Animal health and infectious diseases
Volume 1, Issue 2
Journal homepage: https://jahid.lu.ac.ir/

Molecular detection of *Burkholderia mallei* in horse blood by polymerase chain reaction in Oshnavieh County

Ahmad Haji Zadeh[1], Amir Tukmechi[2]

1. Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Daneshgah Blvd, Urmia, West Azerbaijan, Iran

ABSTRACT

Background and Aim:. Glanders disease (*Burkholderia mallei*) is one of the most important common diseases of humans and animals. *B. mallei* is one of the oldest gram-negative bacteria known to man. This study was conducted with the aim of searching the genome of *B. mallei* bacteria from horse blood.

Materials and Methods: Samples (n=384) were randomly collected from horses of Oshnaveh (West Azerbaijan, Iran) region in 2020. All samples were extracted with DNA extraction kit (Favorgen, Taiwan) for molecular analysis. Primers designed, based on Flip and *AT5* genes with AmplifiX software and PCR method was used for molecular diagnosis.

Results: Results showed that 9.1% (35 of 384 blood samples) was positive for the presence of *B. mallei* genome with AT5 gene primers. However, none of the samples, even a single positive sample with *AT5* primers, were positive with *Flip* primers. Considering that *B. mallei* are a non-motility bacterium (without flagella), negativity of PCR results based on flagellum *flip* primers is reasonable.

Conclusion: According to the results of this research, the percentage of infection was low, but considering the importance of the disease and its zoonosis, it is better to report isolated cases to the health and care institutions.

Keywords: Horse, *Burkholderia mallei,* Blood, PCR

Received: **08.04.2024** **Accept: 24.05.2024** **Final Edit: 09.06.2024** **Online Publish:27.06.2024**

Corresponding Information: Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Daneshgah Blvd, Urmia, West Azerbaijan, Iran. Email: a.tukmachi@urmia.ac.ir

Cite this article: Haji Zadeh, Ahmad; & Tukmechi, Amir. (2025). Molecular detection of Burkholderia mallei in horse blood by polymerase chain reaction in Oshnavieh County. *Animal health and infectious diseases*. 2(1), 1-8.

بهداشت و بیماری های عفونی دام
شماره ۱، دوره ۲
صفحه مجله: https://jahid.lu.ac.ir/

تشخیص مولکولی *بورخولدریامالئی* در خون اسب به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در شهرستان اشنویه

احمد حاجی‌زاده[۱]، امیر توکمه چی[۱]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، آذربایجان غربی، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: بیماری مشمشه از مهم‌ترین بیماری‌های مشترک بین انسان و دام است. عامل این بیماری باکتری گرم منفی به نام *بورخولدریامالئی* است. این باکتری از قدیمی‌ترین باکتری‌های شناخته‌شده به‌وسیلهٔ انسان است. این مطالعه با هدف جست‌وجوی ژنومی باکتری *بورخولدریا مالئی* از نمونه‌های خون اسبان منطقه اشنویه آذربایجان غربی در سال ۱۳۹۹ انجام شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه به‌صورت تصادفی تعداد ۳۸۴ نمونه خون از اسبان منطقه جمع‌آوری شد. در مرحلهٔ بعد به‌منظور بررسی مولکولی از تمامی نمونه‌ها با کیت استخراج DNA (Favorgen, Taiwan) استخراج شد. همچنین برای تشخیص مولکولی از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای استفاده شد. پرایمرهای استفاده‌شده در این مطالعه براساس ژن‌های *Flip* و *AT5* با نرم‌افزار AmplifiX طراحی شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که از ۳۸۴ نمونه خون بررسی‌شده با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای، ۳۵ نمونه (۹/۱ درصد) ازنظر وجود ژنوم *بورخولدریا مالئی* با پرایمرهای ژن *AT5* مثبت بود. اما هیچ‌کدام از نمونه‌های حتی تک‌نمونهٔ مثبت با پرایمرهای *AT5* با پرایمرهای *Flip* مثبت نشدند.

