بررسی آلودگی معده سگ‌های ولگرد شهر مشهد به گونه‌های مختلف هلیکوباکتر

فرنوش ارفعی*[۱]، شهرام جمشیدی[۲]، معصومه عظیمی[۳]، حسین دبیری[٤]، محمدرضا زالی[٥]

چکیده

این مطالعه به منظور تعیین وضعیت آلودگی معده سگ‌های ولگرد اطراف شهر مشهد به گونه‌های مختلف هلیکوباکتر با استفاده از روش‌های مختلف تشخیصی صورت گرفت. نمونه‌برداری از قسمت‌های فاندوس، بادی و شیره معده ٤٨ قلاده سگ ولگرد انجام گرفت و وضعیت آلودگی به اجرام هلیکوباکتری با انجام آزمایشات سیتولوژی، تست اوره، کشت و واکنش زنجیره پلیمراز تعیین گردید. بر اساس نتایج بدست آمده ۱۰۰٪ معده سگ‌ها آلوده به اجرام مارپیچی بودند. در هیچیک از سگ‌های تحت مطالعه هلیکوباکتر پیلوری مشاهده نشد. هلیکوباکتر هیلمنی آلودگی غالب معده سگ‌های تحت مطالعه را تشکیل می داد(۸۹/٦٪). هلیکوباکتر فلیس نیز در ٦٤/٥٨٪ نمونه‌ها مورد تشخیص قرار گرفت. آلودگی بالای معده سگ‌ها به گونه‌های مختلف هلیکوباکتر و احتمال انتقال آن به انسان، نیازمند رعایت بیشتر مسائل بهداشتی در جهت کاهش خطر ابتلا به هلیکوباکترهای غیر پیلوری است.

واژگان کلیدی: *هلیکوباکتر، سگ‌های ولگرد، معده، مشهد*

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۵ تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۱۲

مقدمه

با وجود اینکه باکتری‌های مارپیچی شکل معده سگ از سال ۱۸۸۱ میلادی شناخته شده‌اند اما به تازگی تعدادی از هلیکوباکترهای معده این گروه از حیوانات شامل هلیکوباکتر فلیس (***Helicobacter felis***)، هلیکوباکتر بیزوزرونی (***Helicobacter bizzozeronii***)، هلیکوباکتر هیلمنی (***Helicobacter heilmannii***) و غیره مورد تشخیص قرار گرفته‌اند(۱۷). هلیکوباکترهای معده سگ با هلیکوباکتر پیلوری متفاوت بوده و از نظر ساختاری طولی برابر با ۵ تا ۱۵ میکرون دارند(۱۰).

در مجموع بر اساس گزارش‌های موجود ٦۱ تا ۱۰۰ درصد معده سگ‌ها آلوده به اجرام مارپیچی شکل هستند(۱۸).

از طرف دیگر از معده ۰/۲۵ تا ۱/۷ درصد از افرادی که از مشکلات معده رنج می‌برند، گونه‌های غیر پیلوری هلیکوباکتر جدا شده است که شباهت زیادی به هلیکوباکترهای معده سگ دارند(۵). از این رو تماس با حیواناتی مثل سگ، گربه و خوک می‌تواند عاملی برای آلودگی انسان به گونه‌های غیر پیلوری هلیکوباکتر باشد(۱۲). هلیکوباکتر فلیس، هلیکوباکتر بیزوزرونی و هلیکوباکتر سالمونیس از ٤٨/٥٪ از بیوپسی‌های معده افرادی که به گونه‌های غیرپیلوری هلیکوباکتر آلوده بوده‌اند، مورد تشخیص قرار گرفته اند(۵).

این مطالعه با هدف بررسی وضعیت آلودگی معده سگ‌های ولگرد اطراف شهر مشهد به گونه‌های مختلف هلیکوباکتر با استفاده از روش‌های مختلف تشخیصی صورت گرفت.

