

جداسازی گونه‌های غالب سالمونلا و شناسایی عوامل حدت آن‌ها در حیوانات خانگی و صاحبان آن‌ها در شهرستان اصفهان

آتنا بلالی دهکردی^۱، علی شریف زاده^{۲*}

چکیده

سالمونلوزیس بیماری مشترک بین انسان و دام محسوب می‌شود و در بعضی موارد حیوانات حامل باکتری، منبع بالقوه آلودگی برای انسان می‌باشند. این مطالعه با هدف بررسی میزان آلودگی سالمونلایی در نمونه‌های مدفوع سگ‌ها و گربه‌های خانگی و صاحبان آنها در شهرستان اصفهان و مطالعه میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژن‌های حدت انجام گردید. بدین منظور در تابستان ۱۴۰۰، سواب‌های مدفوعی از ۱۱۵ سگ و گربه به ظاهر سالم اخذ و با استفاده از روش‌های کشت و PCR مورد شناسایی قرار گرفت. سروتاپینگ و مقاومت آنتی‌بیوتیکی به همراه ژن‌های حدت براساس روش‌های استاندارد صورت پذیرفت. نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر، باکتری سالمونلا را در ۸٪ گربه-ها، ۱۶٪ صاحبان گربه و ۱۲٪ صاحبان سگ و در افراد بدون ارتباط با این حیوانات نیز ۶/۶٪ نشان داد. دو سروتیپ شناسایی شده در این تحقیق شامل سالمونلا تیفی موریوم (۸۰٪) و سالمونلا انترتیدیس (۲۰٪) بود. ارتباط معنی‌داری بین سن، وضعیت دستگاه گوارش و محیط نگهداری با میزان آلودگی به سالمونلا در سگ و گربه وجود نداشت. همچنین ارتباطی بین آلودگی حیوانات و صاحبانشان مشاهده نشد. طبق نتایج همه موارد آلوده به ژن‌های حدت *invA* و *fliC* بودند. باتوجه به تست‌های آنتی‌بیوگرام انجام شده نسبت به سیپروفلوکساسین، آزیترومایسین، نالیدیک اسید حساس و نسبت به تراسایکلین، جنتامایسین و سفالوتین نیمه حساس و نسبت به آمپی سیلین، آموکسی سیلین و سفالکسین مقاومت از خود نشان دادند. جداسازی سویه‌های سالمونلا از سگ‌ها و گربه‌های فاقد علائم بالینی، آن‌ها را به عنوان یکی از عوامل انتشار باکتری سالمونلا در محیط و خطرناک برای بهداشت عمومی و سلامت حیوانات معرفی می‌نماید.

واژگان کلیدی: سالمونلا، سگ، گربه، حدت، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۷/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۳۰

مقدمه

سالمونلوز یک بیماری زئونوز است و هرچند که متداول

ترین منبع آلودگی در انسان، مصرف مواد غذایی پروتئینی از قبیل تخم مرغ، گوشت و فرآورده‌های گوشتی، شیر خام و فرآورده‌های آن می‌باشد ولی ممکن است به دنبال تماس با حیوانات نیز در انسان بروز یابد. سگ‌ها می‌توانند حاملین بدون علامت و یا همراه با علائم بالینی برای سالمونلا باشند و عوامل را به محیط دفع نمایند (۱).

سالمونلا از نظر طبقه‌بندی در خانواده انتروباکتریاسه جای می‌گیرد. سالمونلاها دسته بزرگی از باکتری‌های میله‌ای شکل، گرم منفی، هوازی-بی‌هوازی اختیاری، متحرک و دارای تاژک‌اند و به استثنا سالمونلا پلوروم و سالمونلا گالیناروم در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد حداکثر رشد را دارند (۲). آخرین طبقه‌بندی سالمونلا، آنها را به دو گونه انتریکا و بونگوری تقسیم می‌نماید. گونه بونگوری تنها از یک زیر گونه به نام بونگوری تشکیل شده است، اما گونه انتریکا به شش زیر گونه انتریکا، سلامه، آریزونا، دی آریزونا، هوتنا و ایندیکا تقسیم شده است. تقریباً ۹۹/۵٪ از سالمونلاهای جدا سازی شده از انسان جز سروتاپ انتریکا هستند. سه سرووار شایع این باکتری در حیوانات و انسان شامل: سالمونلا اینهنیتیز، سالمونلا تیفی موریوم، سالمونلا انترتیدیس می‌باشد (۳).

