مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۸، دوره ۶۴، شماره ۲، ۱۱۳-۱۰۹

جستجوی سرولوژیکی عفونت به سالمونلا انتریتیدیس در گله‌های طیور صنعتی ایران

رامین اکبریان سید مصطفی پیغمبری* عباس برین

گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۲۳ اردیبهشت ماه ۱۳۸۷، پذیرش نهایی: ۲۲ آبان ماه ۱۳۸۷)

چکیده

سالمونلا انتریتیدیس هم اکنون سروتیپ غالب در بین سالمونلاهای جداشده از انسان و طیور می‌باشد. گوشت و تخم مرغ دو منبع مهم عفونت سالمونلا انتریتیدیس برای انسان هستند. این مطالعه برای ردیابی آلودگی گله‌های صنعتی طیور به سالمونلا انتریتیدیس با استفاده از روش‌های سرولوژیک انجام پذیرفت. تعداد ۸۲۰۸ نمونه‌سرمی از ۱۷۱ گله طیور صنتعتی کشور (پولت، تخمگذار تجاری، مادرگوشتی، مادر تخمگذار، گوشتی، اجدادگوشتی) تهیه‌شدند و با استفاده ازآزمایش آگلوتیناسیون روی لام و الیزا مورد مطالعه قرارگرفتند. کلیه نمونه‌ها درآزمایش آگلوتیناسیون منفی بودند ولی حدود ۴۵ درصد از کل نمونه‌ها (مربوط به ۱۱۲ گله)، درآزمایش الیزا جضورآنتی بادی علیه سالمونلا انتریتیدیس را نشان دادند. البته تیترهای آنتی بادی جستجوشده توسط الیزا در این مطالعه بین ۰/۵۹۰ - ۰/۴۷۶ بود که درسطح پائینی است و نشان از ارزش الیزا در مقابل آزمایش آگلوتیناسیون را دارد. مثبت بودن حدود ۴۵ درصد نمونه‌ها نشان ازآلودگی گله‌های طیور حداقل در یک مقطع از دوره پرورش گله به سالمونلا انتریتیدیس می‌باشد. نتایج این مطالعه که برای اولین بار به این گستردگی در ایران انجام‌گرفته است برای تعیین میزان درگیری طیور صنعتی کشور با سالمونلا انتریتیدیس و برنامه ریزی برای کنترل آن می‌تواند حائز اهمیت باشد.

واژه‌های کلیدی: سالمونلا انتریتیدیس، طیور، الیزا، آگلوتیناسیون، سریع روی لام، ایران.

مقدمه

سالمونلا انتریتیدیس هم اکنون سروتیپ غالب در بین سالمونلاهای جدا شده از انسان و طیور می‌باشد و گوشت و تخم مرغ نیز دو منبع مهم عفونت سالمونلا انتریتیدیس برای انسان به شمار می‌روند (۴،۵). تشخیص فراوانی عفونت سالمونلا انتریتیدیس در گله‌های صنعتی طیور معمولا با روش‌های باکتریولوژیک یا سرولوژیک انجام می‌پذیرد(۴،۱۸). آزمایش‌های باکتریولوژیک برای جستجوی عفونت‌های گله از نقطه نظر عملی زمان بر، پر زحمت و گران است بویژه وقتی شمار قابل توجهی نمونه مدفوعی که از نظر آماری ارزشمند باشد باید برای تائید قطعی عاری بودن گله از سالمونلا انتریتیدیس مورد آزمایش قرار گیرند. آزمایش‌های باکتریولوژیک ممکن است منجر به نتایج کاذب منفی شود زیرا ممکن است بدلیل حضور سایر سروتیپ‌های سالمونلا در گله، سالمونلا انتریتیدیس به راحتی قابل ردیابی نباشد. همچنین بدلیل آنکه سالمونلا انتریتیدیس می‌تواند حالت ناقل مزمن را القاء کند شناسایی پرندگان آلوده مشکل است، در حالی‌که پرندگان به ظاهر سالم بطور متناوب سالمونلا انتریتیدیس را دفع می‌کنند(۱،۳،۱۳). با توجه به این مشکلات، بسیاری از محققان آزمایش‌های سرولوژیک را ابزاری مناسب به عنوان یک تکنیک غربالگری برای جستجوی عفونت سالمونلا انتریتیدیس در طیور می‌دانند. تکنیک‌های متعددی برای شناسایی سرولوژیک گله‌های آلوده تا کنون مورد استفاده قرار گرفته‌اند که شامل آزمایش‌های آگلوتیناسیون و آزمایش‌های الیزا با آنتی ژن‌های مختلف سالمونلا انتریتیدیس می‌باشد. بعضی محققان معتقدند الیزا حساس‌تر از آزمایش آگلوتیناسیون سریع روی لام یا آگلوتیناسیون لوله‌ای می‌باشد و عفونت‌هایی را ردیابی می‌کند که آزمایش‌های آگلوتیناسیون قادر به تشخیص آنها نیستند، گرچه بعضی پژوهشگران آزمایش آگلوتیناسیون سریع روی لام را کافی می‌دانند (۱،۱۱،۱۵).

