

شناسایی، سروتایپینگ و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های سالمونلا به دست آمده از سگ های بدون صاحب در تهران

نادر عسکری^۱، سیامک مشهدی رفیعی^{۲*}، کیومرث امینی^۳

۱- گروه بیماری های داخلی دام های کوچک و رادیولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲- استادیار گروه بیماری های داخلی دام های کوچک و رادیولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۳- دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۲۲

چکیده

سالمونلا یکی از عوامل اسهال حاد تا مزمن و بعضاً مرگ در برخی از حیوانات و انسان می باشد. سالمونلوز یک بیماری زئونوز است که ممکن است به دنبال تماس با حیوانات در انسان بروز یابد. سگ ها می توانند حاملین بدون علامت و یا همراه با علائم بالینی برای سالمونلا باشند و عامل را به محیط دفع نمایند. لذا هدف از انجام این مطالعه، شناسایی، سروتایپینگ و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های سالمونلا به دست آمده از سگ های بدون صاحب در تهران می باشد. در این مطالعه از ابتدای بهار سال ۱۳۹۴ تا اول پاییز سال ۱۳۹۵، تعداد ۱۰۰ نمونه سواب از مدفوع سگ های دارای علائم بالینی مشکوک به سالمونلوز و ۱۰۰ نمونه سواب از مدفوع سگ های ظاهر سالم از یک پناهگاه حیوانات بی سرپرست در اطراف تهران اخذ شد. نمونه ها در محیط های کشت غنی کننده، افتراقی و اختصاصی کشت داده شد و جدایه های مشکوک توسط تست های بیوشیمیایی جهت تأیید مورد ارزیابی قرار گرفت. جدایه های سالمونلا با کمک روش PCR از نظر جنس تأیید شدند و از نظر سروتایپ مورد ارزیابی قرار گرفتند. الگوی مقاومت جدایه های سالمونلا علیه آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، آمیکاسین و استرپتومایسین مشخص شد. فراوانی جنس سالمونلا در میان سگ های به ظاهر سالم، و سگ های دارای علائم مشکوک به سالمونلوز به ترتیب دو و ۹ درصد بود. از میان ۱۱ جدایه سالمونلا، ۷ مورد سالمونلا تیفی موریوم و ۴ مورد سالمونلا انتریتیدیس می باشد. در این مطالعه، سالمونلا انتریتیدیس به طور فراوانی نسبت به جنتامایسین و سالمونلا تیفی موریوم به شکل قابل توجهی نسبت به آمیکاسین دارای مقاومت آنتی بیوتیکی بود. هیچ تفاوت معنی داری بین سرووارها بر اساس مقاومت آنتی بیوتیکی مشاهده نشد. به نظر می رسد پناهگاه های نگهداری سگ های ولگرد، سالمونلا یک منبع بالقوه از جنس سالمونلا برای انسان به شمار می رود که یک نگرانی برای بهداشت عمومی محسوب می گردد. سیپروفلوکساسین و استرپتومایسین، آنتی بیوتیک های موثر بر سالمونلا شناسایی شدند، البته مصرف بیش از حد این آنتی بیوتیک ها نباید مورد غفلت قرار گیرد.

کلمات کلیدی: سالمونلا، سگ، مقاومت آنتی بیوتیکی

* نویسنده مسئول: سیامک مشهدی رفیعی

آدرس: گروه بیماری های داخلی دام های کوچک و رادیولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

پست الکترونیک: smrafie@srbiau.ac.ir

مقدمه

پاتوژن های ایجاد کننده عفونت های روده ای از مهم ترین معضلات سلامت در حیوانات و انسان شناخته شده اند (۲۸). سالمونلا به عنوان یک پاتوژن روده ای، از عوامل مهم بیماری های گوارشی شامل اسهال های حاد تا مزمن در میزبانان مختلف می باشد (۲۴). سالمونلوز یک بیماری زئونوز است که می تواند در انسان به دنبال ارتباط با حیوانات بروز یابد (۱۶)، به گونه ای که حدود ۹ درصد از موارد سالمونلوز در انسان به دلیل ارتباط با حیوانات ایجاد می گردد (۱۲). بنابراین سالمونلا هم از نظر اقتصادی در حیوانات و هم از نظر سلامت عمومی در انسان اهمیت فراوانی دارد.

