالات باید در فهرست طولانی تشخیص‌های افتراقی گنجانده شود، من تب بالا و سریع بالارونده را مورد ارزیابی قرار می‌دهم. از بین رفتن پلورزی می‌تواند نشان دهنده این باشد که تجمع مایع در فضای جنبی پیشرفت کرده است. من هم چنین به امکان وجود بدخیمی، بیماری خود ایمنی و به خصوص عفونت فکر می‌کنم. یافته‌های معاینه بالینی می‌تواند کمک کننده باشد.

- درجه حرارت بیمار ۳۹/۲ درجه سانتی گراد بود. فشار خون ۱۳۳/۹۹ میلی متر جیوه،تعداد نبض، ۹۸ ضربان در دقیقه، تنفس ۱۶ بار در دقیقه و درجه اشباع اکسیژن ۹۷ درصد در شرایط تنفس در هوای اتاق بودند. گردن بیمار نرم بود. ملتحمه و ته چشم‌ها طبیعی بودند. اوروفارنکس قرمز بود ولی اگزودا نداشت و دندان‌های بیمار وضعیت خوبی داشت. گره‌های لنفاوی کوچک و نرم در نواحی اینگوینال دو طرف قابل لمس بودند. قفسه سینه، قلب و عروق، شکم و معاینات ادراری تناسلی نکته غیر طبیعی نداشتند. نمونه مدفوع از نظر خون منفی بود. بیمار قرمزی ماکولوپاپولر در تنه داشت که در اوج تب مشخص تر بود. وی هم چنین یک ندول قرمز بدون درد با ابعاد ۵ × ۵ میلی متر در سطح کف دست در ناحیه بند آخر انگشت دوم دست چپ داشت. نتیجه معاینه عصبی طبیعی بود. نوار قلب و گرافی قفسه سینه نکته قابل توجهی نداشتند. شمارش گلبول‌های سفید ۳۱/۵۰۰ عدد در میلی متر مکعب بود. هماتوکریت ۳۷ درصد و شمارش پلاکتی ۲۶۵/۰۰۰ عدد در میلی متر مکعب بود. سطوح الکترولیت‌ها طبیعی بود. مقادیر آزمایشگاهی زیر به دست آمدند:

AST ، ۹۶ واحد در لیتر ، ALT ، ۶۴ واحد در لیتر ، آلکالن فسفاتاز ۱۵۴ واحد در لیتر ، بیلی روبین تام، ۰/۸ واحد در دسی

لیتر ، LDH ، ۳۱۴ واحد در لیتر ، CPK ، ۲۸ واحد در لیتر و سرعت رسوب گلبول قرمز ، ۱۲۵ میلی متر در ساعت. نتایج آنالیز ادراری طبیعی بودند.

• هیچ علامتی از مسمومیت سیستمیک وجود ندارد. راش تنه در یک بیمار مبتلا به تب مواج که با افزایش شدید و سریع بالا رونده درجه حرارت در هر روز مشخص می‌شود، احتمال بیماری استیل بالغان (still) را مطرح می‌کند ولی این تشخیص از طریق رد علل دیگر ثابت می‌شود. با توجه به سابقه بیمار از زندگی در مزرعه، عفونت نوکاردیا باید مورد توجه قرار گیرد. این عفونت باعث ایجاد یک لنفانژیت صعود کننده پروگزیمال به محل تلقیح می‌شود ولی باعث ایجاد علایم سیستمیک مانند علایم این بیمار نمی‌شود. من بیشتر به یک اختلال سیستمیک به عنوان علت فکر می‌کنم. بررسی‌های اولیه باید شامل کشت‌های خون، نمونه برداری از ضایعه انگشت و احتمالا آزمایش‌های سرولوژیک برای هپاتیت باشند، هر چند فقط عفونت با ویروس هپاتیت A می‌تواند تب‌هایی با این خصوصیت سریع بالارونده ایجاد کند. آزمایش برای یافتن ویروس نقص ایمنی انسان نوع 1 (HIV – 1) و مونوئوکلئوز عفونی منطقی هستند. بعید است مطالعات تصویربرداری از جمله سی تی اسکن بتوانند کمک کننده باشند.

– لووفلوکساسین قطع شد و کشت‌های متعدد خون گرفته شدند. کشت‌ها بعد از ۷ روز هنوز منفی بودند. آزمایش‌ها از نظر آنتی بادی ضد HIV-1 ، آنتی بادی‌های هتروفیل، ویروس‌های هپاتیت C ، B ، A ، آگلوتینین سرد، آنتی بادیIgG علیه کوکسیدیو، آنتی بادی IgM و IgG علیه کوکسیلا بورنتی و بورلیا بورگدورفری، آنتی بادی‌های ضد هسته ای و فاکتور روماتوئید منفی بودند. تست VDRL غیر راکتیو بود. الکتروفورز پروتئین سرم و ادرار نشاندهنده گاموپاتی منوکلونال نبود. آنتی ژن هیستوپلاسما در ادرار شناسایی نشد. نمونه برداری از ضایعه پوستی گرانولوم حلقوی را نشان داد ولی نکته غیر طبیعی دیگری وجود نداشت. کولونوسکپی انجام شد و نمونه‌های تصادفی گرفته شدند.

• من مطمئن نیستم که تمام این بررسی‌ها ضروری بوده باشند ولی گرفتن کشت‌های خون بعد از قطع آنتی بیوتیک‌ها مصلحت آمیز بوده است. عدم وجود رشد در کشت‌ها بعد از ۷ روز ، آندوکاردیت را رد نمی‌کند. عفونت با HIV-1 ، ویروس سیتومگال و ویروس اشتاین بار، نامحتمل به نظر می‌رسند. عدم وجود آنتی بادی علیه کوکسیدیو، نشان دهنده کمبود ایمنی است که کوکسیدیومایکوز را به عنوان یک بیماری مجزا مطرح می‌کند. تب Q با توجه به تماس بیمار با حیوانات ممکن است، ولی بیمار باید سابقه تماس مستقیم با گوسفند داشته باشد که این تشخیص را قابل توجه سازد. به علاوه در این اختلال، راش معمولا همراه با تب رخ نمی‌دهد. یک اختلال ایمنی غیر از بیماری استیل بالغان ، هم چنان امکان دارد. هر چند لوپوس اریتماتوزسیستمیک می‌تواند ایجاد تب کند ولی نبود علایم دیگر لوپوس از جمله آنتی بادی‌های ضد هسته ای، این تشخیص را نامحتمل می‌سازد. یافتن گرانولوم حلقوی در نمونه گرفته شده جالب توجه است، چرا که ظاهر بافت شناسی این ضایعه شبیه به واسکولیت است و این ضایعه می‌تواند یک ندول روماتوئید باشد. البته این درماتوز خوش خیم و خودبخود محدود شونده معمولا در بیماران مبتلا به دیابت شیرین دیده می‌شود و علامتی از یک اختلال سیستمیک مجزا نیست. اگر افزایش ضخامت کولون صعودی در سی تی اسکن یافته درستی باشد، اختلالات دیگری باید مورد توجه قرار گیرند. تب تیفوئید معمولا باعث ایجاد لکوپنی می‌شود نه لکوسیتوز، مگر این که سوراخ شدن احشاء در کار باشد. آمیبومای سکوم به صورت اسپورادیک دیده می‌شود اما بیشتر تشکیل توده می‌دهد تا افزایش ضخامت در یک ناحیه عفونت با مایکوباکتریوم توبرکولوزیس هم امکان دارد. بیماری‌های التهابی روده به خصوص بیماری کرون می‌توانند باعث ایجاد تب شوند. سرطان، عفونت مزمن و بیماری‌های خود ایمنی هم می‌توانند علت بیماری باشند. من به عنوان قدم بعدی به دنبال آنتی بادی‌های IgM بر علیه کوکسیدیو خواهم بود.

– بیمار هر شب افزایش درجه حرارت بدن تا ۴۰/۳ درجه سانتی گراد داشت ولی بقیه اوقات تب نداشت. راش بیمار پایدار بود ولی انتشار نیافت. نتایج نمونه برداری کولون منفی بود. در روز چهارم بستری، بیمار دچار درد در زانوی راست شد. در معاینه، زانوی بیمار گرم و اریتماتو بود و دامنه حرکت طبیعی داشت. آسپیراسیون مایع مفصل ۳۰ میلی لیتر مایع به رنگ زرد کاهی و با شمارش گلبول سفید در حد ۳۰,۴۵۰ عدد در میلی متر مکعب (۸۷ درصد نوتروفیل) به دست داد. نتایج رنگ آمیزی گرم و میکروسکوپ پلاریزان منفی بودند. مایع مفصلی کشت‌های باکتریایی، قارچی و مایکوباکتریایی فرستاده شد.

• زیر نظر داشتن یک بیمار به صورت مداوم معمولا تشخیص‌های افتراقی را محدود می‌سازد. پیدایش آرتریت زانو، علاوه بر تب و راش، امکان‌های مختلفی را مطرح می‌کند. در موارد نادر، نقرس باعث ایجاد تب‌های بالا میشود ولی تب در شروع بیماری وجود دارد. بیماری استیل بالغان هنوز یک احتمال قوی است اما این تشخیص از طریق رد تشخیص‌های دیگر به اثبات می‌رسد. پیدایش آرتریت در دوره بیماری، مشخصه این بیماری است. هر چند سن ۵۹ سال بیمار برای این اختلال بالاست. سل همچنان یک علت احتمالی است. سومین محل شایع عفونت سل، دستگاه اسکلتی است و درگیری مفصل زانو شایع است. بیماری ریوی در نیمی از این بیماران دیده می‌شود. آرتریت سلی پیشرفت آهسته ای دارد که البته شروع آرتریت در این بیمار نسبتا در مراحل ابتدایی بیماری رخ داده است. من نمونه برداری سینوویال برای یافتن گرانولوم و هم چنین آزمون پوستی PPD را درخواست می‌کنم. این آزمون معمولا در بیماران مبتلا به آرتریت سلی مثبت است. من شک دارم که آرتریت عفونی علت بیماری باشد چرا که شمارش گلبول‌های سفید مایع مفصلی

در بیماران مبتلا به آرتریت عفونی معمولا بالاتر از ۳۰,۰۰۰ عدد در میلی متر مکعب است و این اختلال نباید پنج روز بعد از بستری شدن ظاهر شود مگر این که باکتریمی در اثر یک فرآیند تشخیصی ایجاد شده باشد.

- درد زانو در عرض ۴۸ ساعت بهتر شد. کشت‌های باکتریایی و قارچی مایع سینوویال منفی بودند سطح فریتین سرم در روز پنجم بستری ۲۳/۲۰۰ نانوگرم در میلی لیتر بود. درمان با ایندومتاسین آغاز شد و تب‌ها کاهش یافتند (حداکثر درجه حرارت ۳۸ درجه سانتی گراد)، شمارش گلبول‌های سفید به ۱۲,۰۰۰ عدد در میلی متر مکعب کاهش یافت و حال بیمار بهتر شد. بیمار با تشخیص فرضی بیماری استیل بالغان مرخص شد.

بهبودی بدون درمان ضد سل و در پاسخ به ایندومتاسین به طور قطع در ارتباط با بیماری استیل بالغان است. موارد زیادی از افزایش شدید فریتین سرم در این بیماری دیده شده است ولی این اختلال می‌تواند در بسیاری از بیماری‌های التهابی مزمن وجود داشته باشد. من هنوز راجع به احتمال وجود سل یا حتی کوکسیدیومایکوز فکر می‌کنم. ولی در این مرحله فقط در صورتی که آنتی بادی IgM بر علیه کوکسیدیو مثبت بود یا تب باز می‌گشت، پیگیری این بیماری‌ها را ادامه می‌دادم.

بیمار چهار هفته بعد از مرخص شدن از بیمارستان برای پیگیری مراجعه کرد. کشت‌های مایع سینوویال برای مایکوباکتریوم منفی بود و دوز ایندومتاسین کاهش داده شد. تب بیمار قطع شده بود. علایم دیگر فروکش کرده بودند و شرایط بیمار به طور قابل توجهی بهتر شده بود.

تفسیر

عدم وجود یک آزمون تشخیصی ویژه برای بیماری استیل بالغان و وجود نماهای خاص این بیماری مانند تناوب نسبی آن، تشخیص این بیماری را با مشکل روبرو می‌سازد. تریاد کلاسیک بیماری استیل شامل تب، آرتریت اولیگوآرتیکولار و راش ناپایدار قرمز رنگ (که به طور معمول در زمان اوج تب ظاهر می‌شود) است، هر چند راش در یک سوم بیماران پایدار است. سوزش گلو مشخصه بیماری است و افزایش سطح فریتین، شمارش لکوسیت، آنزیم‌های کبدی و سرعت رسوب گلبول‌های قرمز معمول هستند. بیماری استیل معمولا در افراد زیر ۳۵ سال ایجاد می‌شود و در بزرگسالان مسن تر هم دیده شده است.مردان و زنان به یک نسبت گرفتار می‌شوند. درمان شامل تجویز داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی است هرچند کورتیکواستروئیدها هم موثر هستند. بسیاری از بیماران خود به خود بهبود می‌یابند ولی علایم طولانی مدت به خصوص علایم مفصلی، ناشایع نیستند.

وقتی یک تشخیص کاملا تائید شده نیست، تعداد زیاد علایم می‌تواند توجه پزشک را منحرف کند. پزشک بحث کننده متوجه علایم غیر معمولی با توجه به مواجهه بالقوه بیمار با عوامل خاص شد. البته وی روی دلایل شایع یافته اصلی تب با منشا ناشناخته تمرکز کرد.

چه وقت می‌توان تب بیمار را تب با منشا ناشناخته دانست؟ در سال ۱۹۶۱ ، Petersdorf و Beeson تب با منشا ناشناخته را درجه حرارت بدن بیش از ۳۸/۳ درجه سانتی گراد در چندین نوبت اندازه گیری در طی بیش از سه هفته که علت آن بعد از یک هفته بررسی روی بیمار بستری شده، مشخص نشده است، تعریف کردند. امروزه نیاز به بستری بودن با انجام ارزیابی تهاجمی جایگزین شده است. تب با منشا ناشناخته امروزه در ۵۰ -۳۰ درصد موارد مربوطه به بیماری خود ایمنی است. تب دارویی همچنان یک علت مهم است که کمتر تشخیص داده می‌شود. کاهش بروز سرطان به عنوان علت تب در سال‌های اخیر کاهش یافته است که می‌تواند به علت بهبود روش‌های تشخیصی باشد. هر چند به دنبال این قضیه، بسیاری از پزشکان هنگامی که با یک بیمار مبتلا به تب با منشا ناشناخته روبرو می‌شوند، تست‌های بسیاری درخواست می‌کنند، ولی تاخیر در تشخیص به ندرت باعث بدتر شدن وضعیت بیمار می‌شود و برخورد همراه با اندازه گیری‌های بیشتر تنها در موارد شک به آبسه داخل پریتوان، سل ارزنی، عفونت قارچی منتشر یا آمبولی مکرر ریوی که همه می‌توانند در صورت عدم تشخیص به سرعت باعث مرگ بیمار شوند، منطقی است.

