





**دانشگاه آزاد اسلامی
واحد پزشکی تهران**

پایان نامه :

جهت دریافت دکترای پزشکی

موضوع :

**شناسایی موارد عفونت های مایکوباکتریوم در مبتلایان به بدخیمی های با منشأ
خونی با استفاده از کشت آسپیره مغز استخوان و تست PCR در نمونه خون کامل و**

آسپیره مغز استخوان

استاد راهنما:

جناب آقای دکتر محمدکریم رحیمی

اساتید مشاور:

جناب آقای دکتر سید اسدا... موسوی

جناب آقای دکتر سعید ذاکر بستان آباد

نگارش:

خانم دکتر صبا نصر

شماره پایان نامه : ۴۲۹۱

سال تحصیلی : ۱۳۸۹



Islamic Azad University

College of Medicine

Thesis:

For Doctorate of Medicine

Subject:

**Study of mycobacterial infection in hematological
malignancies with culturing and PCR method of bone
marrow aspiration**

Thesis Adviser:

Dr. Mohammadkarim Rahimi

Consultant Advisers:

Dr. Seyyed Asadollah Mousavi

Dr. Saeed Zaker-Bostanabad

Written by:

Dr. Saba Nasr

Year : 2010

No. 4291

سپاس خداوند بزرگ را

اکنون که این رساله به پایان رسیده است بر خود لازم می دانم که از راهنمایی های ارزنده استاد گرامی جناب آقای دکتر محمد کریم رحیمی، که هدایت این رساله را به عهده داشته اند و جناب آقای دکتر سید اسداله موسوی و جناب آقای دکتر سعید ذاکر بستان آباد مشاوران محترم پایان نامه اینجانب به خاطر پیشنهادات ارزشمندشان صمیمانه تشکر نمایم.

هم چنین نهایت امتنان و تشکر را تقدیم حضور سرکار خانم دکتر پروانه عدیمی که در این راه مرا یار و یاور بودند، می نمایم.

از آقایان قلمی و پورآذر، کارکنان محترم آزمایشگاه مسعود، که در زمینه این رساله از کمک های بی شمارشان دریغ نفرمودند کمال سپاسگزاری را دارم.

پدر و مادر عزیزم، چگونه تشکر و سپاس گویم مهر، محبت و کمکهای شما

عزیزان مهربان را هر چند قطره ای از دریا

تقدیم به:

همراہان ہمیشگی ام،

پدر و مادر عزیزم

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	چکیده فارسی
۲	فصل اول: مقدمه و بیان اهمیت مسأله
۵	فصل دوم: بررسی متون
۴۱	فصل سوم: روش مطالعه
۴۴	فصل چهارم: یافته ها
۵۷	فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری
۶۱	فهرست منابع
۶۵	چکیده انگلیسی

فهرست جداول

صفحه	عنوان
۴۵	جدول ۱- توزیع فراوانی سنی بیماران مورد بررسی
۴۶	جدول ۲- توزیع فراوانی جنسی بیماران مورد بررسی
۴۷	جدول ۳- توزیع فراوانی نتایج سیتولوژی مغز استخوان بیماران مورد بررسی
۴۸	جدول ۴- توزیع کشت آسپیره مغز استخوان در بیماران مورد بررسی
۴۹	جدول ۵- توزیع فراوانی نتایج PCR آسپیره مغز استخوان بیماران مورد بررسی
۵۰	جدول ۶- توزیع فراوانی نوع جرم یافت شده در کشت در بیماران مورد بررسی

فهرست نمودارها

صفحه	عنوان
۵۱	نمودار ۱- توزیع فراوانی سنی بیماران مورد بررسی
۵۲	نمودار ۲- توزیع فراوانی جنسی بیماران مورد بررسی
۵۳	نمودار ۳- توزیع فراوانی نتایج سیتولوژی مغز استخوان بیماران مورد بررسی
۵۴	نمودار ۴- توزیع کشت آسپیره مغز استخوان در بیماران مورد بررسی
۵۵	نمودار ۵- توزیع فراوانی نتایج PCR آسپیره مغز استخوان بیماران مورد بررسی
۵۶	نمودار ۶- توزیع فراوانی نوع جرم یافت شده در کشت در بیماران مورد بررسی

