ژنوتایپینگ سویه های سالمونلا انتریتیدیس جدا شده از نمونه های انسانی و مواد غذایی بوسیله ERIC-PCR و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آنها

فاطمه فردصانعی[۱] ، مهناز سیفی [۲]، سعید اشراقی[۳]، تقی زهرایی صالحی[۴] ، محمدرضا پورمند [۳]، رضا رنجبر[۵] ، روناک بختیاری[۶]،نادیا مردانی[۶]، محمد مهدی سلطان دلال[۷*]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲. PhD باکتری شناسی، استادیارانستیتو پاستور ایران
۳. PhD باکتری شناسی، دانشیار دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴. میکروب شناس، دانشیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
۵.PhD باکتری شناسی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...
۶. کارشناس ارشد میکروب شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
۷.PhD میکروب شناسی، استاد دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

* **نشانی برای مکاتبه**: دانشگاه علوم پزشکی تهران ، دانشکده بهداشت ، گروه پاتوبیولوژی، بخش میکروب شناسی، soltanirad34@yahoo.com
دریافت مقاله: شهریور هشتاد و نه پذیرش برای چاپ: مهر هشتاد و نه

چکیده

سابقه و هدف: *سالمونلاانتریکا زیر گونه انتریکا سرووواریته انتریتیدیس یکی از مهم ترین عوامل گاستروانتریت در انسان می باشد. هدف از این مطالعه بررسی کلونالیتی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های سالمونلاانتریتیدیس از نمونه های انسانی و مواد غذایی با منشا حیوانی میباشد.*

مواد روش ها: *در این مطالعه ۳۰ ایزوله سالمونلاانتریتیدیس از منابع مختلف (انسانی و غذایی) درتهران جمع آوری شد. جهت جداسازی و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی این سویه های از روش های استاندارد استفاده گردید. بررسی تنوع ژنتیکی سویه ها با روش ERIC-PCR و رسم دندروگرام با استفاده از نرم افزار کامپیوتری Gelcompar II انجام شد.*

یافته ها: *درصد شیوع سالمونلا انتریتیدیس درنمونه های مورد مطالعه ۵۴٪ بود که نشان دهندهٔ شیوع بالای آن می باشد . در صد سویه های چند مقاومتی بین ایزوله های بالینی وغذایی به ترتیب ۷۳/۳٪ و۲۰٪ بود. پنج ژنوتایپ مختلف مشاهده گردیدکه ۴ (CT) Common type شامل ۲۹ ایزوله و یک Single type (ST) مشخص شدو اکثر ایزوله های بالینی و مواد غذایی (۷۶/۷٪) به کلونهای غالب CT1 و CT2 تعلق داشتند.*

نتیجه گیری : *چرخش باکتریهای مقاوم در بین جمعیت های انسانی وحیوانی تهدیدی جدی برای سلامت انسانها است. نتایج این مطالعه نشان داد که شیوع کلونهای محدود و چند مقاومتی از سالمونلاانتریتیدیس در نمونه های انسانی و مواد غذایی در تهران مطرح می باشد که نیاز به رعایت اصول بهداشتی درتهیه و مصرف مواد غذایی را مطرح میکند. همچنین وجود کلونهایی با شیوع کمترهشداری جدی برای پیدایش سویه های جدید وچرخش آتی آنها در محیط می باشد*

واژگان کلیدی: ***سالمونلاانتریتیدیس، ژنوتایپینگ، مقاومت آنتی بیوتیکی***

مقدمه

گاستروانتریت شایع ترین عفونت سالمونلایی در انسان و یکی از مشکلات و معضلات بهداشتی مهم در سرتاسر جهان می باشد که در اثر مصرف مواد غذایی آلوده با منشاء حیوانی یا غیر حیوانی بوجود می آید(۲و۱).

سروارهای غیر تیفوئیدی سالمونلا بعنوان پاتوژن های مهم برای انسان ها و حیوانات به طور قابل توجهی در حال افزایش می باشند(۳)و همه ساله افراد زیادی را مبتلا می‌سازند. این سروارها باعث مرگ و میر قابل توجهی در دام ها شده، بنابراین خطر مهمی برای سلامت حیوانات و در نتیجه سلامت انسان ها نیز محسوب می شوند(۴).

