

Evaluation of antibiotic resistance patterns and the presence of *spvR* 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. The 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 *spvR* 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 *spvR* 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 *spvR* 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, *spvR* gene, Antibiotic resistance, East Azarbaijan.

"مقاله پژوهشی"

DOI: 10.30495/JVCP.2020.1873299.1239

ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حضور ژن حدت *spvR* در سالمونلاهای جداشده از کبد و تخمدان گله‌های مرغ تخم‌گذار صنعتی استان آذربایجان شرقی

امیر الهیاری^۱، حسین نیک‌پیران^{۲*}، یونس انزابی^۳،^۴

۱- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۳- استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۴- مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: nikpiran20@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۸/۴/۱۶ پذیرش نهایی: ۹۸/۱۲/۲۶)

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 آذربایجان شرقی و نیز بررسی حضور ژن حدت *spvR* در جدایه‌های مذکور بود. بدین منظور از تعداد ۴۵ گله مشکوک به سالمونلا در مجموع تعداد ۲۰۰ نمونه کبد و تخمدان اخذ شده 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 *spvR* 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 اریترومايسين، سولتریم و تتراسایکلین مقاوم بودند. بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی هم به ترتیب در برابر داکسی‌سایکلین (۹۴/۳ درصد)، دانوفلوکساسین (۹۲/۶ درصد) و فلورفنیکل (۹۱/۷ درصد) مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان حساسیت نیز مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های فوزباک (۹۴/۷ درصد) و انروفلوکساسین (۷۴/۲ درصد) بود. نتایج آزمایش مولکولی نیز نشان داد که ژن *spvR* در غالب گله‌های طیور تخم‌گذار استان آذربایجان شرقی وجود دارد (در ۸۸/۴۶ 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 به نظر می‌رسد.

کلیدواژه‌ها: سالمونلا، مرغ تخم‌گذار، ژن *spvR*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، آذربایجان شرقی.

مقدمه

جنس سالمونلا بیش از ۲۶۰۰ واریانت (سرروار 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 (Roberts *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) به طوری که باکتری‌های متعلق به جنس سالمونلا از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای موجود در مواد غذایی 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 این که طیور به‌عنوان یکی از میزبان‌های مهم این باکتری می‌باشند، سالمونلاهای غیرتیفوئیدی به‌عنوان عامل اصلی عفونت‌های روده‌ای با منشأ غذایی در انسان شناخته شده‌اند که منبع عمده این عفونت‌ها محصولات غذایی 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 منشأ 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 *spvRABCD* 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

در آگار (بر مبنای اصول کربی- بوئر) در محیط مولر هیتتون آگار جهت تعیین میزان حساسیت آنتی- بیوتیک‌های جدایه‌ها انجام شد. بدین منظور از دیسک‌های کاغذی مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکساسین، فوزباک، دانوفلوکساسین، کلر- تتراسیکلین، اکسی‌تتراسایکلین، داکسی‌سایکلین، سولتریم و اریترومایسین (همگی ساخت شرکت پادتن طب- تهران) استفاده شد.

جهت بررسی وجود ژن *spvR* در جدایه‌های سالمونلا نیز از آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس (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 ۲ mL 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).

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

با توجه به مطالب ذکر شده، هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سالمونلاهای آلوده‌کننده گله‌های مرغ تخم‌گذار و همچنین بررسی حضور ژن حدت *spvR* در سالمونلاهای جدا شده از طیور صنعتی تخم‌گذار در سطح استان آذربایجان شرقی 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 نمونه برداری 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/ایتتریکا مشخص شود (al., 2013). پس از جداسازی سالمونلاها، آزمایش آنتی‌بیوگرام بر اساس روش انتشار دیسک

جدول ۱- مشخصات جفت پرایمرهای اختصاصی مربوط به ژن *spvR*

| منبع | اندازه محصول PCR (bp) | توالی پرایمرها (5'-3') | ژن هدف |
|----------------------|-----------------------|--|-------------|
| (Amini et al., 2010) | ۳۱۰ | F: CAG GTT CCT TCA GTA TCG CA R: TTT GGC CGG AAA TGG TCA GT | <i>spvR</i> |

مصرفی برای انجام PCR به صورت شرکتی خریداری شده (شرکت طوبی نگین- تهران) و برای آماده

در ادامه پرایمرهای *spvR-F* و *spvR-R* بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده آماده شد، سپس به یخچال منتقل گردید. Master mix و دیگر مواد

سازای هر نمونه داخل میکروتیوب مخصوص دستگاه ترمال سایکلر، طبق جدول ۲ مخلوط و تهیه شدند.

جدول ۲- مواد استفاده شده برای انجام آزمایش PCR

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

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 ۴۵ دقیقه و لامپ UV دستگاه ژل‌داکت مستقر در مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز استفاده شد.

- **تحلیل آماری داده‌ها:** نتایج به دست آمده به صورت آمار توصیفی ارائه گردیده و مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

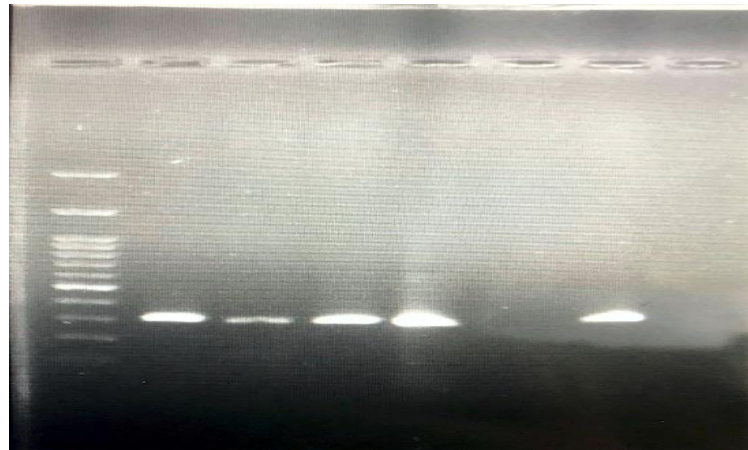
از مجموع ۲۰۰ نمونه بررسی شده، در ۲۶ مورد سروتیبی از باکتری سالمونلا/ایتتریکا جداسازی شد و بقیه نمونه‌ها در آزمایش کشت میکروبی از نظر وجود باکتری سالمونلا منفی بودند. بدین ترتیب نتایج بررسی آماری نشان داد که ۱۳ درصد نمونه‌ها از نظر کشت سالمونلا مثبت بوده‌اند و بقیه نمونه‌ها نیز منفی

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 ترمال سایکلر انتقال داده شد و پس از تنظیم سیکل دماها، دستگاه روشن شد. لازم به ذکر است که در آزمایش PCR انجام شده، از DNA استخراج شده از ژنوم باکتری سالمونلا/ایتتریکا/ایتتریکا (استاندارد) به عنوان کنترل مثبت و نیز از آب مقطر دوبار تقطیر دیونیزه استریل بدون استفاده از DNA استخراج شده به عنوان کنترل منفی استفاده شد. برنامه زمان بندی واکنش زنجیره پلی‌مرز در مورد ژن spvR به شرح زیر بود:

واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴ دقیقه و واسرشت سازی اصلی در دمای ۴ 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

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 (۸۸/۴۶ درصد جدایه‌های سالمونلا) ژن حدت *spvR* حضور داشت (شکل ۱).



شکل ۱- تصویر نتایج ارزیابی حضور ژن *spvR* با باندی به اندازه ۳۱۰ bp. در این شکل چاهک شماره ۱ مربوط به سایز مارکر ۱۰۰ جفت بازی شرکت فرمانتر (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.

نهایت این بیماری‌ها می‌تواند 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 مرغ‌ها بومی در شهرستان اهواز آلوده به سالمونلا می‌باشند که ۴ درصد آن‌ها سالمونلا تیفی موریوم و ۱ درصد سالمونلا انتریتیدیس بود. همچنین در پژوهشی با بررسی تخم‌مرغ‌های خوراکی صنعتی موفق به جداسازی سالمونلا از ۹/۴ درصد از تخم‌مرغ‌ها شده‌اند (Ching-Lee *et al.*, 1991). در این ارتباط گزارش نموده‌اند که آلودگی محتویات تخم‌مرغ می‌تواند به تنهایی دیده شود و

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 ۹۴/۳ درصد، دانوفلوکساسین با فراوانی ۹۲/۶ درصد و فلورفنیکل با فراوانی ۹۱/۷ درصد مشاهده شد. بیشترین میزان حساسیت نیز مربوط به آنتی‌بیوتیک فوزباک با فراوانی ۹۴/۷ درصد و انروفلوکساسین با فراوانی ۷۴/۲ درصد ثبت شد.

بحث و نتیجه‌گیری

عفونت با باکتری‌های جنس سالمونلا موجب بیماری‌های مزمن و حاد در طیور می‌گردد که در

درصد در کشور سوئد تا ۶۵ درصد در کشور مجارستان متفاوت می‌باشد (Carraminana *et al.*, 2004; Madsen, 2011). با این حال نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به ترتیب در برابر داکسی‌سایکلین ۹۴/۳ درصد، دانوفلوکساسین ۹۲/۶ درصد، و فلورفنیکل ۹۱/۷ درصد می‌باشد. همچنین بیشترین میزان حساسیت نیز مربوط به فوزباک ۹۴/۷ درصد و انروفلوکساسین ۷۴/۲ درصد بود که با برخی از مطالعات پیشین ذکر شده در این زمینه همسو می‌باشد. از طرف دیگر نتایج پژوهشگران نشان داده است که پلاسمید حدت *spvRABCD* 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 تیپ‌های موریوم 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 *spvR* در ۱۰۰ درصد سالمونلاهای جدا شده وجود دارد (Nikbakht and Tajbaksh, 2004). نتایج یک پژوهش در برزیل هم نشان داده که در ۸۲/۷ درصد از موارد نمونه‌برداری شده متعاقب مسمومیت غذایی سالمونلایی حضور ژن *spvR* در جدایه‌های سالمونلا با استفاده از آزمایش PCR مشخص شده است (Geimba *et al.*, 2004). نتایج مطالعه پژوهشگران

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 ۴ درصد تخم‌مرغ‌های محلی آلوده به سالمونلا بوده‌اند. از طرف دیگر نتایج این پژوهشگران نشان داده که بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به اریترومایسین، نالیدیکسیک اسید، سولفامتازول 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 ۸۴ 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 ۵۴/۳ درصد نسبت به آمپی‌سیلین، ۳/۲ درصد نسبت به جنتامایسین، ۸/۵ درصد نسبت به کانامایسین، ۲۴/۵ درصد نسبت به کلرآمفنیکل و ۱ 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

جمعیت‌های انسانی و یا حیوانی در مناطق مختلف جغرافیائی و نیز به دلیل تفاوت در میزان استفاده از مواد ضد میکروبی در درمان انسان و حیوانات در مناطق مذکور هم باشد (Nikbakht and Tajbakhsh, 2004; Amini *et al.*, 2010; Sabegi and Anzabi, 2019).

با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر به نظر می‌رسد که این مطالعه اولین تحقیق در زمینه بررسی مولکولی هویت سالمونلاهای جدا شده از نمونه‌های طیور در منطقه استان آذربایجان شرقی می‌باشد که اثبات کرد سالمونلاهای حادی در نمونه‌های مذکور وجود دارد و بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که برخورداری اکثر جدایه‌های سالمونلا از ژن حدت اپرون *spvR* نشان می‌دهد که مصرف جگر طیور آلوده می‌تواند مشکلات جدی در سلامت عمومی، بهداشت جامعه و درمان ایجاد نمایند و لذا اتخاذ تصمیم و سیاست‌گذاری‌های کلان در راستای کنترل و پیشگیری از وقوع بیماری‌های منتقله از طریق غذا، مخصوصاً سالمونلوزیس کاملاً ضروری است. ولی با توجه به مطالبی که در خصوص دلایل تفاوت‌های موجود در یافته‌های پژوهش‌های مختلف مشابه ذکر گردید، به نظر می‌رسد که جهت قضاوت دقیق و کامل‌تر در این خصوص، انجام مطالعات بیشتر و با استفاده از نمونه‌های مختلف و در حجم بالاتر ضروری است.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه رشته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز می‌باشد. لذا بدین وسیله از همه مسئولین

در استان چهارمحال و بختیاری هم نشان داده که در مجموع از تعداد ۳۰۵ نمونه مورد بررسی ۱۶۰ مورد (۵۲/۴۵ درصد نمونه‌ها) آلوده به سالمونلا بوده‌اند و میزان فراوانی هر یک از ژن‌های *spvB*، *spvC* و *spvR* به ترتیب ۴۵/۷، ۷۶/۶ و ۶۹/۱۴ درصد بوده است (Daruoshi *et al.*, 2015). نتایج مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۲ نیز نشان داده که سه ژن *spvB*، *spvC* و *spvR* در ۶۰ سروتیپ از سالمونلاهای جدا شده از منابع مختلف موجود بوده و فراوانی آن‌ها به ترتیب ۴۳/۳، ۷۳/۳ و ۶۶/۶ درصد بوده است (Derakhshandeh *et al.*, 2013). نتایج ارزیابی پژوهشگران در سال ۲۰۱۰ در کشتارگاهی در کرمان نشان داده که از ۱۰۰۱ نمونه جمع‌آوری شده مربوط به طیور، ۶۸ مورد به سالمونلا آلوده بودند و در مجموع در ۸۸/۶ درصد نمونه‌ها نیز وجود ژن‌های *spv* مورد تایید قرار گرفت (Amini *et al.*, 2010).

نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که از ۲۶ جدایه سالمونلا، مجموعاً در ۲۳ مورد (۸۷/۵ درصد) ژن حدت *spv* وجود داشته است (شکل ۱) که با نتایج اکثر مطالعات پیشین در این زمینه همسو می‌باشد. به نظر می‌رسد از جمله دلایل اصلی اختلافات ذکر شده در پژوهش‌های بالا می‌تواند در نتیجه تفاوت در نوع نمونه‌های مورد مطالعه (نمونه انسان و نمونه دام و پرندگان در مقایسه با نمونه مواد غذایی) باشد. در عین حال عقیده بر این است که این موضوع حتی می‌تواند در نتیجه تفاوت در منشأ نمونه‌ها در ارتباط با نوع مناطق جغرافیایی نیز باشد. همچنین احتمالاً تفاوت در شیوع ژن‌های حدت بررسی شده در مطالعه حاضر در مقایسه با مطالعات مشابه دیگر، می‌تواند به دلیل تفاوت در رعایت بهداشت در بین

تعارض منافع

و کارکنان دانشگاه مخصوصاً کارشناسان

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد

آزمایشگاه‌های دانشکده دامپزشکی تشکر می‌گردد.

منافعی ندارند.

منابع

- Amini, K., Salehi, T.Z., Nikbakht, G., Ranjbar, R., Amini, J. and Ashrafganjooei, S.B. (2010). Molecular detection of *invA* 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; *spvB*, *spvC* and *spvR* 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 *spvR* genes in *Salmonella* isolated from foods involved in outbreaks in Brazil. *Journal of Food Protection*, 67(6): 1229-1233.

- 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 sensitivity in Zanzan 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.