نتیجه گیری: با توجه به اینکه باکتری بورخولدریا مالئی یک باکتری بدون حرکت (بدون تاژک) است. منفی بودن نتایج PCR براساس پرایمرهای (*Flip* تاژکی) منطقی است. هرچند میزان آلودگی در نمونه‌های بررسی‌شده پایین بود، اما با توجه به اهمیت بیماری مشمشه و زئونوز بودن آن بهتر است موارد تک‌گیر را هم به نهادهای بهداشتی و مراقبتی گزارش داد.

کلیدواژه‌ها: اسب، *بورخولدریا مالئی*، خون، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۰ ویرایش نهایی: ۱۴۰۳/۰۳/۰۴ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۰ انتشار آنلاین:۱۴۰۳/۰۴/۰۷

اطلاعات نویسنده مسئول: امیر توکمه‌چی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، بلوار دانشگاه، دانشگاه ارومیه، آذربایجان غربی، ایران.

Email: a.tukmachi@urmia.ac.ir

استناد: حاجی‌زاده، احمد؛ و توکمه چی، امیر (۱۴۰۴). تشخیص مولکولی *بورخولدریامالئی* در خون اسب به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در شهرستان اشنویه. *بهداشت و بیماری های عفونی دام*، ۲ (۱)، ۱-۸.

مقدمه

عفونت‌های بورخولدریایی را باکتری‌های جنس *بورخولدریا* که یک باکتری گرم منفی و هوازی است، ایجاد می‌کند. عفونت‌هایی که این باکتری‌ها ایجاد می‌کنند، گاهی در انسان و حیوان مشترک است و به‌شکل پنومونی و سپتی‌سمی ظاهر می‌شود. *بورخولدریا سودومالئی* (*Burkholderia pseudomallei*)، *بورخولدریا مالئی* (*Burkholderia mallei*) و *بورخولدریا سپاسیا* کمپلکس (*Burkholderia cepacia* complex) ازجمله شناخته‌شده‌ترین گونه‌های این جنس هستند (۱).

بیماری شبه‌مشمشه (Melioidosis)، که جزو بیماری‌های مشترک بین انسان و دام است، با باکتری‌ای به نام *بورخولدریا پسودومالئی* (*Burkholderia pseudomllei*) ایجاد می‌شود که در خاک و آب مناطق بومی مانند آسیای جنوب شرقی و شمال استرالیا باعث ابتلای حیوان و انسان به پنومونی است. مشمشه بیماری مسری و عفونی حاد یا مزمنی است که بیشتر اسب‌ها و همچنین انسان‌ها، گوشت‌خواران و نشخوارکنندگان کوچ را درگیر می‌کند. عفونت‌های ریوی حاصل از کلونیزاسیون باکتری *بورخولدریا سپاسیا کمپلکس* در نزد بیماران دارای سیستیک فایبروزیس (Cystic Fibrosis) و نقص سیستم ایمنی ازجمله عفونت‌های رایجی هستند که این گونه از جنس بورخولدریا در انسان ایجاد می‌کند (۲).

کشور ما، ایران، که در آسیای میانه و در همسایگی کشورهای مانند افغانستان و پاکستان واقع شده است، ناخواسته در مسیر ورود بیماری‌های منطقه‌ای قرار می‌گیرد. گزارش‌های اخیر از برخی بیماری‌ها در کشورهای همسایه عراق و پاکستان و ازطرف‌دیگر، افزایش مسافرت‌ها به مناطق آسیای جنوب شرقی سبب می‌شود که گاهی برخی از گردشگران مبتلا به بیماری‌های بومی آن مناطق شوند که در ایران گزارش قبلی یا بروزی از آن وجود نداشته است (۳–۵).

