

تحقیقی

جداسازی لپتوسپیراهای بیماری‌زا از خون بیماران و تشخیص و تایپینگ آنها به روش PCR-RFLP

دکتر حمیدرضا هنرمند^{۱*}، لیلا خیاط^۲، دکتر فربرز منصور قناعی^۳، دکتر مرتضی رهبر طارم‌سری^۴

۱- استادیار گروه میکروپزشناسی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارشی و کبد. ۲- کارشناس ارشد میکروپزشناسی، گروه میکروپزشناسی،

دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۳- استاد گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارشی و کبد.

۴- استادیار گروه پزشکی قانونی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، بیمارستان رازی.

چکیده

زمینه و هدف: لپتوسپیروز یک بیماری مشترک انسان - حیوان شایع در سراسر جهان به ویژه در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری از جمله در ناحیه جلگه‌ای استان گیلان است که توسط گونه‌های بیماری‌زای لپتوسپیراها به وجود می‌آید. تعیین هویت لپتوسپیراها با سروتایپینگ توسط روش MAT پرهزینه، وقت‌گیر و پیچیده است و روش‌های ملکولی می‌توانند؛ جایگزین شوند. این مطالعه به منظور جداسازی لپتوسپیراهای بیماری‌زا از خون بیماران و تشخیص و تایپینگ آنها به روش PCR-RFLP در استان گیلان انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی، بیماران بستری شده در بخش‌های اورژانس، داخلی و عفونی بیمارستان رازی رشت که تشخیص بالینی لپتوسپیروز داشتند؛ از ابتدای اردیبهشت تا پایان مرداد ۱۳۸۷ بررسی شدند. کشت‌های مثبت با روش فنل-کلروفرم مورد استخراج DNA قرار گرفتند. PCR با استفاده از دو جفت پرایمر G1 و G2 و B64-I و B64-II انجام شد. محصول PCR حاصل از پرایمرهای G1 و G2 با آنزیم DdeI و محصول PCR حاصل از پرایمرهای B64-I و B64-II با آنزیم *hinf I* برش داده شدند و الکتروفورز گردیدند و الگوی بانندی آنها با الگوهای مربوط به سویه‌های استاندارد مقایسه و تعیین هویت شد.

یافته‌ها: ۶۵ مورد از مجموع ۱۰۷ نمونه کشت داده شده؛ مثبت گردیدند. ۵۶ نمونه با پرایمرهای G1 و G2 جواب دادند که به گونه‌های اینتروگانس و بورگ پترسنی متعلق بودند و ۹ مورد نیز با پرایمرهای B64-I و B64-II پاسخ دادند که همگی به گونه کیرشنری متعلق بودند.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که اکثریت لپتوسپیراها در این منطقه از گونه‌های اینتروگانس و بورگ پترسنی می‌باشند. با توجه به مشکلات متعدد در سروتایپینگ لپتوسپیراها، روش PCR-RFLP برای تعیین هویت و مطالعه ساختارهای یک جمعیت داخل گونه‌ای مفید می‌باشد و استفاده مستقیم از آن برای نمونه‌های بالینی و تشخیص سریع و تعیین هویت، کاربرد دارد.

کلید واژه‌ها: لپتوسپیروز، تشخیص ملکولی، تایپینگ ملکولی

* نویسنده مسؤول: دکتر حمیدرضا هنرمند، پست الکترونیکی: honarmand_36@yahoo.com

نشانی: لاهیجان، صندوق پستی ۴۴۱۴۵۱۵۳۳، تلفن: ۶۶۹۰۰۰۷ (۰۱۳۱)، نمابر: ۵۲۳۷۱۷۱ (۰۱۴۲)

وصول مقاله: ۸۷/۱۲/۱۰، اصلاح نهایی: ۸۸/۷/۲۰، پذیرش مقاله: ۸۸/۸/۴