✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۴۳، تابستان ۱۳۷۸

# جداسازی، تایپینگ و تعیین میزان وفور *Yersinia enterocolitica* در گاوهای کشتار شدهٔ بروسلا مثبت و منفی در کشتارگاه مشهد

● علیرضا صدربزاز ● جعفر نویدپور، اعضاء هیأت علمی مؤسسه واکسن و سرمسازی رازی شعبه مشهد
● الهه بینش، کارشناس بخش کنترل فرآورده‌های مؤسسه رازی شعبه مشهد

تاریخ دریافت: اسفند ماه ۱۳۷۷

**چکیده**

**در این تحقیق در طی سالهای ۱۳۷۶-۱۳۷۵ در کشتارگاه مشهد از ۱۴۲۶ نمونه گاوهای با عیار سرمی مثبت بروسلا پس از غنی‌سازی در بافر فسفات نمکی (PBS) ۰/۰۶۷ مولار، (pH= ۷/۶) به مدت سه هفته در ۴ درجه سانتیگراد و کشت بر روی CIN Agar به ترتیب ۳ نمونه (۰/۲۱٪) و یک نمونه (۰/۳۷٪) *Yersinia enterocolitica* جداگردید. از مجموع ۴ مورد جدا شده یک نمونه بیوتیپ ۳ و سه نمونه بیوتیپ ۲ مشخص گردید. ضمناً اختلاف معنی‌داری (با روش کای اسکوار) بین میزان وفور یرسینیا در گروه گاوهای با عیار سرمی مثبت و گروه با عیار سرمی منفی بروسلا و همچنین جنس‌های نر و ماده وجود نداشت.**

✓ **Pajouhesh & Sazandegi, No 43 PP: 56-59**

**Isolation, Typing and Frequency of *Yersinia enterocolitica* in Brucellosis seropositive and seronagative cattle in Mashhad Abuttor**

*By: Sadre Bazaz A., Navidpure J., Members of Sientific Board of Mashhad Razi Institute; Binesh E., Expert of Mashhad Razi Institute*

*Yersinia enterocolitica* is widespread throughout the world and microorganism has been isolated from a wide variety of sources in the environment and from animals and man. There is no work had been done about the frequency of *Yersinia enterocolitica* in brucella seronegative and brucella seropositive cattle in Iran. In order to determine the frequency and typing of *yersinia enterocolitica*, in this study the samples were collected during a year (March 1996-March 1997) in Mashhad abbatoir, from 1426 faeces and caecal contents of brucella seronegative cattle and 266 faeces and caecal contents of brucella seropositive cattle. The samples were suspended in 0.0679 M phosphate buffer saline (PBS) (pH =7/6) and were kept at $4^{c}$ for 3 for 3 weeks. The culturing were done for all of the samples before and after cold enrichment on CIN Agar. 3 *Y. enterocolitica* were isolated from brucella seronegative and one from brucella seropositive cattle. From these four isolated strains one was biotype 3 and the others were biotype 2. There was no relationship between frequency of *Y.enterocolitica* in brucella seronegative and positive cattle and also was not related to sex.

## مقدمه

Schleifstein و Coleman برای نخستین بار این باکتری را (*Y. enterocolitica*) در سال ۱۹۳۹ در آمریکا جدا کردند. بعدها Hassing و همکاران در سال ۱۹۴۹ در سوئد آن را جدا نمودند در ابتدا به علت عدم شناخت از باکتری آن را در زمرهٔ باکتریهای نامشخص با اسامی *Bacterium enterocolitica* و Pasteurella X طبقه‌بندی نمودند (۸ و ۱۵). بالاخره در سال ۱۹۶۰ انتشار بیماری در بین حیوانات در اروپا و انتقال آن به انسان مورد توجه قرار گرفت و در سال ۱۹۶۴ آن را *Y. enterocolitica* نامگذاری کردند (۸). هم‌اکنون این باکتری در خانواده انتروباکتریاسه راسته اوباکتریال و رده اسکوتوباکتریا طبقه‌بندی می‌گردد (۳).

