

تشخیص مولکولی باکتری سالمونلا در نمونه های شترمرغ-شهرستان سیرجان به روش PCR

مریم حفیظی^۱، بابک خیرخواه^۲، جواد نصر^۳، کیومرث امینی^{۴*}

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد سیرجان، دانشگاه آزاد اسلامی، سیرجان، ایران

۲- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

۳- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

۴- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

چکیده

سابقه و هدف: سالمونلوز یکی از بیماری های مهم مشترک بین انسان و حیوان است که پراکندگی جغرافیایی بسیار وسیعی دارد. از مهم ترین منابع آلودگی سالمونلا در انسان سبزی ها، فرآورده های لبنی، محصول های دریایی، مواد گوشتی به ویژه گوشت ماکیان، تخم-مرغ و فرآورده های جانبی آن ها است. روش های استاندارد مبتنی بر کشت باکتری برای تشخیص گونه های سالمونلا حساس ولی زمان بر است. PCR از حساسیت و دقت بالایی برای شناسایی عوامل عفونی برخوردار است. ژن *hila* از ژن های رمز کننده پروتئین های تنظیم کننده نسخه برداری و از ژن های با حفاظت ژنتیکی بالا است که می توان از آن در جهت شناسایی سالمونلا بهره برد. هدف از این تحقیق، شناسایی باکتری سالمونلا در مدفوع شترمرغ بر پایه وجود ژن *hila* به کمک روش PCR و بررسی اختصاصیت این روش در مقایسه با روش های متداول است.

مواد و روش ها: ۵۰۰ نمونه از مدفوع شترمرغ های منطقه سیرجان که پیش تر برای تشخیص سویه های سالمونلایی مورد بررسی کشت های افتراقی و تست های بیوشیمیایی قرار گرفته بود برای آزمون حضور ژن *hila* استفاده شد. DNA باکتری ها از نمونه های مدفوع شترمرغ ها بعد از حل کردن مدفوع در محیط کشت و ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، استخراج گردید و به کمک PCR و استفاده از پرایمرهای اختصاصی جهت بررسی حضور ژن *hila* مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته ها: بررسی وجود ژن *hila* از میان ۵۰۰ نمونه مدفوع نشان داد که در ۳۸ نمونه مدفوع، باکتری سالمونلا حضور دارد که با نتایج آزمون استاندارد برای شناسایی سالمونلا مطابقت داشت. قابل ذکر است که نتایج حاصل از بررسی ژن *hila* در همان نمونه هایی مثبت بود که حضور باکتری سالمونلا قبلا توسط آزمون های استاندارد تأیید گردیده بود.

نتیجه گیری: نتایج به دست آمده نشان می دهد که بررسی ژن *hila* با استفاده از PCR و پرایمرهای اختصاصی می تواند روشی جایگزین با سرعت و دقت بالا و هزینه به نسبت پایین برای تشخیص باکتری سالمونلا در میان نمونه های مدفوع پرندگان باشد. با توجه به این که شیوع عفونت های سالمونلایی در میان پرندگان و ماکیان به نسبت بالا است شناسایی این عفونت ها با سرعت و دقت بالا اهمیتی ویژه ای دارد. این مطالعه نشان داد که بررسی ژن *hila* با استفاده از روش PCR می تواند در این زمینه مؤثر باشد.

واژه های کلیدی: سالمونلا، شترمرغ، ژن *hila* PCR

مقدمه

یکی از بیماری های مهم عفونی مشترک بین انسان و حیوان سالمونلوز (Salmonellosis) است که گونه های مختلف سالمونلا از خانواده آنتروباکتریاسه (Enterobacteriaceae) می تواند باعث آن شود. سالمونلا باکتری میله ای، گرم منفی، غیرهاگزا است که به دو دسته بدون تاژک و تاژکدار تقسیم

نویسنده مسئول:

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی ساوه، ساوه، ایران

پست الکترونیکی: dr_kumarss_amin@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۱۷

