Archive of SID

Veterinary Clinical Pathology, Vol.14, No. 53, Spring 2020

"Research article" DOI: 10.30495/JVCP.2020.1873299.1239

Evaluation of antibiotic resistance patterns and the presence of *spv*R virulence gene in salmonella isolated from the liver and ovary of industrial layer farms in East Azarbaijan province

Allahyari, A.[1] Nikpiran, H.[2*] Anzabi, Y.[3,4]

1- D.V.M. Graduate, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
4- Biotechnology Research Center, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
*Corresponding author's email: nikpiran20@iaut.ac.ir

Abstract

Infection with salmonella bacteria causes chronic and acute diseases in poultry that can cause significant economic losses to the poultry industry. SThe aim of the current study was to evaluate antibiotic resistance in salmonella infected layer flocks of East Azarbaijan province and to determine the presence of *spv*R virulence gene in isolated samples. A total of 200 liver and ovary samples were taken from 45 salmonella suspected flocks and cultured in selective and differential growth medium of salmonella. Antibiogram test to determine antibiotic sensitivity was done following isolation of bacteria. PCR was used to determine the presence of *spv*R gene with specific primers. The results indicated all isolates were resistant to Erythromycin, Tetracycline, and Trimethoprim-Sulphamethoxazole, and the highest antibiotic resistance was against Doxycycline 94.3%, Danofloxacin 92.6% and Florfenicol 91.7%. Also, the highest sensitivity was against Fosfomycin 94.7%, and Enrofloxacin 74.2%. Results of molecular tests indicated that the *spv*R gene was present in the majority of layer flocks of East Azarbaijan province (in 88.46% of isolated salmonella). According to the results, it is necessary to prevent the spread of salmonella contamination amongst the laying hens in order to improve the poultry industry and the health of human communities.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Salmonella, Layers, *spv*R gene, Antibiotic resistance, East Azarbaijan.

www.SID.ir

Archive of SID

"مقاله پژوهشی" DOI: 10.30495/JVCP.2020.1873299.1239

ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حضور ژن حدت *spv*R در سالمونلاهای جداشده از کبد و تخمدان گله‌های مرغ تخم‌گذار صنعتی استان آذربایجان‌شرقی

امیر اللهیاری[۱]، حسین نیک‌پیران[۲*]، یونس انزابی[۳، ٤]

۱- دانش‌آموخته دکترای‌حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۲- استادیار گروه علوم‌درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۳- استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
٤- مرکزتحقیقات بیوتکنولوژی، واحدتبریز، دانشگاه آزاداسلامی، تبریز، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: nikpiran20@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۸/٤/۱٦ پذیرش نهایی: ۹۸/۱۲/۲٦)

چکیده

عفونت با باکتری‌های جنس سالمونلا موجب بیماری‌های مزمن و حاد در طیور می‌گردد که می‌توانند باعث ایجاد خسارت اقتصادی قابل توجهی به صنعت طیور شوند. هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سالمونلاهای آلوده‌کننده گله‌های مرغ تخم‌گذار در سطح استان آذربایجان‌شرقی و نیز بررسی حضور ژن حدت *spv*R در جدایه‌های مذکور بود. بدین منظور از تعداد ٤۵ گله مشکوک به سالمونلا در مجموع تعداد ۲۰۰ نمونه کبد و تخمدان اخذشده و در محیط‌های انتخابی و افتراقی سالمونلا کشت داده شد. پس از جداسازی باکتری سالمونلا از نمونه‌های مذکور، آزمایش آنتی‌بیوگرام براساس روش انتشار دیسک در آگار جهت تعیین میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها انجام شد. جهت بررسی حضور ژن حدت *spv*R در سالمونلاهای جدا شده نیز از آزمایش مولکولی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و پرایمرهای اختصاصی مربوطه استفاده شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمامی جدایه‌های مورد آزمایش نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین، سولتریم و تتراسایکلین مقاوم بودند. بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی هم به‌ترتیب در برابر داکسی‌سایکلین (۹٤/۳ درصد)، دانوفلوکساسین (۹۲/٦ درصد) و فلورفنیکل (۹۱/۷ درصد) مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان حساسیت نیز مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های فوزباک (۹٤/۷ درصد) و انروفلوکساسین (۷٤/۲ درصد) بود. نتایج آزمایش مولکولی نیز نشان داد که ژن *spv*R در غالب گله‌های طیورتخم‌گذار استان آذربایجان‌شرقی وجود دارد (در ۸۸/٤٦ درصد جدایه‌های سالمونلا). با توجه به نتایج حاصله، لزوم پیشگیری از اشاعه سالمونلاهای آلوده‌کننده طیور تخم‌گذار در راستای بهبود صنعت پرورش طیور و نیز سلامت جوامع انسانی ضروری به‌نظر می‌رسد.