*Y. enterocolitica* قادر به انجام هر دو متابولیسم Oxidative و Fermentative می‌باشد. این باکتری شرایط سرما را به خوبی تحمل کرده (حتی در ۴ درجه سانتیگراد نیز قادر به رشد می‌باشد)، در ۲۵-۲۲ درجه سانتیگراد بهتر رشد می‌کند و بعضی خصوصیات بیوشیمیایی و بیماریزایی آن با زمانیکه در ۳۷ درجه سانتیگراد کشت شود، متفاوت خواهد بود (۱۵، ۹ و ۳).

Mollaret و Bercovier در سال ۱۹۸۴ سوشهای *Y. enterocolitica* را تحت ۵ بیوواریته تقسیم‌بندی کردند. براساس خصوصیات آنتی‌ژنتیکی نیز *Y. enterocolitica* به بیش از ۵۰ سروتیپ تقسیم‌بندی شده است (۹ و ۱۳). به دلیل فاکتور لیپوپلی ساکاریدی مشابه بین سروتیپ *Y. enterocolitica* O۹ با *Brucella abortus* قرابت آنتی‌ژنتیکی وجود دارد و لذا باعث ایجاد واکنش متقاطع در آزمایشات سرولوژی تشخیص بروسلوز گاوها خواهد شد (۳، ۶، ۸، ۱۵ و ۱۸).

این ارگانیسم در سراسر دنیا انتشار داشته و آن را از منابع طبیعی مختلف (جاندار و بی‌جان) دریاچه‌ها، رودخانه‌ها، غذاها، حیوانات اهلی و وحشی (گربه، سگ، گاو، بز، خوکچه هندی، گوزن شمالی، اسب، میمون، خوک، طیور) و انسان جدا کرده‌اند (۱، ۳، ۷ و ۱۵).

*Y. enterocolitica* برای انسان و حیوانات بیماریزا می‌باشد. این باکتری به عنوان انگل داخل سلولی اختیاری در ماکروفاژها تکثیر یافته و با تولید انتروتوکسین سبب انتریت حاد همراه با اسهال، دهیدراتاسیون، توکسمی، سپتی‌سمی، لنفادنیت مزانتر و آرتریت خواهد شد (۴، ۸، ۹ و ۱۴).

Corbel و Brewer (۱۹۸۲) در انگلستان از مدفوع ۵ گاو به ظاهر سالم و یک جنین سقط شده *Y. enterocolitica* را جدا کردند (۵).

Fukushima و همکاران (۱۹۸۳) در ژاپن در طی یک بررسی ۴ سویه *Y. enterocolitica* را از مدفوع گاوها جدا کردند (۱۰).

ذوقی و عبادی (۱۹۸۶) در ایران برای اولین بار سویه *Y. enterocolitica* O۹ را از شیر گاو جدا نمودند (۱۸). به هر حال با توجه به عدم دستیابی به اطلاعات جامع در ارتباط با جداسازی و میزان وفور

*Y. enterocolitica* در گاوهای سطح کشور و همچنین آمار بالای گاوهای کشتار شده با عیار سرمی مثبت بروسلا در سطح منطقه و احتمال دخالت عامل *Y. enterocolitica* در نتایج آزمایشات، در این تحقیق به صورت جامع برای اولین بار سعی در جداسازی عامل از گاوها با عیار سرمی مثبت و منفی بروسلا در طی یکسال در شهرستان مشهد گرفته شد، امید است نتایج حاصله مفید واقع شده و سرفصلی در راستای پژوهشهای بعدی باشد.

## مواد و روشها

### الف - مرحله نمونه گیری

در طی سال ۱۳۷۵ نمونه‌های مدفوع یا محتویات سکوم گاوهای نر و مادهٔ با عیار سرمی بروسلا مثبت و منفی کشتار شده در کشتارگاه مشهد به روش ذیل جمع‌آوری شد.

به وسیله چوبکهای زبانی مقداری از مدفوع گاو (حدود ۱۰ گرم) را در ظروف پلاستیکی دربدار مخصوص نمونه گیری که از قبل شسته و اتوکلاو شده، جمع‌آوری و سپس فرم پرسشنامه مخصوص برای دامهای با عیار سرمی بروسلا مثبت و منفی به تفکیک تکمیل گردید. در این پرسشنامه سن، جنس، نژاد و تاریخ نمونه گیری از هر دام مشخص می‌شد. نمونه‌ها سریعاً به آزمایشگاه جهت کشت و آزمایشات بعدی ارسال می‌گردید.

