شناسایی و تمایز گونه های مهم تیلریا توسط تکنیک *Loop-mediated isothermal amplification* (*LAMP*) ومقایسه آن با روش *PCR* وسایر روشهای متداول

مژده برزن[۱]، غلامرضا رزمی[۲]

۱_دانشجوی کارشناسی ارشد باکتری شناسی دانشگاه فردوسی مشهد، ۲_ عضو هیئت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، گروه انگل شناسی

پست الکترونیکی نویسنده مسؤول: **Mozhde.Barzan@Gmail.com**

مقدمه و هدف: بیماری تیلریوز یکی از بیماریهای مهم و خطرناک مناطق گرمسیری و تحت گرمسیری می باشد که همه ساله در این مناطق مخصوصا ایران خسارت اقتصادی فراوانی را به صنعت دامپروری تحمیل می کند.هدف معرفی و کاربرد *LAMP* در ردیابی انگل تیلریا ومقایسه آن با سایر روش های متداول آزمایشگاهی می باشد.*LAMP* یک تکنیک پیشرفته مولکولی تکثیر *DNA* است که به عنوان روشی سریع (حدود۶۰-۴۰دقیقه)، اختصاصی و ارزان جهت ردیابی پاتوژن ها پیشنهاد می گردد.LAMP برخلاف *PCR* مرحله دناتوره کردن *DNA* دورشته ای را نداشته و کلیه مراحل تکثیر*DNA* تحت شرایط ایزوترمال ۶۵-۶۰درجه سانتیگراد بوده ونیازی به ترموسایکلر ندارد.*LAMP* نیازمند معرف های خاص و تجهیزات پیشرفته نبوده ،اجرای آن آسان و بررسی نتایج بدون استفاده ازنشانگرهای فلورسنت امکان پذیراست.

نتایج و بحث: گونه های مختلف تیلریا انگل های خونی درون سلولی منتقله توسط کنه ها هستند که در میزبانان خود عفونت های خفیف تا شدید ایجاد می نمایند. روش های متداول آزمایشگاهی مانند: مشاهده انگل در گسترش خون و یا مواد آسپیره شده از غددلنفاوی رنگ شده با گیمسابه دلیل شناسایی موارد حاد عفونت ومحدودیت برای ردیابی ناقلین وتست های سرولوژی از جمله الایزا وایمونوفلورسنت آنتی بادی غیر مستقیم به علت وجود واکنش های ایمنی متقاطع حساسیت وویژگی پایینی دارند.روش *PCR* نیزعلی رغم داشتن حساسیت و ویژگی بسیار به دلیل هزینه بالا کاربرد محدودی دارد.در سال های اخیر روش های مو لکولی مانند تکنیک *LAMP* که نسبت به *PCR* دارای مزایایی چون: حساسیت و اختصاصیت بالاتر ،سریعتر ،آسانتروارزانتر می باشد ، به طور فزاینده ای جهت رد یابی انگل های مختلف به کار رفته است.طبق مطالعات انجام گرفته به روش*LAMP* که از ژن های*18s rRNA*و سکانس *ITS* جهت رد یابی تیلریا آنولاتا ، ژن *P۳۳* برای ردیابی تیلریا سرژنتی ،ژن های *P۱۵۰* و*PIM* جهت ردیابی تیلریا پاروا و سکانس *ITS* با هدف تمایز گونه ها استفاده شده ،این تکنیک از حساسیت و ویژگی بالاتری نسبت به PCR برخورداربوده است.با توجه به پیشرفت های اخیر و نیز شیوع ،اهمیت بهداشتی و اقتصادی این بیماری و ارزش بالای ردیابی سریع و اختصاصی پاتوژن ها ،تغییر در روند های متداول آزمایشگاهی قابل تامل می باشد.

واژه های کلیدی: تیلریا،ITS،18s rRNA، *LAMP* ، *PCR*

بررسی میزان آلودگی خوراک دام تعدادی از دامداریهای اصفهان به آفلاتوکسین به روش الیزا در تابستان ۹۰

معصومه آقابابایان[۱]، فریده فخر زادگان[۲*]، عاطفه یزدانی[۳]

۱_دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان و کارشناس آزمایشگاه تشخیص دامپزشکی دکترفخر زادگانَ ۲_دکترای دامپزشکی، مسئول آزمایشگاه تشخیص دامپزشکی دکترفخر زاگان ۳_ کارشناس بیولوژی، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد واحد خوراسگان و کارشناس آزمایشگاه دامپزشکی دکتر فخر زادگان

پست الکترونیکی نویسنده مسؤول: **dr.fakhrzadegan@gmail.com**

مقدمه و هدف: یک دسته از سموم در طبیعت، سموم قارچی هستند که آفلاتوکسینها از جمله مهمترین آنها به شمار می آیند. آنها اغلب توسط قارچهای آسپرژیلوس فلاووس، پارازیتیکوس و نومیس تولید می شوند. این قارچها در گندم، ذرت، جو، نان و سایر مواد غذایی یافت می شود. آفلاتوکسینها خاصیت سرطانزایی، موتانزایی و تراتوژنی دارند که برای سلامتی انسان و حیوان مضر می باشد. جهت کاهش بیماریهای دام باید قبل از مصرف، خوراک دام از نظر آلودگی به قارچ آسپرژیلوس و سم آفلاتوکسین بررسی شود. هدف از این مطالعه بررسی میزان آلودگی خوراک دام تعدادی از دامداریهای سنتی و صنعتی اصفهان در تابستان ۹۰ به آفلاتوکسین با روش الیزا بود.

مواد و روش کار: جهت تشخیص آلودگی آفلاتوکسین از روش الیزا استفاده شد. الیزا روشی دقیق، سریع، مطمئن و آسان است. اما اغلب گران بودن آن موجب کوتاهی در امر کنترل خوراک دام شده وسلامت دام و انسان را به خطر می اندازد. ابتدا نمونه ها ی خوراک دام آسیاب شده، چربی گیری شده و سپس به روش الیزا جهت سنجش کمی آفلاتوکسین توسط کیت Neogen (Veratox) انجام شد. نتایج آن با محاسبه و به کمک منحنی استاندارد بدست آمد.

نتایج: مطالعاتی در همه کشورها به خاطر اهمیت آفلاتوکسین و در جهت حذف و یا کنترل آن از زنجیره غذایی انسان، صورت گرفته است. نتایج حاصل از آنالیز تعداد ۵۰ نمونه خوراک دام از دامداریهای سنتی و صنعتی اصفهان در تابستان ۹۰ نشان داد که ۱۰ مورد از نمونه ها (۲۰ ٪) آلوده به سم آفلاتوکسین بودند که ۳ مورد از نمونه های آلوده، (۳۰ ٪) بیش از حد مجاز آلودگی داشتند .

نتایج و بحث: مطالعاتی در همه کشورها به دلیل اهمیت آفلاتوکسین و در جهت حذف یا کنترل آن از زنجیره غذایی انسان صورت گرفته است، لذا کنترل مداوم کیفیت نمونه های خوراک دام الزامی است.

واژه های کلیدی: الیزا، آفلاتوکسین، خوراک دام