جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی فراوانی سقط جنین‌های لپتوسپیرایی، کمپیلوباکتریایی و بروسلایی در گاوداری‌های شیری اطراف تبریز به روش مولکولی

حسین حملی[۱]، رضی‌الله جعفری‌جوزانی[۲]، کتایون نفوذی[۳]، جواد اشرفی‌هلان[۴] و هادی جباری[۵]

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۸/۲۱

خلاصه

سقط جنین‌های بروسلایی، لپتوسپیرایی و کمپیلوباکتریایی در راس عوامل باکتریایی ایجاد سقط جنین در گاو قرار دارند. به منظور بررسی فراوانی سقط جنین‌های ناشی از این عوامل در گاوداری‌های اطراف تبریز تعداد ۷۶ جنین سقط شده در طول سال‌های ۱۳۸۹-۱۳۸۷ جمع‌آوری و مورد بررسی قرار گرفت. بعد از کالبدگشایی جنین‌ها، از محتویات شیردان، کبد، کلیه، ریه، مغز، قلب، طحال و جفت مادران نمونه‌برداری و نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایشات در فریزر ۲۰°C- نگهداری شدند. بعد از انجام آزمایشات PCR، تعداد سقط جنین‌های بروسلایی ۶ مورد (۷/۸٪)، لپتوسپیرایی ۱۶ مورد (۲۱٪) و کمپیلوباکتریایی ۳ مورد (۳/۹٪) تشخیص داده شد. نتایج حاصل از آزمایشات انجام یافته نشان داد که هر سه بیماری بروسلوز، لپتوسپیروز و کمپیلوباکتریوز در گاوداری‌های اطراف تبریز وجود دارند و فراوانی سقط‌های ناشی از بیماری لپتوسپیروز بیشتر از بقیه موارد است. همچنین مشخص گردید که واکسن RB51 می‌تواند در برخی از گاوهای آبستن موجب سقط جنین گردد.

کلمات کلیدی: سقط جنین، بروسلوز، لپتوسپیروز، کمپیلوباکتریوز، گاو، تبریز، PCR

مقدمه

مسئله سقط جنین یکی از مشکلات بزرگ گاوداری‌های کشور ایران و بسیاری از کشورهای دیگر جهان می‌باشد. هر ساله تعداد زیادی از گاوها به دلایل مختلف و در سنین مختلف آبستنی سقط می‌نمایند. بر اساس گزارش Kirk در سال ۱۹۹۹، سقط جنین در اوایل آبستنی منجر به وارد آمدن خسارت به میزان ۵- ۲ دلار آمریکا به ازای هر روز افزایش در روزهای باز می‌گردد. در صورتی که افزایش روزهای باز حداقل ۴۵ روز باشد، میزان خسارت در حدود ۲۲۵-۹۰ دلار به ازای یک گاو خواهد بود و در صورتی که ۲۰٪ از یک گله ۲۰۰ راسی سقط نمایند، میزان خسارت به ۴۵۰۰ دلار خواهد رسید.

در صورتی که این سقط‌ها در ثلث آخر آبستنی اتفاق بیفتند، دامنه ضرر اقتصادی بسیار بیشتر بوده و علاوه بر افزایش روزهای باز، احتمال حذف خود حیوان هم وجود دارد که در این صورت خسارات وارده به چندین برابر افزایش خواهد یافت. به نظر می‌رسد که تشخیص سریع و به موقع علت (علل) سقط جنین در گله بسیار مهم بوده و با اتخاذ تدابیر مناسب می‌توان از گسترش دامنه سقط‌ها از یک طرف و از طرف دیگر از تحمیل خسارت‌های اقتصادی بیشتر جلوگیری نمود.

با توجه به گسترده بودن عوامل سقط جنین گاوها، در بهترین شرایط و دارا بودن امکانات آزمایشگاهی مناسب

[۱] دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز (نویسنده مسئول) E-mail: hamali@tabrizu.ac.ir
[۲] استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز
[۳] استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز
[۴] دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز
[۵] استادیار گروه آمار، دانشکده ریاضی، دانشگاه فردوسی مشهد

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

تنها ۴۵/۵-۲۳/۳٪ از نمونه‌های ارجاع داده شده به آزمایشگاه‌های دامپزشکی به تشخیص قطعی می‌رسند (Anderson, 2007).

از بین عوامل متعدد ایجاد سقط جنین در گاوها، عوامل عفونی سهم قابل توجهی را به خود اختصاص داده‌اند، به طوری که بر اساس مطالعات Nascimento و Santos در سال ۲۰۰۳، از هر ۱۰۰ نمونه سقط تشخیص داده شده، ۹۰ مورد مربوط به عوامل عفونی بوده است که در راس آنها عواملی نظیر بروسلاها، لپتوسپیراها و کمپیلوباکترها قرار داشته‌اند.

