بررسی آلودگی موش‌های آزمایشگاهی نژاد NIH مؤسسه رازی به باکتری استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس عامل بیماری تب گازگرفتگی موش

روزبه فلاحی*

دانشیار مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

دریافت مقاله: ۱۷ فروردین ۱۴۰۰، بازنگری: ۳۰ تیر ۱۴۰۰، پذیرش نهایی: ۱۲ مرداد ۱۴۰۰

چکیده

یکی از بیماری‌های مهم و خطرناک باکتریایی در کلنی موش‌های آزمایشگاهی تب گاز گرفتگی موش است. این بیماری قابل انتقال به انسان می‌باشد. بر طبق استانداردهای بین‌المللی، در صورت مواجه شدن با آن، بایستی اقدامات کنترلی، مبارزه و احیاناً ریشه‌کنی و حذف کلنی صورت گیرد. عامل بیماری، باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس* است. از علائم بیماری در انسان می‌توان به تب شدید، لرز، پلی‌آرتریت و التهابات پوستی اشاره کرد. تاکنون استانداردهای بین‌المللی در مورد تعیین آلودگی حیوانات آزمایشگاهی به این عامل عفونی در ایران انجام نگرفته است. در این تحقیق میزان شیوع این باکتری در کلنی موش‌های آزمایشگاهی نژاد NIH مؤسسه رازی در سال ۱۳۹۸ مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۶۶ سر موش پرورشی به‌صورت تصادفی از یک کلنی پرورشی انتخاب و با روش PCR از نظر وجود این باکتری، مورد بررسی قرار گرفتند. از این تعداد هیچ‌گونه مورد مثبتی مشاهده نگردید. با توجه به دستورالعمل به‌کار برده شده می‌توان نتیجه‌گیری نمود که با اطمینان ۹۹/۹ درصد، آلودگی به باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس* در سالن‌های پرورشی، وجود نداشته است. نتیجه این بررسی، نشان‌دهنده این است که رعایت موارد بهداشتی در این مرکز به خوبی انجام می‌گیرد. گرچه باید پایش‌های دوره‌ای و مستمر در مورد این باکتری و سایر عوامل عفونی مهم صورت گیرد.

کلمات کلیدی: *آلودگی، استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس، تب گازگرفتگی، موش NIH*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: fallahiroozbeh@gmail.com

مقدمه

یکی از مهم‌ترین توصیه‌های سازمان‌ها و انجمن‌های بین‌المللی در رابطه با حیوانات آزمایشگاهی، استفاده از حیوانات تعریف شده می‌باشد، چرا که نتایج کار بایستی قابل تکرار، قابل اطمینان و قابل تعمیم باشد. براساس توصیه فدراسیون انجمن‌های علوم حیوانات آزمایشگاهی اروپا (FELASA)، پایش بهداشتی (Health Monitoring) حیوانات، جهت صدور گواهی سلامت آنها که مورد درخواست سیستم‌های کیفیت و کنترل کیفی مؤسسات تولیدی و تحقیقاتی می‌باشد، الزامی است. همچنین بسیاری از آلودگی‌های باکتریایی، مایکوپلاسمایی و ویروسی باعث ایجاد واکنش‌های متقاطع می‌شوند که در آزمایش‌های کنترلی مداخله می‌کنند. بر طبق استانداردهای FELASA، باید در مورد بعضی از باکتری‌های بیماری‌زا در هر کلنی پرورشی، در خصوص تعیین پاک و یا آلوده بودن حیوانات آزمایشگاهی حتماً به‌صورت دوره‌ای بررسی صورت گیرد. از باکتری‌های مهم که توسط FELASA توصیه شده است، *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس* (*Streptobacillus moniliformis*) می‌باشد (۳-۱). این باکتری متعلق به خانواده لپتوتریشیاسه (Leptotrichiaceae) بوده و گرم منفی میله‌ای و چندشکلی، کاتالاز منفی، بی‌هوازی اختیاری و اکسیداز منفی می‌باشد. این باکتری موجب بیماری تب گازگرفتگی رت (Rat bite fever) یا تب هاورهیل (Haverhill fever) در انسان می‌شود. بیماری تب گازگرفتگی رت اولین بار در آمریکا در سال ۱۸۳۹ گزارش شده است. باکتری بیشتر به دو فرم میله‌ای و L فرم وجود دارد. فرم میله‌ای شکل این باکتری، بیماری‌زایی شدیدتری نسبت به فرم L در موش ایجاد می‌کند. باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس* موجب آلودگی گونه‌های مختلف حیوانات آزمایشگاهی نظیر رت، موش و خوکچه هندی می‌شود. رت به‌عنوان میزبان اصلی این باکتری شناخته شده است و باکتری به‌صورت فلور طبیعی در بزاق، ترشحات چشمی، بینی و دستگاه فوقانی تنفسی رت وجود دارد (۴، ۵، ۶). انسان از طریق آب آلوده، ادرار، گاز گرفتگی یا خراش حیوانات نامبرده می‌تواند آلوده شود و علائم بالینی به‌صورت التهاب اطراف زخم، تب، لرز، سردرد، آبریزش بینی، در ۷۰ درصد موارد کهیر، استفراغ، درد عضلانی و درد مفاصل، بروز می‌نماید (شکل ۱) (۷، ۸). در صورت عدم تشخیص و درمان به موقع تجویز پنی‌سیلین، بیمار، مبتلا به مننژیت، اندوکاردیت و پریکاردیت خواهد شد. میزان مرگ و میر در انسان حدود ۱۳-۷ درصد با علائم پیچیده و ۵۳ درصد با علائم اندوکاردیدیت همراه بوده است. همچنین از جداسازی این باکتری از مایع مفصلی که در بیماران همراه با تب، راش و افزایش پلی‌مورفونوکلئرها بوده، گزارش شده است (۹، ۱۰). این باکتری در موش، در موارد حاد، تورم غدد لنفاوی گردنی و سپتی‌سمی کشنده ایجاد می‌کند. در بیماری مزمن، آرتریت در نواحی پشتی پاها و دم ایجاد می‌شود. آبسه و سقط هم ممکن است دیده شود. در موش ممکن است حساسیت‌های ژنتیکی دخیل باشند (۴، ۵، ۱۱، ۱۲). در کلنی موش‌های آزمایشگاهی در عفونت‌های تحت بالینی و بدون علائم، در صورت وجود عوامل استرس‌زا نظیر تراکم بالا، افزایش درجه حرارت سالن پرورش، افزایش رطوبت و تغذیه نامناسب و تضعیف سیستم ایمنی به دلایل متفاوت، موجب بروز بیماری و تلفات می‌گردد (۱۲، ۱۳). موش‌های آلوده با گاز گرفتن انسان موجب عفونت در آن می‌شوند. تشخیص بیماری بر اساس کشت خون، چرک، غدد لنفاوی یا جراحات مفصلی و جدا سازی باکتری در محیط کشت غنی شده با خون یا سرم صورت می‌گیرد. همچنین می‌توان بیماری را به وسیله آزمایش

سروآگلوتیناسیون تشخیص داد (۴). کنترل جمعیت موش‌های صحرایی، اقدام اولیه جلوگیری از بیماری می‌باشد. دیگر اقدامات مهم شامل پاستوریزه کردن شیر و محافظت مواد غذایی در مقابل جوندگان می‌باشد. موش‌های آزمایشگاهی و دیگر حیوانات آزمایشگاهی بایستی در سالن‌های مجزا نگهداری شوند (۱۲، ۱۳). روش PCR به‌عنوان Golden test از سوی FELASA جهت بررسی آلودگی به این باکتری معرفی گردیده است. با پایش بهداشتی، نوع آلودگی تعیین و شدت و میزان آن مشخص و در صورت مواجهه با عوامل بیماری‌زای خاص، اقدامات کنترلی به‌صورت جدی بایستی انجام گیرد. بر اساس استانداردهای FELASA، پایش بهداشتی عوامل بیماری‌زای باکتریایی، مایکوپلاسمایی، انگلی و ویروسی به ویژه عواملی که باعث ایجاد بیماری‌های خطرناک در انسان می‌شوند، در فواصل معین باید صورت گیرد. ضمن این که بسیاری از عوامل عفونت‌زا علاوه بر ایجاد بیماری در انسان و حیوانات، باعث آلودگی در فرآورده‌های بیولوژیک نظیر سرم و رده‌های سلولی به‌دست آمده از حیوانات می‌شوند.

حیوانات آزمایشگاهی بایستی برای گروه خاصی از عوامل بیماری‌زا پایش شوند. این عوامل یا بر اساس توصیه‌های انجمن بین‌المللی FELASA و یا بر اساس نوع محصول تولیدی در هر بخش، مشخص می‌شوند. چرا که میکروارگانیسم‌های مداخله‌گر در آزمایش‌های کنترل سرولوژیکی هر محصول، با محصولات دیگر ممکن است متفاوت باشد (۱، ۱۴، ۱۵). از آنجایی که تاکنون هیچ‌گونه تحقیقی بر روی این باکتری در حیوانات آزمایشگاهی ایران گزارش نشده است، لذا نتایج حاصل از این تحقیق می‌تواند به‌عنوان الگویی در تشخیص این باکتری برای پایش بهداشتی حیوانات آزمایشگاهی مراکز پرورشی مؤثر باشد. از آنجا که تاکنون استانداردهای بین‌المللی در مورد تعیین آلودگی حیوانات آزمایشگاهی در ایران صورت نگرفته است. در این تحقیق به بررسی آلودگی کلنی موش‌های آزمایشگاهی نژاد NIH مؤسسه رازی به این باکتری پرداخته شده است. این نژاد از موش، بیشترین مصرف را در کارهای تحقیقاتی به خود اختصاص داده است.

شکل ۱- راش‌های پوستی و کهیر، متعاقب بیماری تب گازگرفتگی موش (۶)

مواد و روش‌ها

انتخاب نمونه: از آنجا که تاکنون هیچ‌گونه بررسی در مورد این باکتری در این مرکز صورت نگرفته است و با توجه به دستورالعمل FELASA، جهت بیشترین تعداد نمونه‌برداری، کمترین احتمال حضور باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس* در کلنی، و احتساب ۱۰ درصد شیوع آلودگی در کلنی حیوانات در نظر گرفته شد. بر اساس بالاترین سطح اطمینان

(۹۹/۹ درصد)، به تعداد ۶۶ نمونه از مجموع ۱۲۵۰ حیوان موجود در کلنی پرورشی احتیاج است. در این تحقیق، این تعداد نمونه از کلنی موش آزمایشگاهی نژاد NIH، از هر دو جنس و به‌صورت تصادفی انتخاب گردید و مورد پایش این باکتری قرار گرفتند (جدول ۱) (۱). موش‌ها از نظر ظاهری سالم و در آزمایشات انگل‌های خارجی منفی بوده و بیماری خاصی نداشتند. حیوانات از غذای فشرده (پلت) استاندارد موش‌های آزمایشگاهی (۱۹/۵ درصد پروتئین، ۱۳۶۵ Kcal/lb انرژی، ۴/۵ درصد چربی، ۳/۸ درصد فیبر خام، ۱/۲ درصد کلسیم، ۰/۴ درصد فسفر، ۱۷/۸ IU/kg ویتامین E و mg/kg ۱۴/۵ ویتامین A) و آب به میزان دلخواه استفاده می‌کردند (۱۶). سیستم پرورش موش‌ها از نوع متعارفی (Conventional) و در قفس‌های جعبه کفشی (Shoe box) تیپ ۲ از جنس پلی‌کربنات و در هر قفس دو سر موش ماده و یک سر نر نگه‌داری می‌شدند. بعد از زایمان و پس از دوره شیرواری ۲۱ روزه، نوزادان جدا و پس از تعیین جنسیت به قفس‌های دیگر منتقل می‌شدند. از تراشه (پوشال) استریل چوب درخت سپیدار به‌عنوان بستر استفاده می‌گردید. تعویض قفس و پوشال دو مرتبه در هفته صورت می‌گرفت. درجه حرارت سالن پرورشی ^{o}C ۲۴-۲۲، میزان رطوبت ۵۵-۴۵ درصد ، میزان تهویه هوا ۱۰-۸ مرتبه سه دقیقه‌ای در ساعت و دوره روشنایی/ تاریکی به‌صورت ۱۲:۱۲ ساعت در شبانه روز و میزان شدت نور کمتر از ۳۲۵ Lux بود (۲، ۳).

جدول ۱- فرمول محاسبه تعداد حیوان بر طبق دستورالعمل FELASA (۷)

$$\text{تعداد نمونه} = \frac{Log\ 0.05}{Log\ N}$$

N= درصد حیوانات غیر آلوده

ضریب اطمینان ۹۵ ٪ = ۰/۰۵

میزان شیوع احتمالی (٪)	تعداد نمونه‌های مورد نیاز با در نظر گرفتن درصد اطمینان مختلف		
	٪ ۹۵	٪ ۹۹	٪ ۹۹/۹
۱۰	۲۹	۴۴	۶۶
۲۰	۱۴	۲۱	۳۱
۳۰	۱۰	۱۳	۲۰
۴۰	۶	۱۰	۱۴
۵۰	۵	۷	۱۰

آماده‌سازی نمونه‌ها: با رعایت کامل اصول اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی، پس از بیهوش نمودن موش‌ها با ترکیب کتامین (Ketamine) به میزان ۷۵mg/kg و زایلازین (Xylazine) به میزان ۱۰mg/kg انجام گردید. نمونه‌ها از ترشحات نازوفارنکس تک‌تک موش‌ها با سواب استریل به‌صورت جداگانه تهیه و به‌طور مستقیم در داخل میکروتیوپ قرار داده شده و تا زمان آزمایش در تانک ازت مایع نگهداری شدند (۲، ۳، ۴، ۱۷، ۱۸). روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام گردید. جهت رعایت کامل موارد استریلیتی، تمام کارهای نمونه‌برداری و انجام روش PCR، در زیر دستگاه لامینار فلو انجام گردید (۱۴، ۱۵).

طراحی و تهیه نمونه جهت کنترل مثبت: طراحی توالی مناسب و محافظت شده از باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس* جهت شناسایی

تمامی گونه‌های موجود در بانک ژن صورت گرفت. جهت طراحی پرایمر، از کلون توالی ژن 16SrRNA موجود در بانک ژن NCBI و نرم افزار Kalign، استفاده گردید. جهت تهیه کنترل مثبت از قطعه bp ۲۹۶ و Primer F:´5-GCT TAA CAC ATG Primer R:´5-AGT AAG و CAA ATC TAT-´3 GGC CGT ATC TCA-´3 به داخل پلاسمید pGEM-T easy vector و تکثیر آن با ترانسفورمیشن در باکتری *E.coli* استفاده شده است (۱۴، ۱۵). از سویه باکتری لیوفیلیزه *E.coli* 2163 GM که در محیط LBB، کشت و در دمای ^{o}C ۳۷ به مدت ۱۸ ساعت قرار داده شد، استفاده گردید و طبق پروتکل، Competent cell از آن تهیه گردید (۱۴، ۱۵، ۱۹، ۲۰). سنتز ژن و کلون آن در پلاسمید توسط شرکت سیناکلون انجام شد. استخراج پلاسمید توسط کیت Accuprep® Nano-Plasmid Extraction Plus Mini کمپانی Bioneer خریداری شده از شرکت سینا کلون طبق دستورالعمل ذیل صورت گرفت.

استخراج DNA: استخراج DNA از نمونه‌های تهیه شده بر طبق پروتکل کیت Dyna Bio تکاپوزیست صورت گرفت.

انجام PCR: انجام PCR در دستگاه Thermocycler gradiant Eppendorf انجام گرفت. واکنش با یک حجم نهایی ۲۵µl انجام گردید و محلول‌های به‌کار رفته و غلظت آنها مطابق جدول ۲ بود. بعد از انجام PCR، تخلیص محصول انجام گرفت. جهت تعیین توالی، به شرکت تکاپوزیست ارسال گردید. پس از بهینه‌سازی شرایط مطلوب برای PCR، بهترین شرایط به شرح ذیل به‌دست آمد: Initial Denaturation با دمای ^{o}C ۹۴ به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل بعدی به‌صورت: Denaturation با دمای ^{o}C ۹۴ به مدت ۱ دقیقه، Annealing با دمای ^{o}C ۵۲ به مدت ۱ دقیقه، Extending با دمای ^{o}C ۷۲ به مدت ۱ دقیقه و Final Extending با دمای ^{o}C ۷۲ به مدت ۱۰ دقیقه.

الکتروفورز: جهت تعیین باند محصول PCR، الکتروفورز انجام شد. از DNA marker، ۱۰۰ bp استفاده گردید. ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR با ۲ میکرولیتر بافر بارگذاری، به خوبی مخلوط و به داخل چاهک‌های ژل آگارز ۱ درصد حاوی رنگ Sybr safe ریخته شد. حجم ژل ۱۰۰ میلی‌لیتر و میزان رنگ ۲ میکرولیتر بود. نهایتاً الکتروفورز در ولتاژ ۹۰ ولت به مدت ۴۰ دقیقه انجام گرفت. پس از پایان زمان الکتروفورز، ژل بر روی دستگاه UV–Transilluminator قرار داده شد و مورد بررسی و عکس‌برداری قرار گرفت (۲۱).

جدول ۲- اجزای مختلف PCR (۲۱)

غلظت نهایی	حجم بکار رفته	غلظت مواد بکار رفته
۱ X	۲/۵ µl	PCR buffer $_{10\ X}$
۰/۲ Mm	۰/۵ ml	dNTP mix (۱۰mM)
۰/۴ µM	۱ ml	F- Primer (۱۰µM)
۰/۴ µM	۱ ml	R- Primer (۱۰ µM)
-	۰/۱۲۵ µl	Taq (۱U)
۲ mM	۲ µl	$MgCl_2$ (۲۵mM)
-	۱ µl	Template DNA
-	۱۶/۸۷۵ µl	آب مقطر دو بار تقطیر
-	۲۵ µl	مقدار کل

نتایج

از تعداد ۶۶ نمونه نازوفارنکس اخذ شده برای

بررسی آلودگی به باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس*، هیچ نمونه مثبتی به دست نیامد (شکل‌های ۲ و ۳).

شکل ۲- نتایج PCR پایش موش‌های NIH برای باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس*.
(L: Ladder 100bp, C-: Negatie Control, C+: Positive Control, S_1-S_{17}: Samples)

شکل ۳- نتایج PCR پایش موش‌های NIH برای باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس*.
(L: Ladder 100bp, C-: Negatie Control, C+: Positive Control, S_{52}-S_{66}:Samples)

بحث

موش‌ها به دلیل اینکه می‌توانند مخزن و یا حامل بسیاری از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای انسانی باشند، نقش مهمی در بهداشت عمومی دارند. از جمله بیماری‌هایی که توسط موش و از طریق ایجاد آلودگی مواد غذایی، آبی یا منابع دیگر قابل انتقال به انسان می‌باشند می‌توان از سالمونلوز، لپتوسپیروز، تب گازگرفتگی موش، پنومونی و بیماری‌هایی نظیر طاعون و یا تیفوس را نام برد. انتقال عوامل این بیماری‌ها به انسان می‌تواند از طریق تماس مستقیم، تماس با ادرار و مدفوع آلوده موش و یا از طریق نیش حشرات و بندپایان و نیز گازگرفتگی صورت گیرد. موش‌های صحرایی و وحشی به‌عنوان مخزن طبیعی باکتری

استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس، مطرح می‌باشند. پایداری این باکتری در موش‌های آزمایشگاهی در گزارشات مختلف، محدوده ۶-۰ ماه را نشان می‌دهد. موش‌های وحشی می‌توانند باعث آلودگی محیط و مواد غذایی انسان شوند و بهداشت عمومی را به خطر اندازند. بنابراین کنترل منظم جوندگان ضروری می‌باشد (۷، ۸، ۱۳). در مورد شیوع تب گازگرفتگی موش در کشورهای غربی، گزارشات زیادی وجود دارد. Abdulaziz و همکاران در سال۲۰۱۶ از یک خانم مبتلا به پلی‌آرتریت، باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس* را از طریق کشت جدا کردند و در همین گزارش آمده است که میزان مرگ و میر حدود ۱۳-۷ درصد با علائم پیچیده و ۵۳ درصد با علائم اندوکاردیت همراه بوده است. همچنین از جداسازی این باکتری از مایع مفصلی که در بیماران همراه با تب، راش و افزایش پلی مورفونوکلئرها بوده، گزارش شده است (۲۲). از آن جایی که جدا سازی و شناسایی باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس* با روش‌های کلاسیک باکتریولوژی بسیار دشوار گزارش شده است، لذا جهت تشخیص می‌توان از روش PCR و الایزا استفاده کرد (۴، ۱۴، ۱۵). امروزه در مراکز بزرگ تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی، نظیر Taconicو Charles River، انجام آزمایش تشخیص باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس* به روش PCR هر شش هفته انجام می‌شود. در ایران تا کنون هیچ‌گونه تحقیقی بر روی این باکتری و بیماری تب گازگرفتگی انجام نشده است (۳، ۱۲). McKee و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی فردی که دچار تب‌های مکرر و آرتریت شدید شده بود تحقیقاتی انجام دادند. آنها با کشت باکتری از نمونه‌های خون بیمار متوجه وجود باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس* شدند و برای درمان بیمار از پنی‌سیلین G استفاده کردند (۶). Eisenberg و همکاران در سال ۲۰۱۶ تب گازگرفتگی را از طریق کشت و جداسازی باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس*، انجام آزمایش‌های هماگلوتینیشن، ایمنوفلورسانس و PCR تشخیص دادند (۲۳). Nei و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی بیماری عفونی ناشی از *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس* تحقیقی انجام دادند. آنها بر روی بیمارانی که به صورت ظاهری هیچ‌گونه سابقه گازگرفتگی توسط موش‌ها نداشتند ولی علائم آرتروز و روماتوئید را نشان می‌دادند، بررسی انجام دادند. آنها به این نتیجه رسیدند، افرادی که در معرض گازگرفتگی موش‌ها و دیگر جوندگان قرار می‌گیرند به‌صورت مستقیم و یا غیرمستقیم احتمال ابتلا به بیماری آرتریت روماتوئید را دارند (۱۰). Hansen و Nielsen در سال ۲۰۱۵ در بررسی‌های باکتریولوژیکی بر روی حیوانات آزمایشگاهی به نقش عوامل محیطی در بروز عفونت‌ها به نتایج مهمی دست یافتند. از جمله این‌که استرس‌های محیطی مانند افزایش میزان آمونیاک محیط یا کاهش ویتامین A و یا E که باعث بیماری‌های تنفسی با منشأ مایکوپلاسماها در رت‌ها می‌شوند، در بروز بیماری‌های عفونی دخیلند (۴، ۲۴). تهویه هوا در سالن‌های پرورش حیوانات آزمایشگاهی نقش بسیار اساسی دارد. تهویه کم ممکن است باعث بیماری‌های تنفسی با عفونت‌های باکتریایی گوناگون خصوصاً در حیوانات با سیستم ایمنی کاهش‌یافته گردد (۱، ۲، ۴، ۱۳). در این تحقیق آلودگی موش‌های آزمایشگاهی نژاد NIH به باکتری *استرپتوباسیلوس مونیلی‌فورمیس* مورد بررسی قرار گرفت که تمام نتایج منفی بودند و نشان‌دهنده این است که شرایط نگهداری، پرورش و تولید موش‌های آزمایشگاهی این مرکز مطابق با استانداردهای معتبر نظیر FELASA می‌باشد.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی با عنوان

پـایش بهداشـتی مـوش‌هـای آزمایشـگاهی تولیـدی مؤسسـه رازی بـه عوامـل باکتریـایی، مایکوپلاسـمایی، ویروسـی و انگلـی بـا کـد مصـوب ۹۴۵۴-۱۸-۱۸-۰۱ مـی‌باشـد و بـدین‌وسـیله از کلیـه همکـاران بخـش‌هـای تولیـد و پـرورش حیوانـات آزمایشـگاهی و تحقیقـات بیماری های زنبـور عسـل، کـرم ابریشـم و حیـات وحـش مؤسسـه تحقیقـات واکسـن و سـرم‌سـازی رازی تشـکر و قدردانی می‌گردد.

References

1- Mahler Convenor M, Berard M, Feinstein R, Gallagher A, Illgen-Wilcke B, Pritchett-Corning K, *et al.* FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Lab. Anim*. 2014; 48:178-192.

2- Fallahi R, Mansouri MA. Biology, Breeding, Diseases and Principles of Working to Laboratory Animals. *First edition, Razi Vaccine and Serum Research Institute Publication*. 2015, P: 44-49 [In Persian].

3- Fallahi R, Mansouri, MA. Health monitoring of Razi Institute laboratory mice (NIH strain) to *Clostridium piliforme* in 1395. *Vet. Res. and Biol. Prod*. 2017; 117:78-84 [In Persian].

4- Hansen AK, Nielsen DS. Handbook of laboratory animal bacteriology, 2nd edition, 2015; CRC Press.

5- Elliott SP. Rat Bite Fever and *Streptobacillus moniliformis*. *Clin. Microbial. Rev*. 2007; 20(1): 13–22.

6- McKee G, Pewarchuk J. Rat-bite fever. 2013; Can. Med. Ass. J. 185(15): 1346.

7- Suzuki K, Hirai Y, Morita F, Nakamura A, Uehara Y, Naito T. *Streptobacillus moniliformis* bacteremia in a pet shop employee: Case report and literature review. *Open Forum Infec*. Dis. 2017; 1-3.

8- Zhang WW, Hu YB, He GX, Zhou Y, Hong L, Ding JG. Rat bite fever caused by *Streptobacillus moniliformis* infection in a Chinese patient. *BMC Infec. Dis*. 2019; 19(637): 1-5.

9- Balakrishnan N, Menon T, Shanmugasundaram S, Alagesan R. *Streptobacillus moniliformis* endocarditis. *Emerg. Infect. Dis*. 2006; 12(6): 1037-1038.

10- Nei T, Sato A, Sonobe K, Miura Y, Takahashi K, Saito R. *Streptobacillus moniliformis* bacteremia in a rheumatoid arthritis patient without a rat bite: a case report. BMC Res. *Notes*. 2015; 8(694): 1-5.

11- DORA. (Diseases of Research Animals), Mice diseases, Comparative Medicine Program and IDEXX-BioAnalytics. 2020; University of Missouri.

12- Fox JG, Anderson LC, Low FM, Quimby FW. Laboratory Animal Medicine. 2ed, 2002; Academic Press.

13- Hubrecht R., Kirkwood J. The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. 8th ed, 2010; The Universities Federation for Animal Welfare; Wiley-Blackwell; Hoboken, NJ, USA.

14- Andre JM, Freydiere AM, Benito Y, Rousson A, Lansiaux S, Kodjo A, *et al.* Rat bite fever caused by *Streptobacillus moniliformis* in a child: human infection and rat carriage diagnosed by PCR. *J. Clin. Pathol*. 2005; 58:1215–1216.

15- Boot R, Oosterhuis A, Thuis HCW. PCR for the detection of *Streptobacillus moniliformis*. *Lab. Anim*. 2002; 36: 200–208.

16- NRC. (National Research Council, Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition Committee on Animal Nutrition Board on Agriculture), Nutrient Requirements of Laboratory Animals. *Fourth Revised Edition*. 1995; National Academy Press Washington, D.C.

17- Nuffield Council on Bioethics. Ethics of research involving animals. 2005; 28 Bedford Square London, WC1B 3JS.

18- Fish RRE, Brown MJ, Danneman PJ, Karas AZ. Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals. Second Edition, 2008; American College of Laboratory Animal Medicine.

19- Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA. Current Protocols in molecular biology. 2003; John Wiley and Sons, Inc.

20- Seidman CE, Stuhl K, Sheen J, Jessen T. Introduction of plasmid DNA into Cells, Plasma DNA into cells. *Current protocols in Molecular Biology*. 1997; 37: 1.8.1-1.8.10.

21- Sambrook J, Fritschi EF, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. 1989; Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

22- Abdulaziz H, Touchie C, Toye B, Karsh J. Haverhill fever with spine involvement. *J. Rheumatol*. 2006; 33(7):1409-1410.

23- Eisenberg T, Ewers D, Rau J, Akimkin V, Nicklas, W. Approved and novel strategies in diagnostics of rat bite fever and other streptobacillus infections in humans and animals. *Virulence*. 2016; 7(6): 630–648.

24- Piasecki T, Chrzastek K, Kasprzykowska U. Mycoplasma pulmonis of rodents as a possible human pathogen. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 2017; 17(7): 275-477.

Survey of Razi Institute NIH Laboratory mice to *Streptobacillus moniliformis*, the causative agent of rat bite fever

Roozbeh Fallahi

1- Associate Professor, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Receive: April 6, 2021; Revise: July 21, 2021; Accept: August 3, 2021

Summary

One of the most important and dangerous bacterial diseases in colonies of mice is rat bite fever. This disease can be transmitted to humans. According to international standards, in the event of a confrontation, control measures, combat and possibly eradication and removal of the colony should be taken. The disease is caused by Streptobacillus moniliformis bacteria. Symptoms of the disease in humans include high fever, chills, polyarthritis, and skin inflammation. So far, international standards for determining the infection of laboratory animals with this infectious agent have not been performed in Iran. In this study, the prevalence of this bacterium, in the colony of NIH Laboratory mice in Razi Institute was studied in 2019. A total number of 66 mice from a breeding colony were randomly selected and were examined by PCR method for presence of this bacterium. No positive samples were observed. According to the instructions used, it can be concluded that with 99.9% confidence, there was no infection with Streptobacillus monilioformis in breeding facilities. The results of this study show that the observance of hygiene items in this center is done well. However, periodic and continuous monitoring of this bacterium and other important infectious agents should be performed.