مواد و روش کار

۲- ۱- نمونه گیری:

در این مطالعه طی ٤ ماه (شهریور تا آذر ۱۳۸۸)، از ٤٨ قلاده از سگ‌های ولگرد اطراف شهر مشهد که در طرح مبارزه و معدوم سازی شهرداری جمع‌آوری شده بودند، نمونه‌برداری بعمل آمد. پس از بیهوشی توسط آسپرومازین و کتامین، معده از قسمت خم بزرگ باز شده و از قسمت‌های فاندوس، بادی و شیره معده نمونه‌های مورد نیاز جهت انجام

۱*- دانش آموخته گروه بیماری‌های داخلی دام‌های کوچک، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران (***f.arfaee@srbiau.ac.ir***)

۲- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- کارشناس مرکز تحقیقات کبد و گوارش، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

٤- استاد یار گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی ، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۵- استاد مرکز تحقیقات کبد و گوارش، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

آزمایش‌های سرولوژی، کشت، تست سریع اوره و ***PCR***، اخذ گردید و تمامی حیوانات مورد آزمایش با استفاده از تزریق داخل وریدی سولفات منیزیم به روش بدون درد معدوم شدند.

۲-۲- تست سریع اوره:

یک نمونه از قسمت فاندوس و یک نمونه از قسمت بادی معده پس از اخذ به محیط اوره حاوی معرف فنل رد، انتقال و نمونه‌ها برای مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. حسب زمان لازم برای تغییر رنگ محیط از زرد به قرمز بر مبنای روش پیشنهادی ***Happonen*** (۸)، نتایج به شرح زیر طبقه بندی شدند:

در صورت تغییر رنگ محیط تا ۲ ساعت ۳+، بین ۲ الی ۱۲ ساعت، ۲+، در صورت تغییر رنگ محیط در فاصله ۱۲ تا ۲٤ ساعت، ۱+ و در صورت عدم تغییر رنگ تا ۲٤ ساعت، عدد ۰ گزارش گردید.

۲-۳- سیتولوژی

بدین منظور نمونه‌های تهیه شده از فاندوس و بادی بر روی لام به شکل اسمیر فشاری قرار داده شدند و پس از تهیه گسترش و ثابت کردن نمونه‌ها با متانول به روش گیمسا رنگ‌آمیزی شدند. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات، بر مبنای طبقه‌بندی زیر میزان تراکم عوامل هلیکوباکتری در هر گسترش ثبت گردید(۷):

عدم حضور ارگانیسم = منفی(عدم آلودگی)

تا ۱۰ ارگانیسم در هر میدان میکروسکوپی با درشت نمایی بالا = ۱+ (آلودگی خفیف)

بین ۱۰تا ۵۰ ارگانیسم در هر میدان میکروسکوپی با درشت نمایی بالا = ۲+ (آلودگی متوسط)

بیش از ۵۰ ارگانیسم در هر میدان میکروسکوپی با درشت نمایی بالا =۳+ (آلودگی شدید)

۲-٤- کشت، جداسازی و تشخیص جنس هلیکوباکتر

نمونه‌ها روی بروسلا آگار دارای ۷٪ خون گوسفندی و مکمل‌های ***(Merck, Homburg, Germany)*** حاوی ونکومایسین، تری متوپریم، پلی میکسین و آمفوتریسین ***B***، کشت داده شد. به منظور کشت، نمونهٔ بیوپسی کاملا له شده و در سطح محیط به صورت خطی کشت داده می‌شد. پس از کشت هر نمونه، پلیت‌ها در انکوباتور ***CO2*** دار در شرایط میکرو ائروفیلیک***(10%CO2, 5% O2, 85%N2)*** به مدت ۳ تا ۱۰ روز انکوبه می‌گردید(۱۰). قابل ذکر است که جارهای بی‌هوازی به محل نمونه‌گیری منتقل شده بودند سپس جهت جلوگیری از خطای احتمالی ناشی از عفونت‌های دیگر، کشت دیگری از کلنی‌های رشد کرده جهت رسیدن به کشت خالص، تهیه و از این تک کلنی‌ها جهت استخراج ***DNA*** استفاده گردید.

۲- ۵- مطالعه مولکولی

به منظور انجام آزمایش ***PCR*** نمونه‌های منتقل شده به آزمایشگاه توسط تانک ازت، در ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و به منظور استخراج ***DNA*** و بررسی‌های مولکولی تحت مطالعه قرار گرفتند. در این مطالعه جنس هلیکوباکتر با استفاده از ژن ***16SrRNA*** تعیین هویت مولکولی صورت گردید.

