Archive of SID

نشریه دامپزشکی
در
پژوهش و سازندگی شماره ۱۰۹ زمستان ۱۳۹۴
DOI:10.22034/vj.2015.103026

مروری بر مطالعات انجام شده در زمینه جداسازی، روش های تشخیصی و مقاومت دارویی سالمونلا در ایران

• سهیلا مرادی بیدهندی (نویسنده مسئول)
بخش میکروب شناسی، مؤسسه تحقیقاتی واکسن و سرم سازی رازی، کرج، ایران
تاریخ دریافت: اردیبهشت ماه ۹۴ تاریخ پذیرش: خردادماه ۹۳
Email: s.bidhendi@rvsri.ac.ir

چکیده

عفونت‌های سالمونلایی از مهم‌ترین مشکلات بهداشت عمومی در جهان بوده و در اکثر نقاط جهان بخصوص در کشورهای در حال توسعه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این میان ماکیان، انسان، دام و مواد غذایی در انتقال عامل عفونت، از نظر جنبه اقتصادی و بهداشت عمومی نقش مهمی ایفا می‌کنند . مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که هنوز سالمونلا انتریتیدیس و سالمونلا تیفی موریوم از سروتیپ‌های غالب می‌باشند. با توجه به محدودیت‌ها و مشکلات روش‌های جداسازی آزمایشگاهی می‌توان از روش‌های ملکولی به عنوان روشی سریع، ارزان، اختصاصی و با حساسیت بالا در تشخیص استفاده نمود. یافتن منشاء عفونت و کانون‌های آن می‌تواند در بهبود استراتژی‌های کنترلی حائز اهمیت باشد. گسترش ژن‌های مقاومت پلاسمیدی در میان سروتیپ‌های مختلف سالمونلا جدا شده از موارد انسانی، طیوری و دامی و انتقال آنها در بین موارد فوق از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. شناسایی مقاومت‌های دارویی و جلوگیری از انتشار آن‌ها می تواند بعنوان یکی از مسائل مهم در درمان باشد و بررسی این مقاومت‌ها به منظور جلوگیری از بروز سویه‌های مقاوم امری ضروری می‌باشد. با مشخص شدن الگوی مقاومتی باکتری‌های جداشده می‌توان پروتکل‌های درمانی را اصلاح و آنتی بیوتیک‌های موثرتر را جایگزین نمود.

کلمات کلیدی: سالمونلا، جداسازی ، روش های تشخیصی ، مقاومت دارویی، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 109 pp: 21-30

A review of studies on isolation, diagnosis and antimicrobial resistance of ***Salmonella*** in Iran

By: Moradi Bidhendi, S., Dept. of Microbiology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, IR Iran.

Received: April 2015 Accepted: May 2015

Email: s.bidhendi@rvsri.ac.ir

Salmonella infection is a major public health problem in the world and in most parts of the world, particularly in developing countries are of utmost importance. Poultry, human, animal and food play an important role in transmission, economy and public health aspects. Yet studies show that *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* is the predominant sero-types. Due to limitations in isolation in laboratory, using molecular techniques as a rapid, inexpensive, specific and sensitive diagnostic must be used. The source of the infection could be important in the control strategies. Spread of resistance genes via plasmid among different serotypes of *Salmonella* is of great importance. Identification and prevention of drug resistance genes among serotypes of *Salmonella* could be one of the most important issues in the study of its ressistance. To determine the susceptibility patterns of isolates, the protocols of treatment can be modified and replaced with effective antibiotics.

Key words: *Salmonella*, Isolation, Diagnosis, Antimicrobial resistance, Iran

مقدمه

سالمونلا بعنوان یک پاتوژن منتقل شونده از مواد غذایی مطرح بوده و یک معضل بزرگ در بهداشت جامعه در دنیا به حساب می‌آید. بر اساس گزارش سازمان کنترل و پیشگیری بیماری‌های امریکا (CDC) سالانه ۴۰۰۰۰ مورد سالمونلوزیس گزارش می‌شود (CDC, 2009). بعلاوه سالمونلوز غیر تیفوئیدی بعنوان دومین عامل عفونت‌های زئونوتیک منتقله از مواد غذایی در اروپا مطرح بوده و بیش از ۱۰۰۰۰۰ مورد سالمونلوز انسانی منتقله از مواد غذایی در اروپا گزارش شده است(European Food Safety Authority—EFSA [EFSA], 2011).

اگرچه بیش از ۲۵۰۰ سروتیپ از سالمونلا انتریکا شناسایی شده است اما عفونت ناشی از سالمونلا در انسان توسط تعداد محدودی سروتیپ ایجاد می‌شود (Grimont &Weill, 2007). سالمونلا انتریتیدیس و سالمونلا تیفی موریوم بیشترین موارد جداسازی از مواد غذایی را در شیوع‌های اتفاق افتاده در امریکا و اروپا نشان داده‌اند (EFSA, 2011;Finstad, O'Bryan, Marcy, Crandall, & Ricke, 2012).

بیشتر عفونت‌های ناشی ازسالمونلا بدلیل آلودگی مواد غذایی با منشاء حیوانی، گوشت ماکیان و فراورده‌های آن‌ها بوده است و مواد غذایی بعنوان یک وسیله انتقالی برای سالمونلا به انسان محسوب می‌شوند (Marin & Lainez, 2009). مطالعات نشان داده است که طیور بعنوان منبعی برای سالمونلوز انسانی می‌باشند زیرا این باکتری می‌تواند در دستگاه گوارش طیور کلونیزه شده و کلواک آنها بعنوان یک محل مهم برای کلونیزاسیون سالمونلا بوده و طیور بعنوان ناقلین بدون علامت مطرح می‌باشند. بنابراین محتویات دستگاه گوارش و کلواک جوجه‌ها می‌تواند اولین منبع آلودگی سالمونلا باشد (Mead et al., 2010;. البته به سختی می‌توان موارد گزارش شده ارتباط بین عفونت‌های انسانی و فراورده‌های طیوری را از موارد غیر طیوری تمیز داد (Gast, 2007; Cox et al., 2011; Koo et al., 2012). آلودگی می‌تواند در حین زنجیره تولید فراورده‌های طیوری مانند کشتار و خالی کردن شکم در لاشه ماکیان اتفاق افتد که یک ریسک فاکتور بالقوه برای انتقال این باکتری است (Muth, Fahimi, & Karns, 2009; Rasschaert et al., 2008).

سالمونلا انتریتیدیس و سالمونلا تیفی موریوم تاکنون بعنوان ۲ سروتیپ شایع جدا شده از موارد مختلف گزارش شده‌اند. البته سروتیپ‌های دیگر مانند سالمونلا اینفنتیس، سالمونلا باردو، سالمونلا باکونگو، سالمونلا کولیندال، سالمونلا دوربان، سالمونلا میجیمبوا، سالمونلا اونو، سالمونلا تامپسون، سالمونلا تیندا، سالمونلا هیدلبرگ، سالمونلا کنتاکی، نیز شناسایی شده‌اند (Ezatpanah, Moradi Bidhendi, et al.,2011., Foley et al., 2011., Ebrahimvandi, Khaki, Darvishi &Moradi Bidhendi, 2014.,Wales & Davies, 2011,.) که می‌توانند در انسان و دیگر حیوانات ایجاد بیماری نمایند (Gantois et al., 2009., Barrow, 2007). طیور آلوده شده با سروتیپ‌های ذکر شده در بالا می‌توانند بیماری بدون علامت داشته باشند و برای مدت طولانی باکتری را در محیط وارد کنند (Van Immer-seel et al., 2005). عفونت ناشی از سالمونلا انتریتیدیس و تیفی موریوم احتیاج به درمان دارد و یا حتی به بستری شدن در بیمارستان منجر می‌شود (Feasey, Dougan, Kingsley, Heyderman, & Gordon,. 2012).

با کشف پنی‌سیلین، آنتی‌بیوتیک‌ها و دیگر مواد ضد میکروبی جهت درمان و کنترل پاتوژن‌های قدیمی و جدید مورد استفاده قرار گرفتند که نتیجه آن بهبود بیماری و افزایش امید به زندگی را در بر داشت. با این حال ظهور سریع مقاومت ضد میکروبی توسط پاتوژن‌های میکروبی تهدیدی برای بهداشت عمومی می‌باشد. ظهور مقاومت‌های میکروبی پدیده جدیدی نمی‌باشد و تولید آنتی‌بیوتیک‌های جدید بصورت یک چالش در کنترل

www.SID.ir

Archive of SID

بیماری‌ها در کشورهای فقیر و در حال توسعه در آمده است. در سال ۲۰۱۴ سازمان بهداشت جهانی از مقاومت دارویی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان یک "تهدید بزرگ جهانی" نام برده است. این سازمان با بررسی آمار مربوط به ۱۱۴ کشور، از افزایش مقاومت دارویی در همه نقاط جهان خبر داده است (WHO,2014). این مقاله مروری بر مطالعات انجام شده در زمینه جداسازی، سروتایپینگ، شناسایی ملکولی و مقاومت دارویی سالمونلا در ایران دارد.

جداسازی و سروتایپینگ سا لمونلا

سالمونلا دارای بیش از ۲۵۰۰ سروتیپ است که همگی بیماریزا می‌باشند و همواره تعیین سروتیپ غالب آن از اهمیت زیادی در طیور و انسان برخوردار است. در این زمینه مطالعات زیادی در ایران و خارج صورت گرفته است که نشان می‌دهد آلودگی سالمونلایی در طیور و انسان همواره وجود داشته است.در مطالعات انجام شده در خارج نیز آلودگی سالمونلایی طیور گزارش شده است و سروتیپ‌های غالب نیز انتریتیدیس و تیفی موریوم گزارش شده‌اند. در اوایل قرن بیستم سرووارهای آداپته شده با طیور، سالمونلا گالیناروم وسالمونلا پلوروم، بصورت اندمیک در مزارع مرغ در امریکا و اروپا گزارش شدند (Rabsch et al., 2000; Mead et al., 2010). بدلیل خسارت‌های اقتصادی ناشی از این سروتیپ‌ها برنامه‌های ریشه‌کنی جهت کنترل بیماری از اهمیت ویژه ای برخوردار شد (Hitchner, 2004). در حالیکه این سروتیپ‌ها حذف شدند، سالمونلا انتریتیدیس غالبیت بیشتری پیدا کرد و بعنوان یکی از موارد مشکل‌ساز در مواد غذایی و طیور در دنیا مطرح شد و این فرضیه عنوان شد که سالمونلا انتریتیدیس جایگاه اکولوژیکی سالمونلاهای گالیناروم و پلوروم را اشغال کرده است (Baumler et al., 2000) . در بین فراورده‌های غذایی طیور، تخم مرغ بعنوان مهمترین فراورده مطرح بوده است بطوریکه بین سال‌های ۱۹۸۵-۱۹۸۹ تخم مرغ به عنوان ۸۲٪ از موارد عفونت ناشی از سالمونلا انتریتیدیس در امریکا شناخته شد. همچنین میزان عفونت‌های ناشی از سالمونلا انتریتیدیس از اوایل دهه ۹۰ در امریکا در مزارع مرغ و موارد انسانی رو به افزایش گذاشته است بطوریکه مطالعات انجام شده نشان داده است که این سروتیپ بعنوان دومین سروتیپ عامل سالمونلوز در انسان مطرح و در سال ۲۰۰۶ مسئول ۱۷٪ از موارد سالمونلوز گزارش شده در امریکا بوده است (Dhillion et al., 2001; Howard et al., 2012). مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان می‌دهد که بیشترین موارد شیوع عفونت‌های سالمونلا انتریتیدیس ناشی از مصرف تخم مرغ و یا فراورده‌های درست شده از آن بوده است و تخم مرغ نپخته بعنوان یک عامل انتقال مهم مطرح است (Gantois et al., 2009; Braden, 2006). در ایران نیز مطالعات انجام شده حاکی از تایید موارد فوق می‌باشد بطوریکه درسال ۱۳۷۱ از ۷۱۵ گله گوشتی طیور تحت مطالعه، ۴۸۰ گله (۶۷/۱٪) آلوده به سالمونلا انتریتیدیس بوده‌اند. از طرف دیگر مطالعه‌ای در شیراز نشان داد که شایعترین سروتیپ‌ها در بین ۳۶۰ سالمونلای جدا شده از مرغداری‌های اطراف شیراز به ترتیب ۳۲/۲۲٪ سالمونلا انتریتیدیس و ۱۱/۱۱٪ سالمونلا تیفی موریوم بودند. با بررسی‌های انجام شده در مرغداری‌های استان چهارمحال وبختیاری پس از تعیین سروتیپ ۶۵۸ نمونه سالمونلای جداشده ۶۱۲ نمونه (۹۳٪) سالمونلا انتریتیدیس و ۴۶ نمونه (۷٪) سالمونلا تیفی موریوم تشخیص داده شد (Hemmatzadeh, Salemi, 1995). در مطالعه‌ای دیگر بر روی ۱۰۰ نمونه تخم مرغ محلی در شهرستان ارومیه از نظر وجود سالمونلا کار و از این تعداد ۶ نمونه (۶٪) سالمونلا جدا گردید و در سروتایپینگ نمونه‌های فوق هر ۶ مورد سالمونلا انتریتیدیس تشخیص داده شد (Aminzare, Nairiz Naghdehi, Rasouli & Delshad, 2009). اهمیت سالمونلا انتریتیدیس در تحقیقات دیگر نیز نشان داده شده است بطوریکه بیشترین سروتیپ جدا شده انتریتیدیس گزارش شده است (Akbarmehr, 2010; Morshed,2013; Miranzadeh, Zahraei Salehi, & Karimi, 2012 ; Nosrati, Sabokbar, Mehroz Dezfolian, Tabarrai & Fallah, 2012; Akbarian, Peyghambari, Morshed & Yazdani, 2012). همچنین در زنجان بر روی ۱۲۰ نمونه از تخم مرغ‌های فلهای و مارک دار و ۱۲۰ نمونه از مرغ‌های مارک دار و فلهای آزمایشات جداسازی سالمونلا انجام شد که نشان داد شایع ترین سالمونلاهای جدا شده از پوسته تخم مرغ سالمونلا انتریتیدیس(۲۳/۳٪) ، سالمونلا آگونا و سالمونلا ویرچو و در مرغ سالمونلا گالیناروم، سالمونلا آگونا و سالمونلا و یرچو بودند (Shapouri, Rahnema, & Eghbalzadeh, 2009). مطالعات انجام شده بر روی ماکیان بومی در ایران نیز موید وجود سالمونلا وغالبیت دو سروتیپ انتریتیدیس و تیفی موریوم بوده اند.البته سروتیپ‌های هادار و اینفنتیس نیز جداسازی شده‌اند (Chashni, Hassanzadeh, Fard & Mirzaie, 2009). مطالعات صورت گرفته دیگر طی زمان‌های مختلف نشان می‌دهد که علاوه بر دو سروتیپ شایع فوق سروتیپ‌های دیگری نیز جداسازی شده‌اند که اهمیت اپیدمیولوژیکی این مطلب را می‌رساند بطوریکه سالمونلا تامپسون (Dallal et al., 2007)، سالمونلا برازاویله، سالمونلا مونته ویدئو، سالمونلا نستود (Moradi Bidhendi, Khaki, Abasi & Ghaderi 2010)، سالمونلا اینفنتیس، سالمونلا باردو، سالمونلا باکونگو (Ezatpanah, Moradi Bidhendi, et al.,2011)، سالمونلا دوربان، سالمونلا اونو، سالمونلا تیندا، سالمونلا میجیمومه، سالمونلا تامپسون، سالمونلا SIIO7 ، سالمونلا SIIO۸ (Ebrahimvandi, Khaki, Darvishi &Moradi Bidhendi2014)، سالمونلا اینفنتیس (Bidaki, Teh-ranipoor, Dadpour & Gholizade ۲۰۱۱)، گروه‌های سرمی B, C1, C2 (Akbarmehr, 2010)، گروه‌های سرمی D, C, B و گروه‌های سرمی غیر از (Akbarian A-S, Peyghambari, Morshed & Yazdani, 2012)، گروه سرمی C ، D و غیر قابل تایپینگ (Morshed,2013) از موارد طیوری جدا شده‌اند.

مطالعات انجام شده بر روی گنجشک نشان از عدم جداسازی سالمونلا بود (Haghbin Nazarpak, Firozi & Asgari Badoii, 2011) که البته نمی‌توان با قطعیت وجود سالمونلا را در گنجشک رد کرد. سالمونلا باکتری است که می‌تواند در دستگاه گوارش طیور کلونیزه شود و کلواک بعنوان یک محل مهم برای کلونیزاسیون سالمونلا می‌باشد. بنابراین محتویات دستگاه گوارش و کلواک می‌تواند اولین منبع آلودگی سالمونلا باشد. این باکتری می‌تواند دستگاه تناسلی را آلوده کند و به تخم مرغ منتقل شود (Gantois et al., 2009) . جوجه‌های جوان می‌توانند این باکتری را از طریق مدفوع دفع کرده و بدین ترتیب می‌توانند سطح تخم مرغ را آلوده نمایند (Howard et al., 2012) . در مطالعه‌ای در ایران میزان آلودگی اندام‌های مختلف قلب، کبد، تخمدان و مدفوع طیوربه سالمونلا مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه بدست آمده نشان داد که این

www.SID.ir

Archive of SID

باکتری را بترتیب می‌توان از مدفوع، قلب، کبد و تخمدان جداسازی کرد (Sadeghizali, Hashempour, Kalbkhani & Delshad, 2011). از آنجا که یکی از ناقلین این باکتری موش می‌باشد که در مزارع مرغداری‌ها زندگی می‌کند، تحقیق دیگری بر روی میزان آلودگی این ناقلین صورت گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که موش‌ها به سالمونلا آلوده و گروه‌های سرمی آنها C,D,B,E و تحت آریزونا بودند و بیشترین فراوانی در گروه C مشاهده شد (Haddadian, Karimi, Zahraisalehi, Barin & Ghalyanchi langrodi, 2012). از آنجا که سالمونلا یک زئونوز و food-borne می‌باشد پس می‌تواند سروتیپ‌های آن بین طیور، انسان و دام در گردش باشد. در مطالعه‌ای سروتیپ‌های شایع جدا شده در انسان سالمونلا تیفی، سالمونلا پاراتیفی A، سالمونلا پاراتیفیC، سالمونلا انتریتیدیس، سالمونلا اینفنتیس و سالمونلا پاراتیفی B گزارش شدند (Hamidian et al., 2009) و در مطالعه دیگر سروتیپ‌های غالب شامل سالمونلا تیفی، سالمونلا پارا تیفی B، سالمونلا پارا تیفیC، سالمونلا پاراتیفی A و مواردی غیر قابل تشخیص بودند (Soltan Dallal, Rastegar Lari, & Sharifi Yazdi, 2014). از دیگر سروتیپ‌های گزارش شده انسانی می‌توان از سالمونلا تیفی موریوم، سالمونلا انتریتیدیس، سالمونلا تیفی، سالمونلا پاراتیفیB ، سالمونلا نیوپورت، سالمونلا دربی، سالمونلا ویرچو، سالمونلا اینفنتیس و ۱۱ مورد غیر قابل تایپینگ نام برد ((Abdollahi, Mohammadi, Fasihi, & Shayan Raheleh, 2011. این سروتیپ‌ها از نظر گروه سرمی شبیه موارد جدا شده از طیور می‌باشد که خود می تواند نشانه انتقال بین منابع مختلف باشد.

مطالعات انجام شده طی سال‌های متمادی نشان دهنده آن است که سالمونلا هنوز به عنوان یکی از مهمترین بیماری های باکتریایی با منشا غذایی و زئونوز در جهان بشمار می‌رود. در مطالعات انجام شده سالمونلا انتریتیدیس و سالمونلا تیفی موریوم نسبت به سایر سروتیپ ها دارای غالبیت بوده که اهمیت این سروتیپ‌ها را نشان می‌دهد. سروتیپ غالب بعدی در ایران با توجه به گزارشات موجود سالمونلا اینفنتیس می‌باشد.

روش های ملکولی تشخیص سالمونلا

با توجه به اهمیتی که سالمونلا در بروز بیماری سالمونلوز داشته و حضور آن در منابع مختلف خطر جدی برای انسان محسوب می‌شود و همچنین در صنعت طیور هنوز به عنوان یک معضل بهداشتی به حساب می‌آید که قسمتی از این مشکل بدلیل بوجود آمدن سویه‌های جدید ناشی از تغییرات ظریف ژنتیکی در سویه‌های قبلی می‌باشد، لذا تشخیص سریع آن در منابع مختلف از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با توجه به اینکه روش‌های مبتنی بر کشت و جداسازی زمان‌بر می‌باشد بنابراین بکار بردن روش‌هایی که بتواند حضور سالمونلا را سریع در نمونه‌های مشکوک نشان دهد می‌تواند در پیشگیری از بیماری و بروز اپیدمی‌ها جلوگیری کند. روش‌های مولکولی امروزه از سریع‌ترین و حساس‌ترین تکنیک‌های تشخیصی می‌باشند و واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مراز PCR از رایج‌ترین این روش‌های تشخیص مولکولی هستند. در روش PCR می‌توان از ژن‌های مختلفی که در ایجاد بیماریزایی در سالمونلا نقش ایفا می‌کنند، استفاده نمود. تحقیقات انجام شده جهت تعیین جمعیت نسبی سالمونلا در دستگاه گوارش طیور با استفاده از روش PCR و ژن 16SrDNA نشان داد که جمعیت نسبی این باکتری در بخش‌های تحتانی روده، ایلئوم و روده کور، نسبت به بخشهای فوقانی روده باریک بیشتر است. نتایج حاصل نشان‌دهنده متغیر بودن جمعیت باکتری سالمونلا در بخش‌های مختلف دستگاه گوارش طیور بوده است که با عملکرد، وظایف و محیط فیزیکوشیمیایی این بخش‌ها مرتبط است (Sidavi, 2013). یکی از ژن‌ها hilA می‌باشد. این ژن با رمز نمودن پروتئین‌های تنظیمی نسخه‌برداری باعث بیان ژن‌های مهاجم وتسهیل نفوذ سالمونلا به داخل سلول‌های پوششی روده می‌شود. از ژن‌های دیگر که می‌توان در تشخیص‌های ملکولی سالمونلا از آنها کمک گرفت می‌توان از viaB، rfbJ, fljB, invA , fliC، spv, sefA نام برد. مطالعات انجام شده نشان داده است که با ژن‌های fliC rfbJ, fljB, invA می‌توان سالمونلا تیفی موریوم و با استفاده از ژن‌های spv, sefA سالمونلا انتریتیدیس را شناسایی کرد (Chashni et al., 2009). ژن دیگری که بر اساس آن می‌توان با استفاده از روش PCR به شناسایی سالمونلا تیفی پرداخت ،ژن viaB است که شناسایی این ژن با روش فوق برای تشخیص سالمونلا تیفی در نمونه‌های کلینیکی می‌تواند بعنوان روشی سریع، ارزان، اختصاصی و با حساسیت بالا مورد استفاده قرار گیرد (Saadati et al., 2009) همچنین این روش با این ژن با حساسیتی حدود ۱۹ کپی از ژنوم قادر به شناسایی سریع این باکتری می‌باشد (Amini, Soleimani, Ghalyanchi Langeroudi, & Majidzadeh, 2010). از طرف دیگر این ژن در تمام سالمونلاها وجود دارد و می‌تواند در تشخیص و شناسایی جنس سالمونلا استفاده شود (Akbarmehr, 2010). از دیگر مواردی که در تشخیص‌های ملکولی با روش PCR اهمیت دارد حساسیت این روش است بطوریکه این روش دارای حساسیت ۱۰۰fg در شناسایی ۱۶ مورد (۴۰%) از نمونه‌های گوشت مرغ و ۹ مورد (۲۳%) از نمونه‌های تخم‌مرغ بوده است (Nayebi et al., 2011). استفاده از ژن hilA و روش PCR در گوجه فرنگی جهت شناسایی سالمونلا تیفی موریوم نشان داده است که این روش قدرت تشخیص سالمونلا را در سطح و درون گوجه‌های تلقیح شده بترتیب 10^1 و 10^2 باکتری در هر گرم گوجه پس از ۶ ساعت غنی‌سازی را دارد (Shafaati, Shefaati & Khodadost, 2011). در بررسی ملکولی با روش PCR و ژن invA بر روی ۱۰ مورد سالمونلای جدا شده از طیور نشان داد که ۱۰مورد حاوی ژن مورد نظر بودند (Karimidareabi, Karimi & Ebrahimi Mohammadi, 2011) که می‌تواند بیانگر این مورد باشد که می‌توان از این ژن جهت شناسایی جنس سالمونلا استفاده نمود. PCR-ELISA روش ملکولی دیگری می‌باشد که توانسته است بسیاری از محدودیت‌های موجود و معایب روش‌های دیگر از جمله PCR را مرتفع سازد. این روش اختصاصی و سریع بوده و می‌تواند نتیجه سریع و مطلوب را در بر داشته باشد. از ویژگی‌های این روش می‌توان به کار بر روی ۹۶ نمونه نام برد. همچنین حساسیت این روش ۱ نانوگرم از DNA ژنومی و ۱۰ سلول باکتری می‌باشد و حساسیت آن ۱۰۰۰ برابر بیشتر از بیشتر از الکتروفورز ژل آگارز است (Ardestani, Mousavi Gargari,Nazarian & Amini, 2008). روش دیگری که می‌توان از آن استفاده نمود روش Real time PCR است که در ایران گزارشی مبنی بر استفاده از این روش جهت شناسایی سالمونلا وجود ندارد اما باید گفت این روش بدلیل استفاده از مواد فلورسنت گران و پرهزینه است. از روش‌های انگشت‌نگاری ماده ژنتیکی می‌توان از RFLP (با استفاده از برش‌های آنزیمی اندونوکلئازی) و ERIC-PCR (تکثیر ماده ژنتیکی در نواحی خارج ژنومی و در فضای مابین دو ژن) نام برد. در روش اول می‌توان از آنزیم‌های متنوعی استفاده

www.SID.ir

Archive of SID

نمود و در روش دوم از پرایمرهای اختصاصی برای مناطق ERIC استفاده می‌شود. این روش در مقایسه با روش RFLP از قدرت تمایز بین گونه‌ای و داخل گونه‌ای بیشتری برخوردار است و با استفاده از این روش می‌توان تعداد زیادی از نمونه‌های مشکوک را در مدت زمان کوتاه و با هزینه کم انگشت‌نگاری کرد. بررسی تنوع ژنتیکی ۳۰ نمونه سالمونلا انتریتیدیس جدا شده از مواد غذایی و موارد انسانی با استفاده از روش ERIC-PCR نشان داد که ۲۹ جدایه در ۴ گروه اصلی با ۹۵ درصد شباهت و ۱ جدایه در یک گروه با الگوی متفاوت قرار داشته‌اند. این بررسی نشان داد که گوناگونی ژنتیکی زیادی بین سویه‌های سالمونلای انتریتیدیس وجود نداشته و منشاء گرفتن این سویه‌ها از یک کلون واحد بسیار محتمل است (Sanei et al., 2010). در بررسی دیگر ۷۵ نمونه سالمونلای جدا شده از طیورسروتایپینگ شدند که ۵ سروتیپ بدست آمد و در بررسی ملکولی این ۵ سروتیپ با روش PCR-RFLP ، با ژن fliC و آنزیم‌های HhaI و Sau3AI بترتیب ۴ و ۵ الگوی آنزیمی متفاوت مشاهده شد (Khaki, Moradi Bidhendi, & Ezatpanah, 2014). همچنین در بررسی دیگری ۳۰ نمونه سالمونلای جداسازی شده با روش PCR-RFLP با ژن fliC و آنزیم HhaI مورد انگشت‌نگاری ژنومی قرار گرفتند و ۴ الگوی متفاوت در بین ۸ سروتیپ مختلف سالمونلا بدست آمد (Ebrahimvandi, Moradi Bidhendi et al., 2014). در بررسی دیگری بر روی نمونه‌های سالمونلا گالیناروم و پلوروم با این روش و آنزیم Hinp1I تنها دو الگوی آنزیمی بدست آمد (Cheraghchi, Khaki, Moradi Bidhendi & Sabokbar, 2014). نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که این روش با اختصاصیت می‌تواند سالمونلاهای گالیناروم و پلوروم را با آنزیم فوق از یکدیگر تفکیک کرده اما در مورد آنزیم های HhaI و Sau3AI این توانایی وجود نداشته و الگوهای مشابهی بین سروتیپ‌های متفاوت وجود دارد.

از روش‌های شناسایی ملکولی می توان از روش تکثیر هم دمای DNA وابسته به حلقه (LAMP) نام برد. در این روش با استفاده از ۴ پرایمردر مجموع ۶ ناحیه ژنی از DNA هدف مورد شناسایی قرار می‌گیرد و طی فرایندی دنباله‌دار و با تشکیل نواحی سنجاق سری و استفاده از آنزیم DNA پلیمراز تکثیر می‌یابد. این روش در یک تک دما انجام می‌شود و مرحله واسرشت سازی را ندارد. البته این روش نیز مانند سایر روش‌های ملکولی محدودیت‌هایی دارد اما آنچه که مسلم است این است که روش LAMP ۳ برابر سریعتر، ۱۰۰ برابر دقیق‌تر و ۱۰ برابر ارزان تر از روش PCR می‌باشد و می تواند کاربرد گسترده‌ای در آزمایشگاه‌های مختلف داشته باشد (Moradi et al., 2009). با توجه به پیشرفت‌هایی که در هر زمینه‌ای وجود دارد ، روش LAMP نیز تغییر یافت و روش LAMP فلورسنت ابداع شد. در این روش تغییر یافته زمان آزمایش نسبت به LAMP و PCR به ۷۰ دقیقه کاهش یافت. از مزایای این روش عدم نیاز به چرخه‌های دمایی و دستگاه ترموسایکلر نسبت به روش PCR است (Karami, Bagheri, Ahmadi & Pouraliganji, 2013) .

روش دیگری که می‌توان از آن در شناسایی سالمونلا استفاده کرد روش Polymyxin – Cloth Enzyme Immunoassay (P-CEIA) می‌باشد. این روش بر پایه استفاده از پلی استر پوشش داده شده با پلی میکسین که برای جذب آنتی‌ژن‌های لیپوپلی ساکارید مناسب است، استوار می‌باشد. در این روش از پلی میکسین B بجای آنتی بادی در شناسایی سالمونلا استفاده می‌گردد. این ماده برخلاف آنتی‌بادی‌ها بین pH ۲ تا ۷ پایدار بوده و شکل خالص آن نیز براحتی در دسترس می‌باشد. همچنین پلی میکسین دارای قدرت چسبندگی اختصاصی به LPS سالمونلا است. این روش در سراسر جهان جهت تشخیص سالمونلا در مواد غذایی از اهمیت زیادی برخوردار است و نسبت به روش های دیگر الایزا مانند Ab-EIA از حساسیت بیشتری برخوردار است بطوریکه حساسیت روش P-CEIA معادل 10^6cfu/ml است. در حالیکه این میزان در روش Ab-EIA معادل 10^5cfu/ml است. همچنین این روش زمان کمتری را نسبت به Ab-EIA به خود اختصاص می‌دهد (Shokri, Tabaraei, Hatami, & Nilchizade Rahbar, 2012). روش دیگری که می توان از آن استفاده نمود روش مولتیپلکس PCR است. در این روش ژن‌های متعدد می‌توانند در یک واکنش منفرد تقویت شوند. در این روش از پرایمرهای اختصاصی جنس و گونه‌ی سالمونلا انتریتیدیس استفاده می‌شود و قادر است این گونه را از سایر گونه های سالمونلا در کمتر از ۳ ساعت تشخیص دهد. (Salehi, Namnam&Mosavari, 2011).

در بررسی مقایسه‌ای بین سه روش کشت، الایزا و PCR در نمونه‌های مواد غذایی نتایج نشان داد که روش PCR بهتر از کشت و کشت بهتر از الایزا قادر به تشخیص سالمونلا می باشد (Hosseinpour, Sabokbar, Bahktiari & Parsa, 2013). البته کشت همواره بعنوان استاندارد طلایی شناخته شده است ومطالعات انجام یافته در سال ۱۳۹۱ بر روی ۳۲۰۲ نمونه ماکیان حاکی از جداسازی سروتیپ‌های مختلف سالمونلا بوده است (Akbarian, Peyghambari, Morshed & Yazdani, 2012). روش دیگری که می توان از آن نام برد روش پالس فیلد ژل الکتروفورزیس (PFGE) است.بررسی ارتباط ژنتیکی میان ایزوله‌های در حال بررسی از ویژگی های روش‌های مبتنی بر تایپینگ ملکولی می باشد. اثبات ارتباط بین کلون‌های یک پاتوژن این امکان را فراهم می‌کند که منبع آلودگی تشخیص داده شود. این روش استاندارد طلایی بین روش‌های تایپینگ ژنوتیپی با قدرت تمایز، تایپ‌پذیری و تکرارپذیری بالا می‌باشد. از این روش برای تمایز، تشخیص، طبقه‌بندی و بررسی ارتباط فیلوژنتیکی بین سویه‌های جدا شده می‌توان پرداخت و در مطالعات اپیدمیولوژیکی کاربرد دارد. بدست آوردن الگوهای پالس فیلدی متفاوت بین ۴۰ جدایه سالمونلا انتریتیدیس از نمونه‌های بالینی نشان داد که سوش‌های یکسان سالمونلا با پراکندگی جغرافیایی مختلف می‌تواند پراکندگی الگوی پالس فیلدی متفاوتی داشته باشد (Ahmadi , Ranjbar, & Sarshar, 2013). در بررسی انجام شده بر روی ۴۷ جدایه سالمونلا از منابع طیوری در ایران با روش فوق ۳۹ الگوی پالس فیلدی بدست آمد. قدرت تفکیک بالا در این روش نشان می‌دهد که ساب تایپ‌های مختلفی در یک سروتیپ جدا شده از مناطق جغرافیایی مختلف می‌تواند وجود داشته باشد (Golab,Khaki& Noorbakhsh, 2014).

MLVA یکی از تکنیک‌های قدرتمند تایپینگ به شمار می‌رود و بر پایه PCR می‌باشد. توالی های تکراری در ژنوم باکتری‌ها وجود داشته که می‌توانند در تعدادی از تکرارها در میان استرین‌های متفاوت پلی مورفیک باشند که به این توالی‌ها VNTR گفته می‌شود. در تکنیک MLVA تعداد این تکرارها مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.اساس این روش تفاوت در تعداد این تکرارها است.این لوکوس ها ابزارهای قدرتمند در جهت ژنوتایپینگ باکتری محسوب می‌شوند که می‌توانند اطلاعات ساده و عددی مبتنی بر

www.SID.ir

Archive of SID

توالی‌هـــای تکراری را بوجود آورند. در مطالعه‌ای بر روی ۷۵ جدایه طیوری و انسانی ســـالمونلا انتریتیدیس ۵ تیپ ژنتیکی مورد شناسایی قرار گرفت. تفاوت محسوس میان ۵ تیپ جدایه‌های ایرانی و تیپ سویه استاندارد نشانه احتمالـــی وجود یک کلون بومی ایرانی در منطقه اســـت که در طول زمان با تحمل تغییرات تکاملی محدود منشاء پیدایش زیر کلون‌هایی شده است (Ghaderi, Moradi Bidhendi et al., 2013).

روش‌های ملکولی انجام شـــده در جهت شناســـایی سالمونلا در موارد مختلف در تحقیقات انجام شـــده نشـــان داد که ژن‌هایfliC ، hilA، invA بیشـــترین کاربرد را در تشخیص سالمونلا داشته و بقیه ژن ها شامل،viaB rfbJ، flijB، spv و 16SrDNA بودند.در مطالعات انجام شـــده همه محققین روش‌های ملکولی مختلف را دارای حساســـیت بالا، کم هزینه و با زمان کم عنوان کرده‌اند.

مقاومت دارویی در سالمونلا

از آنجاییکـــه آنتی بیوتیک‌هـــا بهترین گزینه در درمـــان عفونت‌های ســـالمونلایی می‌باشند، ظهور مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام علیه ســـالمونلاهای مهاجم باعث افزایش نگرانی‌ها در این زمینه شده است. متاســـفانه مصرف بی‌رویه این نوع آنتی‌بیوتیک‌ها از یک سو و از طرف دیگر قابلیت باکتری‌ها در انتقال ژن‌های مقاومت دارویی باعث شـــیوع روز افزون سویه‌های مقاوم و بروز مشکلات در روند درمان شده است. ظهور سویه‌های مقاوم در میان ســـروتیپ‌های ســـالمونلا در جمعیت‌های انســـانی، دامی و طیوری در ســـالیان اخیر مورد توجه بســـیاری قرار گرفته است. مطالعات انجام شـــده بر روی سالمونلاهای جدا شده از موارد انسانی نشان داده است که از ۱۲۷ جدایه انســـانی ســـالمونلا کلیه جدایه‌ها به سیپروفلوکساسین کاملا حساس بوده اما ۴۵/۷٪ جدایه‌ها به نالیدیکسیک اسید مقاومت نشان دادند (Hamidian et al., 2009). مطالعه دیگر در این زمینه با بکارگیری ده آنتی‌بیوتیک کمتر رایج در درمان عفونت‌های سالمونلایی انسانی نشان داد ۱۶/۲٪ از جدایه‌ها نســـبت به آمپی‌سیلین، ۱۳/۲٪ به کلرامفنیکل، ۱۹/۱٪ به کوتریموکســـازول، ۲۵/۷٪ به کوآموکسی کلاو، ۵۰/۷٪ به تتراسایکلین، ۱/۵٪ به آمیکاســـین، ۶۷/۶٪ به داکسی سایکلین، ۴/۴٪ به تیکارسیلین و ۲۳/۵٪ به پیپراسیلین مقاوم بودند. هیچ کدام از نمونه‌ها نسبت به ایمیپنم مقاومتی را نشان ندادند (Ranjbar, Naghoni, Panahi,& Izadi, 2009).

ظهـــور مقاومـــت نســـبت بـــه آنتی‌بیوتیک‌هـــای بتالاکتـــام، نظیـــر سفالوسپورین‌های نسل سوم بعنوان اولین انتخاب، علیه سالمونلاهای مهاجم، باعث افزایش نگرانی‌ها در این زمینه شـــده است. دلیل گسترش روزافزون این گونه مقاومت‌ها غالباً ژن‌های پلاســـمیدی سازنده آنزیم‌های بتالاکتاماز می‌باشند که باعث غیر فعال شدن هسته مرکزی سفالوسپورین‌ها(حلقه بتا لاکتام) و در نتیجه بی اثر شدن دارو می‌شوند. بطوریکه فراوانی بتالاکتام های وســـیع الطیف تیپ CTX-M در سویه‌های بالینی سالمونلای جدا شده در ۱۷۴جدایه سالمونلا نشان داد که بیشترین میزان مقاومت به نالیدیکسیک اسید(۴۹/۴٪) و تتراســـایکلین (۴۳٪) بوده است و در بررسی‌های ملکولی همه ســـویه‌های bla CTX-M مثبت و بـــه کلاس bla CTX-M-۱۵ تعلق داشتند (Tajbakhsh et al., 2010).

با هـــدف تحقیق در مورد حضور و تعیین نوع بتا لاکتامازهای وســـیع الطیف در گونه‌های ســـالمونلا مطالعات انجام شـــده بـــر روی ۱۲۹ جدایه سالمونلای انسانی بیشترین مقاومت نسبت به نالیدیکسیک اسید(۴۵/۷٪)، تتراسایکلین(۴۳/۴٪)، کو-تریموکسازول(۳۶/۴٪)، آمپی‌سیلین(۱۵/۵٪) و کلرامفنیکل(۱۴/۷٪) بدست آمد. همه جدایه‌ها نسبت به سیپروفلوکساسین و سفوکسیتین حســـاس بودند. جدایه‌های مقاوم دارای ژن bla CTX-M و bla TEM بودند (Hamidian, Tajbakhsh, Walther-Rasmussen, & Zali, 2009). در ســـال‌های اخیر در بررسی ازدیاد مقاومت در ۱۷۴ ایزوله بالینی سالمونلا نشـــان داده شد که کلیه این ایزوله‌ها دارای ژن‌های bla TEM و blaCTX و از نظـــر ژن blaSHV منفی بودنـــد (Tajbakhsh et al., 2012). نتایج حساســـیت دارویی بر روی ۹۶ مورد ســـالمونلای جدا شده از موارد انسانی نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به آمپی سیلین بوده است در صورتیکه هیچ گونه مقاومتی نسبت به ایمی پنم و سیپروفلوکساسین دیده نشد. نتایج بررسی ESBL نشانگر وجود ژن Bla-ctx-m-type در نمونه‌های فوق بـــود، همچنین۴ مورد مقاومت به ســـفتازیدیم نیز مشـــاهده گردید (Abdollahi, Mohammadi, Fasihi & Shayan Raheleh, 2011a) همچنین مقاومت آنتی بیوتیکی چند گانه در ۴۵ جدایه مشاهده گردید (Abdollahi et al., 2011b).

مقاومت به آنتی‌بیوتیک نالیدیکســـیک اسید توجه محققان را به خود معطوف داشـــته است بطوریکه از مجموع ۱۳۸ سالمونلای جدا شده انسانی ۸۹ ایزوله (۶۴٪) را به نالیدیکســـیک اســـید مقاوم گزارش کرد. همچنین درصد مقاومت نســـبت بـــه این آنتی بیوتیک در ســـال‌های ۱۳۸۶، ۱۳۸۷ و ۱۳۸۹ بترتیـــب ۵۹٪، ۶۴٪ و ۶۷٪ گزارش گردیـــد. در میان ایزوله‌های مقاوم به نالیدیکســـیک اســـید، ۴۶ ایزوله مربوط به گروه ســـرمی C، ۴۰ ایزوله مربوط به گروه ســـرمی D و ۳ ایزوله مربوط به گروه ســـرمیB بودند (Naghoni, & Ranjbar, 2010). بـــر روی همین نمونه‌ها بررســـی مقاومت آنتی بیوتیکی نســـبت به سفوتاکسیم و ســـفتازیدیم انجام شد که ۵ مورد مقاومت به سفوتاکســـیم و ۴ مورد مقاومت به ســـفتازیدیم گزارش گردید (Abdollahi, Najafipour, Kouhpayeh, Meshkibaf, & Naghdi, 2011). با توجه به حساســـیت دارویی در ۹۲/۳٪ از ۲۲ جدایه انســـانی نسبت به کلرامفنیکل، سفتی زوکسیم، نالیدیکسیک اسید و آمیکاسین (Soltan Dal-lal et al., 2014) نشان می‌دهد که نتایج قابل مقایسه با یکدیگر نمی‌باشند زیرا در مطالعات قبلی مقاومت به نالیدیکسیک اسید بسیار گزارش شده بود. در مورد مقاومت به نالیدیکسیک اسید در سالمونلاهای جدا شده از گوشت های بسته بندی میزان این مقاومت ۹۰/۶٪ گزارش شد (Soltan Dallal et al., 2009) که با نتایج تحقیقات انجام شـــده بر روی موارد انسانی در همان سال مشابهت داشته است.

بترتیب مطالعات دیگرانجام شـــده بر روی جدایه‌های طیوری مقاومت آنتی بیوتیکی را در پوســـته تخم مرغ به اریترومایســـین و کلیستین و در مورد مرغ به اریترومایسین (Shapouri et al., 2009)، درصد سویه‌های چند مقاومتـــی در ایزوله‌های غذایی ۲۰٪ و در مـــوارد بالینی ۷۳/۳٪ (Sanei et al., 2009) ، بیشـــترین مقاومت به فلومکوئین۳۸/۸% و درصد ســـویه‌های چند مقاومتی ۶۱/۲٪ (Morshed & Peighambari, 2010) گزارش کردند. مطالعه دیگر بر روی ۷۰ ســـروتیپ سالمونلا نشان داد که تمام سروتیپ‌ها به آنتی بیوتیک‌های سفتیزوکســـیم، افلوکساسین، ایمی پنم، سفوتاکسیم، انروفلوکساســـین و آمیکاسین حساس بودند.بیشـــترین مقاومت نسبت به سفالکســـین، نیتروفورانتوئین و تتراسایکلین دیده شد. همچنین ۳۹ الگوی

www.SID.ir

Archive of SID

مقاومت دارویی در آن‌ها شناسایی شد و ۱۰ جدایه مولد ESBL شناخته شد که از این تعداد ۶ جدایه دارای ژن blaSHV بودند(Gharehkhani, & Khaki, 2011). همچنین بررسی دیگر بر روی ۷۵ مورد جدایه طیوری نشان داد که ۱۰۰ ٪ جدایه‌ها به جنتامایسین، انروفلوکساسین، ایمیپنم و سفتریاکسون حساس هستند و بیشترین مقاومت در برابر نالیدیکسیک اسید و نیتروفور انتوئین مشاهده شد. همچنین از ۷۵ جدایه سالمونلا ۶۳ مورد (۸۴ ٪) دارای مقاومت چندگانه به سه یا تعداد بیشتری از آنتی بیوتیک‌ها بودند (Ezatpanah, Moradi Bidhendi, et al., 2011). مطالعات انجام شده بر روی ماکیان بومی در ایران نیز موید وجود سالمونلا و غالبیت دو سروتیپ انتریتیدیس و تیفی موریوم بوده اند. البته سروتیپ‌های هادار و اینفنتیس نیز جداسازی شده‌اند. تمامی جدایه‌ها نسبت به نورفلوکساسین نیز حساس بودند (Chashni, Hassanzadeh, Fard, & Mirzaie, 2009).

آنچه در این مورد می‌توان به آن اشاره نمود این است که طی سال‌های ۱۳۸۸ لغایت ۱۳۹۳ ژن‌های مقاومت دارویی در باکتری سالمونلا رو به افزایش بوده و مطالعات انجام شده در موارد انسانی نشان می‌دهد که مقاومت به آنتی بیوتیک نالیدیکسیک اسید طی این سال‌ها همچنان در جدایه وجود دارد و میزان مقاومت بسیار بالا است. مقاومت به تتراسایکلین، آمپی سیلین، کلرامفنیکل، کوتریموکسازول، سفوتاکسیم و سفتازیدیم از دیگر مواردی بودند که مقاومت به آنها در موارد انسانی به آن اشاره شده بود. در موارد طیوری نیز مقاومت به نالیدیکسیک اسید، تتراسایکلین، نیتروفورانتوئین، اریترومایسین، سفالکسین، کلیستین و فلومکوئین دیده شده است. مقاومت به نالیدیکسیک اسید و تتراسایکلین در هر دو مورد انسانی و طیوری نشانه گسترش ژن‌های مقاومت به این دو آنتی‌بیوتیک در موارد مختلف جدایه‌ای می‌باشد. تاکنون از مقاومت به ایمی پنم و سیپروفلوکساسین در بین جدایه‌ها گزارشی به چاپ نرسیده است.

نتیجه گیری

در بین بیماری‌های طیور سالمونلوز از بیماری‌هایی می باشد که علاوه بر ضرر و زیان‌های اقتصادی در زمینه پرورش طیور، از بیماری‌های مشترک انسان، دام و طیور می‌باشد. افزایش شیوع این بیماری در بین انسان، دام و طیور خصوصا در دهه‌های اخیر و ظاهرا عدم توانایی در کنترل و انتشار بیماری اهمیت آن را بیشتر کرده است. با افزایش جمعیت فراهم نمودن غذا به موضوعی مهم در جامعه جهانی تبدیل شده است. در این راستا تولید غذاهایی که دارای ارزش غذایی بالا برای انسان باشند مانند فراورده‌های طیوری از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. از آنجا که بیماری‌هایی نظیر سالمونلوز از طریق ماکیان به انسان انتقال می‌یابند بنابراین باید بتوان هم سروتیپ‌های در گردش را بدست آورد و هم تدابیری اندیشید که این بیماری و حتی حضور باکتری که می‌تواند بصورت ناقل عمل کند را به حداقل برساند.

مطالعات مختلف انجام شده در زمینه‌های جداسازی، روش‌های تشخیصی و مقاومت دارویی نشان دهنده این مطلب است که طی سالیان گذشته تا حال هنوز سالمونلا بعنوان یک معضل بهداشتی در موارد طیوری، انسانی و دامی مطرح بوده و سروتیپ‌های سالمونلا انتریتیدیس و سالمونلا تیفی موریوم جزء سروتیپ‌های غالب می‌باشند. البته نباید حضور دیگر سروتیپ‌ها را نادیده گرفت. از طرف دیگر در بین روش‌های مختلف تشخیصی بکار گرفته شده در این زمینه نشان دهنده این موضوع می‌باشد که تمام محققان روش‌های مختلف ملکولی بر پایه PCR را روش مناسبی برای نشان دادن حضور سالمونلا در نمونه‌های بالینی مطرح کرده‌اند. شیوع مقاومت‌های دارویی در دهه گذشته در بین باکتری‌های مختلف از جمله سالمونلا نشانه گسترش ژن‌های مقاومت در این باکتری می‌باشد. بطوریکه گزارشات نشان می‌دهند مقاومت به نالیدیکسیک اسید و تتراسایکلین در هر دو مورد انسانی و طیوری بسیار بالا است و رو به افزایش است. البته مقاومت به آنتی بیوتیک‌های دیگر را نباید از نظر دور داشت.

بر طبق گزارشات مرکز بیماری‌ها در امریکا (CDC,2009) هر ساله ۱/۴ میلیون نفر به سالمونلوز دچار شده و از این میان حدود ۴۰۰ مورد مرگ و میر گزارش می‌شود. کودکان زیر ۵ سال، افراد مسن و افراد با سیستم ایمنی تضعیف شده در معرض بالایی قرار دارند. همچنین مصرف آنتی بیوتیک‌ها در جیره غذایی ماکیان علاوه بر اینکه باعث پیدایش سویه‌های دارای مقاومت آنتی بیوتیکی و انتقال آنها به انسان می‌شود بلکه از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه نبوده و صدمات جبران ناپذیری بر بهداشت تغذیه و سلامت جامعه وارد می‌کند. برنامه‌های نظارت و کنترلی سویه‌های در گردش و مقاومت‌های آنتی بیوتیکی در سالمونلا می‌تواند در بدست آوردن سویه‌های در گردش و انتقال ژن‌های مقاومتی بین منابع انسانی، طیوری و دامی حائز اهمیت باشد (Control & Prevention, 2009). همچنین استفاده از روش‌های ژنوتیپی ملکولی می‌تواند به بررسی مطالعات اپیدمیولوژیک بین سروتیپ‌های جدا شده از مناطق جغرافیایی مختلف پرداخته و منشاء این سروتیپ‌های در گردش را مشخص نماید.

منابع مورد استفاده

1 - Abdollahi, A., Mohammadi, A., Fasihi, M., & Shayan Raheleh, R. R. (2011a). Emergence of BLA-CTX-M-Type gene in *Salmonella enterica* serotypes isolated from patients stool. Journal of Isfahan Medical School (I.U.M.S), Vol, 28, No, 116, pp:987-996.

2 - Abdollahi, A., Najafipour, S., Kouhpayeh, S. A., Meshkibaf, M. H., & Naghdi, M. (2011b). *Salmonella enterica*: Serotyping, drug resistance & extended spectrum of β-Lactamase (ESBLs). Journal of Fasa University of Medical Sciences, Vol, 1,No,1,pp: 38-44.

3-Ahmadi, Z., Ranjbar, R. & Sarshar, M. (2013). Genotyping of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis strains isolated from clinical samples by Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE). Journal of Isfahan Medical School, Vol, 31, No,40,pp:117-128.

4-Akbarian, R., Peyghambari, S.M., Morshed, R. & Yazdani, A. (2012). Survey of Salmonella infection in Iranian poultry flocks . Iranian Veterinary Journal. Vol,8, No,3, pp: 5-10.

5-Akbarmehr, J. (2009). 1389 Determining *Salmonella* serogroups isolated from poultry and identification hilA gene by PCR. Microbial Biotechnology Vol,6, No,2, pp: 33-38.

www.SID.ir

Archive of SID

6-Amini, N., Soleimani, M., Ghalyanchi Langeroudi, A., & Majidzadeh, K. (2010). A polymerase chain reaction method for rapid detection of *Salmonella typhi*. HBI_Journals,Vol,8, No,3, pp: 159-165.

7-Aminzare, M., Nairiz Naghdehi, M., Rasouli, S. & Delshad, R. (2009). Isolation of *Salmonella* of local yolk in Urmia. Large traps Clinical Researches, Vol,3, No,7, pp: 51-57.

8-Ardestani, H., Mousavi Gargari, SL., Nazarian, S.& Amini,J. (2008). Rapid and Specific Detection of *Salmonella typhimurium* by PCR-ELISA. Modares Journal of Medical Sciences:Pathobiology. Vol, 10, pp: 51-62.

9-Barrow, P. (2007). Salmonella infections: immune and non-immune protection with vaccines. Avian Pathology, Vol,36, No,1, pp: 1-13.

9-Baumler, A. J., B. M. Hargis, and R. M. Tsolis. 2000. Tracing the origins of Salmonella outbreaks. Science 287:50–52.

10-Biadaki, Z., Tehrani poor, A., Dadpour, S. & Gholizade, H. (1392). Prevalence of *Salmonella* serotypes that poultry carcasses slaughtered in the industrial city of Birjand in 1391. Journal of Birjand University of Medical Sciences, Vol,20, No,2. pp: 191-197.

11-Braden, C. R. 2006. *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and eggs: A national epidemic in the United States. Clinical Infectious Disease. Vol,43, pp:512–517.

12-CDC—Centers for Disease Control, Prevention (2009). Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food—10states, 2008. Morbidity and Mortality Weekly Report, Vol,58, No,13, pp: 333–337.

13-Chashni, S., Hassanzadeh, M., Fard, M., & 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, Vol, 64 ,No,2. pp: 77-83.

14-Cheraghchi, N., Khaki, P., Moradi Bidhendi, S., & Sabokbar, A.(2014). Identification of isolated *Salmonella enterica* serotype gallinarum biotype pullorum and gallinarum by PCR-RFLP. Jundishapur Journal of Microbiology. Vol, 7 ,No,9. e19135.

15-Control, C. f. D., & Prevention. (2009). Preliminary FoodNet Data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food--10 States, 2008. MMWR. Morbidity and mortality weekly report, Vol,58, No,13. pp: 333.

16-Cox, N. A., J. A. Cason, and L. J. Richardson. 2011. Minimization of Salmonella contamination in raw poultry. Annual Review of Food Science and Technology. Vol,2,PP:75–95.

17-Dallal, M. M. S., Taremi, M., Gachkar, L., Modarressi, S., Sanaei, M., Bakhtiari, R., Zali, M. R. (2007). Characterization of antibiotic resistant patterns of *Salmonella* serotypes isolated from beef and chicken samples in Tehran. Jundishapur Journal of Microbiology, Vol,2 No,4. pp: 124-131.

18-Dhillon, A. S., H. L. Shivaprasad, P. Roy, B. Alisantosa, D. Schaberg, D. Bandli, and S. Johnson.(2001). Pathogenicity of environmental origin salmonella in specific pathogen-free chicks. Poultry Science. Vol,80,PP:1323–1328.

19-Ebrahimvandi, Z., Khaki, P., Darvishi, S. & Moradi Bidhendi, S. (2014). Isolation, serotypes and antibiotic resistance patterns of *Salmonella* isolates poultry of Arak. Int J Enteric Pathog, Vol,2, No,3. pp: 18-31.

20-European Food Safety Authority—EFSA (2011). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. EFSA Journal, 9, 1–378 (Available from bhttp://www.efsa.europa.eu/en/ efsajournal/pub/2090.htm>. Accessed October, 2012).

21-Ezatpanah, E., Moradi Bidhendi, S., Khaki, P., Ghaderi, R., Seyedan, J. E., & Moghtadaee, S. (2011). Isolation, serotyping and antibiotic resistance pattern of isolated Salmonella from chicken of Arak. IranianVeterinary Journal ,Vol,9, No,2, pp: 88-96.

22-Feasey, N. A., Dougan, G., Kingsley, R. A., Heyderman, R. S., & Gordon, M. A. (2012). Invasive non-typhoidal Salmonella disease: an emerging and neglected tropical disease in Africa. The Lancet, Vol,379, No,9835. pp: 2489-2499.

23-Finstad, S., O'Bryan, C. A., Marcy, J. A., Crandall, P. G., & Ricke, S. C. (2012). Salmonella and broiler processing in the United States: Relationship to foodborne salmonellosis. Food Research International, Vol,45, No,2. pp: 789–794.

24-Foley, S. L., Nayak, R., Hanning, I. B., Johnson, T. J., Han, J., & Ricke, S. C. (2011). Population dynamics of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production. Applied and Environmental Microbiology, Vol,77, No,13. pp: 4273-4279.

25-Gantois, I., R. Ducatelle, F. Pasmans, F. Haesebrouck, R. Gast, T.J. Humphrey, and F. Van Immerseel. (2009). Mechanisms of egg contamination by *Salmonella enteritidis*. FEMS Microbiology Review.Vol,33,PP:718–738.

26-Gast, R. K. (2007). Serotype-specific and serotype-independent strategies for preharvest control of food-borne Salmonella in poultry. Avian diseases, Vol,51, No,4. pp: 817-828.

27-Ghaderi, R., Tadayon, K., Avagyan, S., Khaki, P., Moradi Bidhendi, S., Forbes, KJ., Mosavari, N., Toroghi, MR., Moosakhani, F., Banihashemi, R., Sekhavati, M., Karimnasab, N.(2013). The population structure of *Salmonella enterica* Enteritidis in Iran analyzed by multiple-locus variable-number tandem repeat analysis. Tropical Animal Health and Production . 45:889–894.

www.SID.ir

Archive of SID

28-Gharahkhani, M., & Khaki, P. (2013). Evaluation of extended-spectrum beta-Lactamases producing isolates of Salmonella spp. from different sources using by phenotypic and genotypic methods. Iranian Journal of Medical Microbiology, Vol,6, No,4. pp: 59-71.

29-Golab, N., Khaki, P. & Noorbakhsh, F. (2014). Molecular typing of *Salmonella* isolates in poultry by Pulsed-Field Gel Electrophoresis in Iran. International Journal of Enteric Pathogens. Vol,2,No,4, e21485.

30-Grimont, P. A. D., & Weill, F. -X. (2007). Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella (9th ed.).Paris: Institut Pasteur (Available from http://www.pasteur.fr/ip/portal/action/WebdriveActionEvent/oid/01s-000036-089. Accessed October, 2011. 166 pp.)

31-Haddadian, M., Karimi, V., Zahraisalehi, T., Barin, A. & Ghalyanchi Langrodi, A. (2011). Evaluation of contamination rate of mice to *Salmonella* species in Tehran avicultures Veterinary Clinical Pathology, Vol, 6, No,2. pp: 1535-1541.

32-Haghbin Nazarpak, H., Firozi, S. & Asgari Badoii, M. (2010). Evaluation of contamination rate of sparrows in industrial fields rearing broilers by *Salmonella* serovers in Babol. Veterinary Microbiology, Vol,7, No,2. pp: 11-16.

33-Hamidian, M., Tajbakhsh, M., Payghambari, S.M., Dabiri, H., Shekarzadeh, L., Rezadehbashi, M. & Zali, M.R.. (2009). Fluoroquinolone resistance in *Salmonella* isolates from cases of acute diarrhea in patients admitted to hospitals in Tehran. Iran infectious and Tropical Diseases, Vol,14, No,44. pp: 51-54.

Hamidian, M., Tajbakhsh, M., Walther-Rasmussen, J., & Zali, M.-R. (2009). Emergence of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Salmonella enterica* in Tehran, Iran. Japanese Journal Infectous Disease, Vol,62, No,5, pp: 368-371.

34-Hemmatzadeh, F., Salemi,A. (1995). Introduction of *Salmonella*-isolates from human and animal cases with epidemiological attitude towards salmonellosis in Chahar-Mahal Bakhtiyari state. Journal of Veterinary Research , Vol,49, No,(1-2), pp: 83-91.

35-Hitchner, S. B. (2004). History of biological control of poultry diseases in the U.S. Avian Disease. Vol,48,pp:1–8.

36-Hosseinpour, M., Sabokbar, A., Bahktiari, A. & Parsa, S. (2012). Comparative tracing of Salmonella in chicken Kebab samples collected from Tehran with three molecular methods, culture and ELISA. Microbial World Magazine, Vol,6, No,1, pp: 62-72.

37-Howard, Z. R., C. A. O'Bryan, P. G. Crandall, and S. C. Ricke. 2012. *Salmonella enteritidis* in shell eggs: Current issues and prospects for control. Food Research International. Vol,45,pp:755–764.

38-Karami, A., Bagheri, B., Ahmadi, Z. & Pouraliganji, F (2011). Comparison of fluorescent LAMP and PCR methods in molecular detection of Salmonella. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences (letter university), Vol,22, No,95. pp: 48-55.

