

صلى الله عليه وسلم



دانشگاه شهید چمران اهواز

۹۴۵۸۱۰۰۲

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی

عنوان:

تعیین تیپ مولکولی جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا/ با منشأ گاو و گاومیش
و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها

اساتید راهنما:

دکتر داریوش غریبی

دکتر محمد رحیم حاجی حاجیکلائی

استاد مشاور:

دکتر مسعود قربانپور

نگارش:

سیده کلثوم برزگر

مهر ماه ۱۳۹۴

بسمه تعالی

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

(نتیجه ارزشیابی پایان نامه‌ی دکتری عمومی)

پایان‌نامه‌ی خانم سیده کلثوم برزگر دانشجوی رشته: دامپزشکی از دانشکده دامپزشکی به شماره دانشجویی: ۸۸۵۸۱۱ تحت عنوان: تعیین تیپ مولکولی جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا/ با منشأ گاو و گاومیش و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها، جهت اخذ مدرک: دکتری حرفه‌ای دامپزشکی در تاریخ: ۱۹/۷/۱۳۹۴ توسط هیأت محترم داوران مورد ارزشیابی قرار گرفت و با درجه: ممتاز به تصویب رسید.

امضا	سمت	مرتبه علمی	۱ اعضای هیأت داوران
	استاد راهنمای اول	استادیار	دکتر داریوش غریبی
	استاد راهنمای دوم	استاد	دکتر محمد رحیم حاجی حاجیکلائی
	استاد مشاور	استاد	دکتر مسعود قربانپور
	استاد داور	دانشیار	دکتر علیرضا قدران مشهدی
	استاد داور	استادیار	دکتر نغمه موری بختیاری
	استاد ناظر	دانشیار	دکتر عبدالواحد معربی
	مدیر گروه	دانشیار	۲ دکتر حسین حمیدی نجات
	معاون پژوهشی دانشکده	دانشیار	۳ دکتر محمدحسین راضی جلالی
	مدیر تحصیلات تکمیلی دانشگاه	استاد	۴ دکتر عبدالرحمن راسخ

گواهی صحت و اصالت

عنوان پایان‌نامه: تعیین تیپ مولکولی جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا/ با منشأ گاو و گاومیش و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها

اینجانب سیده کلثوم برزگر دانشجوی دکتری عمومی رشته‌ی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران به شماره دانشجویی ۸۸۵۸۱۱ تحت راهنمایی دکتر داریوش غریبی و دکتر محمد رحیم حاجی حاجیکلائی و مشاوره دکتر مسعود قربانپور، گواهی می‌دهم که:

- ۱- تحقیقات ارائه شده در این پایان‌نامه حاصل مطالعات علمی و عملی شخص اینجانب بوده و صحت و اصالت تمام مطالب مندرج در آن را تایید می‌کنم.
 - ۲- در صورت استفاده از آثار دیگران، مشخصات کامل آن‌ها را در منابع ذکر نموده‌ام.
 - ۳- تاکنون مطالب درج شده در این پایان‌نامه، توسط اینجانب یا شخص دیگری به منظور اخذ هر نوع مدرک یا امتیازی به هیچ مرجعی تسلیم نشده و بعد از این نیز نخواهد شد.
 - ۴- در تدوین متن پایان‌نامه، شیوه‌نامه مصوب دانشکده را رعایت نموده‌ام.
 - ۵- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه شهید چمران تعلق داشته و مقالات مستخرج از آن، ذیل نام دانشگاه شهید چمران اهواز (Shahid Chamran University of Ahvaz) به چاپ خواهد رسید.
 - ۶- حقوق معنوی تمامی افرادی که در این پایان‌نامه تاثیرگذار بوده‌اند (اساتید راهنما و مشاور) در مقالات مستخرج از آن رعایت خواهد شد.
 - ۷- در صورت استفاده از موجودات زنده یا بافت‌های آن‌ها، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مندرج در منشور موازین و اصول اخلاق پژوهش وزارت علوم، تحقیقات و فناوری رعایت شده است.
- در صورت اثبات تخلف از مندرجات فوق، مسئولیت هر گونه پاسخگویی به اشخاص حقیقی و حقوقی و مراجع ذیصلاح بر عهده اینجانب بوده و دانشگاه شهید چمران هیچ مسئولیتی بر عهده نخواهد داشت. همچنین در صورت تضییع حقوق و منافع دانشگاه، حق پیگیری موضوع در مراجع ذیصلاح و اعمال قوانین مربوطه برای دانشگاه شهید چمران در حال و آینده محفوظ بوده و اینجانب مسئول پرداخت کلیه خسارات وارده خواهم بود.

