Identification of Hidden Microbial Agents in Broiler Chickens Using Molecular and Chemical Techniques: A Novel Approach to Food Safety Management

Fatemeh Khakinahad[1], **Nima Bahador[1*]**

[1] Department of Microbiology, Shi.C., Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Received Date:2025.03.23 Accepted Date:2025.09.25

Abstract

Microbial contamination of poultry carcasses represents a major challenge in food safety. The presence of viable but non-culturable (VBNC) pathogens in meat products—due to their resistance to environmental stressors—poses a potential threat to public health. Detection of these bacteria through culture-independent methods plays a crucial role in food safety monitoring. This study aimed to identify both culturable and non-culturable bacterial strains in packaged and unpackaged chicken meat sold in Bavanat County, using classical and molecular techniques, with a focus on stress-related genes RpoS and OxyR. A total of 100 fresh and frozen chicken samples from various brands were collected. Bacterial isolation was performed using selective media and biochemical tests. Genomic DNA extraction and polymerase chain reaction (PCR) were conducted using universal 16S rRNA primers and specific primers targeting the stress-related genes. PCR products were analysed via agarose gel electrophoresis and DNA sequencing. The results revealed that *Escherichia coli* (20%) and *Staphylococcus* spp. (16%) were the most prevalent Gram-negative and Gram-positive bacteria, respectively. Non-culturable isolates included *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, and *Acinetobacter*. The presence of RpoS and OxyR genes in some isolates confirmed their ability to enter the VBNC state and resist stressful conditions. These findings indicate that chicken meat sold in Bavanat harbours a diverse range of pathogenic bacteria, which may pose a serious risk to consumer health. The identification of VBNC strains and stress-related genes underscores the importance of employing culture-independent methods in poultry meat safety surveillance.

Keywords: Chicken, non-culturable bacteria, culturable bacteria, polymerase chain reaction, OxyR, RpoS.

[*] ni.bahador@iau.ac.ir

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: Poultry serves as a significant reservoir for microorganisms that can be transmitted between humans and livestock, potentially impacting public health. One effective strategy to mitigate bacterial pathogens in humans is to monitor the microbial quality of poultry meat. Moreover, in response to environmental stressors, many bacteria enter a viable but non-culturable (VBNC) state as an adaptive mechanism. The physiological behaviour of such bacteria can be characterised by identifying specific genes, notably *RpoS* and *oxyR*. Accordingly, this study aimed to investigate the prevalence of culturable and VBNC bacteria in various types of poultry meat.

Materials and Methods: A total of 100 samples of fresh and frozen chicken from various brands in the Bavanat region were analysed over six months. Samples were collected using washing, swabbing, and tissue chip techniques. Nutrient broth and Gram-negative broth media were employed for enrichment. Given the potential for certain strains to exist in a VBNC state, selective and differential media were used for preliminary identification, followed by molecular techniques targeting specific genes. To detect *Listeria*, samples in broth media were incubated for 72 hours at 4°C. Subsequently, cultures were streaked onto Palcam agar and incubated under defined conditions. Colonies, particularly those on blood agar, were purified and identified using Gram staining, catalase, oxidase, and coagulase tests. Further biochemical assays were conducted to differentiate Gram-positive and Gram-negative isolates, and molecular tests were performed after removing duplicate strains. Due to the lower yield of culturable bacteria from chicken washing water compared to stomach contents and solid tissues, three post-slaughter washing water samples were used to assess VBNC bacterial load. Identification of VBNC strains was conducted via PCR targeting *RpoS* and *oxyR* genes.

Results: Biochemical testing and ABIS Encyclopedia software analysis revealed *Escherichia coli* as the most prevalent Gram-negative bacterium (20%), while *Staphylococcus* was the most common Gram-positive isolate (16%). Other Gram-negative genera included *Klebsiella*, *Shigella*, *Chlorella*, *Proteus*, *Enterobacter*, and *Pseudomonas*. Among Gram-positive bacteria, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, and *Bacillus* were also identified. Molecular analysis confirmed the presence of culturable strains such as *E. coli*, *Enterobacter*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Staphylococcus*, and *Enterococcus*. Two isolates remained unidentified by software. VBNC strains identified included *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, and *Acinetobacter*.

Discussion: Twenty-five morphologically distinct strains were identified: 15 Gram-negative and 10 Gram-positive. *E. coli* was the most frequent Gram-negative isolate (20%), and *Staphylococcus aureus* was the most common Gram-positive (16%). Of the 25 isolates, only three contained *RpoS* genes and two contained *oxyR* genes. No *Listeria* species were detected, possibly due to sample size, type, or collection method. The presence of *E. coli* suggests inadequate sanitary control in the study area. Tissue swabs and scrapings proved more effective than washing water for bacterial isolation. PCR analysis of 25 samples revealed three Gram-positive isolates (*S. aureus*, *Enterococcus*, *Psychrobacter*) and several Gram-negative genera including *E. coli*, *Enterobacter*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Proteus*, and *Aeromonas*. Sixteen of the 23 samples tested showed consistent results across both biochemical and molecular methods. Contamination was predominantly due to Gram-negative bacteria, typically transmitted via the faecal-oral route. This implies potential issues with intestinal evacuation, washing systems, or processing channels. Factors such as transport duration, basket handling, and slaughtering procedures may also contribute to contamination. PCR results showed that *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, and *Psychrobacter* isolates carried the *RpoS* gene (251 bp band), while *Pseudomonas* and *Psychrobacter* also carried the *oxyR* gene (572 bp band).

Conclusion: Detection of VBNC organisms in food is crucial for public health, as these bacteria may be pathogenic. Molecular techniques targeting specific genes are recommended for identifying such organisms in food products. Additionally, this study highlights the importance of evaluating washing machinery, personnel hygiene, and processing protocols to reduce foodborne pathogenic risks.

.

.

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

شناسایی باکتری‌های قابل کشت و غیرقابل کشت در مرغ‌های گوشتی با بهره‌گیری از روش‌های شیمیایی و مولکولی: رویکردی نوین در مدیریت ایمنی غذایی

فاطمه خاکی نهاد[۱]، **نیما بهادر[۱*]**

[۱] گروه میکروبیولوژی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

تاریخ دریافت:۱۴۰۴/۰۱/۰۳ تاریخ پذیرش:۱۴۰۴/۰۷/۰۳

چکیده

آلودگی میکروبی لاشه طیور یکی از چالش‌های اساسی در ایمنی مواد غذایی است. حضور باکتری‌های بیماری‌زای غیرقابل‌کشت در محصولات گوشتی، به‌دلیل مقاومت در برابر شرایط استرس‌زا، خطر بالقوه‌ای برای سلامت عمومی دارد. شناسایی این باکتری‌ها با روش‌های مستقل از کشت، نقش مهمی در پایش ایمنی مواد غذایی دارد.این مطالعه باهدف شناسایی سویه‌های باکتریایی قابل‌کشت وغیرقابل‌کشت در گوشت مرغ بسته‌بندی‌شده و غیر بسته‌بندی‌شده عرضه‌شده در شهرستان بوانات، با استفاده از روش‌های کلاسیک و مولکولی، با تمرکز بر ژن‌های مرتبط با استرس محیطی *RpoS* و *OxyR* بود. دراین پژوهش ۱۰۰ نمونه مرغ تازه و منجمد از برندهای مختلف جمع‌آوری شد. جداسازی باکتری‌ها با محیط‌های کشت اختصاصی و آزمون‌های بیوشیمیایی انجام گرفت. استخراج DNA ژنومی و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با پرایمر یونیورسال۱۶SrRNAو پرایمرهای اختصاصی ژن‌های هدف انجام گرفت. محصولات حاصل با الکتروفورز ژل آگارز و تعیین توالیDNA بررسی شدند. نتایج نشان داد *اشریشیا کولی*(۲۰درصد)و *استافیلوکوکوس*(۱۶درصد) به‌ترتیب شایع‌ترین باکتری‌های گرم منفی وگرم مثبت بودند. جدایه‌های غیرقابل‌کشت شامل *پزودوموناس، سایکروباکتر و اسینتوباکتر* بود. حضور ژن‌های *RpoS* و *OxyR* در برخی جدایه‌ها تأیید شد که نشان‌دهنده توانایی آن‌ها در ورود به مرحله غیرقابل‌کشت و مقاومت در برابر شرایط استرس‌زا بود. نتایج حاصل بیان کننده این است که گوشت مرغ عرضه‌شده در منطقه بوانات دارای تنوع بالایی از باکتری‌های بیماری‌زا است که می‌تواند تهدیدی جدی برای سلامت مصرف‌کنندگان باشد. شناسایی سویه‌های غیرقابل‌کشت و ژن‌های مرتبط با استرس، ضرورت استفاده از روش‌های مستقل از کشت را در پایش ایمنی گوشت طیور برجسته می‌سازد.