39-Karimidareabi, H., Karimi, M. & Ebrahimi Mohammadi, K. (2011). Identification invA genes to identify the prevalence of Salmonella in poultry carcasses by using PCR Large traps. Clinical Researches, Vol,6, No,2. pp: 53-58.

40-Khaki, P., Moradi Bidhendi, S., & Ezatpanah, E. (2013). PCR–RFLP of isolated Salmonella from poultry with Sau3AI and HhaI restriction endonucleases in Arak. International Journal of Molecular & Clinical Microbiology. Vol,1.pp: 256-261.

41-Koo, O. K., S. A. Sirsat, P. G. Crandall, and S. C. Ricke. (2012). Physical and chemical control of Salmonella in ready-to-eat products. Agriculture Food Annual Bacteriology. 2:56–68.

42-Marin, C., & Lainez, M. (2009). Salmonella detection in feces during broiler rearing and after live transport to the slaughterhouse. Poultry Science, Vol,88,pp: 1999–2005.

43-Mead, G., A. M. Lammerding, N. Cox, M. P. Doyle, F. Humbert, A. Kulikovskiy, A. Panin, V. P. do Nascimento, M. Wierup. (2010). Scientific and technical factors affecting the setting of Salmonella criteria for raw poultry: The Salmonella on raw poultry writing committee. Global perspective. Journal Food Protection. Vol, 73,pp:1566–1590.

44-Miranzadeh, H., Zahraei Salehi, T., & Karimi, V. (2012). The count of aerobic mesophil bacteria and isolate Salmonella spp on egg in Isfahan.. Veterinary Journal (Pajouhesh -va- SazandegiI), Vol,94. pp: 31-36.

45-Moradi. (2009). Comparison of PCR and LAMP in molecular detection of Salmonella. Journal of Zanjan Medical University., Vol,17, No, 67. pp:66-77.

46-MoradiBidhendi, S., Khaki, P., Abasi, E., Ghaderi, R. (2010). Isolation and identification of *Salmonella* isolates from poultry in 1388. Quarterly Journal of Microbiology Knowledge, Vol,2, No,7.53-68.

47-Morshed, R.(2012) Bacteriological study of broiler flocks(Salmonella contamination) in Amol city, Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No, 97. pp: 23-28.

47-Morshed, R., & Peighambari, S. M. (2010). Drug resistance, plasmid profile and random amplified polymorphic DNA analysis of Iranian isolates of *Salmonella enteritidis*. The new microbiologica, Vol,33, No,1. pp: 47.

48-Muth, M. K., Fahimi, M., & Karns, S. A. (2009). Analysis of Salmonella control performance in U.S. young chicken slaughter and pork slaughter establishments. Journal of Food Protection, Vol,72,No,1,pp: 6–13.

www.SID.ir

Archive of SID

49-Naghoni, A. & Ranjbar, R. (2010). Increasing the isolation of *Salmonella enterica* strains resistant to nalidixic acid in Tehran Journal of Infectious and Tropical Diseases,Vol, 15, No,51. pp: 15-19.

50-Nayebi, N., Ghoreshi, S.A., Harzandi, N., Shamsara, M., Tabaraei, B. & Bakhtiyari, A. (2011). Evaluation of PCR method for detection of *Salmonella enteritidis* in poultry products in the Karaj. Medical Science Journal of Islamic Azad University,Vol, 21, No,1. pp: 32-37.

51-Nosrati, S., Sabokbar, A., Mehroz Dezfolian, M., Tabarrai, B. & Fallah, F. (2011). Prevalence of *Salmonella typhimurium*, typhi and enteritidis in food in Mofid hospital. Research in medicine, Vol, 36, No,1. pp: 43-48.

52-Rabsch, W., B. M. Hargis, R. M. Tsolis, R. A. Kingsley, K. Hinz, H. Tschape, and A. J. Baumler.(2000). Competitive exclusion of *Salmonella enteritidis* by *Salmonella gallinarum* in poultry. Emerging in Infectious Disease. Vol,6,pp:443–448.

53-Rahmani. (2008). Evaluation of Salmonellosis in decorative bird in Tehran spark : to determine the serotypes and resistance patterns of Salmonella isolated. PhD thesis in Tehran University.

54-Ranjbar, R., Naghoni, A., Panahi, Y. & Izadi, M. (2009). Antibiotic sensivity pattern strain *Salmonella* isolates from cases into Ten antibiotics in the treatment of less common Salmonella infection. Iran infectious and Tropical Diseases, Vol, 14, No,46. pp: 41-44.

55-Rasschaert, G., Houf, K., Godard, C., Wildemauwe, C., Pastuszczak-Frak, M., & De Zutter, L. (2008). Contamination of carcasses with Salmonella during poultry slaughter. Journal of Food Protection,Vol,71,No,1,pp: 146–152.

56-Saadati, M., Ghorbani, N., Barati, B., Nazariyan, S., Shirazi, M., Shirazi, M.B., Shirzad, H. & Nakhaei Sistani, R. (2008). Identification of *Salmonella typhi* based on ViaB gene by PCR. Journal of Sabzevar University of Medical, Vol, 16, No,4. pp:221-227.

57-Sadeghizali, M.H., Hashempour, M., Kalbkhani, M. & Delshad, R. (2009). Comparative evaluation of contamination by Salmonella in different organs (heart, liver, ovary, feces) in slaughtered chickens slaughter house Urmie. Large traps Clinical Researches, Vol,5, No,1. pp: 57-60

58-Salehi, M., Anamnam, M. & Mosavari, N. (2008). Accurate detection and differentiation of *Salmonella enteritidis* isolates from farms and conservation of Iranian birds by using the Multiplex PCR. Microbial Biotechnology, Vol,12, No,4. pp: 35-42.

59-Saneifard, F., Saifi, M., Ashraghi, S., Zahraiesalehi, T., Pourmand, M.R., Ranjbar, R., Bakhtiari, R., Mardani, N. & Soltandalal, M,M. (2009ss). Characterization of *Salmonella enteritidis* strains isolated from human and food samples by ERIC-PCR and determine their antibiotic resistance. Journal of Infectious and Tropical Diseases, Vol,14, No,51. pp: 7-13.

60-Shafaati, M., Shefaati, M. & Khodadost, M (2010). Detection of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in tomato by PCR based on hilA gene. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Vol, 22, No,4. pp: 273-278.

61-Shahmardani Firozjanim M., Karimi, V., Sefidgar, S.A.A. & Zahraisalehi, T.

(2008). Prevalence of *Salmonella* serovars in humans and Poultry in babol. PhD thesis in Tehran University.

62-Shapouri, R., Rahnema, M., & Eghbalzadeh, S. (2009). Pce of *Salmonella* serotypes in poultry meat and egg and determine their antibiotic sensitivity in Zanjan city. The Quarterly Journal of Biological Sciences, Vol,6, No,2. pp: 63-71.

63-Shokri, R., Tabaraei, B., Hatami, S., & Nilchizade Rahbar, O. (2012). Rapid identification of Salmonella in dairy products by P-CEIA. Iranian Journal of Medical Microbiology,Vol, 5, No,4. pp: 29-34.

64-Sidavi, A. (2012). Determine the relative populaetion of Salmonella in poultry digestive system by PCR. Animal Biology, Vol,5, No,4. pp: 59-72.

65-Soltan Dallal, M., Rastegar Lari, A., & Sharifi Yazdi, M. (2014). Pattern of serotyping and antibiotic resistance of Salmonella in children with diarrhea. Journal of Gorgan University of Medical Sciences, Vol,16, No,1. pp:100-105.

66-Tajbakhsh, M., Hamidian, M., Rahbar, M., Mohammadzade, M., Dabiri, H. & Zali, M.R. (2010). The prevalence broad spectrum Beta lactams type of CTX-M in clinical strains of Salmonella isolated in Tehran. Iran infectious and Tropical Diseases, Vol,15, No,50. pp: 39-44.

67- Tajbakhsh, M., Yaghoobi Avini, M., Khajeh, J.A., Alebouyeh, M., Azemalhosseini Mojarad, E. & Zali, M.R. (2012). Increased-resistance phenotype resulted from elevated β-Lactamase enzyme activity in Salmonella clinical isolates. Journal of Isfahan Medical School, Vol,30, No,178.pp:39-44.

68-Van Immerseel, F., Methner, U., Rychlik, I., Nagy, B., Velge, P., Martin, G., Barrow, P. (2005). Vaccination and early protection against non-host-specific *Salmonella* serotypes in poultry: exploitation of innate immunity and microbial activity. Epidemiology and infection, Vol,133, No,06. pp: 959-978.

69-Wales, A., & Davies, R. (2011). A critical review of *Salmonella typhimurium* infection in laying hens. Avian Pathology, Vol,40, No,5. pp: 429-436.

70- World Health Organization. WHO report 2014: Antimicrobial Resistance:Global Report on Surveillance (Summary). 2014:3–6.

www.SID.ir