دارای رتبه علمی-پژوهشی
ازکمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

شناسایی ملکولی سروتایپ سالمونلای جداشده از تخم مرغ

مهدی منادی
کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، ایران
محمد کارگر
دانشیارمیکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، ایران
اصغر نقی ها
استادیارمیکروبیولوژی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، ایران
اکرم نجفی
دانشجوی گروه میکروبیولوژی ، مرکز تحقیقات زیست فن آوری دریایی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، ایران
رضا محمدی
کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، ایران
نویسنده مسئول: محمد کارگر
پست الکترونیک: mkargar@jia.ac.ir
تلفن : ۰۹۱۷۳۱۴۹۲۰۳
آدرس: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی

دریافت: ۹۲/۷/۲۷
ویرایش پایانی: ۹۳/۲/۲۰
پذیرش: ۹۳/۲/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: *سالمونلوز شایع‌ترین نوع مسمومیت غذایی در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه می باشد که توسط سروتایپ سالمونلا ایجاد می گردد. هدف از این پژوهش شناسایی سرووارهای سالمونلا در تخم مرغ های بومی استان کهگیلویه و بویراحمد و نیز ارزیابی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های جداسازی شده می‌باشد.*

روش بررسی: *در این مطالعه ۲۱۰ عدد تخم مرغ بومی از مناطق ده گانه استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری گردید. به منظور جداسازی و تعیین هویت باکتری ها از آزمون های بیوشیمیایی استفاده گردید. پس از استخراج DNA ژنومی به کمک پرایمرهای عمومی invA و اختصاصی sefA و fliC به ترتیب جنس سالمونلا و سروتایپ سالمونلا انتریتیدیس و سالمونلا تیفی موریوم با روش Multiplex PCR مورد بررسی قرار گرفتند.*

یافته‌ها: *از مجموع نمونه های مورد بررسی ۱۴ عدد (۶/۶۶٪) از تخم مرغ‌ها آلوده به سالمونلا بودند. از این میان ۱۲ مورد (۵/۷۱٪) متعلق به سالمونلا تیفی موریوم و ۲ مورد (۰/۹۵٪) متعلق به سایر گونه های سالمونلا بودند. همچنین در هیچ یک از نمونه ها آلودگی به سالمونلا انتریتیدیس مشاهده نگردید. بیشترین میزان مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک های پنی‌سیلین (۱۰۰٪) و نئومایسین (۷۸/۵۷ ٪) بودند.*

نتیجه‌گیری: *نتایج این پژوهش نشان داد که سالمونلا تیفی موریوم سروار غالب در ایجاد آلودگی در تخم مرغ‌های بومی استان می باشد. همچنین با توجه به شیوع گسترده مقاومت آنتی بیوتیکی سروتایپ‌های مختلف سالمونلا، اجتناب از مصرف بی رویه آنتی بیوتیک در دامداری ها و مرغداری ها پیشنهاد می گردد.*

واژه های کلیدی: *سالمونلا ، مقاومت دارویی، آنتی بیوتیک، Multiplex PCR، کهکیلویه و بویراحمد*

آدرس مقاله
منادی م، کارگر م، نقی ها ا، نجفی ا، محمدی ر" شناسایی ملکولی سروتایپ سالمونلای جداشده از تخم مرغ " مجله علوم آزمایشگاهی، فروردین و اردیبهشت ۹۴، دوره نهم (شماره ۱): ۱۷-۲۴

