نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران؛ ۱۴۰۱؛ ۱۶(۲):۵۷-۶۴.
https://doi.org/10.22034/IJVCS.2022.13828.1014

جداسازی، ردیابی و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* در گله‌های طیور صنعتی دارای علایم تنفسی در استان مازندران

نیما اسدی[۱]، سعید سیفی[۲*]، محمد حسن بزرگمهری فرد[۱]، راحم خوشبخت[۳]، نریمان شیخی[۱]

۱. بخش بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران- ایران.
۲. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل- ایران.
۳. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل- ایران.

دریافت: ۳۰ فروردین‌ماه ۱۴۰۱ **پذیرش:** ۱۱ تیرماه ۱۴۰۱

چکیده

اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال (ORT) یک باکتری بیماری‌زای مهم از نظر اقتصادی در صنعت طیور در سراسر جهان است. هدف از این مطالعه جداسازی، شناسایی و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های ORT در گله‌های طیور تجاری با علایم تنفسی در استان مازندران، در شمال ایران بود. نمونه‌های سواب نای از ۶۰ گله مختلف گرفته شد، پس از کشت روی محیط کشت انتخابی، کلونی‌های مشکوک تحت بررسی بیوشیمیایی و مولکولی قرار گرفتند، سپس جدایه‌های تایید شده برای سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی استفاده شدند. در مجموع ۱۳ جدایه شامل ۷ جدایه از گله‌های مرغ گوشتی (۱۹/۴۴ درصد) و ۶ جدایه از گله‌های مرغ مادر گوشتی (۳۳/۳۳ درصد) جداسازی شد. تمام جدایه‌های اورنیتوباکتر که در کشت مثبت بودند، با PCR نیز مثبت تشخیص داده شدند. بیشترین میزان مقاومت در بین تمام جدایه‌های ORT نسبت به آمپی‌سیلین، اریترومایسین، سفتریاکسون و پنی‌سیلین (۱۰۰٪) بود. اکثر جدایه‌ها نسبت به فورازولیدون حساس بودند. با توجه به نتایج، جدایه‌ها پروفایل‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی متفاوتی را نشان دادند و اکثر سویه‌ها حالت چند مقاومتی داشتند. این می‌تواند نشان دهنده گردش سویه‌های مختلف مقاوم به چند دارو در بین مرغداری‌های شمال ایران باشد.

واژه‌های کلیدی: *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال*، جوجه گوشتی، مرغ مادرگوشتی، مازندران.

مقدمه

درگیری گله‌ها با بیماری‌های تنفسی یکی از مهم‌ترین چالش‌ها در صنعت پرورش طیور است. باکتری‌ها به تنهایی یا همراه با سایر میکروارگانیسم‌ها از دلایل اصلی درگیری‌های تنفسی گله‌های طیور هستند (۱۲). *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* (*Ornithobacterium rhinotracheale*) یا ORT یک باکتری میله‌ای شکل، گرم منفی و غیر متحرک است که پراکندگی بالایی در جهان دارد. این باکتری به‌عنوان یک عامل مهم در کمپلکس‌های تنفسی پرندگان در نظر گرفته شده است و می‌تواند با علایم تنفسی، تأخیر در رشد و کاهش میزان تخم‌گذاری در گله‌ها همراه باشد به همین دلیل موجب ایجاد خسارات اقتصادی شدید به صنعت طیور شود (۲۳). مهم‌ترین یافته‌های کالبدگشایی شامل التهاب فیبرینوپلورنت کیسه‌های هوایی و پنومونی هستند که گاهی همراه با پریکاردیت و پری‌هپاتیت هستند. شدت علایم بالینی و میزان مرگ و میر در اثر ابتلا به این باکتری در گله‌ها متفاوت است و به عوامل مختلفی از جمله: عوامل مدیریتی (تهویه، رطوبت و دمای سالن) و همچنین عفونت هم‌زمان با سایر عوامل ویروسی یا باکتریایی بیماری‌زای دستگاه تنفس، بستگی دارد (۸). این باکتری در صنعت مرغداری بسیاری از کشورهای دنیا از جمله آمریکا، آلمان، هلند، انگلستان، چین، کره جنوبی و ... گزارش شده است (۲۴). در ایران اولین گزارش عفونت ORT در سال ۱۳۷۹ از یک گله جوجه گوشتی و یک گله پولت تخم‌گذار با علایم تنفسی بوده است (۳) و پس از آن گزارش‌های مختلف درخصوص حضور این باکتری در گله‌های طیور مناطق مختلف کشور از جمله استان گیلان، گلستان، مرکزی،

