بررسی فراوانی مقاومت به فلوروکوئینولون‌ها درایزوله‌های سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا سروووار انتریتیدیس جدا شده ازنمونه‌های گاستروانتریت بیمارستانی

کسری مردانی[۱و۲]، فرهاد نیکخواهی[۱]، فاطمه فردصانعی[۱*]

۱- مرکز تحقیقات میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.
۲- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین ،ایران.

دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۰ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۷/۱۷ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۴ آنلاین: ۱۴۰۲/۰۹/۰۱

چکیده

زمینه و هدف: سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا سروووار انتریتیدیس، یکی از مهمترین عوامل بیماری‌های منتقله از غذا است که در اثر مصرف فراورده‌های غذایی آلوده با منشا حیوانی به‌وجود می‌آید. گاستروانتریت سالمونلایی یک عفونت خود محدود شونده است که بدون‌نیاز به درمان آنتی‌بیوتیکی بهبود می‌یابد. اما بیماری می‌تواند به بیماری‌های سیستمیک تبدیل شود و این افراد نیاز به درمان دارند. هدف از مطالعه ما بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژن‌های مقاومت به فلوکوئینولون‌ها می‌باشد.

روش بررسی: در طی این مطالعه در یک مطالعه مقطعی-توصیفی در فاصله زمانی شهریور ۱۴۰۱ تا شهریور۱۴۰۲، ٤٤ جدایه سالمونلا انتریتیدیس از منابع انسانی موردبررسی قرار گرفت. پس از تایید ایزوله‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد میکروبیولوژی ومولکولی، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها و فراوانی ژن‌های مقاومت تعیین شد.

یافته‌ها: در این مطالعه از ٤٤ جدایه سالمونلا انتریتیدیس موردمطالعه، ۱۰۰٪ سویه‌ها به ایمی‌پنم ومروپنم حساس بودند و حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون، سفتازیدیم و سفوتاکسیم به ترتیب۹۳/۲٪، ۹۰/۹٪، ۹٤/۱٪ بودند. ۸۱/۸٪ جدایه‌ها به کوتریماکسازول حساس بودند، حساسیت به آمپی‌سیلین ۸٤/۱٪ بود. تنها ۹/۱٪ جدایه‌ها به سیپروفلوکساسین حساس بودند. در بین سویه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین به روش فنوتیپی هیچ کدام از ژن‌های *qnrS, qnrA, qnrB* مشاهده نگردید. تمام سویه‌های مقاوم به نالیدیکسیک اسید دارای ژن *gyrA* بودند.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه نشان داده شد، مقاومت به خانواده فلورکوئینولون‌ها در بین ایزوله‌های سالمونلا انتریتیدیس در حال افزایش می‌باشد. از طرفی شاهد کاهش حساسیت و بروز سویه‌های مقاوم به سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف در بین سروووار انتریتیدیس هستیم، که داروی انتخابی عفونت‌های خارج روده‌ای می‌باشد.

کلمات کلیدی: گاستروانتریت، سالمونلا انتریتیدیس، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، سیپروفلوکساسین.

*نویسنده مسئول: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، مرکز تحقیقات میکروب شناسی.
تلفن: ۰۲۸-۳۳۳۳۶۰۰۸
E-mail: f.fardsanei@qums.ac.ir

مقدمه

سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا سروووار انتریتیدیس (*Salmonella enterica* subspp *enterica* serovar Enteritidis) با فرمول آنتی ژنیک O:1,9,12 H:gm یکی از مهمترین عوامل گاستروانتریت اپیدمیک و آندمیک در انسان در سرتاسر جهان می‌باشد. سالیانه ۱۷ میلیون گاستروانتریت حاد یا اسهال به‌دلیل سالمونلوزیس غیرتیفوییدی گزارش می‌شود که سه میلیون از آنها منجر به مرگ می‌شود.[۱] گاستروانتریت شایعترین و متداول‌ترین عفونت سالمونلایی در انسان می‌باشد که توسط سروتیپ‌های

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-17]

