



پنل تشخیص مولکولے مولتے پلکس در بیماران پیوندی و نقص ایمنے (ACE)

آزمایشگاه پاتوبیولوژی فروردین

تقاطع خیابان امام خمینی و کارون، ساختمان ۱۰۲۶

تلفن: ۰۲۱-۶۶۳۷۳۸۹۰-۶۶۳۶۷۹۱۴-۶۶۳۶۷۹۱۴ تلفکس: ۰۲۱-۶۶۸۷۴۹۹۶

تلفن گویا (جوابدهی): ۰۲۱-۶۶۳۵۷۹۲۳

آزمایشگاه پاتوبیولوژی فروردین نوین

انتھای بلوار کشاورز، روبروی درب شرقی بیمارستان

امام خمینی، پلاک ۱۵۱، تلفن: ۰۲۱-۶۶۹۰۲۱۲۱-۶۶۹۳۳۰۱۴

وب سایت: www.farvardin-lab.com

ایمیل: info@farvardin-lab.com

ایمیل: ravabetomoumi@farvardin-lab.com

کانال تلگرام: @farvardinlabs

روابط عمومی:

۰۲۱-۶۶۳۶۷۹۲۳ • • • ۰۲۱-۶۶۳۶۷۹۲۳

مجتمع تخصصی آزمایشگاهی
فروردین

آزمایشگاه پاتوبیولوژی فروردین
دارنده اولین لوح کیفیت استان تهران
آزمایشگاه پاتوبیولوژی فروردین نوین



تهیه شده: واحد تحقیق و توسعه و بخش پزشکی مولکولی

پنل تشخیصی مولکوله مولته پلکس در بیماران پیوندی و نقص ایمنی (ACE)

معرفی

این تست برای تشخیص، تفکیک و اندازه گیری همزمان ویروس های Adeno، CMV و EBV (ACE) در یک واکنش مولکولی به صورت Multiplex Real-time PCR می باشد.

ACE	Adenovirus
	CMV
	EBV

تست از نوع کمی بوده و قادر به اندازه گیری سطح ویروس در تمامی نمونه های سرمی، پلاسما، خون کامل، CSF، تنفسی و غیره می باشد. چون این ۳ ویروس عمدتاً در اوایل کودکی فرد را مبتلا کرده و در داخل بدن به صورت نهفته حضور دارند، لذا کشف این ویروس ها در مایعات مختلف بدن چه در بیماری و چه در حالت نرمال از نظر تشخیصی مفید فایده نبوده و احتمالاً از نظر بالینی ارزش تشخیصی ندارد. از این رو اندازه گیری (Quantitation) آن ها برای اثبات عفونت و یا بیماری الزامی است.

روش های موجود و برتری RT-PCR نسبت به تست های رایج

از آنجایی که فقط تعیین میزان کمی این ویروس ها در بیماران پیوندی و نقص ایمنی ارزش دارد، لذا اندازه گیری تعداد آن ها که به وسیله Real-time PCR امکان پذیر است نسبت به دیگر روش های تشخیصی ارجحیت دارد. همچنین بررسی وجود این پاتوژن ها به صورت همزمان در کنار هم کمک شایانی به مانیتورینگ بیمار می نماید و می تواند از بروز مشکلات احتمالی بعد از پیوند حتی قبل از ایجاد تظاهرات بالینی، جلوگیری کند. تجربیات ۳ ساله ما نشان داده که با بکارگیری این تست های مولتی

پلکس، در ۲۵% موارد بیش از یک پاتوژن (عمدتاً CMV) در بیمار پیوندی/نقص ایمنی یافت گردیده که حد اقل در ۵۰% موارد دارای ارزش بالینی بوده است.

