Archive of SID

جستجوی *سالمونلا انتریکا* سروروار اینفنتیس با PCR در بین جدایه‌های گروه C سالمونلای طیور و تعیین الگوی مقاومت دارویی آن‌ها

سیدمصطفی پیغمبری[۱*]، مریم صراحی‌نوبر[۲] و ریما مرشد[۳]

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۳

چکیده

سالمونلوز یکی از مهم‌ترین بیماری‌های زئونوز است که توسط طیف وسیعی از سرووارهای سالمونلا ایجاد می‌شود. آخرین بررسی‌ها در گله‌های طیور، بیانگر افزایش شیوع سروتیپ‌های گروه C در میان سالمونلاهای جدا شده است. سروار *سالمونلا اینفنتیس* یکی از اعضای گروه سرمی C و از مهم‌ترین زئونوزهای این گروه به حساب می‌آید. هدف از این مطالعه، جستجوی سروار *سالمونلا اینفنتیس* در میان مجموعه‌ی وسیعی از سالمونلاهای گروه C بود. بدین منظور یک صد جدایه سالمونلای گروه C از مخزن باکتریایی گروه بیماری‌های طیور دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران انتخاب شد. با استفاده از روش PCR و به کارگیری پرایمرهای اختصاصی *سالمونلا اینفنتیس*، شیوع این سروتیپ در بین صد جدایه مشخص گردید. سپس با استفاده از روش دیسک دیفوزیون، الگوی مقاومت دارویی جدایه‌های *سالمونلا اینفنتیس* در برابر ترکیبات ضد میکروبی رایج در پزشکی و دامپزشکی مشخص شد. نتایج این مطالعه نشان داد که در میان این ۱۰۰ جدایه، ۷۹ درصد متعلق به سروتیپ *سالمونلا اینفنتیس* بودند. نتایج آزمایش سنجش حساسیت ضد میکروبی حاکی از حساسیت تمامی جدایه‌ها در مقابل فلورفنیکل و دانوفلوکساسین بود. بیش‌ترین مقاومت دارویی نیز مقابل تتراسایکلین، نالیدیکسیک اسید و فورازولیدون مشاهده شد. مقاومت‌های دارویی چندگانه در این مطالعه بسیار رایج بود. همه‌ی جدایه‌ها حداقل نسبت به ۴ ترکیب ضد میکروبی به طور همزمان مقاوم بودند و حداکثر مقاومت چندگانه دارویی نیز در مقابل ۱۱ ترکیب مشاهده شد. نتایج تحقیق کنونی بیانگر شیوع بالای *سالمونلا اینفنتیس* با مقاومت بالای دارویی در گله‌های مرغ گوشتی است که از لحاظ اپیدمیولوژیکی و زئونوز بودن برای موارد سالمونلوز انسانی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

کلمات کلیدی: جوجه‌ی گوشتی، *سالمونلا اینفنتیس*، PCR، حساسیت ضد میکروبی

مقدمه

عفونت سالمونلوز در پرندگان به دلیل خطری که برای بهداشت انسانی دارد، از اهمیت بالایی برخوردار است. سالمونلاهای غیرتیفوئیدی به عنوان عامل اصلی عفونت‌های روده‌ای با منشأ غذایی در انسان شناخته شده‌اند که منبع عمده‌ی این عفونت‌ها محصولات دامی به خصوص محصولات طیور می‌باشند (Gast 2008). با توجه به خطرات بهداشتی سالمونلا برای انسان و دام، استمرار برنامه‌ی پایش سالمونلوز گله‌های طیور و مطالعه‌ی خصوصیات جدایه‌های مربوط به لحاظ همه‌گیری اهمیت زیادی دارد. برای مثال *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا انتریتیدیس* تا چندی پیش سرووارهای غالب سالمونلا در طیور و انسان در دنیا بودند، اما در دهه‌ی اخیر در برخی مناطق مانند مجارستان و ژاپن از شیوع آن‌ها کاسته شده و گروه C سالمونلاها و به ویژه سروار اینفنتیس در حال افزایش هستند (Nogrady et al. 2008, Murakami et al. 2001). در اروپا نیز *سالمونلا اینفنتیس* سومین رتبه‌ی عفونت سالمونلوز در انسان را به خود اختصاص می‌دهد (EFSA 2010). از اواخر سال ۱۹۷۰ این سروار در

[۱*] استاد گروه بیماری‌های طیور، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران E-mail: mpeigham@ut.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)

[۲] دانش‌آموخته‌ی دکترای حرفه‌ای، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران

[۳] استادیار گروه دامپزشکی و کشاورزی، بنیاد دانشنامه نگاری ایران، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

www.SID.ir

Archive of SID

تمام جهان در کشورهایی از جمله آرژانتین، استرالیا، برزیل، هلند، فنلاند، کانادا، ژاپن و روسیه در حال گسترش است. *سالمونلا اینفنتیس* معمولاً در بیمارستان‌ها خصوصاً در بخش کودکان مشاهده می‌شود، اما چنانچه افراد بزرگسال درگیر شوند با علائم سپتی سمی و مرگ همراه است . منبع عمده‌ی این باکتری، حیوانات به ویژه جمعیت‌های طیور صنعتی می‌باشند (Miller et al. 2010).

