

بیوتایپینگ و بررسی فراوانی سروتیپ O:3 یرسینیا انتروکولیتیکا جدا شده از گوشت بوقلمون عرضه شده به بازار مصرف شهرستان شهرکرد

عطیه حداد سامانی^{1*}، الهه تاجبخش²، ابراهیم رحیمی³.

¹ دانش آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

² استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

³ دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

تاریخ پذیرش: 93/4/23

تاریخ دریافت: 92/10/27

چکیده

یرسینیا انتروکولیتیکا¹ میکروارگانیزی بیماری زا است که در سراسر جهان انتشار یافته است و روز به روز بر موارد ابتلا به آن و در نتیجه اهمیت آن افزوده می شود. مطالعه حاضر با هدف بیوتایپینگ و بررسی فراوانی سروتیپ O:3 یرسینیا انتروکولیتیکا در گوشت بوقلمون در شهرستان شهرکرد انجام شد. این تحقیق که به روش خوشه ای - تصادفی روی 300 نمونه گوشت بوقلمون از فروشگاه های عرضه کننده فرآورده های گوشتی در شهرستان شهرکرد صورت گرفت. پس از جداسازی یرسینیا انتروکولیتیکا، به منظور بیوتایپینگ و بررسی فراوانی سروتیپ O:3 در ایزوله ها آزمون های میکروبیولوژی، بیوشیمیایی و واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) انجام شد. از مجموع 300 نمونه گوشت بوقلمون مورد مطالعه، 55 نمونه (18/33 درصد) یرسینیا انتروکولیتیکا جداسازی شد. بیوتایپ 1A در 20 نمونه (36/36 درصد)، 1B در 14 نمونه (25/45 درصد)، 4 سوش (7/27 درصد) از بیوتایپ 2، 3 سوش (5/45 درصد) از بیوتایپ 3 و 4 مورد (7/27 درصد) از بیوتایپ 4 گزارش گردید و بیوتایپ 10 جدایه (18/18 درصد) قابل شناسایی نبود. در آزمون PCR تمامی نمونه ها جدا شده مورد تایید قرار گرفتند. سروتیپ O:3 در 7 نمونه (12/72 درصد) ردیابی گردید که مربوط به بیوتیپ های 3 و 4 بود. در سایر بیوتیپ ها سروتیپ O:3 یافت نشد. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان می دهد فراوانی آلودگی نسبتاً بالای گوشت بوقلمون به یرسینیا انتروکولیتیکا در انتقال بیماری های این باکتری از مراکز توزیع کننده به انسان پراهمیت می باشد.

واژه های کلیدی: یرسینیا انتروکولیتیکا، سروتیپ O:3، گوشت بوقلمون، بیوتایپینگ

* مسئول مکاتبات: hadad_aa@yahoo.com

1- مقدمه

منتقل شود و با توجه به اینکه تا کنون مطالعه ای بر میزان شیوع این باکتری روی گوشت بوقلمون انجام نشده است، بنابر این مطالعه حاضر با هدف ردیابی یرسینیا انتروکولیتیکا در گوشت بوقلمون و تعیین سروتیپ O:3 این باکتری به روش PCR طراحی و اجرا شد.

2- مواد و روش ها

1-2- نمونه گیری

در این تحقیق به منظور جستجوی یرسینیا انتروکولیتیکا در گوشت بوقلمون عرضه شده در شهرستان شهرکرد از بهمن ماه 1391 تا خرداد 1392 به روش خوشه‌ای - تصادفی از چهار منطقه شمال، جنوب، شرق و غرب شهرستان شهرکرد نمونه گیری انجام گرفت. 300 نمونه گوشت بوقلمون از فروشگاه‌های عرضه گوشت بوقلمون موجود در بازار شهرستان شهرکرد جمع آوری گردید. نمونه‌ها در شرایط استریل به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انتقال داده شد.