جهت تشخیص عوامل ایجاد سقط جنین، از یک طرف نیاز به پروتکل‌های دقیق تشخیص دهنده و از طرف دیگر نیاز به نمونه‌برداری صحیح و کسب اطلاعات دقیق از روند بالینی سقط‌ها، از قبیل میزان و زمان سقط جنین‌ها وجود دارد.

چندین پروتکل PCR و RT-PCR برای تشخیص عوامل عفونی نظیر *Chlamydophila- abortus*، *Leptospira spp.*، *Campylobacter fetus subsp. veneralis*، *Tritrichomonas foetus* و *Brucella abortus* درجنین‌های سقط شده ابداع شده است. این میکروارگانیسم‌ها غالباً دستگاه تناسلی گاوها را مورد حمله قرار می‌دهند (Bricker et al., 2003، Cortez et al., 2006، Hum et al., 1997، Heinemann et al., 1999، Leal-Klevezas et al., 2000، Richtzenhain et al., 2002، Vargas et al., 2003).

PCR از اوایل سال ۱۹۹۰ میلادی به بعد، به طور فزاینده به عنوان یک ابزار کامل تشخیص دهنده عوامل اتیولوژیک ایجاد سقط جنین در گاوها و یا به عنوان جایگزین برای روش‌های سنتی تشخیص دهنده عوامل پاتوژن، از قبیل جداسازی باکتری‌ها و ویروس‌ها مورد استفاده قرارگرفته است (Da Silva et al., 2009).

با توجه به توانایی بالقوه PCR در تشخیص عوامل عفونی و اتیولوژیک ایجاد سقط جنین در گاوها، هدف از این تحقیق، تعیین فراوانی سقط جنین‌های کمپیلوباکتریایی، لپتوسپیرایی و بروسلایی در گاوداری‌های شیری اطراف تبریز به روش PCR بوده است.

مواد و روش کار

نمونه‌ها

از تاریخ اول دی ماه ۱۳۸۷ تا اول دی ماه ۱۳۸۹ تعداد ۷۶ نمونه جنین سقط شده به طور تصادفی و بر اساس گزارش دامداران از گاوداری‌های اطراف تبریز جمع‌آوری گردید. همزمان با انجام توش واژینال از یکی از کارانکول‌های جفت گاوان سقط کرده نیز نمونه بافتی اخذ گردید. اطلاعات لازم از قبیل تعداد زایمان گاو، سن جنین‌های سقط شده، نحوه آبستن شدن گاو (تلقیح یا جفت‌گیری طبیعی)، سابقه واکسیناسیون، جیره غذایی و تعداد سقط اتفاق افتاده در گله، به دقت در فرم‌های مربوطه ثبت گردید. جنین‌ها با رعایت کامل موازین بهداشتی به سالن کالبدگشایی منتقل و بعد از باز کردن لاشه از محتویات معده، ریه، کبد، طحال، مغز، کلیه و قلب نمونه‌برداری انجام گرفت. این نمونه‌ها به همراه نمونه اخذ شده از جفت گاوها تا زمان انجام آزمایشات در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

PCR و انجام آزمایش DNA استخراج

استخراج DNA از بافت‌های منجمد جنینی با استفاده از کیت تجاری ویژه استخراج DNA، (Accuprep Genomic DNA Extraction Kit, Bioneer, S. Korea) صورت گرفت. بدین ترتیب که در ابتدا تمام نمونه‌های گرفته شده از بافت‌های مختلف یک جنین و جفت آن با یکدیگر مخلوط شد و پس از انجماد در ازت مایع توسط هاون فلزی به پودر تبدیل شدند و پودر حاصله تا زمان استخراج توسط کیت، در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به منظور بررسی حضور DNAهای مرتبط با میکروارگانیسم‌های *Campylobacter fetus subsp. venerealis*، *Leptospira interrogans* و *Brucella spp.*

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

در نمونه‌ها، از مستر میکس تجاری (Accupower PCR preMix, Bioneer, S. Korea) استفاده گردید.

بدین منظور ۱۳ تا ۱۵ میکرولیتر آب دو بار تقطیر و ۰/۷۵µl از محلول ۲۵µM هر یک از پرایمرها (جداول ۱، ۲ و ۳) و ۱µl از DNA به میکروتیوب‌ها اضافه شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای لپتوسپیرا، به شکل (Nested PCR)، و برای بروسلا و کمپیلوباکتر به صورت (Multiplex PCR) انجام گردید. چرخه‌های دمایی مورد استفاده برای لپتوسپیرا، بروسلا و کمپیلوباکتر به ترتیب شامل واسرشت[1] ابتدایی در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن واسرشت در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، آنیلینگ[2] به ترتیب برای لپتوسپیرا، بروسلا و کمپیلوباکتر در دماهای ۵۶، ۵۵، ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، امتداد[3] در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و امتداد نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه بودند.