کلید واژه ها : مرغ، باکتری‌های غیر قابل کشت، باکتری‌های قابل کشت، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، *OxyR* و *Rpos*

* ni.bahador@iau.ac.ir

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

مقدمه

آلودگی لاشه طیور با میکروارگانیسم های پاتوژن از دو منبع اصلی محیط کشتارگاه (فرایند، تجهیزات، دست‌کارگران) و پرنده زنده (محتویات مجرای گوارشی، آلودگی پوست و غیره) نشأت می‌گیرد(۱). در صورت عدم رعایت موازین بهداشتی، کشتارگاه طیور می‌تواند در ایجاد و گسترش آلودگی لاشه ها تاثیر به‌سزایی داشته باشد(۲). امروزه صنعت غذا بخش قابل توجهی از منابع مالی خود را برای اطمینان از کیفیت بهداشتی محصولات خود سرمایه‌گذاری می‌کند که این به دلیل ضررهای اقتصادی ناشی از فساد میکروبی موادغذایی و هم‌چنین ظهور بیماری‌های غذازاد در مصرف‌کنندگان می‌باشد(۳). یکی از راه‌های کاهش عوامل باکتریایی بیماریزا برای انسان پایش کیفیت میکروبی گوشت طیور در طول تولید، نگهداری و توزیع است(۴). علاوه بر این، آلودگی پس از فرآیند محصولات غذایی مبتنی بر عضله، در صورتی‌که آلوده به میکروب باشد خطرناک و از اهمیت ویژه‌ایی برخوردار است. بنابراین، کنترل این میکروب‌ها در بسته‌های محصول به مدت طولانی، بسیار مهم است. تکنولوژی بسته بندی در حال حاضر با انواع فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی همکاری می‌کند تا مواد غذایی را حفظ و از رشد و انتقال میکروارگانیسم‌های مرتبط جلوگیری کند(۵, ۶). از آنجایی‌که طیور مخزن میکروارگانیسم‌های مشترک بین انسان و دام، مانند *کمپیلوباکتر، سالمونلا، اشریشیا کلی و لیستریا* می‌باشد نقش بسیار زیادی بر سلامت انسان دارد. در بین جدایه‌های مذکور *لیستریا* یکی از جنس‌های باکتریایی است که در خاک، آب و برخی حیوانات از جمله طیور و گاو یافت می‌شود. این باکتری می‌تواند در شیر خام و غذاهای تهیه شده از شیر خام وجود داشته باشد. هم‌چنین می‌تواند در کارخانه‌های فرآوری مواد غذایی زندگی کند و انواع گوشت‌های فرآوری شده را آلوده نماید(۷). آلودگی گوشت طیور توسط *لیستریا مونوسیتوژنز*[1] اغلب با مراحل کشتار و فرآوری مرتبط بوده است. علاوه بر این، برخی از شرایط محیطی (مانند رطوبت و دما) می‌تواند به ماندگاری میکروارگانیسم در صنعت فرآوری طیور کمک کند(۸). درواقع وقوع این پاتوژن اغلب با محیط کشتارگاه مرتبط است تا تولید اولیه از طریق حیوانات ناقل. با این حال، برخی از مطالعات بروز پاتوژن را در حیوانات زنده و در سطح مزرعه نیز گزارش کرده‌اند، به‌طوری‌که *لیستریا مونوسیتوژنز* جدا شده از مدفوع پرندگان قادر است عفونت را به حیوانات اهلی ونشخوارکنندگان منتقل کند(۹, ۱۰).

هم‌چنین در ارتباط با پاسخ بسیاری از باکتری‌ها به استرس‌های متفاوت محیطی و وارد شدن آن‌ها به مرحله فیزیولوژیکی جدید، تحقیقاتی برروی برخی از ژن‌های باکتری‌ها انجام گرفته است. سلول‌های زنده اما غیر قابل کشت(VBNC)[2] باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت یکی از این پاسخ‌ها است(۱۱). VBNC به عنوان یک مکانیسم تطبیقی برای سازگاری میکروارگانیسم ها با شرایط استرس زا تعریف می‌شود. اگرچه باکتری‌های زنده از نظر متابولیکی فعال هستند، اما قادر به رشد در محیط‌های کشت معمولی نیستند. با این وجود، ظرفیت بالقوه پاتوژن‌ها برای حفظ فعالیت حدت و احیای بیشتر به حالت کشت در شرایط مطلوب، یک خطر بزرگ برای ایمنی مواد غذایی و سلامت عمومی است. فرآوری، تبدیل و ذخیره‌سازی مواد غذایی، و هم‌چنین تکنیک‌های غیرحرارتی، می‌توانند پاتوژن‌ها را به سمت القای پاتوژن تحریک کنند. بنابراین ویژگی متمایز باکتری منجر به ظهور تکنیک‌های جدید مستقل از کشت برای جلوگیری از تفسیر نادرست ایمنی مواد غذایی شد(۱۲). از طرف دیگر از آنجایی‌که *کمپیلوباکتریوز* نیز در انسان یک نگرانی جهانی است و میزان شیوع بالای آن در مخزن طیور مهم‌ترین منبع عفونت در نظر گرفته می‌شود. یافته‌های تحقیقاتی نشان می‌دهد که *کمپیلوباکترها* توانایی وارد شدن به یک حالت

[1] *L. monocytogenes*

[2] Viable but non-culturable state

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

VBNC را دارند، و هم‌چنان «قابل حیات» هستند اما قادر به رشد در محیط‌های کشت نیستند(۱۳). با شناسایی ژن‌هایی خاص می‌توان پاسخ های فیزیولوژیکی این نوع از باکتری‌ها را تعیین نمود. یکی از ژن‌های دخیل دراین شرایط، ژن *RpoS* تنظیم کننده اصلی استرس و ژن دیگر*oxyR* است که تنظیم کننده *katG* است(۱۴, ۱۵). گونه‌های *پزودوموناس*، *انتروباکتریاسه* و باکتری‌های *اسید لاکتیک* مانند گونه‌های *کارنوباکتریوم*[1] و*لاکتوباسیل*ها ، در میان اغلب آلودگی‌های باکتریایی گزارش شده‌اند. اکثریت قریب به اتفاق نتایج منتشر شده برروی باکتری‌های بیماریزا متمرکز شده در حالی که میکروارگانیسم‌های دیگر به‌ندرت مورد بررسی قرار گرفته‌اند. شیوع *سالمونلا* و *کمپیلوباکتر*، و یا خصوصیات جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* از برش‌های مرغ در چندین کشور گزارش شده است(۱۶). از آنجایی‌که فراورده‌های گوشتی در انتقال باکتری‌ها به‌خصوص باکتری‌های زئونوز[2] به انسان نقش مهمی دارد وتنها تعداد کمی از مطالعات اختصاص به کل میکروبیولوژی گوشت مرغ داشته است، بنابراین در تحقیق حاضر برآن شدیم تا شایع‌ترین باکتری‌های قابل کشت و غیر قابل کشت، که متنوع بوده و نیز بخش مهمی از آنان به عنوان باکتری‌های پاتوژن به‌شمار می‌آیند و در انتقال به انسان نقش به‌سزایی دارند، در گوشت مرغ عرضه شده به صورت بسته بندی و غیربسته بندی در خرده فروشی‌ها و کشتارگاه‌های شهرستان بوانات با استفاده از روش‌های شیمیایی و مولکولی با کمک توالی پرایمر یونیورسال و ژن‌های استرس محیطی موثر در این گروه مورد بررسی قرار داده شود.

مواد وروش‌ها

نمونه‌گیری و جداسازی باکتری‌ها

در این تحقیق ۱۰۰ نمونه مختلف مرغ به صورت تازه و منجمد با برندهای مختلف در منطقه بوانات مورد ارزیابی قرار گرفت . برای این منظور با استفاده ازروش‌های شستشو، سواب و نیز تراشه‌های بافتی، به تفکیک از هرکدام ۱۰ نمونه تهیه گردید و در ظرف‌های جدا و استریل با برچسب‌های مشخص از طریق چرخه سرمایی به آزمایشگاه منتقل گردید(۱۷). در آزمایشگاه در شرایط کاملا استریل و زیر هود قطعات جامد مانند جگر، بخشهای گوشتی مانند ران و سینه به قطعاتی با وزن ۱۰g بریده شد. جهت غنی‌سازی از محیط‌های کشت نوترینت براث و گرم نگاتیو براث استفاده گردید. به این ترتیب که از نمونه‌های مایع تهیه شده توسط پیپت مدرج مقدار ۰/۵ml به محیط کشت‌های نوترینت براث و گرم نگاتیو براث تلقیح شد و به صورت چمنی کشت داده شد. همچنین قطعات گوشتی جداشده به وزن ۱۰gدر ۱۰ml محیط فوق به تفکیک اضافه گردید و به مدت ۷۲h دردمای۳۷°C در انکوباتور قرار داده شد(۱۸). با توجه به این‌که سویه‌هایی که توانایی ورود به مرحله VBNC را دارند در گروه باکتری‌های پاتوژن می‌باشند بنابراین از محیط‌های کشت اختصاصی و تمایزی جهت شناسایی اولیه باکتری‌ها استفاده و سپس تکنیک‌های مولکولی بر اساس ژن‌های موردنظر انجام شد. برای جداسازی اولیه از مانیتول سالت آگار، سالمونلا شیگلا آگار، ائوزین متیلن بلو، اسکیرو[3] و بلاد آگار استفاده گردید(۱۶, ۱۹, ۲۰). بدین منظور توسط لوپ استریل به روش کشت ایزوله(خطی)، محیط‌های کشت غنی که کدورت نشان دادند انتخاب و بر روی محیط‌های اشاره شده در بخش فوق کشت و کدگذاری شدند. سپس به مدت ۲۴-۴۸ h در دمای ۳۷°C انکوبه شد. ازآنجایی‌که امروزه *لیستریا* به عنوان یکی از باکتری‌های شایع و عوامل مهم در بخش صنایع غذایی به حساب می آید بنابراین در مرحله بعد لوله‌های حاوی محیط‌های کشت براث و نمونه ها به مدت ۷۲h در دمای ۴°C نگهداری شدند. بعد از گذشت سه روز از محیط‌های نوترینت براث و گرم نگاتیو براث توسط لوپ به روش کشت خطی برروی محیط پالکام آگار[4]

[1] *Carnobacterium*
[2] Zoonosis
3 Mannitol salt agar (MSA), Salmonella Shigella, Eosin Methylene Blue Agar, AgarSkirrow

4 Palcam agar

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

کشت داده شد(۲۱). محیط های کشت به مدت ۲۴-۴۸ h در دمای ۳۷°C انکوبه شدند. سپس کلنی‌های خالص از نظر مورفولوژی و با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی مورد شناسایی قرار گرفتند(۲۲, ۲۳). بعد از اتمام مدت زمان انکوباسیون ، پلیت‌های کشت داده شده مورد بررسی قرار گرفت و با توجه به تنوع کلنی‌ها بخصوص برروی بلاد آگار جدایه ها مجددا خالص سازی به مدت ۲۴-۴۸ h در دمای ۳۷°C انکوبه گردید. کلنی‌هایی که از نظر مورفولوژی، قوام و رنگ متفاوت بودند پس از خالص‌سازی جهت شناسایی اولیه مورد استفاده قرار گرفتند و بر اساس آزمون‌های رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، اکسیداز و کوآگولاز مورد شناسایی قرار گرفتند.