در همانروز نمونه غدد لنفاوی پیش‌رانی و فوق پستانی و بافتهای تناسلی گاوهای نر و ماده با عیار سرمی مثبت بروسلای کشتار شده نیز تهیه شده، که جهت کشت به آزمایشگاه فرستاده می‌شد. دامهای نمونه گیری شده در جنسهای نر و ماده، نژادهای دورگه و بومی و همچنین در طبقات سنی زیر دو سال، بین ۲ تا ۴ سال و بالاتر از ۴ سال طبقه‌بندی شدند.

### ب - مرحله جداسازی (خالص سازی)

در کنار شعله یک گرم از نمونه مدفوع را در ۱۰ سی‌سی محلول Phosphate Buffer Saline (PBS) ۰/۰۶۷ مولار با pH= ۷/۶ انتقال داده و همزمان یک لوپ از نمونه مستقیماً روی محیط CIN[1] به صورت خطی، کشت گردید (۱۰). سپس لوله‌های PBS کشت شده را به مدت ۲۱ روز (سه‌هفته) در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد (یخچال) قرار داده (غنی‌سازی در سرما) و پس از گذشت این مدت یک لوپ از مایع بافر فسفات روی محیط CIN به صورت خطی کشت گردید. کلیه پلیتهای CIN را پس از کشت در ۲۸-۲۵ درجه سانتیگراد در شرایط هوازی (با توجه به رشد بهتر یرسینیا در این دما) قرار داده، پلیتها پس از ۲۴-۱۸ ساعت از نظر وجود کلنی‌هایی با قطر ۱/۵-۱ میلی متر با مرکز قرمز برجسته (محدب) و هاله بیرنگ و شفاف در اطراف آن مورد بررسی قرار گرفتند (۴). کلنی‌های دارای مشخصات مذکور را به صورت خالص روی محیط (KIA)[2] کشت داده و در انکوباتور ۳۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴-۱۸ ساعت قرار دادیم که پس از این مدت لوله‌هایی با پاسخ قلیایی/اسیدی (K/A) با گاز یا بدون گاز، جهت انجام آزمایشات بعدی نگهداری شدند.

نمونه‌های غدد لنفاوی را نیز مستقیماً روی پلیتهای بروسلا آگار حاوی آنتی‌بیوتیک کشت داده و آنها را در جار $CO_2$ دار (۱۰٪) و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری نموده و پلیتها را در فاصله زمانی ۱۰-۲ روز کنترل کرده و کلنی‌های مشکوک با قطر ۲-۱ میلی‌متر با ظاهر محدب، لبه گرد و شفاف متمایل به آبی رنگ را به صورت خالص روی محیط بروسلا آگار در لوله به صورت شیبدار جهت انجام آزمایشات بعدی کشت داده شد.

### ج- مرحله شناسایی بیوشیمیایی

در این مرحله کار به سه قسمت تقسیم گردید:

در ابتدا از لوله‌های مشکوک KIA که به طور خالص کشت شدند، رنگ‌آمیزی گرم نموده و پس از مشاهده باسیلهای گرم منفی با مورفولوژی سلولی مشابه با یرسینیا، تست KOH سه درصد انجام شد، سپس آنها را روی آگار خوندار تهیه شده با خون گوسفند ۵٪ کشت خطی داده، پس از ۲۴-۱۸ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد تحت شرایط هوازی، معرف اکسیداز (تازه) تهیه نموده و با پی‌پت پاستور کلنی را از روی آگار خوندار برداشته و تست می‌کنیم، کلنی‌های اکسیداز منفی به عنوان انتروباکتریاسه تلقی شدند (۲).

در قسمت بعد جهت تفکیک جنس یرسینیا از سایر جنسهای این خانواده ابتدا تست کاتالاز انجام شده، سپس براساس جدول شماره ۵/۴۰ صفحه ۲۴۹ کتاب Bergey's Manual آزمایشات ووژ پروسکوئر[3] سیترات، فنیل آلانین دآمیناز، لیزین دکربوکسیلاز، تولید $H_2S$ در KIA یا TSI[4]، تولید گاز در D-گلوکز، تولید اسید از L- آرابینوز و D- مانیتول در ۳۷ درجه سانتیگراد و تست حرکت در ۳۷ و ۲۵ درجه سانتیگراد انجام شد.

