



## استفاده از روشهای بیوشیمیایی در شناسایی کلستریدیوم پرفرنجنس جدا شده از دستگاه گوارش شترمرغ

المیرا زندی<sup>۱\*</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام دانشگاه شهید باهنر کرمان

پست الکترونیکی Daahir.grenci@yahoo.com

**مقدمه و هدف:** کلستریدیوم پرفرنجنس بطور فراوان در خاک، آب، هوا، غذا، مدفوع و روده انسان و تمام حیوانات وجود دارد. این باکتری میله ای، گرم مثبت، اسپورزا، بی حرکت، و بی هوازی است که باعث بیماری در انسان و دام می شود.

تا کنون هیچ گونه مطالعه ای در زمینه شناسایی کلستریدیوم های موجود در دستگاه گوارش شترمرغ با روشهای بیوشیمیایی صورت نگرفته لذا هدف از انجام این طرح بررسی و شناسایی انواع کلستریدیوم های بیماریزا بخصوص کلستریدیوم پرفرنجنس که یکی از اعضای توکسیک موجود فلور طبیعی در دستگاه گوارش شترمرغ می باشد.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه ۱۲۰ نمونه ی مدفوع از شترمرغ داریهای استان کرمان p به صورت تصادفی جمع آوری شد که بلافاصله بعد از نمونه گیری، در ظروف پلاستیکی استریل سریعاً به آزمایشگاه منتقل و عملیات فرآوری، کشت وجداسازی روی محیط بلاد آگار انجام گرفت. کلنی ها از لحاظ مورفولوژی و نوع همولیز بررسی و با استفاده از رنگ آمیزی گرم و تستهای بیوشیمیایی از جمله کاتالاز، تخمیر کربوهیدراتها (گلوکز، ساکارز، لاکتوز و مالتوز)، هیدرولیز ژلاتین، تولید اندول، واکنش شیر تورنسل دار، تجزیه ی لسیتین، لیپاز و آزمون حرکت، مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از آزمون های بیوشیمیایی، با جداول راهنمای برگی مطابقت داده شد و گونه های کلستریدیوم و کلستریدیوم پرفرنجنس بر این اساس از یکدیگر تفکیک شدند.

**نتایج و بحث:** با آزمون بیوشیمیایی می توان تمام گونه های جنس کلستریدیوم را همزمان تشخیص داد. در این مطالعه ۳۶٫۶ درصد نمونه ها از نظر وجود گونه های کلستریدیوم مثبت بودند همانطور که در کتاب میکروب شناسی تشخیصی بیلی و اسکات (۲۰۰۶)، از کلستریدیوم پرفرنجنس به عنوان شایعترین گونه جدا شونده از جنس کلستریدیا ذکر شده است که در این تحقیق چنین نتیجه ای با فراوانی بالا به دست آمد به طوری که کلستریدیوم پرفرنجنس ۶۸٫۱۸ درصد کل باکتری های جدا شده را شامل می شد، که حاکی از اهمیت بیشتر این گونه باکتری می باشد.

پیشگیری از بیماریهای کلستریدیایی در شترمرغ از نظر بهداشت عمومی و بحث مسمومیت های غذایی در انسان از اهمیت ویژه ای برخوردار است. این مطالعه اولین قدم برای شناسایی بیشتر و بهتر کلستریدیوم پرفرنجنس در شترمرغ بوده و بدین گونه می توان راه را برای تولید واکسن های کلستریدیایی اختصاصی و پیشگیری از بیماریهای کلستریدیایی در این حیوان هموار ساخت.

**واژه های کلیدی:** کلستریدیوم پرفرنجنس، شترمرغ، مدفوع، روش های بیوشیمیایی، واکسن

### بررسی بیان ژن etx توکسین اپسیلون (ε) کلستریدیوم پرفرنجنس تیپ D

مهناز کریمی<sup>۱</sup>، مهرداد شمس الدینی بافتی<sup>۲\*</sup>، مجید عزتخواه<sup>۳</sup>، مجتبی علی مولایی<sup>۴</sup>، مهدی حسنی درخشان<sup>۵</sup>، زهرا عامری<sup>۶</sup>، کیانا داوودی<sup>۷</sup>، علیرضا کریم آبادی<sup>۸</sup>  
۱- دانش آموخته دانشکده میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد چهارم ۲- اعضای هیات علمی و کارشناسان موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه جنوب شرق کشور- کرمان

پست الکترونیکی نویسنده مسؤول: m.shamsaddini@rvsri.ir

**مقدمه و هدف:** جنس کلستریدیوم، بیش از ۸۰ گونه دارد. کلستریدیوم پرفرنجنس، یکی از بیشترین گونه های بیماریزا در جنس کلستریدیوم است که در صنعت دامداری خسارات زیادی ایجاد می کند. کلستریدیوم پرفرنجنس، توکسین های زیادی تولید می کند که توکسین اپسیلون (ε)، یکی از توکسین های اصلی آن است. در جدایه های تیپ D، توکسین اپسیلون عامل اصلی ایجاد کننده آنتروتوکسمی ای بسیار کشنده در گوسفند و بز است. در این مطالعه، بیان ژن etx توکسین اپسیلون کلستریدیوم پرفرنجنس تیپ D مورد بررسی قرار می گیرد.

**مواد و روش کار:** در ابتدا سوش استاندارد بر روی محیط های پایه مغذی کشت داده شد و با استفاده از کیت RNA-PLUS، استخراج شد. در مرحله بعدی با استفاده از کیت ۲-RNA، STEPS RT-PCR استخراجی به cDNA تبدیل شد. بعد از آن الکتروفورز انجام شد و ژل در دستگاه ژل داکت قرار گرفت و عمل عکسبرداری از ژل و ذخیره آن به شکل فایل تصویری انجام گردید.

**نتایج و بحث:** در این بررسی باندهای ایجاد شده از توکسین اپسیلون به خوبی مشاهده شدند. با بررسی نتایج، مشخص شد که کیت استخراجی total RNA برای کلستریدیوم پرفرنجنس تیپ D مناسب بوده به گونه ای که استخراج به خوبی انجام شده و هیچ آلودگی در آن دیده نشد. علاوه بر این مشخص شد که ژن etx توکسین اپسیلون (ε) در محیط مغذی بیان شده که دارای وزن مولکولی ۶۵۵ bp می باشد.

**واژه های کلیدی:** کلستریدیوم پرفرنجنس، total RNA، کیت RNA-PLUS، توکسین اپسیلون