برخورد با بیمار مبتلا به تب با منشا ناشناخته باید منحصر به فرد باشد. بعد از گرفتن شرح حال و معاینه بالینی، انجام مطالعات ساده آزمایشگاهی، گرفتن عکس قفسه سینه و کشت‌های خون موجه هستند. هنگامی که تب مواج است باید سل فعال یا بقیه شرایط التهابی سیستمیک مورد توجه قرار گیرند. درخواست تست‌های تشخیصی دیگر و سی تی اسکن شکم در بیماران با خطر کم برای بیماری‌هایی که این تست‌ها آن‌ها را می‌سنجند، باعث افزایش احتمال گرفتن نتیجه مثبت کاذب می‌شود. در این بیمار، سی تی اسکن شکم، افزایش ضخامت کولون صعودی را نشان داد که یک علامت قرمز از آب درآمد.

هنگامی که شرایط تهدید کننده حیات بعید به نظر می‌رسند، برخورد عاقلانه این است که به بیماری اجازه دهیم که خودش را نشان دهد. پیدایش آرتریت منوآرتیکولار باعث توجه جدی تر به بیماری still و سل شد. افزایش شدید سطح فریتین سرم، (هر چند غیر اختصاصی) تشخیص بیماری still را بیشتر مطرح کرد. به علت این که تشخیص بیماری still با رد تشخیص‌های دیگر ثابت می‌شود، پی گیری دقیق بیمار برای تایید نمای بالینی و پاسخ به درمان مهم است.

۸۹/پ/۳۶۶۷
۸۹/۰۴/۲۸

بسمه تعالی

سرکار خانم دکتر مرضیه وحید دستجردی
مقام محترم وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

سلام علیکم

به عرض عالی میرساند پیرو نامه شماره ۳۴۸۳/پ/۸۸ مورخ ۸۸/۱۱/۱۳ در خصوص فعالیتهای تعدادی ازاستادان علوم پایه پزشکی مبنی بر راه اندازی مجدد دوره تخصص علوم آزمایشگاهی از مقطع PhD و متعاقب جلسه مورخ ۸۹/۴/۱۰ در دفتر آن مقام محترم، موارد ذیل جهت بررسی و طرح در کمیسیون های تخصصی تقدیم می گردد:

۱. سوابق دوره قبل در راه اندازی رشته تخصصی علوم آزمایشگاهی در وزارتخانه موجود و مراجعه به آن زوایای پنهان مسئله را روشن خواهد نمود. در دوره اول نحوه پذیرش داوطلبان، عدم حضور پذیرفته شدگان در کلاسها و بیمارستان ها و نمرات امتحانات پایانی آنها چنان اسف بار بوده که خود بخود منجر به توقف دوره گردید.

از طرفی فارغ التحصیلان فوق الذکر تاکنون نقشی در ارتقای نظری و عملی علوم آزمایشگاهی بالینی ایفا ننموده و همچنان بطور محدود در زمینه تخصصیPhD خود فعالیت می نمایند.

۲. انگیزه اصلی راه اندازی مجدد دوره فوق نه ارتقای نظام سلامت و ارائه خدمات با کیفیت آزمایشگاهی بلکه فراهم آوردن شرایط اشتغال استادان علوم پایه در بخش خصوصی است که با فلسفه وجودی رشته های علوم پایه که همانا آموزش و پژوهش است مغایریت دارد.

۳. یکی از مشکلات آموزش پزشکی که وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی با آن دست به گریبان است، حضور کمرنگ استادان در بخشهای بالینی است و طرح تمام وقتی جغرافیایی تلاشی است در جهت حضور پررنگ تر استادان در آموزش و پژوهش پزشکی . بدیهی است که با اعطای مجوز مسئولیت فنی آزمایشگاههای پزشکی به استادان علوم پایه حضور ایشان بر سر کلاسهای درس محدودتر خواهد شد و ضربات جبران ناپذیری بر آموزش و پژوهش وارد خواهد آمد.

۴. در کوریکولوم پیشنهادی اخیر در دوره فوق، امتحان ورودی در نظر گرفته نشده است و داوطلبان تنها با داشتن مدرک PhD و سابقه کاری میتوانند دوره را شروع کنند. طول مدت دوره ۱۸ ماه پیشنهاد شده است که زیر نظر گروه علوم پایه وزارتخانه و بدون نظارت شورای آموزش پزشکی و تخصصی قرار است برگزار و مدرک تخصصی علوم آزمایشگاهی پس از ۱۸ ماه و بدون امتحان پایانی اعطا خواهد شد، بدیهی است تاسیس هر رشته بالینی نیاز به طی مراحل قانونی و طرح در شورایعالی برنامه ریزی علوم پزشکی دارد.

۵. نظر به اینکه در سالهای اخیر گرایش فارغ التحصیلان رتبه بالای پزشکی عمومی به رشته پاتولوژی بیشتر شده است، ایجاد رشته های موازی که فارغ التحصیلان آن بتوانند با سهولت موقعیت شغلی مشابه متخصصان پاتولوژی بیابند منجر به کاهش انگیزه پزشکان عمومی به انتخاب رشته پاتولوژی در امتحان دستیاری خواهد گردید و ضربه ای جدی بر پیکره این رشته اساسی پزشکی وارد خواهد آمد.

۶. با توجه به تدوین استانداردهای ملی توسط آزمایشگاه مرجع سلامت و اقدامات عملی در استقرار این استانداردها راه اندازی دوره تخصصی علوم آزمایشگاهی از مقطع PhD برخلاف اهداف بالینی نظام سلامت در استقرار استانداردهای آزمایشگاه بالینی است.

۷. در حال حاضر بیش از ۱۴۰۰ متخصص پاتولوژی در کشور مشغول فعالیت هستند و در صورت نیاز کشور به مسئول فنی آزمایشگاه بالینی، دانشگاه های علوم پزشکی توان افزایش ظرفیت تربیت دستیار پاتولوژی را دارند. در حقیقت آنچه که امروز باید مدنظر برنامه ریزان و سیاستگزاران قرار گیرد، راه اندازی دوره های فوق تخصصی پاتولوژی در شاخه های آناتومیکال و کلینیکال است.

در پایان امید است که با طرح مسائل فوق و با حضور نماینده انجمن آسیب شناسی ایران در کمیته های تخصصی تبعات منفی راه اندازی مجدد دوره تخصصی علوم آزمایشگاهی روشن شود و از تکرار اشتباه قبلی مبنی بر ورود غیر پزشکان به حیطه تشخیص آزمایشگاه جلوگیری بعمل آید.

با تقدیم احترامات
دکتر بهروز شفقی
رئیس انجمن آسیب شناسی ایران

رونوشت:
جناب آقای دکتر محققی معاونت محترم آموزشی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
جناب آقای دکتر ضیایی مدیر کل محترم دفتر گسترش و ارزیابی آموزش پزشکی و دبیر شورای عالی برنامه ریزی علوم پزشکی

ازاین شماره به بعد در این ستون تلاش شده تا بخشی از الزامات استانداردها ، روش های انجام آزمایش و ... که از طرف همکاران مرجع سلامت تدوین گردیده مورد تائید کمیته های فنی این آزمایشگاه قرار گرفته به طور مرتب انتشار یابد امید است که مورد استفاده خوانندگان قرار گیرد

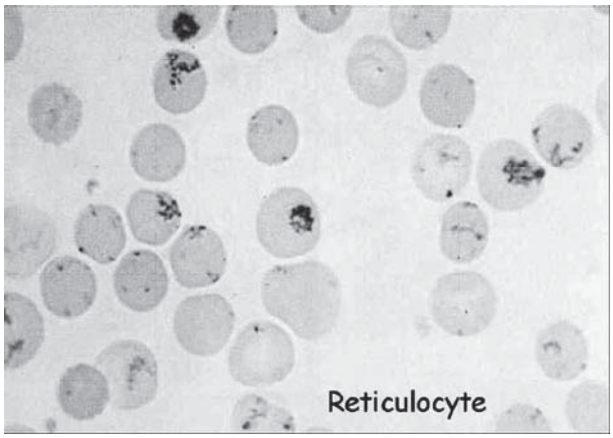
آزمایش شمارش رتیکولوسیت

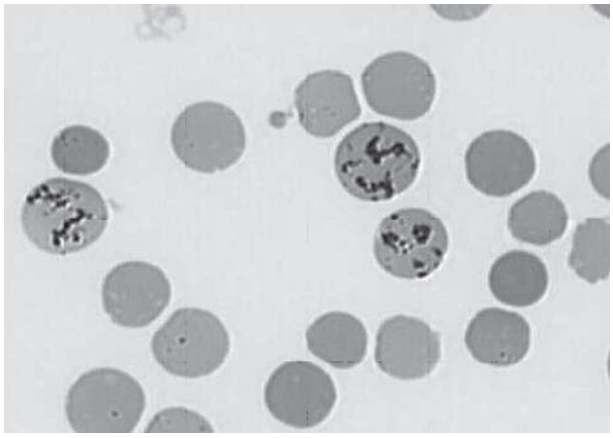
زهرا امامی،کارشناس ارشد هماتولوژی
دکتر پریسا داهیم، عضو هیات علمی

رتیکولوسیت‌ها گلبول‌های قرمز نابالغ حاوی باقیمانده‌های اسید ریبونوکلئیک ریبوزومی هستند که به تازگی از مغز استخوان آزاد شده اند. ویژگی ریبوزوم‌ها، ایجاد واکنش با رنگ‌های قلیایی خاص مثل آزور B ، بریلیانت کرزیل بلو یا نیو متیلن بلو (NMB) و تشکیل رسوبی به صورت گرانول یا فیلامانت آبی یا بنفش می‌باشد. این واکنش فقط با رنگ‌های حیاتی و در نمونه‌های فیکس نشده صورت می‌گیرد. به علت زنده بودن سلول‌ها هنگام رنگ آمیزی، به این نوع رنگ آمیزی، رنگ آمیزی حیاتی اطلاق می‌گردد.

مراحل مختلف بلوغ رتیکولوسیت‌ها با توجه به مشخصات مرفولوژیکی، قابل شناسایی می‌باشند. نابالغ ترین رتیکولوسیت‌ها حاوی بیشترین مقدار مواد رسوبی، و بالغ ترین آنها فقط دارای چند جز یا رشته کوتاه از این مواد می‌باشند. بر این اساس، رتیکولوسیت‌ها به چهار گروه تقسیم می‌شوندکه گروه۱ دارای کلامپ رتیکولوم و گروه ۴ حاوی چند گرانول کوچک می‌باشند. گروه ۲ و۳ نیز از لحاظ مرفولوژی بین این دو گروه قرار می‌گیرند. چون اکثر رتیکولوسیت‌هایی که در خون محیطی دیده می‌شوند از گروه۴ هستند، شناسایی دقیق این گروه از رتیکولوسیت‌ها اثر قابل توجهی بر روی صحت شمارش این سلول‌ها دارد. بنابراین گلبولی می‌بایست به عنوان رتیکولوسیت شمارش گردد که دارای هسته نبوده و داخل آن دو یا چند قطعه از رسوب آبی رنگ، که همان RNA ریبوزومی است، دیده شود.

رتیکولوسیت‌ها در رنگ آمیزی معمولی (با رنگ‌های گروه رومانوفسکی)، به دلیل ترکیب بازوفیلی سیتوپلاسم و اسیدوفیل هموگلوبین حالت بازوفیل منتشری پیدا کرده و به صورت "پلی کروماتیک" مشاهده می‌گردند. این پدیده به طور معمول در رتیکولوسیت‌های نابالغ که دارای بیشترین میزان RNA هستند، دیده می‌شود.





رنگ آمیزی

۱ -تهیه محلول رنگ

رنگ توصیه شده در مراجع معتبر بین المللی نیو متیلن

بلو می‌باشد برای تهیه محلول رنگ، می‌بایست ۰/۱ گرم رنگ نیومتیلن بلو (NMB) یا آزور B خالص را در ۱۰۰ میلی لیتر بافر فسفات ایزو اسموتیک با PH = ۶/ ۵ حل نمود. برای ساخت بافر ذکر شده از محلول‌های زیر استفاده می‌شود:

A: NaH_2PO_4, $2H_2O$ 23.4g/L (150mmol/L)
B: Na_2HPO_4 21.3 g/L (150mmol/L)

در صورتی که ۵۱ میلی لیتر از محلول A با ۳۵ میلی لیتر از محلول B مخلوط گردد، PH بافر حاصل ، ۶/۵ خواهد بود.

رنگ را می‌توان در۱۰۰ میلی لیتر سیترات سالین نیز حل کرد که برای تهیه سیترات سالین، یک حجم سیترات سدیم ۳۰ گرم در لیتر با ۴ حجم کلرید سدیم ۹ گرم در لیتر مخلوط می‌شود.

محلول رنگ را می‌بایست درون شیشه ای قهوه ای رنگ ریخته و در مدت ۲۴ ساعت به دفعات تکان داد. این محلول در دمای ۶-۲ درجه سانتیگراد قابل نگهداری می‌باشد. در این دما، نیمه عمر رنگ حدود یک ماه است. هر بار قبل از استفاده، باید حجم مورد نیاز از رنگ را به منظور خارج نمودن هر گونه ذره اضافی یا رسوب ، با کاغذ صافی فیلتر نمود.

۲ -روش رنگ آمیزی

برای رنگ آمیزی باید دو یا سه قطره رنگ NMB را با پیپت پاستور داخل لوله شیشه ای یا پلاستیکی به ابعاد ۱۰×۷۵ میلی متر ریخته و به همین حجم، خون حاوی ضد انعقاد EDTA به آن اضافه کرده و پس از مخلوط کردن به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه نگهداری نمود. قبل از تهیه گسترش می‌بایست لوله را به آرامی تکان داد تا گلبول‌های قرمز مجددا به حالت سوسپانسیون درآیند. گسترش‌ها پس از تهیه و خشک شدن، بدون فیکساسیون و انجام رنگ آمیزی دیگری، توسط میکروسکوپ قابل بررسی می‌باشند.

حجم دقیق خونی که به محلول رنگ اضافه می‌شود بستگی به تعداد گلبول‌های قرمز دارد. در موارد آنمی، مقدار خون بیشتر و در پلی سیتمی، مقدار خون کمتری، نسبت به حالت طبیعی، می‌بایست با رنگ مخلوط شود.

در یک گسترش مناسب، ریبوزوم رتیکولوسیت‌ها به رنگ آبی در آمده و سلول‌های بالغ در سطح لام به شکل سایه‌های کمرنگ آبی مایل به سبز دیده می‌شوند.

رنگ آمیزی و شمارش رتیکولوسیت خون در شرایطی که نمونه بعد از نمونه گیری در دمای ۶-۲ درجه نگهداری شود تا ۲۴ ساعت امکانپذیر می‌باشد. با گذشت ۸-۶ ساعت از زمان نمونه گیری و ماندن خون در حرارت آزمایشگاه ، رتیکولوسیت‌ها به تدریج بالغ شده و به گلبول قرمز بالغ تغییر می‌یابند که این امر به طور کاذب موجب کاهش درصد رتیکولوسیت‌ها می‌گردد. بنابراین توصیه می‌شود شمارش رتیکولوسیت بلافاصله بعد از جمع آوری نمونه انجام شود.

نحوه شمارش و گزارش درصد رتیکولوسیت

برای شمارش و تعیین درصد رتیکولوسیت، گسترش نباید خیلی نازک تهیه شده باشد و محلی از گسترش جهت شمارش انتخاب شود که سلول‌ها به خوبی رنگ شده و روی هم نیز قرار نگرفته باشند. برای تعیین درصد رتیکولوسیت‌ها از عدسی شیئ روغنی و در صورت امکان از عدسی‌های چشمی دارای دیافراگم قابل تنظیم استفاده می‌شود. تعداد گلبول‌های قرمزی که باید مورد ارزیابی قرارگیرند رابطه معکوس با تعداد رتیکولوسیت‌ها دارد. بنابراین به منظور افزایش دقت در شمارش، هرچه تعداد رتیکولوسیت‌ها کمتر باشد می‌بایست تعداد گلبول‌های قرمز بیشتری مورد بررسی قرارگیرند و بالعکس.