۲-۵-۱- استخراج*DNA* و انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (*PCR*)

استخراج ***DNA*** از نمونه‌های اخذ شده با استفاده از کیت‌های تجاری آماده ***(DNeasy tissue mini kit Hilden, Germany)*** انجام گردید. ***DNA***های استخراج شده تا انجام ***PCR*** بلافاصله به دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. بررسی مولکولی در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر حاوی ۱۰۰ نانوگرم از ***DNA*** استخراجی، ۲ میکرولیتر بافر ***10X***، ۰/۲ میکرومول ***dNTP*** و ۱/۵ میکرومول $MgCl_2$ و ۲۵ پیکومول در میکرولیتر پرایمر و

۰/۵ واحد ***Taq DNA Polymerase*** انجام شد. توالی پرایمرها و شرایط هر ***PCR*** در جدول ۱ ذکر شده است. محصول ***PCR*** در نهایت روی ژل الکتروفورز قرار داده شد و نتیجه نهایی، زیر نور ***UV*** مورد بررسی قرار گرفت.

۲- ٦- آنالیز آماری

کلیه یافته‌های جمع‌آوری شده از روش‌های تشخیصی مختلف، با نرم‌افزار آماری ***SPSS*** و آزمون مربع کای، مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفتند.

جدول ۱ـ توالی اولیگونوکلئوتیدی پرایمرهای بکار رفته در آزمایش

منبع	شرایط *pcr*	قطعه تکثیر شده*(bp)*	توالی پرایمر	ژن هدف	*هلیکوباکتر*
۲۲	۹٤ درجه سانتی گراد به مدت ٤ دقیقه،(۹٤ درجه سانتی گراد به مدت ٦۰ ثانیه، ۵۷ درجه سانتی گراد به مدت ٤۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ٦۰ ثانیه) ۳۰ سیکل، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه	۷٦٤	***f-5′- GGC TAT GAC GGG TAT CC GGC-3′ r-5′- GCC GTG CAG CAC CTG TTTTC-3′***	***16S rRNA***	***Genus Helicobacter***
٦	۹٤ درجه سانتی گراد به مدت ٤ دقیقه،(۹٤ درجه سانتی گراد به مدت ٤۰ ثانیه، ٦٤/۱ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه) ۳٤ سیکل، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ٤ دقیقه	۲٤۱	***f-5′- GTG AAG CGA CTA AAG ATA AAC AAT-3′ r-5′-GCA CCA AAT CTA ATT CAT AAG AGC-3′***	***ureA , ureB genes***	***H. felis***
۱۳	۹٤ درجه سانتی گراد به مدت ٤ دقیقه،(۹٤ درجه سانتی گراد به مدت ٤۵ ثانیه، ۵۸ درجه سانتی گراد به مدت ٦۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲۰ ثانیه) ۳۰ سیکل، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ٤ دقیقه	۵۸۰	***f-5′-GGG CGA TAA AGT GCG CTT G-3′ r-5′-CTG GTC AAT GAG AGC AGG-3′***	***ureB gene***	***H. heilmannii***
۲۱	۹٤ درجه سانتی گراد به مدت ٤ دقیقه،(۹٤ درجه سانتی گراد به مدت ٦۰ ثانیه، ۵۷ درجه سانتی گراد به مدت ٤۵ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ٦۰ ثانیه) ۳۰ سیکل، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه	۲۹٦	***f-5′- GGA TAA GCT TTT AGG GGT GTT AGG GG-3′ r-5′- GCT TAC TTT CTA ACA CTA ACG CGC-3′***	***ureA gene***	***H. pylori***

نتایج

از ٤۸ سگ مورد مطالعه، ۲۹ سگ نر (٦۰/٤٪) و ۱۹ سگ ماده(۳۹/٦٪) بودند. تعداد سگ‌ها بر اساس سن و جنس در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲ـ سگ‌های مطالعه شده برحسب سن و جنس

جنس / سن	زیر ۱ سال	یک تا پنج سال	بالای پنج سال	مجموع
ماده	۰	۱۰	۹	۱۹
نر	۳	۱٦	۱۰	۲۹
مجموع	۳	۲٦	۱۹	٤۸

۳-۱- تست سریع اوره

بـر اسـاس نتایج بدست آمده با استفاده از این روش، ۹۳/۸٪ نمونه‌های تحت مطالعه، مثبت بود.