در تحقیق جاری، با توجه به اینکه در طی سالیان گذشته اطلاعات و آمار جامعی در رابطه با میزان درگیری گله‌های طیور صنعتی کشور با باکتری‌های خانواده سالمونلا وجود نداشته است، سعی بر آن گردید که از تعداد زیادی گله‌های صنعتی طیور کشور نمونه‌برداری سرمی به عمل آید و سپس با دو آزمایش سرولوژیکی آگلوتیناسیون سریع روی لام (RSA) و الیزا درصد سرم‌هایی را که دارای آنتی بادی علیه سالمونلا انتریتیدیس می‌باشند را تعیین نمود.

مواد و روش کار

نمونه برداری: طی هماهنگی‌های به عمل آمده با سازمان دامپزشکی کشور و ادارات کل دامپزشکی استان‌های کشور، با مراجعات مکرر به مزارع مختلف پرورش طیور صنعتی در مجموع از ۱۷۱ گله طیور صنعتی شامل ۹۰ گله مرغ تخمگذار تجاری، ۴۹ گله مرغ مادر گوشتی، ۱۸ گله پرورش پولت، ۱۲ گله مرغ گوشتی، یک گله مرغ مادر تخمگذار و یک گله مرغ اجداد گوشتی در سطح چند استان به شکل کاملاً تصادفی، اقدام به نمونه‌برداری و اخذ نمونه‌های خون از طیور گردید. از هر گله مورد مطالعه بین ۳۰-۱۵ و بعضا بیشتر نمونه برداری شد. در مجموع از ۱۷۱ گله مورد مطالعه تعداد ۸۲۰۸ نمونه اخذ شد. نمونه‌ها پس از لخته شدن کامل خون سریعا به آزمایشگاه ارسال و سرم‌ها جدا شدند. ابتدا مقداری از هر سرم برای انجام آزمایش آگلوتیناسیون سریع روی لام (RSA, Rapid Slide Agglutination) کنار گذاشته شد و سپس هر ۶ نمونه سرم مربوط به هر گله با همدیگر مخلوط شدند و ۱۳۶۸ نمونه حاصل شد که در میکروتیوب‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۶۱۱۱۷۱۵۰ -۰۲۱، نمابر: ۶۶۹۳۳۲۲۲ -۰۲۱ Email:mpeigham@ut.ac.ir

نگهداری شدند تا برای آزمایش الیزا مورد استفاده قرار گیرند. همه میکروتیوب‌ها حاوی برچسب محرمانه مربوط به مشخصات گله‌های نمونه برداری شده بودند (۱۹).

آزمایش آگلوتیناسیون روی لام (RSA). آزمایش تشخیص حصور آنتی‌بادی علیه سالمونلا انتریتیدیس با استفاده از آنتی ژن‌های سالمونلا پولوروم (اینتروت، هلند) به روش آگلوتیناسیون سریع روی لام با توجه به روش‌های استاندارد بر روی صفحات شیشه‌ای گوده دار ۱۲ خانه‌ای انجام شد (۱۸).

