

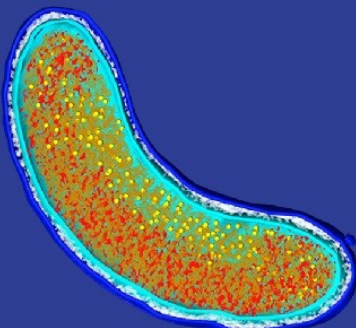
شیوع ضد میکروبی لیستریا مونوسیتوژنز و تعیین فراوانی ژن‌های حدت در انواع گوشت قرمز عرضه‌شده در استان چهارمحال و بختیاری، ایران
شیوع و مقاومت ضد میکروبی سویه‌های آرکوباکتر در گوشت مرغ، تخم‌مرغ و گوشت چرخ کرده عرضه شده در شهرستان همدان به روش PCR
بررسی شیوع سودوموناس در تخم و گوشت پرندگان عرضه‌شده در شهرستان تهران و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها

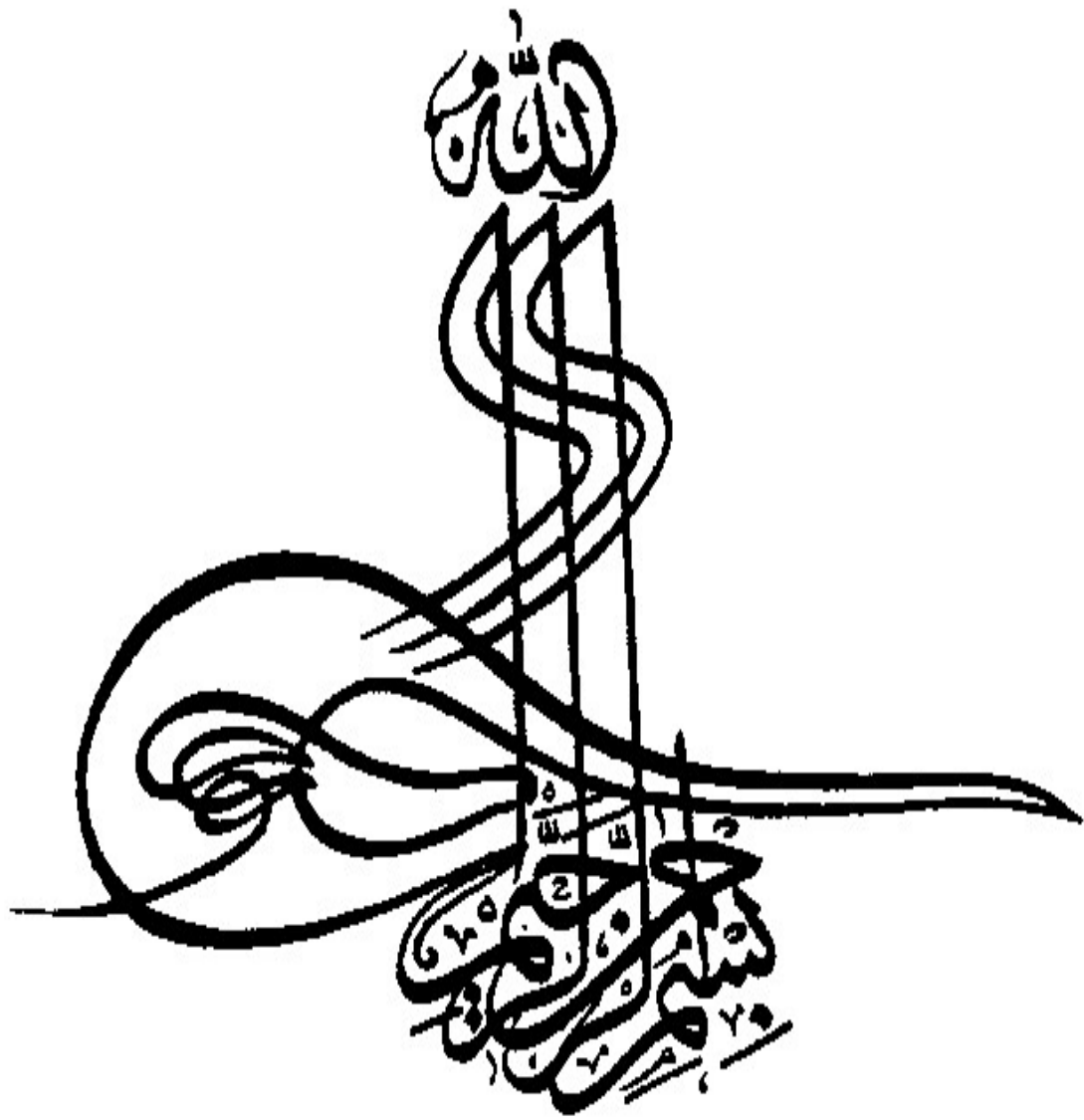
ردیابی و شجره‌شناسی ویروس انسفالومیت طیور: مطالعه یک مورد بالینی وارداتی
تشخیص مولکولی و غربالگری آلودگی به باکتری ولباخیا (*Wolbachia*) در ساس‌های سیمکس همپیتروس شهر مشهد، ایران

بررسی تأثیر عصاره‌ی پیاز، اسانس لیموترش و نیسین بر رفتار باکتری اشریشیاکلی تلقیح شده در گوشت چرخ‌شده بلدرچین نگهداری شده در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد
بررسی مقطعی فراوانی ویروس لوکوز گاوی (BLV) در استان سیستان و بلوچستان به روش PCR

در این قسمت تصویر میکروسکوپ الکترونی کرایو (CryoEM) از باکتری گرم منفی *Pelagibacter* را می‌بینید که اجزای آن به رنگ‌های مختلف در آمده است: غشای خارجی (آبی)، غشای سیتوپلاسمی (سبز آبی)، پپتیدوگلیکان (سفید)، سیتوپلاسم (نارنجی)، نوکلئوئید (قرمز) و ریبوزوم (زرد).

Zhao X, Schwartz CL, Pierson J, Giovannoni SJ, McIntosh JR, Nicastro D. Three-Dimensional Structure of the Ultraoligotrophic Marine Bacterium "Candidatus *Pelagibacter ubique*". *Appl Environ Microbiol.* 2017 Jan 17;83(3):e02807-16. doi: 10.1128/AEM.02807-16. PMID: 27836840; PMCID: PMC5244296.





دوره ۸، شماره ۲

ناشر: دانشگاه زابل

سرمدبیر:

تقی زهرایی صالحی؛ tsaleh@ut.ac.ir



مدیر مسئول:

داریوش سعادت؛ saadatdariush@uoz.ac.ir



مدیر اجرایی:

احمد راشکی؛ ah_rashki@usal.es



هیات دبیران:

احمد راشکی: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه



افشین آخوندزاده بستی: گروه بهداشت و کنترل کیفی



زابل

مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

محمد رهنما: گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی،



محمد بکانیان: دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم



دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

پزشکی زاهدان

تقی زهرانی صالحی: گروه میکروبیولوژی و ایمنی شناسی،



مصطفی پیغمبری: گروه بیماری های طیور، دانشکده



دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

دامپزشکی، دانشگاه تهران

محمد طباطبایی: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی،



مهدی راسخ: گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی،



دانشگاه شیراز

دانشگاه زابل

محمد محزونیه: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی،



سعید حسین زاده: گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد



دانشگاه شهرکرد

غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

رضا هاشمی تبار: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی،



محمد خلیلی: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی،



دانشگاه فردوسی مشهد

دانشگاه شهید باهنر کرمان

مجید پهلوان: گروه علوم اعصاب بالینی، مرکز پزشکی مولکولی



سعید سالاری: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی،



(CMM)، دانشگاه کارولینسک

دانشگاه زابل

کارشناس نشریه: حبیب دهمرده

ویراستار انگلیسی: مسلم فتح الهی، مربی گروه زبان انگلیسی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه زابل

طراح جلد: فاطمه قمری، مربی گروه مرمت آثار تاریخی، دانشکده هنر و معماری، دانشگاه زابل

گرافیکست: حمیدرضا حسینی، پژوهشیار، معاونت پژوهش و فناوری، دانشگاه زابل، زابل، ایران

آدرس نشریه: زابل، جاده بنجار، دانشگاه زابل، دانشکده دامپزشکی، دفتر نشریه، کد پستی: ۹۸۶۱۳۳۵۸۵۶، تلفن: ۰۵۴)۳۱۲۳۲۲۷۱، نمابر: ۰۵۴)۳۱۲۳۲۲۵۱

وبسایت: nfvm.uoz.ac.ir

پست الکترونیک: nfvm@uoz.ac.ir

راهنمای تهیه مقاله برای نشریه تازه‌ها در میکروبی‌شناسی دامپزشکی

از آنجایی که هدف نشریه تازه‌ها در میکروبی‌شناسی دامپزشکی، ارتقا علمی نشریه و پیوستن به نشریات ISI و scopus و کسب استانداردهای بین‌المللی می‌باشد، رعایت موارد زیر در نوشتن مقاله ضروری خواهد بود. شایان ذکر است به مقاله‌های ارسالی که از راهنمای نگارش پیروی نکرده باشند ترتیب اثر داده نخواهد شد.

انواع مقالات به یکی از صورت‌های:

مقاله پژوهشی اصیل (Original Research Article)، گزارش موردی (Case report)، مقاله مروری (Review Article)، مقاله کوتاه (Short Communication) و نامه به سردبیر (Letter to Editor) در رشته میکروبی‌شناسی دامپزشکی، در این مجله پذیرفته می‌شود.

شیوه نگارش مقاله:

متن مقاله در صفحه A4 با ۱۵/۱ بین خطوط و ۵/۲ سانتی‌متر از حاشیه و با نرم‌افزار Word 2003 یا بالاتر و از طریق ثبت نام در سایت مجله به آدرس nfvm.uoz.ac.ir ارسال گردد. جهت هرگونه سؤال و پیگیری با ایمیل مجله: nfvm@uoz.ac.ir می‌توانید در ارتباط باشید.

عنوان مقاله با قلم B Nazanin 16 ضخیم، متن مقاله با قلم B Nazanin 12 معمولی برای مطالب فارسی و Times New Roman 10 برای مطالب انگلیسی، عنوان‌های اصلی (چکیده، مقدمه، مواد و روش و ...) با فونت B Nazanin 14 ضخیم، عناوین فرعی با فونت نازنین ۱۲ ضخیم و ایتالیک و اسامی نویسندگان با فونت B Nazanin 12 ضخیم تایپ شود. همچنین بین کلمات دو یا چند بخشی از نیم‌فاصله استفاده شود.

کلمات لاتین در متن با قلم Times New Roman 10 و اسامی علمی هم در متن فارسی و هم در متن انگلیسی به صورت ایتالیک تایپ شوند. چنانچه کلمه انگلیسی در متن فارسی در داخل پرانتز قرار گیرد، علامت پرانتز به صورت فارسی باشد. اگر از چندین کلمه انگلیسی به صورت پشت سر هم استفاده می‌شود، علامت کاما (،) در بین کلمات به صورت فارسی باشد. از کلمات اختصاری استاندارد به جای کلمات کامل استفاده شود، تمام کلمات اختصاری غیرمعارف، زمانی که برای بار اول استفاده می‌شود به طور کامل در داخل متن تعریف شود (از به کاربردن اختصارات در عنوان و چکیده اجتناب شود).

اعداد در متن مقاله با فرمت فارسی نوشته شوند و برای علامت اعشار از ممیز استفاده شود و از سایر علائم نظیر نقطه یا کاما به عنوان نماد اعشار استفاده نشود.

برای ترازبندی پاراگراف‌ها از `low justify` استفاده نشود و ترجیحاً از گزینه `justify Medium` یا `justify` استفاده شود.

جداول و شکل‌ها در محل مناسب در داخل متن جایگذاری شوند و از ارسال آنها به صورت تصویر خودداری شده و فایل اکسل آنها نیز جداگانه در سایت بارگزاری شود. متن و اعداد داخل جدول با فونت B Nazanin 9 و

وسطچین تایپ شوند. سطر اول (عنوان جدول) Bold و بقیه سطرها Regular باشند. پشت زمینه جدول بدون رنگ و طرح (پشت زمینه سفید) باشد، تا حد امکان خطوط عمودی جدول حذف شود و خطوط افقی نیز در حداقل تعداد ممکن باشند. عنوان جدول در بالای آن و عنوان نمودار، شکل و تصویر در زیر آنها آورده شود.

نمودارها ترجیحاً در فایل اکسل طراحی شوند و سپس کپی شده و در فایل مقاله paste شوند. نمودارها طوری پیاده شوند که قابل اصلاح و ویرایش باشند از درج نمودار به صورت عکس در فایل word خودداری شود. همچنین فایل اکسل حاوی نمودار نیز در سایت مجله بارگزاری گردد.

جهت بهتر مشخص شدن مطالب مورد اشکال از طرف داوران و همچنین پاسخ دادن راحت تر به آنها و برطرف نمودن ایرادات وارده، بهتر است همه خطوط مقاله از ابتدا تا انتهای آن دارای شماره خط (Line Number) باشند و شماره خطوط به صورت پیوسته باشد.

صفحه اول شامل عنوان، چکیده فارسی (بین ۱۵۰ تا ۲۵۰ کلمه، بدون ذکر نام نویسندگان) و کلمات کلیدی (۳ تا ۵ کلمه) است. عنوان مقاله باید در عین اختصار، گویا باشد و از ۲۰ کلمه تجاوز نکند. چکیده باید به صورت یکپارچه باشد و نباید بخش‌های مختلف آن از هم مجزا شوند. کلمات کلیدی شامل تعدادی (حداکثر ۵ کلمه) از کلمات و عبارات که موضوع اصلی تحقیق حول آنها بوده و در عنوان وجود نداشته باشند و بر اساس حروف الفبا مرتب گردند.

در **صفحه آخر** باید عنوان و چکیده به زبان انگلیسی با همان ساختار چکیده فارسی و حداکثر در ۲۵۰ کلمه ارائه گردد. ضروری است چکیده انگلیسی توسط فردی مسلط به زبان انگلیسی نگاشته شود. همچنین کلمات کلیدی باید به صورت انگلیسی (۳ تا ۵ کلمه) ذکر شود.

صفحه دوم به بعد متن مقاله پژوهشی اصیل مطابق با ساختار زیر خواهد بود:

مقدمه: این قسمت هدف مقاله را بیان می‌کند و دلیل منطقی انجام پژوهش و نگارش مقاله را تشریح نموده، سوال مطرح شده و یا فرضیه را به تفصیل توصیف می‌نماید. همچنین در این قسمت باید به سابقه‌ی کار و موارد انجام شده و دستاوردهای کنونی اشاره شود.

مواد و روش‌ها: در این قسمت روش انتخاب نمونه، تعداد نمونه، روش اخذ نمونه و روش انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه آورده می‌شود. همچنین طراحی، مطالعه و نحوه گروه‌بندی‌های افراد یا حیوانات شرح داده می‌شود. در این قسمت باید آزمایشات به طور دقیق شرح داده شوند. اگر از دستگاه یا کیت خاصی برای انجام آزمایشات استفاده شده، باید نام تولیدکننده در داخل پرانتز در جلوی نام دستگاه قید شود. اگر از روش شناخته شده‌ای برای انجام آزمایشات استفاده شده است، باید برای آن روش رفرنس نوشته شود. اگر از روش جدیدی استفاده شده است، باید آزمایشات به نحوی شرح داده شود که محقق دیگری بر اساس این توضیحات بتواند آن آزمایش را مجدداً تکرار نماید. اگر از دارویی استفاده شده باید نام عمومی (ژنریک) دارو، دز مصرفی و راه تجویز آن ذکر شود. باید ذکر شود که از چه روش آماری برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شده است. اگر از نرم‌افزار خاصی برای تجزیه و تحلیل اطلاعات آماری استفاده شده باید نام نرم‌افزار و شماره آن ذکر شود (مثلاً نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳).

نتایج: متن قسمت نتایج باید مختصر و واضح باشد می‌توان از جداول، اشکال، نمودارهای آماری، گراف‌ها و تصاویر برای تبیین نتایج استفاده کرد. از آوردن جداول و نمودارهایی که اطلاعات و داده‌های آنها در متن مقاله به طور کامل آورده شده است، اجتناب گردد. در جداول و نمودارها نباید اطلاعات یکسانی ارائه شود. اگر تعداد کمی یافته و یا یک نتیجه ساده وجود دارد، بهتر است به جای جدول و نمودار، این یافته در متن آورده شود.

تعداد جداول و نمودارها باید متناسب با حجم مقاله باشد. جدول‌ها بهتر است با استفاده از امکان Table در Microsoft Word طراحی شوند. جداول به صورت عکس ارائه نگردند و شماره‌گذاری متوالی داشته باشند و در متن مقاله به شماره‌ی جداول به صورت متوالی اشاره گردد. در زیرنویس جداول، همه‌ی اختصاری‌های غیراستاندارد استفاده‌شده، توضیح داده شوند. متن جداول فارسی باشد. نمودارها در نرم‌افزار Microsoft-Excel با عنوان مشخص و مجزا طراحی شوند و به صورت تصویر درج نگردد.

عکس‌ها و تصاویر به صورت فایل‌هایی از نوع JPEG و با کیفیت مناسب آورده شود. عکس‌ها باید دقیق و روشن و به نحوی تهیه شوند که از نظر فنی چاپ آن‌ها با کیفیت مطلوب در مجله مقدر باشد. عکس‌ها و تصاویر باید شماره‌گذاری متوالی داشته و ترتیب آن‌ها بر اساس ارجاع به آن‌ها در متن باشد. اگر عکس منتشر شده است، منبع اولیه ذکر شود و اجازه‌ی کتبی آن ارائه گردد.

بحث و نتیجه‌گیری: در این قسمت ضمن تحلیل نتایج به‌دست آمده از تحقیق، به سایر تحقیقاتی که نتایج تحقیق اخیر را تأیید و یا رد می‌کنند اشاره شود. در مورد تحقیقاتی که نتایج آنها با نتیجه تحقیق اخیر همخوانی ندارد باید در مورد علت ناهمخوانی بحث شود و بیان گردد که تفاوت مذکور از کجا می‌تواند ناشی شده باشد. عباراتی که در مقدمه یا نتایج آورده شده با جزئیات در قسمت بحث و نتیجه‌گیری تکرار نشوند. پاراگراف پایانی به منزله نتیجه‌گیری است. در این پاراگراف روی جنبه‌های مهم و جدید مطالعه تأکید شود.

سپاسگزاری: از کلیه‌ی افراد یا سازمان‌هایی که در فراهم کردن تسهیلات، کمک‌های مالی و یا تکنیکی همکاری نموده‌اند و نام آنها جزء نویسندگان مقاله نیست، تشکر به عمل آید و نیز در صورتی که مقاله برگرفته از پایان‌نامه و یا طرح پژوهشی مصوب است، شماره ثبت پایان‌نامه یا طرح پژوهشی هم ذکر شود.

منابع: کلیه‌ی منابع حتی منابع فارسی به انگلیسی ترجمه و نوشته شوند. در انتهای منابع فارسی به زبان اصلی آن اشاره شود و [In Persian] آورده شود. منابع به ترتیب استفاده در متن شماره‌گذاری و طبق اصول منابع "ونکوور" مرتب شوند، برای ارجاع به مقالات از اعداد ریاضی داخل پرانتز استفاده شود به طور مثال (۱۱). در صورتی که به مراجع پی‌درپی اشاره می‌شود باید بین اولین و آخرین شماره از خط فاصله استفاده کرد، در غیر این‌صورت از کاما "،" باید سود جست (مثال: ۷-۹ یا ۷، ۵). توصیه می‌شود جهت نوشتن منابع از نرم‌افزار مدیریت منابع از جمله EndNote یا Reference Manager استفاده کنید.

نحوه رفرنس نویسی:

مقاله: نام خانوادگی و حروف اول نام نویسنده یا نویسندگان (بین نام نویسندگان از کاما "،" استفاده شود). عنوان کامل مقاله. نام کوتاه شده مجله. سال انتشار؛ دوره(شماره مجله): شماره صفحات. در صورتی که تعداد نویسندگان از ۶ نفر بیشتر باشد پس از نام نفر ششم از عبارت "et al." استفاده شود.

1. Afkhamnia M, Nouri M, Karimi GH, Banani M, Ghadiri Abyaneh M. The report of cryptosporidiosis (*cryptosporidium* infection) in commercial chicken farms of Tabriz area. Vet Res Biolo Prod. 2010; 89(1): 2-4 [In Persian].

2. 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.

کتاب: نام خانوادگی و حروف اول نام نویسنده یا نویسندگان. عنوان کتاب. شماره چاپ. شهر محل چاپ: ناشر; سال انتشار، شماره صفحه

Philips SJ, Whisnant JP. Hypertension and Stroke. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995, P: 85-93.

مقاله کنفرانسی: نام خانوادگی و حروف اول نام نویسنده یا نویسندگان. عنوان مقاله کنفرانس، نام کنفرانس; تاریخ کنفرانس; محل تشکیل کنفرانس: نام انتشارات; تاریخ انتشار. شماره صفحه.

Jamshidi J, Pouresmaeili F. Association of vitamin D receptor gene BsmI polymorphisms with bone mineral density in a population of Iranian women, European Human Genetics Conference 2012; June 23-36, 2012; Nurnberg, Germany: nature publishing group; 2012. P: 390.

پایان نامه: نام خانوادگی و حروف اول نام نگارنده. عنوان. دانشگاه و دانشکده; تاریخ دفاع.

Kaplan SJ. Post-hospital home health care: the elderly access and utilization (dissertation). St Louis (MO): Washington University; 1995.

منابع اینترنتی: بیش از ۳ منبع ذکر نشود. نام خانوادگی و حروف اول نام نویسنده یا نویسندگان. عنوان وب سایت [Internet]، محل انتشار: ناشر; آدرس وبسایت Available from:، تاریخ آخرین به روزرسانی; تاریخ ذکر آدرس اینترنتی

Fehrenbach MJ. Dental hygiene education [Internet]. Place unknown: Fehrenbach and Associates; Available from: <http://www.dhed.net/Main.html>, updated 2009 May 2; cited 2009 Jun.

قالب و شکل سایر مقالات به صورت زیر می باشد:

گزارش موردی (Case Report) باید شامل بخش های زیر باشد:

* مقدمه: شامل زمینه و اهمیت و دلیل نادر بودن مورد گزارشی با ذکر آمارهای گزارش شده قبلی

* معرفی بیمار: آزمایشات انجام شده برای تشخیص بیماری و نتایج آنها به طور کامل و دقیق ذکر شود.

* بحث

در تهیه این مقالات باید توجه داشت که در صورتی که محقق بر روی نمونه های انسانی کار می کند اسرار بیمار محرمانه بماند و همچنین یک فرم رضایت نامه از بیمار تهیه گردد و ضمیمه مقاله شود.

مقاله مروری (Review)

مقاله مروری بایستی به یکی از دو شکل زیر تهیه گردد:

*مقالات مروری ساختار یافته (Systematic Review) می‌توانند به صورت متا آنالیز، متا سنتز یا بدون تحلیل آماری باشند. این مقالات دارای اجزاء مقالات پژوهشی اصیل می‌باشند.

*مقالات مروری غیر ساختار یافته فقط از پژوهشگران مجرب و مسلط به موضوع مقاله، که دارای تألیفاتی در آن زمینه هستند، پذیرفته می‌شود. اجزای این گونه مقالات شامل چکیده، مقدمه و بحث و نتیجه‌گیری و حداقل دارای ۵۰ منبع باشند و حداکثر در ۵۰۰۰ کلمه تهیه شوند.

مقاله کوتاه (Short Communication)

یک مقاله تحقیقاتی کوتاه، از نظر ساختار مانند مقالات پژوهشی اصیل است و باید حداکثر شامل ۱۵۰۰ کلمه، ۲ شکل یا جدول و یک چکیده کوتاه تا ۱۵۰ کلمه باشد.

نامه به سردبیر (Letter to Editor)

نامه به سردبیر دارای موضوعاتی مانند نقدی بر مقالات قبلی، نقد یا مرور کتابها، تحلیل یک موضوع مرتبط با آموزش میکروبی شناسی دامپزشکی، گزارش و نقد گردهمایی‌های آموزش میکروبی شناسی دامپزشکی، شرح و بسط یک ایده و یا باز نمودن یک موضوع پیچیده است و حداکثر باید ۱۰۰۰ کلمه باشد. این مقالات نیاز به ساختار ندارند اما داشتن خلاصه انگلیسی ضروری است.

فایل های فرم تعارض منافع، اسامی نویسندگان و فرم تعهدنامه: نویسندگان بایستی هرگونه کمک مالی دریافتی و تعارض منافع احتمالی را گزارش کنند. گزارش تعارض منافع موجب رد مقاله نمی‌شود، اما گزارش آن الزامی است. فرم تعارض منافع می بایست تکمیل شود و به همراه فایل های مقاله بارگزاری گردد. اسامی نویسندگان نباید در فایل اصلی مقاله ذکر شود، فایل های مربوطه باید داندود شده، عنوان مقاله، نام و نام خانوادگی، سمت نگارنده(گان) و مرتبه علمی، ایمیل، نام دانشگاه یا مؤسسه پژوهشی که نویسندگان در آن به پژوهش اشتغال دارند به همراه آدرس نویسنده مسئول (نشانی پستی، ایمیل و تلفن)، روی یک صفحه جداگانه به فارسی و انگلیسی ذکر گردیده و به همراه تصویر برگه تعهدنامه امضاء شده و تصویر فرم تعارض منافع بارگزاری گردد.



شیوع ضد میکروبی لیستریا مونوسیتوژنز و تعیین فراوانی ژن های حدت در انواع گوشت قرمز عرضه شده در استان چهارمحال و بختیاری، ایران

مهدی جمالی گله^۱، ابراهیم رحیمی^{۲*}، نوشا ضیاء جهرمی^۳

۱- دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۳- استادیار، گروه زیست شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

دریافت مقاله: ۲۲ مهر ۱۴۰۳، بازنگری: ۲۲ مهر ۱۴۰۳، پذیرش نهایی: ۲۲ مهر ۱۴۰۳

10.22034/NFVM.2024.483271.1260

چکیده

لیستریا مونوسیتوژنز یک پاتوژن سرماگرا بوده که توانایی رشد در دمای پائین را دارد و سبب لیستریوزیس می شود. لیستریوزیس با شیوع کم و میزان مرگ و میر بالا مشخص می شود که مقاومت آن به ترکیبات ضد میکروبی به یک چالش بزرگ بدل شده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی و ژن های حدت سویه های لیستریا مونوسیتوژنز در گوشت های عرضه شده در استان چهارمحال و بختیاری، ایران بود. در این تحقیق تعداد ۳۰۰ نمونه گوشت خام (گاو، گاو میش، بز، گوسفند و شتر) از مراکز عرضه در استان چهارمحال و بختیاری به صورت تصادفی نمونه گیری شد. نتایج نشان داد که از مجموع ۳۰۰ نمونه، ۱۳۸ نمونه (۴۶ درصد) به لیستریا مونوسیتوژنز آلوده بودند. گوشت گاو میش ۱۲/۲۳ درصد، گوسفند ۹ درصد، گاو ۱۴ درصد، شتر ۶/۳۳ درصد و بز ۴/۳۳ درصد آلوده بودند. نتایج PCR نشان داد که فراوانی ژن های *inl A* ۴۳/۳۳ درصد، *inl B* ۱۸/۳۳ درصد، *plcA* ۲۶/۶۶ درصد و *plcB* ۱۱/۶۷ درصد بود. نتایج مقاومت آنتی بیوتیکی نشان داد بیشترین مقاومت علیه لیستریا مونوسیتوژنز در جنتامایسین ۸۱/۱۵ درصد، پنی سیلین ۷۸/۲۶ درصد، و کمترین مقاومت سولفامتاکسازول ۴۵/۶۶ درصد و اولندامایسین ۴۴/۲۰ درصد بود. با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر، گوشت خام یکی از مخازن مهم انتقال سویه های دارای ژن های حدت و مقاوم به آنتی بیوتیک لیستریا مونوسیتوژنز می باشد؛ بنابراین رعایت شرایط بهداشتی در دامداری و کشتارگاه ها سبب کنترل فراوانی لیستریا مونوسیتوژنز می شود، که راه حل مطلوبی برای کاهش ابتلا به سویه های لیستریا مونوسیتوژنز حاوی ژن های حدت و مقاوم به آنتی بیوتیک است.

واژگان کلیدی: لیستریا مونوسیتوژنز، مقاومت آنتی بیوتیکی، گوشت، ایمنی غذایی، چهارمحال و بختیاری

گاستروانتریت، عفونت‌های قبل از زایمان و سقط جنین می‌باشد (۵). نقش غذا به‌عنوان حامل برای انتقال لیستریا مونوسیتوزنز، به‌طور واضح در ارتباط با بیماری تک‌گیر و همه‌گیر به اثبات رسیده است (۶).

یکی از روش‌های اصلی برای شناسایی لیستریا مونوسیتوزنز در نمونه‌های بالینی و مواد غذایی، استفاده از تست‌های مولکولی مانند PCR است. ژن‌های حدت یا ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی از جمله مهم‌ترین عوامل در تشخیص این باکتری هستند. ژن‌های *Inl A*، *Inl B*، *plcA* و *plcB* از جمله ژن‌هایی هستند که به‌عنوان نشانگرهای تشخیصی برای شناسایی سویه‌های لیستریا مونوسیتوزنز مورد استفاده قرار می‌گیرند. این ژن‌ها مربوط به توانایی باکتری در ایجاد بیماری هستند و نقش مهمی در فرآیندهای تهاجم، بقای داخل سلولی و گسترش عفونت دارند. برای مثال، ژن‌های *Inl A* و *Inl B* به لیستریا مونوسیتوزنز کمک می‌کنند تا به سلول‌های میزبان وارد شود، در حالی که ژن‌های *plcA* و *plcB* در تجزیه غشاهای سلولی و گسترش باکتری در بافت‌های مختلف نقش دارند؛ به بیان دیگر، فسفولیپاز *PlcA* و *PlcB* و پروتئین‌های تهاجمی *InlA* و *InlB*، توکسین تشکیل‌دهنده منفذ یا لیستریولیزین *O* و *S* که بیان آنها توسط ژن *lvsX* القا می‌شود و نقش مهمی در بقا و افزایش حدت دارند و *ActA* عامل حرکت درون سلولی باکتری است (۷). این عوامل بیماری‌زایی تحت کنترل تنظیم‌کننده رونویسی *prf A* تولید می‌شوند که متعلق به خانواده *Fnr/Crp* بوده و فعال‌کننده رونویسی است. *prf A* خود تنظیم شونده می‌باشد (۸). از آنجا که گزارش‌های متعددی در مورد مقاومت جنس لیستریا به ویژه لیستریا مونوسیتوزنز به عوامل ضد میکروبی موجود است، اثبات حضور مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری جداشده از منابع غذایی اهمیت زیادی دارد (۹).

ارتباط بین وجود ژن‌های حدت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در لیستریا مونوسیتوزنز اهمیت زیادی دارد. سویه‌های دارای ژن‌های حدت معمولاً بیماری‌زایی بیشتری دارند و در صورتی که مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها باشند، درمان آنها

لیستریا مونوسیتوزنز یکی از مهم‌ترین باکتری‌های پاتوژن است که می‌تواند در طیف وسیعی از شرایط محیطی به‌خصوص دماهای پایین زنده بماند و تکثیر یابد. این باکتری به‌عنوان یک عامل مهم در ایجاد عفونت‌های غذایی شناخته می‌شود و می‌تواند باعث بروز بیماری لیستریوزیس در انسان‌ها و حیوانات شود. لیستریا مونوسیتوزنز معمولاً از طریق مصرف مواد غذایی آلوده مانند گوشت خام، محصولات لبنی و سبزیجات منتقل می‌شود. این باکتری از قابلیت تکثیر در محیط‌های سرد، مانند دماهای یخچالی که در نگهداری مواد غذایی استفاده می‌شود، برخوردار است و این ویژگی، آن را به یکی از مهم‌ترین تهدیدات برای سلامت عمومی در صنعت غذا تبدیل کرده است. لیستریا مونوسیتوزنز به‌دلیل توانایی در رشد در دماهای پایین و تحمل شرایط نامساعد محیطی، در محصولات غذایی مختلف به‌ویژه در گوشت خام و فرآورده‌های گوشتی، لبنیات و محصولات دریایی یافت می‌شود. این باکتری به راحتی در محیط‌های صنعتی مانند کارخانجات فرآوری غذا پخش شده و به‌دلیل پایداری در برابر دمای یخچالی، می‌تواند در محیط‌های سرد نیز زنده بماند. در صنعت غذا، کنترل آلودگی لیستریا مونوسیتوزنز یکی از اولویت‌های اساسی است. با وجود تلاش‌های مداوم برای کاهش آلودگی، این پاتوژن همچنان به‌عنوان یک چالش جدی مطرح است. شیوع بیماری لیستریوزیس در بسیاری از موارد به‌دلیل عدم رعایت اصول بهداشتی در مراحل مختلف تولید، نگهداری و توزیع مواد غذایی رخ می‌دهد. از نظر کلینیکی، لیستریا مونوسیتوزنز یکی از عوامل اصلی ایجاد عفونت‌های شدید و کشنده در افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف است که می‌تواند به‌عنوان یک پاتوژن فرصت‌طلب و مشترک در انسان و حیوانات به‌صورت ساپروفیت و هم به‌صورت بیماری‌زا عمل کند (۱-۳). لیستریوزیس در درجه اول زنان باردار، نوزادان، افراد مسن و افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴). علائم کلینیکی لیستریوزیس شامل مننژیت، مننگوانسفالیت، سپتی‌سمی،

بسیار دشوارتر خواهد بود. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که برخی سویه‌های لیستریا مونوسیتوزنز توانایی انتقال ژن‌های مقاومت را به سویه‌های دیگر دارند، که این مسئله منجر به گسترش مقاومت در بین گونه‌های مختلف این باکتری می‌شود، که انجام تست حساسیت ضد میکروبی برای درک تغییرات در الگوی مقاومت سویه‌های لیستریا مونوسیتوزنز ضروری به نظر می‌رسد. در حال حاضر ترکیبی از آمپی‌سیلین یا آموکسی‌سیلین به همراه جنتامایسین، درمان اولیه‌ای برای لیستریوز انسانی است در حالی که وانکومایسین، تری‌متوپریم سولفامتاکسازول و اریترومایسین خط دوم درمان برای زنان باردار به‌شمار می‌رود (۱۰). لیستریا مونوسیتوزنز معمولاً به محدوده‌ی وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها حساس است ولی با وجود این حساسیت، میزان بهبودی از بیماری ناشی از آن تقریباً ۷۰ درصد است (۱۱).

فائو (سازمان جهانی غذا و دارو) تولید جهانی گوشت را در سال ۲۰۲۲ حدود ۳۶۰ میلیون تن اعلام کرده است که ۲/۱ درصد نسبت به سال ۲۰۲۱ افزایش داشته است. ایران نیز به‌صورت تقریبی، بیش از ۳ میلیون تن از انواع گوشت را تولید کرده است. تولید گوشت گاو و گوسفند در سال ۲۰۲۲ در سراسر دنیا، به‌ترتیب حدود ۹/۷۳ و ۵/۱۶ میلیون تن بوده است و سهم تولید ایران در سال ۲۰۲۲، به‌ترتیب حدود ۵۶۸ هزار تن و ۳۴۴ هزار تن بوده است (۱۲). تولید، فرآوری و عرضه این حجم از گوشت در صورتی که با موازین بهداشتی صورت نگیرد، می‌تواند منبع بزرگی از شیوع بیماری‌ها باشد. گوشت به‌علت وجود مواد مغذی فراوان، pH در محدوده خنثی و آب در دسترس بالا محیطی مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌هاست (۱۳).

نتایج مطالعات نشان می‌دهد که در ایران، میزان آلودگی گوشت قرمز به جنس لیستریا متفاوت است و حداقل به ۸/۵ درصد و حداکثر به ۶۰ درصد می‌رسد. میزان شیوع لیستریا در گوشت گاو استان چهارمحال و بختیاری ۳۳ درصد است و سایر گوشت‌های قرمز بررسی نشده‌اند (۶). این نتایج حاکی از آلودگی بالای انواع گوشت قرمز به

این پاتوژن است که دلایل متفاوتی از قبیل آلودگی لاشه‌ها به محتویات شکمی در حین کشتار و بعد از آن، آلودگی وسایل کشتار و عدم استریلیزاسیون آنها، آلودگی سردخانه و وسایل حمل و نقل می‌تواند داشته باشد. همچنین، استفاده دام‌ها از سیلوهای آلوده به لیستریا نیز می‌تواند باعث آلودگی دام‌ها به این پاتوژن شود (۱۴). سالانه، از هر ده نفر در سراسر جهان، یک نفر به‌دلیل مصرف مواد غذایی آلوده، به بیماری مبتلا می‌شود که از این میان، سالانه حدود ۴۲۰ هزار مورد از آنها جان خود را از دست می‌دهند. احتمال آلودگی مواد غذایی و آلودگی متقاطع در طبقات پایین اقتصادی و اجتماعی به‌دلیل شرایط محیطی نامطلوب، بهداشت فردی نامناسب، منابع آب بی‌کیفیت و نامناسب، آماده‌سازی غیر بهداشتی مواد غذایی، روش‌های نگهداری دمایی نامطلوب بیشتر دیده می‌شود (۱۵). مطالعه حاضر با هدف بررسی شیوع لیستریا مونوسیتوزنز و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن در گوشت‌های عرضه شده در استان چهارمحال و بختیاری انجام شده است. این مطالعه به شناسایی میزان آلودگی و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین بررسی ژن‌های حدت در سویه‌های لیستریا مونوسیتوزنز پرداخته است. نتایج این تحقیق می‌تواند در بهبود استانداردهای بهداشتی در صنعت غذا، کاهش خطرات بهداشتی و ارائه راهکارهای مناسب برای مقابله با مقاومت آنتی‌بیوتیکی لیستریا مونوسیتوزنز مفید باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: تعداد ۳۰۰ نمونه گوشت قرمز خام در طی مدت یک سال به‌صورت تصادفی در استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری شد. نمونه‌ها شامل گوشت گاو (۱۰۰ نمونه)، گوسفند (۵۰ نمونه)، بز (۵۰ نمونه)، گاو میش (۵۰ نمونه) و شتر (۵۰ نمونه) بودند. در حین جمع‌آوری نمونه‌ها با رعایت اصول و ملاحظات اخلاقی و کسب اجازه از عرضه‌کنندگان، به‌منظور جداسازی لیستریا از نمونه‌های دست، چاقو، تخته و یخچال محل‌های عرضه نیز سوآپ گرفته شد. نمونه‌ها در مجاورت فلاسک یخ به

آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد شهرکرد، جهت انجام آزمایشات انتقال داده شدند.

روش جستجوی لیستریا مونوسیتوژنز: نمونه‌ها در هر کدام از محیط‌های مغذی نوترینت آگار (Merck, Nutrient agar Germany) به مدت ۲۹ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. به منظور رشد پرگنه‌های لیستریا، باکتری‌ها از محیط مغذی ثانویه به محیط آگار انتخابی لیستریا (Merck, Palcam agar Germany) انتقال داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. پرگنه‌های رشد کرده در هر پلیت از نظر ریخت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفت. پرگنه‌های مشکوک تحت آزمون رنگ‌آمیزی گرم قرار گرفتند. به منظور تأیید بیشتر، کلنی‌های گرم مثبت تحت آزمایش کاتالاز و تست حرکت در دمای پایین قرار گرفتند (۱).

جستجوی ژن‌های حدت لیستریا مونوسیتوژنز: مطابق دستورالعمل کیت استخراج DNA ساخت شرکت سیناژن ایران، DNA ژنومی از باکتری‌های رشد یافته بر روی محیط کشت به صورت مستقیم، تخلیص گردید. کیفیت DNA استخراج شده، پس از الکتروفورز روی ژل

آگارز ۱ درصد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید و تابش نور ماورای بنفش بررسی شد. در تمامی مراحل انجام این تحقیق از سویه استاندارد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز (PTCC 1298) به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. به منظور تشخیص لیستریا مونوسیتوژنز از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) و پرایمرهای اختصاصی ژن *16SrRNA* استفاده شد. تمامی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه به همراه شرایط PCR در جدول ۱ گنجانده شده است. نتیجه حاصل از PCR در شکل ۱ قابل مشاهده است.

تجزیه و تحلیل محصولات PCR توسط ژل الکتروفورز انجام شد. برای این منظور از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده گردید و ژل با رنگ اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شد. تصویر ژل با استفاده از دستگاه Gel Doc 1000 شرکت (Bio-Rad) ثبت و تجزیه و تحلیل شد تا وجود آمپلیکون‌های خاص نشان‌دهنده ژن‌های مورد مطالعه بررسی شود. در این مطالعه از نشانگر وزن مولکولی با دامنه حداقل ۱۰۰ جفت باز و حداکثر ۳۰۰۰ جفت باز از شرکت Thermo Fisher Scientific (Fermentas) سابق استفاده شد. شکل (۱) (۱۶).