کلیدواژه‌ها: سالمونلا، مرغ تخم‌گذار، ژن*spv*R، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، آذربایجان‌شرقی.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

جنس سالمونلا بیش از ۲۶۰۰ واریانت (سرووار یا سروتیپ) مختلف را دارا می‌باشد که معمولاً براساس اولین محل جداسازی نام‌گذاری می‌شوند. غالب باکتری‌های این جنس موجب بیماری‌های مزمن و حادی در طیور می‌گردند که در نهایت باعث ایجاد خسارت اقتصادی قابل توجهی به صنعت طیور می‌شوند. همچنین طیور آلوده منبع مهمی برای انتقال سالمونلا از طریق زنجیره غذایی به انسان می‌باشند (Swayne *et al*., 2013). تحقیقات نشان داده‌است که سالمونلاها به خاطر ویژگی‌های خاص متابولیسمی و فیزیولوژیکی خود در همه جا حضور دارند اما منبع اصلی استقرار، رشد و نمو و تکثیر این باکتری، دستگاه گوارش پرندگان و پستانداران می‌باشد (Rob*erts et al*., 1996). لذا سالمونلاها از عوامل بسیار مهم بیماری‌زا و مضر برای بهداشت عمومی می‌باشند (Roberts *et al*., 1996). همچنین امروزه بیشتر سروتیپ‌های سالمونلا یکی از عوامل اصلی مربوط به بیماری‌های ناشی از مصرف غذای آلوده در اکثر کشورهای توسعه یافته محسوب می‌شوند (Organization, 2001) به‌طوری‌که باکتری‌های متعلق به جنس سالمونلا از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای موجود در موادغذایی از جمله گوشت طیور می‌باشند (Swayne *et al*., 2013). با توجه به این که انواع حیوانات میزبان سالمونلاهای متنوعی می‌باشند و از طرف دیگر در بسیاری از کشورها برنامه‌ای جامع برای کنترل سالمونلا وجود ندارد، لذا این باکتری شیوع زیادی در نقاط مختلف دنیا دارد (Humphrey, 2000; Myint *et al*., 2006). عفونت‌های اصلی سالمونلایی در طیور غالباً توسط سالمونلاهای غیرمتحرک یعنی سروتیپ‌های *سالمونلا پولوروم* و *سالمونلا گالیناروم* ایجاد می‌شود که از اعضای گونه *سالمونلا انتریکا* بوده و معمولاً اختصاصی میزبان می‌باشند. البته در طیور سالمونلاهای غیرمتحرکی که اختصاصی میزبان نمی‌باشند نیز باعث ایجاد عفونت‌ها و بیماری‌های پاراتیفوئیدی می‌شوند (Barrow *et al*., 1987; Barrow and Lovell, 1988; Christensen *et al*., 1992; Mdegela *et al*., 2000). با توجه به این‌که طیور به‌عنوان یکی از میزبان‌های مهم این باکتری می‌باشند، سالمونلاهای غیرتیفوئیدی به عنوان عامل اصلی عفونت‌های روده‌ای با منشاء غذایی در انسان شناخته شده‌اند که منبع عمده این عفونت‌ها محصولات غذائی با منشأ طیور می‌باشد (Swayne *et al*., 2013). عقیده بر این است که با توجه به قدرت بالای تطابق این باکتری‌ها با شرایط مختلف محیطی، به‌راحتی قادرند که از دستگاه گوارش طیور به محیط‌های دیگر از جمله مواد غذایی با منشا طیور منتقل شوند (Humphrey, 2000).

