آریترون

گاهنامه علمی، صنفی ، فرهنگی
،نشریه انجمن علمی دانشجویی
علوم آزمایشگاه جندی شاپور
اهواز
شماره مجوز
۹۹۰۹۰۲۰۴
شماره اول، اسفند ۹۹

انجمن علمی علوم آزمایشگاهی

دانشگاه علوم پزشکی و
خدمات بهداشتی درمانی
جندی شاپور اهواز

چرا آریترون
چالش های آزمایشگاهی ویروس کرونای جدید

اریترون

گاهنامه علمی، صنفی ، فرهنگی
صاحب امتیاز :
انجمن علمی دانشجویی علوم آزمایشگاهی جندی شاپور اهواز
سردبیر و مدیر مسئول :
رضا ابوعلی
شماره مجوز:
۹۹۰۹۰۲۰۴
شماره اول، اسفند ۹۹
هیات تحریریه :
رضا ابوعلی
فاطمه خادمی
فاطمه کریمی
مریم کعب عمیر
مهدا خضری
فاطمه بینشفر
علی قائمی
گرافیست، طراح و صفحه آرا:
مصطفی مولا

فهرست

سخن سردبیر
اریترون
چالش های آزمایشگاهی ویروس گرونای جدید
بودن
HIV
INTRODUCTION CLASSIFICATION OF PATHOBIOLOGY LABORATORY TESTS AND ITS IMPORTANCE

انجمن علمی دانشجویی علوم آزمایشگاهی جندی شاپور اهواز

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی جندی شاپور اهواز

سخن سردبیر

به نام خداوندلوح وقلم حقیقت نگاروجود وعدم

در میان تار و پود سختی هایی که شاهد آن بودیم، گوهر مهربانی بیش از پیش ریشه داوند و این ریشه ها رشد کردند و جوانه زدند. جوانه هایی از جنس ایثار...ایثار و گذشت افرادی که بی هیچ چشم داشتی ماه ها عاشقانه در خط مقدم کرونا جنگیدند تا لبخند مردم حتی در پشت ماسک ها حفظ شود.

افرادی که شاید کمتر، از آن ها به عنوان کادر درمان نام برده باشند ولی همیشه بار مهم بخش درمان یعنی تشخیص روی دوش آن ها بوده است.

به لطف و همراهی شما اکنون مفتخر به انتشار اولین شماره از گاهنامه اریترون هستیم تا لحظاتی با مطالب علمی و سرگرم کننده مهمان شما باشیم. امیدوارم همه ما دانشجویان سهمی هرچند کوچک در زمینه ارتقا سطح دانش خود داشته باشیم و به عنوان عضوی از خانواده آزمایشگاهیان قدمی برای دیده شدن این سفیدپوشان گمنام برداریم.

با سپاس از تمام اعضای خانوده اریترون.

رضا ابوعلی

اریترون

یک رشته علوم آزمایشگاهی بود و یک دنیا امید و آرزو برای رسیدن. یک عالمه طرح و ایده برای محقق شدن.

اما این میان چیزی برای این همه طرح و برنامه کم بود. جایی که بتوان جمع شد و حرف زد و برای تحقق خواسته ها تلاش کرد.

جایی که هر دانشجوی علوم آزمایشگاهی بالینی یک ذهن سبز بارور از ایده ها باشد.

هر نفر، یک زبان. هر زبان، یک ایده. همه در یک مسیر، پیشرفت و بالندگی هرچه بیشتر علم آزمایشگاه.

پس انجمن علمی علوم آزمایشگاهی تشکیل شد اما انگار هنوز هم یک چیزی کم بود.

جایی که مطالب و هم و غم و ریز و درشت، از گوشه کنار آزمایشگاه و آزمایشگاهیان رو یکجا جمع کرد و ارتباطات محدود شفاهی، به گستردگی تمام بچه های آزمایشگاهی بشود و چه راهی از مکتوبات بهتر؟

پس این نشریه متولد شد.
نشریه ای برای تمام دانشجو های علوم آزمایشگاهی، از تازه سمپلر به دست بگیر ها و کسایی که وسایل و تجهیزات آزمایشگاهی رو (این و آن!) خطاب می کنند تا کسایی که با دیدن برگه CBC جواب PBS هم میزنن!

پس این اسم متولد شد.

اریترون (نورموبلاست ها و اریتروسیت ها)

همه ی ما پرکورسورهایی هستیم به امید اریتروسیت شدن.

خیلی هامون اول هاش که پرونرموبلاستیم (جوانیم و جویای نام)، با چند واحد بیوشیمی بالینی و ایمنی شناسی پزشکی فکر میکنیم:

که این ماییم! صاحبان و اربابان بی چون و چرای آزمایشگاه های بالینی! ولیکن < <بسیار سفر باید تا پخته شود خامی> >

ولی مهم این که ما همه توی یک تیمیم. اسمشم هست اریترون

آنچه که از این هم مهمتر اینه که ما همه با یک نام در کنار همیم اون هم "علوم آزمایشگاهی بالینی"

با اینکه حضور همه ما توقف کوتاهیه. می آییم و می رویم اما آزمایشگاه اون چیزیه که در وصفش میشه گفت:

تو نه مثل آفتابی که حضور و غیبت افتد دگران روند و آیند و تو همچنان که هستی

موفق و کارآمد باشیم مثل یک اریتروسیت سالم و بالغ، هرچند کوتاه هرچند گذرا

فاطمه خارمی

چالش های آزمایشگاهی ویروس کرونای جدید

اخیراً بیماری کرونا ویروس 2019 (COVID-19) در سراسر جهان گسترش یافته است. برای مهار این ویروس یک استراتژی جامع، از جمله نظارت، تشخیص، تحقیقات، درمان بالینی، و تولید واکسن، ضروری است. با اینکه تکنیکهای عالی برای تشخیص بیماران علامتدار مبتلا به COVID-19 در آزمایشگاههای مجهز در دسترس می باشد؛ هنوز شکافهای مهمی در غربالگری افراد بدون علامت که در مرحله انکوباسیون ویروس هستند و همچنین در تعیین دقیق ریزش ویروس زنده در دوران نقاهت باقی مانده است.

نقش آزمایشهای تشخیصی در همهگیری SARS-CoV-2

هدف اصلی در مهار اپیدمی COVID-19 کاهش انتقال عفونت در جمعیت با کاهش تعداد افراد مستعد یا کاهش عدد سرایت پایه () است. توسط مدت زمان ریزش ویروسی، میزان عفونت ایجاد شده توسط ارگانیسم، و ماتریس تماس بین افراد آلوده و مستعد تعدیل میشود. به دلیل نبود واکسن و درمان موثر، تنها روش موجود برای کاهش حداکثری انتقال SARS-CoV-2 شناسایی و جداسازی بیماران آلوده است که میتوانند بیماری را منتقل کنند. با توجه به انتقال سریع SARS-CoV-2، نقش آزمایشهای تشخیصی به انواع آزمایشهای موجود، منابع مورد نیاز برای آزمایش و زمان لازم برای دستیابی به نتایج بستگی دارد.

پیامدها و چالشهای آزمایشهای تشخیصی COVID-19

1 .خطاهای پیش تحلیلی و تحلیلی

مرحلهٔ پیش تحلیلی، منبع اصلی خطاها در آزمایشگاههای پزشکی است. خطاهای قبل از تحلیل شامل شناسایی نادرست بیمار یا نمونه، جمعآوری نمونه نامناسب یا ناکافی، شرایط نادرست حمل و نقل و ذخیرهسازی نمونه، حضور مواد تداخلکننده و مسائل رویهای در هنگام تهیه نمونه است. اگرچه اعتقاد بر این است که خطاهای تحلیلی کوچکترین عامل خطاهای آزمایشگاهی هستند. خطاهای تحلیلی شامل اشکال در عملکرد تجهیزات، سنجشهای نامناسب، عدم موفقیت در کنترل کیفی، نوترکیبی فعال ویروس، انجام آزمایش در خارج از پنجرهٔ تشخیصی، همراه با سایر موارد

فنی است.

2 .توموگرافی رایانه‌ای قفسه سینه (CT)
3 .تست تقویت اسیدنوکلئیک (NAAT)

مطالعات نشان داده است که فناوریهای مولکولی برای تشخیص قطعی COVID-19 دقیقتر از CT اسکن و آزمایشات سرولوژی هستند، زیرا میتوانند آنتیژن خاص SARS-CoV-2 را هدف قرار دهند و شناسایی کنند. توسعه فناوریهای تشخیصی مولکولی در برابر SARS-CoV-2 به درک ترکیب پروتئینی و ژنومی ویروس و چرخهٔ ویروسی تغییرات پروتئینها و بیان ژنها در بیمار در حین و بعد از عفونت بستگی دارد. در حال حاضر، NAAT موجود برای SARS-CoV-2 شامل واکنش زنجیرهای رونویسی معکوس در زمان واقعی (rRT-PCR) (مبتنی بر آزمایشگاه) و تقویت ایزوترمال رونویسی معکوس به واسطهٔ حلقه(RT-LAMP) (POC) (آزمایشهای سریع بدون نیاز به آزمایشگاه) است. این آزمایشات وقتگیر هستند و به نیروی کار زیادی احتیاج دارند، همچنین کمبود کیتهای تجاری تشخیص را به تاخیر می اندازد.

