بررسی میزان آلودگی سالمونلایی تخم اردک و بوقلمون های مصرفی در استان فارس

علی قربانی رنجبری*[1]، شهریار ناجی[1]، عبداله زارعی[1]، نازنین قربانی رنجبری[1]
۱-دکترای حرفه ای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحدکازرون، باشگاه پژوهشگران جوان ونخبگان، کازرون، ایران.

یافته / دوره هفدهم / شماره ۱ / بهار ۹۴ / مسلسل ۶۳

چکیده

دریافت مقاله: ۹۳/۱۰/۷ پذیرش مقاله: ۹۳/۱۱/۲۵

مقدمه : سالمونلاها اجرام میله ای کوتاه، گرم منفی، فاقد کپسول، هوازی و بی هوازی اختیاری هستند که در انسان سبب ایجاد مسمومیت غذایی می‌شود. در انتقال این بیماری، مواد غذایی خام با منشاء دامی به ویژه گوشت و تخم پرندگان حائز اهمیت فراوانی هستند. با توجه به اهمیت تخم اردک و بوقلمون در انتقال سالمونلوزیس و مصرف تخم اردک و بوقلمون های محلی و غیر صنعتی در منطقه، همچنین پی بردن به میزان آلودگی سالمونلایی مطالعه حاضر صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها: به منظور مطاله حاضر، ۳۰۰عدد تخم اردک و بوقلمون های بومی جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید؛ درآزمایشگاه پس از نمونه گیری از سطح تخم های مورد برسی، پوسته آنها با اتانول۸۰ درصد ضد عفونی و محتویات هر ۵ عدد تخم اردک و بوقلمون به صورت جداگانه در یک بشر مخلوط گشته و پس از۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای $37^{\circ}C$ با سوآب در آبگوشت سلنیت- F تلقیح گردید. نمونه از محیط سلنیت- F به آگار سالمونلا- شیگلا منتقل شد و پس از انکوباسون در $37^{\circ}C$ ازنظر کلنی های مشکوک به سالمونلا بررسی شدند. کلنی های مشکوک در محیط های TSI و لیزین دکربوکسیلاز تلقیح و باکتری هایی که دارای واکنش های مربوط به سالمونلا بودند بوسیله آزمایش PCR با پرایمرهای اختصاصی برای سالمونلاها و سروتیپ های سالمونلا انتریتیدیس و سالمونلا تیفی موریوم مورد بررسی قرارگرفتند.

یافته‌ها: از مجموع ۳۰۰ تخم اردک و بوقلمون مورد بررسی پوسته ۷ مورد (۳/۲ درصد) آلوده به سالمونلا بود. از ۷ مورد آلودگی ۱ مورد پوسته تخم بو قلمون آلوده به سالمونلا تیفی موریوم بود. از طرفی ۶ مورد آلودگی مربوط به پوسته تخم اردک های مورد مطالعه بود که همگی از سروتیپ سالمونلا تیفی موریوم بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به مطالعه حاضر و تحقیق سایرمحققین در مجموع می توان نتیجه گرفت میزان عفونت سالمونلا در تخم اردک و بو قلمون نسبت به تخم ماکیان کمتر بوده و به نظر می رسد انتقال عمودی سالمونلا در بوقلمون و اردک کمتر از ماکیان باشد.

واژه‌های کلیدی: سالمونلا، پوسته تخم مرغ، اردک، بوقلمون.

*آدرس مکاتبه نویسنده مسئول: کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده دامپزشکی.
پست الکترونیک: dr_alighorbani87@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