در ارتباط با عوامل دخیل در بیماری‌زایی نشان داده شده که یک پلاسمید ۸۵ کیلوبازی دارای نقشی مهم در حدت سالمونلاهای طیور می‌باشد (Christensen *et al*., 1992; Mdegela *et al*., 2000). هم‌چنین گزارش نموده‌اند پلاسمید حدت *spv*RABCD که در *سالمونلا گالیناروم* و *سالمونلا پولوروم* وجود دارد، برای ایجاد بیماری بالینی توسط سروتیپ‌های مذکور ضروری می‌باشد (Rychlik *et al*., 1998). هرچند نتایج برخی مطالعات نیز نشان داده است که نقش پلاسمیدهای حدت در بیماری‌زایی سالمونلاها واضح نمی‌باشد. اما شواهدی

www.SID.ir

Archive of SID

هم وجود دارد که نشان می‌دهد ژن‌های اپرون *spv* باعث می‌شوند که *سالمونلا تیفی‌موریوم* طحال و کبد را آلوده کند و میزان تکثیر باکتری را در سلول‌های میزبان افزایش دهد (Gulig and Doyle, 1993).

با توجه به مطالب ذکرشده، هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سالمونلاهای آلوده‌کننده گله‌های مرغ تخم‌گذار و همچنین بررسی حضور ژن حدت *spv*R در سالمونلاهای جدا شده از طیور صنعتی تخم‌گذار در سطح استان آذربایجان‌شرقی بود.

مواد و روش‌ها

در یک بازه زمانی سه ماهه در تابستان سال ۱۳۹۷ از کبد و تخمدان مرغ‌های تخم‌گذار ارجاعی به کلینیک تخصصی طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز در شرایط استریل نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها در محیط‌های کشت انتخابی سالمونلا و سپس در محیط‌های افتراقی مربوطه کشت داده شد تا هویت جدایه‌ها به عنوان سروتیپی از گونه *سالمونلا اینتریکا* مشخص شود (Amirmozaffari *et al*., 2013). پس از جداسازی سالمونلاها، آزمایش آنتی‌بیوگرام بر اساس روش انتشار دیسک در آگار (برمبنای اصول کربی- بوئر) در محیط مولر هینتون آگار جهت تعیین میزان حساسیت آنتی‌بیوتیک‌های جدایه‌ها انجام شد. بدین منظور از دیسک‌های کاغذی مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکساسین، فوزباک، دانوفلوکساسین، کلرتتراسیکلین، اکسی‌تتراسایکلین، داکسی‌سایکلین، سولتریم و اریترومایسین (همگی ساخت شرکت پادتن طب- تهران) استفاده شد.

جهت بررسی وجود ژن *spv*R در جدایه‌های سالمونلا نیز از آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (polymerase chain reaction; PCR) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی مطابق جدول ۱ استفاده شد. بدین منظور ابتدا به استخراج DNA جدایه‌ها با استفاده از روش جوشاندن مبادرت گردید. در پایان این عمل مایع رویی مربوط به عمل استخراج با احتیاط برداشته شد (مایع شفاف) و بر روی تیوب‌های mL ۲ بر روی نانودراپ گذاشته شد. در این مرحله اگر نشانگر ۲۸۰–۲۶۰ بین اعداد ۲–۱/۸ بود، نشان‌دهنده خلوص DNA است. سپس نمونه‌ها به فریزر ۸۰- درجه سلسیوس انتقال داده شد تا برای مرحله PCR آماده باشند (Amini *et al*., 2010).

جدول۱- مشخصات جفت پرایمرهای اختصاصی مربوط به ژن *spv*R

ژن هدف	توالی پرایمرها (5´-3´)	اندازه محصول PCR (bp)	منبع
*spv*R	F: CAG GTT CCT TCA GTA TCG CA R: TTT GGC CGG AAA TGG TCA GT	۳۱۰	(Amini *et al*., 2010)

در ادامه پرایمرهای *spv*R-R و *spv*R-F بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده آماده شد، سپس به یخچال منتقل گردید. Master mix و دیگر مواد مصرفی برای انجام PCR به‌صورت شرکتی خریداری شده (شرکت طوبی نگین- تهران) و برای آماده

www.SID.ir

Archive of SID

سازی هرنمونه داخل میکروتیوب مخصوص دستگاه ترمال سایکلر، طبق جدول ۲ مخلوط و تهیه شدند.