4 .آزمایش سرولوژیکی برای تشخیص COVID-19

اگرچه تشخیص فعلی عفونت COVID-19 عمدتاً به rRT-PCR مبتنی بر آزمایشگاه متکی است، اما تقاضا برای آزمایشات سرولوژیکی برای SARS-CoV-2 به منظور تعیین بهتر تعداد موارد مثبت SARS-CoV-2، از جمله موارد بدون علامت و بهبود یافته در حال افزایش است. آزمایشات سرولوژیکی، آزمایشهایی مبتنی بر خون هستند به این صورت که وقتی بدن به عفونت خاصی پاسخ میدهد، آنتیبادیها یا آنتیژنهای موجود در خون را اندازهگیری میکنند. دو نوع تست سرولوژی به طور گسترده در دسترس است، آزمایشهای ایمنی سنجی آنزیمی (EIA) مبتنی بر آزمایشگاه در سیستمعاملهای خودکار با توان بالا و تستهای سریع که شبیه آزمایش قند خون هستند. آزمایشات سرولوژیکی در مقایسه با rRT-PCR توانند عفونت گذشته را تشخیص داده و اطلاعات بهتری در مورد شیوع بیماری در یک جمعیت ارائه دهد. زیرا آنتیبادیهای انسانی در مقایسه با RNA ویروسی پایدارتر هستند و بنابراین نمونههای سرولوژیکی کمتر در معرض زوال هستند. آزمایشات سرولوژیکی بویژه به دلیل اینکه استفاده از آنها را در مقیاس بزرگ امکانپذیر است، مفید هستند. علاوه بر این، نمونههای سرولوژیکی در مقایسه با نمونههای بینی-حلقی تنوع کمتری دارند زیرا آنتیبادیها به طور همگن در خون پراکنده میشوند. از طرف دیگر، آزمایشات سرولوژیکی معایبی دارند که عمدتاً شامل کندی پاسخ آنتیبادی به ویروس SARS-CoV-2 است، زیرا ممکن است تا سه روز از شروع علائم یا حداقل 7-10 روز پس از عفونت قابل تشخیص نباشد. از آنجا که آزمایشات سرولوژیکی به تنهایی برای تشخیص SARS-CoV-2 کافی نیستند، ترکیب هر دو روش سرولوژیکی و مولکولی یک نتیجهٔ تشخیصی ارزشمند را در اختیار ما قرار میدهد.

5 .آزمایش خنثیسازی با ویروس واقعی و شبهویروس

روش خنثیسازی ویروس (VNA) یک روش بسیار حساس و ویژه است که به طور معمول برای بررسی پاسخ آنتیبادی به ویروس و بررسی مهار تکثیر ویروس استفاده میشود. این روش، نه همهٔ واکنشهای آنتیژن – آنتیبادی، بلکه فقط آنتیبادیهایی را شناسایی میکند که میتوانند همانندسازی ویروس را مهار کنند. لازم به ذکر است، یک واکسن موفق علیه هر ویروس باید آنتیبادیهای خنثیکننده را به همهٔ سروتیپهای ویروس القا کند، به همین منظور، از VNA می توان برای تشخیص سروتیپ(های) ویروس

که معمولاً بر اساس خنثیسازی آن است، استفاده کرد. با این حال، به دلیل آلودگی و بیماریزایی قابلتوجه این ویروس، تولید واکسن و عوامل درمانی محدود می شود. از طرف دیگر، شبهویروسها اقدامات مهارکننده زیادی نیاز ندارد؛ بنابراین، برای جلوگیری از برخورد با ویروسهای عفونی، روشهای خنثیسازی مبتنی بر شبهویروس (PBNA) راحتتر و عملیتر هستند. نتایج PBNA ممکن است در یافتن اهداف بالقوه دارویی و تولید واکسنها و عوامل ضدویروسی کمک کند. علاوه بر این، ممکن است به مطالعهٔ خصوصیات بالینی مرتبط با سطح آنتیبادیهای خنثیکننده در بهبود یافتگان کمک کند.

رویکردهایی برای بهبود دقت تشخیصی برای تشخیص COVID-19

1. انتخاب منابع بهینه هنگام نمونهگیری برای انجام NAAT. بررسیهای اولیه نشان داد که گلو و حفرهٔ بینی دقیقترین مکانها برای نمونهگیری هستند.
2. انجام یک رویکرد چند شاخهای (استفاده از چندین روش تشخیصی)
3. روش چند شاخهای باید شامل آزمایشهای تشخیصی در طول دوره بیماری در مقاطع زمانی مختلف باشد، به طور ایدهآل از زمان پذیرش بیمار در بیمارستان و در بازههای یک هفتهای.

نتیجه گیری

تلاش برای مهار این همهگیری نیاز به تشخیص به موقع، انزوای افراد آلوده برای جلوگیری از انتقال، همراه با نظارت گسترده بر جامعه دارد. همهگیری SARS-CoV-2 به طور چشمگیری نقش حیاتی فناوریهای تشخیصی را در کنترل بیماریهای عفونی برجسته کرده است. در دسترس بودن فناوریهای تشخیصی که ایجاد شدن و بهینهسازی آنها، چندین دهه به طول انجامیده است، دانشمندان را قادر ساخته است تا در طراحی روشهای تشخیصی SARS-CoV-2 آماده باشند. شناسایی سریع و تعیین توالی SARS-CoV-2 امکان توسعه سریع NAAT را فراهم کرد، که بوسیلهٔ آن اولین خط دفاعی در برابر این همهگیری ارائه شد. پس از آن، روشهای سرولوژیکی فراهم شدند زیرا انجام آنها راحتتر است و همچنین تکمیلکنندهٔ NAAT برای تشخیص عفونت COVID-19 هستند. هم اکنون فراخوانی جهانی برای توسعه و پیادهسازی سریع آزمایش های POC و مالتی پلکس وجود دارد که به دلیل نیاز اضطراری بالینی و بهداشت عمومی برای افزایش ظرفیت آزمایش SARS-CoV-2 انجام میشود. در نهایت، سرعت چشمگیر گسترش SARS-CoV-2، نیاز به آمادگی و سرمایهگذاری طولانی مدت در آزمایشهای تشخیصی را نشان میدهد.

فاطمه بینشفر

منبع:

Younes, N., Al-Sadeq, D.W., Al-Jighefee, H., Younes, S., Al-Jamal, O., Daas, H.I., Yassine, H. and Nasrallah, G.K., 2020. Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. Viruses, 12(6), p.582.

انجمن علمی علوم آزمایشگاهی

بودن

اگر از ما پرسیده شود که "چه کسی هستیم؟"احتمالا اولین پاسخی که به ذهنمان میرسد نام و نام خانوادگی ماست و اگر از ما اطلاعات بیشتری خواسته شود شاید سن،محل زندگی و رشته تحصیلیمان را هم بیان کنیم.

اما با کمی فکر کردن این سوال پیش می آید که اگر اسم من تغییر کند آیا من هم تغییر خواهم کرد؟اگر به شهر دیگری بروم یا رشته تحصیلیم را عوض کنم دیگر من،من نیستم؟

احتمالا مهم ترین مسئله زندگی یک آدم بیمار سلامتی اوست و مهم ترین مسئله یک فرد فقیر،تهیه مایحتاج زندگی. اما اگر تمام دغدغه های مادی انسان برطرف شود،دیگر به هیچ چیز فکر نخواهد کرد؟تاریخ و شاید تجربه به ما ثابت کرده اند که اینطور نیست.

اما انسان در گذشته چگونه پاسخ سوالات خود را پیدا میکرد؟

اسطوره سازی یکی از روش ها بود.مثلا آن ها پاسخی برای سوال چرا باران میبارد نیاز داشتند پس افسانه تور را خلق کردند و اینگونه به این سوال پاسخ دادند که تور سوار بر ارابه ای در آسمان چکش خود را میچرخاند و باعث رعد و برق میشود.سپس آن ها نیاز به جوابی برای چرا خشکسالی اتفاق میفتد داشتند پس افسانه دزدیده شدن چکش تور به دست دیو ها را خلق کردند سپس برای کمک به خدایان و اساطیر خود مراسمات و آیین هایی از جمله قربانی کردن تدارک دیدند.این فقط نگاه بسیار کوتاهی به دنیای اسطوره ای شمال اروپا بود.داستان های اساطیری بیشماری در دنیا وجود داشتند و دارند مثل خدایان یونان و مصر و...

