Archive of SID

شناسایی مولکولی ژن‌های بتالاکتاماز (*VEB*، *PER* و *GES*) در *سالمونلا انتریتیدیس* جدا شده از گوشت طیور با روش Multiplex-PCR

مهشید اسفندیان[۱]، غلامعلی مرادلی[۲*]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

۲. استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: Moradli.mic@gmail.com

(دریافت مقاله: ۹۵/۷/۱۱ پذیرش نهایی: ۹۷/۳/٤)

چکیده

سالمونلوز یک بیماری مهم در انسان و گونه‌های حیوانات است که به‌وسیله سروارهای مختلف *سالمونلا انتریکا* ایجاد می‌شود. سروار انتریتیدیس یکی از شایع‌ترین سروارها در انسان و طیور و هم‌چنین عامل بیماری منتقله از طریق غذا می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی حضور ژن‌های bla_{PER}، bla_{VEB} و bla_{GES} در سویه‌های *سالمونلا انتریتیدیس* جداسازی شده از گوشت مرغ می‌باشد. در این مطالعه، تعداد ٦۰ نمونه *سالمونلا* جداسازی شده از گوشت مرغ جمع‌آوری و با استفاده از روش‌های کشت و بیوشیمیایی تأیید شد. سروتایپینگ نمونه‌ها با استفاده از آنتی‌سرم‌های O و H انجام شد. آزمون Multiplex-PCR جهت شناسایی ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام وسیع‌الطیف شامل bla_{PER}، bla_{VEB} و bla_{GES} بر روی نمونه‌ها صورت گرفت. نتایج سروتایپینگ نشان داد هر ٦۰ نمونه مربوط به گروه D و سروار انتریتیدیس بودند. از ٦۰ نمونه مورد بررسی ۳ نمونه دارای ژن bla_{PER}، ۲ نمونه دارای ژن bla_{VEB} و ۱ نمونه دارای ژن bla_{GES} بودند. نتایج آنتی‌بیوگرام نشان داد بیش‌ترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک سفتازیدیم (٦٤٪) و بیش‌ترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های مروپنم و سفتی‌زوکسیم (۹۲٪) بود. با توجه به این‌که سالمونلا یک باکتری منتقله از راه غذا می‌باشد، حضور ژن‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در نمونه‌های مواد غذایی هرچند به میزان کم، می‌تواند هشداری جدی باشد.

واژه‌های کلیدی: *سالمونلا انتریتیدیس*، bla_{VEB}، bla_{PER}، bla_{GES}

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری‌های منتقله از غذا یکی از مشکلات جدی در کشورهای پیشرفته و درحال توسعه می‌باشد. سالانه ۱۰۰ میلیون نفر در جهان مبتلا به بیماری‌های منتقله از طریق آب و غذا می‌شوند که این مسئله به‌خصوص در افراد دارای ضعف سیستم ایمنی یا سوءتغذیه بیشتر دیده می‌شود. گونه‌های متعددی از باکتری‌ها مانند *اشریشیا کولای*، *سالمونلا*، *لیستریا* و *یرسینیا* می‌توانند از طریق غذا وارد بدن انسان شده و بیماری ایجاد کنند (Egli *et al*., 2002). *سالمونلا* یک باکتری گرم منفی و بی‌هوازی اختیاری از خانواده *انتروباکتریاسه* است که در دستگاه گوارش میزبان‌های متعددی از جمله طیور، حیوانات اهلی، وحشی و انسان زندگی می‌کند. این باکتری به‌عنوان یکی از پاتوژن‌های مواد غذایی و هم‌چنین یکی از عوامل مهم شیوع مسمومیت غذایی می‌باشد (Cortez *et al*.,2002). سالمونلا در انسان عامل تب تیفوئید و عفونت‌های روده‌ای می‌باشد. مسمومیت غذایی عمدتاً در اثر سروارهای غیر تیفوئیدی سالمونلا ایجاد می‌شود. متعاقب اطلاعات به‌دست آمده هر ساله در کشورآمریکا حدود ۱/٤ میلیون نفر مبتلا به سالمونلوزیس غیرتیفوئیدی می‌شوند (Braden Christopher, 2006). عفونت‌های سالمونلایی در انسان عمدتاً در اثر خوردن مواد غذایی آلوده مانند گوشت، مرغ، تخم مرغ و شیر اتفاق می‌افتد. این پاتوژن در این مواد غذایی به‌خصوص گوشت تا زمان مصرف می‌تواند زنده بماند (Soltan-Dallal *et al*., 2014). عفونت در اثر سویه‌های *سالمونلاهای* غیرتیفوئیدی معمولاً خود محدود شونده است اما در افراد دچار ضعف سیستم ایمنی، کودکان و افراد سالمند می‌تواند تهدید کننده زندگی باشد و نیاز به درمان آنتی‌بیوتیکی دارد (Rayamajhi *et al*., 2008).

آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام وسیع‌الطیف از مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان سالمونلوز می‌باشد. اما امروزه با توجه به استفاده گسترده این آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها مشاهده می‌گردد (Tajbakhsh *et al*., 2015). تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز عمده‌ترین دلیل مقاومت باکتری‌های گرم منفی به بتالاکتام‌ها می‌باشد. این آنزیم‌ها حلقه آمیدی بتالاکتام‌ها را تخریب می‌کند. بتالاکتامازها بر اساس سکانس آمینواسیدی به ٤ گروه A تا D تقسیم می‌شوند. ESBLها از بتالاکتامازهای کلاس A بوده و سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف با یک زنجیر جانبی اکسی‌مینو (oximino) را هیدرولیز می‌کنند و باعث بروز مقاومت باکتریایی به پنی‌سیلین‌ها، سفالوسپورین‌های نسل اول، نسل دوم، نسل سوم و آزترئونام می‌شوند و توسط مهار کننده‌های بتالاکتاماز مانند کلاولانیک اسید مهار و اولین بار در *اشریشیا کولای* شناسایی شدند (Ambler *et al*., 1991). تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف توسط ژن‌های متعددی کد می‌شود. ژن‌های bla_{VEB}، bla_{PER} و bla_{GES} از جمله این ژن‌ها هستند که عامل مقاومت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام وسیع‌الطیف مانند سفپیم‌ها، مونوباکتام‌ها، کاربا‌پنم‌ها و سفتازیدیم هستند (Alikhani *et al*., 2014). با توجه به گسترش ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام وسیع‌الطیف در باکتری‌های پاتوژن روده‌ای و با توجه به این‌که یکی از راه‌های انتقال آن به انسان مواد غذایی می‌باشد، در این مطالعه به بررسی حضور این ژن‌ها در

www.SID.ir

Archive of SID

جدایه‌های *سالمونلای* جداسازی شده از گوشت مرغ به روش Multiplex-PCR پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

- جمع‌آوری نمونه‌ها

در این مطالعه تعداد ٦٠ نمونه *سالمونلای* جداسازی شده از گوشت مرغ از آزمایشگاه‌های مواد غذایی جمع‌آوری و با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی تأیید گردید. سروتایپینگ نمونه‌های *سالمونلای* جداسازی شده با استفاده از آنتی‌سرم‌های O و H با روش آگلوتیناسیون روی لام و آگلوتیناسیون داخل لوله طبق دستورالعمل شرکت سازنده (Difco, Detroit) صورت گرفت.

- استخراج DNA

با استفاده از کیت تجاری مرکز ذخایر ژنتیکی مطابق دستورالعمل ارائه شده توسط کیت انجام شد. جهت شناسایی ژن‌های دخیل در مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام وسیع‌الطیف، از پرایمرهای VEB، PER و GES استفاده شد (جدول ۱). از آزمون Multiplex PCR جهت شناسایی این ژن‌ها بر روی نمونه‌ها انجام گرفت. آزمایش در حجم ۲۵ میکرولیتر که شامل ۱/۵mM کلرید منیزیم، ۲۵۰ µmol از dNTP، µmol ۰/٤ از هر یک از پرایمرهای اختصاصی ژن‌های حدت و ۱/۵ واحد از *Taq* پلی مراز و ۵ میکرولیتر DNA با غلظت (۱۰ نانوگرم) الگو انجام شد. شرایط سیکل حرارتی برای PCR بدین شرح بود: واسرشت اولیه در ۹۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه، ۲۵ سیکل هرکدام شامل: واسرشت در ۹۵ درجه سلسیوس به‌مدت ٤٠ ثانیه، اتصال در ۵۵ درجه سلسیوس به‌مدت ٤٠ ثانیه، مرحله بسط در ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ٦٠ ثانیه و نیز بسط نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه انجام شد. محصولات PCR در ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شدند، با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند و تحت نور UV مشاهده و مستندسازی شدند.

