

شناسایی گونه‌های مختلف سالمونلا در مرکز اصلاح و پرورش مرغ بومی

• مه‌ناز راد

گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

• غلامعلی کلیدری

گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

• شکیبا کردجری

دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: شهریور ماه ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: آبان ماه ۱۳۸۷

Email: mehrnazerad@yahoo.com

چکیده

امروزه صنعت طیور نقش بسیار مهمی در تامین پروتئین مورد نیاز جمعیت دنیا ایفا می‌کند. یکی از عواملی که سلامت فرآورده‌های غذایی طیور را به مخاطره می‌اندازد، باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه به ویژه سالمونلا می‌باشد. سالمونلا منبع مهم آلودگی غذاهای انسانی و عامل پاتوژن بسیار قوی و بیماری‌زا در انسان‌ها است. راه‌های ابتلا انسان به عفونت سالمونلایی استفاده از تخم مرغ نیم پز و خام و گوشت طیور نیمه پخته می‌باشد. تخم مرغ از طریق تخمدان مرغ مادر، آلودگی پوسته به مدفوع و از طریق محیط، به باکتری سالمونلا آلوده می‌گردد. بنابراین مزارع مرغ مادر از مهمترین منابع عفونت سالمونلا می‌باشند. روش‌های مختلفی برای جداسازی باکتری سالمونلا وجود دارد که شامل روش‌های کشت سنتی و بیوشیمیایی، سرولوژیکی و مولکولی است. در این مطالعه که در مرکز اصلاح و پرورش مرغ بومی استان مازندران انجام گرفت، نمونه‌های مختلفی از بخش‌های مختلف سالن مرغ مادر، سالن جوجه‌کشی، سالن جوجه‌های زیر یک هفته و نیز از تخم مرغ جمع‌آوری گردید. درصد آلودگی به سالمونلا در ۴ سالن مرغ مادر ۱/۶۴٪ و در زرده تخم مرغ‌ها و نیز پوسته ۱/۹۲٪ بود. از نمونه‌های مربوط به سالن جوجه‌کشی و سالن جوجه‌های زیر یک هفته، باکتری سالمونلا جدا نشد. در مجموع تعداد ۷ نمونه آلوده به سالمونلا بوده و تمام این نمونه‌ها متعلق به گروه D بودند. آزمایش PCR برای تایید تشخیص جنس سالمونلا و نیز تعیین گونه صورت گرفت. تمام گونه‌ها به عنوان انتریتیدیسی (*Salmonella enteritidis*) تشخیص داده شدند.

کلمات کلیدی: سالمونلا، شناسایی، مرغ بومی، تشخیص مولکولی

Pajouhesh & Sazandegi No 81 pp: 87-93

Identification of Salmonella spp. in a Native Poultry Breeding and Improvement Center

By: M. Rad, Member of Scientific Board of Veterinary Faculty University of Ferdowsi Mashhad. Gh. Kelidari, Member of Scientific Board of Veterinary Faculty University of Ferdowsi Mashhad and Sh. Kordjaz, Graduated of Veterinary Faculty University of Ferdowsi Mashhad.

Nowadays, poultry industries play an important role in providing essential protein for world population. Among factors which are harmful for poultry products, there are entrobacteria especially salmonella spp. Salmonella is the major source of infection for human food and it is a very potent pathogen in human. One of the most routes of infection in human by salmonella occurred via using uncooked poultry eggs and meat. Eggs can be contaminated by salmonella through hen's ovary, contamination of egg shell with feces and also through environment. Thus, laying hens are the important source of salmonella. There are different methods for isolation of salmonella: conventional culture methods, serological examinations and molecular methods. This study was performed in a Native Poultry Breeding and Improvement Center. Different samples were used from different divisions of the center including hen houses, breeding house, chicken house and also eggs. Contamination rate in four hen houses was 1.64% and in eggs shell and eggs yolk was 1.92%. Breeding house and chicken house were free from salmonella. In general, seven samples were contaminated with salmonella. All of these isolated salmonella belong to serogroup D. Identification was confirmed for salmonella genus by PCR method. Salmonella species were identified as Salmonella enteritidis by PCR method.