برطبق آمار سازمان بهداشت جهانی از سال ۱۹۹۰ ، سالمونلاانتریکا زیر گونه انتریکا سروار انتریتیدیس بعنوان شایع ترین عامل گاستروانتریت سالمونلایی در سرتاسر جهان مطرح و جایگزین سالمونلا تیفی موریوم ،که قبلا به عنوان شایع ترین عامل گاسترو انتریت سالمونلایی مطرح بود، گردید(۵).

روند استفاده نادرست و بی رویه از آنتی باکتریال ها در واحدهای دامپزشکی به دور از ارزیابی دقیق از حساسیت باکتریایی منجر به گسترش مقاومت به داروهای ضد میکروبی و متعاقباً مقاومت دارویی در انسان به دلیل اثرات باقی مانده دارویی در فرآورده های حیوانی می گردد، بطوریکه این مسئله باعث پیدایش سویه هایی از سالمونلاانتریکا با مقاومت چندگانه شده است و آنرا به یک مشکل بزرگ اپیدمیولوژیک در سرتاسر جهان تبدیل نموده است(۷و۶).

برای کنترل و نظارت اپیدمیولوژیک مؤثر سروتایپ های سالمونلا نیاز به ساب تایپینگ دقیق سویه ها به منظور شناسایی منابع بالقوه عفونت می باشد. بسیاری از روش های ساب تایپینگ همانند خصوصیات بیوشیمیایی و سرولوژی زمان بر، خسته کننده و پرهزینه بوده و از لحاظ اپیدمیولوژیک دارای ارزش محدودی می باشند و قدرت افتراق دهی بین سویه هایی که ارتباط بسیار نزدیکی با هم دارند را نداشته، بنابراین مطالعات ژنوتیپی با قدرت تمایز بالا از اهمیت بیشتری برای تفریق سویه ای برخوردار است(۸). ERIC-PCR با استفاده از اولیگونوکلئوتیدهای تکرار شونده به عنوان آغازگر سنتز DNAیکی از روش های مفید در تایپینگ انواع گونه های باکتریال به شمار میرود(۹).

در ایران در رابطه با خصوصیات مولکولی سویه های سالمونلا انتریتیدیس از منابع مختلف انسانی و حیوانی تاکنون تحقیقات جامعی صورت نگرفته است ، به همین دلیل این مطالعه به منظور ژنوتایپینگ سویه های سالمونلاانتریتیدیس از منابع مختلف که می تواند در مطالعات اپیدمیولوژیک نقش مهمی داشته باشد، طراحی و برنامه ریزی شده است تا از نتایج حاصله برای مطالعات اپیدمیولوژیک و بررسی های تکمیلی ژنوتیپی در آینده و اتخاذ سیاست های پیشگیری و کنترلی مناسب استفاده گردد.

روش کار

در این مطالعه که بصورت توصیفی - مقطعی انجام گرفته ، از ابتدای فروردین تا پایان شهریور ۱۳۸۷، تعداد ۱۹۵۰ نمونه مدفوع از بیماران اسهالی مراجعه کننده به بیمارستان مرکز طبی کودکان تهران مورد بررسی قرار گرفت. همچنین یک ایزولهٔ سالمونلاانتریتیدیس انسانی از منبع خون در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. همچنین ۱۵ ایزوله سالمونلاانتریتیدیس از منابع مختلف غذایی(گوشت مرغ،گوسفند،گاو و اردک) از گروه میکروب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه وهم زمان مورد بررسی قرار گرفتند. طبق روش استاندارد، نمونه های مدفوعی از تمام بیماران با بیماری گاستروانتریت و مشکوک به سالمونلوز مراجعه کننده به بیمارستان ، به محیط انتقال کری بلر منتقل شده و در آزمایشگاه گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران برروی محیط هایXLD و هکتون انتریک آگار کشت گردید.