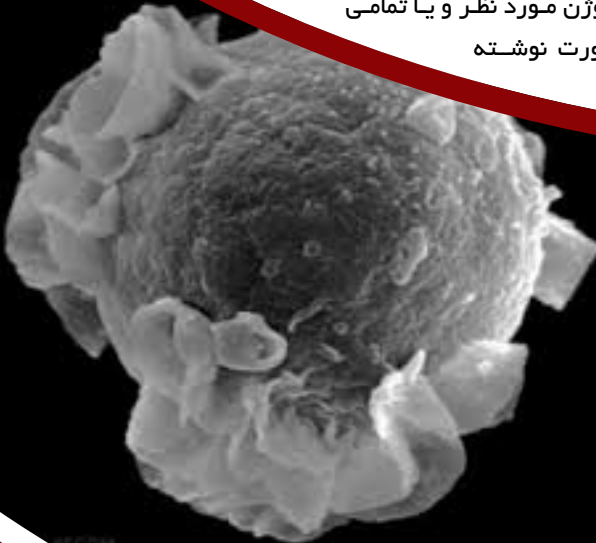
موارد مصرف و اندیکاسیون

- عفونت و بیماری آدنو ویروس در اطفال، بیماران پیوند عضو، مغز استخوان و سایر حالات نقص ایمنی
- بیماری CMV
- Post Transplant Lymphoproliferative Diseases (PTLD) و همچنین برای رد تشخیص PTLN غیر وابسته به ویروس EBV
- مونونوکلئوز عفونی

نحوه نگارش نسخه بیمار

جهت ارجاع بیمار به مرکز تشخیصی می بایست به ۳ نکته توجه شود و در نسخه اعمال گردد:

- نام پاتوژن هایی را که جهت بررسی مورد نظر است همراه با لفظ PCR در نسخه ذکر گردد. به این شکل که هر کدام از ۳ پاتوژن مورد نظر و یا تمامی موارد بدین صورت نوشته



شود: CMV PCR, EBV PCR, Adeno PCR

- کمی (Quantitative) و یا کیفی (Qualitative) بودن درخواست، در نسخه ذکر گردد.
 - نوع نمونه مورد درخواست (خون، ادرار و یا هر دو) نیز عنوان گردد.
- توجه: در صورت نیاز به انجام تست بر روی بیش از یک نمونه، باید درخواست در نسخه ای دیگر نوشته شده و لازم به ذکر است که هزینه ها جداگانه محاسبه می گردد.

روش تهیه نمونه و نمونه گیری

برای بیماران پیوندی (عضو و یا مغز استخوان)، نمونه باید بطور همزمان سرم یا پلاسما و ادرار ارسال گردد. ۲ میلی لیتر از هر نوع نمونه کافی می باشد. نمونه پلاسما باید از خون گرفته شده در لوله حاوی EDTA جدا شود. در صورت نمونه گیری در خارج از آزمایشگاه، نمونه خون کامل در لوله حاوی EDTA، نمونه های سرم و پلاسما در لوله استریل و نمونه ادرار در ظرف مخصوص جمع آوری ادرار و با رعایت زنجیره سرد (۴ درجه) به آزمایشگاه انتقال یابند. برای بیماران غیر پیوندی، بر اساس صلاحدید پزشک متخصص، هر نوع نمونه بالینی می تواند ارسال گردد.

جواب ها، نحوه جواب دهی، مثبت و منفی کاذب، حساسیت و cut off

آدنو ویروس. طیف وسیعی از بیماری های مختلف را در اطفال و بالغین و خصوصا در افراد با نقص ایمنی ذاتی و اکتسابی در بر می گیرد. این ویروس عامل اوتیت مدیا در

کودکان زیر ۱ سال و سندرم شبه سیاه سرفه (در مواردی که خصوصاً کشت خون منفی

است) می باشد. بیماری های شایع شامل:

● بیماری چشمی. Pharyngoconjunctival Fever (PCF)

● بیماری های گوارشی. شامل گاستروانتریت در اطفال و کودکان، آدنیت مزاتریک و

Intussusception

● سیست هموراژیک. گر چه در کودکان خوش خیم ولی در گیرندگان پیوند (خصوصاً پیوند کلیه) می توان مخاطره آمیز باشد.

● مننژیت و مننگوانسفالیت. می تواند به خودی خود و یا در زمینه پنومونی ایجاد گردد.