شایع‌ترین نوع شکل سالمونلوز در سگ‌ها تحت بالینی است که در آن سگ‌های به ظاهر سالم این باکتری را از مدفوع خود دفع نموده و محیط را آلوده می‌کنند. این

۱- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲- دانشیار، گروه آموزشی میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
sharifzadeh@iaushk.ac.ir

تمایل به همکاری داشتند. معاینه و ثبت مشخصات حیوانات از قبیل سن، جنس، نژاد، مصرف غذای خام در جیره غذایی، محیط زندگی و سالم بودن یا مبتلا بودن به اسهال نیز انجام گردید. از هر مورد ۲ سوپ مدفوعی اخذ گردید، که یکی از سوپ‌ها در میکروتیوب حاوی سرم فیزیولوژی برای بررسی مولکولی و دیگری در محیط کشت انتقالی برای بررسی میکروبی با روش کشت قرار می‌گرفت. مجریان در کلیه مراحل به اصول اخلاقی کار با حیوانات متعهد بودند. تمامی مراحل مطالعه حیوانی مطابق با دستورالعمل‌های کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی و پس از کسب کد اخلاق (IR.IAU.SHK.REC.1401.040) صورت گرفت.

ابتدا به منظور غنی‌سازی باکتری سالمونلا از نمونه‌های مدفوع اخذ شده، سوپ به محیط سلنیت F منتقل شد و محیط در شرایط میکروآئروفیلیک به مدت حداقل ۱۲-۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری می‌گردید. پس از این مدت، ۱۰۰ تا ۲۰۰ میکرولیتر از محیط کشت غنی شده، به محیط XLD آگار و مک کانکی آگار به صورت خطی کشت و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. پس از این مدت پرگنه‌های مشکوک به سالمونلا (بی‌رنگ در محیط مک کانکی و قرمز با مرکز سیاه در محیط XLD) جهت آزمون‌های تکمیلی باکتری شناسی شامل رنگ آمیزی گرام، محیط انتخابی مک کانکی، محیط سه قندی آهن دار (TSI)، آزمون IMViC و اوره صورت پذیرفت. پس از تایید تشخیص به روش کشت، آزمون آنتی بیوگرام نیز با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین، تتراسایکلین، آزیترومایسین، جنتامایسین، سفالوتین، سفالکسین، نالیدیک اسید، سپیروفلوکساسین و آموکسی‌سیلین در محیط مولر هیلتون آگار در مورد سالمونلاهای جداسازی شده صورت پذیرفت.

در روش مولکولی نیز در مورد سوپ‌های مدفوعی اخذ شده که در فریزر نگهداری گردیده بود، DNA مورد نیاز جهت آزمون PCR، توسط کیت استخراج DNA شرکت سینا ژن و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده استخراج

باکتری در انسان بیماری‌های مختلف و گاهاً خطرناکی مانند تب روده (حصه و شبه‌حصه)، عفونت خون و مسمومیت غذایی را ایجاد می‌نماید (۴). از عوامل بیماری‌زایی سالمونلا می‌توان به زنده ماندن و تکثیر آن‌ها در درون ماکروفاژها اشاره نمود از طرفی سیستم ترش‌حی نوع III که در غشای باکتری قرار دارد، مواد سمی باکتری را به درون سیتوزول سلول میزبان منتقل می‌نماید (۵). همچنین این باکتری در روده انتروتوکسین و سیتوتوکسین‌هایی را تولید می‌کند که برای سلول‌های میزبان آسیب‌زا هستند (۶).

ویژگی میکروسکوپی، ماکروسکوپی و خواص بیوشیمیایی در کنار آزمون‌های سرولوژی، برای شناسایی و تشخیص سالمونلا از دیگر باکتری‌ها استفاده می‌گردد. علیرغم آن که روش میکروبیولوژی مبتنی بر کشت مطمئن‌ترین راه ردیابی و نشان دادن حضور سالمونلا در نمونه محسوب می‌شود ولی به جهت وقت گیر بودن، امروزه روش‌های مولکولی واکنش زنجیره پلیمرز (PCR) که بر اساس پدیده طبیعی تکثیر DNA در سلول استوار شده است و هم‌زمان امکان ردیابی توام چند عامل را فراهم می‌نماید برای ردیابی باکتری‌های مرسوم گردیده است (۷). لذا هدف از مطالعه حاضر جداسازی گونه‌های غالب سالمونلا با دو روش کشت و مولکولی و شناسایی عوامل حدت آنها در حیوانات خانگی (سگ، گربه) و صاحبانشان در شهرستان اصفهان بوده است.

