بررسی ساختار پادگنی سالمونلا تیفی موریوم و کاربرد آن برای ردیابی عفونت‌های ناشی از این باکتری

دکتر حسن تاج بخش[1] دکتر تقی زهرائی صالحی[1]

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۳، شماره ۳ و ۴، ۷۱ - ۶۷، (۱۳۷۷)

این بررسی در سه مرحله انجام گرفته است. بدین ترتیب که در مرحله اول با تزریق پادگن‌های فرمالینه و حرارت دیده به خرگوش و بز با روش ایمونودیفوزیون ساختار آنتی ژنی سالمونلا تیفی موریوم و به دنبال آن ساختار آنتی‌ژنی اختصاصی این باکتری مشخص گردید. با خورانیدن تعداد مشخصی از سه سروتیپ تیفی موریوم، دابلین و آبورتوس اویس به شش سر خرگوش در آنها سالمونلوز تجربی ایجاد نموده و سیر تکوین پادتن‌های رسوبی و نهایتاً امکان تشخیص سالمونلا تیفی موریوم ازطریق آزمایش سرم مورد بررسی و تحقیق قرار گرفت. در مرحله آخر تحقیق بر روی ۲۱۵۸ نمونه سرم اخذ شده از انسان و حیوانات با استفاده از پادگن حرارت دیده سالمونلا تیفی موریوم آزمایش ID انجام پذیرفت که‌نتایج زیر بدست آمد.از ۱۵۴۶ نمونه سرم مربوط به گاو تعداد۵۵ نمونه (۳/۵۵ درصد) با روش ID دارای خط رسوبی بودند که ویژگی خط رسوبی ۱۴ نمونه (۰/۹ درصد) نسبت به سالمونلا تیفی موریوم درآزمایش جذبی تکمیلی به اثبات رسید. در گوسفند از تعداد ۲۱۵ نمونه سرم اخذ شده ۱۴ نمونه (۶/۵۱ درصد) واکنش مثبت نشان دادند که ویژگی خط رسوبی ۸ نمونه (۳/۷۲ درصد) به اثبات رسید. از ۵۹ نمونه سرمی مربوط به شتر یک نمونه دارای خط رسوبی همراه با ویژگی نسبت به سالمونلا تیفی موریوم بود. از ۳۰۹ نمونه سرم اخذ شده از انسان ۶ نمونه (۱/۹۴ درصد) دارا ی واکنش مثبت بودند که ویژگی سه نمونه (۰/۹۷ درصد) به اثبات رسید .

واژه‌های کلیدی: سالمونلا، ایمونودیفوزیون، سالمونلوز، ساختار پادگنی.

سالمونلوز یکی از مهمترین بیماریهای مشترک بین انسان و دام می‌باشد که توسط باکتریهای جنس‌سالمونلا ایجاد می‌شود. جنس سالمونلا دارای بیش از ۲۴۰۰ سروتیپ می‌باشد که هر چند برخی از آنها به میزبان خاصی عادت یافته‌اند ولی می‌توان گفت که همگی بالقوه برای انسان و دام بیماریزا می‌باشند (۱۳و۱۷). در بین سالمونلاها، سالمونلا تیفی موریوم از جایگاه خاصی برخوردار است، چرا که هم ازنظر تنوع میزبانی و هم از نظر تنوع جغرافیایی سرآمدهمه سالمونلاها است. راه متداول تشخیص این سروتیپ پس از جدا کردن آن از نمونه‌های مرضی از جمله مدفوع، مشخص کردن آنتی ژنهای پیکری و تاژکی آن مطابق جدول کافمن - وایت ،بوسیله آنتی سرم‌های سالمونلا می‌باشد که خود با مشکلات و مسایل عدیده‌ای همراه است (۴،۵و۷و۱۲). به همین دلیل در این تحقیق روش خاصی مورد مطالعه قرار گرفته است که احتمالاً بدون جداکردن باکتری و استفاده از آنتی سرم، از طریق آزمایش سرم انسان و دام به کمک آنتی ژنهای ویژه وجودسالمونلای مشخص عامل عفونت یا آلودگی تعیین گرد. این روش با موقعیت در مورد عفونت ناشی از سالمونلا تیفی موریوم عملی گردید.

مواد و روش کار

تهیه تعلیق‌های پادگنی و سرم فوق ایمن: در این مرحله از تحقیق از وسایل، مواد و محیطهای زیر استفاده گردید.

۱- دستگاه‌های اولتراسونیکاتور، لیوفیلیزاتور و سانتریفیوژ.

۲- محیط‌های آگار سه قندی (TSI)، اوره، حرکت، برین هارت، سیمون سیترات، مک کانکی، آب پپتونه و MR-VP (۴،۵و۷).