Key words: salmonella, identification, native poultry, molecular diagnosis

مقدمه

باکتری سالمونلا متعلق به خانواده آنتروباکتریاسه بوده و اکثر سروتیپ های آن پاتوژن های بالقوه برای انسان و بسیاری از حیوانات می باشند. بیش از ۲۴۵۰ سروتیپ سالمونلا شناسایی شده اند که تنها ۱۰٪ از این سروتیپ ها از طيور جداسازی گردیدند که در بین آنها (*S. typhimurium*) و (*S. enteritidis*) مهم ترین و متداول ترین آنها می باشند. در سال ۱۹۸۰ شیوع (*S. hadar*) در طيور به اوج رسید، ولی پس از چند سال فراوانی آن کاهش یافت، اما به نظر می رسد که اهمیت آن در سال های اخیر در طيور رو به افزایش است (۱، ۱۱). در طی سال های (۱۹۶۸-۱۹۷۴) میزان شیوع (*S. typhimurium*) و (*S. stenofetenberg*) در طيور افزایش یافت. در سال های اخیر شیوع فاژ تیپ چهار سالمونلا انتریتیدیس در طيور مشکلات زیادی را در کشورهای اروپای مرکزی و غربی به وجود آورده است (۱). به نظر می رسد که در طيور چرخش بین سروتیپ های مختلف وجود دارد و در دوزان خاصی سروتیپی جایگزین سروتیپ دیگر می شود (۹۰۱). به طور کلی طيور و فرآورده های آن به عنوان منبع اصلی عفونتهای سالمونلا در انسان می باشند. (*S. enterica*) سروتیپ تیفی موریوم و انتریتیدیس متداول ترین سروتیپ های مرتبط با مقاومت نسبت به سفالوسپورین ها می باشند. جداسازی آنها از دام و طيور به عنوان منبع اولیه غذا، نشان می دهد که عفونت انسان بیشتر از این طریق است (۲). بنابراین کنترل عفونت های سالمونلا برای سلامت طيور و صنایع تبدیلی غذا اهمیت دارد و معیارهای موثر کنترل و پیشگیری برای کاهش آلودگی سالمونلا در طيور باید در مزارع طيور آغاز گردد (۲۰). این کنترل نیاز به روش های تشخیصی سریع و مطمئن دارد. روش های مختلفی برای شناسایی سالمونلا در کنار

روش های کشت قراردادی وجود دارد که بطور مستقیم روی نمونه اخذ شده اجرا می گردد. روش های کشت قراردادی برای جستجوی سالمونلا معمولاً چهار مرحله دارد: پیش غنی سازی، غنی سازی انتخابی، استفاده از محیط های انتخابی و تایید باروشهای سرولوژیکی ویبوشیمیایی (۲۱). در مطالعه انجام شده توسط McGibbon و همکاران دو محیط کشت Rappaport-Vassiliadis (RV) حاوی تریپتون و RV حاوی Soya peptone برای جداسازی سالمونلا از کبد مرغان آلوده مورد مقایسه قرار گرفت، و نشان داده شد که محیط دوم اندکی بهتر می باشد، ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود (۱۲). در مطالعه ای دیگر چهار محیط غنی سازی برای جداسازی سالمونلا از محصولات آلوده طيور مورد استفاده قرار گرفت که در بین این محیط ها، RV و Kiman بسیار موثرتر از دو محیط Selenite-cystine و Muller-Kauffmann tetrathionate گزارش شد (۴).

از سوی دیگر برای شناسایی و تایید سالمونلا روش های مولکولی مثل PCR نیز بسیار مورد استفاده قرار گرفته است. Choudary و Gooding در سال ۱۹۹۹ پنج جفت پرایمر مختلف را بر اساس جستجوی ۵ ژن برای تشخیص جنس سالمونلا مورد ارزیابی قرار دادند، که جفت پرایمر مربوط به Repeat sequence با محصول ۱۹۹ جفت باز برای تشخیص اکثر سویه های سالمونلا مناسب تر از بقیه تشخیص داده شد (۸). از روش های مولکولی برای شناسایی گونه سالمونلا نیز استفاده می شود. Soumet و همکاران از روش Multiplex PCR برای شناسایی گونه های انتریتیدیس و تیفی موریوم از سواب های نمونه برداری شده از مزارع طيور استفاده کردند. این روش از حساسیت بیشتری نسبت به روش باکتریولوژیک برخوردار می باشد (۱۶). در مطالعه تراکو و اوگوستین روش PCR بر اساس ۱۶S RNA ریبوزومی برای

| ژن هدف | سکانس پرایمر |
|--------|---|
| invA | F : AAATTATCGCCACGTTCTGGG R : TCATCGCACCGTCAAAGGAA |
| Flic | F : CTCTTGCTGGCGGTGCGACT R : CGGTGTTGCCAGGTTTGTA |
| Prot6e | F : ATATCGTCTGTTGCTGCTTCC R : CATTGTTCCACCGTCACTTT |