مقادیر مرجع

در بزرگسالان سالم شمارش رتیکولوسیت ۱/۵-۰/۵ درصد و در نوزادان ۶-۲ درصد می‌باشد که تا انتهای هفته دوم زندگی، به میزان بزرگسالان تنزل می‌یابد.

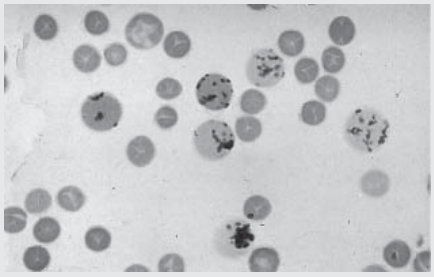
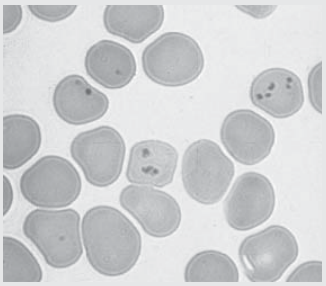
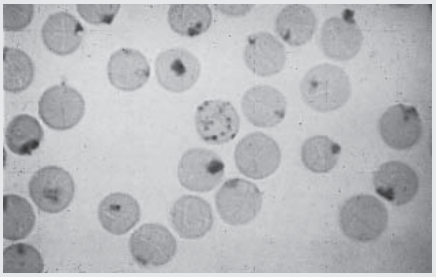
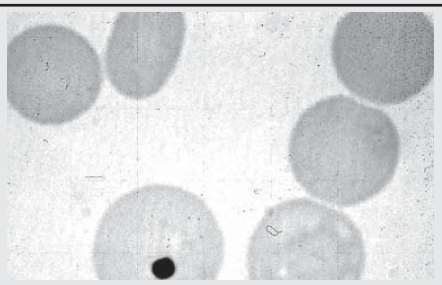
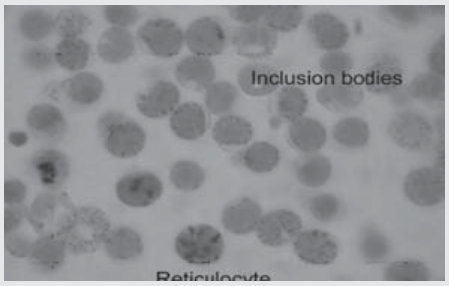
افتراق رتیکولوسیت‌ها

از دیگر انکلوزیون‌های گلبول‌های قرمز انکلوزیون‌های دیگری مثل‌هاینز بادی Hb H ،هاول ژولی بادی و اجسام پاپن‌هایمر در تشخیص افتراقی با رتیکولوم رتیکولوسیت‌ها قرار می‌گیرند که در جدول زیر مشخصات هریک آمده است.

در بین این انکلوزیون‌ها، مشکل عمده اجسام‌هاینز هستند که هر چند در رنگ آمیزی NMB به رنگ آبی روشن تری مشاهده شده و عمدتا در حاشیه و نزدیک به غشا سلول قرار می‌گیرند ولی تفکیک آنها از دانه‌های ریبوزومی بسیار مشکل است. برای برطرف کردن این مشکل می توان اسمیر رنگ شده رتیکولوسیت را با متانول فیکس کرد که این امر موجب بی رنگ شدن اجسام‌هاینز شده ولی تاثیری بر روی رتیکولوسیت ندارد.

جدول : مشخصات ظاهری انکلوزیون‌های مختلف

گلبول قرمز در رنگ آمیزی روش NMB

نام	ماهیت	مشخصات	تصویر
رتیکولوم رتیکولوسیت	RNA ریبوزومی	رشته‌های رتیکولوم یا گرانول‌های کوچک پراکنده	
پاپن‌هایمر	انکلوزیون حاوی آهن	یک یا بیشتر گرانول آبی رنگ با تمایل به حاشیه سلول که از رتیکولوم، تیره تر رنگ می گیرند.	
هاینز بادی	هموگلوبین دناچوره	بزرگتر از پاپن‌هایمر با شکل نامنظم، آبی کمرنگ، معمولا چسبیده به غشا سلول، که گاهی باعث برآمدگی غشا به بیرون می گردد.	
هاول ژولی بادی	DNA	بزرگتر از پاپن‌هایمربا شکل منظم، آبی کمرنگ که با فاصله از غشا سلول قرار می گیرند.	
Hb H	تترامر زنجیره ß هموگلوبین	به صورت متعدد (multiple) و گرد، به رنگ آبی-سبزکه به سلول ظاهر توپ گلف می دهد، معمولا با انکوباسیون کوتاه مدت مشخص نمی گردد و برای شکل گیری نیازمند زمان است.	

References:

1-H44-A methods for Reticulocyte counting(Flow Cytometry and Supravital Dye); Approved Guideline, NCCLS VOL.17 NO.18

2-Dacie and Lewis PRACTICAL HAEMATOLOGY, TENTH EDITION

چهارمین

کنگره میکروب شناسی بالینی ایران

از تاریخ ۲۰–۱۸ آبان ماه ۱۳۸۹ برگزار می شود

مرکز تحقیقات بیماری های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ، چهارمین کنگره میکروب شناسی بالینی ایران را از تاریخ ۲۰-۱۸ آبان ماه ۱۳۸۹ در شهر زیبا و تاریخی اصفهان برگزار می نماید .

به گزارش خبرنگار سایت پزشکان بدون مرز به نقل از سایت این گروه ، این کنگره سالانه از سال ۱۳۸۵ خورشیدی با همت استاد بزرگوار جناب آقای دکتر عبدالوهاب البرزی و با هدف بکارگیری بالینی پژوهش ها و مطالعات میکروب شناسی برگزار می شود، و جایگاه مناسبی در جهت بهره مندی از جدیدترین یافته های این دانش فراهم آورده است.

محورهای اصلی کنگره:

- باکتری شناسی بالینی
- قارچ شناسی بالینی
- ویروس شناسی بالینی
- انگل شناسی بالینی
- ایمنی شناسی بیماریهای عفونی
- بیماریهای مشترک انسان و دام
- سل
- عفونت های بیمارستانی
- لیشمانیوز جلدی
- مقاومت های دارویی
- واکسیناسیون

همزمان با شروع کنگره نمایشگاهی از جدیدترین وسائل و دستگاههای آزمایشگاهی و آخرین محصولات داروئی موجود در کشور در محل کنگره برقرار خواهد شد.

امتیاز باز آموزی :

جهت شرکت کنندگان در این کنگره مجوز رسمی امتیاز بازآموزی از وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی برای رشته های زیر درخواست شده است .

کلیه پزشکان مشمول قانون آموزش مداوم شامل فارغ التحصیلان PHD رشته های علوم پایه

دکترا ، کارشناسان ارشد و کارشناسان رشته پرستاری

دکترا ، کارشناسان ارشد و کارشناسان رشته مامایی

کارشناسان ارشد و کارشناسان رشته علوم آزمایشگاهی

تلفن دبیرخانه :۳۳۵۹۳۵۹ و ۳۳۷۷۱۷۱ – ۰۳۱۱

دورنگار: ۳۳۷۳۷۳۵ - ۰۳۱۱

پست الکترونیکی:iccm@mui.ac.ir

پایگاه اینترنتی: http://iccm.mui.ac.ir

محل برگزاری کنگره:

اصفهان ، خیابان هزارجریب ، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مرکز همایشهای دانشگاه

دهمین همایش بیماری‌های گوارش و کبد ایران

۱۸ تا ۲۱ آبانماه ۱۳۸۹

محل برگزاری:

تهران، بزرگراه حکیم غرب ، بعد از تقاطع بزرگراه چمران ، بیمارستان میلاد ، سالن همایش دکتر غرضی

تلفکس:

۸۸۳۳۵۰۶۱-۳

:Web Site

www.iaghcongress.org

درمان با ایمونوگلبولین داخل وریدی (IVIG) و استروئیدها ممکن است کم خونی شدید را در واکنشهای هیپرهمولیتیک ناشی از انتقال خون تصحیح نماید: گزارش موردی و بررسی مروری متون علمی

مترجم: دکتر نازیلا رستگار راد
حوزه مدیریت کنترل کیفی سازمان انتقال خون ایران

Transfusion Medicine reviews, vol 24, No 1,2010. 67-PP 64

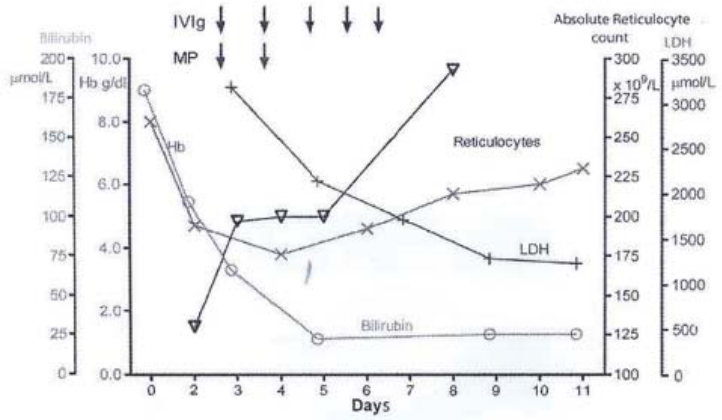
واکنش هیپرهمولیتیک ناشی از انتقال خون (HHTR) یک عارضه جدی بالقوه مرگبار انتقال گلبول‌های قرمز است و به طور کامل در افراد مبتلا به بیماری کم خونی داسی شکل (SCD) و دیگر بیماری‌ها (non-SCD) شرح داده شده است. داشتن آگاهی در مورد این وضعیت حائز اهمیت می باشد زیرا ادامه انتقال خون ممکن است همولیز را تشدید نموده یا منجر به مرگ بیمار شود. در صورتی که همولیز سریع و شدید باشد انتقال خون بعدی ممکن است ضرورت یابد. ما در این مقاله بیماری را گزارش می کنیم که مبتلا به کم خونی داشی شکل بوده و با HHTR شدید تظاهر نموده و سرم وی محتوی آلو آنتی بادی‌های متعدد ضد RBC بوده است. در روز دوم پس از بستری شدن، هموگلوبین بیمار تا حد ۴۷g/L افت نموده است. درمان با IVIG و استروئید برای وی شروع شده، بیمار به درمان پاسخ داده و انتقال خون متوقف گردیده است. در بررسی مروری متون ۵ مورد HHTR شناسایی شد که در آنها انتقال خون انجام نشده و IVIG/steroid تجویز شده بود. در همه این موارد کم خونی تصحیح شده و همولیز بدون انتقال خون بیشتر، رفع گردید. دلایل قطع انتقال خون و تجویز IVIG/استروئید مورد بررسی قرار گرفت.با توجه به موارد فوق استفاده از IVIG باید در درمان HHTR شدید تهدید کننده حیات در بیماران مبتلا به بیماری SCD و دیگر بیماری‌ها (non-SCD) مد نظر قرار گیرد.

گزارش موردی

یک زن ۳۵ ساله آفریقایی- کارائیبی مبتلا به بیماری کم خونی داسی شکل (SCD) با تب و درد مفصلی در بیمارستان بستری شد. وی از تکرر ادرار و دفع ادرار تیره نیز شاکی بود. هنگام بستری، درجه حرارت وی ۳۸$^{C°}$ و سطح هموگلوبین g/ ۸۰l، سطح بیلی روبین ۱۸۳mol/lμ (دامنه طبیعی ۲۱-۵ mol/lμ) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) وی ۳۲۳۵IU/L (دامنه طبیعی ۴۵۰-۲۲۰ IU/L) بود. او برای درد و عفونت ادارای تحت درمان قرار گرفت. گروه خونی بیمار O rr,K$^-$ بود و anti-S و anti-Fy^3 و anti JK^b درسرم وی وجود داشت در سرم بود (این آنتی بادی‌ها ۱۰ سال قبل در آزمایشگاه مرجع منطقه ای یافت شده بودند). بررسی در بخش انتقال خون بیمارستان، نتیجه مثبت آنتی گلبولین مستقیم (DAT) با آنتی بادی‌های Pan reacting را در سرم بیمار مشخص نمود. نمونه های بیمار به آزمایشگاه مرجع، فرستاده شد و وجود anti-Fy^{3}و anti JK^b در سرم تأیید گردید. DAT نیز مثبت بود (1+IgG و 2+C3d).

۱۲ روز قبل از این نوبت بستری، بیمار برای آمادگی جهت عمل چشم در بیمارستانی در منطقه دیگر تعویض خون نموده بود. در آن نوبت بستری، هیچ گونه آلوآنتی بادی علیه RBC در نمونه‌های قبل از انتقال خون یافت نشده بود و آزمایشگاه انتقال خون آن بیمارستان از آنتی بادی‌هایی که قبلا کشف شده بود اطلاعی نداشت. ۸ واحد RBC گروه Orr, K$^-$ کراس مچ شده سازگار جهت تعویض خون مورد استفاده قرار گرفت. سطح هموگلوبین بیمار پس از تعویض خون به ۱۱۰g/L با ۲۶٪: HbS رسیده بود.

۴۸ ساعت پس از این نوبت بستری Hb بیمار به ۴۷g/l رسید و تشخیص یک واکنش هیپرهمولیتیک ناشی از انتقال خون برای بیمار داده شد. آزمایشگاه مرجع توانست ۲ واحد گلبول قرمز فشرده با آنتی ژن‌های سازگار فراهم نماید ولی در مورد انجام انتقال خون بعدی نگرانی هایی وجود داشت. زیرا این امر ممکن بود همولیز را تشدید نماید بنابراین تصمیم گرفته شد که IVIG/ استروئید تجویز شده، بیمار تحت پایش مداوم باشد. برای بیمار روزانه ۰/۴ g/kg IVIG برای ۵ روز و متیل پردنیزولون وریدی ۵۰۰mg/d برای ۲ روز تجویز گردید. در روز دوم درمان سطح هموگلوبین تا ۳۸g/l افت نمود ولی در روز ۶ پس از شروع درمان، سطح هموگلوبین به ۶۵g/l رسید. در سیر بهبود بیمار، افزایش تدریجی تعداد رتیکولوسیت ها نیز مشاهده شد. شمارش مطلق رتیکولوسیت‌ها در روز دوم پس از بستری ۱۳۰*۱۰^{۹} (دامنه طبیعی ۱۵۰*۱۰^{۹}-۹) و در روز سوم پس از شروع درمان ۲۹۳*۱۰^{۹}/l بود. کاهش سطح بیلی روبین و LDH نیز پس از بهبود بیمار ثبت گردید. بیمار ۱۱ روز بعد با سطح هموگلوبین ۶۵g/L و سطح بیلی روبین ۱۴μmol/L میکرومول درلیتر مرخص شد.



