بررسی مولکولار اپیدمیولوژی طغیان‌های غذایی ناشی از سالمونلا به روش کشت و PCR در استان یزد

آنژلینا یحیوی فیروزابادی: دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، واحد اشکذر، دانشگاه آزاد اسلامی، اشکذر، ایران.
سمانه صدیقی خویدک: استادیار، گروه زیست شناسی، واحد اشکذر، دانشگاه آزاد اسلامی، اشکذر، ایران.
* **محمد مهدی سلطان دلال**: استاد، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران تهران، ایران و استاد، بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران (*نویسنده مسئول). msoltandallal@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: سالمونلاها یکی از گسترده‌ترین میکروارگانیسم‌های موجود در زنجیره غذایی جهانی هستند. مقاومت روزافزون به آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان، آن‌ها را به‌عنوان یکی از عوامل پاتوژن مهم در ایجاد گاستروانتریت‌های ناشی از طغیان‌های مواد غذایی کرده است. این مطالعه با هدف بررسی مولکولار اپیدمیولوژی طغیان‌های غذایی ناشی از سالمونلا به روش کشت و PCR در استان یزد انجام گرفت.

روش کار: این مطالعه توصیفی و مقطعی طی مدت یک سال بر روی ۳۹ طغیان منتقله از غذا شامل ۱۴۱ نمونه (سواپ مدفوع اسهالی) از استان یزد صورت گرفت. نمونه‌ها جهت غنی‌سازی سالمونلاها به محیط سلنیت F انتقال یافتند و سپس روی محیط‌های هکتون انتریک آگار (HEA) یا گزیلوز لایزین دکستروز آگار (XLD) کشت داده شد. با توجه به نوع کلنی تست‌های بیوشیمیایی و سرولوژی برای تشخیص سالمونلاها انجام گرفت. ازPCR برای تأیید سالمونلاهای جدا شده استفاده گردید. مقاومت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن بررسی شد. برای تحلیل داده‌ها از روش‌های آمار توصیفی استفاده شد.

یافته‌ها: از ۱۴۱ نمونه، ۱۱ سالمونلا (۷/۸٪) جدا گردید. سروگروپ همه سالمونلاهای جدا شده از نوع D بود. حساسیت کامل (۱۰۰٪) به سیپروفلوکساسین و ایمی‌پنم و بیشترین مقاومت به نالیدیکسیک اسید (۷۳/۰۷٪) مشاهده شد. همه جدایه‌های سالمونلا با PCR تأیید شدند.

نتیجه‌گیری: آگاهی از سروگروپ‌های شایع سالمونلا در کشور در تشخیص صحیح و به‌موقع آن‌ها و آشنایی با مقاومت آنتی‌بیوتیکی جهت کاهش طول دوره درمان و هزینه‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

کلیدواژه‌ها: سالمونلا، طغیان، بیماری‌های منتقله از غذا، PCR

مقدمه

پدیده جهانی‌شدن و افزایش مسافرت‌ها و توسعه گردشگری و همچنین افزایش مصرف غذا در خارج از منزل در جوامع مختلف بیماری‌های منتقله از غذا را به‌عنوان یک مشکل بهداشتی جهانی مطرح کرده است (۱). طبق ارزیابی مراکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها (CDC) و آمار سازمان بهداشت جهانی سالیانه ۱۱۳ بیلیون گاستروانتریت حاد به دلیل سالمونلوزیس غیر تیفوئیدی گزارش می‌شود که ۳ میلیون آن‌ها منجر به مرگ می‌شود (۲). به‌عنوان مثال در آمریکا سالانه ۴۸ میلیون مورد بیماری منتقله از غذا با ۱۲۸۰۰۰ نفر بستری و ۳۰۰۰ مورد مرگ گزارش می‌شود که هزینه صرف شده برای کنترل چندین میلیارد دلار تخمین زده می‌شود (۱). نکته مهم دیگر این است که بیماری‌های اسهالی ناشی از آلودگی‌های غذایی معمولاً در ۲۴ تا ۴۸ ساعت بدون هیچ‌گونه مداخله پزشکی بهبود می‌یابند و معمولاً تشخیص داده نشده و گزارش نمی‌شوند. این مسئله به‌ویژه در غیاب نظام مراقبت فعال بیماری کار تشخیص به‌موقع و پاسخ‌دهی مناسب و کنترل آن‌ها را بسیار مشکل می‌سازد و بروز طغیان‌های بیماری منجر به تلفات انسانی و خسارت‌های مادی فراوان می‌شود. سالمونلوز از شایع‌ترین بیماری‌های گوارشی در جهان است که توسط سروتیپ‌های مختلف باکتری سالمونلا ایجاد می‌شود. عفونت به باکتری سالمونلا