آزمایش الیزا: برای انجام این آزمایش کیت تجاری شرکت IDEXX (ایالات متحده آمریکا) که برای تعیین تیتر آنتی بادی علیه Flagellin gm سالمونلا انتریتیدیس (۱۵) طراحی شده است مورد استفاده قرار گرفت و نتایج در دستگاه الیزاریدر Anthos 2020 (اتریش) قرائت شد. این کیت دارای پلیت‌های حاوی گوده‌های میکرو لیتری می‌باشد که ته این گوده‌ها با آنتی‌ژن خالص شده SE پوشانیده شده است. در جریان انکوباسیون اول، آنتی‌بادی علیه SE موجود در سرم با آنتی ژن‌های ثابت شده در گوده‌ها واکنش می‌نمایند. پس از مرحله شستشو، یک کونژوگه آنزیم – آنتی بادی منوکلونال ضد SE به گوده اضافه می‌شود. اگر آنتی بادی‌های علیه SE در نمونه سرمی اولیه موجود نبوده باشد، کونژوگه ضد SE می‌تواند با آنتی ژن SE ته گوده واکنش انجام دهد. در حالت عکس، اگر در نمونه سرمی اولیه آنتی بادی علیه SE موجود باشد، این کونژوگه را بلوکه می‌نماید که نتیجه آن عدم انجام واکنش کونژوگه با آنتی‌ژن علیه SE می‌باشد. متعاقب این مرحله انکوباسیون، کونژوگه‌ای که واکنش انجام نداده است، با استفاده از مرحله شستشو دفع می‌شود و سپس محلول سوبسترای رنگ زا اضافه می‌گردد. در صورت حضور آنزیم (یعنی کونژوگه دفع نشده)، سوبسترا به محصولی تبدیل می‌شود که نهایتاً به تولید یک رنگ آبی منتهی می‌شود که با طول موج ۵۶۰ نانومتر در دستگاه الیزاریدر اندازه‌گیری می‌شود. حضور آنتی‌بادی‌های علیه SE معین کننده آلودگی قیلی گله‌ها با SE از طریق آلودگی طبیعی و یا واکسیناسیون می‌باشد. کلیه مراحل آماده سازی مواد و انجام آزمایش دقیقا بر اساس توصیه کارخانه سازنده انجام گرفت. برای اینکه نتایج قابل اطمینان باشند، بایستی دانسیته نوری کنترل منفی، بیشتر و یا معادل ۰/۸ و کنترل‌های مثبت کمتر و یا معادل ۰/۵ باشند. در غیر این صورت بایستی تکنیک آزمایش بازبینی شده و آزمایش تکرار شود. حضور و یا عدم حضور آنتی‌بادی علیه SE بر اساس نسبت دانسیته نمونه‌ها به کنترل منفی (S/N) برای هر نمونه سرمی قابل ارزیابی خواهد بود. در این کیت نسبت S/N اگر بیشتر و یا معادل ۰/۷۵ باشد به عنوان نمونه‌های منفی و اگر بین ۰/۷۴ و ۰/۶ باشد، نمونه‌ها بایستی مجدداً آزمایش شوند و اگر کمتر و یا معادل ۰/۵۹ باشند، به عنوان نمونه‌های مثبت ارزیابی شده و بایستی با روش‌های میکروب شناسی تایید شوند.

نتایج

آزمایش RSA در کلیه موارد منفی بود. اما آزمایش الیزا نتایج متنوعی را نشان داد. در مجموع از ۱۷۱ گله نمونه برداری شده، ۱۱۲ گله (۶۵/۵درصد) واکنش سرمی مثبت در آزمایش الیزا نشان دادند و کل نمونه‌های اخذ شده از ۵۹ گله (۳۴/۵درصد) دارای واکنش منفی یا مشکوک بودند (جدول ۱). براساس محاسبات انجام شده از مجموع ۱۳۶۸ نمونه آزمایش شده (هر نمونه مخلوطی از ۶ نمونه بوده است یعنی تعداد کل نمونه‌ها ۸۲۰۸ نمونه بوده است)، تعداد ۶۲۶ نمونه (۴۵/۷۶درصد) دارای میزان S/N کمتر از ۰/۵۹۰ یعنی مثبت بوده‌اند. تعداد ۹۵ نمونه (۶/۹۴درصد) دارای میزان S/N برابر یا بیش از ۰/۷۵ یعنی منفی بودند و تعداد ۶۴۷ نمونه (۴۷/۳۰درصد) نیز دارای میزان S/N بین ۰/۷۴ - ۰/۶ یعنی مشکوک بودند. که البته موارد مشکوک به دلیل کمبود منابع مالی مجددا آزمایش نشدند (جدول ۲).