در میان این نوع بیماری‌ها، آلودگی‌هایی با منشأ باکتری *بورخولدریا* دارای رویکردی متفاوتی است، ازطرفی بومی نبودن این نوع بیماری‌ها و تشخیص صحیح ندادن آزمایشگاهی و بالینی ویژه عامل ایجادکننده از سایر باکتری‌های مشابه نظیر *سودوموناس*‌ها، وضعیت اطلاع از بروز و شیوع آلودگی‌هایی با منشأ باکتری *بورخولدریا* در ایران را دچار ابهام می‌کند. در ایران به چند دلیل گزارش زیادی درمورد تشخیص بیماری‌هایی با منشأ باکتری *بورخولدریا* وجود ندارد: شباهت فنوتایپی باکتری *بورخولدریا* با جنس‌های وابسته و مجهز نبودن بیشتر آزمایشگاه‌ها به ابزار تشخیص مولکولی برای تشخیص ژنوتایپی باکتری‌ها از همدیگر، باعث ایجاد خطا در تفکیک باکتری می‌شود. ازنظر بالینی، چون عفونت‌های بورخولدریایی علائم سایر عفونت‌های ریوی به‌ویژه سل ریوی را تقلید می‌کند امکان اشتباه در تشخیص بالینی بیماری با آن گروه از باکتری‌ها را افزایش می‌دهد (۶).

در سال‌های اخیر با مطرح شدن احتمال بروز مشمشه در ایران و بروز مشمشه در ببر سیبری و کشتن شیرهای باغوحش تهران به این دلیل و ازطرفی افزایش موارد سرولوژی مثبت در اسب‌های غرب کشور به‌دنبال قاچاق این حیوان از کردستان عراق در سال‌های پس از جنگ عراق و انتشار و انتقال آسان این بیماری ازطریق تماس با حیوان آلوده در جوامع انسانی، این بیماری به‌صورت تهدیدی جدی برای نظام سلامت کشور مطرح شد و ضرورت آمادگی مقابله با این بیماری و شناخت هرچه‌بیشتر آن آشکار گشت (۷, ۸). این مطالعه با هدف اثبات وجود آلودگی به *بورخولدریا مالئی* در نمونه‌های خون اسب شهرستان اشنویه انجام شده است.

مواد و روش کار

جمع‌آوری نمونه‌های خون

این بررسی که به‌صورت توصیفی در سال ۱۳۹۹ انجام شد. با توجه به نامشخص بودن میزان شیوع این بیماری و در نظر گرفتن میزان شیوع ۵۰درصدی آن در اشنویه تعداد ۳۸۴ نمونه خون با مراجعه به روستاهای اشنویه و ازطریق ورید وداج و به کمک سرنگ ۵ میلی‌لیتری و سرسوزن گیج ۲۲ جمع‌آوری شد. خون‌گیری در حضور مادهٔ ضدانعقاد هپارین و لوله مخصوص شمارش گلبولی انجام شد. بلافاصله نمونه‌های خون در کنار یخ به آزمایشگاه باکتری‌شناسی دانشکدهٔ دام‌پزشکی منتقل شدند. با توجه به مشترک بودن بیماری مراحل انجام آزمایش با رعایت شرایط استریل و در زیر هود لامینار فلو و با پوشیدن کلاه، دست‌کش، عینک و گان یک‌بارمصرف انجام شد.

استخراج DNA

استخراج DNA از خون با استفاده از کیت استخراج DNA (Favorgen, Taiwan) طبق دستورکار سازندهٔ کیت انجام شد. DNA های جمع‌آوری‌شده داخل میکروتیوب برای انجام آزمایشات در مراحل بعد فریز شد.