Key words: *Infection, NIH mouse, Rat bite fever, Streptobacillus moniliformis*

مروری بر کنترل و درمان جرب قرمز طیور (*Dermanyssus gallinae*)

امیر اصغری باغخیراتی، سید مصطفی پیغمبری*

گروه بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

دریافت مقاله: ۲۶ تیر ۱۳۹۹، بازنگری: ۷ شهریور ۱۳۹۹، پذیرش نهایی: ۲۷ شهریور ۱۳۹۹

چکیده

جرب قرمز طیور، مهم‌ترین انگل خارجی خون‌خوار در گله‌های تخم‌گذار و مادر در بسیاری از کشورها است. آلودگی با این جرب اجباری، بسیار رایج بوده و بر اساس گزارشات اپیدمیولوژیک، ۸۳ درصد از مزارع اروپایی به آن آلوده هستند. همچنین، درمانیسوس گالینه به‌عنوان رایج‌ترین و مهم‌ترین آفت طیور در ایران توصیف شده است. آلودگی با جرب قرمز طیور، می‌تواند منجر به کاهش تولید تخم‌مرغ، استرس، سرکوب سیستم ایمنی، پرکنی، کانی‌بالیسم، آنمی و مرگ شود. به علاوه، اثبات شده است که این جرب، می‌تواند برخی از عوامل بیماری‌زا از جمله سالمونلا را منتقل کند. از این گذشته، آلودگی انسان به جرب درمانیسوس گالینه به صورت فزاینده‌ای از کشورهای مختلف از جمله ایران، گزارش شده است. اگرچه روش‌های گوناگونی برای کنترل این جرب در سالن های طیور گزارش شده، اما رویکرد اصلی، متکی بر استفاده از ترکیبات ضد کنه سنتتیک می‌باشد. اهداف این مطالعه‌ی مروری، بررسی جنبه‌های گوناگون آلودگی با جرب درمانیسوس گالینه، توصیف ترکیبات ضد کنه مختلف و ارزیابی اثرات هر کدام از ترکیبات ضد کنه بر روی این جرب می‌باشند.

کلمات کلیدی: *انگل خارجی، درمانیسوس گالینه، جرب قرمز، طیور، ترکیبات ضد کنه*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: mpeigham@ut.ac.ir

مقدمه

جرب قرمز طیور، درمانیسوس گالینه (*Dermanyssus gallinae*) (De Geer, 1778)، (مزواستیگماتا، درمانیسیده)، که به آن جرب ماکیان هم گفته می‌شود، رایج‌ترین و مهم‌ترین انگل خارجی خون‌خوار در گله‌های تخم‌گذار و مادر بسیاری از کشورها از جمله ایران است (۱، ۲). این جرب، یک انگل خون‌خوار اجباری و غیر دائمی است که معمولاً شبانگاه، برای زمان کوتاهی در حدود ۳۰ الی ۶۰ دقیقه، از پرنده تغذیه می‌کند و سایر اوقات، در درز و شکاف‌های سالن مرغداری مخفی می‌شود (۳، ۴). درمانیسوس گالینه، دارای چرخه‌ی زندگی کوتاهی است و تکامل کامل آن از مرحله تخم تا بلوغ، معمولاً در طی ۲ هفته رخ می‌دهد، البته ممکن است این اتفاق در نصف این مدت زمان نیز صورت گیرد. به عبارت دیگر، اگر شرایط مطلوبی برای رشد و تکثیر درمانیسوس گالینه فراهم گردد، جمعیت آن می‌تواند هر هفته در سالن‌های مرغداری دو برابر شود (۵، ۶، ۷). تراکم این جرب می‌تواند در سیستم قفس، به ۵۰ هزار جرب و در موارد شدیدی آلودگی، حتی به ۵۰۰ هزار جرب (به ازای هر پرنده) نیز برسد (۸). گذشته از رشد و تکثیر سریع، درمانیسوس گالینه دارای مقاومت بالایی است. این جرب می‌تواند به مدت ۹ ماه بدون صرف خون، زنده مانده و رطوبت نسبی ۷۰ الی ۹۰ درصد و دمای °C ۳۷-۱۰ را به خوبی تحمل کند. جالب توجه است که جرب مذکور، حتی قادر است در دمای °C ۲۰- نیز زنده بماند (۹). آلودگی با این جرب، باعث وارد آمدن استرس، بر هم خوردن الگوی خواب پرنده، افزایش رفتارهای تهاجمی، پرکنی و حتی کانی‌بالیسم می‌شود. علاوه بر این، افزایش ضریب تبدیل غذایی، وجود لکه خون بر روی تخم‌مرغ، کاهش کیفیت آن و کاهش در میزان تولید تخم‌مرغ از جمله اثرات این انگل است (۱۰، ۱۱). این جرب، می‌تواند هم به صورت ناقل بیولوژیک و هم ناقل مکانیکی عمل کرده و عوامل بیماری‌زایی از قبیل پارامیکسوویروس، ویروس‌های انسفالومیلیت شرقی، غربی و ونزوئلایی اسبی، ویروس انفلوانزای پرندگان، اسپیروکت، اشریشیا کلای، اریزیپلوتریکس، پاستورلا مولتوسیدا، سالمونلا گالیناروم و سالمونلا اینتریتیدیس را منتقل کند. اگرچه که موارد انتقال بیماری‌های انسانی از طریق جرب پرندگان، نادر است، اما باید در نظر داشت که این جرب می‌تواند به صورت یک ناقل بالقوه برای انتقال عوامل بیماری‌زا به انسان عمل کند (۱۰، ۱۲، ۱۳). اولین علامت بالینی در حیوانات آلوده به این جرب، آنمی تحت حاد در اثر گزش‌های مکرر است. یک مرغ تخم‌گذار می‌تواند هر شب ۳ درصد از حجم خون خود را در اثر آلودگی با این جرب از دست بدهد (۱۴). در موارد شدید آلودگی، ممکن است کم‌خونی موجب مرگ پرنده شود. جالب توجه است که در برخی از گزارشات، به افزایش ده برابری در میزان مرگ و میر پرندگان اشاره کرده‌اند (۱۵). یکی دیگر از مسائل مهم در آلودگی با این جرب، وارد آمدن استرس به پرنده است. طبق مطالعه‌ی Kowalski و Sokol(۲۰۰۹)، آلودگی با این جرب سبب افزایش سطح کورتیکوسترون و آدرنالین و کاهش سطح بتا و گاما گلوبولین‌ها در ماکیان آلوده گردید، که این امر نشان دهنده‌ی استرس و سرکوب سیستم ایمنی در آنان است (۱۶). این جرب، یکی از مشکلات اصلی در صنعت طیور تخم‌گذار و مادر به حساب می‌آید و به علت کوتاه بودن دوره پرورش طیور گوشتی، از اهمیت کمتری در آنان برخوردار است. علاوه بر این، محل‌های اختفای جرب مذکور در سیستم تولیدی مرغان تخم‌گذار، بیشتر از مرغان گوشتی است (۱). از لحاظ اقتصادی، آلودگی با جرب درمانیسوس گالینه، یک تهدید مهم برای مرغان تخم‌گذار در بسیاری از کشورهای جهان به

حساب می‌آید. در مورد ایالات متحده آمریکا، اگرچه که بیشتر درگیری‌ها با اورنیتونیسوس سیلویاروم بوده است، اما اخیراً، آلودگی با جرب قرمز طیور در آمریکای شمالی نیز گزارش شده است (۱۷). طبق بررسی صورت گرفته توسط Van Emous در سال ۲۰۰۵، تخمین زده شده است که هزینه‌های اقتصادی مرتبط با کنترل جرب درمانیسوس گالینه و خسارات اقتصادی ناشی از آن در صنعت تخم‌مرغ اتحادیه‌ی اروپا برابر با ۱۳۰ میلیون یورو در سال (برابر با ۰/۴۳ یورو به ازای هر مرغ) بوده است (۱۴). در سال ۲۰۱۷، ایشان تخمین زده‌اند که میزان کل هزینه‌های مربوط به آلودگی با جرب قرمز طیور در هلند، برابر با ۰/۶ یورو به ازای هر مرغ در سال است. این امر نشان می‌دهد که میزان خسارات اقتصادی ناشی از این جرب از سال ۲۰۰۵ تا سال ۲۰۱۷ در حدود ۴۰ درصد افزایش یافته است. در مجموع، ضررهای اقتصادی حاصل از جرب‌ها در اروپا در حدود ۲۳۱ میلیون یورو در سال تخمین زده شده است (۱۸).

شیوع آلودگی با جرب درمانیسوس گالینه در کشورهای مختلف

جرب قرمز طیور، دارای گسترش جهانی بوده و درصد بالایی از پرندگان در کشورهای سوئد (۶)، فرانسه (۱)، دانمارک، صربستان، مونته نگرو، هلند و ژاپن (۱۹) به این جرب آلوده‌اند. طی مطالعه‌ی گسترده‌ای که در زمینه‌ی آلودگی با انگل‌های خارجی در نمونه‌های به دست آمده از مزارع تخم‌گذار تجاری و مادر در ۱۱ استان چین صورت گرفت، مشخص شد که ۸۸/۴ درصد از مزارع، دارای آلودگی با حداقل یک انگل خارجی هستند. در این میان، جرب درمانیسوس گالینه رایج‌ترین انگل خارجی در مزارع تخم‌گذار تجاری (۶۴/۱ درصد) بود (۲۰). در انگلستان، ۶۰ درصد از مرغداران، آلودگی با جرب قرمز را یک مساله‌ی بسیار مهم اقتصادی می‌دانستند و تنها ۷ درصد از آنان، ادعا داشتند که هرگز مشکلی با جرب قرمز نداشته‌اند (۲۱). طی مطالعه‌ی دیگری در شمال انگلستان، مشخص شد که جرب قرمز طیور در ۸۷/۵ درصد از واحدهای تخم‌گذار حضور داشته و رایج‌ترین روش کنترلی مورد استفاده توسط مرغداران، بهره بردن از مواد ترکیبات ضد کنه در حین حضور پرنده در سالن است (۲۲). بررسی صورت گرفته در کشور لهستان، نشان داد که جرب درمانیسوس گالینه در تمامی مزارع تخم‌گذار مورد بررسی (آلودگی ۱۰۰ درصد) حضور دارد. همچنین، مهم‌ترین مشکل مرتبط با جرب مذکور در این مطالعه، کاهش ۲ الی ۱۵ درصدی در تولید تخم‌مرغ و افزایش مرگ و میر عنوان شد (۲۳). در واقع، بررسی‌های اخیر نشان دهنده‌ی شیوع بسیار بالای جرب درمانیسوس گالینه و شیوع فزاینده‌ی آن در اروپا هستند، بدین صورت که میانگین آلودگی با این جرب در مزارع اروپایی برابر با ۸۳ درصد است و میانگین آلودگی با آن در هلند، آلمان و بلژیک به ۹۴ درصد می‌رسد (۲۴). در رابطه با وضعیت جرب درمانیسوس گالینه در ایران، باید گفت که طی بررسی صورت گرفته در مورد آلودگی‌های انگلی ماکیان آزادچر استان گلستان، میزان آلودگی با این جرب در آنان برابر با ۲۰ درصد گزارش شد (۲۵). در بررسی اپیدمیولوژیک صورت گرفته در خصوص آلودگی گله‌های مرغان تخم‌گذار شهرستان مشهد، مشخص شد که ۴۵/۸۳ درصد از مزارع نمونه‌برداری شده، آلوده به جرب قرمز طیور بودند (۲۶). در سال ۲۰۰۹، Rahbari و همکاران، به بررسی حضور جرب‌های خون‌خوار در ۸ مزرعه تخم‌گذار و ۴ مزرعه مادر، در ۷ استان ایران (گیلان، مازندران، زنجان، قزوین، مرکزی، قم و تهران) پرداخته و ضمن ارائه‌ی اولین گزارش از اورنیتونیسوس بورسا (*Ornithonyssus bursa*) در ایران، عنوان داشتند

که درمانیسوس گالینه، شایع‌ترین و مهم‌ترین آفت طیور در ایران است (۲).

اهمیت جرب درمانیسوس گالینه در انسان و حیوانات

درمانیسوس گالینه می‌تواند بیش از ۳۰ گونه از پرندگان وحشی را آلوده کرده و اگرچه که به عنوان یک انگل پرندگان شناخته شده است، اما گزارشات فزاینده‌ای از حمله‌ی آن به میزبانان غیر پرنده وجود دارد (۲۷). طبق گزارشات، این جرب توانسته است از سایر حیوانات از جمله سگ و گربه نیز تغذیه کرده و سبب درماتیت در یک اسب شود (۲۸-۳۰). این جرب از موش‌های مرغداری در ایران جدا شده و برخی از جوندگان به این جرب آلوده شده‌اند (۳۱). در واقع، جرب مذکور، علاوه بر آنکه یک انگل پرندگان است، همچنین می‌تواند از سایر حیوانات نیز تغذیه کند و اگرچه که موارد گزارش شده از آلودگی پستانداران به این جرب، نسبتاً نادر است، اما با توجه به انعطاف پذیری ژنتیکی این گونه و شواهد حضور دائمی آن در برخی از میزبانان غیر پرنده، پتانسیل آن برای افزایش دامنه‌ی میزبانی‌اش، ممکن است وجود داشته باشد (۱۲). گذشته از حیوانات، آلودگی انسان با جرب قرمز طیور، می‌تواند منجر به ایجاد جراحات پوستی، اریتماتوز و جوش‌های پاپولار شود که معمولاً همراه با خارش هستند. امروزه موارد متعددی در خصوص آلودگی انسان به جرب درمانیسوس گالینه از سرتاسر دنیا از جمله آلمان، انگلستان، لهستان، سوئیس، ایتالیا، صربستان، اسپانیا، فرانسه، جمهوری چک، هلند، اتریش (۳۲) و ترکیه (۳۳) گزارش شده‌اند. اولین بار Abdigoudarzi و همکاران (۲۰۱۴) آلودگی انسان به جرب درمانیسوس گالینه را در ایران گزارش کردند. طبق گزارش آنان، سه نفر از اعضای یک خانواده دچار خارش شدید در بدن خود، به خصوص در ناحیه دست‌ها، ساعد، پشت گردن و قفسه سینه شده بودند و در معاینه‌ی فیزیکی آنان، یافته‌هایی از درماتیت خارشی (pruritus dermatitis) و بثورات ماکولوپاپولار اریتماتوز دیده شد (۳۴). باید گفت که پزشکان، معمولاً با درماتیت ایجاد شده به وسیله‌ی انگل‌های خارجی زئونوز، نا آشنا هستند و از آنجایی که تشخیص آلودگی با این جرب دشوار است، بسیاری از موارد به درستی تشخیص داده نشده و یا گزارش نمی‌شوند. بنابراین، به نظر می‌رسد که میزان واقعی بروز جراحات پوستی حاصل از این جرب، که به آن گامازوایدوزیس (Gamasoidosis) گفته می‌شود، بالاتر از آن چیزی باشد که هم اکنون فرض می‌شود (۳۲). به عنوان مثال پیرمردی در ترکیه دچار خارش شده بود که پزشکان در ابتدا آن را خارش پیری (senile pruritus) تشخیص داده و از آنتی‌هیستامین و کورتیکواستروئید موضعی برای درمان استفاده کردند، اما پس از انجام بررسی بیشتر مشخص گردید که فرد مورد نظر آلوده به جرب درمانیسوس گالینه است و از شامپوی پرمترین ۱ درصد برای درمان استفاده شد (۳۳). از سوی دیگر، به علت نقش احتمالی درمانیسوس گالینه به عنوان یک ناقل و یا مخزن برای عوامل بیماری‌زای زئونوز، تشخیص اشتباه آلودگی با آن می‌تواند نگران کننده باشد. در حقیقت درمانیسوس گالینه به یک نگرانی در حال افزایش برای سلامت انسانی بدل شده است و بایستی به عنوان یک خطر شغلی برای کارگران مرغداری تلقی شود (۱۲، ۳۲، ۳۵).

مبارزه با جرب درمانیسوس گالینه

تاکنون مطالعات بسیاری در زمینه کنترل جرب درمانیسوس گالینه از طریق مختلف به انجام رسیده است. از میان آنان می‌توان به کنترل زیستی (به عنوان مثال با بهره‌گیری از *Bacillus thuringiensis*)، استفاده از محصولات گیاهی همچون سیر یا درخت چریش (Neem) اشاره کرد، که برخی از آنان اثرات امیدوار کننده‌ای از خود

نشان داده‌اند. به عنوان مثال، در بررسی درون‌تن عصاره سیر در مزرعه مرغان تخم‌گذار، اثر بخشی مطلوبی مشاهده شده است (۳۶). همچنین، مشخص شده است که اثربخشی عصاره دانه‌ی چریش، قابل قیاس و حتی بالاتر از فوکسیم بوده است (۳۷). همچنین مطالعات مختلفی در خصوص ساخت واکسن، استفاده از دشمنان طبیعی این جرب و مواد بی اثر (از قبیل کائولین و سیلیکا) صورت گرفته است. برخی از مرغداران نیز از گازوئیل برای رفع آلودگی با جرب مذکور استفاده می‌کنند، اما باید اذعان داشت که کنترل جرب قرمز طیور، اصولاً بر پایه‌ی استفاده از ترکیبات ضد کنه است. به همین علت، در ادامه به معرفی ترکیبات ضد کنه مختلف و بررسی اثرات آنان بر روی جرب قرمز طیور، پرداخته می‌شود.

ترکیبات ارگانوکلره: سموم ارگانوکلره در سال ۱۹۴۶ معرفی شدند و اولین ترکیبات ضد کنه‌های سنتتیک تجاری در دسترس بودند. بنزن هگزاکلراید (BHC) و دی‌کلرو دی‌فنیل تری‌کلرواتان (DDT) اولین ارگانوکلره‌هایی بودند که به عنوان ترکیبات ضد کنه استفاده شدند. از این ترکیبات می‌توان به آلدرین، دیلدرین، هپتاکلر، هپتاکلر اپوکسید، توکسافن و غیره نیز اشاره کرد. ترکیبات ارگانوکلره به جایگاه پیکروتوکسینین در کمپلکس یونوفوره‌ی کلراید گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) متصل شده و باعث مهار ورود کلر به داخل عصب می‌شوند که این قضیه منجر به مرگ ارگانیسم می‌شود (۳۸، ۳۹). ترکیبات ارگانوکلره، دارای انحلال پایین در آب و حلالیت بالا در چربی می‌باشند. این ترکیبات می‌توانند در بافت‌ها تجمع یافته و از طریق خوردن شیر، گوشت و تخم‌مرغ به بدن انسان راه یابند. از سوی دیگر، گزارشات متعددی در خصوص سمیت پایدار و اثرات نامطلوب آنان، به خصوص DDT بر سلامت انسان وجود دارد، که از میان آنان می‌توان به بروز انواع سرطان‌ها از جمله سرطان پستان، سرطان پانکراس، لنفوما، اثرات نامطلوب بر سیستم تولید مثلی، اثرات نورولوژیک، سرکوب سیستم ایمنی و ... اشاره کرد (۴۰، ۴۱). در گذشته، نگرانی کمی در خصوص اثرات آفت‌کش‌ها وجود داشت و از سموم ارگانوکلره به صورت گسترده‌ای استفاده می‌شد، تا آنکه ریچل کارسون در سال ۱۹۶۲ کتاب بهار خاموش (Silent Spring) را منتشر کرد و بسیاری از مشکلات را آشکار ساخت. در نهایت، از اواخر دهه ۱۹۷۰ استفاده از این ترکیبات در اکثر کشورهای صنعتی، متوقف شد (۴۲). علی‌ای‌حال، باقیمانده‌ی این ترکیبات در نمونه‌های گوشت طیور در چین دیده شده‌اند (۴۳). همچنین طی مطالعه‌ای در اردن، با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی، به بررسی باقیمانده‌ی آفت‌کش‌های ارگانوکلره در ۱۳۴ نمونه تخم‌مرغ و ۱۱۵ نمونه گوشت ماکیان پرداخته شد و نتایج نشان داد که ۲۸درصد از تخم‌مرغ‌ها و ۲۰درصد از گوشت ماکیان، آلوده به باقیمانده‌های ارگانوکلره هستند (۳۹). مطالعات اندکی در خصوص اثرات این ترکیبات بر روی جرب درمانیسوس گالینه صورت گرفته است، و برخی از آنان، از جمله مطالعه‌ی صورت گرفته در چک اسلواکی سابق، به سطوح بالایی از مقاومت جرب درمانیسوس گالینه، نسبت به DDT اشاره کرده‌اند (۴۴).

ترکیبات ارگانوفسفاته: دسته دیگری از آفت‌کش‌های محبوب، ترکیبات ارگانوفسفاته هستند که از آنان به صورت گسترده‌ای استفاده می‌شود. در چین، ۳۹/۸ درصد از واحدهای تخم‌گذار تجاری و ۲۸/۶ درصد از واحدهای مادر، از ترکیبات ارگانوفسفاته به تنهایی و یا همراه با آورمکتین‌ها استفاده می‌کنند (۲۰). در این دسته، می‌توان به متریفونات (تری کلوروفون)، دیازینون، کلورپیریفوس، دی‌کلوروس، مالاتیون، فنیتروتیون و فوکسیم اشاره کرد. این ترکیبات، باعث مهار

استیل‌کولین‌استراز می‌شوند. این آنزیم، یک آنزیم هیدرولیتیک است که برای هیدرولیز استیل‌کولین و خاتمه دادن به پیام عصبی در محل سیناپس لازم می‌باشد. در نتیجه، مهار آن، باعث ترشح پیوسته‌ی پیام عصبی و متعاقباً دیگری بیش از حد گیرنده نورون پس‌سیناپسی با استیل کولین، فلجی و مرگ جرب می‌شود (۴۵، ۴۶). در سه دهه‌ی گذشته، آفت‌کش‌های ارگانوفسفاته جزء رایج‌ترین ترکیبات، با اثر بخشی نسبتاً مطلوب برای کنترل آفات بوده‌اند. به عنوان مثال طی مطالعه‌ای در فرانسه، هیچ‌گونه مقاومتی در جمعیت جرب‌های قرمز طیور نسبت به دی‌کلوروس دیده نشد (۴۷). علی‌ای‌حال، آژانس حفاظت از محیط زیست ایالات متحده آمریکا در اوایل دهه ۲۰۰۰، شروع به توقف تدریجی استفاده مسکونی از دو ترکیب ارگانوفسفاته اولیه، دیازینون و کلورپریفوس، کرد که این تصمیم به خاطر پتانسیل آنان برای ایجاد سمیت در انسان بود (۴۲). باید گفت که مقاومت نسبت به ترکیبات ارگانوفسفاته از سال‌های گذشته دیده شده است (۴۴).

Nordenfors و Hoeglund (۲۰۰۰)، گله‌ی تخم‌گذار را با محلول ۰/۱۵ درصد متریفونات به شکل اسپری مورد درمان قرار دادند. پس از دوبار اسپری کردن، تنها یک کاهش اولیه در تعداد جرب‌های به دام افتاده در تله‌ها مشاهده شد، اما طی ۲ ماه پس از آن، تعداد جرب‌ها مجدداً افزایش یافت و حتی مقدار آن، از تعداد جرب‌های پیش از درمان نیز بیشتر شد (۴۸). متریفونات، که برای استفاده به صورت اسپری برای مرغان تخم‌گذار در اروپا به ثبت رسیده بود، دارای باقیمانده زیادی در تخم مرغ و گوشت بود و سرانجام در سال ۲۰۰۲ از بازارهای مصرف خارج شد. در بررسی دیگری، اکثر مرغداران انگلیسی اظهار داشتند که از فنیتروتیون استفاده کرده‌اند. اما از آن‌جایی که استفاده از آن ممنوع شده بود، Fiddes و همکاران(۲۰۰۵)، در مطالعه خود، از مالاتیون به جای آن در تست استفاده کردند و مشخص شد که اگرچه کمتر از ۵۰ درصد از مدیران مزارع، به مقاومت نسبت به فنیتروتیون در مزرعه خود اشاره کرده بودند. اما در آزمون‌های برون‌تن، مقاومت نسبت به مالاتیون (یک ارگانوفسفاته‌ی مشابه آن) در تمامی مزارع مورد بررسی، وجود داشت (۲۱).

یکی از محصولات بسیار مؤثر ارگانوفسفاته در سال‌های اخیر، فوکسیم بوده است. دوره منع مصرف تخم‌مرغ آن برابر با صفر روز و دوره منع مصرف گوشت در آن برابر با ۲۵ روز است. Meyer-Kuhling و همکاران (۲۰۰۷) سالن مرغداری تخم‌گذار را دوبار با محلول ۲۰۰۰ ppm فوکسیم، اسپری نمودند و با بهره‌گیری از فرمول اصلاح شده‌ی ابوت (Abbott's formula)، به بررسی میزان اثربخشی آن در کنترل جرب درمانیسوس گالینه پرداختند. اثربخشی این محصول پس از اسپری دوم، تا انتهای آزمایش، بیش از ۹۹ درصد بود. از سوی دیگر، هیچ‌گونه عارضه جانبی در استفاده از این محصول دیده نشد. مطالعه‌ی ایشان، نشان دهنده‌ی اثربخشی مطلوب فوکسیم در زمان انجام مطالعه است (۴۶).

اما، اخیرا طی مطالعه‌ی صورت گرفته بر روی ۱۱ جدایه‌ی به‌دست آمده از مزارع تخم‌گذار و مادر در فرانسه، اسپانیا و آلمان؛ مشخص شد که LC90 شش جدایه، در مورد فوکسیم، بیش از غلظت‌های توصیه شده برای مصارف تجاری است. این نتایج نشان می‌دهند که حساسیت جدایه‌های فیلدی نسبت به فوکسیم در حال کاهش است (۴۹). در بررسی انجام شده بر روی حساسیت جرب‌های جدا شده در ایتالیا از سال ۲۰۰۸ تا ۲۰۱۵، مشخص شد که فوکسیم (با میانگین اثربخشی ۸۰/۳۵ درصد) و آمیتراز، مؤثرترین ترکیبات ضد کنه بودند. فوکسیم توانست اثربخشی بالای خود را تا سال ۲۰۱۵ حفظ کند. بدین صورت که در سال ۲۰۱۴، هیچ جمعیت

نسبتاً مقاوم یا مقاومی نسبت به آن وجود نداشت، اما در سال ۲۰۱۵، میزان اثربخشی آن به شکل قابل توجهی افت کرد و تنها ۴۰ درصد از جمعیت جربه‌های تست شده، نسبت به این ترکیبات ضد کنه، حساس یا کاملاً حساس بودند. از سوی دیگر، در سال ۲۰۱۵، با دو برابر و یا چهار برابر کردن غلظت فوکسیم، هیچ‌گونه بهبود معنی‌داری در میزان اثربخشی آن دیده نشد (۵۰). این امر، به صورت واضحی نشان دهنده‌ی بروز سریع مقاومت است. امروزه عدم حساسیت استیل‌کولین‌استراز، به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های اصلی برای مقاومت در برابر ترکیبات ارگانوفسفاته در نظر گرفته شده است (۳۸).

پایرتروئیدها: پایرتروئیدها، یک دسته بزرگ از ترکیبات نوروتوکسیک بوده و آنالوگ‌های سنتتیک یکسری استرهای اسید کریسانتمیک (پایرترین I) و اسید پایتریک (پایرترین II) هستند که در اصل، در گل‌های *Chrysanthemum cinerafolis* یافت می‌شوند. به عبارت دیگر، پایرترین‌ها، ترکیبات طبیعی به دست آمده از اعضای خانواده گل داوودی هستند و پایرتروئیدها، فرم‌های سنتتیک این ترکیبات‌اند که به منظور افزایش پایداری آنان تولید شده‌اند (۳۸، ۵۱). مدت‌ها پیش در چین باستان، از گل‌های خشک شده‌ی این گیاه، به عنوان یک حشره‌کش استفاده شده و این ترکیب در قرون وسطی در ایران یافت می‌شد. در حدود ۲۰۰ سال پیش، محصولی در اروپا (از طریق تجّار ارمنی) به‌عنوان پودر پارسی شناخته می‌شد که از گل‌های خشک شده‌ی *Chrysanthemum roseum* به دست آمده بود. تولید تجاری پایرترین‌ها از اواسط قرن ۱۹ ام میلادی آغاز گردید و ترکیبات اصلی آنان، پایرترین I و II بودند. علی‌ای‌حال، به علت پایداری کم آنان در هوا و نور و هزینه‌های تولیدشان، استفاده عمومی از آنان محدود شد (۵۱). اما ترکیبات پایدار در برابر نور، با قابلیت حشره کشی بالا و مسمومیت اندک برای پستانداران تولید شدند که اولین ترکیب از این دسته، پرمترین بود. پرمترین در سال ۱۹۷۳ سنتز شد و در ۱۹۷۷ وارد بازار شد. در همان سال‌ها، دلتامترین و سایپرمترین نیز تولید شدند و دارای اثرات فوق‌العاده بالایی بر علیه آفات بودند. به گونه‌ای که دلتامترین فعال‌ترین حشره‌کش شناخته شده در آن زمان به حساب می‌آمد. پایرتروئیدهایی از جمله بایفنترین، سیفلوترین و لامبدا سایهالوترین، در دهه ۱۹۸۰ در دسترس قرار گرفتند (۴۲، ۵۱).

پایرتروئیدها، اساساً به عنوان نوروتوکسین عمل کرده و با اثر بر روی کانال‌های سدیمی حساس به ولتاژ، سبب فلجی و مرگ جرب می‌شوند (۴۲). از پایرتروئیدها به صورت گسترده در سرتاسر جهان استفاده شده و هنوز هم استفاده می‌شود. به‌عنوان مثال در چین، ۴۱/۲ درصد از واحدهای تخم‌گذار تجاری و ۳۵/۷ درصد از واحدهای مادر، از پایرتروئیدها به تنهایی و یا در ترکیب با آورمکتین‌ها استفاده می‌کنند (۲۰). امروزه موارد فزاینده‌ای از مقاومت درمانیسوس گالینه نسبت به این دسته از ترکیبات ضد کنه گزارش شده است. در فرانسه، اولین گزارش مربوط به Beugnet و همکارانش (۱۹۹۷) است، که با تحقیق بر روی ۵ مزرعه طیور، متوجه شدند که تمامی جمعیت‌های درمانیسوس گالینه‌ی این مزارع، نسبت به پرمترین مقاوم هستند. به گونه‌ای که غلظت پرمترین مورد نیاز برای کشتن ۵۰ درصد از جرب‌های موجود در این مزارع، ۸ تا ۴۰ برابر غلظت مورد نیاز برای مزرعه کنترل منفی بود. به عبارتی، مصرف بی رویه و مداوم از پایرتروئیدها توسط برخی مرغداران، سبب وارد آوردن فشار انتخابی شدید و متعاقباً شکل‌گیری جمعیت‌های مقاوم شده بود (۴۷). در ایتالیا نیز، با جداسازی جمعیت جرب قرمز از مزارع طیور

تخم‌گذار و بررسی حساسیت آنان (با استفاده از کاغذ صافی آغشته به ترکیبات ضد کنه)، مشخص شد که در ۴۲ درصد از مزارع مورد بررسی، جمعیت جرب‌های قرمز حتی نسبت به غلظت‌های بالای پرمترین مقاوم شده‌اند (۵۲). همچنین طی بررسی ۸ ساله‌ای که بر روی حساسیت جرب‌های قرمز جدا شده از ۸۶ مزرعه در ایتالیا صورت گرفت، لامبدا سایهالوترین دارای کمترین اثربخشی (در مقایسه با فوکسیم و آمیتراز) بود. ۸۳/۳۳ درصد از جرب‌های تست شده در سال ۲۰۱۲، دارای مقاومت نسبی تا زیادی نسبت به لامبدا سایهالوترین بودند و میانگین اثربخشی این ترکیبات ضد کنه در طی دوره ۸ ساله، تنها برابر با ۵۸/۳۳ درصد بود (۵۰). در انگلستان، مرغداران مقاومت نسبت به پایرتروئیدها را بسیار رایج دانسته و با انجام آزمون برون‌تن، مشخص شد که مقاومت نسبت به سایپرمترین در تمامی مزارع مورد مطالعه، وجود دارد (۲۱). در ایران، با بررسی میزان حساسیت جرب‌های درمانیسوس گالینه جدا شده از مزارع تخم‌گذار در شهرهای مختلف آذربایجان غربی و شرقی، مشخص شد که سایپرمترین با متوسط اثر ۳۶/۳۸ درصد ضعیف‌ترین عملکرد را در بین سموم آزمایش شده دارد و مرغداری‌های واقع در اطراف شهرهای مراغه و بناب، بیشترین میزان تحمل در مقابل این سم را از خود نشان دادند (۵۳). در مطالعه‌ی دیگری، حداد زاده و همکاران (۱۳۸۰) پس از سم‌پاشی دلتامترین در یک واحد مرغداری تخم‌گذار آلوده به درمانیسوس گالینه، مشاهده نمودند که دلتامترین نتوانست آلودگی را کنترل کند؛ و اگرچه سم‌پاشی سبب کاهش نسبی تعداد جرب در سالن شد، اما این کاهش در مقایسه با میزان آلودگی قبل از سم‌پاشی از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (۵۴). مثال‌های زده شده در این بخش، نشان دهنده‌ی گستردگی مقاومت جرب‌های قرمز طیور، چه در کشورهای خارجه و چه در ایران، نسبت به پایرتروئیدها می‌باشند.