*پست الکترونیک نویسنده مسئول: s.seifi@ausmt.ac.ir

آذربایجان غربی و ... ارائه شده است (۲، ۴ و ۶). استان مازندران به دلیل شرایط مناسب اقلیمی جایگاه مهمی در صنعت طیور کشور دارد. سرمایه‌گذاری‌های بسیار زیادی در بخش صنعت طیور در این استان صورت گرفته و تمامی حلقه‌های مرتبط با طیور شامل لاین، مادر، گوشتی و صنایع وابسته به صنعت طیور در آن وجود دارد. مازندران با داشتن ۲۲۰ واحد مرغ مادر گوشتی و بیش از ۲۱۴۰ واحد مرغداری گوشتی، ۳۰ درصد تولید جوجه یک‌روزه و ۱۱ درصد تولید گوشت سفید کشور را بر عهده دارد (۱۷). گزارش‌های متعددی از بروز کمپلکس تنفسی در گله‌های طیور استان مازندران در سال‌های اخیر وجود دارد. با توجه به این که یکی از باکتری‌هایی که احتمال حضور آن در بروز یا تشدید بیماری‌های تنفسی وجود دارد، اورنیتوباکتر است، بنابراین این پژوهش با هدف جداسازی و ردیابی مولکولی باکتری *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* در گله‌های طیور گوشتی استان مازندران که دارای علایم بالینی تنفسی بودند، انجام شد.

مواد و روش کار

در این مطالعه از ۶۰ گله (۴۲ گله مرغ گوشتی و ۱۸ گله مرغ مادر) دارای علایم تنفسی، نمونه‌گیری به عمل آمد. ابتدا با همکاری اداره کل دامپزشکی استان مازندران و کلینسین‌های طیور، گله‌های دارای علایم تنفسی مشخص شده و سپس با مراجعه به هر گله، نمونه‌های سواب نای از پرنده‌های دارای علایم تنفسی، اخذ و در کنار یخ به آزمایشگاه دانشکده ارجاع و تا زمان انجام آزمایش در فریز ۲۰- درجه نگه‌داری می‌شدند. در این پژوهش از هر گله تعداد ۲۰ سواب نای اخذ شد. سواب‌های تهیه شده از نمونه‌های ارجاعی در محیط آگار خون‌دار به‌همراه جنتامایسین (۵ میکروگرم در هر میلی‌لیتر محیط) کشت داده شد و برای مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در جار بی‌هوازی انکوبه می‌شدند، سپس کلونی‌های مشکوک برداشت و رنگ‌آمیزی گرم انجام می‌شد. تایید نهایی کلونی‌ها بر اساس شکل و تست‌های بیوشیمیایی شامل: کاتالاز، اکسیداز، احیای نیترات و تخمیر قندها صورت می‌گرفت (۲۴).

روی جدایه‌های به دست آمده، آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر اساس روش کربی- بوئر انجام شد (۹). ۱۴ دیسک آنتی‌بیوتیک (شرکت پادتن طب، ایران) شامل: تتراسیکلین (۳۰ میکروگرم)، داکسی سیکلین (۳۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، نئومایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، سفالکسین (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، سفتیزوکسیم (۳۰ میکروگرم)، نیتروفورانتون (۵۰ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ واحد)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم) و فورازولیدون (۱۰۰ میکروگرم)، برای این منظور استفاده شدند و قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری و بر اساس جداول استاندارد تفسیر شد. برای ردیابی مولکولی از کیت استخراج DNA (سیناکلون، ایران) بر اساس دستورالعمل آن استفاده شد و DNA استخراج شده تا انجام آزمایش‌های بعدی در فریز ۲۰- درجه ذخیره شد. برای انجام PCR از پرایمرهای اختصاصی استفاده شد (۲۴). توالی آغازگرهای استفاده شده در این مطالعه شامل توالی آغازگر رفت 5`- GAGAATTAATTTACGGATTAAG-3` و توالی آغازگر برگشت 5`- TTCGCTTGGTCTCCGAAGAT -3`. بودند. حجم هر نمونه ۲۵ میکرولیتر در نظر گرفته شد که شامل: ۲/۵ میکرولیتر بافر، ۰/۵ میکرولیتر DNTP، ۱/۵ میکرولیتر mgcl2، ۲ میکرو لیتر از هر کدام از پرایمرها، ۲ میکرولیتر DNA الگو، ۴ میکرولیتر آنزیم Taq و ۱۲/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل بود. مخلوط به دست آمده در دستگاه ترمال سایکلر قرار گرفت که دارای برنامه واسرشت‌سازی اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه، سپس ۴۵ چرخه شامل واسرشت سازی به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، مرحله اتصال به مدت زمان ۱ دقیقه در دمای ۵۲ درجه و مرحله طویل سازی به مدت ۲ دقیقه در دمای ۷۲ درجه انجام شد؛ در آخر مرحله طویل سازی نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه صورت گرفت، سپس محصول PCR به ژل آگارز ۱/۵ درصد منتقل شد و پس از الکتروفورز و عکس‌برداری، باندهای bp ۷۸۴ به عنوان نمونه‌های مثبت در نظر گرفته شدند.

