# بررسی وجود ژن‌های مقاومت به کینولون در سویه‌های سالمونلا انتریتیدیس جداشده از نمونه‌های غذایی به روش Multiplex-PCR

**هانیه عبدی[۱]، کیومرث امینی[۲]* ، اکرم سادات طباطبایی بفرویی[۳]**

۱. دانش‌آموختهٔ کارشناسی‌ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکدهٔ علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران
۲. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکدهٔ علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران
۳. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ازاد اسلامی، واحد تهران شرق(قیامدشت)، تهران، ایران

**تاریخ دریافت: ۹۶/۰۴/۱۲**
**تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۰۶**

## چکیـده

**زمینه و هدف** مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سالمونلاها به‌دلیل افزودن آنتی‌بیوتیک در زنجیرهٔ غذایی دام‌ها، استفادهٔ بی‌رویه در انسان‌ها و تجویز خودسرانهٔ دارو، در دو دههٔ گذشته افزایش یافته است. ایجاد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک در بین منابع سالمونلای غیرتیفوییدی پدیده‌ای در حال فزونی است. لذا، هدف از این تحقیق بررسی ژن‌های مقاومت کینولونی سالمونلا اینتریتیدیس جداشده از نمونه‌های غذایی است.

**مواد و روش‌ها** در طول بازهٔ زمانی ۶ ماهه از ابتدای خرداد تا انتهای آبان ۱۳۹۴، تعداد ۶۰ ایزوله سالمونلا انتریتیدیس جداشده از محصولات غذایی از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه تحقیقاتی- میکروبیولوژیکی پاسارگاد اخذ شد. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالمونلاهای جداشده نسبت به دیسک آنتی‌بیوتیک (آموکسی‌سیلین، نیتروفورانتوئین، نالیدیکسیک اسید، سیپروفلوکساسین، سفالوتین، نورفلوکساسین و اوفلوکساسین) با آزمایش انتشار از دیسک به روش کربی– بائر بر اساس اصول CLSI انجام گرفت. سپس حضور ژن‌های مقاومت به کینولون‌ها شامل *qnrB*، *qnrS* و *qnrA* با استفاده از روش Multiplex PCR بررسی شد.

**یافته‌ها** تمامی ۶۰ ایزولهٔ مورد بررسی (۱۰۰ درصد) دارای حساسیت کامل به سفالوتین بودند. همچنین، بیشترین مقاومت به نیتروفورانتوئین (۵۰ جدایه، ۸۳/۳ درصد) و پس از آن نالیدیکسیک اسید (۴۴ ایزوله، ۷۳/۳ درصد) مشاهده شد. در مجموع از ۸ ایزوله سالمونلا انتریتیدیس حامل ژن‌های مقاومت به کینولون، پنج ایزوله دارای ژن *qnr B* (۶۲/۵ درصد) و سه ایزوله دارای ژن *qnr S* (۳۷/۵ درصد) بودند.

**نتیجه‌گیری** ژن‌های *qnrS* و *qnrB* نقش مهمی در ایجاد و انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی دارد. غربالگری ژن‌های مقاومت به کینولون‌ها شاخص و نشانه‌ای از کسب و گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و راهبرد مهمی برای مقابله با مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌هاست.

**کلیدواژه‌ها:**
سالمونلا انتریتیدیس، مقاومت به کینولون‌ها، Multiplex PCR.

* **نویسندهٔ مسئول: کیومرث امینی**
**نشانی:** گروه میکروبیولوژی، دانشکدهٔ علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران
**تلفن:** ۰۹۱۲۵۴۵۴۰۷۴ **دورنگار:**
**رایانه:** dr_kumarss_amini@yahoo.com
**شناسه ORCID:** کیومرث امینی 0000-0002-6419-3417
هانیه عبدی 0000-0002-6039-3702

مجلهٔ علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۵، شمارهٔ ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۷، ص ۱-۶
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۷۴۸۷-۱۶۰۶

## مقدمه

سالمونلا از باکتری‌های بسیار مهم در پزشکی و دامپزشکی است که باعث بروز بیماری‌های مختلف در انسان‌ها، دام‌ها و طیور می‌شود و سالیانه خسارات اقتصادی زیادی به صنعت پرورش دام و طیور وارد می‌کند و هزینه‌های زیادی به‌لحاظ بهداشت عمومی در جمعیت‌های انسانی پدید می‌آورد [۱، ۲].

