مجله دنیای میکروب‌ها
سال هفتم شماره چهارم (پیاپی ۲۱) زمستان ۱۳۹۳
صفحات ۲۸۸-۲۸۲

Original Article

بررسی فراوانی ژن های پلاسمیدی *spvB*، *spvC* و *spvR* در *سالمونلا انتریتیدیس* جداسازی شده از مرغداری های صنعتی استان چهار محال و بختیاری

معصومه داریوشی[۱]، عباس دوستی*[۲]، محمد کارگر[۳]

[۱]کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، دانشکده علوم پایه، گروه میکروب شناسی، [۲]دانشیار، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، [۳]دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، دانشکده علوم پایه، گروه میکروب شناسی.

چکیده

سابقه و هدف: سالمونلوز یکی از بیماری های عفونی و مشترک در انسان و حیوانات می باشد. *سالمونلا انتریتیدیس* سروتیپ غالب جدا شده از انسان و طیور بوده که منبع انتقال عفونت است. سروارهای مشخصی از *سالمونلا*، پلاسمید حامل اپرون *spv* شامل پنج ژن *spvRABCD* دارند. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی ژن های پلاسمیدی *spvB*، *spvC* و *spvR* در *سالمونلا انتریتیدیس* جداسازی شده از مرغداری های صنعتی استان چهار محال و بختیاری انجام شد.

مواد و روش ها: این پژوهش به صورت مقطعی-توصیفی بر روی ۳۰۵ نمونه مدفوعی از طیور انجام شد. پس از تعیین هویت اولیه باکتری *سالمونلا* با آزمون های بیوشیمیایی، به منظور افتراق *سالمونلا انتریتیدیس* از سایر سروارها و به منظور بررسی فراوانی ژن های پلاسمیدی *spvB*، *spvC* و *spvR* از پرایمرهای اختصاصی این ژن ها و روش PCR استفاده گردید.

یافته ها: در مجموع تعداد ۱۶۰ (۵۲/۴۵٪) نمونه آلوده به *سالمونلا* بودند. از این میان تعداد ۹۴ مورد (۵۸/۷۵٪) با تکثیر ژن *sefA* به عنوان گونه *سالمونلا انتریتیدیس* شناخته شدند. فراوانی هر یک از ژن های *spvB*، *spvC* و *spvR* در نمونه های آلوده به *سالمونلا انتریتیدیس* به ترتیب ۴۵/۷، ۷۶/۶ و ۶۹/۱۴ درصد گزارش شد.

نتیجه گیری: آزمون مولکولی PCR، یک روش فراگیر برای شناسایی سریع سویه *سالمونلا انتریتیدیس* بوده و کاربرد آن در افتراق این باکتری نسبت به سروارهای دیگر *سالمونلا* در سایر نقاط کشور پیشنهاد می شود. همچنین می توان شیوع نسبتا بالای ژن های پلاسمیدی که نقش اصلی انتشار عفونت سیستمیک را در بدن ایفا می کنند را با مصرف داروهای موثر کاهش داد.

واژگان کلیدی: *سالمونلا انتریتیدیس*، طیور، واکنش زنجیره ای پلی مراز، *spvR*، *spvBC*.

دریافت مقاله: اردیبهشت ماه ۹۳ پذیرش برای چاپ: تیر ماه ۹۳

مقدمه

باکتری *سالمونلا* (*Salmonella*) یکی از جنس های خانواده انتروباکتریاسه، یک باکتری گرم منفی، هوازی و بی هوازی اختیاری می باشد که قرابت نزدیکی با باکتری *اشرشیا کلی* (*Escherichia coli*) دارد. *سالمونلا* به طور عمده در دستگاه گوارش میزبان های متنوعی مانند طیور، حیوانات اهلی، وحشی و انسان زندگی می کند و موجب بروز علایم بیماری در این میزبان ها می گردد (۱).