لاکتون‌های ماکروسیکلیک: آورمکتین‌ها، لاکتون‌های ماکروسیکلیکی هستند که از یک اکتینومیست به نام استرپتومایسس آورمایتیلیس (*Streptomyces avermitilis*) به دست آمده‌اند. ایجاد آورمکتین‌ها برمی‌گردد به جداسازی یک باکتری خاکزی جدید در آزمایشگاه‌های انستیتو کیتاساتو. در سال ۱۹۷۵، مشخص شد که این باکتری جدید، می‌تواند یک ماده ضد کرم قوی تولید کند، که این ماده شناسایی شده و در نهایت منجر به ساخت داروی ضد انگل شد (۵۵). دکتر ویلیام کمپبل و ساتوشی آمورا به خاطر اکتشافاتشان در این خصوص، در سال ۲۰۱۵ به صورت مشترک برنده جایزه نوبل فیزیولوژی و پزشکی شدند.

اولین لاکتون‌های ماکروسیکلیک به‌دست آمده برای کنترل انگل‌ها، آورمکتین (۸ مولکول مرتبط به هم، از جمله آبامکتین) و آیورمکتین بودند (۵۵). لاکتون‌های ماکروسیکلیک به طور کلی شامل دو نوع ترکیبات هستند: آورمکتین‌ها (شامل: آبامکتین، آیورمکتین، دورامکتین، اپرینومکتین، سلامکتین) و میلبمایسین‌ها (شامل موکسی‌دکتین، میلبمایسین و اوکسیم) که داروهای ضد انگل وسیع‌الطیفی هستند، و از آنان به صورت گسترده چه در مورد حیوانات خانگی و چه انسان به منظور کنترل انگل‌های داخلی و خارجی استفاده شده است (۵۶). آیورمکتین به‌عنوان یک آگونیست گابا عمل می‌کند. به عبارت روشن‌تر، انتقال دهنده‌ی عصبی گابا (برخلاف استیل کولین) از طریق مهار سیگنال‌های تحریکی، عمل کرده و این خاصیت مهاری، با استفاده از آیورمکتین و آبامکتین بیشتر می‌شود؛ زیرا این داروها باعث تحریک آزاد سازی گابا از نورون پیش‌سیناپسی شده و اتصال آن به گیرنده‌های پس‌سیناپسی گابا را افزایش می‌دهند.

این موضوع، از طریق افزایش جریان یون‌های کلراید، باعث القای هایپرپولاریزاسیون در غشای نورون پس‌سیناپسی شده و بر قابلیت پیام‌رسانی نورون اثر می‌گذارد (۴۵). همچنین مشخص شده است که این ترکیبات، از طریق اتصال به یک تحت واحد از گیرنده گلوتامات، باعث ایجاد فلجی شلی در انگل می‌شوند (۵۵). طبق بررسی‌ها در چین، ۶۳/۲ درصد از مزارع مرغ مادر و ۴/۹ درصد از مزارع تخم‌گذار تجاری، از آورمکتین‌ها (آیورمکتین یا آبامکتین) به تنهایی و یا در ترکیب با سایر ترکیبات ضد کنه، استفاده می‌کردند (۲۰). اکثر آنان، آبامکتین و یا آیورمکتین را به صورت پیوسته به مدت ۷ روز (به میزان ppm ۲-۱) به غذای پرنده اضافه می‌نمودند. این در حالی است که حتی تزریق داخل شکمی آیورمکتین در دوز mg/kg ۰/۶، برای کنترل جرب درمانیسوس گالینه ناکافی است و این دارو تنها در دوزهای بالا (بین mg/kg ۵/۴ -۱/۸) بر جرب درمانیسوس گالینه مؤثر است. گذشته از این، دوزهای مؤثر آیورمکتین، بسیار نزدیک به دوزهای توکسیک آن هستند (۵۷، ۵۸). اکثر افراد باور داشتند که چون آورمکتین‌ها دارای قدرت بالایی بر علیه انگل‌های خارجی در سایر حیوانات هستند، پس باید دارای قدرت بالایی برای از بین بردن جرب‌های طیور نیز باشند. باید در نظر داشت که استفاده‌ی غیر قانونی مرغداران از آورمکتین‌ها در پرندگان، می‌تواند باعث بروز مشکلات جدی از قبیل وجود باقیمانده دارویی و حتی مسمومیت شود (۲۰).

xu و همکاران (۲۰۱۹) سه عدد از لاکتون‌های ماکروسیکلیک به نام‌های اپرینومکتین، موکسی‌دکتین و آیورمکتین را به صورت خوراکی (با دوز mg/kg ۵) به جوجه‌ها تجویز کرده و به بررسی اثر این ترکیبات ضد کنه پرداختند. میزان اثربخشی در مورد موکسی‌دکتین برابر با ۴۵/۶۰ درصد، در مورد آیورمکتین برابر با ۷۱/۳۲ درصد و در مورد اپرینومکتین برابر با ۱۰۰ درصد بود. این داروها توانستند سبب کاهش معنی‌دار در قابلیت تولید مثلی جرب‌ها (تخم‌گذاری، باروری و تفریخ تخم‌ها) و آهسته‌تر شدن هضم غذا در آنان شوند (۵۶). به طور کلی، لاکتون‌های ماکروسیکلیک حتی با دوزهای کم (mg/kg ۰/۲-۰/۵) دارای اثر بخشی مطلوب در پستانداران هستند؛ اما دوز استفاده شده در مطالعه‌ی ایشان، بسیار بیشتر (۲۵-۱۰ برابر) از دوزهای استفاده شده برای کنترل جرب در پستانداران بود. طبق مطالعات، میزان اثر بخشی لاکتون‌های ماکروسیکلیک بر علیه جرب قرمز طیور، در مقایسه با جرب‌های پستانداران، پایین‌تر است (۵۷، ۵۸). این اختلاف می‌تواند به خاطر تفاوت در فارماکوکینتیک آنان (در پرندگان و پستانداران) و یا اختلاف در میزان حساسیت جرب‌ها نسبت به آنان باشد. هنوز مکانیسم دقیق مقاومت در برابر این ترکیبات مشخص نشده است. اما احتمالاً مکانیسم مقاومت جرب‌ها، مربوط به عدم حساسیت کانال‌های یون کلر GABA یا گلوتامات می‌باشد.

کاربامات‌ها: دسته‌ی دیگری از ترکیبات ضد کنه‌های پرمصرف، کاربامات‌ها هستند که از میان آنان می‌توان به کاباریل، متومیل، پروپوکسور، بندیوکارب اشاره کرد. این ترکیبات همانند سموم ارگانوفسفاته، از طریق مهار استیل‌کولین‌استراز، سبب فلجی و مرگ جرب می‌شوند. برخی از مطالعات به اثربخشی مناسب این ترکیبات اشاره کرده‌اند. در مطالعه‌ی صورت گرفته بر روی ۳۲ مزرعه‌ی تخم‌گذار در لهستان، مشخص شد که مؤثرترین ترکیبات برای مبارزه با جرب قرمز طیور، فوکسیم و بندیوکارب هستند (۵۹). همچنین به نظر می رسد که کاباریل با میانگین اثر ۷۰/۷۷ درصد، محصولی مؤثر بر علیه جرب قرمز طیور در ایران است (۵۳). اما مقاومت درمانیسوس گالینه

نسبت به کاربامات‌ها و پایرتروئیدها، به صورت گسترده‌ای از کشورهای انگلستان، سوئد، فرانسه و ایتالیا گزارش شده است (۱۰). همچنین مشخص شده است که حساسیت جدایه‌های فیلدی جرب قرمز طیور در اروپا و برزیل نسبت به پروپوکسور کاهش یافته است (۴۹) و در ایتالیا، جمعیت‌های جرب قرمز، در ۸۶ درصد از مزارع مورد بررسی، حتی نسبت به غلظت‌های بالای کاربارل مقاوم بوده‌اند (۵۲). طی مطالعه دیگری که بر روی میزان باقیمانده‌ی کاربارل در ۴۵ مرغ تخم‌گذار (۲۲۵ نمونه بافتی) از سه مزرعه ایتالیا صورت گرفت، مشخص شد که ۸۲/۲ درصد از مرغان مورد بررسی دارای باقیمانده‌ی کاربارل بودند و از ۲۲۵ نمونه بافتی، ۹۱ نمونه از از لحاظ وجود باقیمانده‌ی کاربارل، مثبت بودند. این در حالی است که استفاده از کاربارل در اتحادیه اروپا از سال ۲۰۰۷ ممنوع شده است. وجود این باقیمانده‌ها، زنگ خطری برای سلامت عمومی جامعه است و نشان می‌دهد که هنوز برخی از مرغداران، از این ترکیبات استفاده می‌کنند. لازم به ذکر است که به علت ساختار لیپوفیلیک و پایداری برخی از ترکیبات ضد کنه، پوست و چربی مرغان، پرخطرترین بافت‌ها برای تجمع این ترکیبات هستند (۶۰).

آمیتراز: آمیتراز یک ترکیب فورامیدینی با خواص ضد کنه‌ای است که برای بیش از ۳۰ سال مورد استفاده قرار گرفته و جزء مؤثرترین ترکیبات در میان ترکیبات ضد کنه‌های مختلف به حساب می‌آید (۳۸، ۵۲). در مطالعه صورت گرفته بر روی میزان حساسیت جرب‌های قرمز طیور (نسبت به آمیتراز، کاربارل و پرمترین) در ایتالیا، میزان اثربخشی آن در تمامی غلظت‌ها و در تمامی مزارع مورد بررسی (به جز یک مزرعه)، برابر با ۱۰۰ درصد بود، که این امر، نشان دهنده‌ی اثر بخشی بالای آن است (۵۲). همچنین در ایران، آمیتراز با میانگین اثر ۶۷/۸۶ درصد، عملکردی متوسط در از بین بردن جرب‌های جدا شده از مزارع تخم‌گذار داشت (۵۳). آمیتراز از طریق اثر بر گیرنده اوکتاپامین عمل می‌کند. بنابراین بروز تغییرات در این گیرنده، می‌تواند منجر به مقاومت جرب‌ها نسبت به آمیتراز شود (۳۸). همچون سایر ترکیبات ضد کنه، مقاومت نسبت به این ترکیب نیز دیده شده است. طی یک بررسی ۸ ساله در خصوص اثربخشی آمیتراز، فوکسیم و لامبدا سایهالوترین بر روی جرب قرمز طیور در ایتالیا، مشخص شد که آمیتراز (با میانگین اثربخشی ۸۰/۸۳ درصد) و فوکسیم، مؤثرترین ترکیبات ضد کنه بودند؛ اما میزان اثربخشی آمیتراز به صورت معنی‌داری در طی سال‌های ۲۰۱۲ الی ۲۰۱۵ کاهش یافت. در سال ۲۰۰۸، تمام جرب‌ها به آمیتراز کاملا حساس بودند و هیچ‌گونه جمعیت مقاومی نسبت به آن وجود نداشت اما در سال ۲۰۱۲، هیچ جمعیت کاملا حساسی نسبت به آمیتراز وجود نداشت و ۴۲/۸۶ درصد از جمعیت جرب‌ها، نسبت به آن مقاومت داشتند. باید گفت که آمیتراز، مجوز استفاده در مورد طیور را ندارد، بنابراین وجود مقاومت، می‌تواند نشان دهنده‌ی استفاده غیر قانونی و مکرر از آن در ایتالیا باشد. به علاوه، لازم به ذکر است که افزایش غلظت آمیتراز در سال ۲۰۱۲، سبب افزایش در میزان مرگ و میر جرب‌ها نشد (۵۰).

اسپینوساد: این ترکیبات ضد کنه، یک محصول به دست آمده از میکروارگانیسمی به نام *Saccharopolyspora spinosa* می‌باشد که در سال ۲۰۱۰ در بازارها عرضه شد (۱۰، ۶۱). اسپینوساد، مخلوطی از اسپینوسین A و D است. اسپینوسین A به گیرنده‌های استیل کولین در نورون پس‌سیناپسی متصل می‌شود و محل هدف اسپینوسین D، گیرنده‌های گابا (گاما آمینوبوتیریک اسید) است. بنابراین با تمرکز این ترکیبات ضد کنه بر دو گیرنده

مختلف، احتمال ایجاد مقاومت طبیعی بر علیه آن کاهش می‌یابد (۴۵). اثر ترکیبات ضد کنه‌ی این محصول بر جرب درمانیسوس گالینه، چه در شرایط برون‌تن و چه درون‌تن، به اثبات رسیده است (۶۲). Liebisch و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی اثربخشی اسپینوساد بر جرب قرمز طیور پرداختند. در سالن دریافت کننده‌ی اسپینوساد با غلظت ppm ۲۰۰۰، تقریباً ۱۰۰درصد کاهش در تعداد جرب‌ها (در طی ۲۸ روز پس از درمان) دیده شد و در سالن دریافت کننده‌ی این ترکیب با غلظت ppm۴۰۰۰، میزان کاهش در تعداد جرب‌ها (تا روز ۷۷) بالای ۹۰ درصد بود (۶۳). البته در مطالعه‌ی اخیر که به مقایسه‌ی اثر اسپینوساد با برخی از ترکیبات ضد کنه (از جمله فلورالانر) پرداخت، مشخص گردید که اگرچه جدایه‌های فیلدی نسبت به غلظت‌های ۲۰۰۰ الی ۴۰۰۰ ppm از اسپینوساد حساس بودند اما LC90 اسپینوساد در مورد جدایه‌ی آزمایشگاهی و جدایه‌های فیلدی اروپایی، تا ppm۴۰۰۰ رسید؛ این قضیه نشان می‌دهد که این ترکیب دارای قدرت کمتری نسبت به فلورالانر است (۴۹).

فلورالانر: روش مرسوم برای مقابله با جرب قرمز، استفاده از ترکیبات ضد کنه‌های مختلف به صورت اسپری یا پودر است. اما محدودیت‌هایی در این خصوص وجود دارد، از جمله آنکه ممکن است ترکیبات ضد کنه مورد نظر، نتواند در محل‌های اختفای جرب، به غلظت‌های کشنده‌ی خود دست یابد، استفاده از آن استرس‌آور می‌باشد، خطر ایجاد مقاومت و باقیمانده دارویی وجود داشته باشد و در نهایت کارگر مرغداری با ترکیبات ضد کنه مورد نظر مواجه شود (۶۴). بنابراین روش ارجح برای تجویز داروها، تجویز آنان به صورت خوراکی است. این روش، بسیار مؤثر و راحت بوده و جرب‌های موجود در سالن، در نهایت از طیور درمان شده، تغذیه کرده و بدین شکل دارو را دریافت می‌نمایند (۶۵). فلورالانر، یک ترکیب ایزوکسازولین و اولین محصول مجاز تولید شده به منظور استفاده در آب آشامیدنی با هدف مبارزه با جرب قرمز طیور است. از سال ۲۰۱۴ مشخص شد که این ترکیب دارای اثربخشی بسیار بالایی به منظور کنترل کنه و کک در حیوانات است. پس از تجویز، فلورالانر به سرعت جذب شده و حداقل تا ۱۵روز در پلاسما باقی می‌ماند (۶۶). فلورالانر توانست در سال ۲۰۱۷، برای کنترل جرب درمانیسوس گالینه در اتحادیه‌ی اروپا مجوز لازم را دریافت کند (۶۷). این ترکیب دارای فعالیتی دوگانه است که متمایز از عمل سایر ترکیبات ضد کنه‌ها است، بدین شکل که به صورت انتخابی، به محل‌های اتصالی مجزایی بر روی کانال‌های کلراید وابسته به لیگاند ال-گلوتامات و گابا (که به صورت گسترده‌ای در سیستم عصبی-عضلانی محیطی و اعصاب مرکزی کنه‌ها و حشرات وجود دارند) متصل شده و سبب فلجی و مرگ جرب می‌شود. (۶۸). علاوه بر این، حاشیه امنیت این محصول بالا بوده و دوره منع مصرف تخم‌مرغ آن برابر با صفر روز است (۶۶، ۶۹). Thomas و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی اثربخشی فیلدی فلورالانر در ۱۲ مزرعه‌ی تجاری در فرانسه، آلمان و اسپانیا پرداختند. این ترکیب به صورت خوراکی با دوز ۰/۵ mg/kg (دو بار به فاصله ۷ روز) از طریق آب آشامیدنی تجویز شد. سپس، میزان اثربخشی آن بر حسب تعداد جرب‌های به دست آمده (از تله‌های کار گذاشته شده) و استفاده از فرمول هندرسون-تیلتون (Henderson-Tilton formula) مشخص گردید. مطالعه ایشان نشان داد که میزان اثربخشی این ترکیب در روز ۳ برابر با ۹۵/۳ تا ۹۹/۸ درصد و میزان اثربخشی آن در روز ۹ برابر با ۹۷/۸ تا ۱۰۰ درصد بود. پس از آن، میزان اثر بخشی این ترکیب به مدت ۵۶ تا ۲۳۸ روز پس از قطع درمان، بالای ۹۰ درصد باقی ماند (۶۴). در

مطالعه دیگری، به مقایسه‌ی فعالیت فلورالانر و سایر ترکیبات ضد کنه‌های رایج (سایپرمترین، دلتامترین، فوکسیم، پروپوکسور و اسپینوساد) بر علیه ۱۳ جدایه‌ی به‌دست آمده از آلمان، فرانسه، اسپانیا و برزیل پرداخته شد و نتایج تست حساسیت تماسی نشان دادند که ظاهراً، حداقل یک مورد مقاومت نسبت به یکی از محصولات فوکسیم، دلتامترین، سایپرمترین و پروپوکسور در ۱۳ جدایه‌ی فیلدی وجود دارد، اما تمامی جدایه‌ها نسبت به فلورالانر به شدت حساس بودند. فلورالانر در تست خوراکی، تقریباً ۱۰۰۰ برابر فعال‌تر از تست تماسی است. قوی‌تر بودن فعالیت سیستمیک فلورالانر نسبت به فعالیت تماسی آن، از جهت نحوه تجویز نوآورانه‌ی این ترکیب (در آب آشامیدنی)، ارزشمند است (۴۹).

ترکیبات ضد کنه با منشاء گیاهی: استفاده مکرر و بی رویه از ترکیبات ضد کنه‌ی شیمیایی، مقاوم شدن جمعیت جرب‌های قرمز نسبت به آنان و وجود باقیمانده این محصولات در مواد غذایی دامی و محیط، از جمله نگرانی‌های موجود هستند. به همین علت، محققان همواره به دنبال یافتن ترکیبات ضد کنه‌ی طبیعی، جدید و ایمن، مخصوصاً با منشاء گیاهی بوده‌اند. به‌عنوان مثال، طی بررسی اثر اسانس ۱۱ گیاه بر روی جرب قرمز، مشخص شد که ریحان (*Ocimum basilicum*)، گشنیز (*Coriandrum sativum*)، نعنا فلفلی (*Mentha x piperita*) و مرزه (*Satureja hortensis*) مؤثرترین گیاهان هستند (۷۰).

تیمول و کارواکرول از جمله ترکیبات اصلی موجود در آویشن هستند که اثرات ضد کنه‌ای آنان به اثبات رسیده و به خصوص از کارواکرول به‌عنوان یک ضد کنه‌ی قوی بر علیه درمانیسوس گالینه یاد شده است (۷۱). به همین جهت، اثر سمیت ترکیبی کارواکرول و تیمول نیز مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که ترکیب کارواکرول و تیمول در نسبت ۴ به ۱، خاصیت سینرژیستیک داشته و دارای بالاترین اثربخشی بر علیه جرب قرمز طیور، در مقایسه با سایر نسبت‌ها می‌باشد (۷۲). در مطالعه دیگری، Rajabpour و همکاران (۲۰۱۸) اثر ضد کنه‌ای عصاره‌های کنوکارپوس (*Conocarpus erectus*)، خرفه پرپهن (*Portulaca oleracea*) و پسته کوهی (*Pistacia atlantica*) را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان دادند که اگرچه سمیت تمام عصاره‌ها از آبامکتین کمتر است، اما عصاره‌ی کنوکارپوس، دارای اثر دور کنندگی بر جرب درمانیسوس گالینه بوده و می‌توان از آن به عنوان یک ترکیب ضد کنه‌ی ایمن در مرغداری‌ها استفاده نمود (۷۳). طی مطالعه‌ی Tabari و همکاران (۲۰۲۰) بر روی اسانس ۷ گیاه، مشخص شد که اسانس میخک صدپر با LC90 برابر با 19.7 µg/mL، قوی‌ترین ترکیب ضد کنه بر علیه جرب قرمز در آزمون سمیت تماسی است. این درحالی است که LC90 پرمترین برابر با 210.2 µg/mL بود. از طرفی، اسانس سرخالو (*Litchi chinensis*) توانست سبب مرگ و میر ۸۰ درصد از جرب‌ها شده و به‌عنوان قوی‌ترین عامل در سمیت فاز بخار شناخته شود. میخک صدپر و سرخالو دارای فعالیت ماندگارتری نسبت به سایر گیاهان بودند و خواص آنان را می‌توان به ترتیب، به وجود اوژنول و سزکویی‌ترپن‌های موجود در آنان نسبت داد (۷۴). در مطالعه‌ی دیگری، Amer و همکاران (۲۰۲۰) به ارزیابی اثر یک مخلوط از روغن‌های گیاهی شامل: سیر، میوه گل رز، کلزا و پلی‌سوربات، بر روی جرب قرمز طیور پرداختند. در بررسی برون‌تن این ترکیب، مرگ و میر ۱۰۰ درصد در جرب‌ها مشاهده شد. همچنین با استفاده آشامیدنی از این ترکیب، تعداد جرب‌های بدن پرنده در روزهای ۴، ۷ و ۱۲، به ترتیب به ۰، ۱۰ و ۶۰ درصد کاهش یافتند. بر اساس این نتایج، می‌توان این مخلوط گیاهی بسیار

مـؤثر را بـه‌عنـوان جـایگزینی ایمـن بـرای ترکیبـات شـیمیایی در نظـر گرفـت (۷۵). یکـی از منـابع مـورد توجـه بـرای تولیـد محصـولات ضـد کنـه بـا منشـاء گیـاهی، درخـت چـریش (*Azadirachta indica*) اسـت. محصـولات مبتنـی بـر چـریش، حـاوی ترکیبـاتی از جملـه آزادیـراختین (azadirachtin) و سـالانین (salanin) هسـتند کـه دارای اثـرات فعـال بـر علیـه جـربهـا و حشـرات مـی‌باشـند. در ایـن راسـتا، Camarda و همکـاران (۲۰۱۸) بـه بررسـی اثـر یـک محصـول جدیـد مبتنـی بـر روغـن چـریش در یـک مزرعه مرغ تخم‌گـذار پرداختنـد. پـس از سـه بـار تجـویز ایـن محصـول بـه صـورت نبـولایز، جمعیـت جـربهـای قرمـز بـه میـزان ۹۹/۸۰ درصـد کـاهش یافـت و اثـرات آن بـه مـدت بـیش از ۲ مـاه ادامـه داشـت (۷۶). در مجمـوع، آفـت‌کـش‌هـای گیـاهی مـی‌تواننـد جـایگزینی مناسـب و ایمـن بـرای ترکیبـات شـیمیایی باشـند، امـا لازم اسـت تـا مطالعـات بیشـتری در خصـوص روش مناسـب اسـتفاده، دوز صـحیح و کـارایی آنـان در شـرایط بـالینی صـورت گیـرد. در جـدول ۱، بـه سـایر مطالعـات صـورت گرفتـه در خصـوص ترکیبـات ضـدکنه اشـاره شده است.

جدول ۱- ترکیبات ضد کنه‌ی مختلف، نحوه اثر و سایر مطالعات صورت گرفته در خصوص آنها

گروه ترکیب ضد کنه	مکانیسم عمل	ترکیبات	اثر بر جرب درمانیسوس گالینه	منابع
ترکیبات ارگانوکلره	اتصال به جایگاه پیکروتوکسینین در کمپلکس گابا	DDT	در بررسی برون‌تن،DDT با LC50 برابر با ۱۵۱۴ $\mu g/m^2$، بر جرب قرمز بی‌اثر بود.	(۴۴)
		HCH	در بررسی برون‌تن، HCH با LC50 برابر با ۲۸۵۷۰ $\mu g/m^2$، بر جرب قرمز بی‌اثر بود.	
ترکیبات ارگانوفسفاته	مهار استیل‌کولین-استراز	دی‌کلوروس	در بررسی برون‌تن، دی کلوروس با LC50 برابر با ۰/۰۲ w/v بر روی جرب‌ها فعال بود و هیچ‌گونه مقاومتی نسبت به آن دیده نشد.	(۴۷)
			طی بررسی برون‌تن ۱۱ ترکیب ضد کنه بر روی جرب‌های قرمز به دست آمده از ۵ منطقه در کره جنوبی، مشخص شد که دی‌کلوروس، به جز در یک منطقه، دارای اثر بخشی ۱۰۰ درصدی بر جرب قرمز است.	(۷۷)
		متریفونات	تله‌های آغشته به ۲ درصد متریفونات در خارج از دسترس مرغ‌های تخم‌گذار و در محل تجمع جرب درمانیسوس گالینه قرار گرفته و هر دو روز درمیان به مدت دو هفته تعویض شدند. مشخص شد که این استراتژی بسیار مؤثر بوده و توانست سبب ۹۹ درصد کاهش در تعداد جرب‌های قرمز شود.	(۷۸)
		فنیتروتیون	در بررسی برون‌تن ، LC50 فنیتروتیون برابر با ۶۷۲/۱ $\mu g/m^2$ بوده و نسبت به آن مقاومت وجود داشت.	(۴۴)
		فوکسیم	سالن مرغداری ۲ بار (به فاصله ۷ روز) با محلول ۲۰۰۰ ppm فوکسیم، اسپری شد. ۳ روز پس از اولین اسپری، اثر بخشی فوکسیم برابر با ۹۶،۱ درصد و در روز ۷ (پس از اسپری دوم) تا آخر آزمایش (در روز ۴۹)، اثر بخشی این محصول بیش از ۹۹درصد بود. در سالن درمان نشده، جمعیت جرب‌ها به میزان ۴۰۰درصد افزایش یافت.	(۴۶)
پایرتروئیدها	اثر بر روی کانال‌های سدیمی حساس به ولتاژ	دلتامترین	در بررسی برون‌تن، دلتامترین با LC50 برابر با ۷/۸ $\mu g/m^2$، سمی‌ترین پایرتروئید تست شده بر جرب قرمز بود.	(۴۴)
		پرمترین	در بررسی برون‌تن، LC50 پرمترین برابر با ۰/۰۶ -۰/۲۸ w/v بود و تمامی جرب‌های قرمز مورد مطالعه، نسبت به آن مقاوم بودند.	(۴۷)
		بایفنترین	طی بررسی برون‌تن صورت گرفته در کره جنوبی، حتی زمانی که بایفنترین ۱۰۰ بار رقیق شد، فعالیت ضد کنه‌ای بالایی (۱۰۰ درصد) بر جرب قرمز طیور داشت.	(۷۷)
		سایپرمترین ، فلووالینات و سیفلوترین	طی مطالعه برون‌تن Katsavou و همکاران (۲۰۲۰) که بر روی ۵۳ جمعیت جرب قرمز طیور (از ۱۵ کشور اروپایی) صورت گرفت. مشخص شد که LC50 هر سه ترکیب، بیش از ۱۰۰۰ mg a.i./L است و مقاومت بسیار شدیدی در جرب‌های قرمز یونان نسبت به این ترکیبات، مشاهده شد. (مقاومتی که بیش از ۱۰ هزار برابر، بیشتر از سویه آزمایشگاهی حساس بود).	(۷۹)
لاکتون‌های ماکروسیکلیک	آگونیست گابا، اتصال به گیرنده	آیورمکتین	طی مطالعه Arisova (۲۰۲۰)، یک داروی مبتنی بر آیورمکتین با دوز ۰/۴ ml/L در آب آشامیدنی ماکیان، ۲ بار به فاصله ۲۴ ساعت تجویز گردید. این دارو، یکبار دیگر در روز ۱۴ آزمایش نیز تجویز شد و	(۸۰)

