مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۱ شماره ۳ پاییز ۱۳۸۶، صفحات۱۷-۲۳

بررسی شیوع *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کلی* مولد توکسین Cytolethal distending جداشده از طیور گوشتی باروش کشت سلولی در منطقه اصفهان

سید اصغر هوائی*[۱]، ابتهاج پیشوا[۱]، اکبر طبیبیان[۱]، محمد ربانی[۲]، فریبرز حق شناس[۱]، تهمینه نریمانی[۱]

۱) گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۲) دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
نویسنده رابط: سید اصغر هوائی، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، همراه: ۰۹۱۳۳۱۳۳۵۳۹
havaei@med.mui.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۹/۱۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۶/۱۰/۲۲

چکیده:

زمینه و اهداف: *کمپیلوباکتر ژژونی* یکی از متداول ترین علل ایجاد اسهال باکتریال درانسان های سراسر دنیا می باشد. اغلب آلودگی ها با مصرف محصولات غذائی نیم پز آلوده با کمپیلوباکتر در ارتباط می باشد.
شایع ترین توکسین تولید شده Cytolethal distending (CDT) می باشد که در چندین گونه از کمپیلوباکتر تشخیص داده شده است. با توجه به نقش طیور گوشتی در انتقال کمپیلوباکتر به انسان و نقش احتمالی CDT در بیماریزائی کمپیلوباکتر، تعیین سویه های تولید کننده توکسین CDT بسیار ضروری می باشد.

روش بررسی: در این تحقیق ۳۶۸ رکتال سواب از مرغداری های شهر اصفهان به روش کشت بررسی گردید. تمام نمونه ها پس از کشت بر روی محیط جامد Skirrows & Blood به مدت ۴۸-۷۲ ساعت در شرائط میکروآئروفیلیک و دمای $42\ ^{o}C$ انکوبه شدند. به منظور سنجش و تشخیص CDT در سویه های *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کلی* و بررسی اثرات سلولی آن، از سیستم کشت سلولی هلا استفاده گردید.

یافته ها: تعداد ۱۱۴ نمونه از ۳۶۸ نمونه (۳۱ درصد) مدفوع طیور مورد بررسی، از نظرکمپیلوباکتر مثبت گردید که از این تعداد ۱۰۱ نمونه (۸۸/۶٪) بعنوان گونه ژژونی و ۱۳ نمونه (۱۱/۴٪) گونه کلی تشخیص داده شد. در سنجش کشت سلولی۹۴ در صد سویه های مربوط به *کمپیلوباکتر ژژونی* و ۷۶/۹ درصد سویه های کلی تولید کننده توکسین CDT بودند.

نتیجه گیری: نتایج به دست آمده شیوع *کمپیلوباکتر ژژونی* و کلی را در طیور گوشتی منطقه اصفهان نشان می دهد که اکثر این جدایه ها توکسین CDT را در سطح و مقدار زیاد تولید کردند. بخصوص سویه های *کمپیلوباکتر ژژونی* که در سطوح زیاد توکسین تولید کردند که این مطلب شیوع اسهال ناشی از این باکتری را در اهالی منطقه اصفهان نمایان می کند.

کلید واژه ها: *کمپیلوباکتر ژژونی*، *کمپیلوباکتر کلی*، سیتوتوکسین CDT، طیور، اصفهان

مقدمه:

کمپیلوباکتر ژژونی از معمول ترین علل باکتریایی در ایجاد اسهال می باشد. بیماران بطور تیپیک دارای اسهال آبکی همراه با مخاط می باشند که در مورد شدید اسهال خونی بوجود می آید (۱و۲). در سال ۱۹۱۹ تایلور و اسمیت باکتری هایی مشابه با ویبریوها را از جنین سقط شده گاوها بدست آوردند و به این علت به نام *ویبریو فتوس* (*Vibrio fetus*) نامگذاری کردند (۳). در خانواده کمپیلوباکتر ۱۸ گونه و تحت گونه شناخته شده است که در این بین گونه های *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکترکلی* مسئول غالب موارد عفونت های کمپیلوباکتری در انسان می باشند (۴). آمار مربوط به فراوانی گونه های مختلف کمپیلوباکتر در اسهال ها متفاوت بوده ولی در بسیاری از گزارشات ۹۵٪ این اسهال ها ناشی از گونه ژژونی، ۴٪ ناشی از گونه کلی و ۱٪ باقیمانده مربوط به سایر گونه ها ذکر گردیده است (۵). اپیدمی های ناشی از کمپیلوباکترها در انسان نادر می باشد ولی موارد فردی معمولاً وجود دارد که با مصرف شیر و آب آلوده و محصولات غذایی نیم پز آلوده به کمپیلوباکترها در ارتباط می باشد. در چندین کشور شیوع عفونت های کمپیلوباکتر در طیور گوشتی گزارش شده است. بطوریکه باکتری در حین پروسه کشتار طیور (سلاخی) زنده مانده و به اعضاء و اندام های غیرآلوده طیور منتقل می شود (۶).