۳-کیسه سلوفان وکاغذ صافی واتمن شماره یک.

۴- سرم فیزیولوژی، محلول بافرفسفاته (PBS)، فرمالین و الکل.

۵- آنتی سرم‌های پلی والان و منووالان سالمونلا.

الف. تهیه تعلیق‌های پادگنی :

برای تهیه پادگن‌های مختلف جهت تزریق و همچنین آزمایشات ویدال و ایمونودیفوزیون، چند سوش سالمونلا تیفی موریوم (شماره‌های ۱۱۰،۲۰۵و۱۱۳۱)و سوش هایی از سروتیپ‌های دابلین (شماره ۱۰۴۰)، آبورتوس اویس (شماره ۱۲۳) و پاراتیفی B (شماره ۱۹۰) را که در گنجینه میکروبی گروه میکروبیولوژی موجود بود انتخاب نموده و پس از انجام آزمایشات بیوشیمیایی و سرولوژیکی بر روی آنها هفت نوع پادگن حرارت دیده (۷۰ درجه بمدت ۳۰ دقیقه)، فرمالینه، فریز-دفریز (انجماد - ذوب، ده بار)، اشعه دیده (UV)، سونیکه و تعلیق‌های پادگنی O و H (۶۰۰۰۰۰۰۰۰ جرم در هر میلی لیتر) تهیه گردید (۷،۱۲و۱۷).

از تعلیق‌های پادگنی فوق دو پادگن حرارت دیده و فرمالینه جهت تزریقات و از تعلیق‌های پادگنی O و H جهت آزمایش ویدال O و H استفاده شد. در آزمایش ایمونودیفوزیون (ID) برحسب مورد پادگن‌های فوق به استثنای دو پادگن انتهایی بکار گرفته شدند (۹،۱۰،۱۲و۱۷).

ب. تهیه سرم فوق ایمن :

برای تهیه سرم فوق ایمن ۱۸ سرخرگوش و سه رأس بز انتخاب و پس از انجام آزمایشات باکتریولوژیکی و سرولوژیکی مناسب آنها را به گروه‌های خاصی تقسیم نموده و پادگن حرارت دیده و فرمالینه طبق برنامه منظمی به آنها تزریق شد. به خرگوش‌ها ۲۳ بار از راه زیر جلدی، ۱۰ بار از راه عضلانی، دوبار از راه وریدی و در کل ۲۱/۵ میلی‌لیتر پادگن در مدت بیش از ۹ ماه تزریق گردید. در این مدت ۵ بار نیز از خرگوش خونگیری به عمل آمد که سرم حاصله با پادگن‌های تفکیکی (پادگن‌های حرارت دیده، فرمالینه، سونیکه، فریز-دفریز و اشعه دیده) به روش ایمونودیفوزیون مورد آزمایش قرار گرفت. در بزها ۵۶ بار تزریق پادگنی شامل ۲۱ بار زیرجلدی، ۳۳ بار عضلانی و ۲ بار وریدی انجام پذیرفت و درطی آن ۹۴/۸ میلی لیتر پادگن حرارت دیده و فرمالینه درمدت بیش از یک سال و سه ماه به هر رأس بز تزریق شد. ۹ بار سرم اخذ شده از بزها با پادگن‌های مختلف سالمونلا تیفی موریوم و سایر سروتیپ‌ها مورد آزمایش ID قرار گرفت و نهایتاً ساختار آنتی ژنی سالمونلا تیفی موریوم تعیین گردید (۳،۱۲و۱۹).

ج. تهیه سرم جذب شده :

برا ی مشخص کردن ساختار آنتی ژنی اختصاصی سالمونلا تیفی موریوم از روش جذب سرم فوق ایمن با پادگن حرارت دیده سروتیپ‌های دابلین، استفاده آبورتوس اویس، نیوپورت و پاراتیفی B شد (۱۲).

سالمونلوز تجربی :

برای ایجاد سالمونلوز تجربی ۶ سر خرگوش انتخاب و تعداد 2×10^{9} باکتری از سروتیپ‌های تیفی موریوم، دابلین و آبورتوس اویس به آنها خورانیده شد.

۱) گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

قبل و ۲۴ ساعت پس از تلقیح از تک‌تک خرگوش‌ها و قفس‌های آنها به طور جداگانه کشت داده شد. این عمل تا ۸ روز به طور مداوم و بعد از آن هر چند روز ID انجام گرفت. ازخرگوش‌های آلوده قبل از تلقیح و همچنین در روزهای ویدال ۸،۱۴،۳۸و۶۳ بعد از تلقیح خونگیری به عمل آمد تا با آزمایش فرضیه تحقیق درسطح آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گیرد. ازاندامهای مختلف (کبد، کلیه، روده ،عقده‌های لنفاوی مزانتریک، کیسه صفرا، قلب، ریه و طحال) خرگوش‌های تلف شده در روزهای ۱۷و۲۳ بعد از تلقیح با سالمونلا دابلین و همچنین خرگوش هایی که درآخرین مرحله خونگیری (۶۳ روز بعد از آلوده شدن) مورد کالبد گشائی قرار گرفتند، جهت کشت و بررسیهای آسیب‌شناسی نمونه‌برداری گردید (۶،۸،۱۳و۱۵).