سالمونلوز یکی از بیماری های مهم عفونی و به عنوان یک بیماری مشترک در انسان و حیوانات گزارش شده است. *سالمونلا انتریتیدیس* (*S. enteritidis*) هم اکنون سروتیپ غالب در بین *سالمونلا*های جدا شده از انسان و طیور می باشد. به طوری که گوشت و تخم مرغ دو منبع مهم عفونت این باکتری برای انسان هستند (۲). عفونت های *سالمونلایی* همچنین به عنوان یکی از مهم ترین مشکلات حیوانات اهلی در سراسر جهان مطرح می باشند و به صورت مستقیم با ایجاد تلفات و

*) آدرس برای مکاتبه: شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی.
تلفن: ۰۹۱۳۳۸۳۸۸۳۰ پست الکترونیک: abbasdoosti@yahoo.com

کاهش رشد متعاقب بیماری بالینی و به صورت غیر مستقیم با انتقال عفونت به انسان موجب خسارات اقتصادی زیادی می گردند. این باکتری معمولاً از طریق مدفوع انسان و یا دام، دفع شده و باعث آلودگی آب و غذا و محیط می‌گردد (۳).

ژن های *spv* (*salmonella plasmid virulence*) تقریباً در تمامی جدایه های طبیعی *سالمونلا* های سازگار با میزبان حیوانی یافت می شوند. ژن های پلاسمیدی کد کننده *spv* همچنین در سروارهای با گستردگی میزبانی مانند *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا انتریتیدیس* یافت می شوند. اما تنها جدایه های متفاوتی از آن ها پلاسمید بیماری زا را شامل می شوند (٤). لوکوس *spv* شامل ۵ ژن *spvRABC* می باشد (۵).

ژن های اصلی عامل فنوتیپ بیماریزایی عبارتند از: *spvR*، تنظیم کننده رونویسی مثبت و دو ژن ساختاری *spvB* و *spvC* (٦). *spvB* با پلیمریزاسیون اکتین به وسیله ADP ریبوزیله شدن مونومرهای اکتین را فراهم می کند (۷).

spvC فعالیت فسفوترئونین لیازی دارد که به طور برگشت ناپذیری MAP کیناز (Mitogen-Activated Protein kinase) سلول میزبانی را با برداشتن فسفات و تغییر آن به ترئونین هدف غیر فعال می نماید (۸). نقش این فعالیت در فنوتایپ بیماریزایی *spvC* هنوز تائید نشده است. هر دو *spvB* و *spvC* در سیستم ترشحی در جزیره بیماریزایی ۲ واقع شده اند (۹). این دو ژن به وسیله سیستم ترشحی تیپ III به درون سلول میزبان انتقال داده می شوند. مکانیسم افزایش بیماریزایی این دو ژن هنوز نامشخص است. اما هر دو در ایجاد فنوتیپ بیماریزایی با یکدیگر همکاری می کنند (۱۰).

spvR یک فعال کننده رونویسی نوع Met R/Lys R است و جدا از ژن های ساختاری *spvABCD* رونویسی می گردد. *spvR* به پروموترهای *spvA* و *spvR* متصل شده و برای بیان ژن های *spvABCD* مورد نیاز است (۱۱). با توجه به مطالعات انجام شده در ایران و جهان بررسی فراوانی این سروار و ژن های عامل حدت آن در حال افزایش بوده و حاکی از اهمیت روز افزون آن می باشد (۱۲).

هدف از این پژوهش شناسایی و افتراق *سالمونلا انتریکا* سروار *انتریتیدیس* با استفاده از روش PCR و ارزیابی شیوع ژن های پلاسمیدی *spvB*، *spvC* و *spvR* در مرغداری های صنعتی استان چهارمحال و بختیاری بود.

مواد و روش ها

الف) جمع آوری نمونه و شناسایی اولیه: این مطالعه به صورت مقطعی-توصیفی در مدت سه ماه بر روی ۳۰۵ نمونه مدفوع مرغ های گوشتی جمع آوری شده از مرغداری های صنعتی نقاط مختلف جغرافیایی استان چهار محال و بختیاری انجام شد. مرغ های گوشتی دارای محدوده سنی ۱۰ تا ٦٦ روز قرار داشتند و دارای شرایط مصرف یا عدم مصرف آنتی بیوتیک بودند. تمامی نمونه ها با شرایط کاملاً استریل به آزمایشگاه مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد شهرکرد منتقل گردیدند.

