

بررسی آلودگی به کمپیلوباکتر در مرغ عشق‌های شهر کرد به روش PCR

عبدالکریم زمانی مقدم^{1و4}، حسین طهماسبی^{2و4*}، مهرداد خسروی فارسانی²، محمد قاسمی²،
عبدالله کیانی سلمی³

چکیده

زمینه: پرندگان خانگی ممکن است عوامل بیماری‌زای انسانی را با خود حمل کنند و برخی از این عوامل را می‌توانند به مردم منتقل کنند. کمپیلوباکتر شایع‌ترین علت گاستروانتریت انسان در سراسر جهان شناخته شده است. با توجه به علاقه‌ی بسیاری از مردم در نگهداری از پرندگان زینتی و توانایی بالقوه‌ی این پرندگان در انتقال کمپیلوباکتر به انسان در این مطالعه به ارزیابی آلودگی به کمپیلوباکتر در مرغ عشق-های شهر کرد با روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR) پرداخته شد.

روش: مجموعاً ۱۲۰ نمونه‌ی مدفوعی از مرغ عشق از نقاط مختلف شهر کرد جمع-آوری گردید و با استفاده از روش‌های باکتری‌شناسی و PCR به جستجوی کمپیلوباکتر پرداخته شد.

نتایج: کمپیلوباکتر از ۱/۷ درصد (۲ از ۱۲۰) از نمونه‌ها جداسازی شد. جدایه‌های کمپیلوباکتر مقاومت بالای آنتی‌بیوتیکی از خود نشان دادند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان این نکته را بیان نمود که نگهداری از این پرندگان می‌تواند سلامت مردم را در اثر آلودگی به کمپیلوباکتر تهدید نماید. امید است نتایج این مطالعه مردم را از خطرات احتمالی نگهداری از این پرنده‌ها بیشتر مطلع نماید و در اتخاذ سیاست مناسب در برخورد با بیماری‌های مشترک انسان و دام مفید باشد.

واژگان کلیدی: کمپیلوباکتر، پرندگان زینتی، PCR.

۱- دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهر کرد، شهر کرد، ایران.
تلفن و پست الکترونیک: ۰۹۱۳۱۸۲۰۷۳۷
azamani2@yahoo.com

۲- دانشجوی دکترای دامپزشکی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهر کرد، شهر کرد، ایران.
تلفن و پست الکترونیک: ۰۹۱۳۷۳۲۵۰۷۱
H.Tahmasby@yahoo.com

تلفن و پست الکترونیک: ۰۹۳۷۰۳۱۵۹۶۷
mehrdadekhosravi@yahoo.com

تلفن و پست الکترونیک: ۰۹۳۷۰۳۱۵۹۶۷
Mohammad.ghasemi@gmail.com

۳- کارشناس آزمایشگاه، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهر کرد، شهر کرد، ایران.
تلفن و پست الکترونیک: ۰۹۱۳۳۸۲۱۴۸۱
a.kianis@yahoo.com

۴- پژوهشکده‌ی بیماری‌های مشترک انسان و دام، دانشگاه شهر کرد، شهر کرد، ایران.

* نویسنده‌ی مسؤول:

حسین طهماسبی؛ ایران، شهر کرد، دانشگاه شهر کرد، دانشکده‌ی دامپزشکی.

تلفن: ۰۹۱۳۷۳۲۵۰۷۱

Email: H.Tahmasby@yahoo.com

تاریخ پذیرش: 91/4/26

تاریخ دریافت: 90/10/25

مقدمه

کمپیلوباکتر شایع‌ترین علت گاستروانتریت در انسان شناخته شده (۱) و سالیانه ۴۰۰ تا ۵۰۰ میلیون نفر را در دنیا مبتلا می‌نماید (۲).

پرندگان خانگی نیز به صورت بالقوه می‌توانند میکروب-های بیماری‌زا را در خود جای داده و به صاحبان خود منتقل کنند. با این حال، بسیاری از مردم در منزل خود از این پرندگان مراقبت کرده و به این ترتیب خود را در معرض بسیاری از بیماری‌های مشترک باکتریایی، پروتوزوایی، قارچی، ویروسی یا انگلی قرار می‌دهند (۳).

مطالعات عمده‌ای که در زمینه‌ی بررسی آلودگی پرندگان زینتی مختلف از نظر آلودگی به کمپیلوباکتر در نقاط مختلف دنیا انجام شده است، نشان‌دهنده‌ی وضعیت متفاوت آلودگی به کمپیلوباکتر از صفر (۴، ۵) تا مقادیر بالاتر (۶-۸) در مناطق مختلف بوده است.