خونگیری از دامها و انسان :

پس از خونگیری از انسان و دامها، خونها رابه مدت یک شب درآزمایشگاه قرار داده و سپس با سانتریفوژکردن سرم را جدا نموده و در داخل شیشه‌هایی که بدین منظورتهیه شده بود ریخته می‌شد. در مجموع تعداد ۲۱۵۸ نمونه سرم از انسان (۳۰۹ نمونه)، گاو (۱۵۴۶ نمونه)، گوسفند (۲۱۵ نمونه) و شتر (۵۹ نمونه) تهیه شد. از ۳۰۹ نمونه انسانی ۵۸ نمونه آن مربوط به دانشجویان سال چهارم دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و بقیه مربوط به افرادی بود که به هر دلیل به یکی از آزمایشگاه‌های تشخیص طبی تهران و تبریز مراجعه کرده بودند. همچنین از ۱۵۴۶ نمونه گاوی، ۲۰۸ نمونه مربوط به گاوهای بومی ایران (سرابی، سیستانی و گلپایگانی)، ۱۰۲۳ نمونه مربوط به گاوهای نژاد هلشتاین و ۳۱۵ نمونه مربوط به گاوهای مراجعه شده به درمانگاه شماره ۲ دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران بود.

کشت مدفوع :

۱۳۵ نمونه مدفوع از گاوها ی مراجعه شده به درمانگاه شماره ۲ اخذ و جهت جداسازی سالمونلاها درمحیط‌های سلنیت F، مک کانکی، TSI و سایر محیط‌های تفریقی کشت داده شد.

نتایج

قسمت اول: نتایج مربوط به مرحله ایمن سازی

الف. خرگوش

در پنج مرحله سرم تهیه شده ازخرگوش‌ها با پادگن حرارت دیده و فرمالینه سالمونلا تیفی موریوم با روش ID مورد آزمایش قرار گرفت که نهایتاً در آخرین مرحله ایمن سازی خرگوش‌های ایمن شده با پادگن فرمالینه با پادگن حرارت دید ه چهار خط رسوبی و با پادگن فرمالینه سه خط رسوبی ظاهر کردند. خرگوش‌های ایمن شده با پادگن حرارت دیده با پادگن‌های فوق سه خط رسوبی بروز دادند. جهت پیگیری روند ایمن سازی از آزمایش ویدال (آگلوتیناسیون) استفاده شد ولی نتایج حاصله ازاین آزمایش با نتایج حاصله از آزمایش ID به طور کامل همخوانی نداشت.

ب. بز

در طی بیش از یک سال و سه ماه که ایمن سازی در بزها به طول انجامید در مجموع ۹ بار سرم بزها با پادگن‌های مختلف سالمونلا تیفی موریوم و سایر سروتیپ‌ها با روش ID مورد آزمایش قرار گرفت. در خونگیری نهایی سرم بزهای ایمن شده با پادگن فرمالینه و حرارت دیده به ترتیب با پادگن حرارت دیده ۸ و ۷ خط رسوبی و با پادگن فرمالینه دو خط رسوبی ظاهر نمودند. همچنین این سرمها با پادگن‌های سونیکه و فریز- دفریز شده سالمونلا تیفی موریوم مورد آزمایش قرار گرفتند که با هر دوی این پادگن‌ها ۹ خط رسوبی نشان دادند. سرم‌های فوق با پادگن حرارت دیده سالمونلا دابلین پنج خط رسوبی با پادگن حرارت دیده سالمونلا نیوپورت دو خط رسوبی و با پادگن حرارت دیده سالمونلا آبورتوس اویس دوخط رسوبی نمایان ساختند که در این بین یکی از این خطوط در تمام سروتیپ‌های ذکر شده مشترک بود.