بحث

با توجه به اهمیت عفونت سالمونلا انتریتیدیس در انسان و طیور، تشخیص فراوانی عفونت سالمونلا انتریتیدیس در گله‌های صنعتی طیور حائز اهمیت فراوان است که معمولا با روش‌های باکتریولوژیک یا سرولوژیک انجام می‌پذیرد (۴). با توجه به مشکلات روش باکتریولوژیک، بسیاری از محققان آزمایش‌های سرولوژیک را در صورت کارا بودن به عنوان یک روش غربالگری بسیار مناسب ارجح می‌دانند (۱). با توجه به اینکه عفونت با سالمونلاها از راه دهان معمولا منجر به تولید آنتی‌بادی سرمی، عمدتا IgG، می‌شود، روش‌های سرولوژیک را می‌توان برای جستجوی عفونت به سالمونلا انتریتیدیس مورد استفاده قرار داد (۱). از مزایای روش سرولوژیک بر باکتریولوژیک این است که در حالی‌که باکتری سالمونلا از پرندگان بطور متناوب دفع می‌شود غلظت‌های IgG سرمی ثابت هستند. که این مسئله مشکل لجستیکی نمونه‌گیری از تعداد زیادی از پرندگان برای یافتن سطح پایینی از عفونت را کاهش می‌دهد. یکی دیگر از ارزش‌های روش‌های سرولوژیک آن است که در بسیاری از برنامه‌های کنترلی پاتوژن‌های میکروبی توسعه آزمایش‌های غربالگری سرولوژیک برای تفریق حالت واکسینه شده از حالت شکست در واکسیناسیون و عفونت طبیعی از اولویت‌ها می‌باشد. استفاده از واکسن‌ها در کنترل عفونت‌های سالمونلایی بتدریج رو به افزایش است اما آزمایش‌های رایج نمی‌توانند پاسخ آنتی‌بادی ناشی از واکسن و عفونت طبیعی را از هم تمایز دهند، که البته این مورد نیاز به مطالعات بیشتری دارد (۱۴). یکی از معایب برجسته روش سرولوژیک این است که بلافاصله بعد از عفونت سطح آنتی‌بادی سرمی پایین است (گرچه رو به افزایش است) در حالی‌که دفع باکتری در حالت ماکزیمم خود است.

تاکنون تکنیک‌های متعددی برای شناسایی سرولوژیک گله‌های آلوده مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این تکنیک‌ها شامل آزمایش‌های آگلوتیناسیون و آزمایش‌های الیزا با آنتی‌ژن‌های مختلف سالمونلا انتریتیدیس مانند لیپوپلی ساکارید، آنتی ژن فیمبریه‌ای SEF14، فلاژلین، پروتئین‌های لایه خارجی و عصاره‌های خام (حاصل شده از گرمادهی باکتری) می‌باشد (۳،۶،۷،۹،۱۱،۱۲،۱۴،۱۵،۱۷). گرچه سهولت انجام آزمایش

جدول۱- تعداد گله نمونه برداری شده، تعداد گله های مثبت، منفی و مشکوک در آزمایش الیزا برای جستجوی حضور آنتی بادی علیه آنتی ژن فلاژلین سالمونلا انتریتیدیس.

نوع گله	تعداد گله نمونه برداری شده	تعداد گله های مثبت (درصد)	تعداد گله های منفی و مشکوک (درصد)
پولت و تخمگذار تجاری	۱۰۸	(۵۶/۴۸)۶۱	(۴۳/۵۲)۴۷
مادر گوشتی	۴۹	(۸۵/۷۱)۴۲	(۱۴/۲۹)۷
مادر تخمگذار	۱	(۱۰۰)۱	(۰)۰
گوشتی	۱۲	(۵۸/۳۳)۷	(۴۱/۶۶)۵
اجداد گوشتی	۱	(۱۰۰)۱	(۰)۰
جمع	۱۷۱	(۶۵/۵)۱۱۲	(۳۴/۵)۵۹

جدول۲- نتایج آزمایش الیزا برای جستجوی حضور آنتی بادی علیه آنتی ژن فلاژلین سالمونلا انتریتیدیس بر روی مجموع نمونه های سرمی جمع آوری شده از گله های طیور.