می‌شود. جنس *سالمونلا* دارای دو گونه بنگوری^۱ و انتریکا^۲ است. تاکنون بالغ بر ۲۷۰۰ سروتیپ مختلف از *سالمونلا* در نقاط مختلف دنیا شناسایی شده است (۱۱). پراکندگی جغرافیایی *سالمونلا* بسیار وسیع بوده و می‌تواند در طیف وسیعی از موجودهای زنده از جمله انسان باعث عفونت شود. از مهم‌ترین منابع آلودگی *سالمونلا* در انسان می‌توان به سبزی‌ها، فرآورده‌های لبنی، محصول‌های دریایی، مواد گوشتی به‌ویژه گوشت ماکیان، تخم مرغ و فرآورده‌های جانبی آن‌ها اشاره کرد (۲۱). پرندگان هم به عفونت‌های *سالمونلا* حساس بوده و توسط گونه‌های مختلفی از این باکتری‌ها آلوده می‌شوند. سالمونلوز در شترمرغ‌ها باعث تلفات قابل توجه‌ای در گله‌های شترمرغ به‌خصوص جوجه‌های کوچک‌تر از ۳ ماه می‌شود و از این طریق خسارهای چشم‌گیری را به اقتصاد کشور وارد می‌نماید (۲۲). شترمرغ از منابع مهم آلودگی به سروتیپ‌های *سالمونلا* به شمار می‌رود، به‌طوری‌که می‌تواند به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم در آلودگی گله و به دنبال آن آلودگی انسان از طریق مصرف گوشت و تخم شترمرغ آلوده نقش داشته باشد. با توجه به نقش صنعت پرورش شترمرغ در تأمین احتیاج پروتئینی انسان و اینکه آلودگی *سالمونلا* در شترمرغ به‌عنوان عامل بالقوه برای انتشار باکتری بین سایر گونه‌های حیوانی و انسان عمل می‌کند لذا شناسایی موارد آلوده از اهمیت بسزایی برخوردار است (۴، ۵، ۲۲).

ژن *hila* یکی از ژن‌های بیماری‌زای *سالمونلا*ها است که با رمز نمودن پروتئین‌های تنظیم کننده نسخه‌برداری باعث بیان ژن‌های مهاجم در *سالمونلا* می‌شود (۱۱، ۲۶). با بیان شدن و فعالیت ژن‌های مهاجم، زمینه نفوذ باکتری و استقرار آن در سلول‌های پوششی روده مهیا می‌گردد (۱۲، ۱۵). *سالمونلا* به‌عنوان خطرناک‌ترین پاتوژن روده‌ای علاوه بر این که باعث تلفات قابل توجهی در مرغداری‌ها شده و از این طریق خسارت‌های چشم‌گیری را به اقتصاد کشور وارد می‌نماید در صورت انتقال به جوامع بشری هم می‌تواند سبب بروز ضررهای اقتصادی و بهداشتی فراوان گردد (۴).

گزارش‌های متعددی از اپیدمی‌های مربوط به سرووارهای *انتریتیدیس* و *تیفی* موریوم در ایران انتشار یافته است (۲۵، ۹). برای جلوگیری از انتشار *سالمونلا*، آلودگی باید خیلی سریع تشخیص داده شود. بنابراین دسترسی به سیستم‌های سریع،