از ٤۲ سگی که تست اوره معده آنها مثبت ارزیابی شد، در ۷ قلاده (۱٤/٦٪) فقط ناحیه فاندوس، در ۳ قلاده (٦/۲٪) تنها ناحیه بادی و بالاخره در ۳۵ قلاده(۷۲/۹٪)، هم ناحیه فاندوس و هم بادی مثبت بودند.

تست اوره ناحیه فاندوس در ٤۱ قلاده (۸۵/٤٪) و در ناحیه بادی، ۳۸ قلاده (۷۹/۲٪) مثبت بود.

نتایج حاصل از تست اوره فاندوس و بادی فاقد اختلاف آماری معنی‌داری بودند (***p*** = ۰/۱٤۷). زمان تغییر رنگ تست اوره در مناطق مختلف معده در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳ـ نتایج تست اوره در مناطق مختلف معده بر حسب زمان تغییر رنگ

منطقه مورد آزمایش	نمونه‌های مثبت			نمونه‌های منفی
	تا ۲ ساعت	۲ تا۱۲ ساعت	۱۲ تا ۲٤ساعت	
فاندوس	۸/۳٪(٤مورد)	٦۸/۸٪(۳۳مورد)	۸/۳٪(٤مورد)	۱٤/٦٪(۷مورد)
بادی	۱۸/۸٪(۹مورد)	٥٦/۳٪(۲۷مورد)	٤/۲٪(۲مورد)	۲۰/۸٪(۱۰مورد)

۳-۲- سیتولوژی

نتایج مربوط به میزان تراکم ارگانیسم ها در بخش های مختلف معده در جدول ٤ نشان داده شده است. اکثر موارد دارای آلودگی متوسط (۵۰ تا ۱۰ ارگانیسم)، بودند.

ارتباط آماری معنی داری بین وضعیت آلودگی فاندوس و بادی بر اساس سیتولوژی وجودنداشت(p = ۰/۵۹۳).

جدول ٤ـ نتایج سیتولوژی در قسمت‌های مختلف معده

منطقه مورد آزمایش	نمونه‌های مثبت بر اساس تعداد ارگانیسم			نمونه‌های منفی
	۱۰>	۱۰ -۵۰	۵۰<	
فاندوس	٪۲۲/۹ (۱۱ مورد)	٪٤۱/۷ (۲۰ مورد)	٪۱۰/٤ (۵ مورد)	٪۲۵ (۱۲ مورد)
بدنه	٪۲۲/۹ (۱۱ مورد)	٪۳۵/٤ (۱۷مورد)	٪۲۵ (۱۲ مورد)	٪۱٦/۷ (۸ مورد)

نتایج سیتولوژی و تست اوره دارای ارتباط آماری معنی‌دار بودند(p = ۰/۰۰۲).

۳-۳- کشت

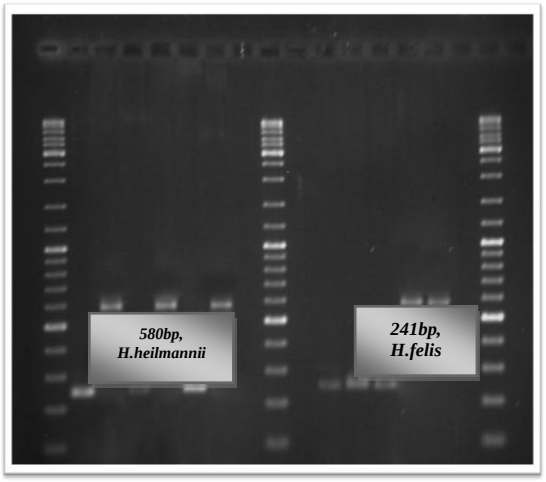
پس از انجام آزمایش مولکولی بر روی کلونی‌های رشد کرده، در ۱۱ مورد از نمونه‌های فاندوس و در ۱۳ مورد از نمونه‌های بادی جنس هلیکوباکتر مورد تشخیص قرار گرفت که بر اساس آزمایش مولکولی در ۱۱ مورد هلیکوباکتر فلیس تائید گردید (۵ مورد در فاندوس و ٦ مورد در بادی).

