مجله پژوهش های بالینی دامپزشکی
JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

دوره پنجم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۳
صفحات ۹۰-۸۱

مطالعه ژن‌های Spic و rfbjB در سویه‌های سالمونلا جدا شده از روده طیور در کشتارگاه‌های شهرستان ساری

میترا صالحی[۱]، سمیه محمدی[۲*]

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

نویسنده مسئول: **Mohammadi.S985@gmail.com***

چکیده

سالمونلا باکتری گرم منفی می‌باشد که قادر به ایجاد عفونت در طیف وسیعی از و حیوانات مزرعه مانند گاو، مرغ، خوک، خزندگان و انسان است که از طریق مواد غذایی آلوده قابل انتقال به انسان می‌باشد. در این مطالعه از روش PCR برای تشخیص سالمونلا در روده مرغ استفاده شد. در این پژوهش، ۱۰۰ نمونه روده مرغ بعد کشتار از مرغداری‌های اطراف شهرستان ساری تهیه گردید. همه نمونه‌ها با استفاده از آزمایش‌های میکروبی و بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. DNA نمونه‌ها به وسیله کیتMBST استخراج و PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی مربوط به ژن‌های Spic و rfbjB انجام گردید. نتایج روش کشت و آزمایش‌های بیوشیمیایی بر روی ۱۰۰ نمونه روده مرغ جمع آوری شده، ۳۰ نمونه سالمونلا شناسایی و تشخیص داده شد. بررسی نتایج بر روی ۳۰ نمونه سالمونلا، حضور ژن‌های اختصاصیrfbjB و SpiC را ۵۰ و ۱۰۰درصد نشان داد. نتایج این بررسی نشان دادکه با توجه به طولانی بودن روش‌های مرسوم کشت، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز می‌تواند یک شیوه تشخیصی دقیق و حساس و سریع در شناسایی و غربالگری باکتری سالمونلا باشد.

واژه‌های کلیدی: سالمونلا، روده مرغ، PCR

JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 5(1)9-18, 2014

spic and *rfbjB* Genes studies in isolated Salmonella strains from poultry in sari

Salehi, M [1]., Mohammadi, S[2*]

1. Departement of microbiology, Biological Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2-Postgraduate student, Departement of microbiology, Biological Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

**** Corresponding author:*** **Mohammadi,S985@gmail.com**

Abstract

salmonella is a Gram-negative bacterium that can cause infection in humans and a wide range of animals such as human and farm animels such as cattle, poultry, pig and reptiles, which can be transmitted to humans through infected food. In this study, PCR was used to detect salmonella in chicken intestine. In this study, 100 samples of chicken intestines was prepared from aviculture around the city of Sari. All samples were examined using biochemical and biological methods. DNA samples was extracted by MBST kit and PCR method was employed by rfbjB and SpiC primers related to rfbjB and SpiC genes. The results of biochemical testing and culture methods on 100 samples collected from chicken intestine, 30 Salmonella was detected. Reults showed that all isolated samples contained SpiC gene and 50% contained rfbjB gene. these results indicate that this PCR assay is a simple, Rapid, reliable and reproducible method for identification of salmonella that will aid surveillance , prevention and control of this pathogen.