در مرحله آخر کلنی‌های مشکوک به یرسینیا جهت شناسایی *Y. enterocolitica* (تفکیک گونه‌های این جنس از هم) بر طبق جدول ۵/۲ صفحه ۲۲۰ کتاب Bergey's manual آزمایشات تکمیلی انجام گردید. در این مرحله آزمایش اندول، متیل رد، هیدرولیز اوره، تولید اسید از لاکتوز، سالیسین، سوکروز، احیاء نیترات و O-F گلوکز در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انجام شد (۱۱).

برای شناسایی کلنی‌های مشکوک به بروسلا در این مرحله تست هیدرولیز اوره، رشد در رقتهای تیونین و فوشین، آگلوتیناسیون با استفاده از آنتی‌سرمهای مونواسپسیفیک A و M (تهیه شده از مؤسسه رازی حصارک) انجام گردید.

### د- تأیید آزمایشگاهی

نمونه‌های مشکوک به *Y. enterocolitica* و بروسلا جهت تأیید نهایی به مؤسسه رازی حصارک کرج ارسال شد.

### هـ- تعیین بیوتیپ

نمونه‌های تأیید شده *Y. enterocolitica*، جهت تعیین بیوتیپ، تحت آزمایشهای بیوشیمیایی براساس جدول ۵/۴۳ صفحه ۲۵۲ کتاب Bergey's manual و جدول شماره یک از مقالهٔ Fukushima و همکاران قرار گرفتند (۱۰). آزمایشات انجام شده در این مرحله شامل: تولید اندول، تولید اسید از سوکروز، D- گزیلوز، لاکتوز، DNase، لستیناز، لیپاز (توئین ۸۰)، احیاء نیترات در دمای ۲۸-۲۵ سانتیگراد بودند (۱۱ و ۱۷).

**جدول شماره ۱- آمار گاوهای با عیار سرمی منفی بروسلا بر اساس سن، جنس و فصل**

| سن‌وجنس | ۲ > سال | | ۴-۲ سال | | ۴ < سال | | مجموع | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| فصل | نر | ماده | نر | ماده | نر | ماده | نر | ماده |
| بهار | ۱۲ | ۲۰ | ۶ | ۱۶ | ۱۱ | ۱۲ | ۲۹ | ۴۸ |
| تابستان | ۲۶ | ۳۷ | ۴۸ | ۶۶ | ۴۴ | ۴۳ | ۱۱۸ | ۱۴۶ |
| پاییز | ۲۱ | ۹۳ | ۳۷ | ۱۰۸ | ۱۰۰ | ۱۲۶ | ۱۵۸ | ۳۲۷ |
| زمستان | ۴۵ | ۵۲ | ۱۱۶ | ۷۹ | ۱۸۳ | ۱۲۵ | ۳۴۴ | ۲۵۶ |
| مجموع | ۱۰۴ | ۲۰۲ | ۲۰۷ | ۲۶۹ | ۳۳۸ | ۳۰۶ | ۶۴۹ | ۷۷۷ |

**جدول شماره ۲- آمار گاوهای با عیار سرمی مثبت بروسلا بر اساس سن، جنس و فصل**

| سن‌وجنس | ۲ > سال | | ۴-۲ سال | | ۴ < سال | | مجموع | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| فصل | نر | ماده | نر | ماده | نر | ماده | نر | ماده |
| بهار | ۲ | ۶ | ۱ | ۳۷ | - | ۸ | ۳ | ۵۱ |
| تابستان | - | ۴ | ۴ | ۳۹ | - | ۴۰ | ۴ | ۸۳ |
| پاییز | - | ۱۰ | ۱ | ۲۷ | ۱ | ۳۴ | ۲ | ۷۱ |
| زمستان | - | ۳ | ۲ | ۱۷ | ۹ | ۲۱ | ۱۱ | ۴۱ |
| مجموع | ۲ | ۲۳ | ۸ | ۱۲۰ | ۱۰ | ۱۰۳ | ۲۰ | ۲۴۶ |