سالمونلا به‌ویژه سالمونلا تیفی‌موریوم (*Salmonella* Typhimurium) و انتریتیدیس (*Salmonella* Enteritidis) ایجاد می‌شود. افزایش شیوع سروروار انتریتیدیس به دهه ۱۹۷۰ بر می‌گردد که این سروتیپ به‌عنوان اولین عامل ایجادکننده عفونت سالمونلوز، جایگزین سروتیپ تیفی‌موریوم که قبلا شایعترین سروروار سالمونلا بوده است، گردید.[۲] شیوع عفونت با سالمونلا انتریتیدیس، در بسیاری از کشورها افزایش یافته است و این سروتیپ هم اکنون در اروپا غالبترین سروتیپی است که در جدایه‌های سالمونلا تعیین گردیده است. به نظر می‌رسد علت این جایگزینی، استفاده از مواد غذایی به صورت خام و نیم‌پز مثل گوشت مرغ، تخم مرغ و فرآورده‌های آن و همچنین صرف غذا در رستوران می‌باشد. دوره کمون بیماری معمولا ٢٤–٨ ساعت می‌باشد، ولی گاهی اوقات بسته به تعداد باکتری وارد شده درد، تب و لرز شروع می‌شود. معمولا اسهال آبکی و گاهی خونی نیز وجود دارد، از دست دادن آب و به هم خوردن تعادل الکترولیت‌ها از عوارض این بیماری در افراد پیر یا جوان می‌باشد. سالمونلوزیس حداکثر شیوع را در تابستان دارد. بیماری در شیرخواران، کودکان و همچنین افراد مسن شدت داشته و نگرا ن کننده می‌باشد. افراد دارای نقص سیستم ایمنی، سوتغذیه، مبتلایان به بیماری‌های نئوپلاستیک، همچنین افرادی که تحت درمان با آنتی‌بیوتیک قرار دارند و یا داروهای سرکوب‌کننده ایمنی مصرف می‌کنند، همچنین خانم‌های باردار و افراد مسن از حساسیت بیشتری در برابر عفونت برخوردارند.[۳] فلوروکینولون‌ها (Fluoroquinolones) و نسل سوم سفالوسپورین‌ها داروهای انتخابی درمان سالمونلوز مهاجم در انسان و نیز حیوانات می‌باشند. فلوروکینولون‌ها آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیفی هستند و مقاومت به این گروه آنتی‌بیوتیک‌ها معمولا به وسیله‌ی موتاسیون در ژن‌های کروموزومی رمزکننده آنزیم‌های هدف DNA ژیراز (DNA gyrase) و یا DNA توپوایزومراز(DNA topoisomerase) IV اتفاق می‌افتد و یا حاصل جهش در ژن‌های تنظیم‌کننده پروتیین‌های غشا خارجی و یا موتاسیونی که منجر به تغییر در تجمع دارو و پمپ‌های ایفلاکس می‌گردد، می‌باشد.[٤]

اولین مقاومت مرتبط با پلاسمید نسبت به کینولون‌ها، مربوط به ژن *qnrA* می‌باشد که در سال‌های اخیر تعیین هویت گردیده است. باتوجه به اهمیت فلوروکوئینولون‌ها در درمان گاستروانتریت ناشی از سالمونلا انتریتیدیس، هدف از این مطالعه بررسی الگوی حساسیت میکروبی و تعیین فراوانی ژن‌های مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد.

روش بررسی

در این مطالعه مقطعی–توصیفی که در فاصله زمانی شهریور۱۴۰۱ تا شهریور۱۴۰۲ پس از اخذ کد اخلاق با شماره IR.QUMS.REC.1401.183 از دانشگاه علوم پزشکی قزوین نمونه‌های مدفوعی از تمام بیماران گاستروانتریت اسپورادیک بیمارستانی مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های آموزشی شهر قزوین مشکوک به سالمونلوز کشت داده شد.