جدول ۱- لیست پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی ژن‌های لیستریا مونوسیتوژنز

Gene	Sequence (5'-3')	Size of product (bp)	Steps	Time (sec)	Cycles	Reference
<i>16SrRNA</i>	F: AGAGTTTGATCCTGGCTCAG R: ACGTACCTTGTTACGACTT	1450	Denaturation: 94	60	35	(۲)
			Annealing: 60	120		
			Extention: 72	60		
			Final Extention: 72	420		
<i>inlA</i>	F: CCTAGCAGGTCTAACCGCAC R: TCGCTAATTTGGTTATGCCC	255	Denaturation: 95	60	34	
			Annealing: 58	60		
			Extention: 72	60		
			Final Extention: 72	300		
<i>inlB</i>	F: AAAGCACGATTTTCATGGGAG R: ACATAGCCTTGTGTTGGTCGG	146	Denaturation: 94	60		
			Annealing: 59	45		
			Extention: 72	60		
			Final Extention: 72	300		
<i>plcA</i>	F: CGAGCAAAACAGCAACGATA R: CCGCGGACATCTTTAATGT	129	Denaturation: 95	60	35	(۱۶)
			Annealing: 61	60		
			Extention: 72	60		
			Final Extention: 72	300		
<i>plcB</i>	F: GGGAAATTTGACACACGCTT R: ATTTTCGGGTAGTCCGCTTT	261	Denaturation: 95	60		
			Final Extention: 72	300		

آنتی‌بیوتیکی، تست آنتی‌بیوگرام با استفاده از روش

آزمون آنتی‌بیوگرام: برای ارزیابی مقاومت

با جداول استاندارد CLSI مقایسه گردید تا وضعیت مقاومت یا حساسیت مشخص شود (۱۷).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: شیوع آلودگی به لیستریا مونوسیژنر بین گوشت‌های مختلف با استفاده از آزمون آماری ANOVA انجام شد. همچنین حدود اطمینان ۹۵ درصد برای شیوع محاسبه گردید. شیوع آلودگی به لیستریا مونوسیژنر در بین انواع ابزارها با استفاده از آزمون کوکران Q مقایسه شد. برای ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی از روش ناپارامتریک فریدمن استفاده شد و همچنین از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ برای تجزیه و تحلیل های آماری استفاده شد.

نتایج

نتایج نشان داد که از مجموع ۳۰۰ نمونه گوشت خام عرضه شده در استان چهارمحال و بختیاری، ۱۳۸ نمونه (۴۶ درصد) به لیستریا مونوسیژنر آلوده بودند. ارزیابی‌های آماری نشان داد که بین آلودگی به لیستریا مونوسیژنر در نمونه‌های گوشت عرضه شده در استان چهارمحال و بختیاری ارتباط آماری معنی‌داری وجود ندارد ($p < 0.05$). (جدول ۲).

استاندارد Disk Diffusion (انتشار دیسک) انجام شد. ابتدا، یک سوسپانسیون میکروبی از جدایه‌های لیستریا مونوسیژنر تهیه گردید. تراکم باکتری‌ها در سوسپانسیون با استاندارد McFarland 0.5 تنظیم شد تا تراکم یکنواختی از باکتری‌ها به دست آید. سپس، سطح پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر- هینتون آگار (Italy, Liofilchem) به‌طور یکنواخت با سوسپانسیون باکتری پوشش داده شد. پس از آماده‌سازی سطح پلیت، دیسک‌های آنتی‌بیوگرام که شامل آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بودند، به دقت بر روی سطح محیط کشت قرار داده شدند. پس از قرار دادن دیسک‌های آنتی‌بیوتیک‌ها شامل آمپی‌سیلین (AM)، پنی‌سیلین (PEN)، جنتامایسین (GM)، سولفامتاکسازول (SXT)، آموکسی‌کلاو (AMC)، تتراسایکلین (TE)، ونکومایسین (VA)، سفازولین (SE) و اولندامایسین (OL)، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند تا امکان انتشار آنتی‌بیوتیک‌ها و ایجاد هاله‌های عدم رشد فراهم شود. پس از اتمام دوره انکوباسیون، قطر هاله‌های عدم رشد اطراف هر دیسک با دقت اندازه‌گیری شد. بر اساس اندازه هاله‌ها، میزان حساسیت یا مقاومت جدایه‌های باکتری به آنتی‌بیوتیک‌ها تعیین شد. این اندازه‌ها

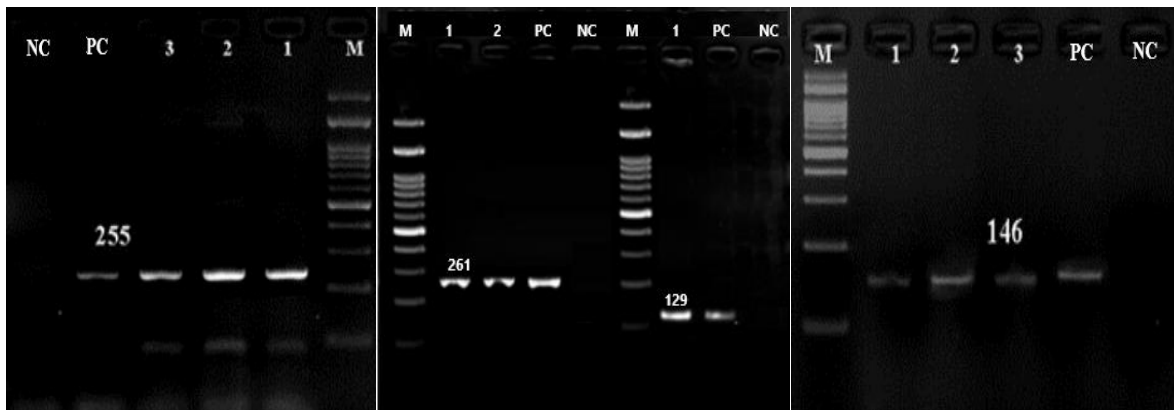
جدول ۲- شیوع آلودگی به لیستریا مونوسیژنر در گوشت خام عرضه شده در استان چهارمحال و بختیاری

نوع نمونه	مجموع نمونه‌ها	آلودگی	سطح معنی‌داری
گاو میش	۵۰	۳۷ نمونه (۱۲/۳۳ درصد)	۰/۰۱۳ ^{NS}
گوسفند	۵۰	۲۷ نمونه (۹ درصد)	
گاو	۱۰۰	۴۲ نمونه (۱۴ درصد)	
شتر	۵۰	۱۹ نمونه (۶/۳۳ درصد)	-
بز	۵۰	۱۳ نمونه (۴/۳۳ درصد)	
مجموع	۳۰۰	۱۳۸ نمونه (۴۶ درصد)	

NS: تفاوت بین آلودگی در نمونه‌های مختلف معنی‌دار نیست

گوشت گاو، ۷ ایزوله از گوشت شتر و ۲ ایزوله از گوشت بز حامل حداقل یکی از ژن‌های *inlA*، *inlB* و *plcA* و *plcB* بودند.

نتایج PCR نشان داد که ۶۰ ایزوله از ۱۳۸ ایزوله لیستریا مونوسیژنر جدا شده از گوشت عرضه شده در استان چهارمحال و بختیاری، شامل ۲۰ ایزوله جدا شده از گوشت گاو میش، ۱۱ ایزوله از گوسفند و ۲۰ ایزوله از



شکل (۱)- ژل حاصل از الکتروفورز محصول PCR مربوط به ردیابی ژن *inLA* (۲۵۵bp). M: مارکر ۱۰۰bp (سیناکلون، ایران)، ۱-۳: به ترتیب ایزوله‌های جدا شده از گوشت شتر، گوسفند و گاو، PC: کنترل مثبت، NC: کنترل منفی. شکل (۲)- ژل حاصل از الکتروفورز محصول PCR مربوط به ردیابی ژن *plcA* (۱۲۹bp) و *plcB* (۲۶۱bp). M: مارکر ۱۰۰bp (سیناکلون، ایران)، ۱-۲: به ترتیب ایزوله‌های جدا شده از گوشت شتر و گاو، PC: کنترل مثبت، NC: کنترل منفی. شکل (۳)- ژل حاصل از الکتروفورز محصول PCR مربوط به ردیابی ژن *inLB* (۱۴۶bp). M: مارکر ۱۰۰bp (سیناکلون، ایران)، ۱-۳: به ترتیب ایزوله‌های جدا شده از گوشت شتر، گوسفند و گاو، PC: کنترل مثبت، NC: کنترل منفی.

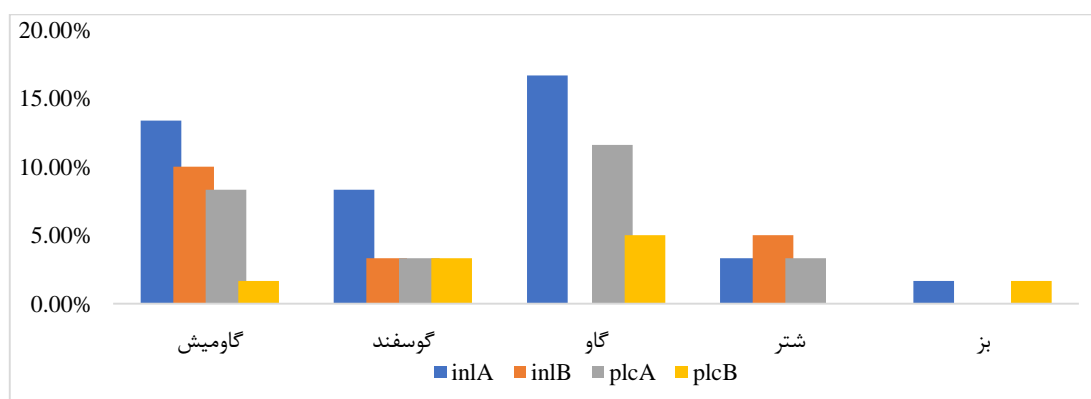
چهارمحال و بختیاری ارتباط آماری معنی‌داری وجود نداشت ($p < 0/05$). (جدول ۳ و نمودار ۱).

آنالیزهای آماری نشان داد که بین حضور ژن‌های مورد مطالعه در ایزوله‌های لیستریا مونوسیتوژنز جدا شده از گوشت خام حیوانات مختلف عرضه شده در استان

جدول ۳- فراوانی ژن‌های *inLA*، *inLB* و *plcA* و *plcB* لیستریا مونوسیتوژنز در گوشت خام عرضه شده در چهارمحال و بختیاری

نوع نمونه	تعداد ایزوله‌ها	<i>inLA</i> (درصد)	<i>inLB</i> (درصد)	<i>plcA</i> (درصد)	<i>plcB</i> (درصد)	سطح معنی‌داری
گاو میش	۲۰	۸ (۴۰/۳۳)	۶ (۳۰)	۵ (۲۵/۳۳)	۱ (۵/۳۳)	۰/۰۱۷ ^{ns}
گوسفند	۱۱	۵ (۴۵/۳۳)	۲ (۱۸/۳۳)	۲ (۱۸/۳۳)	۲ (۱۸/۳۳)	
گاو	۲۰	۱۰ (۵۰/۳۳)	-	۷ (۳۵/۳۳)	۳ (۱۵/۳۳)	
شتر	۷	۲ (۲۸/۳۳)	۳ (۴۲/۳۳)	۲ (۲۸/۳۳)	-	
بز	۲	۱ (۵۰/۳۳)	-	-	۱ (۵۰/۳۳)	
مجموع	۶۰ (۴۳/۸۷)	۲۶ (۴۳/۳۳)	۱۱ (۱۸/۳۳)	۱۶ (۲۶/۳۳)	۷ (۱۱/۳۳)	

ns: بین حضور ژن‌های مورد مطالعه در ایزوله‌های لیستریا مونوسیتوژنز با گوشت دام‌های مختلف، ارتباطی وجود نداشت.



نمودار ۱- فراوانی ژن های مورد مطالعه در ایزوله های جدا شده از گوشت خام عرضه شده در استان چهارمحال و بختیاری

نتایج کشت سوآپ نشان داد که به ترتیب میزان شیوع آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز مربوط به یخچال ها (۱۴ درصد)، تخته گوشت (۹ درصد)، دست عرضه کنندگان (۸ درصد)، ترازو (۶ درصد) و چاقو (۴ درصد) بود. (جدول ۴).

جدول ۴- میزان آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز در ابزار و دست عرضه کنندگان گوشت در استان چهارمحال و بختیاری

آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز			تعداد موارد مثبت	تعداد نمونه اخذ شده	نمونه ها
حدود ۹۵ درصد برای شیوع	شیوع *	حد پایین			
حد بالا					
۶/۲ درصد	۴ ^{bc} درصد	۱/۳ درصد	۴	۲۰	چاقو
۱۹/۵ درصد	۱۴ ^a درصد	۸/۷ درصد	۱۴	۲۰	یخچال
۱۲/۱ درصد	۹ ^{bc} درصد	۷/۴ درصد	۹	۲۰	تخته گوشت
۹/۶ درصد	۶ ^{bc} درصد	۱/۹ درصد	۶	۲۰	ترازو
۱۰/۳ درصد	۸ ^{bc} درصد	۶/۹ درصد	۸	۲۰	دست عرضه کنندگان

* حروف انگلیسی متفاوت، اختلاف آماری معنی دار در شیوع آلودگی نشان می دهد.

نتایج ارزیابی های آنتی بیوتیکی (جدول ۵)، نشان داد که بیشترین مقاومت مربوط به جنتامایسین (۸۱/۱۵ درصد) و پنی سیلین (۷۸/۲۶ درصد) و کمترین مقاومت

مربوط به سولفامتاکسازول (۴۵/۶۶) و اولندامایسین (۴۴/۲۰) بود.

جدول ۵- وضعیت تعداد ایزوله های لیستریا مونوسیتوژنز نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف (درصد)

مقاوم	نیمه حساس	حساس	آنتی بیوتیک
۹۰ (۶۵/۲۱)	۳۰ (۲۱/۷۳)	۱۸ (۱۳/۰۶)	آمی سیلین (AM)
۱۱۲ (۸۱/۱۵)	۲۳ (۱۶/۶۷)	۳ (۲/۱۸)	جنتامایسین (GM)
۸۸ (۶۳/۷۷)	۳۵ (۲۵/۳۶)	۱۵ (۱۰/۸۶)	تتراسایکلین (TE)
۱۰۸ (۷۸/۲۶)	۲۷ (۱۹/۵۵)	۳ (۲/۱۸)	پنی سیلین (PEN)
۶۳ (۴۵/۶۶)	۴۰ (۲۸/۹۸)	۳۵ (۲۵/۳۶)	سولفامتاکسازول (SXT)
۸۲ (۵۹/۴۲)	۳۵ (۲۵/۳۶)	۲۱ (۱۵/۲۲)	آموکسی کلاو (AMC)
۹۹ (۷۱/۷۳)	۳۲ (۲۳/۱۸)	۷ (۵/۰۹)	ونکومایسین (VAN)
۸۱ (۵۸/۶۹)	۳۹ (۲۸/۲۶)	۱۸ (۱۳/۰۵)	سفازولین (CE)
۶۱ (۴۴/۲۰)	۴۵ (۳۲/۶۲)	۳۲ (۲۳/۱۸)	اولندامایسین (OL)

بحث و نتیجه گیری

در سال های اخیر، شیوع لیستریوزیس مرتبط با مصرف غذاهای گوشتی آلوده افزایش یافته است. وجود لیستریا مونوسیتوژنز در گوشت خام ممکن است اثر عوامل مختلفی همچون آلودگی با مدفوع در حین تخلیه اندرونه یا بهداشت نامناسب کارکنان باشد، اگرچه گوشت خام معمولاً قبل از خوردن پخته می شود، اما پروسه حرارتی ناکافی ممکن

است لیستریا مونوسیتوژنز را از غذا حذف نکند و تهدیدی جدی برای سلامتی مصرف کننده باشد. علاوه بر این، شیوع بالای لیستریا مونوسیتوژنز در مواد خام به طور قابل توجهی خطر آلودگی ثانویه سطوح کاری و تجهیزات مورد استفاده در کارخانه های فرآوری مراکز عرضه گوشت را افزایش می دهد که به نوبه خود، بیوفیلم های تشکیل شده توسط لیستریا مونوسیتوژنز بر روی سطوح یاد شده ممکن است

در آلودگی محصول نهایی نقش داشته باشند (۱۸). در پژوهش حاضر، نتایج نشان داد که از مجموع ۳۰۰ نمونه، ۱۳۸ نمونه (۴۶ درصد) به لیستریا مونوسیوتوژنز آلوده بودند. میزان آلودگی برای گوشت گاومیش (۱۲/۳۳ درصد)، گوسفند (۹ درصد)، گاو (۱۴ درصد)، شتر (۶/۳۳ درصد) و بز (۴/۳۳ درصد) آلودگی داشتند. نتایج PCR نشان داد فراوانی مربوط به ژن‌های *Inl A* (۴۳/۳۳ درصد)، *plc A* (۲۶/۶۶ درصد)، *Inl B* (۱۸/۳۳ درصد) و *plc B* (۱۱/۶۷ درصد) بود. همچنین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد بیشترین مقاومت علیه لیستریا مونوسیوتوژنز مربوط به جنتامایسین (۸۱/۱۵ درصد) و پنی‌سیلین (۷۸/۲۶ درصد)، و کمترین مربوط سولفامتاکسازول (۴۵/۶۶) و اولندامایسین (۴۴/۲۰ درصد) بود. در همین راستا در تحقیق Wu و همکاران در چین (۲۰۱۵)، بر روی آلودگی به لیستریا مونوسیوتوژنز در گوشت خام گاو دریافتند که از ۱۰۳۶ نمونه، ۲۰۷ نمونه (۲۰ درصد) به لیستریا مونوسیوتوژنز آلوده بود و فراوانی ژن‌های *InlA* (۹۹/۶ درصد)، *InlB* (۹۸/۸ درصد) گزارش دادند (۱۹) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقتی ندارد. chen و همکاران در چین (۲۰۱۹) در پژوهشی مشابه میزان آلودگی به لیستریا مونوسیوتوژنز در گوشت خام را از مجموع ۱۲۱۲ نمونه، ۳۶۲ نمونه (۲۹/۹ درصد) گزارش دادند (۲۰). در پژوهشی Gomez و همکاران در اسپانیا (۲۰۱۵) مجموع آلودگی به لیستریا مونوسیوتوژنز را در محصولات خام گوشتی ۳۶/۸۴ درصد گزارش دادند (۲۱) که با پژوهش حاضر مطابقتی ندارد. در مطالعه Demaitre و همکاران (۲۰۲۱) در بلژیک، روی آلودگی گوشت لاشه‌های کشتار شده در کشتارگاه گزارش دادند که از مجموع ۱۲۰ نمونه، ۱۱۲ نمونه (۹۳ درصد)، به لیستریا مونوسیوتوژنز آلوده بودند (۲۲) که بسیار فراتر از نتایج تحقیق حاضر بود. این پژوهشگران آلودگی پوست گاو به لیستریا مونوسیوتوژنز و متعاقب آن، روش پوست‌گیری سنتی با دست که سبب پراکنده شدن باکتری در تمام محیط کشتارگاه بود را از مهم‌ترین دلایل بالا بودن آلودگی ذکر کردند. در مطالعه‌ای Trentjeva و همکاران در لتونی

(۲۰۲۱) گزارش دادند از مجموع ۵۲۱ نمونه حیوانی، ۵۸/۹ درصد به لیستریا مونوسیوتوژنز آلوده بودند (۲۳) که فراتر از نتایج به‌دست آمده در این مطالعه است. مطالعه‌ای در برزیل توسط Silva و همکاران (۲۰۲۰) بر روی آلودگی گوشت خام گاو، نشان داد که میزان آلودگی به لیستریا مونوسیوتوژنز ۲۶/۶۶ درصد بود (۲۴) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت ندارد. در مطالعه حاضر، آلودگی گوشت گاو به لیستریا مونوسیوتوژنز ۹ درصد بود؛ در همین راستا در پژوهشی Gebremedhin و همکاران در اتیوپی (۲۰۲۱) بر روی آلودگی به گوشت خام گاو گزارش دادند که ۴۵۰ نمونه گوشت گاو از قصابی‌ها، کشتارگاه‌ها و رستوران‌ها نمونه‌گیری شد. نتایج نشان داد از مجموع ۴۵۰ نمونه، ۱۲۰ نمونه (۲۸/۴ درصد) به لیستریا مونوسیوتوژنز آلودگی وجود داشت که از یافته‌های به‌دست آمده در مطالعه حاضر کمتر است. بیشترین و کمترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پژوهش حاضر مربوط به جنتامایسین (۸۱/۱۵ درصد) و اولندامایسین (۴۴/۲۰ درصد) بود که در مقایسه با نتایج پژوهش یادشده، در خصوص کمترین مقاومت برای اولندامایسین مطابقت و همسویی دارد. (۲۵).

Moabelo و همکاران در جنوب آفریقا (۲۰۲۳) در پژوهشی آلودگی به لیستریا مونوسیوتوژنز را ۳۶/۹ درصد گزارش دادند (۲۶) که کمتر از یافته‌های تحقیق حاضر است. Eruteya و همکاران در نیجریه (۲۰۲۲) بر روی آلودگی گوشت بز ۱/۲۹ درصد را گزارش دادند (۲۷) که بسیار کمتر از نتایج حاصل از تحقیق حاضر است. در تحقیق دیگری Baher و همکاران (۲۰۲۱) بر روی آلودگی گوشت بز به لیستریا مونوسیوتوژنز ۸ درصد آلودگی گزارش دادند (۲۸) که با نتایج پژوهش حاضر (۴/۳۳ درصد) همسویی ندارد. ساعی دهکردی (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای گزارش داد که میزان آلودگی به لیستریا مونوسیوتوژنز در گوشت قصابی‌های عرضه شده در چهارمحال و بختیاری ۱۲/۹۴ درصد بود که کمتر از نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر است. رعایت اصول بهداشتی در مراکز عرضه، مهم‌ترین دلیل اختلاف بین مطالعه نامبرده و پژوهش حاضر است

(۶). Tasci و همکاران در ترکیه (۲۰۲۴)، از مجموع ۱۷۹ نمونه، ۴۶/۳۷ درصد آلودگی به لیستریا مونوسیٹوژنز را گزارش دادند که تا حدودی مطابق نتایج پژوهش حاضر است؛ اما فراوانی ژن‌های *plcA*، *plcB* و *inlA* به ترتیب ۱۰۰، ۷۲/۲۹ و ۱۰۰ درصد بود که بسیار فراتر از نتایج حاضر است (۲۹).

جدایه‌های لیستریا مونوسیٹوژنز که فراوانی بالایی از ژن‌های حدت را نشان می‌دهند، برای سلامت عمومی بسیار مضر و مصرف مواد غذایی آلوده به این سویه‌ها، خطر بزرگی برای انسان تلقی می‌شود و می‌تواند باعث موارد شدید مرگ و میر شود. مقاومت آنتی‌بیوتیکی لیستریا مونوسیٹوژنز می‌تواند در نتیجه کسب ژن‌های مقاومت از سایر باکتری‌های گرم مثبت (به‌عنوان مثال، انتقال با واسطه پلاسمید) باشد، اما استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها در پزشکی و کشاورزی نیز می‌تواند بر حساسیت دارویی پاتوژن تأثیر منفی بگذارد. با آلودگی مواد غذایی به لیستریا مونوسیٹوژنز، افزایش میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن می‌تواند پس از قرار گرفتن در معرض مواد نگهدارنده، آنتی‌بیوتیک‌ها و شرایط استرس رخ دهد، که اکنون به یکی دیگر از نگرانی‌های مهم بهداشت عمومی تبدیل شده است که بر لزوم توجه ویژه به کنترل آن در طول زنجیره غذایی تأکید می‌کند.

نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر، دیدگاه جامعی از معرفی، انتقال و ماندگاری لیستریا مونوسیٹوژنز در برخی از کشتارگاه‌های دام سبک و سنگین در استان چهارمحال و بختیاری را ارائه داد. شیوع آلودگی از درصد بالایی برخوردار بود. به‌طور کلی شیوع آلودگی به لیستریا مونوسیٹوژنز در پژوهش حاضر و مطالعات قبلی تأیید می‌کنند که گوشت گاو، شتر، بز و گوسفند به‌عنوان یک مخزن اصلی

عمل می‌کند. استان چهارمحال و بختیاری به‌عنوان یکی از مراکز تولید و عرضه گوشت در ایران، با مشکل آلودگی گوشت خام به لیستریا مونوسیٹوژنز مواجه است. در مطالعه حاضر، از ۳۰۰ نمونه گوشت خام که به‌صورت تصادفی از مراکز عرضه گوشت در این استان جمع‌آوری شد، ۴۶ درصد از نمونه‌ها به این باکتری آلوده بودند. این امر نشان‌دهنده شیوع بالای لیستریا مونوسیٹوژنز در این منطقه است که می‌تواند بهداشت عمومی را تهدید کند. مصرف گوشت در استان چهارمحال و بختیاری به‌عنوان یکی از منابع اصلی پروتئین غذایی بسیار رایج است. با توجه به شیوع بالای آلودگی لیستریا مونوسیٹوژنز در گوشت خام این استان، بررسی و نظارت بر کیفیت گوشت و رعایت اصول بهداشتی در تمامی مراحل تولید، بسته‌بندی و عرضه اهمیت زیادی دارد. سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک خطر جدی سلامتی مرتبط با مصرف غذا هستند. با وجود حساسیت نسبتاً بالا به ضد میکروبی‌هایی که معمولاً در درمان عفونت استفاده می‌شوند، اخیراً مشاهده شده است که لیستریا مونوسیٹوژنز تحمل بیشتری نسبت به ضد میکروبی‌ها ایجاد می‌کند. رعایت اصول بهداشتی چون شستشو صحیح لاشه‌ها پس از کشتار، به حداقل رساندن تماس گوشت و لاشه با محتویات دستگاه گوارش و به‌طور کلی اجرای درست اصول سیستم کنترل نقاط بحرانی خطر، آموزش کارکنان و افراد مرتبط با توزیع و فروش گوشت در پایین آوردن میزان آلودگی سودمند است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از کلیه همکاران گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که نهایت همکاری را در انجام این پروژه داشتند تشکر به عمل می‌آید.

References

1- Rahimi E, Heidarzadi M, Vahed Dehkordi N. Investigation of the prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in fish, shrimp and eggs presented in Shahrekord city, Iran. *Utiliz Cultiv*

Aquat. 2023;12(2):145-56. [In persian]

2- Farhoumand P, Hasanzadazar H, Soltanpour MS, Aminzare M, Abbasi Z. Prevalence, genotyping and antibiotic resistance of

Listeria monocytogenes and *Escherichia coli* in fresh beef and chicken meats marketed in Zanjan, Iran. *Iran J microb.* 2020; 12(6): 53-7. [In persian]

3- Fallah AA, Saei-Dehkordi SS, Rahnama M, Tahmasby H, Mahzounieh M. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Listeria* species isolated from poultry products marketed in Iran. *Food Cntrl.* 2012; 28(5): 327-32. [In persian]

4- Koopmans MM, Brouwer MC, Vázquez-Boland JA, van de Beek D. Human listeriosis. *ClinicvMicrob Rev.* 2023; 36(1): 1-45.

5- Valenti M, Ranganathan N, Moore LS, Hughes S. *Listeria monocytogenes* infections: presentation, diagnosis and treatment. *Brit J Hosp Med.* 2021; 82(10): 1-6.

6- Saei-Dehkordi SS. Frequency of *Listeria* species contamination in raw meat of cattle collected from abattoirs and butcher shops of Chaharmahal and Bakhtiary Province. *J Food Microb.* 2020; 7(1): 32-40. [In persian]

7- Pournajaf A, Rajabnia R, Sedighi M, Kasani A, Moqarabzadeh V, Lotfollahi L, et al. Prevalence, and virulence determination of *Listeria monocytogenes* strains isolated from clinical and non-clinical samples by multiplex polymerase chain reaction. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2016; 49(4): 624-67. [In persian]

8- Clayton EM, Hill C, Cotter PD, Ross RP. Real-time PCR assay to differentiate listeriolysin S-positive and-negative strains of *Listeria monocytogenes*. *App environ microb.* 2011; 77(1):163-71.

9- Lotfollahi L, Chaharbalesh A, Rezaee MA, Hasani A. Prevalence, antimicrobial susceptibility and multiplex PCR-serotyping of *Listeria monocytogenes* isolated from humans, foods and livestock in Iran. *Microb path.* 2017; 107(1): 425-9. [In persian]

10- Abdollahzadeh E, Ojagh SM, Hosseini H, Ghaemi EA, Irajian G, Heidarlo MN. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from seafood and humans in Iran. *Microb path.* 2016; 100(1): 70-4. [In persian]

11- Morvan A, Moubareck C, Leclercq A, Hervé-Bazin M, Bremont S, Lecuit M, et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* strains isolated from humans in France. *Anti agents chem.* 2010; 54(6): 2728-31.

12- khaledian S, Abdollahzadeh E, Rahimi Z, Goudarzi T, Rezaei M, khaledian Y. Contamination of Food Products by *Listeria monocytogenes* in Iran during 2010-2023. *J N Uni Medicl Sci.* 2024; 2(16):10-23. [In persian]

13- Hamidiyan N, Salehi-Abargouei A, Rezaei Z, Deghani-Tafti R, Akrami-Mohajeri F. The prevalence of *Listeria* spp. food contamination in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Food res inter.* 2018; 107: 437-50[In persian].

14- Raeisi M, Afshari A, Shirzad-Aski H, Seifi S, Hashemi M, Khoshbakht R, et al. The Occurrence of Serotypes and Virulence Genes of *Listeria monocytogenes* in Various Food Products. *J food quality hzds cntl.* 2023; 13(10): 103-12. [In persian]

15- Maury MM, Bracq-Dieye H, Huang L, Vales G, Lavina M, Thouvenot P, et al. Hypervirulent *Listeria monocytogenes* clones' adaption to mammalian gut accounts for their association with dairy products. *Nature Communi.* 2019; 10(1): 1-13.

16- Mureddu A, Mazza R, Fois F, Meloni D, Bacciu R, Piras F, et al. *Listeria monocytogenes* persistence in ready-to-eat sausages and in processing plants. *Italian J Food Safe.* 2014; 3(16): 12-15.

17- Heidarzadi M, Rahnama M, Ali-poureskandani M, Saadati D, Afsharimoghadam A. *Salmonella* and *Escherichia coli* contamination in samosas presented in Sistan and Baluchestan province and antibiotic resistance of isolates. *Food Hygiene.* 2021; 11(2 (42)): 81-90. [In persian]

18- Skowron K, Walecka-Zacharska E, Wiktorczyk-Kapischke N, Skowron KJ, Grudlewska-Buda K, Bauza-Kaszewska J, et al. Assessment of the prevalence and drug susceptibility of *Listeria monocytogenes* strains isolated from various types of meat. *Foods.* 2020; 9(9): 2-17.

19- Wu S, Wu Q, Zhang J, Chen M, Yan Za, Hu H. *Listeria monocytogenes* prevalence and characteristics in retail raw foods in China. *PLoS One.* 2015; 10(8): 1-16.

20- Chen M, Cheng J, Zhang J, Chen Y, Zeng H, Xue L, et al. Isolation, potential virulence, and population diversity of *Listeria monocytogenes* from meat and meat products in China. *Frontiers microb.* 2019; 10(1): 1-10.

21- Gómez D, Iguácel LP, Rota MC, Carramiñana JJ, Ariño A, Yangüela J. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products and meat processing plants in Spain. *Foods.* 2015; 4(3): 271-82.

22- Demaitre N, De Reu K, Haegeman A, Schaumont D, De Zutter L, Geeraerd A, et al. Study of the transfer of *Listeria monocytogenes* during the slaughter of cattle using molecular typing.

Meat science. 2021; 175:108450.

23- Terentjeva M, Šteingolde Ž, Meistere I, Elferts D, Avsejenko J, Streikiša M, et al. Prevalence, genetic diversity and factors associated with distribution of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in cattle farms in Latvia. *Pathogens*. 2021; 10(7): 851-860.

24- Silva AS, Duarte EA, Oliveira TAD, Evangelista-Barreto NS. Identification of *Listeria monocytogenes* in cattle meat using biochemical methods and amplification of the hemolysin gene. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2020; 92: e20180557.

25- Gebremedhin EZ, Hirpa G, Borana BM, Sarba EJ, Marami LM, Kelbesa KA, et al. *Listeria* species occurrence and associated factors and antibiogram of *Listeria monocytogenes* in beef at abattoirs, butchers, and restaurants in Ambo and Holeta in Ethiopia. *Infec drug resistance*. 2021; 14(20):1493-504.

26- Moabelo KC, Gcebe N, Gana J, Ngoshe YB, Adesiyun AA. Contamination of beef and beef products by *Listeria* spp. and molecular characterization of *L. monocytogenes* in Mpumalanga, South Africa. *J Food Safe*. 2023; 43(5): 1-12.

27- Eruteya O, Odunfa S, Lahor J. Listeria spp. in raw cow and goat meat in Port Harcourt, Nigeria. *British Biotech J*. 2022; 13(9):151-60.

28- Baher W, Shalaby M, Abdelghfar S. Prevalence of multidrug-resistant *Listeria monocytogenes* in retailed goat meat and offal. *Dama J Vet Sci*. 2021; 7(1):19-32.

29- Tasci F, Sudagidan M, Yavuz O, Soyucok A, Aydin A. Virulence properties of *Listeria monocytogenes* isolated from meat and meat contact surfaces in a slaughterhouse. *Polish J Vet Sci*. 2024; 27(21): 13-23.



Antimicrobial prevalence of *Listeria monocytogenes* and determination of the frequency of virulence genes in Red meat types sold in Chaharmahal and Bakhtiari province, Iran


Mahdi Jamali galeh¹, Ebrahim Rahimi^{*2}, Nosha Zia Jahormi³

1- PhD student, Department of Food Hygiene, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2- Professor, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Biology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Receive: October 13, 2024; Revise: October 13, 2024; Accept: October 13, 2024

 10.22034/nfvm.2024.483271.1260

Summary

Listeria monocytogenes is a cold-loving pathogen that can grow at low temperatures and causes listeriosis. Listeriosis is characterized by a low prevalence but a high mortality rate, and its resistance to antimicrobial compounds has become a significant challenge. The aim of the present study was to investigate the prevalence of antibiotic resistance and virulence genes in *Listeria monocytogenes* strains found in meat sold in the Chaharmahal and Bakhtiari province of Iran. In this research, 300 raw meat samples (from cow, buffalo, goat, sheep, and camel) were randomly collected from supply centers in Chaharmahal and Bakhtiari provinces. The results showed that out of the 300 samples, 138 (46%) were infected with *Listeria monocytogenes*. The infection rates were as follows: 12.23% in buffalo meat, 9% in sheep, 14% in cow, 6.33% in camel, and 4.33% in goat. PCR results indicated the presence of *inl A* genes in 43.33% of the samples, *inl B* in 18.33%, *plcA* in 26.66%, and *plcB* in 11.67%. The antibiotic resistance results showed that the highest resistance was against gentamicin (81.15%) and penicillin (78.26%), while the lowest resistance was observed for sulfamethoxazole (45.66%) and olendamycin (44.20%). According to the findings of this study, raw meat is an important reservoir for the transmission of *Listeria monocytogenes* strains with virulence and antibiotic resistance genes. Therefore, maintaining sanitary conditions in animal husbandry and slaughterhouses is essential to controlling the prevalence of *Listeria monocytogenes*, which would help reduce the incidence of strains carrying virulence and antibiotic resistance genes.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, antibiotic resistance, meat, food safety, Chaharmahal and Bakhtiari



شیوع و مقاومت ضد میکروبی سویه‌های آرکوباکتر در گوشت مرغ، تخم‌مرغ و گوشت چرخ‌کرده عرضه شده در شهرستان همدان به روش PCR

مرتضی ترکمان^۱، سید مجید هاشمی*

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
۲- مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

دریافت مقاله: ۸ آذر ۱۴۰۳، بازنگری: ۱۹ دی ۱۴۰۳، پذیرش نهایی: ۲۰ دی ۱۴۰۳



10.22034/nfvm.2025.487834.1266

چکیده

جنس آرکوباکتر پدیدآورنده‌ی بیماری‌های گوارشی همچون گاستروانتریت و سقط جنین در انسان است. آرکوباکتر بوتزلری، آرکوباکتر کریاروفیلوس و آرکوباکتر اسکیرووی از مهم‌ترین سویه‌های آن هستند که امروزه مقاومت ضد میکروبی آنها، چالش برانگیز است. هدف از پژوهش حاضر تعیین میزان شیوع و الگوی مقاومت ضد میکروبی آرکوباکترهای جدا شده از مواد غذایی مختلف شامل گوشت مرغ، تخم‌مرغ و گوشت چرخ‌کرده در شهرستان همدان بود. ابتدا ۱۷۴ نمونه شامل ۱۰۰ نمونه گوشت مرغ، ۵۰ نمونه تخم‌مرغ و ۲۴ نمونه گوشت چرخ‌کرده از مراکز عرضه به صورت تصادفی نمونه‌گیری و به آزمایشگاه انتقال داده شد. نمونه‌ها در محیط کشت اختصاصی CAMP غنی‌شده با خون گوسفند دفیبرینه به صورت خطی کشت داده شد. نتایج نشان داد از مجموع ۱۷۴ نمونه، ۲۱ نمونه (۱۲/۰۶ درصد) به آرکوباکتر آلوده بودند. آلودگی به آرکوباکتر بوتزلری ۲۳/۸۰ درصد و آرکوباکتر کریاروفیلوس ۴/۷۶ درصد و هیچ آلودگی از آرکوباکتر اسکیرووی یافت نشد. نتایج ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد بیشترین مقاومت مربوط به آمپی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، سیپروفلوکساسین (۹۰/۴۸ درصد) و آموکسی‌سیلین (۸۵/۵۸ درصد) و کمترین مقاومت مربوط به جنتامایسین (صفر) بود. با توجه به یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که گوشت مرغ، تخم‌مرغ و گوشت چرخ‌کرده از منابع بالقوه‌ی آلودگی به گونه‌های آرکوباکتر هستند و توصیه می‌شود از استفاده این مواد غذایی به صورت خام و یا کم‌پخت جلوگیری شود و در صورت مواجهه با عفونت‌های ناشی از آرکوباکتر استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها محدود گردد.

واژگان کلیدی: آرکوباکتر بوتزلری، آرکوباکتر کریاروفیلوس، آرکوباکتر اسکیرووی، مواد غذایی، همدان

مقدمه

دسترسی به غذای سالم و مغذی، پیش‌نیازی برای حفظ زندگی هر فرد است. با این حال، آلودگی شیمیایی و میکروبیولوژیکی مواد غذایی می‌تواند منجر به انبوهی از بیماری‌های انسانی شود که از اسهال تا سرطان را شامل می‌شود (۱). افزایش جمعیت انسان، شهرنشینی، درآمد سرانه، جهانی شدن، تغییرات در روند مصرف مواد غذایی باعث افزایش مصرف محصولات حیوانی شده است. برآوردها حاکی از آن است که مصرف این محصولات تا سال ۲۰۳۰ به ۳۷۶ میلیون تن خواهد رسید. این تقاضای بالا برای محصولات حیوانی، تولید و فرآوری فشرده محصولات حیوانی را در سطح جهانی تحریک می‌کند. این وضعیت می‌تواند منجر به شیوه‌های پردازش معیوب و افزایش خطر آلودگی توسط پاتوژن‌های مواد غذایی در هر نقطه از مزرعه تا سفره شود (۲). آلودگی حیوانات و محصولات حیوانی یک نگرانی جدی است زیرا کنترل آن دشوار است. عوامل زیادی می‌توانند در آلودگی دخیل باشند، از جمله عوامل محیطی (جانوران مرتبط، آب از منابع مختلف و دفع کود حیوانی و غیره)، و جابجایی حیوانات مرتبط با انسان (عملکردهای ذبح و فرآوری، و روش‌های نگهداری و غیره) (۳).

مرغ، یک منبع پروتئینی با کیفیت بالا است، بنابراین اغلب، پروتئین حیوانی انتخابی در کشورهای در حال توسعه است. روند دیگری که بر عرضه طیور تأثیر می‌گذارد، وعده‌های غذایی آماده مصرف (RTE) است. این شیوه مصرف رواج بیشتری پیدا می‌کند و راحت‌تر از تهیه غذا در خانه تلقی می‌شود و صنعت را مجبور می‌کند تا با پیشرفت روزافزون و پالایش فناوری مواد غذایی همگام شود. در سطح جهان، طیور از نظر مصرف گوشت دومین رتبه را دارد و پیش‌بینی می‌شود که با سرعت بیشتری نسبت به هر نوع گوشت دیگری افزایش یابد. این امر باعث می‌شود طیور منبع اصلی بیماری‌های ناشی از غذا باشد (۴). نظر به فراوانی مصرف گوشت طیور، و با تجزیه و تحلیل‌های انجام‌شده از مطالعات پیشین، ۱۱۱۴ شیوع غذائی ثبت شده در ایالات متحده از سال ۱۹۹۸ تا ۲۰۱۲، گوشت طیور

مسنول ۲۷۹ (۲۵ درصد) از شیوع‌ها بود (۵). گوشت قرمز حاوی پروتئین با ارزش بیولوژیکی بالا و ریزمغذی‌های مهمی است و حاوی طیف وسیعی از چربی‌ها، منبع عالی ویتامین B12 است که بیش از دو سوم نیاز روزانه را در ۱۰۰ گرم تأمین می‌کند و تا ۲۵ درصد ریبوفلاوین، نیاسین، ویتامین B6 و اسید پانتوتنیک نیز می‌تواند توسط ۱۰۰ گرم گوشت قرمز تأمین شود (۶).