شناسایی جدایه‌ها به کمک تست‌های بیوشیمیایی

در این مرحله برای هرگروه از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی به تفکیک تست‌های بیوشیمیایی خاص انجام گرفت. برای باکتری‌های گرم منفی، جدایه‌ها در محیط‌های کشت سه قندی آهن دار[1]، محیط سولفید ایندول موتیلیتی[2]، سیمون سیترات آگار[3] ، متیل رد، ووژ پروسکوایر براث[4] تلقیح گردید و جهت شناسایی باکتریهای گرم مثبت از آزمونهای کشت در محیط DNAse، کشت در محیط آمیلاز، کشت در محیط ژلاتین و تست احیاء نیترات استفاده گردید(22و23).

استخراج DNA ژنومی درباکتری‌های قابل کشت

باتوجه به آزمایشات بیوشیمیایی، با حذف موارد تکراری تعداد۲۰محیط کشت از باکتری‌های رشد کرده انتخاب و جهت انجام آزمایشات مولکولی استفاده شدند. استخراج DNA ژنومی ایزوله‌ها با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت سیناژن انجام گرفت. در این مرحله محلول خالص DNA بدست آمد. ۶۰ µL از آن در دمای۲۰°C- نگه‌داری شد تا برای PCR مورد استفاده قرار گیرد(۲۴).

انجام مراحل PCR

در این تحقیق به دلیل مشخص نبودن دقیق جنس و گونه باکتری‌ها از پرایمر یونیورسال شرکت ماکروژن استفاده شد. آزمایش PCR درمخلوط واکنشی به حجم ۵۰ µL صورت گرفت. جهت تکثیر ژن۱۶SrRNA از آغازگرهای موجود در جدول۱ استفاده شد. معرف‌های مخلوط اصلی PCR به شرح زیر بود: ۵ µL بافر(۱۰X)، ۴ µL MgCl2 ، ۲ µL dNTP، ۲۰۰ µm/L، ۲ µL پرایمر، ۲-۱ µm/L ، ۴ µL DNA پلیمراز Taq، ۲ µL الگوی DNA و۳۱/۶ µL dH2O. فرآیند PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر، با چرخه پیش دناتوراسیون ۹۴ °C به مدت ۱min دقیقه و پس از آن مرحله تکثیر DNA با ۳۰ چرخه (۹۴ °C به مدت ۳۰s ، ۵۸ °C به مدت۱۵s و ۷۲ °C به مدت ۲۵s) وسپس چرخه نهایی تکثیر ۷۲ °C به مدت ۲min انجام شد(24).

جدول ۱. توالی پرایمر یونیورسال ۱۶SrRNA(24)

Primers	Sequence (5' to 3')	Product length
F	TACGGTTACCTTGTTACGACTT	1506bp
R	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	

آنالیز کیفی محصولات PCR

به منظور انجام الکتروفورز بر روی نمونه‌های مورد مطالعه ژل آگارز ۲ درصد در بافر TBE تهیه شد. ۰/۸ گرم آگارز با

[1] Triple sugar Iron Agar
[2] Sulfide-Indol-Motility(SIM)
[3] Simmons Citrate Agar
[4] Vegesproskaure Broth

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

۴۰CC بافر ۱XTBE تهیه و در دمای ۵۰-۶۰ °C، ۳ µL، DNA Safe Stain با غلظت ۱۰ mg/µl به آن افزوده و در داخل قالب ژل ریخته و بعد از تنظیم وسرد شدن و بستن ژل قالب درون تانک حاوی بافر ۱XTBE قرار داده شد. سپس نمونه ها درون چاهک‌ها ریخته شد. در اولین چاهک نیز از DNA Ladder مناسب استفاده گردید. به مدت ۴۵ دقیقه با ولتاژ ۸۰ v نمونه‌ها الکتروفورز شدند و موقعیت باندها توسط عکس‌برداری UV ترانس لومیناتور زیر اشعه ایکس مورد بررسی قرار گرفت. سپس جهت تعیین توالی DNA، ۲۰µL از محصول PCR به همراه پرایمر فوروارد برای تعیین توالی جهت شناسایی مولکولی بر اساس ۱۶SrRNA به شرکت ماکروژن کره ارسال شد.

شناسایی سویه‌های غیرقابل کشت بر اساس آزمون PCR

از آنجایی‌که در مرحله کشت و تشخیص بیوشیمیایی تعداد باکتری‌های قابل‌کشت جداسازی شده از نمونه‌های آب شستشوی مرغ‌ها کمتر از محتویات داخل شکم و قطعات جامد مرغ‌ها بود، بنابراین در این مرحله سه نمونه از آب شستشوی بعد از کشتار مرغ جهت تعیین بارمیکروبی باکتری‌های غیرقابل کشت استفاده گردید.

آزمایش مولکولی PCR جهت استخراج دو ژن اختصاصی *RpoS* و *OxyR*

در این مطالعه استخراج DNA باکتری بر اساس توضیحات فوق انجام و محلول حاوی DNA جهت آزمون واکنش زنجیره ایی پلی مراز مورداستفاده قرار گرفت. جدول شماره ۲ پرایمرهای مورد نیاز برای ژن‌های مورد ردیابی را نشان می‌دهد. پس از PCR محصول الکتروفورز بر روی ژل آگاروز ۲درصد انتقال یافت.

جدول ۲. پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر ژن‌های oxyR وRpoS(۳۳-۳۱)

ژن	Primers	Sequence (5' to 3')	PCR Product Length
OxyR Gene	F R	AGATGAGCTGGGCGTGATG CCATGTTGCGCAGAGTTTCC	572bp
RpoS Gene	F R	ATGATCGAGAGTAACTTGCGT ACGTTCAGCTCCTTTACGATGT	251bp

معرف‌های مخلوط اصلی PCR برای هردو ژن هدف به شرح زیر بود: ۱۲/۵ µL مخلوط بافر(۲X)، MgCl2، dNTP و DNA پلیمراز Taq، ۳ µL الگوی DNA به غلظت ۱۷ng، ۷/۵ µL dH2O و ۱ µL از هرکدام از پرایمرهای فوروارد و ریورس به غلظت ۱۰ Pm . آزمایش درمخلوط واکنشی به حجم ۲۵ µL صورت گرفت. فرآیند DNA با استفاده از دستگاه ترموسایکلر، برای ژن *OxyR* ، با چرخه پیش دناتوراسیون ۹۵ °C به مدت ۵ min انجام شد و پس از آن مرحله تکثیر DNA با ۳۰ چرخه (۹۵ °C به مدت ۲۰s، ۵۸/۴ °C به مدت ۱۵s و ۷۲°C به مدت ۱۵ s) و چرخه نهایی تکثیر ۷۲°C به مدت ۲min انجام شد؛ برای ژن *RpoS* و، با چرخه پیش دناتوراسیون ۹۵ °C به مدت ۵ min انجام شد و پس از آن مرحله تکثیر DNA با ۳۰ چرخه (۹۵ °C به مدت ۱۵ S، ۵۷/۶ °C به مدت ۱۰ S و ۷۲°C به مدت ۱۵ S) و چرخه نهایی تکثیر ۷۲°C به مدت ۲min انجام گرفت(۳۳-۳۱).

نتایج

شناسایی جدایه‌ها بر اساس آزمون‌های بیوشیمیایی

همان‌طور که در جدول ۳ نشان داده شده است سویه‌های باکتریایی گرم منفی و گرم مثبت از نمونه‌ها به تفکیک جداسازی و شناسایی گردید. شایع‌ترین جنس‌های شناسایی شده و درصد فراوانی آن‌ها بر اساس نتایج به‌دست آمده باکمک نرم افزار ABIS Encyclopedia بیانگر حضور باکتری گرم منفی *اشرشیا کولی*[1] با۲۰درصد بیشترین میزان و

[1] *Escherichia coli*

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

درمیان باکتری‌های گرم مثبت شایع‌ترین ارگانیسم جدا شده *استافیلوکوکوس*[1] با ۱۶درصد بوده است. دراین تحقیق سویه‌های شناسایی شده شامل: *اشرشیا*، *کلبسیلا*[2]، *شیگلا*[3]، *کلورا*[4]، *پروتئوس*[5]، *انتروباکتر*[6] *پزودوموناس*[7] می باشند هم‌چنین مهم‌ترین جنس‌های شناسایی شده در گروه باکتری‌های گرم مثبت شامل: *استافیلوکوکوس*[8]، *کورینه باکتریوم*[9]، *انتروکوکوس*[10] و *باسیلوس*[11] می باشند.