بعد از انکوبه گذاری به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد، کلنی های مشکوک به سالمونلا جداسازی شده و از نظر سایر واکنش ها روی محیط TSI ، محیط لیزین ، سیمون سیترات ، MRVP ,SIM و اوره کشت گردیدند(۱۰).

برای تعیین سروتایپ نهایی سوش‌ها از آنتی‌سرم‌های پلی‌والان و منووالان آنتی‌ژن‌های سوماتیک و فلاژله فاز (I) و فاز (II) براساس دستورالعمل شرکت سازنده (Difco, USA) به روش Slide-agglutination استفاده شد(۱۱).

برای تعیین حساسیت سویه های شناسایی شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان از روش استاندارد دیسک دیفیوژن استفاده شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مورد استفاده در این پژوهش مربوط به شرکت MAST بوده و شامل: آموکسی‌سیلین، جنتامایسین، کلرامفنیکل، سولفامتوکسازول-تری‌متوپریم ، نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، سفوتاکسیم، سفتازیدیم، سنترياکسون، سفالکسین، استرپتومایسین، تتراسیکلین، ایمی‌پنم، مروپنم، نیتروفورانتوئین، کولستین سولفات بودند.

برای انجام آنتی‌بیوگرام از سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند و محیط مولرهینتون آگار استفاده شد. بعد از انکوباسیون به مدت ۱۸ ساعت قطر هاله عدم رشد بوسیله خط کش اندازه گرفته شد با استفاده از استاندارد جهانی CLSI به‌صورت حساس (S)، نیمه حساس (I) و مقاوم (R) تفسیر و ثبت گردید(۱۲).

بعد از جداسازی و تعیین هویت ایزوله های باکتریایی با استفاده از روش های استاندارد باکتریولوژیک و سرولوژیک، باکتری ها در محیط مولر یا LB آگار کشت گردیدند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در $37^{o}C$ ، یک لوپ کامل از کلنی باکتری را برداشته و در $300\ \mu L$ سرم فیزیولوژی استریل حل شد. استخراج DNA باکتری با استفاده از کیت (Bioneer InC,Korea) Bioneer طبق دستور العمل شرکت سازنده انجام گردید.

پرایمرهای الیگو نوکلئوتیدی مورد استفاده در این مطالعه بر اساس مقاله(۱۳) به شر کت ژن فن آوران سفارش داده شدند. اطلاعات مربوط به پرایمرها در جدول ۱-۱ آورده شده است.

جدول ۱ . اطلاعات مربوط به پرایمرها

Primer	Length	Oligonucleotide sequence (5'- 3')
ERIC-F	22	5'-ATG TAA GCT CCT GGG GAT TCAC-3'
ERIC-R	22	5'-AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGCG-3'

PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با استفاده Hotstar Taqplus Master Mix Kit ساخت شرکت کیاژن صورت گرفت. این کیت شامل $2.5\ \mu L$ Coralload loxt ،ERIC-F 20pmol ، ERIC-R 20pmol ، template DNA $3\ \mu L$ ، RNase- Free Water $12.5\ \mu L$ ، $12.5\ \mu L$ Hotstar Taq Plus Master Mixمی باشد. شرایط دمایی و زمانی PCR در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲. شرایط دمایی واکنش PCR با استفاده از پرایمر ERIC

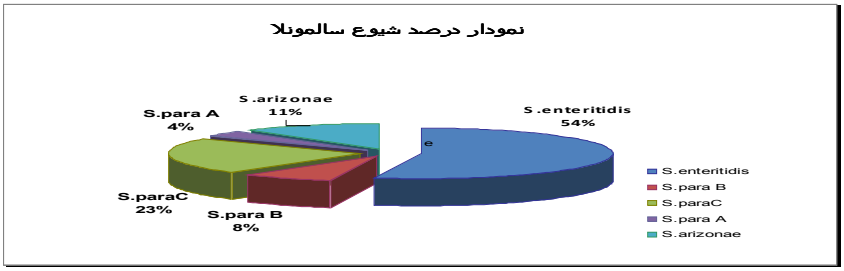
		Temperature	Time (min)
Initial Denaturation		94	5
Loop :4	Denaturation	94	4
	Annealing	53	4
	Extension	72	4
Loop= 29	Denaturation	94	30"
	Annealing	53	1
	Extension	72	2
Final Extension		72	7

محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵٪ با ولتاژ ۷۰ بـه مـدت ۲ سـاعت الکتروفورز شدند و در نهایت پس از عکسبرداری از ژل بـا اسـتفاده از نـرم افـــــــزار version4.0(Applied Maths,Sint-Matens-Gel Compaire Π latem.Belgium) مورد آنالیز قرار گرفتند.