Key words: salmonella , intestinal chicken, PCR

مقدمه

باکتری سالمونلا متعلق به خانواده انتروباکتریاسه است. این باکتری گرم منفی، میله‌ای وهوازی به عنوان یکی از مهمترین عوامل بیماری زا مشترک بین انسان و دام مطرح می‌باشد.
از ویژگی‌های مهم این جنس توانایی آن در زنده ماندن به مدت طولانی در محیط و نمونه‌های غذایی است سالمونلوز از حیوان به حیوان، از حیوان به انسان و در موارد نادر از انسان به انسان قابل انتقال است. از منابع آلودگی برای انسان می‌توان به گاو، گوسفند، بز و طیور اشاره کرد. (۴،۵) مصرف فراورده‌های آلوده‌ی طیور و تخم مرغ یکی از راه‌های رایج عفونت در انسان می‌باشد. سالمونلوزیس نام گروهی از عفونت‌های ایجاد شده توسط سالمونلا می‌باشد که شامل تب تیفوئید، پارا تیفوئید و مسمومیت غذایی است. (۳۰) مسمومیت ناشی از غذا یکی ازمهمترین مشکلات جهانی است. اگر چه در تمام فراورده‌های گوشتی این آلودگی شایع است ولی میزان آن در طیور به دلیل تقاضای بالا و مقاومت سویه به آنتی بیوتیک، بمراتب بیشتر است. (۲۰،۲۸) این باکتری در بخش روده‌ای انسان و بسیاری از حیوانات اهلی از جمله مرغ ساکن بوده و طیور اغلب به عنوان منبع زئونوتیک این عامل مطرح می‌باشند.(۶) بیش از ۲۵۰۰سروتیپ سالمونلا شناسایی شده است که ۱۰% آن‌ها از طیور جداسازی گردیدند که مهم ترین و متداول ترین آن ها، سالمونلا تیفی موریوم و سالمونلا انتریتیدیس می‌باشد. بیماری سالمونلوزیس در پرنده‌ها می‌تواند از طریق خوردن غذاهای آلوده، آب و تخم مرغ‌های حاوی سالمونلا و یا از طریق پوسته تخم مرغ روی دهد. پرندگان مبتلا کسل، چمباتمه زده و افسرده هستند. تمایل به حرکت نداشته و با چشمان بسته، پرهای ژولیده می ایستند. این باکتری ممکن است در طیور به ظاهر سالم وجود داشته باشد.(۴،۳۰) سالمونلا ارگانیسم پیچیده‌ای است که فاکتورهای بیماریزایی متعددی برای ایجاد بیماری دارد. از فاکتورهای مهم در بیماریزایی سالمونلا، اندوتوکسین، انتروتوکسین، سیتوتوکسین، آنتی ژن‌های سطحی می‌باشد. (۱،۸،۹،۱۶،۲۱) براساس طبقه بند کافمن–وایت، سالمونلا از آنتی ژن سوماتیک o، آنتی ژن پروتئین فلاژل H و آنتی ژن کپسولی Viتشکیل شده است. (۷،۲۲) آنتی ژنo لیپوساکارید غشای خارجی باکتری است که از واحدهای الیگوساکاریدی تکراری، شامل ۶–۳ قند در سروگروپ‌های A تا B سالمونلا می‌باشد.(۱۵،۲۹) در سالمونلا ژن‌هایی مسئول بیوسنتز آنتی ژن o هستند که به طور معمول برروی کروموزوم در خوشه ژنی rfb گروه بندی می‌شوند. این خوشه ژنی آنزیم‌های زیادی را برای بیوسنتز آنتی ژن o کد می‌کند و به عنوان یک مارکر مولکولی برای تشخیص سروتیپ‌های سالمونلا می‌باشد. گروه Bو C2 در ژنهای rfb J سالمونلا سنتز abequose را کدگذاری می‌کنند و CDP-4-keto -3 , 6-dideoxy glucose را به CDP-abequose تبدیل می‌کنند. (۱۴) بسیاری از باکتری‌های گرم منفی دارای سیستم ترشحی تیپ III برای تعامل خود با میزبان هستند. این تیپ همچنین تزریق مولکولی نامیده می‌شود.این سیستم حدودا از ۳۰ پروتئین مختلف تشکیل شده است و یکی از پیچیده ترین سیستم‌های ترشحی به حساب می‌آید (۱۰،۱۱،۱۹). پروتئین Spic سالمونلا دارای ۱۲۷ اسید آمینه است که در جزایر بیماریزایی سالمونلا ۲ کد گذاری می‌شود و از طریق سیستم ترشحی تیپ III به درون سیتوزول ماکروفاژها ترشح می‌شود. پروتئین SpiC برای بقا درون ماکروفاژها و مهار هم جوشی فاگوزوم – لیزوزوم در داخل بدن و برای مهار هم جوشی اندوزوم – اندوزوم در شرایط آزمایشگاهی ضروری است. پروتئین SpiC همچنین باعث ترشح چندین افکتورهای SPI2 و پروتئین‌های انتقالی SSeB و SseC می‌شود. جهش در SpiC باعث می‌شود که SpiC قادر به تکثیر در ماکروفاژها نباشد و تا حد زیادی بیماریزایی را کاهش می‌دهد. (۲۵،۲۷) روش‌های شناسایی سالمونلا از نمونه‌های طیور بر دو نوع سنتی و مولکولی می‌باشد که روش‌های جدا سازی سنتی اغلب بر پایه کشت بر روی محیط‌های اختصاصی و تشخیص کلنی‌های مشکوک

