بررسی بورخولدریا درخاک استان گلستان

پرستو پورغفور لنگرودی *

۱- عضو هیات علمی، بخش تحقیقات بیماری های باکتریایی، موسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی ، سازمان تحقیقات ،آموزش و ترویج کشاورزی ،ایران

* **نویسنده مسوول**: دکترای حرفه ای دامپزشکی ،آدرس: موسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی

ایمیل: poorghafoor@yahoo.com

چکیده:

بیماری ملیوئیدوز که عامل آن *بورخولدریا سودومالئی* است، یک بیماری مشترک انسان و دام با مخزن جوندگان و زیستگاه خاک است. کشاورزان به‌دلیل نوع کار، در معرض خطر عفونت با این بیماری و دیگر گونه‌های پاتوژن بورخولدریا قرار دارند. اطلاعات کمی در مورد خواص فیزیکی و شیمیایی خاک مرتبط با حضور یا عدم وجود ارگانیسم در نقاط مختلف ایران وجود دارد. مقاومت ضد میکروبی همچنان چالش‌های عمده‌ای را برای مراقبت‌های بهداشتی مدرن ایجاد می‌کند. این اولین مطالعه‌ای است که حضور بورخولدریا را در نمونه‌های خاک استان گلستان نشان می‌دهد. تحقیق حاضر یک بررسی در استان گلستان است که ۱۰۰ نمونه‌ی خاک برای وجود این باکتری‌ها غربال شدند. نمونه‌ها از منطقه‌ی برنج‌کاری استان گلستان جمع‌آوری و در محیط‌های انتخابی اشدون کشت داده شدند. کلنی‌های مشکوک بورخولدریا با آزمایش بیوشیمیایی و با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از پرایمرهای اختصاصی CVP ۲۳-۲R، CVMP۲۳-۱F ، شناسایی شدند. از ۱۰۰ نمونه‌ی خاک، ۵۷ نمونه بورخولدریا جدا شد. حضور ارگانیسم نشان می‌دهد که خاک می‌تواند یک مخزن بالقوه برای ایجاد بیماری در انسان و دام باشد. این تحقیق، حضور بورخولدریا در خاک استان گلستان را تایید نمود و با یافته‌های دیگر محققین که *بورخولدریا سپاسیا* را از بیماران سیستیک فیبروزیس مجزا نموده‌اند هم‌خوانی داشت.

کلمات کلیدی : بورخولدریا، خاک، استان گلستان

مقدمه :

ملیوئیدوزیس (شبه مشمشه یا ویتمور): برای اولین بار به‌وسیله‌ی **ویتمور** در سال ۱۹۱۰ در رانگون برمه توصیف شد. بیماری با آبسه‌های متعدد در نسوج و اعضای مختلف بدن مشخص می‌شود. دیگر اشکال محدودتر بیماری با ابتلای عفونت ریه، استخوان، پوست یا مفاصل نیز شناخته شده است. **ویتمور** عامل بیماری را به علت آثار پاتولوژیک و شباهت کشت آن به ارگانیسم مشمشه (*سودوموناس مالئی*) *باسیلوس سودومالئی* نام نهاد. عامل مشمشه انگلی اجباری‌ست که عمدتا اسب (تک سمیان) را مبتلا می‌سازد. به نظر می‌رسد انتشار جغرافیایی آن تنها به‌وسیله میزبانش محدود می‌گردد. در مقابل *سودوموناس سودومالئی* ساکن طبیعی خاک و آب بوده و قادر است انواع مختلف حیوانات را در یک انتشار جغرافیایی محدود عفونی سازد. احتمالا حرارت و رطوبت مهم‌ترین فاکتور های تاثیرگذار بر انتشار *سودوموناس سودومالئی* در طبیعت می‌باشند، بالاترین میزان درصد آلودگی از مناطقی با رطوبت زیاد و حرارت بالا بوده است. در خلال فصول بارانی، مخاطره‌ی تماس با *سودوموناس سودومالئی* بیش‌تر است (۱). اولین گزارش جداسازی *سودوموناس سودومالئی* (نامگذاری قبلی *بورخولدریا سودومالئی*) در سال ۱۳۴۶ در بخش تشخیص موسسه‌ی سرم‌سازی رازی است؛ باکتری مذکور از چرک خاکستری آبسه‌های متعدد ریوی یک بز سانن تلف‌شده ارجاعی از دامپروری حیدرآباد، جداسازی و با آزمایشات تکمیلی و تزریق به خوکچه‌ی هندی تایید شد (۲). دو سال بعد در سال ۱۳۴۸، **بهارصفت و امجدی** متعاقب اپیدمی و تلفات اسب‌های موسسه‌ی رازی عامل را ملوئیدوز گزارش کردند و در موسسه‌ی رازی ویتمورین تهیه و استفاده شد. این بار ارگانیسم جدا شده توسط موسسه‌ی ارتش والتر رید نیز تایید شد (۳، ۴). موش‌ها و موش‌صحرایی نیز برای بررسی بیش‌تر به دام افتادند، اما نتایج آزمایش منفی شد و منشأ و اپیدمیولوژی بیماری ناشناخته باقی ماند (۲). گزارش‌ها با شیوع ملیوئیدوز در فرانسه ادامه یافت، جایی که به‌نظر می‌رسید فرضیه‌ی منشأ بیماری به شدت با واردات یک پاندا از یک سایت جغرافیایی آلوده و همچنین دو اسب ایرانی که به همسر رئیس جمهور فرانسه در سال ۱۹۷۱ پیشنهاد شده بود، مرتبط است (۴). **پورتقوا** و همکاران در سال ۱۹۷۵، در نمونه‌گیری از کشت‌زارهای برنج شمال، از ۱۵۷ نمونه، ۱۹ مورد *سودوموناس سودومالئی* (تیپ۱و۲) جدا کردند (۵)، این مطالعه آن‌ها را بر آن داشت تا حداقل برخی از مناطق کشور را به‌عنوان محل مناسب اکولوژیکی برای *بورخولدریا سودومالئی* در نظر بگیرند. در نهایت شناسایی ملیوئیدوز ریوی انسان در سال ۱۹۷۷ بود که مهر تأیید بر حضور *بورخولدریا سودومالئی* زد (۶). هم چنین در اواسط دهه ۷۰ میلادی چند همه‌گیری *سودوموناس سودومالئی* در فرانسه و اسپانیا را به واردات اسب از ایران و پاندا از چین نسبت دادند (۵). در سال ۱۹۷۷ اولین مورد ملوئیدوزیس انسانی به شکل پنومونی در ایران توسط **پور تقوا** و همکاران گزارش شد (۳،۶). متأسفانه برای چندین دهه هیچ مطالعه‌ای جهت بررسی وضعیت آلودگی دام و محیط به این باکتری در کشور انجام نشده است، با این‌حال مجامع علمی بین‌الملل، ایران را جزو ۱۷ کشور قطعی وجود *بورخولدریاسودومالئی* در طبیعت می‌دانند و ملوئیدوز جزو بیماری‌های اخطار دادنی پیش از سفر به ایران است (۷، ۸). مطالعه‌ی موردی اشاره کرده است که این اولین گزارش ملیوئیدوز باکتریمی در کشور در یک مسافر ایرانی به آسیای جنوب شرقی، که بیماری در منطقه بومی بوده رخ داده است. تب و لرز در آخرین روز سفر بیمار به مالزی و تایلند ایجاد شد. سپس با بستری شدن در بیمارستانی در تهران در سال ۱۳۹۰، *بورخولدریا سودومالئی* از نمونه‌ی خون و شستشوی برونکوآلوئولار وی جدا شد (۷). کمپلکس *بورخولدریا سپاسیا* فرصت‌طلب حاضر در محیط، بارها باعث عفونت‌های بیمارستانی در بیماران بستری در بخش‌های ریه‌ی بیمارستان‌های مسیح دانشوری، تهران و شیراز شده و به بسیاری از آنتی بیوتیک‌ها مقاوم بوده‌است. وجود این عامل بیماری‌زا به‌خصوص در بیماران سیستیک فابروزیس بر وخامت وضعیت بیماران می‌افزاید(۹). در سال ۲۰۰۴ **ارم** و همکاران توانستند از نمونه‌های تنفسی جمع‌آوری شده از کودکان مبتلا به سیستیک فایبروزیس باکتری *بورخولدریا سپاسیا کمپلکس* را جدا و به‌عنوان عفونت ثانویه در این دسته از بیماران معرفی نمایند، هم‌چنین در سال ۲۰۰۵ ضمن جداسازی *بورخولدریا سپاسیا کمپلکس* از نمونه‌ی