جدول ۲- مواد استفاده‌شده برای انجام آزمایش PCR

ماده استفاده‌شده	مقدار استفاده‌شده برای هر نمونه (µl)
Master mix	۱۲/۵
پرایمر *spv*R-F	۰/۵
پرایمر *spv*R-R	۰/۵
DNA	۱
آب مقطر دوبار تقطیر دیونیزه	۱۰/۵
مجموع	۲۵

در این مرحله پس از مخلوط کردن Master mix، پرایمرها و آب مقطر در داخل میکروب، عمل ورتکس انجام شد تا ترکیبات مذکور کاملاً مخلوط شوند. سپس از هر نمونه DNA استخراج شده به میزان ۱ میکرولیتر برداشت شده و به داخل میکروتیوب ریخته شد. پس از مخلوط شدن کامل، میکروتیوب به داخل دستگاه ترمال‌سایکلر انتقال داده شد و پس از تنظیم سیکل دماها، دستگاه روشن شد. لازم به ذکر است که در آزمایش PCR انجام‌شده، از DNA استخراج‌شده از ژنوم باکتری *سالمونلا اینتریکا اینتریکا* (استاندارد) به عنوان کنترل مثبت و نیز از آب مقطر دوبار تقطیر دیونیزه استریل بدون استفاده از DNA استخراج‌شده به عنوان کنترل منفی استفاده شد. برنامه زمان بندی واکنش زنجیره پلی مراز در مورد ژن *spv*R به شرح زیر بود:

واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ٤ دقیقه و واسرشت سازی اصلی در دمای ٤ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه با انجام ۳۵ چرخه و مرحله اتصال آغازگر در دمای ۵۷ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و مرحله بسط هم در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و ۲۰ ثانیه و در نهایت یک چرخه بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد.

در مرحله بررسی نتایج کار مولکولی هم از روش الکتروفورز و ژل آگاروز ۱ درصد و رنگ اختصاصی safe stain و جریان الکتریکی ثابت با شدت جریان ۱۰۰ میلی‌ولت به مدت ٤۵ دقیقه و لامپUV دستگاه ژل‌داکت مستقر در مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز استفاده شد.

- **تحلیل آماری داده‌ها:** نتایج به‌دست آمده به‌صور آمار توصیفی ارائه گردیده و مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

از مجموع ۲۰۰ نمونه بررسی‌شده، در ۲٦ مورد سروتیپی از باکتری *سالمونلا اینتریکا* جداسازی شد و بقیه نمونه‌ها در آزمایش کشت میکروبی از نظر وجود باکتری سالمونلا منفی بودند. بدین ترتیب نتایج بررسی آماری نشان داد که ۱۳ درصد نمونه‌ها از نظر کشت سالمونلا مثبت بوده‌اند و بقیه نمونه‌ها نیز منفی

www.SID.ir

Archive of SID

گزارش شدند. البته لازم به ذکر است که در مطالعه حاضر هیچ سالمونلای متحرکی جدا نشد.

همچنین نتایج بررسی مولکولی بر روی جدایه‌های مذکور نشان داد که در مجموع از ۲۶ جدایه مورد مطالعه، در ۲۳ مورد (۸۸/٤٦ درصد جدایه‌های سالمونلا) ژن حدت spvR حضور داشت (شکل ۱).

شکل ۱- تصویر نتایج ارزیابی حضور ژن *spv*R با باندی به اندازه **۳۱۰bp**. در این شکل چاهک شماره ۱ مربوط به سایز مارکر ۱۰۰ جفت بازی شرکت فرمانتز (آلمان) می‌باشد. همچنین چاهک شماره ۲ مربوط به کنترل مثبت و چاهک شماره ۹ مربوط به کنترل منفی و بقیه چاهک‌ها مربوط به نمونه‌های مورد آزمایش می‌باشد.

از طرف دیگر مشخص گردید که تمامی جدایه‌های مورد آزمایش نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین، سولتریم و تتراسایکلین مقاوم بودند. همچنین بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به ترتیب در برابر داکسی‌سایکلین با فراوانی ۹٤/۳ درصد، دانوفلوکساسین با فراوانی ۹۲/٦ درصد و فلورفنیکل با فراوانی ۹۱/۷ درصد مشاهده شد. بیشترین میزان حساسیت نیز مربوط به آنتی‌بیوتیک فوزباک با فراوانی ۹٤/۷ درصد و انروفلوکساسین با فراوانی ۷٤/۲ درصد ثبت شد.