در ایران با توجه به برنامه‌ی پایش گله‌های طیور برای سالمونلا، شیوع سالمونلاهای غیرمتحرک (*سالمونلا پولوروم* و *سالمونلا گالیناروم*) به طور آشکاری کاهش یافته است، در حالی که شیوع سالمونلاهای متحرک همچنان بالاست (Morshed and Peighambari 2010 ، اکبریان و همکاران ۱۳۹۱). از این رو جداسازی سالمونلا در گله‌های طیور ایران، تعیین سروتیپ‌های شایع و تعیین الگوی مقاومت دارویی جدایه‌های سالمونلا خصوصاً برای سروتیپ‌هایی که در سلامت عمومی جامعه مؤثر هستند، بسیار مهم است. با توجه به اهمیت موضوع، در سال‌های گذشته مطالعات متعددی با هدف بررسی وضعیت آلودگی سالمونلائی در گله‌های طیور ایران صورت گرفته است و جدایه‌های کثیری از سالمونلا از جمله گروه سرمی C جمع‌آوری و نگهداری شده است . هدف از بررسی حاضر، جستجوی سروار *سالمونلا اینفنتیس* در بین یک صد جدایه سالمونلای گروه سرمی C جمع‌آوری شده از گله‌های گوشتی ایران و تعیین الگوی مقاومت دارویی این جدایه‌ها نسبت به طیف وسیعی از ترکیبات ضد میکروبی رایج در پزشکی و دامپزشکی بود.

مواد و روش کار

جدایه‌ها

تعداد یک صد جدایه سالمونلا، تهیه شده از گله‌های طیور کشور که در مطالعات قبلی روی خصوصیات آن‌ها کار شده و جزء گروه سرمی C شناسائی شده بودند از مجموعه باکتریائی گروه بیماری‌های طیور دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران انتخاب شدند. روش نمونه‌برداری و کشت سالمونلاها در مقالات پیشین به تفصیل توضیح داده شده است (Morshed and Peighambari 2010 ، اکبریان و همکاران، ۱۳۹۱). جهت آماده‌سازی جدایه‌ها بعد از خارج کردن از ازت مایع، یک لوپ از نمونه داخل ۲ میلی‌لیتر محیط TSB ریخته شده و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد، در محیط مک‌کانکی کشت داده شد. مجدداً پس از ۲۴ ساعت از پرگنه‌های رشد کرده روی محیط مک‌کانکی در محیط TSI کشت داده و از پرگنه‌های به دست آمده جهت کارهای بعدی استفاده گردید.

تعیین گروه سرمی

به منظور اطمینان بیش‌تر، گروه سرمی جدایه‌ها مجدداً مشخص گردید. برای تعیین گروه، از آنتی‌سرم‌های پلی‌والان O (Prolab, England) استفاده شد. از کشت ۲۴ ساعته و خالص باکتری روی محیط TSI، شیرابه‌ی غلیظی با سرم فیزیولوژی ۰/۸۵ درصد روی یک لام تمیز تهیه شد و پس از کنترل اتوآگلوتیناسیون، یک قطره از آنتی‌سرم چند ارزشی O (پلی‌والان A–S (O روی آن قرار داده شد و با هم مخلوط شدند. نتیجه در برابر چراغ و در زمینه‌ی سیاه خوانده شد. در صورتی که آگلوتیناسیون در کم‌تر از ۲ دقیقه مشاهده می‌شد واکنش مثبت تلقی می‌گردید، که در این حالت آزمایش با آنتی‌سرم مربوط به گروه C در آنتی‌سرم پلی‌والان تکرار می‌شد تا گروه سرمی سالمونلای جدا شده تایید گردد (Waltman et al. 1998).

استخراج DNA

برای استخراج DNA، ابتدا هر نمونه فریز شده در محیط مک‌کانکی آگار به مدت ۱۸ ساعت کشت داده شد؛ سپس پرگنه‌های خالص باکتری به محیط الbی آگار منتقل و به مدت ۱۸ ساعت انکوبه شدند. سپس به وسیله‌ی آنس استریل از کشت باکتریایی برداشته و در ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر حل و در دور بالا به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس گردید. نمونه‌ها در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد

www.SID.ir

Archive of SID

به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه بن‌ماری جوشانده شد. سپس ده دقیقه در ۶۰۰۰ x g سانتریفوژ انجام شد و از مایع رویی ۱۰۰ میکرولیتر برای کارهای مولکولی برداشته شد.