محصولات PCR در ژل آگاروز ۱٪ الکتروفورز و توسط اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند. کنترل‌های مثبت از میکرو ارگانیسم‌های کشت داده شده تهیه گردیده بودند. در تمام واکنش‌ها از کنترل مثبت و همین طور کنترل منفی (آب PCR-grade به جای الگوی DNA) استفاده گردید. از سوش‌های استاندارد ATCC 23450، ATCC 25840، ATCC 23457 و به ترتیب برای گونه‌های آبورتوس، اویس و ملیتنسیس به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. از واکسن‌های RB51 و S19 و Rev-1 ساخته شده توسط موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی نیز به عنوان کنترل مثبت جهت شناسایی سوش‌های واکسن استفاده شد.

علاوه بر اینها، از دو پرایمر PRL033 و PRL035 که قسمت هدف ژن پرولاکتین گاوی را تشکیل می‌دهند، به عنوان کنترل داخلی استفاده شد (Nishikawa et al., 1994).

جدول ۱: توالی پرایمرها برای واریته‌های سرمی *Leptospira interrogans*

(Nishikawa et al., 1994 ، Faber et al., 2000)

نام	توالی پرایمر	اندازه محصول	هدف
پرایمرهای خارجی	5'- AGGGAAAAATAAGCAGCG ATG TG-3'	bp571	S rRNA16
	5'-ATTCCACTCCATGTCAAGCC-3'		
پرایمرهای داخلی	5'-GAAAACTGCGGGCTCAAAC-3'	bp370	S rRNA16
	5'-GCTCCACCGCTTGTGC-3'		
35 & 33PRL	5'- CGAGTCCTTATGAGCTTGAT TCTT-3'	bp156	3Exone
	5'- GCCTTCCAGAAGTCGTTTG TTTTC-3'		

1- Denaturation
2- Annealing
3 - Extension

جدول۲ : توالی پرایمرها برای گونه‌ها و سویه‌های مختلف بروسلا (Bricker and Halling, 1995 ، Hamali and Jafari, 2011)

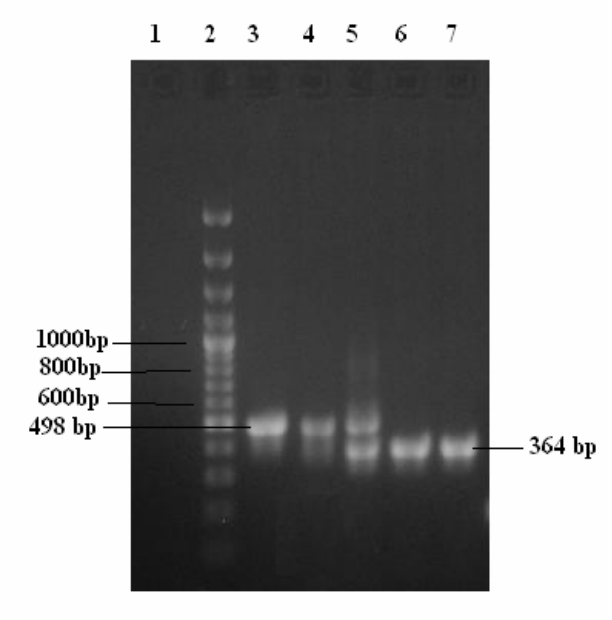
شماره	نام باکتری	توالی پرایمر	وزن مولکولی محصولPCR (bp)
۱	*Brucella abortus,*	5'-GCTGATCACATATGGGC–3'	۴۹۸
		5'–ATTACGTATCAACT–3'	
۲	*Brucella ovis,*	5'- AGCTGATCACATATGGGC–3'	۹۷۶
		5'-CGGCTTCAGCCACCAACG–3'	
۳	*Brucella melitensis*	5'-ACGCCATCAATCAAGGGC–3'	۷۳۱
		5'-AATTCCCGTCCTTGGTGG–3'	
۴	*S19* strain	5'-CTCCCGCTAAGAATT–3'	۱۷۸
		5'–CTCCATGTTAGCGGCGGT–3'	
۵	*RB51* Strain	5'–AGCCGATCACTTAAG–3'	۳۶۴
		5'–GCCCGAAAGATATGCTTC–3'	
۶	Rev1 Strain	5'–TGGACCCTTAGCCGTTGGACT–3'	۲۱۱
		5'–TCCACGGCAAGTCACGTTAACC–3'	