شیوع سالمونلا در بسیاری از حیوانات را نمی توان به طور دقیقی مشخص نمود، چرا که معمولاً حیوانات می توانند حامل هایی بدون علامت برای این پاتوژن باشند و آن را به محیط دفع نمایند (۷). در این مطالعه بر روی میزبان سگ تمرکز شده است. در مطالعات مختلف شیوع سالمونلا در سگ های به ظاهر سالم و بیمار بین ۱ تا ۳۵ درصد تخمین زده شده است (۵، ۶). سالمونلوز بالینی در سگ ها نادر است، اما در صورت بروز، علائم بالینی می تواند شامل تب (۴۰ تا ۴۱/۱ درجه سانتی گراد)، بی اشتها، اسهال، اسهال خونی، درد شکم و سقط جنین باشد (۵، ۱۵). شایع ترین نوع سالمونلوز در سگ ها فرم تحت بالینی می باشد که در آن سگ های ظاهراً سالم این باکتری را از مدفوع خود دفع می کنند و در نتیجه محیط را آلوده می نمایند (۵، ۱۵). در موارد بالینی سالمونلوز در سگ، ابتلا و درگیری در توله سگ ها ۱۰۰ درصد و مرگ و میر نزدیک به ۴۰ درصد گزارش شده است (۱۷).

با توجه به اهمیت بسیاری از حیوانات به ویژه گوشتخواران در انتشار سالمونلا به عنوان حاملان، بیشتر

مطالعات انجام شده در ایران و سایر کشورهای دنیا بر آلودگی جمعیت های طیور به سالمونلا متمرکز بوده است. متأسفانه اطلاعات اندکی پیرامون اپیدمیولوژی سالمونلوز در سگ ها و انتقال آن به انسان در ایران وجود دارد. لذا اطلاعات جدیدتر می تواند تا حدی راهگشای درک بهتر بیماری سالمونلوز در حیوانات خانگی مثل سگ ها و انتقال آن به انسان باشد. بنابراین هدف از انجام این مطالعه، شناسایی، سروتایپینگ و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های سالمونلا به دست آمده از سگ های بدون صاحب در تهران می باشد.

مواد و روش کار

جمع آوری نمونه و جداسازی باکتری

در این مطالعه از ابتدای بهار سال ۱۳۹۴ تا اول پاییز سال ۱۳۹۵، تعداد ۱۰۰ سواب مقعدی از سگ های دارای علایم بالینی که شامل اسهال، بی اشتها، تب و ۱۰۰ سواب مقعدی از سگ های ظاهراً سالم (که در آن ها عفونت بالینی وجود ندارد) از یک پناهگاه حیوانات بی سرپرست در اطراف تهران اخذ شد. از تمامی سگ های مورد مطالعه نمونه ی خون هم گرفته شد. سواب ها در محیط انتقالی ایمیس (مرک، آلمان) در کنار یخ در کمتر از ۶ ساعت به آزمایشگاه منتقل شد. در ابتدا جهت غنی سازی اولیه نمونه ها مستقیماً در محیط راپاپورت واسیلیادیس (مرک، آلمان) کشت داده شدند. مطالعه ی سلطان دلال و همکاران (۲۰۱۱) نشان می دهد که احتمال جداسازی از نمونه های غنی سازی شده در محیط راپاپورت واسیلیادیس نسبت به نمونه های غنی سازی شده در محیط های ترایتونات برات و سلنیت اف برات یا سلنیت سیستمین برات بیشتر است (۲۷). پس از ۶ تا ۱۲ ساعت انکوباسیون (۳۷°C)، از این محیط روی محیط های انتخابی مک کانکی (مرک،

