دوره شانزدهم ـ شماره ۱ ـ بهار ۱۳۹۹
DOI: 10.22055/ivj.2019.143669.2060

جداسازی و شناسایی گونه‌های *کمپیلوباکتر* در مدفوع گربه‌های خانگی شهرستان اهواز با روش‌های کشت و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

بهمن مصلی‌نژاد[۱*]، داریوش غریبی[۲]، رضا آویزه[۳] و روزبه عباسی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۷/۵/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۴/۱

چکیده

کمپیلوباکتریوز یک بیماری مشترک بین انسان و دام است که موجب اسهال در انسان، سگ، گربه و دیگر حیوانات اهلی و وحشی می‌شود. هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی آلودگی به *کمپیلوباکتر* در گربه‌های خانگی ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز بود؛ همچنین فاکتورهای خطر نظیر سن، جنس، نژاد، وضعیت تغذیه و روش زندگی (محیط باز یا بسته) بررسی شدند. در این تحقیق، نمونه‌ی مدفوع از ۱۰۱ قلاده گربه (۳۵ گربه‌ی اسهالی و ۶۶ گربه‌ی به ظاهر سالم) تهیه و به دو روش کشت و PCR مورد آزمایش قرار گرفتند. در کشت باکتریایی، تنها ۲ مورد از نظر *کمپیلوباکتر* مثبت بودند (۱/۹۸ درصد)؛ اما در روش PCR، ۳۷ مورد آلودگی به *کمپیلوباکتر* تعیین گردید (۳۶/۶۳ درصد). شایع‌ترین گونه‌ی *کمپیلوباکتر* در میان گربه‌های ارجاعی، *کمپیلوباکتر آپسالینسیس* و *کمپیلوباکتر کولای* بودند که به ترتیب ۲۳ و ۷ مورد (۶۲/۱۶ و ۱۸/۹۱ درصد) از ۳۷ مورد مثبت تشخیص داده شده را به خود اختصاص دادند. یک شیوع پایین‌تر از آلودگی به *کمپیلوباکتر ژژونی* در ۴ مورد (۱۰/۸۱درصد)، برای عفونت هم‌زمان به گونه‌های *کمپیلوباکتر کولای* و *ژژونی* ۲ مورد (۵/۴۰ درصد) و گونه‌های *کمپیلوباکتر آپسالینسیس* و *لاری* ۱ مورد (۲/۷۰ درصد) مشخص گردید. میزان شیوع در گربه‌های اسهالی و سالم به ترتیب ۵۷/۱۴ و ۲۵/۷۵ درصد تعیین گردید. از نظر آماری، در روش PCR، ارتباط معنی‌داری بین آلودگی به *کمپیلوباکتر* در گربه‌های سالم و اسهالی وجود داشت؛ همچنین فاکتورهای سن، نژاد، تغذیه و روش زندگی، تفاوت معنی‌داری را نشان دادند؛ اما فاکتور جنس تأثیر معنی‌داری در آلودگی به *کمپیلوباکتر* نداشت. در مجموع به دلیل حضور مکرر گونه‌های *کمپیلوباکتر* در مدفوع گربه‌ها، این اجرام می‌توانند به عنوان یک عامل مخاطره‌آمیز، برای سلامت عمومی نقش بازی کنند. بر این اساس، تست‌های دوره‌ای و جدا کردن گربه‌های اسهالی از دیگر حیوانات، به خصوص گربه‌هایی که از گوشت خام استفاده و در پناهگاه زندگی می‌کنند، اهمیت زیادی دارد.

کلمات کلیدی: *کمپیلوباکتر*، کشت، PCR، گربه، اهواز

مقدمه

کمپیلوباکتر[1] یک باکتری گرم منفی، میله‌ای متحرک (در اندازه‌ی ۵-۱/۵ × ۰/۵-۰/۲ میکرومتر)، اکسیداز مثبت، کاتالاز متغیر، فاقد اسپور و میکروآئروفیلیک[2] است. گونه‌های این باکتری موجب اسهال در انسان، سگ، گربه و دیگر حیوانات اهلی و وحشی می‌گردد. از گونه‌های مهم *کمپیلوباکتر* در حیوانات خانگی می‌توان به *کمپیلوباکتر آپسالینسیس*، *کمپیلوباکتر ژژونی*، *کمپیلوباکتر هلوتیکوس*، *کمپیلوباکتر لاری*، *کمپیلوباکتر فلیس* و *کمپیلوباکتر کولای* اشاره کرد که از سگ‌ها و گربه‌های اسهالی و بدون علامت جدا شده‌اند (James 2012). اگر چه شایع‌ترین گونه‌ی

[۱*] استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران bmosallanejad@scu.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)
[۲] دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۳] استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۴] دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

1- *Campylobacter*
2- Microaerophilic

جدا شده از حیوانات، *کمپیلوباکتر آپسالینسیس* است، اما این گونه تنها موجب عفونت‌های اسپورادیک در انسان می‌شود. هشتاد درصد عامل کمپیلوباکتریوز در انسان، *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکتر کولای* است (Acke et al. 2009). روش انتقال اجرام، دهانی- مدفوعی است. از آن جا که موارد عفونت ناشی از *کمپیلوباکتر* در انسان، در حال افزایش است، تعیین شیوع این پاتوژن‌ها، در حیواناتی که در تماس بسته با انسان زندگی می‌کنند، مهم است.

سگ‌ها و گربه‌های آلوده ممکن است بدون علائم بالینی بوده ولی باکتری را از خود دفع نمایند، لذا تشخیص دقیق و سریع حیوانات حامل، بسیار حائز اهمیت می‌باشد؛ البته گاهی هم علائم بالینی (اسهال) در حیوانات گزارش شده است. شدت بیماری بستگی به تعداد ارگانیسم‌های خورده شده توسط میزبان، میزان در معرض قرار گرفتن‌های قبلی و سطح آنتی‌بادی محافظ در بدن دارد. زمانی که استرس به حیوانات وارد شود، به بیماری حساس‌تر خواهند شد. دیگر پاتوژن‌های روده‌ای نظیر *پاروویروس*، *کروناویروس*، *ژیاردیا*، *سالمونلا* و *شیگلا* ممکن است نقش سینرژیسم بازی کنند (James 2012). حضور خون و لکوسیت‌ها در مدفوع، پرخونی، ادم، اولسر مخاط و گهگاهی سپتی‌سمی نشان می‌دهد که باکتری می‌تواند تهاجمی باشد. عفونت تجربی در بچه گربه‌ها و سگ‌ها، با سویه‌های به دست آمده از انسان‌های مبتلا به اسهال، شدت کم‌تری داشته است. به نظر می‌رسد که حیوانات مقاوم‌تر باشند و یا به اثرات بیماری‌زای گونه‌های مختلف *کمپیلوباکتر*، بهتر سازگاری پیدا کرده باشند (Andrzejewska et al. 2013, James 2012). علائم اسهال ناشی از *کمپیلوباکتر* در حیوانات خانگی و نیز انسان، از مدفوع شل تا آبکی و اسهال موکوئید همراه با خون متغیر است. کمپیلوباکتریوز حاد، با اسهال مملو از موکوس، آبکی و یا رگه‌های صفرا، بی‌اشتهایی جزئی و گهگاهی استفراغ، بالارفتن درجه‌ی حرارت و لکوسیتوز همراه است. علائم بالینی در گربه‌ها نسبت به سگ‌ها، شدت کم‌تری دارد و در صورت بروز علائم، درگربه‌های با سن کم‌تر از ۶ ماه، بیش‌تر دیده می‌شود (James 2012). بچه گربه‌ها و توله سگ‌ها، به دلیل فقدان در معرض قرار گرفتن‌های قبلی و توسعه‌ی آنتی‌بادی محافظ، بیش‌تر علائم بالینی را نشان می‌دهند.