نوع گله	تعداد کل نمونه	تعداد موارد مثبت (درصد)	تعداد موارد منفی و مشکوک (درصد)
پولت و تخمگذار تجاری	۷۹۶	(۳۶/۶۸)۲۹۲	(۶۳/۳۲)۵۰۴
مادر گوشتی	۴۳۸	(۶۴/۳۸)۲۸۲	(۳۵/۶۲)۱۵۶
مادر تخمگذار	۴	(۷۵)۳	(۲۵)۱
گوشتی	۱۰۱	(۲۴/۷۵)۲۵	(۷۵/۲۵)۷۶
اجداد گوشتی	۲۹	(۸۲/۷۶)۲۴	(۱۷/۲۴)۵
جمع	۱۳۶۸	(۴۵/۷۶)۶۲۶	(۵۴/۲۴)۷۴۲

سنتی پولوروم و کفایت ثابت شده آن در ریشه کنی سالمونلا پولوروم و سالمونلا گالیناروم باعث شده است که بسیاری تمایل به استفاده از آن برای کنترل عفونت ناشی از سالمونلا انتریتیدیس داشته باشند. اما فقدان حساسیت آن عیب مهمی برای مطالعه پاسخ ایمنی به سالمونلا انتریتیدیس می باشد. علاوه بر این، عدم ویژگی آن ضرورت داشتن آزمایشی ارزشمند را برای تفریق بین آنتی بادی ها حاصله به سالمونلا انتریتیدیس و سایر سالمونلاها که همه یا تعدادی از آنتی ژن های O سوماتیک آنها مشابه هستند، تاکید می کند. بسیاری از محققان معتقدند که الیزا حساس تر از آزمایش RSA یا آگلوتیناسیون در داخل لوله (Tube agglutination) می باشد و عفونت هایی را ردیابی می کند که آنها قادر به تشخیص آنها نیستند، گرچه بعضی پژوهشگران آزمایش RSA را کافی می دانند (۸،۱۱). در ضمن بر خلاف آزمایش RSA، در الیزا وضعیت سرم نسبتا بی اهمیت است (۱۸).

تیتر آنتی بادی الیزا می تواند تا حداقل یکسال پس از آن که دفع قابل ردیابی سالمونلا انتریتیدیس متوقف شده است دوام داشته باشد(۱۱). حضور آنتی بادی همیشه به معنی عفونت فعال در یک پرنده بطور انفرادی نیست اما خاطرنشان می سازد که پرندگان آلوده شده اند و ممکن است بطور متناوب باکتری دفع نمایند. همچنین سایر پرندگان گله ممکن است درگیر عفونت فعال باشند. مروری بر مطالعات گوناگون انجام شده توسط پژوهشگران انگلیسی در گله های طیور (۱) نشان داده است که قدرت ردیابی آنتی بادی علیه سالمونلا انتریتیدیس با آزمایش الیزا در نمونه های سرمی حدود دوبرابر و بعضا بیشتر در مقایسه با آزمایش RSA بوده است. در مطالعه ای بر روی نمونه های سرمی جمع آوری شده از یک گله تجاری، آزمایش الیزا با کل سلول (Whole cell) حرارت دیده باکتری به عنوان آنتی ژن در ۱۰۰ درصد نمونه ها و با LPS به عنوان آنتی ژن در ۶۰ درصد نمونه ها توانست آنتی بادی را ردیابی بنماید (۱۱). در حالی که آزمایش RSA با خون و با استفاده از آنتی ژن پولوروم فقط قادر بود در ۲۵ درصد نمونه ها آنتی بادی را جستجو کند.