	گلوتامات.		میزان اثربخشی آن برابر با ۹۵/۶ ٪ بود.	
		آیورمکتین، سلامکتین و موکسی-دکتین	سه گروه قناری آلوده به درمانیسوس گالینه، با این سه دارو تحت درمان قرار گرفتند. بدین صورت که از داروها به صورت موضعی در زیر کتف قناری‌ها استفاده شد. اما هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین سه گروه درمانی مشاهده نشد. در نهایت، نویسنده معتقد است که می‌توان این ترکیبات را به‌عنوان داروهایی مؤثر بر جرب قرمز در قناری در نظر گرفت.	(۸۱)
کاربامات‌ها	مهار استیل‌کولین-استراز	کاربارایل	در این مطالعه برون‌تن، کاربارایل با LC90 برابر با ۰/۸۳ ppm، دومین ترکیب سمی و مؤثر بر جرب قرمز طیور (به‌دست آمده از لانه کبوتران) بود.	(۸۲)
			طی بررسی برون‌تن در کره جنوبی، مشخص شد که کاربارایل در اکثر نواحی (به جز شهر گیونگجو) فعالیت ضد کنه‌ای ۱۰۰ درصدی بر جرب قرمز طیور دارد.	(۷۷)
		پروپوکسور	در این مطالعه برون‌تن (تست تماسی) LC90 سه جدایه‌ی فیلدی جرب قرمز از ۱۰۰۰ ppm فراتر رفته بود که بیانگر کاهش حساسیت آنان به پروپوکسور می‌باشد.	(۴۹)
		بندیوکارب	با بررسی برون‌تن صورت گرفته، بندیوکارب با LC90 برابر با ۰/۱۸ ppm، مؤثرترین ترکیب بر جرب قرمز (به‌دست آمده از لانه کبوتران) بود.	(۸۲)
آمیتراز	اثر بر گیرنده اوکتاپامین	آمیتراز	طی این مطالعه برون‌تن، آمیتراز با LC50 برابر با ۴۰/۸ $\mu g/m^2$، بر جرب قرمز نسبتاً مؤثر بود.	(۴۴)
اسپینوساد	اسپینوسین A: گیرنده استیل‌کولین. اسپینوسین D: گیرنده گابا.	اسپینوساد	اسپینوساد در آزمایش برون‌تن بسیار مؤثر بوده و در دوز ۳/۸۸ g/L ، اثر آن تا ۲۱ روز باقی ماند. طی آزمایش درون‌تن، تنها با یک‌بار استفاده از اسپینوساد (چه به میزان ۱/۹۴ g/L و چه ۳/۸۸ g/L)، اثرات آن بر جرب، در طول آزمایش (۲۸ روز) باقی ماند. و بیشترین اثربخشی آن در روز ۱۴ پس از اسپری بود. استفاده از این محصول اثری بر تولید تخم‌مرغ و یا وزن مرغان نداشت و میتوان از آن به صورت مؤثری حتی در هنگام حضور مرغان نیز استفاده نمود.	(۶۲)
فلورالانر	اتصال به کانال-های کلراید وابسته به ال-گلوتامات و گابا.	فلورالانر	فلورالانر پس از تجویز در دوز ۰/۵ mg/kg (دو بار به فاصله ۷ روز به صورت آشامیدنی)، به سرعت جذب شده و حداقل تا ۱۵ روز در پلاسما باقی می‌ماند که این مدت زمان، مطابق با ۲ چرخه زندگی جرب است. این مدت زمان، آنقدر کافی است که بتواند سبب شکسته شدن چرخه زندگی جرب و کاهش جمعیت آن به میزان بیش از ۹۹٪ شود.	(۶۶)
ترکیبات ضد کنه با منشاء گیاهی	مکانیسم‌های متفاوت (بسته به گونه‌ی گیاه و مواد موجود در آن).	چریش (*Azadirachta indica*)	اثر محصولی مبتنی بر عصاره دانه چریش بر روی جرب‌های قرمز، مورد بررسی برون‌تن قرار گرفت. بدین منظور کاغذ صافی با ۴۰۰ µl از محلول (دوز ۷ $\mu l/cm^2$) مرطوب شد. تماس دائمی با این ترکیب، دارای اثربخشی ۱۰۰ درصد بر جرب‌ها بود. ظاهراً هیچ‌گونه مقاومتی نسبت به این ترکیب مشاهده نشد و دوزهای پایین آن هم دارای اثربخشی بالایی بودند.	(۳۷)
		اجوان (*Trachyspermum ammi*)	در ارزیابی برون‌تن صورت گرفته توسط Baran و همکاران (۲۰۲۰)، سایپرمترین، اسانس گیاه اجوان و تیمول توانستند در غلظت ۵۰ $\mu g/cm^2$ سبب مرگ و میر بیش از ۹۰ ٪ در جرب‌ها شوند. اما عصاره الکلی گیاه در غلظت ۱۵۰ $\mu g/cm^2$ توانست به این میزان دست یابد. طبق این مطالعه، اجوان دارای اثرات ضدکنه‌ای رضایت بخشی است.	(۸۳)
		سیر (*Allium sativum*)	طی این مطالعه درون‌تن، عصاره سیر ۲ بار (در روزهای ۱ و ۸) در مزرعه مرغان تخم‌گذار اسپری شده و برای سنجش میزان اثربخشی آن، از تله‌های مقوایی استفاده شد. این عصاره موفق عمل کرده و اثربخشی آن در از بین بردن جرب درمانیسوس گالینه (پس از ۲ بار اسپری) برابر با ۹۶/۴۷ درصد بود.	(۳۶)

بحث و نتیجه‌گیری

علی‌رغم وجود راهکار جدید در سال‌های اخیر، هنوز پر مصرف‌ترین ترکیبات برای کنترل آلودگی با جرب قرمز طیور، ترکیبات ضد کنه‌های سنتتیک هستند. با این وجود، محصولات بسیار کمی برای تجویز در مزارع طیور، مجوز گرفته‌اند. به‌عنوان مثال استفاده از ترکیباتی از قبیل کاربارایل، فنیتروتیون، دی کلوروس و پروپوکسور از سال ۲۰۰۷ در اتحادیه‌ی اروپا ممنوع شده است (۱۰) و در حال حاضر، اسپینوساد، فوکسیم و فلورالانر، تنها محصولاتی هستند که برای مصرف در حضور حیوان، در اکثر کشورهای اروپایی، مجوز گرفته‌اند (۵۰). امروزه ایجاد مقاومت نسبت به ترکیبات ضد کنه، به یک چالش بزرگ تبدیل شده و با توجه به

اثرات اقتصادی عظیم درمانیسوس گالینه، تلاش‌های بسیاری برای مرتفع ساختن آلودگی با آن صورت گرفته است. عوامل مؤثر بر میزان حساسیت آفات را می‌توان به طور کلی در سه دسته‌ی عوامل بیولوژیک (از جمله پتانسیل تولید مثلی، توزیع، دامنه‌ی میزبانی)، عوامل ژنتیکی (ازجمله حضور ژن‌های مقاومت) و عوامل عملیاتی (از جمله طیف فعالیت ترکیبات ضد کنه، میزان استفاده، میزان پوشش و دفعات درمان با آن) قرار داد. در این میان، درمانیسوس گالینه دارای پتانسیل بالایی برای مقاوم شدن به ترکیبات ضد کنه‌های مختلف است، چراکه اندازه‌ی جمعیت آن بسیار بالاست، پتانسیل تولید مثلی بالایی دارد، قابلیت پخش زیادی دارد و نسبتاً دارای دامنه‌ی میزبانی بالقوه‌ی وسیعی است. از سوی دیگر، اکثر ترکیبات ضد کنه بر روی یک محل هدف خاص، فعال هستند که این امر، به صورت بالقوه، یک فاکتور مهم در پدیدار شدن جرب‌های مقاوم نسبت به آنان می‌باشد (۵۰). به همین جهت توصیه شده است تا از ترکیبات ضد کنه‌ای با مکانیسم عمل متفاوت به صورت چرخشی استفاده شود (۳۸). مبرهن است که در صورت استفاده نادرست، بی رویه و غیر قانونی از برخی ترکیبات ضد کنه، جمعیت‌های مقاوم جرب درمانیسوس گالینه در یک منطقه شکل می‌گیرند. در این حالت، علی‌رغم صرف هزینه، آلودگی از بین نرفته و همچنان در مزرعه باقی می‌ماند. از سوی دیگر، برخی از مرغداران، به گمان افزایش اثربخشی یک ترکیب ضد کنه، غلظت آن را بالا می‌برند که این امر، می‌تواند منجر به حضور باقیمانده‌ی آن ترکیبات در محصولات طیور و متعاقباً انتقال آنان به انسان شود (۳۹، ۶۰).

غلظت، یکی از مسائل مهم در استفاده از ترکیبات ضد کنه‌ها است و باید در نظر داشت که استفاده از غلظت‌های کم و یا زیاد ترکیبات ضد کنه، می‌تواند سبب شکل‌گیری جمعیت‌های مقاوم شود. به همین علت توصیه می‌شود تا مرغداران، همواره از غلظت توصیه شده توسط شرکت سازنده استفاده نمایند. برخی گمان دارند که لزوماً با افزایش غلظت یک ترکیب ضد کنه، میزان فعالیت جرب‌کشی آن افزایش می‌یابد. اما مشخص شده است جمعیت‌های مقاوم جرب قرمز طیور، حتی در غلظت‌های بالای ترکیبات ضد کنه نیز متأثر نمی‌شوند (۵۰). بنابراین، باید مرغداران را در ارتباط با این موضوع آگاه ساخت تا از مصرف بی‌رویه و نادرست ترکیبات ضد کنه‌ها اجتناب شود.

از سوی دیگر اسپری کردن ترکیبات ضد کنه در بین دو دوره‌ی تولید، یک امر ضروری و بسیار مؤثر در کاهش و یا حتی حذف انگل‌های خارجی می‌باشد. اما در چین، تنها ۲۴٫۸ درصد از مزارع تخم‌گذار تجاری و ۳۶٫۱ درصد از مزارع مادر، در بین دو دوره، اقدام به استفاده از ترکیبات ضد کنه می‌کنند (۲۰). از سوی دیگر، به دلایل مختلفی از جمله عدم تأثیر اکثر ترکیبات ضد کنه‌ها بر تخم جرب‌ها، امکان عدم مواجه کافی جرب با ترکیبات ضد کنه در نوبت اول درمان و مخفی شدن جرب در درز و شکاف‌های سالن مرغداری، احتمال عود آلودگی پس از نوبت اول درمان وجود دارد. در نتیجه لازم است تا یک الی دو هفته پس از درمان اول، درمان دوم صورت گیرد. اما در چین ۳۴٫۶ درصد از مزارع تخم‌گذار و ۲۵٫۷ درصد از مزارع مادر، پرندگان خود را در طی دو هفته پس از درمان اول، مورد درمان ثانویه قرار نمی‌دهند، که این امر می‌تواند یکی از دلایل اصلی عدم موفقیت آنان در کنترل انگل‌های خارجی باشد (۲۰). بنابراین، آموزش مرغداران را باید به‌عنوان یک اصل مهم در کنترل جرب درمانیسوس گالینه در نظر گرفت. در حال حاضر، مدیریت یکپارچه‌ی آفات، رعایت اصول امنیت زیستی و نظارت بر آلودگی، به‌عنوان بهترین

روش‌های موجود برای کنترل جرب قرمز طیور در نظر گرفته شده و می‌توان با مدیریت صحیح، استفاده از ترکیبات ضد کنه‌های مؤثر در غلظت مناسب، نظارت منظم بر استفاده از ترکیبات ضد کنه، انجام مطالعات متعدد و مستمر به منظور شناسایی زود هنگام مقاومت و چرخش در استفاده از ترکیبات ضد کنه، میزان بروز مقاومت نسبت به ترکیبات ضد کنه‌ها را کاهش داد (۳۸). پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری در خصوص اثرات جرب قرمز طیور در ایران صورت گیرد تا میزان خسارات حاصله و الگوی مقاومت آن نسبت به ترکیبات ضد کنه‌های مختلف در مناطق مختلف ایران مشخص گردد و بتوان با مدیریت یکپارچه‌ی آفات، میزان آلودگی با جرب مذکور را تا حد امکان کاهش داد.

References

1- Chauve C. The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778): current situation and future prospects for control. *Vet Parasitol.*1998; 79(3): 239–45.

2- Rahbari S, Nabian S, Ronaghi H. Haematophagus Mites in Poultry Farms of Iran. *Iran J Arthropod Borne Dis*. 2009; 3(2): 18–21.

3- Maurer V, Bieri M, Folsch DW. Das Suchverhalten von *Dermanyssus gallinae* in Huhnerstallen. Host-finding of *Dermanyssus gallinae* in poultry houses. *Arch Geflugelk*. 1988; 52: 209-15.

4- Nakamae H, Fujisaki K, Kishi S, Yashiro M, Oshiro S, Furuta K. The new parasitic ecology of chicken mites *Dermanyssus gallinae*, parasitizing and propagating on chickens even in the daytime. *Jpn Poult Sci*. 1997; 34(2): 110-16.

5- Maurer V, Baumgartner J. Temperature influence on life table statistics of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Exp Appl Acarol. 1992; 15(1): 27–40.

6- Hoglund J, Nordenfors H, Uggla A. Prevalence of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, in different types of production systems for egg layers in Sweden. Poult Sci. 1995; 74(11): 1793-98.

7- Axtell RC. Poultry integrated pest management; status and future. *Integr Pest Manag Rev*.1999; 4: 53–73.

8- Kilpinen O, Roepstorff A, Permin A, Norgaard-Nielsen G, Lawson LG, Simonsen HB. Influence of *Dermanyssus gallinae* and *Ascaridia galli* infections on behaviour and health of laying hens (*Gallus gallus domesticus*). Br Poult Sci. 2005; 46(1): 26-34.

9- Nordenfors H, Hoglund J, Uggla A. Effects of temperature and humidity on oviposition, molting, and longevity of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *J Med Entomol*. 1999; 36(1): 68-72.

10- Sparagano OAE, George DR, Harrington DW, Giangaspero A. Significance and control of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. Annu Rev Entomol. 2014; 59: 447-66.

11- Mul MF. Advancing Integrated Pest Management for *Dermanyssus gallinae* in laying hen facilities. Wageningen University; 2017.

12- George DR, Finn RD, Graham KM, Mul MF, Maurer V, Moro CV, Sparagano OAE. Should the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* be of wider concern for veterinary and medical science? Parasit Vectors. 2015; 25; 8:178.

13- De Luna CJ, Arkle S, Harrington D, George DR, Guy JH, Sparagano OAE. The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* as a potential carrier of vector-borne diseases. Ann NY Acad Sci. 2008; 1149: 255–8.

14- Van Emous R. Wage war against the red mite. Poult Int. 2005; 44: 26-33.

15- Cosoroaba I. Massive *Dermanyssus gallinae* invasion in battery-husbandry raised fowls. Rev Med Vet. 2001; 152: 89-96.

16- Kowalski A, Sokół R. Influence of *Dermanyssus gallinae* (poultry red mite) invasion on the plasma levels of corticosterone, catecholamines and proteins in layer hens. Pol J Vet Sci. 2009; 12(2):231-5.

17- Tomley FM, Sparagano O. Spotlight on avian pathology: red mite, a serious emergent problem in layer hens. Avian Pathol. 2018; 47 (6); 533–535.

18- Van Emous R. Verwachtte schade bloedluis 21 miljoen euro. [Internet]. Netherlands; Available from:

https://www.pluimveeweb.nl/artikel/163578-verwachtte-schade-bloedluis-21-miljoen-euro/. Updated 2017 januari 17.

19- Sparagano O, Pavlicevic A, Murano T, Camarda A, Sahibi H, Kilpinen O, *et al.* Prevalence and key figures for the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* infections in poultry farm systems. Exp Appl Acarol. 2009; 48(1-2): 3-10.

20- Wang FF, Wang M, Xu FR, Liang DM, Pan BL. Survey of prevalence and control of ectoparasites in caged poultry in China. Vet Rec. 2010; 167(24): 934–7.

21- Fiddes MD, Le Gresley S, Parsons DG, Epe C, Coles GC, Stafford KA. Prevalence of the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) in England. Vet Rec. 2005; 157(8): 233-5.

22- Guy JH, Khajavi M, Hlalel MM, Sparagano O. Red mite (*Dermanyssus gallinae*) prevalence in laying units in northern England. Br Poult Sci. 2004; 45 (Suppl.): 15-6.

23- Cencek T. Prevalence of *Dermanyssus gallinae* in poultry farms in Silesia Region in Poland. Bull Vet Inst Pulawy. 2003; 47: 465–469.

24- Mul M. Fact sheet: The Poultry Red Mite, *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) A small pest that packs a big punch [Internet]. Wageningen UR Livestock Research; Available from: https://www.researchgate.net/publication/258553789_Fact_sheet_Poultry_Red_Mite_in_Europe, uploaded on 2014 May 21.

25- Eslami A, Ghaemi P, Rahbari S. Parasitic Infections of Free –Range Chickens from Golestan Province, Iran. Iranian J Parasitol. 2009; 4(3): 10-14.

26- Razmi GR, Moaveni M, Kalidari GA. Epidemiological study of *Dermanyssus gallinae* infestation in egg laying flocks of Mashhad area, Iran. 4th National Symposium of Poultry Health and Diseases, Iran. 2008; P: 329-331 [In Persian].

27- Roy L ,Chauve CM. Historical review of the genus Dermanyssus Duges, 1834 (Acari: Mesostigmata: *Dermanyssidae*). Parasite. 2007; 14(2): 87-100.

28- Declerq J, Nachtegaele L. *Dermanyssus gallinae* infestation in a dog. Canine Pract. 1993; 18(4): 34-6.

29- Grant DI. Parasitic skin diseases in cats. J Small Anim Pract. 1989; 30(4): 250–4.

30- Mignon B, Losson B. Dermatitis in a horse associated with the poultrymite (*Dermanyssus gallinae*). Vet Dermatol. 2008; 19(1): 38-43.

31- Allymehr M, Tavassoli M, Manoochehri MH, Ardavan D. Ectoparasites and gastrointestinal helminths of house mice (*Mus musculus*) from poultry houses in northwest Iran. Comp Parasitol. 2012; 79(2): 283–7.

32- Cafiero MA, Barlaam A, Camarda A, Radeski M, Mul M, Sparagano O, *et al.* *Dermanysuss gallinae* attacks humans. Mind the gap. Avian Pathol. 2019; 48(sup1): S22-S34.

33- Dogramaci AC, Culha G, Ozçelik S. *Dermanyssus gallinae* infestation: an unusual cause of scalp pruritus treated with permethrin shampoo. J Dermatolog Treat. 2010; 21(5): 319-21.

34- Abdigoudarzi M, Mirafzali MS, Belgheiszadeh H. Human Infestation with *Dermanyssus gallinae* (Acari: *Dermanyssidae*) in a Family Referred with Pruritus and Skin Lesions. J Arthropod-Borne Dis. 2014; 8(1): 119-123.

35- Cafiero MA, Galante D, Camarda A, Giangaspero A, Sparagano O. Why dermanyssosis should be listed as an occupational hazard. Occup Environ Med. 2011; 68(8): 628.

36- Faghihzadeh Gorji S, Faghihzadeh Gorji S, Rajabloo M. The field efficacy of garlic extract against *Dermanyssus gallinae* in layer farms of Babol, Iran. Parasitol Res. 2014; 113(3): 1209-13

37- Abdel-Ghaffar F, Semmler M, Al-Rasheid K, Mehlhorn H. In vitro efficacy of ByeMite and MiteStop on developmental stages of the red chicken mite *Dermanyssus gallinae*. Parasitol Res. 2009; 105(5): 1469-71.

38- Abbas RZ, Colwell DD, Iqbal Z, Khan A. Acaricidal drug resistance in poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) and approaches to its management. World's Poult Sci J. 2014; 70(1): 113-124.

39- Ahmad R, Salem NM, Estaitieh H. Occurrence of organochlorine pesticide residues in eggs, chicken and meat in Jordan. Chemosphere. 2010; 78(6): 667-71.

40- Cohn BA, Wolff MS, Cirillo PM, Sholtz RI. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. Environ Health Perspect. 2007; 115(10):1406-14.

41- Longnecker MP, Rogan WJ, Lucier G. The human health effects of DDT (dichlorodiphenyl trichloroethane) and PCBS (polychlorinated biphenyls) and an overview of organochlorines in public health. Annu Rev Public Health. 1997; 18: 211-44.

42- Perveen F. Insecticides- Advances in Integrated Pest Management. Rijeka: InTech; 2011, P: 251-254.

43- Tao S, Liu WX, Li XQ, Zhou DX, Li X, Yang YF, *et al.* Organochlorine pesticide residuals in chickens and eggs at a poultry farm in Beijing, China. Environ Pollut. 2009; 157(2): 497-502.

44- Zeman P, Zelezný J. The susceptibility of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778), to some acaricides under laboratory conditions. Exp Appl Acarol. 1985; 1(1):17-22.

45- Pritchard J, Kuster T, Sparagano O, Tomley F. Understanding the biology and control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*: a review. Avian Pathol. 2015; 44(3): 143-53.

46- Meyer-Kühling B, Pfister K, Müller-Lindloff J, Heine J. Field efficacy of phoxim 50% (ByeMite) against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* in battery cages stocked with laying hens. Vet Parasitol. 2007; 147(3-4): 289-96.

47- Beugnet F, Chauve C, Gauthey M, Beert L. Resistance of the red poultry mite to pyrethroids in france. Vet Rec. 1997; 140(22): 577-9.

48- Nordenfors H, Hoeglund J. Long-term dynamics of *Dermanyssus gallinae* in relation to control measures in aviary systems for layers. Br Poult Sci. 2000; 41(5): 533-40.

49- Thomas E, Zoller H, Liebisch G, Alves LFA, Vettorato L, Chiummo RM, *et al.* In vitro activity of fluralaner and commonly used acaricides against *Dermanyssus gallinae* isolates from Europe and Brazil. Parasit Vectors. 2018; 11(1): 361.

50- Pugliese N, Circella E, Cocciolo G, Giangaspero A, Horvatek Tomic D, Kika TS, *et al.* Efficacy of λ-cyhalothrin, amitraz, and phoxim against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* De Geer, 1778 (Mesostigmata: Dermanyssidae): an eight-year survey. Avian Pathol. 2019; 48(sup1): S35-S43.

51- Davies TG, Field LM, Usherwood PN, Williamson MS. DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. IUBMB Life. 2007; 59(3): 151-62.

52- Marangi M, Cafiero MA, Capelli G, Camarda A, Sparagano OAE, Giangaspero A. Evaluation of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: *Dermanyssidae*) susceptibility to some acaricides in field populations from Italy. Exp Appl Acarol. 2009; 48(1-2): 11-8.

53- Alimehr M, Tavassoli M, Yousefian E. Susceptibility of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: *Dermanyssidae*) isolated from the layer farms to some acaricides. Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences. 2018; 11(2): 121-129 [In Persian].

54- Hadadzadeh HR, Torabi Goudarzi M, Rezaeian M. Evaluation of the effect of deltamethrin on dermanysus gallinae in an egg layer house in qom province in iran. Scientific-research Iranian veterinary journal. 2001; 4 (7): 29-35 [In Persian].

55- Campbell WC. History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic lactone antiparasitic agents. Curr Pharm Biotechnol. 2012; 13(6): 853-65.

56- Xu X, Wang C, Zhang S, Huang Y, Pan T, Wang B, *et al.* Acaricidal efficacy of orally administered macrocyclic lactones against poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) on chicks and their impacts on mite reproduction and blood-meal digestion. Parasit Vectors. 2019; 12(1): 345.

57- Zeman P. Systemic efficacy of ivermectin against *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) in fowls. Vet Parasitol. 1987; 23(1-2): 141-6.

58- Ash LS, Oliver JH Jr. Susceptibility of *Ornithodoros parkeri* (Cooley) (Acari: *Argasidae*) and *Dermanyssus gallinae* (DeGeer) (Acari: *Dermanyssidae*) to ivermectin. J Med Entomol. 1989; 26(3): 133-9.

59- Cencek T, Zdybel J, Włodarczyk-Ramus M, Karamon J, Dempkowska-Kutrzepa M, Roczeń-Karczmarz, M. In vitro evaluation of the effectiveness of commercially available acaricides against the populations of red mites (*dermanyssus gallinae*) occurring in poland. 3rd COST conference, Portugal, 2017. P: 44.

60- Marangi M, Morelli V, Pati S, Camarda A, Cafiero MA, Giangaspero A. Acaricide Residues in Laying Hens Naturally Infested by Red Mite *Dermanyssus gallinae*. PLoS ONE. 2012; 7(2): e31795.

61- Kirst HA. The spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research. J Antibiot. 2010; 63(3): 101–11.

62- George DR, Shiel RS, Appleby WG, Knox A, Guy JH. In vitro and in vivo acaricidal activity and residual toxicity of spinosad to the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. Vet Parasitol. 2010; 173(3-4): 307-16.

63- Liebisch G, Hack R, Smid GA. Efficacy of spinosad against the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Mesostigmata: *Dermanyssidae*), in laboratory and field trials. Zoosymposia. 2011; 6: 282-7.

64- Thomas E, Chiquet M, Sander B, Zschiesche E, Flochlay AS. Field efficacy and safety of fluralaner solution for administration in

drinking water for the treatment of poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) infestations in commercial flocks in Europe. Parasit Vectors. 2017; 10(1): 457.

65- Brauneis MD, Zoller H, Williams H, Zschiesche E, Heckeroth AR. The acaricidal speed of kill of orally administered fluralaner against poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) on laying hens and its impact on mite reproduction. Parasit Vectors. 2017; 10(1): 594.

66- Dolz, R. Introduction of exzolt (fluralaner 10 mg/ml solution) a new product for treatment of poultry red mite infestation in chickens. 3rd COST conference, Portugal. 2017. P: 26.

67- European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Veterinary Use [Internet]. United Kingdom ;Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_ assessment_report/veterinary/004344/WC500236953.pdf. Accessed 12 June 2018.

68- Gassel M, Wolf C, Noack S, Williams H, Ilg T. The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: selective inhibition of arthropod γ-aminobutyric acid and L glutamate gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. Insect Biochem Mol Biol. 2014; 45: 111–24.

69- Prohaczik A, Menge M, Huyghe B, Flochlay-Sigognault A, Le Traon G. Safety of fluralaner oral solution, a novel systemic antiparasitic treatment for chickens, in laying hens after oral administration via drinking water. Parasit Vectors. 2017; 10(1): 363.

70- Magdaş C, Cernea M, Baciu H, Şuteu E. Acaricidal effect of eleven essential oils against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: *Dermanyssidae*). Sci Parasitol. 2010; 11(2): 71-75.

71- Tabari MA, Youssefi MR, Barimani A, Araghi A. Carvacrol as a potent natural acaricide against *Dermanyssus gallinae*. Parasitol Res. 2015; 114(10): 3801-3806.

72- Masoumi F, Youssefi MR, Tabari MA. Combination of carvacrol and thymol against the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). Parasitol Res. 2016; 115(11): 4239-4243.

73- Rajabpour A, Mashhadi ARA, Ghorbani MR. Acaricidal and repellent properties of some plant extracts against poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Mesostigmata: *Dermanyssidae*). Persian J Acarol. 2018; 7(1): 85–91.

74- Tabari MA, Rostami A, Khodashenas A, Maggi F, Petrelli R, Giordani C, *et al.* Acaricidal activity, mode of action, and persistent efficacy of selected essential oils on the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). Food Chem Toxicol. 2020; 138: 111207.

75- Amer AM, Amer MM, Mekky HM, Fedawy HS. Effect of Combined Plant Essential Oils on *Dermanyssus gallinae*: In vitro and in vivo study. World Vet J. 2020; 10(2): 199-206.

76- Camarda A, Pugliese N, Bevilacqua A, Circella E, Gradoni L, George D, *et al.* Efficacy of a novel neem oil formulation (RP03™) to control the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. Med Vet Entomol. 2018; 32(3): 290-297.

77- Lee SJ, Yoon JU, Park GH, Kim HK, Kim GH. Evaluation of susceptibility of red poultry mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: *Dermanyssidae*) in Five regions to 11 acaricides. Korean J Appl Entomol. 2017; 56(4): 427-434.

78- Chirico J, Tauson R. Traps containing acaricides for the control of *Dermanyssus gallinae*. Vet Parasitol. 2002; 110(1-2): 109-116.

79- Katsavou E, Vlogiannitis S, Karp-Tatham E, Blake DP, Ilias A, Strube C, *et al.* Identification and geographical distribution of pyrethroid resistance mutations in the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. Pest Manag Sci. 2020; 76(1): 125-133.

80- Arisova GB. Efficacy of Ivermectin-Based Drugs against Ectoparasites in Broiler Chickens. World Vet J. 2020; 10(2): 160-164.

81- Todisco G, Paoletti B, Giammarino A, Manera M, Sparagano OA, Iorio R, *et al.* Comparing therapeutic efficacy between ivermectin, selamectin, and moxidectin in canaries during natural infection with *Dermanyssus gallinae*. Ann N Y Acad Sci. 2008; 1149(1): 365-367.

82- Fletcher MG, Axtell RC. Susceptibilities of northern fowl mite, *Ornithonyssus sylviarum* (Acarina: *Macronyssidae*), and chicken mite, *Dermanyssus gallinae* (Acarina: *Dermanyssidae*), to selected acaricides. Exp Appl Acarol. 1991; 13(2): 137-142.

83- Baran AI, Jahanghiri F, Hajipour N, Sparagano OAE, Norouzi R, Moharramnejad S. In vitro acaricidal activity of essential oil and alcoholic extract of *Trachyspermum ammi* against *Dermanyssus gallinae*. Vet Parasitol. 2020; 278: 109030.

A review on control and treatment of poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*)

Amir Asghari Baghkheirati, Seyed Mostafa Peighambari*

Department of Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

Receive: July 16, 2020; Revise: August 28, 2020; Accept: September 17, 2020

Summary

Poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, is the most important haematophagus ectoparasite in layer and breeder flocks in many countries. Infestation with this obligate parasite, is very common and according to the epidemiological reports, 83 percent of the European farms are infested with this parasite. Also, *D. gallinae* has been described as the most prevalent and important pest of poultry in Iran. Infestation with red mite can lead to reduced egg production, stress, immunosuppression, feather pecking, cannibalism, anaemia and death. Besides, It has been established that this mite can transmit some pathogens like *Salmonella*. Furthermore, infestation of human with *D. gallinae* has been increasingly reported from different countries, including Iran. Although diverse methods have been reported for control of this mite in poultry houses, the main approach has been relied on the use of synthetic acaricides. The objectives of this review study were to investigate the various aspects of the *D. gallinae* infestation, describe different acaricides and evaluate the effects of each acaricide on this parasite.

Key words: *Acaricides, Dermanyssus gallinae, Ectoparasite, Poultry, Red mite.*

بررسی فنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *کورینه باکتریوم سودوتوبرکلوزیس* جدا شده از گوسفندان مبتلا به لنفادنیت پنیری شهرستان بینالود مشهد

رضا محمد زاده[۱]، حمید رضا فرزین[۲*]، مجید جمشیدیان مجاور[۳]

۱- دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور مشهد، مشهد، ایران.
۲،۳- استادیار موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، ایران.