به طور کلی سگ‌ها و گربه‌های بالغ صاحب‌دار، نسبت به حیوانات ولگرد و یا آن‌هایی که در پناهگاه و محیط‌های آزمایشگاهی نگهداری می‌شوند، کم‌تر مبتلا می‌شوند. فاکتورهای خطر شامل زندگی کردن با حیوان آلوده، کوچک بودن جثه‌ی حیوان، داشتن سن کم‌تر از ۱ سال، تغذیه با غذاهای تجاری و به ویژه گوشت خام طیور و در برخی موارد شیر غیر پاستوریزه می‌باشد. در فصل پاییز، نیز شیوع آلودگی بیش‌تر گزارش شده است (James 2012). در ایران شناسایی *کمپیلوباکتر*، از سگ‌ها و گربه‌های شهر تهران گزارش شده است (Mahzoonieh et al. 2013). در دیگر مطالعات میزان جداسازی باکتری، از مدفوع گربه‌ها و سگ‌ها، از صفر تا ۵۰ درصد متغیر بوده است (James 2012). روش معمول برای تشخیص باکتری، تهیه‌ی سوآب از مدفوع تازه یا گرفتن نمونه از رکتوم است. تست‌های رایج نظیر الایزا[1] برای تشخیص کمک‌کننده هستند؛ اما روش مولکولی نظیر PCR[2]، از دقت بالاتری برخوردار است.

داروی مناسب برای درمان اسهال ناشی از *کمپیلوباکتر* در انسان، اریترومایسین است که جهت درمان کمپیلوباکتریوز در سگ‌ها نیز مؤثر است. از دیگر آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده، فورازولیدن، جنتامایسین، نئومایسین، کلیندامایسین و تتراسیکلین گزارش شده است. رعایت جنبه‌های بهداشتی برای پیش‌گیری از عفونت در انسان لازم است، چرا که عمدتاً سگ‌ها و گربه‌ها می‌توانند به عنوان منبع عفونت مطرح باشند؛ بنابراین لازم است صاحبان حیوانات خانگی هر ۶ ماه یک بار جهت انجام آزمایش مدفوع به بیمارستان‌های دامپزشکی مراجعه نمایند

1- ELISA
2 Polymerase Chain Reaction (PCR)

(James 2012). از آن جایی که تا کنون مطالعه‌ای بر روی *کمپیلوباکتر* در گربه‌های منطقه‌ی اهواز صورت نگرفته است، هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، بررسی حضور این باکتری در گربه‌های خانگی این منطقه و بررسی فاکتورهای خطر نظیر سن، جنس، نژاد، مصرف گوشت خام در جیره‌ی غذایی، نوع نگهداری (محیط باز یا بسته) و وضعیت دستگاه گوارش (از لحاظ اسهالی بودن) بود. نتایج حاضر می‌تواند اطلاعات سودمندی را فراهم نموده و با توجه به جنبه‌های زئونوتیک بیماری، هم از نظر پزشکی و هم دامپزشکی واجد اهمیت است.

مواد و روش کار

در این تحقیق، طی مدت ۸ ماه، از آبان ماه ۱۳۹۶ لغایت خرداد ۱۳۹۷، با مراجعه به بخش داخلی دام‌های کوچک بیمارستان دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، ضمن اخذ تاریخچه‌ی کامل از گربه‌های ارجاعی، اقدام به جمع-آوری نمونه گردید. نمونه‌گیری به کمک سوآب استریل از ناحیه‌ی رکتوم تعداد ۳۵ قلاده گربه‌ی مبتلا به اسهال و ۶۶ قلاده گربه‌ی به ظاهر سالم انجام شد. نمونه‌برداری تنها از گربه‌هایی صورت گرفت که در یک ماه اخیر، تجویز آنتی-بیوتیک در آن‌ها صورت نگرفته بود. برای نمونه‌گیری، از دو سوآب به شکل هم‌زمان استفاده گردید. یک سوآب برای کشت و جداسازی باکتری و نمونه‌ی سوآب دیگر به منظور استخراج DNA، استفاده گردید. جهت کشت و جداسازی، نمونه‌های سوآب مدفوعی اخذ شده، بلافاصله به محیط کشت مایع پرستون براث منتقل و به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز ارسال گردید. نمونه‌ی سوآب مدفوع دیگر جهت استخراج DNA به میکروتیوب حاوی آب مقطر استریل منتقل و تا زمان استخراج در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

ابتدا به منظور غنی‌سازی باکتری *کمپیلوباکتر*، نمونه‌های اخذ شده با سوآب، به محیط پرستون براث منتقل شدند و در شرایط میکروآئروفیلیک و برای مدت ۴۸ ساعت انکوبه گردید. پس از این مدت، یک لوپ کامل از این محیط برداشته و در محیط آگار خون‌دار حاوی آنتی‌بیوتیک و به صورت کشت چهار منطقه‌ای، کشت داده شد. نحوه‌ی اضافه کردن آنتی‌بیوتیک به محیط کشت، به این شکل بود که به ازای هر ۵۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت، پلی‌میکسین B (۰/۰۰۵ گرم معادل ۲۵۰۰۰۰ واحد)، پیروات سدیم (۰/۱۲۵ گرم)، سولفات آهن (۰/۱۲۵ گرم)، ریفامپیسین (۰/۰۰۵ گرم)، تری‌متوپریم (۰/۰۰۵ گرم) و آمفوتریسین B (۰/۰۰۵ گرم) افزوده شد. پلیت‌ها در جار مخصوص، تحت شرایط میکروآئروفیلیک، در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و برای مدت ۴۸ ساعت، در انکوباتور گذاشته شدند. پس از آن، پلیت‌ها از انکوباتور خارج و پرگنه‌های مشکوک به *کمپیلوباکتر* (با انجام آزمایش اکسیداز بر روی پرگنه‌های با اندازه‌ی متوسط) انتخاب و به منظور تهیه‌ی کشت خالص، در سطح آگار خون‌دار کشت داده شدند. پس از انکوباسیون ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و تحت شرایط میکروآئروفیلیک، از باکتری‌های رشد کرده گسترش تهیه گردید و پس از رنگ‌آمیزی با گرم یا کربول فوشین رقیق‌شده (DCF)، مورفولوژی و خصوصیات باکتری *کمپیلوباکتر* بررسی گردید. هم‌زمان بر روی باکتری‌هایی که از لحاظ میکروسکوپی، مورفولوژی باکتری *کمپیلوباکتر* را داشتند تست اکسیداز، کاتالاز و رشد در دمای ۲۵ و ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد نیز انجام گردید. پرگنه-های مشکوک به *کمپیلوباکتر*، پرگنه‌هایی کوچک با رنگ مایل به خاکستری، موکوسی، بدون همولیز و معمولاً با لبه‌ی منظم ایجاد می‌شدند و کاتالاز و اکسیداز مثبت، گرم منفی، میله‌ای مارپیچی شکل و منظره‌ای شبیه به فنر، حرف S و یا بال مرغ دریایی داشتند. پرگنه‌های مشکوک به *کمپیلوباکتر*، جداسازی و خالص‌سازی شدند و جهت تشخیص قطعی با روش PCR، در برودت ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند (Markey et al. 2013).