نتایج

تعداد ۶۴۶ نمونه در ۷ مرحله از بخش های گوناگون مزرعه مرغ مادر اخذ شد. جدول شماره ۲۱ نشان دهنده تعداد نمونه های مربوط به بخش های مختلف می باشد. از نمونه های اخذ شده از سالن مرغ مادر ۵ نمونه آلوده به باکتری سالمونلا بودند (۱/۶۴٪) (جدول ۵). از ۵۲ نمونه تخم مرغ (زرده و پوسته) مربوط به چهار سالن مرغ مادر، یک نمونه پوسته و یک نمونه مربوط به زرده آلوده به سالمونلا بودند (جدول ۶). بقیه نمونه ها شامل ۱۲۰ نمونه مربوط به سالن جوجه کشی و ستر، ۴۰ نمونه تخم مرغ قابل انتقال از ستر به هجر، ۴۲ نمونه پوسته های شکسته تخم مرغ، ۸۰ نمونه از سالن جوجه های زیر یک هفته و ۱۲ عدد تلفات جوجه های زیر یک هفته، از نظر سالمونلا منفی بودند.

۷ نمونه سالمونلای جدا شده تعیین گروه سرمی شدند و هر ۷ مورد مربوط به گروه D لانسفیلد بودند.

در آزمایش PCR وجود ژن invA در هر ۷ نمونه تایید گردید. در هر ۷ نمونه سالمونلا وجود ژن prote ۶ تایید شد، بنابراین تمام نمونه های سالمونلای جدا شده به عنوان *S. enteritidis* شناسایی شدند (تصاویر ۱ و ۲).

جستجوی اختصاصی *S. enterica* مورد استفاده قرار گرفت، که نتیجه آن موفقیت آمیز بود (۱۸).

هدف از این مطالعه، جداسازی و شناسایی گونه های سالمونلا در مرکز اصلاح و پرورش مرغ بومی استان مازندران بود که از روش های کشت غنی سازی و انتخابی برای جداسازی و شناسایی جنس سالمونلا و از روش های بیوشیمیایی و سرولوژیکی برای شناسایی گونه مربوطه استفاده شد، در عین حال موارد جداسازی شده با استفاده از روش PCR از نظر جنس و گونه مورد تایید قرار گرفتند.

مواد و روش کار

پژوهش حاضر در مرکز اصلاح و تکثیر مرغ بومی استان مازندران انجام گرفت. در این مرکز از چهار سالن مرغ مادر، یک سالن جوجه کشی و یک سالن جوجه های زیر یک هفته نمونه برداری شد. در کل، تعداد ۶۴۶ نمونه در ۷ مرحله از قسمت های مختلف مزرعه مرغ مادر اخذ گردید (جداول ۳ و ۴). نمونه برداری از دستگاه های تهویه، پنجره، دیوارها و درزها با استفاده از سوآپ استریل که با آب پیتونه مرطوب شده بود، انجام گرفت. نمونه برداری از مدفوع تازه کف بستر و هم چنین لانه تخم گذاری نیز به همین روش انجام شد. همه نمونه های اخذ شده به لوله های حاوی ۵-۱۰ میلی لیتر برآث غنی کننده (سلنیت F) منتقل گردید و پس از ۲۴-۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد، در محیط های افتراقی و انتخابی TSI، XLD، حرکت، اوره، سیترات و اندول کشت مجدد داده شد.

از سالن جوجه کشی نیز از محل های مختلف از قبیل راهروها، کنار پنجره ها، ستر، هجر و اتاق درجه بندی، نمونه برداری صورت گرفت. علاوه بر این پلیت های با درب باز حاوی محیط های کشت انتخابی در محل های مختلف سالن قرار داده شد.