مواد و روش کار

تحقیق حاضر در درمانگاه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد مستقر در شهرستان اصفهان انجام شد. نمونه‌ها به شکلی انتخاب گردید که در یک ماه گذشته سابقه استفاده از آنتی‌بیوتیک نداشته باشند. نمونه‌گیری به روش تصادفی از ۱۱۵ سگ و گربه خانگی در شهرستان اصفهان شامل ۲۵ سگ، ۲۵ صاحب‌سگ، ۲۵ گربه، ۲۵ صاحب‌گربه و ۱۵ نفر از افراد بدون ارتباط با سگ و گربه اخذ گردید. نمونه‌ها صرفاً از حیواناتی اخذ شد که صاحبان آن‌ها

جدول ۱- ژن هدف، توالی نوکلئوتیدی و اندازه محصول آغازگرهای مورد استفاده جهت تشخیص جنس و گونه‌های سالمونلا و عوامل حدت (ژن‌های *spv* و *sefA* ژن‌های حدت پلاسمیدی گونه/انتریتیدیس و ژن‌های *invA* *rfbJ* *fliC* و *fliB* ژن‌های حدت در گونه تیغی موریوم می‌باشد)

اندازه محصول	توالی پرایمر	نام ژن
1250	F: ACGGAGTTACAAAGGACGAC R: AGCTCAGCCTTA ACGAGTAC	23SrRNA
346	F: CGA GAC CAA GAT TCA ACA AG R: AAA GAA AAC CAC TCA CAT CA	Typh
980	F: GCC TTC AGT GCT TGT AGG R: TTT TCA GGG TCA ATA TAA GC	Ent
284	F: GTGAAATTATCGCCACGTTCCGGGCAA R: TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	invA
663	F: CCAGCACCACTTCCAACCTTGATAC R: GGCTTCCGGCTTTATTGGTAAGCA	rfbJ
183	F: ATAGCCATCTTACCAGTTCCCCC R: GCTGCAACTGTTACAGGATATGCC	fliC
526	F: ACGAATGGTACGGCTTCTGTAACC R: TACCGTCGATAGTAACGACTTCGG	fliB
250	F: GCCGTACACGAGCTTATAGA R: ACCTACAGGGGCACAATAAC	spV
310	F: GCAGCGTTACTATTGCAGC R: TGTGACAGGGACATTAGCG	sefA

دقیقه و ۷۲ درجه به مدت یک دقیقه تنظیم گردیده بود. مخلوط واکنش PCR برای تکثیر این ژن‌ها در حجم ۲۵ میکرولیتر تهیه شد. برای بررسی و مشاهده محصولات PCR از ژل آگارز ۱ درصد استفاده گردید.

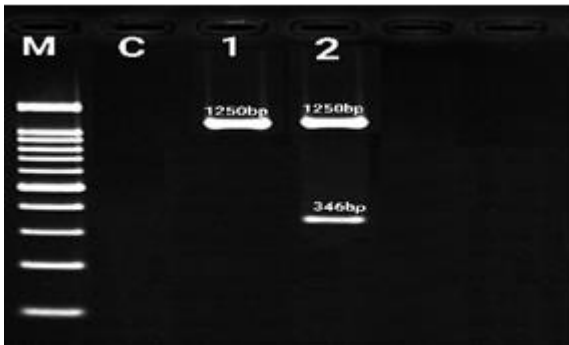
تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (شماره ۱۶) انجام گرفت. برای بررسی تعیین ارتباط بین آلودگی به سالمونلا و متغیرهای سن، جنس، نژاد، تغذیه، نوع نگهداری (محیط باز یا بسته) و وضعیت اسهال از آزمون آماری مربع کای و برای مقایسه قدرت یا توان معنی داری بین متغیرها و آلودگی از آزمون فی-کرامرز استفاده گردید.