معمولاً تمامی سروتیپ‌های سالمونلا در انسان بیماری‌زاست، اما سالمونلا انتریتیدیس مهم‌ترین عامل در ابتلا به سالمونلوزیس منتقله از طریق غذاست [۳]. کینولون‌ها مانند نالیدیکسیک اسید و فلوروکینولون‌ها مانند سیپروفلوکساسین، از جمله آنتی‌بیوتیک‌هایی است که در پزشکی و دامپزشکی برای درمان بیماری‌های عفونی ایجادشده با باکتری‌هایی نظیر سالمونلا استفاده می‌شود. ظهور میکروب‌های مقاوم به عوامل ضدمیکروبی، تهدیدی جدی علیه سیستم سلامتی است و پزشکان، میکروب‌شناسان و داروسازان را با مشکل مواجه کرده است. این مشکل منحصر به مکان یا زمان خاصی نیست و تبدیل به یکی از معضلات بزرگ جهان شده است [۴، ۵].

موضوع مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، نخستین‌بار با بروز و گسترش وسیع سویه‌های مقاوم به پنی‌سیلین در استافیلوکوکوس ارئوس اهمیت یافت.

در سال ۱۹۷۰ و اوایل ۱۹۸۰ باسیل‌های گرم منفی چند مقاومتی، بزرگ‌ترین مشکل کنترل عفونت محسوب می‌شد. اخیراً موارد زیادی از مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در سالمونلاها مشاهده شده است [۶، ۷]. در سال‌های اخیر افزایش مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها در حال افزایش است . این امر مشکل اساسی در درمان ایجاد کرده است.

به‌طور مشابه، در درمان عفونت‌های مجاری ادراری ناشی از این باکتری‌ها نیز که معمولاً از داروهای گروه بتالاکتام و سفالوسپورین‌ها استفاده می‌شود، به‌دلیل بروز موارد شکست درمانی از داروهای وسیع‌الطیف گروه فلوروکینولون استفاده می‌شود که در اکثر موارد در درمان مؤثراست [۸].

کینولون‌ها طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌هاست. سازوکار اثر این داروها از طریق مهار آنزیم DNA ژیراز باکتری است. از کینولون‌ها می‌توان به نالیدیکسیک اسید اشاره کرد. اما در سال‌های اخیر به این داروها نیز مقاومت روبه‌افزایشی ایجاد شده که ضمن ایجاد مشکلاتی در روند درمان، موجب افزایش طول مدت بستری و بالارفتن هزینه‌های درمانی شده است. لذا، بررسی مداوم و پیوستهٔ میزان مقاومت این باکتری‌ها نسبت به داروهای رایج در درمان امری ضروری است [۵، ۹].

آنزیم DNA ژیراز، نوعی توپوایزومراز ۲ است که تنها در باکتری‌ها یافت می‌شود. این آنزیم در حذف سوپرکویل‌های مثبت یا ایجاد سوپرکویل‌های منفی عمل می‌کند. ژیراز هتروترامر با دو زیرواحد چرخان (*gyrA*) و دو زیرواحد ATPase (*gyrB*)است. زیرواحدهای gyrA واکنش‌های شکست و بست اسکلت فسفودی استری را انجام می‌دهند [۱۰]. هیدرولیز ATP همراه با عمل ژیراز، صرف تغییرات ساختاری می‌شود تا به دو رشته اجازه دهد که از میان شکست موجود در دو رشته بگذرد. سازوکار غالب در ایجاد مقاومت نسبت به کینولون‌ها، از تغییر (موتاسیون) ژن‌های تولیدکنندهٔ زیرواحد آنزیم‌های DNA gyrase و Topo IV (*parC* , *parE*) ناشی می‌شود که اهداف این آنتی‌بیوتیک‌هاست. این نوع مقاومت وابسته به کروموزوم است [۱۱].

پلاسمیدها هم مقاومت به کینولون‌ها ایجاد می‌کند. پلاسمید قابل‌انتقال طبیعی با عنوان pMG252 که مقاومت پایین به کینولون‌ها را کد می‌کرد از یک‌سویهٔ بالینی کلبسیلا پنومونیه جداشد. پلاسمید ۶۵ کیلوبازی میزبان‌های فراوانی دارد، شامل اعضای خانوادهٔ انتروباکتریاسه و سودوموناس آئروژینوزا. این پلاسمید حامل ژنی به نام *qnr* است که پروتئینی ۲۱۸ اسید آمینه‌ای را کد می‌کند. نخستین *qnr* با عنوان *qnrA* در اشرشیا کلی یافت شد که موجب محافظت DNA ژیراز اشرشیاکلی از مهار توسط سیپروفلوکساسین می‌شد. در واقع، *qnr* در سویه‌های باکتریایی تولیدکنندهٔ ESBL گزارش شده است.

