Original Paper

Serogroup and antibiotic resistance pattern determination of *Salmonella* isolates from food

Abolfazl Sirdani (M.Sc), Food and Hygiene Control Laboratory, Deputy of Food and Drug, Tehran University of Medical Sciences. Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0003-2097-7508

Zahra Rajabi (M.Sc), Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0003-4970-3068

Fatemeh Fardsanei (Ph.D), Division of Medical Microbiology, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0001-5960-6056

Saeid Vahedi (Pharm.D), Academic Instructor, Operating Room Department, School of Allied Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0003-1683-7916

***Mohammad Mehdi Soltan Dallal (Ph.D)**, **Corresponding Author**, Professor of Microbiology, Division of Food Microbiology, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran. **E-mail: msoltandallal@gmail.com**
ORCID ID: 0000-0002-4900-9458

Abstract

Background and Objective: Salmonellosis is a gastroentritidis which caused by the different serovars of *Salmonella* genus, and responsible for morbidity and mortality worldwide. Food born disease is one of the growing problems of human societies especially in developing countries. The aim of this study was to evaluate and serogroup determination of *Salmonella* isolates from food along with antibiotic resistance pattern.

Methods: This descriptive study was performed on total of 400 in equal of 200 packed and 200 unpacked samples of (red meat, chicken meat, egg, vegetable) collected in random from distributed in Tehran ,Iran during nine months in 2018. Microbial, biochemical and serological test was performed according to protocol number of 1800 of national standard. Antimicrobial susceptibility test was done by disk diffusion (MAST, Co, UK) method.

Results: Out of 400 samples 8 (2%) was identified as *Salmonella*. The unpacked foods were more contaminated (75%) compared to packed foods (25%). The most isolated serogrouping were belonging to especially D. *Salmonella*. The chicken samples were more contaminated (37.5%) than other samples. The isolated *Salmonella* were mostly resistance to nalidixic acid (75%).

Conclusion: The *Salmonella* isolated particularly from group 1 showed higher antimicrobial resistance, additional care should be taken in preparation, packaging and supplying the food samples.

Keywords: *Salmonella*, food, Antibiotic resistance, Food samples

Received 9 May 2019 **Revised** 18 Mar 2019 **Accepted** 15 Apr 2019

Cite this article as: Abolfazl Sirdani, Zahra Rajabi, Fatemeh Fardsanei, Saeid Vahedi, Mohammad Mehdi Soltan Dallal. [Serogroup and antibiotic resistance pattern determination of *Salmonella* isolates from food]. J Gorgan Univ Med Sci. 2020 Winter; 21(4): 114-120. [Article in Persian]

تحقیقی

تعیین سروگروپ و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *سالمونلا* از مواد غذایی

ابوالفضل سیردانی، کارشناس ارشد میکروب شناسی، آزمایشگاه کنترل مواد غذایی و بهداشتی، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ORCID ID: 0000-0003-2097-7508
زهرا رجبی، کارشناس ارشد مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ORCID ID: 0000-0003-4970-3068
دکتر فاطمه فرد صانعی، استادیار بخش باکتری شناسی پزشکی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ORCID ID: 0000-0001-5960-6056
دکتر سعید واحدی، مربی گروه هوشبری، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ORCID ID: 0000-0003-1683-7916
*** دکتر محمد مهدی سلطان دلال**، استاد مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، بخش باکتری شناسی مواد غذایی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. ORCID ID: 0000-0002-4900-9458

چکیده

زمینه و هدف: *سالمونلوز یک معضل بهداشتی مهم و مسؤول بیشترین موارد مرگ و میر ناشی از بیماری‌های منتقله از غـذا در سرتاسـر جهان است. در کشور ما عفونت سالمونلایی در اثر مصرف مواد غذایی آلوده رو به افزایش است. این مطالعه به منظور تعیین سـروگروپ و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های سالمونلا از مواد غذایی انجام شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی تعداد ٤۰۰ نمونه به صورت تصادفی از مواد غذایی شامل گوشت قرمز، مـرغ، تخـم مرغ و سبزی هر کدام به تعداد ۵۰ نمونه بسته بندی و ۵۰ نمونه فله توزیع شده در ۱۰ واحد مختلف عرضه کننده در منـاطق پنجگانـه شـهر تهران طی ۹ ماه در سال ۱۳۹۷ تهیه گردید. از نمونه‌ها براساس استاندارد ملی ایران به شماره۱۸۱۰ آزمون میکروبـی بـه‌عمـل آمـد. سـپس تست‌های بیوشیمیایی، تاییدی و سرولوژی مربوطه انجام گردید. تست حساسیت میکروبی براساس روش دیسک دیفیوژن آگار با اسـتفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی شرکت مست (انگلستان) انجام شد.*