- آنتی‌بیوگرام

حساسیت ایزوله‌های سالمونلا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ایمیپنم (۱۰µg)، مروپنم (۱۰µg)، سفپیم (۳۰µg)، سفتازیدیم (۳۰µg)، سفتی‌زوکسیم (۳۰µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، آمیکاسین (۳۰µg) (پادتن طب) به‌روش دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) و مطابق با استانداردهای CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) سنجیده شد.

جدول (۱)- پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

ژن	توالی (′۵ به ′۳)	اندازه محصول (bp)
bla_{veb}	F-CATTTCCCGATGCAAAGCGT R-CGAAGTTTCTTTGGACTCTG	٦٤٨
bla_{PER}	F-GCTCCGATAATGAAAGCGT R-TTCGGCTTGACTCGGCTGA	٥٢٠
bla_{GES}	F-AGTCGGCTAGACCGGAAAG R-TTTGTCCGTGCTCAGGAT	٣٩٩

www.SID.ir

Archive of SID

یافته‌ها

بر اساس آزمون‌های کشت و بیوشیمیایی هر ٦٠ نمونه به‌عنوان *سالمونلا* شناخته شدند. نتایج سروتایپینگ نشان داد تمامی نمونه‌ها به گروه سرمی D و سروار انتریتیدیس متعلق بودند. بر اساس نتیجه آزمایش مولتی پلکس PCR مشخص گردید ۳ نمونه دارای ژن bla_{PER}، ۲ نمونه دارای ژن bla_{VEB} و ۱ نمونه دارای ژن bla_{GES} بودند. هم‌چنین نتایج در نتایج آنتی بیوگرام مشخص شد که بیشترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک سفتازیدیم (٦٤ درصد) و بیشترین حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های مروپنم و سفتی‌زوکسیم (۹۲ درصد) وجود دارد.

جدول (۲)- میزان حساسیت سویه‌های جداسازی شده به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با روش دیسک دیفیوژن

نوع آنتی‌بیوتیک	درصد مقاومت	درصد حساسیت متوسط	درصد حساسیت
ایمی پنم	١٦	-	٨٤
مروپنم	٨	-	۹۲
سفپیم	٦٠	١٠	۳۰
سفتازیدیم	٦٤	٦	۳۰
سفتی‌زوکسیم	٨	-	۹۲
سیپروفلوکساسین	٣٦	-	٦٤
آمیکاسین	٣٦	٢٤	٤٠

بحث و نتیجه‌گیری

سالمونلوز یکی از بیماری‌های مهم منتقله از طریق غذا می‌باشد. در مطالعه حاضر ٦٠ نمونه سالمونلای جداسازی شده از گوشت مرغ متعلق به سروار انتریتیدیس بودند. *سالمونلا* انتریتیدیس به‌عنوان یکی از شایع‌ترین سروارهای *سالمونلا* در بسیاری از کشورهای توسعه یافته و درحال توسعه از جمله ایران به‌خصوص در دو دهه اخیر شناخته شده است (Ranjbar and Naghoni, 2014). آلودگی به این سروار معمولاً در اثر مصرف غذای آلوده ایجاد می‌شود و علائمی نظیر تب، دردهای شکمی و اسهال را به همراه دارد. این بیماری خود محدود شونده است اما گاهی منجر به بستری شدن فرد می‌شود خصوصاً در افراد دارای ضعف سیستم ایمنی که در این موارد درمان آنتی‌بیوتیکی ضروری می‌باشد. طیور و محصولات وابسته به آن مهم‌ترین منبع سروارهای *سالمونلا* و هم‌چنین *سالمونلا*های دارای مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی شناخته شده‌اند. مصرف نامناسب و بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها به‌منظور درمان و تقویت رشد حیوانات منجر به ایجاد سویه‌های دارای مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی می‌شود. این مقاومت چندگانه در سروار انتریتیدیس نیز در دو دهه اخیر مشاهده شده است (Campos *et al*., 2012; Castilla *et al*., 2012). سفالوسپورین‌ها از مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان سالمونلوز می‌باشند. با گسترش استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت به این