آزمایش PCR

در این تحقیق، جهت تأیید تشخیص باکتری *سالمونلا اینفنتیس* از پرایمرهای اختصاصی ژن *fliB* مربوط به آنتی‌ژن‌های تاژکی سروتیپ *سالمونلا اینفنتیس* (جدول ۱) استفاده گردید (Kardos et al. 2007). کلیه‌ی مواد مورد نیاز آزمایش PCR از شرکت سیناکلون (ایران) تهیه شد. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر طراحی شد و اجزای مخلوط واکنش (مستر میکس) و حجم هر یک شامل: ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer، ۰/۵ میکرولیتر dNTP ۱۰ میلی‌مول، ۱ میکرولیتر $MgCl_2$ ۵۰ میلی‌مول، ۱ میکرولیتر پرایمر F ۱۰ میلی‌مول، ۱ میکرولیتر پرایمر R ۱۰ میلی‌مول، ۰/۲ میکرولیتر *Taq* DNA polymerase (5 U/µl)، ۱۵/۸ میکرولیتر آب دیونیزه استریل و ۳ میکرولیتر DNA استخراج شده بود. پس از تهیه‌ی این مستر میکس، نمونه‌ها در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد و در سه مرحله به ترتیب زیر تنظیم گردید. در مرحله‌ی اول ۶۰ ثانیه واسرشت‌سازی اولیه در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام شد. مرحله‌ی دوم در ۳۵ سیکل صورت پذیرفت که هر سیکل آن شامل ۶۰ ثانیه برای واسرشت‌سازی در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۱۵ ثانیه برای اتصال در ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد، و ۶۰ ثانیه برای بسط در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. در مرحله‌ی سوم نیز بسط نهایی به مدت ۲۷۰ ثانیه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام پذیرفت. در هر واکنش از یک جدایه تأیید شده *سالمونلا اینفنتیس* به عنوان کنترل مثبت (Rahmani et al. 2013) و مستر میکس حاوی آب مقطر به جای DNA به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

پس از اتمام واکنش، محصولات PCR روی ژل آگاروز ۰/۷ درصد منتقل شد و الکتروفورز برای شناسایی *سالمونلا اینفنتیس* در ۷۵ ولت به مدت ۴۰ دقیقه صورت گرفت و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید با دستگاه UV ترانس ایلومیناتور بررسی و سپس عکس‌برداری شد.

تعیین الگوی مقاومت دارویی

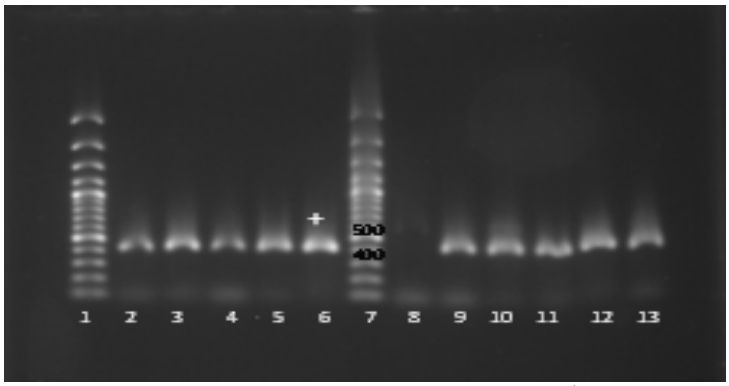
برای تعیین الگوی مقاومت دارویی سروتیپ‌های *سالمونلا اینفنتیس*، روش کیفی مورد استفاده دیسک دیفوزیون به روش استاندارد کربی- بائر بود (Quinn et al. 1994). تعداد ۲۰ عامل آنتی‌باکتریال مورد آزمایش و غلظت بالقوه آن‌ها (بر حسب میکروگرم) عبارت از: آمپی‌سیلین (۱۰)، کلرامفنیکل (۳۰)، انروفلوکساسین (۵)، نورفلوکساسین (۱۰)، فورازولیدون (۱۰۰)، فلومکوئین (۳۰)، جنتامایسین (۱۰)، لینکواسپکتین (۱۵/۲۰۰)، نالیدیکسیک اسید (۳۰)، نئومایسین (۳۰)، تتراسایکلین (۳۰)، استرپتومایسین (۱۰)، سولفامتوکسازول + تری‌متوپریم (۲۳/۷۵+۱/۲۵)، دانوفلوکساسین (۱۰)، سفیکسیم (۵)، سفتریاکسون (۳۰)، سفتازیدیم (۳۰)، لووفلوکساسین (۵)، کانامایسین (۳۰)، فلورفنیکل (۳۰) بود. برای قرائت نتیجه‌ی آزمایش با استفاده از چشم غیرمسلح و در حضور نور متمرکز، قطر هاله‌ی ممانعت شونده از رشد هر ترکیب ضد میکروبی بر حسب میلی‌متر توسط خط‌کش اندازه‌گیری شد و با مقایسه با جدول تفسیر قطر هاله ممانعت شونده بر اساس حساس و مقاوم و حساسیت نسبی طبقه‌بندی گردید (CLSI 2013). در این مطالعه، مقاومت به بیش از یک ترکیب ضدمیکروبی به عنوان مقاومت چند گانه در نظر گرفته شد. کلیه‌ی دیسک‌ها از شرکت پادتن طب (ایران) تهیه شد.