سالمونلاها دسته بزرگی از باسیل های گرم منفی اند که اندازه آنها به طول ۱ تا ۳ و عرض آنها ۰/۵ تا ۰/۸ میکرون می باشد. غیراز دو سروتیپ سالمونلا گالیناروم و سالمنولا پولوروم، مابقی دارای آنتی ژن H مربوط به تاژک بوده و توانایی حرکت را دارند (۱،۲). سالمونلاها مقاومت بالایی به عوامل شیمیایی نظیر غلظت زیاد صفرا و همچنین عوامل فیزیکی نظیر حرارت و مواد ضد عفونی کننده را دارا می باشند. طبق بررسی تاج بخش و نظری سالمونلا آبرتوس اویس می تواند تا بیش از ۵ ماه حیات و توان بیماریی زایی خود را در خاک حفظ نماید (۳). تا کنون بیش از ۲۵۰۰ سروتیپ از سالمونلا ها شناسایی شده اند (۴). در طیور سالمونلا ها به صورت عمودی و افقی منتقل می شوند و معمولاً عفونت های پایداری را در سطح گله های آلوده ایجاد می کنند. سروتیپ های مختلف سالمونلا باعث بیماری هایی چون پولوروم که عامل آن سالمونلا پولوروم می باشد هستند. انتقال این نوع سروتیپ بیشتر به صورت عمودی است. تیفوئید مرغان توسط سالمونلا گالیناروم ایجاد می شود که انتقال بیشتر به صورت افقی و از مدفوع پرندگان حامل می باشد. پاراتیفوئید بیماریی است که دارای علائمی مشابه پولوروم و دارای اهمیت زیاد می باشد؛ زیرا عوامل ایجاد کننده آن به ترتیب سالمونلا تیفی موریوم، انتریتیدیس، سالمونلا هاوانا و ... می با شند. از آنجایی که این عوامل بخصوص سالمونلا تیفی موریوم و انتریتدیس به میزبان خاصی عادت نکرده اند و به عنوان مهمترین گونه های دخیل در عفونت های سالمونلایی انسانی محسوب می شوند(۵،۶) . بررسی ها نشان می دهند که سالمونلا انتریتیدیس در اغلب اپیدمی های سالمونلوز با منشاء تخم مرغی دخالت دارد (۷،۸). سالمونلا انتریتیدیس می تواند محتویات تخم مرغ را در نتیجه عفونت بافت تولید مثلی مرغان تخم گذار آلوده نماید. به نظر می رسد مکان عمده عفونت، قسمت فوقانی اوویداکت باشد(۹). دیگر سروتیپ های پاراتیفوئید شامل سروتیپ مقاوم به آنتی بیوتیک، سالمونلا تیفی موریوم نیز می تواند در تخم مرغ جایگزین شود (۱۰). مصرف تخم مرغ آلوده از مهمترین منابع عفونت سالمونلایی می باشد (۱۱،۱۲). باکتری سالمونلا سخت رشد نبوده و از محیط، نمونه کلینیکی و مواد غذایی بعد از مرحله غنی سازی جدا می شود و تکنیک PCR نتایج سریع و دقیقی را در تشخیص باکتری فراهم می نماید (۱۳،۱۴). با توجه به اهمیت آلودگی های سالمونلایی در صنعت پرورش طیور، بهداشت عمومی و نیز افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری سالمونلا (۱۹-۱۵) مطالعه حاضر به منظور شناسایی آلودگی تخم اردک و بوقلمون های محلی نواحی اطراف شیراز به سالمونلا با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی و مولکولی صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

برای جداسازی باکتری سالمونلا، تعداد ۳۰۰ عدد تخم اردک و بوقلمون هرکدام ۱۵۰ عدد در فصل بهار و پاییز از نواحی اطراف شیراز جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل گشتند. در آزمایشگاه سطح پوسته تخم پس از نمونه گیری تمیز و با استفاده از اتانول ۸۰ درصد ضد عفونی گشتند. پوسته آهکی با قیچی استریل شکسته و محتویات هر ۵ عدد تخم اردک و بوقلمون به صورت جداگانه در یک بشر شیشه ای استریل مخلوط شدند. این مخلوط پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای $37^{\circ}C$، با سوآب به محیط سلنیت- F به منظور غنی سازی تلقیح شد و برای مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای $37^{\circ}C$ مورد انکوباسیون قرار گرفت. پس از خروج از انکوباسیون بر روی محیط کشت جامد سالمونلا – شگیلا آگار که حاوی پروتئین، لاکتوز، آهن، معرف NATRAL – RED می باشد به صورت سطحی کشت گردید. محیط سالمونلا – شگیلا آگار برای مدت ۲۴ ساعت در دمای $37^{\circ}C$ مورد انکوباسیون قرار گرفت و سپس از نظر کلنی‌های مشکوک به سالمونلا بررسی شد. در صورت منفی بودن نتیجه، انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت دیگر ادامه پیدا می کرد. نمونه هایی که پس از این مدت فاقد کلنی‌های مشکوک به صورت رنگ پریده یا زرد با مرکزی خاکستری و سیاه بودند منفی تلقی و حذف می شدند. سپس کلونی های نمونه های مشکوک را از محیط سالمونلا – شگیلا آگار برداشته و به صورت سطحی و عمقی در محیط کشت TSI کشت داده شدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، کلنی های مشکوک