بیماران مبتلا به سیستیک فایبروزیس، توانستند با استفاده از ابزار مولکولی این باکتری‌ها را در حد ژنوم واریته تعیین هویت نمایند (۱۰). **تلفیان** و همکاران تعداد ۵ مورد جدایه به عنوان *بورخولدریا سپاسیا* از ۱۰۰ نمونه ترشحات مورد بررسی از بیماران سیستیک فابروزیس با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی شناسایی کردند، گرچه نمونه‌ی مثبتی توسط محیط کشت افتراقی مک‌کانکی آگار بدست نیامد (۹). به نقل از اداره‌ی مبارزه با بیماری‌های دامی سازمان دامپزشکی کشور، موارد ابتلا به مشمشه در اسب‌های ایرانی از ۵ مورد در سال ۱۹۹۷ به پنجاه مورد در سال ۲۰۱۰ می‌رسد و بر این اساس، بازپدیدی این بیماری مشترک بین انسان و دام را امری نگران‌کننده می‌دانند. رخداد چند همه‌گیری از جمله درگیری در باغ وحش ارم بر اهمیت بهداشت عمومی بیماری به‌عنوان بیماری بازپدید افزوده است. انتظار جداسازی باکتری *بورخولدریا مالئی* از نشخوارکنندگان کوچک وجود ندارد، با این حال مطالعات متعددی بر جدایه‌های تک‌سمیان و ببر سیبری صورت پذیرفته است (۱۱). **تقی پور** و همکاران در سال ۲۰۱۰ و **خاکی** و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیماری مشمشه را در ببرهای سیبریایی ارسالی به باغ وحش تهران اعلام کردند که طی آن، منجر به مرگ مبتلایان حیوانی و معدوم نمودن سایر گربه سانان وحشی به جهت پیشگیری از انتشار بیماری گردید. در ایران تاکنون ۶ جدایه‌ی *بورخولدریا مالئی* توسط **مصوری** و همکاران از تک‌سمیان و ببر جدا شده است (۱۲، ۱۳، ۱۴).

مواد و روش ها:

نمونه‌برداری را به کمک متر و علامت‌گذاری با پایه‌ها و رشته‌ها، به شبکه‌ای از مربع‌های ۱۰×۱۰ تقسیم کرده، جهت برداشت نمونه از مرکز مربع با استفاده از متر نواری هر کدام ۵ متر در ۵ متر (مجموع ۱۰۰ مربع) محاسبه کرده و نمونه‌ی خاک جمع آوری شد، از وسایل حفاظتی از جمله دستکش، چکمه و ماسک استفاده گردید. به‌منظور جلوگیری از آلودگی متقاطع، تمام ابزارها را با آب تمیز (مثلاً آب بطری) تمیز کرده تا هیچ‌گونه باقی‌مانده‌ی ذرات خاک روی وسایل مشاهده نگردد، سپس با الکل ۷۰٪ اسپری نموده و در مجاورت هوا الکل باقی‌مانده خشک گردید. با استفاده از یک بیل باغبانی فلزی تمیز و کوچک با انتهای نوک تیز، یک سوراخ حفر گردید. نمونه خاک از عمق ۳۰ سانتی‌متری و ۵۰ سانتی‌متری با استفاده از اوگر جمع آوری شد. حدود ۲۰ تا ۴۰ گرم خاک به ظروف استریل منتقل و ظروف درپوش گذاری و برچسب زده شد و در یک ظرف عایق در محل سایه قرار گرفت (شکل ۱). نمونه ها در دمای محیط به دور از نور مستقیم خورشید به آزمایشگاه منتقل شدند و پردازش صورت گرفت.

شکل ۱: نمونه برداری از خاک

نمونه‌های خاک به آزمایشگاه تشخیص بخش توبرکولین و مالئین موسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی حصارک منتقل شدند. در آزمایشگاه ۱۰گرم از خاک ارسالی را وزن و در لوله‌ی حاوی ۲۵ میلی لیتر محیط TBSS (Threonine basalsalt solution) براث اضافه گردید. لازم به ذکر است که تمام عملیات میکروبیولوژی در تمامی مراحل زیر هود ایمنی انجام پذیرفت. پس از اطمینان از اینکه درب لوله‌ها کاملاً محکم شده است، لوله به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس گردید، سپس به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در گرم‌خانه انکوبه شدند و پس از سپری شدن زمان فوق میزان ده میکرولیتر از لایه‌ی بالایی لوله‌ها برای رسیدن به کلنی‌های منفرد برداشت و روی محیط کشت اشدون تلقیح گردید و پلیت‌های کشت اشدون به مدت یک هفته در دمای ۴۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. هم‌چنین ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رویی برای استخراج DNA برداشت شد. در این مرحله از روش بویلینگ برای استخراج DNA استفاده شد بدین ترتیب که ۳۰۰ میکرولیتر محلول برداشت شده، ابتدا در ۴۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه سانتریفوژ گردید و محلول رویی دور ریخته شد و یک بار با آب مقطر شستشو انجام پذیرفت. به رسوب حاصل مقدار ۲۰۰ میکرولیتر بافر لیز کننده (آب مقطر ۲۰ میلی لیتر+پروتئیناز K ۲۰۰ میکرولیتر+توئین۲۰ بیست میکرولیتر) اضافه شد و به مدت بیست دقیقه در بن‌ماری ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس به مدت ده دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید و به میزان ۵ میکرولیتر از محلول رویی برای واکنش PCR این مرحله مورد استفاده قرار گرفت. جهت انجام PCR، به ازای هر نمونه در هر میکروتیوب ۰/۲ میلی لیتری مواد جدول ۱ به‌کار رفت و حجم نهایی با آب مقطر مخصوص PCR، روی ۱۶ میکرولیتر تنظیم گردید.