شناسایی موارد عفونت های مایکوباکتریوم در مبتلایان به بدخیمی های با منشأ خونی با استفاده از کشت آسپیره مغز استخوان و تست PCR در نمونه خون کامل و

آسپیره مغز استخوان

دانشجو: صبا نصر استاد راهنما: جناب آقای دکتر محمدکریم رحیمی

اساتید مشاور: جناب آقای دکتر سید اسد... موسوی و جناب آقای دکتر سعید ذاکر بستان آباد

تاریخ دفاع: شماره پایان نامه: ۴۲۹۱ کد شناسایی پایان نامه: ۱۳۶۱۰۱۰۱۸۷۲۰۶۳

هدف: این مطالعه به منظور بررسی موارد عفونت های مایکوباکتریوم در مبتلایان به بدخیمی های با منشأ خونی با استفاده از کشت آسپیره مغز استخوان و تست PCR در نمونه خون کامل و آسپیره مغز استخوان انجام شده است.

روش مطالعه: این مطالعه به صورت یک بررسی مشاهده ای (Observational) توصیفی - تحلیلی (Descriptive-Analytical) مقطعی (Cross-Sectional) انجام شده است. حجم نمونه مورد بررسی شامل ۹۶ بیمار مبتلا به بدخیمی های با منشأ خونی بود که به بیمارستان شریعتی تهران مراجعه نموده بودند.

یافته ها: کشت مغز استخوان در ۱۰ نفر (۱۰/۴ درصد) از بیماران مثبت بود که هیچ یک مایکوباکتریوم نبودند و ۵ مورد آلودگی، ۲ مورد اسپرژیلوس، ۱ مورد استرپتومایسس و ۲ مورد بروسلا مشاهده شد. البته در PCR ۳ بیمار (۳/۱ درصد) از نظر مایکوباکتریوم مثبت بودند. سن بیماران، جنسیت آنها، نوع بدخیمی و نیز دریافت پیوند مغز استخوان در بیماران تأثیری در مثبت بودن نتایج PCR نداشتند ($P > 0.05$).

نتیجه گیری: در مجموع بر اساس یافته های حاصل از این مطالعه و مقایسه آنها با سایر مطالعات انجام شده در این زمینه چنین استنباط می شود که بررسی و غربالگری از نظر عفونت های مایکوباکتریایی در مبتلایان به بدخیمی های با منشأ خونی باید به صورت دوره ای انجام گردد.



مقدمه و بیان اهمیت مسئله:

بدخیمی های با منشأ خونی گروه متنوعی از بدخیمی ها را تشکیل می دهند که همراه با اختلالات ژنتیکی سلولهای خونساز می باشند. این بدخیمی ها شامل انواع مختلف لوکمی ها (ALL، AML، CML و CLL)، لنفوم ها (هوچکین و غیرهوچکین)، میلوم مولتیپل، سندرم های میلودیسیپلاستیک و پلی سایتمی ورا می باشند. آنمی آپلاستیک جزء Stem cell disorder ها می باشد که در صورت عدم درمان یا پیوند بسیار کشنده است، در نتیجه می توان آن را جزء بدخیمی ها دسته بندی نمود. در این بین لوسمی ها ۴۱ درصد از کل بدخیمی ها در سنین کمتر از ۱۵ سال را تشکیل می دهند و شیوع آنها حدود ۴۰ نفر در هر یک میلیون نفر کودک کمتر از ۱۵ سال می باشد که ۷۵ درصد از این موارد را لوسمی لنفوبلاستیک حاد تشکیل می دهد.