دیگر ژن‌های *qnr* شناسایی‌شده *qnrS1* است که از شیگلا فلکسنری و *qnrB1* است و از کلبسیلا پنومونیه جدا شده است که به‌ترتیب ۴۱ درصد و ۵۹ درصد همولوژی با *qnrA* است. این نکته مهم است که هیچ‌کدام از ژن‌های *qnr* خود در مقاومت به کینولون نقش ندارد، بلکه موجب کاهش حساسیت به نالدیکسیک اسید و فلوروکینولون ها می‌شود [۱۲].

لذا، هدف از این تحقیق بررسی مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های کینولون‌ها و فلوروکینولون‌ها بر اساس تشخیص مولکولی ژن‌های دخیل در این مقاومت‌هاست، از جمله *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* در سویه‌های سالمونلا انتریتیدیس جداشده از نمونه‌های غذایی بر اساس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چند گانه (MPCR).

## مواد و روش‌ها

این تحقیق مطالعه‌ای مقطعی است که به‌روش توصیفی-تحلیلی در طول بازهٔ زمانی ۶ ماهه از ابتدای خرداد تا انتهای آبان ۱۳۹۴طراحی و اجرا شد. در طول تحقیق تعداد ۶۰ ایزولهٔ سالمونلا انتریتیدیس جداشده از محصولات غذایی از کلکسیون

میکروبی آزمایشگاه تحقیقاتی- میکروبیولوژیکی پاسارگاد (تهران) جمع‌آوری شد.

حساسیت آنتی‌بیوتیکی روی محیط مولر هینتون آگار و با استفاده از روش انتشار از دیسک برای آنتی‌بیوتیک‌های نیتروفورانتوئین (۳۰۰µg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰µg) آموکسی‌سیلین (۲۰µg)، سیپروفلوکساسین (۵µg)، سفالوتین (۳۰µg)، نورفلوکساسین (۱۰µg) و افلوکساسین (۵ µg) بر اساس دستورالعمل استاندارد آزمایشگاه و بالین (CLSI., 2013) و با استفاده از روش انتشار از ژل پس از تهیهٔ غلظت نیم مک‌فارلند روی محیط مولر هینتون آگار انجام شد.

سوسپانسیون تهیه‌شده با سوآپ استریل پنبه‌ای روی محیط مولر هینتون آگار به‌صورت متراکم کشت داده شد. سپس، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با پنس استریل در سطح محیط قرارگرفت و محیط کشت به‌مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد. سپس، قطر هالهٔ عدم‌رشد با کولیس اندازه‌گیری شد.

DNA ژنومی باکتریایی با استفاده از دستورالعمل کیت استخراج سیناژن (Cinna Pure DNA KIT-PR881613) (البرز، ایران) به‌دست آمد و درجهٔ خلوص محصول استخراج‌شده در طول موج ۲۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر تأیید شد. تست M-PCR برای شناسایی ژن‌های بتالاکتامازی *qnrA/B/S* با استفاده از توالی‌های الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای اختصاصی انجام شد (جدول ۱). واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. هر واکنش PCR شامل ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۱۰ پیکومول از هر پرایمر، ۱/۵ میلی‌مول در لیتر $MgCl_2$، ۰/۵ واحد آنزیم Taq و ۵۰ نانوگرم DNA الگوست.

واکنش مالتی پلکس PCR در دستگاه ترموسایکلر به‌شرح زیر انجام شد. سیکل ۱۰ دقیقه‌ای در ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد (دناتوراسیون اولیه)، سپس ۳۵ سیکل شامل مرحلهٔ واسرشت‌شدن ۶۰ ثانیه در ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد، مرحلهٔ اتصال ۶۰ ثانیه در ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد و مرحلهٔ طویل‌شدن ۱ دقیقه در ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد و در نهایتا سیکل ۱۰ دقیقه‌ای در ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد.

