فهرست مطالب

چکیده ۱

فصل اول : مقدمه ۲

۱-۱ باکتریهای گرم منفی رودهای (انتروباکتریاسه ها) ۳

۱-۱-۱ طبقه بندی ٤

۱-۱-۲: مورفولوژی و شناسایی ٥

۱-۱-۳ ساختمان آنتی ژن ٦

۱-۲ شیگلا (The *shigella*) ٦

۱-۲-۱ ساختمان آنتی ژنی ٦

۱-۲-۲ پاتوژنز و پاتولوژی ۷

۱-۲-۳ توکسین ها ۷

۱-۲-٤ علائم بیماری ۸

۱-۲-٥ تشخیص آزمایشگاهی ۸

۱-۲-٦ ایمنی ۹

۱-۲-۷ درمان ۹

۱-۲-۸ اپیدمیولوژی و پیشگیری ۱۰

۱-۳ متدهای تایپینگ باکتریها ۱۲

۱-۳-۱ پارامترهای ارزیابی و اعتبار بخشی به متدهای تایپینگ ۱۲

۱-۳-۲ متدهای تایپینگ فنوتیپیک ۱۲

۱-۳-۲-۱ متدهای تایپینگ فنوتیپیک قدیمی ۱۲

۱-۳-۲-۲ متدهای تایپینگ فنوتیپیک جدید (Biochemical fingerprinting) ۱۳

۱-۳-۳ متدهای تایپینگ ژنوتیپیک ۱۳

۱-۳-٤ متدهای تایپینگ ملکولی باکتری های گرم منفی بیماریزای روده ای ۱۵

۱-۳-٤-۱ متدهایی که بر اساس تکثیر DNA هستند ۱٤

۱-۳-٤-۱-۱ پروفایل آمپلیفیکاسیون (Amplification profiling) ۱٤

۱-۳-٤-۱-۲ Amplified fragment length polymorphism (AFLP) ۱٤

۱-۳-٤-۱-۳ Rndom amplified polymorphic DNA PCR (RAPD-PCR) ۱۵

۱-۳-٤-۱-٤ Repetitive element PCR (Rep-PCR) ۱۵

۱-۳-٤-۱-۵ Variable number of tandem repeat (VNTR) analysis and multiplocus VNTR analysis (MLAV) ۱۵