مشکوک به سالمونلا و ردیابی سه سروتیپ سالمونلا انتریتیدیس، سالمونلا تیفی موریوم و سالمونلا اینفنتیس با کمک PCR سیمپلکس، از توالی پرایمرهای معرفی شده در مطالعه‌ی مقدم و همکاران در سال ۲۰۱۷ (۱۸) استفاده شد (جدول ۱). در آزمایش PCR از سویه‌ی سالمونلا موجود در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران به عنوان مثبت برای جنس سالمونلا و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده شد. بر اساس حجم هر واکنش PCR، ۲۵ μl بود و برای تأمین ترکیبات مورد نیاز برای هر واکنش از مسترمیکس آماده ۲× (پارس توس، ایران) استفاده گردید. نهایتاً ۵ μl DNA که تأمین کننده‌ی ۱ تا ۱۰ ng/μl DNA می باشد و آب مقطر تا حجم مورد نظر در هر واکنش استفاده شد. برنامه‌ی دمایی نیز بر اساس مطالعه‌ی مقدم و همکاران در سال ۲۰۱۷ تنظیم گردید و توسط دستگاه ترمال سایکلر (بیوراد، ایالات متحده) فراهم شد (۱۸). در نهایت محصولات PCR با ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۵۰ دقیقه در ژل آگاروز ۱/۵ درصد الکتروفورز گردید و پس از رنگ آمیزی با رنگ فلورسنس Green Viewer® (پارس توس، ایران)، با کمک ژل داک ۱۰۰۰ (ویلبر لورمات، فرانسه) عکس برداری و آنالیز گردید.

آلمان) و سالمونلا-شیگلا آگار (مرک، آلمان) کشت خطی انجام شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (۳۷°C)، از هر محیط ۳ پرگنه‌ی تک، غیر تخمیر کننده‌ی لاکتوز و تولید کننده‌ی هیدروژن سولفید به عنوان جدایه‌های مشکوک به سالمونلا انتخاب گردید. پرگنه‌های مشکوک از نظر ویژگی‌های بیوشیمیایی در محیط‌های اوره آگار، TSI (triple sugar iron agar)، SIM (sulfide indole motility)، MR-VP (methyl red voges-proskauer test) و سیترات مورد بررسی قرار گرفتند (۱۴). در نهایت جدایه‌های گرم منفی که تست‌های بیوشیمیایی آن‌ها عبارت بودند از اوره آز منفی، باز روی اسید در TSI، MR-مثبت، VP-منفی تولید کننده‌ی ایندول و هیدروژن سولفید، به عنوان باکتری سالمونلا مورد تایید قرار گرفتند و از این میان به ازای هر نمونه ۲ جدایه، در دمای ۸۰°C- در محیط کشت لوریا برتانی براث (مرک، آلمان) حاوی ۲۵ درصد گلیسرول برای مراحل بعد ذخیره شد (۱۱).

ردیابی مولکولی باکتری سالمونلا با کمک PCR

به منظور تایید جدایه‌های مشکوک به سالمونلا از PCR بهره گرفته شد. برای این منظور از کیت استخراج DNA از باکتری‌های گرم منفی (سیناکلون، ایران) استفاده شد و نمونه‌های DNA استخراج شده در دمای ۲۰°C-، نگهداری شد. برای تأیید مولکولی جدایه‌های

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی سروتیپ‌های سالمونلا

نام باکتری	نام ژن	توالی (۵'-۳')	طول قطعه	دمای اتصال
<i>Salmonella. spp</i>	<i>inva</i>	F:GTGAAATTATCGCCACGTTTCGGGCAA R:TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	۲۸۵	۶۰
<i>S. Typhimorium</i>	<i>flic</i>	F:CGGTGTTGCCAGGTTGGTAAT R:ACTCTTGCTGGCGGTGCGACTT	۵۵۹	۶۰
<i>S. Enteritidis</i>	<i>sdfI</i>	F:TGTGTTTTATCTGATGCAAGAGG R:TGAACACTACGTTCTTCTGG	۳۰۴	۵۶
<i>S. Infantis</i>	<i>fljB</i>	F: AACAAACGACAGCTTATGCCG R: CCACCTGCGCCAACGCT	۷۳۴	۵۶

تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی

ابتدا کدورت باکتری های کشت داده شده در محیط کشت مولر هینتون براث (مرک، آلمان) با استاندارد نیم مک فارلند تطابق داده شد و با استفاده از یک سواب استریل سوسپانسیون باکتری را بر روی سطح پلیت حاوی مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) ۳ بار با زاویه ۴۵ درجه به صورت چمنی کشت داده شد. سپس توسط پنس استریل نوار E-test را که هر کدام معرف یک نوع آنتی بیوتیک بود به آرامی بر روی محیط کشت قرار داده و پس از گذشت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در ۳۵ درجه سانتی گراد کمترین غلظت ممانعت از رشد بر اساس درجه بندی روی نوار E-test گزارش شد. سپس با مراجعه به جدول ارائه شده توسط شرکت سازنده نوارهای E-test (بایو دیسک، سوئد) حساسیت باکتری ها به آنتی بیوتیک های مذکور تعیین گردید. آنتی بیوتیک هایی که در این مطالعه جهت تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی مورد سنجش قرار گرفت شامل سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، آمیکاسین و استرپتومایسین بودند که بر اساس مصرف زیاد آن ها در جوامع انسانی و احتمال حضور باقیمانده ی آن ها در محیط و مواد غذایی انتخاب شدند.

آنالیز آماری

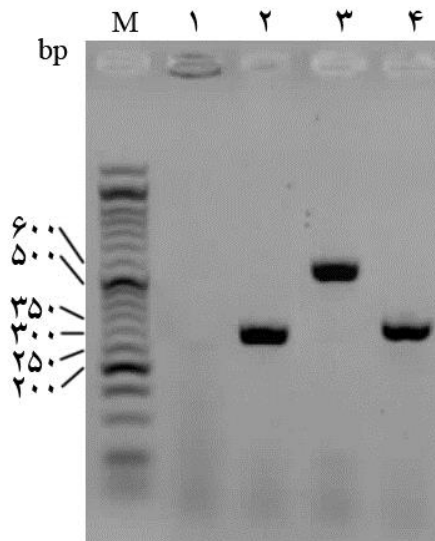
در این مطالعه برای بررسی توصیفی متغیر های کمی از میانه و دامنه و برای متغیر های کیفی از فراوانی و درصد فراوانی استفاده شد. از تست کای مربع و تست دقیق فیشر برای بررسی ارتباط متغیر های کیفی استفاده شد. تمامی آنالیزهای آماری در نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام شد و p کوچکتر از ۰/۰۵ به عنوان معنی داری از نظر آماری تلقی شد.

نتایج

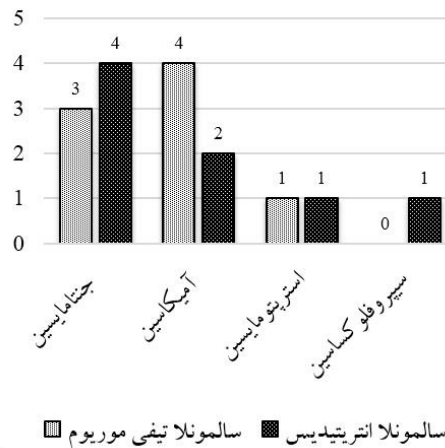
در این مطالعه ۱۰۰ سگ سالم از نظر علائم بالینی و ۱۰۰ سگ با علائم دل درد و اسهال نمونه گیری شد. پس از اخذ نمونه ها و کشت دادن آن ها در محیط های کشت اختصاصی، قرائت نتایج صورت گرفت. بر این اساس از ۱۰۰ نمونه سواب مدفوع مربوط به سگ های دارای علائم بالینی مشکوک، ۹ نمونه (۹ درصد) از نظر وجود سالمونلا مثبت ارزیابی گردید. نتایج کشت در تکرار دوم نیز یکسان بود. این نتیجه در مورد همین تعداد نمونه سواب از سگ های ظاهرا سالم تعداد ۲ نمونه مثبت (۲ درصد) بود. لذا نتیجه کشت در گروه دارای علائم بیماری به طور معنی داری بیشتر از گروه بظاهر سالم بود ($p=0.03$).

از میان ۱۱ نمونه مثبت از نظر وجود سالمونلا، ۷ مورد سالمونلا تیفی موریوم و ۴ مورد سالمونلا انتریتیدیس می باشد (شکل ۱). نتیجه کشت خون در محیط اختصاصی در سگ های مشکوک بالینی و در سگ های سالم همگی منفی بودند. هیچ تفاوت معنی داری بین سرووارها از نظر مقاومت آنتی بیوتیکی مشاهده نشد ($p>0.05$). هیچ تفاوت معنی داری بین سگ های سالم و مشکوک بالینی از نظر نوع سرووار مشاهده نشد ($p>0.05$).