مراحل انجام PCR

به‌منظور ردیابی *بورخولدریا مالئی* در نمونه‌ها از روش (Scholz, *et al*., 2006) استفاده شد. پس استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA استفاده شد، DNA استخراج شده تا زمان انجام PCR در فریز ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای بررسی حضور DNA ژنومی *بورخولدریا مالئی* در نمونه‌ها از آغازگرهای اختصاصی ژن‌های *AT5* و *flip* استفاده شد (جدول ۱). هدف از انتخاب این ژن‌ها با توجه به دقت و حساسیت بالای آن‌ها در تشخیص باکتری *بورخولدریا مالئی* است. حجم مواد نهایی استفاده‌شده برای انجام PCR، ۲۵ میکرولیتر بود؛ مسترمیکس ۱۲/۵ میکرولیتر، پرایمرهای رفت و برگشت هرکدام یک میکرولیتر و آب مقطر ۵/۵ میکرولیتر درنهایت ۵ میکرولیتر DNA مشکوک به مواد اضافه شد.

الکتروفورز و آنالیز محصولات PCR

برای شناسایی آمپلیکون‌ها یا فرآورده‌های تکثیریافتهٔ حاصل از واکنش‌های PCR، از روش الکترفورز روی ژل آگارز استفاده شد.

ساخت ژل آگارز

در این مرحله با توجه به اندازهٔ آمپلیکون‌ها، ژل آگاروز ۲درصد تهیه شد که برای این منظور ۰/۸ گرم آگاروز را به ۴۰ سی‌سی TBE با غلظت ۰/۵X اضافه شد و تا شفاف شدن آن حرارت داده شد و در حین سرد شدن ۱/۵ میکرولیتر رنگ safe stain (Smobio, Taiwan) در زیر هود لامینار به محلول اضافه شد و خوب مخلوط شد تا ترکیب حاصل کاملاً یکنواخت شود. درنهایت مخلوط حاصل، در زیر هود داخل قالب‌های مخصوص ژل الکترفورز ریخته شد. با ژله‌ای و سفت شدن مخلوط، ژل آگاروز برای انجام الکتروفورز استفاده شد.

بارگذاری نمونه‌ها

ابتدا تانک الکتروفورز با محلول TBE با غلظت نیم (۰/۵X) پر شد؛ سپس ژل در داخل آن قرار گرفت. و از هر نمونه ۱۰ میکرولیتر در چاهک مربوطه در ژل آگاروز ریخته شد. برای اطمینان از صحت نتایج آزمایش در هر الکترفورز، یک کنترل مثبت و یک کنترل منفی بارگذاری شد. نشانگر مولکولی نیز به‌عنوان یک نشانگر استاندارد استفاده شد. با توجه به بار منفی DNA و وزن مولکولی آن، حرکت به طرف آند آغاز شد. پس از سپری شدن مدت زمان لازم برای تفکیک قطعات DNA تکثیر شده، با دستگاه مخصوص تصویربرداری از ژل عکس‌برداری شد.

تجزیهٔ آماری داده‌ها

تجزیهٔ آماری داده‌ها با استفاده از روش آماری کای (Chi-square Tests) دو انجام شد. از برنامهٔ آماری SPSS نسخهٔ ۲۲ (IBM, USA) برای انجام آزمون آماری استفاده شد.

نتایج

درمجموع از ۳۸۴ نمونه خون بررسی‌شده با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای تعداد ۳۵ نمونه خون جمع‌آوری‌شده از اسب (۹/۱درصد) با پرایمر ژن *AT5* ازنظر وجود DNA *بورخولدریا مالئی* مثبت بودند. همچنین هیچ‌کدام از نمونه‌ها با پرایمرهای ژن *Flip* مثبت نبودند (شکل ۱).

بحث

بیماری مشمشه یکی از خطرناک‌ترین بیماری‌های عفونی در بین اسب‌ها است. این بیماری معمولاً در اسب‌ها به‌صورت مزمن و در قاطرها و الاغ‌ها به‌صورت حاد و کشنده بروز می‌کند. اسب‌ها میزبانان اصلی این بیماری‌اند، گوشت‌خواران ازطریق خوردن گوشت‌های آلوده به بیماری مشمشه مبتلا می‌شوند. بیماری مشمشه یک بیماری شغلی محسوب می‌شود. مشمشه در قرن گذشته با اجرای برنامه‌های تدوین‌شده مانند محدودیت تجارت اسب از کشورهای با ضعف بهداشتی و کاهش استفاده اسب‌ها در حمل‌ونقل شیوع و بروز کمتری داشته است (۹).