نتایج

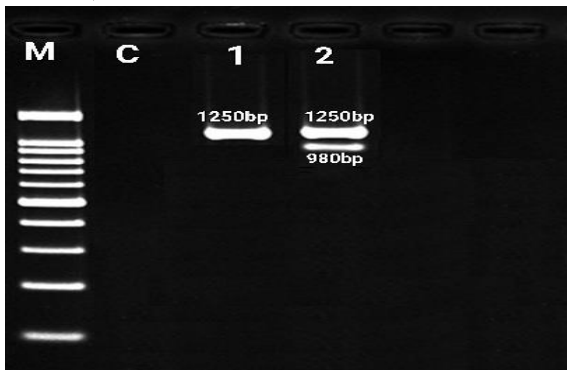
در این تحقیق، در نهایت تعداد ۱۰ عدد سالمونلا بعد از کشت و PCR جداسازی گردید. درصد جداسازی موارد مثبت آلودگی از نمونه‌های مدفوع گربه ۸٪ گزارش گردید. در نمونه‌های سگ مورد مثبتی مشاهده نگردید. درصد جداسازی موارد مثبت آلودگی در مورد صاحبان گربه نیز ۱۶٪ و در مورد صاحبان سگ، ۱۲٪ تعیین گردید (باند ۳۴۶

و تا زمان انجام واکنش PCR در فریزر ۲۰- درجه نگهداری گردید. در بررسی حاضر از آغازگرهای ژن‌های هدف 23SrRNA (جهت ردیابی گونه‌های سالمونلا)، ژن typh (جهت ردیابی گونه تیغی موریوم)، ژن ent (جهت ردیابی گونه/انتریتیدیس) و انواع ژن‌های حدت در این دو گونه شامل ژن‌های *invA* *rfbJ* *fliC* *fliB* *spV* و *sefA* در سواب‌های مدفوعی استفاده گردید (۸). توالی آغازگرهای ژن‌های اختصاصی جنس و گونه و عوامل حدت سالمونلا در جدول ۱ آمده است. برنامه‌های حرارتی در مورد ژن‌های مختلف متفاوت بود. در مورد ژن 23SrRNA، یک سیکل ۹۴ درجه به مدت ۶ دقیقه، ۳۷ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۴۰ ثانیه، ۶۴ درجه یک دقیقه و ۷۲ درجه ۷۵ ثانیه و در نهایت یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۸ دقیقه. در مورد ژن‌های *ent* و *typh* نیز مشابه برنامه قبلی با این تفاوت که از ۴۰ سیکل تکراری ۹۴ درجه ۵۰ ثانیه، ۵۶ درجه یک دقیقه و ۷۲ درجه در ۷۰ ثانیه استفاده گردید. در مورد ژن‌های حدت برنامه حرارتی در قالب ۳۵ سیکل تکراری ۹۴ درجه به مدت ۶۰ ثانیه، ۵۷ درجه به مدت یک

نسبت به آمپی سیلین، سفالکسین، آموکسی سیلین مقاومت از خود نشان دادند.



نگاره ۱- باندها ۳۴۶ جفت بازی گونه تیغی موربوم



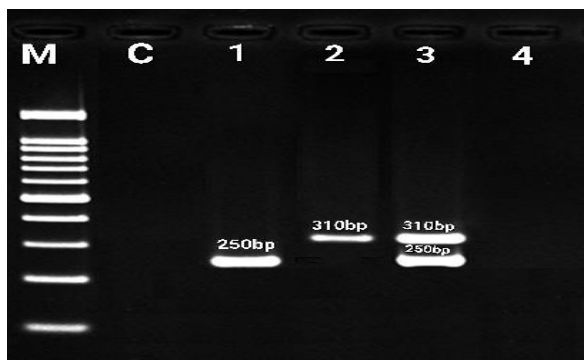
نگاره ۲- باندها ۹۸۰ جفت بازی گونه انترتیدیس

جدول ۲- نتایج حاصل از تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی

آنتی بیوتیک	مقاوم	نیمه حساس	حساس
آزیترومایسین	٪۱۰	٪۲۰	٪۷۰
نالیدیکسیک اسید	٪۲۰	٪۲۰	٪۶۰
تتراسایکلین	٪۲۰	٪۵۰	٪۳۰
آمپی سیلین	٪۵۰	٪۲۰	٪۳۰
سفالوتین	٪۱۰	٪۵۰	٪۴۰
سفالکسین	٪۴۰	٪۳۰	٪۳۰
جتتامایسین	٪۴۰	٪۵۰	٪۱۰
سیپروفلوکسامین	٪۱۰	٪۱۰	٪۸۰
آموکسی سیلین	٪۶۰	٪۲۰	٪۲۰