نتایج

در آزمایش آگلوتیناسیون روی لام برای تعیین گروه سرمی، کلیه ۱۰۰ جدایه سالمونلا در گروه C طبقه‌بندی شدند. سپس با استفاده از پرایمر اختصاصی، ۱۰۰ جدایه سالمونلای گروه C مورد آزمایش PCR قرار گرفتند که از مجموع آن‌ها ۷۹ جدایه باند اختصاصی ۴۱۳ bp را برای *سالمونلا اینفنتیس* نشان دادند (تصویر ۱).

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر ۱: ژل الکتروفورز فرآورده‌های PCR برای تکثیر ژن اختصاصی ۴۱۳ جفت باز *سالمونلا اینفنتیس*
ستون‌ها عبارتند از: ۱ و ۷ (مارکر تجاری ۱۰۰ جفت باز شرکت فرمنتاس)، ۶ (کنترل مثبت)، ۸ (کنترل منفی)، ۲-۵ و ۹-۱۳ (نمونه‌های مثبت)

در این مطالعه همه‌ی جدایه‌های مورد بررسی به آنتی‌بیوتیک‌های فلورفنیکل و دانوفلوکساسین حساس بودند و پس از آن‌ها بیش‌ترین حساسیت دارویی به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، سفتازیدیم، سفتریاکسون، نورفلوکساسین و لووفلوکساسین مربوط می‌شد. مقاومت در مقابل تتراسایکلین ۱۰۰ درصد بود و بعد از آن بیش‌ترین میزان مقاومت دارویی به ترتیب متعلق به نالیدیکسیک اسید، فورازولیدون، لینکواسپکتین، فلومکوئین و استرپتومایسین بود (جدول ۲). بین جدایه‌های مقاوم، وقوع مقاومت چندگانه بسیار شایع بوده به طوری که آن‌ها حداقل به ۴ و حداکثر به ۱۱ دارو مقاوم بودند (جدول ۳).

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت تشخیص مولکولی سروتیپ *سالمونلا اینفنتیس* (Kardos et al. 2007)

نام پرایمر	توالی پرایمر	تعداد باز	اندازه محصول (bp)
SI-F	ttgcttcagcagatgctaag	۲۰	۴۱۳
SI-R	ccacctgcgccaacgct	۱۷	

جدول ۲: میزان حساسیت یا مقاومت ۷۹ جدایه‌ی سالمونلا اینفنتیس نسبت به ۲۰ ترکیب ضد میکروبی