www.SID.ir

پس از خوردن غذاهایی نظیر گوشت، مرغ، شیر تازه یا تخم‌مرغ خام یا آشامیدن آب آلوده به باکتری ایجاد می‌شود (۳).

همه‌گیری‌های عفونت سالمونلا معمولاً هنگامی اتفاق می‌افتد که افراد زیادی از یک غذای آلوده مشترک مثلاً در طی سفرهای تفریحی، اجتماعات مردمی یا رستوران‌ها استفاده می‌کنند. این عفونت می‌تواند از فردی به فرد دیگر منتقل گردد (۴). بررسی‌های اپیدمیولوژیک انجام گرفته در نقاط مختلف جهان حاکی از افزایش عفونت‌های ناشی از سروارهای سالمونلا می‌باشد که از مقاومت دارویی بسیار بالایی برخوردارند (۵). ازآنجایی‌که سالمونلاها نسبت به نور خورشید و خشکی حساس‌اند بقاء آن‌ها در محیط به درجه حرارت و رطوبت بستگی دارد (۶).

سالمونلوز معمولاً با عفونت روده‌ای شروع می‌شود و متعاقب آن ممکن است وارد جریان خون شده و بیماری به شکل عمومی درآید که در این حالت ممکن است سپتی‌سمی، منتژیت، آرتریت، پنومونی، سقط و یا تلفیقی از آن‌ها مشاهده شود (۷). روش‌های شناسایی سالمونلا به‌طور مستقیم از نمونه‌های اسهالی شامل دو نوع سنتی و مولکولی می‌باشد که روش‌های جداسازی سنتی بر اساس کشت بر روی محیط‌های پایه انتخابی و افتراقی، تشخیص کلنی‌های مشکوک با تست‌های بیوشیمیایی و در نهایت سرولوژی می‌باشد. روش‌های مولکولی جداسازی بر اساس خصوصیات ژنوتیپی می‌باشد، که نسبت به روش‌های سنتی، هم زمان کم‌تر نیاز دارد و هم برای مطالعات ژنتیکی و تکاملی مناسب تراست. با توجه به مشخص نبودن مقاومت آنتی‌بیوتیکی در منطقه مورد مطالعه، در ارگانیسم‌های ایجادکننده اسهال که نیاز به درمان آنتی‌بیوتیکی دارند، مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها بدون توجه به الگوهای مقاومتی سالمونلا می‌تواند باعث ظهور سویه‌هایی شود که حتی به درمان‌های جدید مقاومت داشته باشند (۸). با در نظر گرفتن موارد ذکر شده این مطالعه با هدف بررسی مولکولار اپیدمیولوژی طغیان‌های غذایی ناشی از سالمونلا به روش کشت و PCR در استان یزد انجام گرفت.