جفت بازی گونه تیغی موربوم در نگاره شماره ۱). در افراد بدون ارتباط با سگ ها و گربه های خانگی نیز که مشابه سایر نمونه ها مراحل آزمایش صورت پذیرفته بود، درصد آلودگی معادل ۶/۶٪ تشخیص داده شد (باندها ۹۸۰ جفت بازی گونه انترتیدیس در نگاره شماره ۲). نتایج کشت و PCR در مورد همه نمونه ها کاملاً همخوان بود به شکلی که کلیه نمونه های مثبت در روش کشت، در روش PCR نیز مثبت و کلیه نمونه های مثبت در روش PCR در روش کشت نیز مثبت گزارش گردید. در گربه ها صرفاً گونه تیغی موربوم مشاهده گردید. در مورد صاحبان گربه این نسبت معادل ۵۰ درصد تیغی موربوم و ۵۰ درصد انترتیدیس و در مورد صاحبان سگ نیز صرفاً گونه تیغی- موربوم مشاهده گردید. علیرغم آن که میزان آلودگی در گربه های بیش از ۱۲ ماه بیشتر از گربه های کمتر از ۱۲ ماه بود ولی نتایج انجام آزمون فیشر مشخص نمود که تفاوت آلودگی بین سنین مختلف و آلودگی معنی دار نمی باشد ($P > 0.05$). هم چنین در مورد متغیرهای نژاد، بیماری های گوارشی مثل اسهال، نوع رژیم غذایی، جنس و روش نگهداری نیز اختلاف معناداری با میزان آلودگی مشاهده نگردید ($P > 0.05$). بین آلودگی حیوانات و صاحبانشان نیز، نتایج آزمون مربع کای (تست پیرسون) نشان داد که ارتباط معنی داری بین گربه ها و صاحبان آن ها از نظر آلودگی وجود دارد ($P < 0.05$) و از آن جا که در آزمون فی- کرامرز نیز به عدد یک نزدیک بود لذا یک ارتباط بسیار قوی بین گربه ها و صاحبان آن ها از نظر آلودگی وجود داشته است.

نتایج مربوط به تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها به روش دیسک دیفیوژن آگار نشان داد، نمونه ها نسبت به سیپروفلوکسامین، آزیترومایسین و نالیدیکسیک اسید حساس، نسبت به تتراسایکلین، جتامایسین و سفالوتین نیمه حساس،



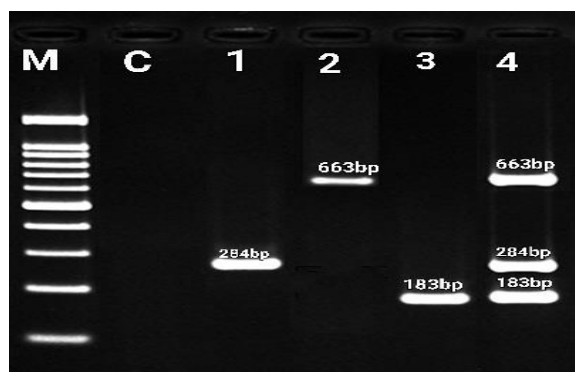
نگاره ۴- ژن‌های حدت در گونه اتریتیدیس

بحث

باکتری سالمونلا یکی از شایع‌ترین باکتری‌های قابل انتقال از حیوانات به انسان بوده که به دلیل تنوع مخازن حیوانی یکی از عوامل بیماری‌های قابل انتقال از حیوان و یکی از معضلات بهداشتی در سراسر جهان محسوب می‌گردد و یک عامل شایع در بروز اسهال باکتریایی در دنیا محسوب می‌شود. حیوانات خانگی از جمله سگ و گربه، امکان دارد بدون علائم بالینی بوده و باکتری را از خود دفع نمایند و به همین خاطر، تشخیص دقیق و سریع این حیوانات به دلیل انتقال به صاحب خود بسیار حائز اهمیت می‌باشد. تماس با سگ‌ها و گربه‌های خانگی یکی از راه‌های انتقال این میکروارگانیسم است. در انسان عفونت سالمونلا نشانه‌های بالینی گوناگونی دارد ولی غالباً بصورت گاستروآنتریت با تب ۱-۲ روزه، دردهای شکمی، اسهال آبکی دیده می‌شود. بیماری معمولاً به خودی خود طی پنج روز بهبود می‌یابد، هرچند که اسهال مزمن یا عود کننده نیز غیر معمول نیست (۹).