دریافت مقاله: ۲۵ مرداد ۱۳۹۹، بازنگری: ۱۲ شهریور ۱۳۹۹، پذیرش نهایی: ۱۵ شهریور ۱۳۹۹

چکیده

لنفادنیت پنیری یک بیماری عفونی پوستی بسیار شایع در بین گوسفندان و بزها در سراسر جهان است که عامل این بیماری باکتری *کورینه باکتریوم پسودوتوبرکلوزیس* است. ایجاد این بیماری در بین دام‌ها همواره ضررهای اقتصادی چشمگیری به همراه دارد. در این مطالعه تعداد ۴۰ نمونه از آبسه‌های موجود در موارد دام زنده و لاشه‌های کشتارگاه دام در شهرستان مشهد و بینالود مورد بررسی قرار گرفت. جهت نمونه‌گیری از عقده‌های لنفاوی دارای تورم و چرک، به وسیله سرنگ نمونه از داخل غدد متورم به مقدار حدود ۱ سی‌سی جمع‌آوری شد و سرنگ حاوی نمونه در کنار یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده به محیط کشت BHI براث انتقال داده شدند و پس از تأیید توسط تست‌هایی از قبیل رنگ‌آمیزی گرم ، تست کاتالاز و تشخیص از روی پرگنه باکتری، دیسک‌گذاری جهت تعیین میزان مقاومت و حساسیت جدایه‌ها به روش کربی بائر انجام شد. بررسی تعیین میزان حساسیت و مقاومت در جدایه‌های مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میزان مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک داکسی سایکلین (۷۲/۵ درصد) بود و کمترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سولفامتوکسازول تری‌متوپریم (۱۷/۵ درصد) بود. روش دیسک دیفیوژن آگار می‌تواند به عنوان یک روش غربالگری اولیه و ابتدایی جهت تعیین میزان مقاومت و حساسیت استفاده گردد لذا برای بررسی دقیق میزان مقاومت جدایه‌ها می‌توان از روش ژنوتیپی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: لنفادنیت پنیری، *کورینه باکتریوم پسودوتوبرکلوزیس*، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

[*] پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: hrfarzin@yahoo.com

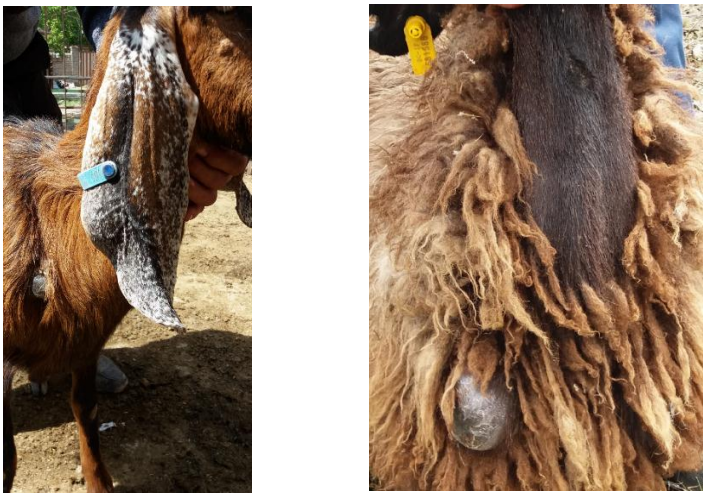
مقدمه

بیماری لنفادنیت پنیری یک بیماری پوستی مزمن می‌باشد که به صورت آبسه‌های جلدی در غدد لنفاوی و اندام‌های احشایی بز و گوسفند نمایان می‌گردد که غالباً این ضایعات دارای چرک سبز و یا سفیدرنگ می‌باشند. درگیری اندام‌های داخلی به خصوص ریه‌ها، شایع‌ترین ویژگی لنفادنیت پنیری در گوسفند است، در حالی که بیماری در بزها اغلب توسط جذب در گره‌های لنفاوی سطحی تظاهر می‌نماید (۱، ۲، ۳). این بیماری در سرتاسر جهان سبب خسارات شدیدی در تولید پشم، گوشت، شیر و کاهش باروری گوسفند و بز می‌گردد (۴). این بیماری یک عفونت مزمن باکتریایی است که عامل آن *کورینه باکتریوم پسودوتوبرکلوزیس* می‌باشد (۵). *کورینه باکتریوم پسودوتوبرکلوزیس* باکتری گرم مثبت چند شکلی دارای اشکال نامنظم مانند حروف چینی و یا چماق مانند می‌باشد. این باکتری یک داخل سلولی اختیاری است و در شاخه *اکتینوباکتریا* قرار می‌گیرد (۶، ۷). مقاومت آنتی‌بیوتیکی بدین معنا است که میکروب‌های بیماری‌زایی که برای مبارزه با آنها از آنتی‌بیوتیک استفاده می‌شود، نسبت به یک یا بیش از یک آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دهند و نسل‌های جدیدی را به وجود بیاورند که دیگر قادر به مبارزه با آنها نمی‌باشیم (۸، ۹). از دیدگاه سلولی و مولکولی، اکثر داروهای ضد میکروبی به یکی از چهار طریق فوق اثر خود را نشان می‌دهند ممانعت از سنتز دیواره‌ی سلولی، ایجاد تغییراتی در تراوائی غشاء سلولی و یا جلوگیری از انتقال فعالانه‌ی مواد از طریق غشاء، ممانعت از سنتز پروتئین‌ها و جلوگیری از سنتز اسید نوکلئیک (۱۰). این مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در حیوانات، از طریق گوشت یا دیگر محصولات وارد زنجیره غذایی انسان می‌شوند. به همین دلیل است که مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی یک تهدید برای سلامت انسان و حیوان به شمار می‌آید و باید جدی گرفته شود (۱۱، ۱۲).

هدف از انجام این پژوهش بررسی فنوتیپی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *کورینه باکتریوم سودو توبرکلوزیس* جدا شده از گوسفندان شهرستان بینالود مشهد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۴۰ نمونه از آبسه‌های موجود در موارد دام زنده (گوسفند و بز) و لاشه‌های کشتارگاه دام (گوسفند و بز) در شهرستان مشهد و بینالود مورد بررسی قرار گرفت. جهت نمونه‌گیری از عقده‌های لنفاوی دارای تورم و چرک، به وسیله سرنگ نمونه از داخل غدد متورم به مقدار حدود ۱ سی‌سی جمع‌آوری شد و سرنگ حاوی نمونه در کنار یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده به محیط کشت BHI براث (مرک-آلمان) انتقال داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردیدند. پس از طی مدت زمان انکوباسیون تمامی نمونه‌ها بر روی محیط کشت بلاد آگار (مرک-آلمان) انتقال داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند پس از طی مدت زمان انکوباسیون پلیت‌های حاوی کلنی‌های سفید رنگ انتخاب گردیدند و برای تأیید این جدایه‌ها تست‌هایی از قبیل رنگ‌آمیزی گرم و تست اکسیداز انجام شد. جدایه‌های تأیید شده توسط تست‌های فوق برای انجام مقاومت آنتی‌بیوتیکی انتخاب گردیدند.



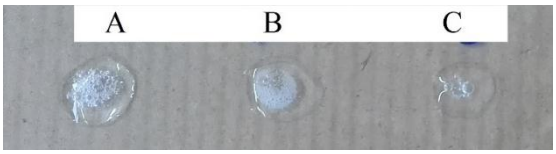
شکل ۱- محل نمونه‌گیری جدایه‌های مورد مطالعه

بررسی فنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه

جهت تعیین میزان حساسیت و مقاومت ایزوله‌های جدا شده از ۴۰ مورد تأیید شده از آبسه‌های موجود در موارد دام زنده و لاشه‌های کشتارگاه دام مبتلا به لنفادنیت پنیری در برابر آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، سولفامتوکسازول تری متوپریم (۲۵ میکروگرم)، کلیسیتین (۱۰ میکروگرم)، داکسی سایکلین (۳۰ میکروگرم)، فلورفنیکل (۳۰ میکروگرم)، تتراسایکلین ۳۰ میکروگرم) ،کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، انروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، اکسی تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم) و تایلوزین (۳۰ میکروگرم)، (کرج- پادتن طب) آنتی بیوگرام به روش یعنی دیسک دیفیوژن آگار صورت پذیرفت. در این روش که روش معمولی و رایج است باکتری مورد نظر را بر روی محیط کشت اختصاصی کشت داده و پس از طی مدت زمان انکوباسیون یک کلنی از هر جدایه را انتخاب نموده و به محیط مایع مولر هینتون براث (مرک-آلمان) انتقال داده و پس از رسیدن به کدورت نیم مک فارلند با استفاده از سوآب استریل از محیط مایع برداشته و به صورت چمنی بر روی محیط مولر هینتون آگار (مرک-آلمان) کشت داده شدند و سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مورد مطالعه با فاصله‌ی مناسب با کمک پنس استریل بر روی محیط قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه، مقاومت یا حساسیت را بر اساس اندازه‌گیری منطقه عدم رشد بررسی نموده و نتایج آن با کمک جدول NCCLS و European تفسیر گردید همچنین از سویه‌های استاندارد استرپتوکوک و استافیلوکوک به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (۱۳، ۱۴، ۱۵).

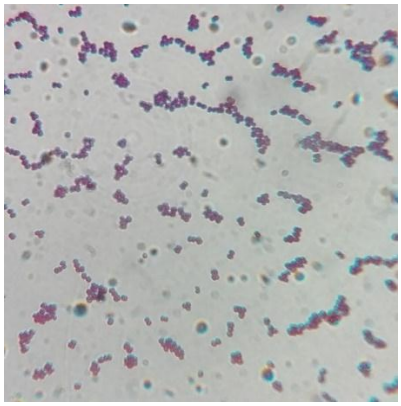
نتایج

نتیجه تست کاتالاز: کاتالاز آنزیمی است که H2O2را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند H2O2 یکی از محصولات نهایی اکسیداسیون در متابولیسم کربوهیدرات است. ایجاد حباب‌های سریع و ماندگار با حالت جوش زدن (کف) نشانگر مثبت بودن این تست است.



شکل ۲- نمونه‌های A,B,C اکسیداز مثبت

نتیجه رنگ‌آمیزی گرم



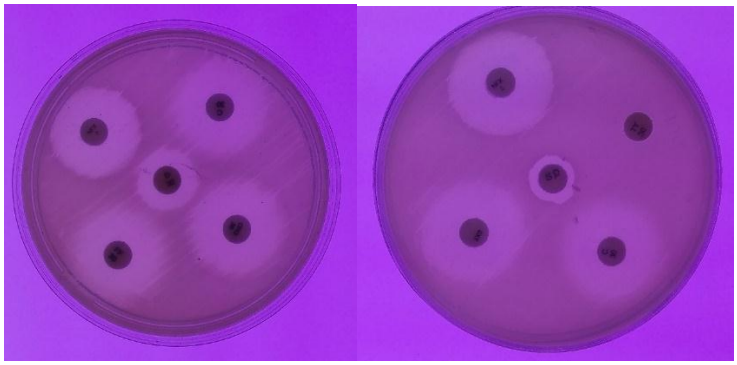
شکل ۳- اشکال شبه کوکسی باکتری *کورینه باکتریوم سودوتوبرکلوزیس* در رنگ‌آمیزی گرم

نتایج میزان حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های مورد مطالعه:

بررسی تعیین میزان حساسیت و مقاومت در جدایه‌های مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میزان مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های داکسی سایکلین (۷۲/۵ درصد) و تتراسایکلین (۷۰ درصد) بود و کمترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک های سولفامتوکسازول تری متوپریم (۱۷/۵ درصد) و سفتریاکسون (۲۲/۵ درصد) بود. همچنین در بررسی میزان حساسیت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک فوق بیشترین میزان حساسیت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک سولفامتوکسازول تری متوپریم بوده و کمترین آن متعلق به داکسی سایکلین بوده است.

جدول ۱- نتایج میزان حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های مورد مطالعه

آنتی بیوتیک	مقاوم	حساس	نیمه حساس
سفتریاکسون	۲۲/۵ درصد	۵۲/۵ درصد	۲۵ درصد
سولفامتوکسازول تری متوپریم	۱۷/۵ درصد	۷۰ درصد	۱۲/۵ درصد
کلیسیتین	۶۵ درصد	۲۵ درصد	۱۰ درصد
داکسی سایکلین	۷۲/۵ درصد	۱۲/۵ درصد	۱۵ درصد
تایلوزین	۶۰ درصد	۳۵ درصد	۵ درصد
فلورفنیکل	۱۵ درصد	۵۸ درصد	۲۷ درصد
تتراسایکلین	۷۰ درصد	۳۰ درصد	۰ درصد
کلرامفنیکل	۳۷ درصد	۶۰ درصد	۳ درصد
انروفلوکساسین	۲۵ درصد	۷۰ درصد	۵ درصد



شکل ۴- بررسی فنوتیپی میزان حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های مورد مطالعه

بحث و نتیجه‌گیری

کورینه باکتریوم سودوتوبرکلوزیس یک پاتوژن گرم مثبت داخل سلولی است که مسئول ایجاد چندین بیماری از جمله لنفادنیت پنیری می‌باشد. این باکتری در نشخوار کنندگان کوچک سبب ایجاد بیماری لنفادنیت پنیری، در بوفالو سبب بیماری پوستی Oedematous، در اسب باعث زخم لنفانژیت، در گاو سبب ورم پستان و در انسان لنفادنیت نکروز کننده می‌گردد (۱۶).

بررسی تعیین میزان حساسیت و مقاومت در جدایه‌های مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میزان مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های داکسی سایکلین (۷۲/۵ درصد) و تتراسایکلین (۷۰ درصد) بود و کمترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک های سولفامتوکسازول تری متوپریم (۱۷/۵ درصد) و سفتریاکسون (۲۲/۵ درصد) بود. همچنین در بررسی میزان حساسیت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک فوق بیشترین میزان حساسیت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک سولفامتوکسازول تری‌متوپریم بوده و کمترین آن متعلق به داکسی سایکلین بوده است.

ROBAJ و همکاران در سال ۲۰۱۷ به بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *کورینه باکتریوم سودوتوبرکلوزیس* جدا شده از ۳۸ گوسفند پرداختند. در این پژوهش به بررسی فنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین و اسیدکلاوولانیک، اکسی تتراسایکلین، جنتامایسین، پنی‌سیلین، استرپتومایسین، تری متوپریم و کلوکساسیلین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین بوده و بیشترین حساسیت جدایه‌ها مربوط به آنتی‌بیوتیک تری‌متوپریم بوده است (۱۷).

Rizk و همکاران در سال ۲۰۱۶ به بررسی فنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ۱۲۶ جدایه جدا شده از گوسفند و بز پرداخت. در این مطالعه میزان مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، نئومایسین، آمیکاسین، اریترومایسین، استرپتومایسین، متی‌سیلین و نووبیوسین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده در این پژوهش بیانگر این بود که بیشترین مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین بوده و بیشترین میزان حساسیت نیز مربوط به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین بود (۱۸).

Li و همکاران در سال ۲۰۱۸ در چین به بررسی عوامل حدت و همچنین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم، سفتریاکسون، استرپتومایسین، کانامیسین، کلاریترومایسین، لووفلوکساسین، روکسیترومایسین، جنتامایسین، تتراسایکلین، کلرامفنیکل، لینومایسین، نیتروفورانتوئین، فورازولیدون،

وانکومایسین، نورفلوکساسین، سفادین، مینوسیکلین، آموکسی‌سیلین، سفوکسیتین، تری‌متوپریم و سفی‌پیم در جدایه‌های *کورینه باکتریوم سودوتوبرکلوزیس* به‌دست آمده از بز پرداختند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ۱۰۰ درصد جدایه‌ها دارای مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های نیتروفورانتوئین و فورازولیدون بودند. در بررسی میزان حساسیت جدایه‌ها تمامی آنها به آنتی‌بیوتیک‌های سفیپیم، وانکومایسین، نورفلوکساسین و سفادین حساسیت ۱۰۰ درصدی نشان داده بودند (۱۹).

روش دیسک دیفیوژن آگار می‌تواند به عنوان یک روش غربالگری اولیه و ابتدایی جهت تعیین میزان مقاومت و حساسیت استفاده گردد، لذا برای بررسی دقیق میزان مقاومت جدایه‌ها می‌توان از روش ژنوتیپی استفاده کرد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله نویسندگان از کارکنان آزمایشگاه تحقیقات مؤسسه" تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی "شعبه شمال شرق کشور که از هیچ کوششی در راستای انجام این مطالعه دریغ ننمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1- Rebouças MF, Portela RW, Lima DD, Loureiro D, Bastos BL, Moura-Costa LF, Vale VL, Miyoshi A, Azevedo V, Meyer R. *Corynebacterium pseudotuberculosis* secreted antigen-induced specific gamma-interferon production by peripheral blood leukocytes: potential diagnostic marker for caseous lymphadenitis in sheep and goats. *Journal of veterinary diagnostic investigation*. 2011; 23(2): 213-20.

2- Rizk AM, El-Tawab A, Awad A, AFIFI SE, Mohamed SR. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in small ruminant and molecular study of virulence and resistance genes in Beni-Suef Governorate. *Benha Veterinary Medical Journal*. 2019; 37(1):122-7.

3- Hussain SA, Ali M, Turkar S, Hassan N, Rais-ul-Islam M, Dar LM. Caseous lymphadenitis in goats: First report of two clinical cases from Punjab (India). *Microbiologia*. 2013; 39: 44-6.

4- Arsenault J, Girard C, Dubreuil P, Daignault D, Galarneau JR, Boisclair J, Simard C, Bélanger D. Prevalence of and carcass condemnation from maedi–visna, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada. *Preventive veterinary medicine*. 2003; 59(1-2): 67-81.

5- Baird GJ, Fontaine MC. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. *Journal of comparative pathology*. 2007; 137(4): 179-210.

6- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. *Veterinary medicine*. 2007; 10: 2045-50.

7- Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Hartigan P, Fanning S, Fitzpatrick E. Veterinary microbiology and microbial disease. John Wiley & Sons; 2011 Oct 7.

8- Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, douglas, and bennett's principles and practice of infectious diseases: 2-volume set. *Elsevier Health Sciences*; 2014 Aug 28.

9- Davis MA, Besser TE, Orfe LH, Baker KN, Lanier AS, Broschat SL, New D, Call DR. Genotypic-phenotypic discrepancies between antibiotic resistance characteristics of *Escherichia coli* isolates from calves in management settings with high and low antibiotic use. *Applied and environmental microbiology*. 2011; 77(10): 3293-9.

10- Carroll KC, Butel J, Morse S. Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology 27 E. McGraw Hill Professional; 2015 Aug 12.

11- Amiri M, Farzin H, Jamshidian-Mojaver M. Phenotypic and Genotypic Study of Antibiotic Resistance among *Escherichia coli* Isolates from Human Urinary Infection Cases in Bojnord Province. *Avicenna Journal of Clinical Medicine*. 2019; 26(3): 173-80.

12- Lee JC, Oh JY, Cho JW, Park JC, Kim JM, Seol SY, Cho DT. The prevalence of trimethoprim-resistance-conferring dihydrofolate reductase genes in urinary isolates of *Escherichia coli* in Korea. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001; 47(5): 599-604.

13- Jones RN, Stilwell MG, Wilson ML, Mendes RE. Contemporary tetracycline susceptibility testing: doxycycline MIC methods and interpretive criteria (CLSI and EUCAST) performance when testing Gram-positive pathogens. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2013; 76(1): 69-72.

14- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2015). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters.

15- Sariadji K, Sunarno S, Puspandari N, Sembiring M. Antibiotic susceptibility pattern of *Corynebacterium diphtheriae* isolated from outbreaks in Indonesia 2010-2015. *The Indonesian Biomedical Journal*. 2018; 10(1): 51-58.

16- Viana MV, Figueiredo H, Ramos R, Guimaraes LC, Pereira FL, Dorella FA, Selim SA, Salaheldean M, Silva A, Wattam AR, Azevedo V. Comparative genomic analysis between *Corynebacterium pseudotuberculosis* strains isolated from buffalo. PLoS One. 2017; 12(4):e0176347.

17- Robaj AV, Hamidi A, Bytyqi HY, Sylejmani D. Frequency and antimicrobial susceptibility of bacterial isolates from caseous lymphadenitis in sheep in Kosovo. *Bulgarian J Agri Sci*. 2017; 23(6): 1033-6.

18- Rizk AM, El-Tawab A, Awad A, AFIFI SE, Mohamed SR. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in small ruminant and molecular study of virulence and resistance genes in Beni-Suef Governorate. Benha *Veterinary Medical Journal*. 2019; 37(1): 122-7.

19- Li H, Yang H, Zhou Z, Li X, Yi W, Xu Y, Wang Z, Hu S. Isolation, antibiotic resistance, virulence traits and phylogenetic analysis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from goats in southwestern China. *Small Ruminant Research*. 2018; 168: 69-75.

Antibiotic resistance phenotype study in *Corinne bacterium pseudotuberculosis* isolates isolated from sheep with cheese lymphadenitis in Binalood city of Mashhad

Mohamadzadeh R[1], Farzin H*[2], Jamshidian-Mojaver M[3]

1- Graduate of Biochemistry, Faculty of Science, Payame Noor University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2,3- Assistant Professor-Mashhad Branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran.

Receive: August 15, 2020; Revise: September 2, 2020; Accept: September 5, 2020

Summary

Cheese lymphadenitis is a very common skin infectious disease among sheep and goats around the world caused by the bacterium *Corinne bacterium Pseudotuberculosis*. The development of this disease among livestock always causes significant economic losses. In this study, 40 samples of abscesses in live animal cases and carcasses of animal slaughterhouses in Mashhad and Binalood were examined. To sample swollen and purulent lymph nodes, a sample of about 1 cc was collected from the swollen glands by a sample syringe and the sample containing the sample was transferred to the laboratory along with ice. The collected samples were transferred to BHI culture medium and after confirmation by tests such as hot staining, catalase test and detection from bacterial strain, discing was performed to determine the resistance and sensitivity of the isolates by Kirby Baer method. Examination of the sensitivity and resistance of the studied isolates showed that the highest resistance of the isolates to Doxycycline antibiotics (72/5%) and the lowest resistance to Trimethoprim/Sulfamethoxazole antibiotics (17.5%). Also, in the study of the sensitivity of isolates, the highest sensitivity of isolates to antibiotics was enrofloxacin and the lowest was Chloramphenicol. The agar diffusion disc method can be used as a primary and primary screening method to determine the level of resistance and sensitivity, so a genotypic method can be used to accurately assess the resistance of the isolates.

Keywords: *Antibiotic resistance, caseous lymphadenitis, Corinne bacterium pseudotuberculosis*

تعیین گروه‌های فیلوژنتیک *اشریشیا کلی*‌های جدا شده از عفونت کلی‌باسیلوزیس طیور با استفاده از روش Multiplex-PCR

داود تربیت نازلو[۱]، ابوالفضل جعفری ثالث*[۱]، یاشار باقری‌زاده[۱]، محبوبه عبدلی سنجانی[۱]، فرهاد فرهادی[۲]، مهدی ازدیادی[۲]

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران
۲- بخش تحقیق و توسعه، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی(AREEO)، کرج، ایران

دریافت مقاله: ۱۸ آذر ۱۳۹۶، بازنگری: ۴ دی ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۲۳ بهمن ۱۳۹۶

چکیده

در میان بیماری‌های ایجاد شده توسط *اشریشیا کلی*، نوعی بیماری سیستمیک حاد به نام کلی‌سپتی‌سمی وجود دارد که با حضور *اشریشیا* در خون، کلونیزه شدن در ارگان‌ها شامل قلب، کبد و طحال مشخص می‌شود. هدف از این مطالعه طبقه‌بندی *اشریشیا کلی* جدا شده از عفونت کلی‌باسیلوزیس طیور و بر اساس گروه‌های فیلوژنتیک A ،B1، B2 و D می‌باشد. در این مطالعه ۸۰ سواپ اخذ شده از کبد و محوطه بطنی طیور بر روی محیط مک کانکی آگار کشت داده شدند. کلونی‌های صورتی رنگ جداسازی شده و با انجام آزمون‌های بیوشیمیایی به عنوان *اشریشیاکلی* تأئید شدند. سپس با انجام Multiplex-PCR گروه‌های مختلف فیلوژنتیکی شناسایی گردیدند. از بین ۸۰ نمونه ۲۱ جدایه به عنوان *اشریشیا کلی* شناسایی شدند. ۸ جدایه متعلق به گروه A (۳۸ درصد)، ۲ جدایه متعلق به گروه B1 (۵۹ درصد)، ۶ جدایه متعلق به گروه B2 (۶/۲۸) درصد و ۵ جدایه متعلق به گروه D2 (۸/۲۳ درصد) بودند. بر اساس نتایج مطالعه حاضر گروه‌های مختلف فیلوژنتیک در گله‌های مرغ مادر مشاهده گردید. اغلب آنها در گروه A قرار گرفتند که به عنوان همزیست مطرح می‌باشند. مطالعات نشان می‌دهد که *اشریشیا کلی* پاتوژنیک دارای میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی قابل ملاحظه‌ای می‌باشد که ممکن است به طرق مختلف به گله‌های گوشتی انتقال یابد و منجر به تحمیل خسارت اقتصادی به صنعت طیور گردد. بنابراین گام‌های مهمی باید جهت ریشه‌کنی *اشریشیا کلی* پاتوژنیک برداشته شود.

واژه‌های کلیدی: *اشریشیا کلی، طیور، کلی‌باسیلوز، گروه فیلوژنتیک*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: a.jafari_1392@yahoo.com

مقدمه

اشریشیاکلی به طور طبیعی ساکن دستگاه گوارش حیوانات و انسان است که اکثراً به عنوان یک بیماری‌زای فرصت‌طلب محسوب می‌شود (۱). در پرندگان حدود ۱۵- ۱۰ درصد از جمعیت *اشریشیا کلی* (Avian pathogenic Escherichia coli APEC) دارای قدرت بیماری‌زایی بوده که اغلب به‌دنبال آسیب‌دیدگی سیستم ایمنی و یا تضعیف سد دفاعی پرندگان اهلی، باعث ایجاد عفونت‌های سیستمیک یا مزمن می‌شود (۴-۲). کلی‌باسیلوز طیور یکی از بیماری‌های عفونی پرندگان است که باکتری *اشریشیا کلی* عامل بیماری‌زای اولیه یا ثانوی آن است. بیماری‌های ناشی از این عامل شامل: بیماری هجرز ، کلی گرانولوما، تورم صفاق، تورم مجرای تخم ، التهاب غشای مفاصل ، ورم ناف و تورم کیسه‌های هوایی می‌باشند (۲).

کلی‌باسیلوز در تمام انواع و سنین مختلف طیور و همچنین در سایر پرندگان و بسیاری از پستانداران بروز می‌کند. واگیری‌های گزارش شده در طیور غالباً در ماکیان ، بوقلمون و اردک بروز کرده است. عفونت در پرندگان جوان رایج‌تر از بالغها است. این بیماری در سرتاسر دنیا شایع می‌باشد. به هرحال عفونت با *اشریشیاکلی* از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و در دنیا سالانه ضررهای اقتصادی قابل توجهی را به صنعت طیور کشورها به دلیل افزایش تلفات و افزایش حذف لاشه در فرآیند بازرسی کشتارگاهی تحمیل می‌کند (۵).

مطالعات فیلوژنتیک اخیر نشان می‌دهد که *اشریشیا کلی*‌های پاتوژن خارج روده‌ای اکثراً متعلق به گروه B2 و به میزان کمتر به گروه D متعلق می‌باشند، نتایج حاصل از تایپینگ نمونه‌های حاصل از عفونت‌های ادراری این موضوع را تأیید می‌کند (۶-۷). تحقیقات چندانی در کشور در این خصوص صورت نپذیرفته است. ارزیابی فیلوژنتیکی و تکاملی عوامل ایجاد کننده بیماری‌ها می‌تواند در شناخت هر چه بهتر آنها و راهکارهای مقابله با این عوامل کمک‌کننده باشد. هدف از مطالعه حاضر طبقه‌بندی *اشریشیاکلی* جدا شده از عفونت کلی‌باسیلوزیس طیور و بررسی غالبیت گروه فیلوژنتیک موجود در چنین عفونت‌هایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۸۰ عدد نمونه شامل سواب چرک ناحیه صدری و صفاقی از طیور مرغ مادر مشکوک به کلی‌باسیلوز با علائم بالینی مربوطه در شرایط استریل از مرغداری‌ها، بیمارستان‌های طیور و آزمایشگاه‌های سطح شهر ارومیه اخذ گردید. نمونه‌ها پس از أخذ بلافاصله به آزمایشگاه جهت انجام مراحل کشت و جداسازی انتقال یافت. سواب‌ها در محیط مک‌کانگی‌آگار (Merk 1.05465.0500, Germany) کشت داده شدند و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردیدند. کلونی‌های صورتی به روش گرم رنگ آمیزی شدند و تحت کشت مجدد در همان محیط مذکور قرار گرفتند. پس از طی ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد باکتری‌های مثبت از نظر استفاده از قندها در محیط TSI، اکسیداز ، اوره‌آز، حرکت مثبت، اندول مثبت، متیل رد مثبت، وژس پروسکوئر منفی، و سیترات منفی به عنوان *اشریشیا کلی* شناسایی شدند و در محیط نوترینت براث (Scharlau Microbiology, Spain) جهت انجام کارهای مولکولی نگهداری گردیدند. با استفاده از کیت استخراج DNA ژنومی(Fermentas, Germany) و براساس پروتکل شرکت سازنده کیت، DNA تمامی‌جدایه‌ها استخراج گردید. مشخصات کامل پرایمرها جهت انجام Multiplex -PCR در جدول ۱ آورده شده‌اند.

جدول ۱- خصوصیات پرایمرهای مورد استفاده برای Multiplex-PCR

نام پرایمر	ژن هدف	اندازه پرایمر (bp)	توالی پرایمر	اندازه قطعه (bp)
T1	*TSPE4.C2*	۲۴	5'- gagtaatgtcggggcattca	۱۵۲
T2		۲۵	5'- cgcgccaacaaagtattacg	
Y1	*yjaA*	۲۰	5'- tgaagtgtcaggagacgctg	۲۱۱
Y2		۲۰	5'- atggagaatgcgttcctcaac	
C1	*chuA*	۲۰	5'- gacgaaccaacggtcaggat	۲۷۹
C2		۲۰	5'- tgccgccagtaccaaagaca	

Mutiplex –PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و با استفاده از ترکیبات: 5/2 µl بافر PCR، 8/0 µl dNTP، 25/1 µl از هر پرایمر، 6/0 µl Tag polymerase، 1 µl $MgCl_2$، 2 µl DNA و آب مقطر دوبار تقطیر انجام شد. در این واکنش آب مقطر به جای DNA برای کنترل منفی افزوده گردید. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf, Germany) به ترتیب زیر انجام شد: واسرشت اولیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل که هر سیکل شامل: واسرشت ثانویه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها در ۵۹ درجه سانتی‌گراد ۱۰ ثانیه، طویل شدن در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، سنتز نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت۷ دقیقه، الکتروفورز محصولات تکثیر شده بر روی ژل آگاروز ۱/۸ درصد حاوی اتیدیوم بروماید (mg/ml10) در ۸۰ ولت به مدت ۱ ساعت انجام گردید. بعد از مشاهده ژل در Gel Document (USA, Bio Rad) تصویر برداری و ثبت اطلاعات انجام گرفت.