● بیماران پیوندی. این ویروس به عنوان عامل فرصت طلب در گیرندگان پیوند طیفی

را شامل می شود که از یک سو ریزش (shedding) بدون علامت تا بیماری منتشره

و مرگ آور متغیر است. معمولاً ۳-۲ ماه پس از پیوند بیماری آدنو ویروس اتفاق می

افتد. در ۲۰ سال اخیر موارد آدنو ویروس در گیرندگان پیوند بدلیل افزایش دقت

تست های تشخیصی و نیز به کارگیری رژیم های درمانی ایمونوساپرسیو پس از پیوند

رو به افزایش گذارده است. با در نظر گرفتن طیف بالا، حدود ۶٪ از بیماران پیوند مغز

استخوان شواهدی از عفونت/ بیماری آدنوویروس را دارا می باشند که این میزان در

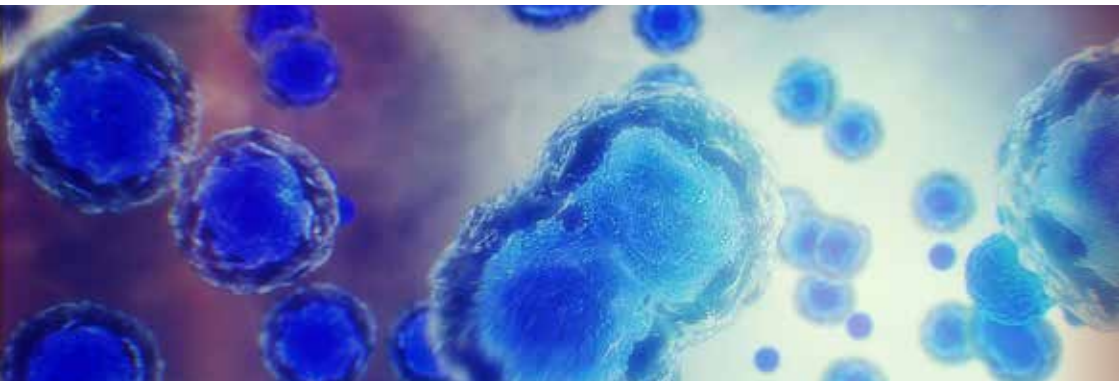
کودکان پیوندی به ۳ برابر نیز می رسد. (بدلیل بالا بودن احتمال عفونت اولیه در این

سنین). دانشمندان دوره بین تشخیص ویروس در بدن تا زمان بروز بیماری را "window

of opportunity" نامیده اند. در این مرحله حتماً بیمار باید تحت درمان قرار گیرد، زیرا

در صورت ابتلا، احتمال مرگ و میر در بیماران پیوندی به حدود ۵۰٪ می رسد. برای

پیشگیری از بروز بیماری آدنو ویروس در بیماران پیوندی، براساس دستور العمل های



Global Consortium of National European Conference on Infections in Leukemia (ECIL) and International Transplant Associations (GCNITS) مقرر است هر از گاهی (در ایالات متحده هر یک هفته) ویروس در خون محیطی توسط تست کمی PCR چک گردد.

● بیماران HIV مثبت و یا مبتلا به ایدز. آدنوویروس در ادرار و مدفوع دفع می گردد، لذا ارتباط بین عفونت و بیماری فرصت طلب آدنوویروسی در این بیماران نیاز به تعیین میزان کمی این ویروس دارد. اگر در بیماران پیوندی تعداد ویروس بیش از ۱۰۰ عدد در خون و یا بیش از یک میلیون کپی در مدفوع گردد نیاز به اتخاذ اقدام درمان می باشد.

● Cut Off

مقادیر بیش از ۱۰۰ عدد کپی در پلاسما/سرم و یا یک میلیون کپی در ۱ گرم مدفوع، آستانه تعریف شده برای شروع درمان می باشد.