یافته ها

درطی این مطالعه ، در مجموع بدنبال کشت اولیه ۱۹۵۰ نمونـه مـدفوع از بیماران اسهالی مراجعه کننده به بیمارستان مرکز طبی کودکان موفـق بـه جداسازی ۲۶ سویه سالمونلا با ۵ نوع سروتیپ مختلف شـدیم(نمـودار ۱). شایع ترین سروار سالمونلا انتریتید یس با فراوانی ۵۴٪ بود.

نمودار ۱. توزیع فراوانی سروارهای مختلف سالمونلا از کودکان مراجعه کننده به بیمارستان مرکز طبی کودکان



در روش آنتی بیوگرام از ۱۶ آنتی بیوتیک استفاده شد و در نهایت بین ۳۰ ایزوله بالینی و غذایی ۱۴ الگوی مقاومت آنتـی بیـوتیکی مـشخص گردیـد (جدول ۱-۱). شایع ترین آنتی بیوتایپ مشاهده شـده ، (۳۰٪) AB1 مـی باشد. این آنتی بیوتایپ که دارای فنوتایپ مقاومت به نیترو فورانتوئین بود ، در هر دوگروه نمونه های بالینی و مواد غـذایی مـشاهده گردیـد. دومـین آنتی بیوتایپ مشترک شایع ، (۲۴٪) AB2 کـه دارای فنوتایـپ مقاومـت به نیترو فورانتوئین و نالیدیکسیک اسید بود(جدول ۳).

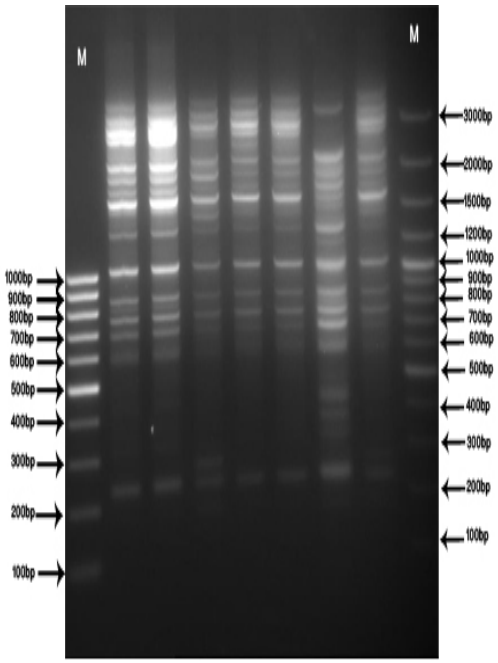
جدول ۳. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی (آنتی بیوتایپ) درسویه های سالمونلاانتریتیدیس ایزوله شده از نمونه های بالینی و غذایی

DISK AB	CTX	A	T	IN	TS	S	C	CRO	GM	CO	CAZ	CIP	CFX	NA	MEM	IMI	N (%)
AB_1	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	30%
AB_2	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	24%
AB_3	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	6.7%
AB_4	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	6.7%
AB_5	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	3.3%
AB_6	S	S	R	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	3.3%
AB_7	S	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	3.3%
AB_8	S	S	I	R	S	S	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	3.3%
AB_9	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	3.3%
AB_{10}	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	3.3%
AB_{11}	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	3.3%
AB_{12}	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	3.3%
AB_{13}	S	S	S	R	S	I	S	S	S	S	I	S	S	R	S	S	3.3%
AB_{14}	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	3.3%