نتایج

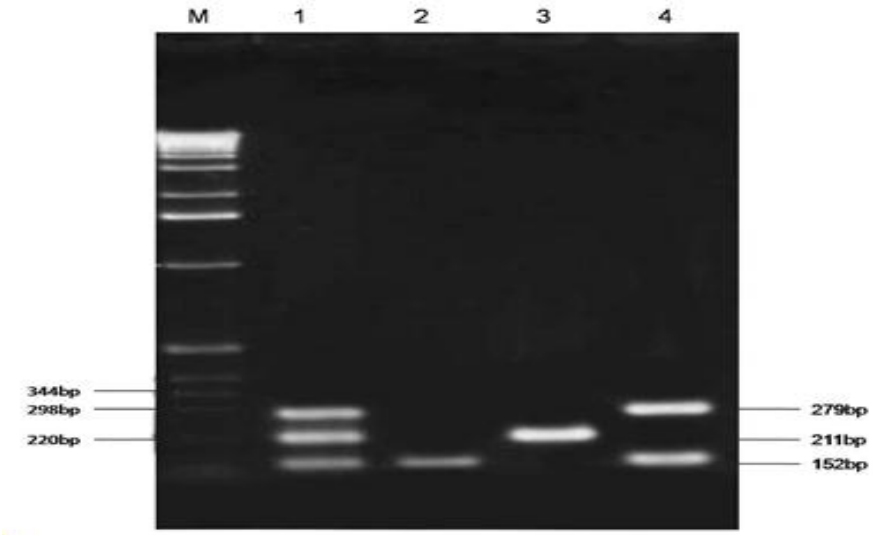
از تعداد ۸۰ نمونه سواب اخذ شده ۲۱ (۲۶/۲۵ درصد) نمونه پس از انجام مراحل رنگ‌آمیزی، کشت و توسط آزمون‌های بیوشیمیایی به عنوان باکتری *اشریشیا کلی* شناسایی شدند. با استفاده از روش Multiplex -PCR 21 جدایه‌ها جهت تعیین گروه فیلوژنتیک مورد بررسی قرار گرفتند.

پرایمرهای مورد استفاده به خوبی توانستند ژن‌های مورد نظر را که شامل *yjaA*، *chuA* و *TSPE4.C2* به ترتیب با اندازه‌های ۲۱۱، ۲۷۹ و bp152 بودند، تکثیر کنند (شکل شماره۱). در کنترل منفی که آب مقطر به جای اسید نوکلئیک اضافه گردید. محصولی مشاهده نشد.

از ۲۱ جدایه *اشریشیا کلی* تعداد ۸ جدایه متعلق به گروه A (۳۸ درصد)، ۲جدایه متعلق به گروه B1 (۵/۹ درصد)، ۶ جدایه متعلق به گروه B2 (۶/۲۸ درصد) و ۵ جدایه متعلق به گروه D2 (۸/۲۳ درصد) می‌باشند.

بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر از ۸۰ نمونه عفونت کلی‌باسیلوز طیور مادر تعداد ۲۱ جدایه *اشریشیا کلی* مورد شناسایی قرار گرفت. از این بین تعداد ۸ جدایه متعلق به گروه A، ۲جدایه متعلق به گروه B1، ۶ جدایه متعلق به گروه B2 و ۵ جدایه متعلق به گروه D2 به روش Multiplex-PCR مورد شناسایی واقع شدند. در مطالعه قنبرپور و همکاران بر روی موارد اسهال انسانی از ۹۶ جدایه بررسی شده ۵۲/۱ درصد متعلق به گروه A، ۱/۲ درصد متعلق به گروه B1، ۴/۱۰ درصد متعلق به گروه B2 و ۳۵/۴ درصد متعلق به گروه D بودند (۸).



شکل ۱- نتایج Multiplex-PCR، چاهک M: مارکر (Fermentas, Germany)1Kbp ؛ چاهک‌های ۱، ۲، ۳ و۴ به ترتیب گروه‌های فیلوژنتیک B2، B1، A و D

در تحقیقی دیگر توسط اسعدی و همکاران از ۶۰ باکتری جدا شده از عفونت ادراری در جنوب ایران شایع‌ترین گروه‌های فیلوژنتیک به ترتیب D، A و B1 با فراوانی ۷۰، ۲۳/۳ و ۶/۷ درصد بودند و گروه B2 جدا نگردید (۹). در مطالعه‌ای جهت انجام فیلوژنتیک تایپینگ نمونه‌های ادراری نشان داده شد که ۶۵ درصد جدایه‌ها در گروه B2، ۱۹ درصد در گروه D و ۱۶ درصد در گروه A قرار دارند و هیچ یک در گروه B1 قرار ندارند (۱۰). در مطالعه‌ای دیگر بر روی ۱۵۵ جدایه *اشریشیا کلی* در شهرستان بم نشان داده شد که در ۷۱/۶ درصد در گروه A، ۲۲/۳ درصد در گروه B1، ۶۷/۹ درصد در گروه B2 و ۱۵/۴۸ درصد در گروه D قرار دارند. همچنین نشان داده شد که مورد ۲۹ جدایه ژن ST در ۳ گروه فیلوژنتیک با فراوانی (۳۸/۴۱ درصد) A، (۲۸/۴۸ درصد) D و (۳۴/۱۰ درصد) B2 توزیع یافته‌اند (۱۱). عبدی و همکارش در سال ۱۳۹۳ توزیع گروه‌های فیلوژنی A، B1، B2 و D در بین ایزوله‌های جداشده را به‌ترتیب: ۱۷، ۶، ۵۵ و ۲۲ درصد گزارش دادند (۱۲). همچنین سهرابی و همکارش با ارزیابی PCR گروه‌های فیلوژنتیک سویه‌های *اشریشیا کلی* اوروپاتوژنیک نشان دادند که بیشترین میزان فراوانی مربوط به گروه B2 (۶۷/۱۵ درصد)، سپس D (۲۱/۱۷ درصد) و A (۱۱/۶۸ درصد) بود و گروه فیلوژنتیک B1 در ایزوله‌های اوروپاتوژنیک مشاهده نشد. در ایزوله‌های *اشریشیا کلی* کامنسال فراوانی گروه‌ها به ترتیب مربوط به D ۵۲ درصد، B2 ۲۴ درصد، A ۱۴ درصد و B1 ۱۰درصد گزارش شده است (۱۳). در مطالعه دیگری بر روی طیور گوشتی مبتلا به کلی‌باسیلوز در شهرستان تبریز از ۷۰ جدایه بیشترین میزان گروه فیلوژنتیک جدا شده متعلق به گروه A گزارش شد (۱۴). در تحقیق حاضر نیز اکثر نمونه‌های جدا شده از موارد کلی‌باسیلوزیس متعلق به گروه A بودند (گروه باکتری‌های همزیست) نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات قبلی هم‌خوانی دارد (۷و۱۵-۱۷). *اشریشیا کلی*‌های پاتوژن ساکن روده از راه دهانی مدفوعی وارد روده می‌شوند (۱۵). Xia و همکاران معتقدند که گوشت طیور بعنوان یکی از عوامل اصلی انتقال *اشریشیا کلی* از طیور به انسان است (۷). مطالعات فیلوژنتیک اخیر نشان می‌دهد که *اشریشیا کلی*‌های پاتوژن خارج روده‌ای اکثراً متعلق

به گروه B2 و به میزان کمتر به گروه D متعلق می‌باشند، و نتایج حاصل از تایپینگ مؤید این یافته می‌باشد (۶-۷).

اشریشیا کلی جدا شده از عفونت‌های دستگاه ادراری در این منطقه، بیشتر متعلق به گروه فیلوژنتیک A و B2 بودند که در مقایسه با سایر مناطق از نظر نوع گروه فیلوژنتیکی متفاوت می‌باشند. همچنین نیاز دارد که نهایت دقت در انتخاب درمان مناسب به عمل آید و از درمان بدون انجام آنتی بیوگرام پرهیز شود. در نهایت، انتخاب استراتژی‌های درمانی بر پایه نظارت‌های مستمر ارگانهای بهداشتی، برای جلوگیری از انتقال باکتری‌های مقاوم از طیور به انسان و نیز جلوگیری از انتقال باقی‌مانده دارویی در لاشه طیور به انسان لازم و ضروری می‌باشد.

References

1. Aarestrup FM, Wegener HC, Collignon P. Resistance in bacteria of the food chain: epidemiology and control strategies. Expert Rev Anti Infect Ther. 2008; 6:733–750.

2. Nolan, LK, Barnes, HJ, Vaillancourt, JP, Abdul-Aziz, T, Logue, CM. Colibacillosis. In: diseases of poultry.12thedition. (Swayne, D.E., Mcdougald, L., Nolan, K., Suarez, D.L., Nair, V). Iowa, USA: John Wiley and Sons. 2013; 751-805.

3. Barnes HJ, vaillancourt JP, Gross WB. Colibacillosis in: Diseases of Poultry. Editedby Y. M. Saif, B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beardand L. Macdougol. 11thed. Iowa University press, Iowa, USA, 2003:631-647.

4. Wary C, Davies RH. Colibacillosis. In: poultry diseases. Edited by F.T. W. Jordan, M. Pattison, D. Alexander, and T. Foragher, 5thEd. W. b. Saunders Company, U.S.A., 2002; 125-130.

5. Peighambari, SM, Vaillancourt, JP, Wilson, RA, Gyles CL. Characteristics of Escherichia *coli* isolates from avian cellulitis. Avian. Dis. 1995; 65:116-124.

6. Skjøt-Rasmussen L, Olsen SS, Jakobsen L, Ejrnaes K, Scheutz F, Lundgren B, *et al.* *Escherichia coli* clonal group A causing bacteraemia of urinary tract origin. Clin Microbiol Infect. 2013; 19(7):656-61.

7. Xia, X, Meng, J, Zhao, S, Bodeis-jones, S, Gaines, SA, Ayers, SL, *et al.* Identification and antimicrobial resistance of pathogenic *Escherichia coli* from retai meats. J Food Prot. 2011;74:38-44.

8. Ghanbarpour R, Daneshdoost S. Identification of shiga toxin and intimin coding genes in *Escherichia coli* isolates from pigeons (Columba livia) in relation to phylotypes and antibiotic resistance patterns. Trop Anim Health Prod. 2012;44:307-12.

9. Asadi S, Solhjoo, K, Kargar M, Rezaeian A. Phylogenetic groups of *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infection in Jahrom city, southern Iran. Journal of Microbial World. 2011; 3(4): 245-250. [In Persian]

10. Etebarzadeh Z, Oshaghi M, Amir Mozafari N. Evaluation of Relationship between Phylogenetic Typing and Antibiotic Resistance of Uropathogenic *Escherichia coli*. J Microbiol World. 2012; 4(3&4):84-92.

11. Alizade H, Ghanbarpour R, Aflatoonian MR, Abdollahi H. Determination of phylogenetic background, fimbrial genes, and antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* isolates from urinary tract infections in Bam region, Iran. Comp Clin Path. 2014; 23(5):1253–1257.

12. Abdi HA, Rashki A. The phylogenetic study of Uropathogenic *Escherichia coli* strains in Sistan of Iran. J Birjand Univ Med Sci. 2014; 21(3):385-393.

13. Mikaili P, Ameghi A, Shayegh J, Hassani B, Mahmmudzadeh M. Phylogenic typing of *Escherichia coli* isolated from broilers with colibacillosis in Tabriz, North West of Iran. Arch Razi Inst. 2013; 68(1):43-46.

14. Rodriguez-siek KE, Giddings CW, Doetkott C, Johnson TJ, Nolan LK. Characterizing the APEC. pathotype. Vet Res.2005;36:241-56.

15. Kariyawasam S, Scaccianoce JA, Nolan LK. Common and specific genomic sequences of avian and human extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* as determined by genomic subtractive hybridization. BMC Microbiol. 2007;7: 81.

16. Obeng AS, Rickard H, Ndi O, Sexton M, Barton M. Antibiotic resistance, phylogenetic grouping and virulence potential of *Escherichia coli* isolated from the faeces of intensively farmed and free range poultry. Vet Microbiol. 2012;154:305-15.

17. Sohrabi R, Zeighami H. Determination of Phylogenetic Groups and Antibiotic Resistance in Uropathogenic and Commensal *Escherichia Coli* Isolated from Patients in Zanjan City. Journal of Zanjan University of Medical Sciences & Health Services. 2016; 24(107):107-118.

Identification of phylogenetic groups of *Escherichia coli* isolated from colibacillosis in poultry by multiplex-PCR

Davood Tarbiat-Nazloo[1], Abolfazl Jafari-Sales*[2] ,Yashar Bagherizadeh[1] , Mahboubeh Abdoli-senejani[1], Farhad Farhadi[2], Mehdi Ezdiyadi[2]

1- Department of Microbiology, Kazeroon branch, Islamic Azad University, Kazeroon
2- Department of Research and Development, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj

Receive: December 9, 2017; Revise: December 25, 2017; Accept: February 12, 2018

Summary

Among diseases caused by *Escherichia coli*, there is a severe systemic form termed colisepticaemia, which is characterized by the presence of *E. coli* in the blood, and colonization of organs including the heart, liver and spleen. The aim of the present study was to investigate different phylogenetic groups of *E. coli* isolated from broiler breeder with colibacillosis in Urmia. In this study, eighty swabs collected from liver and lung were cultured on MacConkey agar plates. Pink color colonies were isolated and confirmed as *E.coli* by biochemical tests and followed by multiplex-PCR to identify different phylogenetic groups. Out of 80 samples 21 isolates were identified as *E.coli*. Eight of isolates (38%) were belong to group A, 2 of them (9.5%) were belong to group B1, 6 of them (28.6%) were belong to group B2 and 5 of them (23.8%) were belong to group D2. According to the results of present study different phylogenetic group were observed in breeder herds. Most of them were classified as group A which is commensal. Studies showed that pathogenic *E.coli* has a considerable antibiotic resistance rate which might be transmitted to broilers in different ways and poses economic constraint to poultry industry. Thus, important strides must be made on eradication of different pathogenic *E.coli.*

Keywords: *phylogenetic group, E.coli, poultry, Colibacillosis*

تفاوت دوگروه فیلوژنتیکی A و B2 سویه‌های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژنیک از نظر توزیع ژن‌های حدت

حسینعلی عبدی*[۱]، نوید طحان زاده[۱]

۱- دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

دریافت مقاله: ۲ آذر ۱۹۳۶، بازنگری: ۳ دی ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۱۶ بهمن ۱۳۹۶

چکیده

اشریشیا کلی به عنوان فراوان‌ترین باکتری ایجاد کننده عفونت ادراری معرفی شده است. سویه‌های *اشریشیا کلی* ایجاد کننده عفونت ادراری که به عنوان "یوروپاتوژنتیک" شناخته می‌شوند، حاوی فاکتورهای حدت متنوع می‌باشند. بر اساس مطالعات قبلی سویه‌های متعلق به گروه فیلوژنتیکی B2 به عنوان مهم‌ترین سویه، درحالی که سویه‌های گروه A به عنوان کم‌اثرترین سویه در ایجاد عفونت ادراری مطرح هستند. در این مطالعه تعداد ۱۰۰ نمونه *اشریشیا کلی* جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری با روش‌های استاندارد بیوشیمیایی تأیید شد. پس از استخراج DNA ژنومی با روش Triplex-PCR تعداد ۷۲ سویه (۵۵ سویه متعلق به گروه فیلوژنتیکی B2 و ۱۷ نمونه متعلق به گروه A) برای تعیین میزان توزیع ژن‌های حدت انتخاب شدند. فراوانی ژن‌های *cnf1*، *irp2*، *iha* و*ompT* به ترتیب به میزان ۳۹، ۲۹، ۹۲ و ۷۸ درصد مشاهده شد. میزان فراوانی این ژن‌ها در گروه فیلوژنتیکی B2 به مراتب از گروه A بیشتر بود. تفاوت معنی‌داری در میزان توزیع ژن‌های *cnf1* و *irp2* در دو گروه فیلوژنتیکی B2 و A مشاهده شد ($P \geq 0/05$). از نظر الگوی توزیع ژنی ۱۰ الگوی منحصر به فرد (Ec1-Ec10) برای این دو گروه مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که سویه‌های B2 حاوی ژن‌های حدت بیشتری نسبت به سویه‌های A هستند و احتمالاً نقش مهم‌تری در ایجاد عفونت ادراری دارند.

واژه‌های کلیدی: *اشریشیاکلی یوروپاتوژنیک، ژن‌های حدت، گروه‌های فیلوژنتیک*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: genetics60@gmail.com

مقدمه

اشریشیا کلی به عنوان عامل عمده عفونت‌های ادراری و مشکلات بهداشتی در بسیاری از کشورهای دنیا مطرح است و به تنهایی توانسته منجر به بروز ناراحتی‌های جسمی و نیز خسارات مالی فراوانی گردد (۱). سویه‌هایی که منجر به عفونت‌های ادراری می‌شوند به نام سویه‌های *اشریشیاکلی* یوروپاتوژنیک (UPEC) خوانده می‌شوند (۲).

عفونت ادراری از نظر شیوع دومین نوع عفونت باکتریایی پس از عفونت مجاری تنفسی می‌باشد که میزان بروز آن در زنان بسیار بیشتر از مردان است (۳). سویه‌های UPEC می‌توانند انواع فاکتورهای حدت مرتبط با استقرار و بقای باکتری در مجرای ادراری را بیان کنند و از این طریق ایجاد عفونت در دستگاه ادراری نمایند (۴).

از مهم‌ترین فاکتورهای حدت این سویه‌ها می‌توان به فاکتورهای مربوط به سیستم جمع‌کننده آهن، چسبندگی و سنتز سموم کشنده سلول اشاره کرد. این عوامل حدت به تکثیر و تهاجم باکتری در دستگاه ادراری کمک می‌کند (۵).

سویه‌های *اشریشیا کلی* واجد چهار گروه فیلوژنتیکی اصلی به نام‌های A، B1، B2 و D می‌باشند. مطالعات نشان داده که توزیع ژن‌های مختلف حدت دراین چهار گروه متفاوت است و مطالعات قبلی نشان می‌دهد که نوع گروه - فیلوژنتیک این میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی در بیماری‌زایی آنها دارد (۶). سویه‌های خارج روده‌ای بیماری‌زا اساساً درگروه B2 و به مقدارکمتر درگروه D هستند. درحالی که سویه‌های کومنسال متعلق به گروه A و B1 می‌باشند. امروزه تعیین گروه‌های فیلوژنتیکی در باکتری *اشریشیا کلی* با استفاده از حضور یا عدم حضور ژن‌های *chuA*، *yjaA* و قطعه DNA به نام TspE4.C2 انجام می‌شود (۷). نتایج حاصل از مطالعات سویه‌های خارج روده‌ای نشان داده که سویه‌های متعلق به گروه B2 بسیار بیماری‌زاتر از سویه‌های متعلق به گروه D هستند، در حالی که سویه‌های گروه A و B1، اغلب عاری از عوامل حدت خارج روده‌ای می‌باشند (۸).

اولین قدم برای مقابله و مهار بیماری‌زایی باکتری UPEC شناسایی فاکتورهای مهم حدت آن است. با کسب اطلاعاتی درخصوص فراوانی فاکتورهای حدت سویه‌های UPEC و نحوه‌ی توزیع آنها در گروه‌های مختلف فیلوژنتیکی می‌توان در ادامه راهکارهای مقابله و مهار آنها را نیز مورد بررسی و مطالعه قرار داد. از سویی بر اساس اکثر مطالعات قبلی در این زمینه تأکید بر درجه بیماری‌زایی به مراتب بیشتر سویه‌های *اشریشیا کلی* B2 نسبت به سویه‌های A شده است. بنابراین انتظار می‌رود که میزان شیوع ژن‌های حدت در سویه‌های متعلق به این دو گروه تفاوت معنی‌داری داشته باشد. بنابراین مطالعه حاضر جهت تعیین میزان توزیع ژن‌های کدکننده فاکتورهای حدت سیتوتوکسین نکروز دهنده ۱(*cnf1*)، سیدروفور یرسینیا باکتین (*irp2*)، آدهسین غیر هموآگلوتینین(*iha*) و پروتئاز غشای خارجی (*ompT*) در گروه‌های فیلوژنتیکیA و B2 *اشریشیا کلی* به روش Multiplex-PCR انجام گرفت .

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۱۲۵نمونه از بیماران مبتلا به عفونت ادراری بستری شده در بیمارستان‌های منطقه سیستان و بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های شهر زابل در فاصله زمانی مرداد تا آذر ۹۲ جمع‌آوری گردید. نمونه‌های ادرار در ظرف استریل جمع‌آوری گردید. ابتدا نمونه‌ها بر روی محیط‌های مک کانکی آگار وEMB کشت شد وپس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای۳۷درجه سانتی‌گراد، کلنی‌ها شمارش شدند. سپس آزمایش‌های بیوشیمیایی مانند اکسیداز،

تخمیرقندها، حرکت، ایندول، اوره آز، احیای نیترات، MR-VP، H2S و سیمون سیترات انجام شد و نهایتاً تعداد ۱۰۰ نمونه *اشریشیا کلی* تشخیص داده شد.

در این مطالعه جهت استخراج DNA ژنومی از روش جوشاندن استفاده شد. DNA استخراج شده در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. برای انجام Multiplex-PCR به طور خلاصه، با حجم نهایی۱۶میکرولیتر (۲ میکرولیترDNA، ۱میکرولیتر از هر مخلوط پرایمر(حاوی هر چهار پرایمر با غلظت ۱۰ پیکومول)، ۸ میکرولیتر Master Mix RED 2× (شرکت پیشگام، ایران)، ۴ میکرولیتر آب دیونیزه) و با برنامه دمایی: واسرشتگی (denaturation) اولیه: ۱ سیکل ۹۴ درجه سانتیگراد برای ۴ دقیقه، واسرشتگی: ۳۰ سیکل ۹۴ درجه سانتیگراد برای ۵۰ ثانیه، اتصال پرایمرها (annealing) برای ۴۵ ثانیه در C59°، طویل شدن (extension) برای ۱ دقیقه، در C72° و طویل شدن نهایی (final extension) یک سیکل ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، انجام شد. جدایه‌ها بر اساس داشتن یا فقدان انواع ژن‌های حدت الگوبندی شدند. برای تعیین گروه‌های فیلوژنی از روش Triplex-PCR که در سال ۲۰۰۰ توسط Clermont و همکاران توصیف شد استفاده گردید (۷). در این روش ژن‌های مارکر *chuA, yjaA* و TspE4.C2 با پرایمرهای جدول ۲ تکثیر گردید. گروه‌بندی فیلوژنتیکی بر اساس وجود یا عدم وجود باندهای تکثیری ژن‌های فوق تعیین شد. ژن‌های بیماری‌زای مورد نظر با استفاده از فرایند Multiplex-PCR با آنزیم TaqDNAPolymerase تکثیر گردید. بررسی محصول Triplex-PCR با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۲ درصد و Multiplex-PCR با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد و سایز مارکر ۱۰۰bp صورت گرفت. از سویه *E.coli* ATCC 25922 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و از آب مقطر استریل به جای DNA به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. اطلاعات پرایمرهای مورد استفاده برای این مطالعه در جدول ۱ آمده است.

جدول۱- مشخصات پرایمرها برای تکثیر ژن‌های حدت

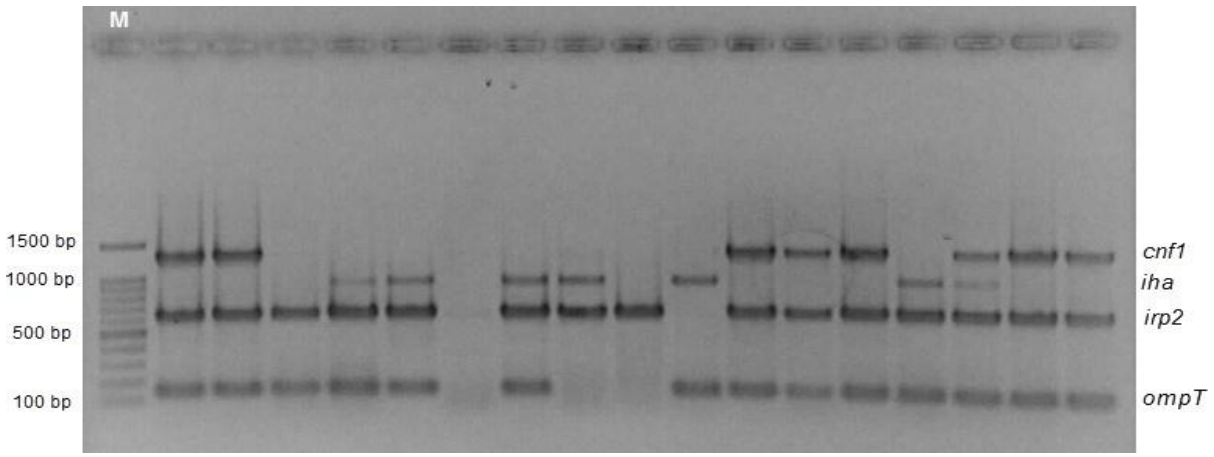
ژن		توالی پرایمرها(3′-5′)	اندازه (bp)
cnf1	F	AGGCAGGAATAAACCAGGAGGT	۱۲۸۶
	R	ACGAGCAGAATTTGACACACGA	
iha	F	CTGGAAGTCAGCATTCGTGGAA	۹۳۴
	R	GATGCCACTCATCCTCAGCAAA	
irp2	F	AGCATCGCCTGCTAAAACTGAA	۶۲۳
	R	CAGACGATGCAGGGCGTTATTA	
ompT	F	TGCGATCAGCTCTTTTGCTTCT	۱۴۴
	R	AGTTGACTGACTTTTCGGCCTC	

آنالیز آماری با کمک نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد. برای آنالیز حضور ژن‌های حدت در دو گروه فیلوژنتیکی A و B2 از آزمون دقیق فیشر استفاده گردید.

نتایج

از ۱۰۰ نمونه *اشریشیا کلی* تعداد ۷۲ نمونه متعلق به گروه‌های فیلوژنتیکی A (۱۷ نمونه) و B2(۵۵ نمونه) بودند. بقیه نمونه‌ها در گروه‌های فیلوژنتیکی B1 و D قرار گرفتند و از این مطالعه حذف شدند. فراوانی ژن‌های حدت cnf1، iha، irp2 و ompT به ترتیب ۳۹، ۲۹، ۹۲ و ۷۸ درصد در بین ۷۲ نمونه دیده شد. شکل ۱ نمونه الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵ درصد را برای ژن‌های حدت نشان می‌دهد. تمام نمونه‌های گروه فیلوژنتیکی A فاقد ژن

توکسین *cnf1* بودند. بیشترین مقدار ژن‌های حدت در گروه فیلوژنتیکی B2 مشاهده شد. فقط در یک سویه از نمونه‌های فیلوژنتیکیB2 ژن *irp2* دیده نشد. هیچ کدام از سویه‌های متعلق به گروه فیلوژنتیکی A فراوانی ژنی بالاتری نسبت به گروه B2 نداشتند. تفاوت معنی‌داری($P \geq 0/05$) برای حضور ژن‌های *cnf1* و *ompT* در دو گروه فیلوژنتیکی A و B2 مشاهده شد (جدول ۲).



شکل۱- الکتروفورز در ژل آگارز برای محصولات Multiplex-PCR

جدول۲- توزیع ژن‌های حدت در دو گروه فیلوژنتیکی B2 و A

ژن	تعداد	Aتعداد سویه گروه	B2تعداد سویه گروه	P value
cnf1	۲۸	۰	۲۸	۰۰۲۶/۰
iha	۲۱	۲	۱۹	۲۲۳۶/۰
irp2	۶۶	۱۲	۵۴	۵۳۱۶/۰
ompT	۵۶	۳	۵۳	۰۰۶/۰

جدول۳ - الگوهای مختلف توزیع ژنی

الگو	گروه فیلوژنتکی	cnf1	iha	irp2	ompT	تعداد نمونه
Ec1	B2	+		+	+	۲۵
Ec2	B2			+	+	۱۰
Ec3	B2	+	+	+	+	۱۰
Ec4	B2		+	+	+	۱۵
Ec5	B2, A			+		۱۲
Ec6	B2	+		+		۱
Ec7	A					۲
Ec8	A		+		+	۳
Ec9	A		+	+		۱
Ec10	A				+	۱
جمع		۲۸	۲۱	۶۶	۵۶	۷۲

بر اساس نوع الگوی توزیع ژن‌ها در دو گروه فیلوژنتیکی B2 و A تعداد ۱۰ الگو مشاهده شد که با عنوان Ec1 تا Ec10 در جدول ۳ آمده است. دو سویه متعلق به گروه A فاقد چهار ژن مورد مطالعه بودند و دو سویه متعلق به B2 حاوی تمام ژن‌های مورد مطالعه بودند. ۱۲ سویه فقط حاوی ژن *irp2*

بودند که یک سویه متعلق به گروه B2 بود و ۱۱ سویه دیگر متعلق به گروه A بودند. ژن *iha* و *cnf1* برعکس دو ژن دیگر، در هیچ سویه‌ایی به تنهایی دیده نشد و به همراه حداقل یک ژن دیگر بود. در هیچ کدام از ۱۷ سویه A بیش از دو ژن حدت نداشتند.

بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه بر روی جدایه‌های *اشریشیا کلی* به‌دست آمده از عفونت‌های ادراری در دو گروه فیلوژنتیکیA و B2 در منطقه سیستان انجام شد. در مطالعه حاضر از روش Multiplex PCR برای بررسی حضور ۴ ژن حدت (*cnf1*، *iha*، *irp2* و*ompT*) و ۳ ژن (*chuA*، *yjaA* و قطعه DNA به نام TspE4.C2) تعیین‌کننده گروه‌بندی فیلوژنتیکی استفاده شد. روش Multiplex PCR یک روش مطالعه ژنوتیپی مناسب است که جهت بررسی هم‌زمان چندین ژن در یک واکنش PCR با وقت و هزینه کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد. مقایسه دو گروه فیلوژنتیکی از نظر توزیع ژن‌های حدت اهمیت آنها را برای تعیین درجه شدت بیماری‌زایی ایجاد شده توسط سویه مربوطه می‌تواند تعیین کند.