نمونه ها در محیط غنی کننده آب پپتونه و محیط های اختصاصی و افتراقی راپاپورت واسیلیادیس (Rappaport–Vasisiliadis) و *سالمونلا شیگلا* (Salmonella Shigella) هر کدام به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سیلیسیوس گرماگذاری شدند. سپس از آزمون های بیوشیمیایی مانند TSI، SIM، MR/VP و سیمون سیترات استفاده گردید. تمامی محیط کشت های آماده شده از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

ب) ارزیابی مولکولی: به منظور استخراج DNA کروموزومی و پلاسمیدی از روش جوشاندن (Boiling) استفاده گردید (۱۲). به منظور افتراق *سالمونلا انتریتیدیس* از سایر سروارها از پرایمرهای اختصاصی ژن *sefA* و به منظور بررسی فراوانی ژن های پلاسمیدی *spvB*، *spvC* و *spvR* از پرایمرهای اختصاصی این ژن ها استفاده گردید (جدول ۱). واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲۰ نانو گرم DNA استخراج شده، ۲ میلی مول $MgCl_2$، ۲۰۰ میکرو مولار dNTPs، ۲۵ پیکو مول از هر پرایمر و ۱ واحد آنزیم Taq DNA polymerase انجام شد. سپس دو تا سه قطره روغن معدنی استریل برای جلوگیری

از آلودگی و تبخیر به مخلوط فوق اضافه گردید.

در ادامه واکنش PCR در دستگاه Mastercycler Gradient, Eppendorf, Germany با شرایط واسرشت ابتدایی در دمای ۹۵ درجه سیلیسیوس به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل شامل واسرشت اصلی در دمای ۹٤ درجه سیلیسیوس به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال بسته به ژن های مختلف متفاوت (جدول ۱) و به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سیلیسیوس به مدت ۱ دقیقه و طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سیلیسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت (۱۳).

محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۱ درصد منتقل و الکتروفورز گردیدند. پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید به منظور مشاهده اندازه باندها از دستگاه Gel Documentation استفاده شد.

ج) *آزمون آماری:* تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نسخه نوزدهم نرم افزار SPSS و آزمون های آماری مربع کای و دقیق فیشر در سطح معنی داری $p< 0.05$ انجام گرفت.

یافته ها

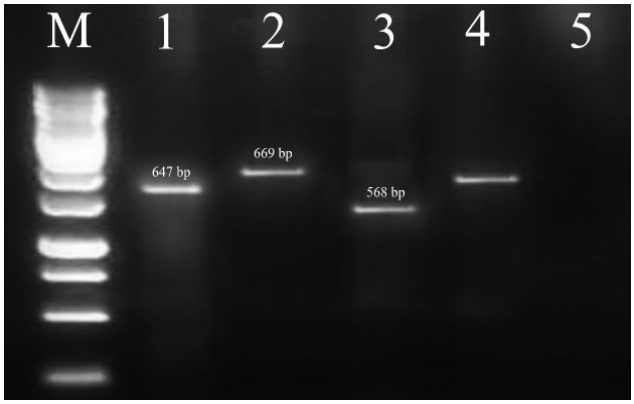
در این مطالعه از مجموع ۳۰۵ نمونه جمع آوری شده، با آزمون های بیوشیمیایی ۱٦۰ نمونه (۵۲/٤۵٪) آلوده به *سالمونلا* بودند. از این میان تعداد ۹٤ مورد (۵۸/۷۵٪) با تکثیر ژن *sefA* به عنوان گونه *سالمونلا انتریتیدیس* شناخته شدند.

فراوانی هر یک از ژن های *spvB*، *spvC* و *spvR* در نمونه های آلوده به *سالمونلا انتریتیدیس* به ترتیب ٤۵/۷٪ (٤۳ مورد)، ۷٦/٦٪ (۷۲ مورد) و ٦۹/۱٤٪ (٦۵ مورد) گزارش شد (شکل ۱).

با استفاده از آزمون کای دو مشخص گردید که بین منطقه و میزان آلودگی و همچنین بین سن (۱۰ تا ٦٦ روزه) و میزان آلودگی به *سالمونلا* و *سالمونلا انتریتیدیس* ارتباط معنی داری در سطح ۰/۰۰۱ درصد وجود دارد.