حساس و قابل اعتماد، که از لحاظ بین‌المللی قابل قبول باشد، برای تشخیص حضور یا عدم حضور بیماری‌زاهای در صنعت غذایی و نیز نظارت‌های قانونی بسیار مهم است (۱۴). روش‌های تشخیص *سالمونلا*ها بر اساس مدت زمان صرف شده برای تشخیص این میکروارگانیسم‌ها به دو گروه روش‌های متداول و روش‌های سریع طبقه‌بندی می‌شود. روش‌های کشت متداول به‌معمول به‌دلیل استفاده از مراحل پیش غنی‌سازی، غنی‌سازی و متعاقب آن استفاده از محیط‌های انتخابی و تفریقی و تأیید پرگنه‌های مشکوک با آزمایش‌های بیوشیمیایی و در نهایت سروتایپینگ، زمان بر بوده به‌طوری‌که به ۵ الی ۱۳ روز وقت نیاز است (۲۴، ۲۳، ۱۲). امروزه سعی بر این است که از روش‌های سریع اما حساس و با ویژگی بالا استفاده گردد. در حال حاضر توسعه روش‌های زیست‌شناسی مولکولی این امکان را فراهم ساخته است که بتوان با این روش‌ها با دقت و سرعت زیاد به شناسایی عوامل بیولوژیک در نمونه‌های بالینی پرداخت. در این بین واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR) از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. آزمایش‌های PCR متنوعی جهت تشخیص سریع *سالمونلا*ها در نمونه‌های بالینی و مواد غذایی استفاده شده است (۲۶، ۱۷). در اغلب این روش‌ها قبل از انجام PCR یک مرحله غنی‌سازی به‌منظور بالا بردن حساسیت آزمایش پیشنهاد گردیده است. روش‌های گوناگونی از PCR جهت تأیید عامل بیماری‌زا عنوان و مطرح گردیده است (۱۷).

ژن *hila* مورد ارزیابی در مطالعه حاضر از ژن‌های رمز کننده پروتئین‌های تنظیم کننده نسخه‌برداری و یکی از ژن‌های بسیار حراست شده است که می‌توان از آن در جهت تأیید باکتری *سالمونلا* بهره برد. در مطالعه‌های مختلفی که به بررسی ژن *hila* در گونه‌های *سالمونلا* پرداخته شده نشان داده شده است که ژن *hila* در همه آن‌ها حضور دارد (۱۸، ۱۹، ۱۷). از این‌رو در این تحقیق تشخیص مولکولی دقیق و سریع این باکتری با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *hila* و روش PCR مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

روش کار

۵۰۰ نمونه از مدفوع شترمرغ‌های شهرستان سیرجان در استان کرمان توسط شرکت تحقیقاتی-پژوهشی پاسارگاد (ایران، تهران) مورد بررسی‌های کشت‌های افتراقی و تست‌های بیوشیمیایی جهت تشخیص سویه‌های *سالمونلا*یی قرار گرفت. برای این منظور از نمونه‌های انتقال داده شده به آزمایشگاه در زیر هود و کنار شعله با رعایت اصول استریل بودن، در محیط

^۱ *Salmonella bongori*

^۲ *Salmonella enterica*

^۳ Virulence gene

غنی کننده راپاپورت واسیلیادیس (Rappaport Vassiliadis) (مرک، آلمان) کشت انجام شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۱ درجه سلسیوس انکوبه گردید. پس از گذشت زمان موردنظر با استفاده از لوپ در محیط‌های انتخابی- افتراقی، *سالمونلا*- شینگلا آگار، کروم آگار *سالمونلا*، رامباخ و XLD نمونه‌ها به صورت خطی کشت داده شدند. *سالمونلا*ها در محیط XLD ایجاد کلنی‌هایی با مرکز سیاه رنگ می‌کنند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت تعدادی از پرگنه‌های سیاه رنگ به محیط‌های بیوشیمیایی نظیر TSI، اوره، سیمون سترات، آبگوشت MR-VP و محیط SIM انتقال داده شدند و ارزیابی- های افتراقی صورت گرفت (۲۰، ۲۱). همه محیط‌ها محصول شرکت مرک (آلمان) بودند.

- استخراج DNA

برای استخراج DNA از باکتری‌های موجود در مدفوع شترمرغ، ابتدا مدفوع با محیط کشت مایع BHI^۴ با نسبت ۹:۱ رقیق شد و ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمادهی شد. سپس، باکتری‌ها با کمک سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه، ۷۰۰۰g) رسوب داده شدند. استخراج DNA از رسوب باکتری به روش استخراج با کیت تجارتي وابسته به ستون تولید شده توسط شرکت پیشگامان انتقال ژن به شماره Cat No: 04050 طبق دستور کیت انجام گردید.