جدول ۳. شایع‌ترین جنس‌های شناسایی شده، تعداد و فراوانی آنها بر اساس تست‌های بیوشیمیایی انجام گرفته

کد	جنس و گونه	تعداد(از۲۵نمونه)	فراوانی (درصد)
SS-6,E-6,EN6,E-5,SN6	*اشرشیا کولی*	۵	۲۰
B-8	*کلبسیلا*	۱	۴
SK11,M-7	*شیگلا*	۲	۸
SS-5	*کلوورا*	۱	۴
SSN10,BMPS1	*پروتئوس*	۲	۸
BN5,B-3	*انتروکوکوس*	۲	۸
MN3, S-5	*پزودوموناس*	۲	۸
E-8, SS-8	*انتروباکتر*	۲	۸
E-3,M-5,M-6,MN11	*استافیلوکوکوس*	۴	۱۶
BN1,BN8, SSN3	*کورینه باکتریوم*	۳	۱۲
MN13	*باسیلوس*	۱	۴

SN6- محتویات داخل شکم مرغ سبز تازه روی محیط اسکیرو، E-5- تراشه بافتی مرغ سبز منجمد روی محیط EMB، EN6- محتویات داخل شکم مرغ سبز تازه- محیط EMB، E-6- محتویات داخل شکم مرغ سبزتازه روی محیط EMB، SS-6- محتویات داخل شکم مرغ سبزتازه روی محیط SS agar، B-8- تراشه بافتی مرغ سبز تازه محیط Blood، M-7- آب شستشوی مرغ سبز تازه روی محیط مانیتول سالت آگار، SK11- محتویات داخل شکم مرغ منجمد روی محیط اسکیرو، SS-5- تراشه بافتی مرغ سبز منجمدروی محیط SS agar، SSN10- آب شستشوی مرغ منجمد روی محیط SS agar، BMPS1- آب شستشوی مرغ تازه روی محیط Blood، BN5- تراشه بافتی مرغ سبز منجمد روی محیط Blood، B3- محتویات داخل شکم مرغ تازه روی محیط Blood، MN3- محتویات داخل شکم مرغ تازه روی محیط مانیتول سالت آگار، E-8- تراشه بافتی مرغ سبز تازه روی محیط EMB، SS-8- تراشه بافتی مرغ سبز تازه روی محیط SS agar، E3- محتویات داخل شکم مرغ تازه روی محیط EMB، M5- تراشه بافتی مرغ سبز منجمدروی محیط مانیتول سالت آگار، M6- محتویات داخل شکم مرغ سبز تازه روی محیط مانیتول سالت آگار، MN11- محتویات داخل شکم مرغ سبز منجمد روی محیط مانیتول سالت آگار، BN1- آب داخل بسته بندی مرغ تازه روی محیط Blood، BN8- تراشه بافتی مرغ سبز تازه روی محیط Blood، SSN3- محتویات داخل شکم مرغ تازه روی محیط SSagar، MN13- محتویات داخل شکم مرغ سبز منجمد روی محیط مانیتول سالت آگار.

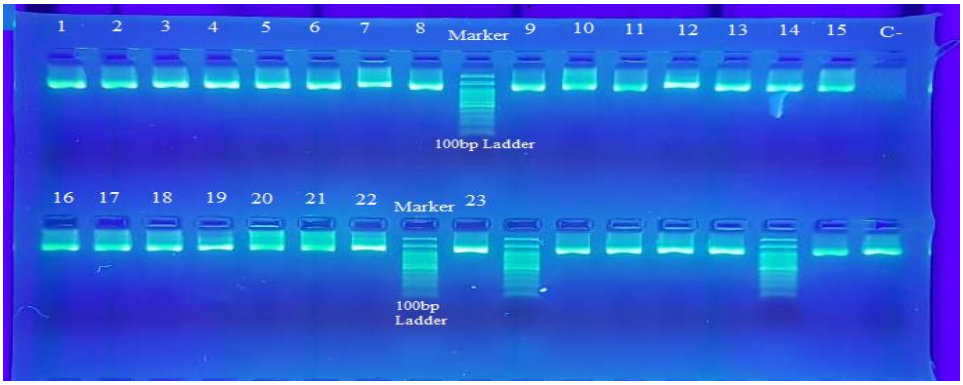
شناسایی جدایه‌ها به کمک آزمون‌های مولکولی

نتایج به‌دست آمده از استخراج DNA درشکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به داده‌های به‌دست آمده از سایت NCBI باکتری‌های قابل کشت شامل: *اشرشیا کولی*، *انتروباکتر*، *شیگلا*، *کلبسیلا*، *پروتئوس*، *آئروموناس*[12]، *استافیلوکوکوس*، *انتروکوکوس*[13] می باشند که جدول شماره ٤، درصد شباهت هر یک از جدایه‌ها همراه با توالی شناسایی آن‌ها را نشان می‌دهد. نتایج هم‌چنین بیانگر آن است که جدایه‌های شماره ۷ و ۱۰ قابلیت شناسایی توسط نرم افزار را نداشته است. جدایه‌های غیرقابل کشت شامل: *پزودوموناس*،

[1] *Staphilococcus*
[2] *Klebsiella*
[3] *Shigella*
[4] *Cholerae*
[5] *Proteus*
[6] *Enterobacte*
[7] *Pseudomonas*
[8] *Staphylococcus*
[9] *Corynebacterium*
[10] *Entrococcus*
[11] *Bacillus*
[12] *Aeromonas*
[13] *Entrococcus*

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

سایکروباکتر[1] *و اسینتوباکتر*[2]است که با توجه به شکل ۲ و ۳ به ترتیب شماره ۲۱-۲۲-۲۳ می باشند.



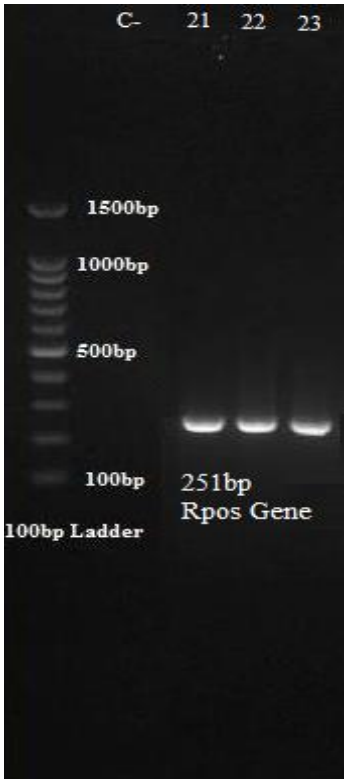
شکل ۱. ژل الکتروفورز استخراج DNA جدایه‌ها . M: مارکرهای ۱۰۰جفت بازی در وسط و کلیه جدایه‌های شماره گذاری شده از چاهک

۲۳-۱، به ترتیب ۱-*اشرشیا* ۲-*انتروباکتر* ۳-*اشرشیا کولی* ٤-*انتروباکتر* ٥-*شیگلا بویدی* ٦-*آئروموناس هیدروفیلا* ۷- -- ۸-*اشرشیا کولی* ۹-*کلبسیلا* ۱۰- -- ۱۱-*انتروکوکوس فیکالیس* ۱۲-*اشرشیاکولی* ۱۳-*اشرشیاکولی* ۱٤- *پروتئوس میرابیلیس* ۱٥- *شیگلا فلکسنری* ۱٦- *پروتئوس میرابیلیس* ۱۷- *انتروباکترتاباسی* ۱۸-*استافیلوکوکوس* ۱۹- *unculture bacterium* ۲۰- *unculture bacterium* ۲۱-*اسینتوباکتر* ۲۲-*پزودوموناس* ۲۳-*سایکروباکترآلیمنتاروس*

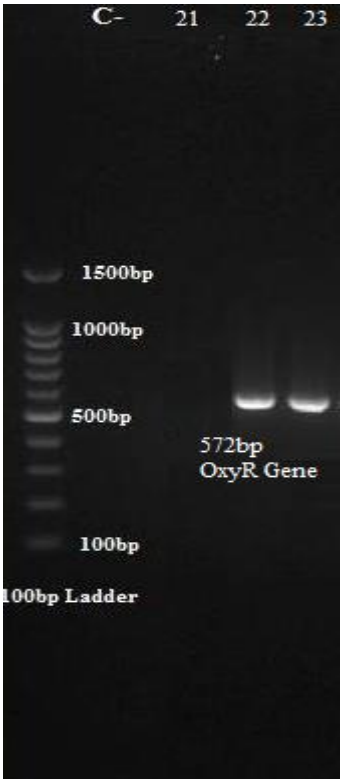
[1] *Psychrobacter*

[2] *Acinetobacter*

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]