یافته ها: *از ٤۰۰ نمونه مورد آزمایش ۸ مورد (۲ درصد) سالمونلاجدا گردید. درصد آلودگی سـالمونلا در ٦ مـورد (۷۵ درصـد) مـواد غذایی فله نسبت به ۲ مورد (۲۵درصد) بسته بندی بیشتر بود. بیشترین سروگروپ سالمونلای جداشده متعلق به گروپ D بود و نمونه غذایی مرغ درصد آلودگی به سالمونلای بیشتری (۳۷/۵درصد) نسبت به سایر مواد غذایی مورد آزمایش از خود نشان داد. جدایـه‌هـای سـالمونلا، بیشترین مقاومت میکروبی را به آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید (۷۵درصد) داشتند.*

نتیجه‌گیری: *با توجه به سالمونلاهای جدا شده به‌ویژه گروه D از مواد غذایی و گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها، لزوم مراقبت بیشـتر و رعایت سطح بالاتر بهداشت در تهیه، تولید، بسته‌بندی و عرضه مواد غذایی در سطح جامعه به‌نظر می‌رسد.*

کلید واژه‌ها: *سالمونلا ، گاستروانتریت ، مقاومت آنتی بیوتیکی ، مواد غذایی*

* نویسنده مسؤول : دکتر محمد مهدی سلطان دلال ، پست الکترونیکی msoltandallal@gmail.com
نشانی : تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت، گروه پاتوبیولوژی، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی/ بخش میکروب شناسی مواد غذایی
تلفن و نمابر ۸۸۹۹۲۹۷۱-۰۲۱

وصول مقاله: ۱۳۹۷/۱۲/۱۹ ، اصلاح نهایی: ۱۳۹۷/۱۲/۲۷ ، پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۱/۲٦

مقدمه

سالمونلوز، معضل بهداشتی مهم و مسؤول بیشترین مـوارد مـرگ و میر ناشی از بیماری‌های منتقله از غذا در سرتاسر جهـان اسـت. در بین سروارهای مختلف *سالمونلا*، *سالمونلا انتریکا* زیرگونه *انتریکا سـروواراتریتیدیس*، یکـی از مهـم‌تـرین عوامـل گاسـتروانتریت اپیدمیک و آندمیک انسان در سرتاسر جهان است (۱).

بیماری‌هایی که در اثر *سالمونلا* با منشاء غذایی ایجاد مـی‌شـوند؛ گسترش جهانی داشته و یـک مشـکل اساسـی اسـت کـه نـه تنهـا در کشورهای درحال توسعه بلکه حتی در کشـورهای پیشـرفته اهمیـت زیادی دارند. این بیماری‌هـا عمومـاً در نتیجـه تغییـر عـادات غـذایی، روش عرضه کردن مواد غذایی، زمان تولیـد، ذخیـره و توزیـع مـواد غذایی ایجاد می‌گردد و ضررهای فراوانی به سلامت عمومی جامعـه و صنعت مواد غذایی وارد می‌کند (۲). علی‌رغم اقدامات مناسب در زمینه کنترل و پیشگیری عفونت‌های ناشی از ایـن سـروار، در حـال حاضر این سروار به‌عنوان فراوان‌ترین سروار در امریکا، آسـیا، اروپـا و کشورهای امریکـای لاتـین مطـرح اسـت. عفونـت‌هـای مـرتبط بـا سروارهای غیرتیفوئیدی *سالمونلا* از اسـهال خفیـف تـا عفونـت‌هـای سیستمیک شدید متنوع است (۳).

گاستروانتریت *سالمونلایی* یک عفونت خودمحدودشونده اسـت که بدون نیاز بـه درمـان آنتـی‌بیـوتیکی بهبـود مـی‌یابـد؛ امـا بیمـاری مـی‌توانـد بـه بیمـاری‌هـای سیسـتمیک مثـل بـاکتریمی، منتژیـت، اندوکاردیت، استئومیلیت، آرتریت، آبسه، آنوریسم بـا مـرگ و میـر

بسیار بالا به‌ویژه در افراد با نقص سیستم ایمنی شود (۴).

گاستروانتریت شایع‌ترین عفونت *سالمونلایی* در انسان و یکی از مشکلات و معضلات بهداشتی مهم در سرتاسر جهان است که در اثر مصرف مواد غذایی آلوده با منشأ حیوانی یا غیرحیوانی بوجود می‌آید (۵). این باکتری با بیش از ۲۴۰۰ سروتیپ، جزء دومین موارد از بیماری‌های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده در آمریکا است (۶). در سال ۲۰۰۴ سازمان بهداشت جهانی، شیوع سالانه ۲۲ میلیون مورد ابتلا به تب تیفوئید و ۲۱۶ هزار مورد مرگ و میر را در سال گزارش داده است (۷). در مطالعات متعدد، شیوع *سالمونلاها* از ۲/۷۴درصد در آمریکا تا ۸/۳درصد در ایران گزارش شده است. این باکتری به‌طور میانگین سالانه ۲۵ میلیون عفونت و حدود ۲۰۰ هزار مرگ را در سطح جهان ایجاد می‌نماید. با توجه به میزان مرگ و میر بالا، این مسأله به عنوان خطری جدی تلقی می‌گردد (۸).