2-2- کشت میکروبی

در این تحقیق مقدار 25 گرم از گوشت ناحیه ران بوقلمون با تیغ بیستوری در شرایط کاملاً استریل به لایه‌های بسیار نازک بریده شد و به 225 میلی‌لیتر فسفات بافر سالین با pH=7/2 اضافه و به مدت دو هفته در دمای یخچال سرماگذاری گردید. روز چهاردهم یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون غنی شده با 9 میلی‌لیتر پتاس 25 درصد با یک همزن برقی به مدت 30 ثانیه کاملاً مخلوط گردید و سپس یک لوپ از این مخلوط بر روی محیط کشت انتخابی - افتراقی (Cefsulodin-Irgasan CIN Agar (Novobiocin کشت داده و به مدت 48 ساعت در دمای 25 درجه گرم خانه گذاری و پس از این مدت کلنی‌های مشکوک مورد بررسی قرار گرفت. پس از انجام رنگ آمیزی گرم روی کلنی‌های مشکوک و مشاهده باسیل‌های کوچک گرم منفی در آن‌ها، آزمایش‌های افتراقی جهت تعیین بیوتیپ‌های یرسینیا صورت گرفت (6). به منظور بیوتایپینگ یرسینیا انتروکولیتیکا روی پرگنه‌های مشکوک (قرمز رنگ با مرکز تیره تر و حاشیه های شفاف) آزمون های افتراقی مانند لیپاز، هیدرولیز اسکولین، تولید اندول، تخمیر قندهای گریلوز و ترهالوز، فعالیت پیرازین آمیداز، β -D- گالاکتوزیداز، وژس پروسکائر و حرکت در دمای

یرسینیا اولین بار در سال 1998 توسط شلفستین و کیلمن¹ شرح داده شد. در سال 1943 این دو دانشمند آن را باکتریوم انترو کولیتیکوم² نامیدند. علت انتخاب نام انتروکولیتیکا به این دلیل است که این گونه در رابطه با روده و کولون می باشد (2، 12). یرسینیا انتروکولیتیکا پاتوژنی قابل انتقال از طریق مواد غذایی است که در آب، فرآورده های لبنی و گوشت یافت می شود. این پاتوژن یکی از رایج ترین عوامل التهاب دستگاه گوارش ناشی از مواد غذایی در غرب و اروپای شمالی است و دارای شیوع فزاینده ای در ایالات متحده و کانادا است (13). یرسینیا انتروکولیتیکا براساس تنوع آنتی ژنی در دیواره سلولی لیپولی ساکاریدی خود بیش از 50 سروتیپ مختلف تقسیم می شود. سویه هایی با سروتیپ O:5, O:27, O:3, O:9 عوامل عمده بیماری غذایی انسان ها در اروپا، ژاپن، آفریقای جنوبی و کانادا می باشند (15). باکتری یرسینیا انتروکولیتیکا به دلیل توانایی رشد تکثیر در دمای یخچال از باکتری های سرما دوست بوده و با تولید انتروتوکسین روی گوشت های نگهداری شده در یخچال، بدون ایجاد علائم ظاهری فساد و بدون تغییر در بو و مزه گوشت قادر به ایجاد بیماری های شدیدی هم چون گاستروانتریت حاد³، اسهال خونی⁴، لنفادیت مزانتر⁵ و حتی سپتی سمی در برخی بیماران می باشد (7). میزان موارد تایید شده آلودگی به یرسینیا انتروکولیتیکا در ایران در سال 1375 از میان 300 نمونه مدفوع 2/66 درصد، در سال 1386 از میان 120 نمونه گوشت قرمز و 120 نمونه گوشت مرغ به ترتیب 13/3 درصد و 15/8 درصد، و در سال 1385 از میان 1026 بیمار مبتلا به اسهال حاد در مشهد از هرسه نمونه مدفوع 0/29 درصد گزارش شده است (16). از آن جایی که این باکتری به عنوان یک پاتوژن منتقله از طریق مواد غذایی⁶ از نظر اقتصادی و بهداشت عمومی حائز اهمیت است، توانایی تشخیص سویه های بیماری زا از غیر بیماری زا اهمیت زیادی در کنترل این پاتوژن در مواد غذایی دارد (8). با توجه به این که سروتیپ O:3 شایع ترین سروتیپ بیماریزای این باکتری در انسان بوده و می تواند از طریق مصرف گوشت سفید و قرمز به انسان

1- Schleifstein & Caleman

2- Bacterium enterocoliticom

3- Acute gastroenteritis

4- Dysentery

5- Lnfadyt mesenteric

6- Food borne

شد. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر مستر سایکلر گرادینت (اپندرف، آلمان)⁵ انجام گرفت (20). در مرحله دوم آزمایش PCR جهت ردیابی سروتیپ O:3 با ردیابی ژن rfbC باکتری یرسینیا انتروکولیتیکا و با کمک زوج پرایمرهای زیرانجام گرفت (19). مشاهده باند 405 جفت بازی نشان دهنده مثبت بودن تست می باشد.