- PCR ژن *hila* و نمایش قطعه ۸۴۵ بازی متعلق به آن

برای شناسایی ژن *hila* از یک جفت پرایمر اختصاصی این ژن استفاده شد (۱۸). توالی پرایمر پیشرو عبارت بود از 5'- CGG AAG CTT ATT TGC GCC ATG CTG AGG TAG 3'- و توالی پرایمر پیرو 5'- GCA TGG ATC CCC GCC GGC GAG ATT GTG 3'- است. PCR انجام شده در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل پرایمر (از هر یک) ۵ پیکومول، آنزیم DNA Taq پلی‌مراز ۰/۵ واحد، ۰/۴ میکرولیتر dNTP ۰/۲ میلی‌مولار، ۲ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۰/۵ میکرولیتر MgCl₂ ۲۵ میلی‌مولار، و مقدار ۱۰۰ میکروگرم DNA ژنومی باکتری اضافه شد. هم‌چنین شرح مراحل مختلف PCR طبق مطالعه اکبرمهر (۱) با کمی تغییر به این صورت است که ابتدا مرحله اولیه به مدت ۴ دقیقه در ۹۴ درجه سلسیوس برای واسرشت اولیه DNA انجام شد. سپس در ۳۰ چرخه متوالی

مراحل PCR به این صورت انجام گرفت: مرحله واسرشت در دمای ۹۴ درجه سلسیوس برای ۱ دقیقه، مرحله اتصال پرایمر (Annealing) به توالی DNA هدف در دمای ۶۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، مرحله ساخت (Extension) در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه. در انتها نیز یک مرحله به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به منظور کامل شدن قطعه‌های نیمه ساخته انجام شد. سپس برای بررسی و تفکیک قطعه‌های ایجاد شده مقدار ۵ میکرولیتر از محصول PCR بر روی ژل ۱٪ آگارز برده شد و بعد از الکتروفورز توسط رنگ فلورسانس اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و آشکار سازی صورت گرفت. لازم به ذکر است که از DNA باکتری *سالمونلا* (*S. typhimurium* ATCC14025) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و از DNA باکتری اشرشیا کولی استاندارد (*E. coli* ATCC25922) به عنوان کنترل منفی استفاده گردید.

یافته‌ها

از بررسی ۵۰۰ نمونه مدفوع با استفاده از روش‌های کشت میکروبی و آزمون‌های بیوشیمیایی ۳۸ نمونه آلوده به باکتری *سالمونلا* به دست آمد که نشان از آلوده بودن ۷/۷٪ شترمرغ‌های این منطقه به *سالمونلا* دارد. هم‌چنین از بررسی ژن بیماری‌زای *hila* توسط PCR در میان نمونه‌های مدفوع مشخص شد که ۳۸ نمونه از نظر وجود ژن مورد نظر مثبت هستند که نشان دهنده حضور باکتری *سالمونلا* است. باند ۸۵۴ جفت بازی محصول PCR به دست آمده از پرایمرهای اختصاصی بیان گر وجود این باکتری در نمونه‌های بررسی شده بود. شکل ۱ تصویری از ژل الکتروفورز و محصول فرآیند PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای این ژن است که باند مورد نظر ۸۵۴ جفت بازی را نشان می‌دهد. جدول ۱ نیز فراوانی حضور *سالمونلا* در نمونه‌های مدفوع شترمرغ با دو روش کشت افتراقی و بررسی ژن *hila* را نشان می‌دهد. این نکته قابل ذکر است که برای نمونه‌هایی که حضور باکتری *سالمونلا* توسط آزمون‌های استاندارد در آن‌ها تأیید شده بود در بررسی ژن *hila* توسط PCR نیز مثبت بودند که نشان از دقت و اختصاصیت این روش دارد.