Archive of SID

www.SID.ir

به صورت آلکالاین / اسید یعنی بالا قرمز و پایین زرد بودند و در تمامی سالمونلاها بجز پاراتیفی A در محیط TSI ایجاد گاز H2S کرده که محیط TSI را به رنگ سیاه در می آورد. همزمان تست LIA نیز انجام شد که سالمونلاها تمام محیط را به رنگ ارغوانی در آوردند. همچنین از کلنی های مشکوک گسترش تهیه گردید که به روش گرم رنگ آمیزی شدند. چنانچه باکتری میله ای گرم منفی مشاهده می گردید از آن کشت خالص تهیه شده و بر اساس روش کوین و همکاران (۲۰۰۲) برای وجود سالمونلا مورد بررسی قرار می‌گرفت (۲۰).

شناسایی باکتری سالمونلا و سروتیپ‌های سالمونلا انتریتیدیس و سالمونلا تیفی موریوم به وسیله تست PCR

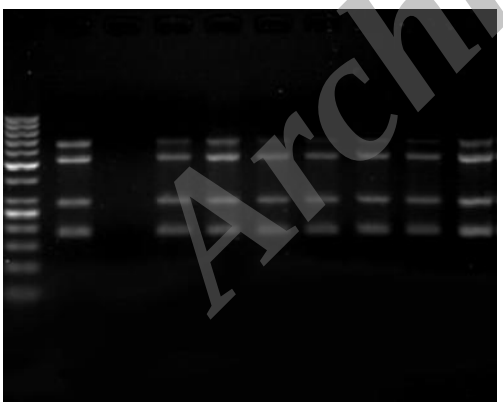
برای استخرج DNA از سالمونلاهای شناسایی شده فوق سوسپانسیونی از کلنی در آب مقطر استریل تهیه گردید. سوسپانسیون به مدت ۵ دقیقه در دمای ۱۸درجه سانتیگراد با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و از رسوب با روش فنل- کلروفرم ژنوم باکتری استخراج گردید (۲۱). ژنوم با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن تهاجم (invA) برای شناسایی سالمونلاها مورد PCR قرار گرفت. برای تعین سروتیپ، از پرایمرهای ژن فیمبریا (sefA)، برای سالمونلاها انتریتیدیس و از پرایمرهای ژن ویریولانس فیمبریا (pefA) برای سالمونلا تیفی موریوم در PCR استفاده گردید (جدول ۱). محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵درصد الکتروفورز و از مارکر ۱۰۰ جفت بازی برای تعیین وزن مولکولی قطعات DNA استفاده شد. رنگ آمیزی ژل با محلول اتیدیوم بروماید که یک رنگ فلوروسانس است انجام شد و از دستگاه تابش اشعه UV برای مشاهده باند های درخشان زیر نور ماورای بنفش استفاده گردید (۲۱).

جدول ۱. توالی‌های اولیگونوکلئوتید های مورد استفاده به عنوان پرایمر و طول محصول در واکنش زنجیره ای پلی مراز(PCR)

پرایمر	توالی('3-5')	طول محصول	رفرانس
invA-1	TTGTTACGGCTATTTTGACCA	۵۲۱	(۲۲)
invA-2	CTGACTGCTACCTTGCTGATG		
SefA-1	GCAGCGGTTACTATTGCAGC	330	(۲۲)
SefA-2	TGTGACACGGACATTTAGCG		
PefA-1	GCGCCGCTCAGCCGAACCAG	157	(۲۳)
PefA-2	GCAGCAGAAGCCCAGGAAACAGTG		