نتایج

از ۶۰ گله مرغ گوشتی و مرغ مادر گوشتی دارای

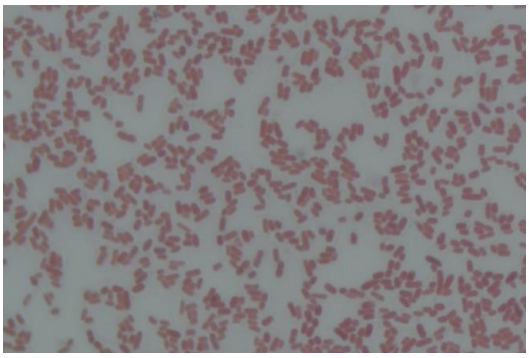
علایم تنفسی که نمونه‌برداری شدند، مجموعا ۱۳ گله (۲۱/۶ درصد) از نظر کشت و ردیابی مولکولی مثبت شدند که از این بین ۷ گله (۱۶/۶ درصد) مرغ گوشتی و ۶ گله (۳۳/۳ درصد) مرغ مادر بودند (جدول ۱).

جدول ۱- جداسازی و ردیابی ORT از گله‌های مرغ گوشتی و مرغ مادر گوشتی استان مازندران

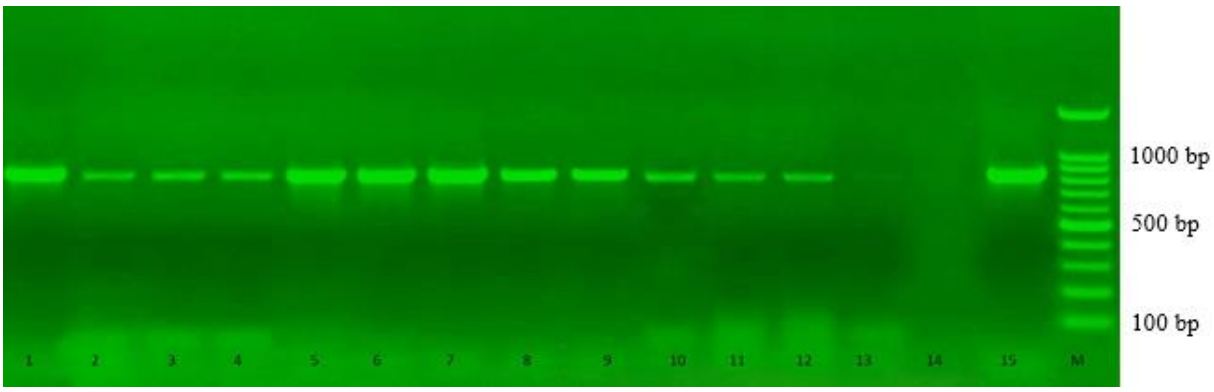
شهرستان	شماره گله	تعداد گله (قطعه)	سن گله (روز)	کشت	PCR
گله‌های گوشتی					
آمل	۱	۱۲۰۰۰	۲۵	-	-
	۲	۱۸۰۰۰	۳۳	-	-
	۳	۲۱۰۰۰	۲۷	-	-
	۴	۱۰۰۰۰	۴۱	-	-
	۵	۱۵۰۰۰	۴۵	+	+
	۶	۲۴۰۰۰	۱۸	-	-
	۷	۱۸۵۰۰	۲۶	-	-
	۸	۱۱۵۰۰	۳۸	-	-
محمودآباد	۹	۲۱۰۰۰	۲۶	+	+
	۱۰	۱۲۰۰۰	۳۵	-	-
	۱۱	۱۸۰۰۰	۲۲	-	-
	۱۲	۹۵۰۰	۲۰	+	+
	۱۳	۶۵۰۰	۱۹	-	-
نور	۱۴	۱۰۰۰۰	۳۳	-	-
	۱۵	۲۵۰۰۰	۴۲	+	+
	۱۶	۱۷۰۰۰	۳۹	-	-
	۱۷	۱۰۵۰۰	۲۸	-	-
چمستان	۱۸	۲۲۰۰۰	۳۰	-	-
	۱۹	۱۸۰۰۰	۴۴	-	-
	۲۰	۱۳۰۰۰	۲۹	-	-
بابل	۲۱	۱۳۰۰۰	۴۰	+	+
	۲۲	۱۴۵۰۰	۳۲	-	-
	۲۳	۹۵۰۰	۱۹	-	-
	۲۴	۱۰۰۰۰	۲۴	-	-
	۲۵	۲۰۰۰۰	۲۷	-	-
ساری	۲۶	۲۵۰۰۰	۲۶	-	-
	۲۷	۱۰۰۰۰	۳۲	-	-
	۲۸	۱۶۰۰۰	۴۰	-	-
	۲۹	۱۰۰۰۰	۲۳	+	+
	۳۰	۹۵۰۰	۲۸	-	-
	۳۱	۱۱۰۰۰	۴۱	-	-
نوشهر	۳۲	۱۲۰۰۰	۲۶	-	-
	۳۳	۱۰۰۰۰	۳۵	-	-
	۳۴	۲۸۰۰۰	۲۴	-	-