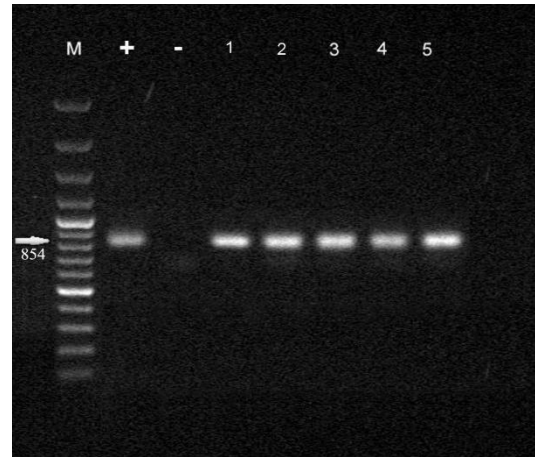
⁴ Xylose Lysine Deoxycholate

⁵ Brain-heart infusion

علاوه بر تأیید درستی تشخیص آزمون های قبلی، تأیید و تأکید گردد که شناسایی اختصاصی ژن *hila* به روش PCR می تواند در مقایسه با روش های کشت افتراقی و آزمون های بیوشیمیایی به عنوان روشی سریع، دقیق و کم هزینه تر جهت شناسایی آلودگی های سالمونلایی مورد استفاده قرار گیرد.

در مطالعه ای در سال ۲۰۰۰ با استفاده از PCR، ژن *hila* را در گوجه های آلوده به سالمونلا انتریکا سرووار مونته ویدو (Montevideo) مورد شناسایی قرار دادند که نشان می داد ژن *hila* ممکن است در دیگر سرووارها جز تیفی موریوم حضور داشته باشد (۶). اگرچه تا سال ۲۰۰۲ بیماری زایی سالمونلا را به گونه انتریکا سرووار تیفی موریوم مرتبط می دانستند اما در سال ۲۰۰۲ محققین با بررسی ژن *hila* در سرووارهای مختلف از باکتری سالمونلا و همچنین چند باکتری غیر سالمونلایی نشان دادند که ژن مذکور اگرچه در باکتری های غیر سالمونلایی وجود ندارد ولی در همه سرووارهای سالمونلا هست و می تواند به عنوان مارکری برای تشخیص جنس سالمونلا مورد استفاده قرار گیرد (۲۲). باند ۸۵۴ جفت بازی تکثیر یافته توسط PCR با توجه به اندازه قطعه، اختصاصی ژن *hila* سالمونلا در نظر گرفته می شود (۱۸). در سال ۲۰۰۳ محققین نشان دادند که ژن *hila* اختصاصی باکتری های سالمونلا است. آن ها حضور ژن *hila* در میان ۳۳ نمونه سالمونلا از ۲۷ سرووار مختلف و ۱۵ نمونه غیر سالمونلا از جنس های مختلف را بررسی کردند و نشان دادند که این ژن به طور اختصاصی در میان نمونه های سالمونلا وجود دارد. شناسایی این ژن به وسیله جفت پرایمر ذکر شده در این پژوهش نیز انجام گرفته است. این محققین نشان دادند که همه ۳۳ نمونه سالمونلا این ژن را دارند در حالی که هیچ یک از ۱۵ نمونه غیر سالمونلایی این ژن را نداشتند (۱۷). همچنین اختصاصیت ژن *hila* در بیماران مبتلا به تیفوئید و سالمونلوز در نمونه های خون و مدفوع به وسیله PCR مورد بررسی قرار گرفته است و نشان داده شده که این ژن با اختصاصیت کامل در نمونه های سالمونلا وجود دارد (۱۹). تحقیق حاضر نیز تأییدی بر یافته های این مطالعه ها است و تأیید می کند که ژن *hila* در همه سویه های سالمونلا حضور دارد و می توان از این ژن به عنوان نشان گری برای تشخیص باکتری سالمونلا استفاده نمود.