www.SID.ir

Archive of SID

آنتی‌بیوتیک‌ها رو به افزایش است. علاوه بر ژن‌های bla_{TEM}، bla_{SHV} و $bla_{CTX\text{-}M}$ ژن‌های دیگری نیز مقاومت به سفالوسپورین‌ها را ایجاد می‌کنند از جمله ژن‌های bla_{VEB}، bla_{PER} و bla_{GES} که در مقایسه به میزان کمتری در سویه‌های *انتروباکتریاسه* یافت می شوند (Hidalgo *et al*., 2012) ژن bla_{GES} اولین بار در *کلبسیلا پنومونیه* جداسازی شده از یک بیمار در فرانسه شناسایی شد. فراوانی این ژن کم اما رو به افزایش است به‌طوری که در سال‌های اخیر در نمونه‌های محیطی هم گزارش شده است و به‌طور عمده این ژن روی اینتگرون کلاس ۱ قرار گرفته است. ژن bla_{PER} اولین‌بار در *سودوموناس‌آئروژینوزا* جداسازی شده از یک بیمار ترکیه‌ای شناسایی شد اما بعدها در سویه‌های *سالمونلا* هم جداسازی شد. ژن bla_{VEB} اولین‌بار در اشریشیا کولای در فرانسه شناسایی شد و با سایر ژن‌های ESBL تفاوت زیادی دارد و در ایجاد مقاومت به سفالوسپورین‌ها مانند سفتازیدیم و سفوتاکسیمنقش مهمی دارد (Poirel *et al*., 2012). در مطالعه حاضر از ٦٠ نمونه مورد بررسی، ۳ نمونه دارای ژن bla_{PER}، ۲ نمونه دارای ژن bla_{VEB} و ۱ نمونه دارای ژن bla_{GES} بودند. در مطالعه‌ای حضور ژن‌های ESBL را در سروارهای *سالمونلاانتریکا* جداسازی شده از نمونه‌های مدفوعی انسانی مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه ژن bla_{PER} فقط در یک جدایه *سالمونلا* اینفنتیس شناسایی شد (Tajbakhsh *et al*., 2016). در مطالعه دیگر، ۱۱۸ سویه *سالمونلا* جداسازی شده از کشور انگلستان و ولز را از لحاظ ژن‌های تولید کننده ESBL مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه هیچ یک از سویه‌ها ژن‌های bla_{VEB}، bla_{PER} و bla_{GES} را نداشتند (Burke *et al*., 2013). در پژوهشی محققان، به بررسی حضور ژن‌های ESBL در سویه‌های *انتروباکتریاسه* جداسازی شده از نمونه‌های بالینی پرداختند. در این مطالعه تنها یک نمونه دارای ژن bla_{VEB} بود (Dallene *et al*., 2010) در کشور چین نیز مطالعاتی جهت شناسایی ژن‌های bla_{VEB}، bla_{PER} و bla_{GES} در سویه‌های *سالمونلای* جداسازی شده از گوشت مرغ صورت گرفت که در هیچ‌کدام از این مطالعات هیچ یک از ژن‌های ذکر شده یافت نشدند (Wang *et al*., 2015؛ Wu *et al*., 2015؛ Wu *et al*., 2013). از زمان کشف آنتی‌بیوتیک‌ها در دهه ٤٠ میلادی تا به امروز در درمان بیماری‌های عفونی به‌صورت گسترده، استفاده شده است، بسیاری از پاتوژن‌های انسانی به این ترکیبات مقاومت پیدا کرده‌اند و افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها یک مشکل جهانی محسوب می‌شود (Salyers and Whitt, 2005). در مطالعه‌ای بر روی جدایه‌های *سالمونلا* جداسازی شده از ماکیان شهرستان اراک، ۲/٦٦٪ مقاوم به آمیکاسین و ۱/۳۳ درصد مقاوم به سفتازیدیم بودند (Ezatpanah *et al*., 2013). در مطالعه پژوهشگران از ۱۷٤ جدایه *سالمونلای* مورد بررسی، ٤٪ مقاوم به سفتازیدیم بودند (Tajbakhsh *et al*., 2016). پژوهشگران به بررسی اپیدمیولوژی طغیان‌های غذایی ناشی از *سالمونلا* پرداختند. در این مطالعه ۱۱ جدایه سالمونلا جدا شد که ۹۰ درصد نمونه‌ها مربوط به گروه سرمی D بودند اما هیچ‌کدام از جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های ایمی پنم، سیپروفلوکساسین و سفتازیدیم مقاوم نبودند (Yahyavi Firozabadi *et al*., 2016). در مطالعه حاضر میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتازیدیم ٦٤ درصد، سفپیم ٦٠