Yer O:3-F : CATCTGGGACACTAATTCG
Yer O:3- R :
AATCCATCAAAAACCACC

واکنش PCR در حجم 50 میکرولیتر شامل 5 میکرولیتر بافر PCR (10x)، 1/5 میلی مول MgCl₂، 150 میکرومول dNTP Mix، آمیکرومول از زوج پرایمرهای F و R مربوط به هر ژن، 1 واحد آنزیم DNA Taq پلیمرز و 1 میکرولیتر DNA هر نمونه بود. برنامه حرارتی مورد استفاده در این مرحله شامل یک سیکل 95 درجه به مدت 6 دقیقه، 30 سیکل تکراری 94 درجه 60 ثانیه، 56 درجه 70 ثانیه، 72 درجه 80 ثانیه و یک سیکل انتهایی 72 درجه به مدت 7 دقیقه بود. بعد از انجام آزمایشات PCR، محصول PCR روی ژل 1 درصد آگارز واجد اتیدیوم بروماید⁶ در ولتاژ ثابت 90 ولت در حضور مارکر 100 جفت بازی DNA (فرمنتاز، آلمان) الکتروفورز و نتیجه با دستگاه تصویر بردار از ژل (انگلستان، Uviteck) مورد بررسی قرار گرفت.

4-2- تجزیه و تحلیل آماری

با استفاده از نظر مشاور آماری تعیین ارتباط بین فراوانی بیوتیپ ها امکان پذیر نمی باشد. اگر بیوتیپ ها را با عامل دیگری مانند ژنهای ویروالانس یا ژنوتیپ بررسی می کردیم آن گاه می توانستیم فراوانی بیوتیپ ها را با استفاده از آزمون آماری بیان کنیم و در نتیجه زمانی که نمی توان از آزمون آماری استفاده کرد نیاز به تعیین سطح معنا داری نمی باشد.

3- نتایج و بحث

در این تحقیق با استفاده از روش های میکروبیولوژی و تست های بیوشیمیایی از مجموع 300 نمونه گوشت بوقلمون، 55 نمونه (18/33 درصد) یرسینیا انتروکولیتیکا جداسازی شد. در مطالعه

25 درجه سانتی گراد صورت گرفت (2). در جدول 1 خصوصیات بیوتایپ های مختلف یرسینیا انتروکولیتیکا نشان داده شده است.

جدول 1- تست های افتراقی مورد استفاده جهت تشخیص بیوتیپ های مختلف یرسینیا انتروکولیتیکا (2)

تست های بیوشیمیایی	1A	1B	2	3	4	5	6
لیپاز	+	+	-	-	-	-	-
هیدرولیز اسکولین	±	-	-	-	-	-	-
اندول	+	+	+	-	-	-	-
گزیلوز	+	+	+	+	-	±	+
تره هالوز	+	+	+	+	+	-	+
پیرازین آمیداز	+	-	-	-	-	-	+
D-β-گالاکتوزیداز	+	-	-	-	-	-	-
وژس پروسکاتر	+	+	+	±	+	+	-

3-2- آزمایش PCR

به منظور تأیید قطعی وجود یرسینیا انتروکولیتیکا در نمونه های کشت داده شده در ایزوله ها، از واکنش PCR استفاده شد. در این راستا ابتدا DNA ژنومی باکتری های رشد یافته در محیط مایع لوریابرتانی¹ با استفاده از کیت استخراج DNA (فرمنتاز، آلمان)²، استخراج و سپس آزمایش PCR روی DNA تخلیص شده با استفاده از پرایمرهای اختصاصی 16srRNA انجام گرفت.