اما جنگ و ناآرامی و به‌دنبال آن گسترش فقر در بیشتر کشورهای خاورمیانه مانند عراق و سوریه، زمینه را برای ظهور مجدد این بیماری را در کشورها فراهم کرده است (۱۰). وقوع مشمشه ۱۳۸۹ در میان شیرها و ببرهای باغوحش تهران، یکی از جدیدترین گزارش‌های بروز این بیماری در کشور ایران است (۹). براساس گزارش سازمان جهانی بهداشت حیوانات (OIE) و مراکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها (CDC)، *بورخولدریا مالئی* به‌دلیل انتقال ازطریق تنفس، فقدان واکسن‌های مؤثر و مقامت ذاتی به آنتی‌بیوتیک‌ها باعث شده که این باکتری را جزء مهمترین و خطرناک‌ترین پاتوژن‌های مشترک و انسان دام در جوامع بین‌المللی معرفی شود (Lipstiz *et al*., 2012; CDC, 2000; Riedel, 2004). متاسفانه هیچ واکسن یا روش پیشگیری برای این بیماری وجود ندارد و روش اولیه برای کنترل بیماری مشمشه شناسایی و معدوم کردن حیوانات آلوده و رعایت شرایط قرنطینه کامل است(۱۰).

روش‌های تشخیصی بیماری مشمشه شامل کشت ترشحات تازه، الایزا، تست مالئین و تست کمپلمان است (Elschner *et al*., 2019). آخرین اپیدمی بیماری مشمشه در این مربوط به سال ۱۳۵۲ است. این اپیدمی در استان کردستان (منطقهٔ دزلی) باعث تلف شدن ۵ نفر انسان و ۲۰۰ رأس اسب شد (Tadjbakhsh, 1994). اما مطالعهٔ رسمی در ایران به‌دست بهارصفت و همکاران (۱۳۴۹)، بوده است، در گزارش میلوئیدوزیس (شبه‌مشمشه) را برای اولین‌بار در اسب و مادیان گزارش دادند. (۱۱). پورتقوا و همکاران (۱۳۵۶)، میلوئیدوزیس انسانی را برای اولین‌بار به‌شکل پنومونی گزارش کردند (۱۱). در جدیدترین مطالعهٔ انجام‌شده در ایران در منطقهٔ اشنویه یزدان‌ستاد و همکاران (۱۳۹۸)، بیماری مشمشه در اسب‌های منطقهٔ اشنویه گزارش داده‌اند، اما در این مطالعه به میزان شیوع و موارد مثبت اشاره نشده است (۱۲). ضعف تأمین هزینه‌های اجرای برنامه‌های کنترل و پیشگیری بیماری و فقدان امکانات آزمایشگاهی مناسب از عوامل شکست تشخیص مناسب و زودهنگام عامل عفونی مشمشه، به‌ویژه در موارد مزمن بیماری است. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۲۱ دشتی‌پور و همکاران، در کشور ایران براساس روش PFGE انجام داده‌اند، سه سویهٔ متفاوت از باکتری *بورخولدریا مالئی* شناسایی شد که شامل سویه‌های مؤسسهٔ رازی، سویهٔ جداشده از ببر، منطقهٔ اشنویه و سویهٔ سمیرم بودند. نتایج این مطالعه نشان داد که روش PFGE به‌منظور بررسی فیلوژنی و مطالعات اپیدمیولوژی درخصوص باکتری *بورخولدریا مالئی* استاندارد است (۱۳).