ترکیب ضد میکروبی	تعداد (درصد) جدایه		
	حساس	متوسط حساس	مقاوم
آمپی سیلین	۳۹ (۴۹/۳۶)	۲۶ (۳۲/۹۴)	۱۴ (۱۷/۷)
سفیکسیم	۶۲ (۷۸/۵)	۱۷ (۲۱/۵)	۰ (۰)
سفتازیدیم	۷۴ (۹۳/۷)	۳ (۳/۸)	۲ (۲/۵)
سفتریاکسون	۷۱ (۹۰)	۸ (۱۰)	۰ (۰)
کلرآمفنیکل	۷۱ (۹۰)	۲ (۲/۴)	۶ (۷/۶)
دانوفلوکساسین	۷۹ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
فلورفنیکل	۷۹ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
فلومکوئین	۷ (۸/۶)	۵ (۶/۴)	۶۷ (۸۵)
فورازولیدون	۲ (۲/۵)	۲ (۲/۵)	۷۵ (۹۵)
جنتامایسین	۷۸ (۹۸/۷)	۰ (۰)	۱ (۱/۳)
کاناماپسین	۴۲ (۵۳/۱)	۸ (۱۰/۲)	۲۹ (۳۶/۷)
لووفلوکساسین	۶۴ (۸۱)	۱۳ (۱۶/۴۵)	۲ (۲/۵۵)
لینکواسپکتین	۵ (۶/۴)	۴ (۵)	۷۰ (۸۸/۶)
نئومایسین	۳۱ (۳۹/۲)	۱۶ (۲۰/۳)	۳۲ (۴۰/۵)
نالیدیکسیک اسید	۰ (۰)	۱ (۱/۳)	۷۸ (۹۸/۷)
انروفلوکساسین	۱۲ (۱۵/۲)	۴۳ (۵۴/۴)	۲۴ (۳۰/۴)
نورفلوکساسین	۶۹ (۸۷/۳)	۱۰ (۱۲/۷)	۰ (۰)
استرپتومایسین	۳ (۳/۸)	۱۱ (۱۳/۹)	۶۵ (۸۲/۳)
سولفامتوکسازول +تری متوپریم	۳۷ (۴۶/۸)	۱ (۱/۳)	۴۱ (۵۱/۹)
تتراسایکلین	۰ (۰)	۰ (۰)	۷۹ (۱۰۰)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳: الگوی مقاومت چندگانه ۷۹ جدایه‌ی سالمونلا اینفنتیس نسبت به ۲۰ ترکیب ضد میکروبی

تعداد ترکیب ضد میکروبی	تعداد (درصد) جدایه مقاوم
حداقل ۱	۷۹ (۱۰۰)
۱ <	۷۹ (۱۰۰)
۲ <	۷۹ (۱۰۰)
۳ <	۷۹ (۱۰۰)
۴ <	۷۷ (۹۶/۴۶)
۵ <	۷۰ (۸۸/۶۰)
۶ <	۴۵ (۵۶/۹۶)
۷ <	۳۷ (۴۶/۸۳)
۸ <	۲۳ (۲۹/۱۱)
۹ <	۱۴ (۱۷/۷۲)
۱۰ <	۳ (۳/۷۹)
۱۱ <	۰ (۰)

بحث

از اواخر سال ۱۹۷۰، سروار *سالمونلا اینفنتیس* در کشورهایی از جمله آرژانتین استرالیا، برزیل، هلند، فنلاند، کانادا، ژاپن و روسیه در حال گسترش است (EFSA 2010). این سروار در طی ۱۰ سال گذشته سروار غالب در لاشه‌های مرغ گوشتی آلوده در اروپا بوده و سومین رتبه را در موارد عفونت انسانی ناشی از سالمونلا در اروپا به خود اختصاص داده است (EFSA 2010). *سالمونلا اینفنتیس* معمولاً در بیمارستان‌ها خصوصاً در بخش کودکان مشاهده می‌شود، اما چنانچه افراد بزرگسال درگیر شوند با علائم سپتیسمی و مرگ همراه است. پایداری طولانی مدت در شرایط محیط بیمارستانی از ویژگی‌های بارز *سالمونلا اینفنتیس* است (Hasenson et al. 1995, Miller et al. 2010). منبع عمده‌ی این باکتری، حیوانات به ویژه جمعیت‌های طیور صنعتی می‌باشند. مطالعه‌ی مولکولی Nogrady و همکاران در سال ۲۰۰۸ در مجارستان روی جدایه‌های *سالمونلا اینفنتیس* جدا شده از گله‌های گوشتی، کشتارگاه و فروشگاه‌ها و نیز موارد انسانی، احتمال وجود منشاء طیوری و به ویژه گله‌های گوشتی را برای موارد بیماری‌های انسانی این سالمونلا تایید نمود.

بر اساس تحقیقات سازمان EFSA اروپا، *سالمونلا انتریتیدیس* و *سالمونلا اینفنتیس* عمدتاً در طیور تخم‌گذار و گوشتی اروپا دیده می‌شوند. بیش‌ترین شیوع *سالمونلا اینفنتیس* مربوط به جوجه‌های گوشتی مجارستان (۶۴ درصد) بوده است (EFSA Report 2007). شیوع *سالمونلا اینفنتیس* در لهستان ۸ درصد و جمهوری چک ۲/۵ درصد بوده است (EFSA Report 2007). حضور این باکتری در گله‌های گوشتی ژاپن، ایسلند، فرانسه، هلند، آمریکا، استرالیا، ترکیه، عربستان سعودی و الجزیره نیز گزارش شده است. نتایج مطالعات در سال ۲۰۱۰ در فلسطین اشغالی نشان می‌دهد که شیوع *سالمونلا انتریکا* سروار *اینفنتیس* از ۱/۲ مورد در سال ۲۰۰۱ به حدود ۱۴/۷ مورد در هر صد هزار نفر در سال ۲۰۰۹ رسیده که افزایشی دوازده برابری داشته است (Gal-Mor et al. 2010). در مطالعه‌ای در ژاپن ۱۶۴ جدایه سالمونلا طی سال‌های ۲۰۰۶ تا ۲۰۰۸ جمع‌آوری گردیده بود که ۸۱ جدایه متعلق به *سالمونلا اینفنتیس* بودند (Iwabuchi et al. 2011). مطالعات انجام شده در عربستان سعودی نشان داد که در ۱۹۹۴ حدود ۶۰ درصد نمونه‌های لاشه‌های مرغ گوشتی آلوده به *سالمونلا اینفنتیس* بودند که بین ۲۳ سروار شناسایی شده، سروتیپ اینفنتیس غالب بود، در حالی که در مطالعات بعدی از نمونه‌های جدا شده از گله‌های مختلف طیور، فقط در ۲۰/۶ درصد موارد *سالمونلا اینفنتیس* جدا شد (Al-Nakhli et al. 1999).