با توجه به علاقه‌ی بسیاری از مردم در نگهداری از پرندگان زینتی و امکان انتقال عوامل بیماری‌زا از قبیل کمپیلوباکتر توسط پرندگان زینتی و اینکه اطلاعات چندانی در مورد وضعیت آلودگی به کمپیلوباکتر در پرندگان زینتی در کشور در دست نیست و نقش احتمالی پرندگان زینتی در انتقال کمپیلوباکتر به انسان در این منطقه در هاله‌ای از ابهام است، در این مطالعه به ارزیابی آلودگی مرغ عشق‌های شهرکرد به کمپیلوباکتر پرداخته شد.

روش

در این مطالعه که در بهار سال ۱۳۹۰ صورت گرفت مجموعاً ۱۲۰ نمونه‌ی مدفوعی از مرغ عشق از نقاط مختلف شهرکرد به وسیله‌ی سواب استریل جمع‌آوری گردید.

سواب‌ها مستقیماً درون محیط Preston enrichment broth base (هایمدیا، ساخت هندوستان) که به آن *Campylobacter selective supplement* (کد

FD042، هایمدیا، ساخت هندوستان) و ۵ درصد خون گوسفند دفیبرینه شده افزوده شده، قرار داده شدند و در دمای ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در شرایط *Microaerophilic* انکوبه گردیدند. سپس بر روی محیط *Campylobacter selective agar* (هایمدیا، ساخت هندوستان) با مکمل آنتی‌بیوتیکی (کد FD006، هایمدیا، ساخت هندوستان) و ۵ درصد خون دفیبرینه‌ی گوسفند کشت داده شدند. کلنی‌های تک رشد یافته، جهت تأیید و تفکیک گونه‌های کمپیلوباکتر از نظر رنگ‌آمیزی گرم، تولید کاتالاز، اکسیداز و مقاومت به سفالوتین مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌های مشکوک به کمپیلوباکتر تا زمان انجام PCR در محیط TSB به صورت گلیسرینه در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردیدند.

کنترل مثبت از کلکسیون باکتری‌های گروه میکروبیولوژی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه آزاد واحد شهرکرد تهیه گردید. نمونه‌های مشکوک جهت جستجوی کمپیلوباکتر به وسیله‌ی PCR با استفاده از پرایمرهای توصیف شده توسط لیتون (Linton) و همکاران با اندازه‌ی محصول ۸۱۶ جفت باز مورد آزمون قرار گرفتند (۹). مواد PCR از شرکت سیناژن ساخت ایران تهیه شد و واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر (۲/۵ میکرولیتر بافر 10X PCR، ۱/۵ میکرولیتر MgCl₂ ۵۰ میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر dNTP ۱۰ میلی-مولار، ۱/۵ واحد آنزیم Taq پلی‌مراز، ۱ میکرولیتر با غلظت ۱۰ میکرومولار از هر پرایمر، ۱ میکرولیتر DNA الگو) انجام گردید. برنامه‌های دمایی مطابق با برنامه‌ی حرارتی لیتون و همکاران (۹) در دستگاه ترموسایکلر (Biorad، ساخت آمریکا) صورت پذیرفت. در پایان محصولات PCR روی ژل آگارز (ساخت سیناژن، ایران) ۱/۵ درصد الکتروفورز (ساخت پایا پژوهش پارس، ایران) گردید.

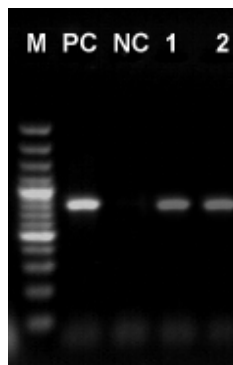
آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکسازین، سیپروفلوکسازین، داکسی-سایکلین، سولتریم، فلورفینیکل، آمپی‌سیلین، اکسی-تتراسایکلین و اریترومایسین به ترتیب: ۰، ۰، ۵۰، ۵۰، ۵۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد بود.

کم‌اثرترین آنتی‌بیوتیک، اریترومایسین بود که ۱۰۰ درصد جدایه‌های کمپیلوباکتر نسبت به آن مقاوم بودند. مؤثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها: انروفلوکسازین، سیپروفلوکسازین و داکسی‌سایکلین بودند که نسبت به آنها هیچ‌گونه مقاومتی وجود نداشت.

جدایه‌های کمپیلوباکتر پس از کشت روی محیط مولر هینتون آگار (Merck، ساخت آلمان)، جهت تعیین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکسازین، سیپروفلوکسازین، داکسی‌سایکلین، سولتریم، فلورفینیکل، آمپی‌سیلین، اکسی‌تتراسایکلین و اریترومایسین (پادتن طب، ایران) مورد آزمون قرار گرفتند.