پرایمرERIC که دارای قدرت افتراق دهی بالایی در بین ایزوله های سالمونلاانتریتیدیس است، مورد استفاده قرار گرفت و نتایج PCR با استفاده از نرم افزار Gel compare II مورد آنالیز قرار گرفتند. پس از بدست آمدن دندروگرام تشابه ژنتیکی بین سویه های انسانی و مواد غذایی ، در بین ۳۰ ایزوله مواد غذایی و نمونه های انسانی چهار تایپ مختلف مشاهده گردید. این چهار گروه اصلی در قالب ۴ Common (CT) type که ۲۹ ایزوله در آنها قرار گرفته و یک Single type (ST) که تنها یک ایزولهٔ مواد غذایی در آن قرار گرفت ، نیزمشخص شد (دندروگرام ۱) . براساس تعریف CT به گروهی از سویه ها با درصد بالای ۹۵ درصد شباهت اطلاق میشود و ST به سویه هایی اطلاق میشود که الگوی متفاوت داشته و از نظرژنتیکی منحصر بفرد هستند.

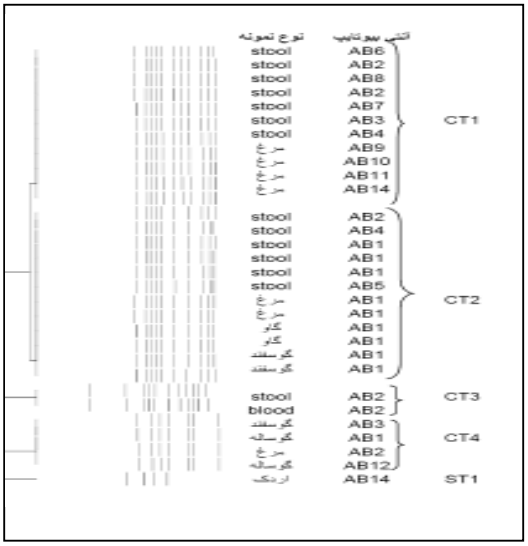
در بین CT ها ، شایع ترین آنها CT2 با فراوانی ۴۰٪ بود که ۶ ایزولهٔ بالینی و ۶ ایزوله غذایی در این گروه قرار گرفتند. بعد از آن CT1 شایع ترین تیپ با فراوانی ۳۶/۷٪ بود که این تیپ نیز در بین ایزوله های غذایی وانسانی مشترک بوده و۶ ایزوله غذایی و ۵ ایزوله انسانی در آن قرار گرفتند. در CT4 ، ۴ ایزوله مواد غذایی از منابع مختلف و در CT3 ، ۲ ایزوله انسانی قرار گرفتند.

تصویر۱.نتایج حاصل از ERIC-PCR ایزوله های سالمونلا انتریتیدیس در نمونه های انسانی وغذایی با استفاده از پرایمرERIC



Lane1: M1 (SM041) 100bp DNA Ladder
Lane9:M2 (SM0321)100bp DNA Ladder Plus
Lane2,3,4,5,6,7,8:clinical and food samples

دندروگرام ۱. دندروگرام حاصل از روش ERIC-PCR در بین سویه های سالمونلا انتریتیدیس



بحث

گونه های مختلف سالمونلا بعنوان پاتوژنهای منتقله از غذا اصلی در انسان در سرتاسر جهان شناخته شده اند. سروتایپ های غالب در طی زمان تغییر کرده اند و از یک منطقه جغرافیایی به منطقه دیگر نیز متفاوت میباشند(۱۴). در این مطالعه ازبین انواع سویه های سالمونلا، شیوع سرووارانتریتیدیس در بین نمونه های مدفوع بیماران اسهالی مراجعه کننده به بیمارستان مرکز طبی کودکان ۵۴٪ گزارش شد که نشان دهندهٔ شیوع بالای این سروار در شهر تهران به موازات شیوع آن در سرتاسر جهان می باشد. بطوریکه در مطالعات انجام شده توسط محققین مختلف در برزیل ، هند، اسپانیا ، ژاپن ، مالزی و یونان و .... در بین سروارهای مختلف سالمونلا ، سالمونلا انتریتیدیس شایع ترین سروار به ترتیب با فراوانی ۶۷/۴٪ ، ۵۸/۳٪ ، ۴۷/۷٪ ، ۵۰٪، ۳۴٪ و ۶۸٪ بوده است(۲۰- ۱۵).

بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی در ۳۰ ایزوله سالمونلا انتریتیدیس جدا شده از نمونه های بالینی و مواد غذایی نشان داد که هیچ کدام از ایزوله های مورد آزمایش به آنتی بیوتیک های سفالکسین، سفتریاکسون ، سفتازیدیم ، سفوتاکسیم، جنتامایسین ، ایمی پنم ، مروپنم و کولستین سولفات مقاومت نشان ندادند.

همچنین در مطالعهٔ ما نسبت به ۱۶ آنتی بیوتیک مختلف، ۱۴ الگوی مقاومت در بین ایزوله های بالینی و مواد غذایی مشاهده شد که در بین ایزوله های بالینی ۷۳/۳٪ دارای الگوی مقاومت چند گانه بودند و حداقل به دو یا تعداد بیشتری آنتی بیوتیک مقاومت نشان دادند. در صورتیکه در بین ایزوله های غذایی تنها ۲۰٪ ایزوله های چندمقاومتی بودند.

اگر چه راه انتقال سالمونلاهای مقاوم پیچیده بوده ودقیقاً مشخص نمی باشد اما اکثر عفونتهای مقاوم سالمونلا از طریق مصرف مواد غذایی آلوده با منشاء حیوانی کسب شده اند (۲۱).در صورتیکه باکتریهای مقاوم یا ژنهای مقاومت در داخل جمعیت باکتریهای انسانی قرار بگیرند، این باکتریهای مقاوم در مواد غذایی تهدیدی برای درمان و سلامتی انسانها محسوب شوند (۲۲).

طبق اطلاعات حاصل ازدندروگرام ۱، تعداد ۲۹ سویه سالمونلاانتریتیدیس ایزوله شده از نمونه های انسانی و مواد غذایی با استفاده از پرایمر ERIC ، در قالب (CT) ۴ دسته بندی شده و تنها یک ایزوله ازمواد غذایی به صورت (ST) مشخص شد.

در بین CT های مشخص شده در بین ایزوله ها ، CT1 , CT2 غالب بودند و ۲۳ ایزوله ای که در مجموع در این کلونهای غالب وجود داشت ، در کل ۷۶/۷٪ از کل سویه های تایپ شده را تشکیل می داد این ۲۳ ایزوله دارای بیش از۹۵ درصد تشابه ژنتیکی بودند.

CT3 تنها تایپی بود که فقط ۲ ایزوله انسانی در آن قرار گرفت که هر دو دارای الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی (AB2) بودند. حائز اهمیت است که این دو ایزوله بالینی متعلق به یک بیمار بوده ولی از دو نوع نمونهٔ خون و مدفوع و در دو فاصلهٔ زمانی متفاوت جداسازی گردیده است. با توجه به حساسیت بالای افراد high risk از جمله کودکان به عفونتهای تهاجمی سروار انتریتیدیس و مرگ و میر ناشی از آن این مسئله قابل توجه و به شدت نگران کننده می باشد. Albufera (۲۰۰۹) و همکاران قدرت افتراق دهی روشهای مختلف تایپینگ را برروی ۱۸ ایزوله سالمونلا از منابع مختلف انسانی و مواد غذایی با استفاده از روشهای Rep-PCR و RAPD-PCR مورد بررسی قرار دادند. محققین در این مطالعه نشان دادند که Rep- PCR در مقایسه با RAPD قدرت افتراق دهی بیشتری در تمایز استرینهایی که ارتباط بسیار نزدیکی با هم دارند ، دارا می باشد(۲۳).

Suh (۲۰۰۶) و همکاران ، ۲۲ ایزوله سالمونلاانتریتیدیس انسانی و طیوری جدا شده از مناطق مختلف در کره را با استفاده ازروشهای تعیین مقاومت دارویی ، پلاسمید پروفایلینگ و ERIC- PCR برای افتراق سویه های سالمونلاانتریتیدیس مورد مطالعه قرار دادند. ، شباهت ژنتیکی بسیار زیادی در این تحقیق با استفاده از پرایمرهای ERIC و BOX در بین ایزوله های انسانی و طیوریافت شد (۱۳).

