

پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال شانزدهم، شماره ۵، پی در پی ۸۳، صفحات ۲۵۲ تا ۲۵۵
آذر و دی ۱۳۹۰

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱/۲۲
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۹/۲۷

شیوع آلودگی پرندگان زینتی به اشرشیاکلی O157:H7 در یزد در سال ۱۳۸۹

حسین طهماسبی^{۱*}، دکتر حسن ممتاز^۲، ناصر صالحی^۱، محمد رفیعی دولت آبادی^۱، فاطمه یکتنه^۴

۱. دانشجوی دکترای عمومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد
۲. عضو پژوهشکده بیماریهای مشترک انسان و دام، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد
۳. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد
۴. کارشناس، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد

چکیده

سابقه و هدف: پرندگان زینتی می‌توانند بعضی از بیماریها را در خود جای دهند و به صاحبان خود منتقل گردانند. اگرچه مالکیت پرندگان زینتی بدون خطر نیست، اما بسیاری از خانواده‌های ایرانی در منزل خود از پرندگان زینتی مراقبت می‌کنند و به این ترتیب در معرض بسیاری از بیماریهای مشترک باکتریایی، پروتوزوایی، قارچی، ویروسی یا انگلی قرار می‌گیرند. اشرشیاکلی O157:H7 عامل شیوع بیماریهای رودهای انسانی و سندرم بالقوه مرگبار اورمی همولیتیک می‌باشد. با توجه به علاقه بسیاری از مردم به نگهداری پرندگان زینتی و توانایی بالقوه این پرندگان در انتقال اشرشیاکلی O157:H7 به انسان، در این مطالعه به ارزیابی آلودگی پرندگان زینتی یزد به اشرشیاکلی O157:H7 پرداخته شد.

مواد و روشها: تحقیق به روش توصیفی مقطعی انجام گرفت. تعداد ۱۸۰ نمونه مدفوعی از پرندگان زینتی (تعداد ۱۵۰ نمونه مدفوعی از قناری (Serinus canari) و ۳۰ نمونه مدفوعی از مرغ عشق (Agapornis personata)) از نقاط مختلف یزد جمع‌آوری گردید و با استفاده از روشهای باکتری‌شناسی و PCR به جست و جوی اشرشیاکلی O157:H7 پرداخته شد.

یافته‌ها: میزان آلودگی به اشرشیاکلی در نمونه‌های مدفوعی قناری ۷/۷۲٪ (۱۰۹ عدد از ۱۵۰ نمونه) بود، اما در مرغ عشق اشرشیاکلی یافت نشد. در هیچ کدام از نمونه‌ها اشرشیاکلی O157:H7 یافت نگردید.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که مدفوع پرندگان زینتی یزد، منبع اشرشیاکلی O157:H7 نمی‌باشد.

واژگان کلیدی: اشرشیاکلی O157:H7، پرندگان زینتی، PCR

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Tahmasby H, Momtaz H, Salehi N, Rafiee Dolatabadi M, Yektaneh F. Prevalence of Escherichia Coli O157:H7 in pet birds in Yazd, Iran. *Pejouhandeh* 2011;16(5):252-5.

مقدمه

عمدتاً در نشخوارکنندگان می‌توانند حضور یابند (۲). اشرشیاکلی O157 وروتوکسین‌زا در جوجه‌های گوشتی (۳)، بوقلمون (۴)، کبوتر (۵) و پرندگان وحشی از قبیل مرغ نروزی دریایی (۶) و غاز (۷) گزارش شده است.