با وجود آن که اتیولوژی واقعی بدخیمی های با منشأ خونی مشخص نمی باشد؛ اما مجموعه ای از عوامل ژنتیکی و محیطی را در این زمینه دخیل می دانند. مبتلایان به این گروه از بیماری ها هم خود و هم خانواده های شان کیفیت زندگی کاهش یافته ای را تجربه می نمایند و نیز طول عمر آنها به میزان معناداری کوتاهتر از سایر کودکان است. به علاوه درمان این بیماری هزینه های بهداشتی سنگینی را به خانواده های کودکان مبتلا از یک سو و به سیستم بهداشتی کشور از سوی دیگر وارد می نماید. لذا تشخیص و درمان بدخیمی های با منشأ خونی از اهمیت به سزایی برخوردار است و بدون درمان موثر بیماری اغلب کشنده خواهد بود. بنابراین انتخاب درمان مناسب نقش مهمی در پیش آگهی بیماران خواهد داشت و می توان با انتخاب یک درمان مناسب

بهبودی را در حدود ۸۰ درصد از بیماران انتظار داشت. با این وجود عواملی مانند وقوع عوارض دارویی و عدم کامپلایانس بیماران می تواند سبب کاهش میزان موفقیت درمانی گردد.

یکی از عوارض مورد مشاهده در مبتلایان به بدخیمی های با منشأ خونی افزایش احتمال بروز بیماری های عفونی می باشد که ناشی از دو عامل عمده است؛ عامل نخست سرکوب ایمنی ناشی از مصرف داروهای کموتراپی و عامل دوم ضعف ایمنی ناشی از نقص عملکرد سلول های ایمنی. از جمله عفونت هایی که این بیماران مستعد ابتلا به آنها هستند، انواع مختلف عفونت های فرصت طلب به ویژه عفونت های مایکوباکتریایی می باشند. بر همین اساس با توجه به اهمیت موضوع در این مطالعه به بررسی موارد عفونت های مایکوباکتریوم در مبتلایان به بدخیمی های با منشأ خونی با استفاده از کشت آسپیره مغز استخوان و تست PCR در نمونه خون کامل و آسپیره مغز استخوان پرداختیم.



بررسی متون (منابع ۱ تا ۱۲):

لوسمی حاد

لوسمی سرطانی است که در مغز استخوان شروع می شود و سرریعا به داخل خون می رود و می تواند به نقاط دیگر بدن مانند گره های لنفاوی، کبد، طحال، سیستم عصبی مرکزی (مغز و طناب نخاعی) و بیضه ها گسترش یابد. حاد بدین معنی است که لوسمی سریع گسترش می یابد و اگر درمان نیابد در طی چند ماه احتمال مرگ وجود دارد.

مغز استخوان و بافت لنفونید

مغز استخوان قسمت داخلی نرم بعضی از استخوان ها مانند جمجمه، شانه، دنده ها، لگن و استخوان های پشت می باشد که از سلول های هماتوپونتیک (تشکیل دهنده خون)، سلول های چربی و بافت های حمایتی که به رشد سلول های هماتوپونتیک کمک می کند تشکیل می شود؛ این ها شامل سلول های اصلی هماتوپونتیک که به طور مرتب سلول های جدید را ایجاد می کنند می شود، بعضی از این سلول های جدید به عنوان سلول های اصلی باقی می مانند تا زمانی که بقیه سلول ها دست خوش یک سری تغییرات شوند. به هنگام این مراحل سازندگی سلول های اصلی هماتوپونتیک متوقف می شود و سرانجام یکی از سه نوع سلول خونی، سلول های قرمز خون، سلول های سفید خون یا پلاکت ها را ایجاد می کنند.

سلول های قرمز خون حاوی هموگلوبین هستند که اکسیژن را از ریه ها به بافت های دیگر بدن حمل می کنند و دی اکسید کربن را به ریه ها بر می گردانند. کم خونی (کاهش تعداد سلول های قرمز خون) به طور مشخص باعث ضعف ، خستگی و کوتاهی نفس می شود.

معمولا پلاکت ها به عنوان نوعی سلول خونی طبقه بندی می شوند اما در واقع پلاکت ها در ترمیم نواحی آسیب دیده رگ های خونی به علت بریدگی یا کبودی با اهمیت می باشند . کاهش تعداد پلاکت ها را ترومبوسیتوپنی می نامند که در صورت صدمه رگ های خونی موجب افزایش خونریزی می شود.