Y.ent:F:ACCTTTGTATTTGACGTTACTCG
Y.ent:R:CAAGTTGACATCATCGTTTACAGCG
Accession No:FN561632

واکنش PCR در حجم 50 میکرولیتر واجد 5 میکرولیتر بافر PCR³ (10x)، 150 میکرومول dNTP (سیناژن، ایران)، 2 میلی مول MgCl₂، 1 میکرومول از زوج پرایمرهای R و F، 1 واحد آنزیم DNA Taq پلیمرز (سیناژن، ایران)⁴ و 1 میکرولیتر از DNA هر نمونه تنظیم و با برنامه حرارتی 95 درجه به مدت 6 دقیقه، 30 سیکل تکراری 94 درجه 60 ثانیه، 59 درجه 70 ثانیه، 72 درجه 80 ثانیه و یک سیکل انتهایی 72 درجه 7 دقیقه انجام

¹ - Luria berthani broth , Merck

² - DNA extraction kit (fermentas, Germany)

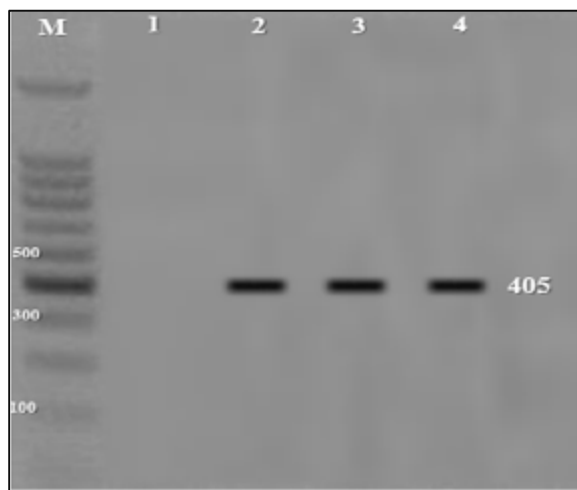
³ - PCR buffer

⁴ - DNA Taq polymerase(cinna gene)

⁵ - Thermocycler Master Cyler Gradient (eppendorf, Germany)

⁶ - Ethidium bromide

اقتصادی است و با توجه به افزایش جمعیت و تغییر شرایط زندگی مصرف آن رو به افزایش است. صنعت پرورش بوقلمون نیز یکی از مواردی است که طی سال‌های اخیر جایگاه ویژه‌ای در کشور ما به خود اختصاص داده است. وجود هر دو نوع گوشت سفید و قرمز در لاشه بوقلمون از مزیت‌های گوشت این پرنده است که 60 درصد آن گوشت سفید و 40 درصد آن را گوشت قرمز تشکیل می‌دهد. فسفر گوشت بوقلمون بالا می‌باشد و قابل رقابت با میگو است (11).



شکل 1- نتایج الکتروفورز rfbC-PCR مربوط به سروتیپ O:3 باکتری یرسینیا انتروکولیتیکا بر روی ژل آگارز 1% ستون M: مارکر 100 جفت بازی DNA، ستون 1: کنترل منفی، ستون های 2-4: باند 405 جفت بازی متعلق به ژن rfbC

میزان پروتئین گوشت بوقلمون بالا (28 درصد) می‌باشد و از اوره و اسید اوریک پایینی برخوردار است و عضلات تشکیل دهنده اندام‌ها از چربی میان بافتی کمتری تشکیل شده است. عدم استفاده یا استفاده کم از انواع مختلف آنتی بیوتیک‌ها و مواد افزودنی در مراحل پرورش، گوشت این پرنده را از کیفیت مطلوبی برخوردار می‌سازد (11). از میان 60-70 سروتایپ شناخته شده تنها تعداد اندکی از سروتایپ در ایجاد بیماری در انسان دخیل هستند، لذا تفکیک انواع بیماری زا جهت کنترل این پاتوژن در مواد غذایی از اهمیت زیادی برخوردار است (9 و 10) و تحقیقات زیادی در کشورهای مختلف هم چنین ایران صورت گرفته است. تحقیق حاضر با هدف ردیابی یرسینیا انتروکولیتیکا در گوشت بوقلمون شهرستان شهرکرد و شناسایی سروتیپ O:3

حاضر بیوتیپ 1A که با بیماری انسانی ارتباط ندارد، شایع ترین بیوتیپ بود که 20 مورد را به خود اختصاص داد. در میان بیوتیپ های بیماری زا 1B با 14 مورد بیشترین فراوانی را به خود اختصاص دادند. فراوانی بیوتیپ های بیماری زا دیگر نظیر 2، 3 و 4 در جدول 2 آورده شده و 10 نمونه قابل بیوتایپینگ نبودند. نتایج حاصل از بیوتایپینگ نمونه های مورد مطالعه در جدول 2 نشان داده شده است. در این تحقیق سروتیپ O:3 در 7 نمونه مشاهده گردید که مربوط به بیوتیپ های 3 و 4 می‌باشد. در سایر بیوتیپ ها سروتیپ O:3 مشاهده نگردید.