سیده کلثوم برزگر

۱۳۹۴/۷/۱۹

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه شهید چمران تعلق داشته و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به غیر نیست. استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

پاس بیکران پروردگار یکتا را که، ستیان بخشد و به طریق علم و دانش، نمونه‌مان شد و به هم نشینی رحروان علم و دانش

مستخرمان نمود

از اساتید گرامی

جناب آقای دکتر داریوش غریبی و جناب آقای دکتر محمد رحیم حاجیگلانی

بسیار سپاسگزارم؛ چرا که بدون راهنمایی‌های ایشان تأمین این پیمان نامه بسیار مشکل می‌نمود.

پاس فراوان از استاد فرزانه و کراتقدر

جناب آقای دکتر مسعود قربانپور که با سه صدر مشاوره این پیمان نامه را بر عهده گرفتند و در تمام سخت‌نجات یاریگر من بودند.

باتقدیر و شکر

از جناب آقای دکتر قدردان و سرکار خانم دکتر تختیاری

که زحمت دآوری این پیمان نامه را بر عهده گرفتند

نهایت سپاس

از جناب آقای دکتر معربی که نظارت دقیقی بر این پیمان نامه داشتند

از جناب آقایان

سعید غلیم پور و رشید جهانگیری

به دلیل یاری‌ها و راهنمایی‌های بی‌چشم داشت ایشان که بسیاری از سختی‌ها را بر ایمن آسان نمودند شکر می‌کنم

ماحصل تلاش بایم راد نهایت عشق و ادب تقدیم میکنم به...

پدر بزرگوار و مادر مهربانم

آن دو فرشته ای که از خواسته هایشان گذشتند و خود را سپر بلائی مشکلات و ناملایمات کردند تا من به جایگاهی که اکنون در آن

ایستاده ام برسم

به برادران و خواهر عزیزم

به همسران مهربان زندگیم

که باهم آغاز کردیم و به امید هم به آینده چشم می دوزیم

و به دوستانم...

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان که در این سردترین روزگار ان بهترین پشتیبانم هستند

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	چکیده.....
۵	فصل اول: مقدمه و هدف.....
۱۱	فصل دوم: مروری بر منابع.....
۱۱	الف- خانواده پاستورلاسه.....
۱۲	ب- جنس پاستورلا.....
۱۳	ج- پاستورلا مولتوسیدا.....
۱۴	ج- ۱- خصوصیات ظاهری.....
۱۵	ج- ۲- خصوصیات کشت و ویژگی‌های بیوشیمیایی.....
۱۷	ج- ۳- تعیین سروتپ‌های پاستورلا مولتوسیدا.....
۲۱	ج- ۴- جایگاه طبیعی و اپیدمیولوژی.....
۲۴	ج- ۵- عوامل حدت.....
۲۷	د- بیماری‌های مهم ناشی از پاستورلا مولتوسیدا.....
۲۷	د- ۱- پاستورلوز گاو و گاو میش.....
۲۸	د- ۱- ۱- سپتی سمی هموراژیک.....
۲۸	د- ۱- ۱- ۱- سبب‌شناسی.....
۲۹	د- ۱- ۱- ۲- بیماری‌زایی.....
۳۰	د- ۱- ۱- ۳- نشانه‌های درمانگاهی.....
۳۱	د- ۱- ۱- ۴- نشانه‌های کالبدگشایی.....