بحث

در مطالعه حاضر از مجموع ۳۰۵ نمونه جمع آوری شده، شیوع *سالمونلا انتریکا* سروار *انتریتیدیس* با استفاده از روش PCR در مرغداری های صنعتی استان چهارمحال و بختیاری برابر ۵۸/۷۵ درصد بود. همچنین فراوانی ژن های پلاسمیدی *spvB*، *spvC* و *spvR* نیز در این سویه ها به ترتیب معادل ٤۵/۷، ۷٦/٦ و ٦۹/۱٤ درصد ارزیابی شد. یافته های این مطالعه بیانگر خطر آلودگی به جنس *سالمونلا* در طیور بوده و شیوع *سالمونلا*



شکل ۱: الکتروفورز محصولات PCR حاصل از تکثیر ژن های *spvB*، *spvC* و *spvR*. M) مارکر ۱۰۰ جفت بازی. ستون ۱) ژن *SpvB* (باند ٦٤۷ جفت بازی)، ستون ۲) ژن *spvC* (باند ٦٦۹ جفت بازی)، ستون ۳) ژن *spvR* (باند ۵٦۸ جفت بازی)، ستون ٤) کنترل مثبت (سویه استاندارد *سالمونلا پاراتیفی B*)، ستون ۵) کنترل منفی.

جدول۱: توالی مربوط به پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه.

نام ژن	توالی *3′ ⟵ 5′*	اندازه باند(bp)	دمای اتصال پرایمرها
sefA	*sefA-F: 5′-GCCGTACACGAGCTTATAGA -3′* *sefA-R: 5′-ACCTACAGGGGCACAATAAC -3′*	۲۱٤	٦۰ C
spvB	*spvB-F: 5′- GTTCCCATTGAGGTCCACATTG -3′* *spvB-R: 5′- GTTTTTCATCTGCCACTTTAGCG -3′*	٦٤۷	٦۲ C
spvC	*spvC-F: 5′- CCCAAACCCATACTTACTCTG -3′* *spvC-R: 5′-CGGAAATACCATCTACAAATAAG -3′*	٦٦۹	۵۸ C
spvR	*spvR-F: 5′- CTACGCCTTTGATGTGCAGTG -3′* *spvR-R: 5′- TATATTTTCTTACATGCACTGGAGC -3′*	۵٦۸	٦۰ C

انتریتیدیس در نمونه های گرفته شده بیشتر از سایر سروارهای دیگر بود.

عفونت های سالمونلایی طیف وسیعی از بیماری های باکتریال را شامل می شود که توسط گروه بزرگی از باسیل های گرم منفی به نام *سالمونلا* ایجاد می گردند. در حال حاضر بیش از ۲۵۰۰ سروار در جنس *سالمونلا* وجود دارد. در ایران نیز گزارش های متعددی از اپیدمی های مربوط به سروارهای *انتریتیدیس* و *تیفی موریوم* انتشار یافته است (۱٤).

*سالمونلا*ها، ژن های کروموزومی و پلاسمیدی حمل می نمایند که در حدت و تهاجم این باکتری نقش عمده و اساسی دارند. از مهم ترین عوامل حدت، ژن های پلاسمید حدت یا *spv* می باشند. این اپرون دربردارنده پنج ژن *spvD*، *spvC*، *spvB*، *spvA* و *spvR* بوده که در باکتری *سالمونلا* بسیار حفاظت شده است. شواهد اپیدیمیولوژی بر این عقیده است که اپرون *spv* برای بیماریزایی خارج روده ای یا ایجاد عفونت عمومی به وسیله سروارهای غیرتیفوئیدی در حیوانات خونگرم و انسان مورد نیاز است. شناسایی و تایید این ژن ها در باکتری های آن منطقه می تواند در بررسی اپیدیمیولوژیکی وسیع، مقاومت های آنتی بیوتیکی، تولید واکسن، میزان حدت، پیشگیری و درمان نقش داشته باشد (۱٤).

بدون شک روش های مولکولی از دقیق ترین و حساس ترین تکنیک های تشخیصی عوامل بیماری زا هستند. از این میان واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) یکی از رایج ترین روش های تشخیصی مولکولی است (۱۵). از آنجایی که روش PCR در مقایسه با روش کشت و سرولوژی روشی سریع، مطمئن و اقتصادی تر است، در مطالعه حاضر به منظور تکثیر ژن های مورد نظر از روش PCR استفاده گردید.