اما حدود 600سال پیش از میلاد مسیح اولین فیلسوف ها در یونان باستان ظهور کردند و شروع به نقد اساطیر کردند و بیان داشتند شاید همه این ها تصور و تخیلات ادم ها باشد.

فیلسوفان بیان میکردند:مردم معتقدند خدایان مثل ما حرف میزنند،جسم دارند و...سیاه پوستان خدایان را سیاه و دماغ پهن و اروپایی ها مو طلایی و چشم آبی میدانند احتمالا اگر حیوانات هم قدرت ترسیم داشتند خدایانشان مثل خودشان بودند.

اما اولین فیلسوفان در چه شرایطی به وجود آمدند؟در آن زمان یونانی ها در سرزمین های خود و مستعمرات خود زندگی میکردند و برده ها فعالیت های بدنی و سخت آن ها را انجام میدادند در نتیجه فیلسوفان وقت برای تفکر پیدا کردند.هدف اولین فیلسوف ها پیدا کردن توضیحات و تفاسیر برای وقایع و فرآیند های طبیعی بود از این جهت به آن ها فیلسوف های طبیعی میگویند.

فیلسوف های طبیعی اولین قدم در راه تفکر علمی را برداشتند چون میخواستند علت وقایع طبیعی را از بند دلایل اسطوره ای رها کنند.

اما سوال بعدی که در ذهن متفکران شکل میگرفت این بود که همه چیز نمیتواند

از هیچ به وجود بیاید پس همه چیز از چه چیزی به وجود آمده؟آن ها به دنبال عنصر اولیه ای میگشتند که گیاه،جاندار و... از ان به وجود آمده باشد و جواب های متعددی به این سوال داده شد.

برای مثال تالس،که شاید بیشتر نامش را در ریاضیات شنیده باشیم،عنصر اولیه را آب میدانست.

اما حدود 500سال قبل از میلاد دیدگاه دیگری بین یونانیان رایج شد که بیان میکرد هر چیزی که وجود دارد همیشه به همین شکل بوده است.

در این میان فیلسوفی به نام پارمنیدس که از او به عنوان مبدا علم منطق و یاد میشود بیان داشت نه تنها هر چیز که وجود دارد همیشه وجود داشته بلکه چیزی که وجود دارد از بین نمیرود و او معتقد بود هیچ تغییرواقعی ممکن نیست چون تغییرات را چیزی میدانست که انسان احساس میکند نه چیزی که منطقاً وجود داشته باشد. او تکیه محکمی بر خردگرایی داشت.خرد گرایی یعنی تکیه بر عقل به عنوان منبع اصلی شناخت جهان.

اما هم زمان با پارمنیدس فیلسوف دیگری به نام هراکلیتوس نظری کاملا مخالف داشت و معتقد بود همه چیز دائماً در حال تغییر است و تغییر را اساس جهان و هستی میدانست.

اما اساس این تغییر و تحول دائمی از نظر او اضداد(ضد ها)بود.به این گونه که کشاکش دائمی اضداد حرکت و تحول را به وجود میاورد.به طور مثال شب در پی روز،بهار در پی زمستان و صلح در پی جنگ می آید.

اما حق با کدام یک از آن ها بود؟به حس باید اعتماد کرد یا به عقل؟

اینجا فیلسوف دیگری بیان میکند که هردو و هیچکدام!امپدوکلس دلیل این همه تضاد در نظریات این دو فیلسوف را درنظر گرفتن فقط یک عنصر اولیه در جهان میداند و این جا 4عنصر اصلی معروف یعنی آب،آتش،باد و خاک را عناصر اولیه معرفی میکند و علت همه تغییرات طبیعی را تغییر در میزان و ترکیب شدن این عناصر میداند و بیان میکند اساساً چیزی تغییر نمیکند فقط این 4عنصر از هم جدا یا باهم ترکیب میشند. و جالب است بدانید امپدوکلس علت دیدن انسان با چشم را این میدانست که عنصر خاک در چشم خاک اطراف را درک میکند و آتش عنصر آتش اطراف را درک میکند و...

اما حتی در نظر گرفتن 4عنصر اصلی هم برای فیلسوفی به نام آناکساگوراس کافی و قابل قبول نبود.او بیان کرد طبیعت از اجزای بسیار کوچکی ساخته شده که با چشم دیده نمیشوند و همه چیز میتواند به اجزای کوچک تری تقسیم بشود و حتی در کوچک ترین اجزا هم خصوصیات همه چیز حفظ شده.برای درک این موضوع سلولی از بافت پوششی را در نظر بگیرید،آن سلول دقیقا تمام خصوصیات بافت را داراست.او این اجزا را بذر نامید.

اما فکر انسان به این پاسخ ها قانع و محدود شد؟تاریخ نشان داد که هرگز.

نازنین زکی زاده

انجمن علمی علوم آزمایشگاهی

ویروس HIV

بیماری ایدز، با عامل ویروسی و توان خود در از بین بردن سیستم ایمنی بدن، سالهاست که بشر را درگیر و توان و علم او را به زانو درآورده. آگاهی دقیق از وضعیت HIV مهمترین عنصر در راهکار های جلوگیری از عفونت HIV است. افراد تشخیص داده شده می توانند با درمان ضد ویروسی، با دوام زندگی کنند و این موضوع احتمال انتقال HIV به دیگران را کاهش می دهد.

تشخیص

HIV توسط آزمایش خون یا بزاق تشخیص داده میشود.

این تست ها شامل:

۱ .تست آنتی بادی_آنتی ژن(Antigen/antibody tests) : در این تست از رگ، خون میگیرند. آنتنی ژن ها به طور مستقیم هدف ویروس HIV هستند و در خون قابل شناسایی اند. این تست دو تا شش هفته بعد از برخورد با ویروس مثبت میشود.

۲ تست آنتی بادی(Antibody tests): این تست در خون یا بزاق جهت شناسایی آنتی بادی ویروس انجام میشود. تست آنتی بادی سه تا دوازده هفته بعد از برخورد با ویروس مثبت میشود.

۳ تست نوکلئیک اسید(nucleic acid tests): این تست جهت شناسایی خود ویروس در خون انجام میشود. این تست اولین تستی است که بعد از چند هفته از برخورد با ویروس مثبت میشود. اگر بیمار مبتلا به HIV/AIDS باشد، تست هایی وجود دارند که میتوانند جهت شناسایی مرحله بیماری و درمان بهتر آن کمک کنند.

این تست ها شامل:

۱ شمارش سلولی:(CD4T cell)

CD4 (CD4 count) سلولهای CD4 گلبولهای سفیدی هستند که توسط ویروس HIV به طور مستقیم هدف قرار میگیرند. حتی اگر بیمار هیچ نشانه ای از ویروس نداشته باشد هنگامی که سلولهای CD4 به زیر 200 برسند التهاب منجر به ایدز میشود.

۲ تست وایرال لود (viralload)

: این تست مقدار ویروس را در خون اندازه میگیرد. بعد از شروع درمان HIV، هدف این است که مقدار وایرال لود قابل شناسایی نباشد.

۳ تست مقاومت دارویی (drug resistance) : بعضی از انواع HIV نسبت به داروها مقاوم اند. این تست به پزشک کمک میکند تا فرم به خصوص HIV و درمان آن را تشخیص دهد.

درمان

در حال حاضر درمانی برای HIV/AIDS موجود نیست. درواقع وقتی بدن به عفونت دچار شود، دیگر نمیتواند از آن رهایی یابد. با این وجود داروهایی هستند که می توانند HIV را کنترل و از گسترش و عوارض آن جلوگیری کنند. به این داروها، داروهای ضد ویروس (ART) گفته می شود و اگر وجود HIV در بدن شخصی مشخص شود، صرف نظر از سطح و شدت عفونت باید این داروها را مصرف کند.

داروهای ضد ویروس (ART)، معمولا ترکیب سه یا چند دارو از کلاس های مختلف دارویی هستند. این رویکرد تاکنون بهترین شانس را برای کم کردن مقدار ویروس در خون از خود نشان داده است. انتخابهای مختلفی برای ترکیب کردن سه دارو در یک قرص برای مصرف روزانه وجود دارد. هر کلاس دارویی ویروس را از جهت متفاوتی متوقف می کند؛ ترکیب داروها شامل کلاس های مختلفی است به این دلیل که:

- مقاومت ویروس به دارو بررسی شود.
- از تولید نژادهای جدید مقاوم به دارو جلوگیری شود.
- سرکوب ویروس در خون به بالاترین حد ممکن برسد.

ترکیب دو دارو از دو کلاس و یک دارو از کلاس دیگر، به طور متداول استفاده می شود.