امروزه از جدیدترین روش‌های تشخیصی مانند تکنیک‌های مولکولی در آزمایشگاه‌های تخصصی استفاده می‌شود. تکنیک‌های مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در اغلب آزمایشگاه‌های مرجع تحت نظارت OIE استفاده می‌شود (۷).

یکی از مهم‌ترین ژن‌های که برای طراحی پرایمر استفاده می‌شود، ژن *23SrRNA* است. قطعه‌ای در این قسمت از ژن به طول ۱۰۵۱ جفت باز وجود دارد که بین تمام گونه‌های بورخولدریا مالئی و پسودومالئی ازنظر ژنتیکی و هیبریداسیون DNA-DNA خیلی به‌هم نزدیک‌اند و تفاوت‌های ناچیزی در ژنوم دارند. تفاوت موجود در نوکلئوتید ۲۱۴۳ می‌باشد، در این قسمت تیمدین مقابل سیتوزین باعث تفریق *بورخولدریا مالئی* و *بوخورلدریا پسودومالئی* می‌شود (۱۴). در مطالعهٔ برنفید و همکاران (۱۹۹۸)، یک لوکوس ۱۰۵۱ جفت بازی در قسمت *23SrRNA* طراحی کردند که قابلیت تفریق بین این دو گونه را دارد (۱۵). Ulrich و همکاران (۲۰۰۶)، پرایمر براساس ژن *flip* در باکتری *بورخولدریا مالئی* را طراحی کردند، این ژن پروتئین فلاژلین را کد می‌کند. علی‌رغم اینکه باکتری بورخولدریا مالئی بدون حرت است، اما از فاکتورهای مهم در تفریق بین این دو گونه باکتری است (۱۴). تشخیص *بورخولدریا مالئی* بازپدید در طغیان اخیر مشمشه در امارات متحده عربی توسط شولز و همکاران با تکثیر و مطالعهٔ لوکوس زنی *flip*-IS407 انجام گرفت و به‌عنوان ابزار تشخیصی حساس، ساده و سریع برای تشخیص اختصاصی این باکتری در نمونه‌های بالینی به‌کار رفت (۱۶).

اخیراً Adhikari و همکاران درمورد خطرات وقوع بیماری مشمشه در کشور نپال به‌دلیل ظهور جدید این بیماری هشدار داده‌اند (۱۷). همچنین در مطالعه‌ای در کشور مغولستان Erdemsurakh و همکاران (۲۰۲۰)، با استفاده از تست ثبوت کمپلمان و تست رزبنگال با بررسی موارد مثبت بیماری مشمشه در جمعیت اسب‌های مغولستان از ۳۳۷ اسب ۲۶ اسب (۷/۷درصد) و ۲۸ (۸/۳درصد) به ترتیب با تست‌های رزبنگال و ثبوت کمپلمان مثبت بودند (۱۸). همچنین براساس مطالعات بیماری مشمشه در کانادا و اروپای غربی ریشه‌کن شده است، با این حال عفونت‌های پراکنده هنوز در شرق آسیا، آمریکای جنوبی، اروپای شرقی، شمال آفریقا و خاورمیانه گزارش شده است. همچنین موارد تک‌گیری انسانی هم گزارش شده است (۱۸).

براساس مطالعهٔ Ramachandran و همکاران (۲۰۲۱)، عفونت‌های جدید ناشی از *بورخولدریا مالئی* در ۶ ایالت هندوستان گزارش شده است که شامل: جامو، کشمیر، گجرات، راجستان، دهلی و تامیل نادو می‌شوند. نتایج این مطالعه نشان داده است که مهم‌ترین عامل شیوع این بیماری در ایالت هندوستان تجارت اسب و رعایت نکردن قرنطیه است. در این مطالعه ۴ رأس اسب و ۶ رأس اسب آلوده به بیماری مشمشه بودند (۱۹).