بحث و نتیجه‌گیری

عفونت با باکتری‌های جنس سالمونلا موجب بیماری‌های مزمن و حاد در طیور می‌گردد که در نهایت این بیماری‌ها می‌توانند خسارت اقتصادی قابل توجهی به صنعت طیور وارد نمایند. همچنین طیور آلوده می‌توانند منبع مهمی برای انتقال سالمونلا از طریق زنجیره غذایی به انسان باشند (Swayne *et al.*, 2013).

نتایج مطالعه پژوهشگران نشان داده که ۵ درصد تخم‌مرغ‌های مربوط به مرغان بومی در شهرستان اهواز آلوده به سالمونلا می‌باشند که ٤ درصد آن‌ها *سالمونلا تیفی‌موریوم* و ۱ درصد *سالمونلا انتریتیدیس* بود. همچنین در پژوهشی با بررسی تخم‌مرغ‌های خوراکی صنعتی موفق به جداسازی سالمونلا از ۹/٤ درصد از تخم‌مرغ‌ها شده‌اند (Ching-Lee *et al.*, 1991). در این ارتباط گزارش نموده‌اند که آلودگی محتویات تخم‌مرغ می‌تواند به تنهایی دیده شود و

www.SID.ir

Archive of SID

حاصل عفونت دستگاه تولیدمثلی باشد (Lister, 1988; Bygrave and Gallagher, 1989; Hoop and Pospischil, 1993). همچنین نتایج یک تحقیق نشان داده که ۱۹ درصد تخم‌مرغ‌های صنعتی و ٤ درصد تخم‌مرغ‌های محلی آلوده به سالمونلا بوده‌اند. از طرف دیگر نتایج این پژوهشگران نشان داده که بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به اریترومایسین، نالیدیکسیک اسید، سولفامتاکسازول و بیشترین حساسیت نسبت به سیپروفلوکساسین، سفالکسین و جنتامایسین وجود داشته‌است (Amirmozaffari *et al*., 2013). پژوهشگران دیگری هم بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی را نسبت به اریترومایسین و بیشترین حساسیت آنتی‌بیوتیکی را نسبت به جنتامایسین اعلام نموده‌اند (Shapouri *et al*., 2009). همچنین نتایج مطالعه‌ای هم نشان داده که ۱۰۰ درصد جدایه‌ها نسبت به جنتامایسین، انروفلوکساسین، ایمی‌پنم و سفتریاکسون حساس هستند و بیشترین مقاومت هم در برابر نالیدیکسیک اسید و نیتروفورانتوئین مشاهده می‌شود. همچنین ۸٤ درصد از جدایه‌های سالمونلا در تحقیق مذکور دارای مقاومت چندگانه نسبت به سه یا تعداد بیشتری از آنتی‌بیوتیک‌ها گزارش شده‌اند (Ezatpanah *et al*., 2013). نتایج پژوهشگران در ایتالیا هم نشان داده است که سالمونلاهای جداشده از ماکیان ٥٤/۳ درصد نسبت به آمپی‌سیلین، ۳/۲ درصد نسبت به جنتامایسین، ۸/٥ درصد نسبت به کانامایسین، ۲٤/٥ درصد نسبت به کلرآمفنیکل و۱ درصد نسبت به سیپروفلوکساسین مقاوم می‌باشند (Graziani *et al*., 2008). در کشورهای اتحادیه اروپا هم میزان شیوع سالمونلا در گله‌های طیور شامل موارد مثبت از صفر درصد در کشور سوئد تا ٦٥ درصد در کشور مجارستان متفاوت می‌باشد (Carraminana *et al*., 2004; Madsen, 2011). با این‌حال نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌ترتیب در برابر داکسی‌سایکلین ۹٤/۳ درصد، دانوفلوکساسین ۹۲/٦ درصد، و فلورفنیکل ۹۱/۷ درصد می‌باشد. همچنین بیشترین میزان حساسیت نیز مربوط به فوزباک ۹٤/۷ درصد و انروفلوکساسین ۷٤/۲ درصد بود که با برخی از مطالعات پیشین ذکرشده در این زمینه همسو می‌باشد. از طرف دیگر نتایج پژوهشگران نشان داده است که پلاسمید حدت *spv*RABCD در بیشتر سروتیپ‌های سالمونلا که از نمونه‌های طیور جدا شده‌اند وجود داشته و برای ایجاد بیماری بالینی نیز ضروری می‌باشد (Rychlik *et al*., 1998). هر چند نتایج برخی مطالعات نیز نشان داده است که نقش پلاسمیدهای حدت در بیماری‌زایی سالمونلاها واضح نمی‌باشد، اما در عین حال شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد ژن‌های حدت اپرون *spv* باعث می‌شوند که *سالمونلا تیفی‌موریوم* طحال و کبد را آلوده نماید و میزان تکثیر باکتری را در سلول‌های میزبان افزایش دهد (Gulig and Doyle, 1993). نتایج مطالعه‌ای هم نشان داده است که ژن *spv*R در ۱۰۰ درصد سالمونلاهای جدا شده وجود دارد (Nikbakht and Tajbakhsh, 2004). نتایج یک پژوهش در برزیل هم نشان داده که در ۸۲/۷ درصد از موارد نمونه‌برداری‌شده متعاقب مسمومیت غذایی سالمونلائی حضور ژن *spv*R در جدایه‌های سالمونلا با استفاده از آزمایش PCR مشخص شده است (Geimba *et al*., 2004). نتایج مطالعه پژوهشگران