جدول ۳ : توالی پرایمرها برای *Campylobacter fetus subs. veneralis* ***جفت پرایمربالایی (۹۶۰ bp) مشترک بین*** *کمپیلوباکترفتوس فتوس* ***و*** *کمپیلوباکترفتوس ونرالیس* ***می‌باشد، ولی جفت پرایمرپایینی (۱۴۲ bp) اختصاصی برای*** *کمپیلوباکترفتوس ونرالیس* ***طراحی شده است (Hum et al., 1997 ، Nishikawa et al., 1994)***

اندازه محصول	توالی پرایمر	نام
bp960	5'GGTAGCCGCAGCTGCTAAGAT3'	**MG3F& *.C.fetus***
	5'TAGCTACAATAACGACAACT3'	**MG4R**
bp142	*C fetus* subsp *venerealis* VenSF (پرایمرپیشرو) 5'CTTAGCAGTTTGCGATATTGCCATT3'	**ست پرایمر داخلی**
	VenSR (پرایمر معکوس) 5'GCTTTTGAGATAACAATAAGAGCTT3'	
bp156	5'CGAGTCCTTATGAGCTTGATTCTT3'	**35 & 33PRL**
	5' GCCTTCCAGAAGTCGTTTGTTTTC 3'	

نتایج

تعداد ۶ نمونه (۷/۸٪) از ۷۶ نمونه اخذ شده از جنین‌های سقط شده، پس از انجام آزمایش PCR نسبت به گونه‌های مختلف بروسلا واکنش مثبت نشان دادند (تصویر ۱ و جدول ۶).

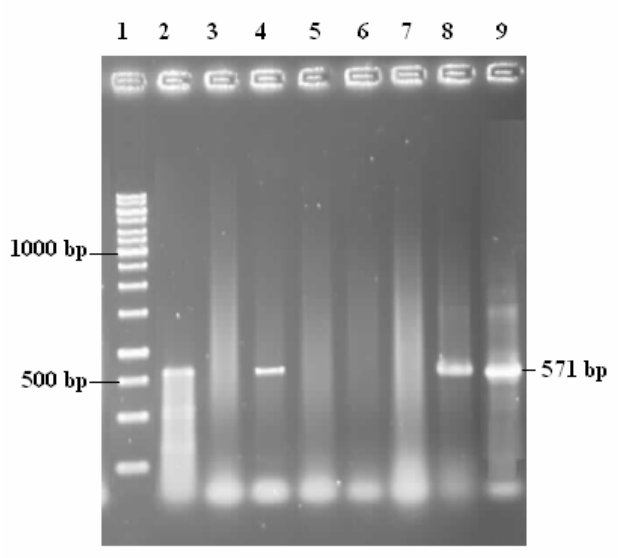


تصویر ۱: الکتروفورز محصول PCR جهت جستجوی DNA باکتری B. abortus در تعدادی از بافت‌های جنینی، ستون ۱: کنترل فاقد الگوی DNA (NTC)، ستون ۲: مارکر وزن مولکولی 100 bp (Bioneer، کره جنوبی)، ستون‌های ۳ و ۴ نمونه‌های مثبت از جنین‌های سقط شده توسط B. abortus ، ستون ۵: کنترل مثبت، ستون‌های ۶ و ۷: نمونه‌های مثبت از جنین‌های سقط شده توسط RB51. مولتی پلکس: ردیف بالایی (۴۹۸ bp) برای B. abortus و ردیف پایینی (۳۶۴ bp) برای RB51.

از تعداد ۶ نمونه جنینی مثبت در آزمایش PCR، تعداد ۴ نمونه آلوده به *بروسلا آبورتوس* و ۲ راس آلوده به سویه واکسنی *بروسلا آبورتوس* تشخیص داده شدند.

تعداد ۱۶ نمونه از ۷۶ نمونه جنینی نیز، از نظر آلودگی به میکروارگانیسم‌های گروه *لپتوسپیرا اینتروگانس* مثبت تشخیص داده شدند (تصویر ۲ ، جدول ۶).

فراوانی سقط جنین‌های لپتوسپیرایی در گروه گاوان بالغ در مقایسه با گروه تلیسه‌ها و در مراحل آخر آبستنی (۷-۹ ماهگی) نسبت به سایر مراحل آبستنی بالاتر بود (جداول ۴ و ۵). آزمون مربع کای اختلاف مشاهده شده را معنی‌دار نشان نداد (P>۰/۰۵).