سالمونلوزیس تنها مشکل کشورهای در حال توسعه نیست؛ بلکه هر ساله حدود ۷۶ میلیون مورد بیماری منتقله از غذا با ۳۲۵۰۰۰ نفر بستری شدن و ۵۰۰۰ مرگ هر ساله در ایالت متحده امریکا گزارش می‌شود. پدیده جهانی شدن و افزایش مسافرت‌ها و توسعه گردشگری و همچنین افزایش مصرف غذا در خارج از منزل در جوامع مختلف بیماری‌های منتقله از غذا را به‌عنوان یک مشکل بهداشتی جهانی مطرح کرده است (۹).

استفاده از آنتی‌سرم در تشخیص *سالمونلاها* ضروری است. تعیین سروگروه به وسیله آگلوتیناسیون بر روی لام با آنتی‌سرم‌های O (سوماتیک) انجام می‌شود. آنتی‌سرم‌های پلی O مورد استفاده در تعیین سروگروه *سالمونلا* شامل آنتی‌سرم‌های گروه A تا D است. زیرا حدود ۹۵ درصد از سویه‌های *سالمونلا* متعلق به این گروه‌ها است. برای مثال *سالمونلا تایفی* و *انتریتیدیس* در سروگروه D، *کلراسوئیس* و *نیوپورت* در سروگروه C و *تایفی موریوم* در سروگروه B قرار دارند. از آنجایی که در آزمایشگاه‌های بهداشتی فقط آنتی‌سرم‌های پلی O، گروه A، B، C و D موجود است؛ پس از تعیین اولیه سروگروه، سویه *سالمونلا* برای مراحل سروتایپینگ که نیاز به آنتی‌سرم‌های (H فلاژله) و (Vi کپسولی) است (۱۰).

معصومی و همکاران در ایران طی یک پژوهش در سال‌های ۲۰۰۶ تا ۲۰۱۱ نشان دادند که ۲۲۵۰ طغیان ناشی از غذا در کشور رخ داده است. آنالیز نتایج حاکی از افزایش روند طغیان در این چند سال بوده است. به طوری که از ۰/۰۷ در ۱۰۰ هزار در سال ۲۰۰۶ به ۱/۳۸ در ۱۰۰ هزار در سال ۲۰۱۱ افزایش پیدا کرده است (۲). روند استفاده نادرست و بی‌رویه از آنتی‌باکتریال‌ها در واحدهای دامپزشکی و غذایی به دور از ارزیابی دقیق از حساسیت باکتریایی منجر به گسترش مقاومت داروهای ضدمیکروبی و متعاقباً مقاومت دارویی در انسان به دلیل اثرات باقی مانده دارویی در فرآورده‌های غذایی می‌گردد (۱۱). به‌طوری که این مسأله باعث پیدایش سویه‌هایی از *سالمونلا* با مقاومت چندگانه شده است. این مطالعه به منظور تعیین سروگروپ و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *سالمونلا* از مواد غذایی انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی تعداد ۴۰۰ نمونه به صورت تصادفی از مواد غذایی شامل گوشت قرمز، مرغ، تخم مرغ و سبزی هر کدام به تعداد ۵۰ نمونه بسته بندی و ۵۰ نمونه فله توزیع شده در ۱۰ واحد مختلف عرضه کننده مناطق پنجگانه شهر تهران طی ۹ ماه در سال ۱۳۹۷ تهیه گردید. مناطق پنجگانه شامل شمال، مرکز، غرب، شرق و جنوب بودند.

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران(IR.TUMS.VCR.REC.1397.484) قرار گرفت.

نمونه‌ها طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۸۱۰ مورد آزمایش قرار گرفتند (۱۲).

مرحله پیش غنی‌سازی (Pre Enrichment): محیط پپتون واتر بافره (PWB) MERCK آلمان مورد استفاده قرار گرفت. تحت شرایط کاملاً استریل، ۲۵ گرم نمونه در ۲۲۵ میلی لیتر پپتون واتر بافره ریخته شد و حدود ۳۰ ثانیه نمونه هموژن گردید. سپس به‌مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری گردید. لازم به ذکر است که در نمونه تخم‌مرغ ابتدا سطح پوسته را کاملاً شسته و سپس با الکل ۷۰درصد ضدعفونی نموده و از محتوی زرده آزمون میکروبی به‌عمل آمد.

مرحله غنی سازی (Enrichment): راپاپورت واسیلیادیس براث (RV BROTH) برای غنی‌سازی نمونه‌های غذایی از لحاظ بررسی *سالمونلا* به‌کار می‌رود. یک میلی‌لیتر از محتویات پپتون واتر بافره ریخته (MERCK, Germany) به محیط راپابورت واسیلیادیس براث اضافه و مجدداً به مدت ۲۴ ساعت در ۴۱/۵ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری انجام شد.