۳-٤- بررسی مولکولی جهت ردیابی جنس هلیکوباکتر

با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۱۰۰ درصد سگ‌ها دارای آلودگی بودند. در هیچیک از نمونه‌ها آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری وجود نداشت. نتایج حاصل از ارزیابی مولکولی نمونه‌ها، در جدول ۵ نشان داده شده است. بر اساس آزمون مربع کای، اختلاف آماری معنی‌داری در میزان شیوع جنس هلیکوباکتر در ناحیه فاندوس و بادی وجود نداشت(p = ۰/٦۹۳). نگاره ۱ باندهای حاصل از تکثیر ***DNA*** هلیکوباکتر فلیس و هلیکوباکتر هیلمنی را نشان می‌دهد.

جدول ۵ـ نتایج آزمایش مولکولی در قسمت‌های مختلف معده

باکتری / منطقه مورد آزمایش	جنس هلیکوباکتر	هلیکوباکتر فلیس	هلیکوباکتر هیلمنی	آلودگی مختلط
فاندوس	٤۰ (٪۸۳/۳)	۱۲ (٪۳۰)	۲۵ (٪٦۲/۵)	۵(٪۸۳/۱۲)
بادی	٤۰ (٪۸۳/۳)	۲۲ (٪۵۵)	۱٦ (٪٤۰)	۱۰(٪۲۵)
شیره معده	٤٦ (٪۹۵/۸)	۱۲ (٪۲٦)	۳۳ (۷۱/۷)	۹(٪۱۹/۵٦)
معده	٤۸ (٪۱۰۰)	۳۱(٪٦٤/۵۸)	٤۳(٪۸۹/٦)	۱۷ (٪۳۵/٤۱)



نگاره ۱ـ تکثیر ژن‌های ***ure B , H.heilmannii*** و ***ure B H.felis***

بحث

مطالعات مختلفی در خصوص هلیکوباکترهای معده سگ‌ها انجام شده و در طی آنها شیوع ٦١ تا ١٠٠ درصدی گزارش شده است(١٨). شبستری و همکاران، میزان شیوع این باکتری درسگ‌های تبریز را ٩٤٪ گزارش کردند (٢٠). نتایج حاصل از مطالعه اخیر نیز میزان شیوع بالای این ارگانیسم مارپیچی را در معده سگ‌ها بدون دخالت ناحیه جغرافیایی تایید می کند. احتمالا ارتباطی بین شیوه زندگی این حیوانات و میزان آلودگی وجود ندارد. در مطالعه شبستری و همکاران میزان آلودگی در سگ‌های ولگرد ٩٢٪ و در سگ‌های خانگی ٨٧٪ گزارش شد ولی تفاوت معنی داری بین دو گروه دیده نشده است(٢٠). از طرفی در مطالعه اختردانش و همکاران در خصوص میزان آلودگی در گربه‌های خانگی و ولگرد، شیوع آلودگی به گونه‌های مختلف این ارگانیسم مارپیچی در معده گربه‌های خانگی از میزان آلودگی گربه‌های ولگرد بالاتر بوده است(٢). احتمالا هر دو گروه سگ‌ها و گربه‌های خانگی و ولگرد به یک نسبت در برابر آلودگی حساس هستند. ارتباط بین آلودگی به گونه‌های مختلف هلیکوباکتر و التهاب معده در سگ‌ها و گربه‌ها نامشخص است(٩). در سگ‌هایی که بطور طبیعی به این باکتری آلوده هستند معمولا گاستریت جزئی همراه با ارتشاح لنفوسیتها و پلاسماسل ها دیده می شود، اما در هر صورت به دلایل مختلف از جمله میزان بالای آلودگی در سگ‌ها و گربه‌ها و در نتیجه عدم وجود گروه کنترل منفی برای مقایسه وضعیت التهاب معده در دو گروه سگ‌ها و گربه‌های آلوده و غیر آلوده تفسیر ارتباط بین حضور باکتری و التهاب معده را مشکل می‌سازد(١٥).

مطالعات مختلف نشان می‌دهد که محل اصلی کلونیزاسیون باکتری در سگ‌ها در ناحیه فاندوس و بادی می باشد. ***Lee*** و همکاران در سال ١٩٩٢ میلادی با خوراندن هلیکوباکتر فلیس به ٥ قلاده سگ محل کلونیزه شدن باکتری را بررسی کردند. در این مطالعه فاندوس و آنتروم بیشترین محل کلونیزه شدن باکتری بودند، هر چند تغییرات پاتولوژیک بیشتر در نواحی فاندوس و بادی ایجاد شد(١١و٧). محل کلونیزه شدن باکتری در گربه‌ها متفاوت است. در گربه‌ها مطالعات مختلف حاکی از کلونیزه شدن باکتری در بادی و آنتروم می باشد(٥). بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، اختلاف آماری معنی‌داری بین دو قسمت فاندوس و بادی وجود نداشت. در تنها سگی که نتایج بررسی مولکولی فاندوس و بادی آن منفی بود، در بررسی شیره معده جنس هلیکوباکتر مورد تشخیص قرار گرفت. علت عدم حضور باکتری در نمونه‌های فاندوس و بادی این نمونه شاید به علت انتشار ناهمگون باکتری در نواحی مختلف معده باشد.