تصویر ۲: الکتروفورز محصول PCR جهت جستجوی DNA باکتری Leptospira interrog- ans در تعدادی از بافت‌های جنینی: ستون۱: مارکر وزن مولکولی، ستون ۲: کنترل مثبت، ستون ۳: کنترل فاقد الگوی DNA (NTC)، ستون‌های ۴، ۸ و ۹ نمونه‌های مثبت از جنین‌های سقط شده، ستون‌های ۵، ۶ و ۷ نمونه‌های منفی جنینی.

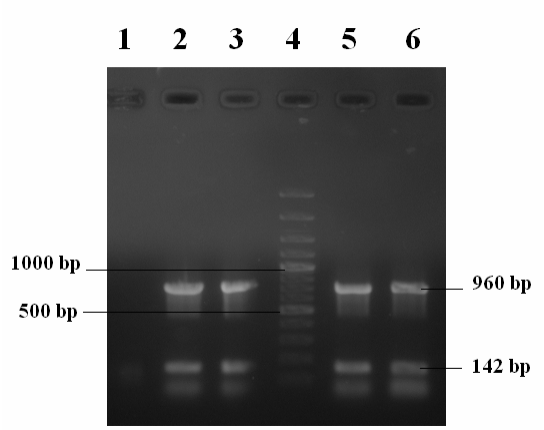
جدول ۴: پراکندگی فراوانی سقط جنین‌های لپتوسپیرایی نسبت به دفعات زایمان گاوها

دفعات زایش	شکم ۱ (تلیسه)	شکم ۲	شکم ۳	شکم ۴≤	تعداد کل
تعداد سقط	۳	۳	۴	۶	۱۶

جدول ۵: پراکندگی سنی جنین‌های سقط شده در اثر لپتوسپیرا

سن جنین (روز)	۱۷۹-۱۵۰	۲۰۹-۱۸۰	۲۳۹-۲۱۰	۲۷۰-۲۴۰	تعداد کل
تعداد سقط	۳	۲	۴	۷	۱۶

در مورد *Campylobacter fetus subsp. veneralis* از تعداد ۷۶ نمونه بافتی تهیه شده از گاوان سقط کرده تنها ۳ مورد در آزمایش PCR واکنش مثبت نشان دادند (تصویر ۳، جدول ۶).

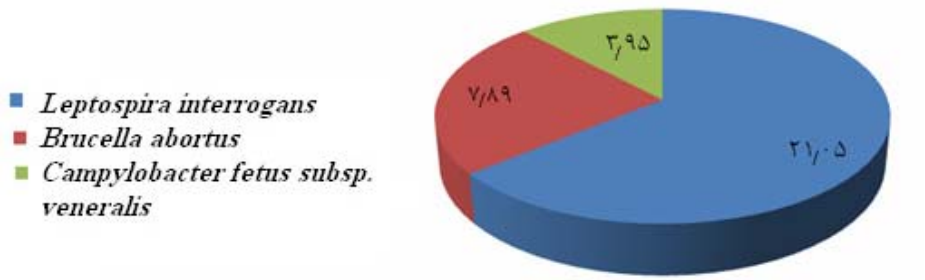


تصویر ۳: الکتروفورز محصول PCR تعدادی از بافت‌های جنینی جهت جستجوی DNA کمپیلو-باکتر فتوس زیر گونه ونرالیس. ستون ۱: کنترل فاقد الگوی DNA (NTC)، ستون ۲: کنترل مثبت، ستون‌های ۳، ۵ و ۶: نمونه‌های مثبت، ستون ۴: مارکر وزن مولکولی

جدول ۶: نتایج حاصل از انجام آزمایش PCR بر روی نمونه‌های جنینی جمع‌آوری شده از گاوداری‌های اطراف تبریز، جهت بررسی آلودگی به گونه‌های بروسلا، لپتوسپیرا و کمپیلوباکتر

میکروارگانیسم	تعداد کل	منفی	مثبت
بروسلا	۷۶(٪۱۰۰)	۷۰(٪۹۲/۲)	۶ (٪۷/۸)
لپتوسپیرا	۷۶(٪۱۰۰)	۶۰(٪۷۹)	۱۶ (٪۲۱/۰۵)
کمپیلو باکتر	۷۶(٪۱۰۰)	۷۳ (٪۹۶/۰۵)	۳ (٪۳/۹۵)

بر اساس نتایج به دست آمده، سقط جنین‌های ایجاد شده به وسیله سروارهای مختلف لپتوسپیرا بیشترین میزان سقط جنین باکتریایی را در گاوداری‌های اطراف تبریز ایجاد نموده‌اند (نمودار ۱).