نمونه‌ها در آزمایشگاه ابتدا برروی محیط GN broth کشت داده شده و پس از شش ساعت برروی محیط‌های XLD و هکتون انتریک آگار (Hektoen enteric agar) کشت داده شدند. کلنی‌های سبز متمایل به آبی با کانون سیاه ایجادشده روی محیط هکتون انتریک آگار و ایزوله جدا شده با ویژگی‌های بیوشیمیایی لاکتوز منفی، حرکت مثبت، واکنش دکربوکسیلاسیون لیزین مثبت، سیترات مثبت، هیدرولیز اوره منفی و متیل رد مثبت به‌عنوان یک ایزوله متعلق به جنس سالمونلا قلمداد می‌گردید.[۵] آزمایش‌های تعیین گروه، پس از تعیین هویت جدایه‌ها با روش‌های فنوتیپی، از کلنی باکتری‌های تاییدشده جهت تعیین سروگروپ با استفاده ازآنتی‌سرم‌های پلی والان شرکت بهار افشان (Baharafshan, Iran) استفاده شد. جهت تعیین گروه از کشت ٢٤ ساعته و خالص باکتری در روی محیط TSI سوسپانسیون غلیظی با سرم فیزیولوژی برروی یک لام تمیز تهیه کرده پس از مجاور نمودن با آنتی‌سرم‌های گروه A تا D آگلوتیناسیون بررسی شد.[٦]

تمام جدایه‌هایی که متعلق به گروه D سالمونلا بودند برای تعیین هوییت به روش مولکولی در محیط TSB حاوی ۱۰٪ گلیسرول در دمای ۸۰– ذخیره شدند. هویت جدایه‌های سالمونلا انتریتیدیس به روش Multiplex-PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تایید شد. در این واکنش باند bp ٤٢٩ مربوط به 16srRNA و نشان دهنده جنس سالمونلا، باند bp ۳۱۰ مربوط به ژن *sef-A* (فیمبریه‌ای است که فقط در سالونلا انتریتیدیس دیده می‌شود) و باند bp ۲۵۰ مربوط به پلاسمید حدت *spv* در جنس سالمونلا می‌باشد.[۷] توالی پرایمرها در جدول ۱ آمده است. در یک واکنش PCR از هر کدام از مواد واکنش شامل آب مقطر و غلظت نهایی ۱/۵ میلی‌مولار MgCl2، X1 بافر، ۰/۲

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-17]

میلی‌مولار dNTP، ۰/۲۵ مولار پرایمر Forward، ۰/۲۵ میلی‌مولار پرایمر Reverse، ۰/۵ یونیت آنزیم Taq polymerase و ۱۰ نانوگرم DNA اضافه شد.[۷] تعیین الگوی حساسیت میکروبی، برای تعیین حساسیت سوش‌های شناسایی‌شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان از روش استاندارد کربی بایر (Kirby Bauer) به روش دیسک دیفیوژن بهره گرفته شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مورداستفاده در این پژوهش مربوط به شرکت MAST بوده و عبارتند از، آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۲۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)، سفوروکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفپیم (۳۰ میکروگرم)، استرپتومایسین (۱۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم)، کوتریماکسازول (۲۵ میکروگرم)، ایمی‌پنم (۴۰ میکروگرم) مروپنم (۴۰ میکروگرم). برای انجام آنتی‌بیوگرام از سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند و محیط مولر هینتون (Mueller Hinton Agar) آگار طبق دستورالعمل استاندارد (Clinical & Laboratory Standards Institute, CLSI) استفاده شد. بعد از انکوباسیون به مدت ۱۸ ساعت قطر هاله عدم‌رشد به وسیله خط‌کش اندازه گرفته شد با استفاده از استاندارد جهانی CLSI 2023 به‌صورت حساس (S)، نیمه حساس (I) و مقاوم (R) تفسیر و ثبت گردید.[۸] سنجش غلظت مهاری سیپروفلوکساسین (MIC) با استفاده از E-Test، برای تمام جدایه‌هایی که به روش فنوتیپی و مولکولی به‌عنوان سالمونلا انتریتیدیس شناسایی شدند و در روش دیسک دیفیوژن دارای مقاومت و یا حساسیت کاهش‌یافته به نالیدیکسیک اسید بودند، MIC سیپروفلوکساسین تعیین شد.[۸] شناسایی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی، پس از انجام آزمایش حساسیت میکروبی به روش دیسک دیفیوژن و شناسایی جدایه‌های مقاوم به سیپروفلوکساسین، با استفاده از روش PCR و پرایمرهای اختصاصی ژن‌های عامل مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها ردیابی شدند.[۹] توالی پرایمرها درجدول ۲ آمده است.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورداستفاده جهت تایید مولکولی ایزوله‌های سالمونلا انتریتیدیس