روش کار

این مطالعه توصیفی و مقطعی، در طی مدت ۱ سال (از تابستان ۹۳ تا بهار ۹۴) بر روی ۳۹ طغیان منتقله از غذا، شامل ۱۴۱ نمونه (سواپ مدفوع اسهالی) ناشی از طغیان‌های مواد غذایی ارسال شده از استان یزد صورت گرفت. بیماران دارای علائم بالینی نظیر اسهال، استفراغ، تهوع، کرامپ‌های شکمی، تب و سر درد بودند که به دلیل عفونت یا مسمومیت غذایی صورت گرفته در آزمایشگاه مرجع مرکز مدیریت بیماری‌های وزارت بهداشت واقع در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران جهت تشخیص و تأیید وقوع طغیان مورد بررسی قرار گرفت. تمامی نمونه‌ها از نظر جداسازی سالمونلا، با انجام کشت میکروبی، تست‌های بیوشیمیایی، سروگروپینگ و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه ارسالی که شامل ۲ سواپ مدفوع بود، یکی را به‌صورت مستقیم و دیگری را پس از غنی‌سازی در محیط سلنیت F براث پس از ۱۲-۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد بر روی محیط‌های گزیلوز لایزین دکستروز آگار (XLD) یا هکتون انتریک آگار (HE) کشت داده و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کلنی‌های مشکوک از پلیت‌های کشت مستقیم و کشت غنی‌شده جهت انجام تست‌های افتراقی و انتخاب پرگنه‌های سبز یا سبز متمایل به آبی با یا بدون SH2 روی محیط هکتون و پرگنه‌های قرمز با یا بدون SH2 روی محیط XLD و انجام تست‌های تشخیصی نظیر رنگ‌آمیزی گرم، تست اکسیداز، ONPG و تست‌های بیوشیمیایی نظیر سیمون سیترات، (TSI)، (SIM)، لیزین دکربوکسیلاز (LDC)، متیل رد (MR)، ووگس پروسکوئر (VP) صورت گرفت (همگی محیط‌های مصرفی ساخت شرکت MERCK بودند).

آزمون سروگروپینگ، با استفاده از آنتی سرم (دیفکو) انجام شد. یک لوپ از کلنی کشت ۲۴ ساعته TSI بر روی یک لام تمیز قرار داده و سپس یک قطره از هر آنتی سرم گروه اضافه نموده و در صورت مشاهده آگلوتیناسیون، با توجه به نوع آنتی‌سرم سروگروپ سالمونلا مشخص می‌گردید.

Archive of SID

جهت تأیید نهایی سالمونلا از PCR استفاده گردید. کلنی‌های مربوطه جهت شناسایی نهایی با روش مولکولی با پرایمر اختصاصی استفاده شد. برای انجام PCR از بافرهای STE و TBE استفاده شد. نمک‌های بالا را در یک لیتر آب مقطر حل کرده و pH محلول به حدود ۸ رسید. بعد از کشت باکتری و گذشت ۲۴ ساعت، یک کلنی از آن با ۵۰ ماکرولیتر بافر STE مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد، سپس به مدت ۳ دقیقه با دور ۱۳۳۰۰ سانتریفیوژ شده و از محلول رویی ۲۰ ماکرولیتر برداشته و داخل میکروتیوپ کوچک ریخته شد. محلول رویی حاوی DNA مورد نظر تا زمان آزمایش در ۲۰° سانتی‌گراد نگهداری شد. از سویه سالمونلا اینتریتیدیس H7 به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد و از واکنش PCR بدون اضافه نمودن DNA به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد.

سپس ۱۰ میکرولیتر از محصول آن به همراه ۳ میکرولیتر رنگ لودینگ (شرکت سیناژن) بر روی ژل آگارز ۱٪ (SinaClon) با ولتاژ ۸۰ ولت و زمان حدود ۱ ساعت و ۳۰ دقیقه الکتروفورز گردید. سپس ژل با رنگ اتیدیوم (۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) به مدت ۱۰ دقیقه رنگ‌آمیزی و به مدت ۲۰ دقیقه رنگ‌بری شد. در پایان توسط دستگاه Gel documentation از ژل عکس تهیه شد. توالی پرایمر مورد استفاده به‌صورت زیر است (۹). در ابتدا اختصاصیت پرایمرها با Blast کردن آن‌ها در سایت NCBI مورد تأیید قرار گرفت و سپس سفارش ساخت پرایمر به شرکت تکاپو زیست (شرکت سازنده پرایمر BIONEER کره) فرستاده شد.