شکل۲. ژل الکتروفورز ژن *Rpos*



شکل۳. ژل الکتروفورز ژن *OxyR*

۲۱- *گونه اسینتوباکتر* ۲۲- *گونه پزودوموناس* ۲۳- *سایکروباکترآلیمنتاروس*

جدول٤. ارگانیسم‌های شناسایی شده توسط آزمون مولکولی و درصد تشابه

شماره جدایه	نام باکتری	sequence ID	درصد همولوژی
۱	*Escherichia sp.* NSESC01	KT361199.1	98درصد
۲	*Enterobacter sp.* strain Md1-52	MF581458.1	99درصد
۳	*Escherichia coli* O103 str. RM10042	CP028122.1	98درصد
۴	*Enterobacter sp.* NK	KT215619.1	98درصد
۵	*Shigella boydii* strain NCTC 9733	CP026845.1	98درصد
۶	*Aeromonas hydrophila* strain AH10	CP011100.1	94درصد
۷	-		
۸	*Escherichia coli* strain ST540	CP007391.1	98درصد
۹	*Klebsiella sp.* KW10	HQ231951.1	99درصد
۱۰	-		
۱۱	*Enterococcus faecalis* strain CD1	GQ483456.1	94درصد
۱۲	*Escherichia coli* strain 2014C-3307	CP027368.1	93درصد
۱۳	*Escherichia coli* strain NADC 5570/86-24/6564	CP017251.1	97درصد
۱۴	*Proteus mirabilis* strain WWi82	MH396765.1	90درصد
۱۵	*Shigella flexneri* 4c strain 0702	CP020339.1	88درصد
۱۶	*Proteus mirabilis* strain BC11-24	CP026571.1	96درصد
۱۷	*Enterobacter tabaci* strain Y2	MF678856.1	95درصد
۱۸	*Staphylococcus sp.* Ap-6	DQ644498.1	95درصد
۱۹	Uncultured bacterium clone DYA25	EU982436.1	95درصد
۲۰	Uncultured organism clone ELU0075-T355-S-NIPCRAMgANa_000196	HQ774449.1	97درصد
۲۱	*Acinetobacter sp.* strain AL365	MG819294.1	86درصد
۲۲	*Pseudomonas sp.* B2085	JX266364.1	86درصد
۲۳	*Psychrobacter alimentarius* strain HB15	KC881247.1	91درصد

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

بحث

در تحقیق حاضر، طی مطالعه انجام شده در بازه زمانی ٦ماهه بر روی ۱۰۰ نمونه مرغ تازه و منجمد، تراشه‌های بافتی، محتویات شکمی، آب درون بسته‌بندی‌ها و آب شستشو، ۲۵سویه با مورفولوژی متفاوت شناسایی گردید. سویه‌ها به ترتیب: ۱۵ جدایه باکتریایی گرم منفی و ۱۰جدایه گرم مثبت بودند که از بین جدایه‌های مذکور بیشترین فراوانی مربوط به باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* با ۲۰درصد و از بین جدایه های گرم مثبت *استافیلوکوکوس آرئوس* با ١٦درصد بود. هم‌چنین جدایه‌ها موردآنالیز مولکولی قرارگرفتند و از بین ۲۵ جدایه تنها ۳ جدایه حاوی ژن‌های *RpoS* و دو جدایه *OxyR* مورد تایید قرار گرفت. براساس تحقیقات انجام شده توسط جلالی و عابدی (۲۰۰۸) در شهر اصفهان جمعاً ٦١٧نمونه از مواد غذائی مختلف را از نظر *لیستریا مونوسیتوژنز*[1] مورد آزمایش قرار دادند و گزارش آن‌ها حاکی از آلودگی ٦/۷ درصد از نمونه‌های گوشت و فرآورده‌های گوشتی است (۲۵) . هم‌چنین پس از آن کیورلجوسیک و همکاران[2] نیز در پژوهش خود در یک دوره شش ماهه از ژانویه تا ژوئن ۲۰۱۷ ، ازمجموع ۱۵ نمونه مرغ جمع‌آوری شده، سه نمونه *لیستریا مونوسیتوژنز* را جداسازی کردند. آنها برای تایید *لیستریا مونوسیتوژنز* در نمونه‌ها از آزمایشات بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی و هم‌چنین تکنیک PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی استفاده نمودند(۷). این در حالی است که در مطالعه لانتی و همکاران[3] (۲۰۲۰)، که با هدف اندازه‌گیری شیوع و منشاء بیماری لیستریوزیس در سطوح مختلف خط تولید طیور از ۱۵۶۰ نمونه مدفوع گرفته شده در مراحل مختلف زنجیره فرآوری، یعنی از سواب‌های کلوآکال در سطح مزرعه و پس از آن، هیچ نتیجه مثبتی (۰/۰۲۴،-0 CI) ثبت نشد(۱۰).

براساس آنالیز انجام شده در تحقیق حاضر نیز هیچ یک از جدایه ها متعلق به جنس *لیستریا* نبوده که این امر می تواند به دلیل تعداد نمونه ها و یا نوع نمونه و نحوه‌ی نمونه‌گیری باشد.

از طرف دیگر هانی و یهیا[4](۲۰۱۳)، ۱۰گونه *انتروباکتریاسه* از لوله گوارش مرغ جداسازی کردند. که شامل۳۵جدایه *اشرشیا کولی*(۵۸/۳۳ درصد) با بیشترین فراوانی، ۶جدایه *سالمونلا آریزونا*(۱۰درصد)، ۶جدایه *انتروباکتر کلوآسه*[5](۱۰درصد)، ۴جدایه گونه‌های *کلوورا*[6](۶/۶۶درصد)، ۲جدایه *کلبسیلا نومونیا*(۳/۳۳درصد)، ۲جدایه *انتروباکترآئروژینوزا*(۳/۳۳ درصد) و ۱جدایه *کلبسیلا اکسی کوتا*، ۱جدایه *سدسه لاپاجیی*[7]، ۱جدایه *لکلرسیا آدکربوکسیلات*[8](۱/۶۶ درصد) با کمترین فراوانی در لوله گوارش مرغ‌ها بود(۲۶). هم‌چنین حیاتی و همکاران[9] (۲۰۱۹) در پژوهش خود ، ۱۱ جدایه *کلبسیلا نومونیا*[10] را از سواب های کلوآک مرغ در مزارع مرغ در جاوه شرقی جدا کردند که تمام آن‌ها باکتری‌های مقاوم به چند دارو[11] بودند(۲۷). این در حالیست که بیشترین جدایه‌ی شناسایی شده در تحقیق حاضر نیز با فراوانی ۲۰ درصد مربوط به *اشریشیا کلی* بوده و۴درصد مربوط به *کلبسیلا* بوده است. حضور *اشریشیا* در تحقیقات مختلف و هم‌چنین تحقیق حاضر بیانگر کنترل ضعیف بهداشتی در مناطق مورد مطالعه می‌باشد. با نگاهی به پژوهش حاضر چنین نتیجه می‌شود که در روش کشت و تشخیص بیوشیمیایی، نمونه‌های تهیه شده به روش سوآپ و خراشیدن بافت جهت شناسایی وجداسازی باکتری‌ها بهتر از آب شستشوی مرغ‌ها[12] می باشد.

بخش بعدی تحقیق به شناسایی ارگانیسم‌های قابل کشت و غیر قابل کشت از نمونه های مرغ به کمک تکنیک مولکولی پرداخته شده است.

[1] *Listeria monocytogenes*
[2] Kureljušić *et al.*, 2017
[3] Lannetti *et al.*, 2020
[4] Hani and Yehia., 2013
[5] *Enterobacter cloacae*
[6] *Kluyvera*
[7] *Cedecea lapagei*
[8] *Lelercia adecarboxylate*
[9] Hayati *et al.*, 2019
[10] *Klebsiella pneumoniae*
[11] multi drug resistant
[12] Rinsing

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

می توان به پژوهش‌های انجام گرفته در کشور ایران به یافته‌های دستمالچی و همکاران ونیز ممتاز و همکاران[1] پرداخت(۲۸, ۲۹) که سایز مارکرها به ترتیب ۶۸۰ ، ۷۸۰ و ۷۳۰ جفت بازی را برای شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج مولکولی حاصل از تحقیق موجود حاکی از این است که از۲۵نمونه مورد آزمایش PCR، ۳جدایه باکتری‌های گرم مثبت شامل *استافیلوکوکوس اورئوس*(۴/۳۴درصد) و *انتروکوکوس*(۴/۳۴ درصد) و *سایکروباکتر* بوده است. سایر جدایه های مورد شناسایی متعلق به باکتری‌های گرم منفی و جنس‌های *اشرشیا کولی*(۲۱/۷ درصد)، *انتروباکتر*(۱۳/۰۲ درصد)، *شیگلا*(۸/۶۹ درصد)، *کلبسیلا*(۴/۳۴ درصد)، *پروتئوس*(۸/۶۹ درصد) و یک جدایه گرم منفی *آئرو موناس*(۴/۳۴ درصد) می‌باشد. فکرودین و همکاران[2](۲۰۱۳)، VBNCرا به عنوان مخزن مهمی برای بسیاری از عوامل بیماری‌زای انسانی در محیط زیست در نظر گفته و تعدادی باکتری‌های بیماری‌زا که می‌توانند وارد حالت VBNC شوند از جمله *آئروموناس هیدروفیلا، آگروباکتریوم تومفاسینس، کمپیلوباکتر ژژونی، انتروباکتر آئروژنز، انتروباکتر کلوآکه، انتروکوکوس فکالیس، اشریشیا کلی، هلیکوباکتر پیلوری، کلبسیلا پنومونیه، لژیونلا پنوموفیلا، لیستریا مونوسیتوژنز، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، پزودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی، سالمونلا تیفی موریوم، شیگلا، استرپتوکوک فکالیس، ویبریو کلرا* و...معرفی کردند (۳۰). از طرف دیگر ایزد پناه درپژوهش خود ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از پرایمر SrRNA ۲۳در شهرستان رشت مورد ارزیابی قرار داد و تمامی ایزوله‌ها باندهای تقریباً ۱۲۵۰جفت بازی را بر روی ژل آگارز از خود نشان دادند(۳۱). لین و همکاران[3](۲۰۱۷)، فرایندکلرزنی را در ایجاد حالت VBNC *اشریشیا کلی* و پایداری آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های VBNC بررسی کردند. آنها دریافتند ضدعفونی با دوز پایین کلر(۰/۵mg/l) به طور موثری کشت‌پذیری *اشریشیا کلی* را کاهش داده و حالتVBNC را القا می کند، فعالیت متابولیکی کاهش یافته و پایداری در برابر ۹ آنتی‌بیوتیک معمول افزایش می‌یابد. علاوه بر این، آنها بر اساس نتایج RT-qPCRنشان دادندتعدادی از ژن‌ها به ویژه ژن‌های مقاومت به استرس(*RpoS*)، در مقایسه با سلول‌های قابل کشت بیشتر بیان شده اند. غلظت درون سلولی را مورد بررسی قرار دادند و مشخص شد که در سلول‌های VBNC کمتر از *اشریشیا کلی* در حال رشد فعال است ، که نشان‌دهنده‌ی نرخ خروج بالاتر است(۳۲).