۱-۳-٤-۲ متدهایی که بر اساس توالی یابی هستند ۱٦

۱-۳-٤-۲-۱ Multilocus sequencing typing (MLST) ۱٦

۱-۳-٤-۲-۲ Single nucleotide polymorphism (SNP) analysis ۱٦

۱-۳-٤-۳ متودهایی که بر اساس هضم آنزیمی هستند ۱٦

۱-۳-٤-۳-۱ آنالیز پلاسمیدی (Plasmid analysis) ۱٦

۱-۳-٤-۳-۲ Restriction fragments length polymorphism (RFLP) analysis ۱۷

۱-۳-٤-۳-۳ ریبوتایپینگ (Ribotyping) ۱۸

۱-۳-٤-۳-٤ پالسد فیلد ژل الکتروفورزیز (PFGE) ۱۸

۱-٤: اینتگرون ها ۱۹

۱-٤-۱ خصوصیات اینتگرون ۲۰

۱-٤-۲ اینتگراز اینتگرون (Int1) ۲۱

۱-٤-۳ منطقه ی نوترکیبی att1 ..... ۲۳

۱-٤-٤ منطقه نوترکیبی attc ۲۳

۱-٤-۵ منشا اینتگرون..... ۲۳
فصل دوم مروری بر سوابق ۲۵
فصل سوم مواد و روشها ۳۰
۳-۱ جمع آوری نمونه ۳۱
۳-۲ مشخصات سوشهای استاندارد ۳۱
۳-۳ کشت باکتری ها ۳۱
۳-۳-۱ کشت در محیط Luria-Bertani (LB) Broth..... ۳۱
۳-۳-۲ کشت در محیط Blood Agar یا BHI Agar (Brain Heart infusion Agar)..... ۳۲
۳-٤ طرز تهیه Blood Agar..... ۳۲
۳-۵ طرز تهیه BHI Agar ۳۲
۳-٦ تهیه استوک باکتریها ۳۲
۳-۷ تشخیص بیوشیمیایی ۳۳
۳-۸ آزمایش تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی ۳٤
۳-۸-۱ آزمایش تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن ۳٤
۳-۸-۱-۱ تهیه محیط کشت مولر هینتون آگار ۳٤
۳-۸-۱-۲ تهیه محلول استاندارد نیم مک فارلند ۳٤
۳-۸-۱-۳ تهیه سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند ۳۵
۳-۸-۲ کنترل کیفی دیسک ها ۳۵
۳-۸-۳ روش آزمایش دیسک دیفیوژن ۳۵
۳-۹ تایید ژنتیکی ۳٦
۳-۱۰ تعیین سروگروپهای *Shigella spp* با استفاده از آنتی سرمهای اختصاصی..... ۳٦
۳-۱۱ روشهای استخراج DNA ۳٦

۳-۱۱-۱ استخراج DNA به روش جوشاندن (Boiling) ۳٦

۳-۱۱-۲ استخراج DNA با استفاده از کیت ۳۷

۳-۱۲ واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) ۳۸

۳-۱۳ شرایط PCR ۳۹

۳-۱٤ ترکیبات PCR ۳۹

۳-۱٤-۱ DNA الگو ٤۰

۳-۱٤-۲ داکسی نوکلئوتیدتری فسفات (dNTP)..... ٤۰

۳-۱٤-۲ کاتیون‌های دو ظرفیتی ٤۱

۳-۱٤-٤ آنزیم Taq DNA Polymerase..... ٤۱

۳-۱٤-٥ بافر PCR برای Taq DNA polymerase..... ٤۱

۳-۱٤-٦ آغازگرها (پرایمرها) ٤۲

۳-۱٥ الکتروفورز ٤۲

۳-۱٥-۱ روش تهیه ژل آگاروز ۱٪ ٤۳

۳-۱٥-۲ روش تهیه بافر Tris-Burate-EDTA (TBE) 1X..... ٤۳

۳-۱٥-۳ روش تهیه Loading buffer..... ٤۳

۳-۱٥-٤ محلول اتیدیوم بروماید(Et.Br)..... ٤۳

۳-۱٥-٥ روش خنثی سازی اتیدیوم بروماید ٤٤

16-3 Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) ٤٤

۳-۱٦-۱ تهیه پلاگ های باکتریایی ٤٥

۳-۱٦-۲ لیز پلاگهای باکتریایی ٤٦

۳-۱٦-۳ شستشوی پلاگها ٤٦

۳-۱٦-٤ هضم آنزیمی ٤۷

۳-۱۶-۵ تهیه ژل PFGE ٤٨
۳-۱۶-٦ تهیه سایز مارکر ٤٨
۳-۱۶-۷ شرایط الکتروفورز ٤٩
۳-۱۶-۸ روش تهیه بافرهای PFGE ٥٠
فصل چهارم نتایج ٥١
٤-١ جدا سازی سویه ها ٥٢
٤-٢ آنتی بیوگرام ٥٣
٤-٣ تائید ژنتیکی با PCR اختصاصی ٥٥
٤-٤ بررسی اینتگرونهای کلاس I ٥٦
٤-٥ بررسی اینتگرونهای کلاسII ٥٩
٤-٦ نتایج تعیین توالی نواحی ۱۵۰۰ و ۱۶۰۰ اینتگرون های کلاس I با استفاده از نرم افزار blast ٦١
٤-۷ پالسد فیلد ژل الکتروفورزیز ٦٢
فصل پنجم بحث و نتیجه گیری ٦٧
٥-١ تاییدژنتیکی و سروگروپینگ ٦٨
٥-٢ اینتگرون کلاس I ٦٩
٥-٣ اینتگرون کلاس II ۷۰
٥-٤ پالسد فیلد ژل الکتروفورزیز ۷۲
٥-٥ پیشنهادات ۷٤
٥-٦ چکیده انگلیسی ۷٥
٥-٦ فهرست منابع ۷٦