شکل ۱: تغییرات غلظت هموگلوبین، تعداد مطلق رتیکولوسیتها، بیلی روبین و LDH پس از درمان با IVIG و متیل پردنیزیون (MP) وریدی

بحث

واکنش هیپرهمولیتیک ناشی از انتقال خون با همولیز شدید همراه است و با افت هموگلوبین به حد قبل از انتقال خون، که نشاندهنده لیز گویچه های سرخ (آندوژن) و دریافتی میباشد، مشخص می شود. افت تعداد مطلق رتیکولوسیت‌ها (کمتر از سطح پایه معمول بیمار) هنگام همولیز و افزایش تعداد رتیکولوسیت‌ها در موقع بهبود، یک یافته شایع می باشد. دو شکل مجزا از HHTR وجود دارد: نوع حاد و نوع تأخیری. شکل حاد معمولا در عرض کمتر از ۷ روز بعد از انتقال خون روی می دهد. آزمایش آنتی گلوبین مستقیم (DAT) ممکن است منفی باشد. بررسی‌های سرولوژیک نمونه‌های پس از انتقال خون ممکن است ایجاد آلو آنتی بادی‌های جدید علیه گویچه های سرخ را نشان ندهد و انتقال گلبول‌های قرمز آنتی ژن منفی کراس مچ شده سازگار ممکن است مانع بروز واکنش انتقال خون شود. در نوع تاخیری DAT مثبت است و آلو آنتی بادی‌های ضد گویچه های سرخ در نمونه‌های سرم پس از انتقال خون قابل شناسایی هستند. مورد ما نمایانگر نوع تاخیری HHTR هست زیرا واکنش بیش از ۷ روز پس از انتقال خون روی داده و آنتی بادی‌های ضد گویچه قرمز در نمونه‌های پس از انتقال خون شناسایی شده بودند واکنشهای جدی تهدید کننده حیات، انتقال خون بعدی با تجویز IVIG استروئید انجام شده بود.

در مورد ما، به نظر می رسد بیمار به درمان با IVIG/ استروئید جواب داده و در بررسی متون علمی، ۵ مورد شناسایی شد که برای HHTR تحت درمان با IVIG/استروئید قرار گرفته بودند. در همه این موارد کم خونی بدون انتقال خون تصحیح شده و همولیز نیز رفع گردیده بود. جدول ۱ چکیده این موارد را نمایش می دهد.

جدول ۱: چکیده واکنش‌های هیپرهمولیتیک ناشی از انتقال خون: بررسی‌های سرولوژیک، مداخله درمانی با IVIG/ استروئیدها (پاسخ درمانی: سطوح Hb قبل و پس از درمان)

تشخیص/ مرجع	نوع واکنش ناشی از انتقال خون/ زمان آغاز علایم پس از انتقال خون	آنتی بادی‌های کشف شده	سطح Hb قبل از درمان	مداخله درمانی استروئید/ IVIg	سطح Hb پس از درمان
کم خونی داسی شکل win/(SCD) و همکاران	واکنش هیپرهمولیتیک حاد HHTR/ ۵ روز	عدم کشف آنتی بادی ضد RBC	۴۱g/L	IVIG به میزان ۱g/kg در روز به مدت دو روز Prednisolone ۱mg/kg/d به مدت ۷ روز	۶۲g/L (روزهفتم)
کم خونی داسی شکل win/(SCD) و همکاران	(a سابقه HHTR حاد در هفته ۲۶ حاملگی که با دریافت IVIG/استروئید/ خون، هموگلوبین به ۸۰g/L رسید. (b در هفته ۳۶ حاملگی، هموگلوبین تا حد ۶۷g/L افت کرد..	عدم کشف آنتی بادی ضد RBC	۶۷g/L	IVIG به میزان mg/kg/d ۰/۴ به مدت پنج روز بدون استروئید	۹۰g/L (روزپنجم)
کم خونی داسی شکل win/(SCD) و همکاران	HHTR تأخیری/ ۵ روز	Anti S و anti Kn[a] و anti JK[a]	۳۵g/L	IVIG به میزان mg/kg/d ۰/۴ در روز به مدت پنج روز و متیل پردنیزولون ۰/۵g/d بمدت دو روز و ۱g/d بمدت ۱ روز	۶۱g/L (روزسوم)

تشخیص/ مرجع	نوع واکنش ناشی از انتقال خون/ زمان آغاز علایم پس از انتقال خون	آنتی بادی‌های کشف شده	سطح Hb قبل از درمان	مداخله درمانی استروئید/ IVIg	سطح Hb پس از درمان
کم خونی داسی شکل / mota و همکاران	a/ نوبت اول (DHTR)/۶ روز b/ نوبت دوم HHTRحاد/۲ روز با دریافت دو واحد خون کراس مچ شده سازگار دو روز بعد از انتقال خون به حد ۵۳g/L افت نمود c /نوبت سوم HHTR حاد: بیمار پس از دریافت خون سازگار کراس مچ شده (براساس ژنوتیپ) واکنش داد و انتقال خون متوقف گردید	Anti-c anti-c بدون آنتی بادی دیگر Anti c بدون آنتی بادی دیگر	۵۳ g/L	استروئید+IVIG (دوزها مشخص نشده است)	۹۷ g/l
آنمی مقاوم (Refractory anemia) muro/ و همکاران	a/ اولین نوبت DHTR بود و هموگلوبین ۴ روز پس از انتقال خون به g/L افت نمود. b HHTR/ حاد چند ساعت پس از انتقال خون	عدم کشف آنتی بادی RBC عدم کشف آنتی بادی ضد RBC آنتی بادی‌های ضد HLA (۱۱A و ۳۵B)	۵۷ g/L	استروئید + IVIG (دوزها مشخص نشده است)	پاسخ درمانی*

*نشانه‌های بیماری به تدریج برطرف شد. بیمار یک هفته بعد یک واحد خون متراکم سازگار از نظر HLA دریافت نمود.

در این موارد، علل به تعویق انداختن انتقال خون و تجویز IVIG/ استروئید مورد بررسی قرار گرفت. موارد ۱ تا ۳ مبتلایان به کم خونی داسی شکل (SCD) بودند، علت به تعویق انداختن تزریق خون، نگرانی در مورد بدتر شدن همولیز به خاطر انتقال خون بود. بیمار باردار (مورد دوم) که در هفته ۲۶ حاملگی دچار HHTR حاد شد IVIG/ استروئید و خون دریافت نمود. ۵ روز مجددا پس از شروع درمان سطح هموگلوبین به ۸۵g/L رسید. سطح Hb در هفته ۳۰ حاملگی به حد ۶۷g/L افت نمود.

هدف اولیه از تجویز IVIG به سومین بیمار SCD، دریافت خون تحت پوشش IVIG بود ولی با افزایش سطح هموگلوبین تا حد مطلوب، انتقال خون انجام نگردید. از آنجایی که بیمار دچار HHTR تأخیری بود، در آزمایش نمونه پس از انتقال خون، آنتی بادی Pan reacting قوی ناشناخته ای کشف شد که جهت بررسی بیشتر به آزمایشگاه مرجع بین المللی تعیین گروه خون ارجاع گردید. در حین انتظار برای نتایج آزمایشات سرولوژیک، درمان با استروئید/ IVIG آغاز گردید.

دو بیمار دیگر مبتلا به SCD نبودند. در هر دو مورد، IVIG و استروئید به علت طبیعت عود کننده نوع حاد HHTR با وجود استفاده از خون کراس مچ شده سازگار، تجویز شد.

در HHTR، سطح Hb معمولا به پایینتر از مقادیر قبل از انتقال خون افت می نماید. چگونگی آسیب زایی (پاتوزنز) این واکنش نامعلوم می باشد. مکانیسم‌های احتمالی عبارتند از: سرکوب اریتروپوئز، همولیز ناشی از تاثیر جانبی (bystander hemolysis) و وجود آنتی بادی‌های ضد HLA.

نوع حاد HHTR اغلب یک معضل تشخیصی است زیرا آنتی بادی‌های ضد گلبول قرمز اغلب یافت نمی شوند (مدرکی دال بر تخریب گلبول‌های قرمز به واسطه واکنش‌های ایمنی ناشی از آنتی بادی‌ها وجود ندارد) و پیشنهاد شده که در این حالت گلبول‌های قرمز خود بیمار، گلبول‌های قرمز انتقال یافته به بیمار و رتیکولوسیت‌ها توسط ماکروفاژهای فعال شده تخریب می شوند. مطالعات اخیر نشان داده است که مولکول چسبندگی داخل سلولی ۴، یک گلیکوپروتئین که روی گلبول‌های قرمز و پیش سازهای اریتروئید ظاهر میشود، از طریق رسپتورهای اینتگرین $CD_{۱۱C}$-$CD_{۱۸}$ با ماکروفاژها میانکنش میکند. با تزریق آنتی بادی‌های ضد اینتگرین و آنتی بادی‌های ضد مولکول چسبندگی داخل سلولی ۴ میتوان از اریتروفاگوسیتوز ممانعت نمود. این یافته‌ها از نقش احتمالی ماکروفاژ در تخریب گلبول‌های قرمز حمایت میکنند. IVIG می تواند با ممانعت از چسبیدن گلبول‌های قرمز داسی شکل و رتیکولوسیت‌ها به ماکروفاژها از طریق کاهش فعالیت ماکروفاژها، با مکانیسم تنظیم ایمنی دوره همولیز را کوتاه نماید. ممکن است نوع تاخیری HHTR ، شکل تشدید یافته واکنش‌های همولیتیک تاخیری ناشی از انتقال خون (DHTR) باشد. از سال ۲۰۰۵ تا ۲۰۰۸، اداره دارو غذای ایالات متحده آمریکا گزارش ۳۴ مورد DHTR مرگبار را دریافت نموده است. از این رو آگاهی در مورد HHTR بسیار حائز اهمیت است زیرا در این گونه موارد بروز واکنش حتی در صورت تزریق خون سازگار کراس مچ شده نیز در نوبت‌های بعدی قابل پیشگیری نخواهد بود. مورد گزارش ما و مورد دیگری که در مقالات قبلی (جدول ۱) ذکر گردیده، نشان می دهند که تجویز استروئید/ IVIG میتواند کم خونی را تصحیح نموده و بدون نیاز به انتقال خون اضافه، همولیز را در HHTR مرگبار شدید بهبود بخشد. این یافته‌ها بیش از پیش نظریات پانل تخصصی کانادا (۲۰۰۷) را تأیید مینماید. طبق نظر این پانل تجویز IVIG در درمان موارد معمول DHTR جایی ندارد و تنها در موارد HHTR جدی و تهدید کننده حیات در مبتلایان به SCD و افراد غیر مبتلا به SCD باید مدنظر قرار گیرد.

روش جدیدی برای از بین بردن تومورهای سرطانی ابداع شد

منبع : اخبار پزشکی، شماره ۱۴۴ ، نیمه مردادماه ۱۳۸۹

دانشمندان با استفاده از پرتو درمانی روش جدیدی را برای از بین بردن تومورهای سرطانی ابداع کرده اند که عوارش جانبی کمتری دارد و کمترین آسیب را به بافت سالم اطراف می‌رساند.

به گزارش تای ایندین نیوز، در این روش محققان برای از بین بردن سلول‌های تومور از حرارت استفاده کردند که بافت سالم اطراف دست نخورده باقی می‌ماند.

محققان ترکیب خاصی از نانو ذرات و پادتن ساختند که با استفاده از زیست نشانگرهای خاص متصل به تومورهای فرد، محل تومور را پیدا می‌کند و خود را به آن می‌چسباند. محققان گفتند: زمانی که این نانو ذرات به تومور می‌چسبند ، ما آنها را با یک میدان مغناطیسی خارجی تحریک می‌کنیم و به صورت بسیار خاص و موضعی شروع به گرم شدن می‌کنند.

محققان خاطرنشان کردند: این میدان مغناطیسی برای افزایش هدفمند درجه حرارت دستکاری می‌شود و این افزایش مستقیم حرارت موجب کشته شدن تومورها می‌شود. ثابت شده که این درمان علیه سرطان‌های اپی تلیال که تقریبا می‌تواند در هر قسمتی از بدن مانند سینه و ریه گسترش یابد، موثر بوده است.

به گزارش ایرنا، این ترکیب خاص از نانو ذرات و پادتن‌ها را می‌توان از طریق تزریق موضعی یا تزریق درون جریان خون به راحتی و به صورت بی خطر استفاده کرد.

مزیت دیگر این ترکیب این است که بدون بر جای گذاشتن اثر و با حداقل عوارض جانبی از بدن خارج می‌شود. این درمان علاوه بر این که حداقل تهاجم را در بر دارد سرعت بهبودی را نیز افزایش می‌دهد و می‌توان به طور سرپایی انجام داد.

کل این روش تنها شش ساعت طول می‌کشد که به بیماران اجازه می‌دهد به راحتی در خانه‌های خود بهبود یابند.

این یافته‌ها در مجله Nanomedicine منتشر شده است.

تولید آنتی بادی القا کننده مرگ در سلول‌های سرطانی

منبع: هفته نامه پزشک امروز
شماره ۱۲۹ . مرداد ۱۳۸۹

محققان جهاد دانشگاهی موفق به تولید آنتی بادی قادر به القای مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی شدند. پژوهشکده آنتی بادی مونوکلونال پژوهشگاه فن آوری‌های نوین علوم زیستی ابن سینای جهاد دانشگاهی توانسته است آنتی بادی مونوکلونال ضد مولکول Her2 را تولید کند. این آنتی بادی قادر به شناسایی مولکولHer2 در بیشتر و یا حتی تمامی سلول‌های سرطانی سینه است.

این آنتی بادی قادر به القای مرگ سلولی (Apoptosis) در سلول‌های سرطانی است. این مطالعات نشان می‌دهد که این آنتی بادی در مرگ سلول‌های غیر سرطانی و طبیعی بدن که دارای پروتئین Her2 در سطح خود هستند تاثیری ندارد. این مشخصه از اهمیت خاصی برخوردار بوده و باعث کاهش عوارض جانبی ناشی از درمان سرطان سینه به وسیله آنتی بادی‌های ضد Her2 در مقایسه با آنتی بادی‌های درمانی موجود در بازار خواهد بود.

آنتی بادی‌های درمانی موجود برای درمان سرطان پستان صرفا قادر به القای مرگ سلولی در حدود ۲۰ درصد افراد مبتلا به سرطان سینه (Her2+) هستند که نشانگر برتری آنتی بادی تولید شده در پژوهشگاه ابن سینا است. این تحقیقات در مرحله آزمایش روی موش‌ها بوده و تحقیقات برای انسانی کردن آنتی بادی ادامه دارد.

ردیف	عنوان برنامه	تاریخ	برگزارکننده	محل برگزاری
۱	برنامه مدون سیتوپاتولوژیI-دستگاه تناسلی زنان	شنبه ۸۹/۱۰/۰۴	انجمن آسیب شناسی	بیمارستان آتیه
۲	برنامه مدون سیتوپاتولوژیII-مایعات و ترشحات	یکشنبه ۸۹/۱۰/۰۵	انجمن آسیب شناسی	بیمارستان آتیه
۳	برنامه مدون بیوشیمی I	دوشنبه ۸۹/۱۰/۰۶	انجمن آسیب شناسی	بیمارستان آتیه
۴	برنامه بازآموزی آنفوالانزا نوع A	سه شنبه ۸۹/۱۰/۰۷	انجمن آسیب شناسی	بیمارستان آتیه
۵	برنامه مدون بانک خون	چهارشنبه ۸۹/۱۰/۰۸	انجمن آسیب شناسی	بیمارستان آتیه
۶	برنامه مدون پاتولوژی بافت نرم	پنجشنبه ۸۹/۱۰/۰۹	انجمن آسیب شناسی	بیمارستان آتیه

مروری بر ویژگی‌های مورفولوژیک، جنبه‌های بیماریزایی و آشنایی با روش‌های ملکولی شناسایی گونه‌های کاندیدا

دکتر محمد قهری، دانشگاه امام حسین(ع)

بخش پایانی

نواحی ژنی مورد مطالعه در قارچ شناسی

چندین هدف (target) در ژنوم قارچ‌ها ارزیابی شده است و از بین توالی‌های ژنی که بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است DNA ریبوزومی(rDNA) می‌باشد. DNA ریبوزومی درتمام میکرو ارگانیسم‌ها وجود دارد و توالی‌های ناهمگون موجود در این ژن برای تقسیم بندی فیلوژنتیک میکروارگانیسم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. کمپلکس ژنی rDNA از جهت ’۵ به ’۳ مشتمل است بر IGS (Intergenic Spacer Region) که خود شامل ETS1 (External Transcribed Spacer)در انتهای ’۵ وETS۲ در انتهای ’۳ است. همراه این قطعه در نواحی مختلف ژن‌های 18S rDNA ، 5S rDNA، ناحیهITSI ، ژن 5.8S rDNA ، ناحیه ITS2و ژن 28S rDNA قرار دارند.

نسخه برداری در هسته سلول پیش ساز اولیه در تشکیل RNA ، شامل نوکلئوتیدهای مربوط به زیر قطعه 5’ -ETS1 / 18S/ITS1/ 5.8S /ITS2 /28S/ ETS2 -3’ است که به عنوان قطعه نسخه برداری 35S rDNA تا 45S rDNA خوانده می‌شود. این واحد ژنومی که حاوی ژن‌های ضروری برای تشکیل RNA ریبوزومی است کمپلکس ژنی DNA ریبوزومی قارچ‌ها را تشکیل می‌دهد.

از آنجا که ژن 5S rDNA در مرحله ای دور از سایر فراورده‌های ژنی DNA ریبوزومی فرآوری می‌شود، لذا این قطعه به عنوان بخشی از نسخه RNA پیشرو محسوب نمی‌شود و از بحث کمپلکس DNA ریبوزومی خارج می‌شود. هر چند این قطعه در تشکیل ریبوزوم بسیار مهم است.

اولین سلول یوکاریوت که توالی کامل ژنوم آن تعیین گردیده است قارچ مخمری ساکارومایسس سرویسیه است. در این مخمر اندازه کمپلکس ژنی DNA ریبوزومی حدود ۹ کیلو باز و در کروموزوم شماره ۱۲واقع می‌باشد. این کمپلکس ژنی تقریبا ۱۴۰بار در این کروموزوم تکرار شده و لذا کل فضایی که توسط آن اشغال شده است حدود ۱۳/۴ مگا باز است یعنی تقریبا ده درصد کل ژنوم را تشکیل می‌دهد. در سایر مخمرها و کپک‌ها از جمله مخمرهای جنس کاندیدا نیز وضعیت کم و بیش به همین صورت است. تمام ژن‌های موجود در کمپلکس DNA ریبوزومی در مطالعات مربوط به تکامل ملکولی قارچ‌ها مورد استفاده قرار گرفته است. برای آشنایی بیشتر با این کمپلکس ژنی قسمت‌های مختلف آن را مورد مطالعه قرار می‌دهیم:

ناحیه 18 S rDNA

شامل حدود ۱۸۰۰جفت باز بوده و حاوی هر دو نوع توالی محافظت شده و متغیر است. تنوع توالی در این قطعه برای طبقه بندی و جداسازی جنس‌ها و گونه‌ها از یکدیگر بر مبنای پلی مرفیسم موجود در این توالی مورد استفاده واقع شده است. اما با توجه به اینکه تنوع مذکور قطعات وسیعی از بازها را در بر نمی‌گیرد، این قطعه برای شناسایی گونه‌های یک جنس خاص به کار نمیرود مگر این که روش‌های فوق العاده دقیق و پر هزینه مثل تعیین توالی انجام شود.

ناحیه 5.8S rDNA

حدود ۱۶۰جفت باز دارد و در اغلب گروه‌های اصلی ارگانیسم‌ها شدیدا حفاظت شده است. با توجه به اندازه کوچک و ماهیت حفظ شده آن، برای مطالعات فیلوژنیک و تقسیم بندی گو نه‌های قارچی مناسب نیست. ولی این قطعه به عنوان ناحیه هدف برای چسبیدن آغازگرهای ITS مفید است.

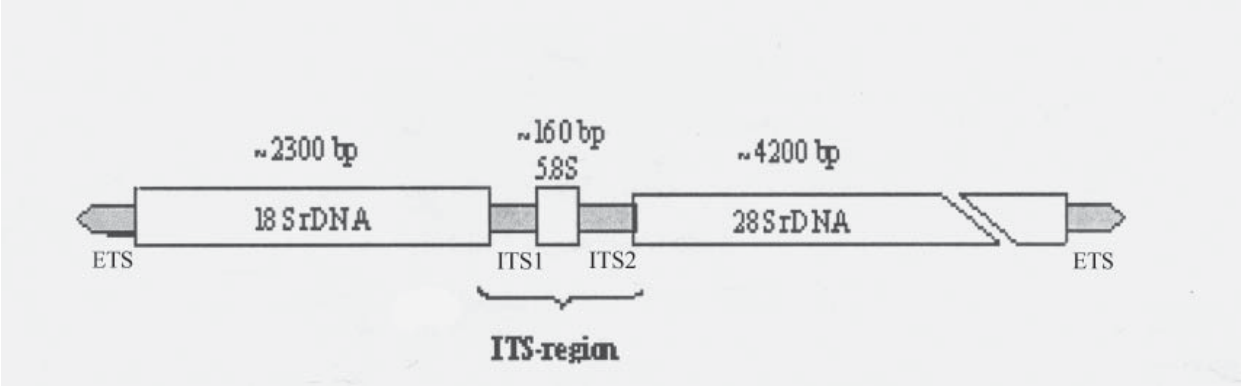
ناحیه 28S rDNA

در قارچ‌ها حدود ۳۴۰۰ جفت باز طول داشته و حاوی توالی محافظت شده و توالی متغیر است. قطعه متغیر این زیر واحد بزرگ ریبوزومی نیز برای بررسی و مقایسه ارگانیسم‌ها از سطوح عالی طبقه بندی تا سطوح گونه به کار می‌رود. با این وجود این قطعه آنقدر پلی مورفیسم ندارد که برای شناسایی معمول گونه‌ها مفید باشد.

علاوه بر قطعات ژنی فوق، چهار فضای دیگر بین این قطعات وجود دارد. دو فضا در دو طرف خارجی 18S و28S در ناحیه غیر رمز دهنده IGS موسوم به ETS1وETS2 و دو فضا در دو طرف داخلی 18Sو 28S موسوم به ITS1 و ITS2 .

5’ -ETS1 /18S/ITS1/ 5.8S /ITS2 /28S/ ETS2 -3’

هر دو ناحیه ETSحاوی توالی محافظت شده در بین سلول‌های قارچی بوده و اگر چه نقش بیولوژیک آنها به طور کامل شناخته نشده ولی به نظر می‌رسد که برای فرآوری DNA ریبوزومی اولیه در طی نسخه برداری حائز اهمیت می‌باشند. گرچه نواحی ITS نقشی در ترجمه پروتئین‌ها ندارند اما این نواحی نقش بسیار مهمی در توسعه عملکردهای DNA ریبوزومی ایفاء می‌کنند و با توجه به تفاوت‌های نواحی مذکور در گونه‌های مختلف قارچی می‌توان از آن در بررسی ملکولی بین گونه‌ها به منظور تشخیص و تمایز گونه‌ها استفاده نمود.



نقشه شماتیک DNA ریبوزومی

نواحی ITS1 , ITS2

نواحی ITS1 و ITS2، ژن 5.8SrDNA را در بر می‌گیرند. اندازه این قطعات از حدود ۱۰۰۰جفت باز در سلول انسان تا کمتر از ۳۰۰ جفت باز در بعضی مخمرها متفاوت است. این نواحی بینابینی برای نسخه برداری اولیه طی فرآوری rRNA نیز از اهمیت بالایی برخوداردند. نواحی ITS در تحقیقات بسیاری به عنوان قطعه هدف با مقاصد مختلف و به روش‌های متفاوت مورد بررسی قرار گرفته است. نکته مهم اینکه قطعات 18S،5.8S و 28S در ژن‌های rRNA هسته ای کد کننده بوده و در بین قارچ‌ها نسبتا حفاظت شده است و برای درک ارتباطات فیلوژنیک مفید می‌باشند. بین این نواحی، نواحی کد کننده ITS1 وITS2 قرار دارند که با سرعت بیشتری تکامل یافته اند و لذا توالی آنها در بین حتی گونه‌های یک جنس متفاوت است. بدین ترتیب بررسی پلی مرفیسم حاصل با روش‌های متنوع می‌تواند کمک شایانی برای شناسایی جنس‌ها و حتی گونه‌های مختلف باشد. از جمله این روش‌ها می‌توان به آنالیز توالی ITS تکثیر شده با PCR ، استفاده از آغازگرهای اختصاصی جنس و گونه، پروب‌های الیگونوکلئوتیدی و استفاده از RFLP اشاره کرد. منتهی در موارد نادری توالی نوکلئوتیدها در یک یا دو بخش ITS در بین گونه‌ها بیش از ۹۹٪ تشابه دارند و لذا برای شناسایی گونه‌ها کاربردی نیست. همچنین در بین سویه‌های مربوط به گونه‌ها تنوع این ژن‌ها آنقدر نیست که بتوان با تعیین توالی آنها، تنوع داخل گونه ای را سنجید. با استفاده از تعیین توالی مستقیم ناحیه ITS که با PCR تکثیر شده است قارچ‌های زیادی شناسایی شده اند که می‌توان به درماتوفیت‌ها، مالاسزیا، کاندیدا، آسپرژیلوس، کلادوسپوریوم، رودوترولا و کریپتوکوکوس اشاره کرد.

همچنین با استفاده از آغازگرهای اختصاصی جنس یا گونه و نیز پروب‌های اولیگونوکلئوتیدی که اختصاصا به ناحیه ITS می‌چسبند بسیاری از قارچ‌ها به ویژه گونه‌های مهم کاندیدا مورد شناسایی قرار گرفته اند. به عنوان مثال، (Fugita 1991) پروب اختصاصی برای ناحیه ITS2 تهیه کرد و با آن گونه‌های آلبیکانس، تروپیکالیس، پاراپسیلوزیس، کروزه ای و گلابراتا را شناسایی کرد. وی همچنین نشان داد که کاربرد این روش‌ها برای ردیابی کاندیدا در خون حساسیت و ویژگی کافی دارد. پس از او (Elie 1998) پروب‌هایی برای شناسایی سایر کاندیداها طراحی و استفاده نمود.

اهمیت و ضرورت تایپینگ (تعیین نوع)

با توجه به شناسایی گونه‌های مختلف و جدید در جنس کاندیدا و نقش آنها در بیماری‌های انسانی اما همچنان گونه آلبیکانس به عنوان مهمترین و بیماریزا ترین گونه این جنس در نظر گرفته می‌شود و به تازگی تلاش‌ها بر روی تایپینگ ایزوله‌های کاندیدا آلبیکانس توسط پروفایل‌های restriction enzymes ، کاریوتایپینگ و دیگر تکنیک‌های ملکولار بیولوژی مانند RAPD متمرکز گردیده است.

روش‌های متعددی برای تایپینگ ملکولی این ایزوله‌ها وجود دارد و در گزارش‌ها و مقالات زیادی از آنها نام برده شده است. همچنین گزارش‌های فراوانی از جداسازی گروه‌های ژنوتیپیک غیر معمولی کاندیدا آلبیکانس (گروه‌های C و D) وجود دارد. با توجه به اختلاف در مانان دیواره سلولی کاندیدا آلبیکانس، دو نوع سروتیپ A و B نشان داده شده است. گزارش‌های قبلی شیوع بیشتر سروتیپ A در نمونه‌های بالینی را خاطرنشان ساخته اند. در برخی مناطق جغرافیایی در افراد دچار ضعف سیستم ایمنی سروتیپ B که به فلوروسیتوزین هم حساسیت کمتری دارد بیشتر دیده می‌شود. گزارش‌های متفاوتی نیز از شیوع ژنوتیپ‌های خاصی از کاندیدا آلبیکانس در برخی مناطق

جغرافیایی و یا در محل‌های آناتومیک مختلف بدن وجود دارند و داده‌های جدید بیان می‌کنند که برخی از ژنوتیپ‌ها نسبت به برخی دیگر از قدرت بیماری زایی بالاتری برخوردار هستند. در کشور ما تشخیص آزمایشگاهی عفونت‌های مخمری تنها در حد شمارش کلنی و به ندرت در حد افتراق کاندیدا آلبیکانس از بقیه مخمرها آن هم معمولا با استفاده از یک یا دو آزمون فنوتیپیک انجام می‌گیرد و شناسایی سایر گونه‌ها تنها محدود به پایان نامه‌های دانشجویی می‌باشد. علت این مسئله بالا بودن هزینه شناسایی مخمرها، وقت گیر بودن روش‌های کلاسیک شناسایی مخمرها و نیز کم بودن اطلاعات و ضعف استفاده از روش‌های جدیدتر می‌باشد.

با مشخص کردن چگونگی توزیع و فراوانی گونه‌های مختلف کاندیدا و با توجه به ارتباط نزدیکی که بین ایجاد عفونت در شرایط مختلف و وضعیت‌های خاص بالینی دارند و از طرف دیگر با توجه به تفاوتی که در میزان حساسیت یا مقاومت آنها به داروهای مختلف ضد قارچی (آمفوتریسین B ، فلوسیتوزین، ایتراکونازول، فلوکونازول) دیده می‌شود، نهایتا با در نظر گرفتن فاکتورهای خطر اختصاصی می‌توان از بروز عفونت‌های مختلف خونی و تهاجمی توسط گونه‌های مختلف کاندیدا اقدامات پیشگیرانه انجام داد و در صورت بروز اینگونه عفونت‌ها داروهای ضدقارچی مناسب و موثر بر علیه گونه خاص عامل را به کار گرفت.

شناسایی گونه‌های کاندیدا به دلیل مشخصه‌های اندک فنوتیپیک که بتوان پایه شناسایی را بر روی آن بنا نهاد و نیز به دلیل تنوع و اختلاف داخل گروهی در برخی از ویژگی‌های آنها دشوار می‌باشد. در حال حاضر شناسایی ایزوله‌های کاندیدا در آزمایشگاه‌های روتین و حتی در آزمایشگاه‌های مرجع قارچ شناسی بر اساس روش چند مرحله ای مبتنی بر خصوصیات فنوتیپیک است که شامل ترکیبی از مشخصه‌های مورفولوژیکی، پروفایل‌های جذب و تخمیر قندها، شناسایی متابولیت‌های خاص و رشد در محیط‌های کشت مختلف می‌باشد. این روش‌ها آهسته و وقت گیر بوده ممکن است گونه‌هایی را که ارتباط نزدیکی با یکدیگر دارند شناسایی نکند و گاهی نیز نتایج غیر قابل اعتمادی می‌دهند. روش‌های ملکولی شناسایی شامل PCR , DNA sequencing و غیره عموما نسبت به روش‌هایی که بر اساس مشخصه‌های فنوتیپیک بنا شده اند متمایز کننده تر و در نتیجه ارجح هستند.