DNA مورد نیاز جهت این آزمون، توسط کیت استخراج DNA شرکت بیونیر، بر روی نمونه‌های سوآب اخذ شده و پرگنه‌های مشکوک انجام گردید. در این تحقیق از

آغازگرهای اختصاصی جنس *کمپیلوباکتر* و گونه‌های آن (*ژژونی*، *کولای*، *لاری* و *آپسالینسیس*) برای ردیابی جنس و گونه‌های احتمالی *کمپیلوباکتر* در سوآب‌های مدفوعی و نیز تأیید جدایه‌های *کمپیلوباکتر* از پرگنه‌های مشکوک، در واکنش PCR چندگانه استفاده گردید (Yamazaki-Matsune et al. 2007). همچنین از DNA استخراج شده جدایه‌های مشکوک، به عنوان DNA الگو، از DNA گونه‌های *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کولای* (اهدایی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران) به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی استفاده گردید (Table 1).

جهت بررسی و مشاهده‌ی محصولات PCR، از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده گردید. پس از تهیه‌ی ژل آگارز و قرار دادن آن در بافر TAE ۱X درون تانک الکتروفورز، ۱۰ میکرولیتر از محصولات PCR داخل چاهک‌های ایجاد شده درون ژل آگارز بارگذاری گردید. جهت اطمینان از صحت طول قطعات تکثیر شده از مارکر مولکولی ۵۰ bp استفاده شد. پس از پایان الکتروفورز، جهت مشاهده‌ی باندهای تفکیک شده، ژل در دستگاه ترانس لومیناتور قرار داده شد و با تابش نور UV بر روی ژل، قطعات تکثیر شده DNA از نظر صحت طول قطعه، با مارکر مولکولی، مقایسه و مورد بررسی قرار گرفتند (Yamazaki- Markey et al. 2013). باندهای تکثیری مربوط به جنس و گونه‌های *کمپیلوباکتر* در قسمت ذیل آورده شده است (Figure 1).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۹ انجام گرفت. ابتدا برای شناخت بیش‌تر نمونه‌های آماری، داده‌های توصیفی، به صورت فروانی و درصد تشریح شدند (Tables 2-4)، سپس برای بررسی تعیین ارتباط بین آلودگی به *کمپیلوباکتر* و متغیرهای سن، جنس، نژاد، تغذیه، نوع نگهداری (محیط باز یا بسته) و وضعیت دستگاه گوارش (سالم و اسهال) از آزمون مربع کای استفاده گردید. همچنین از رگرسیون لاجستیک برای محاسبه نسبت شانس استفاده گردید.

نتایج

شیوع *کمپیلوباکتر*

در روش کشت، با جمع‌بندی نتایج مورفولوژی و آزمون‌های دیگر نظیر کاتالاز، ۵ جدایه مشکوک شناسایی شد، اما در نهایت تنها ۲ مورد، تأیید نهایی گردید. گونه‌های مربوط به این ۲ جدایه، یکی گونه‌ی *کمپیلوباکتر ژژونی* و دیگری *کمپیلوباکتر کولای* تعیین شدند. در بررسی ۱۰۱ نمونه سوآب مدفوعی با استفاده از PCR چندگانه، ۳۷ نمونه (۳۶/۶۳ درصد از کل نمونه‌ها) مربوط به جنس *کمپیلوباکتر* تعیین گردید (فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد)؛ که گونه‌ی *کمپیلوباکتر آپسالینسیس* ۲۳ مورد (۶۲/۱۶ درصد)، *کمپیلوباکتر کولای* ۷ مورد (۹۱/ ۱۸درصد)، *کمپیلوباکتر ژژونی* ۴ مورد (۱۰/۸۱ درصد)، آلودگی هم‌زمان به گونه‌های *کمپیلوباکتر کولای* و *کمپیلوباکتر ژژونی* ۲ مورد (۵/۴۰ درصد) و گونه‌های *آپسالینسیس* و *کمپیلوباکتر لاری* ۱ مورد (۲/۷۰ درصد) مشخص گردید (Figure 1). میزان شیوع در گربه‌های اسهالی و سالم به ترتیب ۵۷/۱۴ درصد و ۲۵/۷۵ درصد تعیین شدند.

نقش سن: توزیع فراوانی گربه‌های آلوده به *کمپیلوباکتر* و غیرآلوده، به تفکیک سن ارائه شده است (Table 2). آزمون مربع کای نشان داد که در روش PCR، ارتباط معنی-داری بین رده‌های سنی و آلودگی وجود دارد (P=۰/۰۴۷). میانگین و انحراف معیار سن گربه‌های آلوده و غیرآلوده به *کمپیلوباکتر* به ترتیب ۴/۲۵±۸/۵۶ و ۵/۸۹±۱۱/۱۲ ماه بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری داشتند (P=۰/۰۲۳)؛ اما در روش کشت، آزمون مربع کای نشان داد که ارتباط معنی-داری بین رده‌های سنی و آلودگی وجود ندارد (P=۰/۲۱۹). رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی در گربه‌های ۱ ساله و کم‌تر، ۲/۳۶ برابر گربه‌های بزرگ‌تر از ۱ سال (فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد، ۵/۵۸ – ۱/۰۰۲) است (P=۰/۰۵). سن، ۳/۹۴ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

نقش جنس: توزیع فراوانی گربه‌های آلوده به *کمپیلوباکتر* و غیرآلوده، به تفکیک جنس ارائه گردیده است