ژن	پرایمر	توالی پرایمر	سایز باند	رفرنس
16srRNA	ST11 ST14	GCCAACCATTGCTAAATTGGCGCA GGTAGAAATTCCCAGCGGGTACTGG	٤٢٩	**Mirzaei و همکاران**[۷]
Spv	S1 S4	GCCGTAGATACACGAGCTTA ACCTACGGGGCACAATAAC	٢٥٠	**Mirzaei و همکاران**[۷]
sef-A	SEFA2 SEFA4	GCAGCGGTTACTATTGCAGC TGTGACAGGGACATTTAGCG	٣١٠	**Mirzaei و همکاران**[۷]

جدول ۲: توالی پرایمرهای مورداستفاده جهت بررسی ژن‌های مقاومت

نام ژن	توالی پرایمر	سایز باند	رفرنس
qnrA	F, ATTTCTCACGCCAGGATTTG R, GATCGGCAAAGGTTAGGTCA	٥١٦	**Ahmed و همکاران**[۹]
qnrB	F, GATCGTGAAAGCCAGAAAGG R, ACGATGCCTGGTAGTTGTCC	٤٦٩	**Ahmed و همکاران**[۹]
qnrS	F, ACGACATTCGTCAACTGCAA R, TAAATTGGCACCCTGTAGGC	٤١٧	**Ahmed و همکاران**[۹]
gyrA	F: AGAGGATTTCTCACGCCAGG R: TGCCAGGCACAGATCTTGAC	٦١٠	**Ahmed و همکاران**[۹]

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-17]

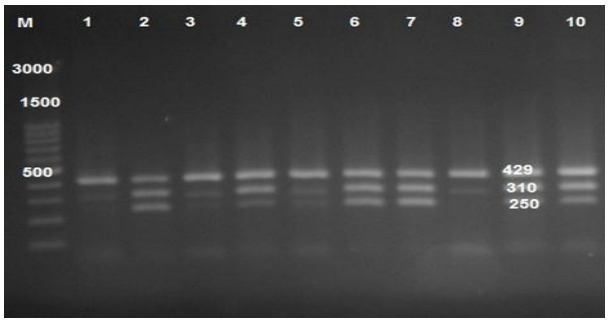
یافته‌ها

در طی این مطالعه ٤٤ ایزوله سالمونلا انتریتدیس به روش مولکولی جداسازی گردید. در تمام جدایه‌های تاییدشده به روش فنوتیپی باندهای ٤٢٩ و ٣١٠ جفت‌بازی مشاهده شدند (شکل ١).

حساسیت آنتی‌بیوتیکی، ٤٤ جدایه بالینی سالمونلا انتریتیدیس برای ١٤ آنتی‌بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن انجام شد. همانگونه که در جدول ٣ نشان داده شده است، جدایه‌های سالمونلا انتریتیدیس دارای بیشترین حساسیت به ایمی‌پنم و مروپنم (١٠٠٪) بودند و حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون، سفتازیدیم و سفوتاکسیم به‌ترتیب ٩٣/٢٪، ٩٠/٩٪، ٩٤/١٪ بودند. ٨١/٨٪ جدایه‌ها به کوتریماکسازول حساس بودند، حساسیت به آمپی‌سیلین ٨٤/١٪ بود. تنها ٩/١٪ جدایه‌ها به سیپروفلوکساسین حساس بودند، در حالی‌که ٧٣/١٪ جدایه‌ها دارای حساسیت متوسط بودند و ١٣/٦٪ مقاوم بودند.