معمولاً چندین عامل از قبیل حرکت بواسطه فلاژل، اتصال به مخاط روده، قدرت تهاجم و تولید سم را در بیماریزایی کمپیلوباکتر دخیل می دانند. مشخص ترین سم معرفی شده در این باکتری ها CDT می باشد که تولید آن در چندین گونه کمپیلوباکتر مشخص شده است. تولید این توکسین در سال ۱۹۸۸ توسط جانسون و لیور در *کمپیلوباکتر ژژونی* نشان داده شده است (۱و۶).

فعالیت این سم متفاوت از فعالیت سایرسموم باکتریایی می باشد و بر روی رده خاص از سلول های توموری شامل سلول های هلا، ورو، و سلول های تخمدان هامستر چینی (CHO) باعث بزرگی و تورم سلول ها می شود و ۷۲ الی ۹۶ ساعت بعد از اثر سم سلول ها از بین می روند. همچنین توکسین باعث تغییر ساختارسلول های میزبان شده و باعث توقف تقسیم سلول در سلول های اپی تلیال می گردد (۱و۲و۶و۷).

طیور گوشتی از منابع عمده *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کلی* می باشند ولی در کشور ما آمار دقیقی از شیوع و فراوانی این دو گونه در طیور گوشتی در دسترس نمی باشد. همچنین اطلاعات کافی در زمینه پراکندگی و فراوانی CDT در گونه های کمپیلوباکتر بخصوص گونه های ژژونی و کلی در دسترس نمی باشد، بطوریکه در زمینه اهمیت و نقش CDT در کمپیلوباکترها، تحقیقی انجام نگرفته است. لذا هدف این مطالعه، بررسی و تحقیق در این زمینه می باشد.

مواد و روش ها:

جهت انجام این مطالعه، نمونه گیری از مدفوع مرغ به روش سواب رکتال از رکتوم ۳۶۸ قطعه طیور گوشتی از مرغداری های منطقه اصفهان انجام گرفت. سواب های حاوی نمونه مدفوع توسط محیط انتقالی (Campy - Thio) به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی اصفهان منتقل گردید که جهت افزایش جداسازی کمپیلوباکتر، آنتی بیوتیک های اختصاصی Vancomycin- Polymixin- Trimethoprim به محیط انتقالی اضافه گردید.

کشت و آزمایش های بیوشیمیایی جهت جداسازی و تشخیص گونه های کمپیلوباکتر:

محیط کشت بکار برده شده در این مطالعه محیط (Skirrows & Blood) بود که مکمل آنتی بیوتیک های وانکومایسین، تری متوپریم و پلی میکسین، همچنین خون استریل و دفیبرینه گوسفند، جهت رشد بهتر کمپیلوباکتر به محیط کشت اضافه گردید.

سواب های حاوی نمونه مدفوع بر روی محیط جامد اسکیرو به روش (Streak method) کشت داده شد و جهت رشد مناسب کمپیلوباکتر ژژونی و کلی مهار رشد باکتری های فلور مدفوع، پلیت ها در حرارت ۴۲ درجه سانتیگراد در شرایط میکروآئروفیلیک ۴۸ الی ۷۲ ساعت قرار گرفت.

پس از رشد باکتری ها، پرگنه مشکوک کمپیلوباکتر از نظر مرفولوژی و خصوصیات مورد بررسی قرار گرفت. پرگنه کمپیلوباکترها خاکستری یا سیری رنگ با حاشیه ای نامنظم و حالت آبکی (قطره آب) داشتند. قطر کلنی ها حدود ۲ الی ۳ میلی متر بوده که گاهی به علت کشیدگی بروی خط کشت بزرگتر بنظر می رسیدند. در محیط حاوی خون، اطراف چنین کلنی هایی همولیز مشاهده نگردید.