در سال ۲۰۱۳ بورگز (Borges) و همکاران از ژن *sefA* به عنوان کاندیدای مناسبی جهت تشخیص *سالمونلا انتریتیدیس* استفاده نمودند که با روش تشخیصی مطالعه حاضر یکسان است (۱٦). کاستیلا (Castilla) و همکاران در سال ۲۰۰٦ و نایبی (Naebi) و همکاران در سال ۲۰۱۱ با روش PCR به ترتیب حضور ژن های *sefC*، *pefA* و *spvC* و ژن های هدف تاژکی را در *سالمونلا انتریتیدیس* جدا شده از محصولات ماکیان و همچنین جوجه ها مورد بررسی قراردادند. یافته های آنها نشان دهنده حساسیت روش PCR نسبت به روش های سنتی، محدود و وقت گیر جداسازی آزمایشگاهی بود (۱۵و۱۷).

در سال ۲۰۱۲ درخشنده (Derakhshandeh) و همکاران حضور سه ژن *spvB*، *spvC* و *spvR* را در ٦۰ سروتایپ *سالمونلا* جدا شده از منابع مختلف مورد بررسی قرار دادند. فراوانی ژن های یاد شده به ترتیب ٤۳/۳، ۷۳/۳ و ٤٦/٦ درصد گزارش شد که تا حدود زیادی با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۱۸).

امینی (Amini) و همکاران در سال ۲۰۱۰ در کشتارگاهی در کرمان با جمع آوری ۱۰۰۱ نمونه از طیور و انجام آزمون های بیوشیمیایی و سرولوژیکی، ٦۸ مورد را آلوده به *سالمونلا* گزارش کردند. از این میان با استفاده از روش Multiplex PCR ۳۵ (۵۱٪) مورد به عنوان *سالمونلا انتریتیدیس* شناخته شدند. حضور ژن های *spvA*، *spvB* و *spvC* در *سالمونلا انتریتیدیس* برابر ۸۸/٦ درصد تخمین زده شد. یافته های آنها نشان داد که شیوع *سالمونلا انتریتیدیس* در ایران نسبت به *سالمونلا تیفی موریوم* با افزایش همراه بوده و نمونه های مرغی برای شیوع سالمونلوزیز بلقوه می باشد که بهداشت مواد غذایی را بسیار حائز اهمیت می داند (۱۳).

در مطالعه ای که اولویرا (Oliveira) و همکاران در سال ۲۰۰۳ در برزیل بر روی حضور ژن های *invA*، *spvR* و *spvC* در سالمونلاهای جدا شده از منابع مختلف انجام دادند، دریافتند که ژن *invA* در *سالمونلا انتریتیدیس* در همه منابع مورد بررسی شامل طیور، خوک، انسان و غذا یافت می گردد. اما فراوانی ژن های *spvR* و *spvC* به ترتیب ۹۱/۲ و ۹۰/۲ بود. همچنین اختلاف معنی داری در شیوع ژن های مختلف بیماری زا در بین جدایه های منابع مختلف وجود نداشت (۱۹). فراوانی ژن های یاد شده با یافته های پژوهش حاضر هم خوانی ندارد. علت این اختلاف را می توان به منطقه جغرافیایی مورد مطالعه،

مصرف یا عدم مصرف آنتی بیوتیک، سن نمونه ها و یا شرایط سلامت جوجه ها نسبت داد که می تواند عامل مهمی در ابتلا و بیان ژن های بیماریزا باشد.

ساجید (Sajid) و شوارز (Schwarz) نیز در مطالعه ای در سال ۲۰۰۹ در آلمان با بررسی ٤٨ نمونه *سالمونلا انتریتیدیس* و با روش انگشت نگاری ژنتیکی قطعاتی را به وسیله اندونوکلئاز ایجاد کردند. قطعه HIND III از پلاسمید به عنوان پروبی برای تشخیص *spvB/spvC* استفاده گردید. حضور پلاسمیدهای اختصاصی سرم و ژن های *spvB/spvC* در سویه های معمولی *سالمونلا انتریتیدیس* اثبات گردید که با نتایج سایر مطالعات انجام شده با روش PCR هم خوانی دارد (۲۰).

با توجه به افزایش سالمونلوز به خصوص در طیور و گستردگی مرغداری های صنعتی در اقصی نقاط کشور، با در نظر گرفتن بهداشت و سلامت جامعه، باید روش های تشخیصی اختصاصی با حساسیت بالا مانند روش PCR مورد استفاده قرار گیرد. همچنین برنامه ریزی برای کنترل عفونت های سالمونلایی و نیز به کارگیری روش های موثرتر برای کاهش عفونت در حیوانات اهلی پیشنهاد می گردد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، آزمون مولکولی PCR، یک روش فراگیر برای شناسایی سریع سویه *سالمونلا انتریتیدیس* می باشد. بنابراین کاربرد آن در افتراق این باکتری نسبت به سروارهای دیگر *سالمونلا* در سایر نقاط کشور پیشنهاد می گردد. همچنین می توان شیوع نسبتا بالای ژن های پلاسمیدی که نقش اصلی انتشار عفونت سیستمیک را در بدن ایفا می کنند را با مصرف داروهای موثر کاهش داد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از همکاران محترم مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و همچنین معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Naserly S. 2010. Molecular determination of gene *sef14*, *sef17*, *sef21 Salmonella Enteritidis* isolates recovered from multiple chain reaction method. Dissertation for the degree of Doctor of Veterinary Public. Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University. [In Persian]
2. Akbarmehr J. Serogroup screening of Salmonella isolated from poultry and detection of their *hilA* gene by PCR assay. J Microbial Biotechnol. 2010; 2(6): 33-38. [In Persian]
3. Soltan dallal MM, Rahimi Forushani A, Nikmanesh B, Tabatabaei Bafroei A, Aghili N. Evaluation of enrichment, selective and differential media in isolation and identification of *Salmonella* among children with diarrhea. Payavard Salamat. 2011; 5(2): 33-41. [In Persian]
4. Libby SJ, Adams LG, Ficht TA, Allen C, Whitford HA, Buchmeier NA, Bossie S, Guiney DG. The *spv* genes on the *Salmonella Dublin* virulence plasmid are required for severe enteritis and systemic infection in the natural host. Infect Immun. 1997; 65(5): 1786-1792.
5. Krause M, Fang FC, Guiney DG. Regulation of plasmid virulence gene expression in *Salmonella dublin* involves an unusual operon structure. J Bacteriol. 1992; 174: 4482-4489.
6. Roudier C, Fierer J, Guiney DG. Characterization of translation termination mutations in the spv operon of the Salmonella virulence plasmid pSDL2. J Bacteriol. 1992; 174: 6418-6423.
7. Hochmann H, Pust S, von Figura G, Aktories K, Barth H. *Salmonella enterica spvB* ADP-ribosylates actin at position arginine-177-characterization of the catalytic domain within

the *SpvB* protein and a comparison to binary clostridial actin-ADP-ribosylating toxins. Biochem. 2006; 45: 1271-1277

8. Li H, Xu H, Zhou Y, Zhang J, Long C, Li S, Chen S, Zhou JM, Shao F. The phosphothreonine lyase activity of a bacterial type III effector family. Sci. 2007; 315: 1000-1003.

9. Mazurkiewicz P, Thomas J, Thompson JA, Liu M, Arbibe L, Sansonetti P, Holden DW. *SpvC* is a *Salmonella* effector with phosphothreoninelyase activity on host mitogen activated protein kinases. Mol Microbiol. 2008; 67: 1371-1383.

10. Guiney DG, Fierer J. The role of the *spv* genes in *Salmonella* pathogenesis. Cell Mol Biol. 2011. 2: 129.

11. Grob P, Guiney DG. In vitro binding of the *Salmonella dublin* virulence plasmid regulatory protein *SpvR* to the promoter region of *spvA* and spvR. J Bacteriol. 1996; 178: 1813-1820.

12. Amini K, Zahraei Salehi T, Nikbakht GH et al. Molecular detection of *invA* and *spv* virulence genes in *Salmonella enteritidis* isolated from human and animals in Iran. Afr J Microbiol Res. 2010; 21: 2202-2210.