جدول 2- فراوانی بیوتیپ های یرسینیا انتروکولیتیکای جدا شده از

گوشت بوقلمون		
بیوتیپ	فراوانی	درصد
1 A	20	36/36%
1 B	14	25/45%
2	4	7/27%
3	3	5/45%
4	4	7/27%
طبقه بندی نشده	10	18/18%

در آزمون PCR در حضور زوج پرایمرهای اختصاصی 16srRNA در تمامی نمونه‌ها باند 361 جفت بازی مشاهده گردید که نشان دهنده تایید آزمون های بیوشیمیایی در تشخیص یرسینیا انتروکولیتیکا می‌باشد. جهت تعیین سروتیپ O:3 با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن rfbC در 7 نمونه (12/72%) از بیوتیپ‌های 3 و 4 باند 405 جفت بازی مشاهده گردید (شکل 1). سایر بیوتیپ ها باند اختصاصی سروتیپ O:3 مشاهده نشد.

باکتری یرسینیا انتروکولیتیکا به وسیله گوشت حیوانات آلوده به خصوص خوک و نیز گاو، گوسفند، بز و طیور و همچنین شیر و سبزی های آلوده به انسان منتقل می‌شود. این باکتری عامل بیماری های گوارشی متعدد به خصوص در کودکان و نوجوانان می‌باشد که منجر به التهاب قسمت انتهایی ایلئوم، اسهال، تورم عقده های لنفاوی مزانتریک، شبه آپاندیسیت، تورم صفاق، سوراخ شدن روده ها و در موارد حاد موجب آسیب های کلیوی، التهاب مزمن مفاصل و اختلال در سیستم اعصاب مرکزی می‌شود (18). از آن جایی که گوشت طیور غذایی سالم، کم چرب و

از 100 نمونه گوشت گاو 4 نمونه (4 درصد) و از 100 نمونه گوشت گوسفند 4 نمونه (4 درصد) آلوده به باکتری یرسینیا انتروکولیتیکا، 2 مورد (3 درصد) آلوده به یرسینیا انترمیدیا و 1 مورد حامل یرسینیا فردریکسنی بودند (1). در تحقیق دیگری در ایران توسط اشرفی در سال 1388 میزان آلودگی گوشت قرمز و مرغ عرضه شده در فروشگاه های مواد غذایی شهرستان شمیران به باکتری یرسینیا بررسی شد. در این مطالعه از 100 نمونه گوشت قرمز و مرغ، 16 نمونه (40 درصد) به یرسینیا انتروکولیتیکا آلوده بودند (3)، نتایج این دو تحقیق و تحقیق حاضر نشان می دهد که یرسینیا انتروکولیتیکا شایع ترین گونه یرسینیا در گوشت سفید و قرمز می باشد.

ترنر و همکاران⁴ در سال 2003 در مطالعه ای که روی 140 سویه یرسینیا انتروکولیتیکای جدا شده از منابع مختلف انجام دادند نشان دادند که بیوتیپ های 1B و 2 و 3 و 4 سویه های بیماری زای یرسینیا انتروکولیتیکای جدا شده از انسان و حیوانات است و بیوتیپ 1A در سویه های غیربیماری زای انسانی یرسینیا انتروکولیتیکا مشاهده می شود. در این تحقیق از 53 باکتری جدا شده از حیوانات، 46 مورد (87 درصد) از خوک جدا شده بود. که مربوط به بیوتیپ های بیماری زا بود. 2 بیوتیپ از بز، 4 بیوتیپ از سگ و 5 بیوتیپ 1A از گاو و سگ جدا گردید. تحقیقات آن ها نشان داد که سروتیپ های O:3 و O:9 شایع ترین سروتیپ ها در انواع بیماری زای انسانی است، به طوری که از 42 مورد یرسینیا انتروکولیتیکای انسانی، 16 مورد مربوط به سروتیپ O:3، 11 مورد O:9 و 15 مورد مربوط به سروتیپ های دیگر تشخیص داده شدند (19). در مطالعه حاضر از روش PCR به منظور شناسایی سروتیپ O:3 یرسینیا انتروکولیتیکا استفاده شد همچنین شایع ترین سروتیپ جداسازی شده سروتیپ O:3 این پاتوژن بوده است.

