خون
دوره ۳ شماره ۴ زمستان ۸۵(۳۱۵-۳۰۹)

راه‌اندازی روش RT-Nested PCR به منظور تشخیص ویروس نقص ایمنی اکتسابی تیپ یک

جواد دوزنده[۱]، دکتر مهرداد روانشاد[۲]، سعید عامل جامه‌دار[۳]، دکتر فرزانه صباحی[۴]

چکیده

سابقه و هدف

ویروس نقص ایمنی اکتسابی تیپ یک(HIV-1) عامل ایجاد کننده سندرم نقص ایمنی اکتسابی انسانی"ایدز" می‌باشد. انتقال بیماری از طریق انتقال خون در دوره پنجره، در مراکز انتقال خون یک معضل جهانی محسوب می‌شود. علاوه بر این، نیاز مبرمی برای تشخیص سریع، حساس و دقیق عفونت HIV-1 قبل از ظهور آنتی‌بادی در بدن فرد آلوده در بیمارستان‌ها و مراکز بهداشتی احساس می‌شود. تشخیص ژنوم ویروس HIV-1 در نمونه‌های مشکوک، باعث جلوگیری از گسترش بیماری در جامعه و شیوع روز افزون بیماری خواهد بود. با استفاده از این روش می‌توان عفونت را در مراحل ابتدایی و قبل از ظهور آنتی‌بادی‌های اختصاصی تشخیص داد. هدف از این پژوهش طراحی روش بسیار حساس و سریع RT-Nested PCR جهت تشخیص عفونت HIV-1 بود.

مواد وروش‌ها

پژوهش انجام گرفته از نوع بنیادی ـ کاربردی بود. روش RT-Nested PCR به منظور جداسازی سکانسی حفاظت شده از بخش ژن gag در ویروس HIV-1 طراحی و به کار گرفته شد. ابتدا با کمک روش ترانس‌کریپتاز معکوس، از روی ژنوم RNA ویروس، cDNA ساخته و پس از آن با روش Nested-PCR با استفاده از دو جفت آغازگر اختصاصی و در دو مرحله، قطعه‌ای از ژن مورد نظر ویروس HIV-1 تکثیر داده شد و با کمک الکتروفورز، محصولات PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده با کمک آزمون ANOVA و نرم افزار آماری SPSS تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها

تعداد ۲۵ نمونه سرمی از مراحل مختلف عفونت(شامل مراحل بدون علامت، علامت‌دار و ایدز) و هم‌چنین ۱۵ نمونه پانل استاندارد و ۲۰ نمونه سرمی منفی جمع‌آوری شد و با روش فوق مورد بررسی قرار گرفت. در تمام موارد مثبت، باند مورد نظر بر روی ژل آگارز مشاهده شد، ضمن این که در هیچ کدام از نمونه‌های منفی، باندی مشاهده نگردید.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، نشان داده شد که روش راه‌اندازی شده دارای حساسیت و اختصاصیت بالایی جهت تشخیص عفونت ویروس HIV-1 می‌باشد. هم‌چنین با توجه به حساسیت روش، به نظر می‌رسد که ژنوم ویروسی را می‌توان قبل از تغییرات سرمی و ظهور آنتی‌بادی‌ها تشخیص داد و از این رو می‌توان دوره پنجره تشخیص عفونت را کوتاه‌تر کرد.

کلمات کلیدی: PCR دوگانه، RT-PCR، ویروس نقص ایمنی اکتسابی انسانی تیپ یک، ژن gag

تاریخ دریافت : ۸۴/۱۱/۱۵
تاریخ پذیرش : ۸۵/۱۰/۳۰

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد ویروس شناسی ـ دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۲- مؤلف مسؤول: PhD ویروس شناسی ـ استادیار دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس ـ صندوق پستی ۳۳۱-۱۴۱۱۵
۳- دانشجوی PhD ویروس شناسی ـ دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۴- PhD ویروس شناسی ـ دانشیار دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس