نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی
دوره هجدهم، شماره دوم، پاییز و زمستان ۱۴۰۱،
پیاپی ۴۵ : ۱۸-۱۱

JVM Journal of Veterinary Microbiology

مقاله پژوهشی

بررسی تنوع ژنتیکی جدایه های *سودوموناس آئروژینوزا* بدست آمده از موارد ورم پستان گاو در شهر تبریز

سامان مهدوی*[1]

_ استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۰

چکیده

باکتری *پسودوموناس آئروژینوزا* از مهمترین پاتوژن‌های فرصت‌طلب بوده که موجب بروز ورم پستان‌های تحت بالینی مقاوم به درمان در گاوهای شیری می‌باشد. بررسی الگوی ژنتیکی ایزوله‌ها، در مدیریت عفونت‌های ناشی از این باکتری ضروری است. هدف از این مطالعه، بررسی تنوع ژنتیکی جدایه های *سودوموناس آئروژینوزا* بدست آمده از موارد ورم پستان گاو در شهر تبریز بود. در این مطالعه توصیفی مقطعی، از ۲۰۰ راس گاو مبتلا به ورم پستان در گاوداری‌های شهر تبریز نمونه‌گیری انجام شد. پس از انجام آزمایشات بیوشیمیایی اختصاصی و رنگ آمیزی، موارد مثبت جهت آزمایشات مولکولی مورد استفاده قرار گرفتند. از مجموع ۲۰۰ مورد گاو مبتلا به ورم پستان، ۹۰ ایزوله (٪۴۵) *پسودوموناس آئروژینوزا* شناسایی شد. نتایج حاصل از RAPD-PCR نشان داد که ۸۰ ایزوله (٪۸۸/۹) از نمونه‌های تحت مطالعه، با پرایمر مورد استفاده، قابل تایپ بودند و ۱۰ ایزوله (٪۱۰) تایپ نشدند. ایزوله‌های تایپ شده در ۱۴گروه مجزا قرار داشتند و هر کدام حاوی چندین نمونه *پسودوموناس آئروژینوزا* بودند. گروه‌های I و VII بیشترین ایزوله را داشتند و گروه‌های IX، X و XII دارای کمترین ایزوله بودند. نتایج نشان داد که RAPD-PCR، روش ابزار ژنوتیپ‌بندی با قدرت افتراق بالا در مطالعات اپیدمیولوژی و پلی‌مورفیسم سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* می-باشد. با توجه به داده‌های این مطالعه، کنترل منابع عفونت در ورم پستان ناشی از این باکتری، جهت کنترل و پیشگیری از انتقال این باکتری تأکید می‌شود.

کلمات کلیدی: *پسودوموناس آئروژینوزا*، ورم پستان گاو، RAPD-PCR

نویسنده مسئول: سامان مهدوی

آدرس: گروه میکروبیولوژی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران

پست الکترونیک: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir

مقدمه

واژه ورم پستان، به التهاب غده پستانی بدون توجه به علت آن اطلاق می‌شود. در دامها، ورم پستان به وسیله تغییرات فیزیکی یا شیمیایی و یا معمولا میکروبی شیر و همچنین تغییرات حاصل از بیماری در بافت غده پستانی دیده می‌شود. شیوع بیماری ورم پستان در اغلب کشورها حدود ۴۰ درصد بوده ولی در بعضی کشورها آن را تا ۲۵ درصد کاهش داده‌اند (۳). *پسودوموناس آئروژینوزا* بعنوان یکی از عوامل ایجاد کننده اورام پستان کلینیکی با شیوع ناگهانی در گاوهای شیری مطرح می‌باشد. این باکتری کمتر از ۱ درصد و یا بیشتر از ۳ درصد گله را درگیر نموده و موجب اورام پستان مزمن تحت بالینی می‌شود. *پسودوموناس آئروژینوزا* در آمریکا بیش از ۲ میلیارد دلار، انگلستان ۹۳ میلیون یورو و در استرالیا ۱۰۰ میلیون دلار سالانه ضرر اقتصادی را به دامداران تحمیل می‌کند (۷). بیماری ورم پستان ناشی از *پسودوموناس آئروژینوزا* در اثر عواملی مانند آب آلوده، ضدعفونی نامناسب کارتیه‌ها و درمان نامناسب در دوران خشکی ایجاد می‌گردد و کارتیه‌های گاو به عنوان مخزن انتقال این باکتری عمل می‌نمایند (۱۲). ژنوم باکتری پسودوموناس، بیشترین تنوع را در بین باکتریها دارد. تنوع ژنتیکی باکتری *پسودوموناس آئروژینوزا* به علت توانایی سازگاری با میزبان‌ها و محیط‌های مختلف، واکنش‌های فنوتیپی متفاوتی ایجاد می‌کند. بنابراین برای شناسایی آن نمی‌توان فقط به آزمایشات فنوتیپی اکتفا کرد، هر چند که روش فنوتیپی، روش دقیقی برای تشخیص می‌باشد (۱۱). در بین روش‌های مولکولی، روش Random Amplified RAPD (Polymorphic DNA)-PCR روش قابل اعتمادی است که با صحت بسیار بالا و به طور موفقیت‌آمیزی در طبقه‌بندی و تعیین ارتباطات ژنتیکی بسیاری از ارگانیسم‌ها از جمله قارچ‌ها، ویروس‌ها و گونه‌های پسودوموناس و شناسایی ژنوتیپ‌های باکتری، مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱و ۱۳). بر اساس مطالعات انجام شده، روشهای مولکولی، قدرت تشخیص و تکرارپذیری بالاتری نسبت به تستهای فنوتیپی دارند و این پیشرفت، به دلیل توانایی آنها در تعیین تفاوتهای ژنومی کوچک و ثبات مولکولی بالا، در مقایسه با پروفایل‌های فنوتیپی همان گونهٔ باکتری است (۱۹و ۱۷). با در نظر گرفتن تنوع بالای گونه‌های پسودوموناس در ایران و نیز پراکندگی آنها در مناطق مختلف کشور و عدم آگاهی و شناخت کامل از میزان تشابه ژنتیکی در بین ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا*، مطالعه اخیر با هدف بررسی تنوع ژنتیکی جدایه های *سودوموناس آئروژینوزا* بدست آمده از موارد ورم پستان گاو در شهر تبریز انجام شد.

مواد و روش کار

جمع‌آوری و جداسازی نمونه‌ها

در این مطالعه توصیفی مقطعی، از ۲۰۰ راس گاو مبتلا به ورم پستان بالینی در گاوداریهای شهر تبریز بین ماه‌های اردیبهشت تا دی سال ۱۴۰۰ با رعایت اصول استریل، نمونه‌گیری انجام شد و به آزمایشگاه میکروب‌شناسی منتقل شد. نمونه‌ها بر روی محیط کشت مکانکی آگار و ائوزین متیلن بلو آگار (EMB) کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس کلونی‌های ظاهر شده، رنگ‌آمیزی گرم شدند و آزمایشات بیوشیمیایی زیر جهت تشخیص باکتری *پسودوموناس آئروژینوزا* انجام شد: اکسیداز، کاتالاز، تولید اندول و حرکت در محیط SIM، متیل رد (Methyl red)، وژ پروسکائر (Voges proskauer)،

توانایی مصـرف قند لاکتوز و تولید گاز Co2 در محیط کشـت TSI (Triple sugar Iron agar)، مصـرف سیترات در محیط کشت سیمون سیترات آگار، آرژنین دهیدروژناز، اورنیتین دکربوکسـیلاز، OF با قند گلوکز و توانایی رشـد در ۴۲ درجه سانتی‌گراد (شرکت مرک، کشور آلمان) (۲۲).

استخراج DNA ژنومی

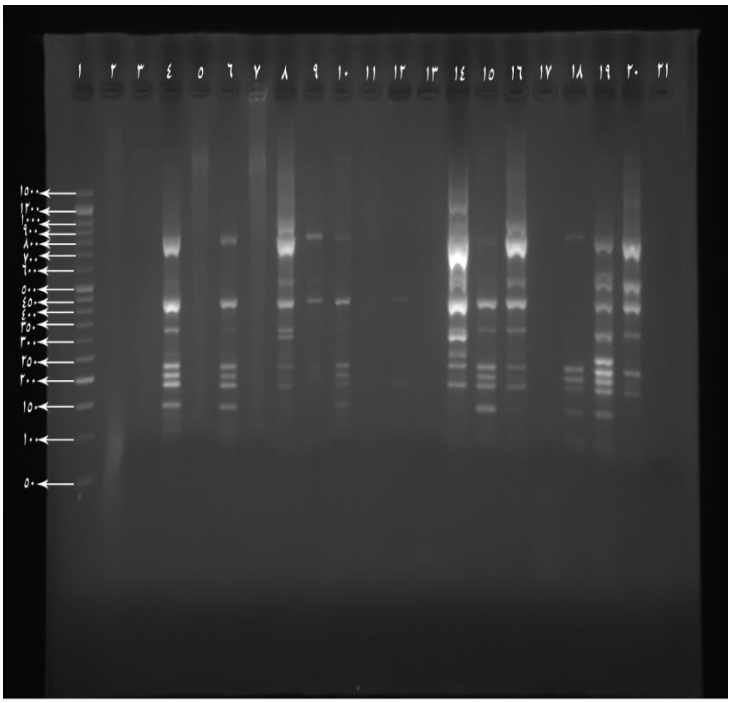
اسـتخراج DNA ژنومی از ایزولـه‌هـای *سـودوموناس آئروژینوزای* مورد بررسـی با استفاده از روش جوشاندن انجـام شـد (۶) و کیفیـت و کمیـت آن بـا اسـتفاده از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصـد و دسـتگاه نانودراپ Nano Drop مورد بررسی قرار گرفت.

واکنش RAPD-PCR

واکنش RAPD-PCR با استفاده از پرایمر اختصـاصی (۲) انجام شـد. مسـتر میکس PCR حاوی پرایمر ۲۷۲: AGCGGGCCAA (۰/۲۵ میکرو مول) بـه میزان ۰/۹ میکرولیتر و DNA استخراج شده به میزان ۵ میکرولیتر (۵۰ نانوگرم)، مخلوط واکنش را به حجم ۲۵ میکرولیتر تشـکیل دادند. برنامه اجرایی چرخه‌های PCR شـامل مراحـل زیر بود: واسـرشـتگی اولیه در دمای ۹۴°C به مـدت ۴ دقیقـه و سـپس ۳۶ چرخـه تکثیر شـامـل: واسـرشـتگی در دمای ۹۴°C به مدت ۶۰ ثانیه، اتصـال پرایمرهـا بـه DNA الگو در دمـای ۴۴/۶°C به مدت ۶۰ ثانیه و مرحله گسترش در دمای ۷۲°C به مدت ۱۲۰ ثانیه و نهایتا" یک چرخه گسـترش نهایی در دمای ۷۲°C به مدت ۵ دقیقه. محصـولات واکنش در ژل آگارز ۲٪ به مدت ۸۰ دقیقه با ولتاژ ۷۵ الکتروفورز شـدند و قطعات تکثیر شـده بـا اسـتفاده از Ladder 50bp و 100bp ارزیابی شد.

نتایج

از مجموع ۲۰۰ مورد گاو مبتلا به ورم پستان، ۹۰ ایزوله (۴۵٪) *پسـودوموناس آئروژینوزا* با روشـهای بیوشیمیایی اختصـاصی و رنگ آمیزی شناسایی شد. نتایج حاصل از RAPD-PCR نشـان داد کـه ۸۰ ایزولـه (۸۸/۹٪) از نمونـه‌هـای تحت مطالعه، با پرایمر مورد اسـتفاده، قابل تـایپ بودند و ۱۰ ایزوله (۱۰٪) با پرایمر مورد اسـتفاده تـایـپ نشـدند (شـکل ۱). ایزوله‌های تایپ شـده در ۱۴گروه مجزا قرار داشـتند و هر کـدام حـاوی چندین نمونـه *پسـودوموناس آئروژینوزا* بودنـد. گروه‌های I و VII بیشترین ایزوله را داشتند و گروه‌های IX، X و XII دارای کمترین ایزوله بودند (جدول ۱).