از پرگنه ها جهت رنگ آمیزی گرم (کربول فوشین به جای سافرانین) اسلاید تهیه شد و اشکال اختصاصی کمپیلوباکتر (شکل بال پرنده) در اسلاید های رنگ آمیزی شده مشاهده گردید. سپس کلنی های منفرد انتخاب گردید و توسط پاساژهای مکرر بر روی محیط کشت، خالص شدند.

به منظور تشخیص و افتراق *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکتر کلی* از آزمایش های بیوشیمیایی از قبیل واکنش کاتالاز و اکسیداز، قدرت هیدرولیز هیپورات و حساسیت به آنتی بیوتیک های Nalidixic acid , Cephalotin استفاده گردید.

سونیکاسیون و تهیه مایع روئی باکتریایی جهت ارزیابی توکسین:

مایع روئی لیز شده باکتریایی بر اساس روش پیکت و همکاران (Pickett *et al.* 1996) تهیه شد. بدین صورت که پرگنه های منفرد و خالص *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کلی* به صورت جداگانه در لوله های اپندورف حاوی یک میلی لیتر محیط کشت سلولی(DMEM) هلا حل گردید.

به منظور مقایسه قدرت تولید CDT در کمپیلوباکترهای جدا شده باید چگالی سلولی در همه نمونه ها یکسان (10^8 CFU/ML) می بود، بدین منظور چگالی تعلیق با کتریایی همه لوله های اپندورف حاوی نمونه توسط روش الیزا و در (OD=600 nm) تعیین گردید(۶و۷).

سپس تعلیق باکتریایی در چهار زمان ۳۰ ثانیه ای سونیکیت شدند که فاصله بین هر دفعه نیز ۳۰ ثانیه بود و به منظور حذف بقایای سلولی نمونه ها ۲۰ دقیقه در rpm ۶۰۰۰ سانتریفوژ شدند، مایع روئی حاصله جمع آوری گردید و بوسیله عبور از فیلترهای ۰/۲۲ میکرومتر استریل گردید و در ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره گردید تا در مراحل بعدی جهت سنجش سم به کشت سلولی هلا منتقل شود.

تعیین فعالیت CDT و بررسی تغییرات سلولی بوسیله کشت سلولی هلا:

سلول های هلا بصورت ویال های منجمد از آزمایشگاه تحویل گرفته شد که ابتدا در محیط (DMEM) حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گوساله (FCS) و آنتی بیوتیک های پنی سیلین و استرپتومایسین کشت داده شد. بعد از چند روز، بمنظور رشد بیشتر، سلول ها پاساژ داده شدند، بدین صورت که سلول ها تحت تأثیر ۴ میلی لیتر تریپسین ۲۰ درصد به مدت ۵ تا ۶۹ دقیقه تریپسینه شدند و بعد از حذف تریپسین سلول ها در ۱۵ تا ۲۰ میلی لیتر محیط (DMEM) تازه حل شدند وآماده انتقال به میکروپلیت های ۹۶ خانه بودند. البته قبل از آن باید چکالی سلولی در هر چاهک میکروپلیت 1×10^3 تا 2×10^3 سلول در ۱۰۰ میکرولیتر محیط (DMEM) باشد که این چگالی سلولی با شمارش سلول ها توسط لام نئوبار ا نجام گرفت. سپس میکروپلیت های حاوی سلول قبل از اضافه کردن مایع روئی لیز شده باکتریایی (سم) به مدت ۱۸ ساعت در اینکوباتور $37^{o}c$ حاوی CO2 اینکوب شدند (۸).

عیار سم بوسیله تهیه رقت های دو برابر ازسم (مایع روئی باکتریایی) در محیط کشت سلولی هلا (DMEM) تعیین شد و رقت های ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲ و ۱/۶۴ از سم ساخته شد، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت به چاهک های میکروپلیت ۹۶ خانه حاوی 2×10^3سلول در ۱۰۰ میکرولیتر محیط (DMEM) اضافه شد و در اینکوباتور CO2 دار با دمای $37^{o}c$ بمدت ۹۶ تا ۱۲۰ ساعت اینکوبه شد. سپس تغییرات سلولی (CPE) توسط آزمایش میکروسکوپی و رنگ آمیزی گیمسا بررسی گردید. در این بررسی *Campylobacter upsaliensis* تولید کننده CDT بعنوان شاهد مثبت و سلول های سالم هلا بعنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. بیشترین رقتی از توکسین که باعث ایجاد تغییرات سلولی (تورم و کشیدگی) در ۵۰ تا ۷۵ درصد سلول ها گردد بعنوان تیتر توکسین در نظر گرفته می شود (۷).