ITSR (5'V-TAT AGC CCC ATC GTG TAG TCA GAA c-3'V)

ITSF (5'V-TGC GGC TGG ATC ACC TCC TT -3'V)

برای تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی بر روی نمونه‌های مثبت، آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش دیسک دیفیوژن در محیط کشت مولر هینتون و کدورت سوسپانسیون میکروبی نیم مک فارلند انجام گرفت. آنتی‌بیوتیک‌ها ساخت شرکت MAST و بر اساس دستور CLSI2015 انتخاب گردیدند. نتایج به‌صورت مقاوم (R)، نیمه حساس (I) و حساس (S) گزارش شد (۱۰). بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های سالمونلا نسبت به ۸ آنتی‌بیوتیک در گروه‌های زیر انجام شد.

آموکسی سیلین (۲۵AMX µg)، سفتازیدیم (۳۰CAZ µg)، سفوتاکسیم (۳۰CTX µg)، ایمی‌پنم (۱۰ IMI µg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰NA µg)، سیپروفلوکساسین (۵CIP µg)، کلرامفنیکل (۳۰C µg)، کوتریموکسازول (۱/۲۵STX µg).

برای تحلیل داده‌ها از روش‌های آمار توصیفی استفاده شد.

یافته‌ها

از ۱۴۱ نمونه اسهال ناشی از ۳۹ طغیان رخ داده در استان یزد، ۱۱ سالمونلا (۷/۸٪) جدا گردید. از این تعداد ۵ ایزوله (۴۵/۵٪) در فصل بهار از شیوع بیشتری نسبت به سایر فصول برخوردار بود (جدول ۱). از این تعداد سالمونلای

جدول ۱- فراوانی جدایه‌های سالمونلا بر حسب ماه های مختلف سال

ماه‌های سال	تعداد سالمونلوزیس	درصد سالمونلوزیس
تیر ۹۳	-	-
مرداد۹۳	۱	۹/۱
شهریور ۹۳	-	-
مهر۹۳	-	-
آبان۹۳	۳	۲۷/۳
آذر۹۳	۱	۹/۱
دی ۹۳	-	-
بهمن ۹۳	۱	۹/۱
اسفند ۹۳	۱	۹/۱
فروردین۹۴	۴	۳۶/۳
اردیبهشت۹۴	-	-
خرداد ۹۴	-	-
تعداد کل	۱۱	۱۰۰/۰۰

جدول ۲- توزیع فراوانی سالمونلا بر حسب مکان سکونت

شهرستان	تعداد نمونه‌های جداشده	درصد طغیان‌ها
یزد	۴	۳۶/۴
اشکذر	۳	۲۷/۳
اردکان	۲	۱۸/۱
ابرکوه	۱	۹/۱
میبد	۱	۹/۱

جدول ۳- الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های سالمونلا از طغیان های غذایی

آنتی بیوتیک	نام اختصاری	حساس		نیمه حساس		مقاوم	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
سیپروفلوکساسین	CIP	۱۱	۱۰۰	۰	۰	۰	۰
ایمی پنم	IMI	۱۱	۱۰۰	۰	۰	۰	۰
کلرامفنیکل	C	۹	۸۱/۸	۱	۹/۱	۱	۹/۱
کوتریموکسازول	TS	۱۰	۹۰/ ۹	۱	۹/۱	۰	۰
سفوتاکسیم	CTX	۹	۸۱/۸	۲	۱۸/۲	۰	۰
آموکسی سیلین	A	۹	۸۱/۸	۱	۹/۱	۱	۹/۱
سفتازیدیم	CAZ	۱۰	۹۰/۹	۱	۹/۱	۰	۰
نالیدیکسیک اسید	NA	۳	۲۷/۳	۰	۰	۸	۷۲/۷

شکل ۱- انجام ITS-PCR برای شناسایی گونه‌های سالمونلا.چاهک M: مارکر DNA، چاهک ۱: نمونه کنترل مثبت سالمونلا انترتیدیس، چاهک‌های ۲ تا ۱۲ ایزوله های سالمونلا