**جدول شماره ۳- مشخصات نمونه‌های یرسینیا جدا شده به تفکیک فصل، جنس، سن و نژاد**

| نمونه یرسینیاجداشده | فصل نمونه‌گیری | جنس | سن | نژاد | عیار سرمی بروسلا |
|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | زمستان | نر | >۴ | دورگه | - |
| ۲ | زمستان | ماده | ۴-۲ | دورگه | - |
| ۳ | زمستان | ماده | <۲ | بومی | - |
| ۴ | زمستان | نر | >۴ | دورگه | + |

## نتایج

در طی سالهای ۱۳۷۶-۱۳۷۵ تعداد ۱۴۲۶ نمونه مدفوع گاوهای با عیار سرمی منفی و تعداد ۲۶۶ نمونه مدفوع و غدد لنفاوی و بافتهای تناسلی گاوهای با عیار سرمی مثبت از کشتارگاه مشهد اخذ شد. مشخصات گاوهای نمونه‌گیری شده در جداول شماره ۱ و ۲ خلاصه شده است.

پس از مراحل نگهداری نمونه مدفوع در بافر فسفات به مدت سه هفته و کشت نمونه (در روز اول و بیست و یکم) بر روی CIN آگار و نگهداری در ۲۸ درجه سانتیگراد کلنی‌های با مرکز قرمز و هاله روشن در اطراف را پس از کشت بر روی KIA و مشاهده واکنش قلیایی/اسیدی (K/A) بدون $H_2S$ را جدا و باکتری‌های گرم منفی (توسط رنگ‌آمیزی و روش KOH) و همچنین اکسیداز منفی به عنوان انتروباکتریاسه نگهداری شدند. سپس با انجام آزمایشات بیوشیمیایی در ۳۷ درجه سانتیگراد بر اساس جدول ۵/۴۰ صفحه ۲۴۹ کتاب Bergey's manual نتایج زیر به دست آمد.

| آزمایش | نتایج نمونه جدا شده |
|---|---|
| ووژ- پروسکوئر | - |
| سیمونز سیترات | - |
| تولید $H_2S$ | - |
| فنیل آلانین دامیناز | - |
| لیزین دکربوکسیلاز (LIA) | - |
| حرکت ۳۷ درجه | - |
| حرکت ۲۵ درجه | + |
| تولید گاز از گلوکز | - |
| تولید اسید از آرابینوز | + |
| تولید اسید از مانیتول | + |

از کل نمونه‌های کشت شده تعداد ۴ نمونه با خصوصیات بالا جداگردید که به‌عنوان جنس یرسینیا در نظر گرفته شد. مشخصات نمونه‌های یرسینیا جدا شده در جدول شماره ۳ آورده شده است.

سپس جهت شناسایی نمونه *Y. enterocolitica* از سایر گونه‌های این جنس براساس جدول ۵/۲ صفحه ۲۲۰ (Bergey's manual) نتایج جدول به دست آمد.

نتایج آزمایشات انجام شده جهت تعیین بیوتیپ نمونه‌های جدا شده در جدول شماره ۵ خلاصه شده است.

براساس نتایج آزمایشات (جدول شماره ۵) نمونه‌های (۲، ۳ و ۴) جزء بیوتیپ ۲ و نمونه ۱ جزء بیوتیپ ۳ *Y. enterocolitica* محسوب می‌شوند.

ضمناً نمونه‌های *Y. enterocolitica* پس از جداسازی به مؤسسه رازی حصارک فرستاده شدکه پس از انجام تست اندول و اکسیداز با روش کریستال BBL، *Y. enterocolitica* تأیید شد.

همچنین از غدد لنفاوی نمونه شماره ۴ پس از جداسازی باکتری بر روی بروسلا آگار همراه با مکمل آنتی‌بیوتیکی (Oxoid) و ارسال نمونه به مؤسسه رازی حصارک، باکتری *B. abortus* بیوتیپ ۳ جداگردید.

به طور کلی نتایج حاصل از جداسازی یرسینیا در جداول شماره ۶ و ۷ خلاصه شده است.