اشرشیاکلی، شایعترین میکروارگانسیم فلور لوله گوارش انسان و سایر حیوانات است، ولی چندین نوع پاتوژنیک آن بیماریهای مختلفی را در انسان ایجاد می‌نماید. در دهه گذشته عفونت ناشی از اشرشیاکلی O157 به عنوان یک بیماری نوپدید مشترک بین انسان و حیوان در آمریکای شمالی، اروپا و سایر نقاط دنیا معضلات بهداشتی زیادی به بار آورده است و هرچند تعداد مبتلایان نسبت به پاتوژن‌های روده‌ای دیگر نظیر

پرندگان زینتی می‌توانند بعضی از بیماریها را در خود جای دهند و به صاحبان خود منتقل گردانند. اگرچه مالکیت این پرندگان بدون خطر نیست، اما بسیاری از مردم در منزل خود از پرندگان زینتی مراقبت کرده و به این ترتیب خود را در معرض بسیاری از بیماریهای مشترک باکتریایی، پروتوزوایی، قارچی، ویروسی یا انگلی قرار می‌دهند (۱).

سویه‌هایی از اشرشیاکلی O157:H7 که شیگاتوکسین تولید می‌کنند به عنوان فلور مدفوعی در حیوانات اهلی سالم و

*نویسنده مسؤول مکاتبات: حسین طهماسبی؛ شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده دامپزشکی؛ تلفن: ۰۷۱-۲۳۲۵-۹۱۳-۹۸+؛ پست الکترونیکی: H.Tahmasby@yahoo.com

شد (۱۱ و ۱۲). PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر (۲/۵ میکرولیتر بافر 10X PCR، ۰/۷۵ میلی مول $MgCl_2$ ، ۰/۰۲ میلی مول dNTP، ۱/۵ واحد آنزیم Taq پلی‌مراز، یک میکرولیتر با غلظت ۱۰ میکرومولار از هر پرایمر، ۱ میکروگرم DNA الگو) انجام شد. دماهای مورد استفاده از این قرار بودند: واسرشت ابتدایی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه و ۳۵ سیکل از قرار ۹۴ درجه به مدت ۶۰ ثانیه، ۵۵ درجه به مدت ۶۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه. در پایان محصولات PCR روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردید.

جدول ۱- مشخصات پرایمرها

پرایمرها	توالی	اندازه محصول
O 157	F: 5' CGGACATCCATGTGATATGG 3' R: 5' TTGCCATGTACAGCTAATCC 3'	۲۵۹ bp
flic H7	F: 5' GCGCTGTCGAGTTCTATCGAGC 3' R: 5' CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC 3'	۶۲۵ bp

یافته‌ها

در این مطالعه مجموعاً ۱۸۰ نمونه مدفوعی از پرندگان زینتی (تعداد ۱۵۰ نمونه مدفوعی از قناری (*Serinus canari*) و ۳۰ نمونه مدفوعی از مرغ عشق (*Agapornis personata*)) از نقاط مختلف یزد جمع آوری گردید و با استفاده از روشهای باکتری شناسی و PCR به جست و جوی این باکتری پرداخته شد. آلودگی به اشرشیاکلی در نمونه‌های مدفوعی مرغ عشق یافت نشد، اما میزان شیوع آن در قناری ۷۲/۶۶٪ (۱۰۹ تا از ۱۵۰ نمونه) بود. در هیچ کدام از نمونه‌ها اشرشیاکلی O157:H7 یافت نشد.

بحث

شش سوش بزرگ اشرشیاکلی اسهال‌زا می‌باشند:

(۱ Enterohemorrhagic، ۲ Enterotoxigenic، ۳ Enteroinvasive، ۴ Diffuse-adherent، ۵ Enteroaggregative و ۶ Diffuse-adherent) قدرت بیماری‌زایی سوش‌های این گروهها متفاوت است و هر کدام دارای حدت بیماری‌زایی و ترکیب خاص پادگن‌های محیطی و سلولی هستند. در این مطالعه به ارزیابی آلودگی به مهمترین سروتیپ Enterohemorrhagic، اشرشیاکلی O157:H7 پرداخته شد.

