

## شناسایی کلستریدیوم بوتولینوم تیپ A، B و E با استفاده از Multiplex PCR

مجتبی سعادت<sup>۱</sup>، Ph.D.، شهرام نظریان<sup>۲</sup>، M.Sc.، محمود تولایی<sup>۳</sup>، Ph.D.، جعفر امانی<sup>۴</sup>، M.Sc. و هادی شیرزاد<sup>۵</sup>، M.D.

آدرس مکاتبه: دانشگاه امام حسین (ع) - دانشکده علوم پایه - گروه علوم زیستی - تهران - ایران

تاریخ اعلام وصول: ۱۳۸۴/۶/۱۹ تاریخ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۴/۹/۳۰ تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۱۳۸۴/۱۱/۱۸

### خلاصه

**مقدمه:** باکتری کلستریدیوم بوتولینوم قادر به تولید اسپور بوده و می‌تواند با تولید سم کشنده باعث بیماری فلج شل و یا بوتولیسم شود. تشخیص بوتولیسم با یافتن سم و یا باکتری در نمونه غذای مشکوک امکان‌پذیر است. روش استاندارد برای یافتن سم استفاده از حیوان آزمایشگاهی می‌باشد. این روش بسیار حساس و اختصاصی ولی پر هزینه، زمان بر و پر زحمت بوده، نیاز به استفاده از حیوان آزمایشگاهی دارد و تنها تعداد محدودی از نمونه‌ها را می‌توان در یک زمان مورد بررسی قرار داد. روش‌های دیگری از جمله استفاده از آنتی‌بادی‌ها در سیستم تشخیص الیزا جهت تشخیص توکسین به کار رفته ولی با توجه به وجود واکنش متقاطع بین تیپ‌های این باکتری کمتر مورد توجه قرار گرفته است. در این تحقیق برای شناسایی تیپ‌های A، B و E کلستریدیوم بوتولینوم که در انسان ایجاد بیماری می‌کنند، از روش Multiplex PCR استفاده شد.

**مواد و روش کار:** تأیید اولیه تیپ‌های باکتریایی کلستریدیوم بوتولینوم مورد استفاده در این تحقیق با روش بیوشیمیایی و نیز Bioassay صورت گرفت. جهت شناسایی بوسیله PCR، سه جفت پرایمر با دمای ذوب نزدیک به هم طراحی گردید. هر پرایمر به طور اختصاصی برای ژن سم بوتولینوم تیپ‌های A، B و E عمل نموده و این سه جفت پرایمر قادر بود به طور هم‌زمان سه سروتیپ را شناسایی نماید.

**نتایج:** بزرگی محصول PCR تیپ‌های A، B و E به ترتیب ۷۸۲، ۲۰۵ و ۳۸۹ جفت باز بود که با روش هضم آنزیمی نیز صحت محصول PCR تأیید شد. باکتری کلستریدیوم پرفرنجنس به عنوان کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت و نتایج PCR آن با پرایمرهای طراحی شده منفی بود.

**بحث:** این روش سریع، حساس و دقیق بوده و از آن در جهت شناسایی سه تیپ بیماری‌زای انسانی باکتری کلستریدیوم بوتولینوم می‌توان استفاده نمود.

**واژه‌های کلیدی:** شناسایی، کلستریدیوم بوتولینوم، Multiplex PCR assay

۱- استادیار - دانشگاه امام حسین (ع) - نویسنده مسئول

۲- فوق لیسانس سلول مولکولی - دانشگاه امام حسین (ع)

۳- استادیار - دانشگاه امام حسین (ع)

۴- فوق لیسانس سلول مولکولی - دانشگاه امام حسین (ع)

۵- پزشک عمومی - دانشگاه امام حسین (ع)