



شناسه : ۷۵

طراحی و معرفی یک تست Nested-PCR با استفاده از المنت IS900 برای تشخیص مولکولی مایکوباکتریوم اوویوم زیر گونه پاراتوبرکلوزیس در نمونه های مدفوع

دکتر باسامی محمد رضا^{**}، دکتر جمشیدیان مجاور مجید، دکتر حسام دهقانی، دکتر فلاح راد امیر هوشنگ، ماهوتی امیر و دکتر میرزاپور عادل*
دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

مایکوباکتریوم اوویوم زیر گونه پاراتوبرکلوزیس، عامل بیماری یون با انتشار گسترده جهانی می باشد. این بیماری موجب خسارات اقتصادی فراوان در گله های گاو شیری می شود. روشهای مختلفی برای تشخیص مولکولی این بیماری وجود دارد که در میان آنها تست PCR به دلیل سریع و آسان بودن و حساسیت و ویژگی بالقوه بالای آن مورد توجه بیشتری قرار گرفته است. دفع بسیار ناچیز باکتری و حضور ممانعت کننده های PCR در مدفوع موجب شده است که شناسایی مولکولی باکتری به روش معمول PCR با مشکل همراه باشد. لذا به منظور افزایش دامنه حساسیت تست، نوعی Nested PCR طراحی شد که از توان تشخیصی بیشتری برخوردار می باشد. پرایمرها و تست طراحی شده در نمونه های آزمایش شده توانستند مولکول هدف را به درستی شناسایی نمایند. به منظور اعتبار سنجی این تست لازم است نتایج آن با نتایج تستهای استاندارد مورد مقایسه قرار گیرد. تست معرفی شده شاید بتواند به عنوان یک تست بالقوه سریع و آسان در شناسایی موارد بالینی و تحت بالینی در برنامه های مبارزاتی بر علیه بیماری یون بکار گرفته شود.

واژه های کلیدی: مایکوباکتریوم اوویوم پاراتوبرکلوزیس، واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)، المنت IS900، تشخیص مولکولی

Design and introduction of a nested-PCR based on IS900 gene, for molecular detection of *Mycobacterium avium* subspecies Paratuberculosis in fecal samples

Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis causes Johne's disease which is widely distributed and is responsible for considerable economic losses throughout the world. There are a variety of diagnostic methods for molecular detection of the disease with PCR as one of the fastest, easiest, most sensitive and most specific tests. However, the efficiency of the conventional PCR has been hampered by the presence of small amounts of bacterium and considerable amounts of PCR-inhibitory factors in feces. To overcome these problems and in order to increase the limit of detection of the causing bacteria in feces, we developed a nested-PCR based on the conserved regions of IS900 genomic element. This sensitive test is able to accurately identify *Mycobacterium avium* subspecies Paratuberculosis. However to be able to validate this test and use it in the national prevention and control programs, its results need to be rigorously compared with the results of the standard methods.