یافته ها

از مجموع ۳۰۰ تخم اردک و بوقلمون مورد بررسی پوسته ۷ مورد (۳/۲ درصد) آلوده به سالمونلا بود. اما محتویات هیچ یک از تخم‌های مورد بررسی آلوده به سالمونلا نبود. از ۷ مورد آلودگی ۱ مورد مربوط به پوسته تخم بو قلمون بود (۰/۶۶ درصد) که در فصل بهار جدا گردید. از طرفی ۶ مورد (۴درصد) آلودگی مربوط به تخم اردک های مورد مطالعه ۴ مورد در فصل تابستان و ۲ مورد در فصل بهار آلوده به سالمونلا بودند. از طرفی تمامی سالمونلاهای جدا سازی شده از سروتیپ سالمونلا تیفی موریوم بودند (شکل ۱).



شکل ۱. تصویر ژل الکتروفورز برای شناسایی سالمونلا. ۱ نردبان ۱۰۰جفت بازی (نشانگر)، ۲ کنترل مثبت (سالمونلا تیفی موریوم)، باند ۳ کنترل منفی، باندهای ۱۰-۴ نمونه های جدا سازی شده از پوسته تخم اردک و بوقلمون.

Archive of SID
www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر از مجموع ۳۰۰ تخم اردک و بوقلمون مورد بررسی پوسته ۷ مورد (۳/۲ درصد) آلوده به سالمونلا بود. از ۷ مورد آلودگی ۱ مورد مربوط به پوسته تخم بوقلمون (۰/۶۶ درصد) و آلوده به سالمونلا تیفی موریوم بود. نایاک و همکاران در سال ۲۰۰۳ در ایالات آرکانزاس آمریکا به جداسازی و توصیف سالمونلای جداسازی شده از تولیدات بو قلمون پرداختند. در این بررسی از سکوم بوقلمون، محتویات چینه دان، مدفوع، آب آشامیدنی، هوا، غذا دهندگان بوقلمون‌ها و محیط پرورش نمونه گیری انجام شد و بر اساس روش-های میکروبیولوژی و سرولوژیکی استفاده شده، جداسازی، تشخیص و تأیید حضور یا عدم حضور سالمونلا صورت گرفت. در این کار میزان سالمونلای جداسازی شده از مدفوع ۱۳ درصد، سکوم ۱۱ درصد، آب آشامیدنی ۱۰ درصد، سواب محیطی ۵ درصد و نمونه گیری از غذا دهندگان ۱درصد بوده است که پس از تعیین سروتیپ، سالمونلا هادلبرگ ۶۵ درصد، سالمونلا سنتن برگ ۱۹ درصد، سالمونلا مونستر ۱۰ درصد، سالمونلا آناتوم ۳ درصد و سالمونلا ورتینگون ۳ درصد تشخیص داده شد (۲۴). دیوید و همکاران در سال ۱۹۹۳ سروتیپ سالمونلای جداشده از بوقلمون را با سروتیپ های جداشده در انسان مورد مقایسه قرار دادند و تنها سالمونلا هیدلبرگ بین بوقلمون و انسان مشترک بود (۲۵). همچنین در مطالعه ای توسط والتر در سال ۲۰۰۰ در آمریکا، یک مسمومیت غذایی در یک خانواده را مورد بررسی قرار داد و توانست سالمونلا انتریتدیس را از لاشه بوقلمون جدا کند (۲۶). بررسی منابع نشان می دهد که در خصوص آلودگی تخم بوقلمون به سالمونلا مطالعات بسیار محدودی انجام گرفته است و بیشترین مطالعات در این رابطه مربوط به سایر پرندگان به خصوص ماکیان است. لذا آلودگی پوسته تخم بوقلمون به سالمونلا تیفی موریوم در مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران می باشد و این آلودگی می تواند به دلیل آلودگی محیطی و آلوده شدن پوست تخم بوقلمون باشد. در خصوص تخم اردک مورد بررسی نیز ۶ مورد از پوسته تخم اردک ها آلوده به سالمونلا تیفی موریوم بودند که با مطالعه اسدی در سال ۱۳۸۳، که ۱۰۰ عدد تخم اردک را از نظر آلودگی سطح خارجی پوسته و محتویات تخم به باکتری سالمونلا مورد بررسی قرار داد و توانست سالمونلا تیفی موریوم را از سطح خارجی پوسته ۳ عدد تخم اردک جدا نمایند (۲۷) همخوانی دارد. همچنین یومین فو و همکاران در سال ۱۹۹۳ در تایوان شیوع سالمونلا در تخم اردک را بررسی کردند. در این بررسی ۱۱۵ عدد تخم اردک از ۶ مزرعه در استان های تایپی و لان کشور تایوان مورد بررسی قرار گرفت که ۳۴ تخم اردک نمک سود شده و ۴۴ هزار تخم از مغازه های خرده فروشی در تایوان شمالی بودند. سالمونلا در هیچ یک از نمونه های زرده تخم اردک جداسازی نشد. در مجموع نمونه برداری از ۵۰ نمونه پوسته تخم مرغ و ۷ نمونه پوسته تخم اردک و ۲۳ نمونه از محیط مزارع فوق جمع آوری شده بود که سالمونلا تیفی موریوم فقط از یک نمونه خاک مزرعه اردک جدا شد (۲۸). نیوات و همکاران در سال ۲۰۰۰ با مطالعه بر روی اردکها و جوجه ها در تایلند ۳۰ نوع سالمونلا انتریکا تحت گونه انتریکا جدا نمودند که به ترتیب شامل یک سویه از S.blockley، یک سویه از S.hadar، دو سویه از S.typhimurium، دو سویه از S.saintpaul، یک سویه S.montevideo، یک سویه از S.serftenbrg، یک سویه از S.chester و یک سویه از S.amsterdam از اردکها جداسازی شد (۲۹).