شـکل ۱– ژل حاوی نمونه‌های RAPD-PCR شده در آگـارز ۲٪. شـمـاره ۱: مـارکر (۵۰ و ۱۰۰ جفـت بـاز). شـماره ۲۱: کنترل منفی (آب دوبار تقطیر). شـماره‌های ۲، ۳، ۵، ۷، ۱۱، ۱۳و۱۷ : نمونه‌های منفی. شماره‌های ۴، ۶، ۸، ۹، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۸، ۱۹ و ۲۰: نمونـه‌های مثبت.

جدول۱- تعداد و طول باند الکتروفورزی در هر یک از ژنوتیپ‌های *پسودوموناس آئروژینوزا*

باندها (bp)	ژنوتیپ I	I II	I III	I IV	V	VI	V II	V III	I X	X	X I	X II	X III	X IV
۱۵۰	+			+	+			+						+
۱۸۰	+			+	+	+			+					
۲۰۰	+	+		+	+		+							+
۲۳۰	+	+		+	+	+	+							+
۲۵۰					+		+							+
۳۰۰					+	+	+	+	+					
۳۵۰	+													
٤۰۰	+	+	+		+	+	+	+					+	+
٤۵۰												+		+
۵۰۰					+	+	+	+			+			
۵۵۰										+				
٦۰۰					+	+	+	+						
۷۰۰	+	+		+				+					+	+
۸۰۰			+								+	+	+	
۹۰۰														
۱۰۰۰														
۱۲۰۰										+				
۱۵۰۰														
تعداد باندها	۱۰	٦	۵	۷	۷	۸	۱۱	۵	۲	۲	۳	۲	۵	۷