یافته ها:

جداسازی و تشخیص گونه های کمپیلوباکتر از طیور گوشتی به وسیله کشت و آزمایش های بیوشیمیایی :

در این مطالعه نمونه گیری به مدت ۱۰ روز و بر روی ۳۶۸ قطعه طیور گوشتی از مرغداری های اصفهان صورت گرفت. از این تعداد ۱۱۴ (۳۱٪) نمونه، بر اساس کشت در محیط های اختصاصی و گسترش رنگ آمیزی شده بعنوان کمپیلوباکتر تشخیص داده شد.

سپس برای تشخیص و افتراق گونه های کمپیلوباکتر از آزمایش های بیوشیمیایی از قبیل واکنش های کاتالاز، اکسیداز، هیدرولیز هیپورات و حساسیت به نالیدیکسیک اسید و سفالوتین استفاده گردید. تمامی کمپیلوباکترهای جدا شده از طیور، کاتالاز و اکسیداز مثبت بودند. از نظر حساسیت به نالیدیکسیک اسید و سفالوتین، همه گونه های جداشده به آنتی بیوتیک نالیدیکسیک اسید حساس بودند و به آنتی بیوتیک سفالوتین مقاومت نشان دادند و نیز تست هیدرولیز هیپورات در تمامی کمپیلوباکترهای ژژونی مثبت بود. بر این اساس از ۱۱۴ کمپیلوباکتر جدا شده، تعداد ۱۰۱ (۸۸/۶٪) نمونه بعنوان *کمپیلوباکتر ژژونی* و ۱۳(۱۱/۴٪) مورد بعنوان *کمپیلوباکترکلی* تشخیص داده شدند به غیر از دوگونه ژژونی و کلی، گونه های دیگر کمپیلوباکتر در این بررسی مشاهده نشد.

نتایج سنجش توکسین CDT:

گونه های کمپیلوباکتر(ژژونی و کلی) که توسط محیط کشت اختصاصی و روش های تشخیصی جداسازی و شناسایی شده

بودنـد. پس از آمـاده سازی، بـه منظـور بررسـی تولیـد CDT در گونه های جدا شده، مایع روئی لیز شده باکتری ها بـر روی کـشت سلولی هلا منتقل شد.

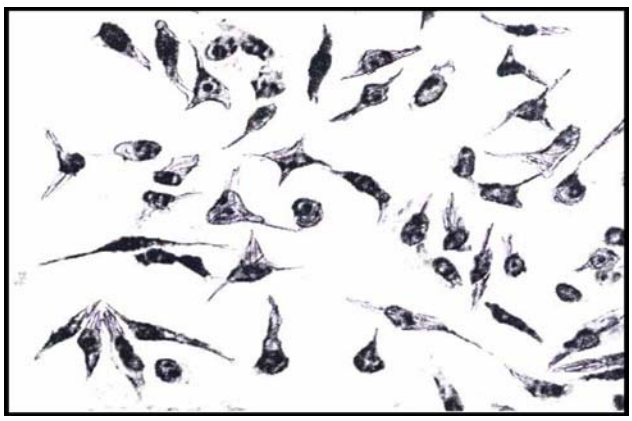
از ۱۰۱ گونه ژژونی جدا شده تعداد ۹۵ (۹۴٪) گونـه دارای قـدرت تولید توکسین CDT بودند و از ۱۳ گونه کلـی تعـداد ۱۰ (۷۶/۹٪) مورد تولید کننده توکسین CDT بودند.

عیارCDT تولید شده بوسیله جدایه های مختلـف کمپیلوبـاکتر بـه وسیله تهیه رقت های دو برابر از سوپرناتانت سلول هـای لیـز شـده کمپیلوباکتر بر روی سلول های هلا تعیین گردید و مشاهده شد کـه فعالیت CDT در میان جدایه های مختلف، متفاوت می باشد.