توسط تست‌های بیوشیمیایی و سرولوژی است. در طول سالیان اخیر، استفاده ازروش‌های مولکولی به ویژه PCR در شناسایی حضور عوامل میکروبی در نمونه‌های مختلف، جایگاه ویژه‌ای یافته اند. این روش در مقایسه با راهکارهای معمول تشخیص عوامل میکروبی مانند کشت و روش‌های سرولوژی، از دقت، حساسیت، ویژگی و سرعت بالایی برخوردار می‌باشد. با در دست داشتن اطلاعات مولکولی در مورد ایزوله ها، میتوان اقداماتی در زمینه کنترل آلودگی و گسترش عفونت، انجام داد. در این راستا هدف از انجام این تحقیق ارزیابی روش PCR در تشخیص مولکولی سالمونلا و نیز بررسی میزان آلودگی به این باکتری در طیور شهرستان ساری بود.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه

در زمستان ۱۳۹۰ در مجموع تعداد ۱۰۰ نمونه روده مرغ بعداز کشتار از مرغداری‌های اطراف شهرستان ساری نمونه برداری و جمع آوری شد. کلیه نمونه‌ها در مجاورت یخ و در ظروف استریل به آزمایشگاه منتقل شدند.

کشت و آزمایش‌های بیوشیمیایی

به منظور جداسازی سالمونلا، نمونه‌ها مستقیما در محیط سلنیتF براث قرار گرفتند و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۶-۱۲ ساعت گرم خانه گذاری شدند. پس از آن نمونه‌ها بر روی محیط‌های اختصاصی XLD آگار، سالمونلا شیگلا آگار، برلیانت گرین آگار (مرک، ساخت آلمان) کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. کلنی‌های مشکوک به سالمونلا برای تایید بر روی محیط‌های افتراقی تریپل شوگر آیرون آگار، سیمون سیترات آگار، لیزین آیرون آگار، سولفید ایندول موتیلیتی، اوره آگار، متیل رد- وگس پروسکائر آزمایش شدند. نمونه‌های خالص سالمونلا تا زمان انجام PCR در محیط BHI براث (مرک، ساخت آلمان) گلیسرین دار در دمای ۲۰- نگهداری شدند.

استخراج DNA

نمونه‌های خالص سالمونلا درون میکروتیوپ‌های ۵۰ میلی لیتری حاوی محیط BHI براث انتقال داده شد. پس از ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، سوسپانسیون حاصل به یک میکروتیوپ استریل منتقل و با دور rpm ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از انتقال مایع روی به یک میکروتیوپ استریل مجددا سانتریفیوژ در دور rpm ۴۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه انجام گردید و در پایان استخراج DNA از رسوب با استفاده از کیت MBST انجام گرفت.

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای ژن‌های Spic و rfbjB باکتری سالمونلا انجام شد. توالی پرایمرهای طراحی شده برای باکتری سالمونلا در جدول ۱ نشان داده شده اند. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرو لیتر شامل بافر PCR (X10) ۲/۵ میکرولیتر،dNTP ۱ میکرو لیتر، پرایمر هایF وR ۱ میکرولیتر، DNA الگو ۱ میکرولیتر، ۰/۲ واحد آنزیم تک پلی مراز و آب مقطر استریل ۱۸/۳ میکرولیتر انجام شد. دماهای مورد استفاده در واکنش PCR در جدول ۲و۳ درج شده است. در نهایت، محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۱% با ولتاژ ۴۵ ولت الکتروفورز و با استفاده از نورUV ارزیابی شد.