در مطالعهٔ Brangsch و همکاران (۲۰۲۲)، در منطقهٔ پنجاب پاکستان ژنوم ۱۹ سویه *بورخولدریا مالئی* جدا شده از اسب‌ها بین سال‌های ۱۹۹۹ تا ۲۰۲۰ در نقاط مختلف توالی یابی و ژنوتیپ آن‌ها تعیین شد (۲۰).

از دلایل منفی شدن PCR می‌تواند به آلودگی‌های ثانویه در زمان استخراج DNA اشاره نمود؛ زیرا برخی آنزیم مانند DNAas می‌توانند باعث لیز DNA ژنومی شوند و درنتیجه تست PCR را منفی کنند. در برخی مطالعات حساس PCR در تشخیص بیماری مشمشه در پایین‌ترین میزان کلنی (10^1 CFU/ml) کفته‌شده است. همچنین میزان ژنوم قابل‌تشخیص معادل ۲۰۰۰۰ ژنوم اعلام شده است. این مطالعات نشان داده است که تکنیک PCR حساسیت بالای در تشخیص ژنوم

بورخولدریا مالئی را دارد. بنابراین از دیگر دلایل منفی بودن نمونه‌های این مطالعه می‌تواند پایین بودن میزان DNA در نمونه‌های استخراج‌شده باشد، چون مطالعات انجام‌شده ابتداد باکتری *بورخولدریا مالئی* کشت داده و بعد استخراج DNA انجام داده‌اند، ولی در مطالعهٔ ما به‌دلیل نبود آزمایش مناسب (سطح ۳) امکان کشت و استخراج وجود نداشت (۱۰). اطلاعات اپیدمیولوژیکی بیماری مشمشه تنها با تشخیص قطعی اسب‌های علامت‌دار به‌دست‌آمده است و هیچ گزارش رسمی و قطعی از وقوع مشمشه از سال ۲۰۱۲ به بعد در نقاط مختلف جهان وجود ندارد. بنابراین ضرورت ایجاد اقدامات کنترلی به‌منظور ریشه‌کنی این بیماری لازم است. همچنین افزایش اطلاعات عمومی از وجود بیماری مشمشه در میان جمعیت اسب‌ها، با تأکید بر تأثیر اقتصادی و پیامدهای سلامت عمومی اکیداً توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری

مطالعهٔ حاضر اولین مطالعه‌ای است که در منطقهٔ اشنویه و ایران انجام شده است و نتایج آن می‌تواند بسیار کاربردی و حائزاهمیت باشد. نتایج این مطالعه، شیوع *بورخولدریا مالئی* را اسبان اشنویه استان آذربایجان غربی نشان داد. با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که گزارش مشمشه در کشور حتی به‌صورت تک‌گیر، هشداری برای نهادهای بهداشتی و مراقبتی است. با توجه به مشکلات تشخیصی سریع و دقیق عامل عفونی مشمشه، شناسایی ارگانیسم در این مطالعه با استفاده از ژن‌های اختصاصی مطابق با استانداردهای تشخیصی سازمان جهانی بهداشت حیوانات (OIE) با حساسیت و اختصاصیت بالا انجام گرفت.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت دانشگاه ارومیه، انجام شده است.