محصولات PCR از نظر حضور ژن‌های مورد نظر با انجام الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید بررسی شد. در مطالعهٔ فعلی سالمونلا انتریتیدیس ATCC 13076 کنترل مثبت و اشریشیا کلی ATCC 25922 کنترل منفی در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

نتایج آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که به‌ترتیب ۶۰ (۱۰۰ درصد)، ۵۰ (۸۳/۳ درصد) و ۴۴ (۷۳/۳ درصد) جدایه به‌ترتیب به سفالوتین، نیتروفورانتوئین و نالیدیکسیک اسید مقاوم بود. حساسیت نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. از بین تمامی سویه‌های تست‌شده، ۸ (۱۳/۳ درصد) ایزوله دارای ژن‌های مقاومت به کینولون بود که پنج ایزوله ژن *qnr B* (۶۲/۵ درصد) و سه ایزوله نیز ژن *qnr S* (۳۷/۵ درصد) داشت (شکل ۲).

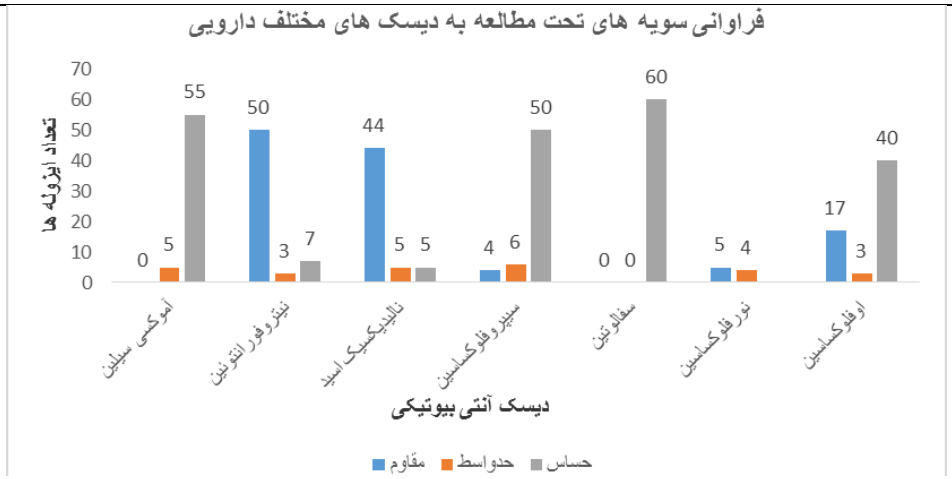
## بحث

در سال‌های اخیر سالمونلاهای غیرتیفوییدی (Nontyphoidal *Salmonella*-NTS) در سطح جهان به‌طور وسیعی شیوع پیدا کرده است و به‌نظر می‌رسد علت آن پیدایش بسیاری از سروتایپ‌های جدید سالمونلایی است که در گذشته چندان شیوع نداشته است [۱۴]. زارع و همکاران [۱۵] با بررسی ۲۵۰ لاشهٔ طیور کشتارگاه‌های صنعتی تعداد هفت جدایه (۲/۸ درصد) سالمونلا اینفنتیس به‌دست آوردند. نتایج آنتی‌بیوگرام بر اساس استاندارد جهانی CLSI و با استفاده از روش دیسک دیفیوژن نشان داد که ۱۰۰ درصد جدایه‌ها به جنتامایسین–انروفلوکساسین ایمی‌پنم سفتریاکسون حساس است و بیشترین مقاومت در برابر نالیدیکسیک اسید و نیتروفورانتوئین مشاهده شد. همچنین، در ۷۵ درصد جدایهٔ سالمونلا ۶۳ مورد(۸۴ درصد) دارای مقاومت چندگانه به سه یا تعداد بیشتری از آنتی‌بیوتیک‌ها بودند.