در ایران نیز شیوع این سروار در سال‌های اخیر در حال افزایش است. چنانچه در مطالعه‌ی رنجبر و همکاران در سال ۱۳۹۱ روی سالمونلاهای گروه C جدا شده از موارد انسانی مشخص شده است که از ۲۶ جدایه، ۱۹ جدایه (۷۳ درصد) جز سروار *سالمونلا اینفنتیس* بودند (رنجبر و همکاران ۱۳۹۱). رحمانی از سال ۲۰۰۷ تا سال ۲۰۱۱، ۳۶ نمونه‌ی سالمونلا از جوجه‌های گوشتی سه منطقه در شمال کشور جمع‌آوری نمود که ۷۵ درصد

www.SID.ir

Archive of SID

جدایه‌ها *سالمونلا اینفنتیس* و ۲۵ درصد *سالمونلا انتریتیدیس* بودند (Rahmani et al. 2013). عمادی در سال ۱۳۸۸ در مطالعه‌ای در شمال ایران از ۱۱۲۵ نمونه جدا شده سالمونلا از ماکیان بومی ۵۵/۵ درصد *سالمونلا انتریتیدیس*، ۲۲/۲ درصد *سالمونلا تیفی موریوم*، ۱۴/۸ درصد *سالمونلا هادار* و ۷/۴ درصد *سالمونلا اینفنتیس* جدا نمود (Emaddi Chashmi et al. 2009). در تحقیق ما نیز ۷۹ درصد سالمونلاهای گروه C جدا شده از طیور گوشتی با روش مولکولی و بکارگیری پرایمر اختصاصی، سروار *سالمونلا اینفنتیس* شناسایی شد. وقوع بالای *سالمونلا اینفنتیس* در طیور برخی مناطق را می‌توان به شرایط بومی منطقه مرتبط دانست و به ویژه این که احتمالاً این سروار سالمونلا به خوبی با شرایط فیزیولوژیک به ویژه دمای بالای بدن طیور تطابق یافته است.

شیوع مقاومت باکتریایی *سالمونلا اینفنتیس* در گله‌های گوشتی فلسطین اشغالی به وسیله‌ی Gal-Mor و همکاران در سال ۲۰۱۰ و در ژاپن به وسیله‌ی Asai و همکاران در سال‌های ۲۰۰۶ و ۲۰۰۷ نشان داده شده است که همانند جدایه‌های مجارستان مقاومت به تتراسایکلین در آن‌ها برجسته بود. در مطالعه‌ی کنونی نیز بالاترین میزان مقاومت در مقابل تتراسایکلین و پس از آن نالیدیکسیک اسید و فلومکوئین مشاهده شد. میزان مقاومت چندگانه نیز بسیار بالا و در مقابل ۱۱ آنتی‌بیوتیک به صورت همزمان گزارش شد. مقاومت چندگانه در کشورهای لهستان، مجارستان، اتریش، ژاپن و فلسطین اشغالی و سایر کشورهایی که برنامه‌ی پایش سالمونلا در آن‌ها ضعیف است گزارش شده که می‌تواند ناشی از فشار گزینشی در پی مصرف مداوم رده‌های آنتی‌بیوتیکی یکسان در گله‌های گوشتی باشد (Nogrady et al. 2012). افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های سالمونلای جدا شده از حیواناتی که برای مصرف انسان پرورش داده می‌شوند از جنبه‌ی سلامت عمومی دارای اهمیت زیادی است؛ زیرا این نگرانی وجود دارد که درمان سالمونلوز در انسان پیچیده شود و سویه‌های مقاوم سبب بیماری طولانی‌تر یا شدیدتری نسبت به سویه‌های حساس در انسان شوند.