روش‌های مختلف تعیین نوع

روش‌های متعددی برای تعیین ملکولی این جدایه‌ها وجود دارد و در گزارش‌ها و مقالات زیادی از آنها نام برده شده است. همچنین گزارش‌های فراوانی از جداسازی گروه‌های ژنوتیپیک غیر معمولی کاندیدا آلبیکانس (گروه‌های C وD) وجود دارد. از تکنیک‌های مختلفی برای ژنوتایپینگ سویه‌های کاندیدا آلبیکانس استفاده شده است که هر یک از آنها به نوبه خود دارای مزایا و معایبی می‌باشند. به طور کلی روش PFGE-BssHII، روش PFGE-SFi1 (که از روش‌های اختصاصی PFGE هستند)، rep-PCR ، روش Restriction Enzyme Analysis و بالاخره تکنیک RAPD را نام برده اند. روشهای PFGE(Pulse Field Gel Electrophoresis) به دلیل هزینه بر بودن و زمان طولانی اجرای آن برای مطالعات اپیدمیولوژیک توصیه نمی‌شود و عملا بیشترین کاربرد آن در مطالعات با حجم نمونه‌های محدود می‌باشد. PCR آمپلیفیکاسیون 25SrDNA و تکرارهای ALT برای ژنوتایپینگ سریع و تفکیک کاندیدا آلبیکانس در کاندیدیازیس سطحی مفید تشخیص داده شده است. تجزیه و تحلیل نشانگر microsatellite برای ژنوتایپینگ سریع کاندیدا آلبیکانس بوسیله روش multiplex PCR نیز گزارش شده است. همچنین از یک روش ترکیبی PCR / hybridization assay که بر اساس RAPD-PCR است نیز استفاده شده است. همانطور که ذکر گردید، اخیرا توجهات به سمت بررسی اختلاف و تنوع ژنتیکی در بعضی از گونه‌های کاندیدا علی الخصوص کاندیدا آلبیکانس معطوف شده است. در مطالعات مختلفی که در این راستا انجام شده تفاوت در بیماریزایی، قدرت تهاجمی و نیز حساسیت دارویی در ژنوتیپ‌های مختلف کاندیدا آلبیکانس نشان داده شده است، همچنین پراکندگی ژنوتیپ‌های مختلف در نواحی مختلف آناتومیک بررسی شده و نیز تفاوت در میزان حساسیت دارویی در برخی از ژنوتیپ‌ها نشان داده شده است.

آنالیز DNA پلی مورفیک تکثیر شده تصادفی (RAPD)

تکنولوژی PCR علاوه بر کاربردش در شناسایی سریع گونه‌های کاندیدا، برای شناسایی و افتراق سویه‌های کاندیدا مربوط به گونه‌های خاصی از آن به کار گرفته شده است.

آزمایش RAPD با PCR که به صورت متداول انجام می‌شود متفاوت است و یکی از وجوه تفاوت آن استفاده از یک الیگونوکلئوتید (معمولا ۱۰تا ۱۵جفت باز) با توالی اختیاری با استفاده از وضعیت و شرایط واکنش آمپلیفیکاسیون با شدت و سختی کم است. با توجه به دمای پایین آنیلینگ که در این واکنش بکار می‌رود آغازگرها می‌توانند به محل‌های فراوانی در سرتاسر ژنوم بچسبند و بنابراین محصولات آمپلیفیکاسیون در اندازه‌های مختلفی پدید می‌آیند.

اگر شرایط مطلوب برای آمپلیفیکاسیون وجود داشته باشد و توالی آغازگر به طور تجربی تعیین شده باشد این قطعات هنگامی که توسط الکتروفورز در ژل آگارز از یکدیگر جدا شده و با کمک اتیدیوم بروماید رنگ می شوند می توانند طرح‌های انگشت نگاری مختص گونه ای که شامل ۳ تا ۶ باند است را فراهم نمایند. طرح‌های افتراقی باندها بین سویه‌ها در نتیجه اختلاف و تنوع در نوکلئوتیدها در محل‌های اتصال آغازگر می‌باشد. الگوهای آمپلیمرها را می‌توان با آنالیز کامپیوتری مورد بررسی قرار داد و نشان داده شده است که توانایی RAPD برای گروه بندی

یا دسته بندی کردن ایزوله‌هایی که تا حد متوسطی با یکدیگر قرابت دارند قابل مقایسه با انگشت نگاری DNA با استفاده از پروب‌های مختص گونه ای است. این نکته که مقدار بسیارکم DNA برای RAPD مورد نیاز است و این مطلب که PCR روشی آسان و سریع می‌باشد موجب استفاده وسیع از این تکنیک در آنالیز جمعیت‌های کاندیدا شده است. هر چند که به منظور جلوگیری از تغییرات در شرایط تجربی و آزمایشگاهی مراقبت فوق العاده زیادی می‌باید به عمل آید زیرا حتی تغییرات کم در درجه حرارت یا غلظت کلرید منیزیم میتوانند موجب ظاهر شدن یا ناپدید شدن باندها شوند و بنابراین برروی تکرارپذیری تکنیک تاثیر بگذارند. برای به حداقل رساندن این مشکلات خردمندانه است که تنها محصولاتی که خوب آمپلیفیه شده اند مورد آنالیز قرار گیرند. در کوششی دیگر برای بهبود بخشیدن به قابلیت تکرار آزمایش، مطالعاتی انجام شده که در آنها از آغازگرهای هومولوگ با توالی‌های میکروساتلیت استفاده شده است {به عنوان مثال (GTG)5 و (AC)10 } که دارای دمای آنیلینگ نسبتا بالایی هستند .

اساس مولکولی RAPD

ماهیت قطعات تکثیر شده در این تکنیک به ردیف‌های بازی، طول آغازگر و توالی بازهای DNA مورد ارزیابی بستگی دارد. چند آغازگر با داشتن اختلاف در یک نوکلئوتید باندهای تکثیر شده متفاوتی ایجاد خواهند کرد. بنابراین تکثیر DNA با آغازگرهای دارای توالی‌های تصادفی و یا اختیاری برای کشف پلی مورفیسم موجود که به طور تصادفی در ژنوم هدف وجود دارند، روش بسیار حساسی است. یک آغازگر معمولا چندین باند را تکثیر می‌کند که هرکدام از یک ناحیه ژنوم منشا یافته اند. در این روش پلی مورفیسم DNA به دو صورت به وجود می‌آید، یا از اختلافات موجود در توالی‌های DNA در مکان‌های اتصال آغازگر، به عنوان مثال جهش‌های نقطه ای و یا از طریق دگرگونی‌هایی که اندازه DNA هدف را تغییر می‌دهند، مانند الحاق، حذف و واژگونی (inversion) که نواحی تکثیر شونده را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در مطالعات توارثی محصولات تکثیر شده به صورت نشانگر غالب انتقال می‌یابند.

در روش RAPD از آغازگرهای با حداقل محتوای ۵۰٪ C، G استفاده می‌شود و پیش بینی می‌شود که این آغازگرها به طور متوسط ۱۰ تا ۲ محصول تکثیر شده تولید نمایند. در این روش مکان‌های اتصال آغازگر روی دو رشته الگو بایستی در فاصله مناسبی قرار گرفته باشند تا DNA پلیمراز بتواند فاصله را طی کند. در یک ژنوم با اندازه فرضی، محاسبه احتمال پیدا کردن چنین مکان‌هایی ساده است. به نظر می‌رسد که یک رابطه خطی بین پیچیدگی ژنوم و میانگین تعداد باندهای مشاهده شده برای هر اغازگر وجود دارد. ولی آزمایش‌ها نشان داده اند که در ژنوم‌های بزرگ تعداد باندها مستقل از پیچیدگی ژنوم است و محصول نهایی واکنش توسط رقابت بین مواد اولیه تعیین می‌شود نه تعداد مکان‌هایی که برای اتصال آغازگر در اختیار هستند و حتی میزان کم اتصال آغازگرها به رشته DNA هدف نیز برای این کار کافی است.

مزایای تکنیک RAPD

• عدم نیاز به اطلاعات اولیه در مورد ردیف بازی DNA برای طراحی و ساخت آغازگر
• امکان بررسی همزمان چندین جایگاه در ژنوم نمونه‌ها
• عدم نیاز به پروب و مواد رادیواکتیو
• امکان بررسی تعداد زیادی از نمونه‌ها به طور همزمان
• سادگی و امکان پذیر بودن انجام این تکنیک

معایب تکنیک RAPD

• به دلیل ماهیت غالب و مغلوبی باندهای RAPD، امکان تشخیص سیستم آللی وجود ندارد و این موجب می‌شود تا عملا تعیین وضعیت هتروزیگوت و هموزیگوت غیر ممکن شود.

• امتیازبندی باندهای تولید شده از RAPD سخت و همراه با خطا می‌باشد.

• با توجه به اینکه آغازگرهای مورد استفاده در واکنش RAPD، به صورت تصادفی و بدون اطلاع اولیه از توالی نقاط اتصال آن، طراحی می‌شوند، محل مربوط به قطعات تکثیر شده با این آغازگرها بر روی ژنوم، نامعلوم خواهد بود.

• عدم تکرارپذیری از دیگر معایب تکنیک RAPD می‌باشد که آن را به کوتاه بودن آغازگرهای به کار گرفته شده و دمای پایین اتصال آغازگر به قطعه ی الگو نسبت می‌دهند. این امر موجب بروز خطا در اتصال آغازگر به قطعات دیگری که با نقاط متناظر خود دارای اندک اختلاف هستند، می‌گردد در نتیجه تکثیر غیر اختصاصی صورت می‌گیرد.

• از دیگر معایب این روش حساسیت در مقابل آلودگی به DNA از سایر منابع می‌باشد.

کاربردهای RAPD

۱ - ارزیابی تنوع ژنتیکی و طبقه بندی بر دو اصل تنوع و انتخاب پایه گذاری شده است. تنوع ژنتیکی، آستانه تحمل یک گونه را در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی بالا می‌برد. علاوه بر این با مطالعه تنوع ژنتیکی در بین نژادها و واریته‌ها می‌توان به نزدیکی ژنتیکی گونه‌ها پی برد. بنابراین با توجه به تنوع طبیعی وسیعی که در سطح موجودات زنده یافت می‌شود می‌توان از نشانگرهای DNA از جمله RAPD جهت طبقه بندی آنها استفاده کرد.

۲ - تهیه نقشه‌های ژنتیکی، یکی از اولین کاربردهای عملی نشانگر RAPD بوده است.

۳ - نشانمند کردن ژن‌ها

۴ - مطالعه روابط فیلوژنیک میان گونه‌ها و زیر گونه‌ها

یکی از کاربردهای RAPD

آیا سویه‌های مختلف کاندیدا آلبیکنس از نظرقدرت بیماریزائی با یکدیگر اختلاف دارند؟

با وجود علاقمندی جهانی که بر روی گونه‌های کاندیدا وجود دارد، اما اطلاعات اندکی در مورد ویژگی‌های اکولوژیکی جهانی گونه‌های کاندیدا وجود دارد. مطالعات متعدد در مورد ارتباط بین گونه‌های کاندیدا و جمعیت‌های انسانی در اروپا و آمریکا به طور مکرر ثابت کرده است که معمولترین گونه کومانسال و عامل اتیولوژیک کاندیدا آلبیکانس است. از آنجا که عفونت‌های مخمری اغلب توسط گونه‌ها و سویه‌های اندوژنوس ایجاد می‌شود و به دلیل اینکه گونه‌های کاندیدا و مخمرهای کومانسال دیگر در پاتوژنیسیته، حساسیت به داروهای ضد قارچی و دیگر فنوتیپ‌های مهم کلینیکی تفاوت دارند، بنابر این شایسته است که توزیع و انتشار اینگونه مخمرهای بیماریزا در نواحی جغرافیایی مختلف تحقیق و بررسی شود. از سوی دیگر نتایج برخی از تحقیقات قبلی نشان داده که ارتباطی بین ژنوتیپ‌های کاندیدا آلبیکانس و قدرت تهاجمی آنها وجود دارد، از جمله آنکه ژنوتیپ A نسبت به بقیه مهاجم تر است. یا اینکه حضور یا عدم وجود Transposable group I intron در ژن 25S rDNA ممکن است در تعیین قدرت تهاجمی کاندیدا آلبیکانس اهمیت داشته باشد. به تازگی مطالعات برروی ساختمان ژنتیکی جمعیت‌های کاندیدا آلبیکانس به عنوان رویکردی مهم برای فهم اپیدمیولوژی و پاتوژنیسیته آن متمرکز شده است.

اپیدمیولوژی ملکولی کاندیدیازیس

تا قبل ازسال ۱۹۹۰ تقریبا ۷۰ تا ۸۰ درصد تمام مخمرهای بیماریزای انسان را کاندیدا آلبیکانس تشکیل می‌داده است و به همین دلیل نیاز چندانی برای شناسایی سایر اعضا این جنس احساس نمی‌شد. افزایش بروز بیماری‌های قارچی و ظهور گونه‌های دیگر کاندیدا به عنوان پاتوژن‌های قابل توجه در انسان احتمالا در نتیجه معرفی داروهای ضد قارچی در سطح جهان، کار قارچ شناسان کلینیکی را با دشواری‌های جدید روبرو ساخت. بعد از آن دیگر انجام آزمون ایجاد لوله زایا برای مخمرهایی که جدا شده و کشت گردیده بودند کافی نبود. برای آنکه پزشک داروی مناسب و مطلوب برای بیماری که مشکوک به کاندیدیازیس است را تجویز کند، ضرورت دارد که عامل مذکور در زمان هر چه کوتاه تری در سطح گونه شناسایی شود. علی رغم کمکی که روش‌های مولکولی برای شناسایی سریع عوامل عفونی نموده اند، اما این روش‌ها همچنان راه کمال خود را طی می‌کنند. در واقع آزمایشگاه‌های قارچ شناسی کلینیکی هنوز از روش‌های آشکارسازی و شناسایی متکی بر کشت استفاده می‌کنند.

از اوایل سال‌های ۱۹۹۰ چندین مطالعه ی مراقبتی در مقیاس بزرگ بر روی اپیدمیولوژی عفونت‌های بیمارستانی انجام شده است. این مطالعات ظهور گونه‌هایی از قبیل کاندیدا گلابراتا، کاندیدا کروزیی و کاندیدا پاراپسیلوزیس را بعنوان پاتوژن‌های قابل توجه انسانی مد نظر قرار داده اند.