ساختار پادگنی سالمونلاتیفی موریوم :

با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایش ایمونودیفوزیون سرم‌های فوق ایمن خرگوشی و بزی که به ترتیب حاوی ۴ و ۸ خط رسوبی بودند می‌توان گفت که سرم فوق ایمن خرگوشی در مقایسه با سرم فوق ایمن بزی از قدرت تفکیکی کمتری برخوردار بوده است که این مسئله ممکن است ناشی از ظرفیت ایمنی متفاوت این دوگونه حیوانی باشد. از آنجائیکه هر خط رسوبی خود معرف وجود حداقل یک مجتمع پادتن - پادگن و به عبارت دیگر وجود یک ساختار آنتی ژنی مستقل درپادگن و درنتیجه شناسائی آن توسط بدن و تولید پادتن ضد آن است، ازاین رو دستگاه ایمنی بدن بز حداقل نسبت به ۸ نوع آنتی ژن متفاوت پاسخ داده و برعلیه آنها پادتن تولید کرده است. باید توجه داشت که برخی از این آنتی‌ژنها بین سالمونلا تیفی موریوم و سایر سروتیپ‌های سالمونلا مشترک است در صورتیکه برخی دیگر اختصاصی این سروتیپ می‌باشد. نتیجه نهایی آنکه «ساختار آنتی ژنی سالمونلا تیفی موریوم حداقل از ۸ قسمت مجزا، مستقل و مشخص تشکیل شده که برخی از آنها با سایر سالمونلاها مشترک بوده و برخی دیگر اختصاصی خود سروتیپ و وجه تمایز آن با سروتیپ‌های دیگر است».

سرم جذب شده :

با تکرار چندین بار عمل جذب با سروتیپ‌های مختلف نهایتاً سرم فوق ایمن جذب شده با سالمونلا دابلین و یا پاراتیفی B به میزان دو حجم سرم و سه حجم پادگن تنها با سالمونلا تیفی موریوم خط رسوبی ایجاد نمود و با سایر سروتیپ‌ها واکنشی نشان نداد. این سرم جذب شده ویژگی فوق‌العاده زیادی نسبت به سالمونلا تیفی موریوم نشان داد و تنها با این سروتیپ سه خط رسوبی ظاهر کرد که خود معرف سه نوع آنتی ژن اختصاصی در این باکتری است.

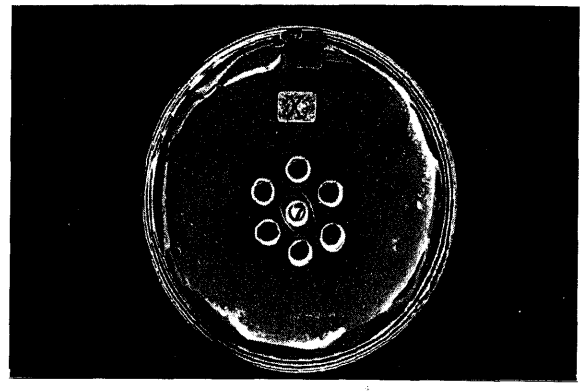
قسمت دوم: نتایج مربوط به ایجاد سالمونلوز تجربی درخرگوش

۱. زمان جداشدن سروتیپ تلقیح شده ازمدفوع : سالمونلا دابلین سریعتر از دو سروتیپ دیگر و به ترتیب ۱و۳ روز بعد از تلقیح از مدفوع خرگوش‌های مربوطه جدا گردید. سالمونلا تیفی موریوم ۴و۷ روز بعد از سالمونلا آبورس اویس ۱۳و۲۲ روز بعد از خرگوش‌های آلوده جدا شد.

۲. سروآگلوتیناسیون: ۸ روز پس از تلقیح باکتری اثراتی از آگلوتینین‌های O و H در برخی از خرگوش‌ها مشاهده گردید. ۱۴ روز پس از تلقیح هرچند که عیار آگلوتینین O تمامی خرگوش‌ها بالاتر از حد تشخیص $\frac{1}{40}$ بود ولی تنها عیار آگلوتینین H خرگوش‌های تلقیح شده با سالمونلا دابلین فراتر از حد تشخیصی قرار داشت. این روند تا پایان تجربه به همین ترتیب وجود داشت.

۴- آسیب‌شناسی: درمقاطع تهیه شده از کبد ندولهای تیفوئیدی بویژه در خرگوش‌های تلقیح شده با سالمونلا دابلین و تیفی موریوم مشاهده گردید.

۵- تشخیص سروتیپ سالمونلای تلقیح شده به خرگوش‌ها با آزمایش ID : هدف اصلی از ایجاد سالمونلوز تجربی ارزیابی آزمایشگاهی امکان تشخیص سالمونلا تیفی موریوم از طریق آزمایش سرم خرگوش‌های آلوده بود که این مسئله نیز باتشخیص خرگوش‌های آلوده شده با سالمونلا تیفی موریوم و



تصویر ۱ ـ تشخیص عفونت سالمونلا تیفی موریوم از طریق آزمایش سرم خرگوش‌های مبتلا به سالمونلوز تجربی. سرم‌های شمارهٔ ۲و۵ دارای خط اختصاصی می‌باشند که یکی از خطوط سرم جذب شده متصل شده‌اند (خرگوش‌های آلوده شده با سالمونلاتیفی موریوم). گوده‌های شماره ۱و۴ دارای سرم جذب شده و گوده‌های شماره ۳و۶ دارای سرم خرگوش‌های آلوده شده با سالمونلا آبورتوس اویس می‌باشند.