مطالعه دیگر به وسیله ی لامبرتز و تام⁵ نشان داد که خوک ها به عنوان مخزن اصلی یرسینیا انتروکولیتیکا منتقله از غذا هستند. این محققان گوشت خوک را از یخچال و مغازه های محلی که توسط بیماران مبتلا به یرسینیوز⁶ خریداری شده بودند جمع آوری کردند و حضور گونه های یرسینیا را مورد بررسی قرار دادند. از مجموع 118 نمونه از محصولات گوشت خوک (91 نمونه خام و

این باکتری به عنوان شایع ترین سروتیپ بیماری زا در فرآورده های گوشتی انجام گرفت.

شاکریان و همکاران در سال 1390 به بررسی اولیه شیوع یرسینیا انتروکولیتیکا در گوشت های گاو، گوسفند، و طیور عرضه شده در شهرکرد پرداختند نتایج حاصل از تحقیق از 300 نمونه گوشت، 42 مورد (14%) آلوده به این باکتری بودند و میزان آلودگی گوشت طیور به میکروارگانسم مزبور در مقایسه با بقیه بالاتر بود. به طوری که آلودگی انواع گوشت به این باکتری به ترتیب در گاو (4%)، گوسفند (4%) و طیور (34%) بود (5). بررسی نتایج مطالعه شاکریان و همکاران و نتایج حاصل از مطالعه حاضر بیانگر شیوع بالای آلودگی گوشت طیور از جمله بوقلمون نسبت به گوشت گاو و گوسفند می باشد. در مطالعه ی انجام شده توسط سلطان دلالت و همکاران در 1385 آلودگی به یرسینیا انتروکولیتیکا در گوشت های مرغ عرضه شده در جنوب تهران 34/2 درصد برآورد شده است. در این مطالعه، 250 نمونه شامل 158 نمونه گوشت قرمز و 92 نمونه گوشت مرغ از قصابی ها و مرغ فروشی های تحت نظارت دانشگاه علوم پزشکی تهران جمع آوری و از نظر آلودگی به یرسینیا بررسی گردید، که در این مطالعه 111 نمونه (4/44 درصد) گوشت قرمز و مرغ به یرسینیا آلوده بودند. شیوع یرسینیا در گوشت 29/1 درصد و در مرغ 70/7 درصد تعیین و گزارش شده است. براساس واکنش های بیوشیمیایی از 155 سوش یرسینیای جدا شده، 53 سوش (34/2 درصد) به عنوان یرسینیا انتروکولیتیکا، 47 سوش (30/3 درصد) به عنوان یرسینیا اینترمیدیا¹، 42 سوش (27 درصد) به عنوان یرسینیا فردریکسنی² و 1 سوش (0/6 درصد) به عنوان یرسینیا کریستنسنی³ شناسایی شدند. بیوتایپینگ یرسینیا انتروکولیتیکا سبب شناسایی 51 سوش (39/7 درصد) از بیوتایپ 1A، 13 سوش (26/4 درصد) از بیوتایپ 1B، 1 سوش (1/8 درصد) بیوتایپ 2، 3 سوش (5/7 درصد) بیوتایپ 3 و 1 سوش (1/8 درصد) از بیوتایپ 4 گردید. 14 سوش (26/4 درصد) غیر قابل طبقه بندی بودند، همچنین در این مطالعه بیوتیپ 1B شایع ترین بیوتیپ بیماری زا گزارش گردید (4).