**جدول شماره ۴- خصوصیات تفریقی نمونه‌های *Y. enterocolitica* جدا شده از سایر گونه‌های یرسینیا.**

| آزمایش | نتایج نمونه جدا شده |
|---|---|
| رنگ آمیزی گرم ۲۴ ساعت | - |
| اکسیداز ۲۴ ساعته | + |
| تولید اندول | +/- |
| متیل رد | + |
| ووژ- پروسکوئر | - |
| سیمونز سیترات | - |
| تولید سولفید هیدروژن | + |
| هیدرولیز اوره | + |
| لیزین دکربوکسیلاز | + |
| حرکت | - |
| تولید اسید از: | |
| ال - آرابینوز | + |
| لاکتوز | - |
| مالتوز | + |
| د - مانیتول | + |
| سالیسین | + |
| سوکروز | + |
| د- گزیلوز | + |
| احیاء نیترات | + |
| دزوکسی ریبونوکلئاز (۲۵°) | - |
| لیپاز | - |
| کاتالاز | + |
| O - F -گلوکز | F |

## بحث

آلودگی با *Y. enterocolitica* به عنوان یک بیماری مشترک بین انسان و دام از راههای گوناگون بهداشت و سلامتی انسان و حیوانات را تهدید می‌کند. تاکنون دانشمندان متعددی سروتیپ‌های مختلفی از *Y. enterocolitica* را در انسان و دام جدا نموده‌اند.

در سالهای ۱۹۷۸-۱۹۷۷ در مونترال طی یک بررسی ۱۵ ماهه از کشت مدفوع ۶۳۶۴ کودک مبتلا به گاستروآنتریت ۲/۸٪ مثبت و حال آن‌که در همین دوره زمانی کشت مدفوع ۵۴۵ کودک سالم بدون علائم گاستروآنتریت که به عنوان شاهد انتخاب گردیده بودند به طور کلی منفی گزارش گردید (۸).

در هلند در مطالعه‌ای که بر روی ۸۲۷ بیمار زیر ۴۰ سال مبتلا به آنتریت صورت گرفت از ۲/۹ درصد آنها *Y. enterocolitica* جداگردید (۸).

در یک بررسی بر روی کودکان مبتلا به اسهال در ایتالیا از مجموع ۲۵۰۰ نمونه مدفوع اخذ شده، ۱/۴ درصد یرسینیا جداگردید (۸).

در سال ۱۹۹۲ در نیجریه Ikheloa و همکارانشان *Y. enterocolitica* را به عنوان عامل عفونت مشترک در انسان و خوک گزارش کرد و ۴ بیوتیپ مقاوم به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین را شناسایی کردند (۱۲).

در ژاپن Fukushima و همکاران (۱۹۸۳) میزان وفور *Y. enterocolitica* را در گاوها ۰/۶٪ گزارش کردند (۱۰).

در ایران در طی تحقیقی توسط ذوقی و عبادی میزان *Y. enterocolitica* در نمونه‌های شیر ۱٪ گزارش گردید (۱۸).

در تحقیق حاضر در طی سال ۱۳۷۵ میزان وفور *Y. enterocolitica* در گاوهای کشتار شده در کشتارگاه مشهد ۲۳٪ تعیین گردید. با توجه به واکنش متقاطع سرولوژیکی بین *B. abortus* و سویه *Y. enterocolitica* O9 (۸) و اهمیت بروسلوز در ایران در طی این بررسی اختلاف معنی‌داری ($P<0.05$) بین تعداد نمونه جدا شده از گاوهای با عیار سرمی مثبت و منفی دیده ($0/5<P<0/75$، $K^2=0/252$). همچنین از کشت غدد لنفاوی پیش‌رانی و بیضه گاو با عیار سرمی مثبت بروسلا که *Y. enterocolitica* جدا شده بود نیز *B. abortus* بیوتیپ ۳ جداگردید. با توجه به گزارشات قبلی مبنی بر میزان وفور و جداسازی بیشتر یرسینیا در مناطق سردسیر و یا فوصل سرد سال (۸) در طی این بررسی نیز کل نمونه‌های یرسینیا در طی فصل زمستان جداگردید که شاید به دلیل شرایط بهتر زیست در محیط و یا بیماریزایی بیشتر باکتری در این فصل باشد.

همچنین در این تحقیق میزان آلودگی در جنس نر با جنس ماده ازنظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت ($0/9<P<0/95$ و $X^2=0/00697$).