اگر چه در تمام این موارد، ایزوله‌های مربوط به هرگونه با استفاده از روش‌های روتین شامل کشت در محیط رنگزای کروم آگار کاندیدا و آزمایش‌های جذب قندها به صورت کیت مورد شناسایی قرار گرفته اند. بنابراین، روشن است که اگر چه روش‌های متکی بر PCR برای شناسایی گونه‌ها در مطالعات محدود آکادمیک سودمند بوده است، اما تکنولوژی که امروزه در دسترس است هنوز به قدر کافی پاسخگوی تعداد زیاد نمونه‌هایی که به طور روزمره در آزمایشگاه‌های کلینیکی وجود دارند نیست. با این وجود تحقیق در مورد آزمایش‌های تشخیصی بر پایه ملکولی در حال گسترش و توسعه است و پیش بینی می‌شود که در آینده نزدیک آزمایش‌های مولکولی سریع و ساده بسیار بیشتر در دسترس قرار گیرند. هرچند که تکنیک‌های مولکولی هنوز جایگاه خودشان را در زمینه شناسایی گونه‌ها بطور مناسب پیدا نکرده اند، اما مطمئنا یک نقش مهم در آنالیز مربوط به شناسایی سویه‌ها و مطالعات اپیدمیولوژیکی دارند. آشکار ترین دلیل برای مسئله فوق این است که روش‌های جانشینی مبتنی بر فنوتیپ که برای تفکیک سویه‌ها بکار می‌رود، بسیار غیر قابل اطمینان هستند. بنابراین علی رغم این حقیقت که اکثر روش‌های مولکولی نیاز به تجهیزات اختصاصی دارند، گرانقیمت هستند و نسبتا به مراحل پیچیده آزمایشگاهی نیاز دارند، اما به کمک آن‌ها می‌توان ایزوله‌ها را بطور موثری با یکدیگر مورد مقایسه قرار داد. همانطور که توضیح داده شد هر روش تعیین سویه دارای مزایا و معایب ویژه خود است. در اکثر مطالعات انجام شده به منظور مقایسه روش‌های مولکولی تعیین سویه‌های قابل دسترس، این تمایل وجود دارد که نتایج به دست آمده قابل مقایسه با یکدیگر باشند. اگر چه در خیلی از مطالعات اپیدمیولوژیکی توصیه می‌شود که از بیش از یک تکنیک انگشت نگاری DNA استفاده شود.

مطالعات زیادی وجود دارد که در آنها از تکنیک‌های انگشت نگاری DNA برای بررسی منبع و منشا عفونت‌های سیستمیک کاندیدایی بیمارستانی استفاده شده است. بر اساس این مطالعات مشخص شده است که اکثریت سویه‌های بیماری زا از فلور کومانسال داخلی یا درون زاد (اندوژنوس) خود بیمار منشا گرفته اند. در حقیقت کلونیزاسیون اولیه با گونه‌های کاندیدا یک فاکتور خطر قابل توجه برای اکتساب کاندیدمی است. علاوه بر این، به نظر می‌رسد که اکثر موارد به وسیله یک سویه ایجاد شده باشد. در برخی موارد سویه‌هایی با ژنوتیپ یکسان در بیماران مختلف شناسایی شده است که مطرح کننده ی این مسئله است که اپیدمی بوسیله ی یک کلون خاص می‌تواند ایجاد شود. در موارد دیگر استرین‌هایی که در بیماران شناسایی شده است در محیط هم مورد بررسی قرار گرفته اند که در برخی حالات شامل دست‌های پرسنل بهداشتی- درمانی بوده است. در حقیقت این

مسئله مطرح شده است که در بعضی موارد سویه‌های خاصی یا خوشه‌هایی از سویه‌ها ممکن است در نواحی جغرافیایی ویژه ای و یا در بخش‌های خاص بیمارستانی به صورت اندمیک موجود باشند. این داده‌ها تایید می‌کنند که اگرچه عفونت‌ها عمدتا به صورت درون زاد ایجاد می‌شوند ولی تحت شرایط ویژه ای می‌توانند به طریق برون زاد نیز پدید آیند. در حقیقت، انگشت نگاری DNA ایزوله‌های کلینیکی در تعیین منابع محیطی اپیدمی‌ها می‌تواند مفید باشد و می‌تواند به روش‌های کنترل عفونت‌های متقاطع کمک نماید. در مطالعات مشابهی که در آن‌ها منشا کاندیدیازیس سطحی مورد بررسی قرار گرفته اند مشخص شده که اکثریت قابل توجهی از این عفونت‌ها از طریق درون زاد بوجود آمده اند، اگرچه انتقال سویه‌ها بین افراد (شامل انتقال عمودی بین مادر و کودک) نیز ثابت شده است. بیماران مبتلا به کاندیدیازیس اغلب از عود مکرر بیماری رنج می‌برند.

مطالعات انگشت نگاری DNA نشان داده اند که این حالات عمدتا به وسیله ماندگاری استرین اصلی اولیه عامل عفونت واقع می‌شود. در برخی موارد سویه اصلی می‌تواند توسط سویه دیگری از همان گونه یا اساسا توسط گونه‌های دیگر از جنس کاندیدا جایگزین شود. اغلب این عفونت‌های عود کننده مربوط به نارسایی درمان ضد قارچی است که به هر دلیل منجر به ایجاد مقاومت در سویه کلونیزه کننده یا عامل عفونت شده است و یا اینکه موجب انتخاب سویه‌ها یا گونه‌هایی که ذاتا حساسیت کمتری دارند شده است. در مورد عفونت‌های سطحی این وضعیت غالبا پیچیده است. محل‌های آناتومیک مثل دهان و واژن می‌توانند توسط سویه‌ها وگونه‌های متعددی کلونیزه شوند و یا عفونت در آنها پدید آید. بنابراین دینامیک این جمعیت‌ها می‌تواند در طول زمان و یا در نتیجه ی بکارگیری درمان ضد قارچی تغییر کند.

یکی از مظاهر بکارگیری متدهای حساس انگشت نگاری DNA در کشف گونه بسیار نزدیک به کاندیدا آلبیکانس یعنی کاندیدا دابلینینسیس است که در اینجا پدیده ی تکامل میکروبیولوژیکی (Microevolution) به خوبی نشان داده می‌شود. به وسیله این روش‌ها اختلافات کم در پروفایل‌های (الگوهای) انگشت نگاری در یک کلون نشان داده می‌شوند. اهمیت این وقایع تکاملی و اثرات احتمالی که ممکن است روی فنوتیپ داشته باشند می‌باید همچنان اثبات شوند. در مورد کاندیدا دابلینینسیس توسعه مقاومت به فلوکونازول با تغییرات اندک در کاریوتیپ همراه بوده است. هر چند این مسئله که چقدر ارتباط و همبستگی بین این دو پدیده وجود دارد هنوز به خوبی تعیین نشده است. اگرچه در غیاب تولید مثل جنسی در شرایط آزمایشگاهی، برای گونه‌های کاندیدا که به تغییرات در شرایط محیطی تطابق می‌یابند، ممکن است تکامل میکروبیولوژیکی (Microevolution) فراهم شود.

روش‌های تعیین نوع سویه‌ها بویژه MLEE نیز بطور وسیعی در آنالیز زیست شناسی جمعیتی کاندیدا آلبیکانس مورد استفاده قرار گرفته است. در نتیجه این مطالعات، به فراوانی روشن شده است که کاندیدا آلبیکانس یک گونه ی هتروژنوس است که به صورت کلونال تکثیر می‌یابد، گرچه داده‌های به دست آمده از مطالعات جدید انگشت نگاری، شناسایی لوکوس در کاندیدا آلبیکانس همولوگ با لوکوس منطبق با آن در ساکارومیسس سرویسیه و شواهد جدید که کاندیدا آلبیکنس می‌تواند در شرایط آزمایشگاهی تولید مثل جنسی نماید، این مسئله را مطرح می‌کند که کاندیدا آلبیکانس ممکن است توانایی تولید مثل جنسی را داشته باشد و بنابراین درجه ی محدودی از نو ترکیبی در آن دیده شود. مطالعات گسترده ی انگشت نگاری مطرح کننده این واقعیت هستند که گروه‌های ویژه ی مرتبط به هم از کلون‌های کاندیدا آلبیکانس ممکن است در نواحی جغرافیایی و بیمارستانی خاصی اندمیک باشند. با این حال، مدارک و شواهدی وجود ندارد که نشان دهد که کلون‌های خاصی یا خوشه‌هایی از سویه‌ها به کلونیزه شدن در محل‌های آناتومیک خاصی تطابق پیدا کرده اند یا اینکه در گروه‌های خاصی از بیماران مانند بیماران HIV مثبت ایجاد عفونت نمایند. در مطالعات جمعیت شناسی مشابهی که توسعه ی مقاومت به فلوکونازول در آن‌ها تحقیق شده است، همبستگی بین مقاومت و ژنوتیپ‌های خاص نشان داده نشد که این مسئله مطرح کننده این نکته است که مقاومت به فلوکونازول عمدتا در سویه‌ها به طور مستقل و به صورت اتفاقی ایجاد می‌شود. بطور شگفت انگیزی در یک مطالعه جداگانه یک گروه از سویه‌های کاندیدا آلبیکانس مقاوم به فلوکونازول از بیماران HIV مثبت بدست آمد که یک خوشه ی ژنتیکی مشخص و مجزایی داشت و مطرح کننده این مسئله بود که مقاومت به صورت مستقل در استرین‌های مرتبط یا اینکه به وسیله ی یک سویه مقاوم در نتیجه ی انتقال افقی در بین بیماران پخش شده است.

هنگامیکه برای یک مطالعه ی اپیدمیولوژیکی بخواهیم از تکنیک‌های ملکولار استفاده کنیم، فاکتورهای مختلفی را برای آنکه از اعتبار داده‌ها اطمینان داشته باشیم لازم است در نظر داشته باشیم.

اول آنکه روشی (ترجیحا دو روش) که می‌خواهد مورد استفاده قرار گیرد باید به دقت انتخاب شود و قبلا اعتبار آن ثابت شده و حساس و قابل تکرار باشد.

دوم اینکه هنگامی که نمونه گیری اصلی انجام شد، برای اجازه دادن به حضور سویه‌های متعدد و برای تکامل (Microevolution)، خردمندانه است که کلنی‌های متعددی برای آنالیز انتخاب شوند. مطلب سوم آنکه سویه‌های کنترل مطرح که غیر مرتبط با آنهایی هستند که تحت مطالعه قرار می‌گیرند نیز باید در آنالیز داخل شوند و سرانجام، برای سنجیدن ارتباطات بین سویه‌های مرتبط و غیر مرتبط با هم، نتایج می‌باید با نرم افزارهای انگشت نگاری به کمک کامپیوتر مورد بررسی و مقایسه قرار گیرد. این سیستم‌ها همچنین اجازه می‌دهند که داده‌های انگشت نگاری حاصل از تجربیات و آزمایش‌های

جداگانه در پایگاه‌های اطلاعاتی ذخیره سازی (نگهداری) شوند و متعاقبا می‌توانند ما بین آزمایشگاه‌هایی که در مطالعات چند مرکزی مشارکت دارند به شراکت گذاشته شوند. مطالعاتی که در آنها از تکنیک‌های انگشت نگاری ملکولی استفاده کرده اند ثابت کرده است که در اپیدمیولوژی عفونت‌های کاندیدایی موثرند. این روش‌ها پایه‌هایی برای مطالعات آینده که تغییرات در اپیدمیولوژی کاندیدا را بررسی می‌کنند می‌باشند (به عنوان مثال در نتیجه درمان بسیار موثر ضد ویروسی، روش‌های جراحی جدید و درمان‌های سرطان و درمان‌های جدید ضد قارچی که برای درمان این دسته از عفونت‌ها معرفی می‌شوند)، که بدون شک با توجه به تغییر در جمعیت بیماران اتفاق خواهد افتاد و به رشد خود ادامه خواهد داد.

تایپینگ کاندیدا آلبیکانس

آزمایش RAPD برای بررسی چند شکلی ژنتیکی (پلی‌مرفیسم) ملکولDNA بکار می‌رود. در این آزمایش برخلاف ازمایش PCR قطعاتی ناشناخته و اتفاقی از ملکول DNA با کمک آغازگرهای تصادفی تکثیر می‌شوند. در PCR غالبا یک توالی شناخته شده از ملکول DNA برای تکثیر انتخاب می‌شود و آغازگرهای اختصاصی برای آنها طراحی می‌شود اما در آنالیز RAPD توالی‌های هدفی که قرار است تکثیر شوند ناشناخته‌اند. بنابراین در واکنش RAPD معمولا از یک آغازگر کوتاه که معمولا ۸ تا ۱۰جفت باز دارد و ردیف بازی آنها نیز به صورت تصادفی و اتفاقی تعیین شده است استفاده می‌گردد. آزمایش PCR بکمک یک آغاز گر با مشخصات فوق انجام گرفته و محصول آن بر روی ژل آگارز الکتروفورز می‌گردد تا مشخص شود که آیا قطعه یا قطعاتی از DNA در حضور این آغازگر اتفاقی تکثیر شده است یا خیر. در این روش آغازگر منفرد نقاط مکمل خود را بر روی رشته ی مقابل DNA ژنومی پیدا کرده و در آن نقاط بر روی دو رشته ی مکمل DNA متصل می‌شود. اگر محل اتصال آغازگرها بر روی دو رشته متقابل به هم نزدیک باشد ردیف بین آن دو نقطه طی واکنش PCR تکثیر می‌شود. سرعت و سادگی این تکنیک که بدون آگاهی داشتن از ژنوم و بدون استفاده از ایزوتوپ‌های رادیواکتیو قادر به آشکارسازی چندشکلی ژنتیکی است موجب شده است تا از آن برای تحقیقات بیولوژی ملکولی به صورت وسیعی استفاده شود. از جمله سوابقی که در مورد بکارگیری از این تکنیک در مطالعات ژنتیکی کاندیدا وجود دارد می‌توان به موارد زیر اشاره نمود:

Thanos و Collaborator در سال ۱۹۹۶ از آنالیز مقایسه ای الگوهای RAPD برای شناسایی گونه‌های کاندیدا در نمونه‌هایی که شناسایی آنها با تکنیک‌های سنتی نتایج مبهمی را داشت، استفاده کردند. در این مورد الگوی RAPD ایزوله‌های مجهول با نمونه‌های استاندارد در ژل یکسان بودند. آنها با مقایسه تکنیک‌های RAPD و الکتروفورز آنزیم‌های مولتی لوکوس دریافتند که می‌توان از تکنیک RAPD در بررسی‌های ژنتیکی استفاده کرد[۱].

Lin و Lechman در سال ۱۹۹۵ با استفاده از روش‌های مختلف از جمله RAPA، PFGE، RFLP و MLEE ارتباط اپیدمیولوژیک و ژنتیکی بین سویه‌های جدا شده از زخم‌های جراحی، دست‌ها و نازو فارنکس پرستاران را نشان دادند. مقایسه این روش‌ها نشان داد که شباهت‌های ژنتیکی به دست آمده از RAPD بیش از ۹۴/۴٪ بود و محققین اشاره کردند که این روش می‌تواند به طور موفقی برای آنالیز شیوع بیمارستانی استفاده شود[۲].