آقا نژاد در سال 1384 یرسینیا انتروکولیتیکا را در گوشت گاو و گوسفند استان چهارمحال و بختیاری جستجو کرد. در این تحقیق

⁴ - Thoerner

⁵ - Lambertz & Them

⁶ - Yersiniosis

¹ - *Y. Intermedia*

² - *Y. frederiksenii*

³ - *Y. kristensenii*

روش های تشخیصی در تعیین مقدار آلودگی به باکتری و راه های مقابله و پیشگیری با آن به کاهش آلودگی با عفونت های میکروبی و مسمومیت ها کمک می کند. لذا وظیفه کارشناسان و متخصصان بخش آموزشی، تحقیقاتی و اجرایی این است که در جهت ساماندهی مراکز پرورش بوقلمون و اجرای فرآیندهای کنترلی و بهداشتی و بیش از پیش فعالیت نموده و همچنین انجام نظارت های دوره ای و انجام مطالعات بیشتر در این زمینه توصیه می شود. در این میان توجه به تنوع ژنتیکی باکتری ها کمک شایانی به پیاده سازی پروتکل های پیشگیرانه دارد.

5- منابع

- 1- آقا نژاد، پ. 1384. جداسازی یرسینیا انتروکولیتیکا از گوشت گاو و گوسفند عرضه شده به بازار شهرکرد، پایان نامه برای دریافت درجه دکتری حرفه ای رشته دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد شهرکرد، صفحات 48-9.
- 2- ادیب فر، پ. 1375. میکروبی شناسی پزشکی. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، صفحات 520-524.
- 3- اشرفی، ف. 1388. بررسی میزان آلودگی گوشت قرمز و مرغ عرضه شده در فروشگاه های مواد غذایی، شهرستان شمیران به باکتری یرسینیا. فصلنامه میکروبی شناسی. صفحات 52-49.
- 4- سلطان دلال، م.م.، ایزدپور، ف.، خلیفه قلی، م.، زراعتی، ح و بختیاری، ر. 1385. شیوع گونه یرسینیا در گوشت قرمز و مرغ فروشگاه های جنوب تهران. مجله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی. صفحات 56-49.
- 5- شاکریان، الف. شریف زاده، ع. آقائزاد، پ. تاجمیر ریاحی، م. صالحی، الف. 1390. بررسی آلودگی به یرسینیا انتروکولیتیکا در گوشت گاو، گوسفند و طیور عرضه شده در سوپر مارکت های شهرستان شهرکرد. مجله بهداشت مواد غذایی، شماره 2 صفحات 11-15.
- 6- صابریان پور، ش. تاج بخش، الف. دودی، م. 1391. جداسازی و تعیین سروتیپ O:3 یرسینیا انتروکولیتیکا از گوشت مرغ عرضه شده به بازار مصرف شهرستان شهرکرد. مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، شماره 3 صفحات 152-156.
- 7- فرشچیان، م.ر.، مهدوی، س.، مهدوی، ر.، سروش، م.ح و انتظاری، م. 1389. بررسی میزان آلودگی گوشت های قرمز

27 نمونه آماده به مصرف)، در 9 مورد از گوشت های خام خوک (9/9 درصد) گونه پاتوژن یرسینیا شناسایی شد و سروتیپ O:3 یرسینیا انتروکولیتیکا در 6 مورد به روش PCR شناسایی شد (17). در مطالعه ای که نiskanen و همکاران¹ در سال 2003 در سوئد روی 468 نمونه مدفوع از 58 گونه مختلف از پرندگان مهاجر انجام شد (14)، گونه های یرسینیا از 12/8 درصد نمونه ها جدا سازی شدند. بیشترین گونه یرسینیای جدا شده، یرسینیا انتروکولیتیکا با 5/6 درصد گزارش گردید. در این بررسی 10 نمونه یرسینیا انتروکولیتیکا جدا شده از غازها دارای سروتیپ O:3 بودند که عامل بیماری های انسانی می باشد (14).

اختلافات موجود در زمینه فراوانی و درصد آلودگی نمونه های مختلف در مطالعات انجام شده می تواند ناشی از نوع نمونه، مقدار نمونه، روش مطالعه، فصل، سال، شرایط جغرافیایی و موارد دیگر باشد. عفونت ها و مسمومیت های غذایی عمدتاً به دنبال آلودگی ثانویه غذا رخ می دهد و آلودگی ثانویه گوشت دام و طیور معمولاً طی مراحل کشتار، حمل و نقل و نگهداری صورت می پذیرد. برای جلوگیری از ابتلای انسان به این باکتری رعایت اصول بهداشتی در امر کشتار، توزیع گوشت بوقلمون به فروشگاه های عرضه کننده و مصرف کنندگان توصیه می شود.