جدول ۱: مواد مصرفی در هر یک از واکنش های PCR

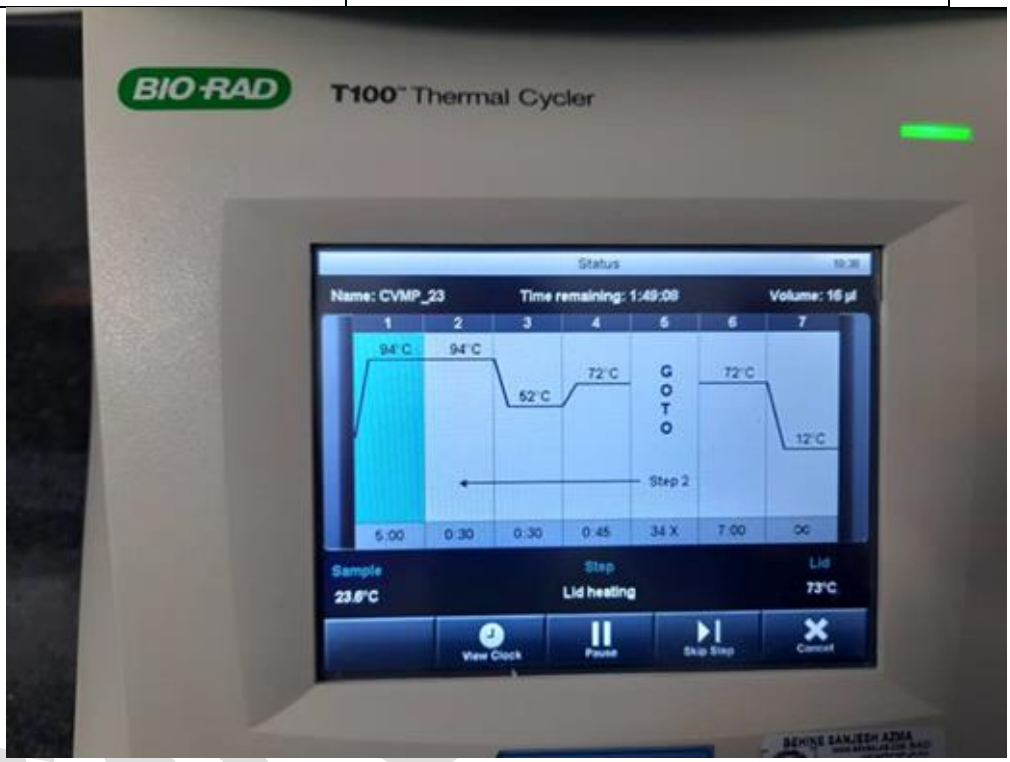
Master Mix (۱µ)	Primer-F ۱۰ (nmol) (۱µ)	Primer-R ۱۰ (nmol) (۱µ)	Template DNA (۱µ)	MgCl2 ۰/۴ (mmol) (۱µ)	DMSO (۱µ)	D.W. تا حجم نهایی
۸	۱	۱	۵ میکرولیتر روش بویلینگ و ۲ میکرولیتر روش ایزو آمیل الکل کلروفورم	۰/۳۵	۰/۶	۱۶

در تمامی مراحل PCR، از *بورخولدریا سودومالئی* و یا *بورخولدریا سپاسیا* جهت کنترل‌های مثبت استفاده گردید. برنامه PCR شامل واسرشت اولیه با زمان ۶ دقیقه و دمای۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و متعاقباً ۳۰ مرحله شامل واسرشت ۳۰ ثانیه در۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، آنیلینگ ۳۰ ثانیه در ۵۲ درجه سانتی‌گراد و طویل‌سازی ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و نهایتا یک طویل‌سازی انتهایی به مدت ۷ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و سپس نگهداری نهایی در ۱۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود.

جدول ۲: پرایمر های زیر جهت تکثیر ناحیه ۲۳ S r DNA می‌باشد که پرایمر جلو ران CVMP۲۳-۱F برای هر دو پرایمرهای پس ران یکی است و در صورت استفاده از R--۲۳ M۲ گونه‌ی *بورخولدریا مالئی* و استفاده ازCVP۲۳-۲R همه‌ی باکتری‌های جنس بورخولدریا به‌جز گونه‌ی *بورخولدریا مالئی* می‌باشد. در این پروژه نظر به این‌که تنها جنس بورخولدریا مورد نظر بود از پرایمر M۲۳-۲ استفاده نگردید.