در این مطالعه معلوم شد که در بین ایزوله‌های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژنیک فراوانی سویه‌های B2 خیلی بیشتر از سویه‌های متعلق به گروه فیلوژنتیکی A می‌باشد. اطلاعات مطالعه ما در این مورد با اکثر مطالعات قبلی همخوانی دارد (۱۲- ۸). رژیم غذایی به عنوان عامل کلیدی در تعیین فراوانی گروه‌های فیلوژنتیکی *اشریشیاکلی* در پستانداران گزارش شده است (۱۳)، علاوه براین موقعیت جغرافیایی جمعیت‌های انسانی نقش مهمی را در ساختاربندی جمعیت‌های *اشریشیا کلی* دارد و پیشنهاد می‌شود که سطح بهداشت می‌تواند به عنوان عامل مؤثر در تنوع ایزوله‌های بومی هر منطقه، خصوصاً در مناطق گرمسیری نقش داشته باشد (۱۴).در پژوهش حاضر بر اساس توزیع ژن‌های حدتی مورد مطالعه در بین ۷۲ ایزوله *اشریشیا کلی*، ۱۰ الگوی توزیع ژنی منحصر به فرد مشاهده شد (جدول۳). دو سویه حامل تمام ژن‌های حدت مورد مطالعه بود که آن هم به گروه فیلوژنتیکی B2 تعلق داشت. در دو سویه هیچ یک از ژن‌های حدت مورد مطالعه مشاهده نگردید که این ایزوله متعلق به گروه فیلوژنتیکی A بود. نتایج این مطالعه با پژوهش انجام شده در رومانی همخوانی دارد (۱). با توجه به توزیع ژنی در دو گروه B2 و A بیشترین توزیع ژن‌های حدت در ایزوله‌های گروه B2 و کمترین در گروه A مشاهده شد، مطالعات قبلی نیز این نوع توزیع ژنی را تأیید می‌کند (۱۰،۱۱، ۸). در یک مطالعه در تهران که توسط کریمیان و همکاران در سال ۲۰۱۲ روی سویه‌های یوروپاتوژنیک جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری انجام شد نتایج متفاوتی گزارش شد. این گروه فراوانی ژن‌های *cnf1*، *iha*، *irp2* و *ompT* را به ترتیب ۵۰، ۵، ۱۸ و ۱۱ درصد گزارش کردند (۱۵). علت تفاوت در نتایج می‌تواند ناشی از تفاوت در منطقه جغرافیایی یا تفاوت آب و هوایی باشد. در پژوهش دیگر نویسنده بر روی ۱۰۰ سویه *اشریشیا کلی* خارج روده‌ایی ایجاد کننده عفونت تناسلی زنانه مقدار ژن‌های *cnf1*، *iha*، *irp2* و*ompT* به ترتیب به میزان ۱۰، ۸، ۶۳ و ۴۵ درصد گزارش شد (۱۶). این نتایج به نتایج مطالعه حاضر نزدیک است و احتمالاً دلیل تفاوت جزئی با نتایج مطالعه حاضر می‌تواند در نوع متفاوت سویه‌های *اشریشیا کلی* و یا جامعه آماری بزرگتر نسبت به این مطالعه باشد . همچنین در این مطالعه از مجموع ۱۳۲ ایزوله *اشریشیاکلی* ۱۴ و ۶۰ درصد به ترتیب در گروه‌های فیلوژنتیکی Aو B2 قرار گرفتند و بیشترین میزان توزیع ژن‌های حدت در گروه B2 قرار داشت. این میزان زیاد توزیع ژن‌های حدت در گروه B2 کاملاً با نتایج تحقیق اخیر مطابقت دارد.

همچنین در تحقیق دیگر نویسنده روی ۹۴ نمونه *اشریشیا کلی* مدفوعی، فراوانی ژنی ۸ ژن بررسی گردید که فراوانی ژن‌های *cnf1*، *iha*، *irp2* و *ompT* به ترتیب به میزان ۴، ۲۶، ۹۲ و ۶۷ درصد بودند (۱۷). به علت اینکه سویه‌های *اشریشیا کلی* مدفوعی می‌توانند منبع خوبی برای ایجاد عفونت ادراری خصوصاً در زنان باشند. این نتایج به جز فراوانی ژنی *cnf1* با نتایج ما مطابقت نزدیکی دارد و دلیل تفاوت فراوانی ژنی ژن *cnf1* می‌تواند به علت تفاوت در نوع سویه‌های *اشریشیا کلی* باشد.

فراوانی بالای ایزوله‌های گروه B2 و شیوع بالای ژنی ایزوله‌های این گروه نشان‌دهنده اهمیت و قدرت بالای بیماری‌زایی ایزوله‌های UPEC متعلق به گروه B2 می‌باشد. با شناسایی ژن‌های حدت مهم ایزوله‌هایUPEC، مطالعات تکمیلی جهت طراحی واکسن علیه پروتئین‌های حاصل از این ژن‌ها برای کنترل عفونت ادراری ناشی از *اشریشیا کلی*، می‌تواند در دستور کار محققان آینده قرار گیرد.

.

References

1- Usein CR, Damian M, Tatu-Chitoiu D, Capusa C, Fagaras R, Tudorache D, *et al.* Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from Romanian adult urinary tract infection cases. J. Cell. Mol. Med. 2001;5(3):303-10.

2- Martinez JJ, Mulvey MA, Schilling JD, Pinkner JS, Hultgren SJ. Type 1 pilus-mediated bacterial invasion of bladder epithelial cells. EMBO J. 2000;19(12):2803-12.

3- Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity ,and economic costs. Am J Med. 2002;113(1):5-13.

4- Tiba MR, Yano T, Leite DS. Genotypic characterization of virulence factors in *Escherichia coli* strains from patients with cystitis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2008;50(5):255-60.

5- Janke B, Dobrindt U, Hacker J, Blum-Oehler G. A subtractive hybridisation analysis of genomic differences between the uropathogenic E. coli strain 536 and the E. coli K-12 strain MG1655. FEMS Microbiol Lett. 2001;199(1):61-66.

6- Johnson JR, Delavari P, Kuskowski M, Stell AL. Phylogenetic distribution of extraintestinal virulence-associated traits in *Escherichia coli*. J Infect Dis. 2001;183(1):78-88.

7- Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the*Escherichia coli* phylogenetic group. Appl Environ Microbiol. 2000;66(10):4555-8.

8- Johnson JR, Russo TA. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. Int J Med Microbiol. 2005;295(6):383-404.

9- Navidinia M, Peerayeh SN, Fallah F, Bakhshi B. Phylogenetic groups and pathogenicity island markers in *Escherichia coli* isolated from children. Jundishapur J Microbiol. 2013;6(10).

10- Bashir S, Haque A, Sarwar Y, Ali A, Anwar MI. Virulence profile of different phylogenetic groups of locally isolated community acquired uropathogenic E. coli from Faisalabad region of Pakistan. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2012;11(1):23.

11- Zhang L, Foxman B, Marrs C. Both urinary and rectal *Escherichia coli* isolates are dominated by strains of phylogenetic group B2. J Clin Microbiol. 2002;40(11):3951-5.

12- Abdi HA, Rashki A. Comparison of Virulence Factors Distribution in Uropathogenic E. coli Isolates From Phylogenetic Groups B2 and D. Int J Enteric Pathog. 2014;2(4): e21725

13- Gordon DM, Cowling A. The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. Microbiol. 2003;149(12):3575-86.

14- Escobar-Páramo P, Grenet K, Le Menac'h A, Rode L, Salgado E, Amorin C, *et al.* Large-scale population structure of human commensal *Escherichia coli* isolates. Appl Environ Microbiol. 2004;70(9):5698-700.

15- Karimian A, Momtaz H, Madani M. Detection of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in patients with urinary tract infections in Iran. Afr J Microbiol Res. 2012;6(39):6811-6.

17- Rashki A, Abdi H. The Relationship between Phylogenetic Groups and Pathogenicity Encoding Genes with regards to Extra-Intestinal *Escherichia coli* Isolates' Factors using Multiplex-PCR Method. Journal of Babol University of Medical Sciences. 2015;17(2):36-42.

18- Rashki A, Abdi HA, Shookohi M. Prevalence of Genes Encoding Outer Membrane Virulence Factors Among Fecal *Escherichia coli* Isolates. Int J Basic Sci Med. 2017;2(1):52-7.

The difference between two phylogenetic groups A and B2 of Uropathogenic *E. coli* strains in terms of distribution of virulence genes

Hosein Ali Abdi*[1]; Navid Tahanzadeh [1]

1 - PhD Student in Molecular Genetics, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran.

Receive: November 23, 2017; Revise: December 24, 2017; Accept: January 12, 2018

Summary

Escherichia coli is the most abundant bacterium that causes urinary tract infections. The *E. coli* strains that cause urinary tract infections, known as "Uropathogenic *E.coli* (UPEC)", contain various virulence factors. According to previous studies, the strains belonging to the phylogenetic group B2 are the most important strains, whereas strains of group A are the least effective strains for causing urinary tract infections. In this study, 100 samples of *E. coli* isolated from patients with urinary tract infection were confirmed by standard biochemical methods. After extraction of genomic DNA, 72 strains (55 strains belonging to phylogenetic group B2 and 17 samples belonging to group A) were selected by Triplex-PCR method to determine the distribution of virulence genes. The frequency of virulence genes *cnf1*, *irp2*, *iha* and *ompT* were observed to be 38.88%, 29.16%, 91.66% and 77.77%, respectively. The frequency of these genes in phylogenetic group B2 was significantly higher than group A. Significant difference was observed in the distribution of *cnf1* and *irp2* genes in both phylogenetic groups B2 and A ($P \leq 0.05$). In terms of gene distribution pattern, 10 unique patterns (Ec1-Ec10) were observed for these two groups. The results of this study showed that strains B2 contain more virulent genes than strains A and may have an important role in the development of urinary tract infections.

Keywords: *Uropathogenic Escherichia coli, Phylogenetic groups, Virulence genes*

مروری بر عوامل عفونی سقط جنین گوسفند و بز در ایران

محمد جواد بهزادی شهربابک*

استادیار گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

دریافت مقاله: ۲۱ بهمن ۱۳۹۷، بازنگری: ۱۲ اسفند ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۱۳ اسفند ۱۳۹۷

چکیده

سقط جنین یکی از معضلات پرورش دهندگان گوسفند و بز در سطح کشور است و خسارت اقتصادی قابل توجهی را به دامداران تحمیل می‌کند. دلیل عمده‌ی سقط جنین در گوسفند و بز عوامل عفونی هستند. بعضی از این عوامل مثل بروسلا و توکسوپلاسما عامل بیماری‌های مشترک بین انسان و دام نیز هستند. با توجه به نقش مهم پرورش گوسفند و بز در معیشت مردم ایران، شناخت دقیق عوامل عفونی سقط دهنده در گله‌های گوسفند و بز به لحاظ اقتصادی و بهداشت عمومی اهمیت بسیاری دارد. هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی تمام مقالاتی است که به شناسایی عوامل عفونی باکتریایی، ویروسی و تک یاخته‌ای سقط جنین گوسفند و بز در ایران پرداخته‌اند. بنابراین تمام مقالات مربوط به سقط جنین گوسفند و بز، تک تک عوامل عفونی سقط دهنده و شیوع آن‌ها که در محدوده‌ی جغرافیایی ایران یا کشورهای همسایه انجام شده بود در پایگاه‌های اطلاعاتی شامل Science Direct، Pub Med، Scopus، Google Scholar، Magiran و Iran Doc جستجو شد. از بین مطالعات انگلیسی و فارسی پیدا شده ۳۶ مورد در زمینه‌ی سقط جنین گوسفند و بز بود که نتایج آن‌ها برای بررسی بهتر به صورت جدول تدوین شد. بر اساس مطالعاتی که عوامل سقط جنین گوسفند و بز را در استان‌های مختلف ایران بررسی کرده‌اند گونه‌های بروسلا، توکسوپلاسما، کلامیدوفیلا، کمپیلوباکتر و سالمونلا از شایع‌ترین عوامل سقط در کشور محسوب می‌شوند. هیچ مطالعه‌ای در کشور به ردیابی عوامل ویروسی در سقط جنین گوسفند و بز نپرداخته است.

واژگان کلیدی: *ایران، سقط جنین، عوامل عفونی، گوسفند و بز*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: comdvm.behzadi@gmail.

مقدمه

در کشورهای منطقه غرب آسیا پرورش گوسفند و بز از نظر جمعیت و ارزش محصولات تولیدی از مهم‌ترین شاخه‌های دامپروری است. گوسفند و بز به دلیل داشتن ویژگی‌های مطلوبی از جمله قدرت سازش در شرایط مختلف محیطی، توقع کم در مصرف خوراک، قدرت راه‌پیمایی بالا و ارزش محصولات تولیدی اهمیت فراوانی در تأمین مواد پروتئینی جامعه دارند (۱). در ایران نیز اقتصاد بسیاری از خانواده‌های روستایی و حتی شهری به پرورش گوسفند و بز وابسته است که این خانواده‌ها عمدتاً از اقشار متوسط و ضعیف و در نتیجه آسیب پذیر جامعه هستند (۲).

سقط جنین از مهم‌ترین عوامل زیان اقتصادی در گله‌های گوسفند و بز در تمام دنیا محسوب می‌شود و در کشور ما نیز سالانه دامداران را در مناطق مختلف متضرر می‌کند. سقط جنین علاوه بر کاهش میزان تولد بره و بزغاله موجب کاهش تولید شیر و عوارض ثانویه بر دستگاه تولید مثل حیوان مثل جفت‌ماندگی و آندومتریت می‌شود (۳).

مطالعات متعددی در سراسر دنیا نشان داده است که بیشتر موارد سقط جنین در گوسفند و بز ناشی از عوامل باکتریایی، ویروسی و تک یاخته‌ای هستند (۴). به طور معمول درصد وقوع سقط در گله‌ها کمتر از ۲ درصد است. نسبت قابل قبول سقط‌های مشهود در گله بایستی کمتر از ۵ درصد باشد. وقتی میزان سقط از ۵ درصد در یک گله بیشتر می‌شود لازم است که یک بررسی کامل صورت گیرد. میزان سقط مزمن بین ۲ تا ۵ درصد نشان دهنده‌ی یک مشکل اندمیک است که ممکن است نیاز به رسیدگی داشته باشد (۵).

عوامل غیر عفونی سقط در گوسفندان به ندرت باعث میزان سقط بالای ۲ درصد در گله می‌شوند و زمانی که سقط از این میزان در گله بیشتر است به احتمال زیاد یک عامل عفونی منجر به سقط شده و باید تشخیص داده شود (۶). شناخت این عوامل در هر منطقه کمک فراوانی به کنترل آن‌ها و در نتیجه کاهش خسارات ناشی از سقط جنین می‌کند.

به دلیل فاصله بین ایجاد عفونت و دفع جنین مرده و اتولیز شدن جنین در بسیاری از موارد تشخیص عامل عفونی مسبب سقط دشوار است. وقتی یک بررسی کامل صورت گیرد دقت تشخیص بین ۳۰ تا ۴۰ درصد امکان پذیر است (۵). خوشبختانه در مورد گوسفند و بز تشخیص پاتوژن عامل سقط نسبت به گونه‌های اهلی دیگر به دلیل در دسترس بودن جنین کامل و جفت سقط‌شده آسان‌تر است (۷). عوامل عفونی شایع سقط جنین میش که در سراسر دنیا مطرح هستند شامل کلامیدوفیلا آبورتوس، توکسوپلاسما گوندی، کمپیلوباکتر فتوس، بروسلا آبورتوس، گونه‌های سالمونلا و لپتوسپیرا، کوکسیلا بورنتی و بعضی عوامل ویروسی مانند ویروس بوردر و بلوتانگ هستند (۷-۵).

در کشور ایران در مطالعات متعددی عوامل سقط جنین گوسفند و بز را در مناطق مختلف و با روش‌های متفاوت ردیابی کرده‌اند. قطعاً بررسی این مطالعات در کنار هم می‌تواند به فهم بهتر عوامل شایع سقط جنین در جمعیت گوسفند و بز کشور کمک کند. مطالعه‌ی حاضر به مرور تحقیقاتی پرداخته است که عوامل عفونی سقط جنین گوسفند و بز را در ایران بررسی کرده‌اند. هدف از این مطالعه مشخص نمودن عوامل عفونی رایج سقط جنین گوسفند و بز در سطح کشور بر اساس مطالعات انجام شده و نیز تعیین عواملی است که جای بررسی و ردیابی در مناطق مختلف کشور دارند.

جدول ۱- مطالعات انجام شده در زمینه‌ی تشخیص عوامل عفونی سقط جنین گوسفند و بز در ایران

		سال	منطقه	گونه	روش آزمایش	تعداد نمونه	میکروب‌های شناسایی شده
۱	شریف زاده	۲۰۰۹	شهرکرد	گوسفند	پی سی آر	۳۸	٪۱۳/۱ بروسلا،۵۰٪ *سالمونلا آبورتوس*، ٪۱۰/۶ بروسلا و سالمونلا توأماً، ٪۲۶/۳ شناسایی نشده
۲	هاشمی	۲۰۱۲	چهارمحال و بختیاری	گوسفند	پی سی آر	۳۸	٪۲۳/۶۸ سالمونلا
۳	شریف زاده	۲۰۰۶	چهارمحال و بختیاری	گوسفند	پی سی آر	۵۴	٪۴۴/۴ سالمونلا آبورتوس اویس، ٪۱۸/۶ بروسلا، ٪۱۱/۱ توأم سالمونلا و بروسلا، ٪۲۵/۹ هیچکدام از این دو
۴	صابری	۲۰۱۱	تبریز	گوسفند	پی سی آر و الایزا	۱۰۰	٪۱۲ *بروسلا ملی‌تنسیس*
۵	تاجبخش	۱۹۹۶-۱۹۹۸	اصفهان	گوسفند	کشت	۸۵	٪۱۳/۳-۰/۶ *کمپیلوباکتر فتوس* در گله های درگیر
۶	زهرائی صالحی	۱۹۹۹	تهران	گوسفند	کشت	۸	٪۱۰۰ *کمپیلوباکتر فتوس فتوس*
۷	فیروزی	۲۰۰۳	شیراز	گوسفند	جداسازی	۱۹۸	٪۱۱/۱ بروسلا، ٪۱۰/۶ سالمونلا، ٪۴ کمپیلوباکتر، ٪۱۴/۱ اِ. کلای
۸	قره خانی	۲۰۱۲	همدان	گوسفند	جداسازی	۲۲۶	٪۵/۳ بروسلا، ٪۰/۴۴ کمپیلوباکتر، ٪۱۶/۳۷ *اِ. کلای*
۹	ملک شاهی	۲۰۱۶	لرستان	گوسفند	پی سی آر	۵۰	٪۴ *بروسلا ملی‌تنسیس*، ٪۸ *سالمونلا آبورتوس*، ٪۴ کلامیدوفیلا، *کمپیلوباکتر فتوس* و *لپتوسپیرا اینتروگانس* یافت نشد
۱۰	راد	-	-	گوسفند	پی سی آر	۵۴	در مواردی کلامیدوفیلا یافت شد.
۱۱	صفرپور	۲۰۱۴-۲۰۱۵	چهار محال و بختیاری، اصفهان و خراسان رضوی	گوسفند	پی سی آر	۱۰۰	٪۲۰ کلامیدوفیلا در روش real time و ٪۹ در پی سی آر معمولی
۱۲	محزونیه	۲۰۱۱-۲۰۱۲	چهار محال و بختیاری	گوسفند	پی سی آر nested	۴۸	٪۵۲ کلامیدوفیلا
۱۳	کبیری	۲۰۱۳-۲۰۱۴	چهار محال و بختیاری، اصفهان و خراسان رضوی	گوسفند	پی سی آر	۹۸	٪۴/۹ *کمپیلوباکتر فتوس*، آلودگی به *لپتوسپیرا اینتروگانس* یافت نشد
۱۴	صادقی	-	مرکزی	گوسفند و بز	جداسازی	۷۰	فقط از ۲۲ مورد باکتری جدا شد که ٪۲/۸ لیستریا، ٪۱/۴ کمپیلوباکتر، ٪۷/۱ باسیلوس، ٪۵/۷ *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۱/۴ استرپتوکوکوس، ۴/۳ ٪ اِ. کلای، ٪۵/۷ اولیگلا، ٪۱/۴ انتروکوکوس، ٪۱/۴ آئروموناس بودند.
۱۵	براتی	۲۰۱۴-۲۰۱۷	شهرکرد و باغ ملک	گوسفند و گاو	پی سی آر	۱۱۷	٪۵۶/۴۱ کلامیدوفیلا
۱۶	عالم	۲۰۱۱-۲۰۱۲	تبریز	گوسفند	پی سی آر	۵۰	٪۲۶ *کلامیدوفیلا آبورتوس*
۱۷	فروتنی	۲۰۱۰-۲۰۱۱	تبریز	گوسفند	سرولوژی و پی سی آر	۷۰	٪۸/۵ در سرولوژی لپتوسپیرا ٪۱۰ در پی سی آر لپتوسپیرا
۱۸	حملی	۲۰۱۰-۲۰۱۱	تبریز	گوسفند	پی سی آر	۱۳۲	٪۹/۰۹ *کمپیلوباکتر فتوس* و ٪۱/۵ *کمپیلوباکتر ژژنی*؛ *کمپیلوباکتر کولای* یافت نشد
۱۹	سعادتی	۲۰۱۵-۲۰۱۶	سیستان	گوسفند	پی سی آر	۷۸	٪۱۹/۲ *بروسلا ملی‌تنسیس*، ٪۱۶/۶ *کوکسیلا بورنتی*، ٪۱/۳ *سالمونلا آبورتوس اویس*، ٪۷/۷ کمپیلوباکتر
۲۰	هرکی نژاد	۲۰۱۰	زنجان	گوسفند	پی سی آر	۱۲۹	٪۵۱/۵۲ کمپیلوباکتر

							کوکسیلا بورنتی، *کلا میدوفیلا آبورتوس*، *سالمونلا انتریکا*، *یرسینیا انتروکولیتیکا*، *بروسلا آبورتوس* و *لپتوسپیرا اینتروگانس* پیدا نشد
۲۱	اسدپور	۲۰۰۹-۲۰۱۰	تبریز	گوسفند	سرولوژی مادر و پی سی آر جنین	۷۰	۵/۷٪ مادران و ۸/۵٪ جنین‌ها نئوسپوروز
۲۲	قره خانی	۲۰۱۱-۲۰۱۲	همدان	گوسفند	سرولوژی	۳۵۸	۲/۲٪ میش‌های سقط کرده به نئوسپورا مثبت بودند.
۲۳	عزت پور	۲۰۱۱	الشتر- لرستان	گوسفند	سرولوژی	۵۸۶	۱/۱۳٪ عفونت نئوسپورایی در میش‌های سقط کرده و ۱/۷٪ در میش‌های سقط نکرده
۲۴	هرکی نژاد	۲۰۱۵	زنجان	گوسفند	پی سی آر	۱۳۲	۵۱/۹٪ کمپیلوباکتر سالمونلا، یرسینیا و بروسلا پیدا نشد.
۲۵	قربان پور	۲۰۰۵	اهواز	گوسفند	سرولوژی	۱۴۵	۱۳٪ از میش‌های با سابقه سقط نسبت به کلامیدیا سرم مثبت بودند.
۲۶	خلیلی	۲۰۱۵	همدان	گوسفند و بز	پی سی آر	۳۲	*کوکسیلا بورنتی* پیدا نشد.
۲۷	رزمی	۲۰۰۶-۲۰۰۸	مشهد	گوسفند	سرولوژی و انگل شناسی	۳۲۵	۵/۲٪ توکسوپلاسما
۲۸	حمیدی‌نژاد	۲۰۰۸	اهواز	گوسفند	سرولوژی	۱۵۰	۸۵٪ توکسوپلاسما در میش‌های سقط کرده و ۵۸٪ در میش‌های بدون سابقه سقط
۲۹	قره‌خانی	۲۰۱۱-۲۰۱۲	همدان	گوسفند	سرولوژی	۵۰۸	۳/۱٪ توکسوپلاسما
۳۰	حبیبی	۲۰۱۲	قزوین	گوسفند	پی سی آر	۱۸	۶۶٪ توکسوپلاسما
۳۱	رزمی	۲۰۰۹-۲۰۱۳	خراسان رضوی	گوسفند	پی سی آر	۱۱۲	۱۶/۰۷٪ توکسوپلاسما
۳۲	حمیدی‌نژاد	۲۰۱۷	لرستان	گوسفند	پی سی آر	۱۴۲	۷٪ توکسوپلاسما
۳۳	حقوقی راد	۲۰۱۴	اردبیل	گوسفند	پی سی آر	۷۵	توکسوپلاسما یافت نشد.
۳۴	رسولی	۲۰۱۳	چناران(خراسان رضوی)	گوسفند	چندین روش	۶۹	۲۳-۳۴٪ توکسوپلاسما
۳۵	سنجرانی	۲۰۱۷	سیستان	گوسفند	پی سی آر	۷۹	۱۶/۴۵٪ توکسوپلاسما

عوامل باکتریایی

بروسلا: دو گونه‌ی *بروسلا اویس* و *بروسلا ملی‌تنسیس* می‌توانند در گوسفند و بز آلودگی ایجاد کنند و منجر به سقط جنین شوند (۵، ۶). به نظر می‌رسد بزها به صورت جهانی مستعد ابتلا به *بروسلا ملی‌تنسیس* هستند در صورتی که ابتلای گوسفندان به این ارگانیسم بر اساس نژاد متفاوت است (۷). برای اولین بار در ایران در سال ۱۳۲۸ *بروسلا ملی‌تنسیس* از شیر یک بز سقط کرده جدا شد و ۲ سال بعد مطالعاتی نقش آن را در ایجاد سقط گوسفند و بز در گله‌های اطراف اصفهان نشان داد و هم اکنون در تمام مناطق کشور اندمیک است. میزان شیوع بروسلوز در جمعیت گوسفند و بز روستایی ۲/۱ درصد برآورد گردیده است. بیوتایپ 1 *بروسلا ملی‌تنسیس* در گوسفند، بز و انسان به عنوان بیوتایپ غالب و بومی کشور بوده است (۸، ۹). در

مطالعه حملی و همکاران در گله‌های گوسفند اطراف تبریز تست سرولوژیک روی ۱۰۰ میش سقط کرده ۱۲ درصد آلودگی سرمی به گونه‌های بروسلا را نشان داد و بررسی مولکولی جنین سقطی این میش‌ها نیز میزان ۱۲ درصد آلودگی به بروسلا را تأیید کرد ضمن اینکه آزمایش PCR سویه واکسنی Rev-1 *بروسلا ملی‌تنسیس* را در آن‌ها نشان داد. نتایج این مطالعه حاکی از آن است که واکسیناسیون با واکسن Rev-1 در میش‌های آبستن می‌تواند منجر به سقط شود (۱۰). مطالعه‌ی اسماعیلی و همکاران نیز ایجاد سقط جنین در گله‌های گوسفند و بز در مناطقی از کشور را با عامل واکسن Rev-1 گزارش کرده به طوری‌که این سویه از جنین‌های سقطی جدا شده است (۹).

در بررسی عوامل باکتریایی سقط جنین گوسفندان اطراف شیراز از ۲۰/۵ درصد جنین‌های سقطی گونه‌های بروسلا جدا شد (۱۱).

در مطالعه سعادتی و همکاران در جنین‌های سقطی گوسفند بلوچی در منطقه سیستان به روش PCR ۱۹/۲ درصد عفونت بروسلا شناسایی شد (۱۲). در مطالعات دیگری نیز روی جنین‌های سقطی آلودگی به بروسلا ۵/۳ درصد در همدان (۱۳) و ۴ درصد در لرستان (۱۴) و ۱۳/۱ درصد در شهرکرد (۱۵) تشخیص داده شد.

با توجه به سهمی که باکتری بروسلا در سقط جنین در بررسی‌های انجام شده در استان‌های مختلف کشور داشته است و همچنین مطالعات دیگری که شیوع بروسلوز را در جمعیت گوسفند و بز کشور نشان می‌دهد (۹) علیرغم تلاش سازمان دامپزشکی در مبارزه با بیماری، بروسلوز هنوز یکی از عوامل سقط جنین در جمعیت گوسفند و بز است.

کلامیدوفیلا: باکتری *کلامیدوفیلا آبورتوس* عامل سقط انزوتیک میش‌ها است و به عنوان شایع‌ترین عامل سقط جنین گوسفند در بسیاری از کشورهای دنیا از جمله کشورهای اروپایی و غرب ایالات متحده آمریکا مطرح است (۶). در ایران مطالعات معدودی دخالت این باکتری را در سقط جنین گوسفند در مناطق مختلف نشان داده است. در مطالعه عالم و همکاران بررسی مولکولی ۵۰ جنین سقط شده در شهر تبریز نشان از ۲۶ درصد آلودگی با *کلامیدوفیلا* را داشت (۱۶). مطالعات مشابه میزان آلودگی ۵۶/۴۱ درصد در شهرکرد و باغ ملک (۱۷)، ۵۲ درصد در استان چهارمحال و بختیاری (۳)، ۴ درصد در استان لرستان (۱۴)، ۲۰ درصد در نمونه‌های استحصالی از استان‌های چهارمحال و بختیاری، اصفهان و خراسان رضوی (۱۸) را به *کلامیدوفیلا* نشان داد. در مطالعه‌ی دیگری آزمایش PCR جنین‌های سقطی گاو در استان چهارمحال و بختیاری نیز ۱۷/۹۳ درصد آلودگی به *کلامیدوفیلا* (۱۹) را اثبات کرد. مطالعه سرم‌شناسی روی میش‌های با سابقه سقط در اهواز آلودگی به *کلامیدوفیلا* را ۱۳ درصد نشان داد (۲۰).

همچنین در یک بررسی سرمی گسترده توسط اسماعیلی و همکاران روی ۱۴۴۰ رأس گوسفند از ۱۱۳ گله و ۷ استان کشور شیوع سرمی به *کلامیدوفیلا آبورتوس* در ۲۵/۶ درصد گوسفندان و ۸۱/۴ درصد گله‌ها گزارش شد (۲۱) و مطالعات سرمی دیگر نیز با این گزارش همخوانی دارد (۲۰). در کشورهای همسایه از جمله ترکیه نیز نقش *کلامیدوفیلا* در سقط جنین گوسفند و بز و گاو نشان داده شده است (۲۲، ۲۳).