در این پژوهش، با مقایسه روش‌های تشخیص باکتری‌ها براساس کشت و تست های بیوشیمیایی و روش شناسایی مولکولی می‌توان نتیجه گرفت از ۲۳ نمونه مورد آزمایش ۱۶ جدایه با هر دو روش نتیجه یکسان نشان داده اند. بیشترین آلودگی توسط باکتری‌های گرم منفی ایجاد شده است و این باکتری‌ها از طریق مدفوعی دهانی انتقال می‌یابند. بنابراین می توان نتیجه گرفت که یا محتویات روده به خوبی تخلیه نشده اند یا سیستم‌های شستشو به خوبی عمل نمی‌کنند و بایستی مسیر شستشو و یا کانال‌های برش و بسته بندی مورد ارزیابی قرار گیرند. بنابراین می‌توان به مدت زمان حمل هرکدام از مرغ‌ها ی کشتارگاه‌ها و به محل توزیع اشاره نمود که چند ساعت به طول می‌انجامد و به دنبال آن سبدهای انتقال، فاکتور مهم دیگری است که بیانگر آلودگی مرغ‌ها در کشتارگاه و نوع بسته بندی آن‌ها است. علاوه بر این با توجه به این‌که سیستم ذبح، شستشو و بسته بندی هر کارخانه تا حدودی متفاوت می‌باشد می‌تواند در آلودگی نقش موثری داشته باشد و نتایج بیانگر آن است که مرغ‌های تازه آلودگی بیشتری نسبت به مرغ‌های منجمد نشان دادند.

از آنجایی که حالت باکتری‌ها در ارزیابی سلامت غذایی و در نتیجه سلامت عمومی حائز اهمیت است و

[1] Momtaz *et al.*, 2011
[2] Fakruddin *et al.*, 201۳
[3] Lin *et al.*, 201۷

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

باکتری‌های متعددی در شرایط استرس قادر به ورود به این مرحله می‌باشند روش‌هایی جهت شناسایی این نوع باکتری‌ها وجود دارد و تحقیقات متعددی در این زمینه انجام گرفته است.

باتستی و همکاران[1] (۲۰۱۵) دریافتند *RpoS* توسط باکتری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد تا به شرایط مختلف گرسنگی و استرس پاسخ دهد که به طور کلی "واکنش شدید" نامیده می‌شود. در این شرایط، سطح *RpoS* افزایش می‌یابد، که منعکس کننده تثبیت پروتئین و افزایش ترجمه می‌باشد. به علت طیف وسیعی از توابع وابسته به *RpoS*، یک استرس القاء *RpoS* می‌تواند مقاومت متقابل را فراهم کند .همان‌طور که سلول‌ها وارد فاز ثابت می‌شوند، برخی عوامل دیگر مانندگرسنگی، انباشت مواد سمی و تغییرات دیگر منجر به افزایش سطح *RpoS* می‌شود(۳۳). از طرف دیگر باتستی و همکاران اعلام نمودند که *اشرشیا کولی* با استفاده از فاکتور سیگما *RpoS*، در شرایط استرس یا گرسنگی برای تغییر برنامه رونویسی از یکی از عواملی که باعث زنده ماندن می‌شود، استفاده می‌کند. پژوهشگران دریافتندکه یک وقفه در متابولیسم مرکزی، از طریق حذف ژن کدگذاری پیرووات دهیدروژناز، منجر به افزایش قابل توجه *RpoS* در سلول های فاز نمایشی می‌شود. این نشانه متابولیک احتمالا از طریق کاهش مقدار استیل کوانزیمآ است. افزایش *RpoS* به‌وسیله تثبیت پروتئین *RpoS* و با تنظیم مقادیر بالا از سنتز *RpoS* و ارتباط این پاسخ استرس به حالت متابولیسم مرکزی است(۱۵). جمیله و همکاران[2] (۲۰۱۸)، بیان ژن‌های *OmpA*، *RpoS* و *Hfq* سویه Yrt۲a از باکتری *کرونوباکتر ساکازاکی* در طول تنش و حالت زنده اما غیرقابل کشت شیر خشک گروه‌های خاصی از نوزادان از نظر منتزیت و انتروکولیت نکروزان مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها مشاهده کردند در روزهای ٤ و ۱۰ انکوباسیون ژن*RpoS* بیان بالاتری نشان داد. که علت آن را مقابله باکتری با استرس و تنظیم سرعت ورود باکتری ها به حالت VBNC بیان کردند. نتایج نشان داد که سویه *Yrt ۲a* باکتری *کرونوباکتر ساکازاکی* ٢٤ روز پس از قرار گرفتن در معرض۲ ساعت تیمار خشکی، واردVBNC شد. آنها بیان کردند ژن‌های *Hfq*، *Rpos* و *OmpA*در شرایط استرس افزایش یافت و کرونوباکتر با موفقیت استرس را مدیریت کرده، قابلیت کشت‌پذیری و بیماری‌زایی خود را حفظ کرد(۳۴). ما در پژوهش موجود باکتری فوق را مشاهده نکردیم.

شلهرن[3](۲۰۲۰) منشأ *Rpos* را درکلادهای خاص *اشریشیا کولی* بررسی کرد. او در مطالعه خود جهت شناسایی ویژگی‌های رگولون*Rpos* نقش‌های بالقوه تخصصی‌تری برای آن، رونویسی و پروتئومیک را در کلادهای خاص *اشریشیا کولی* ارزیابی نمود. شلهرن بیان نمود در *اشریشیا کلی*، فاکتور سیگما جایگزین*Rpos* با کنترل بیان بسیاری از ژن‌هایی که سلول را از استرس محافظت و به سلول در جمع‌آوری مواد مغذی کمک می‌کنند، نقش محوری در سازگاری با بسیاری از شرایط رشد غیربهینه ایفا می‌کند. *Rpos*بسیاری از سیستم‌های ژنتیکی، از جمله سیستم‌های مؤثر بر بیماری‌زایی، صفات فنوتیپی از جمله مسیرهای متابولیکی و تشکیل بیوفیلم و بیان ژن‌های مورد نیاز برای زنده ماندن از محرومیت از مواد مغذی را کنترل می‌کند(۳۵). در پژوهش حاضر با توجه به ژن *Rpos*، *اشریشیا کولی* شناسایی نشد که می تواند به دلیل عدم ایجاد استرس محیطی و عدم بیان آن باشد.

هان و همکاران[4](۲۰۰۲)، بیان داشتند که ژنهای *ahpCD* و *OxyR* قابل جداسازی از *استرپتو مایسز کوالیکولور*[5] بودند و *OxyR* به عنوان تنظیم کننده مثبت این ژن‌ها پیشنهاد شد. در *استرپتو مایسز کوالیکولور*، ژن *OxyR* به طور متقاطع از اپرون *ahpCD* رونویسی شده همان‌طوری که در گونه‌های *استرپتومایسز ویریدوسپوروس*[6] و گونه‌های *میکوباکتریا* مورد

[1] Battesti *et al.*, 2015
[2] Jameelah *et al.*, 201۸
[3] Schellhorn *et al.*, ۲۰۲۰
[4] Hahn *et al.*, 2002
[5] *Streptomyces coelicolor*
[6] *S. viridosporus*

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

بررسی قرار گرفتند *OxyR* ، در*اشریشیاکلی* بیان خود را به عنوان تنظیم کننده منفی به‌طور خودکار انجام می‌دهد و بیان *OxyR* در مقایسه با افزایش ۱۰min اول تیمار شدن با H2O2 کاهش می‌یابد. در مقابل *استرپتو مایسز کوالیکولور* ، هر دو ژن *ahpCD* و *oxyR* بوسیله H2O2 وابسته به *OxyR* القا می‌شوند(۳۶, ۳۷).