- د- ۱- ۲- پاستورلوز ریوی یا تب حمل و نقل ۳۱
- د- ۱- ۲- ۱- نشانه‌های درمانگاهی ۳۲
- د- ۱- ۲- ۲- نشانه‌های کالبدگشایی ۳۳
- د- ۱- ۲- ۳- تشخیص ۳۴
- د- ۱- ۲- ۴- درمان ۳۵
- د- ۲- پاستورلوز در پرندگان ۳۵
- د- ۳- پاستورلوز در خوک ۳۵
- د- ۴- پاستورلوز در خرگوش ۳۶
- د- ۵- پاستورلوز در انسان ۳۶
- ه- تشخیص عفونت‌های ناشی از پاستورلا مولتوسیدا ۳۷
- ه- ۱- تشخیص درمانگاهی ۳۷
- ه- ۲- تشخیص آزمایشگاهی ۳۷
- ه- ۳- آزمایش مستقیم میکروسکوپی ۳۸
- ه- ۴- جداسازی ۳۸
- ه- ۵- آزمایش‌های سرولوژی ۳۹
- ه- ۶- تشخیص مولکولی ۴۰
- و- درمان ۴۱
- ز- کنترل و پیشگیری ۴۳
- فصل سوم: مواد و روش کار ۴۹

- الف- مواد و وسایل مورد نیاز..... ۴۹
- الف - ۲ - وسایل مورد نیاز..... ۵۲
- الف - ۳ - طرز تهیه بافرها، محلول‌ها، معرف‌ها و محیط‌های کشت مورد استفاده..... ۵۳
- الف - ۳ - ۱ - طرز تهیه محیط آگار خون حاوی آنتی‌بیوتیک باسیتراسین و آگار خون معمولی..... ۵۳
- الف - ۳ - ۲ - طرز تهیه محیط مک‌کانکی..... ۵۳
- الف - ۳ - ۳ - طرز تهیه محیط تریپتیک سوی براث..... ۵۴
- الف - ۳ - ۴ - طرز تهیه محیط سه‌قندی آهن‌دار..... ۵۴
- الف - ۳ - ۵ - طرز تهیه محیط اوره..... ۵۴
- الف - ۳ - ۶ - طرز تهیه محیط‌های قندی..... ۵۵
- الف - ۳ - ۷ - طرز تهیه محیط مولر هیتون آگار..... ۵۵
- الف - ۳ - ۸ - طرز تهیه شیر پس‌چرخ..... ۵۵
- الف - ۳ - ۹ - طرز تهیه معرف اکسیداز..... ۵۵
- الف - ۳ - ۱۰ - طرز تهیه بافر TAE (تریس، اسید استیک و EDTA)..... ۵۶
- الف - ۳ - ۱۱ - طرز تهیه سرم فیزولوژی..... ۵۶
- ب - ۲ - جمع‌آوری نمونه‌ها..... ۵۷
- ب - ۳ - کشت باکتریایی نمونه‌ها..... ۵۹
- ب - ۳ - ۱ - آزمایشات اولیه..... ۶۰
- ب - ۳ - ۱ - ۱ - آزمایش کاتالاز..... ۶۰
- ب - ۳ - ۱ - ۲ - آزمایش اکسیداز..... ۶۰

- ب- ۳- ۱- ۳- رنگ آمیزی گرم ۶۰
- ب- ۳- ۲- آزمون های بیوشیمیایی ۶۰
- ب- ۴- تأیید مولکولی و تعیین تیپ کپسولی جدایه های پاستورلا مولتوسیدا/ با PCR ۶۱
- ب- ۴- ۱- استخراج DNA جدایه ها ۶۱
- ب- ۴- ۲- انجام آزمون PCR برای بررسی حضور ژن *kmt1* اختصاصی پاستورلا مولتوسیدا ۶۲
- ب- ۴- ۲- ۱- برنامه حرارتی PCR جهت تکثیر ژن *kmt1* ۶۳
- ب- ۴- ۳- انجام آزمون PCR چندگانه برای بررسی حضور ژن مربوط به تیپ های مختلف کپسولی ۶۵
- ب- ۴- ۳- ۱- برنامه حرارتی PCR جهت تکثیر ژن مربوط به تیپ های کپسولی مختلف پاستورلا مولتوسیدا ۶۶
- ب- ۴- ۴- بررسی محصول PCR با الکتروفورز در ژل آگارز ۶۷
- ب- ۴- ۴- ۱- تهیه ژل آگارز ۶۷
- ب- ۴- ۴- ۲- بار گذاری ژل و راه اندازی الکتروفورز ۶۷
- ب- ۵- آزمایش سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی (آنتی بیوگرام) ۶۸
- ج- بررسی های آماری ۷۰
- فصل چهارم: نتایج** ۷۳
- الف- نتایج حاصل از کشت و PCR ۷۳
- ب- نتایج حاصل از PCR چندگانه و تعیین تیپ کپسولی ۷۸