علیرغم تأثیر بیماری‌های منتقله از غذا بر سلامت عمومی و اقتصاد، بسیاری از کشورهای در حال توسعه فاقد سیستم‌های ایمنی مواد غذایی پایدار هستند و در نظارت و کنترل آلاینده‌های مواد غذایی تأخیر دارند. از جمله مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای مشترک بین انسان و حیوانات می‌توان به *اشرشیاکلاسی*، *کمپیلوباکتر*، *سالمونلا*، *مایکوباکتریومها*، *آرکوباکتر* و *کمپیلوباکترها* اشاره کرد (۷). *آرکوباکترها*، باکتری‌های گرم منفی، متحرک و ماریچی شکل متعلق به خانواده *Campylobacteraceae* هستند. آنها کوچک ($0.5-3 \mu\text{m} \times 0.2-0.9$)، هوازی، بدون اسپور و توسط تازک‌های قطبی حرکت می‌کنند و در دمای کمتر از ۳۰ درجه سانتی‌گراد رشد می‌کنند؛ بنابراین گونه‌های *آرکوباکتر* به دلیل تفاوت در خواص ساختاری و پروفایل اسیدهای چرب، همراه با توانایی آنها برای رشد در دماهای از *کمپیلوباکترها* جدا می‌شوند (۸). در این جنس، *Arcobacter cryaerophilus* *Arcobacter butzleri* و *Arcobacter skirrowii* شایع‌ترین گونه‌های بیماری‌زا هستند و با عفونت‌های مختلف در انسان و حیوانات مرتبط هستند. سقط جنین و گاستروانتریت در انسان، انتریت و ورم پستان در حیوانات اهلی از مهم‌ترین عوارض مواجهه با *آرکوباکتر* است (۹). در بین گونه‌های *آرکوباکتر*، *A. butzleri* مهم‌ترین گونه مرتبط با بیماری انسان است که منجر به درد شکم همراه با اسهال حاد یا اسهال آبکی طولانی مدت تا دو ماه می‌شود. بیشترین شیوع در غذا برای گوشت طیور و پس از آن گوشت خوک و گاو گزارش شده است (۱۰). تا به امروز، ۲۸ گونه *آرکوباکتر* شناسایی و مشخص شده است آنها توسط کمیسیون بین‌المللی

در شهرستان همدان است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: حجم نمونه با توجه به میانگین شیوع حدود

۱۳ درصدی آرکوباکتر در گوشت و مرغ با استفاده از

فرمول زیر مجموعاً ۱۷۴ نمونه بود.

$$n = z^2 \frac{pq}{d^2}$$

$$n = (1.96)^2 \times \frac{0.13 \times 0.87}{0.05 \times 0.05} = 173.7 \approx 174$$

نمونه‌ها شامل ۱۰۰ نمونه گوشت مرغ، ۵۰ نمونه تخم‌مرغ و ۲۴ نمونه گوشت چرخ‌شده بود. نمونه‌ها به صورت تصادفی انتخاب و در کنار فلاسک یخ در شرایط استریل به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی انتقال داده شد.

جداسازی آرکوباکتر: نمونه‌ها به لوله‌های حاوی

محیط کشت پرستون (میرمدیا، ایران) منتقل و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از گذشت زمان مورد نظر در شرایط استریل به کمک لوپ استریل بر روی محیط CAMP کمپیلوباکتر غنی‌شده با خون گوسفند دفیبرینه شده که هر ویال مکمل حاوی آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند ونکوماپسین ۲ میلی‌گرم، پلی‌میکسین ۰/۰۵ میلی‌گرم، تری‌متوپریم ۱ میلی‌گرم است، کشت خطی انجام شد. سپس محیط‌های کشت در داخل انکوباتور ۲۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد. پس از یک دوره گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها جهت شناسایی آرکوباکترها مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر روی محیط کشت پایه، کلنی باکتری به شکل محدب، صاف، شفاف، بدون رنگ تا کرم به اندازه ۲-۴ میلی‌متر مشاهده شد. تمامی کلنی‌های مشکوک جهت شناسایی اولیه آرکوباکتر مورد آزمایشات میکروبی مانند رنگ‌آمیزی گرم، تست‌های کاتالاز، اکسیداز و تخمیر قند گلوکز قرار گرفتند. با مشاهده باسیل‌های خمیده در رنگ‌آمیزی گرم، متحرک بودن باکتری به روش لام مستقیم، مثبت شدن تست اکسیداز و منفی شدن تست تخمیر قند گلوکز، انجام گرفت (۱۵).

استخراج DNA پس از رشد باکتری، یک کلنی از آن

در ۱ میلی‌لیتر آب استریل حل و سانتریفیوژ شد

مشخصات میکروبیولوژیکی برای غذاها به‌عنوان باکتری که دارای مخاطرات جدی برای سلامت انسان بوده، مشخص شده‌اند که نقش *A. butzleri* در ایجاد بیماری در بین سایر سویه‌ها، پررنگ‌تر است (۱۱).

آرکوباکتر باعث عفونت‌های خود محدود شونده می‌شود که نیازی به درمان ضد میکروبی ندارد، اگرچه موارد انتریت شدید و مزمن ممکن است نیاز به استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها را داشته باشد. یک متاآنالیز اخیر نشان داد که بین ۶۹/۳ درصد ایزوله‌های جداسازی شده از انواع آرکوباکترها به ترتیب حساسیت کمتری نسبت به پنی‌سیلین‌ها، نشان داده‌اند (۱۲). در میان انواع آرکوباکترها، گونه‌های کمی با بیماری‌های حیوانی و انسانی مرتبط بوده‌اند، که در میان آنها، *Arcobacter cryaerophilus* و *Arcobacter butzleri* توسط کمیسیون بین‌المللی مشخصات میکروبیولوژیکی مواد غذایی به‌عنوان یک خطر جدی برای انسان طبقه‌بندی شده‌اند. این گونه‌ها با موارد اسهال آبکی حاد یا مزمن، دردهای شکمی، تهوع، باکتری، در انسان مرتبط بوده‌اند. با این وجود گونه‌های دیگری مانند *Arcobacter* موارد بالینی بیماری انسانی مرتبط بوده‌اند (۱۳). در مقیاس جهانی، پژوهش متاآنالیز توسط Mateus و همکاران (۲۰۲۱)، انجام گرفت که گزارش دادند هنگام ارزیابی شیوع گونه‌های مختلف شناسایی شده در گروه‌های غذایی مختلف گونه *A. butzleri* با بالاترین شیوع کلی (۱۷/۱ درصد) و پس از آن *Arcobacter bivalviorum* (۷/۸ درصد)، *A. cryaerophilus* (۷/۴ درصد)، به ترتیب فراوان‌ترین و کمترین میزان آلودگی را داشتند (۱۳). در ایران، نجفی گوجانی و همکاران (۲۰۲۱)، روی گوشت طیور آلودگی به آرکوباکتر ۳۹/۰۹ درصدی را گزارش دادند (۱۴) که نشان‌دهنده وجود آلودگی بالا به آرکوباکتر در ایران است. با توجه به شیوع جهانی و افزایش مقاومت ضد میکروبی این باکتری، هدف از این پژوهش بررسی میزان شیوع و الگوی مقاومت ضد میکروبی گونه‌های آرکوباکتر در مواد غذایی شامل گوشت مرغ، تخم‌مرغ و گوشت چرخ‌کرده عرضه شده

مسترمیکس PCR، ۱ میکرولیتر DNA الگو، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت اشاره شده در جدول ۱ به همراه ۷ میکرولیتر آب برای به حجم رساندن واکنش بود. شرایط دمایی PCR شامل یک سیکل دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه؛ ۳۵ سیکل دناتوراسیون ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمر ۶۰-۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، طویل‌سازی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه؛ یک سیکل طویل‌سازی نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه بود. در مرحله آخر محصول PCR توسط اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شد و در ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شد (شکل ۱)، سپس با استفاده از اشعه UV مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۶).

(۱۳۰۰۰ rpm). سپس DNA با استفاده از کیت استخراج DNA ژنومی (Qiagen, Courtaboeuf, فرانسه) طبق دستورالعمل سازنده استخراج گردید. خلوص و غلظت DNA با استفاده از نانودراپ (Thermo Fisher Scientific, Illkirch, فرانسه) در طول موج ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر برآورد شد. DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره و به‌عنوان الگو برای PCR استفاده شد.

شناسایی مولکولی توسط واکنش PCR مواد نهایی لازم برای واکنش PCR هر نمونه شامل پرایمر رفت و پرایمر برگشت، DNA الگو، DNA پلیمرز Taq، MgCl₂ و dNTP Mix و آب عاری از نوکلئاز بود. (DNA پلیمرز Taq، MgCl₂ و dNTP Mix با غلظت‌های بهینه در مسترمیکس شرکت آمپلیکون آلمان وجود دارند). حجم نهایی واکنش برای هر نمونه ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۰ میکرولیتر

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی گونه‌های مختلف آرکوباکتر در واکنش PCR

منبع	TM (°C)	اندازه محصول (bp)	توالی پرایمر	ژن هدف
(۱۷)	60	83	5'-AGTTGTTGTGAGGCTCCAC-3' 5'-GCAGACACTAATCTATCTCTAAATCA-3'	<i>A. butzleri</i> <i>16srRNA</i>
(۱۸)	58	203	5'-AGTTGTTGTGAGGCTCCAC-3' 5'-GCAGACACTAATCTATCTCTAAATCA-3'	<i>A. cryaerophilus</i>
	59	290	5'-CAGCAGCCGCGTAATA-3' 5'-TGGACTACCAGGGTATCTAAT-3'	<i>A. skirrowii</i>

بودند، به دقت بر روی سطح محیط کشت قرار داده شدند (۱۹).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های حاصل از آزمایش‌های انجام شده در نرم‌افزار Microsoft Office Excel گردآوری شده و توسط نرم‌افزار SPSS آنالیز شدند. روش آماری تجزیه و تحلیل داده‌ها، آزمون مربع‌کای و تست دقیق فیشر بود.

نتایج

نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد میزان شیوع آلودگی به آرکوباکتر در گوشت مرغ، تخم‌مرغ و گوشت چرخ‌شده از مجموع ۱۷۴ نمونه، ۲۱ نمونه (۱۲/۰۶ درصد) بود. نتایج نشان داد بیشترین و کمترین میزان

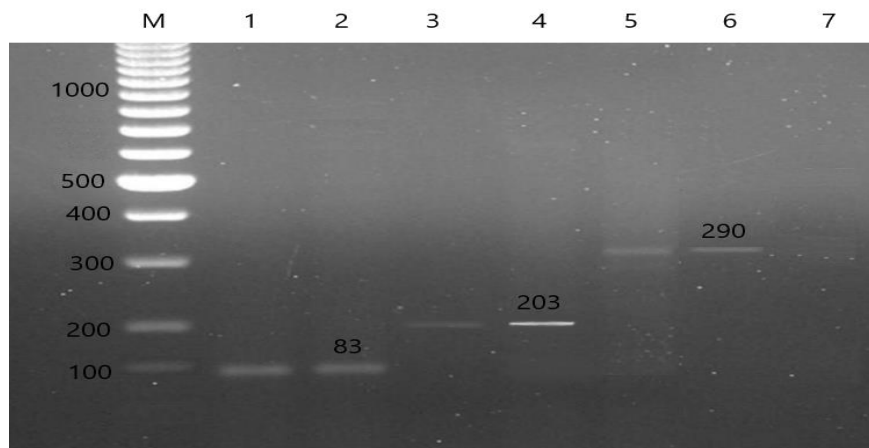
بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی: برای ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تست آنتی‌بیوگرام با استفاده از روش استاندارد Disk Diffusion (انتشار دیسک) انجام شد. ابتدا، یک سوسپانسیون میکروبی از جدایه‌های آرکوباکتر تهیه شد. تراکم باکتری‌ها در سوسپانسیون با استاندارد McFarland 0.5 تنظیم شد تا تراکم یکنواختی از باکتری‌ها به‌دست آمد. سپس، سطح پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر-هینتون آگار (Italy, Liofilchem) به‌طور یکنواخت با سوسپانسیون باکتری پوشش داده شد. پس از آماده‌سازی سطح پلیت، دیسک‌های آنتی‌بیوگرام که شامل آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، اریترومایسین، جنتامایسین، آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین و تتراسایکلین

آلودگی به ترتیب مربوط به گوشت مرغ ۱۳ نمونه (۷/۴۷ درصد)، گوشت چرخ شده ۵ نمونه (۲/۸۷ درصد) و تخم مرغ ۳ نمونه (۱/۷۲ درصد) بود. نتایج PCR نشان داد از ۲۱ نمونه مواد غذایی آلوده به آرکوباکتر ۵ نمونه (۲۳/۸۰ درصد) مربوط به آرکوباکتر بوتزلری، ۱ نمونه (۴/۷۶ درصد) مربوط به آرکوباکتر کریاروفیلوس بود. در بین نمونه‌ها آلودگی به آرکوباکتر اسکیرووی یافت نشد. (جدول ۲ و نمودار ۱).

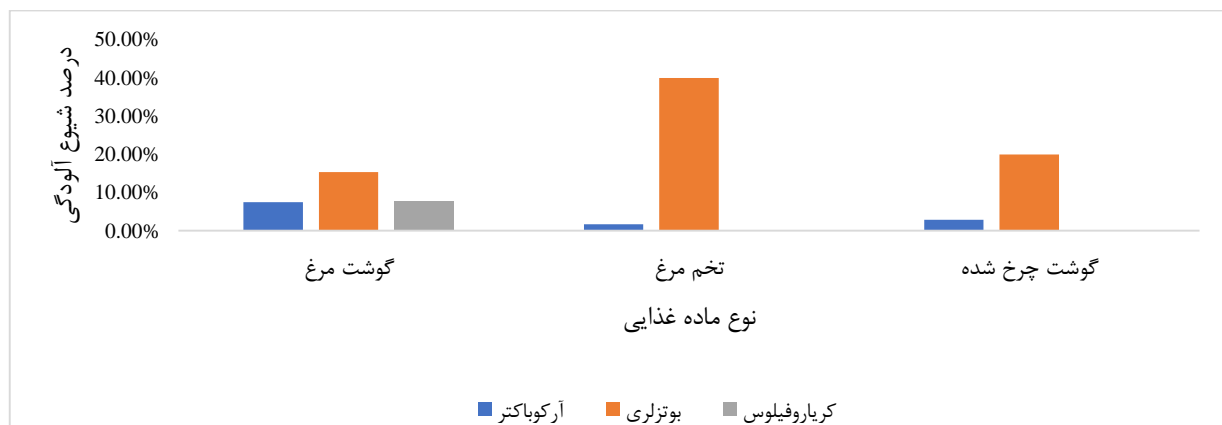
جدول ۲- شیوع آلودگی به انواع آرکوباکتر در گوشت مرغ، تخم مرغ و گوشت چرخ شده عرضه شده در شهرستان همدان

ماده غذایی	تعداد نمونه	<i>Arcobacter spp.</i>	<i>A. butzleri</i>	<i>A. cryaerophilus</i>	<i>A. skirrowii</i>
گوشت مرغ	۱۰۰	۱۳ نمونه (۷/۴۷ درصد) ^a	۲ نمونه (۱۵/۳۸ درصد)	۱ نمونه (۷/۶۹ درصد)	-
تخم مرغ	۵۰	۳ نمونه (۱/۷۲ درصد) ^{ab}	۲ (۴۰ درصد)	-	-
گوشت چرخ شده	۲۴	۵ نمونه (۲/۸۷ درصد) ^{ab}	۱ نمونه (۲۰ درصد)	-	-
مجموع	۱۷۴ نمونه	۲۱ نمونه (۱۲/۰۶ درصد)	۵ نمونه (۲۳/۸۰)	۱ نمونه (۴/۷۶ درصد)	-

در هر سطر، اعداد برجسته با حروف انگلیسی متفاوت، با $Pvalue < 0/01$ با هم تفاوت معنی‌دار آماری دارند.



شکل ۱- تصویر الکتروفورز محصول PCR. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک ۱-۲: ژن *A. butzleri 16srRNA* با اندازه ۸۳ جفت باز، چاهک ۳-۴: ژن *A. cryaerophilus* با اندازه ۲۰۳ جفت باز، چاهک ۵-۶: ژن *A. skirrowii* با اندازه ۲۹۰ جفت باز، چاهک ۷: کنترل منفی



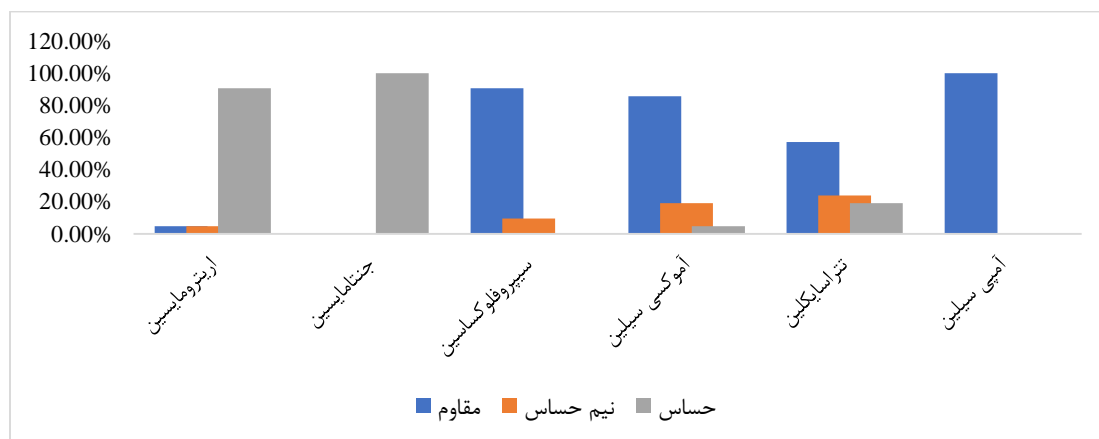
نمودار ۱- شیوع آلودگی به انواع آرکوباکتر در گوشت مرغ، تخم مرغ و گوشت چرخ شده عرضه شده در شهرستان همدان

نتایج ارزیابی آنتی‌بیوتیکی نشان داد بیشترین مقاومت علیه آرکوباکتر، مربوط به آمپی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، سیپروفلوکساسین (۹۰/۴۸ درصد) و آموکسی‌سیلین (صفر) بود. همچنین کمترین میزان مقاومت مربوط به اریترومایسین (۴/۷۶ درصد) و جنتامایسین (صفر) بود.

نتایج ارزیابی آنتی‌بیوتیکی نشان داد بیشترین مقاومت علیه آرکوباکتر، مربوط به آمپی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، سیپروفلوکساسین (۹۰/۴۸ درصد) و آموکسی‌سیلین (صفر) بود. همچنین کمترین میزان مقاومت مربوط به اریترومایسین (۴/۷۶ درصد) و جنتامایسین (صفر) بود.

جدول ۳- وضعیت تعداد گونه‌های آرکوباکتر نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف (درصد)

وضعیت تعداد جدایه‌های آرکوباکتر نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف (درصد)	آنتی‌بیوتیک	حساس	نیمه‌حساس	مقاوم
۱۹ (۹۰/۴۸)	اریترومایسین (ER)	۰	۱ (۴/۷۶)	۱ (۴/۷۶)
۲۱ (۱۰۰)	جنتامایسین (GM)	۰	۰	۰
۰	سیپروفلوکساسین (CIP)	۰	۲ (۹/۵۲)	۱۹ (۹۰/۴۸)
۱ (۴/۷۶)	آموکسی‌سیلین (AM)	۰	۴ (۱۹/۰۴)	۱۶ (۸۵/۵۸)
۴ (۱۹/۰۴)	تتراسایکلین (TE)	۰	۵ (۲۳/۸۰)	۱۲ (۵۷/۱۶)
۰	آمپی‌سیلین (AMP)	۰	۰	۲۱ (۱۰۰)



نمودار ۲- وضعیت مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های آرکوباکتر

منتشر شده در مورد پاتوژن و پیوند محیط غذا شده است (۱۳). اما با این حال، تجزیه و تحلیل‌های بسیار کمی روی آلودگی مواد غذایی در ایران به آرکوباکتر انجام شده است. این مطالعه با تمرکز بر روی نمونه‌های گوشت مرغ، تخم‌مرغ و گوشت چرخ‌شده نشان داد که میزان آلودگی از مجموع ۱۷۴ نمونه، ۲۱ نمونه (۱۲/۰۶ درصد) بود. در همین راستا در پژوهشی نوربخش و رحیمی (۲۰۲۳) گزارش دادند که از مجموع ۹۶ نمونه گوشت مرغ، بوقلمون، غاز و شترمرغ، ۱۱ نمونه (۱۱/۴۵ درصد) به آرکوباکتر بوتزلی آلوده بودند

بحث و نتیجه‌گیری

گونه‌های آرکوباکتر در همه جا در محیط و در حیوانات وجود دارند و دارای طیف وسیعی از میزبان‌ها و زیستگاه‌ها هستند. آنها در منابع مختلف آب مانند فاضلاب، دریاچه‌ها، رودخانه‌ها، آب آشامیدنی، آب خانگی و دریایی، زیرزمینی و حتی لوله‌های انتقال آب شناسایی شده‌اند. نشان داده شده است که یک پاتوژن روده‌ای بسیار مهم است که توجه بسیاری از محققان در سراسر جهان را به خود جلب کرده است. این امر منجر به افزایش تعداد مقالات تحقیقاتی

(۲۰)، YEŞİLMEN و همکاران (۲۰۲۲)، بر روی آلودگی گوشت‌های عرضه شده در شهر دیاربکر گزارش دادند از مجموع ۲۵ نمونه گوشت مرغ؛ ۵۱/۳۳ درصد به آرکوباکتر بوتزلیری آلودگی داشتند (۲۱). پژوهشی توسط نجفی و همکاران (۲۰۱۸) با هدف بررسی شیوع و مقاومت ضد میکروبی گونه‌های آرکوباکتر در گوشت پرندگان عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد گزارش دادند که آلودگی به آرکوباکتر در ۳۹/۰۹ درصد از آنها وجود داشت (۱۴). در تحقیقی توسط Yuan و همکاران (۲۰۲۱)، بر روی شیوع آرکوباکتر در گوشت مرغ گزارش دادند که از مجموع ۶۰ نمونه ۱۶ نمونه (۲۷ درصد) به آرکوباکتر آلودگی داشتند (۲۲). در مطالعه‌ای که توسط Vidal و همکاران (۲۰۲۱)، در شیلی بر روی آلودگی گوشت مرغ به آرکوباکتر انجام شد دریافتند که ۴۱/۶ درصد نمونه‌ها به آرکوباکتر آلوده بودند (۲۳). مطالعه‌ای توسط نیوا و همکاران (۲۰۱۳) که در اسپانیا با هدف بررسی شیوع آرکوباکتر انجام گرفت نشان داد که آلودگی به گوشت مرغ نمونه‌های مرغ ۴۲/۸ درصد بود (۲۴) که تمامی پژوهش‌های یاده شده، فراتر از آلودگی نمونه‌های حاضر بود. آلودگی به آرکوباکتر بوتزلیری در پژوهش حاضر نیز ۲۳/۸۰ درصد بود.

Kumar و همکاران (۲۰۲۳) روی آلودگی به آرکوباکتر در منابع حیوانی مختلف گزارش دادند از مجموع ۲۴۰ نمونه، ۳۱ (۱۲/۹۱ درصد) ایزوله دارای آلودگی بودند (۲۵)، پورعباس‌قلی و همکاران (۲۰۲۲) در پژوهشی روی جداسازی، شناسایی و تعیین حساسیت ضد میکروبی آرکوباکتر بوتزلیری جدا شده از لاشه مرغ در کشتارگاه‌های شهرستان تنکابن گزارش دادند ۳۶ نمونه از مجموع ۲۹۷ نمونه به آرکوباکتر بوتزلیری آلوده بودند. نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد پنی‌سیلین، اگزاسیلین و آمپی‌سیلین ۱۰۰ مقاومت و آمیکاسین با ۸۶ درصد کمترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی را داشتند (۲۶)، در مطالعه‌ای Jribi و همکاران (۲۰۲۰)، در تونس بر روی شیوع آرکوباکتر در گوشت پرندگان گزارش دادند که از مجموع ۲۵۰ نمونه، ۱۰/۴ درصد از نمونه‌ها به آرکوباکتر آلوده بودند (۱۹).

رحیمی (۲۰۱۴) در پژوهشی با هدف تعیین شیوع و مقاومت ضد میکروبی گونه‌های *Arcobacter* جدا شده از گونه‌های مختلف گوشت مرغ خرده‌فروشی در ایران گزارش داد که ۷۱ نمونه از گوشت طیور (۱۳/۱ درصد) برای گونه‌های آرکوباکتر آلوده بودند (۲۷)، Aski و همکاران (۲۰۱۶)، در پژوهشی مطابق با مطالعه حاضر، گزارش دادند بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیک مربوط به آمپی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، سیپروفلوکساسین (۹۰/۴۸ درصد) و آموکسی‌سیلین (۸۵/۵۸ درصد) بود که هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر هستند.

در کشتارگاه‌ها، آرکوباکترها به‌طور مکرر از منابع مختلف گزارش شده‌اند و ماندگاری آنها حتی پس از پیگیری مراحل ضد عفونی نیز ثبت شده است، بنابراین کشتارگاه‌ها به‌عنوان منبع بالقوه انتشار عمل می‌کنند. بنابراین، آلودگی نمونه‌های غذا و تغییر روند در عادات غذایی انسان منجر به افزایش عفونت‌های این پاتوژن منتقله از غذا در جامعه انسانی می‌شود (۲۸).

Kandeil و همکاران (۲۰۲۳) در پژوهشی روی آلودگی به آرکوباکتر گزارش دادند که در مجموع ۱۰۰ نمونه تصادفی خرده فروشی گوشت گاو و گوسفند تازه (۵۰ نمونه از هر کدام) از قصابی‌های مختلف در شهر بنها، در مصر آلودگی به آرکوباکتر بوتزلیری در ۳ نمونه (۶ درصد) از نمونه‌های گوشت چرخ‌شده گاو و ۴ نمونه (۸ درصد) از نمونه‌های گوشت گوسفند جداسازی شد (۲۹). Aydin و همکاران (۲۰۲۰) با هدف جداسازی گونه‌های آرکوباکتر و گونه‌های کمپیلوباکتر از نمونه‌های گوشت گاو شامل لاشه گاو، گوشت خردشده و گوشت چرخ‌کرده و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی گزارش دادند از ۱۰۰ نمونه از سطح لاشه گاو از کشتارگاه‌ها و ۱۰۰ نمونه گوشت گاو (۵۰ نمونه گوشت خردشده و ۵۰ نمونه گوشت چرخ‌کرده) ۱۷ نمونه (۸/۵ درصد) و ۴۳ نمونه (۲۱/۵ درصد) به ترتیب از نظر گونه‌های آرکوباکتر و کمپیلوباکتر مثبت بودند. همچنین بیشترین مقاومت مربوط به نئومایسین (۸۵ درصد) بود (۳۰). که کمتر از نتایج مطالعه حاضر است. در این مطالعه، آلودگی

و دقت نتایج به دست آمده، به طور فزاینده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. الگوهای مقاومت ضد میکروبی گونه‌های *آرکوباکتر*، نگرانی قابل توجهی را نشان می‌دهند، به ویژه با سطوح بالای مقاومت به سیپروفلوکساسین و آمپی‌سیلین این نگرانی روند افزایشی به خود می‌گیرد. یافته‌های این مطالعه بر افزایش نگران‌کننده مقاومت ضد میکروبی در *آرکوباکتر*، به ویژه ظهور مقاومت به نسل‌های جدیدتر آنتی‌بیوتیک‌ها که قبلاً مؤثر بودند، تأکید می‌کند. این تکامل سریع، نیاز حیاتی به نظارت مستمر و استراتژی‌های نظارت ضد میکروبی هدفمندتر برای مبارزه با تهدید رو به رشد ناشی از *آرکوباکتر* و سایر پاتوژن‌های نوظهور را برجسته می‌کند. عدم توجه به این روند می‌تواند گزینه‌های درمانی آینده را محدود کند و چالش بهداشت عمومی ناشی از این باکتری‌ها را تشدید کند. استفاده از مواد غذایی خام و کم‌پخته گام مؤثری برای کاهش آلودگی به *آرکوباکتر* است. توصیه می‌شود در صورت رخداد عفونت و پیدایش علائم مواجهه با *آرکوباکتر* استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به حداقل برسد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از کلیه همکاران گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که نهایت همکاری را در انجام این پروژه داشتند تشکر به عمل می‌آید.

References

1- Alum EA, Urom S, Ben CMA. Microbiological contamination of food: the mechanisms, impacts and prevention. *Int J Sci Tech Res*. 2016; 5(3): 65-78.

2- Authority E. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks. *Efsa J*. 2021; 19(2): 46-53.

3- Dhama K, Rajagunalan S, Chakraborty S, Verma A, Kumar A, Tiwari R, et al. Food-borne pathogens of animal origin-diagnosis, prevention, control and their zoonotic significance: a review. *Paki J biolog scie*. 2013;16(20): 1076-85.

به *آرکوباکتر بوتولری* در گوشت چرخ‌شده ۲۰ درصد بود. پژوهش حاضر نشان داد بیشترین و کمترین آلودگی به *آرکوباکتر* مربوط به گوشت مرغ، گوشت چرخ‌کرده و تخم‌مرغ بود، بنابراین شیوع *آرکوباکتر* و سویه‌های آن در مواد غذایی می‌تواند تهدید جدی برای سلامت انسان باشد و همچنین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، درمان را دشوار می‌سازد. میزان فراوانی باکتری در نمونه‌های گوشت طیور بررسی شده ممکن است به دلیل حضور اولیه باکتری در طیور مورد مطالعه، وقوع آلودگی متقاطع طی مراحل مختلف کشتار، انتقال باکتری از کارکنان و کارگران آلوده به لاشه طیور باشد. همچنین افزایش مقاومت ضد میکروبی در میان *آرکوباکترها* در برابر ضد میکروبی‌های رایجی که استفاده می‌شود، از منظر بهداشت عمومی نگران‌کننده است. افزایش سناریوی مقاوم به دارو، توجه محققان را به سمت یافتن گزینه‌های درمانی جدید و جایگزین برای پیشگیری و کنترل *آرکوباکترها* به روشی مؤثر می‌طلبد که از نظر بهداشت عمومی و دیدگاه ایمنی مواد غذایی نیز مفید باشد. میزان شیوع *آرکوباکتر* گزارش شده در منابع مختلف به دلیل عواملی مانند حجم نمونه، تنوع جغرافیایی و فصلی، پروتکل‌های بهداشتی و کارخانجات فرآوری مواد غذایی، جمعیت بیماران و حساسیت و ویژگی روش‌های تشخیص می‌تواند به طور گسترده‌ای متفاوت باشد. امروزه روش‌های مبتنی بر PCR و نسخه‌های وابسته به آنها به دلیل سرعت

4- Wessels K, Rip D, Gouws P. Salmonella in chicken meat: Consumption, outbreaks, characteristics, current control methods and the potential of bacteriophage use. *Foods*. 2021; 10(8): 17-25.

5- Heredia N, García S. Animals as sources of food-borne pathogens: A review. *Ani nut*. 2018; 4(3): 250-255.

6- Williams P. Nutritional composition of red meat. *Nut Diet*. 2007; 64(2): 113-119.

7- Grace D. Food safety in low and middle income countries. *Int J env res pub health*. 2015; 12(9): 10490-507.

- 8- Çelik E, Oflu S. Isolation of Arcobacter spp. and identification of isolates by multiplex PCR from various domestic poultry and wild avian species. *Annals Mic.* 2020; 70(1): 1-7.
- 9- Vanden AM, Vogelaers D, Van Hende J, Houf K. Prevalence of Arcobacter species among humans, Belgium, 2008–2013. *Emerg Infect Dis.* 2014; 20(10): 1731-1382.
- 10- Lehmann D, Alter T, Lehmann L, Uherkova S, Seidler T, Gözl G. Prevalence, virulence gene distribution and genetic diversity of Arcobacter in food samples in Germany. *Ber Mün Tierwch.* 2015; 128(4): 163-168.
- 11- Kim NH, Park SM, Kim HW, Cho TJ, Kim SH, Choi C, et al. Prevalence of pathogenic Arcobacter species in South Korea: Comparison of two protocols for isolating the bacteria from foods and examination of nine putative virulence genes. *Food mic.* 2019; 78(1): 18-24.
- 12- Ferreira S, Luis A, Oleastro M, Pereira L, Domingues FC. A meta-analytic perspective on Arcobacter spp. antibiotic resistance. *J Antimicrob Res.* 2019; 16(5): 130-139.
- 13- Mateus C, Martins R, Luis A, Oleastro M, Domingues F, Pereira L, et al. Prevalence of Arcobacter: from farm to retail—a systematic review and meta-analysis. *Food Cntrl.* 2021; 128(42): 1081-1097.
- 14- Najafi R, Rahimi E, Shakerian A. Prevalence and antibiotic resistance of meat of various birds infected with Arcobacter in sales centers of Isfahan province in four seasons of 2018. *J Food Mic.* 2022; 9(2): 1-11.
- 15- Uljanovas D, Gözl G, Brückner V, Grineviciene A, Tamuleviciene E, Alter T, et al. Prevalence, antimicrobial susceptibility and virulence gene profiles of Arcobacter species isolated from human stool samples, foods of animal origin, ready-to-eat salad mixes and environmental water. *Gut Path.* 2021; 13(1): 1-16.
- 16- Jribi H, Sellami H, Hassena AB, Gdoura R. Prevalence of putative virulence genes in Campylobacter and Arcobacter species isolated from poultry and poultry by-products in Tunisia. *J food protec.* 2017; 80(10): 1705-1710.
- 17- Pentimalli D, Pegels N, Garcia T, Martin R, Gonzalez I. Specific PCR detection of Arcobacter butzleri, Arcobacter cryaerophilus, Arcobacter skirrowii, and Arcobacter cibarius in chicken meat. *J food prote.* 2009; 72(7): 1491-1495.
- 18- González I, Fernández-Tomé S, García T, Martín R. Genus-specific PCR assay for screening Arcobacter spp. in chicken meat. *J Sci Food Agri.* 2014; 94(6): 1218-1224.
- 19- Jribi H, Sellami H, Amor SB, Ducournau A, Sifré E, Benejat L, et al. Occurrence and antibiotic resistance of Arcobacter species isolates from poultry in Tunisia. *J food protec.* 2020; 83(12): 2080-2086.
- 20- Nourbakhsh SA, Rahimi E. The occurrence of some foodborne pathogens recovered from poultry meat in Shahrekord, Iran. *J Adv Vete Animal Res.* 2023; 10(2): 205-212.
- 21- Ywslimen S, Vural A, Erkan ME, Yildirim İH, Guran HŞ. Prevalence and Antibiotic Resistance of Arcobacter spp. Isolates from Meats, Meat Products, and Giblets. *Acta Vet Eur.* 2022; 48(2): 24-30.
- 22- Wang YY, Zhou GL, Li Y, Gu YX, He M, Zhang S, et al. Genetic characteristics and antimicrobial susceptibility of Arcobacter butzleri isolates from raw chicken meat and patients with diarrhea in China. *Biomed Env Sci.* 2021; 34(21): 1024-1028.
- 23- Vidal-Veuthey B, Jara R, Santander K, Mella A, Ruiz S, Collado L. Antimicrobial resistance and virulence genes profiles of Arcobacter butzleri strains isolated from backyard chickens and retail poultry meat in Chile. *Lett App Mic.* 2021; 72(2): 126-312.
- 24- Echevarria B, Malaxetxebarria I, Girbau C, Alonso R, Astorga A. Prevalence and genetic diversity of Arcobacter in food products in the north of Spain. *J food protec.* 2013; 76(8): 1447-1455.
- 25- Kumar DP, Rao LV, Babu AJ, Kumar AV, Shirisha A. Isolation and Characterization of Arcobacter from Foods of Animal Origin and Environmental Samples. *Indian J Vet Pub Health.* 2023; 20(5): 180-189.
- 26- Pourabbasgholi Z, Kaboosi H, Ghane M, Khosbakht R, Ghiyamirad M. Isolation, Identification and Determination of Antimicrobial Susceptibility of Arcobacter Butzleri Isolated from Chicken Carcass in Tonekabon. *Res Food Sci Tech.* 2022; 11(1): 83-94.
- 27- Rahimi E. Prevalence and antimicrobial resistance of Arcobacter species isolated from poultry meat in Iran. *Brit poultry sci.* 2014; 55(2): 174-180.
- 28- Ramees TP, Dhama K, Karthik K, Rathore RS, Kumar A, Saminathan M, et al. Arcobacter: an emerging food-borne zoonotic pathogen, its public health concerns and advances in diagnosis and control—a comprehensive review. *Vet*

quar. 2017; 37(1): 136-161.

29- Kandeil N. Predictive assessment of Arcobacter butzleri in retail beef and mutton meat. *Benha Vet Med J.* 2023; 43(2): 104-108.

30- Aydın F, Yağiz A, Abay S, Müştak HK,

Diker KS. Prevalence of Arcobacter and Campylobacter in beef meat samples and characterization of the recovered isolates. *J Cons Protec Food Safe.* 2020; 15(1): 15-25.




Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Arcobacter* strains in chicken meat, eggs and minced meat supplied in Hamedan County by PCR method

Morteza Torkaman¹, Seyed majid hashemi^{2*}

1- Graduated in food hygiene, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2- Research Center of Nutrition and Organic Products (R.C.N.O.P), Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Receive: November 28, 2024; Revise: January 08, 2025; Accept: January 09, 2025

 10.22034/nfvm.2025.487834.1266

Summary

The genus *Arcobacter* is responsible for gastrointestinal diseases including gastroenteritis and miscarriage in humans. *Arcobacter botzleri*, *Arcobacter criarophilus*, and *Arcobacter skirrowii* are among its most important strains, and their antimicrobial resistance is currently a challenge. The aim of the present study was to determine the prevalence and antimicrobial resistance pattern of *Arcobacterium* isolated from various foods, including chicken, eggs, and minced meat, in Hamedan county. In this study, 174 samples including 100 chicken meat samples, 50 egg samples and 24 minced meat samples were randomly sampled from supply centers and transferred to the laboratory. The samples were linearly cultured in CAMP specific culture medium enriched with defibrinated sheep blood. The results showed that out of a total of 174 samples, 21 samples (12.06%) were contaminated with *Arcobacters*. The contamination with *Arcobacterium botzleri* was 23.80% and *Arcobacterium criarophilus* was 4.76%, and no contamination with *Arcobacterium skirrowii* was found. The results of antibiotic resistance assessment showed that the highest resistance was to ampicillin (100%), ciprofloxacin (90.48%), and amoxicillin (85.58%), and the lowest resistance was to gentamicin (zero). According to the findings, it can be concluded that chicken, eggs, and ground meat are potential sources of contamination with *Arcobacter* species, and it is recommended to avoid using these foods raw or undercooked, and to limit the use of antibiotics in case of exposure to *Arcobacter* infections.

Keywords: *Arcobacter botzleri*, *Arcobacter criarophilus*, *Arcobacter skirrowii*, food, Hamedan



بررسی شیوع سودوموناس در تخم و گوشت پرندگان عرضه شده در شهرستان تهران و مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها

سجاد عباسی^۱، ابراهیم رحیمی^{*}، نوشا ضیاء جهرمی^۲

۱- دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۳- استادیار، گروه زیست شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

دریافت مقاله: ۲۹ دی ۱۴۰۳، بازنگری: ۲۵ اسفند ۱۴۰۳، پذیرش نهایی: ۲۶ اسفند ۱۴۰۳



10.22034/nfvm.2025.499628.1273

چکیده

گونه‌های سودوموناس از جمله میکروارگانیسم‌های غالب در بسیاری از مواد غذایی خام و فرآوری شده است. برخی گونه‌های آن عامل عفونت‌های فرصت طلب انسانی هستند و مقاومت آنتی بیوتیکی بالای برخی جدایه‌های سودوموناس، نگرانی‌هایی را در حوزه سلامت عمومی ایجاد کرده است. هدف از این پژوهش، بررسی شیوع سودوموناس در تخم و گوشت پرندگان عرضه شده در شهرستان تهران و مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌ها است. ابتدا ۲۵۰ نمونه (۱۵۰ نمونه تخم طیور و ۱۰۰ نمونه گوشت طیور) به صورت تصادفی از مراکز عرضه در شهرستان تهران جمع‌آوری و جهت بررسی میزان آلودگی به آزمایشگاه منتقل شد. روش آماری تجزیه و تحلیل داده‌ها، آزمون مربع کای و تست دقیق فیشر بود. نتایج نشان داد، از مجموع ۲۵۰ نمونه، ۳۰ نمونه (۱۲ درصد) به سودوموناس آلوده بودند. از ۱۰۰ نمونه گوشت طیور، ۱۷ نمونه (۱۷ درصد) گوشت مرغ، ۴ نمونه (۴ درصد) گوشت بوقلمون، ۲ نمونه (۲ درصد) گوشت شترمرغ و گوشت بلدرچین ۱ نمونه (۱ درصد) به سودوموناس آلوده بود. از مجموع ۱۵۰ نمونه تخم پرندگان، ۳ درصد مربوط به تخم مرغ و تخم بوقلمون بود. ارزیابی‌ها نشان داد، بین میزان آلودگی به گوشت و تخم طیور ارتباط آماری معنی داری وجود ندارد ($p > 0/05$). نتایج ارزیابی آنتی بیوگرام نشان داد، بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی برای تتراسایکلین (۱۰۰ درصد) و آمپی سیلین (۹۳/۳۳ درصد) بود. نتایج این مطالعه نشان داد که گوشت و تخم طیور می‌توانند منبع بالقوه‌ای برای آلودگی به سودوموناس باشند. بنابراین، رعایت بهداشت در مراحل تولید، نگهداری و مصرف، به ویژه پرهیز از مصرف مواد پروتئینی خام، می‌تواند خطرات مرتبط با این باکتری را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: سودوموناس، گوشت طیور، تخم طیور، مقاومت آنتی بیوتیکی

مقدمه

بر اساس تعریف سازمان بهداشت جهانی (WHO)، بیماری‌های مشترک بین انسان و دام (Zoonoses) به آن دسته از بیماری‌هایی اطلاق می‌شود که به‌طور طبیعی از حیوان به انسان یا بالعکس منتقل می‌شوند. این بیماری‌ها می‌توانند عفونی یا غیرعفونی باشند و سالانه موجب میلیاردها مورد بیماری و میلیون‌ها مرگ در سراسر جهان می‌شوند و بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، سالانه حدود ۲/۴ میلیارد مورد بیماری و ۲/۷ میلیون مرگ ناشی از بیماری‌های زئونوتیک گزارش شده است که بیشترین تأثیر منفی را بر سلامت عمومی و تولیدات دامی در کشورهای کم‌درآمد دارد (۱) که در میان آنها، *Pseudomonas aeruginosa* یکی از مهم‌ترین گونه‌های بیماری‌زای این جنس است که به‌عنوان یک پاتوژن فرصت‌طلب، می‌تواند در بیماران دارای نقص ایمنی عفونت‌های شدید ایجاد کند.