تفکیک آنها از خرگوش‌های آلوده شده به سالمونلا آبورتوس اویس تحقق یافت (تصویر ۱).

قسمت سوم: نتایج مربوط به آزمایش ایمونودیفوزیون سرم‌های انسانی و دامی

پس از مشاهده امکان تشخیص سالمونلا تیفی موریوم از طریق آزمایش سرم و اثبات فرضیه تحقیق در سطح آزمایشگاهی لازم می‌نمود که این مسئله در سطح جمعیت‌های دامی و انسانی نیز مورد بررسی قرار گیرد. از این رو در این قسمت، بر روی سرم‌های اخذ شده از انسان، گاو، گوسفند و شتر آزمایش ایمونودیفوزیون (ID) انجام گرفت تا ارزش واقعی این رهیافت آشکار شود.

۱. گاو : از ۱۰۲۳ سرم آزمایش شده مربوط به گاوهای هلشتاین تعداد ۳۰ نمونه با پادگن حرارت دیده سالمونلا تیفی موریوم واکنش نشان دادند که ویژگی خطوط رسوبی ۷ نمونه سرم در آزمایش جذبی تکمیلی به اثبات رسید. از این رو میزان حضور پادتن‌های رسوبی ضد سالمونلا ۲/۹۳ درصد و میزان حضور پادتن‌های اختصاصی سالمونلاتیفی موریوم ۰/۶۸ درصد می‌گردد. از ۲۰۸ نمونه اخذ شده از گاوهای بومی شامل سه نژاد سرابی (۱۳۹ نمونه)، گلپایگانی (۴۳ نمونه) و سیستانی (۲۶ نمونه) به ترتیب ۲،۱۲ و یک نمونه با پادگن حرارت دیده سالمونلاتیفی موریوم خط رسوبی ظاهر نمودند که به ترتیب معرف حضور ۸/۶۳، ۴/۶۵ و ۳/۸۵ درصد پادتن‌های رسوبی ضد سالمونلا در این نژادها است. تنها ویژگی خطوط رسوبی ۶ نمونه از موارد مثبت گاوهای سرابی در آزمایش جذبی اثبات گردید. در مجموع میزان حضور پادتن‌های رسوبی ضد سالمونلا در گاوهای بومی ۷/۲۱ درصد و میزان آلودگی وحضور پادتن‌های اختصاصی سالمونلا تیفی موریوم ۳/۸۸ درصد می‌باشد. از ۱۰ نمونه مثبت مربوط به نمونه‌های اخذ شده از گاوهای بیمار (۳۱۵ نمونه) تنها یک نمونه حاوی پادتن‌های اختصاصی سالمونلا تیفی موریوم بود که بدین‌ترتیب ۳/۱۷ درصد این گاوها دارای پادتن‌های رسوبی ضد سالمونلا و ۰/۳۱ درصد آنها دارای پادتن‌های اختصاصی سالمونلا تیفی موریوم بودند.

۲. گوسفند : از ۲۱۵ نمونه اخذ شده از گوسفند تعداد ۱۴ نمونه (۶/۵۱ درصد) با پادگن حرارت دیده سالمونلا تیفی موریوم خط رسوبی نشان دادند که ویژگی خط رسوبی ۸ نمونه (۳/۷۲ درصد) در ازمایش جذبی قطعی شد.

۳. شتر : از ۵۹ نمونه اخذ شده در شتر یک نمونه با پادگن حرارت دیده خط رسوبی ظاهر نمود که ویژگی آن نیز به اثبات رسید.

۴. انسان : ازمجموع ۳۰۹ نمونه انسانی، ۶ مورد (۱/۹۴ درصد) دارای واکنش مثبت و خط رسوبی بودند که در سه مورد (۰/۹۷ درصد) ویژگی آنها در آزمایش جذبی تکمیلی اثبات شد.

در نمودار ۱ میزان حضور پادتن‌های رسوبی ضد سالمونلا و همچنین پادتن‌های اختصاصی سالمونلا تیفی موریوم در انسان، گاو، گوسفند، و شتر آمده است.