مقدمه

سالمونلا یکی از منابع مهم بیماری‌های منتقله از طریق غذا در اکثر نقاط دنیا می‌باشد. به طوری که این باکتری موجب بروز گاستروانتریت خفیف تا سپتی سمی کشنده در انسان می گردد (۱). حیوانات و ماکیان از منابع اصلی این عامل بیماری زا به شمار می آیند. به طوری که انتقال بیماری از طریق مصرف غذاهای حیوانی مانند گوشت گاو، گوشت مرغ، تخم مرغ و همچنین شیر گزارش شده است (۳،۲). از عمومی‌ترین سروتیپ‌های جدا شده از طیور می‌توان به *سالمونلا انتریتیدیس*، *سالمونلا هادار*، *سالمونلا هایدلبرگ* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* اشاره نمود (۴). سالمونلوز شایع‌ترین نوع مسمومیت غذایی در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه می‌باشد (۳). *سالمونلا انتریتیدیس* و *سالمونلا تیفی موریوم* از مهم ترین عوامل ایجاد کننده سالمونلوزیس در انسان محسوب می شوند (۵). اولین مورد وقوع مسمومیت غذایی ناشی از سالمونلا توسط Gartner در سال ۱۸۸۸ در آلمان گزارش گردید (۸). بیش از یک سوم موارد سالمونلوز در انسان بین سال‌های ۱۹۸۳ تا ۱۹۸۷ در ایالت متحده آمریکا با مصرف گوشت و تخم مرغ‌های آلوده پرندگان در ارتباط بوده است (۷). همچنین در سال‌های ۱۹۸۹ تا ۱۹۹۶ در انگلستان و ولز از ۵۰۱ مورد مسمومیت غذایی ناشی از *سالمونلا انتریتیدیس* در انسان، ۱۷۸ مورد به علت مصرف گوشت و تخم پرندگان و فرآورده‌های آنها بوده است (۸). در طول دهه گذشته مقاومت ضدمیکروبی و چند دارویی گونه های *سالمونلا* به مقدار زیادی افزایش یافته است. عامل پیدایش این افزایش استفاده از مواد ضد میکروبی در درمان انسان ها و حیوانات و همچنین اضافه کردن آنتی بیوتیک ها به رژیم غذایی حیوانات تعریف شده است (۹). این امر موجب افزایش معنی داری در فراوانی عفونت های سالمونلایی در برخی از کشورها در دهه گذشته شده است (۱۰). باکتری سالمونلا از محیط، نمونه‌های بالینی و مواد غذایی بعد از مرحله غنی‌سازی جداسازی شده و روش های مولکولی مانند PCR نتایج سریع و دقیقی را در تشخیص باکتری فراهم می‌نمایند (۱۱-۱۳). شیوع و موارد تک گیر سالمونلوزیس به صورت فراوان همراه با آلودگی مرغ و تخم مرغ با گونه های سالمونلا در ارتباط می باشد (۲). مطالعه حاضر با هدف تعیین شیوع گونه های سالمونلا در تخم مرغ ها و نیز ارزیابی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های جداسازی شده انجام گردید.

روش بررسی

در این مطالعه از خرداد ماه تا مرداد ۱۳۹۱ در مجموع ۲۱۰ عدد تخم مرغ بومی از مناطق ده گانه استان کهگیلویه و بویراحمد، جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. در ابتدا هر تخم مرغ به صورت جداگانه در ۱۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد تا باکتری‌های احتمالی پوسته شسته شوند. سپس به منظور ضد عفونی پوسته، تخم مرغ‌ها در الکل قرار داده شدند. پوسته آهکی با پنس استریل شکسته و محتویات با لوپ به طور کامل مخلوط و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷°c با سمپلر در آبگوشت سلنیت-F تلقیح گردید. همچنین برای جداسازی باکتری از پوسته تخم مرغ، از سرم حاصل از شستشوی باکتری‌ها در آبگوشت سلنیت-F استفاده گردید. تمامی نمونه های مورد بررسی پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ċ، بر روی محیط سالمونلا- شیگلا آگار به صورت سطحی کشت داده شدند. نمونه ها مجدداً به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ċ گرمخانه گذاری شدند. به منظور تأیید پرگنه‌های مشکوک به سالمونلا از محیط های افتراقی مانند اندول، لیزین دکربوکسیلاز، اوره آز، TSI و MR-VP استفاده گردید (۱۴،۱۵).

به منظور استخراج ژنوم باکتری از روش جوشاندن (boiling) استفاده شد. پس از تهیه سوسپانسیون باکتریایی سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت.

در این مطالعه از پرایمرهای عمومی (*invA*) و اختصاصی (*sefA* و *fliC*) به ترتیب برای شناسایی جنس سالمونلا و سروتایپ *سالمونلا انتریتیدیس* و *سالمونلا تیفی موریوم* با روش Multiplex PCR استفاده گردید (جدول۱). در پژوهش حاضر از *سالمونلا کلراسوئیس* به عنوان کنترل مثبت استفاده شـد. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: PCR Buffer 10X (۲/۶ µl)، dNTP (۰/۵ µl)، $MgCl_2$ (۱ µl)، Taq DNA Polymerase (۰/۲۵ µl)، هر یک از پرایمرها (µl

۱)، DNA الگو (۲/۵ µl) و ۱۶ میکرولیتر آب دوبار تقطیر انجام شد. در ادامه واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Mastercycler Gradient, Eppendorf, Germany) با شرایط دمایی ۵ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و در ادامه ۳۰ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۶۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. محصول نهایی PCR در ژل آگارز ۱/۳ درصد مورد الکتروفورز قرار گرفت. پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید با استفاده از اشعه UV مورد بررسی قرار گرفت (۱۶).