سودوموناس از میکروارگانیسم‌های گرم منفی است، که اغلب در خاک، آب و محیط‌های مرطوب وجود دارد. این باکتری می‌تواند زیستگاه‌های آبی، حیوانات و گیاهان را آلوده کند و به‌عنوان یک میکروارگانیسم فرصت‌طلب در گونه‌های مختلف پرندگان در نظر گرفته می‌شود؛ این باکتری دارای دامنه دمایی رشد گسترده‌ای از ۴ تا ۴۲ درجه سانتی‌گراد است، اما دمای بهینه برای رشد آن در محدوده ۲۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار دارد؛ تحت عوامل استرس‌زا، مانند سرکوب سیستم ایمنی، این میکروارگانیسم بیماری‌زا می‌شود و آلودگی در پرندگان با سپتی‌سمی، علائم تنفسی، اسهال و مرگ‌ومیر همراه است و در صنعت طیور خسارات اقتصادی جدی به همراه دارد. عامل بیماری‌زا با مرگ‌ومیر بالا در جوجه‌های جوان همراه است (۱، ۲).

در کارخانه‌های فرآوری گوشت طیور، سودوموناس یکی از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های فاسدکننده بر روی لاشه مرغ است (۳، ۴). گونه‌های سودوموناس از منابع اصلی آلودگی در مراکز عرضه گوشت و تخم طیور هستند. برای

انسان آلودگی با گونه‌های سودوموناس باعث عفونت شدید ریوی و فیبروز سیستیک ریه به‌ویژه در افراد دچار سرکوب سیستم ایمنی می‌شود (۵). در همین راستا نتایج جستجوها نشان داد، تا به حال متاآنالیزی روی میزان آلودگی سودوموناس در گوشت و تخم طیور در ایران و سایر نقاط جهان انجام نشده است، با این حال، مطالعه‌ی پیشین ما در شهرستان تهران، نشان داد میزان آلودگی به سودوموناس در گوشت طیور ۲۵/۷۵ درصد بود، که بیشترین میزان آلودگی مربوط به گوشت مرغ بود (۶).

به‌دلیل استفاده نادرست از آنتی‌بیوتیک‌ها در سیستم تولید مواد غذایی با منشأ حیوانی، افزایش جهانی و گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایجاد شده است (۷، ۸). مشخص شده است که زنجیره غذایی یک مخزن مهم از گونه‌های سودوموناس مقاوم به آنتی‌بیوتیک است و متأسفانه میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در گونه‌های سودوموناس در زنجیره غذایی در سراسر جهان افزایش یافته است (۹، ۱۰). در همین راستا در پژوهشی که توسط Eraky و همکاران (۲۰۲۰) انجام گرفت، مشخص شد که جدایه‌های سودوموناس ۱۰۰ درصد به سیپروفلوکساسین، فلوکساسین و جنتامایسین حساس بودند اما در برابر آموکسی‌سیلین/اسید کلادولانیک، داکسی‌سیکلین و اریترومایسین ۱۰۰ درصد مقاوم بودند (۱۱)، بر این اساس، کشتارگاه‌ها، مرغداری‌ها و مراکز عرضه این محصولات به‌عنوان زمینه‌هایی برای تکامل و گسترش سودوموناس مقاوم به آنتی‌بیوتیک در محیط غیر بیمارستانی در نظر گرفته می‌شوند؛ لذا تمرکز این پژوهش روی جداسازی سودوموناس از گوشت و تخم طیور نمونه‌گیری شده در شهرستان تهران و ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: در این مطالعه، ۲۵۰ نمونه (۱۵۰ نمونه تخم طیور شامل ۵۰ نمونه تخم مرغ، ۵۰ نمونه تخم بوقلمون، ۳۰ نمونه تخم بلدرچین و ۲۰ نمونه تخم اردک)

بررسی شیوع سودوموناس در تخم و گوشت پرندگان عرضه‌شده در شهرستان تهران ...

آگار (Italy, Liofilchem) به‌طور یکنواخت با سوسپانسیون باکتری کشت داد شد. سپس، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک از جمله آمپی‌سیلین (AM)، پنی‌سیلین (PEN)، جنتامایسین (GM)، سولفامتازول (SXT)، آموکسی‌کلاو (AMC)، تتراسایکلین (TE)، سفازولین (SE) و کلیندامایسین (CL) روی محیط کشت قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری، با تعیین قطر هاله‌های عدم رشد، میزان حساسیت جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها مشخص شد (۱۲).

بررسی‌های آماری: داده‌های حاصل از آزمایش‌های انجام شده در نرم‌افزار Microsoft Office Excel گردآوری شده و توسط نرم‌افزار SPSS بررسی شدند. روش آماری تجزیه و تحلیل داده‌ها، آزمون مربع کای و تست دقیق فیشر بود.

نتایج

بر اساس نتایج به‌دست آمده، از مجموع ۲۵۰ نمونه تخم و گوشت طیور نمونه‌گیری شده در شهرستان تهران، ۳۰ نمونه (۱۲ درصد) به سودوموناس آلوده بودند. از ۱۰۰ نمونه گوشت طیور، بیشترین میزان آلودگی مربوط به گوشت مرغ ۱۷ نمونه (۱۷ درصد)، گوشت بوقلمون ۴ نمونه (۴ درصد)، گوشت شترمرغ ۲ نمونه (۲ درصد)، و گوشت بلدرچین ۱ نمونه (۱ درصد) به سودوموناس آلوده بودند. همچنین آلودگی به سودوموناس در گوشت اردک مشاهده نشد. از مجموع ۱۵۰ نمونه تخم پرندگان ۳ نمونه مربوط به تخم مرغ (۲ درصد) و ۳ نمونه مربوط به تخم بوقلمون (۲ درصد)، بود. در تخم اردک و تخم بلدرچین آلودگی به سودوموناس مشاهده نشد (جدول ۱).

و ۱۰۰ نمونه گوشت طیور (۵۰ نمونه گوشت مرغ، ۲۰ نمونه گوشت بوقلمون، ۱۰ نمونه گوشت بلدرچین، ۱۰ نمونه شترمرغ و ۱۰ نمونه گوشت اردک) از مناطق مختلف تهران، جمع‌آوری شد. مدت زمان نمونه‌گیری یک سال از تاریخ بهمن ۱۴۰۲ تا دی ۱۴۰۳ بود. نمونه‌های گوشتی به‌صورت گرم به آزمایشگاه انتقال داده شدند تا نسبت به بررسی میزان آلودگی به سودوموناس، آزمایش‌ها انجام شود.

جستجوی سودوموناس: به منظور جداسازی سودوموناس از نمونه‌های گوشت طیور، ۲۵ گرم از گوشت با ۲۲۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع آب پیتونه (Mirmedia, Iran) هموژن می‌شدند. در این مرحله، باکتری‌ها در محیط غنی‌کننده آب پیتونه کشت داده شدند. سپس، کشت متراکم در محیط انتخابی Cetrimide Agar (Merck, Germany) انجام و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. کلنی‌های مشکوک به سودوموناس (دارای رنگدانه سبز-آبی) انتخاب شدند و برای تأیید، آزمون‌های بیوشیمیایی شامل تست‌های تخمیر لاکتوز، مصرف سیترات، ایندول، اکسیداز، DNase و همولیز در محیط آگار خون‌دار (Mirmediam Iran) انجام شد (۶).

نحوه‌ی انجام آنتی‌بیوگرام: برای ارزیابی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، آزمون آنتی‌بیوگرام با استفاده از روش استاندارد انتشار دیسک انجام شد. ابتدا، یک سوسپانسیون میکروبی از جدایه‌های سودوموناس تهیه شد. تراکم باکتری‌ها در سوسپانسیون با استاندارد نیم مک‌فارلند تنظیم شد تا غلظت یکنواختی از باکتری‌ها به دست آمد. سپس، سطح پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر-هینتون

جدول ۱- میزان آلودگی به سودوموناس در گوشت و تخم طیور عرضه‌شده در شهرستان تهران

نمونه	تعداد نمونه‌های مورد بررسی	تعداد و درصد آلودگی به سودوموناس	نمونه	تعداد و درصد آلودگی به سودوموناس	تعداد نمونه‌های مورد بررسی
گوشت مرغ	۵۰	۱۷ ^a (۱۷ درصد)	تخم مرغ	۵۰	۳ ^a (۲ درصد)
گوشت بوقلمون	۲۰	۴ ^b (۴ درصد)	تخم بوقلمون	۵۰	۳ ^a (۲ درصد)
گوشت شترمرغ	۱۰	۲ ^b (۲ درصد)	تخم اردک	۲۰	-
گوشت بلدرچین	۱۰	۱ ^c (۱ درصد)	تخم بلدرچین	۳۰	-
گوشت اردک	۱۰	-	-	-	-
مجموع	۱۰۰	۲۴ (۲۴ درصد)	مجموع	۱۵۰	۶ (۴ درصد)

در هر سطر، اعداد برچسب خورده با حروف انگلیسی متفاوت، با $P\text{value} < 0/01$ با هم تفاوت معنی‌دار آماری دارند.

با توجه به جدول شماره ۲، ارزیابی‌ها نشان داد، که بین میزان آلودگی به گوشت و تخم طیور ارتباط آماری معنی‌داری وجود ندارد.

جدول ۲- وضعیت ارتباط آلودگی در گوشت و تخم طیور عرضه‌شده در شهرستان تهران

میزان آلودگی	نوع ماده غذایی
۲۴ درصد	گوشت طیور
۴ درصد	تخم طیور
۰/۱۸۵ ^{ns}	وضعیت

ns: بین نمونه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد.

نتایج آنتی‌بیوگرام نشان داد، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به تتراسایکلین (۱۰۰ درصد) و آمپی‌سیلین (۹۳/۳۳ درصد) و کمترین میزان مقاومت نسبت به پنی‌سیلین (۶/۶۷) و سولفامتاکسازول (۱۰ درصد) بود (جدول ۳).

جدول ۳- وضعیت حساس، نیمه‌حساس و مقاومت در جدایه‌های سودوموناس در گوشت و تخم طیور عرضه‌شده در شهرستان تهران

نوع آنتی‌بیوتیک	حساس	نیمه‌حساس	مقاوم
آمی‌سیلین (AM)	-	۲ (۶/۶۷ درصد)	۲۸ (۹۳/۳۳ درصد)
پنی‌سیلین (PEN)	۲۰ (۶۶/۶۷ درصد)	۸ (۲۶/۶۶ درصد)	۲ (۶/۶۷ درصد)
جنتامایسین (GM)	۳ (۱۰ درصد)	۹ (۳۰ درصد)	۱۸ (۶۰ درصد)
سولفامتاکسازول (SXT)	۲۲ (۷۳/۳۳ درصد)	۵ (۱۶/۶۷ درصد)	۳ (۱۰ درصد)
آموکسی‌کلاو (AMC)	۹ (۳۰ درصد)	۱۳ (۴۳/۳۳ درصد)	۸ (۲۶/۶۶ درصد)
تتراسایکلین (TE)	-	-	۱۰۰ درصد
سفازولین (SE)	۵ (۱۶/۶۷ درصد)	۱۵ (۵۰ درصد)	۱۰ (۳۳/۳۳ درصد)
کلیندامایسین (CL)	۹ (۳۰ درصد)	۱۱ (۳۶/۶۷ درصد)	۱۰ (۳۳/۳۳ درصد)

بحث و نتیجه‌گیری

سودوموناس به دلیل توانایی و مقاومت در شرایط فیزیکی سخت، مانند نیاز کم به مواد مغذی و نیاز به دمای پایین، تحمل غلظت بالای نمک و ضد عفونی‌کننده‌ها، توانایی سازگاری با شرایط محیطی بسیار متفاوت و رشد را دارد و به همین دلیل یکی از رایج‌ترین گونه‌های باکتریایی در جهان است. سودوموناس سبب تولید رنگدانه‌های مختلف می‌شود؛ این رنگدانه‌ها در بقای باکتری و بیماری‌زایی آن موثر هستند و همچنین تصور می‌شود که از باکتری در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کنند. عفونت سودوموناس در پرندگان از اهمیت بالایی برخوردار است، زیرا همه‌گیری‌ها ممکن است به سرعت از طریق

گله‌های طیور پخش شوند و باعث مرگ و میر شوند (۱۳). نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد میزان آلودگی در گوشت طیور عرضه شده در شهرستان تهران، ۲۴ درصد بود. نتایج برخی مطالعات انجام شده، با یافته‌های پژوهش حاضر هم‌راستا هستند، در مصر پژوهشگران شیوع سودوموناس را در گوشت طیور به ترتیب ۲۲/۹ درصد (۱۴)، ۲۵/۳ درصد (۱۵)، ۲۳/۸ درصد (۱۶) و ۲۸ درصد (۱۷) گزارش دادند. علاوه بر این، نتایج حاضر با مطالعاتی که روی گوشت مرغ در نیجریه ۲۳/۴ درصد (۱۸) و آفریقای جنوبی ۲۲/۵ درصد (۱۹) گزارش شده، نیز هم‌راستا هستند. پژوهشی در هند، شیوع ۲۰ درصد آلودگی به سودوموناس را در گوشت مرغ گزارش داد (۲۰). آلودگی در گوشت طیور

بر روی آلودگی گوشت‌های منجمد و گرم به سودوموناس دریافتند که از ۱۲۰ نمونه، میزان آلودگی، ۹/۱۶ درصد (۱۱ نمونه از ۱۲۰ نمونه) بود؛ همچنین مقاومت به پنی‌سیلین ۹۰ درصد (۲۹) گزارش شد.

آلودگی گوشت‌های گرم و سرد با میکروارگانسیم‌های مختلف یکی از دلایل عمده مسمومیت و عفونت‌های غذایی است و بر سلامت عمومی در سراسر جهان تأثیر دارد. قرار گرفتن مکرر در معرض آنتی‌بیوتیک، میکروبیوم روده مرغ را تغییر می‌دهد و بقای باکتری‌ها و حضور ژن‌های مقاومت را تقویت می‌کند و نه تنها بر آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده، بلکه بر آنتی‌بیوتیک‌های مرتبط نیز تأثیر می‌گذارد (۳۰). با توجه به اهمیت بالینی این آنتی‌بیوتیک‌ها برای سلامت انسان، افزایش میزان مقاومت در ایران نگران‌کننده است؛ بنابراین باید از حضور این باکتری‌های فرصت‌طلب در مراحل اولیه تهیه مواد غذایی جلوگیری کرد. از آنجایی که گوشت و تخم طیور به‌عنوان منابع آلودگی به سودوموناس محسوب می‌شوند، بهداشت نامناسب فروشگاه‌های عرضه‌کننده گوشت و فرآوری غیر بهداشتی و بی‌اطلاعی خرده‌فروشان گوشت از الزامات اولیه و دستورالعمل‌های فروشگاه عرضه گوشت، از مهم‌ترین علل فراوانی سودوموناس در این مطالعه است. علی‌رغم استفاده از روش‌های مدرن نگهداری گوشت، آلودگی به سودوموناس همچنان یک تهدید بزرگ است. در نهایت، استفاده صحیح از محصولات خام، پخت مناسب گوشت و دفع مناسب ضایعات، می‌تواند آلودگی به سودوموناس را به حداقل برساند.

سیاسگزاری

بدین‌وسیله از کلیه همکاران گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که نهایت همکاری را در انجام این پروژه داشتند قدردانی می‌گردد.

در پژوهش دیگری در مصر، ۲۰ درصد و مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به آمپی‌سیلین و تتراسایکلین ۱۰۰ درصد گزارش شد (۲۱). در مطالعه Elbehiry و همکاران (۲۰۲۲) روی ۳۵۰ نمونه گوشت طیور گزارش شد که ۶۹ نمونه (۱۹/۷۱ درصد) به سودوموناس آلوده بودند (۲۲). Jawher و همکاران در تحقیقی بر روی شیوع آلودگی سودوموناس در گوشت مرغ عرضه شده دریافتند که ۲۲ درصد از نمونه‌های گوشت طیور آلوده بودند (۲۳). گزارش‌های یاد شده با نتایج پژوهش حاضر هم‌راستا هستند.

پژوهشی توسط Tigabie و همکاران (۲۰۲۴) روی آلودگی به میکروارگانسیم‌ها در گوشت مرغ انجام شد و گزارش دادند، که از ۸۷ نمونه، ۴۱ نمونه (۴۷/۱ درصد) به سودوموناس آلوده بود و مقاومت نسبت به تتراسایکلین ۱۰۰ درصد و حساسیت نسبت به پنی‌سیلین ۶۵ درصد بود (۲۴). معروف و همکاران (۲۰۲۳) در ایران، آلودگی به سودوموناس در گوشت مرغ را، ۴۸/۱۳ درصد گزارش دادند (۲۵)، که هیچ‌کدام از پژوهش‌های یادشده، مطابقتی با مطالعه حاضر ندارد. یافته‌های پژوهش حاضر، میزان آلودگی کمتری را نشان داد. این تغییرات ممکن است به دلیل تفاوت در جغرافیا، شیوه‌های مدیریت، حجم نمونه، روش‌های جداسازی، نوع طیور، سن و بهداشت مراکز عرضه باشد. در این مطالعه، ادغام انواع مختلف طیور و تخم طیور احتمالاً به نرخ جداسازی متفاوت‌تری کمک کرده است.

شیوع سودوموناس مشاهده شده در این مطالعه با برخی از یافته‌هایی که در مصر انجام شده است، مطابقت ندارد. در دو پژوهش در مصر میزان آلودگی به سودوموناس در گوشت طیور به ترتیب ۱۰ درصد (۲۶) و ۱۰ درصد (۲۷) گزارش شد. Islam و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند میزان مقاومت به جنتامایسین (۹۴/۶۶ درصد) و آمپی‌سیلین (۵۵/۵۶ درصد) بود (۲۸). رضالو و همکاران در مطالعه‌ای

References

1- Thompson, A, Kutz S. Introduction to the

special issue on 'Emerging Zoonoses and Wildlife.

Inter J Parasit. 2019; 9(9): 312-322.

2- Gong Q, Ruan MD, Niu MF, Qin CL, Hou Y, Guo JZ. Immune efficacy of DNA vaccines based on oprL and oprF genes of *Pseudomonas aeruginosa* in chickens. *Poultry sci.* 2018; 97(12): 4219-4227.

3- Kebede F. Pseudomonas infection in chickens. *J Vet Med Anim Health.* 2010; 2(4): 55-58.

4- Handley JA, Park SH, Kim SA, Ricke SC. Microbiome profiles of commercial broilers through evisceration and immersion chilling during poultry slaughter and the identification of potential indicator microorganisms. *Front Mic.* 2018; 9(5): 335-345.

5- Chen SH, Fegan N, Kocharunchitt C, Bowman JP, Duffy LL. Changes of the bacterial community diversity on chicken carcasses through an Australian poultry processing line. *Food Microb.* 2020; 86: 103350.

6- Azam MW, Khan AU. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug discovery today.* 2019; 24(1): 350-359.

7- Abbasi S, Rahimi E. Investigating the prevalence of antibiotic resistance and virulence genes of pseudomonas in broilers sold in Tehran, Iran. *J Microb Biolo.* 2024; 13(50): 125-139.[In persian]

8- Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microb molecul biolog rev.* 2010; 74(3): 417-433.

9- Maron DF, Smith TJ, Nachman KE. Restrictions on antimicrobial use in food animal production: an international regulatory and economic survey. *Global health.* 2013; 9(1): 1-11.

10- Heir E, Moen B, Åsli AW, Sunde M, Langsrud S. Antibiotic resistance and phylogeny of *Pseudomonas spp.* isolated over three decades from chicken meat in the Norwegian food chain. *Microorganisms.* 2021; 9(2): 195-207.

11- Bonomo RA, Szabo D. (2006). Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinic infec dis.* 43(Supplement_2). 2006; S49-S56.

12- Eraky RD, Abd El-Ghany WA, Soliman KM. Studies on *Pseudomonas aeruginosa* infection in hatcheries and chicken. *J Vet Med Soci.* 2020; 71(1): 1953-1962.

13- Heidarzadi M, Rahnama M, Alipoureskandani M, Saadati D, Afsharimoghadam A. Salmonella and *Escherichia coli* contamination in samosas presented in sistán and baluchestan province and antibiotic resistance of isolates. *Food Hyg.* 2021; 11(2): 69-82.[In persian]

14- Yilmaz N, Urganci NN, Yildirim Z. Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from food and determination of their antibiotic resistance. *Res Squ.* 2023; 58(1): 1-17.

15- Elsayed MSA, Abd-El Rahman A. Virulence repertoire of *Pseudomonas aeruginosa* from some poultry farms with detection of resistance to various antimicrobials and plant extracts. *Cellul Mole Biolog.* 2016; 62(7): 112-124.

16- Algammal AM, Eidaroos NH, Alfifi KJ, Alatawy M, Al-Harbi AI, Alanazi YF, et al. Oprl gene sequencing, resistance patterns, virulence genes, quorum sensing and antibiotic resistance genes of xdr *Pseudomonas aeruginosa* isolated from broiler chickens. *Infec Drug Res.* 2023; 12(9): 853-867.

17- Al-Ashmawy MA, El-Galil KHA, Elswaifi SF. (2013). The microbial burden of *Pseudomonas* species in different types of table eggs in Egypt. *World J Dairy & Food Sci.* 2013; 8(2): 190-195.

18- Ejikeugwu C, Nworie O, Saki M, Al-Dahmoshi HO, Al-Khafaji NS, Ezeador C, et al. Metallo-β-lactamase and *AmpC* genes in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from abattoir and poultry origin in Nigeria. *BMC Microb.* 2021; 21(1): 1-9.

19- Ramatla T, Mokgokong P, Lekota K, Thekisoe O. Antimicrobial resistance profiles of *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from broiler chickens. *Food Microb.* 2024; 120: 104476.

20- Shukla S, Mishra P. *Pseudomonas aeruginosa* infection in broiler chicks in Jabalpur. *Int J Ext Res.* 2015; 6(1): 37-39.

21- Shahat HS, Mohamed H, Al-Azeem A, Mohammed W, Nasef SA. Molecular detection of some virulence genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from chicken embryos and broilers with regard to disinfectant resistance. *Inter J Vet Sci:* 2019; 2(2): 52-70.

22- Elbehiry A, Marzouk E, Aldubaib M, Moussa I, Abalkhail A, Ibrahim M, et al. *Pseudomonas* species prevalence, protein analysis, and antibiotic resistance: an evolving public health challenge. *Amb Express.* 2022; 12(1): 41-53.

23- Jawher IM, Hasan MG. Antibiotics resistance patterns of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from meat at Mosul city retailers. *Iraq J Vet Sci.* 2023; 37(2): 363-367.

24- Tigabie M, Assefa M, Gashaw Y, Amare A, Ambachew A, Biset S, et al. Prevalence and

antibiotic resistance patterns of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* strains isolated from chicken droppings on poultry farms in Gondar city, Northwest Ethiopia. *Sci Health*. 2024; 100099.

25- Marouf S, Li X, Salem HM, Ahmed ZS, Nader SM, Shaalan M, et al. Molecular detection of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* of different avian sources with pathogenicity testing and in vitro evaluation of antibacterial efficacy of silver nanoparticles against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Poultry Sci*. 2023; 102(10): 102995.

26- Ibrahim HM, Salem HM, Alamoudi SA, Al-Hoshani N, Alkahtani AM, Alshammari NM, et al. (2024). Evaluating the bactericidal activity of various disinfectants against *Pseudomonas aeruginosa* contamination in broiler chicken hatcheries. *Pak Vet J*: 2024; 44(3); 101-112.

27- Farghaly EM, Roshdy H, Bakheet AA, Abd El-Hafez SA, Badr H. Advanced studies on

Pseudomonas aeruginosa infection in chicken. *Anim Health Res J*. 2017; 5(4): 207-217.

28- Islam M, Sabrin MS, Kabir MHB, Aftabuzzaman MD. Antibiotic sensitivity and resistant pattern of bacteria isolated from table eggs of commercial layers considering food safety issue. *As J Med Biolog Res*. 2018; 4(4): 323-329.

29- Rezaloo M, Motalebi A, Mashak Z, Anvar A. Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular description of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from meat and meat products. *J Food Qual*. 2022; 22(1): 9899338.

30- Bottery MJ, Pitchford JW, Friman VP. (2021). Ecology and evolution of antimicrobial resistance in bacterial communities. *ISME J*. 2021; 15(4): 939-948.

31- Bard H, Roshdy H, EL-Hafez AEH, Farghali EMA. N. (2016). Prevalence, pathogenicity and antibiogram sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from diseased chickens. *Assiut Vet Med J*. 2016; 62(151): 119-126.



Investigation of the prevalence of *Pseudomonas* in poultry eggs and meat sold in Tehran city and antibiotic resistance of isolates

Sajad Abbasi¹, Ebrahim Rahimi^{2*}, Noosha Zia Jahromi³

1- PhD student in food hygiene, Department of Food Hygiene, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2- Professor, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Biology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Receive: January 18, 2025; Revise: March 15, 2025; Accept: March 16, 2025



10.22034/nfvm.2025.499628.1273

Summary

Pseudomonas spp are among the predominant microorganisms in raw and processed foods. Some of them are responsible for opportunistic human infections and the high antibiotic resistance of some *Pseudomonas* isolates has raised concerns in the field of public health. The aim of this study was to investigate the prevalence of *pseudomonas* in poultry eggs and meat supplied in Tehran city and the antibiotic resistance of the isolates. 250 samples (150 poultry egg and 100 poultry meat) were randomly collected from supply centers in Tehran and transported to the laboratory to examine the level of contamination. The statistical method of data analysis was the chi-square test and Fisher's exact test. The results showed that out of a total of 250 samples, 30 samples (12%) were contaminated with *Pseudomonas*. Of the 100 poultry meat samples, 17 samples (17%) were chicken meat, 4 samples (4%) were turkey meat, 2 samples (2%) were ostrich meat, and 1 sample (1%) was quail meat contaminated with *pseudomonas*. Of the total of 150 bird egg samples, 3% were chicken and turkey eggs. The evaluations showed that there was no statistically significant relationship between the level of contamination of meat and poultry eggs ($p>0.05$). The results of the antibiotic evaluation showed that the highest antibiotic resistance was for tetracycline (100%) and ampicillin (93.33%). The results of this study showed that poultry meat and eggs can be a potential source of *Pseudomonas* contamination. Therefore, maintaining hygiene during production, storage, and consumption, especially avoiding the consumption of raw protein materials, can reduce the risks associated with this bacteria.

Keywords: *Pseudomonas*, Poultry meat, Poultry eggs, Antibiotic resistance




ردیابی و شجره شناسی ویروس انسفالومیت طیور: مطالعه یک مورد بالینی وارداتی

حسین حسینی^۱، زهرا ضیافتی کافی^۲، سروش سرمدی^۲، فهمیه جمیری^۲، علیرضا بخشی^۲، نازنین سرویان^۲، امید اقبالی^۲، آرش قلیان چی لنگرودی*

۱- گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.
۲- گروه میکروبیولوژی و ایمنی شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

دریافت مقاله: ۰۱ مهر ۱۴۰۳، بازنگری: ۱۷ دی ۱۴۰۳، پذیرش نهایی: ۱۸ دی ۱۴۰۳

 10.22034/nfvm.2025.479736.1257

چکیده

آنسفالومیلیت پرندگان (AE) یک بیماری عفونی است که توسط ویروس آنسفالومیلیت پرندگان (AEV) ایجاد می‌شود. در مطالعه‌ی حاضر نمونه‌هایی از بافت مغز از یک گله جوجه‌های گوشتی ۱۲ روزه (وارداتی از ترکیه) در مزارع استان مازندران که علائم عصبی حاکی از آنسفالومیلیت پرندگان از جمله آتاکسی، لرزش متناوب، لرزش سر و گردن، ضعف در پاها و فلجی را نشان می‌دادند جمع‌آوری شد. پس از انجام آزمایش مولکولی، توالی ژن VP2 مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج این مطالعه، سویه 2023-PCRLAB-UT بیشترین شباهت را (۹۹/۶۵ درصد) با سویه ZCHP2/0912 از کشور لهستان و سویه USP-BR-463-4 از کشور برزیل نشان داد. همچنین بررسی‌های بیشتر، شباهت بالایی (۹۹/۲۹ درصد) را بین سویه‌ی مطالعه‌ی حاضر با برخی از سویه‌های واکسن ثبت شده در بانک ژن نشان داد. نتایج این مطالعه اولین مورد ورود AEV از طریق ورود یک گله آلوده به کشور را نشان می‌دهد و اهمیت انجام بررسی‌های اپیدمیولوژیک منظم و پایش مستمر پرندگان وارداتی را برجسته می‌کند. همچنین، با توجه به شباهت ژنتیکی بین جدایه‌ی این مطالعه و برخی سویه‌های واکسن ثبت شده در بانک ژن، ضرورت نظارت دقیق‌تر بر اثربخشی واکسیناسیون و پایش پس از آن مشخص می‌شود. یافته‌ها می‌توانند به درک بهتر مکانیسم‌های احتمالی انتقال ویروس‌های زنده واکسن و تاثیر آن بر سلامت گله‌های طیور کمک کرده و لزوم تقویت نظارت بر منشأ گله‌های وارداتی را مورد تاکید قرار دهند.

واژگان کلیدی: آنسفالومیلیت پرندگان، ماکیان، واکسن، فیلوژنی

مقدمه

بیماری انسفالومیلیت پرندگان یک بیماری عفونی است که توسط ویروس انسفالومیلیت پرندگان (AEV) ایجاد می‌شود. میزبانان مستعد این ویروس شامل ماکیان، قرقاول، بوقلمون و بلدرچین بوده که از این بین، ماکیان بیشترین حساسیت را دارند (۱). این بیماری اولین بار در سال ۱۹۳۰ توسط جونز در آمریکا توصیف شد (۲). این بیماری در ماکیان جوان با علائم عصبی از جمله آتاکسی، فلجی نسبی (پارزی) و لرزش‌های سر و گردن بروز یافته و نرخ شیوع بالا و نرخ مرگ و میر متغیر دارد. اما در ماکیان بالغ بیماری اگرچه با کاهش موقت تولید تخم‌مرغ و قابلیت هج شدن آن همراه است اما معمولاً به‌صورت تحت بالینی بروز می‌یابد (۳). میانگین نرخ مرگ و میر بیماری ۲۵ درصد بوده که می‌تواند تا ۵۰ درصد نیز افزایش یابد (۴). ویروس انسفالومیلیت پرندگان عضوی از خانواده‌ی پیکورناویریده بوده و واجد یک قطعه ژنوم RNA کوتاه تک‌رشته‌ی سنس مثبت می‌باشد. طول ژنوم ۷ کیلوباز بوده که یک پلی‌پروتئین بزرگ را کد می‌کند. بخش P1 ژن ویروس کدکننده‌ی چهار پروتئین ساختاری (VP-1، VP-2، VP-3، VP-4) و بخش‌های P2 و P3 کدکننده‌ی پنج پروتئین غیر ساختاری هستند (۵). ویروس می‌تواند به‌صورت افقی و از مسیر مدفوعی-دهانی انتقال یابد و در سلول‌های پوششی روده و عمدتاً در دوازدهه تکثیر یابد. ویروس همچنین می‌تواند متعاقباً تکثیر یافته و ایجاد ویرمی کند و به اندام‌های مختلف مانند پیش‌معه، سنگدان، کبد، کلیه‌ها، طحال و قلب انتشار یابد (۴). انتقال ویروس همچنین می‌تواند به‌صورت عمودی از مادر تخم‌گذار آلوده از راه تخم‌مرغ به جوجه صورت بگیرد، که سبب بروز بیماری و علائم بالینی در نتاج می‌گردد (۶). تشخیص می‌تواند بر اساس ویژگی‌های بالینی و هیستوپاتولوژیک و تأیید تشخیص با رنگ‌آمیزی ایمونوفلورسانس صورت گیرد. همچنین می‌توان از کشت ویروس در کیسه‌ی زرده، الایزا، تست‌های سرمی و

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز رونویسی معکوس (RT-PCR) در تشخیص بیماری کمک گرفت (۷). بهترین راه برای کنترل و پیشگیری از بیماری واکسیناسیون گله‌های مادر در طی دوره‌ی grow-out، پیشگیری از عفونت در مادرها و به دنبال آن انتقال ویروس به جوجه‌ها است. علاوه بر این، واکسیناسیون مادرها ایمنی خوبی برای جوجه‌ها ایجاد می‌کند که موجب اطمینان از حفاظت آنها در برابر عفونت با ویروس در طی هفته‌های اول زندگی می‌شود (۸). اگرچه واکسیناسیون ابزار مهم و کلیدی در پیشگیری از این بیماری است اما، مواردی از بروز بیماری مرتبط با واکسن در گذشته گزارش شده است. در موردی از ایالات متحده، Senties-Cué و همکاران در سال ۲۰۱۶ رخداد بیماری انسفالیت پرندگان را در بین پولت‌های تخم‌گذار Leghorn، به دنبال واکسیناسیون گزارش کردند (۹). همچنین در مطالعه‌ی قدیمی‌تر، Glisson و همکاران در سال ۱۹۸۶، رخداد انسفالومیلیت را در مدت ۲ هفته پس از واکسیناسیون در پولت‌های مادر گوشتی گزارش کردند (۱۰). وجود گزارش‌هایی از رخداد بیماری پس از واکسیناسیون، نشان‌دهنده اهمیت پایش گله‌ها پس از انجام واکسیناسیون و همچنین پایش مداوم عملکرد و کارایی واکسن‌های مصرفی می‌باشد. از آنجایی که شیوع این بیماری در کشور می‌تواند سبب وارد آمدن خسارات اقتصادی گردد، بررسی شیوع و اپیدیمولوژی این بیماری در بین پرندگان در داخل کشور و همچنین پرندگان وارداتی به کشور از اهمیت ویژه‌ی برخوردار است. ورود پرندگان بیمار به داخل کشور می‌تواند سبب بروز همه‌گیری‌های مختلف و متعاقباً ورود خسارات اقتصادی و بهداشتی شود، بنابراین پایش مداوم پرندگان وارداتی امری ضروری در پیشگیری از شیوع بیماری‌های مختلف می‌باشد. هدف از این مطالعه گزارش شناسایی و بررسی فیلوژنتیک ویروس انسفالومیلیت پرندگان در ماکیان گوشتی نژاد راس وارد شده از کشور ترکیه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه: تعداد ۱۰ نمونه بافت مغز از گله جوجه‌های گوشتی ۱۲ روزه نژاد راس (وارداتی از کشور ترکیه) در مزارع استان مازندران با سابقه علائم عصبی مشکوک به بیماری AE از جمله آتاکسی، لرزش متناوب سر و گردن، ضعف در پاها و فلجی، برای انجام آزمون PCR جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها همراه با یخ به آزمایشگاه ویروس‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل و تا زمان آزمایش در فریزر -20°C نگهداری شدند.

استخراج RNA و سنتز cDNA: بافت‌های جمع‌آوری شده با استفاده از PBS استریل هموژن شدند و پس از آن محتوای RNA هموژن‌های تهیه شده با استفاده از کیت استخراج RNA Sina-pure (شرکت سیناکلون- ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. RNA استخراج شده در حجم $50\mu\text{l}$ از Elution buffer رهاسازی و تا مرحله سنتز cDNA در فریزر -20°C نگهداری شد. جهت ساخت cDNA در ابتدا میزان $10\mu\text{l}$ از RNA استخراج شده با میزان $1\mu\text{l}$ رندوم هگزامر مخلوط شده و در مرحله اول به مدت ۵ دقیقه در دمای 70°C و ۱ دقیقه در دمای 5°C قرار

ردیابی و شجره‌شناسی ویروس انسفالومیت پرندگان

گرفتند. در مرحله دوم مقادیر $4\mu\text{l}$ بافر آنزیم ریورس ترانسکریپتاز، $2\mu\text{l}$ dNTP، $2\mu\text{l}$ آب مقطر استریل و $1\mu\text{l}$ آنزیم ریورس ترانسکریپتاز به محصول مرحله افزوده شد و سپس برای مدت ۵ دقیقه در دمای 25°C ، به مدت ۶۰ دقیقه در دمای 42°C ، به مدت ۵ دقیقه در دمای 85°C و به مدت ۱ دقیقه در دمای 5°C قرار داده شدند.

PCR و توالی‌یابی: از cDNA های به دست آمده با استفاده از پرایمرهای اختصاصی بخشی از ژن VP2 و ناحیه 5'-UTR (جدول ۱) آزمون PCR انجام شد. برای انجام واکنش PCR میزان $12.5\mu\text{l}$ مسترمیکس PCR 2X شرکت مکسل، $8\mu\text{l}$ آب مقطر استریل، $1\mu\text{l}$ از هر یک از پرایمرها و $2.5\mu\text{l}$ cDNA تولید شده مخلوط شدند و طبق برنامه 95°C به مدت ۳ دقیقه، 35°C سیکل شامل دناتوراسیون با دمای 95°C به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال 56°C به مدت ۳۰ ثانیه و دمای طولی‌سازی 72°C به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله طولی‌سازی نهایی با دمای 72°C به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. محصولات PCR بر روی ژل آگارز $1/5$ درصد الکتروفورز شده، با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شده و تحت نور UV شناسایی شدند. در نهایت محصولات PCR جهت توالی‌یابی به شرکت کدون ژنتیک ارسال شدند.

جدول ۱. پرایمرهای اختصاصی استفاده شده برای تکثیر و توالی‌یابی بخشی از ژن VP2 و ناحیه 5'-UTR

Primer label	sequence	Product size (bp)	Annealing temp ($^{\circ}\text{C}$)	Reference
5'-UTR				
AE II F	CTTTGCGTTTCACAGAACCATCC	۲۸۵	۵۶	-
AE II R	AATTGCTACCCTTAATCTCTC			
VP2 gene				
MKAE1	CTTATGCTGGCCCTGATCGT	۶۲۰	۵۶	(۱۱)
MKAE2	TCCCAAATCCACAAACCTAGCC			

ویرایش شدند و سپس هم‌ترازی با توالی‌های مرجع صورت گرفت. هم‌ترازی با استفاده از روش ClustalW موجود در

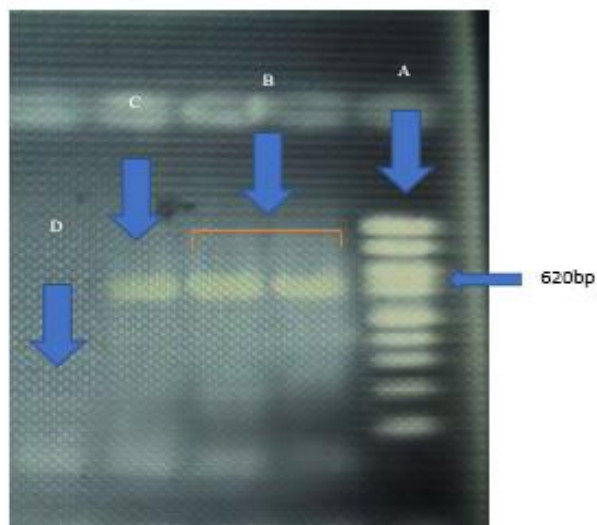
آنالیز توالی: توالی‌های نوکلئوتیدی با استفاده از Chromas نسخه ۲,۶,۵ از نظر کیفیت خوانش‌ها بررسی و

توالی‌های ثبت شده در بانک ژنی، در تصویر ۲ نشان داده شده است. درخت فیلوژنی رسم شده بر اساس توالی VP2 خوانش شده جدایه PCRLAB-UT-2023 و دیگر ایزوله‌های ویروسی شناخته‌شده نشان داد که این نمونه به‌طور برجسته با ویروس‌های Avian encephalomyelitis و Tremovirus A1 و virus شباهت دارد، اما هیچ‌یک از نمونه‌ها تطابق کامل (۱۰۰ درصد) با PCRLAB-UT-2023 ندارند. علاوه بر این، این نمونه در کنار سویه‌های واکسن A vaccine، B vaccine، vaccine A_7P و vaccine B_7P قرار دارد که نشان‌دهنده شباهت‌های ژنتیکی بالای این نمونه با سویه‌های واکسن است. این جایگاه در درخت فیلوژنی حاکی از یک ارتباط تکاملی نزدیک میان PCRLAB-UT-2023 و سویه‌های واکسن است (تصویر ۳).