در مورد نتایج مقاومت آنتی بیوتیکی بیشترین مقاومت در مورد سالمونلا انتریتیدیس به جنتامایسین و در مورد سالمونلا تیفی موریوم به آمیکاسین مشاهده شد (شکل ۲). هیچ تفاوت معنی داری بین سرووارها از نظر مقاومت آنتی بیوتیکی مشاهده نشد ($p>0.05$).



شکل ۱: الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد، M: مارکر (۵۰ bp)، ۱: کنترل منفی، ۲: ژن *inva* با وزن ۲۸۵bp (S. Enteritidis)، ۳: ژن *flic* با وزن ۵۰۹bp (S. Typhimurium)، ۴: ژن *sdfI* با وزن ۳۰۴bp (S. Enteritidis)



شکل ۲: فراوانی مقاومت به آنتی بیوتیک های مورد بررسی در ۱۱ سویه ی جدا شده از سگ های مور مطالعه

بحث

(۱، ۲). با این وجود سروتیپ سالمونلا تیفی موریوم دارای غالبیت بیشتری است که از بیشتر سگ ها جدا شده است (۲۱، ۲۴، ۲۵، ۲۶). لذا احتمال بروز موارد انسانی سالمونلوز ناشی از سالمونلا تیفی موریوم با تماس احتمالی با مدفوع سگ های آلوده کاملاً مطرح می باشد، با این وجود مصرف مواد غذایی تولید شده از طیور یا آلوده به سالمونلاهای جدا شده از طیور، عامل اصلی رخداد سالمونلوز انسانی هستند (۲۴). سگ های ولگرد شهرها و روستاها که از منابع غذایی آلوده مانند گوشت مرغ خام و یا ضایعات آن تغذیه می کنند یکی

بر اساس گزارش سالانه دپارتمان کشاورزی ایالات متحده (USDA) در سال ۲۰۱۱، سالمونلا تیفی موریوم، سالمونلا سفتنبرگ، سالمونلا مونشن، سالمونلا نیوپورت و سالمونلا جاویانا، شایع ترین سرووارهای سالمونلا در نژادهای مختلف سگ و گربه می باشند (۱۰). اسپیراسین و همکاران در سال ۲۰۰۴، بیست و هشت سرووار مختلف سالمونلا را در سگ گزارش کردند (۲۵). در جهان شایع ترین سروتاپ های سالمونلا در سگ ها سالمونلا تیفی موریوم و سالمونلا انتریتیدیس

بیماری های روده ای، سالمونلا تنها ۳/۲ درصد از مجموع عوامل مختلف ایجاد کننده ی اسهال را شامل شده است (۸).

با توجه به آنچه بیان شد، سالمونلا را هم از سگ های سالم و هم از میزبانان مبتلا به اسهال جداسازی کرده اند. لذا نمی توان نتیجه گرفت که این باکتری عامل اجباری بروز اسهال در سگ است، چرا که عوامل مختلف دیگری چون انگل های روده ای، ویروس ها، باکتری های دیگر و عوامل غیر عفونی هم باعث ایجاد اسهال در سگ ها می گردند (۱۹). بنابراین جداسازی سالمونلا از موارد غیر اسهالی در مطالعه ی حاضر توجیه پذیر می باشد. گزارشات متعددی از جداسازی سالمونلا از سگ های به ظاهر سالم وجود دارد (۳، ۵) که مانند نتایج مطالعه ی حاضر نقش حاملی این حیوانات را پررنگ می نماید. با این وجود نباید بیماری زایی سالمونلا را در دستگاه گوارش رد کرد اما می توان به عنوان یک نظریه ابراز نمود که سویه های سالمونلا دارای حدت و بیماریزایی متفاوت هستند و از طرفی دیگر دوز عفونی آن ها بسته به این قدرت بیماری زایی و کیفیت سیستم ایمنی بدن میزبان متفاوت است (۱۳). شناسایی ژن های حدت می تواند به آگاهی از بیماری زایی بالقوه ی سویه ها کمک کننده باشد که ممکن است هنوز در میزبان به صورت بالفعل در نیامده باشد (۱۵). بنابراین جداسازی سالمونلا از یک سگ، صرفا نشان دهنده ی بیمار بودن آن سگ نیست ولی بیانگر حامل بودن آن می باشد که از نظر بهداشت عمومی حائز اهمیت است (۳، ۹).

تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سالمونلاهای جدا شده از حیوانات می تواند اطلاعات مفیدی را در مورد آنتی بیوتیک های موثر بر این جدایه ها فراهم آورد. فراوانی مقاومت جدایه های سالمونلا در برابر

از عوامل اصلی شکست برنامه های قرنطینه و ریشه کنی سالمونلوز در دنیا هستند (۳۰). شکار مارمولک ها توسط سگ نیز نباید نادیده گرفته شود، چرا که خزندگان حامل شناخته شده سالمونلا هستند (۱۷). آب های راکد و روان مانند آب چاه، حوضچه های آب، رودخانه ها و نهرها، اغلب از نظر سالمونلا مثبت هستند و سگ های ولگرد ممکن است از این منابع آلوده استفاده نمایند (۴، ۲۹). شیوع سالمونلا در سگ های بدون علامت از صفر تا نزدیک چهل درصد گزارش شده است (۲۰، ۲۱). اوجو و همکاران (۱۹۹۴) اعلام کردند که از میان ۱۰۰ سگ ولگرد مورد مطالعه هیچیک از نظر سالمونلا مثبت نبودند (۱۷)، این در حالی است که سانچز و همکاران (۲۰۰۲) شیوع سالمونلا را در سگ های سالم تا ۳۶ درصد گزارش نمودند (۲۳). نتایج مطالعه ی ما با نتایج سپیرسادسین و همکاران (۲۰۰۴) که شیوع سالمونلا را در سگ های غیر اسهالی ۳/۶ درصد گزارش کردند، دارای مشابهت است (۲۶). تسای و همکاران (۲۰۰۷) بر روی ۴۳۷ سگ خانگی و ۴۹۱ سگ ولگرد مطالعه کردند و شیوع سالمونلا را به ترتیب ۲/۱ درصد و ۶/۳ درصد برآورد نمودند، با این توضیح که در مطالعه ی ایشان، سالمونلا دوسلدورف شایع ترین سرووار بود (۲۸). همچنین زهرایی صالحی و همکاران (۲۰۱۳)، اعلام کردند که ۱۰/۵ درصد سگ های گله اطراف گرمسار (استان سمنان، ایران) آلوده به سالمونلا ریدینگ بودند (۲۲). حال آن که در مطالعه ی ما فراوان ترین سرووار، سالمونلا تیفی موریوم می باشد. مطالعاتی وجود دارد که در آن، سالمونلا از سگ هایی با علایم بالینی چون اسهال، استفراغ، تب، افسردگی، سقط جنین و مرگ جداسازی شده است (۱۹). در مطالعه هاکت و همکاران (۲۰۰۳) بر روی سگ های مبتلا به

در تجویز آن ها و جلوگیری از تجویز بیش از حد آن ها در این حیوانات به شدت پیشنهاد می گردد.