	۳۵	۱۰۰۰۰	۲۶	–	–
	۳۶	۲۶۰۰۰	۳۸	–	–
جویبار	۳۷	۲۲۰۰۰	۲۰	–	–
	۳۸	۱۰۰۰۰	۴۴	+	+
	۳۹	۱۰۰۰۰	۲۳	–	–
	۴۰	۸۵۰۰	۳۹	–	–
	۴۱	۱۸۰۰۰	۲۵	–	–
	۴۲	۸۵۰۰	۲۶	–	–
گله‌های مرغ مادر گوشتی					
آمل	۴۳	۲۵۰۰۰	۲۲۰	–	–
	۴۴	۳۰۰۰۰	۲۵۰	–	–
	۴۵	۳۵۰۰۰	۳۶۰	+	+
	۴۶	۲۰۰۰۰	۲۵۰	–	–
	۴۷	۲۵۰۰۰	۲۸۵	–	–
	۴۸	۳۰۰۰۰	۳۰۰	+	+
	۴۹	۲۰۰۰۰	۳۱۰	+	+
ساری	۵۰	۲۵۰۰۰	۲۳۰	–	–
	۵۱	۲۰۰۰۰	۲۷۰	–	–
	۵۲	۱۵۰۰۰	۳۳۰	+	+
	۵۳	۱۵۰۰۰	۲۹۰	–	–
	۵۴	۲۵۰۰۰	۳۳۰	–	–
	۵۵	۱۰۰۰۰	۲۵۰	–	–
محمودآباد	۵۶	۲۲۰۰۰	۲۸۰	–	–
	۵۷	۱۵۰۰۰	۲۷۰	+	+
نوشهر	۵۸	۱۵۰۰۰	۳۰۰	–	–
	۵۹	۱۵۰۰۰	۳۳۰	–	–
	۶۰	۲۵۰۰۰	۳۵۰	+	+

تمام جدایه‌ها خصوصیات مورفولوژیک اورنیتوباکتریوم را از نظر یک باکتری گرم منفی و چندشکلی نشان دادند (شکل ۱)، همچنین تمام جدایه‌ها در تست PCR باند مربوط را نشان دادند (شکل ۲).



شکل ۱- رنگ آمیزی گرم باکتری *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال*



شکل ۲- الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگارز. M: مارکر با وزن مولکولی ۱۰۰ جفت باز، ۱۳-۱: جدایه‌های مثبت، ۱۴: کنترل منفی، ۱۵: کنترل مثبت (باند ۷۸۴ bp).

جدول شماره ۲ الگوی مقاومت دارویی جدایه‌های ORT را نشان می‌دهد. با توجه به جدول، بیشترین میزان مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، اریترومایسین، تتراسیکلین و داکسی‌سیکلین مشاهده شد، همچنین ۱۲ جدایه نسبت به فورازولیدون حساس بودند.

جدول ۲- الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های ORT استان مازندران.