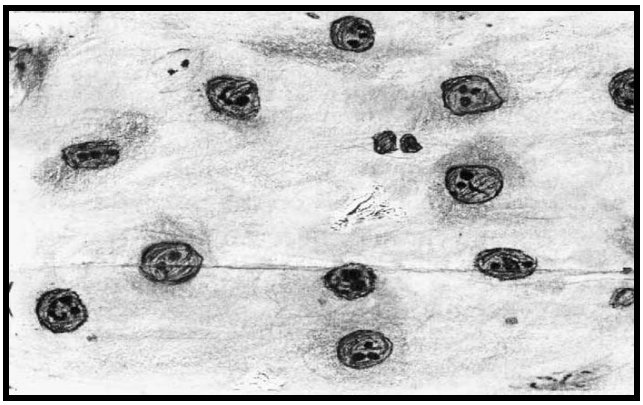
از تعداد ۱۰۱ *کمپیلوباکتر ژژونی* جدا شده ۴۴ (۴۳/۶٪) مـورد یـک تیترتوکسین ۱/۶۴ تولید کردند. همچنین ۲۵ (۲۴/۷٪) مورد تیتـر ۱/۳۲، ۲۲(۲۱/۸٪) مورد تیتر ۱/۱۶، ۴ (۳/۹٪) مورد تیتر ۱/۸ توکـسین CDT را تولید کردند و ۶ (۵/۹٪) مورد از نظر تولید CDT منفی بودند.

جدایه های *کمپیلوبـاکتر کلـی* جـدا شـده نـسبت بـه جدایـه هـای *کمپیلوباکتر ژژونی*، سطح و مقدار کمتری از CDT را تولید کردند. از ۱۳ *کمپیلوبـاکتر کلـی* جـدا شـده، ۱۰(۷۶/۹٪) مـورد تیتـر ۱/۸ از CDT را تولیـد کردنـد و ۳(۲۳/۷٪) مـورد نیـز از نظـر تولیـد CDT منفی بودند. تغییـرات سـلولی (CPE) ناشـی از اثـر CDT جدایه های مختلف کمپیلوباکتر بر روی سلول های هلا پـس از ۹۶ سـاعت اینکوباسـیون توسـط رنـگ آمیـزی گیمـسا و مقایـسه میکروسـکوپی (میکروسـکوپ معکـوس) بررسـی شـد. تغییـرات سلولی شامل بزرگی و کشیدگی سلول ها، همچنین بزرگی و قطعـه قطعه شدن هسته در مقایسه با *C.upsaliensis* تولید کننده CDT (شاهد مثبت) بررسی و مقایسه شد (شکل شماره ۱).

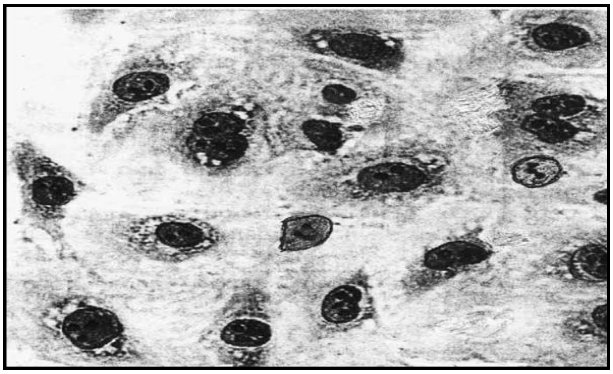
شکل ۱: مراحل تاثیر CDT برروی سلول های هلا (الف، ب، ج)



الف) : سلول های سالم هلا که تحت اثر توکسین قرار نگرفته اند



ب) اثرات سیتوپاتیک توکسین CDT *کمپیلوباکترژژونی* بروی سلول های هلا، تغییرات سلولی شامل بزرگی و کشیدگی سلول های هلا، همچنن بزرگی و قطعه قطعه شدن هسته می باشد (۷۲ ساعت بعد از اثر (CDT)



ج) اثرات سیتوپاتیک CDT کمپیلوباکتراپسالینیس (کنترل مثبت)

بحث:

در این مطالعه فراوانی *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کلی* در طیـور گوشـتی، همچنین فراوانی تولید CDT کمپیلوباکترهای جـدا شـده از طیـور مورد بررسی قرار گرفت.

در این تحقیق درصد جداسازی کمپیلوباکترهای جدا شـده از طیـور ۳۱٪ بود که بـا آمـار به دست آمـده در تحقیقات دیگـران متفـاوت می باشد (۷). در تحقیقات دیگران آمارهای متفاوتی در مورد شـیوع مرغ های آلوده به کمپیلوباکتر گزارش شده است، برای مثال برخـی ازاین مطالعات ۳۰ تا ۱۰۰٪ طیور را حامل کمپیلوباکتر می دانند (۷)، و این آمار در برخی دیگر از بررسـی هـا ۵/۹ ٪ نیـز گـزارش شـده است (۹). در تحقیقی که در اصفهان انجـام شـد میـزان جداسـازی کمپیلوباکتر از مرغ ها ۹/۴٪ گزارش گردید (۸). این تفـاوت آمـاری ممکن است دلایل مختلفی داشته باشـد کـه از آن جملـه مـی تـوان

تفاوت در استفاده ازمحیطهای انتقالی و کشت، روش نمونه گیری و فصول مختلف سال و دلایل دیگر را بیان کرد (۱۰ و ۱۱و۱۲).