کشت بر روی محیط‌های کشت انتخابی: یک لوپ از محیط گرماگذاری شده راپاپورت واسیلیادیس براث بر روی محیط کشت هکتون انتریک آگار (HE) کشت به صورت خطی، انجام و پلیت به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری گردید (شکل یک).

کشت بر روی محیط های کشت افتراقی: برای تایید وجود *سالمونلا*، از کلنی‌های مشکوک (لاکتوز منفی با یا بدون مرکز سیاه) بر روی محیط‌های افتراقی TSI، SIM، Urea، Lysin Decarboxylase، MRVP، Simmon Citrate (MERCK, Germany) کشت انجام و گرماگذاری به مدت ۲۴ ساعت انجام پذیرفت. سپس روز بعد با استفاده از معرف‌های لازم از

قبیل متیل رد برای محیط MR، آلفا نفتول و پتاس ۴۰درصد برای محیط VP و کواکس برای محیط SIM نتایج برای تایید بیوشیمیایی *سالمونلا* قرائت شد. به منظور تایید از کیت API20E (بیومریوفرانسه) استفاده گردید (شکل ۲).

شکل ۱ : کلنی‌های سالمونلا سروگروپ D در محیط هکتون انتریک آگار

شکل ۲ : کیت API-20E برای تایید سالمونلا

روش تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی: از روش دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) استفاده شد. از کلنی‌های باکتری موردنظر در لوله آزمایش محتوی محیط کشت مولر هینتون براث وارد کرده، سپس این محلول مایع در ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه تا نیم ساعت قرار داده شد تا هنگامی که کدورت آن با محلول استاندارد سولفات باریم در لوله شماره ۰/۵ مک فارلند یکسان گردید. سپس سواپ استریلی را آغشته به محلول میکروبی نموده و برروی محیط مولر هینتون آگار کشت دادیم و در حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت نتایج قرائت شدند. قطر هاله عدم رشد را با خط‌کش اندازه گرفته و با توجه به جدول مخصوص آنتی‌بیوگرام مندرج در فهرست آنتی‌بیوگرام CLSI، نتایج به‌صورت حساس، مقاوم و یا نیمه حساس گزارش گردید.

آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده برحسب نوع نمونه و میکروارگانیسم از لیست آنتی‌بیوتیک‌های رایج و مندرج در CLSI (سال ۲۰۱۵) انتخاب شدند (۱۳). دیسک‌های آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده شامل سیپروفلوکساسین، سفتازیدیم، کوتریموکسازول، نالیدیکسید اسید، تتراسیکلین، آموکسی سیلین، مروپنم، ایمی پنم، کلرآمفنیکل، سفتریاکسون، سفوتاکسیم، استرپتومایسین، سفیپیم و سفوروکسیم از شرکت مست (انگلیس) بودند.

سرولوژی *سالمونلا*: برای تعیین سروتایپ نهایی سوش‌ها از آنتی‌سرم‌های پلی‌والان آنتی‌ژن‌های سوماتیک و فلاژله فاز (I) و فاز (II) براساس دستورالعمل شرکت سازنده (Difco, USA) به روش Slide-agglutination استفاده گردید.

یافته‌ها

از تعداد ۴۰۰ نمونه مورد بررسی، ۸ جدایه (۲درصد) مشکوک به *سالمونلا* جدا گردید. براساس آزمون‌های بیوشیمیایی، کیت API-20E هر ۸ جدایه *سالمونلا* تایید شدند. نتایج تست سرولوژی به روش اسلاید آگلوتیناسیون نشان داد که ۸ جدایه *سالمونلا* به‌ترتیب متعلق به سروگروپ D (۴ مورد)، سروگروپ B (۱ مورد)، سروگروپ C (۱ مورد)، سروگروپ A (۱ مورد) بوده است. همچنین یک جدایه *سالمونلا* با عدم سروگروپینگ همراه بود. بیشترین تعداد *سالمونلا* از نمونه گوشت مرغ جدا گردید که سه سروگروپ A ، B و D را شامل شده بود. *سالمونلای* Non-type از نمونه گوشت قرمز فله جدا گردید. *سالمونلای* سروگروپ C از نمونه سبزی بسته‌بندی جدا شد.

۶ مورد (۷۵ درصد) از *سالمونلاهای* جدا شده از نمونه‌های فله و ۲ مورد (۲۵ درصد) از نمونه‌های بسته‌بندی شده به‌دست آمدند. *سالمونلاهای* جدا شده از تخم مرغ متعلق به سروگروپ D بودند (جدول یک).

جدول ۱: توزیع فراوانی سروتایپ‌های سالمونلا بر حسب سروتایپ و نوع ماده غذایی

نمونه غذایی	فله	بسته بندی
گوشت مرغ	***A, B, D***	***D***
تخم مرغ	***D, D***	–
گوشت قرمز	***Non-Type***	–
سبزی	–	***C***
جمع کل	٦	۲

موارد آلودگی نمونه‌های غذایی با *سالمونلا* به ترتیب ۳ مورد (۳۷/۵ درصد) از منطقه شمال شهر تهران، ۲ مورد (۲۵ درصد) از منطقه مرکز تهران و بقیه مناطق هر کدام با یک مورد (۱۲/۵ درصد) تعیین شدند.

