رعایت حفاظت زیستی و استانداردهای ایمنی در پژوهش های مرتبط با گونه های اکینوکوکوس

امین بخشانی[۱] ، فاطمه جالوسیان[۲*]

۱_دانشجوی کارشناسی ارشد رشته انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه تهران ۲_ گروه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

پست الکترونیکی نویسنده مسئوول: **jalousian_f@ut.ac.ir**

مقدمه و هدف: هیداتیدوزیس یکی از مهمترین و خطرناک ترین بیماریهای قابل انتقال به انسان است که تقریبا در تمام نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری دنیا از جمله ایران گزارش می شود. ایران بعنوان یکی از نواحی اندمیک آلودگی به گونه اکینوکوکوس گرانولوزوس مطرح است و آلودگی به اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس از برخی نقاط ایران گزارش شده است. با توجه به اهمیت اقتصادی و بهداشتی این انگل تحقیقات بر این انگل اجتناب ناپذیر است. هدف ازاین مطالعه بررسی نکات لازم به منظور اجرای ایمنی زیستی در آزمایشگاههای انگل شناسی و دامپزشکی ، کاهش تماس با میکروارگانیسم های عفونت زا از جمله اکینوکوکوس بعنوان یک عفونت مشترک انسان و دام در کارکنان است.

مواد و روش کار: الف)استاندارد نمودن آزمایشگاه: لاشه ها و سایر نمونه های مشکوک به آلودگی باید یک هفته قبل از شروع مطالعه در دمای ۸۰ c° - فریز شوند. نکروپسی در اتاقی خاص با دسترسی محدود انجام و کلیه سطوح کار، فلزی و قابل ضدعفونی با حرارت باشند. کارکنان باید مجهز به پوشش کامل و قابل ضدعفونی باشند.ضایعات،پس از آزمایش بطور صحیح ضدعفونی و دفع شوند.

ب) استفاده از مواد ضدعفونی کننده و دما: ضدعفونی کننده های شیمیایی مانند :پرمنگنات پتاسیم، فرمالین، اتانول ۷۰٪ و لوگل تاثیری در از بین بردن تخمها ندارند. هیپوکلریت سدیم تازه با غلظت ۳/۷۵٪ است وگلوترآلدئید در غلظت ۵٪ و ۱۰٪ بر تخم انگل موثرند. تخم هادر ۸۳°c پس از مدت ۴۸ ساعت و در°c ۱۹۶- پس از ۲۰ ساعت از بین میروند. سطوح و لوازم آزمایشگاهی آلوده با پروتواسکولکس به سهولت با اتانول۴۰٪ یا فرمالین۴٪ ضدعفونی میشوند. در آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، نمونه های آلوده و یا مشکوک به مدت یک هفته در دمای ۸۰°c- و سپس در ۲۰°c- تا زمان استفاده نگهداری میشوند.

نتایج و بحث: نتایج این مطالعه نشان داد که آزمایشگاه های تحقیقاتی اکینوکوکوس گرانولوزوس و اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس به ترتیب باید از سطح دوم وسوم ایمنی برخوردار باشند.. دما موثرترین تیمار برای کشتن تخم اکینوکوکوس است. به منظور مطالعه بر پروتئین ها باید تخمها در دمای ۷۰°c- طی ۹۶ ساعت و در دمای ۸۰°c- طی ۴۸ ساعت نگهداری وغیر فعال شوند. آگاهی بر جنبه های ایمنی زیستی مخاطرات پژوهش ها را کاهش میدهد و بدین ترتیب بستر برای مطالعات کاربردی هموارتر خواهد شد. با توجه به پتانسیل بیماریزایی اکینوکوکوس برای انسان همواره باید موارد احتیاط در آزمایشگاه های تحقیقاتی و در پروژه های صحرائی رعایت شود. در این مقاله جزئیات استانداردهای فردی در آزمایشگاه های تحقیقاتی مرتبط با موضوع ارائه خواهد شد.