در سیستم الیزا اگر از LPS به عنوان آنتی ژن جستجو کننده استفاده شود درجات مختلفی از واکنش های متقاطع در نمونه های سرمی نسبت به سروتیپ های مختلف سالمونلا مشاهده می شود(۶،۸،۱۱،۱۴). برای پیشگیری از مشکل تفریق سروتیپ های مختلف سالمونلا که دارای LPS ایجاد کننده واکنش های متقاطع می باشند از آنتی ژن های فلاژلین استفاده شده است. سیستم الیزا با استفاده از آنتی ژن های فلاژلین gm برای جستجوی آنتی بادی علیه سالمونلا انتریتیدیس طراحی شده است و مورد استفاده قرار گرفته است(۸،۱۵،۱۷). البته مشکل بروز واکنش متقاطع در خصوص سروتیپ هایی که دارای آنتی ژن های فلاژلین مشابه هستند نیز وجود دارد. بنابراین امکان دارد که سایر سروتیپ های سالمونلا که دارای اپی توپ های مشترک فلاژلین gm با سالمونلا انتریتیدیس می باشند، بطور بالقوه قادر به ایجاد نتایج مثبت در این ازمایش گردند. اما اپی توپ های آنتی ژن های فلاژلین gm فقط بر روی تعداد قلیلی سروتیپ های سالمونلا طیور مانند آگونا، دربی، منستون، کینگستون، و مونته ویدئو یافت می شوند که معمولا فقط عفونت های موضعی روده ای را باعث می شوند و غیر محتمل است که آنتی بادی سرمی را تحریک کنند. البته با این وجود نتایج مثبت غربالگری سرمی بایستی همیشه با روش های استاندارد باکتریولوژیکی مورد تایید قرار گیرند. بعضی محققان گزارش کرده اند که دوام IgG اختصاصی فلاژلین مانند IgG اختصاصی LPS نیست و مقادیر قابل ردیابی آنتی بادی ظرف مدت ۴ ماه ناپدید می شود و تیترها قبل از IgG اختصاصی LPS به نقطه پیک خود می رسند. از جنبه های ارزشمند استفاده از آنتی ژن های فلاژلین در الیزا، ارزش آن در تفریق بین سروتیپ های دارای فلاژلین (متحرک) و فاقد فلاژلین (غیر متحرک)، بویژه تفریق سالمونلا انتریتیدیس از سالمونلا پولوروم و سالمونلا گالیناروم می باشد(۱،۸،۱۵،۱۷). در مطالعه ای بر روی سرم های اخذ شده از عفونت طبیعی و تجربی، الیزا با آنتی ژن فلاژلین از آزمایش RSA با آنتی ژن پولوروم حساس تر بود. بسیاری از نمونه ها که در آزمایش پولوروم واکنش مثبت ضعیف داشتند در الیزا با آنتی ژن فلاژلین واکنش مثبت بسیار قوی داشتند که حاکی از آن است که پاسخ آنتی بادی به آنتی ژن های H و O از هم مستقل می باشند(۸،۱۵).

گزارش ها در مورد تاثیر آنتی بیوتیک تراپی بر سطح تیتر آنتی بادی به سالمونلا متفاوت است. بعضی پژوهشگران تقش انروفلوکساسین را در

منفی شدن آزمایش سرمی و یا کاهش تیتر آنتی بادی پرندگان گله به سالمونلا انتریتیدیس نشان داده اند(۱۶).

در بررسی های انجام شده با الیزا طیف متنوعی از تیتر آنتی بادی در نمونه های سرمی یا زرده تخم مرغ دیده شده است(۲،۱۰،۱۵). در مطالعه ای بر روی نمونه های سرمی ۳۳ نوع گله متفاوت، همبستگی خوبی بین تعداد نمونه های سرمی با تیتر بالا (LPS-ELISA) و نتایج کشت میکروبی از گله وجود داشت. محققان تاکید دارند که الیزا باید به عنوان آزمایش گله در نظر گرفته شود و اگر در فواصل مشخص انجام شود محتملا به همان حساسیت کشت باکتریولوژیک خواهد بود.