13. Madadgar O, Zahraei Salehi T, Tadjbaksh H, Mahzounieh M, Feizabadi M. Genomic and phenotypic evaluation of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* in Iran. Comp Clin Pathol. 2008; 17: 229-235

14. Amini K, Salehi Zahraei D, Abedi M, Jangjoo M. 2011. Identification of genes for virulence plasmid spvA, B, C of *Salmonella enteritidis* and *typhimurium* isolated from human and animal Multiplex PCR (Multiplex PCR). First National Conference on Modern Topics in Agriculture, Saveh, Islamic Azad University, Saveh, Iran. [In Persian]

15. Nayebi N, Qureshi AS, Harzandi N, Shams Rated M, Study of B, Bakhtiari A. Evaluation of PCR method for detection of *Salmonella enteritidis* infections in poultry products in Karaj city. Med Sci J Islamic Azad Univ. 2011; 21: 32-37. [In Persian]

16. Borges KA, Furian TQ, Borsoi A, Moraes HLS, Salle CTP, Nascimento VP. Detection of virulence-associated genes in *Salmonella enteritidis* isolates from chicken in South of Brazil. Pesq Vet Bras. 2013; 33(12): 1416-1422

17. Castilla KS, Ferreira CSA, Moreno AM. Distribution of virulence genes *sefc*, *pefa* and *spvc* in *Salmonella enteritidis* phage type 4 strains isolated in Brazil. Brazil J Microbiol. 2006; 37: 135-139.

18. Derakhshandeh A, Firouzi R, Khoshbakht R. Association of three plasmid-encoded *spv* genes among different *Salmonella serotypes* isolated from different origins. Indian J Microbiol. 2012; Doi: 10.1007/s12088-012-0316-5.

19. Oliveira SD, Rodenbusch CR, Michael GB, Cardoso MIR, Canal CW, Brandelli A. Detection of virulence genes in *Salmonella enteritidis* isolated from different sources. Brazil J Microbiol. 2003; 34 (Suppl.1): 123-124.

20. Sajid SU, Schwarz S. Plasmid fingerprinting and virulence gene detection among indigenous strains of *Salmonella enterica* serovar *enteritidis*. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2009; 21(2): 246-250.

Journal of Microbial World
Volume 7, No. 4, January 2015

Original Article

The prevalence of plasmid genes *spvB*, *spvC* and *spvR* in *Salmonella enteritidis* isolated from poultry industry in Chaharmahal va Bakhtiari province

Masoumeh Daruoshi[1], Abbas Doosti[2], Mohammad Kargar[3]

[1] MS.c., Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Jahrom branch, Jahrom, Iran.
[2]Associate Professor, Biotechnology Research Center, Shahrekord branch., Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
[3]Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Jahrom branch, Jahrom, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Salmonellosis is a one of zoonotic diseases and *Salmonella enterica* is the most frequent agent of this disease. Some serotypes of *Salmonella* sp. harbour a plasmid which contains spv operon on it. This operon consists of five genes, namely *spvRABCD*. The aim of this study was to determine frequency of plasmid genes *spvB*, *spvC* and *spvR* in *Salmonella* isolated from poultry industry in Chaharmahal va Bakhtiari province.

Materials & Methods: This cross – sectional study was carried out on 305 stool samples obtained from poultries located at Charmahal va Bakhtiari province. Following identification of *Salmonella* based on routine biochemical tests. Polymerase chain reaction (PCR) assay was used for distinguish the strains and to determine the prevalence of the gene *spvB*, *spvC* and *spvR*.

Results: *Salmonella* were identified in 160 (45.52%) samples, among them 94 cases (75.58%) were identified as *Salmonella enteritidis* after *sefA* amplification test. The prevalence of the genes *spvB*, *spvC* and *spvR* were 7.45, 60.76 and 14.69 %, respectively.

Conclusion: Due to the prevalence of *Salmonella* in poultries and to limitation of biochemical and serological tests, employment of molecular tests are very critical for identification of strains of *Salmonella enterica* and for distinguishing from other strains all around the country. Furthermore, the high prevalence of the plasmid genes involved in systemic infections can be reduced using Antibiotics.

Keywords: *Salmonella enteritidis*, Poultry, PCR, *spvR*, *spvBC*.

Correspondence to: Abbas Doosti

Tel: +989133838830

E-mail: abbasdoosti@yahoo.com

Journal of Microbial World 2015, 7(4): 282-288.