عفونت های سالمونلایی در میان پرندگان شیوع فراوانی دارد. علاوه بر شترمرغ سالمونلا در کبوترها نیز وجود دارد و می تواند به طور مستقیم و غیر مستقیم باعث آلودگی های گله های طیور و به دنبال آن آلوده کردن انسان گردد (۵). محققین در سال



شکل ۱: ژل الکتروفورز PCR ژن *hila* که حضور قطعه ۸۵۴ جفت بازی نشان از حضور این ژن و تأیید وجود باکتری سالمونلا دارد. چاهک های ۱ تا ۵ مربوط به نمونه های مدفوع دارای باکتری سالمونلا است. ستون M: مارکر (۱۰۰ جفت بازی)، چاهک +: کنترل مثبت (S. typhimurium ATCC 14025)، و چاهک کنترل منفی (E. coli ATCC 25922) را نشان می دهد.

جدول ۱: تعداد و فراوانی سالمونلا در نمونه های مدفوع شترمرغ های سیرجان

تعداد نمونه های مدفوع بررسی شده	تعداد (فراوانی) شناسایی سویه سالمونلا با کشت افتراقی	تعداد (فراوانی) شناسایی سویه سالمونلا با PCR ژن <i>hila</i>
۵۰۰	۳۸ (٪ ۷/۷)	۳۸ (٪ ۱۰۰)

بحث

ژن *hila* یکی از ژن های بیماریزای سالمونلاها است که با رمز نمودن پروتئین های تنظیم کننده نسخه برداری باعث بیان ژن های مهاجم در سالمونلا می شود (۲۶،۷). با بیان شدن و فعالیت ژن های مهاجم، زمینه نفوذ باکتری و استقرار آن در سلول های پوششی روده مهیا می گردد (۸). با این حال اگرچه تکثیر این ژن به وسیله PCR به معنای فعالیت داشتن ژن نیست ولی حضور آن می تواند به عنوان نشانی از سویه های باکتری سالمونلا باشد.

توسعه روش های مولکولی برای بررسی و شناسایی سریع سویه های سالمونلایی با استفاده از آزمون ساده PCR براساس حضور ژن *hila* بسیار ارزشمند است. در این پژوهش سعی شد تا با بررسی حضور این ژن در نمونه های حاوی سالمونلا تأیید شده توسط محیط کشت افتراقی و آزمون های بیوشیمیایی،

نتیجه گیری

در این مطالعه سعی شد تا با کمک روش PCR و پرایمرهای اختصاصی برای ژن *hila* به بررسی حضور این ژن در میان نمونه های مدفوع شترمرغ های شهرستان سیرجان-کرمان پرداخته شود. به طور کلی نتایج این تحقیق هم راستا با مطالعه های پیشین تأییدکننده حضور ژن *hila* در تمامی سویه های سالمونلایی است و لذا پیشنهاد می دهد که آزمون مولکولی سنجش حضور ژن *hila* برای تشخیص آلودگی به باکتری سالمونلا با دقت بالایی قابل اطمینان است. بنابراین، می توان با بررسی این ژن در تشخیص سریع سویه های باکتری سالمونلا در میان پرندگان ایران گام برداشت. با توجه به این که باکتری سالمونلا در میان پرندگان پرورش یافته به منظور تهیه گوشت و فرآورده های غذایی شیوع بالایی دارد، ارائه روشی برای بررسی سریع این باکتری اهمیت دارد. بنابراین، روش PCR برای شناسایی باکتری سالمونلا از نمونه های مستقیم مدفوع که در این مطالعه بررسی شد، پیشنهاد می شود.

سپاسگزاری

این مقاله بر اساس پایان نامه خانم مریم حفیظی نوشته شده است. همچنین از توجه و همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی- واحد سیرجان کمال تشکر را اعلام می داریم. نویسندگان اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافی ندارند.