در تست حساسیت جدایه‌ها، بیشترین مقاومت *سالمونلا* به دیسک نالیدیکسیک اسید (۶ مورد، ۷۵ درصد)، بیشترین حالت نیمه‌حساس به دیسک سیپروفلوکساسین و سفوروکسیم (هر کدام ۴ مورد، ۵۰ درصد) و حساسیت کامل به آنتی‌بیوتیک‌های کلرآمفنیکل، ایمی‌پنم، مروپنم، سفتریاکسون، سفیپیم، استرپتومایسین، سفوتاکسیم و سفتازیدیم (۸ مورد، ۱۰۰ درصد) دیده شد (جدول۲).

سالمونلاهای سروگروپ D بیشترین مقاومت را به نالیدیکسیک اسید (۱۰۰درصد)، بیشترین حالت بینابینی را به سیپروفلوکساسین و

جدول ۲ : الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سالمونلاهای جدا شده از نمونه‌های غذایی

نام آنتی بیوتیک	حساس تعداد (درصد)	متوسط تعداد (درصد)	مقاوم تعداد (درصد)
سیپروفلوکساسین	٤ (٥٠)	٤ (٥٠)	٠ (٠)
سفتازیدیم	٨ (١٠٠)	٠ (٠)	٠ (٠)
سفوتاکسیم	٨ (١٠٠)	٠ (٠)	٠ (٠)
استرپتومایسین	٨ (١٠٠)	٠ (٠)	٠ (٠)
سفوروکسیم	٤ (٥٠)	٤ (٥٠)	٠ (٠)
سفیپیم	٨ (١٠٠)	٠ (٠)	٠ (٠)
سفتریاکسون	٨ (١٠٠)	٠ (٠)	٠ (٠)
نالیدیکسیک اسید	٠ (٠)	٢ (٢٥)	٦ (٧٥)
تتراسیکلین	٨ (١٠٠)	٠ (٠)	٠ (٠)
کوتریموکسازول	٨ (١٠٠)	٠ (٠)	٠ (٠)
آموکسی سیلین	٨ (١٠٠)	٠ (٠)	٠ (٠)
مروپنم	٨ (١٠٠)	٠ (٠)	٠ (٠)
ایمی پنم	٨ (١٠٠)	٠ (٠)	٠ (٠)
کلرآمفنیکل	٨ (١٠٠)	٠ (٠)	٠ (٠)

سفوروکسیم هر کدام ۲ مورد (۵۰ درصد) و به بقیه آنتی‌بیوتیک‌ها ۱۰۰ درصد حساسیت نشان دادند. *سالمونلای* سروگروپ A به سفوروکسیم و نالیدیکسیک اسید حالت بینابینی و به بقیه دیسک‌های به‌کار گرفته شده حساسیت داشتند.

سالمونلای سروگروپ B به دیسک‌های نالیدیکسیک اسید، تتراسیکلین، کوتریموکسازول و آموکسی سیلین مقاومت و به مابقی دیسک‌های آنتی‌بیوتیک حساسیت کامل داشتند. *سالمونلای* سروگروپ C به نالیدیکسیک اسید و تتراسیکلین مقاوم، به سیپروفلوکساسین نیمه‌حساس و به مابقی دیسک‌ها حساس بودند. *سالمونلای* non-type به همگی آنتی‌بیوتیک‌ها حساسیت ۱۰۰درصد نشان دادند.

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، تعداد ۸ مورد *سالمونلا* (۲ درصد) از کل ۴۰۰ نمونه مورد بررسی جدا گردید. جدایه‌ها شامل ۴ سروگروپ D، یک سروگروپ B، یک سروگروپ C، یک سروگروپ A و یک نمونه با عدم سروگروپینگ با چهار آنتی‌سرم به‌کار برده شده؛ بودند. بیشترین تعداد *سالمونلا* از نمونه گوشت مرغ جدا گردید که سه سروگروپ A ، B و D را شامل شد. *سالمونلای* Non-type از نمونه گوشت قرمز فله جدا گردید. *سالمونلای* سروگروپ C از نمونه سبزی بسته‌بندی و *سالمونلاهای* جدا شده از تخم مرغ متعلق به سروگروپ D بودند. برخلاف انتظار مناطق شمالی و مرکزی تهران بیشتر از سایر مناطق آلوده بودند. همچنین نمونه‌های فله نسبت به بسته‌بندی بیشتر آلوده بودند که این موضوع با فرضیه تحقیق همخوانی دارد. زیرا یکی از دلایل بسته‌بندی مواد غذایی برای پرهیز از آلودگی ثانویه است. متاسفانه مطالعه مشابهی در این خصوص وجود نداشت تا نتایج بررسی شوند.

