

بهینه سازی روش زنجیره‌ای پلی مرآز در تشخیص آلودگی آب به کلی فرم

دکتر حمید ابطیحی^{*}، محمدجواد قناد زاده^۲، علی هاتف سلمانیان^۳، احسان غزنوی راد^۴، مسعوده کریمی^۵، ندا مولایی^۶

۱- استادیار، دکترای تخصصی باکتری شناسی، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، ایران

۲- مربی، بهداشت محیط، گروه بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اراک، ایران

۳- دانشیار پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فن آوری، تهران، ایران

۴- مربی، کارشناس ارشد باکتری شناسی، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، ایران

۵- کارشناس آموزشی، میکروبیولوژی، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، ایران

۶- کارشناس زیست شناسی سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، ایران

تاریخ دریافت ۸۷/۲/۶، تاریخ پذیرش ۸۷/۶/۲۰

چکیده

مقدمه: در تشخیص عوامل میکروبی با استفاده از روش‌های ملکولی، تخلیص کروموزوم مرحله بسیار مهمی است. در این تحقیق با افزایش مدت زمان مرحله دناتوراسیون بدون تخلیص کروموزوم باکتری، با تخریب سلول، تکثیر DNA انجام می‌شود.

روش کار: در این مطالعه تجربی، رقت‌های ۸/۱۰۰، ۴/۱۰۰، ۲/۱۰۰، ۱/۱۰۰، ۱/۲۰۰، ۱/۴۰۰، ۱/۸۰۰ و ۱/۱۶۰۰ از باکتری در آب مقطر تهیه گردید. پس از آن باکتری‌ها به روش فیلتراسیون از نمونه جدا گردید. بدون خالص سازی کروموزوم باکتری، با استفاده از روش زنجیره‌ای پلی مرآز و به کمک پرایمرهای طراحی شده، ژن 16sRNA تکثیر یافت. شناسایی آلودگی ۱۵ حلقه چاه آب شهر اراک و مقایسه آن با روش MPN جهت بررسی حساسیت روش فوق انجام گرفت.

نتایج: کشت رقت‌های تهیه شده نشان دهنده تأیید تعداد باکتری‌ها در این رقت‌ها بود. نتیجه واکنش زنجیره‌ای پلی مرآز رقت‌ها (پس از فیلتراسیون) نشان داد که این سیستم قادر است وجود باکتری در این رقت‌ها را شناسایی کند. علاوه بر آن مقایسه تشخیص آلودگی آب به دو روش MPN و PCR انجام گرفته در این تحقیق، نشان دهنده حساسیت بالای روش اخیر بود.

نتیجه گیری: نتایج به دست آمده از این بررسی حاکی از آن است که با روش مذکور علاوه بر این که امکان بروز نتیجه منفی کاذب کمتر می‌شود نیاز به انجام مراحل سخت، پیچیده و وقت گیر تخلیص کروموزوم نیز نمی‌باشد.

واژگان کلیدی: واکنش زنجیره ای پلی مرآز، آلودگی میکروبی آب، کلی فرم، تشخیص

* نویسنده مسئول: دکتر حمید ابطیحی، استادیار گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک

E-mail: h_abtahi2@yahoo.co.uk