کلاس آنتی‌بیوتیک	آنتی‌بیوتیک	تعداد جدایه‌های حساس (٪)	تعداد جدایه‌های نیمه‌حساس (٪)	تعداد جدایه‌های مقاوم (٪)
تتراسیکلین‌ها	تتراسیکلین	۱ (۷/۶۹)	-	۱۲(۹۲/۳)
	داکسی‌سیکلین	۱ (۷/۶۹)	-	۱۲ (۹۲/۳)
ماکرولیدها	اریترومایسین	-	-	۱۳ (۱۰۰)
آمینوگلیکوزیدها	جنتامایسین	۳ (۲۳/۰۷)	-	۱۰ (۷۶/۹۲)
	نئومایسین	۳ (۲۳/۰۷)	۱ (۷/۶۹)	۹ (۶۹/۲۳)
کینولون‌ها	سیپروفلوکساسین	۲ (۱۵/۳۸)	-	۱۱ (۸۴/۶۱)
بتالاکتام‌ها	سفالکسین	۷ (۵۳/۸۴)	-	۶ (۴۶/۱۵)
	سفتریاکسون	-	-	۱۳ (۱۰۰)
	سفتیزوکسیم	۳ (۲۳/۰۷)	۲ (۱۵/۳۸)	۸ (۶۱/۵۳)
	پنی‌سیلین	-	-	۱۳ (۱۰۰)
	آمپی‌سیلین	-	-	۱۳ (۱۰۰)
نیتروفوران‌ها	نیتروفورانتیون	-	۴ (۳۰/۷۶)	۹ (۶۹/۲۳)
	فورازولیدون	۱۲ (۹۲/۳)	-	۱ (۷/۶۹)
کلرامفنیکل	کلرامفنیکل	۴ (۳۰/۷۶)	-	۹ (۶۹/۲۳)

بحث

مشکلات تنفسی اثرات اقتصادی و بهداشتی مهمی در صنعت طیور به‌خصوص در کشورهای در حال توسعه دارند (۱۴). علایم بالینی و کالبدگشایی عفونت با *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* در ماکیان بسیار شبیه به آلودگی با سایر عوامل باکتریایی یا ویروسی است و پاتوگونومیک نیست به همین دلیل برای تشخیص قطعی نیاز به جداسازی یا ردیابی این باکتری است (۱۵). با توجه به اهمیت این باکتری در صنعت طیور، تاکنون مطالعات زیادی با روش‌های سرمی، جداسازی و یا مولکولی برای تشخیص این باکتری در کشور انجام شده است(۵، ۱۹ و۲۱)، ولی بر اساس دانسته‌های ما تاکنون مطالعه مولکولی در این خصوص در گله‌های گوشتی و مادر گوشتی استان مازندران صورت نگرفته بود، بنابراین به انجام رساندن این پژوهش، ضروری به نظر می‌رسید. در مطالعه حاضر ORT از ۷ گله گوشتی از مجموع ۴۲ گله، (۱۶/۶ درصد) جداسازی شد. مطالعات گذشته حاکی از جداسازی این باکتری در استان مرکزی (۹/۸ درصد) (۴)، استان خوزستان (۱۹/۰۴ درصد) (۱۹)، استان اصفهان (۱۹/۹۳ درصد) (۱۳) و در گله‌های گوشتی دارای علایم تنفسی در اردن (۲۱ درصد) (۲۰) بود که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد، البته در برخی گزارش‌های قبلی از نقاط مختلف ایران و جهان، میزان کمتری از جداسازی ORT گزارش شده‌است؛ از جمله مطالعه Asadpour و همکاران در استان گیلان (۲/۲۷ درصد) (۶)، Hassanzadeh و همکاران (۰/۶ درصد) (۱۶)، Seifi در استان مازندران (۲/۶۰ درصد) (۲۱) و Ozbey و همکاران در سال ۲۰۰۴ در شرق ترکیه (۱/۵ درصد) (۲۲). ORT معمولا در اوایل دوره عفونت قابل جداسازی است و در مراحل بعدی معمولا تلاش برای جداسازی آن نتیجه‌ای نخواهد داد، همچنین در نمونه‌هایی که آلودگی توأم با سایر عوامل باکتریایی از جمله *اشریشیا کولی*، پروتئوس و سودوموناس داشته باشند، جداسازی ORT مشکل خواهد بود (۱۵)، البته در برخی مطالعات هم میزان جداسازی اورنیتوباکتریوم بسیار بالا بوده‌است به طوری که در گزارش Banani و همکاران در سال ۲۰۰۱، جداسازی ۵۹ درصدی باکتری از نمونه‌های نای گله‌های مادر گوشتی و تخم‌گذار بیان شده است (۷). با توجه به مطالعات صورت گرفته مشخص شده است که میزان و نوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به ORT در مناطق مختلف، تفاوت داشته که به نوع آنتی‌بیوتیک‌های رایج استفاده شده در آن منطقه و تفاوت‌های ژنتیکی بین نژادها بستگی دارد (۱۸). در مطالعه حاضر مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۱۳ جدایه ORT نسبت به ۱۴ دیسک آنتی‌بیوتیک بررسی شد که بر اساس نتایج، بیشترین میزان مقاومت در مقابل پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، اریترومایسین، تتراسیکلین و داکسی‌سیکلین دیده شد. در مطالعه اسدپور و همکاران در سال ۲۰۱۱، مقاومت جدایه‌های ORT نسبت به تتراسیکلین، انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین دیده شد و جدایه‌ها نسبت به سفتریاکسون و تیامولین مقاوم بودند (۶)، همچنین Mayahi و همکاران در سال ۲۰۱۶، در مطالعه گله‌های گوشتی استان خوزستان دریافتند که جدایه‌های ORT نسبت به تتراسیکلین، فلورفنیکل و سفالکسین حساس و به سولتریم و جنتامایسین مقاومند (۱۹). ازدیادی و همکاران در سال ۱۳۹۹ در بررسی گله‌های ماکیان صنعتی در استان آذربایجان شرقی بیان داشتند که بالاترین حساسیت دارویی به ترتیب نسبت به پنی‌سیلین (۸۵/۷ درصد)، تتراسایکلین (۷۱/۴ درصد) و داکسی‌سیکلین (۵۷/۱ درصد) بود و بیشترین مقاومت دارویی نیز مقابل اریترومایسین (۷۱/۴ درصد) و نئومایسین (۵۰/۰ درصد) مشاهده گردید (۱). در مطالعه حاضر تمام جدایه‌هایی که در کشت مثبت بودند و جداسازی شدند، در PCR نیز ردیابی و مثبت شدند. این امر نشان می‌دهد که تفاوتی بین حساسیت کشت و PCR در شناسایی جدایه‌های ORT وجود ندارد. مشابه نتایج حاضر در مطالعه Ozbey و همکاران در سال ۲۰۰۴ نیز بیان شد (۲۲). Mayahi و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که از بین ۲۱۰ سواب نای گرفته شده از تعداد ۲۱ گله گوشتی در کشتارگاه‌های استان خوزستان، ۱۰/۹۵ درصد نمونه‌ها در کشت مثبت شدند درحالی که تعداد نمونه‌های مثبت در PCR، ۸/۵۷ درصد بوده است (۱۹). همان‌گونه که در جدول شماره ۱ مشخص است میزان جداسازی و ردیابی باکتری در گله‌های مرغ مادر گوشتی بیشتر از گله‌های گوشتی بوده است. در مطالعه Canal و همکاران در برزیل (۱۰)، Chansiripornchai و همکاران در تایلند (۱۱) و Xue و همکاران (۲۵) در سال ۲۰۲۰ در