از طرف دیگرنقش *OxyR* تنظیم کننده رونویسی H2O2 در بافت در پاسخ های استرس اکسیداتیو در*استرپتومایسز اورمیتیس*[1]توسط لیو و همکاران[2] (۲۰۱۶) مورد بررسی قرار گرفت. تحقیقات آن‌ها نشان داد وجود یک جهش حذفی *OxyR* نسبت به سوش WT در مقابل H2O2 و هیدروپراکسید ترتیبوتیل حساس‌تر می‌باشد. این امر نشان می‌دهد که *OxyR* واسطه سیستم ایمنی در برابر H2O2 و پراکسید آلی است. شواهد حاکی از این است که در سلول‌های تیمار شده با H2O2 خارجی، شکل اکسید شده *OxyR* بیان *ahpCD* را با اتصال به توالی پالندرومی منطقه پروموتر فعال می‌کند. هم‌چنین *OxyR* اکسید شده بیان سایر آنزیم‌های آنتی اکسیدان (*KatA1*، *KatA2*، *KatA3* و *OhrB1*) و تنظیم کننده‌های اکسیداتیواسترس (*CatR*، *OhrR* و *σR*) را القا می‌کند. علاوه بر این *sigR* ژن تنظیم کننده استرس تیواکسیداتیو توسط *OxyR* در سطح رونویسی است و نتیجه می‌گیریم که جهت رونویسی *sigR* از پروموتر وابسته به sR برای بیان یک فرم هم شکل بزرگتر ناپایدار sR در طول استرس اکسیداتیو، *OxyR* لازم است تا فعال شود. در پاسخ به استرس اکسیداتیو، *OxyR* تولید سریع آنزیم‌های تخریب کننده H2O2 جهت برطرف کردن آسیب‌های اکسیداتیوی از طریق تنظیم مستقیم و آبشار *CatR*، *OhrR* و *σR* تسهیل می‌کند(۱۵).

چونگ و همکاران۳(۲۰۱۶)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، رشد، تشکیل بیوفیلم و تحرک سلولی یک جهش‌یافته حذف *OxyR* و سویه مکمل ژنتیکی آن در *ویبریو پاراهمولیتیکوس* جدا شده از ماهی را مورد بررسی قرار دادند. آنهادریافتند مهار رشد این جهش‌یافته *OxyR* توسط پراکسیدهای بیرونی، قندهای اتوکلاو شده و فسفات‌ها توسط ژن مکمل *OxyR* یا با افزودن کاتالاز به محیط اتوکلاو شده از بین رفت، در حالی که هنگام استفاده از قندهای استریل شده با فیلتر، هیچ مهاری از رشد مشاهده نشد. تشکیل بیوفیلم و تحرک شنا در جهش‌یافته *OxyR* نسبت به سویه وحشی به طور قابل توجهی مهار شد. این تحقیق عملکرد آنتی‌اکسیدانی *OxyR* را در *ویبریو همولیتیکوس* و نقش‌های احتمالی آن در تشکیل بیوفیلم، تحرک سلولی و محافظت از رشد در محیط غنی از حرارت را نشان داد **(۳۸)**.

پس از آن چن و همکاران[4](۲۰۱۸)، برای درک استراتژی *ویبریو ولنیفیکوس* برای مقابله با استرس اکسیداتیو، ویژگی‌های ساختاری و مکانیسم *OxyR۲* را در سطح مولکولی تجزیه و تحلیل کردند. آن‌ها بیان داشتند ویبریو ولنیفیکوس دارای دو*OxyR* ، *OxyR۱* و *OxyR۲* است. *OxyR۲* نسبت به *OxyR۱* سطوح نسبتاً پایین‌تری از H2O2 را تشخیص می‌دهد. نتایج نشان داد که *OxyR۲* بیانprx2 (که پروتئین آنتی‌اکسیدان Prx2 را کدگذاری می‌کند)، را از طریق یک سوئیچ ردوکس سه حالته به شدت تنظیم می‌کند و در نتیجه از تولید بیهوده prx2 در سلول‌ها هنگام قرار گرفتن در معرض سطوح بالای H2O2 که برای غیرفعال کردن Prx2 کافی است، جلوگیری می‌کند. علاوه بر این، آنها با تعیین ساختار کریستالی *OxyR۲* مشخص کردند جایگزینی Gly حفظ شده در سایر*OxyR* ها با Glu204 در *OxyR۲ ویبریو ولنیفیکوس* باعث تغییر شکل پیوند پپتیدی قبل از باقیمانده Glu204 می‌شود که در نتیجه منجر به شکل گیری سفت و سخت زنجیره جانبی His 205 می‌شود. این ویژگی ساختاری منجر به حساسیت بالای H2O2 پروتئین که اساس عملکرد تنظیم کننده‌ها است، می شود(۳۹). این در حالی است که هیچ گونه‌ای از *ویبریو* بر اساس ژن *OxyR* در پژوهش حاضر شناسایی نگردید.

[1] *Streptomyces avermitilis*
[2] Liu *et al*., 2016
[3] Chung *et al*., 2016
[4] Chen *et al*., 2018

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

ال وی و همکاران[1] (۲۰۲۰)، نشان دادند که PMA-qPCR با استفاده از پروپیدیوم مونوزاید روش سریع، خاص و حساس برای تشخیص و تعیین کمیت *کمپیلوباکتر ژژونی* در محصولات طیور است و ژن *RpoB* را هدف قرار می‌دهد(۱۲).

تحقیقات در این زمینه ادامه یافت تا چودهاری و همکارانش[2](۲۰۲۴)، با بهره گیری از پیشرفت‌های تصویربرداری تک سلولی جهت دنبال کردن رفتار سلولی در یک محیط کنترل‌شده مداوم برای مدت طولانی بر پاسخ استرس اکسیداتیو *اشریشیا کلی* به پراکسید هیدروژن تمرکز کردند. آنها آزمایش‌ها را برای بیان تنظیم رونویسی ۳۱ ژن تنظیم‌شده توسط *OxyR* که به عنوان بخشی از پاسخ استرس اکسیداتیو شناسایی شده‌اند، ترکیب و دینامیک بیان ژن را با استفاده از میکروسکوپ مرور زمان از سلول‌های *اشریشیا کلی* تصویربرداری کردند. تجزیه و تحلیل آن‌ها بر روی "سلول‌های مرزی" متمرکز شد. مطالعه آنها نشان داد سلول‌های واقع در زیر سلول‌های مرزی، به دلیل جذب و جمع‌آوری کارآمد H2O2، غلظت‌های کاهشی H2O2 را تجربه کرده و در نتیجه پاسخ استرس کمتری نشان دهند. بخش دیگری از تحقیقات آنها ، مطالعه‌ی سویه‌ی AB1157 از *اشریشیا کلی* حامل جهش کهربایی در *Rpos* بود. این امر به آنها امکان داد نقش *OxyR* را در تنظیم ژن بدون تأثیر تنظیم فاز ثابت برخی از ژن‌های پاسخ به استرس اکسیداتیو توسط *Rpos* ، جدا کنند. مدل‌سازی و آزمایش‌ها نشان می‌داد که دینامیک اتصال *OxyR* همراه با اثرات استرس بر سرعت رشد سلول می‌تواند الگوهای مختلف تنظیم ژن را توضیح دهد(**٤٠**).

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد برخی باکتری‌ها مانند *اسینتوباکتر* و یا *سایکروباکتر* که در محیط‌های کشت قادر به رشد نبوده‌اند و قابل شناسایی نیستند را می‌توان از تکنیک شناسایی مولکولی و با بررسی ژن‌های اختصاصی شناسایی نمود. این باکتری‌ها عوامل بیماریزای پنهان هستند که در شرایط استرس قابلیت بقا و بیماریزایی خود را حفظ می‌کنند. در این تحقیق از ۲۳ نمونه تست مولکولی PCR، ۳ ایزوله *پزودوموناس*، *اسینتوباکتر* و *سایکروباکتر*، براساس آشکارسازی ژن *Rpos*، با باندهای به وزن ۲۵۱bp برروی ژل آگارز تشخیص داده شدند. همچنین[2] ایزوله *پزودوموناس* و *سایکروباکتر* براساس آشکار سازی ژن *OxyR*، با باندهایی به وزن ۵۷۲bp برروی ژل آگارز تایید شدند. بنابراین از آنجایی که صنعت غذا یکی از صنایع مهم در رابطه با سلامت جامعه می باشد پیشنهاد می‌شود که در آینده ارزیابی آلودگی میکروبی آب مورد استفاده در کارخانه‌ها و کشتارگاه‌های مرغ، با توجه به ردیابی ژنتیکی سویه‌های غیرقابل‌کشت کمک شایانی به شناسایی باکتری‌های موجود در مواد غذایی و یا مطالعه استرس باکتریایی با استفاده از مارکرهای ژنتیکی گردد.

نتیجه گیری کلی

از آنجاکه انسان‌ها همواره به دنبال راه‌هایی جهت افزایش کیفیت ایمنی غذاها و سلامتی جامعه هستند و در مقابل میکروارگانیسم‌ها نیز در حال تغییرات ژنتیکی و یافتن راه‌هایی جهت سازگاری با محیط زیست خود می‌باشند که از آن جمله می‌توان ورود به فاز غیرفعال و یا افزایش مقاومت چند دارویی را نام برد، یکی از راه‌های ارتقای سلامت افراد جامعه، شناسایی باکتری‌ها از طریق روش‌هایی با درصد اطمینان بالاتر مانند تکنیک‌های مولکولی است که مکمل تست‌های سنتی و تشخیصی بیوشیمیایی است. هم‌چنین نیاز ضروری و مبرم جهت ارزیابی دائمی و تصادفی از مواد غذایی در سطوح مختلف تولید، انتقال و عرضه به مشتری توسط نمایندگان وزارت بهداشت وجود دارد. هم‌چنین با توجه به جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم‌هایی مهم در این تحقیق به نظر می‌رسد که استفاده از فن‌آوری‌های روز دنیا درسیستم‌های مکانیزه تخلیه شکم، سردکن‌ها، سیستم‌های بسته بندی و وسایل حمل موادغذایی، جهت افزایش کیفیت ارگانولیتیکی مواد غذایی و افزایش مدت ماندگاری غذا را

[1] Lv *et al.*, 2019

[2] Choudhary *et al.*, 2024

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

می‌طلبد، به انضمام آن‌که فناوری‌های نوین و سیتسم‌های .
مرتبط با صنعت غذا نیز مورد آنالیز قرار گیرند.
.