حساسیت آنتی بیوتیکی گونه های سالمونلا با روش انتشار دیسک طبق توصیه مؤسسهٔ استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) (۱۷) نسبت به ۸ آنتی بیوتیک شامل تری متوپریم (۵µg)، تتراسایکلین (۳۰µg)، پنی سیلین (۱۰µg)، کانامایسین (۳۰µg)، نئومایسین (۱۰µg)، سفالکسین (۵µg)، استرپتومایسین (۱۰µg) و سیپروفلوکسازین (۵µg) شرکت رسکو (دانمارک) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ċ به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نسخه نوزدهم نرم افزار SPSS و آزمون های آماری مربع کای و تست دقیق فیشر انجام گرفت. مرز معنی‌داری بر روی $p< ۰/۰۵$ قرار داده شد.

جدول ۱- توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای استفاده شده در شناسایی سرووارهای سالمونلا

پرایمر	توالی نوکلئوتیدی (´۳---´۵)	اندازه (جفت باز)
inv-F	GTGAAATTATCGCCACGTTCGGGCAA	۲۸٤
inv-R	TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	
sefA1-F	GCAGCGGTTACTATTGCAGC	۳۱۰
sefA2-R	TGTGACAGGGACATTTAGCG	
fli15-F	CGGTGTTGCCCAGGTTGGTAAT	۵۵۹

یافته ها

پس از انجام آزمون های بیوشیمیایی مشخص گردید که ۱۴ عدد (۶/۶۶٪) از تخم مرغ‌ها دارای آلودگی به جنس سالمونلا می باشند. از این میان ۱۲ مورد (۵/۷۱٪) متعلق به *سالمونلا تیفی موریوم* و ۲ مورد (۰/۹۵٪) متعلق به سایر گونه های سالمونلا بودند. همچنین در هیچ یک از نمونه ها آلودگی به *سالمونلا انتریتیدیس* مشاهده نگردید (جدول ۲). در پژوهش حاضر بیشترین آلودگی به گونه های سالمونلا در منطقه دهدشت (۲۸/۵۷٪) گزارش شد. کمترین میزان آلودگی در مناطق چاروسا، باشت، لنده و دیشموک مشاهده گردید. به طوری که در این مناطق هیچ نمونه مثبتی جداسازی نشد(جدول۲). با استفاده از آزمون دقیق فیشر مشخص گردید که ارتباط معنی داری بین مناطق ده گانه و گونه های جداسازی شده وجود ندارد (p=۰/۱۹۱). نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که در مجموع میزان شیوع سالمونلا در پوسته و زرده تخم مرغ برابر و معادل ۳/۳۳ درصد می باشد. در این مطالعه بیشترین آلودگی پوسته تخم مرغ به سالمونلا در منطقه دهدشت گزارش شد. همچنین مناطق سی سخت و لیکک بیشترین آلودگی زرده تخم مرغ به گونه های سالمونلا را دارا بودند. روش ملکولی نشان داد که هر ۱۴ نمونه شناسایی شده در مرحله کشت میکروبی مربوط به جنس *سالمونلا* بوده اند. این مطلب با مشاهده باند ۲۸۴ جفت بازی تایید گردید. همچنین در ۱۲ مورد از نمونه های مثبت (۵/۷۱٪) با مشاهده باند ۵۵۹ جفت بازی آلودگی به گونه *سالمونلا تیفی موریوم* تائید شد. ارزیابی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سالمونلاهای

جداسازی شده در این مطالعه نشان داد که بیشترین میزان مقاومت به ترتیب نسبت به آنتی-بیوتیک های پنی‌سیلین (۱۰۰٪) و نئومایسین (۷۸/۵۷٪) می باشد. از طرفی کمترین میزان مقاومت مربوط به آنتی بیوتیک های تری‌متوپریم، کاناماسین، استرپتومایسین و سیپروفلوکسازین بودند. به طوری که تمامی گونه های *سالمونلا* به آنتی بیوتیک های یاد شده حساس بودند (p=۰/۱۱۸) (شکل ۱).

جدول ۲- توزیع فراوانی مطلق و نسبی نمونه مورد بررسی بر اساس منطقه و آلودگی (تعداد = ۱٤)

منطقه	*Salmonella typhimurium* (%)	*Salmonella entritidis* (%)	*Salmonella* .spp (%)	جمع کل(٪)
چاروسا	(۰)۰	(۰)۰	(۰)۰	(۰)۰
دیشموک	(۰)۰	(۰)۰	(۰)۰	(۰)۰
لنده	(۰)۰	(۰)۰	(۰)۰	(۰)
دهدشت	(۲۱/٤۳)۳	(۰)۰	(۷/۱٤)۱	(۲۸/۵۷)٤
چرام	(۱٤/۲۷)۲	(۰)۰	(۰)۰	(۱٤/۲۷)۲
یاسوج	(۱٤/۲۷)۲	(۰)۰	(۰)۰	(۱٤/۲۷)۲
سی‌سخت	(۷/۱٤)۱	(۰)۰	(۷/۱٤)۱	(۱٤/۲۷)۲
گچساران	(۷/۱٤)۱	(۰)۰	(۰)۰	(۷/۱٤)۱
باشت	(۰)۰	(۰)۰	(۰)۰	(۰)۰
لیکک	(۲۱/٤۳)۳	(۰)۰	(۰)۰	(۲۱/٤۳)۳
جمع	(۸۵/۷۱)۱۲	(۰)۰	(۱٤/۲۸)۲	(۱۰۰)۱٤

جدول ۳- الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالمونلاهای جداسازی شده از تخم مرغ‌های بومی استان کهگیلویه و بویراحمد

آنتی بیو تیک ها	مقاوم (٪)	نیمه حساس (٪)	حساس (٪)
تری متوپریم	-	-	۱٤ (۱۰۰٪)
استرپتومایسین	-	-	۱٤ (۱۰۰٪)
سیپروفلوکسازین	-	-	۱٤ (۱۰۰٪)
نئومایسین	۱۱ (۷۸/۵۸ ٪)	۳ (۲۱/٤۲ ٪)	-
تتراسایکلین	-	٤ (۲۸/۵۸ ٪)	۱۰ (۷۱/٤۲ ٪)
پنی سیلین	۱٤ (۱۰۰٪)	-	-
سفالکسین	-	۳ (۲۱/٤۲ ٪)	۱۱ (۷۸/۵۸ ٪)

بحث

امروزه سالمونلا با بیش از ۲۵۰۰ سروتیپ، به عنوان دومین علت بیماری های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده در آمریکا شناخته شده است (۱۸). از بین سروتیپ های مختلف سالمونلا، سروتیپ های *اینتریتیدیس* و *تیفی موریوم* بیشترین میزان عفونت یا مسمومیت غذایی را در کشورهای آسیایی به ویژه کره، ژاپن و تایلند ایجاد می نمایند (۱۹). سالمونلوز از بیماری های عفونی مشترک بین انسان و دام می باشد و افزایش شیوع آن بین انسان و حیوان ، به ویژه در دهه های اخیر، اهمیت بیماری را دو چندان می نماید. بنابراین به منظور جلوگیری از آلودگی سالمونلا، برنامه های نظارتی مورد نیاز می باشد. در مطالعه حاضر میزان آلودگی به سالمونلا ۶/۶۶ درصد تشخیص داده شد که آلودگی غالب منطقه متعلق به *سالمونلا تیفی موریوم* با میزان ۵/۷۱ درصد بوده است. در مطالعه‌ای که Little و همکاران در سال ۲۰۰۶ در برخی از مناطق انگلستان انجام دادند، از مجموع ۱۵۷ تخم مرغی که پوسته آلوده داشتند، تنها محتویات ۱۰ عدد از آنها (۶/۳۶٪) آلودگی سالمونلایی داشتند(۲۰). این میزان آلودگی بیشتر از نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر است. Shahzad و همکاران در سال ۲۰۱۲ شیوع گونه های سالمونلا را در تخم مرغ و جعبه های تخم مرغ جمع آوری شده از مزارع مرغ پاکستان بررسی نمودند. در این مطالعه از مجموع ۳۸۴ نمونه میزان شیوع در پوسته تخم مرغ، محتوای تخم مرغ و جعبه های ذخیره کننده تخم مرغ به ترتیب ۳۸/۸۸ درصد، ۱۵درصد و ۴۳/۹ درصد گزارش گردید(۲). Katz و Ching در سال ۱۹۹۱ با بررسی ۳۰۰ عدد تخم مرغ خوراکی در هاوایی موفق به جداسازی سالمونلا از پوسته ۹/۴ درصد تخم مرغ ها شدند(۲۱). میزان شیوع سالمونلا در سه مطالعه یادشده بیشتر از نتایج به دست آمده در این پژوهش می باشد. شاید بتوان دلیل این امر را مرتبط با شرایط نگهداری مرغ و تخم مرغ و شرایط بهداشتی اقلیم مورد نظر دانست. جعفری و همکاران در سال ۲۰۰۵ میزان آلودگی به سالمونلا را در تخم مرغ‌های بومی اهواز با استفاده از آزمون های بیوشیمیایی و سرولوژیک مورد ارزیابی قرار دادند. یافته های آنها نشان دهنده آلودگی ۱/۶۶ درصدی تخم مرغ های مورد بررسی بوده است(۲۲). shareef و همکاران در سال ۱۹۹۷ با نمونه گیری از ۱۰۰ عدد تخم مرغ بومی و تخم اردک در عراق توانستند *سالمونلا تیفی* را از ۰/۶ درصد پوسته تخم اردک جداسازی نمایند (۲۳). Davis و WRoy نیز در سال ۱۹۹۶ آلودگی مزارع مرغ مادر به باکتری سالمونلا را ۱۱/۷ درصد گزارش نمودند. همچنین بیشترین گونه جداسازی شده *سالمونلا انتریتیدیس* معرفی گردید (۲۴). زارع و همکاران در سال ۲۰۰۸ در بررسی که در شهرستان ارومیه انجام دادند از مجموع ۱۰۰ تخم مرغ مورد آزمایش، ۶ عدد از آنها را آلوده به *سالمونلا* گزارش نمودند. پس از گروه‌بندی نمونه‌ها با استفاده از آنتی سرم پلی والان مشخص گردید که تمامی *سالمونلاهای* جداسازی شده متحرک و به گروه سرمی D (*سالمونلا انتریتیدیس*) تعلق داشتند (۲۵). این یافته ها با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هم خوانی ندارد. زیرا در این پژوهش در هیچ یک از نمونه ها آلودگی به سروار *سالمونلا انتریتیدیس* مشاهده نگردید. در مجموع شیوع آلودگی سالمونلایی در تخم مرغ های بومی استان نسبت به دیگر مطالعاتی که در سایر نقاط ایران انجام شده بیشتر است. اما مشابه مطالعات انجام شده در اروپا است. در مطالعه حاضر ارزیابی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی *سالمونلاهای* جداسازی شده نشان دهنده مقاومت ۱۰۰ درصدی سویه ها نسبت به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین بوده است. این امر می تواند به دلیل استفاده بیش از حد استاندارد از این آنتی بیوتیک در رژیم درمانی باشد. از طرفی تمامی گونه های *سالمونلا* نسبت به آنتی بیوتیک های تری‌متوپریم، کانامایسین، استرپتومایسین و سیپروفلوکسازین دارای حساسیت ۱۰۰ درصدی بوده اند که ممکن است در اثر عدم استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها در موارد درمانی در منطقه و عدم پیدایش مقاومت نسبت به آنها باشد. Tajbakhsh و همکاران در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۳ به منظور تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی گونه های سالمونلای جدا شده از گوشت گاو، شیر و بز انجام دادند، بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک های نالیدیکسیک اسید، آمپی سیلین و تتراسایکلین گزارش نمودند (۳). Chaiwat و همکاران در سال ۲۰۱۲ مقاومت آنتی-بیوتیکی سالمونلاهای جدا شده از گوشت خوک را در ایالت

ساکایی تایلند مورد بررسی قرار دادند. از نظر فراوانی بیشترین مقاومت به ترتیب نسبت به آنتی بیوتیک های تتراسایکلین (۹۶٪)، آمپی‌سیلین (۵۰٪) و کمترین آن نسبت به سفوتاکسیم (۵٪) و سیپروفلوکسازین (۲٪) بوده است (۲۶). میزان متفاوت مقاومت آنتی بیوتیکی گزارش شده در مطالعات مختلف را می‌توان به استفاده بیش از حد استاندارد از آنتی‌بیوتیک‌ها در مناطق مختلف نسبت داد. این امر موجب می گردد که ژن مقاومت به روش‌هایی مثل کانجوگیشن و ترانسفرمیشن بین سویه‌های مختلف دست به دست شده و خود باعث گسترش هرچه بیشتر مقاومت میکروبی گردد.

نتیجه گیری

این مطالعه شیوع گسترده سروار *سالمونلا تیفی موریوم* در ایجاد آلودگی در تخم مرغ‌های بومی استان کهگیلویه و بویر احمد را نشان می دهد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم و دانشگاه علوم پزشکی یاسوج به دلیل حمایت های اجرایی از این پژوهش اعلام می دارند.

References

1. Gast RK, Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, et al. *Diseases of poultry*. 11th ed. Iowa State University Press. Ames, Iowa. 2003; 583-613.

2. Shahzad A, Shahid Mahmood M, Hussain I, Siddique F, Zahid Abbas R. *Prevalence of Salmonella species in hen eggs and egg storing-trays collected from poultry farms marketing outlets of Faisalabad, Pakistan.* Pak J Agri Sci. 2012; 49(4): 565-568.

3. Tajbakhsh F, Tajbakhsh E, Momenii E, Momenii R, Momenii M. *Determination of Antibiotic resistance in Salmonella Spp isolated from raw cow, sheep and goat's milk in Chaharmahal Va Bakhtiyari Provience, Iran.* Global Veterinaria. 2013; 10(6): 681-685.

4. Byrd JA, DeLoach JR, Corrier DE, Nisbet DJ, Stanker LH. *Evaluation of Salmonella serotype distributions from commercial broiler hatcheries and grower houses.* Avian Dis. 1999; 43(3): 39-47.

5. Bayu Z, Asrade1 B, Kebede N, Sisay Z, Bayu Y. *Identification and characterization of Salmonella species in whole egg purchased from local markets in Addis Ababa, Ethiopia.* J Vet Med Anim Health. 2013; 5(5): 133-137.

6. Barnhart HM. *Prevalence of Salmonella enteritidis and other serovars in ovaries of layer hens attime of slaughter.* J Food Prot. 1991; 54(2): 488-491.

7. Taux RV. *Salmonella: A postmodern pathogen.* J Food Prot. 1991; 54: 563-568.

8. Humphrey T, Wray C, Wray A. *Public- health aspects of Salmonella infection. In:. Salmonella in Domestic Animals.* CABI Publishing, UK. 2000; 245-263.

9. Kumar K, Lakhera PC. *Isolation, plasmid profiling and antibiogram of Salmonella from poultry meat and environmental sources.* J Anim Res. 2013; 3(1): 53-57.

10. Rahmani M, Peighambari M, Aaby Svendsen C, Cavaco L, Agers Y, Hendriksen R. *Molecular clonality and antimicrobial resistance in Salmonella enterica serovars enteritidis and infantis from broilers in three Northern regions of Iran.* BMC Vet Res. 2013; 9: 66.

11. Soumet C, Ermel G, Rose N, Rose V, Drouin P, Salvat G, et al. *Evaluation of a multiplex PCR assay for simultaneous identification of Salmonella sp., Salmonella Enteritidis and Salmonella typhimurium from environmental swabs of poultry houses.* Letters Appl Microbiol. 1999; 28(6): 113-117.

12. Van Duijkeren E, Wannet WJ, Houwers DJ, Van Pelt W. *Antimicrobial susceptibilities of Salmonella strains isolated from humans, cattle, pigs, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001*. J Clin Microbiol. 2003; 41(4): 3574-3578.

13. Sharifzadeh A, Doosti A, Gaafarian M. *The comparison between molecular and bacteriological detection for identification of abortion agents caused by Brucella and Salmonella in sheep in Shahrekord town.* J Microb World. 2009; 2(2): 101-104. [Persian]

14. Nazer AHK, Safari GH. *Bacterial flora from dead-in-shell chicken embryos and their drug resistance in Fars Province of Iran.* Indian J Anim Sci. 1994; 64(10): 1006-1009.

15. Moghbeli M, Shaebani AA, AkbariFar E. *Isolation of Vi antigen from Salmonella Typhi Ty2 and its animal test for preparation of vaccine.* J Microb World. 2009; 2(1): 7-11. [Persian]

16.Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. *Veterinary microbiology and microbial disease.* 1th ed. Blackwell Science, 2002; 113-118.

17. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing;* Twentieth Informational Supplement. M100S222012. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012.