با توجه به اهمیت سالمونلوز، تحقیقات زیادی روی آلودگی سگ‌ها و گربه‌ها به سالمونلا صورت پذیرفته است. علیرغم آن که در این تحقیق هیچ مورد آلودگی در سگ مشاهده نگردید ولی با توجه به دفع دوره‌ای سالمونلا و تنها یک بار نمونه‌گیری از مدفوع در این تحقیق، می‌توان حدس زد که میزان آلودگی بالاتر از نتیجه حاصله باشد. تحقیقات مشابه در برخی کشورها حاکی از جداسازی سالمونلا در ۰/۳۵ درصد سگ‌ها در اسلوواکی و ۱۱ درصد در ترکیه می‌باشد (۱۰). در داخل کشور نیز ۱۰/۴ درصد

فراوانی ژن‌های حدت در گونه‌های سالمونلای جداسازی شده از گربه‌ها و صاحبان سگ و گربه در شهرستان اصفهان در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. نتایج بررسی حاضر نشان داد که همه موارد آلوده به سویه‌های *invA* و *fliC* بوده‌اند (نگاره ۳ تصاویر ژن‌های حدت در گونه تیپ‌موریوم و نگاره ۴ تصاویر ژن‌های حدت در گونه اتریتیدیس می‌باشد).



نگاره ۳- ژن‌های حدت در گونه تیپ‌موریوم

نتایج حاصل از این مطالعه در بررسی گونه‌های جدا شده از موارد آلوده به باکتری سالمونلا نشان داد گونه جدا شده تیپ‌موریوم در گربه‌ها، صاحبان سگ، صاحبان گربه و در افراد بدون ارتباط با حیوانات وجود داشت در حالی که گونه جدا شده اتریتیدیس فقط در صاحبان گربه وجود داشت.

جدول ۳- فراوانی ژن‌های حدت در گونه‌های سالمونلای جدا شده از سگ‌ها و گربه‌ها و صاحبان آن‌ها در شهرستان اصفهان

ژن حدت	گونه تیپ‌موریوم	گونه اتریتیدیس
<i>invA</i>	100%	-
<i>rfbJ</i>	25%	-
<i>fliC</i>	100%	-
<i>fliB</i>	-	-
<i>spV</i>	-	100%
<i>sefA</i>	-	100%

نظر می‌رسد بسته به شرایط آب و هوایی و بهداشت عمومی مناطق، غالبیت سروتیپ‌های جدا شده متفاوت می‌باشد ولی گونه‌های غالب در تحقیقات مشابه می‌باشد. *سالمونلا انترتیدیس* یکی از مهم‌ترین علل مسمومیت غذایی در انسان می‌باشد و منابع دامپزشکی آن شامل گله‌های طیور و محصولات کشتارگاهی می‌باشد و به نظر می‌رسد جداسازی این سروتیپ به علت دسترسی حیوانات با چنین منابعی می‌باشد. در تحقیقات صورت گرفته در سگ‌های چوپانی شهرستان گرمسار، همه سویه‌های جدا شده به استرپتومایسین، تریمتوپریم سولفامتوکسازول، پنی سیلین و اریترومایسین مقاوم بودند (۱۳). در مطالعه بیات ماکو و همکاران که بر روی سویه‌های *سالمونلا* های با مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه در مراکز عفونی تبریز انجام گرفت، بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، کوتریموکسازول و کلرامفنیکل مشاهده گردید (۱۴). به هر حال به نظر می‌رسد که الگوی مقاومت دارویی در هر منطقه بستگی به نوع، میزان و تداوم مصرف داروهای آنتی‌بیوتیکی داشته باشد. سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۴ مقاومت دارویی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها را به عنوان یک تهدید بزرگ جهانی گزارش نموده است و وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین *سالمونلا* های جدا شده، اهمیت بررسی آنتی‌بیوگرام قبل از تجویز آنتی‌بیوتیک در درمان بیماری‌های ناشی از *سالمونلا* را نمایان می‌کند (۱۵). واضح است که تعیین الگوهای مقاومتی آنتی‌بیوتیک‌ها و استفاده مناسب از آنها می‌تواند از مقاومت آنتی‌بیوتیکی و همچنین انتشار سویه‌های مقاوم در جمعیت‌های انسانی و حیوانی جلوگیری نماید (۱۶). بررسی حاضر نشان داد که ژن‌های *invA* و *fliC* در تمام جدایه‌های *سالمونلا* تیغی‌موریوم و ژن‌های *spv* و *sefA* در تمام جدایه‌های *سالمونلا انترتیدیس* حضور داشتند. Kumarss نیز در مطالعه بر روی نمونه‌های گوشت مرغ در استان کرمان فراوانی ژن‌های *spv* و *sefA* را به ترتیب ۸۸ درصد و ۱۰۰ درصد گزارش