سکانس	نام پرایمر

AAACCGACACAGGTGG	CVMP۲۳-۱F
CACCGAAACTAGCA	M۲۳-۲R
CACCGAAACTAGCG	CVP۲۳-۲R

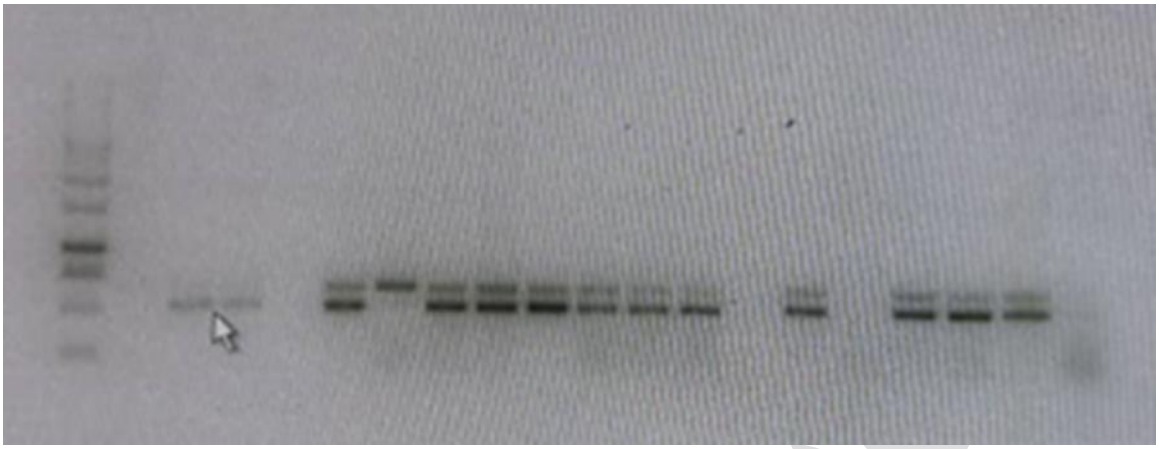


شکل ۲- برنامه‌ی دما و زمان PCR

تمامی محیط‌های کشت شده روزانه تا ۷ روز بررسی گردید و کلنی‌های رشد یافته با استفاده از محیط‌های افتراقی بیوشیمیایی (مانند: Motility آزمایش حرکت,Motility Sulfide, Indole SIM, Triple Sugar Iron TSI, citrate test CIT و مک‌کانگی آگار) و تست‌های تفریقی (اکسیداز،کاتالاز) مورد بررسی قرار گرفته و از کلنی‌های مشکوک به جنس بورخولدریای رشد یافته، جهت به‌دست آوردن کلنی تک خالص، بر روی محیط‌های بلاد آگار کشت چهار مرحله‌ای انجام پذیرفت و سپس مجددا از کلنی‌های تک هر نمونه، برای شناسایی و تائید جنس بورخولدریا استخراج DNA به روش ایزوآمیل الکل-کلروفورم و آزمون PCR انجام پذیرفت. از هر یک از کلنی های خالص رشد یافته‌ای که خصوصیات بیوشیمیایی آن‌ها به همراه تست PCR نشان‌دهنده‌ی جنس بورخولدریا بود، در محیط TSBحاوی گلیسرین ذخیره سازی گردید.

نتایج :

نتایج حاصل از PCR محلول رویی از تعداد ۱۰۰ نمونه خاک ارسالی ۵۷ مورد مثبت را برای جنس بورخولدریا نشان داد (شکل ۳).



شکل ۳- چاهک‌های کنترل مثبت منفی و لادر

تمامی ۷۶ جدایه توسط تست‌های افتراقی و محیط‌های تفریقی بررسی شدند (شکل۴-۳) و جهت بدست آوردن کلنی خالص در محیط‌های مک‌کانکی آگار و بلاد آگار به‌صورت چهار مرحله کشت مجدد گردیده و روزانه مورد بررسی قرار گرفتند (شکل های۴-۴ تا ۴- ۷) و مجدداً مورد PCR قرار گرفتند. کلنی‌های مشکوک به بورخولدریا بر اساس ویژگی‌های زیر بررسی شدند:

شکل کلنی‌ها در محیط مک‌کانکی و بلاد آگار در ۲۴ ساعت اول، اغلب شفاف و صورتی کم‌رنگ بودند و پس از ۲ روز به صورتی مایل به ارغوانی، صاف و کمی خشک تغییر پیدا کردند. بارزترین ویژگی *بورخولدریا سودومالئی* درخشندگی متالیک آن و تبدیل آن به کلنی‌های خشک و چروکیده در ۹۶ ساعت است. کلنی‌های رشد یافته متنوع بوده؛ از صاف و براق، موکویید یا خشک و طیف‌های رنگی بنفش بودند. از ۷۶ جدایه تعداد ۵۷ جدایه دارای خصوصیات بیوشیمیایی بورخولدریا بوده و در PCR مرحله‌ی دوم ۵۷ جدایه مورد تائید قرار گرفت. از ۱۰۰ نمونه‌ی خاک ارسالی ۷۶ نمونه در محیط کشت اشتون رشد کرد و هم‌خوانی اولیه بین PCR وکشت محلول رویی TBSS ، تعداد ۵۷ مورد بود. هم‌چنین تعداد۱۹ نمونه دارای PCR منفی و کشت مثبت بود. پس از خالص سازی نهایی و تائید با PCR ، جمع‌آوری در محیط TSB برای تعداد ۵۷ نمونه انجام پذیرفت.

بحث و نتیجه گیری:

بورخولدریا سودومالئی باکتری ساکن در خاک و عامل ملیوئیدوز است که سالانه ۸۹۰۰۰ نفر را در سراسر جهان می‌کشد. کشاورزان به‌دلیل قرار گرفتن مکرر در معرض این باکتری در معرض خطر عفونت قرار دارند. اطلاعات کمی در مورد خواص فیزیکی و شیمیایی خاک مرتبط با حضور یا عدم وجود ارگانیسم وجود دارد. در تحقیقی خواص فیزیکی و شیمیایی خاک و حضور *بورخولدریا سودومالئی* را در ۶۱۰۰ نمونه‌ی خاک جمع آوری شده از ۶۱ مزرعه برنج در تایلند ارزیابی کردند. حضور *بورخولدریا سودومالئی* با نسبت خاک رس، نسبت رطوبت، سطح شوری، درصد ماده‌ی آلی، وجود کادمیوم و سطوح مواد مغذی (فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و آهن) ارتباط منفی داشت. وجود *بورخولدریا سودومالئی* با سطح اسیدیته خاک ارتباطی نداشت. این مطالعه نشان می‌دهد که *بورخولدریا سودومالئی* در مزارع برنجی که مواد مغذی آن‌ها خالی است رشد می‌کند. ارگانیسم بیش‌تر در خاک‌هایی با سطوح پایین‌تر مواد آلی و مواد مغذی، از جمله فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و آهن یافت می‌شود. هم‌چنین در مناطقی که سوزاندن بقایای محصول پس از برداشت رایج است و سبب کاهش مواد مغذی خاک می‌شود، حضور ارگانیسم غیر معمول نیست (۱۵). ملیوئیدوز در مناطق گرمسیری