با بررسی نتایج به دست آمده و مطالعه سایر محققین به نظر می رسد میزان عفونت اردک و بو قلمون به سالمونلا در کشورهای مختلف متفاوت باشد. ولی در مجموع میزان عفونت سالمونلا در تخم اردک و بو قلمون نسبت به تخم ماکیان کمتر بوده و به نظر می رسد انتقال عمودی سالمونلا در بوقلمون و اردک کمتر از ماکیان باشد.

تشکر وقدردانی

بدین وسیله از جناب آقای دکتر محمد حسین مرحمتی زاده ریاست دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون جهت همکاری دراین پژوهش تشکر وقدر دانی می گردد.

Archive of SID
www.SID.ir

References

1. Guthrie KR. Salmonella Bocan Rotan Ann. Arborlondon, 1991.
2. Zahraei – sallehi T. salmonella. Tehran University publication, 1986. (In Persian)
3. Tajbakhche H, Nazari AA. Persistence of S.abortus ovisin soll. Rev Med Vet pays Tvo. 1974;27:57-59.
4. Chu C, Chiu CH. Evolution of the Virulenece plasmids of non-typhoid Salaonella and its association with antimicrobial resistance. Microbes and infection. 2006; 8:1931-1936.
5. Razavilor V. Pathogenetic microbes in foodstuffs and epidemiology of food poisoning. Tehran University Publication, second edition, 2003. (In Persian)
6. Hosseini Tabatabaei A. Herbivorous bacterial disease. Tehran University Publication, 2001. (In Persian)
7. St Louis ME, Morse DL, Potter ME, Demelifi TM, Guzewich JJ, et al. The emergence of Grade A eggs as a major source of Salmonella enteritidis infections: New implications for the control of salmonellosis. Journal of the American Medical Association. 1988; 259:2103-2107.
8. Adesiym A, Offah N, Seepersadsingh N, Rodrigo S, Lashley V, Musai L. Antimicrobial resistance of Salmaonela spp.and Escherichia coli lsolated from table eggs. Food Control. 2007; 18:306-311.
9. Humphrey TJ, et al. Numbers of Salmonella entertidis in the contents of naturally contaminated hens eggs. Epidemiology and infection. 1991; 106(3): 489- 496.
10. Saif YM, Barnes Hj, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, Swayne DE. Diseases of poultary .11 ed, Iowa State Press. 2003; pp:583-599.
11. De Boer E, Hahne M. Cross Contamination With Campylobacter jejuni and Salmonella spp. From raw chicken productsdu ring. Food Protection. 1990; 53:1067-1068.
12. Nunes IA, Helmuth R, Schroeter A, Mead GC, Santos MA, Solari CA. Phage typing salmonella Enteritidis from different sources in Brazil. Journal of Food Protection. 2003; 66:324-327.
13. Soumet C, Ermel G, Rose N, Rose V, Drouin P, Salvat G, et al. Evaluation. of a multiplex PCR assay for simultaneous identification of Salmonella sp ., salmonella Enteritidis and salmonella typhimurium from environmental swabs of poultry house. Letters in Applied Microbiology. 1999; 28:113-117.
14. Woodward MJ, Kirwan SES. Detection of Salmonella enteritidis in eggs by the polymenrase chain reaction. Veterinary Record. 1996; 138:411-413.
15. Adesiym A, Offah N, Seepersadsingh N, Rodrigo S, Lashley V, Musai L. Antimicrobial resistance of Salmaonela spp. and Escherichia coli lsolated from table eggs. Food Control. 2007; 18:306-311.
16. Cailhol J, Lailler R, Bouvet P, La Vieille S, Gauchard F, et al .Trends in antimcrobial resistance phenotypes in non-typhoid Salmonellae from human and poultry origins in France. Epidemiology and Infection. 2006; 134:171-178.