بیماری آدنو ویروس	نوع نمونه	Cut Off
	خون کامل/سرم/پلاسما	>100 Copy/mL
	مدفوع	یک میلیون > Copy/gram

CMV: این ویروس یکی از شایع ترین و خطرناک ترین عوامل دفع پیوند خصوصا در گیرندگان پیوند مغز استخوان و کلیه می باشد. مقادیر پایین آن در سرم، پلاسما و یا خون کامل طبیعی بوده ولی مقادیر بالاتر (جدول ۱) نیازمند توجه و شروع درمان می باشد. تعداد کمی این ویروس در هر مرحله پس از پیوند بسیار متنوع بوده و هر مرکزی بر اساس دستورالعمل خاصی بیماران را ارزیابی و تصمیم گیری می نماید. تجربیات ما حاکی از منفی بودن و یا بار بسیار پایین ویروس در بیمار گوارشی (GI Disease) خصوصا پس از پیوند مغز استخوان می باشد. در موارد منژیت یا آنسفالیت نیز حضور حتی ۱ ویروس در کنار علائم بالینی پاتوژنومیک است.

سندرم	Cut Off (IU or Copy/mL)	نوع نمونه	ملاحظات
خاتمه درمان	۱۳۷		البته بستگی به فروکش نمودن علائم بالینی بیمار دارد
CMV Disease	> ۳۷۰۰۰	خون کامل	آستانه تهاجم بافتی
پنومونی CMV	> ۵۰۰/۰۰۰ copy/mL	BAL	-
منتزیت CMV	مثبت بودن حضور ویروس پاتوگنومیک است	CSF	-
CMV DNAmia در پیوند اعضا	۲۵۰۰ copy/mL (۲۲۷۵ IU)	پلاسما	-
در پیوند مغز استخوان * CMV DNAmia	۱۰۰۰ ^a /۴۰۰۰ ^b /۱۰۰۰۰ ^c	پلاسما	a: در افراد با ریسک بالا b: در افراد با ریسک متوسط c: در افراد با ریسک پایین *: بستگی به تجربیات آن مرکز پیوند دارد.

جدول ۱: مقادیر Cut off ویروس CMV در بیماری های مختلف. توجه: نسبت Copy/mL به IU/mL، ۱/۲ به نفع عدد کپی است. مثلاً ۳۰۰ کپی در ۱ میلی لیتر برابر با ۲۵۰ IU/mL می باشد. لازم بذکر است این اعداد نسبت به هر مرکز تخصصی ممکن است متفاوت باشد.

EBV: این ویروس مانند دو ویروس بالا در ۹۰ درصد افراد جامعه مثبت

می باشد و به خودی خود تهدید کننده زندگی فرد نمی باشد. لکن

در بیماران پیوندی خصوصاً از نظر ایجاد PTLD تهدید ی

جدی می باشد. تجربیات ما در ایران حاکی از موارد

بسیار نادر و محدود این بیماری توسط EBV

در بیماران پیوندی داشته و بالعکس

مقادیر کمی در سطح پایین

بدون علامت بوده و



ترشح آن در ادرار نیز در بیماران پیوندی بدون عارضه بوده است. جدول ۲ آستانه توجه به این ویروس را در مراحل مختلف بیماری های متنوع نشان می دهد.

EBV سدرم	Cut Off (gEq or Copy/mL)	نوع نمونه
PTLD در پیوند اعضا	۱۰ ^۳ -۱۰ ^۵	خون کامل/پلاسما
PTLD در پیوند مغز استخوان	۱۰۰-۱۰۰۰۰	خون کامل/پلاسما/سرم
مونو نوکلئوز عفونی*	مثبت بودن حضور ویروس پاتوگنومیک است	پلاسما/سرم خون کامل/ادرار/ ترشحات گلو
کارسینوم نازوفارنکس	۱۰۰	پلاسما/سرم
عفونت مزمن فعال EBV	۲۵۰/μg DNA ۱۰۰۰-۱۰۰۰۰	پلاسما/سرم/سلولهای تک هسته ای
درگیری دستگاه عصبی	مثبت بودن حضور ویروس پاتوگنومیک است	CSF

جدول ۳: مقادیر Cut off ویروس EBV در بیماری های مختلف. لازم بذکر است این اعداد نسبت به هر مرکز تخصصی ممکن است متفاوت باشد. *: از روز سوم پس از شروع علائم بیماری.