استاندارد سازی روش های واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) برای تشخیص بیماری های عفونی طیور

محمدرضا صالحی قمی[۱]، سید امیر حسین جلالی [۲*]، محمد صابر مقصودی [۳]

۱ـ آزمایشگاه انجمن تولید کنندگان جوجه یک روزه، تهران- ایران ۲ـپژوهشکده بیوتکنولوژی دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان- ایران۳ـ دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، تهران- ایران.

پست الکترونیکی نویسنده مسؤول: **ahjalali2002@gmail.com**

تشخیص بیماری های عفونی بوسیله ردیابی مستقیم و غیر مستقیم عامل عفونی انجام می گیرد. بوسیله روش های مستقیم اجزا و ترکیبات عوامل عفونی همچون، اسیدهای نوکلئیک، پروتئین های ساختمانی و غیر ساختمانی، آنزیم ها ردیابی می شوند. روشهای جداسازی مستقیم شامل کشت، میکروسکوپ الکترونی، ایمنوفلورسانس، ایمنوهیستوشیمی، الیزا، هیبریداسیون اسیدهای نوکلئیک، روشهای متنوعی از واکنش زنجیره ای پلی مراز (Polymerase Chain Reaction) و سایر روش های بر مبنای اسیدهای نوکلئیک که به روش های تشخیصی مولکولی مرسومند می باشد. در حالی که روش های غیر مستقیم، آنتی بادی القا شده بوسیله عفونت ها را شناسایی می کنند. استاندارد سازی به مفهوم ارزیابی یک آزمون تشخیصی برای تعیین چگونگی مناسب سازی آزمون برای یک استفاده ویژه می باشد. به منظور پیش بینی کارایی تشخیصی یک آزمون تشخیصی لازم است یک روش استاندارد به منظور ثبت کارایی مورد انتظار از یک آزمون استفاده شود. نتایج بدست آمده از یک آزمایش استاندارد باید بتواند به طور ثابت حیوان مثبت یا منفی را برای حضور یک آنالیت خاص و یا عفونت حیوانات را به طور صحیح با یک درجه قابل اطمینان تشخیص دهد. در زمان بررسی نمونه های کلینیکی تولید اعداد با کیفیت مناسب اهمیت دارد. برای این منظور انجام تعدادی شاخصه کلیدی همچون برقراری سیستمهای تضمین کیفیت (QA) و کنترل کیفیت (QC) همچون مجموعه ای از پروتوکلهای کیفیت شامل استفاده از نمونه های کنترل که متقاعد کننده عملکرد مناسب سیستم و تایید کننده تکرار پذیری و کیفیت نتایج خروجی است اهمیت دارد.

تجربه دو دهه اخیر نشان می دهد که روشهای PCR جایگزین نهایی مناسبی برای بسیاری از روشهای کلاسیک ردیابی مستقیم عامل عفونی خواهد شد. واضح است که PCR جایگزین مناسبی برای جداسازی ویروس یا کشت باکتریهای است که کشت آنها غیر ممکن یا مشکل است. امروزه با توجه به اهمیت تشخیص سریع و دقیق بیماریهای عفونی (ویروسی و باکتریایی) طیور و به منظور جلوگیری از گسترش بیماریها و انجام کارهای مدیریتی در گله استفاده از روشهای مولکولی بویژه آزمایشهای PCR ضرورت یافته است. فلذا استاندارد سازی روشهای PCR در آزمایشگاههای تشخیصی امری ضروری به نظر می رسد. در این مقاله سعی شده است به چگونگی استاندارد سازی روشهای PCR برای تشخیص بیماری های عفونی طیور با توجه به شرایط آزمایشگاهی ایران پرداخته شود.

واژه های کلیدی: استاندارد سازی، واکنش زنجیره ای پلی مراز، بیماریهای عفونی طیور.

بررسی شیوع آلودگی سالمونلایی در مرغ های کشتاری استان مرکزی به روش سنتی و PCR

مجید امین زارع[۱]،سحر غفاری خلیق[۲]،بهناز بازرگانی گیلانی[۳*]،منوچهر امینی[۴]

۳،۱ـدستیار تخصصی بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشگاه ارومیه ۲ـدستیار تخصصی پاتولوژی دانشگاه تهران ۴ـ دانش آموخته دکتری دامپزشکی دانشگاه تهران

پست الکترونیکی نویسنده مسئول: **gilani_83@yahoo.com**

مقدمه و هدف: گوشت مرغ آلوده به باکتری سالمونلا به عنوان یکی از مهمترین منابع سالمونلایی غذا زاد محسوب می شود. پیشرفت های صورت گرفته در زمینه روش های سریع جداسازی و تشخیص سالمونلا ،باعث تسهیل هر چه بیشتر این امر برای سازمان های رسمی و کارخانجات مواد غذایی گشته است. به علاوه این روش ها باعث شده اند تا در مورد سلامت محصول نهایی حاصل از کارخانجات مواد غذایی تصمیمات دقیق تری گرفته شود. در این تحقیق میزان شیوع آلودگی سالمونلایی در مرغ های گوشتی کشتاری استان مرکزی ارزیابی شده است.

مواد و روش کار: بدین منظور ۴۰ مرغ گوشتی حاضر در ۱۰ مرغداری انتخاب و پس از کشتار(در محل کشتارگاه و قبل از ورود به چیلر) نمونه برداری از پوست گردن آن ها صورت گرفت. حضور و یا عدم حضور سالمونلا به هر دو روش کشت سنتی و PCR با استفاده از پرایمر های OGDH-1 و OGDH-2 جهت شناسایی ژن ogdh مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث: نتایج نشان داد که با استفاده از روش کشت سنتی، سالمونلا از ۷ نمونه (۱۷٪) جداسازی شد. اما در مقایسه روش PCR حساسیت بیشتری نشان داد و DNA سالمونلایی در ۹ نمونه (۲۲/۵٪) ردیابی شد. این باکتری پاتوژن در مجموع دو روش سنتی و PCR از ۱۱ نمونه (۲۷/۵٪) جداسازی شد. تا کنون حساسیت و ویژگی بالاتر روش PCR در قیاس با روش سنتی در جداسازی سالمونلا به اثبات رسیده است. افزودن یک آزمایش معمول PCR به همراه کشت سنتی استاندارد می تواند در ارائه جزئیات دقیقی از شیوع این عامل بیماریزا در لاشه مرغ های گوشتی موثر باشد.

واژه های کلیدی: سالمونلا، مرغ، روش سنتی،PCR، استان مرکزی