براساس نتایج به دست آمده در این مطالعه، درصد جداسازی گونه *کمپیلوباکتر ژژونی* خیلی بیشتر از گونه *کمپیلوباکتر کلی* بودند بطوری که *کمپیلوباکتر ژژونی* به تنهایی ۸۸/۶٪ و *کمپیلوباکتر کلی* ۱۱/۴٪ باکتری های جدا شده از طیور را دربر می گیرد که با نتایج سایر مطالعات مشابهت دارد (۷و۱۳). در بررسی اخیر در اصفهان،۷۲٪ کمپیلوباکتر جداشده از طیور مربوط به *کمپیلوباکتر ژژونی* و ۲۸٪ *کمپیلوباکتر کلی* بودند(۷). در بعضی مطالعات کمپیلوباکتر ژژونی تا ۹۹٪ از مرغ های آلوده جدا گردید (۱۴). While van Looveren و همکاران شیوع *کمپیلوباکتر ژژونی* را ۷۹٪ و *کمپیلوباکتر کلی* را ۲۱٪ گزارش نمودند (۱۵) و در تحقیق دیگری Eyigor و همکاران، فراوانی *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکتر کلی* را ۶۷٪ و ۳۳٪ گزارش کردند (۱۶).

تحقیقات اخیر بیانگر وجود CDT در اغلب سویه های *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکترکلی* می باشد، اما تفاوت های مشخصی در تولید این توکسین (مقدار و تیترتوکسین) در ایندو گونه نزدیک و مرتبط به هم وجود دارد (۱۷).

بطوریکه سطح توکسین در گونه های ژژونی جدا شده خیلی بیشتر از *کمپیلوباکترکلی* می باشد(۱۳) و این تفاوت در مقدار CDT ممکن است یکی از علل تفاوت در بیماریزایی و قدرت تهاجم این دو گونه باشد بطوریکه گونه ژژونی باعث ایجاد اسهال شدیدتر با فراوانی بیشتر نسبت به گونه کلی می گردد.

تحقیقات Purdy بر روی موش های شیرخوار نشان داد موتانت cdt *کمپیلوباکتر ژژونی* باعث کاهش شدید تغییرات التهابی و نکروز در روده موش های شیرخوار و کاهش اسهال در آنها می گردند (۶). بر این اساس می توان گفت یکی از عوامل دخیل در ایجاد اسهال توسط *کمپیلوباکتر ژژونی* تولید CDT می باشد.

نتایج این مطالعه نشان داد ۹۴٪ *کمپیلوباکتر ژژونی* جدا شده از طیور قادر به تولید توکسین CDT هستند. که با آمار به دست آمده با تحقیقات دیگران (۱۸و۱۹) مشابهت دارند، ولی با نتایج تحقیق Johnson and Lior که در تولید توکسین از روش تغلیظ نشده سوپرناتانت محیط کشت باکتری استفاده نمودند متفاوت می باشد (۲۰). در مورد توکسین CDT مربوط به *کمپیلوباکتر کلی* این توکسین از مقدار و فعالیت بسیار کمتری در مقایسه با *کمپیلوباکتر ژژونی* برخوردار بودند که با نتایج سایر مطالعات (۱۳ و۲) مطابقت دارد.

در مطالعات اخیر، شیوع اسهال ناشی از *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکترکلی* به دو روش کشت و PCR در مردم منطقه اصفهان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد از مجموع ۱۹۶ نمونه بیماران اسهالی تعداد ۱۸ نمونه (۱/ ۹٪) با روش PCR از نظر کمپیلوباکتر مثبت بودند، ازاین تعداد ۱۴ نمونه از گونه *کمپیلوباکتر ژژونی* و ۴ نمونه مربوط به گونه *کمپیلوباکترکلی* بودند. در روش کشت از مجموع ۱۹۶ نمونه اسهالی ۱۵ مورد(۷/۶ ٪) از نظر کمپیلوباکتر مثبت بودند، که ۱۲ نمونه مربوط به *کمپیلوباکتر ژژونی* و ۳ مورد *کمپیلوباکتر کلی* بودند (۲۲). در تحقیق انجام شده دیگری از مجموع ۲۳۹ نمونه مدفوع بیماران اسهالی در ۲۱ مورد(۸/ ۸ ٪) *کمپیلوباکتر ژژونی* جدا گردید(۲۱).