در چند سال اخیر ایجاد مسمومیت‌های غذایی توسط باکتری *سالمونلا* در کشورهای مختلف روبه افزایش است و در بیشتر موارد مصرف گوشت ماکیان و تخم‌مرغ از منابع مهم انتشار و همه‌گیری‌های سالمونلوز در انسان است. مصرف داروهای قابل استفاده در درمان انسان برای درمان بیماری سالمونلوز طیور یکی از علل افزایش مسمومیت غذایی ناشی از سالمونلوز ذکر شده است. زیرا زمینه تکثیر *سالمونلاهای* مقاوم به دارو و انتقال آنها به انسان فراهم می‌گردد. علت شیوع سالمونلوز در انسان را استفاده از تخم‌مرغ آلوده به *سالمونلا* گزارش نموده‌اند (۱۴و۱۵).

بررسی نتایج مختلف نشان‌دهنده تنوع جداسازی *سالمونلا* در نمونه‌های غذایی در داخل و خارج از کشور از صفر تا ۲۸ درصد است. این نوسانات بر حسب نوع ماده غذایی، منطقه جغرافیایی زمان نمونه‌گیری و نوع روش به‌کار رفته است. در مطالعه نصرت و همکاران از کل ۱۷۰ نمونه، آلودگی به باکتری *سالمونلا* در ۱/۷ درصد نمونه‌های گوشت گاو مشاهده شد. فراوانی *سالمونلا تیفی موریوم* ۱/۱ درصد و *سالمونلا اینتریتیدیس* ۰/۵۹ درصد تعیین شد. در حالی که از نمونه‌های مرغ و تخم‌مرغ هیچ *سالمونلایی* جدا نشد (۱۶). در مطالعه اسدپور و همکاران در سال ۱۳۹۱ با عنوان جداسازی، تعیین سروتایپ و مقاومت آنتی‌بیوتیکی *سالمونلاهای* جداشده از مرغ کشتار شده استان گیلان بر روی ۲۰۰ نمونه انجام گرفت. یک درصد *سالمونلای* جداسازی شد (۱۷) که با نتیجه مطالعه ما به میزان ۳ درصد آلودگی به *سالمونلا* در نمونه‌های مرغ، تا حدودی نزدیک است.

در مطالعه قبلی ما در سال ۱۳۸۶ شیوع سروتایپ‌های *سالمونلا* در گوشت قرمز و مرغ بررسی شد. میزان آلودگی در مرغ ۴۷/۸ درصد و در گوشت ۲۸/۸ درصد تعیین شد. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به نالیدیکسیک اسید گزارش شد (۱۸) که مشابه مطالعه حاضر است که درصد *سالمونلای* جدا شده از گوشت مرغ نسبت به گوشت

قرمز بیشتر بود و بالاترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی به نالیدیکسیک اسید نشان داده شد. علت آلودگی کمتر در گوشت قرمز می‌تواند به علت بافت مخصوص آن باشد که حالت اسیدی پیدا کرده و باعث کاهش pH می‌شود. زیرا طبق بررسی‌های انجام شده، باکتری‌ها بر روی گوشت‌های با pH پایین به کندی رشد می‌کنند (۱۸).

مطالعه Ha و Pham در سال ۲۰۰۶ بر روی نمونه سبزی، گوشت قرمز و مرغ در ویتنام انجام شد و میزان آلودگی ۸/۳درصد گزارش گردید که نشان می‌دهد میزان آلودگی در شرق آسیا در مقایسه با کشور ما از سطح بالاتری برخوردار است (۱۹). از نظر نوع ماده مصرفی Kozak و همکاران نشان دادند که کانادا با داشتن بالاترین میزان مصرف سبزیجات و میوه تازه، بالاترین آمار مربوط به شایع‌ترین عوامل ایجاد کننده طغیان‌های ناشی از بیماری‌های منتقله از غذا را دارد که در این میان *سالمونلا* با ۵۰ درصد بیشترین میزان ابتلا به این بیماری را به خود اختصاص داده است (۲۰). در صورتی که در این مطالعه میزان *سالمونلای* جدا شده از مواد غذایی ۲درصد تعیین شد و سبزیجات آمار کمتری نسبت به گوشت مرغ و گوشت قرمز از خود نشان دادند. مطالعات نشان داد که که رشد باکتری‌ها به حالت بیوفیلم روی سطوح، انتقال آنها را آسان‌تر و از بین بردنشان را مشکل می‌کند. زیرا سلول‌های بیوفیلم در مقایسه با سلول‌های آزاد، در مقابل بیوسایدها و ضدعفونی کننده‌ها مقاومت بیشتری نشان می‌دهند (۲۱).