چین نیز نتایج مشابه‌ای گزارش شده است. طول دوره پرورش جوجه‌های گوشتی نسبت به دوره پرورش مرغ مادر بسیار کمتر است؛ در نتیجه احتمال چالش و آلودگی گله‌های مادر بیشتر است. غیر از عامل سن، عوامل محیطی و سویه‌های محلی باکتری که به کندی پخش می‌شوند نیز می‌تواند در این خصوص موثر باشد. آلودگی گله‌های مرغ مادر گوشتی به این باکتری می‌تواند منجر به آلودگی جوجه‌های گوشتی از طریق تخم گردد؛ اگرچه گله‌های مرغ مادری که از نظر سرمی مثبت هستند، می‌توانند به صورت غیرفعال موجب ایمنی جوجه‌ها در ابتدای دوره پرورش شوند، ولی ممکن است این جوجه‌ها پس از مدتی به بیماری حساس شوند (۲۴).

این مطالعه به جداسازی *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* در گله‌های طیور دارای علایم تنفسی در شمال کشور پرداخت. علایم بالینی و ضایعات کالبدگشایی ORT پاتوگونومیک نیستند، ولی میزان جداسازی در این منطقه بالا بود. نتایج حاکی از آن است که عفونت چرخشی اورنیتوباکتریوم در گله‌های گوشتی و مرغ مادر استان در حال رخداد است. پیشنهاد می‌شود شناسایی ORT در زمان بیماری‌های تنفسی گله‌ها، جزء تشخیص تفریقی قرار گیرد. شناخت نقش این باکتری به عنوان یک عامل بیماری‌زای اولیه یا به عنوان یک عفونت فرصت‌طلب در گله‌های طیور نیاز به بررسی بیشتر دارد.