(Table 3). هم در روش PCR و هم در روش کشت، آزمون مربع کای نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین جنسیت و آلودگی وجود ندارد (P>۰/۰۵). رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی در جنس نر ۱/۴۳ برابر جنس ماده (فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد، ۱/۹۱–۰/۳۸) است (P>۰/۰۵). جنسیت حیوان، ۰/۷۲ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

نقش نژاد: در روش PCR، آزمون مربع کای نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین نژاد و آلودگی وجود دارد (P=۰/۰۰۱). اما در روش کشت، ارتباط معنی‌داری بین نژاد و آلودگی وجود نداشت (P=۰/۱۷). رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی در گربه‌های نژاد مخلوط، ۴/۸۵ برابر نژاد پرشین (فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد، ۱۵/۳۴–۲/۳۸) است (P=۰/۰۰۱). نژاد، ۱۲/۶ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

نقش نوع نگهداری: در روش PCR، آزمون مربع کای نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین نوع نگهداری و آلودگی وجود دارد (P=۰/۰۰۱)؛ اما در روش کشت ارتباط معنی‌داری بین نوع نگهداری و آلودگی وجود نداشت (P>۰/۰۵). رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی در گربه‌های نگهداری شده در محیط باز، ۳/۸۹ برابر گربه‌های ساکن در محیط بسته (فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد، ۱۱/۲۳–۱/۹۸) است (P=۰/۰۰۱). نوع نگهداری، ۱۰/۱۷ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

نقش تغذیه: در روش PCR، آزمون مربع کای نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین نوع تغذیه و آلودگی وجود دارد (P=۰/۰۰۶)؛ اما در روش کشت ارتباط معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی در گربه‌های مصرف‌کننده‌ی گوشت خام، ۳/۲۲ برابر گربه‌های مصرف‌کننده‌ی گوشت پخته (فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد، ۸/۱۱–۱/۴۹) است (P=۰/۰۰۶). تغذیه، ۷/۶۸ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

نقش وضعیت دستگاه گوارش (سالم یا مبتلا به اسهال): توزیع فراوانی موارد آلوده به *کمپیلوباکتر* به تفکیک وضعیت دستگاه گوارش (سالم یا مبتلا به اسهال) ارائه شده است (Table 4). در روش PCR، آزمون مربع کای نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین وضعیت دستگاه گوارش (اسهال) و آلودگی وجود دارد (P=۰/۰۰۲)؛ همچنین در روش کشت نیز ارتباط وجود داشت (P=۰/۰۵). رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی در گربه-های مبتلا به اسهال، ۳/۸۴ برابر گربه‌های به ظاهر سالم است (فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد، ۹/۱۵۰ –۱/۶۱) است (P=۰/۰۰۲). وضعیت دستگاه گوارش، ۹/۷ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

ارتباط بین حساسیت روش PCR و کشت: بررسی آماری نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین دو روش PCR و کشت وجود دارد (P<۰/۰۵) و توافق بین این دو روش، ضعیف بوده است (آماره کاپا= ۰/۰۶۸).

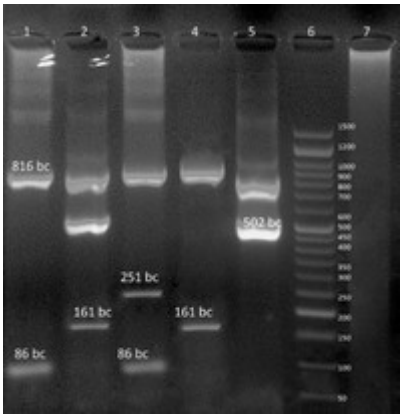

Figure 1: Duplicate band related to the genus and *Campylobacter* species. No. 1: Positive sample of *Campylobacter upsaliensis*, No. 2: Positive sample of *Campylobacter jejuni*, No. 3: Positive sample of *Campylobacter coli,* No. 4: Positive sample of *Campylobacter jejuni*, No. 5: Positive sample of *Campylobacter coli*, No. 6: Molecular Marker (bp50) and No. 7: Negative control.

Table 1. Nucleotide sequence of primer, target gene and product size to detect *Campylobacter* genus and species (Wataru et al., 2007).

Gene	Genus/Species	Sequence	Size
16 SrRNA	*Campylobacter*	F:5¹ - GGATGACACTTTTCGGAGC -3¹ R: 5¹ - CATTGTAGCACGTGTGTC -3¹	816
Aspartokinase	*C. coli*	F:5¹ - GGTATGATTTCTACAAAGCGAG-3¹ R: 5¹ - ATAAAAGACTATCGTCGCGTG-3¹	502
Oxidoreductase	*C. jejuni*	F:5¹ -CAAATAAAGTTAGAGGTAGAATGT-3¹ R:5¹ - CCATAAGCACTAGCTAGCTGAT-3¹	161
GlyA	*C. lari*	F:5¹ - TAGAGAGATAGCAAAAGAGA -3¹ R: 5¹ - TACACATAATAATCCCACCC -3¹	251
LpxA	*C. upsaliensis*	F:5¹ - CGATGATGTGCAAATTGAAGC -3¹ R: 5¹ - TTCTAGCCCCTTGCTTGATG -3¹	86

Table 2. Distribution of absolute and relative frequency of *Campylobacter* infection in the population of cats referred to Veterinary Hospital of Shahid Chamran University of Ahvaz based on age between 2017- 2018 years

Frequency / Age	Negative		Positive		Total	
	Absolute	Relative (%)	Absolute	Relative (%)	Absolute	Relative (%)
≤ 1 year	32	55.17	26	44.83	58	57.43
> 1 year	32	74.42	11	25.58	43	42.57
Total	64	-	37	-	101	100

Table 3. Distribution of absolute and relative frequency of *Campylobacter* infection in the population of cats referred to Veterinary Hospital of Shahid Chamran University of Ahvaz based on gender between 2017- 2018 years

Frequency / Age	Negative		Positive		Total	
	Absolute	Relative (%)	Absolute	Relative (%)	Absolute	Relative (%)
Female	35	71.43	14	28.57	49	48.51
Male	33	63.46	19	36.54	52	51.49
Total	68	-	33	-	101	100

Table 4. Distribution of absolute and relative frequency of *Campylobacter* infection in the population of cats referred to Veterinary Hospital of Shahid Chamran University of Ahvaz based on diarrheic or none-diarrheic between 2017-2018 years

Frequency / Age	Negative		Positive		Total	
	Absolute	Relative (%)	Absolute	Relative (%)	Absolute	Relative (%)
Diarrheic	15	42.86	20	57.14	35	34.65
Healthy	49	74.24	17	25.76	66	65.35
Total	64	-	37	-	101	100