www.SID.ir

Archive of SID

در استان چهارمحال و بختیاری هم نشان داده کـه در مجموع از تعداد ۳۰۵ نمونه مـورد بررسـی ۱٦۰ مـورد (۵۲/٤۵ درصد نمونه‌ها) آلوده به سالمونلا بوده‌انـد و میـزان فراوانـی هـر یـک از ژن‌هـای *spv*B، *spv*C و *spv*R به ترتیـب ٤۵/۷، ۷٦/٦ و ٦۹/۱٤ درصـد بـوده است (Daruoshi *et al.*, 2015). نتـایج مطالعـه‌ای در سال ۲۰۱۲ نیز نشان داده کـه سـه ژن *spv*B، *spv*C و *spv*R در ٦۰ سـروتیپ از سـالمونلاهای جداشـده از منابع مختلف موجود بوده و فراوانی آن‌ها بـه ترتیـب ٤۳/۳، ۷۳/۳ و ٤٦/٦ درصـد بـوده اسـت (Derakhshandeh *et al.*, 2013). نتـایج ارزیـابی پژوهشگران در سال ۲۰۱۰ در کشتارگاهی در کرمـان نشان داده که از ۱۰۰۱ نمونه جمع‌آوری شده مربـوط به طیـور، ٦۸ مـورد بـه سـالمونلا آلـوده بودنـد و در مجموع در ۸۸/٦ درصد نمونه‌ها نیـز وجـود ژن‌هـای *spv* مورد تایید قـرار گرفـت (Amini *et al.*, 2010). نتایج مطالعه حاضـر نیـز نشـان داد کـه از ۲٦ جدایـه سـالمونلا، مجموعـاً در ۲۳ مـورد (۸۸/۵ درصـد) ژن حدت *spv* وجود داشته است(شـکل۱) کـه بـا نتـایج اکثر مطالعات پیشین در این زمینه همسو می‌باشد.

به نظـر مـی‌رسـد از جملـه دلایـل اصـلی اختلافـات ذکرشده در پژوهش‌های بالا می‌تواند در نتیجه تفاوت در نوع نمونه‌های مورد مطالعه (نمونه انسان و نمونـه دام و پرندگان در مقایسه با نمونه مواد غذایی) باشـد. در عین حال عقیده بر این است که این موضوع حتی می‌تواند در نتیجه تفاوت در منشأ نمونه‌ها در ارتبـاط با نوع مناطق جغرافیایی نیز باشـد. همچنـین احتمـالاً تفاوت در شیوع ژن‌های حدت بررسی‌شده در مطالعه حاضر در مقایسه با مطالعات مشابه دیگـر، مـی‌توانـد بـه دلیـل تفـاوت در رعایـت بهداشـت در بـین جمعیت‌های انسـانی و یـا حیـوانی در مناطق مختلف جغرافیائی و نیز به دلیل تفـاوت در میـزان اسـتفاده از مواد ضـدمیکروبـی در درمـان انسـان و حیوانـات در منـاطق مـذکور هـم باشـد (Nikbakht and Tajbakhsh, 2004; Amini *et al.*, 2010; Sabegi and Anzabi, 2019).