در تحقیق جاری، میزان درگیری گله های طیور صنعتی کشور با سالمونلا انتریتیدیس مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش های RSA نشان داد که ارزشی در این خصوص ندارد و نتوانست آنتی بادی علیه سالمونلا انتریتیدیس را ردیابی کند. البته تیترهای آنتی بادی جستجوشده توسط الیزا در این مطالعه بین ۰/۵۹۰- ۰/۴۷۶ بود که در سطح پایینی است و نشان از ارزش الیزا در مقابل آزمایش آگلوتیناسیون را دارد. حدود ۴۵ درصد نمونه های سرمی جمع آوری شده مثبت بودند که نشان از آلودگی گله های طیور حداقل در یک مقطع از دوره پرورش گله به سالمونلا انتریتیدیس می باشد. درصد بالای آلودگی در گله های مادر نیز جالب توجه است. در خصوص گله های اجداد باید نمونه برداری های بیشتر و با برنامه ای صورت بگیرد تا وضعیت آنها مشخص شود.

با توجه به اینکه امروزه سیاست های بین المللی در جهت کنترل و کاهش شیوع سالمونلاها در طیور و سایر حیوانات خانگی به منظور کاهش شیوع عفونت های غذایی در انسان تبیین شده است. بخش مهمی از این سیاست های کنترلی نیازمند روش های سریع، اختصاصی و ارزان برای تشخیص سالمونلا و بخصوص سالمونلا انتریتیدیس و همچنین به کارگیری روش های موثرتر برای کاهش عفونت توسط سالمونلا در حیوانات اهلی می باشد. لذا استفاده از تکنیک هایی مانند الیزا به دلیل سهولت انجام، هزینه پایین، حساسیت و اختصاصی بودن، برای تعیین میزان درگیری طیور صنعتی کشور با سالمونلا انتریتیدیس و برنامه ریزی برای کنترل آن می تواند حائز اهمیت باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با استفاده از اعتبارات طرح مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه تهران به شماره ۷۵۰۸۰۰۷/۶/۳ و کمک های سازمان دامپزشکی کشور انجام گرفته است.

References

1. Barrow, P. A. (1994) Serological diagnosis of *Salmonella* serotype Enteritidis infections in poultry by ELISA and other tests. Int. J. Food Microbiol. 21: 55-68.
2. Dadrast, H., Hesketh, R., Taylor, D.J. (1990) Egg yolk antibody detection in identification of Salmonella infected poultry. Vet. Rec. 126: 219.
3. Feld, N.C., Ekeroth, L., Gradel, K.O., Kabell, S., Madsen, M. (2000) Evaluation of a serological Salmonella mix-ELISA for poultry used in a national surveillance program. Epidemiol. Infect. 125: 263-268.
4. Gast, R. K. (2003) Paratyphoid infection. In Diseases of Poultry. Edited by WM Saif, HJ Barnes, JR Glisson, AM Fadly, LR McDougald, DE Swayne. (11th ed.) Iowa State Press, Iowa, USA. pp. 583-613.
5. Guard-Petter, J. (2001) The chicken, the egg and *Salmonella* Enteritidis. Environ. Microbiol. 3: 421-430.
6. Jouy, E., Proux, K., Humbert, F., Rose, V., Lalande, F., Houdayer, C., Picault, J.P., Salvat, G. (2005) Evaluation of a French ELISA for the detection of *Salmonella* Enteritidis and *salmonella typhimurium* in flocks of laying and breeding hens. Prev. Vet. Med. 71: 91-103.
7. Kim, C.J., Nagaraja, K.V., Pomeroy, B.S. (1991) Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Salmonella* Enteritidis infection in chickens. Am. J. Vet. Res. 52: 1069-1074.
8. McDonough, P.L., Jacobson R.H., Timoney J.F., Mutalib, A., Kradel, D.C., Chang, Y.F., Shin, S.J., Lein, D.H., Trock, S., Wheeler, K. (1998) Interpretations of antibody responses to *Salmonella enterica* serotype Enteritidis gm flagellin in poultry flocks are enhanced by a kinetics-based enzyme-linked immunosorbent assay. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 5: 550-555.
9. Meenakshi, M., Bakshi, C.S., Butchaiah, G., Bansal, M. P., Siddiqui, M. Z., Singh, V.P. (1999) Adjuvanted outer membrane protein vaccine protects poultry against infection with *Salmonella* Enteritidis. Vet. Res. Commun. 23: 81-90.
10. Nicholas, R. A., Andrews, S. J. (1991) Detection of

antibody to *Salmonella* Enteritidis and *S.* Typhimurium in the yolk of hens' eggs. Vet. Rec. 128: 98-100.