۱۳۹۲ گزارش کردند که مدفوع ۰/۵ درصد از کبوترهای گرفته شده از شهرستان شهرکرد به سالمونلا آلوده هستند (۲). در مطالعه ای که توسط محققین در سال ۱۳۹۵ در رابطه با حضور باکتری سالمونلا در گوشت های عرضه شده در شهرکرد انجام گرفت نشان داد که از ۳۶۰ نمونه در ۵۴ مورد (۱۵٪) حضور باکتری سالمونلا در آن ها مثبت بوده است و در این میان گوشت مرغ با آلودگی ۳۱/۶۴٪ بیشترین آلودگی در میان دیگر گوشت ها داشته است (۲۴). همچنین، مطالعه دیگری در سال ۱۳۹۳ نشان داد که از میان نمونه گوشت های مرغ استان چهارمحال بختیاری ۴/۵ درصد آن ها به باکتری سالمونلا آلوده هستند. این مطالعه ها نشان می دهد که بررسی و شناسایی آلودگی سالمونلایی در میان پرندگان اهمیت به سزایی نشان می دهد (۱۷).

با توجه به این که مطالعه و بررسی سالمونلوز در میان شترمرغ ها بسیار محدود صورت گرفته است و همچنین اهمیتی که پرورش شترمرغ در صنعت غذایی کشور دارد لذا بررسی فراوانی آلوده بودن گله های شترمرغ به سالمونلا حائز اهمیت است. با مقایسه فراوانی آلودگی با باکتری سالمونلا در این مطالعه (۷/۷٪) و مطالعه های مشابه دیگر در ایران که نشان از آلودگی شترمرغ ها (۶/۶٪) (۱) و یا دیگر پرندگان با فراوانی های ۸/۶٪ (۲۲) و یا آلودگی منطقه ای ۱۵/۶٪ در استان فارس (۲۶) و یا در گوشت خام طیور (۱۷/۹٪) (۱۰) دارد بازگوکننده آلودگی نسبت زیاد پرندگان به سالمونلا است که به دلیل تهدید سلامت باید دام و ماکیان مورد ارزیابی مداوم قرار بگیرند.

با توجه به فراوانی بالای آلودگی پرندگان به باکتری سالمونلا بررسی حامل های منتقل کننده سالمونلا به پرندگان از اهمیت ویژه ای برخوردار است. این حامل ها می توانند شامل خزندگان به خصوص موش و رت که در مزارع پرورشی صنعتی بسیار دیده می شوند، باشند. همچنین، بررسی حضور سالمونلا در علوفه های مصرفی پرندگان در مزارعی مثل ذرت، سویا، پودر گوشت و ماهی نیز درخور توجه است. به علاوه، با توجه به این که مراکز جوجه کشی تخم های نطفه دار را از مزارع مختلف تهیه می کنند، لذا این فرآیند می تواند به عنوان عاملی برای تبادل عوامل بیماری زا از جمه سالمونلا در مزارع آلوده باشد. بررسی این موارد می تواند به شناسایی و چرایی افزایش سالمونلا در میان پرندگان بپردازد.