سگ‌های گله در گرمسار و ۱۲/۵ درصد از سگ‌های مبتلا به انتریت هموراژیک در شهرستان رشت، ۲۰ درصد سگ‌ها و گربه‌های به ظاهر سالم در تهران و ۱۹ درصد سگ‌های روستای بدون علائم بالینی در استان‌های گلستان و مازندران از جمله این گزارشات می‌باشد (۱۱). در تحقیق حاضر فراوانی آلودگی مدفوع گربه به *سالمونلا* نیز نسبت به تحقیقات مشابه کمتر و ۲٪ گزارش گردید. هر چند این میزان آلودگی در سگ‌ها و گربه‌های خانگی بدون علائم بالینی نسبت به تحقیقات مشابه کمتر می‌باشد ولی از آن جا که حضور این حیوانات خانگی در منازل کاملاً پذیرفته شده بوده و تماس مستقیم یا غیرمستقیم آن‌ها با افراد بالا می‌باشد، خطر بالقوه بروز *سالمونلوز* به خصوص در کودکان و سالخوردگان که عملکرد سیستم ایمنی ضعیف است دو چندان می‌گردد. بر اساس نتایج حاصل از این بررسی بین متغیرهای نژاد و سن با وجود آلودگی *سالمونلا* بی در گربه معنادار نبود. موافق با نتایج تحقیق حاضر، Namroodi و همکاران نیز در مطالعات خود بیان نمودند بین سن و نژاد گربه و بروز آلودگی *سالمونلا* بی ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (۹).

نتایج سروتایپینگ سویه‌های جدا شده حاکی از تعلق ۹۰ درصد جدایه‌ها به سروتیپ *سالمونلا تیغی‌موریوم* و ۲۰ درصد به سروتیپ *سالمونلا انترتیدیس* بوده است. در آمریکا آلودگی به بیش از ۵۳ سروتیپ *سالمونلا* با غالبیت سروتیپ تیغی‌موریوم در سگ‌ها گزارش شده است. البته بین سویه‌های *سالمونلا* جدا شده در پرندگان محلی، غالبیت فراوانی، با *سالمونلا انترتیدیس* بوده است (۱۲). در تحقیق Namroodi در سال ۲۰۱۶ نیز، ۵۰ درصد سروتیپ‌های جداسازی شده از سگ‌های روستایی بدون علائم بالینی *سالمونلا تیغی‌موریوم*، ۳۵ درصد *سالمونلا انترتیدیس* و ۱۵ درصد *سالمونلا دابلین* بوده است (۱۱). به هر حال هر چند سروتیپ‌های جدا شده از سگ‌ها و گربه‌ها در زمان‌های مختلف حتی در یک ناحیه متفاوت بوده و به

2. Coburn B, Grassl GA, Finlay B. Salmonella, the host and disease: a brief review. *Immunology and cell biology*. 2007;85(2):112-8.
3. Besser JM. Salmonella epidemiology: A whirlwind of change. *Food microbiology*. 2018;71:55-9.
4. Reimschuessel R, Grabenstein M, Guag J, Nemser SM, Song K, Qiu J, et al. Multilaboratory survey to evaluate Salmonella prevalence in diarrheic and nondiarrheic dogs and cats in the United States between 2012 and 2014. *Journal of clinical microbiology*. 2017;55(5):1350-68.
5. Weiss G, Schaible UE. Macrophage defense mechanisms against intracellular bacteria. *Immunological reviews*. 2015;264(1):182-203.
6. Jajere SM. A review of Salmonella enterica with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Veterinary world*. 2019;12(4):504.
7. Johnson R, Mylona E, Frankel G. Typhoidal Salmonella: Distinctive virulence factors and pathogenesis. *Cellular Microbiology*. 2018;20(9):e12939.
8. Lim Y-H, Hirose K, Izumiya H, Arakawa E, Takahashi H, Terajima J, et al. Multiplex polymerase chain reaction assay for selective detection of Salmonella enterica serovar Typhimurium. *Japanese journal of infectious diseases*. 2003;56(4):151-5.
9. Namroodi S, Staji H, Sharafi S. Survey on Salmonella contamination of Golden jackals by microbiological culture methods and PCR in Golestan and Mazandaran Provinces. *Journal of Veterinary Research*. 2017;72.(۳)
10. Kocabiyik A, Cetin C, Dedicova D. Detection of Salmonella spp. in stray dogs in Bursa Province, Turkey: first isolation of Salmonella Corvallis from dogs. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 2006;53(4):194-6.