باکتری اشرشیاکلی O157:H7 از جمله باکتری‌هایی است که توجه محققان و دست‌اندرکاران بهداشتی را به خود معطوف کرده است. با توجه به اینکه عامل اصلی انتشار، مخزن اصلی

سالمونلا یا کمپیلوباکتر خیلی کمتر است ولی مشخص گردیده که E. Coli می‌تواند بیماری شدید و مرگ آور ایجاد نماید. این ارگانیزم برای اولین بار در سال ۱۹۸۲ یعنی زمانی که باعث بروز دو اپیدمی کولیت هموراژیک با علائم کرامپ‌های شکمی، اسهال آبکی بدون تب یا با تب خفیف گردید، به عنوان پاتوژن انسانی شناخته شد. در سال ۱۹۸۳، Karmali و همکاران (۸) ارتباط بین عفونت با نوعی E. Coli که توکسین شیکاگو تولید می‌کند (از جمله اشرشیاکلی O157:H7) و سندرم اورمی همولیتیک بعد از اسهال را که با آسیب حاد کلیوی، ترومبوسیتوپنی و آنمی همولیتیک میکروآنژیوپاتیک همراه است نشان دادند (۹).

به علت داشتن خصوصیات آنتی‌ژن سوماتیک O شماره ۱۵۷ و آنتی‌ژن فلاژلر H شماره هفت به نام اشرشیاکلی O157:H7 نامیده شده است. اشرشیاکلی O157 از نظر ژنتیکی شبیه به اشرشیاکلی O157:H7 انتروپاتوژن عامل بروز اسهال در شیرخواران سرتاسر دنیا می‌باشد (۱۰).

با توجه به علاقه بسیاری از مردم در نگهداری از پرندگان زینتی و همچنین اهمیت بالای باکتری اشرشیاکلی O157:H7، در این مطالعه به ارزیابی نقش پرندگان زینتی در آلودگی به این باکتری در منطقه یزد و در محدوده زمانی مربوط به سال ۱۳۸۹ پرداخته شد.

مواد و روشها

تحقیق به روش cross sectional انجام گرفت. تعداد ۱۸۰ نمونه مدفوعی از پرندگان زینتی (تعداد ۱۵۰ نمونه مدفوعی از قناری (*Serinus canari*) و ۳۰ نمونه مدفوعی از مرغ عشق (*Agapornis personata*)) از نقاط مختلف یزد به وسیله سواب استریل جمع‌آوری گردید.

جداسازی اشرشیاکلی

سواب‌ها مستقیماً در محیط (TSB) Trypton Soy Broth (Merck, Germany) قرار داده شدند و در آزمایشگاه بر روی محیط (Merck, Germany) MacConkey کشت داده شده و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. پرگنه‌های صورتی رنگ جدا شده روی محیط TSB کشت داده شدند و برای تشخیص E. Coli محیط‌های IMVIC تست گردیدند.

جست و جوی اشرشیاکلی O157:H7

جهت جست و جوی اشرشیاکلی O157:H7 به وسیله PCR از پرایمرهای درج شده در جدول ۱ که قبلاً توسط Ganon و همکاران (۱۹۹۷) و Paton (۱۹۹۸) به ثبت رسیده‌اند استفاده

O157 منفی بودند (۲۱). طی تحقیقی که در سال ۲۰۰۹ روی پرستوهای وحشی اروپایی صورت گرفت نیز سروتیپ اشرشیاکلی O157 در هیچ کدام یک از نمونه‌های مورد بررسی یافت نگردید (۲۲).

از آنجایی که در نمونه‌های مدفوعی مرغ عشق، آلودگی به اشرشیاکلی یافت نشد، می‌توان چنین برداشت کرد که مرغ عشق‌های این منطقه منبع یا ناقل سایر سوشهای بیماریزای اشرشیاکلی نیز نیستند. اگرچه در نمونه‌های اخذ شده از قناری، اشرشیاکلی O157:H7 یافت نشد، اما به دلیل این که شیوع اشرشیاکلی بالا بود، احتمال حضور سایر سوشهای بیماریزای اشرشیاکلی در نمونه‌های مدفوعی قناری وجود دارد که در این زمینه انجام تحقیقات بیشتر توصیه می‌گردد.