در مطالعه انجام شده از هیچ یک از موارد مثبت فوق، هلیکوباکتر پیلوری جدا نگردید. لازم به ذکر است که در مطالعات صورت گرفته در جهان و از جمله ایران تاکنون هلیکوباکتر پیلوری از معده سگ‌ها جدا نشده است. ***Buczolits*** و همکاران در سال ٢٠٠٣ میلادی با سکانس قسمت ***16SrRNA***، ٣ هلیکوباکتر جدا شده از سگ، تشابه ٩٨ – ٩٦/٦ درصدی آنها با هلیکوباکتر پیلوری را نشان دادند و نتیجه گرفتند که موکوس معده سگ‌ها ممکن است با هلیکوباکتر پیلوری و یا گونه‌های بسیار نزدیک به آن کلونیزه شود(٤). بعضی از مطالعات نشان از جدا شدن هلیکوباکتر پیلوری از

معده و صفرای گربه‌ها داشته است(۳). با توجه به اینکه میزبان طبیعی هلیکوباکتر پیلوری، انسان می‌باشد بنابراین شاید گربه‌ها محل ذخیره ای برای باکتری باشند(۱۵).

بر اساس نتایج به دست آمده، ٦٤/٥٨٪ درصد از نمونه‌های مورد مطالعه آلودگی هلیکوباکتر فلیس را نشان دادند .در مطالعه قبلی صورت گرفته در ایران، ۸۲٪ آلودگی معده سگ‌های ولگرد به هلیکوباکتر فلیس گزارش شده است(۲۰). در آخرین مطالعه‌ای که توسط ***Recordati*** در سال ۲۰۰۹ میلادی انجام گرفته است از مجموع شش سگ مورد مطالعه تنها در یک سگ آلودگی به هلیکوباکتر فلیس تشخیص داده شده است(۱۷). آلودگی بالای معده این سگ‌ها به هلیکوباکتر هیلمنی (٩١/٦٦٪)، با نتایج سایر محققین همخوانی داشته است و این ارگانیسم بزرگ و غیر قابل کشت، هلیکوباکتر غالب معده سگ‌ها و گربه‌ها محسوب می‌شود(۱۵).

از نظر بعضی از محققین، آلودگی همزمان به گونه‌های مختلف هلیکوباکتر امری معمول در سگ‌ها به شمار می‌آید(١٤).در مقابل برخی آلودگی همزمان را رد کرده و رقابت انحصاری یک گونه در کلونیزه شدن را مطرح کرده اند(١٦). در مطالعه شبستری و همکاران در مجموع ٢١/٦٦٪ از سگ‌های مورد مطالعه آلودگی همزمان به دو گونه هلیکوباکتر فلیس و هلیکوباکتر هیلمنی وجود داشته است(۲۰). در مطالعه حاضر ۵۸/۳۳٪ معده سگ‌های ولگرد مورد مطالعه به هر دو گونه هلیکوباکتر آلوده بودند.