بیشترین میزان مقاومت به آنتی بیوتیک نالیدیکسیک اسید مشاهده شد که ٦٤/٢٪ جدایه‌ها مقاوم بودند.

براساس نتایج MIC، ١٦ ایزوله دارای MIC بین ٠/٠٠٢ تا ٠/٠٦٤ بودند و در منطقه حساس قرارگرفتند. ٢٨ ایزوله دارای MIC بین ٠/١٢٥ تا ٠/٥ بودند و در منطقه حساسیت کاهش‌یافته قرارگرفتند. هیچ کدام ازسویه‌های مقاوم به روش دیسک دیفیوژن با روش MIC مقاوم نبودند.



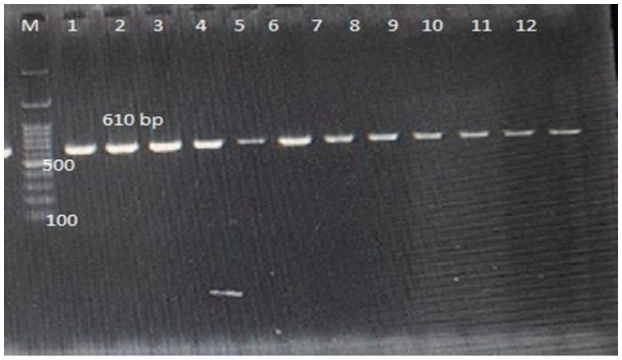
شکل ١: نمایشگر محصولات ٤٢٩، ٣١٠ و ٢٥٠ جفت‌بازی PCR تایید جدایه‌ها. M، مارکر ٣ کیلوبازی. ٩-١ جدایه‌های سالمونلا انتریتیدیس. ١٠، سوش استاندارد سالمونلا انتریتیدیس ATCC١٣٠٧٦

جدول ٣: درصد و فراوانی مقاومت ایزوله‌ها

آنتی‌بیوتیک (غلظت برحسب میکرگرم)	تعداد (درصد)=٤٤		
	S	I	R
سیپروفلوکساسین (٥ میکرگرم)	٤(٩/١٪)	٣٤(٧٧/٣٪)	٦(١٣/٦٪)
سفتازیدیم (٣٠ میکروگرم)	٤٠(٩٠/٩٪)	١(٢/٣٪)	٣(٦/٨٪)
سفوتاکسیم (٣٠ میکروگرم)	٤٢(٩٤/١٪)	٢(٦/٩٪)	٠(٠)
سفوروکسیم (٣٠ میکروگرم)	١٢(٢٧٪)	٢٧(٦١/٥٪)	٥(١١/٥٪)
سفپیم (٣٠ میکروگرم)	٣٩(٨٨/٦٪)	٠(٠)	٥(١١/٤٪)
سفتریاکسون (٣٠ میکروگرم)	٤١(٩٣/٢٪)	٠(٠)	٣(٦/٨٪)
آمپی‌سیلین (٢٠ میکروگرم)	٣٧(٨٤/١٪)	٠(٠)	٧(١٥/٩٪)
استرپتومایسین (١٠ میکروگرم)	٣٨(٨٦/٤٪)	٢(٤/٥٪)	٤(٩/١٪)
تتراسیکلین (٣٠ میکروگرم)	٣٦(٨١/٨٪)	١(٢/٣٪)	٧(١٥/٩٪)
کلرامفنیل (٣٠ میکروگرم)	٤٣(٩٧/٧٪)	٠(٠)	١(٢/٣٪)
کوتریماکسازول (٢٥ میکروگرم)	٣٦(٨١/٨٪)	٠(٠)	٨(١٨/٢٪)
ایمی‌پنم (٤٠ میکروگرم)	٤٤(١٠٠٪)	٠(٠)	٠(٠)
مروپنم (٤٠ میکروگرم)	٤٤(١٠٠٪)	٠(٠)	٠(٠)
نالیدیکسیک اسید (٣٠ میکروگرم)	١٠(٢٢/٧٪)	٤(٩/١٪)	٣٠(٦٨/٢٪)

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-17]

در این مطالعه در بین تمام ایزوله‌هایی که دارای مقاومت یا حساسیت کاهش‌یافته به سیپروفلوکساسین بودند، ژن‌های *qnrA, qnrB, qnrS* مشاهده نگردید. در بین تمام ایزوله‌هایی که دارای مقاومت به نالیدیکسیک اسید بودند ژن *gyrA* مشاهده گردید (شکل ۲).