نتایج این مطالعه شیوع *کمپیلوباکتر ژژونی* در طیور گوشتی منطقه اصفهان را نشان می دهد (۷) که با توجه به نتایج فوق ، نقش طیور گوشتی در انتشار این باکتری مشخص می گردد. علل افزایش اسهال ناشی از *کمپیلوباکتر ژژونی*، مصرف زیاد گوشت (بریانی) و اندام طیور در بین مردم منطقه اصفهان و دیگری پاک کردن غیرصحیح لاشه طیور در کشتارگاه های طیور این منطقه می باشد، بطوریکه باکتری از ا معاء و احشاء به لاشه طیور منتشر می گردد و باعث آلودگی آنها می شود.

همچنین فراوانی تولید CDT در سویه های *کمپیلوباکتر ژژونی* جدا شده از طیور مرغداری های منطقه اصفهان یکی دیگر از علل افزایش اسهال در این منطقه می باشد، بطوریکه اکثر سویه های این باکتری سطح بالایی از توکسین را تولید کردند.

همچنین اختلاف در شیوع این دو گونه در انسان نیز گزارش شده است که این نسبت ۲ تا ۳ برابر می باشد که این مطلب نیز بیانگر فراوانی شیوع اسهال ناشی از *کمپیلوباکتر ژژونی* در این منطقه می باشد (۲۲). بررسی موجود نشان می دهد که درصد جداسازی باکتری در مرداد، شهریور و مهرماه افزایش نشان می دهد. همچنن بدلیل فاصله طولانی بین مرغداری و آزمایشگاه، افزودن ساپلمنت آنتی بیوتیک به محیط های انتقالی باعث افزایش موارد جداسازی باکتری می گردد.

در پایان با توجه به فراوانی جداسازی این باکتری ها، میزان بالای شیوع اسهال ناشی از کمپیلوباکترها بخصوص *کمپیلوباکتر ژژونی* و مشکلات و محدودیت های متعدد موجود در زمینه تشخیص آزمایشگاهی این باکتری ها در کشور ما، به نظر می رسد یافتن راه های تشخیص مناسب و مفیدتر و ساخت محیط پایه مناسب رشد این باکتری ها همچنین انجام مطالعات بیشتر بر روی این

باکتری ها، زمینه براورد موقعیت اپیدمیولوژی بیماریزایی و کنترل طریق انتقال این باکتری ها را فراهم خواهد کرد.

همچنین برای اثبات نقش توکسین CDT در بیماریزایی باکتری و بررسی احتمالی توزیع CDT در بیماریزایی *کمپیلوباکتر ژژونی*، استفاده از سیستم کشت سلولی و مشاهده تغییرات شکل سلولی در کشت سلولی(۶) و روش PCR (۷) می تواند مفید واقع شود.

نتیجه گیری:

با توجه به اینکه اکثریت کمپیلوباکترها تولید کننده توکسین CDT می باشند و این توکسین از ویرولانس فاکتور های مهم این باکتری به بشمار می آید، بنابراین تلاش در جهت پاکسازی و سلاخی صحیح لاشه های طیور در کشتارگاه های مرغ و پخت کامل گوشت و اندام طیور در رستوران ها ضروری بوده و می تواند آلودگی ناشی از کمپیلوباکترها بخصوص گونه ژژونی و در نتیجه اسهال ناشی از این باکتری را کاهش دهد.

فهرست مراجع:

1. Whitehousen C A, Balbo B, Pickett C L. *Campylobcter jejuni* CDT causes a G2-phase cell cycle block. *Infect & Immu* 1998; **66** (5): 1934-40.
2. Pickett C L, Pesci E C, Cottle D L. Prevalence of CDT in *Campylobacter jejuni* and relatedness of *Campylobacter spp*. Cdt B-genes. *Infect & Immun* 1996; **64** (6): 2070-8.
3. Skirrow MB. Infection with *Campylobacter and Arcobacter*. In Collier L , Balows A , Sussman M, eds. Topely and Wilson's microbiology and microbial infections, 9th ed. Vol. 3. London: Arnold, 1998; 567-80.
4. Cecil RL, Goldman L. *Textbook of Medicine*, Philadelphia:W. B. Saunders, 2000. Vol. 3, pp: 1687-90.
5. Moore J E, Murphy P G. Hippurate hydrolysis and speciation of *thermophilic Campylobacter spp*. *British Journal of Biomedical Science*. 2000; **57** (2) : 180-2.
6. Purdy D, Buswel C M., Hodgson AE, McApine K, Henderson Iavd Leach S A. Charactrization of cytolethal distending toxin (CDT) mutants of *Campylobacter jejuni*. *J Med* Microbiol 2000; **49**: 437-79.
7. Havaei S A, Salehi R, Bokaeian M, Fazeli S A. Comparison of PCR and Culture methods for Diagnosis of Enteropathogenic *Campylobacter* in Fowl Feces. *Iranian Biochemical Journal* 2006; **10** (1): 47-50
8. Freshney R L. *Animal cell culture*: A practical Approach. 2nd ed., Oxford University Press, 1992: 263-300.
9. Magistrado P A, Garcia MM, Raymundo AK. Isolation and polymerase chain reaction-based detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from poultry in the Philippines. Int J Food Microbiol 2001; **70** (1-2):197-206.
10. حق شناس، فریبرز تعیین فراوانی *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکترکلی* در طیور گوشتی و بررسی تولید توکسین CDT در کمپیلوباکترهای جدا شده توسط روشهای کشت سلول. پایان نامه کارشناس ارشد میکربشناسی.اصفهان : دانشکده پزشکی – دانشگاه علوم پزشکی اصفهان .۱۳۸۲.
11. Grados O. Paediatric *Campylobacter* Diarrhoea from Household Exposure to Live Chickens Lima, Peru. *Bulletin of the world Health Organization* 1988 ; **66**(3) : 369-74.
12. Merino FJ , Agulla A, Villasante PA, Diaz A, Saz JV Velasco AC. Comparison Efficacy of Seven Selective Media for Isolating *Campylobacter jejuni*. *J Clin Microbiol* 1986 ; **24** (3) : 451-2.
13. Karmali M A, Penner G I, Fleming P C, William A. And Hennessy J N. The serotype and biotype distribution of clinical isolates of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* over a three-year period. *J Infect Dis* 1983; **147** (2):243-6.
14. Ng K, Kingombe CI and Yan W. Specific detection and confirmation of *Campylobacter jejuni* by DNA hybridization and PCR. Appl Environ Microbiol 1997; **63** (11):4558-63.
15. Van Looveren M, Daube G and De Zutter L. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* strains isolated from food

spp. isolated from Danish broilers. *J Med Microbiol* 2001; **50**:1087-94.

20. Johnson WM, and Lior H. A new heat-labile cytolethal distending toxin (CDT) produced by *Campylobacter spp*. *Microb Pathog* 1988; **4**: 115-26.

۲۱. فاضلی ع ، حاذقی ک، پورسینا، ف . جداسازی و تشخیص *کمپیلوباکتر ژژونی* از مدفوع بیماران مبتلا به اسهال. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۷۴ چاپ سیزدهم ، شماره ۴۱، ص ۳۱-۲۴.

۲۲. هوائی س، بکائیان م، فاضلی.س، صالحی ر. بررسی مقایسه ای کارآئی روش مولکولی PCR و کشت در تشخیص و تعیین گونه های کامپیلوباکتر انترو پاتوژن در مبتلایان به اسهال مراجعه کننده به بیمارستان الزهرا سال ۷۹-۸۰. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۸۰ .سال نوزدهم . شماره ۶۳ و ۶۴ ص. ۶۶

animals in Belgium. *J Antimicrob Chemother* 2001; **48** (2): 235-40.

16. Ejigor A, Dawson K A, Langlois B E, and Pickett C L. Detection of cytolethal distending toxin activity and cdt gene in Campylobacter spp. isolated from chicken carcasses. *Appl Environ Microbiol* 1999; **65** (4): 1501-5.

17. Ejigor A, Dawson K A, Langlois B E. and Pickett C L. Cytolethal Distending Toxin Gene in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Isolates: Detection and Analysis by PCR. *J Clin Microbiol* 1999; **37**(5) :1646-50.

18. Wassenaar T M, Fry BN, Lastorica AJ. Genetic characterisation of *Campylobacter jejuni* O: 41 isolates in relation with Guillain – Barre syndrome. *J Clin Microbiol* 2000; **38**(2): 874-6.

19. Bang DD, Schut ZP, Ahrens P. Prevalence cd genes and CDT production in *Campylobacter*