نتیجه‌گیری

مشابه با بعضی از مطالعات صورت گرفته در کشورهای دیگر (۲۰ و ۲۱)، این مطالعه نیز عدم وجود اشرشیاکلی O157:H7 را در مدفوع پرندگان زینتی منطقه یزد نشان می‌دهد. اگرچه نمی‌توان پرندگان زینتی این منطقه را به عنوان منبع یا ناقل اشرشیاکلی O157:H7 تلقی نمود، اما ممکن است که پرندگان زینتی خصوصاً قناری ناقل سایر سوشهای بیماریزای اشرشیاکلی باشند که با توجه به این مسأله تحقیقات بیشتر در این زمینه توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر خود را از کلیه عزیزانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند اعلام می‌دارند.

اشرشیاکلی O157:H7 (گاو و محصولات غذایی با این منشأ) است بیشتر مطالعات و گزارشهای موجود مربوط به آلودگی این محصولات بوده است (۱۶-۱۳)، به طوری که شیوع این پاتوژن در گوشت و محصولات حاصل از گوشت گاو بین ۱ تا ۲۷/۸ درصد گزارش شده است (۱۵).

مطالعات مختلف، نتایج متفاوتی را از میزان شیوع سروتیپ اشرشیاکلی O157:H7 در پرندگان زینتی نشان می‌دهند. چنانچه در مطالعه Santaniello و همکاران ۵۰۴ نمونه سواب کلوک کبوتر از شهر Napoli واقع در ایتالیا جمع‌آوری گردید که در این بین ۴ نمونه آلوده به O157:H7 یافت شد (۵). همچنین Shere و همکاران از ۹۹ پرندۀ مورد بررسی در حوالی کارخانه‌های تولید کننده مواد لبنی در ایالت Wisconsin آمریکا در یک کبوتر آلودگی به O157:H7 یافتند (۱۷). در مطالعه دیگر در استان Fujian چین شیوع O157 در حیوانات مختلف مورد بررسی قرار گرفت، طی این تحقیق این پاتوژن از کبوتر نیز جداسازی گردید (۱۸). در مطالعه LeJeune و همکاران بر روی پرستوهای اروپایی، ۳٪ از نمونه‌ها به O157:H7 آلوده بودند (۱۹).

اما مشابه با بعضی از مطالعات پیشین در سایر کشورها، نتایج این مطالعه نیز عدم وجود اشرشیاکلی O157:H7 را در پرندگان زینتی منطقه مورد بررسی نشان می‌دهد. به عنوان مثال طی مطالعه‌ای که توسط Morabito و همکاران در ایتالیا بر روی نمونه‌های مدفوعی کبوتر صورت گرفت اشرشیاکلی شیگاتوکسین‌زا در ۷۰ نمونه از ۶۴۹ نمونه‌ای که مورد بررسی قرار گرفته شده بود یافت شد، اما سروتیپ اشرشیاکلی O157 در هیچ کدام یک از نمونه‌های مورد بررسی یافت نگردید (۲۰). در مطالعه‌ای نیز که در ژاپن صورت گرفت، ۱۰۸ نمونه مورد بررسی قرار گرفت، اما همه نمونه‌ها از نظر اشرشیاکلی

REFERENCES

1. Krauss H. Zoonoses: Infectious Diseases Transmissible From Animals to Humans. 3rd ed. Washington DC: American Society for Microbiology Press; 2003.
2. Cízek A, Alexa P, Literák I, Hamřík J, Novák P, Smola J. Shiga toxin-producing Escherichia Coli O157 in feedlot cattle and Norwegian rats from a large-scale farm. Lett Appl Microbiol 1999;28(6):435-9.
3. Hafez HM, Schulze D, Kosters J. Surveillance on verotoxin producing E. Coli in broiler flocks and processing plants, p. 101. Proceedings of Xth International Congress of the World Veterinary Poultry Association; 1997; Budapest, Hungary.
4. Heuvelink AE, Zwartkruis-Nahuis JT, van den Biggelaar FL, van Leeuwen WJ, de Boer E. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing Escherichia Coli O157 from slaughter pigs and poultry. Int J Food Microbiol 1999; 52(1-2): 67-75.
5. Santaniello A, Gargiulo A, Borrelli L, Dipineto L, Cuomo A, Sensale M, et al. Survey of Shiga toxin-producing Escherichia Coli O157:H7 in urban pigeons (Columba livia) in the city of Napoli, Italy. Italian Journal of Animal Science 2007;6(3):313-6.
6. Wallace JS, Cheasty T, Jones K. Isolation of verocytotoxin-producing Escherichia Coli O157 from wild birds. J Appl Microbiol 1997;82(3):399-404.
7. Smith HR, Rowe B, Adak GK, Reilly WJ. Shiga toxin (verocytotoxin)-producing Escherichia Coli in the United Kingdom. Washington DC: ASM Press; 1998. p.49-58.