انواع کلاس های دارویی به شرح زیر هستند :

- **مهارکننده ترانس کریپتاز معکوس غیر نوکلئوزیدی** (NNRTIs): پروتئینی که HIV برای تولید رونوشت از خود نیاز دارد را خاموش می کند. از این داروها میتوان به efavirenz (Sustiva)، rilpivirine (Edurant)، doravirine (Pifeltro)) اشاره کرد.
- **مهارکننده ترانس کریپتاز معکوس شبه نوکلئوزیدی** (NRTIs): نسخه های معیوب از بلوکهای ساختاری هستند که HIV برای تهیه رونوشت از خود به آنها نیاز دارد. از این داروها میتوان به abacavir (Ziagen)، tenofovir (Viread))، emtricitabine (Emtriva)، lamivudine (Epivir)، zidovudine (Retrovir)) اشاره کرد. داروهای ترکیبی نیز موجود هستند مانند: emtricitabine/tenofovir (Truvada) و emtricitabine/tenofovir alafenamide (Descovy))

مهارکننده های پروتئاز (Pls):

پروتئاز HIV، مولکولی دیگر که ویروس برای تهیه رونوشت خود نیاز دارد را غیر فعال میکنند. از این داروها می توان به atazanavir (Reyataz)، daruna-vir (Prezista)، lopinavir/ritonavir (Kaletra)) اشاره کرد.

- **مهارکننده اینتگراز:** با غیرفعالی کردن پروتئینی به نام اینتگراز

عمل خود را انجام می دهند. HIV از این آنزیم برای قرار دادن ماده ژنتیک خود در لنفوسیت های CD4 T استفاده میکند. از این داروها میتوان به bictegravir sodium/emtricitabine/tenofovir ral- ،(alafenamide fumar (Biktarvy tegravir (Isentress) و dolutegravir (Tivicay)) اشاره کرد.

- **محدودکننده ورود یا ادغام:** از ورود HIV به لنفوسیت های CD4 T جلوگیری میکند. مثال ها: enfuvirtide (Fuzeon)) و maraviroc (Selzentry)

عوارض جانبی درمان:

- تهوع، استفراغ و اسهال
- بیماری های قلبی
- آسیب به کلیه و کبد
- استخوانهای ضعیف یا ازدست دادن استخوان
- مقدار کلسترول غیرطبیعی
- قند خون بالا
- مشکلات روانشناختی احساسی و یا اختلال در خواب

داروهای جایگزین

گاهی اوقات افرادی که مبتلا به HIV هستند، از مکمل هایی که قدرت سیستم ایمنی را بالا میبرند یا عوارض جانبی داروهای ضدویروس را جبران میکنند، استفاده میکنند. گرچه هیچ سند علمی وجود ندارد که مکمل های غذایی باعث پیشرفت سیستم ایمنی میشوند و حتی بعضی از انها ممکن است در اثر داروهای مصرفی مداخله کنند.

مکملهایی که ممکن است کارامد باشند:

- Acetyle-L-cartine: محققان از این ترکیب در افراد دیابتی برای درمان درد، بیحسی یا ضیف بودن عصب، استفاده میکنند

- **پروتئین کشک یا امینواسید های خاص:** شواهد نشان میدهد که پروتئین کشک، یک فراورده ی جانبی پنیر در افزایش وزن در افراد مبتلا به HIV کمک میکند. این پروتئین همچنین در کاهش اسهال و افزایش تعداد سولهای T CD4 نقش دارد. آمینواسیدهای L-glutamine، L-arginine و HMB همچنین در افزایش وزن نقش دارند.
- **ویتامین ها و مواد معدنی:** ویتامین A, D, E, C و B مانند زینک، اهن و سلنیوم در مقادیر کم کمک کننده هستند.

درمان بیماری هایی که با افزایش سن در ارتباط هستند

برخی بیماری های مرتبط با افزایش سن که جز روند طبیعی پیری می باشند ممکن است با ابتلا HIV کنترل سخت تری داشته باشند. برخی داروهایی که برای این نوع بیماری ها تجویز میشوند ممکن است با داروهای ضدHIV اختلال ایجاد کنند. پس بسیار مهم است که درباره وضعیت سلامتی خود و داروهایی که استفاده میکنید با پزشک خود صحبت کنید. اگر درمان خود را به تازگی با پزشک دیگری شروع کرده اید لازم است که به او درمورد روند درمان HIV خود اطلاع دهید تا پزشک اطمینان کامل از عدم وجود هیچگونه اختلال دارویی را داشته باشد.

اخیرا امید تازه ای برای درمان این بیماری به وجود آمده است. تیم دکتر گرو هوتر،از پزشکان برجسته آلمانی با پیوند زدن مغز استخوان یک فرد مقاوم به HIV بیمار مبتلا به ایدز را درمان کردند. تیم معالجه بیمار در واقع با پیوند مغز استخوان به دنبال درمان لوسمی فرد بودند اما از روی عمد تصمیم گرفتند اهداکننده را از بین کسانی بیابند که دارای جهش ژنی

مقاومت به ایدز باشد و همزمان هر دو بیماری فرد یعنی لوسمی و ایدز را درمان کنند. این جهش ژنی در واقع CCR5 را در بدن پذیرنده از کار می‌اندازد. CCR5 یک رسپتور کموکاین است که به طور معمول در سطح سلول های ایمنی یافت می شود این پروتئین علاوه بر نقش اصلی خود (رسپتور کموکاین) به ویروس اچ آی وی اجازه می دهد تا به سطح این سلول ها بچسبد و ساختار ژنتیکی خود را وارد آن کند و آن را به خدمت بگیرد. در واقع این ویروس با اتصال همزمان به CD4و CCR5 دروازه ای برای ورود به سلول می یابد.

حال اگر در بدن همین شخص CCR5 را با جهش در ژن سازنده آن از کار بیندازیم ویروس اچ آی وی هم دیگر نمی‌تواند از این درگاه برای نفوذ استفاده کند این روش خوشبختانه برای این فرد موفقیت‌آمیز بود و اکنون پس از دو سال هیچ اثری از اچ آی وی در او مشاهده نشده اما این روش به دلایل فراوانی عمومیت نیافته؛ استفاده از عمل پیوند بسیار خطرناک است و حدود یک سوم افرادی که تن به این عمل می‌دهند در جریان عمل میمیرند؛ احتمال بازگشت این بیماری هم وجود دارد چرا که همه انواع HIV وابسته بهCCR5 نیستند و می‌توانند با کمک رسپتورهای دیگر سیستم ایمنی را تخریب کنند و مهمترین دلیل هم توانایی ویروس برای سازگار کردن و مقاوم کردن خود در برابر درمان هاست.

واکسن

واکسن HIV که از افراد واکسینه شده در مقابل ویروس HIV محافظت می کند. تا سال ۲۰۲۰ هنوز هیچ گونه واکسن موثری برای ایدز کشف نشده است.

در سال ۲۰۰۹ واکسنی به نام RV144 منتشر شد که کاهش جزئی (تقریباً 30%) در خطر انتقال را سبب شد، که عامل امید در جامعه تحقیقاتی برای یک واکسن موثر بود. آزمایش های بیشتری بر روی واکسن RV144 در حال انجام است در سال ۲۰۲۰، واکسن جدیدی که از همان خانواده RV144 است وارد آزمون شد؛ اما بعد از طی مراحل آزمون محققان ناکام ماندند.

واکسن مورد آزمایش مانند واکسن های کلاسیک حاوی نسخه ضعیف شده ویروس HIV نبود و این واکسن در حقیقت نسخه جدیدی از نخستین واکسن معرفی شده برای پیشگیری از ابتلا به ویروس HIV بود، که تا حدودی دریافت کننده را در برابر این ویروس محافظت می کرد.

نویسندگان: فاطمه کریمی، علی قائمی، مریم کعب عمیر، مهدا خضری

منابع: mayoclinic.org, webmd. com, thelancet.com

Cluster amplification is used to create clonal clusters of a library. After denaturing and hybridization to immobilize within the next-generation sequencing flow cell, the DNA is amplified. Repeating this many times creates the cluster.

Sequencing: There are several major next-generation sequencing platforms for sequencing.

Sequencing by synthesis: Advances in sequencing by synthesis transformed pyrosequencing to a next-generation method. DNA samples are cleaved into short fragments (about 100 bp to 150 bp), and then adapters are ligated to these fragments for PCR to be carried out, creating many copies of the same read in a single spot. Taking an image after flooding with fluorescently-labeled nucleotides, DNA polymerase and a terminator to add a single base at a time, enables the sequence to be obtained. An advance to this method is called paired-end sequencing, which incorporates sequencing from both ends of the DNA fragment and aligning both the forward and reverse reads, improving accuracy. Illumina, a company that manufactures next-generation sequencing equipment, uses this type of technology.

Ion semiconductor sequencing: Another method of sequencing by synthesis uses detection of hydrogen ions released during polymerization on a semiconductor chip to obtain the sequence directly. A single nucleotide is released at a time, and a signal is detected if it is incorporated. The signal is proportional to the number of same nucleotides in a row (eg, three T nucleotides corresponds with three times a single T). This method also uses DNA fragments, but the size is a little larger (about 200 bp). Thermo Fisher Scientific's Ion Torrent platform and Ion Proton system use this approach.