ج- نتایج آنتی‌بیوگرام و تعیین بیشترین میزان حساسیت، مقاومت و حساسیت نسبی جدایه‌های

پاستورلا مولتوسیدا..... ۷۹

فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری..... ۸۳

الف- بررسی وضعیت دام‌های مورد مطالعه از نظر حامل بودن به باکتری پاستورلا مولتوسیدا..... ۸۴

ب - تعیین سر و گروپ (تیپ کپسولی) جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا..... ۸۹

ج - سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا..... ۹۶

نتیجه‌گیری کلی..... ۱۰۱

پیشنهادها..... ۱۰۲

منابع..... ۱۰۵

منابع فارسی..... ۱۰۵

منابع انگلیسی..... ۱۰۶

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲: خصوصیات متمایزکننده تحت گونه‌های پاستورلا مولتوسیدا/.....	۱۴
جدول ۲-۲: خصوصیات موردنیاز برای شناسایی احتمالی پاستورلا مولتوسیدا و دیگر گونه‌های پاستورلای حائز اهمیت از نظر دامپزشکی.....	۱۶
جدول ۲-۳: بعضی سروتیپ‌های شایع پاستورلا مولتوسیدا/ در دام‌های مختلف.....	۲۰
جدول ۲-۴: بیماری‌های مهمی که توسط گونه‌های بیماری‌زای پاستورلا در حیوانات ایجاد می‌شوند.....	۲۳
جدول ۲-۵: عوامل حدت پاستورلا مولتوسیدا/.....	۲۷
جدول ۳-۱: مواد مورد استفاده در این تحقیق.....	۴۹
جدول ۳-۲: محیط‌های کشت مورد استفاده در این تحقیق.....	۵۱
جدول ۳-۳: وسایل مورد استفاده در این تحقیق.....	۵۲
جدول ۳-۴: تعداد دام‌های نمونه‌گیری شده از موارد ارجاعی به کشتارگاه و بیمارستان دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز برحسب سن و جنس و گونه دامی.....	۷۶
جدول ۳-۵: توالی نوکلئوتیدی آغازگرهای به کار برده شده در این تحقیق.....	۶۲
جدول ۳-۶: اجزا و مقادیر واکنش PCR جهت تکثیر ژن <i>kmtI</i> پاستورلا مولتوسیدا/.....	۶۳
جدول ۳-۷: برنامه دمایی و تعداد سیکل‌ها جهت تکثیر ژن <i>kmtI</i> پاستورلا مولتوسیدا/.....	۶۴
جدول ۳-۸: اجزا و مقادیر واکنش PCR چندگانه جهت مشخص شدن تیپ‌های کپسولی پاستورلا مولتوسیدا/.....	۶۵

- جدول ۳-۹: برنامه دمایی و تعداد سیکل‌ها جهت تکثیر ژن مربوط به تیپ‌های کپسولی مختلف پاستورلا مولتوسیدا/..... ۶۷
- جدول ۳-۱۰: دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده در این تحقیق..... ۷۰
- جدول ۴-۱: فراوانی حاملین پاستورلا مولتوسیدا/ در گاوهای مورد مطالعه به تفکیک جنس و محل نمونه‌گیری با استفاده از روش PCR..... ۷۵
- جدول ۴-۲: فراوانی حاملین پاستورلا مولتوسیدا/ در گاوهای مورد مطالعه به تفکیک سن با استفاده از روش PCR..... ۷۵
- جدول ۴-۳: فراوانی حاملین پاستورلا مولتوسیدا/ در گاومیش‌های مورد مطالعه به تفکیک جنس و محل نمونه‌گیری با استفاده از روش PCR..... ۷۶
- جدول ۴-۴: فراوانی حاملین پاستورلا مولتوسیدا/ در گاومیش‌های مورد مطالعه به تفکیک سن با استفاده از روش PCR..... ۷۷
- جدول ۴-۵: فراوانی حاملین پاستورلا مولتوسیدا/ در گاو و گاومیش‌های مورد مطالعه بر حسب ماه نمونه‌گیری با استفاده از روش PCR..... ۷۷
- جدول ۴-۶: توزیع فراوانی تیپ‌های کپسولی جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا/ی جدا شده از بینی و نازوفارینکس به تفکیک گونه (گاو و گاومیش)..... ۷۸
- جدول ۴-۷: نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام و تعیین میزان مقاومت جدایه‌ها..... ۸۰