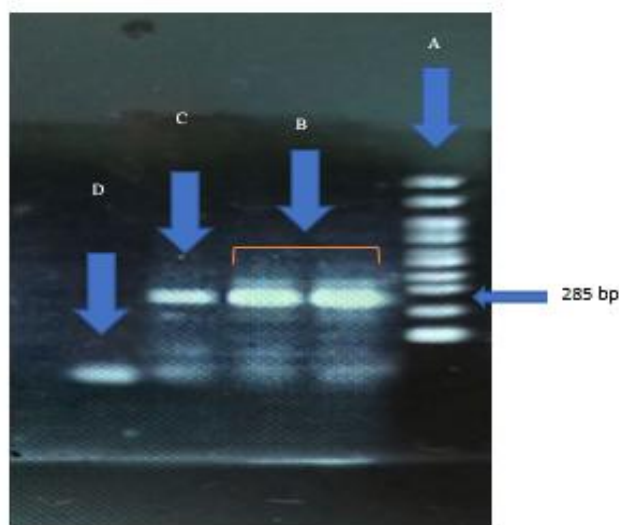
نرم‌افزار MEGA نسخه ۷ انجام شد. در این مطالعه از نرم‌افزار MEGA 7 درخت فیلوژنتیک با روش Maximum Likelihood و مدل General time reversible (GTR) با bootstrap ۱۰۰۰ ترسیم شد. همچنین آنالیز همولوژی توالی‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی با کمک نرم‌افزار MEGA نسخه ۷ انجام شد.

نتایج

نتایج آزمون PCR حضور ژنوم ویروس انسفالومیلیت پرندگان را در تمامی نمونه‌ها تأیید کرد. پس از تأیید آزمون PCR (تصویر ۱)، تعداد یک نمونه برای توالی‌یابی ارسال شد. توالی نوکلئوتیدی خوانش شده پس از تأیید خوانش و تأیید کیفیت در بانک ژنی با عنوان PCRLAB-UT-2023 با شماره دسترسی PP998214 ثبت گردید. نتایج هم‌ترازی بین توالی مطالعه کنونی با توالی‌های واکسن و فیلد سایر مطالعات و



ب

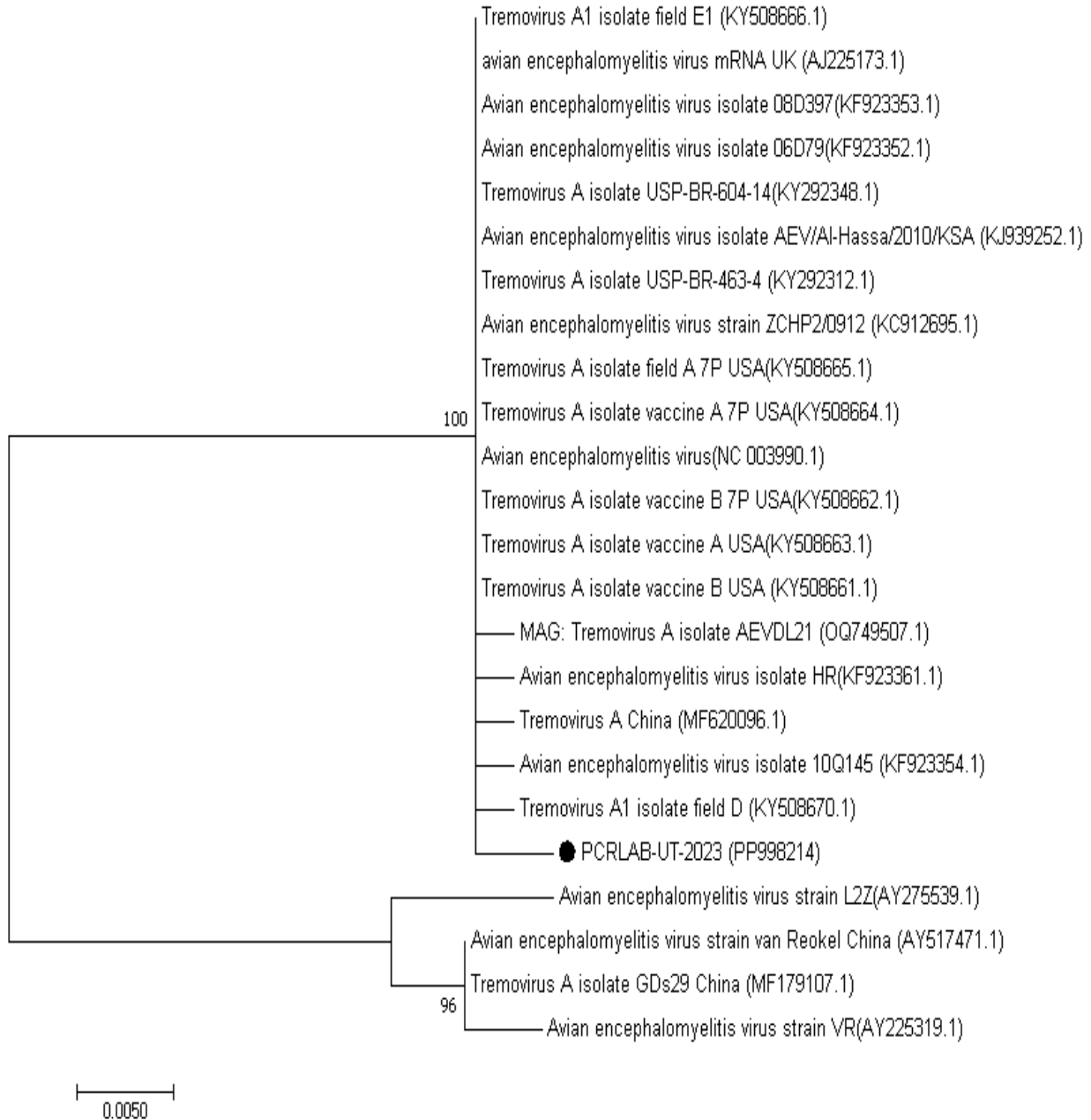


الف

تصویر ۱- نتیجه تکثیر بخشی از ناحیه ۵'-UTR (تصویر الف) و ژن VP2 (تصویر ب). A: لدر، B: نمونه‌ها، C: کنترل مثبت، D: کنترل منفی

Accession	PCRLAB-UT-2023									
	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
Tremovirus_A_China_HF620096.1	G	G	T	T	T	T	T	T	T	T
Avian_encephalomyelitis_virus_strain_LZZ_China_AY275539.1										
Tremovirus_A_isolate_vaccine_B_USA_KY508661.1										
Tremovirus_A_isolate_vaccine_A_USA_KY508663.1										
Tremovirus_A_isolate_vaccine_B_7P_USA_KY508662.1										
Avian_encephalomyelitis_virus_NC_003990.1										
Tremovirus_A_isolate_vaccine_A_7P_USA_KY508664.1										
Tremovirus_A_isolate_field_A_7P_USA_KY508665.1										
Avian_encephalomyelitis_virus_strain_van_Reekei_China_AY17471.1										
Tremovirus_A_isolate_GD28_China_HF179107.1										
Avian_encephalomyelitis_virus_strain_ZCHP20912_KC812695.1										
Tremovirus_A_isolate_USP-BR-463-4_KY292312.1										
Avian_encephalomyelitis_virus_isolate_AEVAI-Hassa2010KSA_KJ039252.1										
MEG7_Tremovirus_A_isolate_AEVDL21_C02749507.1										
Tremovirus_A_isolate_USP-BR-604-14_KY292348.1										
Avian_encephalomyelitis_virus_isolate_06D79JFKF23352.1										
Avian_encephalomyelitis_virus_isolate_HRKF923361.1										
Avian_encephalomyelitis_virus_isolate_0Q245_KF923354.1										
Avian_encephalomyelitis_virus_isolate_08D397KF923353.1										
Tremovirus_A1_isolate_field_E1_KY508666.1										
Tremovirus_A1_isolate_field_D_KY508670.1										
Avian_encephalomyelitis_virus_strain_van_Reekei_AY17471.1										
Avian_encephalomyelitis_virus_strain_VR/AJ225319.1										
Avian_encephalomyelitis_virus_strain_LZZ/AJ275539.1										
avian_encephalomyelitis_virus_mRNA_UK_AJ225173.1										

تصویر ۲- همترازی توالی این مطالعه با توالی‌های واکسن و فیلد سایر مطالعات و توالی‌های ثبت شده در بانک ژنی به روش Clustal W با نرم‌افزار MEGA7.



تصویر ۳- تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک مولکولی ویروس انسفالومیت طیور براساس ژن VP2 با نرم افزار مگا نسخه ی ۷ مدل Maximum likelihood و روش GTR رسم شده است. جدایی این مطالعه با دایره مشکی در درخت نشان داده شده است.

ردیابی و شجره‌شناسی ویروس انسفالومیت پرنده‌گان

جدول ۲- میزان شباهت ژنتیکی با استفاده از مدل maximum likelihood بر روی ویروس انسفالومیت طیور جدا شده در این مطالعه و سایر ویروس‌های انسفالومیت طیور ثبت شده در بانک ژنی بر اساس ژن Vp2 محاسبه شد.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	PCRLAB-UT-2023 (PP998214)																					
2	ZCHP2/0912_(KC912695.1)	99.65																				
3	USP-BR-463-4_(KY292312.1)	99.65	100.0																			
4	06D79(KF923352.1)	99.62	100.0	100.0																		
5	field_E1_(KY508666.1)	99.61	100.0	100.0	100.0																	
6	USP-BR-604-14(KY292348.1)	99.64	100.0	100.0	100.0	100.0																
7	AEV/AI-Hassa/2010/KSA_(KJ939252.1)	99.64	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0															
8	_HR(KF923361.1)	99.43	99.81	99.81	99.81	99.80	99.81	99.81														
9	field_D_(KY508670.1)	99.41	99.80	99.80	99.80	99.80	99.80	99.80	99.61													
10	vac-cine_B_USA_(KY508661.1)	99.29	99.65	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.81	99.80												
11	vaccine_A_USA(KY508663.1)	99.29	99.65	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.81	99.80	100.00											
12	Avian_encephalomyelitis_virus(NC_003990.1)	99.29	99.65	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.81	99.80	100.00	100.00										
13	_mRNA_UK_(AJ225173.1)	99.29	99.65	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.81	99.80	100.00	100.00	100.00									
14	field_A_7P_USA(KY508665.1)	99.29	99.64	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.81	99.80	100.00	100.00	100.00	100.00								
15	Tremovirus_A_China_(MF620096.1)	99.11	99.47	99.82	99.81	99.80	99.82	99.82	99.62	99.61	99.82	99.82	99.82	99.82	99.82							
16	AEVDL21_(OQ749507.1)	98.94	99.29	99.65	99.81	99.80	99.64	99.64	99.62	99.61	99.65	99.65	99.65	99.65	99.65	99.47						
17	GDs29_China_(MF179107.1)	94.83	94.81	95.18	95.02	95.06	95.12	95.16	94.81	94.84	95.21	95.21	95.21	95.21	95.38	95.01	94.82					
18	van_Reo-keel_China_(AY517471.1)	94.83	94.81	95.18	95.02	95.06	95.12	95.16	94.81	94.84	95.21	95.21	95.21	95.21	95.38	95.01	94.82	100.00				
19	_Reo-keel_(AY517471.1)	94.83	94.81	95.18	95.02	95.06	95.12	95.16	94.81	94.84	95.21	95.21	95.21	95.21	95.38	95.01	94.82	100.00	100.00			
20	VR (AY225319.1)	94.44	94.42	94.79	94.59	94.62	94.72	94.77	94.38	94.40	94.82	94.82	94.82	94.82	94.99	94.62	94.43	99.65	99.65	99.65		
21	L2Z_China_(AY275539.1)	94.27	94.64	95.01	94.83	94.87	94.95	94.99	94.62	94.65	95.04	95.04	95.04	95.04	95.21	94.85	94.65	98.94	98.94	98.94	98.58	

نشریه تازه‌ها در میکوبینشناسی دامپزشکی - جلد ۸ / شماره ۲ / تابستان ۱۴۰۱

بحث و نتیجه‌گیری

رخداد بیماری انسفالومیلیت در بین گله‌های پرندگان می‌تواند خسارات اقتصادی گسترده‌ای را به صنعت طیور وارد کند (۴). بروز این بیماری در بین پرندگان جوان معمولاً با بروز علائم عصبی همچون آتاکسی می‌شود درحالی که در پرندگان بالغ عموماً با بروز علائم بالینی همراه نبوده و تنها سبب کاهش موقت تخم‌گذاری و همچنین قابلیت هیچ شدن تخم‌مرغ‌ها می‌شود (۱۲). واکسیناسیون گله‌ها همچنان یکی از روش‌های مؤثر در کنترل و پیشگیری از این بیماری است (۱۳). پایش مداوم سویه‌های درگردش اهمیت ویژه‌ای در تعیین میزان کارایی واکسن‌ها و همچنین تبیین وضعیت شیوع بیماری در مناطق مختلف دارد.

در مطالعه‌ی حاضر، آنالیز فیلوژنی جدایه PCRLAB-UT-2023 را در یک خوشه در کنار جدایه‌های واکسن همچون vaccine_A_7P, vaccine_B_7P, vaccine_A و vaccine B قرار داد که می‌تواند نشانگر شباهت این با جدایه با جدایه‌های واکسن باشد. همچنین در درخت فیلوژنی این جدایه در کنار جدایه‌های دیگری نیز از کشورهای انگلستان، عربستان، چین و لهستان قرار گرفته است. آنالیز همولوژی توالی مطالعه‌ی حاضر همچنین شباهت بالایی (۹۹/۶۵ درصد) با سویه ZHP2/0912 از کشور لهستان و سویه‌ی USP-BR-463-4 از کشور برزیل و (۹۹/۲۹ درصد) با سویه‌های واکسن vaccine_B و vaccine_A نشان داد.

مطالعات مختلفی در دنیا برای بررسی سویه‌های درگردش ویروس انسفالومیلیت پرندگان انجام شده است. در سال ۲۰۱۸، De la Torre و همکاران ویروس انسفالومیلیت پرندگان را از جوجه‌های گوستی برزیل به روش RT-PCR گزارش نمودند. بر اساس آنالیز فیلوژنی ژن VP2، توالی‌های گزارش شده از این مطالعه به سویه‌ی واکسینال تجاری Calnek شباهت داشت (۱۴). در مطالعه‌ی که توسط Kim و همکاران بر روی گله‌های مولد در کره جنوبی در سال ۲۰۱۵ انجام شد، ویروس

انسفالومیلیت پرندگان به روش RT-PCR با تکثیر قطعه‌ای به طول ۶۱۹ جفت باز از ژن VP2، در جوجه‌های جوان کمتر از ۴ هفته که علائم بیماری AE را نشان دادند بین سال‌های ۲۰۰۶ تا ۲۰۱۱ ردیابی شد. همچنین در سال ۲۰۱۳ این بیماری در جوجه‌های یک‌روزه‌ی واکسینه نشده که علائم بیماری را نشان دادند ردیابی شد. بررسی‌های فیلوژنی نشان داد که این سویه‌های جدا شده به سویه‌ی واکسینال مشابه بودند (۱۵). GOTO و همکاران در مطالعه‌ی در سال ۲۰۱۹ در ژاپن، ویروس انسفالومیلیت پرندگان را در نمونه‌های مغز جوجه با استفاده از روش RT-PCR بر اساس ژن 5'UTR شناسایی کردند. بر اساس تجزیه و تحلیل فیلوژنی انجام شده در این مطالعه، سویه‌های به‌دست آمده در دو گروه A و B تقسیم‌بندی شدند. در گروه A همچنین در برگیرنده سویه‌های جدا شده از کشورهای آمریکا و چین بوده، درحالی که در گروه B سویه‌هایی از هنگ‌کنگ و مجارستان می‌باشد (۵). در مطالعه‌ی دیگری، Haryanto و همکاران در کشور اندونزی نمونه‌های بالینی را از پرندگانی که از نظر سرمی عفونت با ویروس انسفالومیلیت پرندگان در آنها تأیید شده بود را از نظر مولکولی، با تکثیر و تجزیه و تحلیل توالی ژن VP2 مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که جدایه‌ی این مطالعه واجد ۹۲ درصد همولوژی نوکلئوتیدی در مقایسه با جدایه‌ی AV1775/07 از کشور انگلستان و ۸۵ درصد همولوژی با جدایه‌ی ZHP2/0912 از کشور لهستان داشت (۱۶). در مطالعه‌ی که توسط Al-Hamnadi و همکاران انجام شد، محققین با استفاده از روش‌های مولکولی (ردیابی ژن VP2) و بافت‌شناسی به بررسی شیوع ویروس انسفالومیلیت پرندگان در استان Al-Ahsa در کشور عربستان سعودی پرداختند. نتایج تحلیل توالی‌های به‌دست آمده در این مطالعه نشان داد که سویه جدا شده در استان Al-Ahsa در کشور عربستان سعودی در این مطالعه (KSA)، ارتباط نزدیکی (۹۹/۶ درصد) با سویه‌ی اروپایی جدا شده از جوجه‌ها در لهستان (ZHP2/0912) و انگلستان (Calnek) دارد. این سویه

ردیابی و شجره‌شناسی ویروس انسفالومیت پرندگان

نشان داد که این جدایه با سویه‌های واکسن آمریکا و چین در یک دسته قرار گرفته (Cluster I) و با جدایه‌هایی از هنگ‌کنگ و مجارستان (Cluster II) تفاوت دارد. نتایج این مطالعه نشان داد که منشأ این شیوع مرتبط با واکسن بوده است (۲۰). در ارتباط با بروز بیماری به دنبال واکسیناسیون، Senties-Cué و همکاران در سال ۲۰۱۶، بروز بیماری انسفالومیلیت پرندگان را در سه گله‌ی تخم‌گذار (leghorn layer pullet) در سنین ۱۱، ۱۲ و ۱۴ هفتگی، دو هفته پس از واکسیناسیون با واکسن انسفالومیلیت پرندگان و آبله گزارش کردند (۹). همچنین در مطالعه‌ی دیگری، Glisson و همکاران بروز انسفالیت را در پولات‌های مادر گوشتی و خروس‌های (Cockerels) دو شرکت مختلف، دو هفته پس از واکسیناسیون با واکسن انسفالومیلیت پرندگان گزارش کردند (۱۰). همچنین در مطالعه‌ی Smyth و همکاران بروز انسفالومیلیت پرندگان را به دنبال واکسیناسیون خوراکی در سن ۱۴ هفتگی گزارش کردند (۲۱).

مطالعه حاضر به بررسی بروز انسفالومیلیت پرندگان در یک گله جوجه گوشتی ۱۲ روزه نژاد راس وارداتی از کشور ترکیه در استان مازندران، شمال ایران پرداخته است. نتایج تجزیه و تحلیل درخت فیلوژنی مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که جدایه‌ی PCRLAB-UT-2023 با برخی سویه‌های واکسن از جمله سویه‌ی Calnek (AJ225173) vaccine_A_7P از کشور انگلستان و سویه‌های vaccine_B_7P (KY508662)، vaccine_A (KY508663) و vaccine_B (KY508661) از کشور ایالات متحده آمریکا در یک دسته قرار می‌گیرد. همچنین بررسی همولوژی جدایه‌ی مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که این جدایه دارای همولوژی بالایی (۹۹/۲۹ درصد) با جدایه‌های واکسینال vaccine_A و vaccine_B است. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این مطالعه به نظر می‌رسد که شیوع اخیر انسفالومیلیت پرندگان، احتمالاً ممکن است مرتبط با یک سویه‌ی واکسینال از ویروس باشد که می‌تواند نشان‌دهنده اهمیت پایش گله‌ها پس از

همچنین دارای شباهت بالایی در حدود ۹۵ درصد با برخی از سویه‌های کشور چین (VR, van Reok1, LZ2) است. (۱۷). آنالیز فیلوژنی جدایه‌ی PCRLAB-UT-2023 در مطالعه‌ی حاضر، بر اساس توالی نوکلئوتیدی ژن VP2، این جدایه را با سویه‌هایی مانند ZCHP2/0912 از کشور لهستان، KSA از کشور عربستان سعودی، جدایه USP-4-BR-463 از کشور برزیل، جدایه‌ی 10Q145 از کشور کره جنوبی و جدایه‌های AEVDL21 و Gdt29 از کشور چین در یک دسته طبقه‌بندی کرد.

در ایران، Aghakhan و همکاران در سال ۱۹۹۴، حضور ویروس انسفالومیلیت پرندگان را در کشور گزارش کردند (۱۸). Asasi و همکاران در سال ۲۰۰۸ با بررسی بالینی و هیستوپاتولوژیک، نمونه‌های گرفته شده از ۶۰۰۰ پرندۀ از گله‌های گوشتی تجاری در اطراف شیراز وجود عفونت انسفالومیلیت پرندگان را در این منطقه نشان دادند. در این مطالعه علائمی همچون آتاکسی، لرزش گردن، و کشیدگی پاها به شکل مشخصی مشاهده شد. بررسی‌های پاتولوژیک، ضایعاتی مانند گلیوز، نفوذ لنفوسیت‌ها پیرامون عروق و دژنریشن نورون‌ها را در سیستم عصبی مرکزی نشان داد. در سیار بافت‌ها بررسی‌های پاتولوژیک نشان‌دهنده‌ی کانون‌های نفوذ لکوسیت‌ها در لایه‌ی ماهیچه‌ای سنگدان و تجمع لنفوسیت‌ها در لایه‌ی ماهیچه‌ای تحت مخاطی پیش‌معدۀ بود (۱۹). در مطالعه‌ی دیگری توسط Ghorani و همکاران، محققین با استفاده از آزمون RT-PCR (ردیابی ژن VP2) و بررسی‌های بالینی و هیستوپاتولوژیک نمونه‌های تهیه شده از گله‌های مرغ گوشتی تجاری از شهر کاشان در استان اصفهان، حضور ویروس انسفالومیلیت پرندگان را در نمونه‌های گرفته شده نشان دادند (۷). در مطالعه‌ی دیگری، Ghalyanchilageroudi و همکاران با بررسی نمونه‌های مغز تهیه شده از گله‌های مرغ گوشتی مشکوک به درگیری با انسفالومیلیت پرندگان در کرمانشاه، با استفاده از آزمون PCR، حضور ویروس انسفالومیلیت پرندگان را نشان دادند. نتایج تجزیه و تحلیل فیلوژنی توالی مربوط به جدایه‌ی این مطالعه (UT-Marjanmehr-2021)،

پرندگان در کشور را روشن کند و بر اهمیت پایش مداوم پرندگان وارداتی تأکید داشته باشد. مطالعات بیشتری برای روشن‌سازی وضعیت اپیدمیولوژیک ویروس انسفالومیلیت پرندگان در ایران و نقش واکسیناسیون در بروز بیماری پیشنهاد می‌شود.

واکسیناسیون باشد. علاوه بر این، این تحقیق می‌تواند به درک بهتر بروز بیماری پس از واکسیناسیون کمک کرده و بر لزوم نظارت بیشتر بر روند ساخت و توسعه واکسن‌های انسفالومیلیت طیور و پایش عملکرد واکسن پس از تجویز در گله‌ها تأکید کند. همچنین، نتایج این مطالعه می‌تواند اهمیت بررسی اپیدمیولوژیک بیماری انسفالومیلیت

References

- 1- Zhang G, Li S, Shen Z, Wang F. Progress in research on the molecular biological detection techniques of avian encephalomyelitis. *Res Vet Sci*. 2023; 159: 232-6.
- 2- Rocha PM, Barros ME, Rocha BP, Souza FD, Mendonça FD, Evêncio-Neto J. Severe outbreak of Avian encephalomyelitis in laying hens in Northeastern Brazil. *Brazilian J Poult Sci*. 2019; 21(02): eRBCA-2018.
- 3- Fan L, Li Z, Huang J, Yang Z, Xiao S, Wang X, et al. Dynamic distribution and tissue tropism of avian encephalomyelitis virus isolate XY/Q-1410 in experimentally infected Korean quail. *Arch Virol*. 2017; 162: 3447-58.
- 4- Ali MZ, Shaon MTW, Moula MM, Bary MA, Sabuj AAM, Khaled SA, et al. First report on the seroprevalence of avian encephalomyelitis virus antibody in Sonali (cross-bred) chickens in Bogura, Bangladesh. *J Adv Vet Anim Res*. 2021; 8(1): 78.
- 5- Goto Y, Yaegashi G, Kumagai Y, Ogasawara F, Goto M, Mase M. Detection of avian encephalomyelitis virus in chickens in Japan using RT-PCR. *JVMS*. 2019; 81(1): 103-6.
- 6- Yu XH, Zhao J, Qin XH, Zhang GZ. Serological evidence of avian encephalomyelitis virus infection associated with vertical transmission in chicks. *Biologicals*. 2015; 43(6): 512-4.
- 7- Ghorani M, Ghalyanchi Langeroudi A, Akramian A, Hosseini H, Rohani F. Detection of avian encephalomyelitis virus in broiler chickens in Iran using RT-PCR and histopathological methods. *Iran j virol*. 2019, 13(2): 24-8.
- 8- de FE, Back A. New occurrence of avian encephalomyelitis in broiler-is this an emerging disease? *Rev Bras Cienc*. 2015; 17(3): 399-404.
- 9- Senties-Cué CG, Gallardo RA, Reimers N, Bickford AA, Charlton BR, Shivaprasad H. Avian encephalomyelitis in layer pullets associated with vaccination. *Avian Dis*. 2016; 60(2): 511-5.
- 10- Glisson J, Fletcher O. Clinical encephalitis following avian encephalomyelitis vaccination in broiler breeder pullets. *Avian Dis*. 1987; 383-5.
- 11- Hartawan R, Dharmayanti NL. Detection of Five Virus Infections in the Layer Farm with Runting-Stunting Syndrome in Sukabumi and Tangerang Using Polymerase Chain Reaction Technique. *J Kedokt Hewan*. 2017; 11(2).
- 12- Zhang F, Luo Y, Wei Q, Xiong L, Xie Q, Tan J, et al. Research Note: Pathogenetic characteristics of avian encephalomyelitis virus in Guangdong and Jiangxi Provinces, China. *Poult Sci*. 2024; 103(2): 103264.
- 13- Lin W, Lu P, Li A, Wu Y, Li H, Chen F, et al. Assessing the efficacy of a live vaccine against avian encephalomyelitis virus. *Arch Virol*. 2018; 163: 2395-404.
- 14- De la Torre D, Nuñez L, Parra S, Astolfi-Ferreira CS, Ferreira AJP. Detection by Rt-Per and molecular characterization of tremovirus A obtained from clinical cases of avian encephalomyelitis (AE) outbreaks in Brazil. *Rev Bras Cienc*. 2018; 20: 527-36.
- 15- Kim H-R, Kwon Y-K, Lee H-S. Characterization of Avian Encephalomyelitis Outbreaks Occurred in South Korea from 2006 to 2013. *J Poult Sci*. 2015; 52(2): 151-52.
- 16- Haryanto A, Ermawati R, Wati V, Irianingsih SH, Wijayanti N. Analysis of viral protein-2 encoding gene of avian encephalomyelitis virus from field specimens in Central Java region, Indonesia. *Vet World*. 2016; 9(1): 25-31.
- 17- Al-Hammadi MA, Al-Rasheed M. Occurrences of avian encephalomyelitis virus in naturally infected chicks in Saudi Arabia's Eastern Province. *Open Vet J*. 2024; 14(1): 335-40.
- 18- Aghakhan S, Abshar N, Fereidouni SRN, Marunesi C, Khodashenas M. Studies on avian viral infections in Iran. *Arch Razi Inst*. 1994.
- 19- Asasi K, Farzinpour A, Tafti AK. Clinico-

pathological studies on avian encephalomyelitis in Shiraz, Iran. *Turk J Vet Anim Sci.* 2008; 32(3): 229-31.

20- Ghalyanchilangeroudi A, Madani SA, Najafi H, Ziafati Kafi Z, Sadri N, Sarmadi S, *et al.* The full genome characterization of avian

encephalomyelitis virus, Iran: a vertical transmission case. *Virus Genes.* 2024: 1-9.

21- Smyth JA, McNeilly F, Reilly G, McKillop ER, Cassidy J. Avian encephalomyelitis following oral vaccination. *Avian Pathol.* 1994; 23(3): 435-45.




Detection and Phylogenetic Analysis of Avian Encephalomyelitis Virus: Study of an Imported Clinical Case

Hossein Hosseini¹, Zahra Ziafati Kafi², Soroush Sarmadi², Fahimeh Jamiri², Alireza Bakhshi², Nazanin Sarvian², Omid Eghbali², Arash Ghalyanchi Langeroudi^{2*}

1- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
2- Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

Receive: September 22, 2024; Revise: January 06, 2025; Accept: January 07, 2025

 10.22034/nfvm.2025.479736.1257

Summary

Avian encephalomyelitis (AE) is an infectious disease caused by the avian encephalomyelitis virus (AEV). In present study, brain tissue samples were collected from a 12-day-old broiler flock (imported from Turkey) located on farms in Mazandaran Province, Iran. The flock exhibited neurological symptoms suggestive of avian encephalomyelitis, including ataxia, intermittent tremors, head and neck shaking, weakness in the legs, and paralysis. Molecular testing and VP2 gene sequence analysis were performed. According to the results the strain PCRLAB-UT -2023 showed the highest similarity (99.65%) to strain ZCHP2/0912 from Poland and strain USP-BR-463-4 from Brazil. Further analysis revealed a high similarity (99.29%) of the current isolate with some of previously submitted vaccine strains in GenBank. This study reports the first case of AEV introduction into the country through importing an infected flock highlighting the importance of regular epidemiological investigations and continuous monitoring of imported birds. Furthermore, the genetic similarity between the isolate in this study and some registered vaccine strains in GenBank necessitate more precise monitoring of vaccination efficacy and post-vaccination surveillance. The findings can contribute to a better understanding of the potential mechanisms of live vaccine virus transmission and its impact on poultry flocks health, emphasizing the need to strengthen the monitoring of the origin of imported flocks.

Keywords: *Avian encephalomyelitis, Poultry, Vaccine, Phylogeny*



تشخیص مولکولی و غربالگری آلودگی به باکتری *Wolbachia* در ساس‌های سیمکس همیپتروس شهر مشهد، ایران

مهدی باباگلزاده^۱، نادیا طایفی نصرآبادی^۲، الهام مقدس^۲، علی مشاورینیا^۳

- ۱- گروه انگل‌شناسی دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.
- ۲- گروه انگل‌شناسی و فارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
- ۳- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

دریافت مقاله: ۹ دی ۱۴۰۳، بازنگری: ۲۰ دی ۱۴۰۳، پذیرش نهایی: ۲۴ دی ۱۴۰۳



10.22034/nfvm.2025.496595.1272

چکیده

باکتری‌های *Wolbachia* و *لباخیا* که در بسیاری از حشرات از جمله ساس‌ها شناسایی شده‌اند باکتری‌های درون سلولی هستند و به صورت عمودی قابل انتقال هستند. با وجود انجام چندین مطالعه بر روی شیوع باکتری *لباخیا* در ساس‌های سیمکس لکتولاریس *Cimex lectularius*، تاکنون مطالعه چاپ شده‌ای در این زمینه در میان جمعیت ساس‌های سیمکس همیپتروس *Cimex hemipterus* در ایران منتشر نشده است. مطالعه حاضر به منظور بررسی مولکولی شناسایی باکتری *لباخیا* به باکتری *ولباکیا* در میان ساس‌های جمع‌آوری شده از شهرستان مشهد انجام پذیرفته است. نمونه‌های ساس تختخواب از مناطق مختلف شهر مشهد جمع‌آوری شدند. محل‌های نمونه‌برداری شامل آپارتمان‌های قدیمی و خوابگاه‌های کارگران بود. به طور کلی، تعداد ۳۵ جمعیت ساس جمع‌آوری و سیمکس همیپتروس تشخیص داده شد. روش مولکولی شناسایی باکتری *لباخیا* بر اساس مارکر پروتئین سطحی *لباخیا* (WSP) و مقایسه با سایر توالی‌های ثبت شده *لباخیا* در بانک ژنی انجام شد. بر اساس مطالعه حاضر، ۱۳ ایزولیت از ۳۵ جمعیت جمع‌آوری شده (۳۷/۱۴ درصد) از لحاظ آلودگی به *لباخیا* مثبت گزارش شد. توالی ژن تکثیر یافته در این مطالعه، با توالی‌های ژن WSP در سیمکس همیپتروس ثبت شده در بانک ژن ۹۷/۳۵ درصد، سیمکس لکتولاریوس ۹۵/۷۱ درصد و سیمکس ویکاریوس ۹۵/۶۰ درصد مشابهت داشتند. ترسیم درخت فیلوژنی بر اساس ژن WSP نشان داد *لباخیا*‌های با منشأ سیمکس همیپتروس در یک کلاد قرار می‌گیرند و نمونه تعیین توالی شده در مطالعه حاضر نیز در همین کلاد قرار گرفت. مطالعه حاضر اولین مطالعه روی این باکتری در ساس سیمکس همیپتروس ایران می‌باشد.

واژگان کلیدی: ساس تختخواب، سیمکس همیپتروس، *لباخیا*، مشهد

مقدمه

ظهور ساس تختخواب در ساختمان‌ها و مناطق مسکونی در سراسر جهان مشکلات فراوانی را به وجود آورده است. دو گونه رایج از این انگل‌های خون‌خوار عبارتند از ساس تختخواب معمولی (سیمکس لکتولاریس) که به‌طور معمول در مناطق معتدل زندگی می‌کند و ساس تختخواب گرمسیری (سیمکس همیپیتروس) که در مناطق گرمسیری یافت می‌شوند (۱). این حشرات اعضای خانواده سیمیسیده هستند که از خون انسان، پرندگان و خفاش‌ها تغذیه می‌کنند (۲). گرچه گزش این حشرات ممکن است تحریک پوستی ایجاد کند، اما تا کنون نقش آنها در انتقال پاتوژن‌ها اثبات نشده است (۳). بلو و همکاران گزارش کرده‌اند که احتمالاً این موجودات قادر به انتقال مکانیکی ویروس هپاتیت ب می‌باشند (۴). اخیراً سالازار و همکاران و همچنین لولمی و همکاران نقش توانایی ناقل بودن سیمکس لکتولاریس برای تریپانوزوم کروزوی و بارتونلا کوبینتانا در شرایط آزمایشگاهی را بررسی کردند. همچنین در مطالعه‌ای دیگر توسط سانز و همکاران، عفونت ساس‌های تختخواب به بورخولدیریا مولتی و رانس گزارش شد (۵). انتشار ساس‌های تختخواب معمولاً توسط مسافرین بین‌المللی، مکان‌های عمومی و حتی مکان‌های مسکونی اتفاق می‌افتد. با وجود تمام واقعیت‌های گفته شده بالا، هیچ‌گونه گزارش موردی مستدلی که نشان دهد ساس‌های تختخواب در شرایط طبیعی قادر به انتقال پاتوژن‌ها به انسان باشند وجود ندارد. در مطالعات مختلف نشان داده شده است که باکتری ولباخیا به تناوب از حشرات مختلف جدا می‌شود (۶). این ارگانسیم یک باکتری همزیست درون‌سلولی است که می‌تواند به‌صورت عمودی شبیه به باکتری‌های ریکتزایی انتقال یابد. این باکتری‌ها به‌صورت گسترده باعث آلودگی نماتودها و حشرات می‌شوند. ولباخیا قادر به تأثیرات مخرب بر روی سیستم تولید مثلی میزبان خود هستند. با توجه به این توانایی‌ها، باکتری ولباخیا به‌عنوان کاندیدی جهت کنترل انتشار بیماری‌های ویروسی و انگل‌های پاتوژن قابل انتقال توسط حشرات از قبیل تب

دانگ و مالاریا مطرح هستند (۷). جداسازی و شناسایی باکتری‌های ولباخیا از طیف گسترده‌ای از حشرات نشان می‌دهد که این میزبان‌ها با سویه‌های مختلفی از ولباخیا آلوده می‌شوند. به‌عنوان مثال در مطالعه گذشته که توسط چویی و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام شد، نشان داده شد که سه گونه مختلف سوسک با سویه‌های مختلف این باکتری آلوده شده‌اند (۸). جستجو و غربالگری ولباخیا به‌صورت عمده در ساس‌های سیمکس لکتولاریس انجام شده است (۹)، در حالی که وجود این باکتری در ساس‌های سیمکس همیپیتروس نیز امکان‌پذیر است. با وجود دانستن انتشار عفونت ولباخیا در میان میزبانان بندپای مختلف، میزان شیوع آلودگی به ولباخیا در جمعیت‌های ساس تختخواب جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران به اندازه کافی مطالعه نشده است. مطالعه حاضر به‌منظور ارزیابی آلودگی ساس‌های سیمکس همیپیتروس جمع‌آوری شده از شهرستان مشهد به باکتری ولباخیا با کمک تکنیک‌های مولکولی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری ساس‌ها: تعداد ۳۵ جمعیت و از هر جمعیت حداقل ۱۰ عدد ساس تختخواب بین سال‌های ۱۳۹۶ تا ۱۴۰۲ از مناطق مختلف شهر مشهد جمع‌آوری شدند. محل‌های نمونه‌برداری شامل آپارتمان‌های قدیمی و خوابگاه‌های کارگران بود. نمونه‌ها در ظروف نمونه‌گیری قرار گرفته و بر اساس محل جمع‌آوری شماره‌گذاری شدند و در اتانول ۹۶ درجه قرار گرفتند. بخشی از نمونه‌ها به دمای منفی ۲۰ درجه به‌منظور نگهداری ماده ژنومیک انتقال داده شدند.

استخراج ماده ژنومیک: استخراج ماده ژنومیک باکتری از ساس‌های مورد مطالعه با کمک کیت استخراج ژنومیک کیا/امپ (کیاژن، هیلدن، آلمان) بر اساس پروتکل کیت انجام شد. ماده ژنومیک استخراج شده در دمای منفی ۲۰ درجه قرار داده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز: در مطالعه حاضر از مارکر

(پارس طوس، مشهد) انتقال و جداسازی شدند و در ادامه تحت ترانس لومیناتور مشاهده شدند.

تعیین توالی کردن: ملاک اصلی در تعیین عفونت ولباخیا در ساس‌های مورد مطالعه، بر اساس تکثیر موفقیت‌آمیز شاخص‌های مولکولی بود. بعلاوه، نمونه‌هایی که توسط تکنیک مولکولی مثبت گزارش می‌شدند به صورت دوطرفه تعیین توالی شدند (تکاپوزیست، ایران). تمامی نمونه‌های مثبت از محصولات مولکولی از ژن WSP از روی ژل الکتروفورز با استفاده از کیت تخلیص از ژل تخلیص و تعیین توالی شدند. تعیین توالی به کمک دستگاه تعیین توالی ABI 3730 انجام گردید. توالی‌های ارسال شده به منظور ارزیابی اشتباهات احتمالی در خوانش مورد ارزیابی قرار گرفتند. مشابهت‌یابی با توالی‌های ثبت شده موجود در بانک ژنی با استفاده از نرم‌افزار ارزیابی مشابهت‌یابی (Blast) انجام گرفت.

نتایج

در این مطالعه، تعداد ۳۵ جمعیت ساس تختخواب از مناطق مختلف شهر مشهد جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. همه این جمعیت‌ها بر اساس مشخصات ریخت‌شناسی به‌ویژه نسبت عرض پیش‌سینه به طول آن، سیمکس همیپتروس تشخیص داده شدند. از هر جمعیت یک ساس به‌منظور شناسایی ژن WSP باکتری ولباخیا مورد ارزیابی مولکولی قرار گرفت. نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز نشان داد ۱۳ جمعیت از ۳۵ جمعیت مورد بررسی به باکتری ولباخیا آلوده بودند (تصویر ۱). به این ترتیب میزان شیوع آلودگی به ولباخیا در جمعیت‌های ساس جمع‌آوری شده از شهر مشهد ۳۷/۱۴ درصد محاسبه گردید.

مولکولی ولباخیا، ژن مرتبط با پروتئین سطحی ولباخیا (WSP) به‌منظور بررسی آلودگی به ولباخیا در ساس‌ها استفاده شد. به‌منظور تکثیر ژن‌های مورد بررسی با استفاده از تکنیک تکثیر پلیمرز (PCR)، ماده ژنومیک حاصل بافت از کل بدن ساس‌ها با دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، هامبورگ، آلمان) مورد غربالگری قرار گرفتند. برای این منظور پرایمر اختصاصی این ژن شامل پرایمرهای 81F (F: 5'-TGG TCCAATAAGTGATGAAGAAAC-691R (R: 5'-AAAAATTAAACG (3'-CTACTCCA-3') به‌منظور تکثیر قطعه‌ای ۶۰۰ جفت بازی مورد استفاده قرار گرفت (۱۰). پروتکل واکنش تکثیر زنجیره‌ای ژن پروتئین سطحی شامل دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه؛ ۳۵ سیکل با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه؛ ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و دمای ۷۲ درجه به مدت ۱ دقیقه و تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه بود. همه پروتکل‌های واکنش زنجیره‌ای در مخلوطی شامل ۱۲/۵ میکرولیتر از آنزیم تگ دی‌ان‌ای پلیمرز مسترمیکس (دانمارک)، ۳ میکرولیتر از ماده ژنومیک استخراج شده و ۱ میکرولیتر از هر پرایمرهای رفت و برگشت با غلظت ۵ میکرومولار به‌منظور غربالگری باکتری ولباخیا استفاده شد. از آب مقطر دو بار تقطیر به‌منظور رساندن مخلوط واکنش به حجم ۲۵ میکرولیتر استفاده شد. واکنش تکثیر زنجیره‌ای کنترل مثبت و کنترل منفی نیز به‌صورت همزمان انجام شد. به‌منظور تهیه کنترل منفی از آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شد. کنترل مثبت در مطالعه حاضر ماده ژنومیک استخراج شده از درزوفیلا ملانوغاستر آلوده به باکتری ولباخیا بود. قطعات تکثیر یافته در مطالعه حاضر بر روی ژل الکتروفورز ۱/۵ درصد رنگ شده با گرین ویور



تصویر ۱- الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد برای ژن WSP ولباخیا در ساس‌های سیمکس همیپتروس شماره ۱ تا ۱۳: نمونه‌های آلوده به ولباخیا، P: کنترل مثبت، Marker: مارکر 100 bp ، N: کنترل منفی

نتایج Blast نشان داد که توالی ژن‌های تکثیر یافته در این مطالعه، با توالی‌های ژن WSP در سیمکس همیپتروس ثبت شده در بانک ژن ۹۷/۳۵ درصد، سیمکس لکتولاریوس ۹۵/۷۱ درصد و سیمکس ویکاریوس ۹۵/۶۰ درصد مشابهت داشتند (MF687879; KR706518; MF687886).