بحث

در مطالعات اپیدمیولوژیک، توجه به چگونگی انتشار و پراکندگی ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* در هر منطقه حائز اهمیت می‌باشد. نشان داده شده است که در بین سیستم‌های ژنتیکی، روشهای ژنوتیپ‌بندی مولکولی سریعی مانند RAPD-PCR ، اختصاصیت و حساسیت بالایی برای شناسایی و تفکیک ایزوله‌های باکتریایی دارد (۱۹و ۲۱). تکنیک RAPD-PCR یکی از سریعترین روشهای تایپینگ بوده که به آسانی قابل انجام است و در سالهای اخیر به دلیل سادگی، حساسیت، تکرارپذیری، هزینهٔ نسبتاً پایین، سرعت بالا و قدرت افتراق بین سویه‌ای، توجه زیادی به آن شده است (۱۷و ۱۸). مطالعات انجام شده در بیماران سوختگی نشان دهندهٔ قدرت بالاتر روش RAPD-PCR در تیپ‌بندی مولکولی نسبت به روش RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) می‌باشد که پیشنهاد می‌کند که می‌توان از تکنیک RAPD-PCR که قدرت بالایی در افتراق بین سویه‌ها دارد به جای تکنیک PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) استفاده نمود (۹و ۱۶و ۲۰). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که از مجموع ۲۰۰ نمونه ورم پستان گاو، ۹۰ مورد (۴۵٪) *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شد. Jiang و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیقی که بر روی ۲۲۷۵۹ نمونه شیر گاوهای مبتلا به ورم پستانهای تحت بالینی انجام دادند، میزان آلودگی به *پسودوموناس آئروژینوزا* را ۶۲/۵۵ درصد گزارش نمودند (۱۵). قبولی مهربانی و همکاران (۱۳۹۱) در مطالعه‌ای که بر روی باکتریهای ایجادکننده ورم پستان دوره خشکی در تبریز انجام دادند به این نتیجه رسیدند که ۱۳/۳۲ درصد نمونه‌ها آلوده به *پسودوموناس آئروژینوزا* می‌باشند (۱۰). علت تفاوت در میزان فراوانی *پسودوموناس آئروژینوزا* در مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از منطقه جغرافیایی مورد مطالعه، ضعف مدیریت مزارع، وجود آبهای آلوده و یا مخازن آلوده به این باکتری، تفاوت روشهای جداسازی و شناسایی باکتری و احتمال بروز خطا در روشهای شناسایی باشد. در تحقیق حاضر، ۸۰ ایزوله (۸۸/۹٪) از نمونه‌های تحت مطالعه، با پرایمر مورد استفاده، قابل تایپ بودند و ۱۰ ایزوله (۱۰٪) با پرایمر مورد استفاده تایپ نشدند. این امر ممکن است به علت عدم دقت بالای تستهای بیوشیمیایی برای تعیین هویت دقیق ایزوله‌های مورد مطالعه و یا عدم تایپینگ ایزوله‌های مورد مطالعه با پرایمر مورد آزمایش باشد. ایزوله‌های تایپ شده در ۱۴گروه مجزا قرار داشتند و الگوی متفاوتی را نشان دادند که خود نشانگر تمایز بالای این پرایمر و در عین حال پلی‌مورفیسم ایزوله‌های مورد مطالعه است. استفاده از پرایمر کوتاه در این تکنیک منجر به تکثیر چندین قطعه از ژنوم باکتری می‌شود. در این مطالعه، از پرایمر ۲۷۲ استفاده شد. این پرایمر الگوهای ژنوتیپی بیشتری را نشان می‌دهد و پروفایل‌های حاصل از آن، تکرارپذیری و قدرت تفکیک بالاتری دارد (۸). افتخار و همکاران (۲۰۰۹) در تهران، با استفاده از این پرایمر، باندهای زیادی به دست آوردند و نشان دادند که قدرت تفکیک بهتری را نسبت به پرایمر ۲۸۰ داشته است (۹). نانوا زاده و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که در بین ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزای* جدا شده از بیماران دچار سوختگی در شهر اهواز، پلی‌مرفیسم بالایی در بین ژنوتیپ‌ها مشاهده شد (۱۴) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. Akanji و همکاران (۲۰۱۱) در کشور نیجریه نشان دادند که در بین ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزای*

جدا شده از موارد بیمارستانی، پلی‌مرفیسم بالایی وجود دارد (۵). در مطالعهٔ سلیمی و همکاران (۲۰۱۰) در تهران، ۸ ژنوتیپ متفاوت با پلی‌مورفیسم ۶٪ را در *پسودوموناس آئروژینوزا*های مربوط به بیماران سوختگی شناسایی کردند (۱۶). یکی از دلایل تنوع بین نمونه‌های بالینی می‌تواند در نتیجهٔ بزرگ بودن اندازهٔ ژنوم این باکتری باشد که احتمال موتاسیون و ایجاد پلی‌مورفیسم را افزایش می‌دهد (۲۰). این مطالعه نشان داد که پلی‌مورفیسم بالایی در میان ایزوله‌های سودوموناس آئروژینوزای جدا شده از موارد ورم پستان گاو در شهر تبریز وجود دارد. اختلاف نتایج بدست آمده در این تحقیق در مقایسه با سایر مطالعات، احتمالا از تفاوتهای جغرافیایی و نیز اختلاف در منشاء اکولوژیکی سویه‌های جدا شده (مواد غذایی، انسان و دام‌های مختلف) ناشی می‌شود (۴).

نتیجه‌گیری

این تحقیق، نخستین گزارش از تنوع ژنتیکی مربوط به ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از موارد ورم پستان گاو در شهر تبریز می‌باشد. شناسایی ژنوتیپ‌ها و طبقه‌بندی ایزوله‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* جدا شده از موارد ورم پستان گاو، اهمیت زیادی در پیگیری نوع سویه‌های کلونیزه شده در موارد ورم پستان از نظر شدت ویرولانس و مقاومت دارویی داشته و راهنمای مفیدی جهت انجام اقدامات پیشگیرانه و درمانی را در اختیار دامپزشکان قرار می‌دهد.