منابع

1. Cantor, G. H., Nelson Jr, S., Vanek, J. A., Evermann, J. F., Eriks, I. S., Basaraba, R. J., Besser, T. E. (1997). *Salmonella* shedding in racing sled dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **9**: 447-448.
2. Carter, M. E., Quinn, P. J. (2000). *Salmonella* infections in dogs and cats. 1st Edition, CABI Publishing, UK: 231-244.
3. Coburn, B., Grassl, G. A., Finlay, B. B. (2007). *Salmonella*, the host and disease: a brief review. *Immunology and Cell Biology*, **85**: 112-118.
4. Economou, V., Gousia, P., Kansouzidou, A., Sakkas, H., Karanis, P., Papadopoulou, C. (2013). Prevalence, antimicrobial resistance and relation to indicator and pathogenic microorganisms of *Salmonella* enterica isolated from surface waters within an agricultural landscape. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, **216**: 435-444.
5. Finley, R., Ribble, C., Aramini, J., Vandermeer, M., Popa, M., Litman, M., Reid-Smith, R. (2007). The risk of *Salmonella* shedding by dogs fed *Salmonella*-contaminated commercial raw food diets. *The Canadian Veterinary Journal*, **48**: 69.
6. Galton, M. M., Scatterday, J. E., Hardy, A. V. (1952). Salmonellosis in dogs: I. Bacteriological, epidemiological and clinical considerations. *The Journal of Infectious Diseases*, **91**: 1-5.
7. Gopinath, S., Carden, S., Monack, D. (2012). Shedding light on *Salmonella* carriers. *Trends in Microbiology*, **20**: 320-327.
8. Hackett, T., Lappin, M. R. (2003). Prevalence of enteric pathogens in dogs of north-central Colorado. *Journal of the American Animal Hospital Association*, **39**: 52-56.
9. Hashemi, S., Mahzounieh, M., Ghorbani, M. (2016). Detection of *Yersinia* spp. and *Salmonella* spp. in apparently healthy cats and dogs in Tehran, Iran. *Biological Journal of Microorganism*, **4**: 49-54.

آنتی بیوتیک های تحت بررسی در این مطالعه از نتایج چند مطالعه اخیر کمتر بود (۲۳) که تفاوت در سرووارها و تغذیه ی کمتر سگ ها با گوشت (به دلیل احتمال وجود باقی مانده ی آنتی بیوتیکی در آن) می تواند از دلایل آن باشد. با این وجود در حیوانات دارای صاحب معمولاً میزان آنتی بیوتیک استفاده شده در تجویزها و تجویز خودسرانه بدون انجام آنتی بیوگرام از دلایل مهم بروز مقاومت آنتی بیوتیکی می باشد. در این مطالعه کمترین فراوانی مقاومت مربوط به سیپروفلوکساسین بود که با نتایج مطالعه ی تسای و همکاران (۲۰۰۷) نیز همسو بود (۲۸)؛ در مطالعه تسای و همکاران، تمام جدایه های سالمونلا نسبت به سیپروفلوکساسین و سفتریاکسون حساس بودند و بیشترین مقاومت مربوط به تتراسایکلین، کلرامفنیکل و آمپی سیلین بود. لذا سیپروفلوکساسین به عنوان یکی از آنتی بیوتیک های موثر بر سروتیپ های جدا شده در تحقیق حاضر پیشنهاد می گردد.

نتیجه گیری

با توجه به اهمیت انتقال سالمونلا به عنوان یکی از پاتوژن های مشترک انسان و حیوان، پایش بیشتر و مستمر سگ های ولگرد خصوصاً سگ های ولگردی که در پناهگاه های مخصوص نگهداری می گردند بیش از پیش حائز اهمیت است. به نظر می رسد در پناهگاه های نگهداری سگ های ولگرد، سالمونلا یک خطر بالقوه برای سلامت عمومی جامعه به شمار می رود و سگ های سالم همانند سگ های با علائم مشکوک، حاملین این پاتوژن می باشند و برای میزبانان دیگر از جمله انسان مخاطره آمیز است. هر چند سیپروفلوکساسین و استرپتومایسین، آنتی بیوتیک های موثر بر سالمونلا شناسایی شدند، با این وجود مراقبت