در این مطالعه با استفاده از پرایمر ERIC ، اکثر ایزوله های انسانی و غذایی در یک گروه بزرگ و در دو CT متفاوت ولی با درصد تشابه ۹۵٪ قرار گرفتند. این نتیجه نشان می دهد گوناگونی ژنتیکی زیادی بین سویه های سالمونلاانتریتیدیس در تهران وجود نداشته و منشاء گرفتن این سویه ها از یک کلون واحد یا کلونهای محدود بسیار محتمل می باشد ولی وجود کلونهایی با شیوع کمترو الگوی آنتی بیوتیکی متفاوت میتواند هشداری برای پیدایش سویه های جدید وچرخش آنها در محیط بین انسان و حیوانات می باشد.

در این مطالعه، ۱۵ ایزوله غذایی از منابع مختلف مورد بررسی قرار گرفتند. از ۱۵ ایزوله مورد مطالعه ، ۱۴ ایزوله متعلق به شهر تهران و یک ایزوله به شهری از شمال تعلق داشت. این ایزوله غذایی به صورت یک ST در این دندروگرام با درصد تشابه ۲۵٪ نسبت به سایر گروهها قرار گرفت. CT4 تنها تایپی بود که فقط در بین مواد غذایی شیوع داشت وهر چهارایزوله دارای الگوهای آنتی بیوتایپی غیر شایع و مختلفی بودند. همانطور که آمار چند مقاومتی ها در این مطالعه نشان داد، سویه های جداشده ازمنابع غذایی دارای مقاومت آنتی بیوتیکی پایین تری بودند ولی احتمال انتقال این سویه ها از منابع غذایی به انسان جزء خطرات بالقوه بوده و میتوان پیش بینی نمود که در اثر این انتقال الگوی مقاومت این سویه ها تغییر کرده و چرخش آنها درمنابع انسانی باعث کسب ژنهای مقاومت شده و با چند مقاومتی شدن آنها مشکلاتی رادردرمان بوجود آورد. بنابراین شناسایی کلونهای کم شیوع در مطالعات مولکولار اپیدمیولوژی به لحاظ پیش بینی های روشهای کنترل بهداشتی به منظور محدود کردن آنها از دیگر رویکردهای مفید اینگونه مطالعات است.

نتیجه گیری

یکی از کاربردهای مهم افتراق سویه ای در مطالعات اپیدمیولوژی ، یافتن منشاء عفونت و کانونهای شایع عفونت است که از آن در جهت بهبود استراتژی های کنترل عفونت استفاده می شود. در تایپینگ با استفاده از پرایمر ERIC ، اکثر ایزوله های بالینی و مواد غذایی در دو کلون غالب با درصد تشابه ۹۵٪ قرار گرفتند و این امر می تواند بیانگر شیوع کلونال محدود ازاسترینهای سالمونلاانتریتیدیس در نمونه های انسانی و مواد غذایی در شهر تهران باشد.

REFERENCES

1.Braden CR:Salmonella enterica serotype enteritidis and eggs: a national epidemic in the United States.Clin Infect Dis2006,43:512-517.

2.Galanis E, Lo Fo Wong DM, Patrick ME, Binsztein N, Cieslik A, Chlermchikit T ,et al:Web-based surveillance and global Salmonella distribution,2000-2002.Emerg Infect Dis 2006,12:381-388.

3.Rabsch W, Tschape H, Baumler AJ.Non-typhoidal Salmonellosis:emerging problems.Microbes and Infection 2001;3:237-247.

4.Ling ML, Wang GCY.Epidemiological analysis of Salmonella enteritidis isolates in Singapore.Journal of Infection 2001;43:169-172.

5. Baumler AJ, Hargie BM, and Tsolis RM. tracing the origins of Salmonella outbreaks Science2000; 287: 50 – 52.

6.Angulo FJ, Johnson KR, Tauxe RV and Cohen ML. Origin and Consequences of antimicrobial resistant non typhoidal Salmonella: implications for the use of flooroguinolones in food animals . Microbiol. Drug Resist, 2000; 6: 77-83.