ضمناً میزان جداسازی باکتری یرسینیا از کشت مدفوع به طور مستقیم در روز اول با کشت نمونه‌ها در روز بیست و یکم پس از غنی‌سازی در محیط بافر فسفات نمکی هیچ تفاوتی مُشاهده نشد، بر همین اساس می‌توان کشت نمونه مدفوع تازه را بر روی محیط اختصاصی CIN به عنوان روش تشخیص سریع آزمایشگاهی به کار برد.

## پیشنهادات

از آنجا که آلودگی به *Y. enterocolitica* سبب بیماریهای گوارشی و کاهش رشد در حیوانات و انسان خواهد گردید، اصول زیر باید مورد توجه قرار گیرد.

۱) با توجه به وسعت کشور ایران و کمی اطلاعات در رابطه با میزان دقیق آلودگی در گاوهای مناطق مختلف با در اختیار گذاشتن امکانات بیشتر می‌توان میزان وقوع بیماری را در استانهای مختلف شناسایی و علت شیوع و یا کنترل آن را بهتر بررسی نمود.

۲) در یک تحقیق گسترده می‌بایست میزان آلودگی در میزبانها و مخازن دیگر از جمله انسان، حیوانات اهلی و همچنین خاک و آب و سبزیجات و... مناطق مشخص، تا بتوان بر پایه آن روشهای کنترلی را اجرا کرد.

۳) جداسازی *Y. enterocolitica* از تعداد زیادی از غذاها از جمله فرآورده‌های گوشت و شیر، طیور، ماهی، میگو، سبزیجات و میوه‌ها در کشورهای دیگر لزوم توجه در از بین بردن صحیح باکتری با روشهای مناسب را طلب می‌نماید.

۴) با توجه به شرایط خاص رشد *Y. enterocolitica* در محیط‌های کشت (تفاوت واکنش در ۳۷ درجه سانتیگراد و ۲۵ درجه سانتیگراد)، بازآموزی صحیح نحوهٔ کشت به تکنسینهای آزمایشگاه‌های میکروب‌شناسی حائز اهمیت است.

۵) از آنجا که تداخل آنتی‌ژنتیکی بین سویه *Y. enterocolitica* O9 با *B. abortus* وجود داشته و

جدول شماره ۵- نتایج حاصل از تعیین بیوتیپ‌های نمونه‌های جدا شده

| | نمونه ۱ | نمونه ۲ | نمونه ۳ | نمونه ۴ |
|---|---|---|---|---|
| تولید اندول | - | + | + | + |
| تولید اسید از سوکروز | + | + | + | + |
| تولید اسید از گزیلوز | + | + | + | + |
| DNase | - | - | - | - |
| لیپاز (توئین ۸۰) | - | - | - | - |
| احیاء نیترات | + | + | + | + |
| لستیناز | - | - | - | - |

جدول شماره ۶- آمار نمونه‌های جدا شده *Y. enterocolitica* بر اساس فصول مختلف

| | بهار | تابستان | پاییز | زمستان | مجموع |
|---|---|---|---|---|---|
| تعداد نمونه گاو بروسلا مثبت | ۵۴ | ۸۷ | ۷۳ | ۵۲ | ۲۶۶ |
| (تعداد پرسینیا جدا شده) | (-) | (-) | (-) | (۱) | (۱) |
| تعداد نمونه گاو بروسلا منفی | ۷۷ | ۲۶۴ | ۴۸۵ | ۶۰۰ | ۱۴۲۶ |
| (تعداد پرسینیا جدا شده) | (-) | (-) | (-) | (۳) | (۳) |

جدول شماره ۷- آمار نمونه‌های جدا شده *Y. enterocolitica* بر اساس جنس

| | | | |
|---|---|---|---|
| تعداد نمونه گاو بروسلا مثبت | ۲۰ | ۲۴۶ | ۲۶۶ |
| (تعداد پرسینیا جدا شده) | (۱) | (-) | (۱) |
| تعداد نمونه گاو بروسلا منفی | ۶۴۹ | ۷۷۷ | ۱۴۲۶ |
| (تعداد پرسینیا جدا شده) | (۱) | (۲) | (۳) |
| مجموع | ۶۶۹ | ۱۰۲۳ | ۱۶۹۲ |
| | (۲) | (۲) | (۴) |

همچنین در سطح کشور هر ساله تعداد زیادی از گاوهای با عیار مثبت بروسلا که با روشهای سروآگلوتیناسیون تشخیص داده شده به کشتارگاه فرستاده می‌شوند، لذا می‌بایست همزمان با اخذ خون، نمونه مدفوع نیز از گاوها جهت عدم وجود باکتری *Y. enterocolitica* گرفته شود.