نمونه گیری از سالن جوجه های زیر یک هفته نیز مانند سالن مرغ مادر انجام گرفت.

برای جداسازی سالمونلا از پوسته تخم مرغ، ابتدا تخم مرغ با محیط برآث غنی کننده شستشو داده شد و سپس این محیط ۲۴ ساعت در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت. پس از آن در محیط های کشت تفریقی کشت مجدد داده شد. برای جداسازی سالمونلا از زرده، پس از ضدعفونی پوسته تخم مرغ با الکل ۷۰ درجه، زرده جدا و در محیط سلنیت به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد کشت داده شد.

گروه سرمی سالمونلاهای جدا شده، با استفاده از کیت رنگی لاتکس (ساخت شرکت remel، کشور انگلیس) تعیین گردید.

جهت تایید جنس سالمونلا و نیز تعیین گونه آن وجود ژن های invA (اختصاصی برای جنس سالمونلا)، flic (اختصاصی برای *S. typhimurium* و prote (اختصاصی برای *S. enteritidis*) با استفاده از روش PCR جستجو گردید. واکنش ها در حجم ۲۵ میکرولیتر با هر کدام از جفت پرایمرها به صورت جداگانه انجام شد. هر واکنش شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR، ۰/۷۵ میکرولیتر $MgCl_2$ ، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs، یک میکرولیتر از هر پرایمر، ۲ میکرولیتر DNA و ۰/۵ میکرولیتر آنزیم Taq بود. سکانس پرایمرهای مربوط به ژن های invA و prote و flic در جدول شماره ۱ آمده است.

جدول ۲- تعداد و محل های مختلف نمونه گیری از سالن های مرغ مادر

| مکان نمونه برداری | تعداد مرغ و خروس | تعداد نمونه از بستر | تعداد نمونه از فن و پنجره | تعداد نمونه از مدفوع تازه | تعداد نمونه از بستر متراکم و محل استراحت | تعداد نمونه از لانه ی تخم گذاری | تعداد نمونه از گوشه و دیواره | تعداد نمونه از تخم مرغ تازه | |
|-------------------|------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|--|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|
| سالن ۱ | ۳۰۰۰ | ۱۸ | ۱۲ | ۹ | ۱۸ | ۱۲ | ۱۰ | ۱۴ | ۹ عدد داخل لانه ۵ عدد خارج لانه |
| سالن ۲ | ۳۰۰۰ | ۱۸ | ۱۲ | ۹ | ۱۸ | ۱۲ | ۱۰ | ۱۴ | ۹ عدد داخل لانه ۵ عدد خارج لانه |
| سالن ۳ | ۲۵۰۰ | ۱۵ | ۱۲ | ۹ | ۱۵ | ۱۲ | ۱۰ | ۱۲ | ۸ عدد داخل لانه ۴ عدد خارج لانه |
| سالن ۴ | ۲۵۰۰ | ۱۵ | ۱۲ | ۹ | ۱۵ | ۱۲ | ۱۰ | ۱۲ | ۸ عدد داخل لانه ۴ عدد خارج لانه |
| جمع کل | ۱۱۰۰۰ | ۶۶ | ۴۸ | ۳۶ | ۶۶ | ۴۸ | ۴۰ | ۵۲ | |

جدول ۳- تعداد و محل های مختلف نمونه گیری از سالن جوجه های زیر ۱ هفته

| مکان نمونه برداری | تعداد جوجه | تعداد تلفات جوجه | تعداد نمونه از بستر | تعداد نمونه از فن و پنجره | تعداد نمونه از مدفوع تازه | تعداد نمونه از بستر متراکم و محل استراحت | تعداد نمونه از لانه تخم گذاری | تعداد نمونه از گوشه و دیواره | تعداد نمونه از مدفوع تازه |
|-------------------|------------|------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|--|-------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| سالن جوجه ها | ۱۶۰۰ | ۱۲ | ۱۸ | ۱۲ | ۸ | ۸ | ۱۲ | ۱۲ | ۱۰ |