نمودار ۱: درصد سقط جنین‌های بروسلایی، لپتوسپیرایی و کمپیلوباکتریایی در نمونه‌های جمع‌آوری شده از گاوداری‌های اطراف تبریز

بحث

سقط جنین گاو منجر به وارد آمدن خسارات اقتصادی فراوان شده، که این خسارت در مورد گله‌های شیری مضاعف می‌باشد زیرا علاوه بر تلفات گوساله‌ها، تولید شیر گله نیز به مخاطره می‌افتد (Da Silva et al., 2009).

در مطالعه حاضر، فراوانی سقط جنین‌های لپتوسپیرایی، بروسلایی و کمپیلوباکتریایی به ترتیب ۲۱/۰۵، ۷/۸ و ۳/۹۵ درصد برآورد گردید که به مراتب بیشتر از فراوانی سقط ناشی از این عوامل در آمریکا می‌باشد.

در آمریکا، Kirkbride در سال ۱۹۹۲، بعد از نمونه‌گیری و کشت از ۸۹۶۲ جنین سقط شده گاوی در طول ۱۰ سال (۱۹۸۹-۱۹۸۰)، میزان سقط جنین‌های لپتوسپیرایی، بروسلایی و کمپیلوباکتریایی را به ترتیب ۰/۸۸٪ ، ۰/۲۷٪ و ۰/۲۱٪ گزارش کرده است که از نظر فراوانی، بیشتر سقط‌های لپتوسپیرایی و بروسلایی نسبت به سقط‌های کمپیلوباکتریایی، با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد اما، فراوانی این نوع از سقط جنین‌های عفونی در آمریکا به مراتب کمتر از مطالعه حاضر می‌باشد که این تفاوت را می‌توان به تفاوت جغرافیایی و سطوح متفاوت بهداشت نسبت داد.

فراوانی سقط جنین‌های بروسلایی گاو در مطالعه Da Silva و همکاران (۲۰۰۹) در کشور برزیل با روش PCR، ۱۴/۲۸ درصد برآورد شده است که با این میزان در مطالعه حاضر (۷/۸ درصد) هم‌خوانی نسبی دارد.

بالا بودن فراوانی سقط جنین‌های لپتوسپیرایی در مطالعه حاضر، با مطالعات سرولوژیک صورت گرفته در تبریز تطابق دارد. حسن‌پور و همکاران (۱۳۸۶)، فراوانی شیوع سرمی لپتوسپیروز در گاوداری‌های اطراف تبریز را ۲۴ درصد گزارش نموده‌اند.

به طور کلی شیوع سرمی بالای لپتوسپیروز در گاو در مناطق مختلف ایران گزارش شده است و انتظار می‌رود به همان میزان سقط جنین‌های لپتوسپیرایی نیز در ایران بیشتر از سقط جنین‌های بروسلایی یا کمپیلوباکتریایی باشند (حاجی حاجیکلایی و همکاران، ۱۳۸۴، طالب‌خان گروسی و همکاران، ۱۳۸۲، Abdollahpour et al., 2009، Sakhaee et al., 2007).

بررسی‌ها نشان داد، گزارش منتشر شده‌ای مبنی بر انجام PCR روی جنین‌های سقط شده گاوی برای تشخیص عوامل کمپیلوباکتریایی و یا لپتوسپیرایی در سایر نقاط ایران وجود ندارد، لذا امکان مقایسه مطالعه حاضر از این نظر با مطالعات مشابه در ایران وجود ندارد. اما، در سال ۱۳۸۶ پیشوا و همکاران با انجام آزمایش PCR-RFLP روی ۵۰ جنین سقط شده گاوی جمع‌آوری شده از گاوداری‌های اطراف اصفهان، میزان آلودگی به *بروسلا آبورتوس* را ۱۰٪ اعلام نموده‌اند که با مطالعه حاضر (۷/۸ درصد) هم‌خوانی نسبی دارد.

با توجه به ابعاد اقتصادی و بهداشتی بیماری بروسلوز، کشورهای زیادی از جمله ایران، برنامه‌های مدون و بهداشتی زیادی را برای ریشه‌کنی بیماری طراحی کرده‌اند که شامل واکسیناسیون دام‌های جوان و کشتار گاوهای مبتلا است (Radostitis et al., 2007).

اخیراً واکسن RB51 برای واکسیناسیون گاوهای بالغ نیز تهیه شده است که البته کاملاً سالم نبوده و بهتر است که با احتیاط در مورد گاوهای آبستن به کار برده شود (Sharifi Yazdi et al., 2009). بر اساس نتایج حاصل از آزمایش PCR نمونه‌های بافتی تهیه شده از جنین‌های سقط شده در مطالعه حاضر، تعداد ۲ جنین آلوده به واکسن RB51 تشخیص داده شد، لذا برای تشخیص عامل بروسلایی سقط جنین به ویژه در مورد تفریق سویه واکسن از سایر سویه‌های وحشی بروسلا، انجام آزمایش PCR ضروری می‌باشد.