Single-molecule real-time sequencing: Pacific Biosciences uses a different technology, parallelized single-molecule, real-time technology, to perform next-generation sequencing. In this approach, the DNA polymerase is immobilized with a single DNA molecule template. Fluorescent-labels are cleaved off of the nucleotides as they are incorporated, providing a signal for detection and determination of the sequence. This approach has much longer read lengths making alignment and assembly much easier.

Data analysis: Data analysis for next-generation sequencing typically has multiple steps in the process often referred to as a "pipeline," as it is standardized for each analysis type. Here are the major steps typically found in most analysis pipelines:

After the bases are called in each of the reads, the reads are aligned to a reference genome to assemble the gene sequence. Duplications are removed, leaving unique reads only.

Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) must be identified before calling variants to remove population heterogeneity.

Variants, including small insertions/deletions (indels), are called subsequently by comparison to the reference genome after identifying SNPs. The accuracy of variant calling depends on the depth of coverage at each base. Depth is how many times a base is sequenced from unique reads (after removal of duplications).

Annotation of the variants called typically relies on a number of databases to note whether the variant is a known pathogenic or benign variation or one whose function is still unknown (variant of unknown significance). A number of companies have created extensive custom data systems to annotate the alterations identified. Publically available databases are also often used (eg, the Short Genetic Variations database [dbSNP], HapMap (decommissioned and archived), 1000 Genomes Project, Catalogue of Somatic Mutations in Cancer [COSMIC], ClinVar, Online Mendelian Inheritance in Man [OMIM]).

Next-generation sequencing technology can also be used with RNA to look at the transcriptome or expression of genes. Often this is referred to as RNA-Seq, or RNA sequencing. Other modifications enable analysis of the methylome.

tional genetic testing looks only at the common "troublemaker" genes.

Disadvantages are cost and time; however, the price continues to decrease, and the time to results continues to shorten.

The role of most genes in the human genome is still unknown or incompletely understood; therefore, a significant amount of the information found in a human genome sequence is currently unusable.

Most physicians are not trained in how to interpret genomic data. The rate of new findings is rapid, and it is challenging stay current.

An individual's genome may contain information that they do not want to know. For example, a patient may have genome sequencing performed to determine the most effective treatment plan for high cholesterol. In the process, researchers discover an unrelated allele that assures a terminal disease with no effective treatment. Thus, it is important to inform the patient of the potential results before testing.

The volume of information contained in a genome sequence is vast. Policies and security measures to maintain the privacy and safety of this information are still new.

Sanger sequencing

Traditional chain-termination sequencing methodology that was developed in 1977, also known as dideoxy sequencing.

Method has been updated and is conducted by automated sequencers using a modification of the original method, in which a different color dye is used for each nucleotide and capillary electrophoresis is used in place of the gel electrophoresis of the original method.

Although Sanger sequencing was widely used for more than 25 years, it is rarely used now due to the increased sensitivity and reduced costs of next-generation methods.

Pyrosequencing

Target sequence-based method that allows rapid quantification of sequence variation using detection of pyrophosphate release as nucleotides are incorporated in a sequencing-by-synthesis mode.

Target section of DNA is first synthesized by hybridizing the template to a primer and incubating with necessary reagents releasing a pyrophosphate. This is converted to a luciferase-catalyzed reaction, which is detected by a camera creating a pyrogram that is interpreted to determine the sequence.

A limitation is the shorter length of the individual reads obtained as compared with Sanger sequencing, leading to more complicated assembly.

Next-generation sequencing

Next-generation sequencing is performed by a process similar to capillary electrophoresis, but instead of sequencing a single DNA sequence, next-generation sequencing extends the process across millions of fragments of DNA in a parallel fashion, greatly speeding up the sequencing and decreasing the cost. This approach requires complicated reassembly, alignment and bioinformatics analysis to obtain the final sequence. Multiple technology platforms are considered next-generation sequencing.

Next-generation sequencing requires three steps: sample preparation, sequencing and data analysis.

Sample preparation requires two steps:

Library preparation: Sample preparation requires creation of a library. Many nuances and approaches to library preparation are available, depending on the next-generation sequencing platform used, but the goal is the same requiring random fragmentation and tagging of DNA with adaptors. Tags with specific known sequences, known as barcodes, may be used to enable sample pooling, decreasing the cost, increasing efficiency and aiding in assembly after sequencing. Targets may be enriched using multiplexed PCR or hybridization to isolate the regions of interest before sequencing (eg, hotspots [specific base-pairs], targeted exons of genes, whole exome).

In the second step, annealing, the temperature is lowered to below the melting temperature of the sequence. This allows two primers (referred to as the forward and reverse primers), to bind to the complementary sequence within the target DNA. Usually, these primers are within 100 bp and 500 bp apart.

In the third step, elongation, a DNA polymerase (often, Taq DNA polymerase) is used to synthesize new DNA sequence. The polymerase sits down on the DNA at the 3' end of each primer and travels along the template strand, adding new DNA nucleotides in a sequence-specific manner.

The product of each cycle is the generation of a new double-stranded DNA amplicon that is identical to the target sequence within the template strand.

This process is repeated many (35 to 55) times.

Considerations

Often, the second and third step are combined to occur at a single temperature, which may speed up the overall PCR reaction.

In real-time PCR, a sequence-specific probe is included in the reaction. The probe is labeled with a fluorophore on one end and a quencher on the other. When the probe is not bound to the target sequence, the fluorescence of the fluorophore is effectively quenched by the quencher. When the probe is bound to the target sequence, the exonuclease activity of the polymerase cleaves the fluorophore off the probe as it travels along the DNA template. This increases the distance of the fluorophore from the quencher, thereby causing a measurable increase in the fluorescent signal.

An important consideration in any PCR reaction is the DNA polymerase used. High-fidelity DNA polymerases have lower error rates but are also more expensive. Because of the amplification, errors can also be greatly amplified using PCR.

Contamination is also an issue because of the ability to amplify a single DNA molecule and detect it. Consequently, many labs have clean areas to separate DNA isolation and PCR amplification or the use of special laminar flow hoods to protect the sample from contamination.

Finally, the design of the oligonucleotide primers is a critical step to ensure specificity and amplification of the correct region of DNA.

Example applications in oncology biomarkers

Epidermal growth factor receptor mutation testing: Real-time PCR is used to monitor for the presence or absence of certain mutations within the EGFR gene in patients with NSCLC. These mutations are known to sensitize the tumor to treatment with EGFR tyrosine kinase inhibitors such as erlotinib (Tarceva; Genentech, Astellas Oncology) and gefitinib (Iressa, AstraZeneca).

Sequencing

Sequencing is a method to determine the order and type of nucleotide within a DNA molecule. It is an alternative way to determine genetic alterations.

Advantageous over quantitative polymerase chain reaction (PCR) because it detects all mutations present, not just known mutations.

Provides a high-resolution, base-by-base view of the entire genome, exomes, targeted genes or hotspots, depending on the sample preparation.

Captures both large and small abnormalities that might otherwise be missed including point mutations, small insertions or deletions of nucleotides (called indels), frameshifts, fusions between genic regions and amplification or loss of genes or regions of genes.

Creating personalized plans to treat disease may be possible based not only on the mutant genes causing a disease, but also on other genes in the patient's genome.

Genotyping cancer cells allows physicians to select the best treatment and potentially expose the patient to less toxic treatment because the therapy is tailored (also known as personalized, individualized or precision medicine).

Previously unknown genes may be identified as contributing to a disease state; whereas tradi-

quence in a sequence-dependent fashion.

Probe-bound DNA is visualized using a fluorescent microscope (or a bright-field microscope in the case of CISH).

Considerations

FISH is amenable to multiplexing when multiple targets are visualized in the same sample by using different fluorophores to label the probe.

Example applications in oncology biomarkers

Anaplastic lymphoma kinase gene fusions: FISH tests can be used to determine if a fusion of the ALK gene (most commonly to the EML-4 gene) is present in patients with metastatic non–small cell lung cancer . If so, then these patients are candidates for treatment with ALK-targeted therapies, including crizotinib (Xalkori, Pfizer), alectinib (Alecensa, Genentech), and ceritinib (Zykadia, Novartis). The most common FISH test for ALK rearrangement includes two differently colored (red and green) fluorescent probes that flank the highly conserved translocation breakpoint within ALK. In non-rearranged cells, the red and green probes are in close proximity, resulting in a yellow (fused) signal. In patients with an ALK rearrangement, these probes are separated, resulting in a space between the red and green signals, which then fluoresce independently in color.