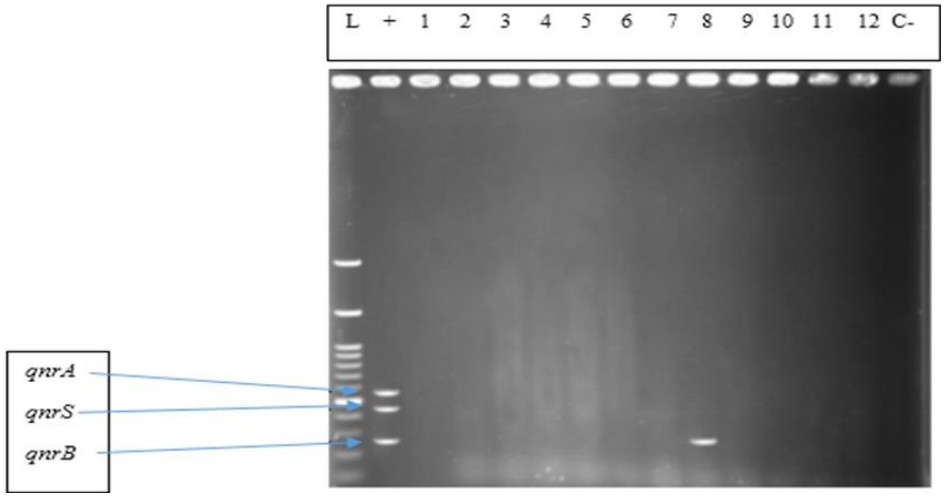
**جدول ۱. پرایمرهای مورداستفاده در این مطالعه**

| Primer | Sequence (5′→3′) | Gene | Position | Size of PCR-amplified product (bp) | Reference or Source |
|---|---|---|---|---|---|
| *QnrAm-F* | AGAGGATTTCTCACGCCAGG | *qnrA1 to qnrA6* | ۴۹–۳۰ | ۵۸۰ | ۱۳ |
| *QnrAm-R* | TGCCAGGCACAGATCTTGAC | | ۶۰۸–۵۸۹ | | |
| *QnrBm-F* | GGMATHGAAATTCGCCACTGc | *qnrB1 to qnrB6* | ۳۰۲–۲۸۳ | ۲۶۴ | |
| *QnrBm-R* | TTTGCYGYYCGCCAGTCGAAc | | ۵۴۵–۵۲۶ | | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *QnrSm-F* | GCAAGTTCATTGAACAGGGT | *qnrS1 to qnrS2* | ۱۵۶–۱۳۷ | ۴۲۸ |
| *QnrSm-R* | TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG | | | ۵۶۳–۵۴۵ |




**شکل ۱. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های تحت مطالعه**




**شکل ۲. نتایج محصول multiplex-PCR، به‌ترتیب از سمت چپ ۱. Ladder 100 bp (تهیه‌شده از شرکت سیناژن، ایران) ۲. کنترل مثبت: *Salmonella enterica* ATCC 13076– کنترل منفی: آب مقطر استریل، چاهک‌های ۲۴–۱۳. سویه‌های به‌دست‌آمده از نمونه‌های تحت مطالعه. سویهٔ ۱۹ (به‌علت حضور قطعهٔ ۲۶۴ bp) برای ژن *qnrB* مثبت است. ژن *qnrA* در تمامی ایزوله‌ها منفی بود.**

این یافته‌ها با مطالعهٔ حاضر همخوانی دارد. در مطالعهٔ پیش‌رو بیشترین فراوانی مربوط به ژن *qnrB* بود. تمامی سویه‌ها از نظر وجود ژن *qnrA* منفی بود.

زالی و همکاران [۱۶] در سال ۱۳۸۹ جهش در ژن *qnrA* و فراوانی *qnrA* و *qnrB* را در نمونه‌های سالمونلای بالینی مقاوم به کینولون‌ها را بررسی کردند. نتایج شیوع زیاد مقاومت سویه‌های سالمونلا را به کینولون‌ها در نمونه‌های بالینی مورد مطالعه نشان داد که در ایران مقاومت به‌طور نگران‌کننده‌ای در حال افزایش است.

در مطالعهٔ حاضر وجود ژن *qnrA* صفر بود. علت گزارش بالای مقاومت به کینولون‌ها در مطالعهٔ زالی و همکاران در مقایسه با مطالعهٔ حاضر ممکن است تفاوت در نوع نمونه باشد (نمونهٔ بالینی انسانی در مقایسه با نمونهٔ دامی). گونه‌های سالمونلا این توانایی را دارد که از راه‌های مختلف مقاومت آنتی‌بیوتیکی کسب کند و این مسئله مشکلی برای کشورهای درحال‌توسعه است. بنابراین، بررسی مولکولی این نوع

مقاومت‌ها اهمیت بسیاری دارد.

در مطالعهٔ وو و همکاران [۱۷] در سال ۲۰۰۶ در هلند روی سالمونلاهای غیرتیفوییدی جداشده از انسان و حیوان، مقاومت آنتی‌بیوتیکی به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، تتراسیکلین، استرپتومایسین، تری‌متوپریم سولفونامیدها و نالیدیکسیک اسید شایع بود.