Archive of SID
www.SID.ir

17. Graziani C, Busani L, Dionisi AM, Lucarell S, Owczarek S, et al. Antimicrobial resi tance in salmonella enterica serovar Typhimurium from human and animail sources in Itali. Veterinary microbiology. 2008; 128 :414-418.
18. Pan Z, WANG X, Zhang X, Geng S, Chel X, Pan W, et al. Changes in antinicrobial resistance among salmonella enterica subspecies enterica serovr pullorun isolates in china from 1962 to 2007. Veterinari Microbiology. 2009; 136:387-392.
19. Van Duijkeren E, Wannet WJ, Houwers DJ, Van Pelt W. Antimicrobial susceptibilities of Salmonela strains isolated fromhumans , cattle, pigs, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. Journal of Clinical Microbiology. 2003; 41:3574-3578.
20. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WG and Leonard FC. Veterinari Microbiology and Microbial disease. First published. Blackawell Science. 2002; pp:113-118.
21. Cortez aL, Carvalho AC, Ikuno AA, Burger KP, Vidal-Martins AM. Identification With Campyiobacter jejuni and Salmonela spp. Isolates from chicken abattoirs by multiplx-PCR. Resserch in Veterinary Scinence. 2006; 81:340-344.
22. Ghorbani ranjbary A, Ghorbani ranjbary N, Ghorbani ranjbary Z, Asmarian SH. Study on drug resistance in salmonella spp. isolated form native eggs in Fasa. Journal of Modern Vetenary Researches. 2012; 4:11: 1-7.
23. Li Q, Skyberg JA, Fakhr MK, et al. Antimicrobial Susceptibility and Characterization of Salmonella Isolates from Processed Bison Carcasses. American Society for Microbiology. 2006;72(4):3046-3049.
24. Nayak R, Kenney PB, Keswani J. Isolation and haracterisation of salmonella in turkey production facility. British Poultry science. 2003;44(2):192-202.
25. David W, et al. Serotypes of Salmonella isolated from California turkey flocks and their Envirom=nment in 1984-89 and comparison with human isolation. Avian Diseases. 1993; 37:715-719.
26. Kurtzwel Walter P. Home for the Holidays: preventing food borne illness at family Gatherings U.S. Food and Drug Administration. 2000; PP:1-4.
27. Asadi R. A survey on the Salmonella contamination of ducks eggs in Ahwaz. Professional Doctorate thesis, University of Veterinary Medicine, Shahid Chamran, Ahwaz. 2004. (In Persian)
28. You- Min FU, Ting SU, Ling-Mei Chou. Incidence of Salmonella in egg yolks of ckicken, duckand processed eggs in Taiwan. Journal of Food and Drug Analysis. 1993; 1(3):281-286.
29. Niwat C, Pongrama R, Aroon B, Jioj S, Stefan BS. Application of randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) Analysis for typing Avin Salmonella enterica subsp. Enterica. Immunology and Medical Microbiology. 2000;29:221-225.

Archive of SID

www.SID.ir