Epidermal growth factor receptor amplification: EGFR gene amplification can result in overexpression of the EGFR cell surface receptor, a target for inhibition by either small molecule inhibitors (including erlotinib [Tarceva; Genentech, Astellas Oncology] and gefitinib [Iressa, AstraZeneca]) or by anti-EGFR antibodies (such as cetuximab [Erbitux, Eli Lilly], panitumumab [Vectibix, Amgen] and necitumumab [Portrazza, Eli Lilly]). EGFR amplification has been associated with a favorable clinical benefit to targeted EGFR inhibition in both NSCLC and colorectal cancer.

HER-2 amplification: HER-2 status of breast and gastric/gastroesophageal junction carcinomas may be assessed by in situ hybridization. These studies typically use two separately colored probes, one for the HER-2 gene and one as the control probe, to assess for HER-2 gene amplification.

Polymerase chain reaction

Polymerase chain reaction (PCR) is a laboratory method, developed by Kary B. Mullis, PhD, in which a target DNA template sequence is amplified several orders of magnitude. This technique is used in many fields in addition to oncology, including cloning, forensics and infectious disease. For more information on PCR as it relates to immuno-oncology, see the section "Types of Molecular Testing -- Clinical".

Original versions of PCR, known as end-point PCR, required the user to separate the amplified DNA products by size on an agarose gel electrophoresis.

Current clinical versions of PCR are real-time PCR, which include the use of a fluorescently labeled sequence-specific probe to monitor the production of a specific amplified product in real time during the reaction. This can be used quantitatively (termed quantitative PCR or qualitatively. Digital PCR is another quantitative approach to PCR using a very diluted DNA template, and many PCRs run in parallel with the proportion of negative results used to calculate the DNA concentration.

RNA may be used as the template in the reaction, when it is first reverse transcribed to a complementary DNA sequence. This form of PCR is termed reverse transcription PCR.

Typically, a purified DNA sample is required. This means that the DNA must first be extracted from the tumor specimen.

The PCR process is a thermocyclic process, meaning that it proceeds through changes in temperature in a repeated fashion. Many real-time PCR assays use a three-step cycling method.

In the first step, denaturation, the DNA is heated to a high temperature (at or near 98°C). This step separates the DNA strands, turning the double-stranded DNA sample into a single-stranded DNA template.

toplasm, nucleus, membrane) of the protein of interest. Typically, IHC is quantified by percent of cells that are positive for the stain and intensity on a scale of +1 to +3. If a protein is found by this method, then it is termed IHC positive, and the protein is considered over-expressed.

Considerations

Tissue processing and specimen fixation (pre-analytical variables) can significantly affect the results. Standardization of pre-analytical variables helps ensure accurate and reproducible results.

For example, over-fixation can destroy the epitope on some antigens, rendering it unrecognizable by the antibody.

Decalcification agents (eg, hydrochloric acid) used on bone or other calcified tissues may result in decreased antigenicity of tissue.

Antibodies can be characterized by their specificity, sensitivity and affinity.

Visual interpretation can be subjective and differs between pathologists. Computerized image analysis of IHC staining (eg, scoring of HER-2 in breast cancer) has removed some of the subjectivity from IHC.

Example applications in evaluation of tumors

Categorization of malignant tumor type (eg, carcinoma, lymphoma, germ cell, sarcoma, melanoma): It may not be possible to classify certain tumors based solely on their histologic appearance.

Determining site of origin for metastatic tumors.

Subclassification of tumor in various organ systems (eg, specific subtype of lymphoma).

Example applications in oncology biomarkers

Estrogen receptor/progesterone receptor staining (breast cancer): used to determine if a patient with breast cancer is hormone receptor positive; these patients will be candidates for treatment with tamoxifen or aromatase inhibitors.

HER-2 (breast cancer): used to determine if a patient with breast cancer will be a candidate for HER-2–directed therapy, most notably trastuzumab (Herceptin, Genentech), lapatinib (Tykerb, Novartis), pertuzumab (Perjeta, Genentech) and trastuzumab emtansine (Kadcyla, Genentech).

PD-L1 (non–small cell lung cancer): used to determine if a patient with metastatic NSCLC may be a candidate for pembrolizumab (Keytruda, Merck).

In situ hybridization

In situ hybridization (ISH) is a laboratory test that allows for the precise localization of a specific region of nucleic acid on a chromosome or in tissue.

Uses a sequence-specific DNA, RNA or oligonucleotide probe to bind to a complementary section of the DNA or RNA.

Visualization of a reporter molecule on the probe allows for the detection and localization of a particular nucleic acid target within a heterogenous cell population, such as a tissue sample.

Used to evaluate genetic abnormalities, including amplifications (as opposed to over-expression by changes in translational or post-translational events), deletions, translocations and aneuploidy.

Method

Most ISH procedures use a fluorescently-labeled probe. This is referred to as fluorescent in situ hybridization (FISH). FISH studies are evaluated under a fluorescent microscope. Alternatively, when a chromogenic probe is used, it is referred to as chromogenic in situ hybridization (CISH). CISH studies are evaluated using a bright-field microscope.

Within the sample, the target DNA is first denatured with either heat and/or chemicals. This step is necessary to create a single-stranded template that will hybridize to the probe.

The labeled probe is then added to the sample. The probe hybridizes, or binds, to the target se-

to drive treatment choices include:

ASCO Targeted Agent and Profiling Utilization Registry (TAPUR) study: This prospective, nonrandomized trial will collect information on the antitumor activity and toxicity of commercially available targeted cancer drugs in multiple tumor types (including advanced solid tumors, multiple myeloma, and B-cell non-Hodgkin's lymphoma) with a genomic variation known to be a drug target. The study will evaluate 18 drugs targeting 44 genes contributed by seven pharmaceutical companies, with cohorts of up to 35 patients defined by tumor type, genomic abnormality and drug. This study, which opened in cancer center networks in Michigan and at Carolinas Healthcare System's Levine Cancer Institute in March 2016, has the potential to identify new applications of current drugs. Additional drugs/targets are expected to be added as the study continues.

NCI-Molecular Analysis for Therapy Choice (MATCH) trial: This phase 2 trial will evaluate more than 20 different study drugs or drug combinations, each targeting a specific gene mutation, to match each patient in the trial with a therapy that targets a molecular abnormality in his or her tumor.

Common Pathology Tests Performed in Oncology

A wide variety of tests are performed in the laboratory for accurate pathologic diagnosis and assessment of tumor biomarkers. These tests range from immunohistochemistry to determine expression of proteins within cells to a whole host of molecular tests evaluating tumor DNA and RNA characteristics. Methodology and examples of utility for the most commonly used tests are summarized in the following section.

Immunohistochemistry

Immnohistochemistry (IHC) is performed routinely in pathology laboratories to determine the expression of proteins within a tissue specimen.

Method

Tissue is fixed and prepared on a microscope slide.

The tissue is first exposed to the primary antibody. This is the antigen-specific antibody.

The tissue is next exposed to the secondary antibody. The secondary antibody is typically developed to bind to the first one by using a general species-specific antibody created against the immunoglobulin G of the species in which the primary antibody was made. For example, if an antibody was made in a mouse or in mouse cells in culture, then the secondary antibody would be anti-mouse. This antibody binds to the primary antibody and serves two purposes:

Signal amplification: Often, a number of secondary antibodies bind to a single primary antibody; thus, for every single antigen-primary antibody binding event, multiple secondary antibody-primary antibody binding events occur, thus amplifying the initial binding event.

Signal detection: Commonly, a reporter is conjugated to the secondary antibody. This reporter molecule is used to monitor the IHC reaction.

For example, the peroxidase enzyme may be conjugated to the secondary antibody. Upon addition of the substrate diaminobenzidine (DAB), the peroxidase enzyme catalyzes its oxidation, resulting in the production of a brownish colored product that can be visualized under an ordinary microscope.

As another example, a fluorophore such as fluorescein may be conjugated to the secondary antibody, which may be visualized using a fluorescent microscope.

By using a secondary antibody — termed indirect detection — the cost is reduced by avoiding having to conjugate every antibody to an enzyme for detection (known as direct detection); only general secondary antibodies need this done.

Immunohistochemistry can give semi-quantitative results as well as cellular location (eg, cy-

(may be used to facilitate identification of Barrett's mucosa in biopsy specimens).

Congo red

4. Detection of amyloid within tissue.

Mucicarmine

5. Detection of mucin within neoplasms, supporting classification as adenocarcinoma (e.g. non-small cell lung carcinomas).

Periodic acid-Schiff

6. Detection of glycogen or mucin within neoplasms.

Trichome stain

7. Primarily used to demonstrate collagen and muscle in normal tissue (e.g. detection of increased fibrosis in the liver).