نتایج حاصل از انجام آزمایشات PCR روی نمونه‌های جنینی برای تشخیص موارد سقط جنین‌های کمپیلوباکتریایی (۳/۹٪) در مقایسه با نتایج حاصل از بررسی سقط‌های لپتوسپیرایی (۲۱٪) و بروسلایی (۷/۸٪)

رقم پایین‌تری را نشان داد (جدول ۶). این موضوع در حالی بیان می‌شود که بیماری کمپلوباکتریوز مقاربتی گاوها در کشورهای دیگر اهمیت بیشتری دارد (Noakes et al., 2001، Vargas et al., 2003).

به هرحال، براساس یافته‌های مطالعه حاضر یا میزان شیوع سقط کمپیلوباکتریایی در منطقه واقعاً کم است و یا به دلیل ایجاد سقط جنین در مراحل اولیه آبستنی نمونه‌های مربوط به این نوع سقط‌ها کمتر گزارش و نمونه‌برداری شده‌اند. البته با توجه به افزایش استفاده از تلقیح مصنوعی در گاوداری‌ها، انتظار می‌رود از شیوع بیماری نیز کاسته شده باشد. *کمپیلوباکتر فتوس زیر گونه ونرالیس* بیشتر باعث مرگ زودرس جنینی (early embryonic death) شده و تعداد کمی از جنین‌ها در سن ۶-۴ ماهگی سقط می‌شوند (Noakes et al., 2001)، لذا با توجه به کوچک بودن اندازه جنین ممکن است که دامدار متوجه سقط جنین گاو در این مواقع نشده و لذا امکان نمونه‌برداری فراهم نگردیده است.

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، نتیجه‌گیری می‌گردد که بیماری لپتوسپیروز مهمترین عامل سقط جنین در گاوداری‌های اطراف تبریز است. از طرف دیگر، برای تشخیص عوامل عفونی ایجاد کننده سقط جنین در گاو انجام آزمایش PCR در مقایسه با روش‌های سنتی از قبیل کشت باکتری‌ها و آزمایشات سرولوژیکی، یک روش سریع و قابل اطمینان به شمار می‌رود.

با توجه به شیوع بیشتر سقط جنین‌های لپتوسپیرایی و بروسلایی گاو پیشنهاد می‌گردد توجه بیشتری به پیشگیری از این دو بیماری مهم صورت پذیرد تا هم از خسارات وارده به صنعت گاوداری جلوگیری شود و هم سطوح بهداشت عمومی نیز ارتقاء یابد.

تشکر و قدردانی

مجریان طرح لازم می‌دانند از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز به خاطر حمایت‌های مالی (قرارداد شماره ۲۷/۲۶۴۱/د مورخ ۸۷/۱۰/۲۸) تشکر و قدردانی به نمایند.

منابع

پیشوا ابتهاج، صالحی منصور، صالحی رسول و ابراهیمی محمدرضا (۱۳۸۶). تعیین گونه‌های بروسلا در مناطق مرکزی ایران با تکنیک PCR-RFLP. مجله زیست شناسی ایران جلد ۲۰، شماره ۱، صفحات ۲۱-۱۵.

حاجی‌حاجیکلایی محمدرحیم، قربانپورنجف‌آبادی مسعود و عبداله‌پور غلامرضا (۱۳۸۴). بررسی سرولوژیکی لپتوسپیروز در گاوهای اهواز، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۶۰، شماره ۱، صفحات ۱۴-۷.

حسن‌پور علی، فرتاش‌وند مجید، عبدالله‌پور غلامرضا، مقدم غلامعلی، نادعلیان محمدقلی و ستاری سعید (۱۳۸۶). تعیین میزان شیوع سرولوژیک آلودگی به لپتوسپیرا در گاوداری‌های شیری اطراف تبریز. پژوهش و سازندگی شماره ۷۴، صفحات ۷۷-۶۷.

طالب‌خان‌گروسی مهران، وندیوسفی جلیل، فامیل‌قدکچی هادی و نوروزیان ایرج (۱۳۸۲). بررسی سرواپیدمیولوژی آلودگی لپتوسپیرایی در کارکنان و گله‌های گاو شیری دامپروری‌های اطراف مشهد، مجله دانشکده دامپزشکی تهران، دوره ۵۸، شماره ۱، صفحات ۹۴-۸۰.

Abdollahpour G., Shafighi T. and Sattari T.S. (2009). Serodiagnosis of leptospirosis in cattle in north of Iran, Gilan. International Journal of Veterinary Research, 3: 7-10.