قدردانی و تشکر

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی تهران، واحد علوم و تحقیقات و دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل انجام شد. نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را بابت این حمایت اعلام می‌دارند.

منابع

۱- ازدیادی، مهدی؛ خسروپناه، محمدکریم؛ بنانی، منصور؛ قدیمی پور، رحیم و داوری، کامبیز؛ مطالعه فنوتیپی و ژنوتیپی جدایه‌های *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* در ماکیان صنعتی استان آذربایجان شرقی، ایران؛ ۱۳۹۹؛ نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی؛ دوره شانزدهم؛ شماره اول؛ پیاپی ۴۰؛ ۱۰۵-۹۱.

۲- اسدپور، یداله؛ فیوضی یوسفی، احمدعلی و بنانی، منصور؛ شناسایی ملکولی و حساسیت آنتی‌بیوتیکی *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* در گله‌های گوشتی کشتاری استان گلستان؛ تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک (پژوهش و سازندگی)؛ ۱۳۹۵؛ (۴) ۲۹؛ ۳۷-۳۱.

۳- بنانی، مسعود؛ خاکی، پژواک؛ گودرزی، حسین؛ وندیوسفی، جلیل و پوربخش، سیدعلی؛ جداسازی و شناسایی *Ornithobacterium rhinotracheale* از یک گله گوشتی و یک گله پولت تخم‌گذار؛ ۱۳۷۹؛ پژوهش و سازندگی؛ دوره ۱۳؛ شماره ۱؛ پیاپی ۴۶؛ ۱۰۹-۱۰۶.

۴- قائم مقامی، شمس الدین؛ وندیوسفی، جلیل؛ نیرومند، حجت اله؛ منصفی، عباسعلی و احمدلو، سعید؛ بررسی شیوع *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* در گله‌های مرغ گوشتی مبتلا به عوارض تنفسی در استان مرکزی؛ ۱۳۸۶؛ مجله تحقیقات دامپزشکی؛ دوره ۶۲؛ شماره ۵؛ ۳۰۰-۲۹۷.

5- Allymehr, M; Seroprevalence of *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in broiler and broiler breeder chickens in West Azerbaijan province, Iran. J. Vet. Med; 2006; 53(1): 40-42.

6- Asadpour, Y; Banani, M. and Pourbakhsh, S.A; Isolation and identification and antibiotic sensitivity determination of *Ornithobacterium rhinotracheale* in slaughtering broiler chicken flocks of Guilan province. Iranian J. Vet. Res; 2011; 12(37): 345-349.

7- Banani, M; Pourbakhsh, S.A. and Khaki, P; Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolates from commercial chickens. Arc. Razi. Inst; 2001; 52: 27-34.

8- Barbosa, E.V; Cardoso, C.V; Silva, Rd,CF; Cerqueira, Ad,MF; Liberal, M.H.T and Castro, H.C; *Ornithobacterium rhinotracheale*: An Update Review about An Emerging Poultry Pathogen. Vet Sci; 2020; 7(1):3.

9- Bauer, A.W; Kirby, W.M.M; Sehris, J.C and Turck, M; Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol; 1966; 36: 493-496.

10- Canal, C.W; Leão, J.A; Ferreira, D.J; Macagnan, M; Pippi Salle, C.T and Back. A; Prevalence of antibodies against *Ornithobacterium rhinotracheale* in

broilers and breeders in Southern Brazil. Avian Dis; 2003; 47(3): 731-737.

11- Chansiripornchai, N; Wanasawaeng, W and Sasipreeyajan, J; Seroprevalence and identification of *Ornithobacterium rhinotracheale* from broiler and broiler breeder flocks in Thailand. Avian Dis; 2007; 51(3): 777-780.

12- Chin, R.P; Van Empel, C.P and Hafez, H.M; *Ornithobacterium rhinotracheale* Infection. In: Swayne, D.E; Glisson, J.R; McDougald, L.R; Nolan, L.K; Suarez, D.L and Nair, V.L; editors. Diseases of Poultry. 13th. Ed.; Iowa State Press, Ames: IA; 2013; pp: 828–834.

13- Doosti, A; Sharifzadeh, A; Ghasemi, H and Vaez, J; Molecular identification of *Ornithobacterium rhinotracheale* in turkeys in Isfahan province of Iran. Afr. J. Biotechnol; 2011; 10: 7911-7914.