واژه های کلیدی: ایمنی زیستی، تخم اکینوکوکوس گرانولوزوس،تخم اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس، مواد ضدعفونی کننده

آنالیز مولکولی ژن ligB در سروارهای واکسینال لپتوسپیرا اینتروگانس در ایران

فریبا فتوحی[۱*]، پژواک خاکی[۱،۲] ، رضا پیله چیان لنگرودی[۳] ، بهزاد صالحی[۱] ، مهرانگیز دژبرد[۲]

۱_گروه میکروبیولوژی،دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج،کرج- ایران ۲ _آزمایشگاه رفرنس لپتوسپیرا بخش میکروبشناسی موسسه تحقیقاتی واکسن و سرم سازی رازی،کرج- ایران ۳_بخش بیهوازی موسسه تحقیقاتی واکسن و سرم سازی رازی،کرج - ایران

پست الکترونیکی نویسنده مسؤول:**f_fotohi64@yahoo.com**

مقدمه و هدف: لپتوسپیروز که در اثر عفونت با گونه های بیماری زای لپتو سپیرا ایجاد می شود , یکی از شایع ترین بیماری های مشترک انسان و دام در جهان است. واکسن های لپتوسپیرایی در حال حاضر از جسم کامل کشته شده سروارهای غالب محلی تهیه می شوند. این واکسن ها علاوه بر ناکارآمدی در ایجاد ایمنی متقاطع بین سروارهای مختلف لپتوسپیرا , منجر به القای ایمنی کوتاه مدت و همچنین عوارض جانبی جدی نیز می گردند. بنابر این طراحی و ساخت یک واکسن نوترکیب کارآمد برای کنترل لپتوسپیروز بسیار حائز اهمیت می باشد.پروتئین LigB تنها در گونه های بیماری زای لپتوسپیرا بیان می شود. آنتی ژن حفاظت شده LigB در واکسیناسیون و روش های تشخیص سرولوژیکی لپتوسپیروز اهمیت ویژه ای دارد.به منظور دست یابی به ترتیب نوکلئوتیدی و بررسی پلی مورفیسم ژن ligB در سروارهای استاندارد غالب لپتوسپیرا در ایران , ژن مذکور کلون و تعیین توالی گردید.

مواد و روش کار: سه سرواربیماری زای گونه اینتروگانس و یک گونه غیر بیماری زای لپتوسپیرا (L.biflexa) جهت تلقیح در محیط کشت انتخابی و استخراج DNA ژنومی به روش استاندارد فنل کلروفرم، مورد استفاده قرار گرفتند.پرایمرهای اختصاصی به منظور تکثیر ژن ligB طراحی شد. محصولات PCR به دست آمده از سروارهای بیماری زا به وکتور pJET1.2 / متصل شده و به سلولهای مستعد شده E.coli سویه Top10 منتقل شدند.نهایتا نوترکیب پلاسمید استخراج و تعیین توالی گردید.

نتایج و بحث: محصول PCR ژنligB از سروارهای بیماری زای لپتوسپیرای مورد آزمایش یک قطعه ۱۰۴۱ جفت بازی بود که این قطعه در گونه غیر بیماری زا مشاهده نگردید. نتایج ما نشان داد که قرابت نوکلئوتیدی ژن ligB بین L.Grippotyphosa (RTCC۲۸۰۸) وHardjo L.Sejroe(RTCC۲۸۲۱) ۹۰/۸ در صد بود در حالی که سرووار(L.Canicola (RTCC۲۸۰۵ با دو سرووار دیگر بر اساس این ژن شباهت کمتری (۷۲/۳درصد) داشت.بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعات سایرین مشخص شده است که، توالی نوکلئوتیدی ژن ligB در لپتوسپیراهای مختلف اندکی متفاوت است. LigB به عنوان یک آنتی ژن پروتئین اختصاصی جنس لپتوسپیرا معرفی شده است ، از این رو ژن کلون شده در تحقیق حاضر را می توان با هدف بیان پروتئین نوترکیب و استفاده از آن در تهیه واکسن موثر علیه لپتوسپیروز مورد استفاده قرار داد.

واژه های کلیدی: لپتوسپیروز، تعیین توالی، ligB، تجزیه و تحلیل مولکولی