آسیای جنوب شرقی و شمال استرالیا شایع است و به‌عنوان بیماری اندمیک در سریلانکا تایید شده است (۱۶) باعث ابتلای حیوان و انسان به پنومونی است (۶) داده‌های اکولوژیکی نشان داده است که این باکتری می‌تواند به‌عنوان یک موجود زنده آزاد در سوله‌های محیطی مانند خاک و آب و هم‌چنین به‌عنوان یک انگل زنده در موجودات میزبان مانند آمیب، گیاهان، قارچ‌ها و حیوانات زنده بماند (۱۷). *بورخولدریا سودومالئی* با طیف وسیعی ازعوامل حدت ذاتی و به‌دلیل رشد آهسته‌ی آن در محیط‌های آزمایشگاهی معمول و عدم استحکام، تشخیص داده نمی‌شود از طرفی زیرساخت‌های تشخیصی در مناطق روستایی کشورهای کم درآمد مهیا نیست خطر عفونت پس از سیل به‌دنبال بارندگی شدید افزایش می‌یابد. گروه‌های خطر شامل برنج‌کاران و جمعیت‌های روستایی است که به کشت معیشتی در باغ‌های خانگی مشغول هستند (۱۸). عموماً مطالعه در کشورهایی که عفونت‌هایی با منشا *بورخولدریا* به‌عنوان بومی محسوب نمی‌شوند، مهم تلقی نمی‌گردد. بی اطلاعی از میزان بروز و شیوع این نوع عفونت‌ها و نیز عدم آگاهی پرسنل تشخیصی و درمانی از نحوه‌ی جداسازی و درمان بورخولدریاها، دلیل کمبود آمارها و گزارشات مربوط به این جنس از باکتری‌ها است. به‌دلایل مطرح شده، میزان عفونت‌های بوخورلدریائی با توجه به اطلاعات کمی که در دسترس است عملاً امکان‌پذیر نمی‌باشد. با توجه به افزایش تردد به مناطق بومی و شباهت‌هایی که بین علائم بالینی بیماری با عامل بورخولدریا با سایر عفونت‌ها نظیر سل ریوی وجود دارد، این گونه پیش‌بینی می‌شود که در آینده آمار عفونت‌های بورخولدریایی در جمعیت‌های انسانی رو به رشد خواهد بود. از آن‌جایی که عفونت‌های بورخولدریایی غالباً مقاوم به درمان هستند و روش‌های رایج تشخیص و درمانی قادر به شناسایی و تفکیک این دسته از عفونت‌ها از سایرآلودگی‌های باکتریایی نیستند، این امکان وجود دارد که در بین عفونت‌های مقاوم به درمان، آلودگی‌های بورخولدریایی به درستی شناسایی نشده و دارو و مراقبت مورد نیاز نسبت به آن اعمال نشده باشد. با توجه به این‌که دوره‌ی کمون این باکتری‌ها نسبتاً طولانی بوده و نسبت به ضدعفونی کننده‌ها پایدار هستند، گمان می‌رود امکان ابتلای پرسنل درمانی و تشخیصی در حین مواجه با بیماران مربوط، خطر ابتلای نا آگاهانه این افراد را بالا ببرد (۳).

عفونت‌های ریوی حاصل ازکلونیزاسیون باکتری *بورخولدریا سپاسیا کمپلکس* در نزد بیماران دارای سیستیک فایبروزیس و نقص سیستم ایمنی از جمله عفونت‌های رایجی هستند که توسط این گونه از جنس *بورخولدریا* در انسان ایجاد می‌شود (۱۹). اولین گزارش عفونت‌های بورخولدریائی در ایران در حدود بیش ازپنجاه سال پیش نشان می‌داد که عفونت‌هایی با عامل بورخولدریا به‌صورت محدود و صرفاً در جمعیت‌های حیوانی گزارش می‌شدند. اما به‌دنبال اعلام موارد انسانی در ایران، به‌نظر می‌رسد که توجه کافی به این‌گونه از عفونت‌ها در کشورمان صورت نگرفته و در تشخیص‌های بالینی و آزمایشگاهی جز موارد خاص مد نظر قرار نمی‌گیرند (۳). آنچه در بررسی اولین گزارش‌های ملیوئیدوز در جهان بسیار جلب توجه می‌کند این است که شناسایی اولیه‌ی عفونت‌ها در حیوانات به‌ویژه نشخوارکنندگان کوچک شبیه مواردی در ایران بوده است. به‌دلیل ارتباطات بیش‌تر حیوانات با محیط، بیماری یا عفونت در قلمرو حیوانات زودتر تشخیص داده می‌شود. وقوع ملیوئیدوز در طیف وسیعی از حیوانات اهلی و وحشی گزارش شده است. در برابر مشمشه که بیماری مشترک بسیار مسری بین انسان و دام است، ملیوئیدوز به ندرت رخ داده است و منابع مشترک معمولاً هم برای حیوانات و هم برای انسان خطر ایجاد می‌کنند (۸). بنابراین وجود ساپروفیت *بورخولدریا سودومالئی* در محیط یا گزارش موارد حیوانی می‌تواند زنگ خطری برای سلامت عمومی باشد. مداخلات آبیاری و کشاورزی در ظهور مجدد ملیوئیدوز می‌تواند ایفای نقش کند (۸، ۲۰). علاوه‌بر این، گزارش‌هایی مبنی بر ابتلای حیوانات و انسان‌ها به این بیماری در پی سیل وجود داشته است (۲۰). در اکثر استان‌های ایران که سیل ویرانگر رخ داده است، تغییر ساختار خاک ممکن است کشت باکتری‌ها در لایه‌های بالایی زمین را تسهیل کند و در نتیجه باعث قرار گرفتن در معرض و ظهور مجدد بیماری شود. به‌دلیل ارتباط بین انسان، حیوان و محیط در اپیدمیولوژی بورخولدریا

رویکرد سلامت واحد (گسترش همکاری بین رشته ای) برای رویارویی با چنین پاتوژنی ضروری است. اما این رویکرد فقط به پاتوژن *بورخولدریا سودومالئی* محدود نمی‌شود (۵). یکی از ویژگی‌های بورخولدریاها، داشتن دو کروموزوم در ساختار ژنومی باکتری است که دارای ژن‌های متعددی جهت سازش و بقا در هر نوع محیط زندگی است. آنالیزکننده‌ی ژنوم باکتری *بورخولدریا سودومالئی* گفته است این جنس باکتری یکی از نیرومندترین باکتری‌های بیماری‌زا است که می‌تواند تحت هر شرایطی به بقای خود ادامه دهد (۲۱).