همان‌طور که ملاحظه می‌شود نتایج مطالعهٔ حاضر نشان می‌دهد که مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایران و سایر کشورها با هم مطابقت دارد و این احتمالاً به‌علت استفادهٔ بیش از حد و گستردهٔ آنتی‌بیوتیک‌ها در ایران و سایر نقاط دنیاست.

علت مغایرت نتیجهٔ مطالعات قبلی با مطالعهٔ کنونی ممکن است در فاصلهٔ جغرافیایی، اختلاف سطح بهداشت و تأثیر اقلیم آب‌وهوایی بر زیست‌بوم منطقه و حتی اختلاف بهداشت پرسنل مشغول در تماس با دام باشد، از جمله مستخدمان و کارکنان.

از جمله محدودیت‌های این مطالعه، مشکل‌بودن جداسازی و تشخیص سالمونلا از نمونه‌های غذایی، عدم تهیهٔ آسان آنتی سرم در تعیین سروتایپ، خودمحدودشوندگی گاستروانتریت سالمونلایی بود.

## نتیجه‌گیری

نتیجهٔ این بررسی نشان‌دهندهٔ افزایش عفونت‌های ناشی از سالمونلاهای غیرتیفوییدی، به‌ویژه سالمونلای غیرتیفوییدی (NTS) در سراسر جهان است. در اصل، در درمان انتریت‌های سالمونلایی در مواردی که خطر عفونت تهاجمی وجود دارد، مانند بیماران با سیستم ایمنی تضعیف‌شده، عفونت خارج روده‌ای، کودکان و شیرخواران، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها الزامی است. در چنین مواردی آنتی‌بیوتیک‌های گروه فلوئوروکینولون‌ها و سفالوسپورین‌ها مناسب‌ترین و رایج‌ترین دارو در درمان این بیماری است. همچنین، توجه به عدم‌آلودگی مواد غذایی با سالمونلا، مراقبت‌های بهداشتی، آموزش همگانی در رعایت بهداشت فردی و اعمال قانون نظارت بر رعایت بهداشت مراکز تهیه و توزیع مواد غذایی اهمیت دارد.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری صمیمانهٔ آزمایشگاه تحقیقاتی-میکروبیولوژیکی پاسارگاد که ما را در هدایت این مطالعه یاری کرد، تشکر و قدردانی می‌کنیم.

## ملاحظات اخلاقی

تمامی اقدامات در رعایت اخلاق در تهیه و استفاده از اطلاعات و اسناد مقالات دیگر در این پروژه از نویسندگان اتخاذ شده است. این مقاله کد اخلاقی ندارد.

## حمایت مالی

این مطالعه حمایت مالی نداشته است.

## تضاد و تعارض(Conflict of interest)

در بین نویسندگان مقاله هیچ‌گونه تضاد و تعارضی وجود ندارد.