جدول ۴- تعداد و محل های مختلف نمونه گیری از سالن جوجه کشی

| مکان نمونه برداری | هجر ۱ | هجر ۲ | ستر | محیط سالن و راهروها | اتاق درجه بندی | سیدها و سینی ها | کارتن خالی | تخم مرغ قابل انتقال | پوسته های شکسته شده تخم مرغ های هیچ شده |
|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------|-----------------|------------|---------------------|---|
| سالن جوجه ها | ۵ سواب ۶ محیط XLD | ۵ سواب ۶ محیط XLD | ۵ سواب ۶ محیط XLD | ۲۵ سواب ۱۰ محیط XLD | ۱۰ | ۱۵ | ۱۰ | ۴۰ | هجر ۱ هجر ۲ |

جدول شماره ۵- فراوانی و درصد آلودگی به سالمونلا در ۴ سالن مرغ مادر

| نوع نمونه | تعداد نمونه | موارد آلوده | درصد | گونه سالمونلا |
|---------------------------|-------------|-------------|------|---------------|
| نمونه از بستر | ۶۸ | - | - | - |
| تعداد نمونه از فن و پنجره | ۴۸ | ۱ | ۲/۰۸ | انتریتیدیس |
| نمونه از مدفوع تازه | ۳۶ | - | - | - |
| نمونه از بستر متراکم | ۶۸ | ۲ | ۲/۹۴ | انتریتیدیس |
| نمونه از لانه تخم گذاری | ۴۸ | ۲ | ۴/۱۶ | انتریتیدیس |
| نمونه از گوشه و دیواره | ۴۰ | - | - | - |
| مجموع نمونه ها | ۳۰۴ | ۵ | ۱/۶۴ | انتریتیدیس |

جدول شماره ۶- فراوانی و درصد آلودگی به سالمونلا در زرده و پوسته تخم مرغ های ۴ سالن مرغ مادر

| مکان نمونه برداری | تعداد نمونه | آلودگی زرده | درصد | آلودگی پوسته | درصد | گونه سالمونلا |
|-------------------|-------------|-------------|------|--------------|------|---------------|
| سالن ۱ | ۱۴ | ۱ | ۷/۱۴ | - | - | انتریتیدیس |
| سالن ۲ | ۱۴ | - | - | ۱ | ۷/۱۴ | انتریتیدیس |
| سالن ۳ | ۱۲ | - | - | - | - | - |
| سالن ۴ | ۱۲ | - | - | - | - | - |
| جمع کل | ۵۲ | ۱ | ۱/۹۲ | ۱ | ۱/۹۲ | انتریتیدیس |

کار دارد و احتمال جداسازی سالمونلا را افزایش می دهد (۶). در مطالعه Uyttendaele و همکاران در سال در طی چهار سال متوالی جهت تعیین میزان آلودگی به سالمونلا در فرآورده های طیور در کشور بلژیک اختلاف چندانی مشاهده نشد و سه سروتیپ انتریتیدیس، هادار و ویرچو فراوان ترین سروتیپ ها بودند (۱۹).

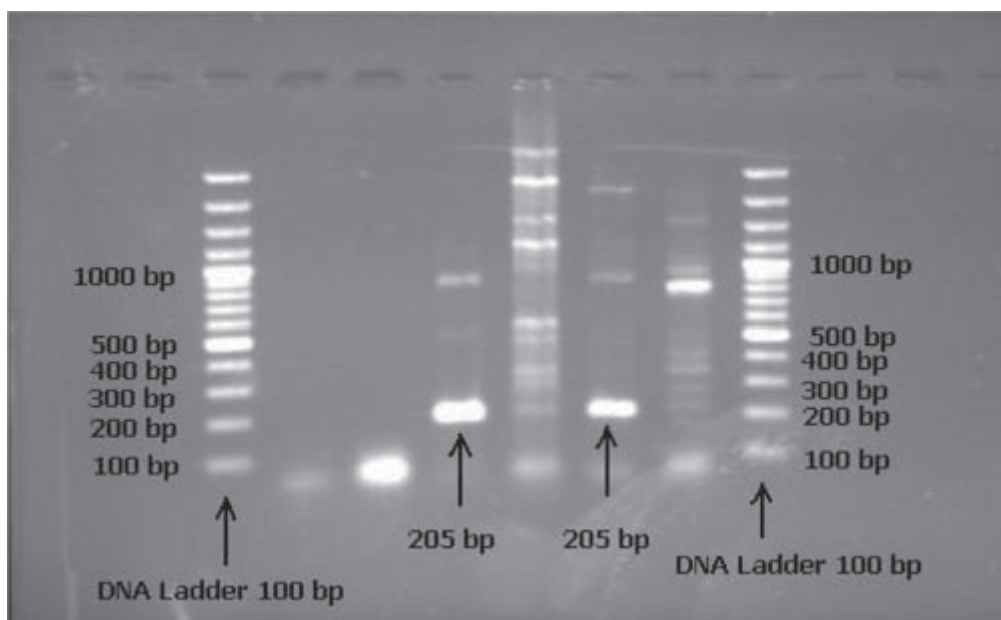
یکی دیگر از منابع ورود پاتوژن ها به محیط بسته هوای آلوده می باشد. در مطالعه ما یک نمونه آلوده به سالمونلا از فن و پنجره یکی از سالن ها جدا گردید. Davis و همکاران نیز در سال ۱۹۹۶ درصد تقریباً مشابهی از آلودگی ورودی ها و خروجی های هوا را در مزارع مختلف گزارش کردند (۷). در این تحقیق آلودگی لانه های تخم گذاری چهار سالن ۱/۴٪ بود. تحقیقاتی توسط محققین مختلف صورت گرفته که نمایان گر آلودگی لانه های تخم گذاری بود (۳، ۷، ۱۰).