مطالعاتی که در کشورهای اروپایی صورت گرفته، نشان می‌دهد اهمیت *کلامیدوفیلا* در موارد سقط جنین بز به اندازه آنچه در مورد گوسفند مشاهده شد نیست (۶). با توجه به اینکه ردیابی *کلامیدوفیلا* از طریق کشت امکان پذیر نیست و آزمایش‌های مولکولی معمول نیز در این زمینه چندان موفق نیستند، استفاده از nested PCR برای

پیدا کردن DNA کلامیدیا توصیه شده است (۳). همین مسأله می‌تواند نشان دهد که سهم کلامیدیا از آنچه در مطالعات ذکر شده بیان شد احتمالاً بالاتر باشد.

کمپیلوباکتر: *کمپیلوباکتر فتوس* زیرگونه‌ی فتوس از عوامل شایع سقط جنین گوسفند در دنیا محسوب می‌شود (۶). در ایران نیز نقش این عامل در سقط جنین مورد مطالعه بیشتری نسبت به سایر عوامل قرار گرفته است. بیشترین درصد آلودگی به *کمپیلوباکتر* در بین این مطالعات توسط هرکی نژاد و همکاران گزارش شده است که از ۱۲۹ سوآپ مهبلی میش‌های افشاری استان زنجان با سابقه سقط با روش PCR میزان آلودگی ۵۱/۹ درصد به کمپیلوباکتر تأیید شد. در همین مطالعه میزان آلودگی به *کمپیلوباکتر* در میش‌هایی که بره سالم متولد کرده بودند ۲۳/۵۲ درصد گزارش شد (۴). اختلاف آماری معنی‌دار بین میش‌های با سابقه سقط و بدون سابقه سقط از لحاظ داشتن عفونت *کمپیلوباکتر* نشان‌دهنده نقش این عامل در سقط جنین‌های منطقه بوده است. مطالعه مشابهی در استان زنجان همین یافته را تأیید می‌کند (۲۴). سایر مطالعات میزان آلودگی ۱۳/۳-۰/۶ درصد در گله‌های استان اصفهان (۲۵)، ۴ درصد در اطراف شیراز (۱۱)، ۰/۴۴ درصد در همدان (۱۳)، ۴/۹ درصد در نمونه‌های استحصالی از استان‌های چهارمحال و بختیاری، خراسان رضوی و اصفهان (۲۶)، ۱/۴ درصد در استان مرکزی (۲۷)، ۱۰/۵۹ درصد در تبریز (۲۸) و ۷/۷ درصد در منطقه‌ی سیستان (۲۹) به کمپیلوباکتریوز را در جنین‌های سقطی گوسفند گزارش کرده‌اند. زهرائی صالحی نیز *کمپیلوباکتر فتوس* را از تمام ۸ مورد جنین سقطی یک گله‌ی میش در تهران جدا کرد (۳۰). البته مطالعات معدودی نیز نتوانسته‌اند آلودگی به *کمپیلوباکتر* را در جنین‌های سقط شده شناسایی کنند (۱۴).

در مجموع این مطالعات نشان می‌دهند که باکتری‌های جنس *کمپیلوباکتر* به عنوان عامل سقط جنین گوسفند در کشور ما اهمیت دارند اگر چه شاید در مقایسه با باکتری‌های جنس بروسلا و کلامیدوفیلا سهم کمتری در موارد سقط داشته باشند.

سالمونلا: چندین سروتیپ از باکتری‌های جنس *سالمونلا* عامل سقط جنین در گوسفند و بز هستند که شامل *س. آبورتوس اُویس*، *س. تیفی‌موریوم*، *س. دابلین* و *س. مونتی ویدئو* هستند (۶). از آنجایی که این سروتیپ‌ها همه‌جایی هستند می‌توانند در همه‌ی مناطق به میزان متغیری عامل سقط جنین گوسفند و بز باشند. دو مطالعه که نقش این ارگانیسم را در ایجاد سقط جنین گوسفندی در استان چهارمحال و بختیاری مورد بررسی مولکولی قرار داده‌اند آلودگی به *س. آبورتوس اویس* را در جنین‌های سقطی ۴۴/۴ درصد (۳۱) و ۲۳/۶۸ درصد (۳۲) گزارش کرده‌اند. مطالعات مشابهی در مناطق اطراف شیراز، استان لرستان و منطقه سیستان به ترتیب میزان آلودگی ۱۹/۶ درصد (۱۱)، ۸ درصد (۱۴) و ۱/۳ درصد (۱۲) را داشته‌اند. در استان زنجان دو بررسی مولکولی مجزا روی سوآپ مهبلی میش‌هایی که سقط جنین را پشت سر گذاشته بودند عامل سالمونلایی پیدا نکردند (۴، ۲۴).

لیستریا: دو گونه‌ی *لیستریا مونوسیتوژنز* و *لیستریا ایوانووی* عامل سقط جنین گوسفند و بز هستند. لیستریا توزیع جهانی دارد و عامل حدود ۲ درصد از سقط‌های گوسفندی در بریتانیا است (۶). همان‌طور که از اطلاعات جدول ۱ مشخص است، در ایران بررسی چندانی در تعیین سهم لیستریا در موارد سقط جنین گوسفندی صورت نگرفته است. تنها در مطالعه‌ی صادقی و همکاران در استان

مرکزی از ۲/۸ درصد جنین‌های سقطی گوسفند و بز لیستریا جدا شده است (۲۷). در بعضی از معدود مطالعات انجام شده اثری از این باکتری در جنین‌های سقط شده یافت نشده است بنابراین به نظر می‌رسد این ارگانیسم سهم چندانی در ایجاد سقط در ایران نداشته باشد. البته لازم است مطالعاتی به طور ویژه این باکتری را در جنین‌های سقطی مناطق مختلف کشور مورد بررسی قرار دهند.

لپتوسپیرا: سروارهای متعددی از باکتری جنس *لپتوسپیرا* می‌توانند منجر به سقط جنین گوسفند و بز شوند (۶). در ایران از بین مطالعات معدودی که حضور *لپتوسپیرا* را در جنین‌های سقطی ردیابی کرده‌اند، بیشتر آن‌ها موفق به پیدا کردن این ارگانیسم نشده‌اند (۱۴، ۲۴، ۲۶). در مطالعه فروتنی و همکاران در تبریز تیتر بالای پادگن *لپتوسپیرا* در ۱۰ درصد میش‌های سقط کرده گزارش گردید در حالی‌که DNA *لپتوسپیرا* در ۸/۵۷ درصد جنین‌های سقط شده یافته شد (۳۳). بررسی موارد سقط جنین در یکی از گاوداری‌های تبریز نیز میزان آلودگی ۷/۸ درصد به *لپتوسپیرا* را نشان داد (۳۴). هر چند گزارش‌های مثبت از حضور *لپتوسپیرا* در جنین‌های سقطی در ایران به ندرت است ولی با توجه به میزان شیوع سرمی بالایی که در استان‌های مختلف و در جمعیت گوسفند، بز و گاو گزارش شده است (۳۹-۳۵)، جا دارد مطالعات دقیق‌تری نقش این ارگانیسم را در ایجاد سقط جنین تعیین کند.

کوکسیلا: *کوکسیلا بورنتی* یکی از عوامل نادر سقط در اروپا است. بررسی‌هایی که صورت گرفته نشان از شیوع این عامل در جمعیت گوسفند و بز کشور ایران دارد ولی مطالعات معدودی در ایران نقش این باکتری را در موارد سقط جنین بررسی کرده است. در بعضی از این مطالعات عامل *کوکسیلا* پیدا نشده است (۲۴، ۴۰) و یک مورد نیز آن را در جنین‌های سقطی (۱/۳ درصد) شناسایی کرده است (۱۲). مطالعاتی که شیوع *کوکسیلا بورنتی* را در جمعیت گوسفند و بز و گاو و شیر آن‌ها بررسی کرده‌اند حاکی از شیوع قابل توجه آن در گله‌های استان‌های مختلف ایران می‌باشد (۴۳-۴۱). به نظر می‌رسد بایستی مطالعات ویژه‌ای برای تعیین میزان دخالت *کوکسیلا* در سقط جنین گوسفند و بز در کشور انجام شود.

عوامل باکتریایی غیر اصلی

بسیاری از باکتری‌های دیگر در گوسفند و بزهای سقط کرده یا جنین‌های سقطی شناسایی شده‌اند. این باکتری‌ها سقط‌های تکی و انفرادی ایجاد می‌کنند و در سطح گله مشکلی دیده نمی‌شود. بیشتر این عفونت‌ها با سپتی سمی اولیه مادر شروع شده، با موضعی شدن باکتری در کارانکل رحمی و کوتیلودون‌های جفت ادامه می‌یابد (۷). از این دسته عوامل، *اِشریشیا کلای*(۱۱، ۱۳، ۲۷)، *باسیلوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس*، *اولیگلا*، *انتروکوکوس*، *آئروموناس* (۲۷) در موارد سقط جنین گوسفند در ایران شناسایی شده است. البته باید توجه داشت که این باکتری‌ها ممکن است به صورت آلودگی‌های جانبی و در حین نمونه‌گیری آلودگی ایجاد کرده باشند و نسبت دادن آن‌ها به عنوان عامل سقط باید با تأمل صورت گیرد (۷).

عوامل تک یاخته‌ای

توکسوپلاسما: *توکسوپلاسما گوندی* یکی از رایج‌ترین عوامل سقط جنین میش و بز در بسیاری از کشورهای دنیا است. این تک یاخته توزیع جهانی دارد (۵). این تک یاخته در بعضی کشورها از جمله انگلیس و نیوزلند پس از کلامیدوفیلا دومین عامل متداول سقط گوسفندی به شمار می‌رود (۶). در ایران مطالعات متعددی به جستجوی *توکسوپلاسما* در موارد سقط گوسفندی پرداخته‌اند. حمیدی‌نژاد و

همکاران میش‌های با سابقه سقط اخیر و میش‌های بدون سابقه سقط را در منطقه اهواز از نظر آلودگی به *توکسوپلاسما* مورد مقایسه سرولوژیک قرار دادند و میش‌های سقط کرده به طور قابل ملاحظه ای نسبت به میش‌های بدون سابقه سقط آلوده‌تر بودند (۴۴). مطالعه‌ی مشابه دیگری نیز همبستگی شدید بین سابقه سقط در میش‌های استان همدان و عفونت *توکسوپلاسمایی* آن‌ها را تأیید کرد (۴۵). مطالعاتی که با روش PCR به جستجوی *توکسوپلاسما* در مغز جنین سقط شده پرداخته‌اند میزان آلودگی ۷ درصد در لرستان (۴۶)، ۶۶ درصد در قزوین (۴۷)، ۱۶/۰۷ درصد در خراسان رضوی (۴۸) و در سیستان ۱۶ درصد (۴۹) را گزارش کرده‌اند. در یک بررسی مولکولی روی ۷۵ جنین سقطی در منطقه اردبیل آلودگی به *توکسوپلاسما* یافت نشد (۵۰). بررسی سرم‌شناسی مایعات جنین‌های سقطی آلودگی ۵/۲ درصد را در مشهد نشان داد (۵۱). مطالعات دیگری نیز نقش *توکسوپلاسما* را در ایجاد سقط جنین در گله‌های گوسفند و گاو ایران نشان داده‌اند (۵۲، ۵۳). نقش عفونت *توکسوپلاسمایی* در موارد سقط جنین انسانی کشور در مطالعات کم رنگ نشان داده شده است (۵۶-۵۴). مطالعات متعددی میزان شیوع بالای *توکسوپلاسموزیس* را در جمعیت گوسفند، بز، گاو استان‌های مختلف کشور تأیید کرده‌اند (۶۰-۵۷).

نئوسپورا: عفونت *نئوسپورایی* اگر چه در مورد گاو شایع است و در ایران نیز به عنوان عامل سقط جنین در مزارع پرورش گاو مطرح شده اما در گوسفند و بز نادر است. با این حال گزارش‌هایی مبنی بر نقش این تک یاخته در ایجاد سقط جنین گوسفندان قزل و ماکویی شمال غرب ایران (۶۱) و میش‌های استان همدان (۵۳) وجود دارد. البته مطالعه‌ی دیگری در غرب کشور تفاوت قابل ملاحظه‌ای در شیوع سرولوژیک *نئوسپورا* بین میش‌های سقط کرده و میش‌های بدون سابقه سقط نیافته است و به این ترتیب نقش *نئوسپورا* را در سقط جنین میش‌های منطقه رد کرده است (۶۲). قطعاً با توجه به شیوع این تک یاخته در گله‌های گوسفند و بز ایران (۶۳، ۶۴) انجام مطالعات بیشتر برای ردیابی *نئوسپورا* در سقط جنین گوسفند و بز در کشور لازم است.

عوامل ویروسی

ویروس بلوتانگ(Bluetongue virus)، ویروس بیماری بوردر(Border disease virus)، هرپس ویروس بز(Caprine herpesvirus)، ویروس کاشه والی(Cache valley virus) و ویروس آکابان(Akabane virus) از جمله ویروس‌هایی هستند که به عنوان عامل سقط جنین در گوسفند و بز در دنیا مطرح هستند. همان طور که از اطلاعات جدول ۱ مشخص است، در ایران نقش ویروس‌ها در سقط جنین گوسفند و بز مورد جستجو قرار نگرفته است اگر چه که نقش بعضی ویروس‌ها در سقط جنین گاوی بررسی شده است (۶۵). شیوع بعضی از این عوامل ویروسی مثل ویروس بلوتانگ(۶۸-۶۶) و ویروس بیماری بوردر (۱۱) جمعیت گوسفند و بز کشور تأیید شده است و جای مطالعه ویژه بر نقش احتمالی آن‌ها در ایجاد سقط جنین وجود دارد.

References

1. Ensminger ME, Parker R. Sheep & goat science. 5th, editor. Danville: The Interstate Printers & Publishers, Inc.; 1986.

2. Saadat-Noori M, Siah-Mansoor S. Sheep Husbandary and Management. Tehran: Ashrafi Publication. 1992.[In Persion]

3. Mahzounieh MR, Golbooy Daghdari S, Pour Ahmad R. Detection of Chlamydophila abortus in sheep abortions in Chaharmahal va Bakhtiari Province using Nested PCR. IVJ. 2014; 10(2): 74-80. [In Persion]

4. Saleh M, Harkinezhad M, Salmani V. Detection of some bacterial causes of abortion in Afshari sheep using Real Time PCR detection and sensitivity assessment of Campylobacter primers. JO AGRIBIOTECH. 2014; 6(3): 107-20. [In Persion]

5. Youngquist RS, Threlfall WR. Current Therapy in Large Animal Theriogenology-E-Book: Elsevier Health Sciences; 2006.

6. Noakes DE. Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics E-Book: Elsevier Health Sciences; 2009.

7. Njaa BL. Kirkbride's diagnosis of abortion and neonatal loss in animals: John Wiley & Sons; 2012.

8. Esmaeili H. Brucellosis in Islamic republic of Iran. JMB. 2015; 3(3-4): 47-57.

9. Esmaeili H, Ekhtiyar Zadeh H, Ebrahimzadeh H, Partovi R, Marhamati Khameneh B, Hamedi M, et al. Evaluation of the national sheep and goat brucellosis control program in Iran. AMUJ. 2012; 14(6): 9-20.

10. Saberi Hasan Abadi M. Evaluation of the frequency of Brucella Abortion in sheep farms around Tabriz by PCR and ELIZA Methods: Veterinary Faculty, Tabriz Univesity; 2012. [In Persion]

11. Firouzi R. Bacteriological study of abortion in ewes of Shiraz area. Iran J Vet Res. 2006; 61(1): 15-7. [In Persion]

12. Mahdavi Roshan H, Saadati D, Najimi M. Molecular detection of Brucella melitensis, Coxiella burnetii and Salmonella abortusovis in aborted fetuses of Baluchi sheep in Sistan region, south-eastern Iran. IJVR. 2018; 19(2): 128.

13. Gharekhani J, Karimi Makhsus A, Sadeghi B, Rasuli MR. Investigation of bacterial agents of abortion of sheep in Hamadan province, The 2nd National Congress Of Veterinary Laboratory Sciences; 12-13 December 2012; Semnan University-Iran: p: 105. [In Persion]

14. Malakshahe K. Investigating of bacterial agents in abortion of sheep in Lorestan province by PCR method: Veterinary Faculty, Shahrekord University; 2017. [In Persion]

15. Sharifzadeh A, Doosti A, Gaafarian M. The comparison between molecular and bacteriological detection for identification of abortion agents caused by Brucella and Salmonella in sheep in Shahrekord town. J Microbiol word. 2009; 2(2): 101-4. [In Persion]

16. Alem M, Asadpour R, Jafari Joozani R, Nofouzi K. Molecular Detection of Chlamydophila Abortus In Aborted Fetal Tissues by Using Polymerase Chain Reaction (PCR) In Tabriz, Northwest of Iran. JCMR. 2017; 9(1): 35-8.

17. Barati S, Moori-Bakhtiari N, Najafabadi MG, Momtaz H, Shokuhizadeh L. The role of zoonotic chlamydial agents in ruminants abortion. IJM. 2017; 9(5): 288.

18. Safarpour A. Molecular detection of Chlamydophila abortus, from aborted lambs using Real-time PCR assay.: Veterinary Faculty, Shahrekord University; 2016. [In Persion]

19. Doosti A, Arshi A. Molecular Study for Detection of Chlamydia psittaci caused Abortion in Iranian Cattle. JPAM. 2012; 6(3): 1133-8.

20. Ghorbanpoor M, Goraninejad S, Heydari R. Serological study on enzootic abortion of ewes in Ahvaz, Iran. Anim Vet Adv. 2007; 6(10): 1194-6.

21. Esmaeili H, Bolourchi M, Mokhber-Dezfouli MR. Seroprevalence of Chlamydia abortus infection in sheep and goats in Iran. Int J Vet Res. 2015; 9(2): 73-7.

22. Gokce H, Kacar C, Genc O, Sozmen M. Seroprevalence of Chlamydophila abortus in aborting ewes and dairy cattle. Bull Vet Inst Pulawy. 2007; 51(10): 9-13.

23. Kalender H, Kiliç A, Eröksüz H, Muz A, Kilinç Ü, Taşdemir B. Identification of Chlamydophila abortus infection in aborting ewes and goats in Eastern Turkey. Rev Med Vet. 2013; 164(6): 295-301.

24. Saleh M, Harkinezhad MT, Marefat A, Salmani V. An outbreak of abortion in Afshari sheep with probable involvement of Campylobacter fetus. Int J Vet Res. 2013; 7(1): 51-6.

25. Tadjbakhsh H, Ahmadi M, Fakhrzadegan F, Nadalian M. A survey on Campylobacter fetus subsp fetus infections in sheep around Tehran and Esfahan. Iran J Vet Med. 2000; 55(3): 69-71. [In Persion]

26. Kabiri F, Mahzounieh M, Ebrahimi KA, Mokhtari A. Genomic identification of campylobacter fetus and leptospira introgans in aborted sheep fetuses in the selected provinces of Iran by PCR. J C P. 2016; 10(2): 1917-26. [In Persion]

27. Sadeghi MR, Ghaem Maghami SS, Bakhshesh M, Moradi S, Ganji A, Ahmadi M. Evaluation of the Outbreak of bacterial abortions of sheep and goats in Markazi province. VMJ. 2009; 2(4): 6. [In Persion]

28. Fallah S, Hamali H, Jafari Joozani R,

Zare P, Norsaadat G. A molecular (PCR) survey on abortions caused by Campylobacter spp. in sheep flocks located on the suburb of Tabriz. IJVST. 2014; 6(1): 23-9.

29. Hosein Abadi E, Saadati D, Najimi M, Hasanpour M. Molecular epidemiology of Campylobacter Fetus in aborted fetuses of Baluchi sheep in Sistan region. IJVST. 2018; 10(1): 47-52.

30. Zahraei Salehi T. Outbreak of abortion associated with *campylobacter fetus* subsp. fetus. Iran J Vet Res. 1999; 54(2): 11-4.

31. Sharifzadeh A, Doosti A, Khaksar K. A multiplex PCR for the detection of Brucella spp. And Salmonellaabortusovis from aborted ovine fetus. IJVS. 2008; 3(1): 109-11. [In Persion]

32. Hashemi S, Mahzounieh MR, Yek Taneh F, Sheykhi N. Evaluation of the Prevalence of salmonella abortion in sheep of Chaharmahal and Bakhtiari province. The 2nd National Congress Of Veterinary Laboratory Sciences; 12-13 December 2012; Semnan University-Iran: p: 231.[In Persion]

33. Froutani P, Hamali H, Jozani RJ, Abdollahpour G, Katayon N, Norsaadat G. A survey on abortions caused by Leptospira spp. in sheep flocks located on the suburb of Tabriz-Iran. Wulfenia. 21(1): 134-44.

34. Hamali H, Jafari Joozani R, Nofouzi K, Ashrafi Halan J, Jabbari Noghabi H. Prevalence of leptospirosis, Campylobacteria and Brucella abortion in dairy cattle around Tabriz by molecular method. IVJ. 2013; 9(2): 50-9. [In Persion]

35. Haji Hajikolaei M, Ghorbanpour M, Gharibi D, Abdollapour G. Serologic study on leptospiral infection in sheep in Ahvaz, southwestern Iran. IJVR. 2007; 8(4): 333-6.

36. Haji Hajikolaei M, Rezaei S, Ghadrdan Mashhadi A, Ghorbanpour M, Abdollahpour G. Comparison of Leptospira interrogans infection in the goats and sheep. Int J Vet Res. 2016; 10(2): 113-9.

37. Abdollahpour G, Shafighi ST, Sattari Tabrizi S. Serodiagnosis of leptospirosis in cattle in north of Iran, Gilan. IntJVetRes. 2009; 3(1): 7-10.

38. Ebrahimi A, Nasr Z, Kojouri GA. Seroinvestigation of bovine leptospirosis in Shahrekord district, central Iran. IJVR. 2004; 5(2): 110-3.

39. Firouzi R, Vandyousefi J. A serological survey on bovine leptospirosis in Shiraz, Iran. Iran J Vet Res. 2000; 1(2): 118-23.

40. Khalili M, Nourollahifard SR, Abiri Z, Edalati Shokat S. Detection of Coxiella burnetii as one of the causes of infectious abortions in small ruminants by PCR in the Hamedan province. Vet Microbiol. 2016; 11(2): 129-34. [In Persion]

41. Asadi J, Khalili M, Kafi M, Ansari-Lari M, Hosseini SM. Risk factors of Q fever in sheep and goat flocks with history of abortion. Comp Clin Path. 2014; 23(3): 625-30.

42. Ezatkhah M, Alimolaei M, Khalili M, Sharifi H. Seroepidemiological study of Q fever in small ruminants from Southeast Iran. J Infect Public Health. 2015; 8(2): 170-6.

43. Khalili M, Diali HG, Mirza HN, Mosavi SM. Detection of Coxiella burnetii by PCR in bulk tank milk samples from dairy caprine herds in southeast of Iran. Asian Pac J Trop Dis. 2015; 5(2): 119-22.

44. Hamidinejat H, Goraninejad S, Ghorbanpoor M, Nabavi L, Akbarnejad F. Role of Toxoplasma gondii in abortion of ewes in Ahvaz (South-West Iran). Bull Vet Inst Pulawy. 2008; 52(10): 369-71.

45. Heidari H, Gharekhani J, Tavoosidana G. Role of toxoplasmosis in abortion of ewes in western Iran: a serological study. Sci Parasitol. 2013; 14(2): 99-103.

46. Nourmohammadi M, Hamidinejat H, Tabandeh M, Goraninejad S, Bahrami S. Genotyping of zoonotic toxoplasm gondii isolated from aborted fetuses of ewes of Lorestan province based on SAG2, SAG3 and GRA6 molecular markers. JAUMS. 2017; 17(3): 343-52. [In Persion]

47. Habibi G, Imani A, Gholami M, Hablolvarid M, Behroozikhah A, Lotfi M, et al. Detection and identification of Toxoplasma gondii type one infection in sheep aborted fetuses in Qazvin Province of Iran. Iran J Parasitol. 2012; 7(3): 64.

48. Danehchin L, Razmi G, Naghibi A. Molecular detection of Toxoplasma gondii infection in aborted fetuses in sheep in Khorasan Razavi province, Iran. Int J Vet Res. 2017; 11(2): 147-54.

49. sanjarani g. A study on the prevalence of *toxoplasma gondi* infection in aborted Baluchi sheep fetuses in Sistan district using PCR method: Veterinary Faculty, University of Zabol; 2017. [In Persion]

50. Shahbazi G, Hoghughi Rad N, Madani R, Shjaie S. Evaluation of gene GRA6 IN subtraction of *Toxoplasma gondii* genotypes using PCR-RFLP method in aborted fetuses of Ardabil region. J C P. 2013; 10(3): 1027-32. [In Persion]

51. Razmi GR, Ghezi K, Mahooti A, Naseri Z. A serological study and subsequent isolation of *Toxoplasma gondii* from aborted ovine fetuses in Mashhad area, Iran. J Parasitol. 2010; 96(4): 812-4.

52. Rasuli M, Movasseghi AR, Sami M. Confirmation of the prevalence of Toxoplasmic abortion in a sheep herd with different laboratory methods, The 2nd National Congress Of Veterinary Laboratory Sciences; 12-13 December 2012; Semnan University-Iran: p: 122. [In Persion]

53. Gharekhani J. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in aborted cattle in Hamedan, Iran. JAVAR. 2014; 1(2): 32-5.

54. Saki J, Mohammadpour N, Moramezi F, Khademvatan S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in women who have aborted in comparison 2015(10): 1-4.

55. Matin S, Shahbazi G. Study on abortion associated with *Toxoplasma gondii* in women based on PCR detection of aborted placenta and maternal serology in Ardabil, International Conference on

Medical and Clinical Microbiology; 3-4 July 2017; Bangkok, Thailand: P: 2.

56. Ghasemi FS, Rasti S, Piroozmand A, Bandehpour M, Kazemi B, Mousavi SGA, et al. Toxoplasmosis-associated abortion and stillbirth in Tehran, Iran. J Matern-Fetal Neonatal Med. 2016; 29(2): 248-51.

57. Movassaghi AR, Rassouli M, Fazaeli A, Salimi-Bejestani MR. Outbreak of ovine congenital toxoplasmosis in Iran, confirmed by different diagnostic methods. J Parasit Dis. 2016; 40(1): 152-6.

58. Hashemi-Fesharki R. Seroprevalence of Toxoplasma gondii in cattle, sheep and goats in Iran. Vet Parasitol. 1996; 61(1-2): 1-3.

59. Hashemzadeh Farhang H, Nowzari N, Moazzeni F. Evaluation of seroprevalence of Toxoplasmosis in sheep and goats in Tabriz by ELISA method. Vet Clin Pathol(Veterinary Journal Tabriz). 4(1): 753-7. [In Persion]

60. Sharif M, Sarvi S, Shokri A, Teshnizi SH, Rahimi M, Mizani A, et al. *Toxoplasma gondii* infection among sheep and goats in Iran: a systematic review and meta-analysis. Parasitol Res. 2015; 114(1): 1-16.

61. Asadpour R, Jafari-Joozani R, Salehi N. Detection of *Neospora caninum* in ovine abortion in Iran. J Parasit Dis. 2013; 37(1): 105-9.

with the women with normal delivery in Ahvaz, southwest of Iran. ScientificWorldJournal. 2015;

62. Ezatpour B, Alirezaei M, Hassanvand A, Zibaei M, Azadpour M, Ebrahimzadeh F. The first report of *Neospora caninum* prevalence in aborted and healthy sheep from west of Iran. Comp Clin Path. 2015; 24(1): 19-22.

63. Gharekhani J, Esmaeilnejad B, Rezaei H, Yakhchali M, Heidari H, Azhari M. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in Iranian goats. Ann Parasitol. 2016; 62(2): 111-4.

64. Vajdi Hokm Abad R, Khan Mohammadi M, Moniri Sarabi MR. Evaluation of the Prevalence of *Neospora Caninum* in sheep in Mianeh by competitive ELIZA and indirect immunofluorescence. VMJ. 2014; 7(1): 59-66. [In Persion]

65. Sasani F, Vazirian A, Javanbakht J, Aghamohammd Hassan M. Detection of infectious bovine rhinotracheitis in natural cases of bovine abortion by PCR and histopathology assays. AJCEM. 2013; 1(2): 35-9.

66. Mozaffari AA, Khalili M, Sabahi S. High seroprevalence of Bluetongue virus antibodies in goats in southeast Iran. Asian Pac J Trop Biomed. 2014; 4: S275-S8.

67. Najarnezhad V, Rajae M. Seroepidemiology of Bluetongue disease in small ruminants of north-east of Iran. Asian Pac J Trop Biomed. 2013; 3(6): 492-5.

68. Imandar M, Hasanpour A, Hasanzadeh M, Mousakhani F, Pourbakhsh SA. Evaluation of Bluetongue Virus Infection in Sheep in Khoy city using the competitive ELIZA method. J C P. 2014; 11(1): 1135-42.

A Review on Infectious Agents of Sheep and Goats Abortion in Iran

Mohammad javad behzadi shahrbabak*

Assistant Professor, Depertment of clinical science, Faculty of Veterinary Medicine, Zabol university, Zabol,Iran.

Receive: February 10, 2019; Revise: March 3, 2019; Accept: March 4, 2019

Summary

Abortion is one of the problems of sheep and goats breeders in Iran and imposes significant economic losses on farmers. Infectious agents are the most common reason for abortion in sheep and goats. Some of these agents, such as Brucella and Toxoplasma, result in zoonotic diseases. Regarding the important role of sheep and goat breeding in livelihood of the people, it is very important in terms of economics and public health to accurately know the abortive infectious agents in sheep and goat flocks. The purpose of this study was to investigate all the literature which attempts to diagnose bacterial, viral and protozoan agents of sheep and goat abortion in Iran. Therefore, all articles related to abortion of sheep and goats, individual infectious agents and their prevalence in the geographical area of Iran or neighboring countries in databases including Science Direct, Pub Med, Scopus, Google scholar, Magiran and Iran doc were searched. Of the English and Persian studies found, 36 studies were conducted on abortion of sheep and goats that their results were inserted in a table for better evaluation. Based on studies that examined the causes of abortion of sheep and goats in different provinces of Iran; Brucella, Toxoplasma, Chlamydophila, Campylobacter and Salmonella are the most common causes of abortion in the country. No study has tracked the viral agents in abortion of sheep and goats in Iran.

Key words: *Iran, Abortion, Infectious agents, Sheep and goat*