بحث

در مطالعه‌ی حاضر از ۱۰۱ نمونه مدفوع مورد بررسی، با استفاده از دو روش کشت و PCR، به ترتیب ۲ و ۳۷ مورد آلودگی به *کمپیلوباکتر* (میزان شیوع ۱/۹۸ و ۳۶/۶۳ درصد) به دست آمد. در این تحقیق، میزان شیوع در گربه‌های مبتلا به اسهال و به ظاهر سالم به ترتیب ۵۷/۱۴ و ۲۵/۷۱ درصد تعیین گردید. شیوع *کمپیلوباکتر* به تفکیک گونه در روش PCR، *کمپیلوباکتر آپسالینسیس* ۲۳ مورد (۶۶/۱۶ درصد)، *کمپیلوباکتر کولای* ۷ مورد (۱۸/۹۱ درصد)، *کمپیلوباکتر ژژونی* ۴ مورد (۱۰/۸۱ درصد)، و آلودگی هم‌زمان به گونه‌های *کمپیلوباکتر کولای و ژژونی* ۲ مورد (۵/۴۲ درصد) و آلودگی هم‌زمان به گونه‌های *کمپیلوباکتر لاری* و *آپسالینسیس* ۱ مورد (۲/۷ درصد)، مشخص گردید. میزان جداسازی اجرام *کمپیلوباکتر* بستگی به عوامل مختلف، از جمله محیط نگهداری حیوان دارد، به نحوی که در محل‌های متراکم نظیر پناهگاه‌ها، شیوع عفونت بالاتر خواهد بود. فاکتورهای خطر در این زمینه عواملی نظیر استرس، تغییرات جیره‌ی غذایی از جمله مصرف غذای خام و افزایش شیوع بیماری‌های گوارشی ذکر شده است (James 2012). در مطالعه‌ی حاضر، میزان شیوع *کمپیلوباکتر* (۳۶/۶۳ درصد) در یک حد نسبتاً بالا به دست

آمد. از دلایل احتمالی آن می‌توان به دسترسی گربه‌های خانگی به محیط بیرون و دیگر عوامل خطر (نظیر اسهالی بودن، دسترسی به غذای خام و سن زیر ۱ سال)، اشاره کرد.

با انجام مطالعات اپیدمیولوژیک، شیوع عفونت ناشی از *کمپیلوباکتر* و گونه‌ی غالب آن در مناطق مختلف دنیا، متفاوت ذکر شده است. از مهم‌ترین دلایل ذکر شده می‌توان به تفاوت در جمعیت مورد مطالعه، جمعیت متفاوت گربه‌های اسهالی و سالم، سن و تراکم متفاوت گربه‌ها، سبک زندگی، تکنیک‌های مختلف به کار برده شده جهت تشخیص، موقعیت جغرافیایی منطقه، جیره‌ی غذایی و نیز فصل نمونه‌برداری اشاره نمود. به عنوان نمونه شیوع عفونت در آلمان (۴۷/۸ درصد؛ گونه غالب *کمپیلوباکتر هلوتیکوس*)، ایرلند (۴۲/۹ درصد؛ گونه‌ی غالب *کمپیلوباکتر آپسالینسیس*)، سوئیس (۴۱/۹ درصد؛ گونه‌ی غالب *کمپیلوباکتر آپسالینسیس*)، باربادوس (۳۷/۳ درصد؛ گونه‌ی غالب *کمپیلوباکتر هلوتیکوس*)، نیجریه (۱۸/۳ درصد؛ گونه‌ی غالب *کمپیلوباکتر آپسالینسیس*)، نروژ (۱۸ درصد؛ گونه‌ی غالب *کمپیلوباکتر آپسالینسیس*)، آرژانتین (۱۶ درصد؛ گونه‌ی غالب *کمپیلوباکتر ژژونی*)، لهستان (۹/۸۶ درصد؛ گونه‌ی غالب *کمپیلوباکتر ژژونی*) و برزیل (۸ درصد؛ گونه‌ی غالب *کمپیلوباکتر ژژونی*) گزارش شده است (Andrzejewska et al. 2013, James 2012, Sandberg et al. 2012, Wieland et al. 2005). در مطالعه‌ی دیگر، Rodriguez و همکاران در سال ۲۰۱۵، ۱۶۰ نمونه مدفوع از کودکان و ۱۲۰ نمونه از گربه‌ها و سگ‌ها جمع‌آوری کردند. میزان شیوع آلودگی در کودکان ۶/۸۷ درصد و حیوانات خانگی ۱۸/۳ درصد به دست آمد. در تحقیق Lazou و همکاران در سال ۲۰۱۴، بر روی ۱۳۲ قلاده گربه و ۱۸۰ قلاده سگ، میزان شیوع آلودگی به ترتیب ۱۲/۱ و ۳/۸ درصد به دست آمد. Acke و همکاران در سال ۲۰۰۹، با مطالعه بر روی نمونه‌های مدفوع ۱۲۰ قلاده گربه و سگ (در دو پناهگاه)، میزان شیوع را به ترتیب ۷۵ و ۵۱/۱ درصد به دست آوردند. بالا بودن آلودگی در این کشورها می‌تواند به دلیل نگهداری تعداد بیش‌تر حیوانات خانگی، ارتباط بیش‌تر گربه‌ها و سگ‌ها با یکدیگر در پارک‌ها و رها شدن مدفوع در نقاط مختلف باشد.

در ایران نیز تاکنون چندین مطالعه صورت گرفته است، از جمله در تحقیق Mohammadzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۲ و با استفاده از روش PCR، که بر روی ۶۰ قلاده سگ خانگی در شهرکرد صورت گرفت، شیوع آلودگی، ۱۸ مورد (۳۰ درصد) ذکر گردید که از این تعداد تنها ۵ مورد (۸/۵۵ درصد) آلوده به *کمپیلوباکتر ژژونی* بودند. در مطالعه‌ی Mahzoonieh و همکاران در سال ۲۰۱۳، بر روی ۱۰۰ نمونه مدفوع گربه و سگ در تهران و به روش PCR، ۳۹ مورد آلودگی به *کمپیلوباکتر* مشاهده گردید که میزان آلودگی در گربه‌ها (۲۳ مورد) بیش‌تر از سگ‌ها (۱۶ مورد) بود. در تحقیق Vazirian و همکاران در سال ۲۰۱۶، بر روی ۵۰ نمونه مدفوع گربه، از نظر حضور *کمپیلوباکتر* و به روش PCR، شیوع آلودگی ۲۲ درصد را نشان داد. Rahimi و همکاران در سال ۲۰۱۲، با مطالعه بر روی ۴۷ قلاده گربه از استان‌های اصفهان و فارس نشان دادند که ۲۷/۷ درصد از آن‌ها، آلوده به *کمپیلوباکتر* بودند. از این تعداد، ۸ مورد *کمپیلوباکتر هلوتیکوس* (گونه‌ی غالب)، ۴ مورد *کمپیلوباکتر ژژونی* و ۱ مورد *کمپیلوباکتر آپسالینسیس* تشخیص داده شد. از ۱۳ مورد مثبت، ۱۱ تا از آن‌ها اسهالی و ۲ مورد سالم بودند. در تحقیق آن‌ها، تفاوت معنی‌داری در شیوع *کمپیلوباکتر*، بین گربه‌های بالغ (۲۹/۴ درصد) و جوان (۲۶/۷ درصد) به دست نیامد. در مطالعه‌ی حاضر، گونه‌ی غالب *کمپیلوباکتر آپسالینسیس* تعیین گردید (۶۶/۱۶ درصد؛ ۲۳ تا از ۳۷ مورد) و در رده‌های بعدی *کمپیلوباکتر کولای*، *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکتر لاری* قرار داشتند.