نتایج تعیین توالی: قطعات تکثیر یافته با استفاده از پرایمرهای WSP با روش سنگر تعیین توالی شدند. صحت خوانش نوکلئوتیدها در توالی‌های به‌دست آمده با نرم‌افزار Chromas بررسی و پس از انجام هم‌ردیف‌سازی، با توالی‌های ولباخیا ثبت شده در بانک ژنی مقایسه شدند.

Wolbachia endosymbiont of Cimex hemipterus isolate chembor surface protein (wps) gene, partial cds

Sequence ID: [MF687879.1](#) Length: 563 Number of Matches: 1

Range 1: 338 to 563 [GenBank](#) [Graphics](#)

[Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
385 bits(208)	5e-102	220/226(97%)	0/226(0%)	Plus/Plus
Query 321	ACCCCTTTAAAGAGCACTGCGGGAGATAAAAAACATAGATTTGGTTTTGCTTACCAAGCAA	380		
Sbjct 338	ACCCCTTTAAAGAGCACTGCGGGAGATAAAAAACATGGATTTGGTTTTGCTTACCAAGCAA	397		
Query 381	AAACTGGTGTAACTATGATGTAACCTCCAGAAATCAATCTTTATGCTGGTGCTCGCTATT	440		
Sbjct 398	AAACTGGTGTAGCTATGATGTAACCTCCAGAAATCAAGCTTTATGCTGGTGCTCGCTATT	457		
Query 441	TCGGCTCTTATGGCGCTAACCTTGGGCAAAAAACAAATCCTGCACATCCTGGCGATA	500		
Sbjct 458	TCGGCTCTTATGGCGCTAGCTTTGATGGGCAAAAAACAAAGATCCTGCACATCCTGGCGATA	517		
Query 501	TAACCAAAAAGGTTACTGATGAAGGCGTATACAAAGTCCTTTACAG	546		
Sbjct 518	TAACCAAAAAGGTTACTGATGAAGGCGTATACAAAGTCCTTTACAG	563		

تصویر ۲- همسان‌سازی توالی ژن WSP تعیین توالی شده در مطالعه حاضر با ژن مشابه در سیمکس همیپتروس ثبت شده در بانک ژن با شماره

دسترسی MF687879

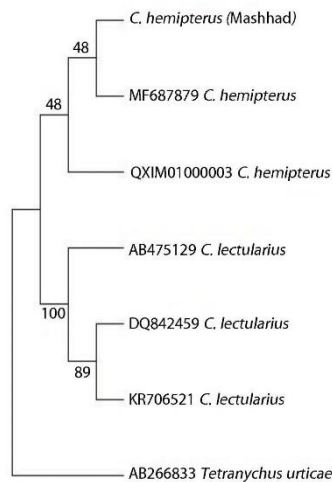
WSP در ساس‌های مورد مطالعه قرابت ژنتیکی زیادی به توالی این ژن در ولباخیا جدا شده از سیمکس همیپتروس (با منشأ نامشخص) با شماره دستیابی بانک ژن MF687879 داشت. در عین حال توالی ژن WSP ولباخیا جدا شده از سیمکس همیپتروس در مالزی با شماره

چندین توالی از ژن WSP ولباخیاهای جدا شده از ساس سیمکس در بانک ژن که شباهت زیادی به توالی به‌دست آمده از مطالعه حاضر داشتند و یک توالی با مشابهت بسیار کم (Out group) انتخاب و با استفاده از نرم‌افزار MEGA11 درخت فیلوژنی رسم گردید. توالی ژن

تشخیص مولکولی و غربالگری آلودگی به باکتری ولباخیا در ساس‌های سیمکس همیپتروس ...

درخت فیلوژنی رسم شده در تصویر شماره ۲ قابل مشاهده می‌باشد.

دست‌یابی بانک ژن QXIM01000003 قرابت ژنتیکی کمتری با توالی این ژن در مطالعه حاضر داشت. جزئیات



تصویر ۳- درخت فیلوژنی ولباخیا جدا شده از ساس سیمکس همیپتروس در مشهد و مقایسه آن با ولباخیا‌های جدا شده از ساس سیمکس در دنیا بر اساس شباهت توالی ژن WSP

بحث و نتیجه‌گیری

با ظهور *PCR*، استفاده از روش‌های مولکولی توانست روش‌های رایج باکتری‌شناسی سنتی را کنار بگذارد (۱۱). تاکنون مطالعات محدودی برای تشخیص عفونت‌های ولباخیا در نمونه‌های ساس تختخواب گرمسیری و همچنین سیمکس لکتولاریس با استفاده از تست‌های مولکولی انجام شده است (۱۲-۱۵). مطالعات فراوانی نیز بر روی شیوع این باکتری در سایر حشرات انجام شده است (۱۶، ۱۷). باکتری مذکور قادر به تأثیرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گوناگون بر روی میزبان خود است. این باکتری قادر به ایجاد تغییرات در سیستم تولید مثلی میزبان خود است (۶، ۱۸). ولباخیا در میزبان‌های خود تغییراتی شامل ناسازگاری سیتوپلاسمی، القای بکرزایی، کشتن نرها و ماده‌سازی به وجود می‌آورد. مهم‌ترین تغییر این باکتری در میزبان خود، ناسازگاری سیتوپلاسمی است (۱۸). این حالت زمانی اتفاق می‌افتد که یک حشره نر آلوده به این باکتری با یک حشره ماده غیر آلوده جفت‌گیری می‌کند. ناسازگاری سیتوپلاسمی ممکن است تک‌سویه (آلوده به یک سویه از ولباخیا)، دوسویه (آلوده به دو سویه از ولباخیا) و یا حتی با سویه‌های

مختلفی از این باکتری آلوده باشد (۱۹)؛ بنابراین دانستن میزان شیوع ولباخیا در حشرات بسیار ضروری است؛ زیرا این باکتری دارای یک نقش مهم در کنترل جمعیت حشرات میزبان خود است (۲۰). مطالعات گوناگونی به‌منظور بررسی شیوع ولباخیا در میزبانان بندپای مختلف از جمله ساس‌های تختخواب انجام شده است. به‌طور کلی، سیمکس لکتولاریس و سیمکس همیپتروس دو گونه ساس انسان‌دوست با توانایی‌های مختلف در تحمل فاکتورهای محیطی مخصوصاً دما می‌باشند (۱۵). به‌طور مثال، ساس تختخواب گرمسیری دارای تحمل بالاتر نسبت به دمای بالا هستند و به‌طور معمول در کشورهای گرمسیری زندگی می‌کنند؛ بنابراین تصور می‌شود انتشار جغرافیایی باکتری ولباخیا در دو گونه ساس تختخواب متفاوت باشد. محققان نشان داده‌اند که آب و هوا و همچنین جغرافیا از فاکتورهای مهم دخیل در میزان شیوع ولباخیا می‌باشند (۲۱).

در مطالعه حاضر مشخص شد میزان شیوع ولباخیا در ساس‌های سیمکس همیپتروس جمع‌آوری شده از مناطق مختلف شهر مشهد ۳۷/۱۴ درصد است. این میزان آلودگی در مقایسه با مطالعه‌ای که در کامرون بر روی سیمکس

نامشخص (انجام شده در اروپا) نسبت به سیمکس همیپتروس مالزی دیده شد. این وضعیت در مورد سیمکس لکتولاریوس نیز صدق می‌کند و گونه ژاپن (AB475129) با دو گونه نزدیک به هم اروپا (KR706521) و آمریکا (DQ842459) فاصله بیشتری دارد. داده‌ها در خصوص توالی ژن WSP در ولباخیا همزیست با ساس‌ها بسیار محدود و کم می‌باشد و از ساس‌های ایران هیچ گزارشی وجود ندارد. بنابراین در مطالعه حاضر برای مشابهت‌یابی و ترسیم درخت فیلوژنی محدودیت‌هایی وجود داشت و امکان مقایسه توالی به دست آمده با داده‌ای از ایران و کشورهای همسایه وجود نداشت.

مطالعه حاضر اولین گزارش ولباخیا در ساس سیمکس همیپتروس و توالی‌یابی ژن WSP مربوط به آن در ایران می‌باشد. در این مطالعه میزان شیوع باکتری ولباخیا در جمعیت‌های ساس سیمکس همیپتروس جمع‌آوری شده از مناطق مختلف شهر مشهد ۳۷/۱۴ درصد گزارش گردید. مقایسه توالی نوکلئوتیدی ژن WSP این باکتری در مطالعه حاضر با توالی‌های ژن مشابه در بانک ژنی نشان‌دهنده شباهت بیشتر با ولباخیا جدا شده از ساس سیمکس همیپتروس و در درجه بعدی سیمکس لکتولاریوس بود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و امتنان خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج که هزینه این تحقیق را در قالب پژوهانه از طریق هزینه‌کرد پایان‌نامه‌های دانشجویان (پایان‌نامه دکتری) فراهم نموده‌اند، اعلام می‌دارند.

References

- 1- Tiotour M, Shaddel M, Aminianfar M, Mirahmadi H, Barzegar G, Solgi R, et al. Identification of Knockdown Resistance Mutations in the Cimex hemipterus (Hemiptera: Cimicidae) in Iran. *Am J Trop Med Hyg*. 2022; 107(1): 204.
- 2- Doggett SL, Lee C-Y. Historical and Contemporary Control Options Against Bed Bugs, Cimex spp. *Annu Rev Ent*. 2023; 68: 169-90.
- 3- Zorrilla-Vaca A, Silva-Medina MM,

همیپتروس انجام شده و میزان آلودگی به ولباخیا را ۴/۸ درصد گزارش کرده است همخوانی ندارد (۲۲). مطالعه انجام شده بر روی ساس سیمکس لکتولاریوس در فرانسه در سال ۲۰۱۶ میزان آلودگی به ولباخیا را ۳۸/۲۰ درصد گزارش کرد که به نتایج حاصل از مطالعه حاضر نزدیک است (۹). مطالعه دیگری روی ساس‌های سیمکس همیپتروس و سیمکس لکتولاریوس در پاریس و اطراف آن میزان شیوع آلودگی به ولباخیا را ۷۱/۷۰ درصد نشان داد که نسبت به نتایج مطالعه حاضر بیشتر می‌باشد (۲۳). بررسی میزان فراوانی آلودگی به ولباخیا در ساس سیمکس لکتولاریوس در آمریکا نشان داده است هیچ رابطه معنی‌داری بین میزان فراوانی آلودگی به ولباخیا و منطقه جغرافیایی، جنسیت و مراحل مختلف زندگی ساس وجود ندارد (۲۴). تفاوت در میزان شیوع آلودگی به ولباخیا در ساس‌ها در مطالعات مختلف و از طرفی اهمیت این مسأله در کنترل این انگل نیازمند مطالعات بیشتری است و می‌تواند زمینه تحقیقاتی مناسبی برای پژوهشگران این حوزه باشد.

نتایج مشابهت‌یابی توالی ژن WSP با توالی‌های مشابه در بانک ژنی مشابهت حدود ۹۷ درصد با توالی همین ژن در ساس سیمکس همیپتروس با منشأ نامشخص نشان داد. ترسیم درخت فیلوژنی نیز این یافته‌ها را تأیید کرد و نشان داد توالی ژن‌های WSP مربوط به سیمکس همیپتروس در یک شاخه اصلی و سیمکس لکتولاریوس در شاخه مجزایی قرار می‌گیرند. با این حال قرابت ژنتیکی بیشتری بین سیمکس همیپتروس مشهد با گونه همیپتروس با منشأ

Escandón-Vargas K. Bedbugs, Cimex spp.: their current world resurgence and healthcare impact. *Asian Pac J Trop Dis*. 2015; 5(5): 342-52.

4- Blow JA, Turell MJ, Silverman AL, Walker ED. Stercorarial shedding and transtadial transmission of hepatitis B virus by common bed bugs (Hemiptera: Cimicidae). *J Med Entomol*. 2001; 38(5): 694-700.

5- Saenz VL, Maggi RG, Breitschwerdt EB,

Kim J, Vargo EL, Schal C. Survey of Bartonella spp. in US bed bugs detects Burkholderia multivorans but not Bartonella. *PLoS One*. 2013; 8(9): e73661.

6- Landmann F. The Wolbachia endosymbionts. *Microbiol Spectr*. 2019; 7(2).

7- Manoj RRS, Latrofa MS, Epis S, Otranto D. Wolbachia: endosymbiont of onchocercid nematodes and their vectors. *Parasites & vectors*. 2021; 14(1): 1-24.

8- Hassan NHM, Ismail DE, Seri Masran SNA, Majid AHA. Molecular detection and screening of Wolbachia infections in tropical bed bugs Cimex hemipterus (Hemiptera: Cimicidae) from Peninsular Malaysia populations. *Malays J Microbiol*. 2019; 15(2): 166-172.

9- Akhoundi M, Cannet A, Loubatier C, Berenger J-M, Izri A, Marty P, et al. Molecular characterization of Wolbachia infection in bed bugs (Cimex lectularius) collected from several localities in France. *Parasite*. 2016; 23.

10- Zhou W, Rousset F, O'Neill S. Phylogeny and PCR-based classification of Wolbachia strains using wsp gene sequences. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biol Sci*. 1998; 265(1395): 509-15.

11- Wang Z-y, Deng C, Yun Y-l, Jian C, Peng Y. Molecular detection and the phylogenetics of Wolbachia in Chinese spiders (Araneae). *J Arachnol*. 2010; 38(2): 237-41.

12- Rasgon JL, Scott TW. Phylogenetic characterization of Wolbachia symbionts infecting Cimex lectularius L. and Oeciacus vicarius Horvath (Hemiptera: Cimicidae). *J med entomol*. 2004; 41(6): 1175-8.

13- Sakamoto JM, Feinstein J, Rasgon JL. Wolbachia infections in the Cimicidae: museum specimens as an untapped resource for endosymbiont surveys. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72(5): 3161-7.

14- Fisher ML, Watson DW, Osborne JA, Mochizuki H, Breen M, Schal C. Growth kinetics of endosymbiont Wolbachia in the common bed bug, Cimex lectularius. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 11444.

15- Ndiaye EHI, Diatta G, Diarra AZ, Berenger JM, Bassene H, Mediannikov O, et al.

Morphological, molecular and MALDI-TOF MS identification of bedbugs and associated Wolbachia species in rural Senegal. *J Med Entomol*. 2022; 59(3): 1019-32.

16- Kaur R, Shropshire JD, Cross KL, Leigh B, Mansueto AJ, Stewart V, et al. Living in the endosymbiotic world of Wolbachia: a centennial review. *Cell host & microbe*. 2021; 29(6): 879-93.

17- Ogunlade ST, Meehan MT, Adekunle AI, Rojas DP, Adegboye OA, McBryde ES. A review: Aedes-borne arboviral infections, controls and Wolbachia-based strategies. *Vaccines*. 2021; 9(1): 32.

18- Fukatsu T, Gottlieb Y, Duron O, Graf J. Microbial associates of blood-sucking arthropods and other animals: relevance to their physiology, ecology and evolution. *Front Microbiol*. 2023; 14.

19- Turelli M, Katznelson A, Ginsberg PS. Why Wolbachia-induced cytoplasmic incompatibility is so common. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2022; 119(47): e2211637119.

20- Bourtzis K. Wolbachia-based technologies for insect pest population control. *Transgenesis and the management of vector-borne disease*. 2008: 104-13.

21- Toju H, Fukatsu T. Diversity and infection prevalence of endosymbionts in natural populations of the chestnut weevil: relevance of local climate and host plants. *Mol Ecol*. 2011; 20(4): 853-68.

22- Ngnindji-Youdje Y, Lontsi-Demano M, Zan Diarra A, Mahamat MA, Tchuinkam T, Berenger JM, et al. Morphological, molecular, and MALDI-TOF MS identification of bed bugs and associated Wolbachia species from Cameroon. *Acta Trop*. 2004; 249.

23- Chebbah D, Hamarsheh O, Sereno D, Elissa N, Brun S, Jan J, et al. Molecular characterization and genetic diversity of Wolbachia endosymbionts in bed bugs (Hemiptera: Cimicidae) collected in Paris. *PLoS One*. 2023; 18(9).

24- Sakamoto JM, Rasgon JL. Geographic distribution of Wolbachia infections in Cimex lectularius (Heteroptera: Cimicidae). *J Med Entomol*. 2006; 43(4): 696-700.



Molecular characterization of *Wolbachia* infection in tropical bedbugs (*Cimex hemipterus*) collected from Mashhad city, Iran

Mahdi Babagolzadeh¹, Nadia Taiefi Nasrabadi^{1*}, Elham Moghaddas², Ali Moshaverinia³

1- Department of Veterinary Parasitology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

2- Department of Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

3- Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Receive: December 29, 2024; Revise: January 09, 2025; Accept: January 13, 2025



10.22034/nfvm.2025.496595.1272

Summary

Wolbachia bacteria, which have been identified in many insects including mosquitoes, are intracellular bacteria and can be transmitted vertically. Despite numerous studies on the prevalence of *Wolbachia* in *Cimex lectularis* population, no published studies have reported on this topic among tropical bedbug's populations in Iran. The present study was conducted to investigate the molecular prevalence of *Wolbachia* bacteria among tropical bedbug from Mashhad city. Bed bugs were collected from different areas of Mashhad city. The sampling locations included old apartments and workers' dormitories. In total, 35 bed bug isolates were collected and identified as *Cimex hemipterus*. The molecular identification method of *Wolbachia* bacteria was performed based on the *Wolbachia* surface protein (WSP) and comparison with other registered *Wolbachia* sequences in the GeneBank. According to the present study, 13 isolates out of 35 populations of *C. hemipterus* (37.14%) were found to be infected with *Wolbachia*. The sequences obtained from this study were edited, aligned and compared to homologous sequences in GenBank. The results showed 97.35%, 95.71% and 95.60% identity with WSP gene sequence of *C. hemipterus*, *C. lectularis* and *C. vicarius*, respectively. The phylogenetic tree based on WSP gene showed that *Wolbachia* with *C. hemipterus* origin were clustered together as a clade and sequenced WSP gene in this study was placed in this clade. This is the first study on *Wolbachia* endosymbiont bacterium in *C. hemipterus* in Iran.

Keywords: *Wolbachia*, bedbugs, *Cimex hemipterus*, Mashhad



بررسی تأثیر عصاره‌ی پیاز، اسانس لیموترش و نیسین بر رفتار باکتری *اشریشیاکلی* تلقیح شده در گوشت چرخ‌شده بلدرچین نگهداری شده در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد

زهرا افشارمنش^۱، محمد رهنما^{*}، مجید علیپور اسکندانی^۲، غلامحسین حقایق^۳ و سعید سالاری^۴

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
- ۲- دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
- ۳- استادیار، گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
- ۴- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ۱۹ خرداد ۱۴۰۴، بازنگری: ۲۶ مرداد ۱۴۰۴، پذیرش نهایی: ۲۸ مرداد ۱۴۰۴

doi 10.22034/nfvm.2025.529414.1289

چکیده

یکی از مهم‌ترین گونه‌های باکتریایی که از طریق مصرف گوشت طیور منتقل می‌شود باکتری *اشریشیاکلی* می‌باشد. بنابراین استفاده از نگهدارنده‌های با خصوصیات ضد باکتریایی در فرآورده‌های طیور ضروری به نظر می‌رسد. لذا در مطالعه حاضر تأثیر آنتی‌باکتریایی عصاره‌ی پیاز، اسانس لیموترش و نیسین علیه باکتری *اشریشیاکلی* در گوشت چرخ‌شده بلدرچین طی دوره نگهداری در یخچال بررسی گردید. تیمار کنترل (بدون نگهدارنده) و رفتار باکتری *اشریشیاکلی* در تیمارهای حاوی عصاره‌ی پیاز (غلظت‌های ۲/۵ درصد، ۵ و ۱۰ درصد)، اسانس لیموترش (غلظت‌های ۲، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرولیتر در گرم) و نیسین (غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم در گرم) به صورت دوره‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. اسانس لیموترش با غلظت ۳۰ میکرولیتر در گرم توانست از روز یک تا پایان دوره نگهداری، تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را به صفر برساند و به‌طور کامل مانع رشد باکتری شود. عصاره‌ی پیاز و نیسین اگرچه اثر مهارکنندگی ناچیزی بر باکتری *اشریشیاکلی* داشتند، اما استفاده توأم آنها موجب افزایش خاصیت بازدارندگی آنها بر روی باکتری *اشریشیاکلی* شد. با توجه به نتایج، عصاره‌ی پیاز در ترکیب با نیسین و اسانس لیموترش می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌باکتریال طبیعی در فرآورده‌های طیور استفاده گردد.

واژگان کلیدی: *اشریشیاکلی*، بلدرچین، پیاز، لیموترش، نیسین

مقدمه

گوشت بلدرچین، از نظر ارزش تغذیه‌ای، منبعی غنی از پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه ضروری، ویتامین‌ها، مواد معدنی از قبیل سدیم، پتاسیم، آهن، فسفر و همچنین اسیدهای چرب ضروری از جمله اسید لینولئیک و اسید لینولئیک است و در عین حال حاوی مقدار کمی چربی و کلسترول می‌باشد (۱-۵). علاوه بر ارزش غذایی بالا، مقرون به صرفه بودن نیز سبب شده که گوشت بلدرچین به‌عنوان یکی از منابع تأمین‌کننده پروتئین، مورد توجه قرار گیرد (۵). با این حال، همانند سایر گوشت‌های سفید و قرمز، در صورت عدم رعایت اصول بهداشتی در مراحل کشتار، فرآوری، نگهداری و عرضه، می‌تواند محیطی مناسب برای رشد باکتری‌های بیماری‌زا شود (۶). از جمله مهم‌ترین این باکتری‌ها / شریشیا کلی (*E. coli*) است که حضور آن در محصولات غذایی می‌تواند منجر به بروز مسمومیت‌های شدید گوارشی در انسان شود. بنابراین بررسی نقش و اهمیت کنترل *E. coli* در فرآورده‌های حاصل از گوشت بلدرچین، جایگاهی اساسی در تضمین ایمنی و سلامت مصرف‌کنندگان دارد (۷، ۸). باکتری / شریشیا کلی نوعی باسیل گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه است (۹). این باکتری بیماری‌زای روده‌ای عامل مهم اسهال و اختلالات گوارشی در کشورهای در حال توسعه و مکان‌هایی با فقر بهداشتی است. این باکتری جزء فلور طبیعی روده بزرگ حیوانات خونگرم بوده و وجود این میکروارگانیسم در مواد غذایی نشان‌دهنده آلودگی مدفوعی است (۱۰). با توجه به خطر بالقوه آلودگی گوشت بلدرچین به / شریشیا کلی و پیامدهای بهداشتی ناشی از آن، یافتن راهکارهای مؤثر و ایمن برای کاهش بار میکروبی این محصول اهمیت ویژه‌ای دارد. امروزه استفاده از سرمای بالای صفر درجه سانتی‌گراد، یکی از روش‌های نگهداری گوشت به‌شمار می‌رود که موجب کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌های مولد فساد در فرآورده و در نتیجه تعویق فساد در آن می‌گردد (۱۱، ۱۲). با توجه به محدودیت زمان نگهداری گوشت تازه در سرمای بالای صفر درجه سانتی‌گراد و اهمیت حفظ کیفیت آن تا

هنگام مصرف، محققین به دنبال روش‌های دیگری نیز هستند که گوشت با کیفیت خوراکی مناسب به دست مصرف‌کنندگان برسد. با توجه به مضراتی همچون اثرات سرطان‌زایی نگهدارنده‌های شیمیایی و همچنین افزایش آگاهی مردم، امروزه تصویری منفی از افزودنی‌های سنتتیک به مواد غذایی در مصرف‌کنندگان ایجاد شده و تمایل به نگهدارنده‌های طبیعی جهت افزایش ماندگاری مواد غذایی، افزایش یافته است (۱۳). در سال‌های اخیر، استفاده از ترکیبات طبیعی با خواص ضد میکروبی به‌عنوان جایگزینی برای نگهدارنده‌های شیمیایی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. اسانس لیمو ترش به‌دلیل دارا بودن ترکیبات فعال زیستی نظیر لیمونن، سیترال و فلاونوئیدها، دارای پتانسیل بالایی در مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا از جمله *E. coli* گزارش شده است (۱۴، ۱۵). از این رو، بررسی تأثیر اسانس لیمو ترش بر کنترل آلودگی میکروبی گوشت بلدرچین می‌تواند افق‌های جدیدی در ارتقای ایمنی و افزایش ماندگاری این محصول غذایی بگشاید (۱۶، ۱۷). این میوه همچنین به‌دلیل داشتن عطر و طعم مطلوب، به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان چاشنی در صنایع غذایی کاربرد دارد. همچنین با دارا بودن میزان بالایی از اسیدهای آلی به‌ویژه اسید سیتریک و ایجاد شرایط اسیدی، در درمان بسیاری از عفونت‌های روده‌ای بکار می‌رود (۱۸، ۱۹). در کنار اسانس لیمو ترش، عصاره‌ی پیاز نیز به‌دلیل دارا بودن ترکیبات گوگردی فعال مانند آل‌سیسین، دی‌سولفیدها و فلاونوئیدها، به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی طبیعی شناخته شده است (۲۰). این ترکیبات با تخریب غشای سلولی و اختلال در متابولیسم میکروارگانیسم‌ها، قادر به مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا از جمله *E. coli* می‌باشند. کامپرفول (Kaempferol)، کوئرستین (Quercetin) و گالیک‌اسید (Gallic Acid) موجود در عصاره پیاز، از مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی آنتی‌اکسیدان، ضد عفونی‌کننده و ضد التهاب هستند که به‌عنوان آنتی‌پاتوژن‌های فعال و طبیعی، هم در محیط آزمایشگاه و هم در موارد بالینی، اثر آنتی‌باکتریال از خود نشان داده‌اند

میکروب ریخته تا پودر لیوفیلیزه میکروبی کاملاً حل شد. سوسپانسیون میکروبی به‌دست آمده داخل ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت BHI تلقیح شد. همچنین یک کشت خطی از سوسپانسیون میکروبی روی محیط کشت BHI تهیه گردید. سپس تمام لوله‌های آزمایش و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. محیط کشت حاوی باکتری به‌دست آمده، به‌عنوان کشت مادری در یخچال و ۲ میلی‌لیتر محتوای لوله‌ی کشت نیز در لوله‌ی فالكون به نسبت ۳۰ به ۷۰ با گلیسرول مخلوط و در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۳۵).

رسم منحنی رشد میکروبی: در شرایط کاملاً سترون

۱۰۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مادری باکتری را به ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت تلقیح کرده، سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرمخانه‌گذاری شد. کشت ۲۴ ساعته را با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (Eppendorf 5810) کرده و رسوب میکروبی به‌دست آمده را ۲ بار با سرم فیزیولوژی (۹ درصد) شستشو داده و سانتریفیوژ کرده تا هیچ‌گونه ناخالصی در محیط باقی نماند. سپس رسوب میکروبی با ۱۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به مدت ۵ دقیقه مخلوط گردید تا محلول یکنواختی به‌دست آمد. محلول را در حجم‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ میکرولیتر به داخل سل‌های حاوی یک میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی (۹ درصد) ریخته و جذب در طول موج ۶۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید (۳۶-۳۸). سپس رقت‌های متوالی تهیه و از رقت‌های مورد نظر ۱۰۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت BHI به‌صورت سطحی و در ۳ تکرار کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. بعد از شمارش پرگنه‌ها، منحنی رشد میکروب‌ها رسم گردید (شکل ۱) (۳۹). فرمول منحنی رشد باکتری اشریشیاکلی (ATCC 35218) به قرار ذیل است:

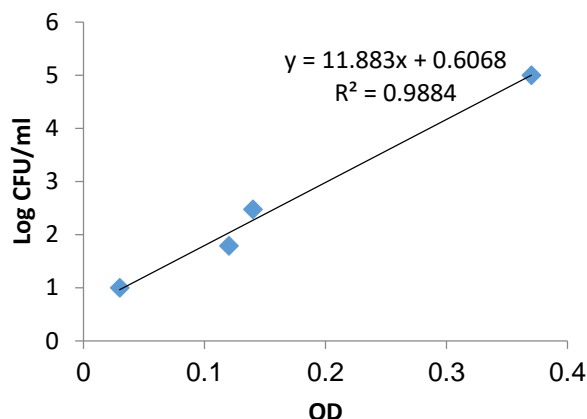
(۲۱-۲۳). از این رو، بهره‌گیری همزمان از اسانس لیموترش و پیاز می‌تواند با ایجاد اثرات هم‌افزایی، راهکاری مؤثرتر در کاهش آلودگی‌های میکروبی و ارتقای ایمنی گوشت بلدرچین فراهم آورد (۲۴، ۲۵). باکتریوسین‌ها پروتئین‌های باکتری‌کشی هستند که تولید آنها توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک در سال‌های اخیر به‌صورت گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است. نیسین (Nisin) با نام تجاری نیساپلین (Nisaplin)، نوعی باکتریوسین پلی‌پپتیدی می‌باشد (۲۶) که با توجه به خصوصیات ضد میکروبی و سمیت پایین آن برای انسان، به‌عنوان یک ماده ایمن (Generally Recognized as Safe, GRAS) و نگهدارنده مواد غذایی در صنایع غذایی استفاده می‌شود (۲۷-۳۲).

هدف از این مطالعه، بررسی اثر عصاره‌ی پیاز، اسانس لیموترش و نیسین به‌صورت مجزا و توأم برای کنترل باکتری اشریشیاکلی تلقیح شده در گوشت چرخ‌شده بلدرچین نگهداری شده در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد بود.

مواد و روش‌ها

مراحل انتخاب و کشت میکروبی: باکتری

اشریشیاکلی ATCC 35218 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران به‌صورت لیوفیلیزه خریداری شد (۳۳). از محیط Brain Heart Infusion (BHI) به‌دلیل اینکه ترکیب غنی از مواد مغذی و منابع آلی قابل جذب، قابلیت حمایت از رشد سریع، یکنواخت و پایدار باکتری‌های گرم منفی مانند *Escherichia coli* ATCC 35218 را فراهم می‌آورد، استفاده گردید. این محیط به‌طور گسترده در مطالعات میکروبیولوژی غذایی و تحقیقات مربوط به اثرات ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی و نگهدارنده‌ها بر رشد پاتوژن‌های غذایی بکار گرفته شده است (۳۴)، استفاده از BHI امکان پایش دقیق منحنی رشد و ارزیابی اثرات درمانی و ضد میکروبی را با حساسیت بالا فراهم می‌کند. در شرایط کاملاً سترون آمپول میکروبی را شکسته و ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت BHI (مرک آلمان) را داخل آمپول حاوی



شکل ۱- نمودار جذب نور غلظت‌های مختلف از جمعیت میکروبی اشریشیاکلی ATCC 35218

آماده‌سازی اشریشیاکلی ATCC 35218 جهت

تلقیح به گوشت بلدرچین: باکتری اشریشیاکلی ATCC 35218 در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت BHI برات در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد. کشت گونه به محیط کشت BHI آگار به‌منظور بررسی خالص بودن کلنی‌ها منتقل و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. کلنی‌های تک به محیط BHI برات منتقل و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. سپس محیط به تیوپ تازه‌ای از BHI برات منتقل و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید (۴۰). همه این مراحل به‌منظور اطمینان از خلوص کشت و به‌دست آوردن کشت یکنواخت از باکتری اشریشیاکلی می‌باشد. ۳۰ میلی‌لیتر از کشت ۲۴ ساعته اشریشیاکلی ATCC 35218 با سرعت ۲۴۵۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و به‌منظور حذف ترکیبات ناخالص، سه مرتبه به کمک سرم فیزیولوژی (۹ درصد) شستشو داده شد و سپس پلیت را در ۱۰ میلی‌لیتر سرم حل کرده تا سوسپانسیونی با غلظت نهایی CFU/ml 10^8 - 10^9 به‌دست آمد. از سوسپانسیون به‌دست آمده به کمک سرم فیزیولوژی (۹ درصد)، سوسپانسیونی با غلظت CFU/ml 10^3 تهیه گردید (۴۱).

آماده‌سازی عصاره پیاز: پیاز مورد نیاز از بازار محلی

واقع در شهرستان جیرفت خریداری و به شهرستان زابل منتقل شد. پیازها پس از تمیز کردن و شستشو، کاملاً خرد شده و ۱۰۰ گرم از آنها، به ۶۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، اضافه گردید و استخراج عصاره به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه اولتراسونیک (۲۰۰ وات، ۴۰ هرتز) انجام شد. سپس فیلتراسیون با کاغذ صافی واتمن شماره یک صورت گرفت. به پسماند عصاره‌گیری مجدداً ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد دوباره اولتراسونیک و سپس فیلتر شد. عصاره حاصل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۴۲).

تهیه اسانس لیموترش: لیموترش از شهرستان

جیرفت واقع در استان کرمان، خریداری و پس از انتقال به زابل، تحت شرایط سایه و بدون رطوبت، خشک گردید. پس از آسیاب کردن، بر روی ۱۰۰ گرم آن به روش تقطیر با بخار آب، توسط دستگاه کلونجر، اسانس‌گیری به عمل آمد. اسانس به‌دست آمده، توسط سدیم سولفات، رطوبت‌زدایی و به‌منظور شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی تزریق شد (۴۳). نتایج به‌دست آمده به شرح زیر است:

جدول ۱- نتایج آنالیز اسانس لیموترش مورد مطالعه با استفاده از GC-MS

ترکیبات	درصد
لیمونین	۵۳/۵۷
آلفا- ترپینول	۱۴/۶۹
بتا- پینین	۸/۲۳
آلفا- پینین	۱/۸۴
بتا- میرسن	۱/۵۱
آلفا- ترپینول	۴/۳۳
ترپینین-۴- ال	۳/۳۸
سیمین	۱/۸۰
بتا- بیسابولن	۱/۴۳
بتا- لینالول	۰/۸۵
ای- سیترال	۱/۰۸

سانتی‌گراد به مدت ۲۱ روز نگهداری و در روزهای ۰، ۱، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ توسط آزمون میکروبی کشت سطحی مورد بررسی قرار گرفتند.

روش شمارش میکروبی: بررسی تغییر جمعیت باکتری، طی نگهداری تیمارها در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد در طول روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ و ۲۱ با روش کشت سطحی انجام شد. به منظور شمارش باکتری، در هر بار نمونه‌گیری به ۵ گرم گوشت چرخ‌شده بلدرچین مقدار ۴۵ میلی‌لیتر پیتون واتر ۰/۱ درصد، اضافه و پس از هم‌وزن‌سازی، رقت‌های سریالی (۱:۱۰) تهیه گردید. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه رقیق شده، بر روی محیط کشت آگار قلب مغز، کشت سطحی داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید. سپس با استفاده از شمارنده کلنی (colony counter)، کلنی‌های تشکیل شده شمارش شدند (۴۵).

تجزیه و تحلیل آماری: در این پژوهش نتایج به‌دست آمده با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل گردید. مقایسه میانگین داده‌های مربوط به نتایج، به کمک آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010 ترسیم و گزارش شدند.

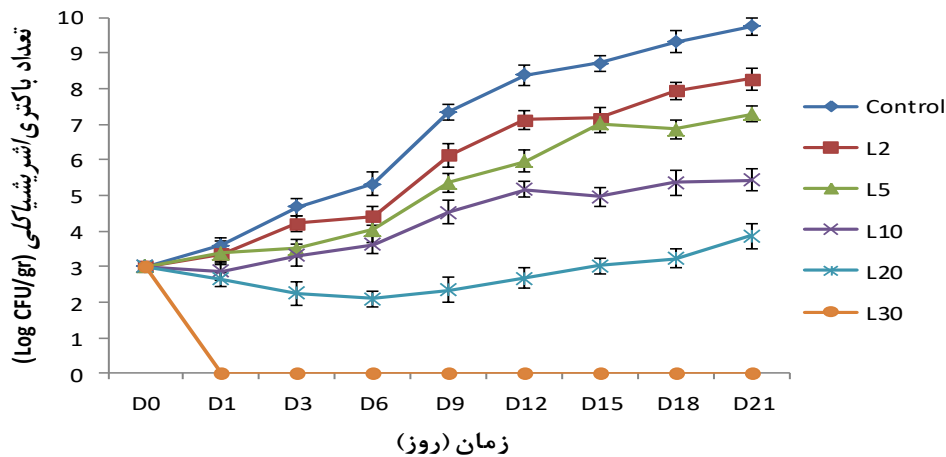
نتایج

آماده‌سازی محلول نیسین: پودر تجاری نیسپالین از شرکت Heidelberg, SERVA (New York) خریداری شد. محلول استوک نیسین، با حل کردن ۰/۸ گرم نیسپالین در ۱۰ میلی‌لیتر HCl ۰/۰۲ نرمال، به‌دست آمد (بر اساس دستورالعمل گزارش شده در Codex Alimentarius). برای رسیدن به غلظت‌های پایین‌تر، از آب مقطر استریل استفاده شد (۴۴).

آماده‌سازی تیمارهای مختلف: بلدرچین زنده از بازار زابل خریداری و پس از کشتار، به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل منتقل گردید. گوشت‌ها بلافاصله در شرایط استریل چرخ شدند. این فرآیند با استفاده از چرخ گوشت پارس خزر انجام گرفت. سپس نمونه‌های ۲۰۰ گرمی از گوشت استریل چرخ‌شده تهیه گردید و اسانس لیموترش با غلظت‌های ۲، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میکرولیتر در هر گرم گوشت چرخ‌شده بلدرچین و عصاره‌ی پیاز با غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد، محلول نیسین با غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم در هر گرم گوشت چرخ‌شده بلدرچین، به تنهایی و توأم و همچنین باکتری اشریشیاکلی به مقدار 10^3 CFU/g گوشت، به هر یک از نمونه‌ها افزوده شد (غلظت‌های مورد استفاده در این مطالعه بر اساس مقادیر گزارش شده در مطالعه‌ی Gutierrez و همکارانش در سال ۲۰۰۸ و همچنین محدوده‌ی MIC گزارش شده برای *E. coli* انتخاب گردید) (۳۴). نمونه‌های آماده شده در یخچال در دمای 8 ± 1 درجه

را در روز ۲۱ به ترتیب به $8/28$ و $7/29$ Log CFU/g رساندند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت اسانس لیموترش اثر مهارکنندگی آن بر روی رشد باکتری /شیریشیالکی افزایش یافت به طوری که تیمارهای لیموترش با غلظت ۱۰ و ۲۰ نسبت به غلظت‌های ۲ و ۵ میکرولیتر بر گرم، خاصیت بازدارندگی بیشتری بر روی رشد باکتری /شیریشیالکی نشان دادند و تعداد باکتری /شیریشیالکی را در پایان دوره نگهداری به ترتیب به $5/44$ و $3/86$ Log CFU/g رساندند. اسانس لیموترش با غلظت ۳۰ میکرولیتر بر گرم، در روز یک تعداد باکتری /شیریشیالکی را به صفر رساند و تا پایان دوره نگهداری، مانع از رشد باکتری شد.