منابع

1. Yabuuchi E, Kosako Y, Oyaizu H, Yano I, Hotta H, Hashimoto Y, et al. Proposal of Burkholderia gen. nov. and transfer of seven species of the genus Pseudomonas homology group II to the new genus, with the type species Burkholderia cepacia (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. Microbiology and immunology. 1992;36(12):1251-75.
2. Currie BJ. Melioidosis: an important cause of pneumonia in residents of and travellers returned from endemic regions. European Respiratory Journal. 2003;22(3):542-50.
3. Hornstra H, Pearson T, Georgia S, Liguori A, Dale J, Price E, et al. Molecular epidemiology of glanders, Pakistan. Emerging infectious diseases. 2009;15(12):2036.
4. Al-Ani FK, Al-Rawashdeh OF, Ali AH, Hassan FK. Glanders in horses: clinical, biochemical and serological studies in Iraq. Veterinarski Arhiv. 1998;68(5):155-62.
5. Arefnejad M, Tajzadeh P, Barjesteh A. A history of Burkholderia-caused infections in Iran. Journal of Paramedical Sciences & Rehabilitation. 2013;2(2):54-9.
6. McMenamin JD, Zaccone TM, Coenye T, Vandamme P, LiPuma JJ. Misidentification of Burkholderia cepacia in US cystic fibrosis treatment centers. Chest. 2000;117(6):1661-5.
7. Malik P, Singha H, Goyal SK, Khurana SK, Tripathi BN, Dutt A, et al. Incidence of Burkholderia mallei infection among indigenous equines in India. Veterinary Record Open. 2015;2(2):e000129.
8. Mardani M, Kamali M. Review of glanders disease threat again. Journal of Shahid Beheshti University of Medical Sciences. 2011;35:174-81.
9. Tizfahm Tikmehdash H, Dehnad AR ,Mosvari N, Mahmazi S. Glanders re-emerging in few horses in East-Azerbaijan, Iran. Journal of Zoonotic Diseases. 2022;6.(۲)
10. Abreu DC, Gomes AS, Tessler DK, Chiebao DP, Del Fava C, Romaldini AHdCN, et al. Systematic monitoring of glanders-infected horses by complement fixation test, bacterial isolation, and PCR. Veterinary and animal science. 2020;10:100147.
11. Tadjbakhsh H. Traditional methods used for controlling animal diseases in Iran. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics). 1994;13(2):599-614.
12. Yazdansetad S, Mosavari N, Tadayon K, Mehregan I. Detection And Molecular Identification Of Burkholderia mallei Isolated From Blood Specimen Of An Infected Horse With Glanders. Veterinary Researches & Biological Products. 2019; 32(2):2-10.
13. Dashtipour S, Tadayon K, Yazdansetad S, Mosavari N, Keshavarz R. Genomic pattern analysis of Burkholderia mallei field isolates by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) discriminatory typing. Iranian Journal of Microbiology. 2021;13.٥٧٤:(٥)
14. Ulrich RL, Ulrich MP, Schell MA, Kim HS, DeShazer D. Development of a polymerase chain reaction assay for the specific identification of Burkholderia mallei and differentiation from Burkholderia pseudomallei and other closely related Burkholderiaceae. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2006;55(1):37-45.

15. Bauernfeind A, Roller C, Meyer D, Jungwirth R, Schneider I. Molecular Procedure for Rapid Detection ofBurkholderia mallei and Burkholderia pseudomallei. Journal of clinical microbiology. 1998;36(9):2737-41.
16. Scholz HC, Joseph M, Tomaso H, Al Dahouk S, Witte A, Kinne J, et al. Detection of the reemerging agent Burkholderia mallei in a recent outbreak of glanders in the United Arab Emirates by a newly developed fliP-based polymerase chain reaction assay. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2006;54(4):241-7.
17. KR P, MA V. First glanders cases detected in Nepal underscore the need for surveillance and border controls. BMC Veterinary Research. 2022;18(1):1-6.
18. Erdemsurakh O, Ochirbat K, Gombosuren U, Tserendorj B, Purevdorj B, Vanaabaatar B, et al. Seroprevalence of equine glanders in horses in the central and eastern parts of Mongolia. Journal of Veterinary Medical Science. 2020:20-0219.
19. Ramachandran S. Molecular Typing of Burkholderia mallei Isolates from Equids with Glanders, India.
20. Brangsch H, Saqib M, Sial AuR, Melzer F, Linde J, Elschner MC. Sequencing-Based Genotyping of Pakistani Burkholderia mallei Strains: A Useful Way for Investigating Glanders Outbreaks. Pathogens. 2022;11(6):614.