در پژوهش حاضر یک نمونه سالمونلا از پوسته و یک نمونه از زرده جدا شدند. Otomo و همکاران در سال ۲۰۰۷ عامل اصلی آلودگی پوسته و تخم مرغ را پس از مدفوع، عدم رعایت بهداشت کارکنان در حین جمع آوری تخم مرغ ها دانستند (۱۴).

Cowden و همکاران در سال ۱۹۸۹ مدفوع مرغ های آلوده را جزو عوامل دخیل در آلودگی تخم مرغ ها قلمداد کردند (۵). Otomo و همکاران

بحث

سالمونلا و سروتیپ های آن منبع مهم آلودگی غذاهای انسانی و عامل پاتوژن بسیار قوی و بیماری زا در انسان و دام و طیور است. بیش ترین سروتیپ سالمونلا که در اروپا از مزارع مرغ تخم گذار و مادر جدا شده است، *S. typhimurium* می باشد. این باکتری تخم مرغ را از دو طریق آلوده می کند: اول انتقال عمودی در طی تولید تخم مرغ در تخمدان و دوم انتقال افقی از طریق پوسته تخم مرغ (۱۳). در مطالعه حاضر میزان آلودگی به باکتری سالمونلا در چهار سالن مرغ مادر ۱/۶۴٪ بود. در این مورد به نظر می رسد که مدفوع و گرد و غبار به عنوان مهم ترین عوامل انتقال دهنده عفونت سالمونلائی عمل می کنند. یکی از راه های آلودگی گله مادر به سالمونلا و متعاقب آن دفع سالمونلا از مدفوع، مواد غذایی آلوده است. پوشال آلوده سبب آلودگی بستر و انتقال جرم در محیط و در نتیجه به مرغ های مادر و تخم مرغ ها گردد. Cowden و همکاران در سال ۱۹۸۹ نمونه های آلوده به باکتری سالمونلا را از بستر در مزارع مرغ اروپا جدا کردند. Davis (۵) و رای نیز در سال ۱۹۹۶ آلودگی مزارع مرغ مادر را به باکتری سالمونلا ۱۱/۷٪ گزارش نمود، که بیشترین گونه جدا شده *S. enteritidis* بود (۷). در مطالعه ای دیگر توسط این دو محقق نشان داده شد که انتخاب بعضی از محل ها برای نمونه برداری تاثیر زیادی روی نتیجه



تصویر شماره ۲- فرآورده PCR به اندازه ۲۰۵ جفت باز مربوط به ژن *proF6* جهت تایید گونه انتریتیدیس

پرورشی باز عامل مهمی در افزایش بروز سالمونلوز می باشد. علاوه بر این افزایش سن و افزایش اندازه گله ها، نیز از عوامل خطر در افزایش بروز سالمونلوز شناسائی شد (۱۳).