7.Boswell TC, Coleman DJ, Purser NJ and Cobb RA. Development of quinolone resistance in Salmonella : Failure to prevent splemic abscess. J. Infect, 1997.; 34:86-87

8.Eriksson J, Lofstrom C, Aspan A, Gunnarsson A, Karlsson I, Borch E, et al. Comparison of genotyping methods by application to Salmonella Livingstone strains associated woth an outbreak of human salmonellosis.Int J Food Microbiol 2005 ;104:93-103

9. Olive DM and Bean P. Principles and applications of methods for DNA based typing of microbial organism. J. Clin. Microbiol 1999; 37 (6): 1661-1669.

10. McWhorter-Murlin,A.C. and F.W. Hickman –Brenner. Identification and serotyping of salmonella and update of the Kauffman-white Schame. Centers for Diseases Control and Prevention,Atlanta,Ga. 1994

11.Popoff MY and L. LeMinor. Antigenic formulase of the Salmonella serovars. WHO Collaborating Center for Refrence and Research on Salmonella. Institut Pasteur,Paris,France. .1997

12.CLSI:Clinical and laboratory standard institute(CLSI), 2006. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing; 16 th informational supplement.CLSI,. Wayne, PA, M100-S16,26.NO.3

13. Suh DK, Song JC. Analysis of Salmonell enterica serotype enteritidis isolated from human and chikens by repetitive sequence- PCR Fingerprinting , antibiotic resistance and plasmid profiles, J. Vet. Sci2006; 7(1): 37-41.

14.Gatto AJ, Peter TM, Green J. Distribution of molecular subtypes with in Salmonella enterica serotype enteritidis phage type 4 and S.Typhimurium definitive phage type 104 in nine European countries,2000-2004:results of an international multi-centre study.Epidemiol Infect 2006;25:1-8.

15.Bartolome RM, Moraga FA, Andreu A, Gallart A, Fernandez F . Enteric microorganism pathogens in children. Prevalence and antibiotic susceptibility. Pediatria Catalana1998; 58 (3): 161-9.

16.Sueli A F, Ana TT, Ângela CRG, Ângela MGD, Ivete AZC , Leyva CV. Salmonella isolated from human in SÃO PAULO STATE, BRAZIL, 1996-2003Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo 2006 ; 48(4):179-84.

17.National Institute of Infectious Diseases of Japan. Salmonellosis In Japan as of June 2000. Infect Agents Surveill Rep 2000; 21:162—3

18.Rahman, H., Roychaudhury, P. Saikia, M. Sarmah, S. Prevalence of Salmonella in enteric infection in man and animals Indian Journal of Animal Sciences 2004; 74 (9), pp. 936-7.

19.Lee WS, Puthucheary SD and Bocy CCM. Non typhoid salmonella gastroenteritis. Journal of pediatrics and child health 1998: 34, 387-90.

20.Spiliopoulou In, Zografou S, Goula A, Dimitracopoulos Gond christofidou M, Molecular epidemiology and antibiotic resistance patterns of Salmonella enterica from southwestern Greece. Chemotherapy2007.; (53): 392- 96.

21.Choi SH, Woo JH, Lee JE, Park SJ, Choo EJ, Kwak YG, et al .Increasing incidence of quinolone resistance in human non-typhoid Salmonella enterica isolates in Korea and mechanism involved in quinolone resistance. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2005; (56), 111-14.

22.Enwere G, Biney E, Cheung YB, Zamon SM, Okoko B, Oluwalana C, et al. Epidemiological and Clinical Characteristics of Community acquired invasive infections in children aged 2-29 month in the Gambia. Pediator. Infect. Dis 2006; (25): 700-5.

23..Albufera U, Bhugaloo- Vial P, Issack MI, Jaufeerally- Fakin Y.. Molecular characterization of Salmonella by REP-PCR and RAPD analysis. Infect. Gene. Evolu 2009; 9: 322-327.