تعداد سلول‌های /شیریشیالکی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس لیموترش در گوشت چرخ‌شده بلدرچین طی زمان نگهداری، در شکل ۲ نشان داده شده است. تعداد باکتری /شیریشیالکی در تمامی تیمارها در روز صفر، برابر با 3 Log CFU/g بود. تعداد باکتری مذکور، در تیمار کنترل نسبت به سایر تیمارها از روز صفر تا پایان دوره نگهداری، با شیب تندتری افزایش یافت و در روز ۲۱ به 9.75 Log CFU/g رسید. تیمارهای لیموترش با غلظت ۲ و ۵ میکرولیتر برگرم نسبت به سایر تیمارها از روز صفر تا پایان دوره نگهداری خاصیت بازدارندگی کمتری بر روی رشد باکتری /شیریشیالکی داشتند به طوری که تعداد باکتری /شیریشیالکی



شکل ۲- اثر اسانس لیموترش بر روی باکتری /شیریشیالکی ATCC 35218 تلقیح شده به گوشت چرخ‌شده بلدرچین. Control: گوشت چرخ‌شده بلدرچین، L2: لیمو با غلظت ۲، L5: لیمو با غلظت ۵، L10: لیمو با غلظت ۱۰، L20: لیمو با غلظت ۲۰ و L30: لیمو با غلظت ۳۰ میکرولیتر بر گرم

ضد باکتریایی و نگهدارندگی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی استفاده شده است. در برخی از این روش‌ها از شرایط آزمایشگاهی و در بعضی دیگر، از مدل‌های غذایی برای بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس‌ها و عصاره‌ها استفاده شده است (۴۶). Fisher and Phillips در سال ۲۰۰۶ (۴۷) به مطالعه اثر اسانس لیمو، پرتقال، نارنج و اجزای آنها بر روی بعضی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی شامل /شیریشیالکی O157، کمپیلوباکتر ژورژنی، لیستریا مونوسیتوژنز، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس در شرایط آزمایشگاهی و سیستم‌های غذایی

به طور کلی مقایسه نتایج به دست آمده در مورد خواص ضد باکتریایی اسانس‌های مختلف، بسیار مشکل می‌باشد. از دلایل آن می‌توان به تفاوت در روش‌های مختلف بررسی خواص ضد باکتریایی اسانس‌ها، منابع تهیه آنها و سویه‌های باکتریایی بکار برده شده، روش عصاره‌گیری، فاز رشد و میزان باکتری، نوع محیط‌کشت مورد استفاده، عوامل خارجی و داخلی مواد غذایی نظیر pH، چربی، پروتئین، آب، آنتی‌اکسیدان‌ها، مدت زمان و دمای گرمخانه‌گذاری، روش بسته‌بندی و ساختار فیزیکی مواد غذایی اشاره کرد. مدل‌های مختلفی در مطالعات متعدد به منظور بررسی اثرات

بررسی تأثیر عصاره پیاز، اسانس لیموترش و نیسین بر رفتار باکتری *اشریشیاکلی* ...

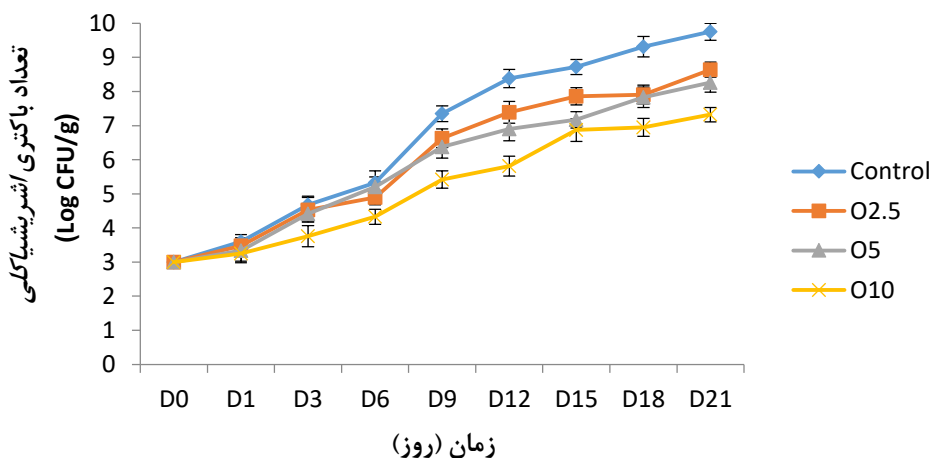
یک از تیمارهای حاوی عصاره پیاز با غلظت ۲/۵ و ۵ درصد به تنهایی قابلیت مهار رشد ضعیفی بر روی باکتری *اشریشیاکلی* نشان دادند به طوری که، تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را در روز ۲۱ به ترتیب به ۸/۶۴ و ۸/۲۶ Log CFU/g رساندند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره پیاز، اثر مهارکنندگی آن بر روی رشد باکتری *اشریشیاکلی* افزایش یافت به طوری که تیمار پیاز با غلظت ۱۰ درصد، بیشترین خاصیت بازدارندگی را داشت و تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را در روز ۲۱ به ۷/۳۲ Log CFU/g رساند.

ترکیبات ضد میکروبی پیاز به طور عمده شامل کوئرسیتین، آلیسین و تیوسیانات می‌باشند (۴۹). به طور کلی باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت در مقابل اثر ضد میکروبی عصاره‌ها مقاوم‌تر هستند. این امر به دلیل وجود دیواره سلولی لیپوپلی ساکاریدی در باکتری‌های گرم منفی است که این دیواره از رسیدن ترکیبات مؤثره عصاره‌ها به غشای سیتوپلاسمی ممانعت می‌کند (۱۸). یکی از ترکیبات ضد میکروبی پیاز، ایزوتیوسیانات می‌باشد. با توجه به اینکه این ترکیب، قادر به غیر فعال کردن آنزیم‌های خارج سلولی از طریق اکسایش باندهای دی‌سولفیدی است، تشکیل رادیکال‌های تیوسیانات می‌تواند دلیل خاصیت ضد میکروبی آن باشد (۵۰).

پرداختند. نتایج نشان داد که اسانس‌های مرکبات می‌توانند به عنوان عوامل مؤثری برای مقابله با میکروارگانیسم‌های رایج مسمومیت غذایی استفاده شوند.

Viuda-Martos و همکاران در سال ۲۰۰۸ (۴۸) اثر ضد باکتریایی اسانس‌های لیموترش، نارنگی، گریپ‌فروت و پرتقال را بر روی تعدادی از باکتری‌ها از جمله *استافیلوکوکوس کارنوسوس*، *استافیلوکوکوس گزلیوسوس* و *انتروباکتر آمنیجینس* مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد اسانس لیمو، اثر ضد میکروبی بهتری نسبت به سایر مرکبات داشت.

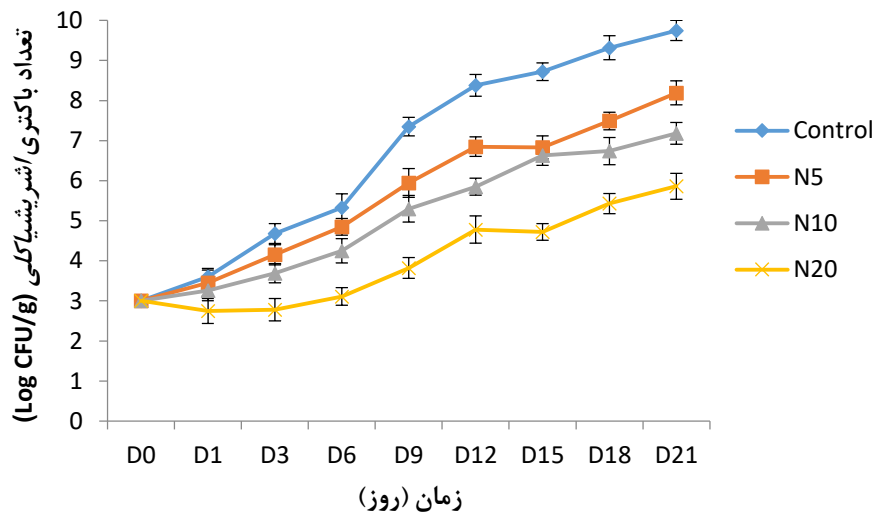
تعداد سلول‌های *اشریشیاکلی* تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره پیاز در گوشت چرخ‌شده بلدرچین طی زمان نگهداری، در شکل ۳ نشان داده شده است. تعداد باکتری *اشریشیاکلی* در تمامی تیمارها در روز صفر، برابر با Log CFU/g ۳ بود. در تیمار کنترل نسبت به سایر تیمارها از روز صفر تا پایان دوره نگهداری، تعداد باکتری *اشریشیاکلی* با شیب تندتری افزایش یافت و در روز ۲۱ به Log CFU/g ۹/۷۵ رسید. در تیمارهای حاوی عصاره پیاز با غلظت ۲/۵ و ۵ درصد، همانند تیمار کنترل، تعداد باکتری *اشریشیاکلی* در طول دوره نگهداری روند افزایشی داشت که این روند از روز صفر تا روز ششم نگهداری، شیب ملایم‌تر و از روز ششم تا نهم شیب تندتری داشت، سپس از روز نهم تا پایان دوره نگهداری با شیب نسبتاً ملایمی همراه بود. در مجموع هر



شکل ۳- اثر عصاره پیاز بر روی باکتری *اشریشیاکلی* ATCC 35218 تلقیح شده به گوشت چرخ شده بلدرچین Control: گوشت چرخ شده بلدرچین، O2.5: پیاز با غلظت ۲/۵ درصد، O5: پیاز با غلظت ۵ درصد، O10: پیاز با غلظت ۱۰ درصد

تعداد سلول‌های /شیریشیالکی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نیسین در گوشت چرخ‌شده بلدرچین طی زمان نگهداری، در شکل ۴ نشان داده شده است. تعداد باکتری /شیریشیالکی در تمامی تیمارها در روز صفر، برابر با Log CFU/g ۳ بود. در تیمار کنترل نسبت به سایر تیمارها از روز صفر تا پایان دوره نگهداری، تعداد باکتری /شیریشیالکی با شیب تندتری افزایش یافت و در روز ۲۱ به Log CFU/g ۹/۷۵ رسید. تعداد باکتری /شیریشیالکی در تیمارهای حاوی

نیسین با غلظت ۵ و ۱۰ میکروگرم بر گرم، از روز صفر تا پایان دوره نگهداری، روند افزایشی داشت به طوری که در روز ۲۱ به ترتیب به ۸/۲۱ و ۷/۱۸ Log CFU/g رسید. نتایج نشان داد با افزایش غلظت نیسین، اثر مهارکنندگی آن بر روی رشد باکتری /شیریشیالکی افزایش یافت به طوری که تیمار نیسین با غلظت ۲۰ درصد، بیشترین خاصیت بازدارندگی را داشت و تعداد باکتری /شیریشیالکی را در روز ۲۱ به Log CFU/g ۵/۸۶ رساند.



شکل ۴- اثر نیسین بر روی باکتری /شیریشیالکی ATCC 35218 تلقیح شده به گوشت چرخ‌شده بلدرچین Control: گوشت چرخ‌شده بلدرچین، N5: نیسین با غلظت ۵ درصد، N10: نیسین با غلظت ۱۰ درصد و N20: نیسین با غلظت ۲۰ میکروگرم بر گرم

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات گسترده حاکی از تأثیر بالقوه بکارگیری نیسین به همراه سایر روش‌ها و ترکیبات در محافظت از مواد غذایی است (۵۱).

Solomakos و همکاران در سال ۲۰۰۸ (۴۴) با بررسی اثر اسانس آویشن، نیسین و ترکیب این دو علیه /شیریشیالکی O157:H7 در گوشت چرخ‌کرده گاو در طول مدت زمان نگهداری در یخچال نشان دادند که تیمار ترکیبی نیسین و آویشن، اثر فزاینده‌ای علیه /شیریشیالکی در ۱۰ درجه سانتی‌گراد داشت. هدف اولیه و اصلی نیسین در ممانعت از رشد باکتری‌ها، لیپید نوع دوم غشای سیتوپلاسمی باکتری‌هاست. از این طریق باعث افزایش نفوذپذیری در غشا و ایجاد روزنه در آن می‌گردد. در نهایت این مسئله منجر به خروج سریع مولکول‌های کوچک و

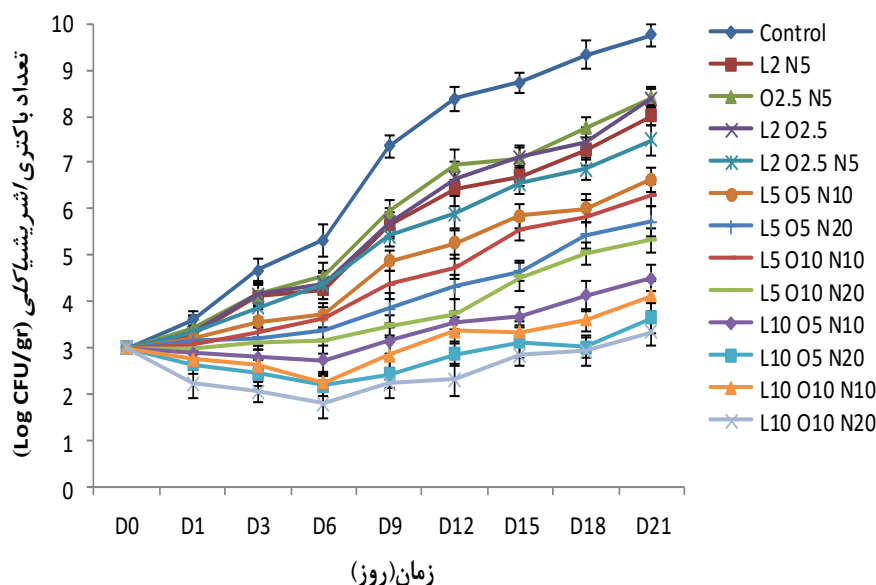
ترکیبات حیاتی داخل سلولی و مرگ سلول می‌شود (۵۲). با توجه به مطالعات صورت گرفته اثر ضد میکروبی نیسین می‌تواند تحت تأثیر شرایط محیطی مختلف از جمله میکروارگانیسم‌های مورد بررسی، دمای نگهداری و مدل غذایی قرار بگیرد (۳۲، ۵۳). نتایج بررسی ساختار باکتری تحت تأثیر نیسین با میکروسکوپ الکترونی (TEM) مبین آن است که نیسین با آسیب‌رسانی و تخریب غشای سلولی باکتری و صدمه به سیتوپلاسم آنها زمینه را برای نابودی باکتری توسط سایر عوامل فراهم می‌کند. به دلیل وجود اختلاف در محتوای فسفولیپیدها و ترکیب اسیدهای چرب غشای سلول باکتری که منجر به عدم توانایی نیسین در ایجاد روزنه در غشاهای سخت و محکم می‌شود، میزان اثرگذاری نیسین در سوبه‌های مختلف باکتری‌ها متفاوت است (۵۴، ۵۵). کاربرد نیسین به دلیل پایداری کم این ماده

بررسی تأثیر عصاره پیاز، اسانس لیموترش و نیسین بر رفتار باکتری /شریشیالکی ...

داده شده است. تعداد باکتری /شریشیالکی در تمامی تیمارها در روز صفر، برابر با 3 Log CFU/g بود. تعداد باکتری /شریشیالکی در تیمار کنترل نسبت به سایر تیمارها از روز صفر تا پایان دوره نگهداری، با شیب تندتری افزایش یافت و در روز ۲۱ به 9.75 Log CFU/g رسید. در این تحقیق در بین تیمارهای ترکیبی مورد مطالعه، تیمار O2.5 N5 دارای کمترین خاصیت بازدارندگی بر روی باکتری /شریشیالکی بود به طوری که تعداد باکتری /شریشیالکی را در روز ۲۱ به 8.4 Log CFU/g رساند.

در pH بالا و محدودیت استفاده از آن در برخی مواد غذایی، محدود می‌باشد. همچنین قابلیت برخی میکروارگانیسم‌ها در تحمل نیسین نیز یک محدودیت دیگر در استفاده از این ترکیب به شمار می‌رود (۵۶). استفاده ترکیبی نیسین با سایر ترکیبات طبیعی ضد میکروب یک راهکار مهم در استفاده بهتر، از این ماده ضد میکروبی است.

تعداد سلول‌های /شریشیالکی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس لیموترش، عصاره پیاز و نیسین در گوشت چرخ‌شده بلدرچین طی زمان نگهداری، در شکل ۵ نشان



شکل ۵- اثر اسانس لیموترش، عصاره پیاز و نیسین بر روی باکتری /شریشیالکی ATCC 35218 تلقیح شده به گوشت چرخ‌شده

بلدرچین. Control: گوشت چرخ‌شده بلدرچین، در هر یک از تیمارها، L: غلظت اسانس لیموترش بر حسب میکرولیتر بر گرم، O: غلظت عصاره پیاز بر حسب درصد و N: غلظت نیسین بر حسب میکروگرم بر گرم.

آزمایشگاهی و مدل‌های غذایی گزارش نموده‌اند (۵۱، ۵۷-۵۹). علت افزایش اثر مواد ضد میکروبی به هنگام استفاده همزمان، افزایش تعداد منافذ تشکیل شده در غشای سلولی عوامل بیماری‌زا و متعاقباً نشت ترکیبات داخل سلولی به خارج از سلول و همچنین مهار پروتئین‌های آنزیمی موجود در غشا می‌باشد که این پروتئین‌ها در حفظ ویژگی‌های عملکردی و ذخیره هیدروکربن‌ها در غشای سلولی نقش اساسی بر عهده دارند (۵۱، ۶۰).

نتایج مطالعات ما نشان داد اسانس لیموترش در مقایسه با عصاره پیاز و نیسین بر روی تعداد باکتری /شریشیالکی

نتایج نشان داد در تیمارهای ترکیبی اسانس، عصاره و نیسین همانند تیمارهای حاوی هریک از آنها به تنهایی، با افزایش غلظت اسانس لیموترش، عصاره پیاز و نیسین اثر مهارکنندگی آنها بر روی رشد باکتری /شریشیالکی افزایش یافت به گونه‌ای که تیمار L10 O10 N20 بیشترین خاصیت بازدارندگی را بر روی باکتری /شریشیالکی نشان داد و در روز ۲۱ تعداد باکتری /شریشیالکی را به 3.35 Log CFU/g رساند.

مطالعات متعددی افزایش خواص ضد میکروبی مواد نگهدارنده طبیعی مختلف را به صورت توأم در شرایط

۱۰ درصد، از بین غلظت‌های مختلف عصاره پیاز و نیسین، بیشترین خاصیت بازدارندگی را بر باکتری *اشریشیاکلی* ATCC 35218 نشان دادند. همچنین استفاده همزمان از نیسین، اسانس لیموترش و عصاره پیاز باعث کاهش معنی‌دار تعداد باکتری *اشریشیاکلی* در گوشت چرخ‌شده بلدرچین شد و با افزایش غلظت اسانس لیموترش، عصاره پیاز و نیسین قابلیت مهار رشد افزایش یافت.

در گوشت چرخ‌شده بلدرچین، بیشترین اثر مهارکنندگی را داشت و در غلظت ۳۰ میکرولیتر بر گرم در روز یکم نگهداری، تعداد باکتری *اشریشیاکلی* را به صفر رساند و تا پایان دوره نگهداری، به‌طور کامل مانع از رشد باکتری شد. پس از آن به‌ترتیب نیسین و عصاره پیاز اثر مهارکنندگی کمتری بر باکتری *اشریشیاکلی* داشتند، به‌گونه‌ای که نیسین با غلظت ۲۰ میکرولیتر بر گرم و عصاره پیاز با غلظت

References

- 1- Boni I, Nurul H, Noryati I. Comparison of meat quality characteristics between young and spent quails. *As J Food Ag-Ind.* 2010; 3(05): 498-504.
- 2- Faitarone ABG, Pavan AC, Mori C, Batista LS, Oliveira RP, Garcia EA, et al. Economic traits and performance of Italian quails reared at different cage stocking densities. *Braz J Poult Sci.* 2005; 7(1): 19-22.
- 3- Genchev A, Mihaylova G, Ribarski S, Pavlov A, Kabakchiev M. Meat quality and composition in Japanese quails. *Trakia J Sci.* 2008; 6(4): 72-82.
- 4- Prabakaran R. Good practices in planning and management of integrated commercial poultry production in South Asia. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2003, P: 159.
- 5- Mnisi CM, Oyeagu CE, Akuru EA, Ruzvidzo O, Lewu FB. Sorghum, millet and cassava as alternative dietary energy sources for sustainable quail production – A review. *Front Anim Sci.* 2023; 4: 1066388.
- 6- Anang DM, Rusul G, Bakar J, Ling FH. Effects of lactic acid and lauricidin on the survival of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157: H7 in chicken breast stored at 4°C. *Food Control.* 2007; 18(8): 961-969.
- 7- Henry YM, Natrajan N, Lauer WF. Detex for detection of *Escherichia coli* O157 in raw ground beef and raw ground poultry. *J AOAC Int.* 2001; 84(3): 752-760.
- 8- Lee GY, Jang HI, Hwang IG, Rhee MS. Prevalence and classification of pathogenic *Escherichia coli* isolated from fresh beef, poultry, and pork in Korea. *Int J Food Microbiol.* 2009, 134(3): 196-200.
- 9- Madigan MT, Martinko JM. Brock Biology of Microorganisms. 11th Edition. Pearson Publication. 2006; P: 432-445.
- 10- Eslamlo HF, Hami M, Athari SH, Haji Mohammadi B, Jazani NH. The evaluation of contamination rate with *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* sp. in handmade butters in Urmia city. *Nur and Mid J.* 2009; 7(3): 157-165. [In Persian]
- 11- Rokni N. Principles of Food Hygiene. 1st Edition. University of Tehran Press. 1993; P: 100-102. [In Persian]
- 12- Lawrie RA. Meat science. 4th Edition. Pergamon press. 1988; P: 112-113.
- 13- Omidbeygi M, Barzegar M, Hamidi Z, Naghdibadi H. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control.* 2007; 18(12): 1518- 1523.
- 14- Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control.* 2010; 21(9): 1199-1218.
- 15- Tiwari BK, Valdramidis VP, O' Donnell CP, Muthukumarappan K, Bourke P, Cullen PJ. Application of natural antimicrobials for food preservation. *J Agric Food Chem.* 2009; 57(14) : 5987-6000.
- 16- Roy BC, Hoshino M, Ueno H, Sasaki M, Goto M. Supercritical carbon dioxide extraction of the volatiles from the peel of Japanese citrus fruits. *J Essent Oil Res.* 2007; 19(1): 78-84.
- 17- Kekelidze NA, Lomidze EP, Janikashvili MI. Analysis of terpene variation in leaves and fruits of Citrus unshiu Marc. during ontogenesis. *Flavour Fragr J.* 1989; 4(1): 37-41.
- 18- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods. *Int J Food Microbiol.* 2004; 94(3): 223-53.

- 19- Rodrigues A, Sandstrom A, Ca T, Steinsland H, Jensen H, Aaby P.** Protection from cholera by adding lime juice to food-results from community and laboratory studies in Guinea-Bissau, West Africa. *Trop Med Int Health*. 2000; 5(6): 418-422.
- 20- Tassou CC, Koutsoumanis K, Nychas GJE.** Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Food Res Int*. 2000; 33(3-4): 273-280.
- 21- Chyun JC, Huang L.** Ginger and its bioactive component inhibit enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin-induced diarrhea in mice. *J Agric Food Chem*. 2007; 55(21): 8390-8397.
- 22- Ekwenye UN, Elegalam NN.** Antibacterial activity of ginger (*Zingiber officinale roscoe*) and garlic (*Allium sativum L.*) extracts on *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. *Int J Mol Med Adv Sci*. 2005; 1(4): 411-416.
- 23- Nelson C, Regiland A.** Antimicrobial properties of extracts of *Allium cepa* and *Zingiber officinale* (ginger) on *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Bacillus subtilis*. *Int J Trop Med*. 2007; 3(2): 1540-470.
- 24- Griffiths G, Trueman L, Crowther T, Thomas B, Smith B.** Onions A global benefit to health. *Phytother. Res*. 2002; 16(7): 603-615.
- 25- Momeni L, Zamanzad B.** The antibacterial properties of *Allium cepa* (onion) and *Zingiber officinale* (ginger) extracts on *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolated from vaginal specimens. *Med Sci*. 2010; 11(4): 81-87. [In Persian]
- 26- Arauz D, Juncioni L, Faustino JA, Mazzola GP, Vessoni Penna TC.** Nisin biotechnological production and application: a review. *Trends Food Sci Technol*. 2009; 20(3-4): 146-154.
- 27- Chi-Zhang Y, Yam K, Chikindas MS.** Effective control of *Listeria monocytogenes* by combination of nisin formulated and slowly released into a broth system. *Int J Food Microbiol*. 2004; 90(1): 15-22.
- 28- Smid EJ, Corris LGM.** Natural antimicrobials for food preservation. In: Shafiurr rahman. Handbood of food preservation. Marcel Dekker. New York. 1999; 285-308.
- 29- Thomas LV, Wimpenny JT.** Investigation of the effect of combined variation in temperature, pH and NaCl concentration on Nisin inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Appl Environ Microbiol*. 1996; 62(6): 2006-2012.
- 30- Kuwano K, Shimizu T, Nagatoshi K, Nou S, Sonomato K.** Dual antibacterial mechanisms of nisin Z against gram-positive and gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents*. 2005; 26(5): 396-402.
- 31- Ross RP, Morgan S, Hill C.** Preservation and fermentation: past, present and future. *Int J Food Microbiol*. 2002; 79(1-2): 3-16.
- 32- Periago PM, Moezelaar R.** Combined effect of nisin and carvacrol at different pH and temperature levels on the viability of different strains of *Bacillus cereus*. *Int J Food Microbiol*. 2001; 68(1-2): 141-148.
- 33- Ziuzina D, Patil S, Cullen PJ, Keener KM, Bourke P.** Atmospheric cold plasma inactivation of *Escherichia coli* in liquid media inside a sealed package. *J Appl Microbiol*. 2013; 114(3): 778-787.
- 34- Gutierrez J, Rodríguez G, Barry-Ryan C, Bourke P.** Efficacy of plant essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria associated with ready-to-eat vegetables: Antimicrobial and sensory screening. *J Food Prot*. 2008; 71(9): 1846-1854.
- 35- Rajendram D, Ayenza R, Holder FM, Moran B, Long T, Shah HN.** Long-term storage and safe retrieval of DNA from microorganisms for molecular analysis using FTA matrix cards. *J Microbial Methods*. 2006; 67(3): 582-592.
- 36- Fooks LJ, Gibson GR.** In vitro investigations of the effect of probiotics and prebiotics on selected human intestinal pathogens. *FEMS Microbiol Ecol*. 2002; 39(1): 67-75.
- 37- Goderska K, Nowak J, Czarnecki Z.** Comparison of growth of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* species in media supplemented with selected saccharids including prebiotic. *Acta Sci Pol, Technol Aliment*. 2008; 7(2): 5-20.
- 38- Rada V, Nevorál J, Trojanová I, Tomanková E, Smehilová M, Killer J.** Growth of infant faecal bifidobacteria and clostridia on prebiotic oligosaccharides in vitro conditions. *Anaerobe*. 2008; 14(4): 205-208.
- 39- Nourbakhsh L, Mohamadi Sani A, Milani E, Mansouri E.** Evaluation of the in vitro effect of β -fructan extracted from Salsify root on growth of *B. bifidum* and *E. coli*. *Food Research Journal*. 2014; 23(4): 445-456. [In Persian]
- 40- Gill AO, Holley RA.** Interactive inhibition of meat spoilage and pathogenic bacteria by lysozyme, nisin and EDTA in the presence of nitrite and sodium chloride at 24 degrees C. *Int J Food Microbiol*. 2003; 80(3): 251-259.
- 41- Huang Y, Ye M, Chen H.** Efficacy of washing with hydrogen peroxide followed by aerosolized

antimicrobials as a novel sanitizing process to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 on baby spinach. *Int J Food Microbiol.* 2012; 153(3): 306-313.

42- Cao Y, Gu W, Zhang J, Chu Y, Ye X, Hu Y, et al. Effects of chitosan, aqueous extract of ginger, onion and garlic on quality and shelf life of stewed-pork during refrigerated storage. *Food Chem.* 2013; 141(3): 1655-1660.

43- Pasha Zanussi MB, Reisi M, Mirkazemi Moghaddam S. Identification and Quantification of Compounds Present in Lemon Leaf Essential Oil Using GC-MS Spectrometry and Evaluation of Its Antibacterial and Antioxidant Activity. 5th National Conference on New Ideas in Agriculture; February 16, 2011; Azad University of Esfahan. 2011; P: 27-28. [In Persian]

44- Solomakos N, Govaris A, Koidis P, Botsoglou N. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157: H7 in minced beef during refrigerated storage. *Meat Sci.* 2008; 80(2): 159-166.

45- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods Of Analysis of AOAC International. 16th ed. MD, Arlington; USA Association of Official Analytical Chemistry. 1995.

46- Basti AA, Misaghi A, Ghaibee S. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on probability of growth initiation of *Bacillus cereus* in brain heart infusion broth. *J Med Plants.* 2005; 4(16): 48-55. [In Persian]

47- Fisher K, Phillips CA. The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *J Appl Microbiol.* 2006; 101(6): 1232-40.

48- Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernandez-Lopez J, Perez-Alvarez J. Antibacterial activity of lemon (*Citrus lemon*), mandarin (*Citrus reticulata*), grapefruit (*Citrus paradisi*) and orange (*Citrus sinensis*) essential oils. *J Food Saf.* 2008; 28(4): 567-576.

49- Ramos FA, Takaishi Y, Shirotori M, Kawaguchi Y, Tsuchiya K, Shibata H, et al. Antibacterial and antioxidant activities of quercetin oxidation products from yellow onion (*allium cepa*) skin. *J Agric Food Chem.* 2006; 54(10): 3551-3557.

50- De Souza EL, Montenegro Stanford TL,

De Oliveira Lima E, Trajano VN, Barbosa Filho JM. Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. *Braz Arch Biol Technol.* 2005; 48(4): 549-558.

51- Misaghi A, Akhondzade Basti A. Effects of *Zataria multiflora* Boiss essential oil and nisin on *Bacillus cereus* ATCC 11778. *Food Control.* 2007; 18(9): 1043-1049.

52- Koji Yamazaki K, Yamamoto T, and Kawai Y, Inoue N. Enhancement of antilisterial activity of essential oil constituents by nisin and diglycerol fatty acid ester. *Food Microbiol.* 2004, 21(3): 283-289.

53- Gallo LI, Pilosof AMR, Jagus RJ. Effective control of *Listeria innocua* by combination of nisin, Ph and low temperature in liquid cheese whey. *Food Control.* 2007; 18(9): 1086-1092.

54- Periago PM, Palop A, Fernandes PS. Combined effect of nisin, carvacrol and thymol on the viability of *Bacillus cereus* heat-treated vegetative cells. *Food Sci Technol.* 2001; 7(6): 487-492.

55- Abee T. Pore-forming Bacteriocins of Gram-positive bacteria and self-protection mechanisms of producer organisms. *FEMS Microbiol Lett.* 1995; 129(1): 1-10.

56- Singh B, Falahee MB, Adams MR. Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin and garlic extract. *Food Microbiol.* 2001; 18(2): 133-139.

57- Boziaris IS, Nychas GJE. Effect of nisin on growth boundaries of *Listeria monocytogenes* Scott A, at various temperatures, pH and water activities. *Food Microbiol.* 2006; 23(8): 779-784.

58- Lis-Balchin M, Steyrl H, Krenn E. The comparative effect of novel Pelargonium essential oils and their corresponding hydrosols as antimicrobial agents in a model food system. *Phytother Res.* 2003; 17(1): 60-65.

59- Lv F, Liang H, Yuan Q, Li C. In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Res Int.* 2011; 44(9): 3057-3064.

60- Razavi Rohani SM, Moradi M, and Mehdizadeh T. Antibacterial combined effects of nisin and onion essential oil under different concentration of NaCl and pH against *Listeria monocytogenes* in vitro. *Food Hygiene.* 2011; 1(3): 25-33. [In Persian]



Investigation of the Effect of Onion Extract, Lemon Essential Oil, and Nisin on the Behavior of *Escherichia coli* Inoculated in Minced Quail Meat Stored at 8°C

Zahra Afsharmanesh¹, Mohammad Rahnama*², Majid Alipour-Eskandani²,
Gholamhossein Haghayegh³, Saeed Salari⁴


1- Graduated in MSc in Food Science and Engineering, Department of Food Industries, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.

2- Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Food Industries, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.

4- Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.

Receive: June 09, 2025; Revise: August 17, 2025; Accept: August 19, 2025

 10.22034/nfvm.2025.529414.1289

Summary

The use of preservatives with antibacterial properties in poultry products appears to be essential to control *Escherichia coli* (*E. coli*), a most important bacterial species transmitted through poultry meat consumption. In this study, the antibacterial effects of onion extract, lemon essential oil, and nisin against *E. coli* in minced quail meat during refrigerated storage were investigated. The growth rate of *E. coli* in treatment groups containing onion extract (2.5%, 5%, and 10% concentrations), lemon essential oil (2, 5, 10, 20, and 30 microliters per gram), and nisin (5, 10, and 20 micrograms per gram) as well as control group (without preservatives) were examined periodically. Lemon essential oil at a concentration of 30 microliters per gram completely inhibited bacterial growth from day one until the end of the storage period, reducing the *E. coli* count to zero. Although onion extract and nisin had a minor inhibitory effect on *E. coli*, their combined use significantly enhanced their inhibitory effectiveness. Based on the results, onion extract combined with nisin and lemon essential oil can be considered as a natural antibacterial agent for quail meat.

Keywords: *Escherichia coli*, quail, onion, lime, nisin



بررسی مقطعی فراوانی ویروس لوکوز گاوی (BLV) در استان سیستان و بلوچستان به روش PCR

ابراهیم بویا^۱، علی سارانی^{۲*}، مهدی راسخ^۳

۱- دانش آموخته، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۲- استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۳- دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ۲۷ آبان ۱۴۰۳، بازنگری: ۲۴ شهریور ۱۴۰۴، پذیرش نهایی: ۳۰ شهریور ۱۴۰۴



10.22034/nfvm.2025.489277.1267

چکیده

ویروس لوکوز گاوی با آلوده‌سازی و استقرار در لنفوسیت‌های B، سیستم رتیکولاندوتلیال را درگیر کرده و در ارگان‌های مختلف علائم بالینی متفاوتی ایجاد می‌کند، در شرایط طبیعی، گاو تنها میزبان اصلی و مخزن بیماری است و به‌طور عمودی و افقی به این ویروس آلوده می‌شود، گوسفند و بز به‌طور تجربی به این ویروس آلوده می‌شوند. با توجه به عدم وجود اطلاعات کافی در خصوص میزان آلودگی و نحوه گردش ویروس BLV در استان سیستان و بلوچستان، مطالعه حاضر طراحی گردید. در این مطالعه توصیفی، تعداد ۵۱ رأس دام (۱۵ رأس گاو، ۲۰ رأس گوسفند و ۱۶ رأس بز) به‌صورت تصادفی از شهرستان‌های مختلف استان با ایجاد پراکندگی مناسب، انتخاب و نمونه‌های خون جمع‌آوری گردید. پس از جداسازی لایه بافی‌کوت، و استخراج RNA و سنتز cDNA، با استفاده از تکنیک PCR و پرایمرهای اختصاصی طراحی شده برای ژن env ویروس، به تکثیر قطعه هدف از RNA ویروسی در نمونه‌ها اقدام شد. در این مطالعه داده‌های مربوط به سن، جنس، نژاد، تعداد زایش و شرایط نگهداری دام‌ها جمع‌آوری و به‌منظور بررسی ارتباط آنها با آلودگی به ویروس، مورد تحلیل آماری قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه ۱۳/۳ درصد از گاوهای مورد بررسی آلوده به ویروس لوکوز گاوی بودند. در حالی که در نمونه‌های گوسفند و بز هیچ مورد مثبتی مشاهده نشد. بر اساس مطالعه حاضر ویروس لوکوز در جمعیت گاووان سیستان و بلوچستان وجود دارد لذا باید در تدابیر کنترلی و پیشگیرانه برای جلوگیری از گسترش بیماری مد نظر قرار گیرد.

واژگان کلیدی: ویروس لوکوز گاوی، ژن env، گوسفند، بز، PCR

مقدمه

ویروس لوسمی گاو یک RNA ویروس تک‌رشته‌ای از خانواده رتروویریده و جنس دلتاویروس می‌باشد که لنفوسیت‌های B را درگیر کرده و در آن استقرار می‌یابد و می‌تواند سبب ایجاد لوسمی در گاو شود (۱). گاو به‌عنوان میزبان اصلی BLV شناخته شده است و این ویروس می‌تواند از طریق روش‌های مختلف به سایر دام‌ها منتقل شود. انتقال افقی ویروس عمدتاً از طریق تماس مستقیم میان دام‌ها، استفاده از تجهیزات مشترک آلوده، یا حشرات خون‌خوار صورت می‌گیرد. همچنین، انتقال عمودی از مادر آلوده به جنین نیز گزارش شده است. اگرچه گاوها بیشترین حساسیت به BLV را دارند، آلودگی تجربی در گونه‌های دیگر مانند گوسفند و بز نیز در شرایط آزمایشگاهی مشاهده شده است اما به‌طور تجربی توانستند در گوسفند، بز، خوک، خرگوش، راسو، میمون، شامپانزه انتقال یابند (۲). بیماری در اروپای شرقی در سال ۱۹۰۰ برای اولین بار گزارش شد. نحوه پیدایش تومور از سال ۱۹۱۲ مورد توجه قرار گرفت اما تا سال ۱۹۶۹ عامل بیماری مشخص نبود و تنها آن را به‌عنوان یک بیماری عفونی می‌شناختند ولی در سال ۲۰۲۲ در ژاپن ویروس عامل بیماری تحت عنوان ویروس لوکوز گاوی گزارش شد. در ایران هم این بیماری وجود دارد و در سال ۱۹۶۵ میلادی در دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران شناسایی شد (کیوان‌فر و همکاران، ۱۳۸۰). آلودگی به ویروس با ورود آن به ژنوم سلول‌های میزبان ایجاد می‌گردد و از بین دام‌های مختلف تنها گاو به‌طور طبیعی به این ویروس آلوده می‌شود (۳). در این بیماری انتقال افقی اهمیت بیشتری از انتقال عمودی دارد (۴). این بیماری در گاوها به‌صورت عمودی از طریق جفت، اختلاط خونی در زمان زایمان و آغوز آلوده و به‌صورت افقی از طریق استفاده از دستکش‌های ملامسه رکتال مشترک، حشرات، سرسوزن‌های مشترک، خالکوبی روی گوش و شاخ‌بری قابل انتقال است (۵، ۶). لوکوز در گاو به دو شکل انژوتیک و انفرادی دیده می‌شود (۷، ۸).

گوساله‌های تازه متولد شده به دنبال شیرخواری آلوده

می‌شوند و این ویروس می‌تواند گاوها را در تمامی سنین آلوده کند. این ویروس سیستم رتیکولاندوتلیال را درگیر می‌کند و می‌تواند باعث ایجاد تومور در این سیستم شود. ارگان‌هایی که عموماً درگیر این ویروس می‌شوند شامل طحال، قلب، کبد، کلیه، ریه، پستان و رحم می‌باشند. این ویروس با توجه به ارگانی که درگیر می‌کند می‌تواند علائم بالینی متفاوتی از جمله اختلالات دستگاه گوارشی، تنفسی، ادراری، تناسلی و گردش خون نشان دهد. علائم بالینی غالباً در سنین بالای ۳ سال دیده می‌شود. در ۳۱ درصد از دام‌های مبتلا لنفوسیتوز پایدار و در کمتر از ۵ درصد دام‌های مبتلا هم لنفوسارکوم مشاهده می‌شود. دام‌های آلوده که علائم بالینی لوکوز در آنها دیده نمی‌شود، در تمام طول عمر توانایی انتقال ویروس را از طریق لنفوسیت‌های آلوده دارند. این دام‌های ناقل، منبع بالقوه عفونت برای سایر دام‌های حساس به حساب می‌آیند. شیوع لوکوز گاوی به عواملی همانند سن، جنس، نوع پرورش و مدیریت بستگی دارد. تشخیص این ویروس با روش PCR امکان‌پذیر است. علاوه بر این آلودگی به این ویروس را می‌توان با روش‌های سرولوژی نظیر الایزا و آگار ژل ایمنودیفیوژن هم تشخیص داد. لوکوز زیان‌های اقتصادی عمده‌ای به صنعت دامداری وارد می‌کند و برای کنترل و ریشه‌کنی این بیماری هزینه قابل توجهی لازم است. این ویروس به دو صورت مستقیم (درمان، عوارض جدی ناشی از بیماری و مرگ‌ومیر) و غیر مستقیم (عدم خرید و فروش دام‌های آلوده) باعث ضررهای اقتصادی می‌شود (۹).

انتقال بیماری در شرایط بهداشتی مساعد خصوصاً استعداد ژنتیکی دام و عدم رعایت اصول بهداشتی، به‌ویژه در زمان واکسیناسیون، خونگیری، وجود حشرات خونخوار، ملامسه رکتال افزایش می‌یابد، همچنین انتقال از طریق فرآورده‌های بیولوژیک مانند واکسن‌های تیلریوز، بابزیوز و آناپلاسموز (حاوی خون یا سلول‌های کشت آلوده) می‌تواند صورت گیرد. ویروس از طریق وسایل جراحی، شاخ‌بری، وسایل مامایی و سرسوزن می‌تواند انتقال یابد. ویروس توانایی انتقال از جفت و آلوده کردن جنین را نیز دارد (۱۰).