در مورد اجرام *کمپیلوباکتر*، احتمال حضور باکتری‌های آسیب دیده وجود دارد که بعضاً قابل جداسازی در محیط‌های کشت نیستند. در این شرایط، استفاده از روش‌های غنی‌سازی برای بازیابی این باکتری‌ها در مراحل جداسازی و استفاده از تکنیک‌های دیگر نظیر PCR ضروری است (James 2012, Polzler et al. 2018). در بررسی حاضر، شانس آلودگی در گربه‌های با سن کم‌تر از یک سال، ۲/۳۶

برابر بیش‌تر از یک سال بود و در روش PCR ارتباط معنی-داری بین رده‌های سنی و شیوع آلودگی وجود داشت. همسو با این بررسی Moser و همکاران در سال ۲۰۰۱، Sandberg و همکاران در سال ۲۰۰۲، Engvall و همکاران در سال ۲۰۰۳، Wieland و همکاران در سال ۲۰۰۵، Westgarth و همکاران در سال ۲۰۰۸، Moyaert و همکاران در سال ۲۰۰۸، Mohammadzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۲، Andrzejewska و همکاران در سال ۲۰۱۳، Selwet و همکاران در سال ۲۰۱۵، Holmberg و همکاران در سال ۲۰۱۵ و Vazirian و همکاران در سال ۲۰۱۶، میزان شیوع عفونت در حیوانات جوان بیش‌تر از رده‌های سنی بالاتر بود. از جمله دلایل آن می‌توان به ضعیف بودن بچه گربه‌ها به شکل مادرزادی، عدم دسترسی به مادر پس از تولد (نخوردن آغوز)، تغذیه از شیر جایگزین شونده و کلونیزاسیون عامل در بدن که تشخیص آن را بسیار سخت می‌کند، اشاره کرد؛ همچنین پایین بودن سطح ایمنی در گربه‌های جوان، آن‌ها را مستعد ابتلا به بیماری‌های مختلف، از جمله عفونت ناشی از گونه‌ی *کمپیلوباکتر ژژونی* می‌کند. بچه گربه‌ها و سگ‌های نژاد کوچک آلوده به *کمپیلوباکتر ژژونی*، بیش‌تر علائم بیماری را نشان می‌دهند که احتمالاً دلیل آن، تولید نشدن میزان کافی از آنتی‌بادی‌های محافظت‌کننده در بدن می‌باشد.

با توجه به این که اکثر عفونت‌های باکتریایی، ویروسی و تک‌یاخته‌ای در گربه‌های جوان زیر ۱ سال دیده می‌شود و *کمپیلوباکتر* نیز در گربه‌های زیر ۱ سال شیوع بیش‌تری دارد، این امر ممکن است به علت عفونت‌های هم‌زمان نیز باشد (James 2012). طی یک بررسی در ایرلند، در ۵۰ درصد از نمونه‌هایی که از نظر *کمپیلوباکتر آپسالینسیس* مثبت بودند، ۴۱/۹ درصد به *کمپیلوباکتر ژژونی*، ۲/۶ درصد به *کمپیلوباکتر کولای*، ۱/۵ درصد به *کمپیلوباکتر لاری* و ۱/۱ درصد نیز به شکل هم‌زمان آلوده به *کمپیلوباکتر هلوتیکوس* بودند (James 2012). در تحقیق Moyaert و همکاران در سال ۲۰۰۸، از بین نمونه‌های مثبت، دو مورد که آلوده به گونه‌ی *کمپیلوباکتر آپسالینسیس* بودند، یکی به گونه *کمپیلوباکتر کولای* و دیگری نیز به گونه *کمپیلوباکتر ژژونی* آلوده بود.

در بررسی حاضر، ارتباط معنی‌داری بین جنسیت و آلودگی وجود نداشت. در بررسی Vazirian و همکاران در سال ۲۰۱۶، با مطالعه بر روی گربه‌ها، بیان نمودند که فراوانی آلودگی در جنس ماده بیش‌تر از نرها می‌باشد، اما Gargiulo و همکاران در سال ۲۰۰۸، Salihu و همکاران در سال ۲۰۱۰، Mahzoonieh و همکاران در سال ۲۰۱۳ و Lazou و همکاران در سال ۲۰۱۴ با مطالعه روی سگ‌ها، نشان دادند که هیچ ارتباط معنی‌داری بین جنس و میزان آلودگی وجود ندارد. تحقیق حاضر، از این نظر با نتایج محققین فوق هم‌خوانی دارد. در بررسی حاضر، میزان شیوع آلودگی در گربه‌های نژاد مخلوط نسبت به نژاد پرشین بیش‌تر بود و در روش PCR ارتباط معنی‌داری بین نژاد و آلودگی وجود داشت؛ اما در روش کشت ارتباطی وجود نداشت که علت آن می‌تواند به دلیل تعداد کم نمونه-های مثبت باشد. بررسی حاضر نشان داد که در روش PCR، ارتباط معنی‌داری بین نوع نگهداری و میزان آلودگی وجود دارد؛ اما در تحقیق Andrzejewska و همکاران در سال ۲۰۱۳، ارتباط معنی‌داری بین میزان آلودگی و زندگی در پناهگاه‌ها مشاهده نشد که اثبات این یافته نیاز به تحقیقات بیش‌تر دارد. در سایر بررسی‌های صورت گرفته Wieland و همکاران در سال ۲۰۰۵ و Acke و همکاران در سال ۲۰۰۹ بیان کردند که گربه‌ها و سگ‌هایی که در مکان‌های متراکم و پناهگاه نگهداری می‌شوند، میزان بیش-تری از آلودگی را نشان می‌دهند که می‌تواند به دلیل افزایش ارتباط بین آن‌ها و انتقال سریع‌تر آلودگی باشد. در تحقیق Tsai و همکاران در سال ۲۰۰۷، بیان نمودند که میزان آلودگی به *کمپیلوباکتر* در سگ‌های ولگرد بالاتر از خانگی می‌باشد. از دلایل آن نیز می‌توان دسترسی آزاد به منابع، گوشت خام سایر حیوانات و پرندگان وحشی اشاره کرد.