نمود (۱۷). نتایج مشابهی در مطالعه Nashva و همکاران نیز مشاهده گردیده است. (۱۸)

هر چند بر اساس نتایج پژوهش حاضر تفاوت معنی‌داری بین روش‌های کشت و PCR در تشخیص آلودگی به سالمونلا وجود نداشت ولی در نتایج تحقیقات مشابه درصد آلودگی در روش PCR بیشتر از روش کشت بوده است. در تحقیق صورت گرفته روی نمونه‌های شیر، Van Kessel و همکاران در جدا سازی سالمونلا به روش کشت، میزان جداسازی سالمونلا را ۲/۳۱٪ اما با استفاده از روش PCR مستقیم، ۳/۳ گزارش نمودند (۱۹). به هر حال هر چند روش‌های مبتنی بر کشت به عنوان روش‌های طلایی در امر تشخیص آلودگی محسوب می‌گردد ولی روش‌های مولکولی بر پایه PCR نیز به خصوص به با توجه به سرعت آزمایش می‌تواند جانشین روش‌های کشت در شناسایی سالمونلا، از نمونه‌های بالینی شود (۲۰).

در این تحقیق میزان آلودگی در سگ‌ها و گربه‌های خانگی بدون علائم بالینی نسبتاً کم گزارش گردید. از آنجایی که ارتباط معنی‌داری نیز بین آلودگی حیوانات و صاحبانشان در این تحقیق مشاهده نشد می‌توان علت آلودگی را استفاده از آب و غذای آلوده به سالمونلا به ویژه غذاهای پروتینی و فراورده‌های خام و غیر پاستوریزه و عدم رعایت بهداشت قبل از مصرف غذا دانست. البته لازم به ذکر است که از آن جا که حضور این حیوانات خانگی در منازل کاملاً پذیرفته شده بوده و تماس مستقیم یا غیر مستقیم آن‌ها با افراد بالا می‌باشد، خطر بالقوه بروز سالمونلوز حتی با همین نسبت کم بسیار مهم بوده و سگ‌ها و گربه‌های فاقد علائم بالینی می‌توانند به عنوان یکی از خطرناک‌ترین عوامل انتشار سالمونلا در محیط قلمداد گردد.

فهرست منابع

1. Groisman EA, Ochman H. How Salmonella became a pathogen. *Trends in microbiology*. 1997;5(9):343-9.

11. Namroodi S, Estaji H, Dehmordeh M. Frequency and antimicrobial resistance pattern of *Salmonella* Spp in asymptomatic rural dogs. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2016;26(135):153-7.
12. EMADI CS, Hasanzadeh M, BOZORG MM, Mirzaei S. Characterization of the *Salmonella* isolates from backyard chickens in north of Iran, by serotyping, multiplex PCR and antibiotic resistance analysis. 2009.
13. Salehi TZ, Badouei MA, Madadgar O, Ghiasi SR, Tamai IA. Shepherd dogs as a common source for *Salmonella enterica* serovar Reading in Garmsar, Iran. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 2013;37(1):102-5.
14. Bayatmakoo Z, Bayatmakoo R. A study multi-drug resistant of salmonella Typhi strains Tabriz. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*. 2004;4(1):12-7.
15. Organization WH. Antimicrobial resistance: global report on surveillance: World Health Organization; 2014.
16. Vaez H, Ghanbari F, Sahebkar A, Khademi F. Antibiotic resistance profiles of *Salmonella* serotypes isolated from animals in Iran: a meta-analysis. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 2020;21(3):188.
17. Kumarss A, Taghi ZS, Gholamreza N, Reza R, Javid A, Shahrnaz BA. Molecular detection of *invA* and *spv* virulence genes in *Salmonella enteritidis* isolated from human and animals in Iran. *African Journal of Microbiology Research*. 2010;4(21):2202-10.
18. Nashwa MH, Mahmoud A, Sami SA. Application of multiplex polymerase chain reaction (MPCR) for identification and characterization of *Salmonella Enteritidis* and *Salmonella Typhimurium*. *J Appl Sci Res*. 2009;5:2343-8.
19. Van Kessel J, Karns J, Gorski L, McCluskey B, Perdue M. Prevalence of *Salmonellae*, *Listeria monocytogenes*, and fecal coliforms in bulk tank milk on US dairies. *Journal of Dairy Science*. 2004;87(9):2822-30.
20. Rastegar H, Gharemani M, Hallaj S, Jalali M, Anjarani S, Khosrokhavar R. Isolation and identification of *Salmonella typhimurium* in milk by conventional and PCR methods. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*. 2008;3(3):45-52.