شناسایی مولکولی و وضعیت آلودگی کریپتوسپوریدیوم آندرسونی در صنعت دامداری و پیامد آن

علیرضا صدربزاز[۱*]، مجید فرهودی[۲]، محمد همتی[۳]، حجت الله تقی پور[۴]

۱ـ استادیار پژوهشی ،مدیر بخش تحقیق و تشخیص بیماریهای دام وطیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه شمال شرق–مشهد

۲– استادیار پژوهشی ،مدیر بخش کنترل فراورده ها ،موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه شمال شرق–مشهد

۳ـ استادیار پژوهشی ،مدیر بخش تحقیق وتولید واکسن های هوازی ،موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه شمال شرق–مشهد

۴ـ کارشناس بخش تحقیق و تشخیص بیماریهای دام وطیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه شمال شرق–مشهد

پست الکترونیکی نویسنده مسؤول: **a.sadr@rvsri.ac.ir**

مقدمه و هدف: عفونت تک یاخته داخل سلولی کریپتوسپوریدیوم در انسان ودام دراغلب موارد بدون علائم و در برخی گونه هاو شرایط خاص سبب اختلالات گوارشی وتنفسی می گردد. این انگل باعث ایجاد یک گاستروآنتریت حاد و خود محدود شونده در افراد سالم (از نظر دستگاه ایمنی) ویک عفونت پایدار و کشنده در افراد با نقص دستگاه ایمنی در سراسر جهان می شود.برآورد شده که سالانه میلیونها مورد از بیماری در کشورهای در حال توسعه و توسعه نیافته رخ می دهد.درتعدادزیادی از آزمایشگاهها این انگل یکی ازشایعترین عوامل بیماریزای روده ای گزارش شده درانسان است. در دامها ،عفونت باعث بیماری وگاهی اوقات مرگ و میر شده ،لذا از نظر بالینی و اقتصادی دارای اهمیت است.کریپتوسپوریدیوز(Cryptosporidiosis) به عنوان تهدیدی برای بیماران مبتلا به ایدز ودیگر افراد مبتلا به نقص دستگاه ایمنی مطرح بوده ونسبت عفونت درسطح جهان کمتر از یک درصد تا بیشتر از۵۰ درصداست.سیمای اپیدمیولوژیک در افراد با دستگاه ایمنی کارا وافراد با نقص دستگاه ایمنی با هم متفاوت است.چنین پنداشته می شود که جنس کریپتوسپوریدیوم دارای گونه های مختلفی می باشد که در شمار زیادی از حیوانات اهلی و انسان یافت شده اند. هدف از این تحقیق شناسایی گونه های کریپتوسپوریدیوم جداسازی شده از گاوداری های شهرستان مشهد با روش PCR-RFLP بود.

مواد و روش کار: از۲۳ نمونه مثبت کریپتوسپوریدیوم با روش رنگ آمیزی ذیل نیلسون سرد ،پس از استخراج DNA با دو روش دستی و کیت طی دو مرحله PCR اولیه و PCR ثانویه از محصول بدست آمده مراحل هضم آنزیمی با سه آنزیم VspI,SspI,DdeIانجام گردید .