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که در روش PCR، ارتباط معنی‌داری بین تغذیه و آلودگی وجود دارد و شانس آلودگی در گربه‌های مصرف کننده‌ی گوشت خام بیش‌تر از پخته

است. در تحقیق Jamshidi و همکاران در سال ۲۰۰۸، ۱۰۰ لاشه‌ی طیور، جهت بررسی آلودگی به *کمپیلوباکتر* مورد مطالعه قرار گرفتند. میزان آلودگی به روش PCR چندگانه، ۲۸ درصد گزارش گردید. گوشت مرغ یکی از مواد غذایی است که مورد استفاده‌ی گربه‌ها و سگ‌ها قرار می‌گیرد و از آن جا که پرندگان می‌توانند آلوده به *کمپیلوباکتر* شوند، در انتقال این عامل به حیوانات خانگی بسیار مؤثر می‌باشند. James و همکاران در سال ۲۰۱۲، نشان دادند که احتمال بروز آلودگی در سگ‌هایی که از گوشت خام تغذیه می‌کنند، بیش‌تر می‌باشد. همچنین Andrzejewska و همکاران در سال ۲۰۱۳، بیان کردند که بسیاری از حیوانات آلوده به *کمپیلوباکتر*، از منابع غذایی موجود در محیط اطراف مانند گوشت خام پرندگان وحشی و سایر حیوانات تغذیه داشته‌اند. در تحقیق حاضر، شانس آلودگی گربه‌های مبتلا به اسهال ۳/۸۴ برابر گربه‌های به ظاهر سالم بود. همسو با بررسی حاضر Lopez و همکاران در سال ۲۰۰۲، Modolo و Giuffrida در سال ۲۰۰۴، Moyaert و همکاران در سال ۲۰۰۸، Rodriguez و همکاران در سال ۲۰۱۵ و Selwet و همکاران در سال ۲۰۱۵ بیان کردند که میزان آلودگی به *کمپیلوباکتر* در گربه‌ها و سگ‌های مبتلا به اسهال بیش‌تر از سالمین است که احتمالاً به دلیل بیمار بودن حیوانات و دفع اجرام *کمپیلوباکتر* می‌باشد؛ البته بحث عفونت‌های هم‌زمان و ضعف سیستم ایمنی نیز می‌تواند مطرح باشد. در موارد بروز بیماری‌های مختلف، خوردن پس‌ماندهای غذایی، تغییر ناگهانی رژیم غذایی و بسیاری از عوامل دیگر، اسهال اتفاق می‌افتد که متعاقب آن بدن به تدریج ضعیف می‌گردد و این خود عامل بروز بسیاری از عفونت‌های دیگر از جمله آلودگی به گونه‌های *کمپیلوباکتر* می‌باشد. برای جلوگیری از انتقال این عامل به انسان، باید محل نگهداری حیوانات و ظروف آب و غذا با مواد آنتی‌سپتیک ضدعفونی گردد. از آن جایی که در بسیاری از کشورهای اروپایی و آمریکایی و حتی در برخی از مناطق ایران، تعدادی از افراد، حداقل یک گربه را به عنوان حیوان خانگی نگهداری می‌کنند، احتمال آلودگی صاحبان آن ها، بسیار بالا است؛ لذا انجام آزمایش کشت مدفوع یا بررسی آلودگی به طرق مختلف از جمله روش‌های مولکولی، به منظور تشخیص سریع آلودگی، درمان به موقع و اقدامات پیش‌گیری‌کننده‌ی دیگر ضروری می‌باشد. مطالعه‌ی حاضر همچنین نشان داد که تکنیک PCR نسبت به روش کشت، جهت تشخیص سریع جنس *کمپیلوباکتر* و گونه‌های متعلق به آن، دقیق‌تر است و نیازی به کشت میکروبی و یا استفاده از آنتی‌بادی‌های متعدد و گران قیمت نمی‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله، مراتب تشکر و قدردانی خود را از حوزه‌ی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز، ابراز می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع مالی

هزینه‌ی پایان‌نامه مزبور، در قالب پژوهانه، از دانشگاه شهید چمران اهواز تأمین شده است.

منابع

Acke, E.; Mc Gill, K.; Golden, O.; Jones, B.R.; Fanning, S. and Whyte, P. (2009). Prevalence of thermophilic *Campylobacter* species in household cats and dogs in Ireland. Veterinary Record, 164 (2): 44-47.

Andrzejewska, M.; Sczepanska, B.; Klawe, J.J.; Spica, D. and Chudzinska, M. (2013). Prevalence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* species in cats and dogs from Bydgoszcz (Poland) region. Polish Journal of Veterinary Sciences, 16 (1): 115-120.

Engvall, E.O.; Brandstrom, B.; Andersson, L.; Baverud, V.; Trowald-Wigh, G. and Englund, L. (2003). Isolation and identification of thermophilic *Campylobacter* species in fecal samples from Swedish dogs. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 35 (10): 713-718.

Gargiulo, A.; Rinaldi, L.; D'Angelo, L.; Dipineto, L.; Borrelli, L.; Fioretti, A. and Menna, L.F. (2008). Survey of *Campylobacter jejuni* in stray cats in southern Italy. Letters in Applied Microbiology, 46: 267-270.

Holmberg, M.; Rosendal, T.; Engvall, E.O.; Ohlson, A. and Lindberg, A. (2015). Prevalence of thermophilic *Campylobacter* species in Swedish dogs and characterization of *C. jejuni* Isolates. Acta Veterinaria Scandinavica, 57 (1): 16-19.

James, G.F. (2012). Enteric bacterial infections. In: Greene, C. (Eds). Infectious Diseases of the Dog and Cat. 4th Ed.; St. Louis, Missouri, Pp: 370-374.

Jamshidi, A.; Bassami, M.H. and Farkhondeh, T. (2008). Isolation and identification *Campylobacter* Spp. And *Campylobacter Coli* from poultry Carcasses by conventional culture method and MPCH in Mashhad, Iran. Iranian Journal of Veterinary Research, 9 (2): 132-137.

Lazou, T.; Houf, K.; Soultos, N.; Dovas, C. and Iossifidou, E. (2014). *Campylobacter* in small ruminants at slaughter: Prevalence, pulsotypes and antibiotic resistance. International Journal of Food Microbiology, 173 (3): 54-61.

Lopez, C.M.; Giacoboni, G.; Agoustini, A.; Cornero, F.J.; Tellechea, T.M. and Trinidad, J.J. (2002). Thermophilic *campylobacters* in domestic animals in a defined population in Buenos Aires, Argentina. Preventive Veterinary Medicine, 55 (3): 193-200.

Mahzoonieh, M.R.; Ghorbani, M. and Zahraie Salehi, T. (2013). Identification of *Campylobacter* species in feces of dogs and cats clinically healthy by M-PCR. Journal of Comparative Pathobiology, 10 (4): 1101-1106.