سلول های سفید خونی که لکوسیت نامیده می شوند در دفاع بدن در مقابل ویروس ها و باکتری ها با اهمیت هستند . دو نوع اصلی سلول های سفید لنفوسیت ها و گرانولوسیت ها هستند . در گروه گرانولوسیت ها چندین نوع متفاوت سلول وجود دارند که به عنوان گروه میلوئید نامیده می شوند و شامل نوتروفیل، ائوزینوفیل و بازوفیل هستند. سلول دیگر منوسیت می باشد که تقریبا مشابه با انواع دیگر است.

گرانولوسیت ها گروهی از سلول های سفید خونی هستند که وظیفه اصلی آن ها انهدام باکتری هاست با توجه به رنگ و اندازه گرانول ها ، سه نوع گرانولایست نوتروفیل ، بازوفیل و ائوزینوفیل را می توان تشخیص داد (نقاطی در داخل سلول ها که زیر میکروسکوب دیده می شوند) . این گرانول ها حاوی آنزیم ها و دیگر موادی هستند که موجب تخریب باکتری هایی که عفونت را به

وجود می آورند می شوند. گرانولوسیت ها در حین دوره تکامل چندین تغییر را می گذرانند در واقع آن ها از میلوبلاست نابالغ تبدیل به سلول های بالغ مهاجم در برابر عفونت می شوند.

منوسیت ها هم در محافظت بدن در مقابل باکتری ها نقش مهمی را به عهده دارند . در ابتدا آن ها در مغز استخوان به صورت منوبلاست نابالغ می باشند و بعد از بلوغ منوسیت ها را تشکیل می دهند . در طول یک روز گسترش خون در بدن ، منوسیت ها داخل بافت ها می شوند تا ماکروفاژها را ایجاد کنند . آن ها بعضی از باکتری ها را با احاطه کردن و بلعیدن از بین می برند . ماکروفاژها به لنفوسیت ها در تشخیص میکروب ها و تولید آنتی بادی جهت مقابله با میکروب ها کمک می کنند .

بافت لنفوئیدی که بافت لنفاتیک هم نامیده می شوند قسمت اصلی سیستم ایمنی است که از چندین نوع متفاوت سلولی که با عفونت ها مقابله می کنند تشکیل می شوند . هم چنین بافت لنفوئید نقش دفاعی در برابر بعضی از انواع سرطان دارند . این بافت در گروه لنفاوی ، تیموس ، طحال ، لوزه ها ، مغز استخوان و به صورت پراکنده در سیستم دستگاه گوارش و تنفس وجود دارد . سلول اصلی بافت لنفوئید لنفوسیت ها هستند که شامل دو نوع سلول B و سلول T می باشد .

سلول های B با تغییر به سلول های پلازما از مهاجم باکتری ها به بدن جلوگیری می کنند و آنتی بادی ها را تولید می کنند این آنتی بادی ها به میکروب های مهاجم می چسبند . در نتیجه گرانولوسیت ها و ماکروفاژها قادر به شناسایی میکروب ها و انهدام آن ها می شوند . سلول های T

سلول های عفونی شده توسط ویروس ها را تشخیص داده در انهدام آن ها توسط ماکروفاژها کمک می کند .

هر سلول لنفوئید یا هماتوپونتیک که در مغز استخوان تشکیل می شود می تواند به سلول سرطانی (لوسمیک) تبدیل شود . اگر این اتفاق روی دهد اولین سلول سرطانی تقسیم می شود و تعداد زیادی سلول سرطانی ایجاد می کند و سرانجام این سلول ها سراسر مغز استخوان را می پوشانند و به داخل گردش خون نفوذ کرده در اعضاء دیگر بدن پخش می شوند .

انواع لوسمی

لوسمی ها به چهار گروه اصلی با زیر گروه های متفاوت تقسیم می شوند تا پیش بینی پیش آگهی هر بیمار آسان تر صورت گیرد و به پزشک در تقسیم بهترین درمان برای هر بیمار کمک شود .

لوسمی حاد در مقابل لوسمی مزمن : اولین عامل برای تقسیم بندی یک بیمار لوسمیک این است که مشخص شود سلول های غیر طبیعی بالغ هستند (مشابه سلول های سفید خون در گردش خون نرمال) یا نابالغ.