فهرست تصاویر

صفحه	عنوان
۶۸.....	شکل ۴-۱: نتایج تکثیر ژن <i>kmt1</i> اختصاصی پاستورلا مولتوسیدا
۷۲.....	شکل ۴-۲: نتایج تعیین تیپ کپسولی جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا با استفاده از آغازگرهای اختصاصی

چکیده

شماره دانشجویی: ۸۸۵۸۱۱	نام: سیده کلثوم	نام خانوادگی: برزگر
عنوان پایان‌نامه: تعیین تیپ مولکولی جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا/ با منشأ گاو و گاومیش و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها		
اساتید راهنما: دکتر داریوش غریبی - دکتر محمد رحیم حاجی حاجیکلائی		
استاد مشاور: دکتر مسعود قربانپور		
رشته: دامپزشکی		درجه تحصیلی: دکترای حرفه‌ای
گروه: پاتوبیولوژی	دانشکده: دامپزشکی	دانشگاه: شهید چمران اهواز
تعداد صفحه: ۱۱۳	تاریخ فراغت از تحصیل: ۱۳۹۴/۷/۱۹	
کلیدواژه‌ها: پاستورلا مولتوسیدا، تیپ (سروگروپ) کپسولی، حساسیت آنتی‌بیوتیکی، گاو، گاومیش، PCR چندگانه.		
<p>پاستورلا مولتوسیدا/ باکتری گرم‌منفی و پاتوژن فرصت طلب و فلور طبیعی دستگاه تنفسی فوقانی گونه‌های جانوری اهلی و وحشی است. این عامل در سراسر جهان، بیماری‌های متعدد مهمی از جمله برونکوپنومونی چرکی در نشخوارکنندگان و سپتی‌سمی هموراژیک در گاو و گاومیش را ایجاد می‌کند. مطالعه حاضر به منظور تعیین شیوع حاملین پاستورلا مولتوسیدا/ در گاو و گاومیش‌های کشتار شده در کشتارگاه و همچنین موارد ارجاعی به بیمارستان دانشکده دامپزشکی اهواز و مشخص کردن (تیپ) سروگروپ‌های کپسولی جدایه‌ها، با PCR و وضعیت حساسیت آنتی‌بیوتیکی آنها صورت گرفت.</p> <p>نمونه‌های سواب از ناحیه نازوفارینکس و بینی ۲۲۷ رأس گاو و ۱۷۴ رأس گاومیش جمع‌آوری شد. سواب‌ها به آزمایشگاه منتقل و بر روی محیط‌های مک‌کانکی و آگار خون‌دار گوسفندی کشت داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پرگنه‌های مشکوک به پاستورلا مولتوسیدا/ بر اساس آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد، بررسی و شناسایی شدند و متعاقباً جدایه‌های مشکوک، توسط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز اختصاصی پاستورلا مولتوسیدا/ (PM-PCR) و بر اساس ژن kmt1 تأیید شدند. همچنین واکنش PCR چندگانه برای تعیین پنج سروگروپ بیماری‌زا (A, B, D, E و F) مورد استفاده قرار گرفت. پس از کشت جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا/ بر روی محیط آگار مولر هیتون حاوی ۵ درصد خون گوسفندی، حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها با استفاده از روش انتشار دیسک (کرپی-بائر) و با استفاده از</p>		