در مطالعه Capuano و همکاران ۱۱۴ سویه *سالمونلا انتریکا* جدا شده از منابع مختلف در فاصله زمانی بین سال‌های ۲۰۱۰ تا ۲۰۱۲ از لحاظ عوامل ویرولانس و ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی ارزیابی شدند. از ۱۱۴ سویه حداقل ۶۴ سویه به یک آنتی‌بیوتیک و یا بیشتر مقاوم بودند. ۵۴ سویه که MDR بودند؛ به ۴ آنتی‌بیوتیک ویا بیشتر مقاوم بودند. سویه‌های *سالمونلا انتریتیدیس* بیشترین حساسیت را به آنتی‌بیوتیک‌ها داشتند که در این مطالعه *سالمونلاهای* سروگروپ D، به دو گروه آنتی‌بیوتیک مقاومت داشتند (۲۲). در مطالعه حاضر ۴ سویه *سالمونلا* سروگروپ B، MDR بودند و به ۴ آنتی‌بیوتیک و یک سویه *سالمونلا* سروگروپ C، MDR و به ۲ آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. برخلاف مطالعه Capuano و همکاران (۲۲) هیچ سویه *سالمونلا* از سروگروپ D، MDR نبودند.

در مطالعه حاضر، درصد حالت نیمه‌حساس نسبت به فلوروکوئینولون‌ها از جمله سیپروفلوکساسین ۵۰ درصد بود و به مروپنم حساسیت کامل نشان داده شد. در مطالعه Hur و همکاران بر روی نمونه‌های غذایی بیشترین مقاومت و حالت نیمه‌حساس به خانواده کوئینولون‌ها نشان داده شد و به مروپنم درصد حساسیت نسبتاً خوبی داشتند (۲۳) که مشابه مطالعه ما بوده و می‌تواند حاکی از تغییر الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *سالمونلاها* در گذر زمان باشد.

فلوروکوئینولون‌ها آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیفی هستند که برای درمان عفونت‌های *سالمونلایی* توسط CLSIتوصیه شده‌اند. با توجه به اهمیت آنتی‌بیوتیک فوق به‌عنوان درمان انتخابی سالمونلوز، به خصوص سالمونلوز سیستمیک در افراد با ضعف سیستم ایمنی و اشخاص مسن، مشاهده مقاومت و نیز کاهش حساسیت به این داروی مهم از جهت درمان سالمونلوز بسیار هشداردهنده است و می‌تواند ناشی از مصرف بی‌رویه و روزافزون این دارو و یا منتج از تجویز بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند انروفلوکساسین در درمان بیماری‌های باکتریایی طیور باشد که ایجاد مقاومت متقاطع به سایر فلوروکوئینولون‌ها از جمله سیپروفلوکساسین می‌نماید. مقاومت به این گروه آنتی‌بیوتیک‌ها معمولاً به‌وسیله موتاسیون در ژن‌های کروموزومی رمز کننده آنزیم DNA اتفاق می‌افتد و یا حاصل جهش در ژن‌های تنظیم کننده پروتئین‌های غشا خارجی و پمپ‌ها افلاکس است (۲۴).

نتیجه‌گیری

جداشدن ۸ جدایه (۲ درصد) *سالمونلا* از نمونه‌های غذایی و حضور هر ۴ سروگروپ A-D به‌ویژه سروگروپ D به میزان ۵۰درصد، اهمیت بررسی‌های بیشتری در خصوص *سالمونلا* در مواد غذایی را ایجاب می‌کند. شناسایی مقاومت دارویی و جلوگیری از انتشار آن، قطعاً از مسایل عمده در درمان عفونت‌هاو بهداشت جامعه است که لزوم مراقبت بیشتر و رعایت سطح بالاتر بهداشت در تهیه، تولید، بسته‌بندی و عرضه مواد غذایی در سطح جامعه را می‌طلبد.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه بخشی از گرنت تحقیقاتی (شماره ۳۲۴۱۴) مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران بود. بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که حامی مالی این طرح تحقیقاتی بودند؛ سپاسگزاری می‌نماییم.

References

1. Lake IR. Food-borne disease and climate change in the United Kingdom. Environ Health. 2017 Dec; 16(Suppl 1): 117. doi: 10.1186/s12940-017-0327-0.

2. Masoumi Asl H, Gouya MM,Soltan Dallal MM, Aghili N. Surveillance for foodborne disease outbreaks in Iran, 2006-2011. Med J Islam Repub Iran. 2015 Nov; 29: 285.

3. Santos AC, Roberts JA, Cook AJ, Simons R, Sheehan R, Lane C et al. Salmonella Typhimurium and S. enteritidis in England: costs to patients, their families, and primary and community health services of the NHS. Epidemiol Infect. 2011 May; 139(5): 742-53. doi: 10.1017/S0950268810001615

4. Hale CR, Scallan E, Cronquist AB, Dunn J, Smith K, Robinson T, et al . Estimates of enteric illness attributable to contact with animals and their environments in the United States. Clin Infect Dis. 2012 Jun; 54 Suppl 5: S472-9. doi: 10.1093/cid/cis051

5. Foley SL, Lynne AM. Food animal-associated Salmonella

challenges: pathogenicity and antimicrobia resistance. J Anim Sci. 2008 Apr; 86(14 Suppl): E173-87.