جدا شده ۷ مورد (۶۳/۶٪) در گروه سنی ۱۲-۳ سال و بقیه در گروه سنی ۳۵-۲۵ بودند. این تحقیق نشان داد که وقوع سالمونلوزیس در کودکان شیوع بیشتری نسبت به بزرگ‌سالان دارد. از نظر جنسیتی مردان با (۵۴/۵٪) نسبت به زنان (۴۵/۵٪) غالب‌تر بودند. همچنین نتایج نشان داد بیشترین شیوع سالمونلا در شهرستان اشکذر دیده شد (جدول ۲). نتیجه تست سرولوژی برای سالمونلاها نشان‌دهنده ۱۰ (۹۰/۹٪) سالمونلای گروه D و یک مورد (۹/۱٪) سالمونلای گروه B بود. تمام سالمونلاهای جدا شده به سیپروفلوکساسین و ایمی‌پنم ۱۰۰٪ حساس و بیشترین مقاومت به نالیدیکسیک اسید ۸ مورد (۷۲/۷٪) دیده شد (جدول ۳). با بررسی و مطالعه سکانس‌های استخراج شده مربوط به باکتری سالمونلا مشخص گردید که توالی‌های ۳۰۰bp به دست آمده معادل باند ایجاد شده سویه استاندارد سالمونلا و باند مشخص مارکر DNA بود نتایج PCR سالمونلاهای جدا شده در شکل ۱ مشهود است.

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه به دلایل متعدد بیماری‌های منتقله از آب و غذا و طغیان‌های ناشی از آن در دنیا رو به گسترش است و همه‌ساله موجب ابتلا و مرگ و میر تعداد قابل توجهی از مردم می‌شود، حتی در کشورهای صنعتی هر سال بیشتر از ۳۰٪ مردم به بیماری‌های منتقله از غذا مبتلا می‌شوند (۱۱).

بیماری‌های منتقله از غذا یکی از مشکلات مهم به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه می‌باشد و این‌ها جز عوامل اصلی در بیماری‌زایی و مرگ و میر در سراسر دنیا می‌باشند. غذا یک حامل مهم در انتقال میکروارگانیسم‌ها به انسان می‌باشد که در میان این میکروارگانیسم‌ها سالمونلا همچنان به‌عنوان یک عامل اصلی بیماری‌های منتقله از غذا در بیماری‌زایی انسان‌ها در سراسر دنیا است (۱۲). در مطالعه سلطان دلال و همکاران بر روی ۳۱۰ کودک مبتلا به اسهال در مرکز طبی کودکان در نهایت ۸ مورد (۲/۶٪) به سالمونلا آلوده بودند (۱۳).

سلطان دلال و همکاران طی سال ۹۱، ۳۰۵ نمونه اسهال ناشی از طغیان‌های کشوری را مورد بررسی قرار دادند و از این میان ۱۸ سالمونلا جدا شد. بیشترین شیوع طغیان‌ها استان همدان در شهرستان بهار با (۶۱/۲٪) بود و بعد از آن استان یزد شهرستان صدوق (۲۲/۲٪) بود. سالمونلاها در فصل بهار با (۵۵/۵٪) شیوع بیشتری نسبت به فصل تابستان و پاییز (۲۲/۲٪) داشتند (۱۴). از استان یزد به‌تنهایی ۱۱ مورد (۸/ ۷٪) سالمونلا از ۱۴۱ نمونه جدا شد. همچنین در این مطالعه نیز بیشترین شیوع سالمونلا در فصل بهار (۴۵/۴٪) مشاهده گردید. مطالعه‌ای در ترکیه در بررسی مقاومت‌های دارویی مربوط به سالمونلاهای غیر تیفوئیدی طی سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۲ انجام شد نشان داد که کاهش حساسیت به سیپروفلوکساسین مخصوصاً در گونه‌های سالمونلا گروه C وجود دارد که یک مشکل مهم در کشور ترکیه است و با نتایج تحقیق ما کمی متفاوت است، زیرا سروتیپ‌های جداسازی شده در این تحقیق همگی به سیپروفلوکساسین حساس می‌باشند (۱۵). در بررسی انجام شده در فلسطین طی سال‌های ۱۹۹۷ تا ۲۰۰۲، (۵۳/۳ درصد) سالمونلاهای غیر تیفوئیدی جدا گردید که بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در نالیدیکسیک اسید (۷۹ درصد) دیده شد (۱۶)، که با تحقیق ما که میزان مقاومت ۷۲٪ بود مشابه می‌باشد. استفاده بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی حیوانات اهلی باعث ایجاد مقاومت دارویی در سالمونلاها شده که می‌توانند از طریق مواد غذایی به انسان منتقل شوند (۱۷).