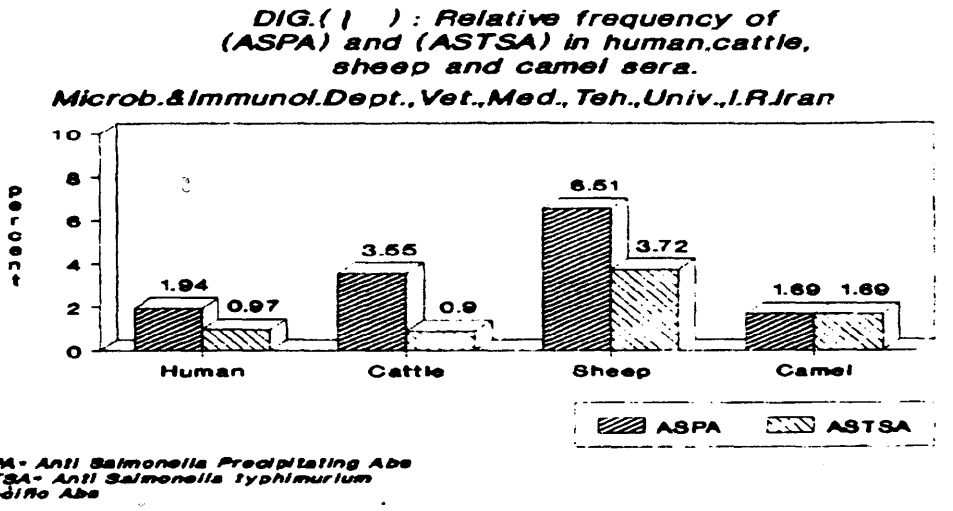
کشت مدفوع : ۱۳۵ نمونه مدفوع کشت داده شده از گاوهای بیمار (مراجعه شده به درمانگاه شماره ۲) در سه مورد سالمونلا جدا گردید که دو مورد آن به گروه سرمی B و یک مورد آن به گروه سرمی D تعلق داشت. سرم یکی از این گاوها در آزمایش ID با پادگن حرارت دیده سالمونلا تیفی موریوم خط رسوبی (بدون ویژگی) از خود نشان داد.

در پیگیری و تعقیب نتایج آزمایش ID مدفوع سه نفر از دانشجویان دامپزشکی که سرم آنها با پادگن حرارت دیده سالمونلا تیفی موریوم واکنش مثبت نشان داده بود کشت داده شد که از دو نفر آنها سالمونلا جدا گردید. این مسئله خود تأیید خوبی بر اثبات فرضیه تحقیق می‌باشد.

بحث

وایت‌ساید و باکر (Whiteside & Baker) با استفاده از روش ایمونودیفوزیون بر روی آنتی‌ژنهای موجود در عصاره سالمونلاهای گروه‌های سرمی A، B، D_1، D_2 مطالعه‌ای انجام داده و شش خط رسوبی در سالمونلاهای گروه D مشخص کرده است که برخی از آنها در گروه‌های فوق مشترک و برخی دیگر اختصاصی گروه D بوده است. هولم و ادبو (Holme & Edebo) تحقیق مشابهی را بر روی سالمونلاتیفی موریوم، انتریتیدس و بونارینسیس به عمل آورده و آنتی‌ژنهای اختصاصی و غیراختصاصی آنها را مشخص کرده است. نامبردگان سه خط اختصاصی با روش ID در سالمونلا تیفی موریوم مشخص کرده‌اند. ما نیز در تحقیق حاضر به نتیجه مشابهی در مورد آنتی‌ژنهای اختصاصی رسیدیم.

تاج بخش و رفیعی زاده در سال ۱۳۶۴، ۱۴۸۲ نمونه سرم گاوی را جهت جستجوی پادتن‌های ضد سالمونلا تیفی موریوم مورد آزمایش ویدال O و H قرار داده و میزان آلودگی را ۰/۹ درصد مشخص کرده‌اند. در عین حال ۲۰۰ نمونه سرم (۱۴/۶ درصد) از مجموعه نمونه‌های فوق حاوی عیار $\frac{1}{40}$ O به بالا بوده‌اند. در این مطالعه نیز از ۱۵۴۶ نمونه سرم گاوی آزمایش شده با روش ID



نمودار ۱: فراوانی نسبی پادتن‌های رسوبی ضد سالمونلا و اختصاصی سالمونلا تیفی موریوم در انسان، گاو، گوسفند و شتر.