نتایج و بحث: نتایج PCR اولیه پس از تکثیر قطعه ای از ژن 18s rRNA تمام ایزوله های گاوی با پرایمر های اختصاصی F1 و R1 دارای باندهای مشابه در حدود bp 1325 بود. نتیجه PCR ثانویه تمامی ایزوله ها با استفاده از پرایمرهای F2 وR2 نشان دهنده باند bp 830 بود.همه ایزوله ها با هضم آنزیمی توسط آنزیم sspI دارای باند مشابه(bp 385 وbp 448) و با آنزیمVSPI دارای باند (bp 731 وbp 102) و با آنزیم DdeI دارای باند(bp 470 و bp 186 وbp 156) بودند. با توجه به استخراج موفقیت آمیزDNA ۲۲ نمونه از مجموع ۲۳ نمونه مثبت بدست آمده توسط رنگ آمیزی لذا روش استخراج DNA به روش دستی به کار رفته در تحقیق حاضر و روش کیت MN کارایی خوبی در تشخیص مولکولی نمونه های مثبت این انگل داشته ومیتوانند به عنوان روشهای پیشنهادی در آزمایشگاههای تشخیص دامپزشکی و پزشکی به کار برده شوند. درصد آلودگی کریپتوسپوریدیایی بدست آمده در این مطالعه با درصدآلودگی بدست آمده در کشورچین (۵,۱۲٪) همخوانی داشته و همینطور درصد آلودگی بدست آمده درکشور سوئد (۱,۸ ٪) ویلز (۶,۹ ٪)و ژاپن ،هند، ،برزیل(۵,۸۸ ٪) ،پرتقال وجمهوری غربی چک نیز با مطالعه حاضر مشابهت دارد.همخوانی نتایج این مطالعات با نتیجه بدست آمده درمطالعه حاضرنشاندهنده این مطلب است که کریپتوسپوریدیوم آندرسونی درصد نسبتا بالایی از آلودگی دامها را در کشورهای مختلف به خود اختصاص داده است. در ایران نیز درصد های مشابهی از آلودگی در شهر های مختلف از جمله اطراف اصفهان،تهران ،تبریز ،کرمان،اهواز بدست آمده است.در مطالعه حاضرمیزان آلودگی کریپتوسپوریدیوم آندرسونی در شهرستان مشهد و اثبات نقش این انگل در کاهش تولیدات دام اعم از شیر و گوشت در مطالعات دیگر محققان،لذا اهمیت این بیماری در گاوداری های این شهرستان و روشهای پیشگیری ازآن باید مورد توجه قرار گیرد.

واژه های کلیدی: کریپتوسپوریدیوم آندرسونی، گاو، ذیل نیلسون سرد، مشهد

استفاده از محیط کشت جدید کروموژن به منظور جداسازی لیستریا مونو سیتوژنز از مواد غذایی و آب

رضا صفری[۱*]، زهرا یعقوب زاده [۲]

۲،۱ـ مربی پژوهشی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر،ساری،مازندران

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

مقدمه و هدف: لیستریا از جمله باکتریهای بیماریزا بوده که عامل مسمومیت غذایی، سقط جنین، مننژیت،... در انسان می باشد. این باکتری در آب و مواد غذایی وجود داشته و بواسطه توانایی رشد در دمای$4^{o}C$ یخچال، پتانسیل آلوده نمودن انواع مواد غذایی را دارا بوده و از این طریق به انسان منتقل می گردد.

مواد و روش کار: محیطهای کشت مورد استفاده برای لیستریا نظیرpalcam agar, uvm,uvm ، لیستریا سلکتیو آگار... دارای قسمت بسیار بالایی بوده و از طرفی زمان جداسازی لیستریا به دنبال استفاده از محیطهای مذکور بسیار طولانی می باشد. یکی از محیطهای کشت جدید که برای جداسازی ۲۴ تا ۴۸ ساعته لیستریا مورد استفاده قرار میگیرد لیستریا کروم آگار بوده که در جداسازی این باکتری از مواد غذایی و آب در مدت زمان بسیار کوتاه مورد استفاده قرار میگیرد. بدنبال رشد این باکتری و گونه های دیگر در محیط کشت لیستریا کروم آگار، رنگ کلنی لیستریا مونوسیتوژنز به صورت آبی دارای هاله کدر بوده ولی سایر گونه ها نظیر ایوانوی و اینوکوآ بصورت آبی بدون هاله نمایان میگردند. کلنی سایرباکتریها قادر به رشد در این محیط باشند نیز بی رنگ بوده که قابل تشخیص با لیستریا خواهند بود.

نتایج و بحث: در مطالعات انجام گرفته در خصوص رفتار لیستریا در سوریمی ماهی کیلکا و همچنین پراکنش گونه های مختلف لیستریا در ماهی فیتوفاگ دود داده شده به روش سرد (در پژوهشکده اکولوژی دریای خزر) مشخص گردید که محیط کشت لیستریا کروم آگار دارای ویژگی بسیار بالایی بوده و در زمان و هزینه انجام شده نیز بسیار صرفه جویی می گردد. بنابراین میتوان از این محیط بعنوان محیط کشت جدید و جایگزین محیطهای مرسوم در آزمایشگاههای تشخیص طبی و بیمارستانها استفاده نمود.

واژه های کلیدی: لیستریا مونوسایتوژنز، لیستریا کروم آگار، مواد غذایی، آب