4- نتیجه گیری

در این تحقیق از مجموع 300 نمونه گوشت بوقلمون، 55 نمونه یرسینیا انتروکولیتیکا جداسازی شد. در مطالعه ای حاضر بیوتیپ 1A که با بیماری انسانی ارتباط ندارد، شایع ترین بیوتیپ بود که 20 مورد را به خود اختصاص داد. در میان بیوتیپ های بیماری زا 1B با 14 مورد بیشترین فراوانی را به خود اختصاص دادند. در این تحقیق سروتیپ O:3 در 7 نمونه مشاهده گردید که مربوط به بیوتیپ های 3 و 4 می باشد. در سایر بیوتیپ ها سروتیپ O:3 مشاهده نگردید. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان می دهد فراوانی آلودگی نسبتاً بالای گوشت بوقلمون به یرسینیا انتروکولیتیکا در انتقال بیماری های این باکتری از مراکز توزیع کننده به انسان پراهمیت می باشد. از آن جایی که آلودگی های ثانویه یا انتقال باکتری از یک ماده غذایی به ماده غذایی دیگر، عامل مهمی در انتقال بیماری با منشأ غذایی است، به کار بردن

¹-Niskanen.

in *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* and Investigation of virulence Gene distribution. *Appl Environ Microbiol*, 96(3): 1810-1816.

20- Weynants, V. Jadot, V. Denoel, P.A. Tibor, A. and Letesson, J. 1996. Detection of *Yersinia enterocolitica* serogroup O:3 by a PCR method. *J Clin Microbiol*, 34(5): 1224-1227

توزیع شده در شهر تبریز به یرسینیا انتروکولیتیکا. مجله

دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز. صفحات 56-51.

8- Barbini de pederiva, N.B. and Stefanini de Guzman, A.M. 2000. Isolation and survival of *Yersinia enterocolitica* in ice cream at different pH values, stored at 18⁰c . *Braz J Microbiol*, 31(3): 173-177.

9- Bhaduri, S. 2006. Enrichment , isolation and virulence of freeze – stressed plasmid – bearing virulent strains of *Yersinia enterocolitica* on pork. *J Food Prot*, 69(8):1983-1985

10-Capita, R. Calleja, C.A. Prieto, M. Garcia-Fernandez, M.C. and Moreno, B. 2002. Incidence and pathogenicity of *Yersinia* spp. isolates from poultry in Spain. *Food Microbiol*. 19: 295-301.

11- Feiner, G. 2006. Meat products handbook: Practical science and technology , Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. CRC Prees, pp:3-32

12- Jayaro, B.M. and Henning, D. R. 2001. prevalence of food- borne pathogens in bulk tank milk. *J Dairy sci*, 84(10): 2157-62.

13- Lamps, L.W. Havens, J.M. Gilbrech, L.J. Dube, P.H. and Scott, M.A. 2006. Molecular biogrouping of pathogenic *Yersinia enterocolitica*: development of a diagnostic PCR assay with histologic correlation. *Am J clin pathol*. 125: 658-664.

14- Niskanen, T. Waldenstrom, J. Fredriksson Ahomaa, M. Olsen, B. and Korkeala, H. 2003. virF- positive *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica* found in migratory birds in Sweden. *Appl Environ Microbiol*, 69: 4670-4675.

15- Sirken, B. 2002. The presence of *Yersinia enterocolitica* and other *Yersinia* species in ground beef in Aydil, Turkey. *Turk J Vet Anim sci*, 28: 479-495.

16- Soltan_Dallal MM, Tabarraie A, Moez_Ardalan K. 2004. Comparison of four methods for isolation of *Yersinia enterocolitica* from raw and pasteurized milk from northern Iran. *Int J food Microbiol*, 94(1): 87-91.

17- Thisted Lambertz, S. and Danielsson-Them, M.L. 2005. Identification and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* isolates by PCR and pulsed-field gel electrophoresis. *Appl Environ Microbiol*, 71: 3674-3681

18-Tomsson, L. 2000. Trends and source of zoonotic agent in animal feeding stuffs, food and man. *Norwa Zoon Cent J*, 30:12-17.

19- Thoerner, P. Binkingombe, C.I. Bogli-Stubler, K. Bissig-Choisat, B. wassenaar, T.M. Frey, J. and Jemmi, T. 2003. PCR detection of virulence Genes