منابع

- 1-Akbarmehr J. Isolation of *Salmonella* spp. from poultry (ostrich, pigeon, and chicken) and detection of their *hlaA* gene by PCR method. *African J Microbiol Res*. 2010;4(24):2678–81.
- 2-Bahadaran Sh, Madreseh Sh, Salehi A. A survey of salmonella contamination in pigeons of Shahrekord district. *JZR*. 1392 1 (1)
- 3-Cardona-Castro N, Restrepo-Pineda E, Correa-Ochoa M. Detection of *hlaA* gene sequences in serovars of *Salmonella enterica* sufigbspecies *enterica*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97(8):1153–6.
- 4-Dobrogosz WJ, Peacock TJ, Hassan HM. Evolution of the probiotic concept: from conception to validation and acceptance in medical science. *Adv Appl Microbiol*. 2010;72:1–41.
- 5-Doyle MP, Buchanan RL. Food microbiology: fundamentals and frontiers. American Society for Microbiology Press; 2012. 187-219 p.
- 6-Gua X, Chen J, Beuchat LR, Brackett RE. PCR Detection of *Salmonella enterica* Serotype Montevideo in and on Raw Tomatoes Using Primers Derived from *hlaA*. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66(12):5248–52.
- 7-Hendriksen RS, Vieira AR, Karlslose S, Lo Fo Wong DMA, Jensen AB, Wegener HC, et al. Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. *Foodborne Pathog Dis*. 2011;8(8):887–900.
- 8-ISO 6579. 6579: 2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. London: British Standard Institute; 2002.
- 9-Jafari F, Shokrzadeh L, Hamidian M, Salmazadeh-Ahrabi S, Zali MR. Acute diarrhea due to enteropathogenic bacteria in patients at hospitals in Tehran. *Jpn J Infect Dis*. 2008;61(4):269–73.
- 10-Jalali M, Abedi D, Pourbakhsh SA, Ghoukasin K. Prevalence of salmonella spp. In raw and cooked foods in Isfahan-Iran. *J food Saf*. 2008;28(3):442–52.
- 11-Lostroh CP, Lee CA. The *HlaA* box and sequences outside it determine the magnitude of *HlaA*-dependent activation of *P prgH* from *Salmonella* pathogenicity island 1. *J Bacteriol*. 2001;183(16):4876–85.
- 12-Lucas RL, Lostroh CP, DiRusso CC, Spector MP, Wanner BL, Lee CA. Multiple Factors Independently Regulate *hlaA* and Invasion Gene Expression in *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *J Bacteriol*. 2000;182(7):1872–82.
- 13-Madadgar O, Salehi TZ, Tadjbakhsh H, Mahzounieh M, Feizabadi MM. Genomic and phenotypic evaluation of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* in Iran. *Comp Clin Path*. 2008;17(4):229–35.
- 14-Malorny B, Bunge C, Guerra B, Prietz S, Helmuth R. Molecular characterisation of *Salmonella* strains by an oligonucleotide multiprobe microarray. *Mol Cell Probes*. 2007;21(1):56–65.
- 15-Malorny B, Hoorfar J, Bunge C, Helmuth R. Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: towards an international standard. *Appl Environ Microbiol*. 2003;69(1):290–6.
- 16-Momtaaz h, Ghaedamini R, Momeni M. Detection of virulence factors in *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* serotypes isolated from chicken meat in Chaharmahal va Bakhtiari Province of Iran. *JFM*. 1393 1 (1):17-22
- 17-Pathmanathan SG, Cardona-Castro N, Sanchez-Jimenez MM, Correa-Ochoa MM, Puthuchear SD, Thong KL. Simple and rapid detection of *Salmonella* strains by direct PCR amplification of the *hlaA* gene. *J Med Microbiol*. 2003;52(9):773–6.
- 18-Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. clinical Veterinary microbiology. Wolfe Publ London, UK. 1994;209–36.
- 19-Salehi TZ, Mahzounieh M, Saeedzadeh A. The isolation of antibiotic-resistant *Salmonella* from intestine and liver of poultry in Shiraz province of Iran. *Int J Poult Sci*. 2005 (4):320–2.
- 20-Sanchez-Jimenez MM, Cardona-Castro N. Validation of a PCR for diagnosis of typhoid fever and salmonellosis by amplification of the *hlaA* gene in clinical samples from Colombian patients. *J Med Microbiol*. 2004;53(9):875–8.
- 21-Tirado C, Schmidt K. WHO surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications: preliminary results and trends across greater Europe. *J Infect*. 2001;43(1):80–4.
- 22-Verwoerd DJ. Ostrich diseases. *Rev Sci Tech*. 2000;19(2):638–61.

- 23-Wray C, Wray A. Salmonella in domestic animals. Cabi; 2000.
- 24-Zahedi M, Rahimi E, Zahedi M, Momtaz H, Shojaii H. Prevalence of Salmonella enteritidis and S. typhimurium in marketed meat in Shahrekord in 2014. J Shahrekord Univ Med Sci. 2017; 19(2): 88-97.
- 25-Zahraei Salehi T. Salmonella. Tehran: Tehran University Press; 1999. 30-185 p.
- 26-Ziemer CJ, Steadham SR. Evaluation of the specificity of Salmonella PCR primers using various intestinal bacterial species. Lett Appl Microbiol. 2003;37(6):463-9.