Anderson M.L. (2007). Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. Theriogenology, 68: 474-486.

Bricker B.J. and Halling S.M. (1995). Enhancement of the *Brucella* AMOS PCR assey for differentiation of *Brucella abortus* vaccine strains S19 and RB51. Journal of Clinical Microbiology, 33: 1640-42.

Bricker B.J., Ewalt D.R., Olsen S.C. and Jensen A.E. (2003). Evaluation of the *Brucella abortus* species-specific polymerase chain reaction assay, an improved version of the *Brucella* AMOS polymerase chain reaction assay for cattle. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 15 (4): 374-378.

Cortez A, Castro A.M.G., Heinemann M.B., Soares R.M., Leite R.C., Scarcelli E. and and et al (2006). Detecção de ácidos nucléicos de Brucella spp., Leptospira spp., herpesvirus bovino e virus da diarréia viral bovina, em fetos bovinos abortados e em animais mortos no perinatal. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 58(6): 1226-28.

Da Silva T.M.A., De Oliveira R.G., Da Silva Mol J.P., Xavier M.N. ,Da Paixão T.N., Cortez A., et al. (2009). Etiologic diagnosis of bovine infectious abortion by PCR. Cienc Rural 39(9): 2563-2570.

Faber N.A., Crawford M., LebFebvre R. B., Buyukmihci N.C., Madigan J.E. and Willits N.H. (2000). Detection of *Leptospira spp.* in the aqueous humor of horses with naturally acquired recurrent uveitis. Journal of Clinical Microbiology, 38: 2731-2733.

Hamali H. and Jafari R. (2011). Detection of Brucella spp. and vaccine strains in bovine aborted fetuses by a multiplex PCR. Life Science Journal, 8(4): 469-473.

Heinemann M.B., Garcia J.F., Nunes C.M., Higa Z.M.M., Vasconcellos S.A. and Richtzenhain L.J. (1999). Detection of *Leptospira* spp. from pure cultures and from experimentally contaminated bovine semen by polymerase chain reaction. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 36(1): 15-18.

Hum S., Quinn K., Brunner J. and On S.L.W. (1997). Evaluation of a PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter fetus* subspecies. Australian Veterinary Journal, 75: 827-831.

Kirkbride C.A. (1992). Bacterial agents detected in a l0-year study of bovine abortions and stillbirths. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 4: 175-180.

Kirk J.H. (1999). Infectious abortions in dairy cows. In: Bovine Practitioners Proceedings, 33:150.

Leal-Klevezas D.S., Martínez-Vázquez I.O., García-Cantu J., López-Merino A. and Martínez-Soriano J.P. (2000). Use of polymerase chain reaction to detect *Brucella abortus* biovar 1 in infected goats. Veterinary Microbiology, 75(1): 91-97.

Nascimento E.F. and Santos R.L. (2003). Patologia da reprodução dos animais domésticos. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.137

Nishikawa S., Moore R.C., Nonomura N. and Oka T. (1994). Progesterone and EGF inhibit mouse mammary gland prolactin receptor and beta-casein gene expression. American Journal of Physiology- Cell Physiology, 267(5): C1467-C1472.

Noakes D.E., Parkinson T.J. and England G.C.W. (2001). Arthur's Veterinary Reproduction & Obstetrics, 8th ed., Philadelphia, pp: 474-477.

Radostitis O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W. and Constable P.D. (10th ed.), 2007. Veterinary Medicine. Spain, W.B. Saunders Co., PP: 963-984.

Richtzenhain L.J, Cortez A., Heinemann M.B., Soares R.M., Sakamoto S.M., Vasconcellos S.A., et al (2002). A multiplex PCR for the detection of *Brucella* spp. and *Leptospira* spp. DNA from aborted bovine fetuses. Veterinary Microbiology, 87: 139-147.

Sakhaee E., Abdollahpour GHR., Bolourchi M., Hassani Tabatabayi A.M. and Sattari Tabrizi S. (2007). Serologic and bacteriologic diagnosis of bovine leptospirosis in Tehran suburb dairy farms. Iranian Journal of Veterinary Research, 8 (4) 21: 325-332.

Sharifi Yazdi H., Kafi M., Haghkhah M., Tamadon A., Behroozikhah A.M. and Ghane M. (2009). Abortions in pregnant dairy cows after vaccination with *Brucella abortus* strain RB51. The Veterinary Record, 165: 570- 571.

Vargas A.C., Costa M.M., Vainstein M.H., Kreutz L.C. and Neves J.P. (2003). Phenotypic and molecular characterization of bovine *Campylobacter fetus* strains isolated in Brazil. Veterinary Microbiology, 93: 121-132.