که ۰/۵ درصد دام‌ها به‌صورت سرولوژیک مثبت هستند. میزان شیوع در گاوها با افزایش سن بالا می‌رود و این‌طور به نظر می‌رسد که تماس با گاوهای بالغ آلوده، مهم‌ترین عامل تأثیرگذار باشد. میزان شیوع در گاوهای شیری از گاوهای گاوشتی بیشتر است. این وقوع بیشتر ممکن است به‌دلیل تماس بیشتر باشد تا یک حساسیت نژادی خاص. شیوع ویروس در گاوهای شیری با سن کمتر از ۲۴-۱۷ ماه از گاوهای بالغ کمتر است و بعد از ۲۱ ماهگی، یعنی زمانی که گوساله‌ها به گله‌های شیری می‌پیوندند و در تماس نزدیک با گاوهای مسن‌تر قرار می‌گیرند، به شدت افزایش می‌یابد. میزان بروز با شیوع ویروس ارتباط دارد. سرعت گسترش در گله‌هایی که شیوع ۲۲-۱۳ درصد داشتند، آهسته بوده و سرعت گسترش در گله‌های با شیوع ۴۲ درصد، بسیار سریع‌تر بوده است (۸). اهمیت BLV در صنعت دامپروری به‌دلیل پیامدهای اقتصادی و بهداشتی آن بسیار زیاد است. کاهش تولید شیر، افزایش هزینه‌های درمان و پیشگیری، و تأثیرات منفی بر صادرات و تجارت دام از جمله مشکلاتی هستند که این ویروس ایجاد می‌کند. از این‌رو، بررسی شیوع و اپیدمیولوژی این بیماری در مناطق مختلف از اهمیت بالایی برخوردار است. شناسایی دام‌های آلوده، تعیین عوامل خطر مرتبط با انتقال ویروس، و اجرای راهکارهای مدیریتی برای کنترل بیماری از جمله اقداماتی هستند که می‌توانند به کاهش تأثیرات این ویروس کمک کنند. روش‌های تشخیصی BLV طی دهه‌های گذشته بهبود یافته‌اند. روش‌های سنتی شامل آزمایش‌های سرولوژیک مانند الایزا و تست‌های ایمنوفلورسانس برای شناسایی آنتی‌بادی‌های ویروس بوده‌اند. اگرچه این روش‌ها ابزارهای مفیدی برای شناسایی موارد عفونی هستند، اما در مواردی که عفونت در مراحل اولیه یا تحت‌بالینی باشد، محدودیت‌هایی دارند. در سال‌های اخیر، تکنیک‌های مولکولی مانند واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) برای تشخیص BLV بکار گرفته شده‌اند. این روش‌ها، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای ژن‌های ویروس مانند env، دقت و حساسیت بالایی در شناسایی ویروس حتی در

گاوها مخارن طبیعی برای ویروس لوکوز گاوی هستند و یک منبع عفونت برای سایر گاوهای حساس به حساب می‌آیند. پس از عفونت، پادتن و ویروس، هر دو تا مدت طولانی و احتمالاً در تمام طول زندگی حیوان پایدار می‌مانند. دوره کمون میان تماس با ویروس و زمان ظهور پادتن‌های قابل شناسایی بسته به میزان ویروس تلقیح شده و آزمایش استفاده شده معمولاً از ۳ تا ۱۱ هفته متغیر است. شیوع عفونت در بین گله‌ها بسیار متفاوت می‌باشد. به‌طور کلی شیوع عفونت در نواحی گرمسیری معمولاً بیشتر از نواحی معتدل است (۱۱). در ایران این بیماری یک بیماری وارداتی به حساب می‌آید و از طریق گاو یا اسپرم آلوده وارد کشور شده است. قائم مقامی و همکاران (۱۳۸۷) در استان مرکزی با مطالعه ۶۴۳ راس گاو به روش آگار ژل ایمنوادیفیوژن میزان شیوع BLV را ۳ درصد گزارش کردند و همچنین با نشان دادن شیوع بیشتر در گاوهای وارداتی نسبت به گاوهای بومی فرضیه وارداتی بودن بیماری در کشور را تأیید نمودند. مطالعاتی بر روی شیوع این ویروس در کشور صورت گرفته است، از جمله در مطالعه صورت گرفته توسط ممتاز و همت‌زاده (۱۳۸۲) در چهارمحال و بختیاری بر روی ۳۶۸ راس گاو با روش الایزا که میزان شیوع را ۵/۷ درصد گزارش کرده‌اند. کارگر و همکاران (۱۳۷۵) در ۲۴ استان ایران با استفاده از روش AGID، میانگین آلودگی را ۱/۷ درصد گزارش کرده‌اند. در مطالعه صورت گرفته توسط محمدی و همکاران (۲۰۱۱) در تهران، با مطالعه ۱۳۷ گاو به روش الایزا درصد آلودگی به لوکوز را ۲۹/۹ درصد گزارش کردند. در مطالعه صورت گرفته توسط موسوی و همکاران (۲۰۱۴) بر روی ۴۲۹ نمونه خون از گاو‌داری‌های شیری صنعتی به روش الایزا در استان‌های شمال شرقی، ۲۵/۴ درصد از گاوها (۱۰۹ رأس) مثبت بودند. در این مطالعه شیوع ویروس لوکوز گاوی در میان گاو‌داری‌های خراسان رضوی و خراسان شمالی به‌ترتیب ۲۹/۸ و ۱/۵ درصد بوده است. در مطالعه صورت گرفته توسط حاجی‌کلایی و همکاران (۱۳۸۵) بر روی ۶۰۰ رأس گاو در اهواز به روش ژل آگار ایمنوادیفیوژن گزارش کردند

نمونه‌هایی با بار ویروسی پایین دارند.

استان سیستان و بلوچستان یکی از مناطق خاص ایران است که به دلیل شرایط اقلیمی و جغرافیایی خود، دارای تنوع گسترده‌ای از دام‌ها از جمله گاو، گوسفند و بز است. این منطقه با داشتن سیستم‌های مختلف نگهداری دام از سنتی تا صنعتی و همچنین موقعیت مرزی، پتانسیل بالایی برای گسترش بیماری‌های عفونی مانند BLV دارد. با این حال، اطلاعات موجود درباره وضعیت آلودگی به BLV در این منطقه محدود است و این موضوع ضرورت انجام مطالعات جامع‌تر در این زمینه را برجسته می‌کند.

مطالعه شیوع BLV در سیستان و بلوچستان می‌تواند به درک بهتر از الگوی پراکندگی این ویروس در منطقه و عوامل مرتبط با انتقال آن کمک کند. از آنجاکه BLV یکی از ویروس‌های مهم در صنعت دامپروری جهانی است، بررسی شیوع آن در مناطقی مانند سیستان و بلوچستان که دارای دامداری‌های متنوع و استراتژیک هستند، می‌تواند در تدوین راهبردهای مدیریتی و کنترل بیماری مؤثر باشد. علاوه بر این، استفاده از روش‌های دقیق و حساس مانند PCR در شناسایی BLV به ارائه تصویری واقعی‌تر از میزان شیوع و الگوهای انتقال کمک می‌کند. این روش‌ها امکان تشخیص آلودگی در مراحل اولیه و بدون بروز علائم بالینی را فراهم کرده و اطلاعاتی ارزشمند برای کنترل بیماری ارائه می‌دهند. همچنین، جمع‌آوری داده‌های مرتبط با سن، جنس، نژاد، شرایط نگهداری و سایر عوامل محیطی می‌تواند به شناسایی عوامل خطر مرتبط با انتقال ویروس و طراحی مداخلات هدفمند کمک کند.

این تحقیق با هدف بررسی فراوانی ویروس BLV در استان سیستان و بلوچستان با استفاده از روش PCR طراحی شده است. مطالعه‌ای با چنین رویکردی می‌تواند به ارتقای دانش موجود درباره این بیماری کمک کند و مبنایی برای برنامه‌ریزی بهتر در زمینه پیشگیری و کنترل BLV در سطح منطقه‌ای و ملی فراهم آورد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، با توجه به میزان شیوع و گزارشات بیماری لوکوز گاوی در کشورها و استان‌های همجوار، تعداد ۵۱ رأس دام (۱۵ رأس گاو، ۲۰ رأس گوسفند و ۱۶ رأس بز) به صورت تصادفی از شهرستان‌های زابل، زاهدان، خاش و چابهار برای نمونه‌گیری انتخاب شدند.

روش اخذ نمونه و نگهداری نمونه‌ها: در این مرحله،

نمونه خون از هر دام با استفاده از سرنگ ۱۰ سی‌سی و با مقیدسازی فیزیکی و رعایت اصول بهداشتی از ورید وداخ اخذ شد و بلافاصله به لوله آزمایش حاوی ضد انعقاد انتقال داده شد و برای هر دام از ۲ لوله آزمایش ۶ سی‌سی استفاده شده و به هر کدام از لوله‌ها ۵ سی‌سی نمونه خون ریخته شد، سپس نمونه‌های خون در کول‌باکس حاوی یخ‌چال ریخته شد، جهت حفظ زنجیره سرما نگهداری شدند، نمونه‌های اخذ شده به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی زابل منتقل شدند و سپس در دمای منفی ۲۰ درجه نگهداری شدند.

روش انجام آزمایش: استخراج بافی کوت: به منظور

جداسازی لنفوسیت‌های حاوی ویروس، خون‌های جمع‌آوری شده ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از تشکیل لایه‌های مختلف خون، لایه حاوی گلبول‌های سفید (Buffy coat) با استفاده از پیپت پاستور با دقت از لوله آزمایش جدا شده و به لوله‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل گردید.

استخراج RNA و سنتز cDNA: پس از جداسازی

لایه بافی کوت، استخراج RNA ویروسی از نمونه‌ها با استفاده از کیت‌های استخراج RNA انجام شد. سپس RNA استخراج شده جهت تولید cDNA، تحت سنتز معکوس قرار گرفت تا در مراحل بعدی مورد بررسی قرار گیرد.

کمیت و کیفیت سنجی DNA/استخراج شده: در

این مرحله از روش اسپکتروفتومتری به منظور بررسی کیفیت و میزان غلظت ژن‌های استخراج شده، استفاده گردید. بعد از روشن و کالیبره کردن دستگاه

شناسایی ویروس BLV، پرایمرهای اختصاصی برای ژن env ویروس طراحی و تهیه شدند جدول (۱). سپس با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) و پرایمرهای طراحی شده، قطعه هدف از RNA ویروسی موجود در نمونه‌ها تکثیر شد. محصولات PCR در ژل آگارز الکتروفورز و رنگ‌آمیزی شدند تا نتایج قابل مشاهده و ثبت گردند.

اسپکتروفتومتری، میزان یک سی سی Elution Buffer را به‌عنوان Blank در کووت مخصوص به خود افزوده و میزان جذب صفر گردید. سپس مشابه حجم قبلی از محلول DNA در کووت اضافه شد و بعد از آن، غلظت و خلوص DNA استخراج شده بر اساس نسبت جذب نوری در طول موج‌های ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر خوانده شد.

روش انجام PCR؛ طراحی پرایمر: به‌منظور

جدول ۱- توالی پرایمرهای طراحی شده

نام پرایمر	توالی پرایمر	اندازه باند محصول	منابع
env	F: 5'- GGGTCCTTTTATGTCAATC -3' R: 5'- GGAGGAARCCGTAGAGAG -3'	474 bp	(۲۷)

لوکوز گاوی (BLV) در نمونه‌ها، نتایج به شرح زیر به‌دست آمد:

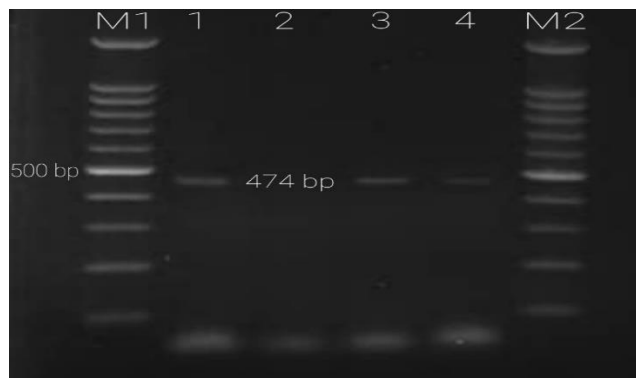
شیوع ویروس در گاوها: از ۱۵ رأس گاو مورد بررسی، ۱۳/۳ درصد، به ویروس BLV آلوده بودند. این گاوها در واکنش PCR باند مشخصی را در ژل آگارز نشان دادند که بیانگر وجود ژن env ویروس BLV در نمونه‌های خون آنها بود. این نتایج نشان‌دهنده شیوع قابل توجه ویروس در جمعیت گاوهای استان سیستان و بلوچستان است (شکل ۱).

عدم آلودگی در گوسفندها و بزها: در این مطالعه، نمونه‌های خون ۲۰ رأس گوسفند و ۱۶ رأس بز نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج PCR برای این دام‌ها منفی بود و هیچ‌یک از نمونه‌ها باندی مربوط به ژن env ویروس BLV را نشان ندادند. این بدین معناست که هیچ موردی از آلودگی به ویروس BLV در این دام‌ها مشاهده نشد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: در مطالعه حاضر، شیوع آلودگی به ویروس لوسمی گاو با حدود اطمینان ۹۵٪ در جامعه آماری (گاو، گوسفند و بزهای موجود در ۴ شهرستان سیستان و بلوچستان) با استفاده از روش بوت استرپ محاسبه شد. متغیرهای سن و جنسیت به‌عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند. از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۹ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. در مرحله اول ارتباط بین متغیرهای مستقل با وقوع آلودگی به ویروس لوسمی گاو با استفاده از آزمون مربع کای تعیین شد.

نتایج

در این مطالعه، ۵۱ رأس دام شامل ۱۵ گاو، ۲۰ گوسفند و ۱۶ بز از شهرستان‌های مختلف استان سیستان و بلوچستان مورد بررسی قرار گرفتند. پس از جمع‌آوری نمونه‌های خون و انجام واکنش PCR برای شناسایی ویروس



شکل ۱- تصویر محصولات PCR در ژل الکتروفورز. DNA Ladder 100: M1, M2. ۱: نمونه کنترل مثبت، ۲: نمونه کنترل منفی، ۳ و ۴: نمونه‌های مثبت

نتایج حاصل از آنالیز آماری متغیر سن و ارتباط آنها با میزان شیوع، ارتباط آماری معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (جدول ۲). (p value = 0.126).

جدول ۲- آنالیز آماری متغیر سن با میزان شیوع

P Value	انحراف معیار	میانگین	تعداد	سطوح متغیر	
۰/۱۲۶	۱/۴۸۱	۴/۲۳	۱۳	مثبت	سن
				منفی	
	۰	۶/۰۰	۲		

در این مطالعه میزان شیوع در سنین ۶ و ۷ سال بیشتر بوده است و بر اساس نتایج حاصل از آنالیز آماری (Independent sample T test) بین متغیر سن و میزان شیوع ارتباط معنی‌داری یافت نشد.

جدول ۲- آنالیز آماری متغیر جنس با میزان شیوع

متغیر	سطوح متغیر	تعداد	میزان آلودگی	P Value
			شیوع آلودگی (%)	
جنس	نر	۴	۰	۰/۳۶۰
	ماده	۱۱	۱۸/۲	
			تعداد دام آلوده	
			۰	
			۲	

در این مطالعه میزان شیوع در جنس ماده بیشتر از نر بود و بر اساس نتایج حاصل از آنالیز آماری با استفاده از تست Mann-Whitney بین متغیر جنس و میزان شیوع ارتباط معنی‌داری یافت نشد (جدول ۲).

جدول ۳- آنالیز آماری متغیر تعداد شکم زایش با میزان شیوع

P value	انحراف معیار	میانگین	تعداد	سطوح متغیر	
۰/۱۴۶	۱/۵۷۳	۲/۸۵	۱۳	مثبت	شکم زایش
				منفی	
	۷۰۷	۴/۵	۲		

میزان شیوع در گاوهایی که دارای تعداد ۴ و ۵ شکم زایش بوده‌اند بیشتر بود و بر اساس نتایج حاصل از آنالیز آماری با استفاده از تست Pearson Chi square بین متغیر تعداد شکم زایش و میزان شیوع ارتباط معنی‌داری یافت نشد (جدول ۳).

جدول ۴- آنالیز آماری متغیر منطقه جغرافیایی با میزان شیوع

متغیر	سطوح متغیر	تعداد	میزان آلودگی	P Value
			شیوع آلودگی (%)	
شهرستان	زابل	۴	۰	۰/۰۹۶
	زاهدان	۴	۰	
	چابهار	۴	۵۰	
	خاش	۳	۰	
			تعداد دام آلوده	
			۰	
			۲	

اگرچه براساس نتایج به‌دست آمده، میزان شیوع در شهرستان چابهار بیشتر بود، ولی آنالیز آماری با استفاده از

(جدول ۴).

تست Pearson Chi square بین متغیر منطقه جغرافیایی محل پرورش و میزان شیوع ارتباط معنی‌داری یافت نشد

جدول ۵- آنالیز آماری متغیر نوع سیستم پرورشی با میزان شیوع

متغیر	سطوح متغیر	تعداد	میزان آلودگی	P Value
نوع سیستم پرورش	سنتی	۷	شیوع آلودگی (%) ۲۸/۶	۰/۱۰۶
	نیمه صنعتی	۸	۰	

درصد گزارش کردند (۱۷).

بررسی و تحلیل مطالعات مختلف خارجی در

خصوص میزان شیوع لوکوز گاوی: سندو و همکاران در سال ۲۰۱۵ طی بررسی که به روش الایزا انجام دادند، میزان شیوع را ۳۳/۳۸ درصد گزارش کردند. در مطالعه صورت گرفته توسط مورکامی و همکاران در سال ۲۰۱۱ در کشور ژاپن و با روش الایزا، میزان شیوع را ۲۸/۶ درصد گزارش نمودند (۷). تی لی و همکاران در سال ۲۰۲۳ در ویتنام میزان شیوع در گاو گوشتی و شیری و با روش آگار ژل ایمنودیفیوژن را ۱۴۶/۱۴۶ درصد گزارش نمودند (۱۸). در مطالعه صورت گرفته توسط متوالی و همکاران در سال ۲۰۲۰ در مصر بر روی ۱۶۸ رأس گاو گوشتی و با استفاده از PCR، میزان شیوع را ۲۸ درصد گزارش کردند (۱۹). پولات و همکاران در سال ۲۰۱۵ در فیلیپین با مطالعه ۱۱۱۶ رأس گاو شیری به روش‌های مولکولی، میزان شیوع را ۲۳۱/۲۳۱ درصد گزارش کردند (۲۰). در مطالعه صورت گرفته توسط موسوی و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی شیوع سرمی لوکوز گاوی در ۴۲۹ رأس گاو به روش الایزا در خراسان رضوی، میزان شیوع را ۲۵/۴ درصد و در گاوهای شیری میزان شیوع را ۲۹/۸ درصد گزارش نمودند (۲۱). چاکون و همکاران در سال ۲۰۲۳ در بررسی ۳۷۹ نمونه خون و ۱۳۳ نمونه اسپرم گاو گوشتی با روش آگار ژل ایمنودیفیوژن و PCR در منطقه کاستاریکا، میزان شیوع را ۴۳/۵ درصد گزارش کردند (۲۲). در بررسی صورت گرفته توسط گابریلا پورتا و همکاران در سال ۲۰۲۳، شیوع سرمی لوکوز گاوی با استفاده از روش الایزا در آرژانتین بر روی

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد؛ میزان شیوع دامداری‌های با سیستم پرورشی از نوع سنتی بیشتر است. نتایج حاصل از آنالیز آماری با استفاده از تست Pearson Chi square بین متغیر نوع سیستم پرورشی و میزان شیوع ارتباط معنی‌داری یافت نشد (جدول ۵).

بحث و نتیجه‌گیری

این پژوهش برای اولین بار شیوع ویروس لوسمی گاوان را به روش PCR در گاو، گوسفند و بزهای استان سیستان و بلوچستان مورد ارزیابی قرار داده است. در این مطالعه میزان شیوع در گاوان ۱۳/۳ درصد بود و ویروس از گوسفندان و بزها جداسازی نشد.

بررسی و تحلیل مطالعات مختلف انجام گرفته در

کشور: میزان شیوع سرمی در مطالعات حاجی‌کلای در سال ۱۳۸۵ در اهواز ۰/۵ درصد و در سال ۱۳۹۴، ۰/۱۸ درصد بوده است (۱۳). ممتاز و همت‌زاده در استان چهارمحال و بختیاری در سال ۱۳۸۲ در بررسی ۳۶۸ رأس گاو، میزان شیوع را ۵/۷ درصد گزارش نمودند (۱۴). قائم مقامی و همکاران در سال ۱۳۷۸ در بررسی ۶۴۳ رأس گاو دورگ، اصیل و بومی به روش آگار ژل ایمنودیفیوژن، میزان آلودگی را ۳ درصد گزارش کردند (۱۵). در استان آذربایجان شرقی جعفری جوزانی و مقدم در سال ۱۳۹۲ در مطالعه‌ای بر روی ۶۲۴ رأس گاو با روش الایزا میزان شیوع را ۱۰/۸ درصد گزارش نمودند (۱۶). در مطالعه صورت گرفته توسط پورجعفر و همکاران در سال ۱۳۸۶ در شهرکرد، آنها با روش الایزا و آگار ژل ایمنودیفیوژن در بررسی ۴۲۲ رأس گاو، میزان شیوع را به ترتیب ۱۴ و ۹/۵

۵۸۳۷ رأس گاو ۵۰ درصد گزارش شده است (۲۳). هاسر و همکاران در سال ۲۰۲۲ در آمریکا شیوع لوکوز گاوی را در ۲۸۴۵ رأس گاو شیری ۵۵ درصد گزارش کردند (۲۴).

در این مطالعه از تکنیک PCR جهت شناسایی ویروس لوکوز گاوی استفاده شد. خایمس و همکاران در سال ۲۰۲۴ در کلمبیا گزارش کردند که PCR نسبت به روش‌های سرمی جهت تشخیص مستقیم عفونت حساس‌تر بوده و حتی قبل از ظهور پادتن در خون نیز قابل استفاده می‌باشد (۲۵).

در مطالعه حاضر میزان شیوع ویروس لوکوز گاوی در سنین بالای ۵ سال بیشتر از سایرین بود. در این مطالعه میانگین سن در دام‌های بیمار ۶ سال و میانگین سن در دام‌های سالم ۴ سال بود که نشان‌دهنده بالاتر بودن سن در دام‌های بیمار می‌باشد ولی به‌علت فراوانی دام‌ها در استان و محدود بودن جامعه آماری، بر اساس نتایج حاصل از آنالیز آماری (Independent sample T test) بین متغیر سن و میزان شیوع ارتباط معنی‌داری یافت نشد.

بدیهی است که بالا بودن میزان شیوع ویروس در سنین بالا به‌علت افزایش احتمال در معرض عفونت قرار گرفتن دام در طول زمان می‌باشد. همسو با این بررسی، در بررسی صورت گرفته توسط Uysal و همکاران در سال ۱۹۹۸ ارتباط معنی‌داری بین سن و میزان شیوع وجود نداشته است. محمدی و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش کردند که با افزایش سن، میزان شیوع افزایش می‌یابد. جعفری جوزانی و مقدم در سال ۱۳۹۲ گزارش کردند که میزان شیوع با سن رابطه معنی‌داری دارد. موسوی و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند که با افزایش سن، میزان شیوع بیشتر می‌شود. در بررسی صورت گرفته توسط حداد زاده در سال ۱۳۶۵ مشخص شده است که بین میزان شیوع ویروس و سن رابطه معنی‌داری وجود دارد، به‌طوری که بالاترین درصد آلودگی برای سنین بالاتر از ۶ سال بوده است. در بررسی صورت گرفته توسط قائم مقامی و همکاران در سال ۱۳۷۸ نیز تمام نمونه‌های مثبت شده سن بالای ۲ سال داشته‌اند و بیشترین میزان شیوع در گاوهای ۳-۴ ساله بوده

است. در مطالعه صورت گرفته توسط ممتاز و همت‌زاده در سال ۱۳۸۲ بیشترین میزان آلودگی مربوط به گروه گاوهای ۷ سال و بالاتر بوده است. مروتی و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند که شیوع سرمی با سن ارتباط دارد. در مطالعه صورت گرفته توسط پورجعفر و همکاران در سال ۱۳۸۱ مشخص شده است که بیشترین میزان شیوع مربوط به گاوهای با سن ۶ سال و بیشتر است و کمترین میزان شیوع مربوط به گاوهای با سن ۳-۲ سال است. در مطالعه صورت گرفته توسط آزوبا و همکاران در سال ۱۹۹۴ اوگاندا مشخص شد که با افزایش سن نیز میزان شیوع نیز بیشتر می‌شود، به‌طوری که میزان شیوع در گروه سنی ۳-۱ سال، ۵-۳ سال، ۷-۵ سال و بالاتر به ترتیب ۱۳، ۱۷، ۲۲ و ۳۳ درصد بوده است. در مطالعه صورت گرفته توسط باتماز و همکاران در سال ۱۹۹۵ در ترکیه گاوهای آلوده سن بین ۶-۲ سال داشته‌اند.

در این مطالعه میانگین تعداد شکم زایش در دام‌های بیمار ۴/۵ و میانگین تعداد شکم زایش در دام‌های سالم ۲/۸۵ بوده که نشان‌دهنده بالاتر بودن میزان شیوع در دام‌های با تعداد شکم زایش بیشتر از ۴ می‌باشد ولی به‌علت محدودیت حجم جامعه آماری و بر اساس نتایج حاصل از آنالیز آماری با استفاده از تست Pearson Chi square بین متغیر تعداد شکم زایش و میزان شیوع ارتباط معنی‌داری یافت نشد. در بررسی صورت گرفته توسط حداد زاده در سال ۱۳۶۵ مشخص شده است که بین میزان شیوع ویروس و تعداد زایمان رابطه معنی‌داری وجود دارد، به‌طوری که بالاترین درصد آلودگی در گاوهای چهار شکم زایش بوده است. در مطالعه صورت گرفته توسط محمدی و همکاران در سال ۲۰۱۱ مشخص شده است که میزان شیوع با تعداد شکم زایش ارتباط دارد و با افزایش تعداد شکم زایش میزان شیوع نیز افزایش می‌یابد. موسوی و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند که با افزایش تعداد شکم زایش، میزان شیوع بیشتر می‌شود.

در این مطالعه میزان شیوع در جنس ماده بیشتر از نر بود. بدیهی است که میزان شیوع در جنس ماده به علت

در این مطالعه میزان شیوع در گله‌هایی که سیستم پرورشی از نوع سنتی بود، بیشتر بود و بر اساس نتایج حاصل از آنالیز آماری با استفاده از تست مربع کای پیرسون، بین متغیر نوع سیستم پرورشی و میزان شیوع ارتباط معنی‌داری یافت نشد. دامداری‌های نمونه‌گیری شده در این مطالعه بیشتر از نوع سنتی بود و به‌طور کلی دامداری‌های موجود در استان سیستان و بلوچستان بیشتر از نوع سنتی بوده و دامداری صنعتی بسیار اندک است. رعایت اصول بهداشتی و کنترلی در دامداری‌های سنتی به مراتب ضعیف‌تر از صنعتی بوده و بیشتر دامداری‌های سنتی دارای مساحت کم و تراکم بالا می‌باشد و از طرف دیگر کنترل حشرات و ناقلین به ندرت صورت می‌گیرد. در بررسی مطالعات همسو، در مطالعه صورت گرفته توسط قائم مقامی و همکاران ۱۳۷۸ مشخص شده است که میزان شیوع در دامداری‌های صنعتی نسبت به سنتی بیشتر می‌باشد. جعفری جوزانی و مقدم در سال ۱۳۹۲ گزارش کردند که اندازه گله و سیستم نگهداری با میزان شیوع رابطه معنی‌داری دارد. حداد زاده در سال ۱۳۶۵ گزارش کرده که جمعیت گله ارتباط معنی‌داری با میزان شیوع ندارد و مروتی و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند که شیوع سرمی ویروس با نوع پرورش رابطه ندارد.

در این مطالعه میزان شیوع در جمعیت گوسفند و بز مورد مطالعه صفر درصد بود. در مطالعه صورت گرفته توسط Olson و همکاران در سال ۱۹۷۶ بر روی ۶۹ گوسفند آلوده شده به ویروس لوکوز گاوی، مشاهده شد که در ۲۴ گوسفند پس از ۱۳-۶۶ هفته لئوسارکوما رشد کرده و تلف شده‌اند. در این مطالعه نیز از روش PCR و ژن *env* جهت شناسایی این ویروس استفاده شد. در مطالعه صورت گرفته توسط برندون و همکاران در سال ۱۹۹۱ بر روی تلقیح تجربی ویروس لوسمی گاوی در گوسفند و تشخیص زود هنگام آن با استفاده از روش PCR و ژن *env*، مشاهده شده که گوسفندان نیز به این بیماری دچار شده‌اند. همچنین گزارش کردند که روش PCR در تشخیص این ویروس حساس‌تر از سایر روش‌هاست.

نگهداری طولانی‌تر بیشتر از جنس نر است ولی بر اساس نتایج حاصل از آنالیز آماری با استفاده از تست Mann-Whitney بین متغیر جنس و میزان شیوع ارتباط معنی‌داری یافت نشد. در مطالعه صورت گرفته توسط جعفری جوزانی و مقدم در سال ۱۳۹۲ مشخص شده است که میزان شیوع با جنس ارتباط معنی‌داری دارد و بیان نمودند میزان شیوع در جنس ماده به دلیل نگهداری طولانی‌تر از نر است. در مطالعات صورت گرفته توسط یوسال و همکاران در سال ۱۹۹۸ و پنهیرو و همکاران در سال ۲۰۱۳ نیز مشخص شده است که ارتباط معنی‌داری بین جنس و میزان شیوع وجود ندارد.

در این مطالعه میزان شیوع در شهرستان چابهار بیشتر بود ولی بر اساس نتایج حاصل از آنالیز آماری با استفاده از تست مربع کای بین متغیر شهرستان محل پرورش و میزان شیوع ارتباط معنی‌داری یافت نشد. شهرستان چابهار یک شهرستان بندری بوده و واردات دام از بندر چابهار و همین‌طور از بازارچه‌های مرزی ریمدان و پیشین صورت می‌گیرد، بر اساس تحقیقات صورت گرفته دو رأس گاو مثبت شده در دامداری بوده‌اند که سابقه ورود گاو وارداتی داشته‌اند و احتمال اینکه عفونت از طریق این گاوان سرایت کرده باشد نیز وجود دارد. در مطالعه صورت گرفته توسط جعفری جوزانی و مقدم در سال ۱۳۹۲ مشخص شده است که ارتباط معنی‌داری بین موقعیت جغرافیایی و میزان شیوع وجود ندارد. تأثیر موقعیت جغرافیایی بر میزان شیوع را می‌توان به تفاوت در مدیریت بهداشتی و پرورشی و آب و هوا از طریق اثر روی فعالیت ناقلین در مناطق مختلف و مرزی بودن شهر و امکان واردات دام نسبت داد. در بررسی صورت گرفته توسط آزوبا و همکاران در سال ۱۹۹۴ میزان شیوع در شرق و شمال شرق اوگاندا را ۳۰ درصد و شیوع در نواحی جنوبی و مرکزی را ۱۳ درصد گزارش کرده‌اند و علت احتمالی این میزان اختلاف در شیوع را چراگاه‌های کم و در نتیجه تماس بیشتر و نزدیک‌تر گاوها و همچنین وجود تعداد بیشتری پشه‌های تسمه‌تسه و حشرات گزنده در مناطق شرق و شمال شرق ذکر کرده است.

گسترش این بیماری، اجرای برنامه‌ای جامع و منسجم ضروری می‌نماید. این برنامه می‌بایست شامل اقداماتی همچون انجام آزمایشات سرولوژیکی گسترده بر روی دام‌ها، حذف دام‌های آلوده، ارتقاء سطح بهداشت و ایمنی در دامداری‌ها، استفاده از تجهیزات یکبار مصرف در عملیات دامپزشکی، و اطلاع‌رسانی مستمر به دامداران باشد. همچنین، نظارت دقیق بر ورود دام از سایر مناطق و انجام آزمایشات لازم در مبادی ورودی استان، از جمله اقدامات ضروری برای جلوگیری از ورود و انتشار این بیماری محسوب می‌شود.

تفاوت‌های مشاهده شده بین نتایج این مطالعه با مطالعات مشابهی که در استان‌های مختلف ایران و کشورهای دیگر صورت گرفته است را می‌توان به تفاوت در روش تشخیصی، تعداد دام‌های مورد بررسی یا حجم نمونه، مدیریت بهداشتی و اقدامات کنترلی، نوع سیستم پرورشی (صنعتی، نیمه‌صنعتی و سنتی) و سن گاوهای تحت بررسی نسبت داد.

بر اساس یافته‌های تحقیق انجام شده، وجود ویروس لوکوز گاوی در جمعیت دامی استان سیستان و بلوچستان به اثبات رسیده است. لذا، جهت کنترل و پیشگیری از

References

- 1- Johnson R, Kaneene J. Bovine leukemia virus. Part I. Descriptive epidemiology, clinical manifestations, and diagnostic tests. 1991.
- 2- Gillet N, Florins A, Boxus M, Burteau C, Nigro A, Vandermeers F, et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirol.* 2007; 4: 18.
- 3- Gatot JS, Callebaut I, Van Lint C, Demonté D, Kerkhofs P, Portetelle D, et al. Bovine leukemia virus SU protein interacts with zinc, and mutations within two interacting regions differently affect viral fusion and infectivity in vivo. *J Virol.* 2002; 76(16): 7956-67.
- 4- Rukkwamsuk T, Rungruang S. Seroprevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection in pregnant replacement dairy heifers in Saraburi Province, Thailand. *Agric Nat Resour.* 2008; 42(2): 278-81.
- 5- Gutiérrez G, Alvarez I, Politzki R, Lomónaco M, Santos MJD, Rondelli F, et al. Natural progression of Bovine Leukemia Virus infection in Argentinean dairy cattle. *Vet Microbiol.* 2011; 151(3-4): 255-63.
- 6- Straub O, editor. Horizontal transmission studies on enzootic bovine leukosis. *Ann Rech Vet.* 1978.
- 7- Lv G, Wang J, Lian S, Wang H, Wu R. The global epidemiology of bovine leukemia virus: current trends and future implications. *Animals.* 2024; 14: 297.
- 8- Kobayashi S, Hidano A, Tsutsui T, Yamamoto T, Hayama Y, Nishida T, et al. Analysis of risk factors associated with bovine leukemia virus seropositivity within dairy and beef breeding farms in Japan: a nationwide survey. *Res Vet Sci.* 2014; 96(1): 47-53.
- 9- Radostits O, Gay C, Hinchcliff K, Constant P. Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats, and horses. 10th ed. Edinburgh: Saunders Elsevier. 2007; 254-60.
- 10- Aida Y, Murakami H, Takahashi M, Takeshima SN. Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. *Viruses.* 2019; 11(5): 457.
- 11- Nekouei OA. Study of prevalence, risk factors, and lifetime impacts of infection with bovine leukemia virus in the Canadian dairy industry. 2015. [In Persian]
- 12- Maresca C, Costarelli S, Dettori A, Felici A, Iscaro C, Feliziani F. Enzootic bovine leukosis: report of eradication and surveillance measures in Italy over an 8-year period (2005–2012). *Prev Vet Med.* 2015; 119(3-4): 222-6.
- 13- Mohammad Rahim H, Masoud Reza Sh, Mehran A. Serological study of bovine leukemia virus (BLV) infection in cattle in Ahvaz. 2006. [In Persian]
- 14- Hassan M, Farhid H. Serological examination of bovine leukemia virus (BLV) infection in cattle farms of Chaharmahal and Bakhtiari Province. 2003. [In Persian]
- 15- Aldin Gh, Mohammad Mehdi A, Elaheh N, Mahmoud F, Mehran B. Serological study of

enzootic bovine leukosis in Markazi Province. 1999.

16- Jozani J, Elaheh R, Moghadam Gh, Gholamali K. Serological and epidemiological study of bovine leukemia in Sarabi and Holstein breeds in East Azerbaijan Province. *VJ*. 2013; 26(1): 2-8.

17- Mehrdad P, Mohammad Reza M, Gholamali K. Serological study of bovine leukemia virus infection in dairy cows and the detection of anti-BLV antibodies in farmworkers in Shahr-e Kord region. 2008. [In Persian]

18- Murakami K, Kobayashi S, Konishi M, Kameyama K, Yamamoto T, Tsutsui T. The recent prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection among Japanese cattle. *Vet Microbiol*. 2011; 148(1): 84-8.

19- Le DT, Nguyen SV, Le Tan, Nguyen VH, Le PD, Dinh DV, *et al*. Detection of bovine leukemia virus in beef cattle kept in the Central Coast Regions of Vietnam. *J Vet Med Sci*. 2023; 85(1): 111-6.

20- Metwally S, Hamada R, Ali AO, Mahmoud HYAH, Baker NM, Mohamed AEA, *et al*. Detection and molecular characterization of bovine leukemia virus in beef cattle presented for slaughter in Egypt. *J Vet Med Sci*. 2020; 82(11): 1676-84.

21- Polat M, Ohno A, Takeshima SN, Kim J, Kikuya M, Matsumoto Y, *et al*. Detection and molecular characterization of bovine leukemia virus in Philippine cattle. *Arch Virol*. 2015; 160(1): 285-96.

22- Mousavi S, Haghparast A, Mohammadi G, Tabatabaeizadeh SE. Prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection in the northeast of Iran. *Vet Res Forum*. 2014; 5(2): 135-9. [In Persian]

23- Chacón J, Leiva R, Romero-Zuñiga JJ, Navarro L, Dolz G. Seroprevalence and detection of bovine leukosis virus in semen from breeding bulls in Costa Rica. *Trop Anim Health Prod*. 2023; 55(5): 343.

24- Porta NG, Suarez-Archilla G, Miotti C, Molineri AI, Alvarez I, Trono K, *et al*. Seroprevalence and risk factors associated with bovine Leukemia virus infection in Argentine beef cattle. *Res Vet Sci*. 2023; 164: 104999.

25- Huser SM, Larson RL, Taxis TM, Almaraz JM, Reif KE, Weaver B, *et al*. Cross-sectional study to describe bovine leukemia virus herd and within-herd ELISA prevalence and bovine leukemia virus proviral load of convenience-sampled Kansas beef cow-calf herds. *Am J Vet Res*. 2022; 84(2).

26- Jaimes-Dueñez J, Goyeneche-Ortiz E, Tique-Oviedo M, Ortiz-Pineda MC, Cardenas-Pinto L, Jimenez-Leaño AP, *et al*. Molecular frequency of bovine leukemia virus in Creole cattle of Eastern Colombia. *Vet Anim Sci*. 2024; 25: 100372.

27- Kazemimanesh M, Madadgar O, Steinbach F, Choudhury B, Azadmanesh K. Detection and molecular characterization of bovine leukemia virus in various regions of Iran. *J Gen Virol*. 2019; 100(9): 1315-27.



Prevalence and Transmission Patterns of Bovine *Leukemia Virus* (BLV) in the Livestock Population of Sistan and Baluchestan Province: Risk Assessment and Control Strategies

Ebrahim Booya¹, Ali Sarani^{2*}, Mehdi Rasekh³

1- Post graduate student, Department of clinical science, Faculty of veterinary medicine, University of zabol, zabol, Iran.

2- Assistant professor, Department of clinical science, Faculty of veterinary medicine, University of zabol, zabol, Iran.

3- Associate professor, Department of clinical science, Faculty of veterinary medicine, University of zabol, zabol, Iran.

Receive: November 17, 2024; Revise: September 15, 2025; Accept: September 21, 2025

 10.22034/nfvm.2025.489277.1267

Summary

Bovine Leukemia Virus (BLV) infects and resides in B lymphocytes, engaging the reticuloendothelial system and causing various clinical signs in different organs. Under natural conditions, cattle are the primary host and reservoir of the disease, and can be infected both vertically and horizontally. Sheep and goats can be experimentally infected with this virus. Given the lack of sufficient information regarding the prevalence and circulation of BLV in Sistan and Baluchestan province, this study was designed. In this descriptive study, 51 heads of livestock (15 cows, 20 sheep, and 16 goats) were randomly selected from different counties of the province with appropriate distribution, and blood samples were collected. After separating the buffy coat layer and extracting RNA and synthesizing cDNA, using the PCR technique and specific primers designed for the viral env gene, the target fragment of the viral RNA was amplified in the samples. In this study, data related to the age, sex, breed, number of parities, and husbandry conditions of the animals were collected and analyzed statistically to investigate their relationship with viral infection. According to the results of this study, 13.3% of the cows examined were infected with BLV, while no positive cases were observed in sheep and goat samples. Based on this study, BLV exists in the cattle population of Sistan and Baluchestan, therefore, it should be considered in control and preventive measures to prevent the spread of the disease.

Keywords: BLV virus, env Gen, sheep and goats, PCR

New Findings in

Veterinary Microbiology

Quarterly, Volume 8, Issue 2, Summer 2025



University of Zabol

ISSN: 4491-2645

Antimicrobial prevalence of *Listeria monocytogenes* and determination of the frequency of virulence genes in Red meat types sold in Chaharmahal and Bakhtiari province, Iran

Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Arcobacter* strains in chicken meat, eggs and minced meat supplied in Hamedan County by PCR method

Investigation of the prevalence of *Pseudomonas* in poultry eggs and meat sold in Tehran city and antibiotic resistance of isolates

Detection and Phylogenetic Analysis of Avian Encephalomyelitis Virus: Study of an Imported Clinical Case

Molecular characterization of *Wolbachia* infection in tropical bedbugs (*Cimex hemipterus*) collected from Mashhad city, Iran

Investigation of the Effect of Onion Extract, Lemon Essential Oil, and Nisin on the Behavior of *Escherichia coli* Inoculated in Minced Quail Meat Stored at 8°C

Prevalence and Transmission Patterns of Bovine Leukemia Virus (BLV) in the Livestock Population of Sistan and Baluchestan Province: Risk Assessment and Control Strategies

Lorem Ipsum

A 3D model of a *Pelagibacter* bacterium. The major cellular components include the outer membrane (blue), inner membrane (cyan), peptidoglycan (white), cytoplasm (orange), nucleoid (red) and ribosome-like orbs (yellow spheres).

Zhao X, Schwartz CL, Pierson J, Giovannoni SJ, McIntosh JR, Nicastro D. Three-Dimensional Structure of the Ultraoligotrophic Marine Bacterium "Candidatus *Pelagibacter ubique*". *Appl Environ Microbiol.* 2017 Jan 17;83(3):e02807-16. doi: 10.1128/AEM.02807-16. PMID: 27836840; PMCID: PMC5244296.