6. Solhan S, Chan PP, Kurupatham L, Foong BH, Lim Ooi P, 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. doi: 10.5365/WPSAR.2010.1

7. GBD 2017 Typhoid and Paratyphoid Collaborators. The global burden of typhoid and paratyphoid fevers: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet Infect Dis. 2019 Apr; 19(4): 369-81. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30685-6

8. Jamshidi A, Bassami MR, Afshari-Nic S. Identification of Salmonella spp. and Salmonella typhimurium by a multiplex PCR-based assay from poultry carcasses in Mashhad- Iran. Iranian Journal of Veterinary Medicine. 2009; 3(1): 43-48. doi: 10.22059/IJVM.2009.19608

9. Koluman A, Dikici A. Antimicrobial resistance of emerging foodborne pathogens: status quo and global trends. Crit Rev Microbiol. 2013 Feb; 39(1): 57-69. doi: 10.3109/1040841X.2012.691458

10. Gelaw AK, Nthaba P, Matle I. Detection of Salmonella from animal sources in South Africa between 2007 and 2014. J S Afr Vet Assoc. 2018 Nov; 89: e1-e10. doi: 10.4102/jsava.v89i0.1643

11. Sallam KI, Mohammed MA, Hassan MA, Tamura T. Prevalence molecular identification and antimicrobial resistance profile of Salmonella serovars isolated from retail beef products in Mansoura, Egypt. Food Control. 2014; 38: 209-14. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.10.027

12. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [Microbiology of food and animal feed - Comprehensive method for searching, detecting Salmonella]. ISIRI. 2002; No 1810. [Persian]

13. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 25th informational supplement. M100-S25. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA: CLSI. Vol 35. No 3. 2015 Jan.

14. Harakeh S, Yassine H, Gharios M, Barbour E, Hajjar S, El-Fadel M et al. Isolation, molecular characterization and antimicrobial resistance patterns of Salmonella and Escherichia coli isolates from meat-based fast food in Lebanon. Sci Total Environ. 2005 Apr; 341(1-3): 33-44. doi: 10.1016/j.scitotenv.2004.09.025

15. Okorie-Kanu OJ, Ezenduka EV, Okorie-Kanu CO, Ugwu LC, Nnamani UJ. Occurrence and antimicrobial resistance of pathogenic Escherichia coli and Salmonella spp. in retail raw table eggs sold for human consumption in Enugu state, Nigeria. Vet World. 2016 Nov; 9(11): 1312-19. doi: 10.14202/vetworld.2016.1312-1319

16. Nosrat S, Sabokbar A, Dezfoolian M, Tabarraie B, Fallah F. [Prevalence of Salmonella enteritidis, typhi and typhimurium from food products in Mofid hospital]. Research in Medicine. 2012; 36(1): 43-48. [Article in Persian]

17. Asadpour Y, Mohammadi M, Pourbakhsh SA, Rasa M. [Isolation, serotyping and antibiotic resistance of Salmonella isolated from chicken carcasses in Guilan province]. Iranian Veterinary Journal. 2014; 9(4): 5-13. [Article in Persian]

18. Soltan Dallal MM, Taremi M, Modarressi Sh, Zolfagharian K, Zolfagharian K, Zali MR. [Determining the prevalence of Salmonella serotypes obtained from meat & chicken samples and their antibiotic resistance pattern in Tehran]. Pajoohandeh. 2007; 12(3): 245-52. [Article in Persian]

19. Ha TA, Pham TY. Study of Salmonella, Campylobacter, and Escherichia coli contamination in raw food available in factories, schools, and hospital canteen s in Hanoi, Vietnam. Ann N Y Acad Sci. 2006 Oct; 1081: 262-65. doi: 10.1196/annals.1373.033

20. Kozak GK, MacDonald D, Landry L, Farber JM. Foodborne outbreaks in Canada linked to produce: 2001 through 2009. J Food Prot. 2013 Jan; 76(1): 173-83. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-126

21. Sirdani A, Soltan Dallal MM. [Investigating the ability of producing biofilm by isolated Salmonella from food]. Alborz Univer Med J. 2018; 7(4): 309-14. [Article in Persian]

22. Capuano F, Mancusi A, Capparelli R, Esposito S, Proroga YT. Characterization of drug resistance and virulotypes of Salmonella strains isolated from food and humans. Foodborne Pathog Dis. 2013 Nov; 10(11): 963-68. doi: 10.1089/fpd.2013.1511

23. Hur J, Jawale C, Lee JH. Antimicrobial resistance of Salmonella isolated from food animal s: A review. Food Research International. 2012 Mar; 45(2): 819-30.

24. European Food Safety Authority. The Community Summary Report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and food-borne outbreaks in the European Union in 2006. EFSA Journal; 2007; 5(12): 1-352. doi: 10.2903/j.efsa.2007.130r