نتایج

کمپیلوباکتر از ۱/۷ درصد (۲ از ۱۲۰) از نمونه‌ها جداسازی شد. میزان مقاومت جدایه‌های کمپیلوباکتر به



شکل ۱: تصویر الکتروفورز ژل آگارز. M: مارکر 100 جفت بازی (Fermentas)، NC: کنترل منفی، PC: کنترل مثبت کمپیلوباکتر (816 جفت بازی)، 1 و 2: ایزوله‌های کمپیلوباکتر از مرغ عشق

بحث

روی طوطی‌های گونه‌های مختلف میزان شیوع کمپیلوباکتر ۷ درصد اعلام شد (۷). در مطالعه‌ی ودرکوپ (Wedderkopp) و همکاران در سال ۲۰۰۳ آلودگی به کمپیلوباکتر در تعدادی از پرندگان کمیاب که جهت سرگرمی مورد استفاده قرار می‌گرفتند گزارش گردید (۸). اما در بعضی از مطالعات دیگر که در مورد پرندگان زینتی صورت گرفته هیچ نمونه‌ی مثبتی به دست نیامده است. برانگنبرگ (Brangenberg) و همکاران طی مطالعه‌ای که در نیوزیلند انجام دادند، هیچ نمونه‌ی مثبتی از کمپیلوباکتر در طوطی‌های مورد بررسی قرار گرفته نیافتند (۴). در تحقیقی نیز که توسط سونسینی (Soncini) و همکاران

گزارش‌های متعددی در مورد آلودگی به کمپیلوباکتر در کودکان مبتلا به اسهال (۱۰)، مواد غذایی مختلف از قبیل: گوشت گوسفند، بز، گاو، شتر و طیور در کشور وجود دارد (۱۱، ۱۲). اما به وضعیت آلودگی پرندگان زینتی به کمپیلوباکتر در ایران و نقش آنها در انتقال این عامل بیماری‌زا به انسان چندان توجهی صورت نگرفته است.

مطالعاتی که بر روی پرندگان زینتی صورت گرفته شیوع متفاوتی را در پرنده‌های مختلف در جاهای مختلف نشان می‌دهد. در مطالعه‌ی آی‌الا (Ayala) و همکاران در پرو میزان آلودگی به این باکتری در طوطی‌های مورد بررسی قرار گرفته ۸ درصد گزارش گردید (۶). در مطالعه‌ای دیگر

ضمناً ممکن است مرغ عشق‌های این منطقه، حامل عوامل بیماری‌زای دیگری نیز باشند که در این مطالعه مورد بررسی قرار نگرفته است، بنابراین تحقیقات بیشتر در این زمینه توصیه می‌گردد.

نتیجه‌گیری

با توجه به مقاومت بالای جدایه‌های کمپیلوباکتر در این مطالعه در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمون قرار گرفته و خطری که می‌تواند سلامت مردم خصوصاً کودکان را در اثر نگهداری از پرندگان زینتی تهدید کند، باید به صاحبان پرندگان و همچنین عموم مردم در مورد نحوه‌ی ارتباط با پرندگان زینتی و عدم استفاده‌ی بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های پرندگان آموزش‌های لازم داده شود و آنها را از خطرات احتمالی نگهداری از این پرنده‌ها مطلع نمود. امید است نتایج این مطالعه مردم را از خطرات احتمالی نگهداری از این پرنده‌ها بیشتر مطلع نماید و در اتخاذ سیاست مناسب در برخورد با بیماری‌های مشترک انسان و دام مفید باشد.

جهت بررسی میزان آلودگی به کمپیلوباکتر در قراول صورت گرفت، هیچ نمونه‌ی مثبتی یافت نشد (۵).

آلودگی مرغ عشق‌های این منطقه با کمپیلوباکترهای مقاوم به آنتی‌بیوتیک می‌تواند بازتاب استفاده‌ی بدون نظارت و بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف جهت درمان یا پیش‌گیری از بیماری در این پرنده‌ها باشد و یا نشان‌دهنده‌ی حضور چنین جدایه‌هایی در غذا یا آبی است که از آن تغذیه می‌کنند. البته صاحبان پرنده‌ها نیز اظهار داشتند که جهت درمان بیماری پرنده‌های خود یا پیش‌گیری از بیماری در آنها بدون نظارت دامپزشک از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف استفاده کرده‌اند که این مسأله بر مقاومت بالای آنتی‌بیوتیکی به دست آمده، می‌تواند بسیار مؤثر باشد.

توضیح احتمالی برای شیوع پایین کمپیلوباکتر در این مطالعه می‌تواند این نکته باشد که منبع کمپیلوباکتر در پرندگان، غذا و محیطی است که مورد استفاده قرار می‌دهند. از آنجایی که وضعیت بهداشت تغذیه و محیط زندگی در پرندگان زینتی نسبت به سایر پرندگان در میزان بالاتری قرار دارد، احتمالاً به همین علت شیوع کمپیلوباکتر در این مطالعه پایین (۱/۷ درصد) بود.