جدول۱- توالی پرایمرهای اختصاصی برای تشخیص سالمونلا

ژن	توالی نوکلئوتیدی پرایمر	اندازه محصول
Spic	5' CCGAAGGTAATAGCCGATCC 3' 5' TACCCCACCCGAATAAAGTT 3'	۳۳۵ جفت باز
rfbjB	5' AGAATATGTAATTGTCAG 3' 5' TAACCGTTTCAAGTAGTTC 3'	۸۸۳ جفت باز

جدول۲- برنامه دمایی PCR ژن rfbjB

مرحله	دما(سانتیگراد)	زمان(دقیقه)	تعداد سیکل
واسرشت اولیه	۹۵	۵	۱
واسرشت	۹۵	۱	۳۰
اتصال	۴۲	۱	
طویل سازی	۷۲	۱	
طویل سازی نهایی	۷۲	۷	۱

جدول ۳- برنامه دمایی PCR ژن spic

مرحله	دما(سانتیگراد)	زمان(دقیقه)	تعدادسیکل
واسرشت اولیه	۹۵	۵	۱
واسرشت	۹۴	۱	۳۰
اتصال	۵۵	۱	
طویل سازی	۷۲	۱	
طویل سازی نهایی	۷۲	۷	۱

روش استخراج پروتئین‌های غشای خارجی (OMPs)

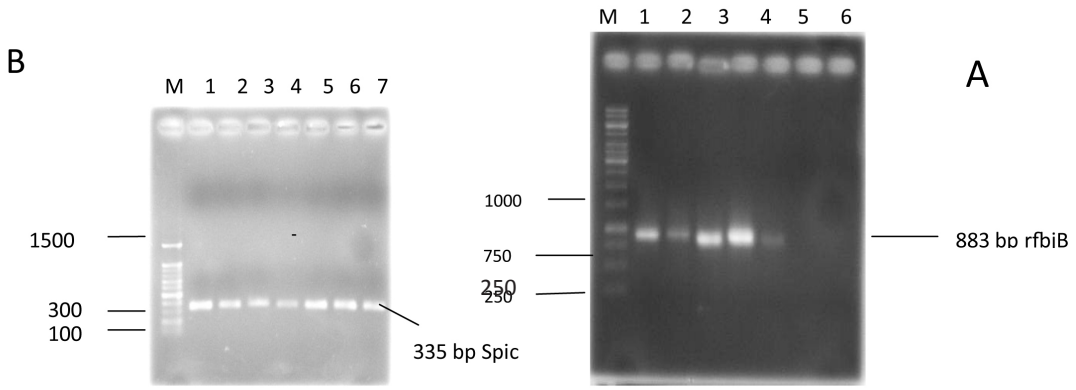
ابتدا یک پرگنه از باکتری سالمونلا را در ۱۰ میلی لیتر محیط کشت LB در فالکون‌های ۵۰ میلی لیتری کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکر دار در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس به اپندورف‌های ۲ میلی لیتری انتقال داده شدند. سوسپانسیون باکتری به مدت ۱۰ دقیقه با ۴۰۰۰دور سانتریفیوژ گردید. مایع رویی را دور ریخته و به رسوب حاصله ۵ میلی لیتر بافر لیز اضافه کرده و با دور ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد.مایع رویی را دور ریخته و به رسوب ۳ میلی لیتر PMSF اضافه کرده، سپس در یخ خشک ۱۲- به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد و پس از طی این مدت بلافاصله در بن ماری ۴۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. نمونه‌ها را اسپین کرده و با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد.

رسوب حاصله در ۵ میلی لیتر از بافر لیز و ۲۰۰ میکرولیتر Triton X-100 حل گردید و به مدت۲ ساعت روی یخ نگهداری شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با ۲۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردیدند. محلول رویی را جدا کرده و به میکروتیوپ استریل انتقال داده شد و تا زمان انجام الکتروفورز در دمای ۲۰- نگهداری شد.سرانجام محلول روئی را با بافر نمونه هم حجم (سمپلر بافر) مخلوط نموده، پس از جوشانیدن به مدت ۵ دقیقه، میزان ۳۰ میکرولیتر از

آن بر روی ژل پلی اکریل آمید با ولتاژ۵۰ ولت الکتروفورز گردید.

نتایج

در این تحقیق از مجموع ۱۰۰ نمونه جمع آوری شده از روده مرغ در مرغداری‌های شهرستان ساری، بااستفاده از تست‌های بیوشیمیایی ۳۰ مورد نمونه سالمونلا شناسایی و جدا گردید. بررسی نتایج PCR برروی ۳۰ نمونه سالمونلا، وجود ژن‌های اختصاصی سالمونلا rfbjB و Spic را به ترتیب ۵۰% و ۱۰۰% نشان داد (شکل ۱).

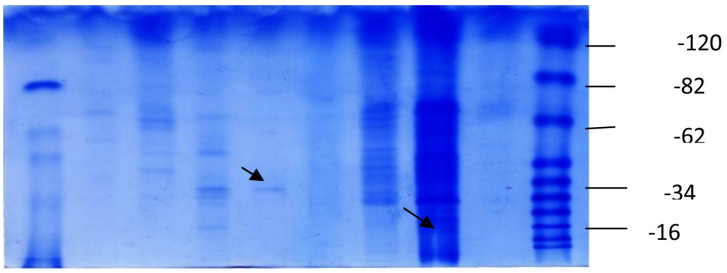


تصویر ۱- واکنش زنجیره‌ای پلی مراز برای تشخیص باکتری سالمونلا در نمونه‌های روده مرغ.

A) ردیفM : نشانگر وزن مولکولی DNA، ردیف ۱تا ۵: نمونه‌های مثبت برای ژن rfbjB در باکتری سالمونلا، ردیف ۶: کنترل منفی

B) ردیف M: نشانگر bp ۱۵۰۰، ردیف ۱ تا ۷: نمونه‌های مثبت برای ژن Spic در باکتری سالمونلا

نتایج حاصل از الکتروفورز پروتئین‌های غشای خارجی در شکل ۲ نشان داده شده است. در این نمونه‌ها باندهای پروتئینی مشاهده می‌شود. وزن مولکولی برای پروتئین‌های rfbjB و Spic ۱۳/۹۷ و ۳۴/۱۰ کیلو دالتون می‌باشد.



تصویر ۲- باندهای پروتئین‌های غشای خارجی (OMPs) در باکتری سالمونلا

بحث

سالمونلا باکتری گرم منفی می‌باشد که قادر به ایجاد عفونت در طیف وسیعی از حیوانات ما نند انسان و حیوانات مزرعه مانند گاو، مرغ، خوک است.

سالمونلوزیس یک عفونت باکتریایی جریان خون و روده ناشی از باکتری گروه سالمونلا است و مشترک بین انسان و دام می‌باشد. سالمونلا باعث بیماری‌هایی همچون تب تیفوئید (حصبه)، گاستروانتریت و سپتی سمی می‌شود.

(۲۶) بیماری‌های ناشی از سالمونلا در سراسر دنیا مشاهده می‌شود. بسته به سروتیپ، شرایط و عوامل متعدد میزبانی، بیمارهایی با نشانه‌ها و عوارض متعدد ایجاد می‌گردد. باکتری از مدفوع انسان و یا دام دفع شده و باعث آلودگی آب، غذا و محیط می‌گردد.

بررسی آمار و اطلاعات در زمینه شیوع سالمونلوز در انسان و حیوانات در کشورهای مختلف اعداد متفاوتی را نشان می‌دهد. گزارشات ارائه شده از نقاط مختلف دنیا موید این است که آلودگی سالمونلایی در جوجه‌های بومی همه کشورها که به صورت آزاد پرورش می‌یابند، مشاهده می‌گردد. اگر چه درصد آلودگی آنها با هم بسیار متفاوت است. سالمونلا از مرغ‌های آلوده دفع می‌شود و این آلودگی می‌تواند در بستر باقی بماند و به مرور زمان حتی پرندگان دیگررا آلوده کند که در اپیدمیولوژی بیماری بسیار مهم است، همچنین مصرف تخم مرغ، گوشت مرغ و آب آلوده در انتقال عفونت‌های سالمونلایی بسیار حائز اهمیت است. (۵) افزایش شیوع سالمونلا بین انسان و حیوان مخصوصا در دهه‌های اخیر اهمیت بیماری را دو چندان می‌نماید برای جلوگیری از آلودگی سالمونلا برنامه‌های نظارتی و غربالی مورد نیاز است. در سال‌های اخیر روش‌های تشخیص مولکولی برای شناسایی و بررسی گونه‌های باکتری ها، از جمله سالمونلا ابداع گردیده است که روش PCR از آن دسته می‌باشد. این گونه روش‌ها سریع و حساس بوده، بنابراین کمک بسیار زیادی در زمینه کنترل آلودگی محسوب می‌شود. گزارش‌های متعددی در زمینه جداسازی سالمونلا از پرندگان صورت گرفته است.

در سال Bee kim lim ۲۰۰۹ و همکاران در مالزی به شناسایی سریع سالمونلا به وسیله PCR در ژن rfbjB پرداختند در نهایت مشخص شد که از ۶۷ ایزوله سالمونلا جداشده ۱۳/۷۹% دارای ژن rfbjB بودند (۱۴). در تحقیق pererat و همکاران در سال ۲۰۰۸ در کشور نیوزلنداز ژن rfbjB برای غربالگری نمونه‌های کلینیکی و تشخیص سریع باکتری سالمونلا استفاده شد.حد تشخیص این تحقیق نشان داد که حضور ژن rfbjB در ۷۲ ایزوله سالمونلا، ۶۶ درصد بود (۲۳). Harakeh و همکاران در سال ۲۰۰۵ در لبنان با مطالعه سویه‌های سالمونلا جدا شده از غذاهای آماده گوشتی نشان دادند که ۵۰% از ایزوله‌ها دارای ژن rfbjB بودند (۱۲). همچنین در تحقیقی که در سال۲۰۱۱ توسط اکبرمهر و همکاران در شهراردبیل انجام شد میزان ژن rfbjB در ۳۷ ایزوله سالمونلا ۸۹% گزارش شد (۲). در سال ۲۰۱۰ در ایران طی تحقیقی که توسط سارا میرزایی و همکاران انجام شد، نتایج PCR برروی ۴۷۰ نمونه از گنجشک‌های خانگی حاکی از وجود ژن rfbj به میزان ۱۰۰ درصد، در نمونه‌ها بود (۱۷). در سال ۲۰۱۱ در هند ژن بیماریزای سالمونلا بر روی نمونه‌های کلینیکی و محیطی بررسی شد که حضور ژن Spic, ۱۰۰-۹۵ درصد گزارش شد(۲۴). در پژوهشی که توسط Mudenda و همکاران در زامبیا در سال ۲۰۱۱، بر روی ۳۰۸ نمونه از نمونه‌های کلینیکی و ماکیان به عمل آمد، میزان حضور ژن Spic در نمونه‌های کلینیکی و ماکیان به ترتیب ۹۹و ۹۲/۵ درصد نشان داده شد (۱۸).

در سال ۲۰۱۰ در ترکیه، پروتئین‌های ایزوله‌های سالمونلا جدا شده از جوجه، بوقلمون و مدفوع گوسفند را تجزیه و تحلیل کرد. نتایج بیش از ۳۰ باند پروتئینی را در گونه‌های سالمونلا نشان داد که در سرووارهای مختلف سالمونلا تفاوت داشتند (۳). در سال ۲۰۰۸ Nowshen hamid به شناسایی پروتئین‌های غشای خارجی سالمونلا از طریق آنالیز SDS PAGE پرداخت. در این تحقیق بیش از ۱۵ پروتئین با وزن مولکولی بین ۱۵ تا ۱۰۰ کیلودالتون شناسایی شد(۱۳).

در مطالعه حاضر از ۳۰ نمونه سالمونلا جدا شده از مرغ، ژن اختصاصی Spic و rfbjB با استفاده از روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تحقیق نشان داد که تمام ایزوله‌ها ژن Spic را دارا هستند. و از این نظر با مطالعاتی که در دیگر کشورها انجام شده که این ژن در اکثر نمونه‌های مختلف

درصد بالایی را نشان داده است، همخوانی دارد. ژن rfbjB در ۵۰% از ایزوله‌های حیوانی نشان داده شده است. مواردی که در توجیه اختلاف نتایج سایرتحقیقات با نتایج بررسی حاضر میتوان بر شمرد، عبارتند از: حساسیت روشهای تشخیصی، واکسیناسیون گله‌های مادر،رعایت نکات بهداشتی در مزارع،کشتارگاه‌ها و مراکز عرضه محصولات و تفاوت درنوع نمونه‌های جمع آوری شده می‌باشد.

همچنین SDS PAGE برای پروتئین‌های Spic , rfbjB انجام گرفت. در بررسی SDS PAGE، بر روی ژل پلی اکریل آمید ۱۲% نشان داد که پروتئین ۱۳/۹۷ کیلو دالتونی (نشان‌دهنده بیان ژن Spic) و پروتئین ۳۴/۱۰ کیلو دالتونی (نشان‌دهنده بیان ژن rfbjB) در بسیاری از ایزوله‌های جمع‌آوری شده وجود دارند.

باتوجه به نقش محصولات طیور به عنوان منبع غذایی سرشار از پروتئین در سبد غذایی اقشار مختلف جامعه، آلودگی و انتقال بیماری‌های مربوطه از این طریق تهدید عمده‌ای در رابطه با سلامت جامعه به حساب می‌آید و در این میان تشخیص سریع آلودگی نقش مهمی در کنترل انتقال و گسترش بیماری دارد. سالمونلا از مرغ‌های آلوده دفع می‌شود و این آلودگی می‌تواند در بستر باقی بماند و به مرور زمان حتی پرندگان دیگررا آلوده کند که در اپیدمیولوژی بیماری بسیار مهم است، همچنین مصرف تخم مرغ، گوشت مرغ و آب آلوده در انتقال عفونت‌های سالمونلایی بسیار حائز اهمیت است. در این راستا رعا یت موازین بهداشتی، رعایت استانداردهای موجود در کشتارگاه‌ها و مراکز عرضه محصولات طیور، واکسیناسیون گله‌های مادر از اهمیت زیادی برخوردار است. این بررسی نشان دادکه PCR می‌تواند به عنوان روشی با حساسیت و سرعت و ویژگی بالاو بدون نیاز به کشت باکتری در کنترل کیفی محصولات غذایی و در جلوگیری از مسمومیت‌های غذایی ناشی از سالمونلا به کار گرفته شود.

References

1- Abbas, Abul. (2006) Basic Immunology. Elsevier. ISBN, 978-1-4160-2974-8.

2- Akbarmehr, J., Zahraei salehi, T., Nikbakhat, G. H.(2010) Identification of salmonella isolated from poultry by PCR technique and evaluation of their hsp groEL gene diversity based on the pcr – rflp analysis. journal of microbiology research , Vol 2, No 3 , 157-165.

3- Aksakal, A.(2010) Analysis of whole cell protein profiles of salmonella serovars isolated from chicken turkey and sheep faeces by SDS PAGE.Veterinary medicine,6: 251-263.

4- Calnek,B.W.,Bames,H.J.,Beard,C.W.,Reid,W.M .and Yoder,Jr.H.W. (1991) Diseases of poultry.9 th ed.Lowa stateUniversity press,pp:72,137,624,642

5- Carter,G.R.and Cole,Jr,J.R. (1990) Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology, 5thed.Academic press,New York,pp:111-127

6- Doyle, M.P., Bryan, F.L. (1995) Health risks and consequences of Salmonella and Campylobacter jejune in raw poultry. J. Food Prot. 58: 326-344.

7- Dilmaghani, M., Ahmadi, M., Zahraei- salehi, T., Talebi, A., Darvishzadeh, R. (2010) PCR-Restriction fragment length polymorphism analysis of fljB gene salmonella enteric subspecies enteric serovar typhimurium isolated from avians. Iranian journal of microbiology, Vol 2, No 4, 178- 184.

8- Gupte, S. (2006) The short text book of medical moicrobiology. Jaypee. Ninth edition.

9- Gispen, W. H., Van der Zeijst, B. A. M., Van putten, J. P. M. (2002) Virulence factores of

Identification and characterization of salmonella isolates from captured house sparrows, Turk. J. Vet. Anim. Sci.2010; 34(2): 181-186

18- Mudenda, H. B., William, U., Ames, C.L., Charles, M., Nayuta, I., Evans, M., Ladslav, M., Hiroshi, I., Emico, I. (2011) Feasibility of using dot blot hybirization to detect salmonella invA, Spic, Sipc, directly from clinical sprcimens.African journal of microbiology, 5(8): 857-860.

19- Nguyanl, Paulsen, IT., Tchieu, J., Hueck, CJ., Saier, MH. (2000) Phylogetic analysis of the constituents of typeIII protein secretion systems. Microbial biotechnol, 2(2): 125-44.

20- Patrica A. Cristina R. (2003) Incident of Salmonella from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. Int. J. Food microbial 82: 97-103.

21- Poliang , L. (2004) Molecular and epidemologyic analyse of country wide out break caused by salmonella enteric subsp enteric serovars enteritidis traced to a bakery. BMC Infection disease, 4(148): 147-2334.

22- Pui , C. F., Wong, W. C., Chi, L. C., Tunung , R., Jeyaletchumi, P., Noor Hidayah, M. S.,Ubong, A., Farinazleen, M. G., Cheah, Y. K., Son, R.(2011) Salmonella a food borne athogen. In ternational food research journal, 18: 465-473.

23- Pererat, K., Murray,A. (2008) Development of PCR assay for the identification of salmonella enteric serovar Brandenburg. Journal of medical microbiology, 57: 1223-1227.

24- Parvathi, A., Vijayan, J., Murali, G., Chandran, salmonella enteric serovar Enteritidis.

10- Gophana, U., Ron, E. Z., GRAUR, D. (2003) Bacterial type III secretion systems are ancient and by multi horizontal- transfer events. Gene 312: 151-63.

11- Gong. H., Vu, G. P., Bai, Y., Liu, F. Y., Lu, S. W.(2010) Differential expression of salmonella type III secretion factors InvJ, prgJ, SipC, SipD, SopB, SopA in cultures and in mice. Microbilogy 156: 116- 127.

12- Harakeh, S., Yassine, H., Gharios, M., Barbour, E., Hajjar, Sh., Elfedel, M., Toufeili, I., Tannous, R. (2005) Isolation , molecular characterization and antimicrobial resistance patterns of Salmonella and Escherichia coli isolates from meat based fast food in lebanon. Science of the total Environement, 34, 33-44

13- Hami, N., Jain, S.K. (2008) Charactrization of an outer membrane protein of salmonella entrica serovar typhimurium that confers protection against typhoid. Clinical and vaccine immunology, 15(9): 1461-1471

14- Kim lim, B., Lin thong, K. (2009) Application of PCR based serogrouping of selected salmonella serotype in Malaysia, J Infect Dev Ctries 2009; 3(6):420-428.

15- Luk, J, M, C., Reeves, P.R., Lindberg, A.A.(1993) Selective amplification of abequose and parayose synthese gene rfb by PCR for identification of salmonella major serogroups (A, B, C2,D). Journal of clinical microbiology, 2118-2123.

16- Murray. (2005) Medical Microbiology, 7th Edition, 252-280.

17- Mirzai, S., Hassanzade, M., Ashrafi, I.(2010)

P.(2011) Comparative virulence genotypeing and antimicrobial susceptibility profiling of environment and clinical salmonella enteric from cochian, India. Current Microbiology, vol.62(1); 21-26

25- Shotland, Y., Kramer, K., Griisman, E.A. (2003) The salmonella spic protein target the mammalian Hook3 protein function to alter cellular trafficking. Molecular microbiology ,49(6): 1565-1576.

26- Schleker, S., Sun, J., Raghavan, B., Srnce, m., Muller, N., Kopfinger, M., Murthy, L., Zhao, zh., Klein- setharaman, J. (2012) The current salmonella host interactome, Proteomics Clin Appl. Jan;6(1-2):117-33.

27- Uchiya, K.I., Nikai, T. (2008) Salmonella virulence factor spic is involved in expression of flagellin protein and mediates activation of the signal transduction pathways in macrophages microbiology. Microbiology. Nov;154: 3491-3502.

28- White D.G.Zhao Sh. (2004) The isolation of Antibiotics resistance Salmonella from retail ground meats.U.K.N. Engl.J.Med.26: 1147-54.

29- Xiang, S., Haase, A, M., Reeves, P.R. (1993) Varition of the rfb gene clusters in salmonella enterica. Journal of bacteriology,487-4884.

30- Zahri salehi, T.(1999) Salmonella. Tehran university publication.