ملیوئیدوز طی چند دهه‌ی گذشته به طور پراکنده در بنگلادش شناسایی شده است. *بورخولدریا سودو مالئی* عمدتاً در خاک و آب در مناطق بومی وجود دارد و افراد از طریق تلقیح پوست، استنشاق یا بلع آلوده می‌شوند با این حال، شیوع واقعی آن در بنگلادش به‌دلیل عدم مطالعه‌ی سیستماتیک و آگاهی جامعه‌ی پزشکی در مورد این بیماری و ارگانیسم تا حد زیادی ناشناخته است. به‌منظور پرداختن به این موضوع، مطالعه‌ای را برای ارزیابی حضور ارگانیسم در خاک و هم‌چنین میزان قرار گرفتن در معرض آن در بین مردم مناطق مختلف انجام داده‌اند. این اطلاعات باعث افزایش آگاهی جامعه‌ی پزشکی برای پیش‌گیری و تشخیص صحیح این بیماری شده است. از ۱۷۹ نمونه‌ی خاک، ۸۷ نمونه، رشد کلنی‌های مشکوک به اکسیداز مثبت غیر تخمیری، آمینوگلیکوزید و مقاوم به کولیستین را در محیط‌های انتخابی اشدون پس از غنی‌سازی در دمای ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد ایجاد کردند. از بین این جدایه‌های مشکوک، تنها دو جدایه به عنوان *بورخولدریا سودومالئی* شناسایی شدند. جداسازی ارگانیسم، *بورخولدریا سودومالئی* ، از نمونه‌های بالینی نشان می‌دهد که ارگانیسم در محیط بنگلادش وجود دارد. با این حال، منبع واقعی آن هرگز شناسایی نشده است. شکست آن‌ها در جداسازی *بورخولدریا سودومالئی* از نمونه‌های خاک سایر مکان‌ها می‌تواند به‌دلیل شرایط خاک در زمان جمع‌آوری نمونه و تعداد محدود نمونه باشد. حضور *بورخولدریا سودومالئی* تحت تأثیر تراکم کم باکتریایی، بارش باران، بار مواد آلی و محتوای اکسیژن خاک است (۲۲). اما حضور ارگانیسم در خاک نشان می‌دهد که خاک می‌تواند یک مخزن بالقوه باشد. تا کنون ۱۸ کشور جهان بر اساس وجود باکتری *بورخولدریا سودومالئی* تایید شده در کشت در موارد بالینی و هم‌چنین در نمونه‌های محیطی یعنی خاک، آب و غیره به عنوان کشور قطعی ملیوئیدوز تعیین شده‌اند. یافته ما از *بورخولدریا سودومالئی* از خاک یکی از مناطق در نهایت تایید می کند که بنگلادش نیز یک کشور بومی قطعی برای ملیوئیدوز است (۲۳). این مطالعه هم‌چنین نشان داده است که بخش زیادی از مردم ساکن در چهار منطقه‌ی متفاوت در معرض این ارگانیسم هستند و پتانسیل ابتلا به بیماری‌های آشکار را در طول زندگی خود دارند (۲۴). کار تحقیقاتی که **کاترین** و همکارانش در تایلند انجام دادند فرض بر این بوده که *بورخولدریا سودومالئی* زیست‌محیطی در طی شخم‌زدن و باران شدید آئروسل می‌شود و می‌تواند منجر به ملیوئیدوز استنشاقی شود.**کاترین** و همکارانش حضور *بورخولدریا سودومالئی* را در نمونه‌های خاک، آب شالیزاری، هوا و آب باران در یک مزرعه شالیزاری برنج در اوبون راتچاتانی، شمال شرقی تایلند تعیین کردند. در سال ۲۰۱۲، ۱۰۰ نمونه‌ی خاک در طول فصل خشک، ۱۰ نمونه‌ی آب شالیزار در طول فصل موسمی، ۷۷ نمونه‌ی هوا در طول شخم (تعداد۳۱) و باران شدید (۴۶ بار) و ۶۰ نمونه‌ی آب باران در طول ۱۲ رویداد باران جمع‌آوری کردند. دریافتند که ۳۲ نمونه‌ی خاک (۳۲٪)، شش نمونه‌ی آب شالیزار (۶۰٪) و هیچ یک از نمونه‌های هوا و آب باران برای *بورخولدریا سودومالئی* کشت مثبت نبودند. سایر باکتری‌های خاک از نمونه‌های هوا و آب باران جداسازی شدند. یافته‌ها نشان داد که خطر ابتلا به ملیوئیدوز از طریق استنشاق در تایلند ممکن است کم باشد (۲۵). در شمال شرقی تایلند، دو سوم شالیزارها این ارگانیسم را تولید می‌کنند و ۸۰ درصد کودکان تا سن ۴ سالگی آنتی‌بادی دارند. اما هنوز در مورد عوامل آب و هوایی، فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی که تکثیر و بقای گونه‌های *بورخولدریا* را کنترل می‌کنند، اطلاعات کمی در محیط، وجود دارد. اگرچه مطالعات اپیدمیولوژیک تجمع خوشه‌ای فضا-زمان ملیوئیدوز را نشان می‌دهد، تنها ۶٪ موارد انسانی دارای سابقه‌ی تلقیح واضح و ۰/۵٪ موارد دیگر به‌دنبال وقوع سیل ایجاد می‌شوند،

فرض بر این است که اغلب ملیوئیدوز انسان و حیوان از طریق قرار گرفتن در معرض خاک آلوده یا آب گل‌آلود ایجاد می‌شود، حیوانات آزمایشگاهی نیز از طریق بلع، استنشاق و نیش حشرات آلوده شده‌اند، اما شواهدی مبنی بر عفونتی که به‌طور طبیعی از این راه‌ها به دست می‌آید هم‌چنان مورد سوال است. موارد پراکنده‌ی ناشی از تلقیح ناخواسته، حوادث آزمایشگاهی و سرایت فرد به فرد یا حیوان به فرد بوده است. این‌که قرار گرفتن در معرض *بورخولدریا سودومالئی* منجر به بیماری می‌شود یا خیر، احتمالاً به تعادل بین حدت سویه، وضعیت ایمنی میزبان (مثلاً دیابت شیرین) و اندازه‌ی تلقیح بستگی دارد. حضور شناخته شده *بورخولدریا سودومالئی* در حال گسترش است، زیرا در مناطق بیش‌تری به‌عنوان بیماری بومی مطرح می‌شود. هیچ واکسنی برای ملیوئیدوز وجود ندارد و حتی با تجویز آنتی‌بیوتیک، میزان مرگ‌ومیر در برخی از مناطقی که عفونت بومی هستند به ۴۰ درصد می‌رسد (۲۶). موارد بی‌سابقه‌ی ملیوئیدوز در شمال استرالیا ناشی از سویه‌ی *بورخولدریا سودومالئی* آسیایی با استفاده از ژنومیک مقایسه‌ای در مقیاس بزرگ شناسایی شد. این مطالعه به روشن شدن عوامل محیطی مؤثر بر وقوع *بورخولدریا سودومالئی* کمک کرد و این نگرانی را ایجاد کرد که *بورخولدریا سودومالئی* ممکن است به‌دلیل تغییر کاربری زمین گسترش یابد (۲۷). گرچه پیشرفت‌های قابل‌توجهی در زمینه‌ی تشخیص و درمان ملیوئیدوز در تایلند حاصل شده است، ولی *بورخولدریا سودومالئی* همچنان "دشمن شکست ناپذیر" است، به چند دلیل: عدم شناسایی، میزان بالای مرگ‌ومیر، نرخ عود غیرقابل قبول و یک "بمب ساعتی" برای بیماران سرم‌مثبت است (۲۲). میزان بروز *بورخولدریا سودومالئی* در خاک شمال شرقی تایلند ۲۰ برابر بیشتر از تایلند مرکزی تخمین زده می‌شود و با ۱۰ برابر بیش‌تر بروز ملیوئیدوز در منطقه نسبت به تایلند مرکزی همراه است. خاک شمال شرق تایلند عمدتاً شنی بوده از سایت‌های مثبت، ارگانیسم عمدتاً در عمق ۳۰ سانتی‌متری یافت شد و به‌طور قابل‌توجهی با پارامترهای فیزیکی و شیمیایی خاک، از جمله ۵-۶=اسیدیته ، رطوبت بیش از ۱۰ درصد مرتبط بود و اکسیژن مورد نیاز شیمیایی و نیتروژن کل بیش‌تر از سایت‌های منفی بوده است. *بورخولدریا سودومالئی* به‌طور نابرابر در این منطقه توزیع شده و اسیدیته خاک عامل اصلی تعیین‌کننده حضور ارگانیسم است. نوع خاک شنی شمال شرقی تایلند می‌تواند از بقای *بورخولدریا سودومالئی* پشتیبانی کند و به آن اجازه دهد آزادانه با جریان آب حرکت کند و بنابراین در طول فصل بارانی به راحتی با مردم در تماس باشد (۲۸). پیشرفت‌های عمده‌ای در مطالعات مولکولی *بورخولدریا سودومالئی* و ایمونولوژی ملیوئیدوز حاصل شده است. با این حال، شکاف های زیادی در درک اپیدمیولوژی این بیماری مرموز وجود دارد. داده‌های اخیر نشان می‌دهد که گونه‌های استرالیایی *بورخولدریا سودومالئی* ممکن است اجداد گونه‌های آسیای جنوب شرقی باشند، اما اکولوژی این باکتری محیطی ناشناخته باقی مانده است. با وجود پتانسیل سپتی سمی به سرعت پیش‌رونده، فاکتورهای حدت حیاتی در *بورخولدریا سودومالئی* هنوز مشخص نشده است. استنشاق متعاقب آئروسلیزاسیون *بورخولدریا سودومالئی* ممکن است علت مرگ‌ومیر بالا در زمانی که ملیوئیدوز پس از حوادث آب و هوایی شدید رخ می‌دهد، باشد (۲۹). با توجه به تهدیدات اثبات شده بورخولدریا بیماری‌زا در رابطه با انسان-حیوان-اکوسیستم، یک سیستم نظارت حفاظتی و همکاری سه جانبه باید ایجاد شود .چندین دهه بی‌توجهی به ملیوئیدوز از جهاتی به موازات موضوعات بحث برانگیز مربوط به کنترل مشمشه اسب در کشور صورت گرفته است. شناسایی *بورخولدریا سپاسی کمپلکس* بیماری‌زا در بیماران ایرانی و موارد حیوانی این عفونت در کشورهای دیگر همگی بدون هیچ تردیدی ضرورت فوری ارتقاء و تجهیز زیرساخت‌ها برای شناسایی و تمایز بین بورخولدریای بیماری‌زا و هم سفره‌گی را در چارچوب سیستم مراقبتی سلامت واحد نشان می‌دهد (۳،۹،۲۰). کشور ما ایران که در آسیای میانه و در همسایگی کشورهایی مانند افغانستان و پاکستان واقع شده است، ناخواسته در مسیر ورود بیماری‌های منطقه‌ای قرار می‌گیرد (۳۰). گزارشات از برخی بیماری‌ها در کشورهای همسایه از عراق و پاکستان (۳۱) از طرف دیگر، افزایش مسافرت‌ها به مناطق آسیای جنوب شرقی سبب می‌شود که گاهی برخی از گردشگران مبتلا

به بیماری‌های بومی آن مناطق شوند که در ایران گزارش قبلی یا بُروزی از آن وجود نداشته است (۳۲). از نظر بالینی، چون عفونت‌های بورخولدریایی علائم سایر عفونت‌های ریوی به‌ویژه سل ریوی را تقلید می کنند امکان اشتباه در تشخیص بالینی بیماری با آن گروه از باکتری‌ها را نیز افزایش می‌دهد (۳۳).

سپاسگزاری:

این مقاله از پروژه‌ی ۹۷۰۷۸۹-۹۷۰۱۷-۰۵۶-۱۸-۵۷-۱۲موسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی استخراج شده است ،نویسنده مقاله ازجناب آقای دکتر مصوری ریاست محترم بخش مایکوباکتریوم و همکاران ایشان کمال تشکر و قدردانی را دارم .

منابع:

1-Zoghi E. Human and animal transmissible disease Zoonotic.1993 Section A; 677-690 [In Persian].

2-Baharsefat M, Amjadi R. Equine melioidosis in Iran. Arch Razi Inst.1970; 22(1):209-213[In Persian]. doi:10.22092/ari.1970.108685.

3-Arefnejad M, Tajzade H, Barjesteh P. A history of Burkholderia-caused infections in Iran. J Paramede Sci Rehabil. 2013 2(2):54-59. doi:10.22038/jpsr.2013.1714. [In Persian].

4-Galimand M, Dodin A. Repartition de Pseudomonas pseudomallei en France et dans le monde la melioidose. Bull Soc Vet Prat de France. 1982.66:651-657.

5-Baradaran-Seyed, Zahra. Is Melioidosis a One Health-Neglected Disease in Iran? Int J Travel Med Glob Health. 2020 Aug; 8(3):93-95 Doi: 10.34172/ijtmgh.2020.16

6-Pourtaghva M, Dodin A, Portovi M, Teherani M, Galimand M. 1st case of human pulmonary melioidosis in Iran. Bull Soc Pathol Exot Filiales. 1977; 70(2):107-109

7-Darazam IA, Kiani A, Ghasemi S, Sadeghi H, Alavi F, Moosavi MJ,*et al* ., Melioidosis: It is not Far From here. Tanaffos. 2011; 10(4):64-68.

8-Limmathurotsakul D, Dance DA. Global Burden and Challenges of Melioidosis. Basel: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2019

9-Soltan Dallal MM, Telefian CF, Hajia M, Kalantar E, Dolatyar Dehkharghani AR, Rahimi Forushani A, *et al*. Identification and molecular epidemiology of nosocomial outbreaks due to Burkholderia cepacia in cystic fibrosis patients of Masih Daneshvary Hospital, Iran. J Prev Med Hyg. 2014; 55(1):27-30.

10-Eram SM, Behzadian Nejad Q, Khatami GR, Nafissi N. Detection of Burkholderia cepacia complex in patients with cystic fibrosis. Tanaffos. 2004; 3(9):47-52.

11-Akbarein H, Bahonar AR, Dabbagh Moghaddam A, Bolouki Z, Hosseini Shokouh SJ. Glanders, a new vision on an old biological weapon. Ann Mil Health Sci Res. 2012; 10(2):143-162. [In Persian]

12-Dashtipour sh, Tadayon K, Mosavari, N Bidouki SK. A customized dual-locus VNTR combination for genotyping Burkholderia mallei field isolates in Iran. Veterinary Researches & Biological Products. 2018; Volume 31, Issue 2 May 2018 :51-58

13-Khaki P, Mosavari N, Khajeh Nasiri S, Emam M, Ahouran M, Hashemi S, *et al.* Glanders outbreak at Tehran Zoo, Iran.Iranian Journal of Microbiology.2012; Volume 4 Number 1 (March 2012) 3-7

14-Shojaat Dashtipour Sh, Tadayon K, Yazdansetad S, Mosavari N, Keshavarz R. Genomic pattern analysis of Burkholderia mallei field isolates by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) discriminatory typing Iran J. Microbiol 2021; Volume 13 Number 5 (October 2021) 574-582

15- Hantrakun V, Rongkard P, Oyuchua M, Amornchai P, Lim CH, Wuthiekanun V *et al.*, Soil Nutrient Depletion Is Associated with the Presence of Burkholderia Pseudomallei. Appl Environ Microbiol. 2016; Nov 21; 82(24):7086-7092.