۵۵ نمونه (۳/۵۵ درصد) حاوی پادتن‌های رسوبی ضد سالمونلا بودند که ویژگی خطوط رسوبی ۱۴ (۰/۹ درصد) به اثبات رسید. همان طوری که ملاحظه می‌شود میزان آلودگی به سالمونلا تیفی موریوم در هر دو مطالعه به طور تعجب آوری یکسان است. باید توجه داشت که آزمایش ID این حسن را داراست که پادتن‌های رسوبی ضد سالمونلا را نیز مشخص می‌کند. میزان بالا حضور پادتن‌های رسوبی ضد سالمونلا (۳/۵۵ درصد) در مقایسه با آزمایش ویدال ممکن است به این علت باشد. تاج بخش و مهدی پور در سال ۱۳۶۷ و تاج بخش و محزونیه در سال ۱۳۷۶ میزان آلودگی گوسفند را به سالمونلا آبورتوس اویس به ترتیب ۳/۷ و ۱/۳ درصد مشخص کرده‌اند ولی متأسفانه در مورد میزان آلودگی گوسفند به سالمونلا تیفی موریوم مطالعه‌ای صورت نگرفته است. در انسان میزان آلودگی و حضور پادتن‌های رسوبی ضد سالمونلا در بین دانشجویان دامپزشکی (۵/۱۷ درصد) بیشتر از افراد شهری مراجعه کرده به آزمایشگاه (۱/۱۹ درصد) بود که احتمالاً این مسئله به خاطر تماس بیشتر دانشجویان با دام و محیط‌های آلوده می‌باشد.

اشتنباخ (Steinbach) و همکاران در سال ۱۹۹۳ تحقیق جالبی را در مورد وجود واکنش‌های متقاطع بین سروتیپ‌های مختلف سالمونلا انجام داده است. بدین ترتیب که ۵ گروه ۵ رأسی از گوساله‌ها را به طور خوراکی با سالمونلا آگونا، دابلین، انتریتیدیس، انفنتیس و تیفی‌موریوم آلوده نموده و در هر گروه دوره عفونت و پاسخ ایمنی هومورال را بر علیه ۵ فرآورده آنتی‌ژنی مشابه و ۴ فرآورده آنتی ژنی نامشابه با روش الیزا و آگلوتیناسیون H مورد بررسی قرار داده است. در این مطالعه گوساله‌های آلوده با سالمونلا تیفی موریوم (۱۲، ۵، ۴ و ۱: O) واکنش‌هایی بر علیه آنتی ژن O_4 سالمونلا آگونا (۱۲، ۵، ۴ و ۱: O) و سالمونلا انفنتیس (۷ و ۶ : O) نشان داده‌اند. واکنش‌هایی در مورد آگلوتینین‌های H سالمونلا تیفی موریوم (۱ و ۲: H_1.iH_2) با آنتی‌ژنهای H سروتیپ نامشابه انفنتیس (۵ و ۱: H_1 : rH_2) و آگونا (H: f,g,s) مشاهده شده است. به علاوه سرم دامهای آلوده به سالمونلا تیفی موریوم تمایل محدودی به آنتی‌ژن H سالمونلا دابلین (H: g,p) و سالمونلا آنتریتیدیس (H: g,m) نشان داده‌اند. نامبرده انگیزه تحقیق خود را مشاهده وجود واکنش‌های مثبت برعلیه سالمونلا دابلین در گله‌هایی ذکر می‌کند که بمدت چندین سال عاری از سروتیپ ذکر شده بوده‌اند و در نهایت نتیجه‌گیری می‌کند که آنتی بادیهایی که در جریان عفونت در بدن ایجاد می‌شوند اغلب با الگویی که از جدول کافمن - وایت انتظار می‌رود سازگاری ندارد و احتمال می‌دهد که یکی از دلایل این مسئله بروز آنتی ژنهایی بوسیله سروتیپ‌های زنده در بدن باشد که در روش‌های متداول تولید آنتی‌سرم برانگیخته نمی‌شوند. ما نیز د راین تحقیق به این نتیجه رسیدیم که ساختار آنتی‌ژنی سالمونلا دابلین (H: g,p ۱۲،۹و۱:O) در مقایسه با سالمونلا آبورتوس اویس (۶و ۱ H_1:c H_2: ۱۲ و ۴:O) شباهت بیشتری به سالمونلا تیفی موریوم دارد در صورتی که باتوجه به جدول کافمن - وایت نبایستی این گونه باشد. از اینرو می‌توان گفت که ناشناخته‌های بسیاری در مورد ساختار آنتی‌ژنی سالمونلاها وجود دارد و جدول کافمن - وایت تنها یک راهگشاست.

تشکر و قدردانی

هزینه این تحقیق توسط معاونت پژوهشی دانشگاه تهران تأمین شده است که بدین وسیله قدردانی می‌شود.

منابع

۱. محزونیه، محمدرضا. ساختار آنتی‌ژنی سالمونلا آبورتوس اویس. پایان‌نامه تخصصی میکروبیولوژی، شماره ۴۹، ۲۵۲ - ۲۴۷، (۱۳۷۵).

۲. مهدی‌پور، فرامرز. بررسی سرمی آلودگی گوسفند و بز به سالمونلا آبورتوس اویس در استان‌های مازندران و اصفهان. پایان‌نامه دکترای عمومی دامپزشکی، شماره ۱۷۷۵، (۱۳۶۸).