تشکر و قدردانی

از کلیه کسانی که در انجام این تحقیق با بنده همکاری و مساعدت داشتند به ویژه آقای دکتر بازمانی، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

منابع

۱.تفویضی، ف.، تاج آبادی ابراهیمی، م.، حیدری نصر آبادی، م.، بهرامی، ه. (۱۳۹۰). بررسی تنوع ژنتیکی لاکتوباسیل‌های جدا شده از محصولات لبنی سنتی ایران توسط RAPD PCR. مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی و مولکولی. دوره ۱، شماره ۳، صفحات ۴۲-۳۳.

۲. حیدری، ف.، راشکی قلعه‌نو، ز. (۱۳۹۴). بررسی جمعیت شناختی مولکولی و حساسیت دارویی *سودوموناس آئروژینوزای* جداشده از بیماران بستری در بیمارستانهای آموزشی زابل. *مجله دانشگاه علوم پزشکی بیرجند*. دوره ۲۲، شماره ۴، صفحات ۳۹۱-۳۸۶.

۳. صادق‌پور، م.، استبرقی، ا.، مختاری، ع. ر.، ریحانی، س. (۱۳۹۶). بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و عوامل میکروبی جدا شده از نمونه‌های شیر خام گرفته شده از موارد حاد و تحت حاد ورم پستان در دام‌ها. *پیاورد سلامت*. دوره ۱۱، شماره ۶، صفحات ۶۵۹-۶۵۰.

۴. مهدوی، س. (۱۳۹۲). مطالعه فراوانی شش ژن مولد آنتروتوکسین در *استافیلوکوکوس آرئوس*های جدا شده از پنیرهای محلی به روش Multiplex PCR . *بهداشت مواد غذایی*. دوره ۳، شماره ۴، صفحات ۷-۱.

5. Akanji, B. O., Ajele, J. O., Onasanya, A., Oyelakin, O. (2011). Genetic fingerprinting of *Pseudomonas aeruginosa* involved in nosocomial infection as revealed by RAPD-PCR markers. *Biotechnology*. **10:**70-77.

6. Chen, J., Su, Z., Liu, Y., Wang, S., Dai, X., Li, Y., Peng, S., Shao, Q., Zhang, H., Wen, P., Yu, J., Huang, X., Xu, H. (2009). Identification and characterization of class 1 integrons among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients in Zhenjiang, China. *International Journal of Infectious Diseases*. **13:** 717-721.

7. Daly, M., Power, E., Bjorkroth, J., Sheehan, P., O' Connell, A., Colgan, M., Korkeala, H., Fanning, S. (1999). Molecular analysis of *Pseudomonas*