دیسک‌های آنتی بیوتیکی تجاری تعیین شد. نتایج نشان داد که از تعداد ۴۰۱ نمونه اخذ شده از گاو و گاو میش، پاستورلا مولتوسیدا/ از ۱۰ نمونه از ۲۲۷ نمونه اخذ شده از گاو (۴/۴ درصد) و ۱۲ نمونه از ۱۷۴ نمونه اخذ شده از گاو میش (۶/۸۹ درصد) جداسازی شد. از ۲۲ جدایه پاستورلا مولتوسیدا، ۱۵ جدایه (۶۸/۱۸ درصد) متعلق به سروگروپ A، ۵ جدایه (۲۲/۷۲ درصد) به سروگروپ D و دو جدایه (۹/۰۹ درصد) غیر قابل تیپ‌بندی (untypeable) بودند. هیچ‌کدام از جدایه‌ها متعلق به سروگروپ‌های B، E و F نبودند. از ۱۰ جدایه پاستورلا مولتوسیدا/ی جدا شده از گاو، ۷ جدایه (۷۰ درصد) متعلق به سروگروپ A، ۲ جدایه (۲۰ درصد) به سروگروپ D و یک جدایه (۱۰ درصد) غیر قابل تیپ‌بندی بود. از ۱۲ جدایه پاستورلا مولتوسیدا/ی جدا شده از گاو میش، ۸ جدایه (۶۶/۶۶ درصد) متعلق به سروگروپ A، ۳ جدایه (۲۵ درصد) به سروگروپ D و یک جدایه (۸/۳۳ درصد) غیر قابل تیپ‌بندی بود.

در این مطالعه، الگوی مقاومت جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا/ نسبت به ۱۵ آنتی‌بیوتیک نشان داد که تمام جدایه‌های پاستورلا مولتوسیدا/ نسبت به نیتروفوران‌توئین، فلورفینیکول، سیپروفلوکساسین، انروفلوکساسین، تری-متوپریم سولفامتوکسازول، اکسی‌تتراسایکلین و سفتریاکسون حساس بودند. بیشترین مقاومت نسبت به تایلوزین (۹۰/۹ درصد) و پس از آن به ترتیب نسبت به آگزاسیلین (۵۴/۵۴ درصد)، استرپتومایسین (۴۵/۴۵ درصد)، آمپی‌سیلین (۲۷/۲۷ درصد)، اریترومایسین (۱۳/۶۳ درصد) و پنی‌سیلین (۹/۱ درصد) بود. همچنین با توجه به نتایج سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی، آنتی‌بیوتیک‌های گروه فلوروکینولون‌ها و فلورفینیکول جهت درمان موفقیت‌آمیز بیماری پاستورلوز توصیه می‌شوند.

فصل اول

مقدمه و هدف

فصل اول: مقدمه و هدف

پاستورلا مولتوسیدا^۱، باکتری گرم منفی متعلق به خانواده پاستورلاسه^۲ می‌باشد. این باکتری جزئی از فلور قسمت فوقانی دستگاه تنفس در تعدادی از گونه‌های حیوانی است و در شرایط خاص باعث ایجاد بیماری‌هایی مانند پنومونی در نشخوارکنندگان و سپتی‌سمی هموراژیک^۳ در گاو و گاو میش می‌شود. سویه‌های پاستورلا مولتوسیدا بر اساس آنتی‌ژن‌های کپسولی به ۵ سرگروپ (A, B, D, E و F) و بر اساس آنتی‌ژن‌های لیپوپلی‌ساکارید (LPS)^۴ به ۱۶ سروتیپ تقسیم‌بندی می‌شوند. تنوع قابل‌توجهی در بین سرگروپ‌ها و سروتیپ‌ها با توجه به تمایلشان به میزبان خاص، بیماری‌زایی و خصوصیات آنتی‌ژنی، کشت و بیوشیمیایی وجود دارد. در گاو و گاو میش معمولاً سرگروپ A با پنومونی، و سرگروپ‌های B و E با سپتی‌سمی هموراژیک مرتبط هستند (Arumugam و همکاران، ۲۰۱۱؛ Harper و همکاران، ۲۰۰۶؛ Carter، ۱۹۹۵؛ Rimler و Rhoades، ۱۹۸۹).