در مطالعه حاضر برای تایید جنس و گونه سالمونلاهای جداشده از روش های سرولوژیکی و روش های تشخیص مولکولی استفاده شد. ژن های هدف متعددی جهت شناسایی سویه های سالمونلا معرفی شده اند. ژن *InVA* برای تهاجم سالمونلا لازم است چرا که به وسیله آن باکتری به قسمت های عمقی تر روده نفوذ میکند و در عین حال برای جنس سالمونلا اختصاصی است. گرچه تعدادی از باکتری های متعلق به خانواده آنتروباکتریاسه از لحاظ برخی خصوصیات بیوشیمیایی به سالمونلا شبیه می باشند ولی فاقد ژن *InVA* هستند. نتایج آزمایش این ژن توسط سومت و همکاران از لحاظ حساسیت برای جنس سالمونلا ۱۰۰٪ ارزیابی گردید (۱۷). در بررسی حاضر، جنس سالمونلا و گونه انتریتیدیس توسط آزمایش PCR تایید شد.

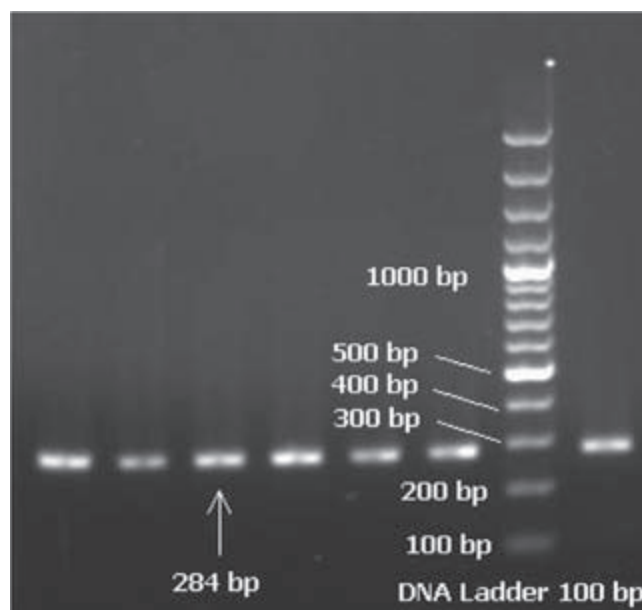
منابع مورد استفاده

- ۱- زهرایی صالحی، تقی. ۱۳۷۸: سالمونلا، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران.
- 2- Alert, G., Barrett, T. J., Butaye, P., Cloeckart, A., Mulvey, M. R., White, D. G. 2006; Salmonella resistant to extended-spectrum cephalosporins: Prevalence and epidemiology Microb. Infect. 8: 1945-1954.
- 3- Bichler, L.A., Nagaraja, K.V., Halvorson, D.A. 1996; *Salmonella enteritidis* in eggs, cloacal swab specimens and internal organs of experimentally infected white leghorn chickens. Am. J. Vet. Res. 57(4): 489-495.

در سال ۲۰۰۷ شیوع آلودگی در زرده تخم مرغ ها را ۶/۸٪ گزارش کردند که بیشترین باکتری جدا شده *S. enteritidis* عنوان شد (۱۴). کوئین و همکاران (۱۹۹۸) تخم مرغ های مصرفی را عامل مهم *S. enteritidis* عنوان کردند. Roy و همکاران (۲۰۰۲) از حدود ۴۷۴۵ نمونه، ۵۶۹ نمونه سالمونلا جدا کردند و شیوع سالمونلوز ناشی از مصرف تخم مرغ های آلوده را در شمال غربی اقیانوسیه ۱/۱۱٪ اعلام کردند که در ۵/۱۵٪ موارد عامل ایجاد سالمونلوز، سالمونلا انتریتیدیس بیان شد (۱۵).

در این تحقیق، از سالن جوجه کشی وستر و نیز سالن جوجه های یک هفته و تلفات این گروه از جوجه

ها باکتری سالمونلا جدا نشد. مطالعه حاضر نشان می دهد که با وجود اثبات آلودگی به سالمونلا در این مزرعه مرغ مادر میزان شیوع آن در قیاس با سایر گزارش ها کمتر است. اما همین میزان آلودگی نیز باید هشدار دهنده تلقی گردد و راه های پیشگیری از این عفونت مد نظر قرار گیرد. در مطالعه Namata و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه ای عوامل خطر ساز سالمونلوز در مرغان تخم گذار مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه نشان داده شد که سیستم پرورش مرغ در قفس، در قیاس با سیستم های



تصویر شماره ۱- فرآورده PCR با اندازه ۲۸۴ جفت باز مربوط به ژن *invA* جهت تایید جنس سالمونلا

- G. and Colin, P. 1999; Identification by a multiplex PCR- based assay of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* strains from environmental swabs of poultry houses. Lett. Appl. Microbiol. 29: 1-6.
- 18- Trkov, M. and Avgustin, G. 2003; An improved 16s rRNA based PCR method for the specific detection of *Salmonella enterica*. Int. J. food Microbiol. 80: 67-75.
- 19- Uyttendaele, M. R., Debevere, J. M., Lips, R. M. and Neyts, K. D. 1998; Prevalence of salmonella in poultry carcasses and their products in Belgium. Int. J. food Microbiol. 40: 1-8.
- 20- Zahraei Salehi, T., Mahzounieh, M. and Saeedzadeh, A. 2005; Detection of invA gene in isolated salmonella from broilers by PCR method. Int. J. Poult. Sci. 8: 557-559.
- 21- Van der Zee, H. 1994; Conventional methods for detection and isolation of *Salmonella enteritidis*. Int. J. Food Microbiol. 21: 41-46.
- 4- Bilvert, D., Salvat, G., Humbert, F. and Colin, P. 1997; Evaluation of a new enrichment broth for the isolation of *Salmonella* spp. From poultry products. Int. J. Food Microbiol. 38: 211-216.
- 5- Cowden, J.M., Lynch, D., Joseph, C.A., Mawer, S.L. and Rower, B. 1989; Case-control study of infections with *Salmonella enteritidis* phage type 4 in England. B. M. J. 299: 771-3.
- 6- Davis, R.H. and Wray, C. 1996; Determination of an effective sampling regime to detect *Salmonella enteritidis* in environment of poultry units. Vet. Microbiol. 50: 117-127.
- 7- Davis, R.H. and Wray, C. 1996; Mice and carriers of *Salmonella enteritidis* in persistently infected poultry units. Vet. Rec. 137: 337-341.
- 8- Gooding, C.M. and Choudary, P.V. 1999; Comparison of different primers for rapid detection of salmonella using the polymerase chain reaction. Mol. Cell. Probes 13: 341-347.
- 9- Guerin, M.T., Mavtin, S. and Darlington, G.A.A. 2005; Temporal study of salmonella serovars in animal in Alberta between 1990-2002. Canad. J. Vet. Res. 69: 88-99.
- 10- Kinde, H., Castellan, D. M., Kerr, D., Campbell, J., Breitmeyer, R., Ardans, A. 2005; Longitudinal monitoring of two commercial layer flocks and their environments for *Salmonella enterica* serovar enteritidis and other *Salmonellae* Avi. Dis. 49(2): 189-194.
- 11- Kingston, D.J. 1981; A comparison of culturing drag swabs and litter for identification of infections with salmonella spp. in commercial chicken flocks. Avi. Dis. 25: 511-516.
- 12- McGibbon, L., Quail, E. and Fricker, C. R. 1984; Isolation of salmonellae using two forms of Rappaport-Vassiliadis medium and brilliant green agar. Int. J. Food Microbiol. 1: 171-177.
- 13- Namata, H., Meroc, E., Aerts, M., Faes, C., Abrahantes, J. C., Imberechts, H., Mintiens, K. 2008; Salmonella in Belgian laying hens: An identification of risk factors. Prev. Vet. Med. 83: 323-336.
- 14- Otomo, Y. A., Odagiri, K., Shirto, A. and Takatori, K. 2007; Detection of salmonella in spent hens and eggs associated with foodborne infection. Avi. Dis. 51(2): 578-83.
- 15- Roy, P., Dhillon, A. S., Laurerman, L. H., Schaberg, D. M., Bandli, D. and Johnson, S. 2002; Results of salmonella isolation from poultry products, poultry environment, and other characteristic. Avi. Dis. 46(1): 17-24.
- 16- Soumet, C., Ermel, G., Rose, N., Rose, V., Drouin, P., Salvat, G. and Colin, P. 1999; Evaluation of a multiplex PCR assay for simultaneous identification of salmonella sp., *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* from environmental swabs of poultry houses Lett. Appl. Microbiol. 28: 113-117.
- 17- Soumet, C., Ermel, G., Rose, V., Rose, N., Drouin, P., Salvat,