روش‌های مختلفی در جهت تشخیص آلودگی به اجرام مارپیچی شکل هلیکوباکتر مطرح گردیده اند. از روش‌های غیر تهاجمی می‌توان به روش‌های سرولوژی اشاره کرد که بر اساس مطالعات موجود در ردیابی اولیه جنس هلیکوباکتر در حیوانات ارزش تشخیصی ندارد(۱۵). شاید از علل آن بتوان به آلودگی همزمان به چند گونه باکتری اشاره کرد(۱۵). سایر روش‌های تشخیصی در جهت ردیابی این باکتری، روش‌های تهاجمی‌تر است که در انسان و حیوانات بر روی نمونه‌های بدست آمده از معده انجام می‌گیرد. از جمله این روش‌ها که به عنوان یک روش غربالگری اولیه در انسان انجام می‌گیرد تست سریع اوره است. در سال ۲۰۰۳ تست اوره آز معده ۹۳ سگ ولگرد در ۹۷/۵۹درصد موارد مثبت بوده است و در ۸۵/۱۰ درصد این موارد اجرام مارپیچی شکل در مطالعه هیستوپاتولوژیکی مورد تشخیص قرار گرفته است(۱۹). در مطالعه حاضر نیز در مجموع تست اوره در ۹۳/۸٪ موارد مثبت بود. در این مطالعه، بیشترین تغییر رنگ محیط اوره در فاصله زمانی ۲ تا ۱۲ ساعت رخ داد که این نتیجه با نتایج حاصل از مطالعه شبستری و همکاران مطابقت دارد(۲۰). این امر شاید به علت تفاوت فعالیت اوره آزی هلیکوباکتر هیلمنی و هلیکوباکتر فلیس باشد که به طور قابل ملاحظه ای از فعالیت اوره آزی هلیکوباکتر پیلوری کمتر است(۷). بنابراین شاید ارزش تشخیصی تست اوره در حیوانات نسبت به انسان کمتر باشد. تهیه لام فشاری از مخاط معده سگ‌ها نیز از نتایج قابل اعتمادی برخوردار است(۱). با توجه به اینکه هلیکوباکترهای معدی سگ اجرام مارپیچی بزرگی هستند که در نمونه‌های سیتولوژی به راحتی دیده می‌شوند، بنابراین بررسی سیتولوژی مخاط معده در سگ ها امکان تشخیص راحت‌تر و سریع‌تر را نسبت به تست اوره ممکن می‌سازد. این نتیجه با نتایج سایر محققین همخوانی دارد (۲۰و۸و۱).

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه کشت این باکتری با توجه به سخت گیر بودن و در مواردی غیر قابل کشت بودن برخی از گونه‌های این باکتری، و هزینه بالا، روش مناسبی جهت تشخیص باکتری محسوب نمی‌شود. با توجه به اینکه سایر مطالعات نیز حساسیت و ویژگی کشت را به عنوان یک روش تشخیصی در جهت ردیابی گونه‌های مختلف هلیکوباکتر، پایین ارزیابی کرده‌اند بنابراین بهتر است از روش‌های جایگزین دیگری از جمله ***FISH***(***fluorescence in situ hybridization***) در کنار ردیابی مولکولی (***PCR***)، استفاده شود(۱۸).

فهرست منابع

۱ـ جمشیدی، ش.، اختردانش، ب.، ساسانی، ف.، بکائی، س.، زهرایی صالحی، ت.، دهقان، م.م.،(۱۳۸٦). مقایسه ارزش روش‌های مختلف تشخیصی در تعیین آلودگی گربه‌ها به هلیکوباکترهای معدی.، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. ٦۲(۳): ۱۳۱-۱۳٦.