.

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

منابع

.۱ Cox J, Pavic A. Advances in enteropathogen control in poultry production. Journal of Applied Microbiology. 2010;108(3):745-55.

.۲ Paghuhi Alamoti M, Mohammadzadeh, A., Khanjari, A. Investigation of microbial contamination of broiler carcasses during the slaughter line of Hamedan Industrial Slaughterhouse. Veterinary Journal, No 103,. 2014.

.۳ Escudero-Gilete M, González-Miret M, Temprano RM, Heredia F. Application of a multivariate concentric method system for the location of Listeria monocytogenes in a poultry slaughterhouse. Food Control. 2007;18(1):69-75.

.٤ Gill C, Badoni M. Recovery of bacteria from poultry carcasses by rinsing, swabbing or excision of skin. Food Microbiology. 2005;22(1):101-7.

.٥ Cruz-Romero M, Murphy T, Morris M, Cummins E, Kerry J. Antimicrobial activity of chitosan, organic acids and nano-sized solubilisates for potential use in smart antimicrobially-active packaging for potential food applications. Food Control. 2013;34(2):393-7.

.٦ Cruz-Romero M, Kerry JP. Packaging systems and materials used for meat products with particular emphasis on the use of oxygen scavenging systems. Emerging technologies in meat processing: production, processing and technology. 2017:231-63.

.٧ Kureljušić J, Roković N, Jezdimirović N, Kureljušić B, Pisinov B, Karabasil N, editors. Isolation and detection of Listeria monocytogenes in poultry meat by standard culture methods and PCR. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science; 2017: IOP Publishing.

.٨ Parra A, Toro M, Jacob R, Navarrete P, Troncoso M, Figueroa G, et al. Antimicrobial effect of copper surfaces on bacteria isolated from poultry meat. brazilian journal of microbiology. 2018;49(suppl 1):113-8.

.٩ Cao X, Wang Y, Wang Y, Ye C. Isolation and characterization of Listeria monocytogenes from the black-headed gull feces in Kunming, China. Journal of Infection and Public Health. 2018;11(1):59-63.

.١٠ Iannetti L, Schirone M, Neri D, Visciano P, Acciari VA, Centorotola G, et al. Listeria monocytogenes in poultry: Detection and strain characterization along an integrated production chain in Italy. Food microbiology. 2020;91:103533.

.١١ Oliver JD. The public health significance of viable but nonculturable bacteria. Nonculturable microorganisms in the environment. 2000:277-300.

.١٢ Lv R, Wang K, Feng J, Heeney DD, Liu D, Lu X. Detection and quantification of viable but non-culturable Campylobacter jejuni. Frontiers in microbiology. 2020;10:2920.

.١٣ Reichelt B, Szott V, Stingl K, Roesler U, Friese A. Detection of viable but non-culturable (VBNC)-Campylobacter in the environment of broiler farms: innovative insights delivered by propidium monoazide (PMA)-v-qPCR analysis. Microorganisms. 2023;11(10):2492.

.١٤ Li L, Mendis N, Trigui H, Oliver JD, Faucher SP. The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. Frontiers in microbiology. 2014;5:258.

.١٥ Liu X, Sun M, Cheng Y, Yang R, Wen Y, Chen Z, et al. OxyR is a key regulator in response to oxidative stress in Streptomyces avermitilis. Microbiology. 2016;162(4).١٦-٧٠٧:

.١٦ Capita R, Alonso-Calleja C, Prieto M. Prevalence of Salmonella enterica serovars and genovars from chicken carcasses in slaughterhouses in Spain. Journal of Applied Microbiology. 2007;103(5):1366-75.

.١٧ Rouger A, Remenant B, Prévost H, Zagorec M. A method to isolate bacterial communities and characterize ecosystems from food products: validation and utilization in as a reproducible chicken meat model. International Journal of Food Microbiology. 2017;247:38-47.

.١٨ Soltan Dalal MV, S. Zeraati ,H. Bakhtiari, R. Khalifah Gholi, M. Izadpour, F. Rouhani Rankouhi, Z. Nowruz Babaei, H. Kafashi, T. Fazeli, S. P. Kamkar, A. Comparison of the prevalence of microbial contamination of packaged and non-packaged red meat and

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

poultry in retailers and chain stores in southern Tehran. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd 2007:Volume 15, Issue 1, Spring 2007, Pages 35-43.

.۱۹ Guyard-Nicodème M, Tresse O, Houard E, Jugiau F, Courtillon C, El Manaa K, et al. Characterization of Campylobacter spp. transferred from naturally contaminated chicken legs to cooked chicken slices via a cutting board. International journal of food microbiology. 2013;164(1):7-14.

.۲۰ Mosa MI, Salem HM, Bastamy MA, Amer MM. The potential diversity of intestinal Enterobacteriaceae in broiler chickens is associated with infectious bursal disease virus infection. Egyptian Journal of Veterinary Sciences. 2024;55(4):917-30.

.۲۱ Goh SG, Leili A-H, Kuan CH, Loo YY, Lye YL, San Chang W, et al. Transmission of Listeria monocytogenes from raw chicken meat to cooked chicken meat through cutting boards. Food Control. 2014;37:51-5.

.۲۲ Amanloo S, Rashki, Z. Coagulase Performance standard for the determination of antimicrobial susceptibility by the disk diffusion method, . Microbiology Laboratory Workbook Jame'e-Negar Publications. 2012.:pp. 89-97.

.۲۳ al. JKe. Practical Guide to Bacteriology Laboratory. . Payam Sobhan Publications Coagulase Catalase Oxidase. 2012. .

.۲٤ Barghouthi SA. A universal method for the identification of bacteria based on general PCR primers. Indian journal of microbiology. 2011;51:430-44.

.۲۵ Jalali M, Abedi D. Prevalence of Listeria species in food products in Isfahan, Iran. International journal of food microbiology. 2008;122.٤٠-٣٣٦:(٣)

.۲٦ Yehia HM, Riyadh K, Arabia S. Antimicrobial resistance patterns of Enterobacteriaceae and non-Enterobacteriaceae isolated from poultry intestinal. Life Sci J. 2013;10(1):3438-46.

.۲۷ Hayati M, Indrawati A, Mayasari NLPI, Istiyaningsih I, Atikah N. Molecular detection of extended-spectrum β-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae isolates of chicken origin from East Java, Indonesia. Veterinary world. 2019;12(4):578.

.۲۸ Saei HD, Ahmadi M, Mardani K, Batavani R. Molecular typing of Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis based on polymorphism of the coagulase gene in the north west of Iran. Veterinary microbiology. 2009;137(1-2):202-6.

.۲۹ Momtaz H, Tajbakhsh E, Rahimi E, Momeni M. Coagulase gene polymorphism of Staphylococcus aureus isolated from clinical and sub-clinical bovine mastitis in Isfahan and Chaharmahal va Bakhtiari provinces of Iran. Comparative clinical pathology. 2011;20:519-22.

.۳۰ Fakruddin M, Mannan KSB, Andrews S. Viable but nonculturable bacteria: food safety and public health perspective. International Scholarly Research Notices. 2013;2013(1):703813.

.۳۱ Izad Panah R. Study of Coa gene diversity in Staphylococcus aureus isolated from clinical samples in Rasht. . Thesis for obtaining a master's degree Field: Cellular and Molecular Biology, Major: Microbiology. 2015.

.۳۲ Lin H, Ye C, Chen S, Zhang S, Yu X. Viable but non-culturable E. coli induced by low level chlorination have higher persistence to antibiotics than their culturable counterparts. Environmental Pollution. 2017;230:242-9.

.۳۳ Battesti A, Majdalani N, Gottesman S. Stress sigma factor RpoS degradation and translation are sensitive to the state of central metabolism. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2015;112(16):5159-64.

.۳٤ Jameelah M, Dewanti-Hariyadi R, Nurjanah S. Expression of rpo S, omp A and hfq genes of Cronobacter sakazakii strain Yrt2a during stress and viable but nonculturable state. Food science and biotechnology. 2018;27(3):915-20.

.۳۵ Schellhorn HE. Function, evolution, and composition of the RpoS regulon in Escherichia coli. Frontiers in microbiology. 2020;11:560099.

.۳٦ Hahn J-S, Oh S-Y, Roe J-H. Role of OxyR as a peroxide-sensing positive regulator in Streptomyces coelicolor A3 (2). Journal of bacteriology. 2002;18.٢٢-٥٢١٤:(١٩)٤

.۳۷ Hahn J-S, Oh S-Y, Roe J-H. Role of OxyR as a Peroxide-Sensing.

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]

.۳۸ Chung C-H, Fen S-y, Yu S-C, Wong H-c. Influence of oxyR on growth, biofilm formation, and mobility of Vibrio parahaemolyticus. Applied and environmental microbiology. 20.۹٦-۷۸۸:(۳)۸۲;۱٦

.۳۹ Chen S, Li X, Wang Y, Zeng J, Ye C, Li X, et al. Induction of Escherichia coli into a VBNC state through chlorination/chloramination and differences in characteristics of the bacterium between states. Water Research. 2018;142:279-88.

.٤۰ Choudhary D, Foster KR, Uphoff S. The master regulator OxyR orchestrates bacterial oxidative stress response genes in space and time. Cell systems. 2024;15(11):1033-45. e6.

[Downloaded from amfi.ir on 2026-01-29]