14- Ellakany, H; Elbestawy, A.R; AbdElhamid, H; Gado, A; Nassar, A; Abdel-Latif, M; Ghanima, I; ElHack, M; Swelum, A; Saadeldin, I; Ba-Awadh, H and Al-Owaimer, A; Effect of experimental *Ornithobacterium rhinotracheale* infection along with live infectious bronchitis vaccination in broiler chickens. Poult. Sci; 2019; 105–111.

15- Hafez, H.M; Diagnosis of *Ornithobacterium Rhinotracheale*. Int. J. Poult. Sci; 2002; 1: 114–118.

16- Hassanzadeh, M; Karimi, V; Fallah, N; Ashrafi, Iradj; Molecular characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolated from broiler chicken flocks of Iran. Turk. J. Vet. Anim. Sci; 2010; 34(4): 373-378.

17- https://www.ilna.news/108/980081.

18- Markey, B.K; Leonard, F.C; Archambault, M; Clinical veterinary microbiology. 2nd. Ed.; London, UK: Mosby; 2013: 404-405.

19- Mayahi, M; Gharibi, D; Ghadimipour, R and Talazadeh, F; Isolation, identification and antimicrobial sensitivity of *Ornithobacterium rhinotracheale* in broilers chicken flocks of Khuzestan, Iran. Vet. Res. Forum; 2016; 7 (4): 341-346.

20- Roussan, D.A; Al-Rifai, R.H; Khawaldeh, G.Y; Totanji, W.S and Shaheen, I; *Ornithobacterium rhinotracheale* and *Mycoplasma synoviae* in broiler chickens in Jordan. Rev. Sci. Tech; 2011; 30(3): 931-937.

21- Seifi, S; Seroprevalece and isolation of *Ornithobacterium rhinotracheale* in broiler flocks in Mazandaran province, north of Iran. Bulgar. J. Vet. Med; 2012; 15(3): 184-190.

22- Ozbey, G; Ongor, H; Balik, D.T; Celik, V; Kilic, A and Muz, A; Investigations on *Ornithobacterium rhinotracheale* in broiler flocks in Elazig province located in the East of Turkey. Vet. Med-Czech; 2004; 49(8): 305-311.

23- Umali, D.V; Shirota, K; Sasai, K and Katoh, H; Characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* from commercial layer chickens in eastern Japan. Poult. Sci; 2018; 97:24–29.

24- Van Empel, P.C.M and Hafez, H.M; *Ornithobacterium rhinotracheale*: a review. Avian pathol; 1999; 28(3): 217-227.

25- Xue, J; Lv, C; He, P; Xu, M and Zhang, G; Research Note: Serological investigation of *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in China. Poult. Sci; 2020; 99(10): 4814-4817.

Vol.16/No.2
Fall-Winter 2022-2023

Iran. J. Vet. Clin. Sci.; 2023; 16(2): 57-64.
https://doi.org/10.22034/IJVCS.2022.13828.101

Isolation, Detection and Antibiotic Sensitivity Determination of *Ornithobacterium Rhinotracheale* in Commercial Chicken Farms with Respiratory Sings in Mazandaran Province

Nima Asadi[1]; Saeed Seifi[2*]; Mohammadhassan Bozorgmehri-Fard[1]; Rahem Khoshbakht[3]; Nariman Sheikhi[1]

1. Department of Poultry Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran- Iran.
2. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol- Iran.
3. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol- Iran.

Summary ***Received:*** 19 April 2022 ***Accepted:*** 2 July 2022

Ornithobacterium rhinotracheale (ORT) is an economically important bacterial pathogen of poultry worldwide. The aim of the present study was conducted to isolation, detection and determination of antibiotic sensitivity of ORT isolates in commercial poultry flocks with respiratory signs in Mazandaran province, northern Iran. Tracheal swab samples were taken from 60 different flocks, after cultivation on a selective medium, suspected colonies were subjected to biochemical and molecular identification of ORT. Then, confirmed isolates were aimed to antibiotic resistance assay. A total of 13 isolates, including seven isolates from broiler flocks (19.44%) and six isolates from broiler breeder flocks (33.33%) were obtained. All ORT isolates that were positive by culture were also detected to be positive by the PCR. The most resistance rates among all ORT isolates were obtained for ampicillin, erythromycin, ceftriaxone, and penicillin (100%). The majority of ORT isolates were susceptible to furazolidone. According to the results, the isolates showed different antibiotic resistance profiles, and most of the strains proved multiresistant. This can indicate the circulation of various multidrug resistant strains among poultry farms in northern Iran.

Ornithobacterium rhinotracheale, Broiler, Broiler Breeder, Mazandaran.

***Corresponding Author Email:** s.seifi@ausmt.ac.ir