16-Jayasinghearachchi HS, Corea EM, JayaratneKl, Fonseka RA, Muthugama TA, Masakorala J,*et al.* Biogeography and genetic diversity of clinical isolates of Burkholderia pseudomallei in Sri Lanka. PLoS Negl Trop Dis. 2021; Dec 1; 15(12): e0009917. Doi: 10.1371/journal.pntd.0009917

17-Duangurai T, Indrawattana N, Pumirat P. Burkholderia pseudomallei Adaptation for Survival in Stressful Conditions.Review Biomed Res Int. 2018; May 27; 3039106. Doi: 10.1155/2018/3039106. E Collection 2018.

18-Herold R, Scholtysik R, Moroniak S, Weiss CH, Ishikawa H, Schroten H,*et al* ., Capsule-dependent impact of MAPK signalling on host cell invasion and immune response during infection of the choroid plexus epithelium by Neisseria meningitidis. Fluids Barriers CNS. 2021 Dec 4; 18(1):53. Doi: 10.1186/s12987-021-00288-7.

19-Lipuma JJ. Update on the Burkholderia cepacia complex. Current Opinion in Pulmonary Medicine 2005; 11(6): 528-33

20-Currie BJ, Dance DA, Cheng AC. The global distribution of Burkholderia pseudomallei and melioidosis: an update. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2008; 102 Suppl 1: S1-4.

21-Holden MTG, Titball RW, Peacock SJ, Cerdeño- Tárraga AM, Crossman TALC, Pitt T,*et al* ., Genomic plasticity of the causative agent of melioidosis, Burkholderia pseudomallei. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS) 2004; 101(39):14240-50

22- Wuthiekanun V, Dance D. Standard Operating Procedure (SOP)Simplified method for the isolation of Burkholderia pseudomallei from soil 26nd June 2012; Version 1.12

23-Limmathurotsakul D, Dance DA, Wuthiekanun V, Kaestli M, Mayo M, Warner J, *et al.* Systematic review and consensus guidelines for environmental sampling of Burkholderia pseudomallei. PLoS Negl Trop Dis. 2013; 7: e2105. Pmid: 23556010

24-Shariful Alam Jilani MD, Mohammad Robayet JA, Mohiuddin MD, Hasan R, Rafiqul Ahsan CH, Ashraful Ha J.. Burkholderia pseudomallei: Its Detection in Soil and Seroprevalence in Bangladesh, PLoS Negl Trop Dis. 2016; Jan 15; 10(1): e0004301.

25- E. L Ong C, Wongsuvan G, S.W. Chew J, Yian Kim T, Teng LH, Amornchai P, *et al.* Presence of Burkholderia pseudomallei in Soil and Paddy Rice Water in a Rice Field in Northeast Thailand, but Not in Air and Rainwater, Am J Trop Med Hyg. 2017; Dec; 97(6):1702-1705.

26-Dance, D A. Ecology of Burkholderia pseudomallei and the interactions between environmental Burkholderia spp. and human-animal hosts Acta Trop, 2000 Feb 5; 74(2-3):159-68

27- Price EP, Sarovich DS, Smith EJ, MacHunter B, Harrington G, Theobald V, *et al*. Unprecedented Melioidosis Cases in Northern Australia Caused by an Asian Burkholderia pseudomallei Strain Identified by Using Large-Scale Comparative Genomics, Appl Environ Microbiol. 2015; Nov 25;82(3):954-63.

28-Palasatien S, Lertsirivorakul R. Soil physicochemical properties related to the presence of Burkholderia pseudomallei, Trans R Soc Trop Med Hyg. 2008; Dec;102 Suppl 1: S5-9.

29-Currie J B. Advances and remaining uncertainties in the epidemiology of Burkholderia pseudomallei and melioidosis, Trans R Soc Trop Med Hyg. 2008; Mar;102(3):225-7.

30-Near East and the Eastern neighbors of the boundary conditions Affairs. Available from; http://zahedaneh.ir [In Persian]

31-Hornstra H, Pearson T, Georglsa Sh, Liguorl A, Dale J, Price E, *et al*. Molecular epidemiology of Glanders, Pakistan. Emerg Infect Dis. 2009 Dec; 15(12): 2036–2039. 39.17

32-Alavi Darazam I, Kiani A, Ghasemi Sh, Sadeghi H, Alavi F, Moosavi MJ, *et al*. Melioidosis: It is not far from here. Tanaffos 2011; 10(4): 64-68.

33-Chetchotisakd P, Anunnatsiri S, Kiatchoosakum S, Kularbkaew C. Melioidosis pericarditis mimicking tuberculous pericarditis. Clinical Infectious Diseases 2010; 51(5): 46-49.

Investigation of Burkholderia in the Soil of Golestan Province

Parastoo poorghafour langeroodi*

1 Faculty Member, Department of Bacterial Diseases Research, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). IRAN

*** Corresponding author**: DVM - Address: Karaj, Hesarak, Razi Vaccine and Serum Research Institute
Email: poorghafoor@yahoo.com

Abstract:

Melioidosis, caused by *Burkholderia pseudomallei*, is a zoonotic disease (shared between humans and animals) with rodents as reservoirs and soil as its natural habitat. Farmers, due to the nature of their work, are at risk of infection with this disease as well as other pathogenic Burkholderia species. There is limited information about the physicochemical properties of soil associated with the presence or absence of this organism in different regions of Iran. Antimicrobial resistance continues to pose major challenges to modern healthcare.

This is the first study to demonstrate the presence of Burkholderia in soil samples from Golestan Province. The present study is a survey conducted in Golestan Province in which 100 soil samples were screened for the presence of these bacteria. Samples were collected from rice-growing areas of the province and cultured on selective Ashdown media. Suspected Burkholderia colonies were identified using biochemical tests and polymerase chain reaction (PCR) with specific primers CVMP23-1-F and CVP23-2-R.

Out of 100 soil samples, Burkholderia was isolated from 57 samples. The presence of this organism indicates that soil can serve as a potential reservoir for disease transmission to humans and animals. This study confirmed the presence of Burkholderia in the soil of Golestan Province and was consistent with findings from other researchers who have isolated *Burkholderia cepacia* from cystic fibrosis patients.

Keywords: Burkholderia, soil, Golestan Province