با توجه به یافتـه‌هـای پـژوهش حاضـر بـه نظـر می‌رسد که این مطالعه اولین تحقیق در زمینه بررسـی مولکولی هویت سالمونلاهای جداشده از نمونـه‌هـای طیور در منطقه استان آذربایجـان‌شـرقی می‌باشـد کـه اثبات کرد سالمونلاهای حادی در نمونه‌هـای مـذکور وجود دارد و بر این اساس می‌توان نتیجه گرفـت کـه برخورداری اکثر جدایه‌هـای سـالمونلا از ژن حـدت اپرون *spv*R نشان می‌دهـد کـه مصـرف جگـر طیـور آلوده مـی‌تواند مشکلات جدی در سـلامت عمـومی، بهداشت جامعـه و درمـان ایجاد نمایند و لذا اتخـاذ تصـمیم و سیاست‌گذاری‌هـای کـلان در راسـتای کنتـرل و پیشـگیری از وقوع بیمـاری‌هـای منتقلـه از طریق غذا، مخصوصاً سـالمونلوزیس کـاملاً ضـروری است. ولی با توجه به مطالبی که در خصـوص دلایـل تفاوت‌های موجود در یافته‌های پژوهش‌های مختلـف مشابه ذکر گردید، به نظر می‌رسد که جهت قضـاوت دقیق وکامل‌تر در این خصوص، انجام مطالعات بیشتر و با استفاده از نمونه‌های مختلـف و در حجـم بـالاتر ضـروری اسـت.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر برگرفته از پایاننامه رشته دکتـرای حرفـه‌ای دامپزشـکی مصـوب دانشـگاه آزاد اسـلامی واحد تبریز می‌باشد. لذا بدین‌وسیله از همه مسـئولین

www.SID.ir

Archive of SID

و کارکنـــان دانشـــگاه مخصوصـــاً کارشناســـان آزمایشگاه‌های دانشکده دامپزشکی تشکر می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند که هیچ‌گونـه تضـاد منافعی ندارند.

منابع

- Amini, K., Salehi, T.Z., Nikbakht, G., Ranjbar, R., Amini, J. and Ashrafganjooei, S.B. (2010). Molecular detection of *inv*A and *spv* virulence genes in Salmonella enteritidis isolated from human and animals in Iran. African Journal of Microbiology Research, 4(21): 2202-2210.
- Amirmozaffari, N., Rahmani, Z. and Iesazadeh, K. (2013). Evaluation of the level of contamination with Salmonella spp. in Red Meat, Chicken, and Domestic and Industrial Eggs produced in Talesh city and assessment of their antibiotic resistance pattern, Iran. Journal of Qom University Medical Sciences, 7(5): 60-65.
- Barrow, P. and Lovell, M. (1988). The association between a large molecular mass plasmid and virulence in a strain of Salmonella pullorum. Microbiology, 134(8): 2307-2316.
- Barrow, P.A., Simpson, J.M., Lovell, M.A. and Binns, M.M. (1987). Contribution of Salmonella gallinarum large plasmid toward virulence in Fowl Typhoid. Infection and Immunity, 55(2): 388-392.
- Bygrave, A. and Gallagher, J. (1989). Transmission of Salmonella enteritidis in Poultry. Veterinary Record, 124(21): 571-571.
- Carraminana, J.J., Rota, C., Agustin, I. and Herrera, A. (2004). High prevalence of multiple resistance to antibiotics in Salmonella serovars isolated from a Poultry Slaughterhouse in Spain. Veterinary Microbiology, 104(1): 133-139.
- Ching-Lee, M.R., Katz, A.R., Sasaki, D.M. and Minette, H.P. (1991). Salmonella egg survey in Hawaii: Evidence for routine bacterial surveillance. American Journal of Public Health, 81(6): 764-766.
- Christensen, J., Olsen, J., Hansen, H. and Bisgaard, M. (1992). Characterization of Salmonella enterica serovar gallinarum biovars gallinarum and pullorum by plasmid profiling and biochemical analysis. Avian Pathology, 21(3): 461-470.
- Daruoshi, M., Doosti, A. and Kargar, M. (2015). The prevalence of plasmid genes; *spv*B, *spv*C and *spv*R in Salmonella enteritidis isolated from Poultry Industry in Chaharmahal va Bakhtiari province. Journal of Microbiology World, 7(4): 282-288.
- Derakhshandeh, A., Firouzi, R. and Khoshbakht, R. (2013). Association of three plasmid-encoded *spv* genes among different Salmonella serotypes isolated from different origins. Indian Journal of Microbiology, 53(1): 106-110.
- Ezatpanah, E., Moradi Bidhendi, S., Khaki, P., Ghaderi, R., Seyedan Jasbi, E. and Moghtadaee Far, S. (2013). Isolation, serotyping and antibiotic-resistance pattern of isolated Salmonella from Chicken of Arak. Iranian Veterinary Journal, 9(2): 88-96.
- Geimba, M.P., Tondo, E.C., De Oliveira, F.A., Canal, C.W. and Brandelli, A. (2004). Serological characterization and prevalence of *spv*R genes in Salmonella isolated from foods involved in outbreaks in Brazil. Journal of Food Protection, 67(6): 1229-1233.