8. Karmali MA, Steele BT, Petric M, Lim C. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia Coli* in stools. *Lancet* 1983;1(8325):619-20.
9. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, et al. Hemorrhagic Colitis associated with a rare *Escherichia Coli* serotype. *N Engl J Med* 1983;308(12):681-5.
10. Whittam TS, Wolfe ML, Wachsmuth IK, Orskov F, Orskov I, Wilson RA. Clonal relationships among *Escherichia Coli* strains that cause hemorrhagic Colitis and infantile diarrhea. *Infect Immun* 1993;61(5):1619-29.
11. Gannon VP, D'Souza S, Graham T, King RK, Rahn K, Read S. Use of the flagellar H7 gene as a target in multiplex PCR assays and improved specificity in identification of enterohemorrhagic *Escherichia Coli* strains. *J Clin Microbiol* 1997;35(3):656-62.
12. Paton AW, Paton JC. Detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia Coli* by using multiplex PCR assays for stx1, stx2, eaeA, enterohemorrhagic *E. Coli* hlyA, rfbO111, and rfbO157. *J Clin Microbiol* 1998;36(2):598-602.
13. Baek SY, Lim SY, Lee DH, Min KH, Kim CM. Incidence and characterization of *Listeria monocytogenes* from domestic and imported foods in Korea. *J Food Prot* 2000;63(2):186-9.
14. Elder RO, Keen JE, Siragusa GR, Barkocy-Gallagher GA, Koohmaraie M, Laegreid WW. Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia Coli* O157 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(7):2999-3003.
15. Reid CA, Small A, Avery SM, Buncic S. Presence of food-borne pathogens on cattle hides. *Food Control* 2002;13(6-7):411-5.
16. Stampi S, Caprioli A, De Luca G, Quaglio P, Sacchetti R, Zanetti F. Detection of *Escherichia Coli* O157 in bovine meat products in northern Italy. *Int J Food Microbiol* 2004;90(3):241-5.
17. Shere JA, Bartlett KJ, Kaspar CW. Longitudinal study of *Escherichia Coli* O157:H7 dissemination on four dairy farms in Wisconsin. *Appl Environ Microbiol* 1998;64(4):1390-9.
18. Chen K, Guo W, Cheng F, Lin C, Lin J, Dong X. Investigation on *E. Coli* O157 in Fujian, China. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2000;34(3):156-8. (Full text in Chinese)
19. LeJeune J, Homan J, Linz G, L. Pearl DL. Role of the European Starling in the Transmission of *E. Coli* O157 on Dairy Farms. *Proceedings of the 23th Vertebrate Pest Conference*; 2008; Davis, USA.
20. Morabito S, Dell'Omo G, Agrimi U, Schmidt H, Karch H, Cheasty T, et al. Detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia Coli* in feral pigeons. *Vet Microbiol* 2001;82(3):275-83.
21. Tanaka C, Miyazawa T, Watarai M, Ishiguro N. Bacteriological survey of feces from feral pigeons in Japan. *J Vet Med Sci* 2005;67(9):951-3.
22. Gaukler SM, Linz GM, Sherwood JS, Dyer NW, Bleier WJ, Wannemuehler YM, et al. *Escherichia Coli*, *Salmonella*, and *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in wild European starlings at a Kansas cattle. *Avian Dis* 2009;53(4):544-51.