Histology Stain

Risk markers

The field of cancer genetics is focused on the evaluation of important risk markers and inherited disease. Most well-known are markers such as BRCA1 and BRCA2 for inherited risk of breast/ovarian cancer. Other examples include markers for Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) and Li-Fraumeni syndrome. Individuals with Lynch syndrome have mutations in genes typically involved in repair of DNA (MLH1, MSH2, MLH3, MSH6, PMS1, PMS, and TGFBR2) giving them a much higher likelihood of developing colon cancer as well as other cancers (eg, endometrial, ovarian, pancreatic) at an earlier age. Mutations in the tumor suppressor gene TP53 and CHEK2 may indicate the patient has Li-Fraumeni syndrome, which often affects children or young adults and leads to development of multiple types of tumors in their lifetime.

Diagnostic markers

Whereas histology and morphology are important to determine if a tumor is benign or cancerous, molecular markers can help confirm diagnosis. An example of this is the use of BCR-ABL fusion marker to confirm the diagnosis of leukemia. This marker is also useful for the prediction of response to treatments and to monitor disease. The CA-125 marker is often used to help determine if a mass in the ovaries is potentially cancerous.

Prognostic markers

Prognostic markers are used to help a physician assess the potential outcome for a patient regardless of treatment. They can help assess the aggressiveness of disease. An example of a prognostic marker is CA19-9 in pancreatic cancer, which can help assess the operability of the tumor and provide insight into potential survival. The expression of CD44 is often associated with a poor prognosis in bladder cancer, whereas expression of cyclin D1 is associated with a better prognosis with lower odds of recurrence.

Predictive markers

Predictive markers are used to determine potential for response to a specific treatment. Targeted therapies often use companion diagnostics to direct treatment decisions. These tests use predictive markers to identify which drugs may provide a favorable response for a patient. Examples include the EML4-ALK fusion gene for treatment with crizotinib (Xalkori, Pfizer) in non–small cell lung cancer and BRAF V600E mutation for treatment of melanoma with vemurafenib (Zelboraf, Genentech).

Response markers

Markers of response are often considered the same as predictive markers. However, with the introduction of circulating tumor DNA tests, it is now possible to monitor response over time, not just before treatment.

Clinical trials assessing utility of biomarkers

Most trials now incorporate assessment of biomarkers. The markers may be used to guide selection of treatment in the study or may be added as correlatives for analysis after the study is completed to learn if there are associations of specific markers to response to treatment. Examples of large multidrug studies using markers

ditive and cross-linking effects of formalin. Is sometimes used during processing to complete fixation following incomplete primary formalin fixation. Can be used for fixation or post-fixation of large fatty specimens (particularly breast), because it will allow lymph nodes to be more easily detected as it clears and extracts lipids. If used for primary fixation specimens can be placed directly into 95% ethanol for processing.

15 .Formol acetic alcohol Formulation

Ethanol absolute: 85 ml

40% formaldehyde: 10 ml

Acetic acid glacial: 5 ml

Fixation time: 1 – 6 hours

Recommended Applications

A faster acting agent than alcoholic formalin due to the presence of acetic acid that can also produce formalin pigment. Sometimes used to fix diagnostic cryostat sections. If used for primary fixation specimens can be placed directly into 95% ethanol for processing.

Proprietary fixative solutions

During the last few years there have been an increasing number of proprietary fixatives developed for use in histopathology and medical research. They are generally marketed as less hazardous replacements for traditional formalin fixatives or as less toxic substitutes for fixative mixtures containing mercury such as B5.

Even though an MSDS must be provided the exact composition of these reagents is not usually published and a potential user has to make do with a general description of the reagent. Those recommended as substitutes for B5 and Zenker's (which are commonly used to fix lymphoid and hemopoietic tissues) usually contain zinc or barium salts and a low percentage of formaldehyde, while direct formalin substitutes often contain glyoxal and other components. It is in the latter group that reagents recommended for microwave-assisted fixation are found (see Part 5). Ethanol, methanol and isopropanol are included in some formulations.

Initial Pathology Assessment

Visual inspection of the gross specimen and tissue staining are two important aspects of assessing tumors in the pathology lab and are briefly summarized in the following section.

Gross examination

Gross examination is the visual macroscopic inspection of the tumor, without the use of a microscope. All anatomic structures present, and the tissue specimen's size, color and consistency, are recorded. Gross examination helps the pathologist determine the size of the specimens to dissect and assess. Histologic sections that best demonstrate the features seen at gross description, including assessment of margins (if applicable) are taken during gross examination. Inking of margins also is performed at gross examination. The process provides important diagnostic information used for staging and prognosis, and a picture may be taken as part of the record.

Histology staining

Histology is the microscopic appearance of stained cell and tissue structures of a specimen. The characteristic histology of cells/tissue is used to identify all of the pathologic processes involving a specimen.

Commonly used histologic stains include:

1. Hematoxylin (nuclei) and eosin (cytoplasm) staining (H&E)

H&E is the standard stain performed for routine examination of tissue under the microscope to form the cornerstone of pathologic diagnoses. Hematoxylin is a dark blue or violet stain that binds to DNA and RNA in the nucleus of cells. Eosin is a red or pink stain that binds to cytoplasmic proteins.

2. A wide variety of special stains are available to evaluate pathologic processes, a few of which are quickly summarized below:

Alcian blue

3. Identification of acid mucins within cells

9 .Hollande's Formulation

Copper acetate: 25 g

Picric acid: 40 g

40% formaldehyde: 100 ml

Acetic acid: 15 ml

Distilled water: 1000 ml

Dissolve chemicals in distilled water without heat.

Fixation time: 4 – 18 hours

Recommended Applications

Recommended for gastro-intestinal tract specimens and fixation of endocrine tissues. Produces less lysis than Bouin. Has some decalcifying properties.

Fixative must be washed from tissues if they are to be put into phosphate buffered formalin on the processing machine because an insoluble phosphate precipitate will form.

10 .Gendre's solution Formulation

95% Ethanol saturated with picric acid: 800 ml

40% formaldehyde: 150 ml

Acetic acid glacial: 50 ml

Fixation time: 4 - 18 hours

Recommended Applications

This is an alcoholic Bouin solution that appears to improve upon ageing. It is highly recommended for the preservation of glycogen and other carbohydrates. After fixation the tissue is placed into 70% ethanol. Residual yellow colour should be washed out before staining.

11 .Clarke's solution Formulation

Ethanol (absolute): 75 ml

Acetic acid glacial: 25 ml

Fixation time: 3 – 4 hours

Recommended Applications

Has been used on frozen sections and smears. Can produce fair results after conventional processing providing fixation time is kept very short. Preserves nucleic acids but lipids are extracted. Tissues can be transferred directly into 95% ethanol.

12 .Carnoy's solution Formulation

Ethanol absolute: 60 ml

Chloroform: 30 ml

Acetic acid glacial: 10 ml

Fixation time: 1 – 4 hours

Recommended Applications

Is rapid acting, gives good nuclear preservation and retains glycogen. It lyses erythrocytes and dissolves lipids and can produce excessive hardening and shrinkage.

13 .Methacarn Formulation

Methanol absolute: 60 ml

Chloroform: 30 ml

Acetic acid glacial: 10 ml

Fixation time: 1 – 4 hours

Recommended Applications

Similar properties to Carnoy but causes less shrinkage and hardening.

14 .Alcoholic formalin Formulation

40% Formaldehyde: 100 ml

95% Ethanol: 900 ml

0.5 g calcium acetate can be added to ensure neutrality

Fixation time: 12 - 24 hours

Recommended Applications

Combines a denaturing fixative with the ad-

Distilled water: 950 ml

Mercuric chloride: 50 g

Potassium dichromate: 25 g

Glacial acetic acid: 50 ml

Fixation time: 4 – 24 hours

Recommended Applications

Gives good nuclear preservation but lyses red blood cells due to the presence of acetic acid. Has been recommended for congested specimens and gives good results with PTAH and trichrome staining. Produces mercury pigment which should be removed from sections prior to staining and can produce chrome pigment if tissue is not washed in water prior to processing. Is an intolerant agent so, after water washing, tissue should be stored in 70% ethanol.

6 .Helly's fixative Formulation

Distilled water: 1000 ml

Potassium dichromate: 25 g

Sodium sulphate: 10 g

Mercuric chloride: 50 g

Immediately before use add–

40% formaldehyde: 50 ml

Fixation time: 4 – 24 hours

Recommended Applications

Considered excellent for bone marrow, extramedullary haematopoiesis and intercalated discs of cardiac muscle.

Produces mercury pigment which should be removed from sections prior to staining and can produce chrome pigment if tissue is not washed in water prior to processing. Is an intolerant agent so, after water washing, tissue should be stored in 70% ethanol. Because of the low pH of this fixative formalin pigment may also occur.

7 .B-5 fixative Formulation

Stock solution

Mercuric chloride: 12 g

Sodium acetate anhydrous: 2.5 g

Distilled water: 200 ml

Working solution, prepare immediately before use

B-5 stock solution: 20 ml

40% formaldehyde: 2 ml

Fixation time: 4 – 8 hours

Recommended Applications

Despite its mercury content and consequent problems with disposal this fixative is popular for fixation of haematopoietic and lymphoid tissue. It produces excellent nuclear detail, provides good results with many special stains and is recommended for IHC. Sections will require the removal of mercury pigment prior to staining. Tissue should not be stored in this fixative but placed in 70% ethanol.