3. Barber, C.E. and Keydar, J., 1968. Surles determinats des enterobacteriaceae. Pathologia et Microbiologia. 31: 321-327.

4. Baron, E.J. and Finegold, S.M., 1990. Bailery and Scott's Diagnostic Microbiology. 8 th ed. PP. 83, 92, 363, 385.

5. Biberstein, E.L. and Zee, Y.C., 1990. Review of Veterinary Microbiology P. 100-101.

6. Casaro, A.P., Zamora, A.S., Furowicz, A.J. and Terzolo, H.R., 1980. Experimental production of salmonellosis inrabbits with salmonella typhimurium. Vet. Bul. Vol. 50, No. 8. Abs. 4701.

7. Colle, J.G., Duguid, J.P.,Fraser, A.G. and Marmoin, B.P., 1989. Mackie & Mc Cartney Practical Medical Microbiology 13 th ed. PP. 456 - 481 Churchill Livinstone.

8. Duglic Vandic, N. and Markovic, B. 1990. Experimental studies on a cutaneous allergic test for salmonellosis. Vet. Bul.

Vol. 60, No. 12, Abs. 8030.

9 . Holme, T. and Edebo, L. 1965. Studies of salmonella antigens by the agar gel Precipitin test. Acta Path. et microbiol,. Scandinau 65, 287 - 249.

10 . Hudson, L. and Hay, F. C. 1989. Practical Immunology 3th ed. PP. 233 - 236. Blackwell scientific publications.

11 . Jubb, K. V. F., Kennedy, P. C. and Palmer, N., 1993. Pathology of Domestic Animals. 4 th ed. Vol. 2, P. 213 - 227. Academic press.

12 . Kauffmann, F. 1971. Serological Diagnosis of Salmonella species Kauffmann - White schema. PP. 99 - 125. The Williams & Wilkin Company.

13 . Parma, A. E., Cerone, S., Erpelding, A., Margni, R. A. 1981. Immune response in rabbits injected with S. typhimurium. Vet. Bul. 51 (11). Abs. 7030.

14 . Popoff, M. Y., Bockemuhl, J. & Brenner, F. W. 1998. Supplement 1997 (no. 41) tothe Kauffmann-Wite scheme. Res. Microbiol. 149: 601 - 604.

15 . Prokopowics, D., Rejniak, L 1975. Histopathological changes in some organs in the course of experimental S. agona infection of rabbits. Acta Morphologica Academiae Scientiarum Hungaricae.

16 . Steinbach, G., Dinjus, V., Gottschaldt, J., Kreutzer, B. andStakk, C. 1993. Course of infection and humoral immunity reaction in calves infected orally with different samonella serovars. J. Vet. Med. B 40, 515 - 21.

17 . Tadjebakhche, Hl. et Gatel, A. 1972. Incidence serologique des anticorps anti-samonella abortus ovis ches less animaux deomestiques en Iran. Rev. Med. Vet. 148, 1027 - 30.

18 . Timoney, J. F., Gillespie, J. H., Scott, F. W. and Barlough, J. E. 1988. Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals 8 th. ed. PP. 47-88.

19 . Whiteside, R. E. and Baker, E.E., 1962. Antigenic analysis of S.typhosa and related salmonelas. J. Immunol 88: 650.

The study of salmonella typhimurium antigenic structure and it's application for identification of related infections

Tajbakhsh, H.[1], **Zahraei Salehi T.**[1]

[1]*Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.*

The purpose of this research that was carried out for 4 years was to establish a special diagnostic method for identification of salmonella typhimurium infections via examining the human and animal sera. To approach this goal, this research was done in three steps: 1- Preparation of the anti S.typhimurium hyperimmunesera and preparation of specific atntibodies against this bacterium. Therefore two kinds of animals i.e goats and rabbits were immunized with heated and formalized antigens of S. typhimurium during over 300 days. Double immunodifusion (ID) test revealed that sera of immunized goats detected 8 precipitation arcs and sera of immunized rabbits detected 4 arcs against heated antigen of S. typhimurium at maximum with these immune sera we detected specific antigenic structure of S. typhimurium. 2 - Development of an experimental salmonellosis in rabbits with S. typhimurium, S. dublin and S. abrotus ovis. In this experiment, we distincted infected rabbits with S. typhimurium from other infected rabbits with, S. dublin and S. abortus ovis by ID test. 3 - Identificaton of S. typhimurium infection by examining human & animal sera. In this step, totaly 2120 sera samples of human (309 samples) & animals (1546 cattle, 215 sheep and 59 camel) were examined by ID test.

key words: Salmonella, Salmonellosis, Antigenic structure, Immunodifusion