با توجه به افزایش فراوانی سالمونلاهای گروه C در گله‌های طیور ایران و اهمیت عفونت این گروه به ویژه *سالمونلا اینفنتیس* در انسان، ارزیابی فراوانی این سروار و نیز الگوی مقاومت دارویی آن حائز اهمیت است. با توجه به افزایش اهمیت سالمونلاهای پاراتیفی به ویژه *سالمونلا اینفنتیس* در انسان و طیور در سال‌های اخیر در جهان و از جمله در کشور ما، نیاز به تحقیقات وسیع و پیشرفته در این زمینه به منظور کاهش و کنترل سرووارهای عفونت در طیور و متعاقباً در انسان وجود دارد، بدین منظور پیشنهاد می‌گردد تحقیقاتی نظیر این مطالعه برای پایش گله‌های طیور سایر مناطق کشور از نظر آلودگی به سالمونلا صورت گیرد. مطالعات گسترده‌تر روی جدایه‌های سالمونلا و تعیین عوامل خطر، بررسی مولکولی و تعیین پاتوژنیسیته جدایه‌های ایران در انواع گله‌های طیور و تعیین تأثیرات اقتصادی عفونت‌های ناشی از سالمونلا، از جمله مواردی است که باید به آن توجه شود.

منابع

اکبریان، رامین؛ پیغمبری، سیدمصطفی؛ مرشد، ریما و یزدانی، اعظم (۱۳۹۱). بررسی آلودگی سالمونلایی گله‌های طیور صنعتی در ایران، مجله دامپزشکی ایران، دوره ۸ ، شماره ۳ ، صفحات ۱۰-۵.

رنجبر، رضا؛ سرشار، میثم و صادقی‌فرد، نورخدا (۱۳۹۱). بررسی تنوع ژنوتیپی سویه‌های بالینی سالمونلا انتریکا سروتیپ اینفنتیس به روش ریبوتایپینگ، مجله علوم پزشکی زنجان، دوره ۲۰، شماره ۸۱، صفحات ۸۴- ۷۵.

www.SID.ir

Archive of SID

Al-Nakhli, H.M.; Al-Ogaily, Z.H. and Nassar, T.J. (1999). Representative *Salmonella* serovars isolated from poultry and poultry environments in Saudi Arabia. Revue Scientifique et Technique de L'Office International des Epizooties, 18: 700-709.

Asai, T.; Itagaki, M.; Shiroki, Y.; Yamada, M.; Tokoro, M.; Kojima, A. et al. (2006). Antimicrobial resistance types and genes in *Salmonella enterica* Infantis isolates from retail raw chicken meat and broiler chickens on farms. Journal of Food Protection, 69: 214-216.

Asai, T.; Ishihara, K.; Harada, K.; Kojima, A.; Tamura, Y.; Sato, S. and Takahasi, T. (2007). Long-term prevalence of antimicrobial-resistant *Salmonella enteric* subspecies enteric serovar Infantis in the broiler chicken industry in Japan. Microbial and Immunology, 51: 111-115.

CLSI (2013). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Wayne, PA.

Emaddi Chashni, S.H.; Hassanzadeh, M.; Bozorgmehri Fard, M.H. and Mirzaie, S. (2009). Characterization of the *Salmonella* isolates from backyard chickens in north of Iran, by serotyping, multiplex PCR and antibiotic resistance analysis. Archives of Razi Institute, 64: 77-83.

European Food Safety Agency (EFSA) (2007). Report of the task force on zoonoses data collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in broiler flocks of *Gallus gallus*, Part A. European Food Safety Authority Journal, 98: 1-85.

European Food Safety Authority (EFSA) (2010). The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European union in 2008. European Food Safety Authority Journal, 8: 1496.

Gal-Mor, O.; Valinsky, L.; Weinberger, M.; Guy, S.; Jaffe, J.; Schorr, Y.I. et al. (2010). Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Infantis, Israel. Emerging Infectious Diseases, 16: 1754-1757.

Gast, R.K. Paratyphoid infections. In: Saif, Y.M.; Fadly, H.J.; Glisson, L.R.; McDougald, A.M.; Nolan, L.K. and Swayne, D.E. (2008). Diseases of Poultry. 12th ed. Ames, Iowa, Iowa State Press, pp: 636-655.

Hasenson, L.; Gericke, B.; Liesegang, A.; Claus, H.; Poplawskaja, J.; Tscherkess, N. and Rabsch, W. (1995). Epidemiological and microbiological studies on salmonellosis in Russia. International Journal of hygiene and Environment Medicine, 198: 97-116.