Iwata و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر اساس تعیین توالی بازهای موجود در 25SrDNA توانستند ۱۷۹ ایزوله کلینیکی کاندیدا آلبیکانس را به ژنوتیپ‌های A, B, C گروه بندی کرده و سپس هر کدام را به وسیله آمپلیفیکاسیون PCR تکرارهای ALT به ۵ تایپ گروه بندی کردند. گروه ۳ اکثریت ایزوله‌ها را در هر کدام از ژنوتیپ‌ها تشکیل داده است. محصولات PCR که از تکرارهای ALT به دست آمده بود با EcoRI و یا ClaI برای مطالعه ارتباطات بین پروفایل‌های restriction و پروفایل‌های آمپلیفیکاسیون مورد هضم قرار گرفتند. ۱۷۹ ایزوله کلینیکی به ژنوتیپ‌هایA (۹۲ ایزوله)، B (۳۸ایزوله) و C (۴۹ ایزوله) بر اساس 25SrDNA خود گروه بندی شدند و سپس به وسیله آمپلیفیکاسیون PCR با هدف تکرارهای ALT ، هریک به پنج تیپ طبقه بندی گردیدند: تایپ‌های ۳، ۴، ۳/۴ ، ۲/۳/۴ و ۳/۴/۵). تیپ ۳ کاندیدا آلبیکانس اکثریت ایزوله‌ها در هر ژنوتیپ را شامل می‌گردید.(۶۶/۳٪ برای ژنوتیپ A ، ۷۶/۳٪ برای ژنوتیپ B و ۷۳/۴٪ برای ژنوتیپ C). هر تایپ از کاندیدا آلبیکانس چندین طرح آمپلیفیکاسیون نشان دادند که نشاندهنده وجود زیر گروه‌ها می‌باشد. نتیجه ای که این محققان گرفتند این بود که آمپلیفیکاسیون PCR با هدف 25SrDNA و تکرارهای ALT برای ژنوتایپینگ سریع و تمیز دادن کاندیداآلبیکانس درگیر در کاندیدیازیس سطحی مفید است. همچنین MLST قدرت تفکیک کنندگی بیشتری نسبت به pfge-BssHII نشان داده است در این بررسی سویه‌های تایوانی کاندیدا آلبیکانس با سویه‌های استاندارد و سویه‌های جدا شده از بریتانیا و ایالات متحده مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که نوع DNA هر ایزوله patient specific بوده و با تیپ ABC مرتبط بوده است اما با mating type ، منبع آناتومیکی ایزولاسیون، منشا بیمارستانی و یا طرح‌های مقاومت به فلوکونازول ارتباطی نشان نمی‌دادند[۳].

تنوع ژنتیکی ایزوله‌های جدید کلینیکی کاندیدا آلبیکانس در ژاپن توسطTamura در سال ۲۰۰۱ بر اساس آمپلیفیه کردن DNA band lengths آغازگر PCR اختصاصی برای ناحیه transposable intron در ژن 25S rRNA مورد مطالعه قرار گرفت. آنالیز ۳۰۱ ایزوله کلینیکی کاندیدا آلبیکانس نشان داد که می‌توان آنها را در ۵ ژنوتیپ طبقه بندی کرد. ژنوتیپA (۱۷۲ ایزوله)، ژنوتیپB (۶۶ ایزوله)، ژنوتیپC (۵۶ ایزوله)، ژنوتیپ

D (کاندیدا دابلینینسیس، ۵ ایزوله) و یک ژنوتیپ جدید بنام E (۲ ایزوله). مشخص شد که ژنوتیپ E یک سکانس group I intron-like دارد که طولانی تر از آنهایی است که تا بحال گزارش شده و طول سکانس نوکلئوتیدی آن ۹۶۲bp است. آنالیز این سکانس نشان می‌دهد که از اینترون مشابه اینترون ۶۲۱bp کاندیدا دابلینینسیس با یک ۳۴۱insertion bp می‌باشد. آنالیز سکانس ناحیه ITS سویه ژنوتیپ E نشان داد که سکانس سویه‌های ژنوتیپ‌های دیگر یکی است و تنها اختلاف کمی در جایگزینی بازی دارد. امکان انتقال افقی اینترون گروه I بین کاندیدا دابلینینسیس و کاندیدا آلبیکانس در این مطالعه پیشنهاد شد. درجه بالایی از وابستگی بین حضور اینترون گروه I در کاندیدا آلبیکانس ژنوتیپ E و حساسیت به عامل ضدقارچی فلوسیتوزین مشاهده گردید. ۵ ایزوله کاندیدا دابلینینسیس در این مطالعه هنگامی که با آنالیز RAPD مورد مقایسه قرار گرفتند تنوع ژنتیکی نشان دادند و این تنوع با آنالیز سکانس‌های ناحیه ITS نیز تائید گردیدند [۴].

هدف مطالعه Karahan در سال ۲۰۰۴ تعیین ژنوتیپ سویه‌های کاندیدا آلبیکنس جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت‌های عمقی تهاجمی و غیرتهاجمی بوده است. برای این منظور ۳۰۱ ایزوله کاندیدا آلبیکانس (۸۱ مورد تهاجمی و۲۲۰ مورد غیرتهاجمی) با استفاده از آغازگرهای PCR اختصاصی طراحی شده برای transposable group I intron ژن 25S rDNA مورد آنالیز ژنتیکی قرار گرفتند. ۵۳ مورد از ۸۱ مورد ایزوله ضایعات تهاجمی ژنوتیپ A (۶۵/۴٪) بوده ، ۸ مورد (۹/۹٪) ژنوتیپ Bو۲۰ مورد ژنوتیپ C (۲۴/۷٪) ، ۹۸ مورد از ۲۲۰ ایزوله‌های غیرتهاجمی ژنوتیپ A (۴۴/۶٪)، ۴۶ مورد ژنوتیپ B (۲۰/۹٪) و ۷۶ مورد ژنوتیپ C (۳۴/۵٪) بودند. ژنوتیپ A بین ایزوله‌های تهاجمی شایع ترین و ژنوتیپ‌های B وC در بین ایزوله‌های غیرتهاجمی بسیار شایع تر بود (P = 0/0046). ژنوتیپ‌های D و E یافت نشدند. این نتایج نشان می‌دهند که ممکن است ارتباطی بین ژنوتیپ‌های کاندیدا آلبیکانس و حالت تهاجمی آن وجود داشته باشد، ژنوتیپ A نسبت به سایرین تهاجمی تر است. وجود یا عدم وجود transposable group I intron در ژن 25S rDNA ممکن است در تعیین حالت تهاجمی کاندیدا آلبیکانس اهمیت داشته باشد. نتایج این تحقیق نشان میدهد که فراوانی گونه‌های کاندیدا و توزیع زیرگونه‌های ژنوتیپیک کاندیدا آلبیکانس با گروه‌های سنی بیماران فرق می‌کند، با افزایش سن از فراوانی کاندیدا آلبیکنس کاسته شده و مخمرهای غیر از کاندیدا آلبیکانس افزایش می‌یابند، زیرگونه ژنوتیپیک A غالب ترین سویه در حفره دهانی افراد سالم و جوان را تشکیل می‌دهد. تاثیر دندان مصنوعی روی مخمرهای دهانی در حد اقل است[۵].

در مطالعه ی Vrion در سال ۲۰۰۱ تمام ایزوله‌های کاندیدا آلبیکانس در این مطالعه پروفایل‌های RAPD مشخص و متفاوتی داشتند، ایزوله‌های کاندیدا تروپیکالیس دارای طرح‌های RAPD یکسان و نیز متفاوت است و ایزوله‌های کاندیدا پاراپسیلوزیس طرح‌های RAPD یکسانی دارند. ایزوله های محیطی کاندیدا پاراپسیلوزیس دارای همان طرح‌های مربوط به ایزوله های کلینیکی بودند. کلونیزاسیون و یا عفونت با کاندیدا آلبیکانس اندوژنوس بوده است، کلونیزاسیون و یا عفونت کاندیدا تروپیکالیس هم منشا اندوژنوس و هم برون زاد دارد و کلونیزاسیون و یا عفونت کاندیدا پاراپسیلوزیس دارای منشاء محیطی بوده است [۶].

ناحیه ITS شامل سکانس‌های 5.8S rDNA تعداد 58 ایزوله کاندیدا پاراپسیلوزیس در ژاپن و برزیل توسطIida در سال ۲۰۰۵ مورد آزمایش قرار گرفتند. اگرچه اکثر این سویه‌های کاندیدا پاراپسیلوزیس بر اساس سکانس‌های ناحیه ITS تائید شده بود که به سه گروه ژنتیکی مشخص (گروه‌های I ، II و III) تعلق دارند، ۵ سویه از ایزوله‌های برزیلی سکانس‌های متفاوتی را نسبت به آنچه تا کنون گزارش شده بود نشان دادند و پیشنهاد یک ژنوتیپ جدید را می‌دهد. برای این سویه‌ها، گروه ژنتیکی جدید IV پیشنهاد گردید. تشابه سکانس ناحیه ITSاین گروه جدید با گروه‌های I و II و III به ترتیب برابر ۸۷/۴٪ ، ۹۴/۷٪ و ۸۷/۳٪ بوده است [۷].

توسط Hattori در سال ۲۰۰۶ مطالعه ای برای ارزیابی پتانسیل 25S rDNA و RPS-based genotyping به منظور مطالعه اپیدمیولوژی ملکولی کاندیداآلبیکانس و معین کردن ارتباط ژنوتایپینگ کاندیدا آلبیکانس بین ضایعات مهاجم و غیر مهاجم انجام شد و آشکار شد که ژنوتیپ ایزوله‌ها در یک فرد (مستقل از عفونی یا غیر عفونی بودن) در محل‌های مختلف بدن یکسان است[۸].

در سال ۲۰۰۵ به وسیله Tay ژنوتیپ ۲۲۱ ایزوله جدید کاندیدا آلبیکانس مربوط به نمونه‌های کلینیکی مختلف ۲۱۳ بیمار پذیرش شده در بیمارستان دانشگاهی مالایا (مالزی) بر پایه آمپلیفیکاسیون ناحیه transposable intron در ژن 25S rRNA تعیین گردید. آنالیز ۱۷۸ ایزوله کاندیدا آلبیکانس به دست آمده از نمونه‌های کلینیکی غیر استریل نشان داد که آنها را می‌توان در سه ژنوتیپ طبقه بندی کرد: ژنوتیپ A (۱۳۸ ایزوله)، ژنوتیپ B (۳۸ ایزوله) و ژنوتیپ C (۲ ایزوله). ژنوتایپینگ ۴۳ ایزوله بالینی به دست آمده از نمونه‌های سترون نیز نشان داد که آنها به سه گروه A (۲۹ ایزوله)، B (۱۰ ایزوله)، C (۲ ایزوله) و ژنوتیپD (۲ ایزوله) تعلق دارند. به طور کلی انتشار یا توزیع ژنوتیپ‌های کاندیدا آلبیکانس در نمونه‌های سترون و غیر سترون شبیه یکدیگر می‌باشند و ژنوتیپ A غالب ترین نوع می‌باشد. این مطالعه تنوع ژنتیکی ایزوله‌های کلینیکی کاندیدا آلبیکانس در مالزی را نشان می‌دهد[۹].

منابع مورد استفاده:

1- Thanos M, Schonian G, Meyer W, Schweinoch C, Groser Y, Mitchel TG, Presber W, Tietz HJ. Rapid identification of Candida species by DNA

fingerprinting with PCR. J Clin Microbiol 1996; 34: 615-21.

2- Lin D, Lehmann PF. Random amplified polymorphic DNA for strain delineation within Candida tropicalis. J Med Vet Mycol 1995; 33: 241-6.

3- Iwata T, Hattori H, Chibana H, Mikami Y, Tomita Y, Kikuchi A, et al. 2005. Genotyping of Candida albicans on the basis of polymorphisms of ALT repeats in the repetitive sequence (RPS). J Dermatol Sci. 41(1):43-54.

4-Tamura M, Watanabe K, Mikami Y, Yazawa K, nishimura K. Molecular characterization of new clinical isolates of Candida albicans and C. dubliniensis in Japan: analysis reveals a new genotype of C. albicans with group I intron. J Clin Microbiol 2001; 39(12): 43015-9.

5- Karahan ZC, guriz H, Agirbasli H, Balaban N, Gocmen JS, Aysev D, Akar N. Genotype distribution of Candida albicans isolates by 25S intron analysis with regard to invasiveness. Mycoses 2004; 47(11-12): 465-9.

6- Vrioni G, Matsiota-Bernard P. Molecular typing of Candida isolates from patients hospitalized in an intensive care unit. J infect 2001; 42(1): 50-6.

7- Ida S, Imai T, Oquri T, Okuzumi K, Yamanaka A, Moretti-Branchini ML, Nishimura K, Mikami Y. Genetic diversity of the internal transcribed spacers (ITS) and 5.8S rRNA genes among the clinical isolates of candida parapsilosis in Brazil and Japan. Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi 2005; 46(2): 133-7.

8- Hattori H, Iwata T, Nakagawa T, Kawamoto F, Tomita Y, Kikuchi A, Knabe T. Genotype analysis of Candida albicans isolates obtained from different body locations of patients with superficial candidiasis using PCRs targeting 25S rDNA and ALT repeat sequences of the RPS. J Dermatol Sci 2006; 42(1): 314-6.

9- Tay ST, Chai HC, Na SL, Ng KP. Molecular subtyping of clinical isolates of Candida albicans and identification of Candida dubliniensis in Malaysia. Mycopathologia 2005; 159(3):325-9.

پاسخ گزارش موردی و طرح چند پرسش

شرح حال: توده گردن خانم ۶۵ ساله با رشد سریع تشخیص شما چیست؟

بافت شناسی: این تومور درجات مختلفی از تمایز را نشان می‌دهد. در برخی مناطق تمایز پاپیلاری همراه با هسته‌های درشت و شفاف optically clear وجود دارد. در سایر مناطق تومور به صورت آشیانه‌های سلولی احاطه شده با عروق ظریف (نمای اینسولار یا جزیره ای) رشد کرده است. جز سوم به صورت آشیانه‌ها و طناب‌های سلولی شدیدا انفیلتراتیو به چشم می‌خورد. سلول‌های این جز دارای سیتوپلاسم صورتی شیشه ای با نمای اسکواموئید هستند و به بافت نرم اطراف تیروئید حمله کرده اند.

بحث: کارسینوم تیروئید طیف وسیعی دارد. در یک انتها کارسینوم پاپیلاری و فولیکولار قرار دارند که از لحاظ مورفولوژی خوب تمایز یافته اند، از لحاظ بالینی سیر کندی دارند و درمانشان نیز با جراحی و تجویز ید رادیواکتیو مقدور است. در انتهای دیگر طیف کارسینوم آناپلاستیک قرار دارد که که از لحاظ مورفولوژی تمایز نیافته است، سیربالینی سریع و وحشیانه ای دارد و علیرغم درمان‌های سنگین و چند جانبه کشنده است. ارتباط بین سرطان‌های خوب تمایز یافته و سرطان‌های تمایز نیافته مدتها مورد بحث بوده است و در حال حاضر عقیده بر آن است که اکثر- اگر نگوییم همه- کارسینوم‌های آناپلاستیک از یک کارسینوم خوب تمایز یافته قبلی بر می‌خیزند. در سری‌های مختلف بین ۹۰-۸ ٪ کارسینوم‌های آناپلاستیک تیروئید با یک کارسینوم خوب تمایز یافته همراه بوده اند. در برخی موارد نوحی کارسینومی‌با تمایز ضعیف مانند پلی بین این دو کارسینوم وجود دارد و در این مناطق بینابینی تومور اغلب نمای اینسولار همراه با افزایش اشکال میتوزی دارد.

کارسینوم آناپلاستیک تیروئید نماهای بافت شناسی متعددی دارد ولی معمولا جمعی از نماهای سلول دوکی، سلول غول آسا و اشکال اسکواموئید را به نمایش می‌گذارد. در مورد اخیر سلول‌ها کراتی نیزه نمی‌شوند ولی سیتوپلاسم شیشه ای آنها یادآور کارسینوم سلول سنگفرشی non keratinizing است. در این بیمار حضور مناطق خوب تمایز یافته به همراه نواحی با مورفولوژی بینابینی به نفع منشا اولیه تیروئیدی تومور است تا درگیری تیروئید توسط کارسینوم سلول سنگفرشی حنجره.

تشخیص نهایی:

Anaplastic carcinoma

منبع:

http://pathology2.jhu.edu/sp