Markey, B.; Leonard, F.; Archambault, M.; Cullinane, A. and Maguire, D. (2013). *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter* species. In: Clinical Veterinary Microbiology. Vol. 1. 2nd Eds, Pp: 335-343.

Modolo, J.R.; Giuffrida, R. and Lopes, CAM. (2003). Antimicrobial susceptibility of 51 *Campylobacter* strains isolated from diarrheic and diarrhea-free dogs. Arquivos Institute Biológico, São Paulo, 70 (3): 283-286.

Mohammadzadeh, A.M.; Hakimi, R.; Sharifi, Aram and Gorbani, M. (2012). A survey on Campylobacter infection in companion dogs by PCR. Veterinary journal of Sanandaj Islamic Azad University, 6: 25-30.

Moser, I.; Rieksneuwohner, B.; Lentzsch, P.; Schwerk, P. and Wieler, L.H. (2001). Genomic heterogeneity and O-antigenic diversity of *Campylobacter upsaliensis* and *Campylobacter helveticus* strains isolated from dogs and cats in Germany. Journal of Clinical Microbiology, 39 (7): 2548-2557.

Moyaert, H.; Ceelen, L.; Dewulf, J.; Haesebrouck, F. and Pasmans, F. (2008). PCR detection of *Campylobacter* species in feces from dogs. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, 78: 92-96.

Polzler, T.; Stuger, H.P. and Lassnig, H. (2018). Prevalence of most common human pathogenic *Campylobacter* spp. in dogs and cats in Styria, Austria. Veterinary Medicine and Science, 4(2): 115-125.

Rahimi, E.; Chakeri, A. and Esmizadeh, K. (2012). Prevalence of *campylobacter* species in fecal samples from cats and dogs in Iran. Global Veterinaria, 7: 365-369.

Rodriguez, C.G.; Melo, R.T.; Fonseca, B.B.; Martins, P.A.; Ferreira, F.A.; Araújo, M.B.J. and Rossi, D.A. (2015). Occurrence and characterization of *Campylobacter* spp.isolates in dogs, cats and children. Brazilian Journal of Veterinary Research, 35 (4): 365-370.

Salihu, M.D.; Magaji, A.A.; Abdulkadir, J.U. and Kolawale, A. (2010). Survey of thermophilic *Campylobacter* species in cats and dogs in north-western Nigeria. Veterinary Italy, 46 (4): 425-430.

Sandberg, M.; Bergsj, B.; Hofshagen, M.; Skjerve, E. and Kruse, H. (2002). Risk factors for *Campylobacter* infection in Norwegian cats and dogs. Preventive Veterinary Medicine, 55 (4): 241-253.

Selwet, M.; Cłapa, T.; Galbas, M.; Słomski, R. and Porzucek, F. (2015). The Prevalence of *Campylobacter* spp. and Occurrence of Virulence Genes Isolated from Dogs. Polish Journal of Microbiology, 64 (1): 73-76.

Tsai, H.J.; Huang, H.C.; Lin, C.M.; Lien, Y.Y. and Chou, C.H. (2007). Salmonellae and Campylobacters in household and stray dogs in northern Taiwan. Veterinary Research Community, 31(8): 931-939.

Vazirian, B.; Torkan, S. and Khamesipour, F. (2016). Isolation of *Campylobacter* species in feces of cats of Isfahan and Shahrekord. First national conference zoonosis, 1-2.

Westgarth, C.; Pinchbeck, G.L.; Bradshaw, J.W.; Dawson, S.; Gaskell, R.M. and Christley, R.M. (2008). Dog-human and dog-dog interactions of 260 dog-owning households in a community in Cheshire. Veterinary Record, 162 (14): 436-442.

Wieland, B.; Regula, G.; Danuser, J.; Wittwer, M.; Burnens, A.P.; Wassenaar, T.M. and Stark, K.D. (2005). *Campylobacter* spp. in dogs and cats in Switzerland: risk factor analysis and molecular characterization with AFLP. Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health, 52 (4): 183-189.

Yamazaki-Matsune, W.; Taguchi, M.; Seto, K.; Kawahara, R.; Kawatsu, K.; Kumeda, Y. et al. (2007). Development of a multiplex PCR assay for identification of *Campylobacter* coli, *Campylobacter* fetus, *Campylobacter* hyointestinalis subsp. hyointestinalis, *Campylobacter* jejuni, *Campylobacter* lari and *Campylobacter* upsaliensis. Journal of Medical Microbiology, 56 (11): 1467-1473.

Received: 08.08.2018
Accepted: 22.06.2019

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Vol. 16, No. 1, Spring, 2020
DOI: 10.22055/ivj.2019.143669.2060

Isolation and characterization of *Campylobacter* spp. in feces of companion cats in Ahvaz district by culture and PCR methods

Mosallanejad, B.[1]; Gharibi, D.[2]; Avizeh, R.[1] and Abbassi, R.[3]

Received: 08.08.2018 Accepted: 22.06.2019

Abstract

Campylobacteriosis is a zoonotic disease which causes enteritis in human, dog, and cat, as well as other domestic and wild animals. The present study aimed to detect of campylobacter infection in companion cats referred to the Veterinary Hospital of the Shahid Chamran University of Ahvaz. Risk factors such as age, gender, breed; nutrition status, and lifestyle (open or close environment) were reviewed also. Fecal samples were examined by two methods of culture and PCR from one hundred one of cats (thirty-five diarrheic and sixty six clinically healthy). Only two samples were positive in culture method (1.98%), but Campylobacter species were detected in thirty-seven samples by PCR; which yields an overall prevalence of 36.63%. The most prevalent species of campylobacter among the referred cats were C. upsaliensis and C. coli with 23 and 7 out of 37 identified isolates (62.16% and 18.91%) respectively. A lower prevalence was observed for C. jejuni in four identified isolates (10.81%) and for concurrent infections in two cases (C. coli + C. jejuni) (5.40%) and one case (C. upsaliensis+ C. lari) (2.70%). The prevalence of infection was 57.14% and 25.75% in diarrheic and healthy cats respectively. There was a significant difference for campylobacter infection between the healthy and diarrheic cats in the PCR method, as well as, age, breed; nutrition status and lifestyle showed a significant difference, but there was no significant difference for gender factor in campylobacter infection. In conclusion, because of the frequent presence of campylobacter species in feces of cats, these bacteria can constitute a public health hazard. Accordingly, periodic tests and isolation of diarrheic cats from others are important, especially cats that eat raw meat and live in a shelter.

Key words: *Campylobacter*, Culture, PCR, Cat, Ahvaz

1- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2- Associate Professor, Department of Pathobiolgy, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran university of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3- DVM Graduated, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Mosallanejad, B., E-mail: bmosallanejad@scu.ac.ir