-
1. *P. multocida*
 2. Pasteurellaceae
 3. Haemorrhagic septicaemia
 4. Lipopolysaccharide

تشخیص پاستورلا مولتوسیدا/ تا حد زیادی بر اساس روش‌های مرسوم شامل جداسازی باکتری و شناسایی آن توسط سروتایپینگ و بررسی خصوصیات بیوشیمیایی صورت گرفته، که تیپ‌ها و سروگروپ‌های مختلف باکتری را در مناطق مختلف جغرافیایی مشخص می‌کند. با این وجود روش‌های مرسوم در شناسایی پاستورلا مولتوسیدا/ (روش‌های بیوشیمیایی) و افتراق سویه‌ها و تعیین سروگروپ‌های کپسولی با استفاده از روش‌هایی نظیر آزمون هماگلوتیناسیون غیرمستقیم^۱، علاوه بر زمان‌بر و گران بودن، به اندازه کافی حساس نمی‌باشد و برای مشخص شدن تیپ‌های کپسولی باکتری نیاز به آنتی‌سرم‌های اختصاصی است. (Arumugam و همکاران، ۲۰۱۱؛ Davies و همکاران، ۲۰۰۴). از طرفی از روش‌های مبتنی بر پایه DNA برای شناسایی باکتری و تمایز سریع سروگروپ‌های پاستورلا مولتوسیدا/ می‌توان بهره برد. بر این اساس و با توجه به شناسایی و تعیین توالی ژن‌های دخیل در سنتز کپسول پاستورلا مولتوسیدا/ استفاده از روش‌های مولکولی از جمله PCR^۲ برای شناسایی تیپ‌های کپسولی این باکتری مورد استفاده قرار گرفته است (Townsend و همکاران ۲۰۰۱). در حال حاضر PCR روش استاندارد برای تعیین تیپ‌های کپسولی پاستورلا مولتوسیدا/ به حساب می‌آید (Dziva و همکاران، ۲۰۰۸). با توجه به ارتباط بین بیماری، شرایط میزبان و سروگروپ‌های کپسولی پاستورلا مولتوسیدا/، شناسایی سروگروپ‌های پاستورلا حائز اهمیت می‌باشد. همچنین نظارت مداوم بر شیوع و ظهور سروتیپ‌های مختلف پاستورلا به منظور تولید و توسعه واکسن‌های مؤثر و کارآمد در کنترل بیماری پاستورلوز در حیوانات مختلف ضروری به نظر می‌رسد.

1. Indirect haemagglutination test
2. Polymerase chain reaction

درمان پنومونی و سپتی‌سمی هموراژیک ناشی از پاستورلا مولتوسیدا/ با کاربرد آنتی‌بیوتیک‌های معمول در درمان باکتری‌های گرم‌منفی میسر می‌باشد. سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی^۱ (آنتی-بیوگرام^۲) موفقیت در درمان را افزایش داده و احتمال بروز مقاومت‌های دارویی را که امروزه به دلیل استفاده طولانی‌مدت و بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از معضلات درمان بیماری‌های عفونی و تهدیدی برای سلامت جامعه است را کاهش می‌دهد. بروز مقاومت و حتی مقاومت‌های چندگانه در مورد پاستورلا مولتوسیدا گزارش شده است (Arora و همکاران، ۲۰۰۵؛ Shivachandra و همکاران، ۲۰۰۴).

پاستورلوز یکی از بیماری‌های مهم تنفسی اندمیک، در مازندران، گیلان، خوزستان و آذربایجان غربی می‌باشد (Shayegh و همکاران، ۲۰۰۹) و مطالعات صورت گرفته بر روی آن بخصوص برای تعیین سروگروپ‌های شایع، بیشتر بر اساس روش‌های سرولوژی بوده که انجام آن با محدودیت‌هایی همراه است. با توجه به این نکته و نظر به این‌که اطلاعات محدودی در رابطه با باکتری و تیپ‌های شایع آن در منطقه وجود داشت و همچنین به منظور سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های باکتری به منظور افزایش شانس موفقیت در درمان و جلوگیری از بروز مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، هدف از مطالعه حاضر شناسایی بیوشیمیایی و مولکولی پاستورلا مولتوسیدا و همچنین تعیین تیپ جدایه‌هایی از گاو و گاومیش منطقه اهواز، به روش مولکولی و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها بود.

سیده کلثوم برزگر

مهر ۱۳۹۴، اهواز

1. Antimicrobial susceptibility
2. Antibigram