سلطان دلال و همکاران در سال ۱۳۹۰ با مقایسه تکنیک PCR و کیت API20E و روش کشت و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی دریافتند که با روش‌های روتین بیوشیمیایی ۶۵ نمونه حاوی سالمونلا بودند درحالی‌که با استفاده از روش PCR تنها ۳۹ نمونه سالمونلا شناسایی گردید. بیشترین مقاومت به نیتروفورانتوئین با ۱۰۰٪ و نالیدیکسیک اسید ۷۳/۳٪ و هیچ ایزوله‌ی به سیپروفلوکساسین، سفالکسین، سفوتاکسیم، ایمی‌پنم مقاومت نشان نداد درحالی‌که در مطالعه ما تمام ایزوله‌های جدا شده به روش کشت با PCR نیز تأیید گردید و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با نتایج یافته‌های این تحقیق هم‌خوانی دارد (۱۸).

در سال ۲۰۰۵ در کشور کره با انجام PCR-Ribotyping بر روی ۵۷ سویه سالمونلا متوجه شدند که تمامی سویه‌ها دارای ۴ باند مشابه در منطقه ۲۰۰۰-۶۰۰ جفت باز بودند و سروتیپ‌های متفاوت باندهای دقیقاً یکسانی داشتند (۱۹).

به علت افزایش تعداد در طیف پاتوژن‌های بیمارستانی شناسایی ایزوله‌های میکروبی هنگام شیوع بیماری و پیشگیری مؤثر امری حیاتی است. استفاده از روش‌های فنوتیپی برای تمایز سویه‌ها به میزان زیاد محدودیت دارد، چون بیان مارکرهای فنوتیپی تحت شرایط محیطی تغییر می‌کند. لذا مطالعه پراکنش پاتوژن‌ها و ارتباط آن برای بررسی اپیدمیولوژی طغیان‌های غذایی و طراحی روش صحیح پایش و شناسایی سالمونلا ضروری است (۲۱ و ۲۰).

در این چند سال اخیر روش‌های موکولی جایگزین بسیار مناسبی برای روش‌های سنتی معرفی شده است. تحقیقات متعددی توسط محققان بر روی نمونه‌های مختلف بالینی و غذایی صورت گرفته است که سالمونلاها را به‌طور بسیار واضح و کامل نشان می‌دهد. بررسی ما نشان‌دهنده توانایی کامل شناسایی سالمونلا از طریق PCR در مقایسه با روش‌های دیگر است (۲۲).

ترکیب روش‌های غنی‌سازی و کشت و روش‌های جدید مانند PCR زمان لازم برای تشخیص

Archive of SID

سالمونلا را یک یا دو روز حداقل کاهش می‌دهد. در کنار روش‌های واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مراز PCR، تکنیک‌های مبتنی بر سنجش ایمونولوژی نیز اغلب به‌عنوان روش‌های سریع تجاری جهت تشخیص سالمونلا در مواد غذایی مورد استفاده می‌باشد (۲۳). استفاده از این روش‌ها به‌ویژه در اعلام نتایج جستجوی باکتری در مواد غذایی ازنظر بهداشتی و اقتصادی در زمان تصمیم برای انهدام یا مصرف مواد غذایی مشکوک خصوصاً در هنگام بروز بلایای طبیعی و جنگ‌ها حائز اهمیت است (۲۴).

در طغیان‌های ناشی از مواد غذایی سالمونلا همچنان به‌عنوان پاتوژن ایجادکننده گاستروانتریت به‌طور شایع به چشم می‌آید. تشخیص صحیح و به‌موقع سالمونلا و آشنایی با مقاومت آنتی‌بیوتیکی جهت کاهش طول دوره درمان ضروری به نظر می‌رسد. به دلیل وقت‌گیر بودن و پرهزینه بودن روش‌های کشت باید به دنبال روشی با هزینه کم و سرعت زیاد جهت شناسایی سویه‌های مورد نظر بود. در مقایسه با روش‌های سنتی، PCR از حساسیت و سرعت بالا جهت شناسایی سویه‌های سالمونلا برخوردار است، ولی توانایی افتراق سروتیپ‌ها را ندارد. این تکنیک می‌تواند جایگزین روش‌های کشت شود اما جهت تشخیص سروتیپ‌ها از یکدیگر همچنان باید از تکنیک‌های دیگری استفاده نمود.

تقدیر و تشکر

این مقاله نتیجه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۲۳۱۱۵ می‌باشد. بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که از نظر مالی حامی این طرح تحقیقاتی بوده‌اند، کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

منابع

1. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, et al. Food related illness and death in the United States. Emerg Infect Dis; 1999.5(5):607-25.

2. The Center for Diseases Control and Prevention (CDC). Salmonella typhi Outbreak Information 2005.

3. Akbarmehr J. Serogroup screening of Salmonella isolated from poultry and detection of their hilA gene by PCR assay. J Microbiol Biotech;2010.2(6):33-8.

4. Foodborne Pathogens: Microbiology and Molecular Biology/ L. Smith James, Fratamico Pina M, British Library Cataloging in Publication Data, ISBN 1-904455-00. 2005

5. Li J, Maclehose R, Smith K, Kaehler D,Hedberg C. Development of a Salmonella screening tool for consumer complaint-based foodborne illness surveillance systems. J Food Prot; 2011.74(1):106-10.

6. Sirinavin S, Thavornnunth J, Sakchainanont B, Bangtrakulnonth A, Chongthawonsatid S, Junumporn S. Norfloxacin and azithromycin for treatment of nontyphoidal salmonella carriers. Clin Infect Dis; 2003. 37:685-91.

7. Nesa MK, Khan M, Alam M. Isolation, identification and characterization of Salmonella serovars from diarrhoeic stool sample of human. Bangl J Vet Med; 2011. 9(1): 85- 93.

8. Threlfall EJ, Ward LR, Skinner JA, Rowe B. Increase in multiple antibiotic resistance in nontyphoidal salmonellas from humans in England and Wales: a comparison of data for 1994 and 1996. Microbiol Drug Res; 1997.3(3):263.

9. Chiu TH, Chen TR, Hwang WZ, Tsen HY. Sequencing of an internal transcribed spa region of 16-23S rRNA gene and designing of PCR primers for the detection of Salmonella spp. Int J Food Microbiol; 2005.97(3):259-65.

10. Wikler MA. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: seventeenth informational supplement: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.

11. Marino DD. Water and food safety in the developing world: global implications for health and nutrition of infants and young children. J Ame Dietetic Association; 2007. 107(11):1930-34.

12. El Allaoui A, Rhazi Filali F, Essahale A, Bouchrif B, Karraouan B, Ameur N. Characterization of antimicrobial susceptibility, virulence genes and identification by 16S ribosomal RNA gene sequencing of Salmonella serovars isolated from turkey meat in Meknes, Morocco. Int J Microbial Res; 2013.1(7):68-79.

13. Soltan Dallal MM,Ghalavand Z,Nikmanesh B. Investigation of infection rate to intestinal pathogenes and Aeromonas species in medical center children. 2004-2005. J Zanjan Univ Med Sci; 2005.13(52):37-42.

14. Soltan Dallal MM, Motalebi S, MasoomiAsl H, Rahimi Froshani A, Sharifi Yazdi MK, Aghili N. Investigation of the frequency of Salmonella SPP in food borne disease out breaks in Iran and determination of their antibiotic resistance.

Archive of SID

Pajouhandeh; 2015.19(6):341-47.

15. Erdem B, Ercis S, Hascelik G, Gur D, Aysev AD. Antimicrobial resistance of Salmonella enterica group C strains isolated from humans in Turkey, 2000-2002. Inter J Antimicrobial Agents; 2005.26(1):33-37.

16. Weinberger M, Solnik Isaac H, Shachar D, Reisfeld A, Valinsky L, Andorn N, et al. Salmonella enterica serotype Virchow: epidemiology, resistance patterns and molecular characterisation of an invasive Salmonella serotype in Israel. Clin Microbiol Infect; 2006.12(10):999-1005.

17. Soltan Dalall MM, Taremi M, Modaressi S, Zolfagharian K, Zali MR. Determining the prevalence of Salmonella serotype obtained from meat and chicken sample and their antibiotic resistance pattern in Tehran. Pajouhandeh; 2007.12(3): 245-52.

18. Soltan Dallal MM, Rahimi Forushani A, Sadigh Maroufi S, Sharifi Yazdi MK. The comparison of PCR technique and API-20E kit with the conventional biomedical methods for the identification of Salmonella species in laboratory. Medical Laboratory Journal; 2011.5(2):20-27.

19. Hynugkun L, LebaronP, Salah W. Comparison of four molecular typing method for the differentiation of Salmonella spp. Int J of Food Microbial; 2005.29:5320-60.

20. Greenwood D, Slack RBC, Peuthere JF. Medical Microbiology 16th ed. New York. Charchill living ston press; 2003.

21. Church D, Elsayeds, Reido Winston B, LindsayR. Burn wound infection. Clin Microbiol Rev; 2006.19(2):403-34.

22. Eshraghi S, Soltan Dallall MM, Fardsanei F, Zahraii Salehi T, Ranjbar R, Nikmanesh B, et al. Salmonella enteritidis and antibiotic resistance pattern; study on 1959 children with diarrhea. Tehran Univ Med J; 2010.67(12):876- 882.

23. Cheung PY, Kam KM. Salmonella in food surveillance: PCR, immunoassay and other rapid detection and quantification method. Food Res Int; 2012.45(2):802-808.

24. Tavakoli H, Bayat M, Koush A, Panahi D. The application of choromogenic culture media for rapid detection of food and water borne pathogen.Ami Eur J Agr Env Sci; 2008.4(6):693-98.

Archive of SID

Molecular epidemiology of salmonella food outbreaks using culture and PCR in Yazd province

Angelina Yahyavi Firozabadi, MSc Student in Microbiology, Ashkezar Unit, Islamic Azad University, Ashkezar, Iran.
Samaneh Sedighi khavidak, PhD, Assistant Professor of Biology, Ashkezar Unit, Islamic Azad University, Ashkezar, Iran.
***Mohammad Mehdi Soltan Dallal**, PhD, Professor, Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, & Division of Microbiology, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (*Corresponding author). msoltandallal@gmail.com

Abstract

Background: *Salmonella* is the most widespread microorganism in the food chain. Increasing resistance to antibiotics make them as one of the most important pathogens of gastroenteritis caused by *Salmonella* food outbreaks. This study aimed to investigate the molecular epidemiology of *Salmonella* food outbreaks using culture and PCR, and also to determine the antibiotic resistance pattern of *Salmonella* isolated.

Methods: This descriptive cross-sectional study was performed within a year on 39 food-borne outbreaks including 140 (diarrhea stool swab) from Yazd province. The samples were used in selenite F broth for enrichment of *Salmonella* then were cultivated on Hektoen enteric agar or Xylose Lysine Dextrose (XLD) Agar. Depending on colonies biochemical or serologic test for the detection of *Salmonella* were used. *Salmonella* isolates were confirmed by PCR. Antibiotic resistance was determined by disk diffusion method.

Results: 11 *Salmonella* were isolated from 141 samples. The most serogroup was isolated from type D. Full sensitivity was observed to Ciprofloxacin and Imipenem and the greatest resistance to Nalidixic acid. All isolates were confirmed by PCR.

Conclusion: *Salmonella* commonly seen as a pathogen that caused gastroenteritis in food outbreaks. Awareness of the common serogroup of *Salmonella* in the country also familiarity with antibiotic resistance is necessary to reduce the duration of treatment and the costs.

Keywords: *Salmonella*, Outbreak, Food borne disease, PCR

Archive of SID