

## استانداردسازی روش NASBA با به کارگیری ژن 18S rRNA در تشخیص انگل لیشمانیا مائور

شهناز شیربازو<sup>۱</sup> MSc، عبدالحسین دلیمی اصل<sup>\*</sup> PhD، مهدی فروزنده مقدم<sup>۲</sup> PhD، فاطمه غفاری فر<sup>۱</sup> PhD

### چکیده

**اهداف.** لیشمانیا مائور انگل تک‌یاخته‌ای تاژک‌دار، با تنوع بیش از ۲۰ گونه و دارای گسترش جهانی است. این انگل عامل بیماری لیشمانیازیس پوستی (CL) در انسان است. استفاده از روش‌های مولکولی برای تشخیص این بیماری، حساس‌تر از روش‌های میکروسکوپی است. استفاده از روش NASBA به دلیل شناسایی انگل زنده، دارای ویژگی بالایی است. هدف از این مطالعه، ارزیابی تکنیک مولکولی ایزوترمال NASBA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification) در تشخیص انگل زنده لیشمانیا در شرایط محیط کشت بود.

**مواد و روش‌ها.** پس از تکثیر انگل در محیط اختصاصی RPMI، تخلیص RNA از مرحله پروماستیگوت به عمل آمد و از تکثیر ژن 18S rRNA برای ارزیابی روش NASBA در تشخیص انگل زنده استفاده شد. باند حاصل از تکثیر این ژن اختصاصی، روی ژل آگارز مورد مطالعه قرار گرفت.

**یافته‌ها.** RNA تخلیص شده از انگل، دارای وزن ۱۲/۵kD و سه باند rRNAهای 24s $\alpha$  و 24s $\beta$  و 18S rRNA بود. ژن اختصاصی 18S rRNA انگل لیشمانیا در ناحیه تقریباً ۲۰۰ جفت‌بازی برای شناسایی پروماستیگوت انگل لیشمانیا مائور در روش NASBA، قابل استفاده بود.

**نتیجه‌گیری.** کاربرد تکنیک تکثیر و ایزوترمال NASBA روشی ایده‌آل با اختصاصیت بالا در تشخیص RNA انگل زنده لیشمانیا مائور است. این روش برای ارزیابی دوره و اثربخشی داروهای ضدلیشمانیا و همچنین تشخیص اولیه درمان‌های ناموفق در بیماران مبتلا به لیشمانیای پوستی، جایگزین خوبی برای روش‌های غیرحساس میکروسکوپی و کشت است.

**کلیدواژه‌ها:** لیشمانیا مائور، روش NASBA، ژن 18S rRNA