در لوسمی حاد ، سلول های مغز استخوان بلوغ مناسبی ندارند. سلول های لوسمیک نابالغ اغلب بلاست نامیده می شوند . به تولید مثل و تجمع ادامه می دهند. در لوسمی مزمن سلول ها بالغ می شوند. هر چند سلول های لوسمی مزمن به نظر بالغ هستند اما کاملاً طبیعی نیستند و نمی توانند مانند سلول های سفید خون با عفونت ها مقابله کنند.

لوسمی میلوژن در برابر لوسمی لنفوسیتیک :

فاکتور دومی که در طبقه بندی لوسمی ها در نظر گرفته می شود نوع سلول های مغز استخوان است. اگر گرانولوسیت ها یا منوسیت ها درگیر باشند لوسمی میلوژن نامیده می شود. اگر سرطان لنفوسیت های مغز استخوان را درگیر کند لوسمی لنفوسیتیک نامیده می شود. لنفوم بدخیم نوعی سرطان لنفوسیتیک است اما بر خلاف لوسمی لنفوسیتیک که مغز استخوان را درگیر می کند لنفوما لنفوسیت های گره های لنفی و اعضای بدن را درگیر می کند.

چهار نوع اصلی لوسمی

- لوسمی حاد میلوژن (AML)
- لوسمی مزمن میلوژن (CML)
- لوسمی حاد لنفوسیتیک (ALL)
- لوسمی مزمن لنفوسیتیک (CLL)

نکات آماری در مورد لوسمی حاد

در طول سال ۲۰۰۲ ، حدود ۳۰۸۰۰ مورد جدید لوسمی در آمریکا تشخیص داده شد . تقریباً نیمی از این موارد لوسمی حاد بودند شایع ترین نوع لوسمی بزرگسالان ، لوسمی حاد میلوژن می باشد که حدود ۱۰۶۰۰ مورد بوده است. در حدود ۸۸۰۰ مورد مرگ در نتیجه لوسمی حاد در سال ۲۰۰۲ در آمریکا اتفاق افتاد . متوسط سن برای ابتلا به لوسمی حاد میلوژن (AML) ۶۵ سال می باشد. لوسمی حاد لنفوسیتیک (ALL) در میان اطفال شایع تر است . سن کودکان مبتلا به بیماری

معمولا کمتر از ۱۰ سال است. سفید پوستان دو برابر نژاد آمریکایی - آفریقایی به ALL مبتلا می شوند.

عوامل خطر برای لوسمی حاد

عوامل خطر، عواملی هستند که احتمال ابتلا فرد به سرطان را افزایش می دهد این عوامل با شیوه زندگی محیط و ژنتیک (وراثت) در ارتباط است. عوامل خطر مرتبط با نحوه زندگی در انواع سرطان ها شامل سیگار یا نورشدید خورشید می باشد. تنها عامل مرتبط به شیوه زندگی که جزء عوامل خطر ثابت شده لوسمی است سیگار است.

عوامل محیطی، عواملی هستند مانند رادیاسیون، مواد شیمیایی و عفونت ها که در محیط اطراف ما قرار دارند. در محیط کار در معرض بنزن (یک نوع ماده شیمیایی) بودن به مقدار زیاد به مدت طولانی از عوامل خطر AML به حساب می آید . رادیاسیون به مقدار زیاد (بازماندگان بمب اتمی یا حوادث راکتورهای هسته ای) بیش از دیگران در معرض AML یا ALL قرار دارند.

بیمارانی که نوع دیگری سرطان دارند و با داروهای شیمی درمانی خاصی درمان می شوند بیشتر درگیر AML می گردند . داروهایی که اغلب همراه با لوسمی ثانویه (بعد از درمان) هستند شامل مکلروتامین، پروکاربازین، کلرامبوسیل، اتوپوساید، تنیپوساید و به میزان کمتر سیکلوفسفاماید می باشد. ترکیب این داروها با رادیو تراپی میزان خطر را افزایش می دهد . اکثر لوسمی های ثانویه AML هستند و در طول ۹ سال بعد از درمان بیماری هوچکین ، لنفوم نان هوچکین یا ALL اطفال اتفاق می افتند. در بیماران مبتلا به بیماری های نادری مانند کم خونی فانکونی ، سندرم وسیکویت