www.SID.ir

Archive of SID

- Graziani, C., Busani, L., Dionisi, A., Lucarelli, C., Owczarek, S., Ricci, A., *et al*. (2008). Antimicrobial resistance in Salmonella enterica serovar typhimurium from human and animal sources in Italy. Veterinary Microbiology, 128(3): 414-418.
- Gulig, P.A. and Doyle, T.J. (1993). The Salmonella typhimurium virulence plasmid increases the growth rate of Salmonellae in Mice. Infection and Immunity, 61(2): 504-511.
- Hoop, R. and Pospischil, A. (1993). Bacteriological, Serological, Histological and Immunohistochemical findings in laying hens with naturally acquired Salmonella enteritidis phage type 4 infection. The Veterinary Record, 133(16): 391-393.
- Humphrey, T. (2000). Public-Health aspects of Salmonella infection. Salmonella in domestic animals, 1(1): 245-263.
- Lister, S.A. (1988). Salmonella enteritidis infection in broilers and broiler breeders. Veterinary Record, 123(13): 350-350.
- Madsen, M. (2011). Risk-based control of Salmonella in broiler production. World Poultry, 27(7): 40-41.
- Mdegela, R.H., Yongolo, M.G., Minga, U.M. and Olsen, J.E. (2000). Molecular epidemiology of Salmonella gallinarum in chickens in Tanzania. Avian Pathology, 29(5): 457-463.
- Myint, M., Johnson, Y., Tablante, N. and Heckert, R. (2006). The effect of pre-enrichment protocol on the sensitivity and specificity of PCR for detection of naturally contaminated Salmonella in raw poultry compared to conventional culture. Food Microbiology, 23(6): 599-604.
- Nikbakht, G.R. and Tajbakhsh, H. (2004). Study of Salmonella plasmid virulence genes (*spv*) in Salmonella enterica serovars isolated in Iran. Journal of Veterinary Research, 59(2): 137-140.
- Organization, W.H. (2001). Who surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications in Europe: Report. Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine, pp: 121-135.
- Roberts, T., Tompkin, R. and Baird-Parker, A. (1996). Microorganisms in foods, microbiological specifications of food pathogens. Chapman & Hall, pp: 615-649.
- Rychlik, I., Lovell, M. and Barrow, P. (1998). The presence of genes homologous to the K88 genes Faeh and Faei on the virulence plasmid of Salmonella gallinarum. FEMS Microbiology Letters, 159(2): 255-260.
- Sabegi, M. and Anzabi, Y. (2019). Determine of serum group and antibiotic resistance pattern of isolated Salmonella from laying industrial poultry in Tabriz area. Journal of Veterinary Clinical Pathology, 2(50): 199-211. [In Persian]
- Shapouri, R., Rahnema, M. and Eghbalzadeh, S. (2009). Prevalence of Salmonella serotypes in poultry meat and egg and determine their antibiotic sensivity in Zanjan city. The Quarterly Journal of Animal Physiology and Development, 2(6): 63-71.
- Swayne, D.E., Mcdougald, L., Nolan, L.K., Suarez, D.L. and Nair, V. (2013). Diseases of Poultry. 13th ed., Iowa, USA: John Wiley & Sons, Inc, pp: 251-256.

www.SID.ir