## References

[1]. de Freitas CG, Santana ÂP, da Silva PHC, Gonçalves VSP, Barros MdAF, Torres FAG, et al. PCR multiplex for detection of Salmonella Enteritidis, Typhi and Typhimurium and occurrence in poultry meat. International Journal of Food Microbiology. 2010; 139(1): 15-22.
[2]. Winter SE, Thiennimitr P, Winter MG, Butler BP, Huseby DL, Crawford RW, et al. Gut inflammation provides a respiratory electron acceptor for Salmonella. Nature. 2010; 467(7314): 426-9.
[3]. Hooper DC: Mechanisms of action of antimicrobials: focus on fluoroquinolones. Clin Infect Dis. 2001, 32(Suppl 1): S9-S15.
[4]. Henrichfreise B, Wiegand I, Pfister W, Wiedemann B. Resistance mechanisms of multiresistant Pseudomonas aeruginosa strains from Germany and correlation with hypermutation. Antimicrob. Agents Chemother. 2007; 51: 4062-4070.
[5]. Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid mediated quinolone resistance. Lancet Infect Dis. 2006; 6(10): 629-40.
[6]. Stavoe AKH. Plasmid-mediated quinolone and fluoroquinolone resistance. MMG445 Basic Biotech J. 2006; 2(1): 154-9.
[7]. Cloeckaert A, Chaslus-Dancla E. Mechanisms of quinolone resistance in Salmonella. Veterinary Research. 2001; 32(3-4): 291-300.
[8]. Heeb S, Fletcher MP, Chhabra SR, Diggle SP, Williams P, Cámara M. Quinolones: from antibiotics to autoinducers. FEMS Microbiology Reviews. 2011; 35(2): 247-74.
[9]. Basuri T, Modi V, Prachi T. Quinolones: an update. J Pharm Res. 2011; 4: 1294-301.
[10]. Adachi F, Yamamoto A, Takakura KI, Kawahara R. Occurrence of fluoroquinolones and fluoroquinolone-resistance genes in the aquatic environment. Science of the Total Environment. 2013; 508: 14-24.
[11]. Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA, Macielag M, Abbanat D , Park CH, et al. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. Nat Med. 2006; 12(1): 83-8.
[12]. Ouabdesselam S, Tankovic J, Soussy CJ. Quinolone resistance mutations in the gyrA gene of clinical isolates of Salmonella. Microb Drug Resist. 1996; 2: 299-302.
[13]. Tarchouna M, Ferjani A, Marzouk M, Guedda I, Boukadida J. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants among clinical isolates of escherichia coli in a Tunisian Hospital. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2015; 4(3): 195-206.
[14]. White DG, Zhao S, Sudler R, Ayers S, Friedman S, Chen S, et al. The isolation of antibiotic-resistant Salmonella from retail ground meats. New England Journal of Medicine. 2001; 345(16): 1147-54.
[15]. Zare Bidaki M, Tehrani Pour A, Dadpour S, Gholizadeh H. Prevalence of Salmonella in poultry carcasses serotypes in Birjand industrial slaughterhouses. Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2013; 20(2): 191-197.
[16]. Zali MR, Alebouyeh M, Tajbakhsh M. Emergence of resistant salmonella spp.; new challenges, new trends. Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench. 2011; 4(3): 99-101.

[17]. Vo AT, Van Duijkeren E, Fluit AC, Wannet WJ, Verbruggen AJ, Maas HM, et al. Antibiotic resistance, integrons and Salmonella genomic island 1 among non-typhoidal Salmonella serovars in The Netherlands. International Journal of Antimicrobial Agents. 2006; 28(3): 172-9.

# Detection of Quinolone resistance genes in the *Salmonella enteritidis* strains isolated from food samples by Multiplex-PCR method

**Hanieh Abdi [1], Kumars Amini [2*] , Akram Sadat Tabatabaee Bafroee[3]**

1. MSc., Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
2. Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
3. Assistant Professor, Department of biology, Faculty of basic sciences, East Tehran Branch (Ghiamdasht), Islamic Azad University, Tehran, Iran

## Abstract

**Background and Objectives** Antibiotic resistance in Salmonella is increased because of consumption of drugs as additives in animal food chain, indiscriminate use of arbitrary known the people and the administration. Resistance to antibiotics among non-typhoid salmonella resources is increasing phenomenon. The aim of this study was to investigate the quinolone resistance genes in *Salmonella enteritidis* isolated from food.

**Materials & Methods** In a period of 6 months from June to November 2015, the 60 isolates of *S. Enteritidis* isolates from food-microbiological research laboratory of microbial collection Pasargadae was taken. Antibiotic resistance patterns of Salmonella isolates to disk antibiotics (amoxicillin, nitrofurantoin, nalidixic acid, ciprofloxacin, cephalothin, norfloxacin and ofloxacin) with disk diffusion testing by Kirby– Bauer was based on CLSI. Then the presence of quinolone resistance genes such as *qnrB*, *qnrS* and *qnrA* investigated with Multiplex PCR method.

**Results** All 60 tested isolates (100%) were sensitive to cephalothin. So, highest resistance rate was related to nitrofurantoin (50 isolates, 83.3%) and then nalidixic acid (44 isolates, 73.3%). A total of 8 isolates of *Salmonella enteritidis* carrier of quinolone resistance genes, 5 isolates of *qnrB* (62.5%) and 3 isolates of *qnrS* genes (37.5%), respectively**.**

**Conclusion** the *qnrS* and *qnrB* resistance genes are play an important role in the creation and transmission of antibiotic resistance. Screening quinolone resistance gene as a marker and mark the acquisition and development of antibiotic resistance can be used as an important strategy in the fight against antibiotic resistance in bacteria.

**Received:** 2017/07/03
**Accepted:** 2017/10/28

**Keywords:** multiplex PCR, Quinolone resistance, *Salmonella enteritidis.*