1. ***Akhtardanesh, B., Mohammadi M., Jamshidi S., Sassani F., Bokaie S. (2006): clinical significance of helicobacter infection in gastric mucosa of cats. OJVR, 10(2) :177-201***
2. ***Boomkens, S. Y., Kusters, J. G., Hoffmann, G., Pot, R. G., Spee, B., Penning, L. C., Egberink, H. F., van den Ingh, T. S., Rothuizen, J., (2004): Detection of Helicobacter pylori in bile of cats. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 42(3):307-11.***
3. ***Buczolits, S., Hirt, R., Rosengarten, R., Busse, H. J. (2003): PCR-based genetic evidence for occurrence of Helicobacter pylori and novel Helicobacter species in the canine gastric mucosa. Veterinary Microbiology, 95(4):259-270***
4. ***De Groote, D., Van Doorn, L. J., Van den Bulck, K.,Vandamme, P., Vieth, M. (2005): Detection of non-pylori Helicobacter species in "Helicobacter heilmannii"-infected humans. Helicobacter, 10(5):398-406***
5. ***Germani, Y., Dauga, C., Duval, P., Huerre, M., Levy, M., Pialoux, G., Sansonetti, P., Grimont, P. A. (1997): Strategy for the detection of Helicobacter species by amplification of 16S rRNA genes and identification of H. felis in a human gastric biopsy. Res Microbiol, 148: 315-26.***
6. ***Happonen, I., Saari, S., Castren, L., Tyni, O., Hanninen, M. L., Westermarck, E. (1996): Occurrence and topographical mapping of gastric Helicobacter-like organisms and their association with histological changes in apparently healthy dogs and cats. Zentralbl Veterinarmed A, 43(5):305-15***
7. ***Happonen, I., Saari, S., Castren, L., Tyni, O., Hanninen, M. L., Westermarck, E. (1996): Comparison of diagnostic methods for detecting gastric Helicobacter-like organisms in dogs and cats. J. Comp. Pathol,. 115(2): 117-27***
8. ***Happonen, I., Linden, J., Saari, S., Karjalainen, M., Hanninen, M. L., Jalava, K., Westermarck, E. (1998): Detection and effects of helicobacters in healthy dogs and dogs with signs of gastritis. J. Am. Vet. Med. Assoc., 213(12): 1767-74***
9. ***Jalava, K., Kaartinen, M., Utriainen, M., Happonen, I., Hanninen, M. L.(1997): Helicobacter salomonis sp. nov., a canine gastric Helicobacter sp. related to Helicobacter felis and Helicobacter bizzozeronii. Int. J. Syst. Bacteriol.,47(4): 975-82***
10. ***Lee, A., Krakowka, S., Fox, J. G., Otto, G., Eaton, K. A., Murphy, J. C.(1992): Role of Helicobacter felis in chronic canine gastritis. Vet. Pathol,.29(6):487-94***
11. ***Meining, A., Kroher, G., Stolte, M. (1998): Animal reservoirs in the transmission of Helicobacter heilmannii. Results of a questionnaire-based study. Scand. J. Gastroenterol., 33(8): 795-8***
12. ***Neiger, R., Dieterich, C., Burnens, A., Waldvogel, A., Corthesy-Theulaz, I., Halter, F., Lauterburg, B., Schmassmann, A. (1998): Detection and prevalence of Helicobacter infection in pet cats. J Clin Microbiol, 36: 634-7.***
13. ***Neiger, R., Michèle E. Tschudi, André Burnens, Burkard Göke, Adrian Schmassmann (1999): Diagnosis & identification of gastric helicobacter spp by PCR in dogs. Microb. Ecol. Health. Dis. in press.***
14. ***Neiger, R. and K.W. Simpson,(2000): Helicobacter infection in dogs and cats: facts and fiction. J. Vet. Intern. Med. 14(2): 125-33.***
15. ***O'Connor D, Lee A.,(1991): Microbial interference between gastric Helicobacters: Competitive exclusion of Helicobacter felis by ''Gastrospirillum hominis.'' Microb. Ecol. Health. Dis., 4 : 202.***
16. ***Recordati, C., Gualdi, V., Tosi, S., Facchini, R. V., Pengo, G., Luini, M., Simpson, K. W., Scanziani, E. (2007):***

Detection of Helicobacter spp. DNA in the oral cavity of dogs. Vet. Microbiol., 119(2-4):346-51.

17. ***Recordati, C., Gualdi, V., Craven, M., Sala, L., Luini, M., Lanzoni, A., Rishniw, M., Simpson, K. W., Scanziani, E. (2009): Spatial distribution of Helicobacter spp. in the gastrointestinal tract of dogs. Helicobacter, 14(3): 180-91***
18. ***Sapierzyniski, R., Malicka, E., Zmudzka, M., Cywinska, A. (2006): The diagnosis of gastritis and helicobacter-like organisms infection in endoscopic biopsies of the canine gastric mucosa. Pol. J. Vet. Sci., C 9(1): 17-21***
19. ***Shabestari, A. S., Mohammadi, M., Jamshidi, S., Sasani, F., Bahadori, A., Oghalaie, A. (2008): Assessment of chronic gastritis in pet dogs and its relation with helicobacter-like organisms. Pak. J. Biol. Sci., 11(11): 1443-8***
20. ***Oota H., Saitou N., Ueda S. (2002): A Large-scale Analysis of Human Mitochondrial DNA Sequences with Special Reference to the Population History of East Eurasian. Anthropol Sci, 110: 293-312.***
21. ***Ulrich R. M. Bohr, Primus A., Zagoura A., Glasbrenner B., Wex T., Malfertheiner P. (2002): A Group-Specific PCR Assay for the Detection of Helicobacteraceae in Human Gut. helicobacter, 7: 378-383.***