18. Foley SL, Lynne AM. *Food animal-associated Salmonella challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance.* J Anim Sci. 2008; 86: 173-187.

19. Solhan S, Chan PP, Kurupatham L, Foong BH, Ooi PL, James L, et al. *An outbreak of gastroenteritis caused by Salmonella enterica serotype Enteritidis traced to cream cakes*. Western Pac Surveill Response J. 2011; 2(1): 23-30.

20. Little C, Walsh S, Hucklesby L, Surman-Lee S, Pathak K, Hall Y, et al. *Salmonella contamination in non-UK*

produced shell eggs on retail sale in some regions of England. Euro Surveill. 2006; 11(11): 102-114.

21. Ching Lee MR, Katz AR. *Salmonella egg survey in Hawaii. Evidence forroutine bacterial surveillance*. Am J Public Health. 1991; 81(6): 764-770.

22. Jafari R, Fazel Ara A, Deliran Nia A. *Salmonella contamination of eggs native -consumed in Ahwaz*. Proceedings of the Fourth Meeting of Veterinary Clinical Sciences. 2005; 3(1): 325.

23. Shareef AM, Al- Sanjary RA, Hassan AA. *Recovery of two types of Salmonella from eggs of range rearing hens and ducks*. Iraqi J Vet Sci. 1997; 10 (2): 25-28.

24. Davis RH, Wray C. *Determination of an effective sampling regime to detect salmonella enteritidis in the environment of poultry units*. Vet Microb. 1996; 50(1-2): 117-127.

25. Zare M, Nayriz Naghdahi M, Rasuoli S, Delshad R. *Salmonella isolation from egg yolk local city Uromie.* J Vet Med, Islamic Azad Uni. 2008; 7(3): 51-57.

26. Chaiwat P, Phattharaphron C, Serirat P, Yukio M, Shigeki Y, Sumalee T. *Serotype antimicrobial susceptibility and genotype of Salmonella isolates from swine and pork in Sa Kaew Province, Thailand.* J Vet Med. 2012; 42(1): 21-27.

Molecular Detection of *Salmonella* Serovar Isolated from Eggs

Monadi, M. (MSc)
MSc of Microbiology, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch Jahrom, Iran

Kargar, M. (PhD)
Associate Professor of Microbiology, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch Jahrom, Iran

Naghiha, A. (PhD)
Assistant Professor of Microbiology, Department of Animal Science, College of Agriculture, Yasuj University, Yasuj, Iran

Najafi, A. (MSc)
PhD Student of Marine Microbiology, The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

Mohammadi, R. (MSc)
MSc of Microbiology, Herbal Medicine Research Center, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Corresponding Author: Kargar, M.

Email: mkargar@jia.ac.ir

Received: 19 Oct 2013
Revised: 10 May 2014
Accepted: 14 May 2014

Abstract

Background and Objective: Salmonellosis is the most common type of food poisoning in developed and developing countries that is caused by *Salmonella* serotype. Hence, we aimed to identify the Salmonella serovars in eggs obtained from Kohgiluyeh and Boyerahmad province and to evaluate antibiotic resistance of the isolated strains.

Material and Methods: In this study, 210 eggs were collected from Kohgiluyeh and Boyerahmad Province. The bacteria were isolated and identified using biochemical tests. After extraction of genomic DNA, Salmonella gender, *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* were investigated by invA, fliC and sefA primers, respectively, using Multiplex PCR method.

Results: Of 210, 14 (6.66%) were contaminated with *Salmonella*. Of these, 12 (5.71%) were *Salmonella typhimurium* and 2 (0.95%) were related to Salmonella spp. None of the samples were contaminated with *Salmonella enteritidis*. The highest resistance was related to penicillin (100%) and neomycin (78.57%).

Conclusion: *Salmonella typhimurium* is the predominant serovar causing contamination in the eggs of this Province. Given the wide spread of antibiotic resistance in different serotypes of *Salmonella*, we recommend avoiding of indiscriminate use of antibiotics in livestock and poultry.

Keywords: *Salmonella*, Drug Resistance, Antibiotic, Multiplex PCR, Kohgiluyeh and Boyerahmad

This paper should be cited as: Monadi M, Kargar M, Naghiha A, Najafi A, Mohammadi R. [Molecular Detection of *Salmonella* Serovar Isolated from Eggs]. mljgoums. 2015; 9(1): 17-24 [Article in Persian]