References

- 1-Wieczorek K, Osek J. Identification of virulence genes in *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolates by PCR. Bull Vet Inst Pulawy 2008;52:211-6.
- 2-Talukder KA, Aslam M, Islam Z, Azmi IJ, Dutta DK, Hossain S, et al. Prevalence of virulence genes and cytotoxin production in *Campylobacter jejuni* isolates from diarrheal patients in Bangladesh. J Clin Microbiol 2008; 46(4):1485-8.
- 3-Krauss H, Weber A, Appel M, Enders B, Isenberg HD, Schiefer HG, et al. Zoonoses: Infectious Diseases Transmissible From Animals to Humans. 3rd ed. Washington, DC: ASM Press; 2003.
- 4-Brangenberg N, McInnes C, Connolly JH, Rogers LE. Absence of *Salmonella* and *Campylobacter* species in fecal and cloacal swab samples from Kakapo (*Strigops habroptilus*) on Codfish Island, New Zealand. J Avian Med Surg 2003;17(4):203-5.
- 5- Soncini G, Valnegri VL, Vercellotti L, Colombo F, Valle D, Franzoni M, et al. Investigation of *Campylobacter* in Reared Game Birds. J Food Protect 2006;69(12):3021-4.
- 6-Tresierra-Ayala A, Bendayan ME, Bernuy A, Espinoza F, Fernandez H. Carriage of the classical thermotolerant *Campylobacter* in healthy domestic animals from eastern Peru. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 1995;37(6):537-9.

- 7-Tresierra-Ayala A, Bendayan ME. Thermotolerant *Campylobacter* species isolated from psittaciformes in the Peruvian Amazon region. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 1998;40(4):263-4.
- 8-Wedderkopp A, Madsen AM, Jorgensen PH. Incidence of *Campylobacter* species in hobby birds. *Vet Rec* 2003;152(6):179-80.
- 9-Linton D, Owen RJ, Stanley J. Rapid identification by PCR of the genus *Campylobacter* and of five *Campylobacter* species enteropathogenic for man and animals. *Res Microbiol* 1996;147(9):707-18.
- 10-Feizabadi MM, Dolatabadi S, Zali MR. Isolation and drug-resistant patterns of *Campylobacter* strains cultured from diarrheic children in Tehran. *Jpn J Infect Dis* 2007;60(4):217-9.
- 11-Rahimi E, Ameri M, Kazemeini HR. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* Species Isolated from Raw Camel, Beef, Lamb, and Goat Meat in Iran. *Foodborne Pathogens Dis* 2010;7(4):443-7.
- 12-Rahimi E, Kazemeini HR, Safaei S, Allahbakhshi K, Momeni M, Riahi M. Detection and identification of *Campylobacter* spp. from retail raw chicken, turkey, sheep and goat meat in Ahvaz, Iran. *Afr J Microbiol Res* 2010;4(15):1620-3.

«Original Article»

Investigation of *Campylobacter* infection in lovebirds in Shahrekord, Iran by PCR

Abdolkarim Zamani Moghaddam^{1,4}, Hossein Tahmasby^{2,4*}, Mehrdad Khosravi Farsani²,
Mohammad Ghasemi², Abdollah Kiani Salmi³

1-Associate Professor, Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran.

2-Student of Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran.

3- Lab Technician, Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran.

4-Research Institute of Zoonotic Diseases, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran.

*Corresponding Author:
Hossein Tahmasby; School of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran.
Tel: 09137325071
Email: h.tahmasby@yahoo.com

Abstract

Background: Pet birds may carry human infectious agents and some of these can be transmitted to people. *Campylobacter* bacteria are the most common bacteria that cause gastroenteritis worldwide. Considering people's interests to keep pet birds and the potential ability of pet birds to transmit *Campylobacter* to humans, the present study was conducted to evaluate *Campylobacter* infection in Shahrekord lovebirds by polymerase chain reaction (PCR).

Methods: Altogether 120 samples of lovebird faeces were collected from different areas of Shahrekord, Iran and evaluated for detection of *Campylobacter* by bacteriological and PCR methods.

Results: *Campylobacter* was isolated from 1.7% (2 out of 120) of samples. *Campylobacter* isolates showed high level of antibiotic resistance.

Conclusion: The results of our study suggest that lovebird ownership can be a menace to people's health by *Campylobacter* infection. We hope that the results of this study lead to improvements in the understanding probable danger of pet bird ownership and programs against zoonoses.

keywords: *campylobacter*, pet birds, pcr.

►Please cite this paper as:

Zamani Moghaddam A, Tahmasby H, Khosravi Farsani M, Ghasemi M, Kiani Salmi A. Investigation of *campylobacter* infection in lovebirds in Shahrekord, Iran by PCR. *Jentashapir* 2012;3(4):489-494

Received: 15.01.2012

Accepted: 16.07.2012