شکل ۲: نمایشگر محصولات ۶۱۰جفت‌بازی PCR تایید جدایه‌ها. M، مارکر ۳ کیلوبازی. ۱۲-۱، جدایه‌های سالمونلا انتریتیدیس

بحث

سالمونلوزیس یک گاستروانتریت ناشی از آلودگی با سروارهای مختلف جنس سالمونلا و شایعترین نوع مسمومیت غذایی در جهان می‌باشد.[۱۰]

از بین عوامل بیماری‌زایی باکتریایی، سالمونلا جایگاه ویژه‌ای داشته و سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا سروار انتریتیدیس، یکی از مهمترین عوامل گاستروانتریت اپیدمیک و آندمیک در انسان در سرتاسر جهان می‌باشد. سالمونلا انتریتیدیس جز سه سروتیپ با اهمیت و غالب در اکثر کشورهای جهان در انسان می‌باشد، مخزن اصلی این سروتیپ، گله‌های طیور، گوشت و تخم‌مرغ خام آلوده است که منبع و ناقل مهمی جهت عفونت‌های انسانی محسوب می‌گردند.[۱۱]

در این مطالعه، شایعترین سروار سالمونلا انتریتیدیس با فراوانی ۷۵٪ گزارش شده است. که ما شاهد افزایش عفونت‌های سالمونلا و سروار انتریتیدیس در تهران از ٥٤٪ در سال ۱۳۸۸ به ۷۵٪ در سال ۱٤۰۲ هستیم.[۱]

شیوع بالای مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی در پاتوژن‌های منتقل شونده از غذا، در سال‌های اخیر به‌دلیل استفاده وسیع مواد ضدمیکروبی در موارد مختلف از جمله مصارف درمانی در پزشکی و دامپزشکی، مصارف پیشگیری و نیز به‌عنوان فاکتور رشد، گزارش شده است.[۱۲]

مقاومت رو به افزایش آنتی‌بیوتیکی در سروارهای سالمونلا غیرتیفوییدی، منجر به افزایش ایجاد سروارهای دارای مقاومت چندگانه شده و یک مشکل جهانی برای بهداشت عمومی است.[۱۳] انتقال ژن‌های مقاومت از باکتری‌های آلوده کننده حیوانات مورداستفاده به‌عنوان منبع غذایی انسان از طریق زنجیره غذایی به پاتوژن‌های انسانی خطر جدی برای سلامت انسان است.[۱٤]

بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ٤٤ جدایه سالمونلا انتریتیدیس جدا شده از نمونه‌های بالینی نشان داد که جدایه‌های سالمونلا انتریتیدیس دارای بیشترین حساسیت به ایمی‌پنم و مروپنم (۱۰۰٪) بودند و حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون، سفتازیدیم و سفوتاکسیم به ۹۳/۲٪، ۹۰/۹، ۹٤/۱٪ بودند. ۸۱/۸٪ جدایه‌ها به کوتریماکسازول حساس بودند، حساسیت به آمپی‌سیلین ۸٤/۱٪ بود. تنها ۹/۱٪ جدایه‌ها به سیپروفلوکساسین حساس بودند، در حالی‌که ۷۳/۱٪ جدایه‌ها دارای حساسیت متوسط بودند و ۱۳/٦٪ مقاوم بودند. بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید مشاهده شد که ٦٤/۲٪ جدایه‌ها مقاوم بودند. تنها یک ایزوله به کلرامفنیکل مقاوم بود. سالمونلاها از جمله باکتری‌هایی هستند که قادر به کسب مقاومت نسبت به مواد ضدمیکروبی از راه‌های مختلف می‌باشند و می‌توانند این صفت را به یکدیگر و سایر باکتری‌های روده‌ای انتقال دهند و بدین طریق می‌توانند منتشر شده و سبب بسیاری از اپیدمی‌ها گردند.[۱٤]