11. Nicholas, R. A., Cullen, G. A. (1991) Development and application of an ELISA for detecting antibodies to *Salmonella* Enteritidis in chicken flocks. Vet. Rec. 128: 74-76.
12. Rajashekara, G., Munir, S., Lamichhane, C.M., Back, A., Kapur, V., Halvorson, D.A., Nagaraja, K.V. (1998) Application of recombinant fimbrial protein for the specific detection of *Salmonella* Enteritidis infection in poultry. Diag. Microbiol. Infect. Dis. 32: 147-157.
13. Skov, M. N., Feld, N.C., Carstensen, B., Madsen, M. (2002) The serologic response to *Salmonella Enteritidis* and *salmonella typhimurium* in experimentally infected chickens, followed by an indirect lipopolysaccharide enzyme-linked immunosorbent assay and bacteriologic examinations through a one-year period. Avian Dis. 46: 265-273.
14. Solano, C., Galindo, J., Sesma, B., Alvarez, M., Solsona, M. J., Gamazo, C. (2000) Enzyme-linked immunosorbent assay with a *Salmonella* Enteritidis antigen for differentiating infected from vaccinated Poultry. Vet. Res. 31: 491-497.
15. Timoney, J.F., Sikora, N., Shivaprasad, H. L., Opitz, M. (1990) Detection of antibody to *Salmonella* Enteritidis by a gm flagellin-based ELISA. Vet. Rec. 127: 168-169.
16. Tokarzewski, S. (2002) Influence of enrofloxacin and chloramphenicol on the level of IgY in serum and egg yolk after immunostimulation of hens with *Salmonella* Enteritidis antigens. Pol. J. Vet. Sci. 5: 151-158.
17. Van Zijderveld, F.G., van Zijderveld-van Bemmel, A. M., Anakotta, J. (1992) Comparison of four different enzyme-linked immunosorbent assays for serological diagnosis of *Salmonella* Enteritidis infections in experimentally infected chickens. J. Clin. Microbiol. 30: 2560-2566.
18. Waltman, W. D., Gast, R. K., Mallinson, E. T. (1998) Salmonellosis. In A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens. Edited by DE Swayne, JR Glisson, MM Jackwood, JE Pearson, WM Reed. (4th ed.) American Association of Avian Pathologists, Pennsylvania, USA. pp. 4-13.
19. Wilks, C., Parkinson, G., Young, P. (2000) International review of *Salmonella* Enteritids (SE) epidemiology and control policies. Research report of project no. DAV-146A. Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC), Australian Government, Kingotone, Australia. pp.1-42.

J.Vet.Res. 64,2:109-113,2009

SEROLOGIC PROFILE OF *SALMONELLA ENTERITIDIS* IN POULTRY FLOCKS OF IRAN

Akbarian, R., Peighambari, S. M.*, Barin, A.

Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.

(Received 13 May 2008 , Accepted 13 November 2008)

Abstract:

Salmonella Enteritidis (SE) is frequently isolated from poultry and humans. Chicken meat and egg are two important sources of SE infection for humans. This study was conducted to detect the SE infection in Iranian poultry farms using serological methods. A number of 8208 serum samples were provided from 171 poultry flocks (pullet, commercial layer, broiler breeder, layer breeder, grandparent breeder, and broiler) and were analyzed by rapid slide agglutination test (RSA) and ELISA. All samples were negative in RSA but ~ 45%l of samples (from 112 flocks) contained anti-SE antibody in ELISA. The titres ranged 0.476-0.590, which were at low level and showed the value of ELISA vs. RSA. The results indicated that the poultry flocks had been infected with SE at least once during the course of production. This is the first comprehensive study, at this sample size, in Iran regarding the serologic profile of SE in poultry flocks and its findings are very important for poultry industry and the control strategy for SE infection.

Key words: *Salmonella Enteritidis*, ELISA, Rapid slid agglutination, Poultry, Iran.

***Corresponding author's email: mpeigham@ut.ac.ir, Tel: 021-61117150, Fax: 021-66933222**