Iwabuchi, E.; Yamamoto, S.; Endo, Y.; Ochiai, T. and Hirai, K. (2011). Prevalence of *Salmonella* isolates and antimicrobial resistance patterns in chicken meat throughout Japan. Journal of Food Protection. 74: 270-273.

Kardos, G.; Farkas, T.; Antal, M.; Nógrády, N. and Kiss, I. (2007). Novel PCR assay for identification of *Salmonella enteric* serovar Infantis. Letters in Applied Microbiology, 45: 421-425.

Miller, T.; Prager, R.; Rabsch, W.; Fehlhaber, K. and Voss, M. (2010). Epidemiological relationship between *Salmonella* Infantis isolates of human and broiler origin. Lohmann Information, 45: 27-31.

Morshed, R. and Peighambari, S.M. (2010). *Salmonella* infections in poultry flocks in the vicinity of Tehran. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 4: 273-276.

Murakami, K.; Horikawa, K.; Ito, T. and Otsuki, K. (2001). Environmental survey of *Salmonella* and comparison of genotypic characterization with human isolates in Western Japan. Epidemiology and Infection. 126: 159-171.

Nógrády, N.; Kardos, G.; Bistyák, A.; Turcsányi, I.; Mészáros, J.; Galántai, Z. et al. (2008). Prevalence and characterization of *Salmonella* Infantis isolates originating from different points of the broiler chicken-human food chain in Hungary. International Journal of Food Microbiology, 127: 162-167.

Nógrády, N.; Király, M.; Davies, R. and Nagy, B. (2012). Multidrug resistant clones of *Salmonella* Infantis of broiler origin in Europe. International Journal of Food Microbiology, 157: 108-112.

Quinn, P.J.; Carter, M.E.; Markey, B. and Carter, G.R. (1994). Clinical Veterinary Microbiology. Wolf publishing, London, pp: 95-102.

Rahmani, M.; Peighambari, S.M.; Svendsen, C.A.; Cavaco, L.M.; Agersø, Y. and Hendriksen, R.S. (2013) Molecular clonality and antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovars Enteritidis and Infantis from broilers in three Northern regions of Iran. BMC Veterinary Research. 9:66.

Waltman, W.D.; Gast, R.K. and Mallinson, E.T. Salmonellosis. In: Swayne, D.E.; Glisson, J.R.; Jackwood, M.M.; Pearson, J.E. and Reed, W.M. (1998). A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens. 4th ed. Pennsylvania, American Association of Avian Pathologists, pp: 4-13.

www.SID.ir

Archive of SID

Vol. 11, No. 2, Summer, 2015

Detection of *Salmonella enterica* serovar Infantis among serogroup C *Salmonella* isolates from poultry using PCR and determination of drug resistance patterns

Peighambari, S.M.[1]; Sorahi Nobar, M.[2] and Morshed, R.[3]

Received: 06.06.2014 Accepted: 03.01.2015

Abstract

Salmonellosis is an important zoonotic disease that is caused by a variety of *Salmonella* serovars. Our recent surveys from the Iranian poultry flocks have shown a high prevalence of serogroup C among *Salmonella* isolates. Because *Salmonella* ser. Infantis is a member of serogroup C and an important zoonotic agent as well, this study was conducted to determine the detection of *Salmonella* ser. Infantis among a large collection of serogroups C *Salmonella* isolates available in our laboratory. A total of 100 serogroup C *Salmonella* isolates originated from broiler chickens were selected from our bacterial collection in the Department of Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. Using PCR and by application of primers specific for *Salmonella* ser. Infantis, the prevalence of this serovar was detected among 100 isolates. Then, using the disk diffusion procedure, the drug resistance patterns of *S.* ser. Infantis isolates were determined against a panel of antibacterial agents commonly used in medicine and veterinary medicine. The results showed that among 100 serogroup C *Salmonella* isolates, %79 isolates belonged to *S.* ser. Infantis. Antimicrobial susceptibility test revealed that all isolates were sensitive to florfenicol and danofloxacin. The highest antimicrobial resistance was seen for tetracycline, nalidixic acid and furazolidone. Among the resistant isolates, multidrug resistance was widespread and resistance to at least 4 and at most 11 compounds were observed. This study showed a high prevalence of *S.* ser. Infantis with high drug resistance among broiler flocks which is very critical due to the public health and zoonotic issues related to this serovar.

Key words: Broiler, *Salmonella* Infantis, PCR, Antimicrobial susceptibility

1- Professor, Department of Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran
2- DVM Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran
3- Assistant Professor, Veterinary and Agriculture Group, Iran Encyclopedia Compiling Foundation, Ministry of Science Research and Technology, Tehran, Iran
Corresponding Author: Peighambari, S.M., E-mail: mpeigham@ut.ac.ir

www.SID.ir