8 .Bouin's solution Formulation

Picric acid saturated aqueous soln. (2.1%): 750 ml

40% formaldehyde: 250 ml

Acetic acid glacial: 50 ml

Fixation time: 4 – 18 hours

Recommended Applications

Gives very good results with tissue that is subsequently trichrome stained. Preserves glycogen well but usually lyses erythrocytes. Sometimes recommended for gastro-intestinal tract biopsies, animal embryos and endocrine gland tissue. Stains tissue bright yellow due to picric acid. Excess picric should be washed from tissues prior to staining with 70% ethanol. Because of its acidic nature it will slowly remove small calcium deposits and iron deposits.

3.Formal saline

4.Zinc formalin (unbuffered)

5.Zenker's fixative

6.Helly's fixative

7.B-5 fixative

8.Bouin's solution

9.Hollande's

10.Gendre's solution

11.Clarke's solution

12.Carnoy's solution

13.Methacarn

14.Alcoholic formalin

15.Formol acetic alcohol

1 .Phosphate buffered formalin Formulation

40% formaldehyde: 100 ml

Distilled water: 900 ml

Sodium dihydrogen phosphate monohydrate: 4 g

Disodium hydrogen phosphate anhydrous 6.5 g

The solution should have a pH of 6.8

Fixation time: 12 – 24 hours

Recommended Applications

The most widely used formaldehyde-based fixative for routine histopathology. The buffer tends to prevent the formation of formalin pigment. Many epitopes require antigen retrieval for successful IHC following its use. Most pathologists feel comfortable interpreting the morphology produced with this type of fixative.

2 .Formal calcium

Formulation

40% formaldehyde: 100 ml

Calcium chloride: 10 g

Distilled water: 900 ml

Fixation time: 12 – 24 hours

Recommended Applications

Recommended for the preservation of lipids especially phospholipids.

3 .Formal saline Formulation

40% formaldehyde: 100 ml

Sodium chloride: 9 g

Distilled water: 900 ml

Fixation time: 12 – 24 hours

Recommended Applications

This mixture of formaldehyde in isotonic saline was widely used for routine histopathology prior to the introduction of phosphate buffered formalin. It often produces formalin pigment.

4 .Zinc formalin (unbuffered) Formulation

Zinc sulphate: 1 g

Deionised water: 900 ml

Stir until dissolved then add–

40% formaldehyde: 100 ml

Fixation time: 4 – 8 hours

Recommended Applications

Zinc formalin solutions were devised as alternatives to mercuric chloride formulations. They are said to give improved results with IHC. There are a number of alternative formulas available some of which contain zinc chloride which is thought to be slightly more corrosive than zinc sulphate.

5 .Zenker's fixative Formulation

There are nine specialisations in pathology:

1.chemical pathology – looks at the chemicals in blood and other bodily fluids

2.haematology – explores blood disorders

3.anatomical pathology – looks at disease in human tissue – for the most part this is body tissue surgically removed from living patients. Cytopathology (the study of disease at a cellular level) is a subspecialty of anatomical pathology

4.medical microbiology – investigates infection caused by bacteria, viruses, fungi and parasites

5.immunopathology – looks at immune responses to disease

6.genetic pathology – looks at genetic diseases

7.forensic pathology – used to discover the cause of sudden or unexpected death, or in cases where the police suspect a death was not due to natural causes

8.general pathology – concerned with all aspects of laboratory investigation of disease

9.clinical pathology – the diagnosis of disease using laboratory testing.

Reasons to have a blood or pathology test:

Apart from detecting and diagnosing disease, blood and pathology tests are important for:

1.treating disease

2.monitoring disease progression

3.preventing disease (for example, a Pap smear or mammogram may reduce the risk of some common women's cancers through early detection)

4.determining future risk of disease (for example, looking at cholesterol levels or the risk of inherited conditions such as familial breast cancer)

aiding research into new treatments, and safety of treatments and procedures.

If your doctor or specialist sends you for blood and pathology tests, it's because there's some concern about your health (or you're at an age where health risks may be more likely) and a test is an effective way of discovering whether there's a problem. You may be sent for blood and pathology tests to:

screen for disease – screening may pick up a disease in its early stages, sometimes even before you're aware you have it, or a genetic or inherited disorder

look for potential health risks – many risks to your health, such as diabetes, heart disease, or rheumatoid arthritis, can be detected with blood and pathology tests. Your doctor will look at your health history (such as age, weight, lifestyle and family history of disease) and your test results to assess your health risk

diagnose an illness – if you're sick, your doctor may need test results to pinpoint the cause, and make an accurate diagnosis and treatment plan

give a prognosis – if you have a disease, blood and pathology tests can help your doctor determine your prognosis (likely health outcome or course of your disease). If you have cancer, your doctor would use tests to work out the stage your disease has reached

prepare for treatment – your doctor may need to take a blood test to determine your blood type before surgery or transfusion, for example

monitor your illness or medications – your doctor will order tests to work out whether your illness is getting better or worse or remaining stable. They may also want to assess medication levels in your blood and the effects of some medications on your organs, for example.

fixative solutions of specimens:

1.Phosphate buffered formalin

2.Formal calcium

انجمن علمی علوم آزمایشگاهی

INTRODUCTION CLASSIFICATION OF PATHOBIOLOGY LABORATORY TESTS AND ITS IMPORTANCE

PROFILE

Health care need to check the health and diagnosis of disorder or disability and take attention to recovery and improve the disease. The delivery of a specimen to the pathology laboratory initiates a complex series of events resulting in a pathologic diagnosis/interpretation. This following implied pathobiology tests importance so The goal of pathology examination of tissue is to provide timely accurate, specific and sufficiently comprehensive diagnoses to enable the treating physician to develop an optimal plan of treatment. Members of pathobiology lab contains pathologists, pathologists' assistants, cytotechnologists, histotechnologists. Specimens sent to lab evaluated on the base of methods used to diagnose and separating them from tissues that was examined (tumor sampling; liquid biopsy; tissue biopsy e.g. needle biopsies, surgical biopsies, sentinel lymph node mapping and biopsy).

Tissue fixation serves several purposes during the pathologic evaluation of specimens. Fixation preserves tissue by preventing autolysis by cellular enzymes, helps prevent decomposition of tissue by bacteria and molds, hardens tissue to facilitate sectioning, inactivates infectious agents and enhances tissue avidity for dyes. Fixation also has undesirable effects on tissue such as alteration of protein structure (loss of antigenicity), loss of soluble tissue components and degradation of DNA and RNA.

SPECIALTIES

Microbiology: Bacteriology, Mycobacteriology, Mycology, Parasitology, Virology
Serology: Syphilis Serology, General Immunology
Chemistry: Routine Chemistry, Endocrinology, Toxicology, Urinalysis
Hematology
Immunohematology: ABO Grouping and Rh typing, Unexpected antibody detection, Compatibility testing, Unexpected antibody identification
Pathology: Cytology, Histopathology, Oral Pathology Radiobioassay
Histocompatibility

PAHOLOGY INTRODUCTION

Pathology means the study of disease and its causes and progression. Pathology tests cover blood tests, and tests on urine, stools (faeces) and bodily tissues.

A pathologist interprets the results of blood and pathology tests and looks for abnormalities that may point to disease, such as cancer and other chronic illnesses, or health risks, such as pre-diabetes.

Aritron

ARITRON periodical scientific, cultural ,sundicational and litrary Jornal
concessionaire:
AJUMS LAB SCI students scientific Assossaition
Director and chief clerk:
Reza Abu Ali
Licence Number:
99090204
Firt issue , March 2021
Writers :
Reza Abu Ali
Nazanin Zaki Zade
Fatemeh Karimi
Maryam Kab Omeir
Mahda Kherzry
Fatemeh Bineshfar
Fatemeh khademi
Graphic and design
Mostafa Mola

Tabel of content

سخن سردبیر
اریترون
چالش های آزمایشگاهی ویروس گرونای جدید
بودن
HIV
INTRODUCTION CLASSIFICATION OF PATHOBIOLOGY LABORATORY TESTS AND ITS IMPORTANCE

Ahvaz Jondi Shapour University Of Medical Sciences

AJUMS LAB SCI students scientific Assossaition

Aritron

ARITRON periodical scientific, cultural ,sundicational and litrary Jornal
1st Issue, March 2021
99090204

Ahvaz Jondi Shapour University Of Medical Sciences

AJUMS LAB SCI students scientific Assossaition

You will read in this issue:
INTRODUCTION CLASSIFICATION OF PATHOBIOLOGY LABORATORY TESTS AND ITS IMPORTANCE