www.SID.ir

Archive of SID

درصد، سیپروفلوکساسین و آمیکاسین ۳۶ درصد، ایمی پنم ۱۶ درصد، مروپنم و سفتی‌زوکسیم ۸ درصد بوده است که نتایج مطالعه حاضر برخلاف سایر مطالعات نشان دهنده مقاومت بالای سویه‌های *سالمونلا* به سفالوسپورین‌های نسل سوم و چهارم و هم‌چنین سیپروفلوکساسین و آمیکاسین می‌باشد. از آنجایی‌که این آنتی‌بیوتیک‌ها از مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان سالمونلوز می‌باشند ظهور این مقاومت به‌خصوص در جدایه‌های مواد غذایی یک مسئله نگران کننده می‌باشد. یکی از علل افزایش مقاومت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند در نتیجه استفاده بیش از حد از این آنتی‌بیوتیک‌ها در حیوانات به جهت درمان یا افزایش رشد باشد (Ranjbar and Naghoni, 2014) که این امر منتهی به انتقال این سویه‌های مقاوم از طریق مواد غذایی با منشأ دامی به انسان می‌شود و از این‌رو نظارت دقیق بر مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در دام‌های تولید کننده غذا امری ضروری می‌باشد. همان‌گونه که از مطالعات گذشته و مطالعه حاضر برمی‌آید، فراوانی ۳ ژن bla_{PER}، bla_{GES} و bla_{VEB} در سویه‌های *سالمونلا* بسیار کم است اما با توجه به اینکه *سالمونلا* یک باکتری منتقله از راه غذا می‌باشد حضور این ژن‌ها در نمونه‌های مواد غذایی هرچند با میزان فراوانی کم می‌تواند هشدار جدی باشد زیرا درمان عفونت‌های سالمونلایی را دچار مشکل می‌سازد. اما با این حال در مورد حضور ژن‌های ESBL نوع VEB، PER و GES در سویه‌های *سالمونلا* مطالعات بسیار کمی وجود دارد و نیاز به مطالعات بیشتری جهت شناسایی ژن‌های مذکور در سویه‌های *سالمونلا* می‌باشد. به‌علاوه شناسایی این ژن‌ها جهت اتخاذ سیاست‌های درمانی مناسب جهت کنترل و درمان عفونت‌ها و درعین‌حال جلوگیری از انتشار سویه‌های مقاوم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد.

سپاسگزاری

نگارنده کمال تشکر و سپاسگزاری خود را از کارکنان آزمایشگاه پژوهشی میکروبیولوژی پاسارگاد جناب آقای دکتر کیومرث امینی و مهندس ابوالفضل مقدم که در انجام مراحل عملی این تحقیق یاری نمودند اعلام می‌دارد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Ambler, R. P., Coulson, A. F., Frere, J. M., Ghuysen, J. M., Joris, B. Forsman, M., *et al*., (1991). A standard numbering scheme for the class A. beta-lactamases. Biochemistry Journal. 276(pt 1): 269–270.
- Alikhani, M. Y., KarimiTabar, Z., Mihani, F., Kalantar, E., Karami, P., Sadeghi, M., *et al*. (2014). Antimicrobial resistance patterns and prevalence of *blaPER-1* and *blaVEB-1* genes among ESBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in West of Iran. Jundishapur Journal Microbiology. 7(1): e8888.

www.SID.ir

Archive of SID

- Bauer, A., Kirby, W. M., Sherris, J.C. and Truck, M. (1996). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology. 45(4): 493-496.
- Braden Christopher, R. (2006). *Salmonellaenterica* serotype Enteritidis and egg; a national apidemic in the United States.Food safety, 43(4): 512-17.
- Campos, J., Pichel, M., Vaz, T.M.I., Tavechio, A.T., Fernandes, S.A., Munoz, N., *et al*. (2012). Building PulseNet Latin American and Caribbean *Salmonella* regional database:first conclusions of genetic subtypes of *S. Typhi*, *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* circulating in six countries of the region. Food Research International. 45(2): 1030-1036.
- Castilla, K.S., de Gobbi, D.D., Moreno, L.Z., Paixao, R., Coutinho, T.A., dosSantos, J.L., *et al*. (2012). Characterization of *Haemophilusparasuis*isolated from Brazilian swine through serotyping, AFLP and PFGE. Res Veterinary Science. 92(3): 366-371.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2011): Performance Standards for Antimicrobial susceptibility Testing; twenty first Informational Supplement. M100-S21. Wayne, PA: CLSI.
- Cortez, A.L.L., Carvalho, A.C.F.B., Ikunob, A.A., Burger, K.P., Vidal-Martins, A.M.C. (2006). Identification of *Salmonella* spp. Isolates from chicken abattoirs by multiplex-PCR.Veterinary Science. 81(3): 340-344.
- Dallenne C., Da Costa A, Decré D., Favier C., Arlet G. (2010). Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. Journal Antimicrobial Chemotherapy.65(3): 490-495.
- Egli, T., Koster, W., Meile, L. (2002). Pathogenic microbes in water and food: changes and challenges. FEMS Microbiology Review. 26(2): 111–12.
- Ezatpanah, E., Moradi Bidhendi, S., Khaki, P., Ghaderi, R., Seyedan Jasebi, E., Moghtadaee Far, S. (2013). Isolation, serotyping and antibiotic-resistance pattern of isolated Salmonella from chicken of Arak. Iranian Veterinary Journal. 9(2): 88-96. [In Persian]
- Hidalgo, L., Hopkins, K.L., Wareham, D.W., Gutierrez B. and Gonzalez-Zorn, B. (2012). Association of Extended-Spectrum -Lactamase VEB-5 and 16S rRNAmethyltransferasearmA in *Salmonella enterica*from the United Kingdom. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 56(9): 4985–4987.
- Poirel, L., Bonnin R.A., Nordmann, P. (2012). Genetic support and diversity of acquired extended-spectrum b-lactamases in Gram-negative rods. Infection Genetic Evolution. 12(5): 883–893.
- Ranjbar R, Sarshar M, Morovvati S. (2012). A Study of ribotype patterns of Salmonella Enterica serovar Enteritidis strains isolated in Tehran, Iran. Journal Isfahan Medical School. 30(180): 238-247. [In Persian]
- Ranjbar R, Naghoni A. (2014). Class 1 integron-mediated antibiotic resistance in Salmonella enterica strains isolated in Tehran, Iran. Iranian Journal of Medical Microbiolology. 7(4):16-23. [In Persian]
- Rayamajhi, N., Kang, S.G., Kang, M.L., Lee, H.S., Park K.Y. and Yoo, H.S. (2008). Assessment of antibiotic resistance phenotype and integrons in *Salmonella enterica* serovars Typhimurium isolated from swine. Journal Veterinary Medical Science. 70(10): 1133-1137.
- Salyers, A.A. and Whitt, D.D. (2005). Revenge of the Microbes: How bacterial resistance is undermining the antibiotic miracle. ASM Press, Washington, DC.
- Soltan-Dallal M.M., SharifiYazdi, M.K., Mirzaei, N. and Kalantar, E. (2014). Prevalence of *Salmonella* spp. in packed and unpacked red meat and chicken in South of Tehran. Jundishapur Journal Microbiology. 7(4): 9254-58.
- Tajbakhsh, M., YaghoobiAvini, M., Alikhajeh, J., Tajeddin, E., Rahbar, M., Eslami, P., *et al*. (2016). Emergence of blaCTX-M-15, blaTEM-169 and blaPER-1 extended-spectrum β-lactamase genes among different *Salmonella enterica serovars* from human faecal samples. Infection Disease. 48(7): 550-556.
- Tajbakhsh, M., Yaghoobi Avini, M., Ali Khajeh, J., Alebouyeh, M., Nazemalhosseini Mojarad, E., Zali, M.R. (2012). Increased-resistance phenotype resulted from elevated β-Lactamase enzyme

www.SID.ir

Archive of SID

Activity in Salmonella clinical isolates. Journal Isfahan Medical School. 30(178): 1-11. [In Persian]

- Wang, Y., Yang, B., Wu, Y., Zhang, Z., Meng, X., Xi, M. *et al*., (2015). Molecular characterization of *Salmonella* enterica serovar enteritidis on retail raw poultry in six provinces and two National cities in China. Food Microbiology, 46: 74-80.
- Wu, H., Wang, Y., Wu, Y., Qiao, J., Li, H., Zheng, S. *et al*., (2015). Emergence of β-Lactamases and extended-spectrum β-Lactamases (ESBLs) producing *Salmonella*in retail raw chicken in China. Foodborne Pathology Disease. 12(3): 228-235.
- Wu, H., Xia, X., Cui, Y, Hu, Y., Xi, M., Wang, X., *et al*., (2013). Prevalence of extended-spectrum β-Lactamase–producing *Salmonella* on retail chicken in six provinces and two national cities in the people's republic of China. Journal Food Protection. 76(12): 2040–2044.
- Yahyavi Firozabadi, A., Sedighi Khavidak, S. and Soltan Dallal, M.M. (2016). The Molecular epidemiology evaluation and antibiotic resistance patterns of Salmonella isolated in food outbreaks in Yazd province by culture and PCR methods. Razi Journal Medical Science. 23(144): 1-8. [In Persian]

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Food Hygiene, Vol. 8, No. 31, Autumn 2018

Molecular identification of beta-lactamase genes *(PER, VEB & GES)* in Salmonella Enteritidis isolated from poultry meat by Multiplex-PCR

Esfandian, M.[1], Moradli, Gh.[2*]

1. M.Sc Graduate of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
2. Assistant Professor, Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
[*]Corresponding Author: Moradli.mic@gmail.com
(Received: 2016/8/1 Accepted: 2018/5/25)

Abstract

Salmonellosis is an important disease both in animals and human which is caused by different serovars of *Salmonella enterica*. Serovars Enteritidis is one of the most prevalent serovars among animals and poultry and also is the food-borne pathogen. The aim of this study was to identify the prevalence of bla_{VEB}, $bla_{PER,}$ and bla_{GES} in Salmonella Enteritidis isolated from poultry meat samples. In this study, 60 Salmonella samples isolated from chickens were collected and confirmed as Salmonella by culture and biochemical tests. Serotyping was performed using O and H antisera. Multiplex-PCR was conducted for the identification of ESBL genes including bla_{PER}, $bla_{VEB,}$ and bla_{GES}. The serotyping results showed that all of the 60 samples belonged to group D and serovars Enteritidis. Among 60 samples, 3 had the bla_{PER}, 2 had the bla_{VEb} and 1 harbored the bla_{GES} gene. Antibiogram results showed the most resistance was to ceftazidime (64%) and the most susceptibility was to meropenem and ceftizoxime (92%). Since Salmonella is a food-borne bacterium, the presence of ESBL in food samples even in small numbers can be a serious alarm.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Salmonella Enteritidis, bla_{VEB}, bla_{PER}, bla_{GES}

www.SID.ir