15. Qingyu, J., Yufeng, Y., Kerui, X., Xiudong, B., Mengchao, L., Bei, Z., Chunqiu, L., Zhenyu, Y., Jianhua, H., Dongbo, S. (2015). Microbial diversity analysis of subclinical mastitis in dairy cattle in Northeast China. *African Journal of Microbiology Research*. **9:** 687-694.
16. Salimi, H., Owlia, P., Yakhchali, B., Rastegar Lari, A. (2010). Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* in burn patients using PCR- Restriction Fragment Length Polymorphism and Random Amplified Polymorphic DNA Analysis. *Iranian Journal of Medical Science*. **35:**236-41.
17. Singh, A., Goering, R.V., Simjee, S., Foley, S.L., Zervos, M. J. (2006). Application of molecular techniques to the study of hospital infection. *Clinical Microbiology Review*. **19:**512-30.
18. Tang, Y. W., Stratton, C. W. (2013). Advanced techniques in diagnostic microbiology. 2nd Edition. New York: Springer: 91**:** 246.
19. Thangaraj, M., Prem, V., Ramesh, T., Lipton, A. P. (2011). RAPD fingerprinting and demonstration of genetic variation in three pathogens isolated from Mangrove environment. *Asian Journal of Biotechnology*. **3:**269-74.
20. Tazumi, A., Maeda, Y., Buckley, T., Millar, B., Goldsmith, C., Dooley, J., Stuart Elborn, J., Matsuda, M., Moore, J. (2009). Molecular epidemiology of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from horses in Ireland. *Irish Veterinary Journal*. **62:**456-9.
21. Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*. **18:**6531-5.
22. Winn, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P., Woods, G. (2006). Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th Edition, Lippincott Williams and Wilkins. New York: 752-770
aeruginosa: epidemiological investigation of mastitis outbreaks in Irish dairy herds. *Applied and Environmental Microbiology*, **65:** 2723- 2729.
8. Da Silva Filho, L. V., Levi, J. E., Bento, C. N., Rodrigues, J. C., da Silvo Ramos, S. R. (2001). Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a cystic fibrosis outpatient clinic. *Journal of Medical Microbiology*. **50:**261-7.
9. Eftekhar, F., Hosseinkhan, N., Asgharzadeh, A., Tabatabaii, A. (2009). Genetic profiling of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Iranian patients with cystic fibrosis using RAPD-PCR and PFGE. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. **12:**126-32.
10. Ghaboli Mehrbani, R. M. S., Khakpour, M. (2012). Assess the antibiotic susceptibility of bacteria causing mastitis in dairy cows dry period in Tabriz. *Journal of Veterinary Laboratory Research*. **4:** 140.
11. Ktari, S., Mnif, B., Znazen, A., Rekik, M., Mezghani, S., Mahjoubi-Rhimi, F., Hammami, A. (2011). Diversity of beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing metallo-beta-lactamase in two Tunisian hospitals. *Microbial Drug Resistance*, **17:** 25-30.
12. Kong, K. F., Jayawardena, S. R., Indulkar, S. D., Del Puerto, A. (2005). *Pseudomonas aeruginosa* AmpR is a global transcriptional factor that regulates expression of AmpC and PoxB β-lactamases, proteases, quorum sensing, and other virulence factors. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **49:** 4567-4575.
13. Maiden, M. C. (2006). Multilocus sequence typing of bacteria. *Annual Review of Microbiology*. **60:**561-88.
14. Nanvazadeh, F., Dokht Khosravi, A., Zolfaghary, M. R., Parhizgari, N. (2013). Genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from two wards of Taleghani Hospital by RAPD-PCR in Ahvaz city of Iran. *Jentashapir Scientific Medical Journal*. **2:** 49-58.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 18, Issue 2,
Autumn & Winter 2023

Investigation of the genetic diversity of *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from bovine mastitis in Tabriz city

***Saman Mahdavi*[*1]**
1. Assistant Professor, Department of Microbiology, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran
Received: 24 January 2023 *Accepted: 10 June 2023*

Abstract
Pseudomonas aeruginosa is an important opportunistic pathogen that causes subclinical mastitis resistant to treatment in lactating dairy cows. Examination of the genetic pattern of isolates is necessary for the management of infections caused by this bacterium. The aim of this study was to investigate the genetic diversity of Pseudomonas aeruginosa isolates obtained from bovine mastitis in Tabriz city. In this cross-sectional descriptive study, sampling was done from 200 cows suffering from mastitis in cattle farms in Tabriz city. After performing specific biochemical tests and staining, positive cases were used for molecular tests. From a total of 200 cases of cows suffering from mastitis, 90 isolates (45%) of Pseudomonas aeruginosa were identified. The results of RAPD-PCR showed that 80 isolates (88.9%) of the studied samples could be typed with the primer used, and 10 isolates (10%) were not typed. The typed isolates were in 14 distinct groups and each one contained several samples of Pseudomonas aeruginosa. Groups I and VII harboured the most isolates and groups IX, X and XII contained the least isolates. Based on the results, RAPD-PCR technique was found as a useful tool to investigate the genetic variation for P. aeruginosa strains. This technique is a rapid and low cost genotypic method with high discriminatory power. According to the results of this study, it is emphasized to control the sources of infection in mastitis caused by P. aeruginosa, in order to control and prevent the transmission of this bacterium.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Bovine mastitis, RAPD-PCR

**Corresponding author: Saman Mahdavi*
Address: Department of Microbiology, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran
E. mail: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir