## بررسی مقایسه ای روش های کشت باکتریایی در جداسازی سالمونلا از نمونه های مدفوعی گله های طیور

ریما مرشد

استادیار گروه کشاورزی، منابع طبیعی و دامپزشکی بنیاد دانشنامه نگاری ایران، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

پست الکترونیکی نویسنده مسؤول: **morshed@iecf.ir**

**مقدمه و هدف:** انجام آزمایشات باکتریولوژیک بر روی نمونه های مدفوعی جمع آوری شده از گله های طیور تجاری به منظور ارزیابی تاثیر روش های مختلف کشت باکتریایی در جداسازی و شناسایی باکتری سالمونلا

**مواد و روش کار:** سه سری آزمایش جهت مقایسه جداسازی سالمونلا از نمونه های مدفوعی در محیط های غنی کننده و انتخابی مختلف با شرایط متفاوت صورت گرفت. در آزمایش اول دو روش متداول کشت در آزمایشگاه های دامپزشکی ایران مورد بررسی قرار گرفت ( روش اول: ۱۰ گرم مدفوع در ۱۰۰ سی سی محیط غنی کننده آبگوشت تتراتیونات(TT) و سپس کشت بر روی محیط های انتخابی جامد بریلیانت گرین آگار (BG)و گزیلوز- لیزین- دزوکسی کولات آگار (XLD)؛ روش دوم: ۱ گرم مدفوع در ۱۰ سی سی محیط غنی کننده آبگوشت سلنیت سیستئین (SC) و سپس کشت بر روی محیط های انتخابی جامد سالمونلا-شیگلا آگار (SS) و مک کانکی آگار(MC)). در آزمایش دوم اثر درجه حرارت غنی سازی (۳۷ و ۴۲ درجه سانتیگراد) در محیط سلنیت سیستئین و در آزمایش سوم اثر غنی سازی ثانویه تاخیری (۴روز) بر میزان جداسازی سالمونلا از نمونه های مدفوعی طیور ارزیابی شد. در هر آزمایش نمونه های کنترل مثبت و منفی نیز لحاظ می شد.

**نتایج و بحث:** در این آزمایشات در مجموع ۶۳ جدایه سالمونلا شناسایی شد. از این تعداد، تمامی۶۳ نمونه (۱۰۰٪ ) با روش دوم و ۲۷ نمونه (۴۲/۸۵٪) با روش اول مثبت شدند. بنابراین بالاترین میزان جداسازی مربوط به محیط غنی کننده آبگوشت سلنیت سیستئین (SC) و محیط های انتخابی جامد سالمونلا-شیگلا آگار (SS) و مک کانکی آگار(MC) بوده است. شاید بتوان دلیل میزان پایین جداسازی در روش اول را در عدم دسترسی ما به آنتی بیوتیک نووبیوسین و فقدان آن در محیط غنی کننده تتراتیونات جستجو کرد. رشد سالمونلاها در محیط سلنیت سیستئین در درجه حرارت ۴۲ درجه بیشتر از ۳۷ درجه بود. غنی سازی ثانویه تاخیری بعد از ۴ روز نیز سبب افزایش جداسازی سالمونلا از نمونه هایی گردید که کشت آنها پس از غنی سازی اولیه منفی شده بود. این نتایج بیانگر اهمیت روش کشت باکتریایی مورداستفاده، در تفسیر نتایج مطالعات اپیدمیولوژی حاصل از کشت های مدفوعی این باکتری در گله های طیور است.

**واژه های کلیدی:** سالمونلا، طیور، مدفوع، غنی سازی، جداسازی

---

## راه اندازی روش اختصاصی و حساس Real-Time PCR به منظور تشخیص گونه های بروسلا

مومنه دل بیشه[1*]،علی ناظمی[2]،مصطفی جعفرپور[3]

۱_دانشجو کارشناسی ارشد،گروه بیولوژی ،دانشگاه آزاداسلامی واحدتنکابن ۲_استادیار،گروه بیولوژی،دانشگاه آزاداسلامی واحد تنکابن ۳_استادیار،گروه بیولوژی،دانشگاه آزاد اسلامی ،واحد تنکابن

پست الکترونیکی نویسنده مسؤول: **m.delbisheh_s@yahoo.com**

**مقدمه و هدف:** بروسلوز یک بیماری مشترک بین انسان و دام ویک مشکل بهداشت عمومی در سراسر جهان می باشد.بروسلوز باعث سقط جنین ،اختلالات باروری ،عفونت های تناسلی،کاهش شیر،اورتریت و اپیدیدیمیت در میزبان اصلی می شود و از این جهت باعث عوارض مزمن و تحمیل هزینه های درمانی فراوان به بیماران و ضررهای اقتصادی زیاد به دامداران می گردد.این بیماری،در تمام نقاط ایران پراکنده است و ایران یکی ازمناطق آندمیک آلودگی به تب مالت است. شناسایی صحیح و سریع عامل بیماری یکی ازعوامل مهم جهت کنترل و پیشگیری بیماری می باشد.با وجود پیشرفت هایی که در تکنیک های کشت خون و تست های سرولوژیکی که برای کشف آنتی بادی های اختصاصی به دست امد،هنوز مشکلات مهمی در تشخیص بروسلوزیس وجود دارد بنابراین نیاز به ازمون های جدید آزمایشگاهی می باشد.یکی از جدیدترین روش های سنجش کمی که در حال حاضرمورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته همین روش ها ی تشخیص محصول PCR در زمان واقعی(Real Time) است.هدف ما هم از این مطالعه بهینه سازی شناسایی باکتریهای جنس بروسلا در نمونه های مشکوک از نظر سرولوژیکی بوسیله روش Taqman Real-Time PCR می باشد.

**مواد و روش ها:** ۴۵ نمونه مثبت (خون گوسفند) از نظر تستهای سرولوژیکی از چندین شهرستان در استان مازندران در طی ۳ ماه تهیه گردید.پس از استخراج DNA نمونه ها با استفاده ازکیت MBST،واکنش Real-Time PCR TaqManبراساس ژن bcsp۳۱ و با استفاده از دستگاه Corbett ۶۰۰۰ روی نمونه ها انجام گرفت.

**نتایج و بحث:** از ۴۵ نمونه مشکوک تنها ۲۰ نمونه از نظر حضور باکتریهای جنس بروسلا با استفاده از روشReal-Time PCR TaqMan مثبت بودند. تشخیص بروسلوز بواسطه شباهت علائم بالینی آن با بسیاری از بیماری ها و عدم وجود روش های صحیح تشخیصی اغلب دشوار است.یکی ازروشهای دقیق که میتواند مقادیر جزئی باکتری را شناسایی نماید،روشهایReal-Time PCR TaqMan می باشد که در آن علاوه بر یک جفت پرایمراختصاصی،یک پروب اختصاصی نشاندار شده با ماده فلورسنت اختصاصیت روش را به بالاترین میزان خود رسانده است. همچنین به دلیل حذف Post-PCR در تکنیک Real-Time PCR امکان وقوع Carry over و پاسخ مثبت کاذب نیز منتفی می گردد. مطالعه ما نشان می دهد که بخش زیادی از نمونه های مشکوک به بروسلوزیس در حقیقت فاقد عفونت با جنس بروسلاهستند.

**واژه های کلیدی** : بروسلوزیس،Real-Time PCR،استان مازندران