- D. E., Stone, G. G., Oberst, R. D., Sylte, M. J., Gabbert, N. M., Kelly-Aehle, S. M., Curtiss III, R., (2002). Immunogenicity of χ 4127phoP- *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in dogs. *Vaccine*, **20**: 1618–1623.
21. Ojo, O. E., Adetosoye, A. I. (2009). *Salmonella* Typhimurium infection in diarrhoeic and non-diarrhoeic dogs in Ibadan, Nigeria. *Veterinarski Arhiv*, **79**: 371–377.
22. Salehi, T. Z., Badouei, M. A., Madadgar, O., Ghiasi, S. R., Tamai, I. A. (2013). Shepherd dogs as a common source for *Salmonella enterica* serovar Reading in Garmsar, Iran. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **37**: 102–105.
23. Sanchez, S., Hofacre, C. L., Lee, M. D., Maurer, J. J., Doyle, M. P. (2002). Animal sources of salmonellosis in humans. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **221**: 492–497.
24. Schmidt, K., Tirado, C. (2001). *WHO surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications in Europe: Seventh Report 1993-1998*.
25. Seepersadsingh, N., Adesiyun, A. A., Seebaransingh, R. (2004). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. in non-diarrhoeic dogs in Trinidad. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, **51**: 337–342.
26. Seepersadsingh, N., Adesiyun, A. A., Seebaransingh, R. (2005). Serovars and antibiotic sensitivity of *Salmonella* spp. isolated from non-diarrhoeic cats in Trinidad. *Veterinarski Arhiv*, **75**: 223–231.
27. Soltan Dalal, M. M., Rahimi Forushani A., Nikmanesh B., Tabatabaei Bafroei A., Aghili N. (2011). Evaluation of enrichment, selective and differential media in isolation and identification of *Salmonella* among children with diarrhea. *Payavard Salamat Journal*, **5**: 33-41.
28. Tsai, H.-J., Huang, H.-C., Lin, C.-M., Lien, Y.-Y., Chou, C.-H. (2007). *Salmonella* and *Campylobacter* in household and stray dogs in northern Taiwan. *Veterinary Research Communications*, **31**: 931–939.
29. Wilkes, G., Edge, T. A., Gannon, V. P. J., Jokinen, C., Lyautey, E., Neumann, N. F., Ruecker, N., Scott, A., Sunohara, M., Topp, 10. Hoelzer, K., Switt, A. I. M., Wiedmann, M. (2011). Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. *Veterinary Research*, **42**: 34.
11. Jajarmi, M., Ghanbarpour, R., Sharifi, H., Golchin, M. (2015). Distribution Pattern of EcoR Phylogenetic Groups Among Shiga Toxin-Producing and Enteropathogenic *Escherichia coli* Isolated From Healthy Goats. *International Journal of Enteric Pathogens*, **3**: e-27971.
12. Lowden, P., Wallis, C., Gee, N., Hilton, A. (2015). Investigating the prevalence of *Salmonella* in dogs within the Midlands region of the United Kingdom. *BMC Veterinary Research*, **11**: 239.
13. Lu, S., Manges, A. R., Xu, Y., Fang, F. C., Riley, L. W. (1999). Analysis of Virulence of Clinical Isolates of *Salmonella enteritidis* In Vivo and In Vitro. *Infection and Immunity*, **67**: 5651–5657.
14. Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., Maguire, D. (2013). *Clinical Veterinary Microbiology*. Elsevier Health Sciences. UK: 232-274.
15. Marks, S. L., Kather, E. J. (2003). Bacterial-associated diarrhea in the dog: A critical appraisal. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, **33**: 1029–1060.
16. McGavin, M. D., Carlton, W. W., Zachary, J. F. (2001). Thomson's special veterinary pathology. 3rd Edition, Mosby Publication, USA: 55–56.
17. Ojo, M. O. (1994). Pathogenic aerobic bacteria and fungi isolated from stray dogs in Trinidad. *Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire Des Pays Tropicaux*, **47**: 179–181.
18. Moghadam, A., Nazarian, S., Amani, J. (2017). Identification and assessment of *Salmonella* Typhimurium, infantis and enteritidis serotypes in clinical samples from medical centers of Kerman province. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, **11**: 1–8.
19. Morse, E. V., Duncan, M. A. (1975). Canine salmonellosis: prevalence, epizootiology, signs, and public health significance. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **167**: 817–820.
20. McVey, D. S., Chengappa, M. M., Mosier,

- E., Lapen, D.R. (2011). Associations among pathogenic bacteria, parasites, and environmental and land use factors in multiple mixed-use watersheds. *Water Research*, **45**: 5807–5825.
30. Zhang, J., Wei, L., Kelly, P., Freeman, M., Jaegeron, K., Gong, J., Xu, B., Pan, Z., Xu, C., Wang, C. (2013). Detection of *Salmonella* spp. using a generic and differential FRET-PCR. *PLoS One*, **8**: e-76053.