## سپاسگزاری

بدینوسیله از جناب آقای دکتر جلیل وندیوسفی، جناب آقای دکتر ذوقی و آقای دکتر عبادی اعضاء محترم هیأت علمی مؤسسه رازی حصارک، همچنین شبکه دامپزشکی استان خراسان، آقای عرب محقی، آقای سرمدی و کلیه همکاران محترم در مؤسسه رازی شعبه مشهد نهایت تشکر و قدردانی را می‌نماییم.

## پاورقی‌ها

1- Irgasan Novobiocin Agar Cefsulodin
2- Kligler Iron Agar
3- Voges proskauer
4- Agar Triple sugar Iron

## منابع مورد استفاده

1- Altorfer R., Altwegg M., Zollinger-iten J., and Graevenitz A., 1985. Growth of aeromonas SPP. on cefsulodin irgasan novobiocin agar selective for *Yersinia enterocolitica*. J. clin. Microbiol. Vol.22, No.10, P: 478-480.

2- Baron E.J. and Finegold S.M., 1990 Bailey and scott's diagnostic microbiology. Mosby. P: 102.

3- Bercovier H. and Mollaret H.H., 1984 Genus XIV Yersinia van loghem 1944. 15. Bergey's manual of systematic bacteriology Vol. 1, P: 498-506.

4- Blood D.C., 1989. Veterinary medicine. Bailliere tindall. Page: 677.

5- Brewer R.A. and Corbel M.J., 1983 Characterization of Yersinia enterocolitica strain isolated from cattle, sheep and pigsin the United kingdom. J. Hyg. Camb. 90< 425-433.

6- Chand P. and Sadana J.R., 1990. Serological cross-reaction between *Brucella abortus* and *Y. enterocolitica* o9 in aborted and apparently healthy cattle. India veterinary Journal. 67. 394-397.

7- Colee J.P., Dugivd A.G., Frase B.P, Marnion M. Curtney, 1989. Practical medical microbiology. 13th ed. vol. 2, P. 535-537.

8- Cover T.L. and Aber, 1989. *Yersinia enterocolitica*. The New England Journal of medicine. 21: 16-24.

9- Davis B.D. et al., 1990. Microbiology. J.B. Lippincott company, Fourth Edition. 605-606.

10- Fukushima H., Saito K., Tsubokura M., Otsuki K. and kawaoka Y., 1983. Isolation of yersinia spp. From bovine feces. J. Clin, Microbiol. Vol.18, No.4, P:981-982.

11- Holt John G. et al., 1994. Bergey's maunal of determinative bacteriology. Williams & Wilkins. 787PP.

12- Ikheloa J.O., Aruna M.B., Ayoade G.O., 1992. Biotypes and sensitivity screening *Yersinia enterocolotica* as an infective agent in man and swine in Nigeria. Revue-d, Elevage - et-de - Medecine-veterinaire-des-pays - tropicaux. 45: 2, 135-137.

13- Karmali M.A., Toma S., Schiemann D.A. and Fin S.H., 1987. Infection caused by *Yersinia enterocolitica* serotype 021. J. Clin. Microbiol.Vol. 15, No. 4, P. 590-598.

14- Murray P.R., Baron E.J. et al., 1995 Manual of clinical microbiology. American society for microbiology press, 454-455.

15- Parker M.T., 1984. Principles of bacteriology, virology and immunity 7th ed., CIV mosby company, Vol.1, P:365-375.

16- Varnam A.H. and Evans M.G., 1996. Foodborne pathogenes. Manson publishing Ltd, 135-136.

17- Weissfeld A.S. and Sonnenwirth A.C., 1982. Rapid isolation of yersinia spp. from feces. J. Clin. Microbiol, vol. 15, P. 508-510.

18- Zowghi E. and EBADI A., 1986. Isolation and identification of *Yersinia enterocolitica* xserotype o9 in cattle in IRAN. Arch. Inst. Razi. 36, 37. 79-83.