امروزه فلوروکینولون‌ها و نسل سوم سفالوسپورین‌ها داروهای انتخابی درمان سالمونلوز مهاجم در انسان و نیز حیوانات می‌باشند. متاسفانه در سال‌های اخیر مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های فوق در میان سروارهای سالمونلا بروز نموده که درمان موفقیت‌آمیز موارد سالمونلوز مهاجم را پیچیده و مشکل نموده است.[۱٤] درمطالعه Eshaghi Zadeh وهمکاران در بین ۳۰ سروار مختلف سالمونلا جدا

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-17]

شده از کودکان مبتلا به گاستروانتریت از بیمارستان مرکز طبی کودکان شایعترین سروووار سالمونلا انتریتیدیس با فراوانی ۳۶٪ و سپس سالمونلا پاراتیفی B بود. بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به نالیدیکسیک اسید با فراوانی ۵۳/۳٪ مشاهده شد. ۸۱٪ سویه‌ها MDR بودند. در مطالعه ما نیز شایعترین سروووار انتریتیدیس و بیشترین میزان مقاومت به نالیدیکسیک اسید مشاهده گردید.[۱۵]

با تعیین MIC آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین که نسبت به روش دیسک دیفیوژن از دقت بالاتری برخوردار است، در جدایه‌هایی که دارای حساسیت کاهش‌یافته یا مقاومت در روش دیسک دیفیوژن بودند، هیچ کدام ازجدایه‌ها دارای مقاومت نبودند.

و مابقی جدایه‌ها که دارای حساسیت کاهش‌یافته در آزمون دیسک دیفیوژن بودند دارای MIC ما بین ۰/۰۲۵ µg/ml–۰/۰۰۶ بودند و طبق پروتکل استاندارد CLSI ۲۰۲۳ دارای حساسیت و یا حساسیت کاهش‌یافته نسبت به این دارو تشخیص داده شدند. دامنه میزان MIC سیپروفلوکساسین در سایر مطالعات در مناطق مختلف نیز مانند نتیجه ما بود.

در مطالعه حاضر در هیچ کدام از جدایه‌هایی که دارای مقاومت و یا حساسیت کاهش‌یافته نسبت به سیپروفلوکساسین بودند ژن‌های *qnrA, qnrB, qnrS* مشاهده نگردید. نتیجه به‌دست آمده در مطالعه حاضر با مطالعه Hur و همکاران در کره مطابقت دارد. در این مطالعه نشان داده شده است که در بین ٤٦ ایزوله ۳۹ ایزوله به نالیدیکسیک اسید و یک ایزوله به نالیدیکسیک اسید و سیپرو فلوکساسین مقاوم بودند.

با این‌حال تنها یک ایزوله ژن *qnr* را حمل می‌کرد که نشان می‌دهد مقاومت در سالمونلا انتریتیدیس به کوئینولون‌ها وابسته به این ژن نمی‌باشد. این سطح از مقاومت در مقابل این گروه فلوروکینولون‌ها، احتمالا مربوط به موتاسیون در ژن‌هایی نظیر *gyrA* و یا *parC* می‌باشد و ممکن است حاصل فشار انتخابی بالا ناشی از مصرف زیاد و روزمره آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکساسین و دیفلوکساسین در طیور باشد.

امروزه آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکساسین و دیفلوکساسین از فلوروکینولون‌های اصلی هستند که در درمان عفونت‌های باکتریایی گرم منفی طیور در ایران تجویز می‌شوند. در مطالعه ما نیز تمام سویه‌های مقاوم به فلورکوئینولون‌ها دارای ژن *gyrA* بودند[۱۶].

Sánchez و همکاران مقاومت آنتی‌بیوتیکی ٤۹ ایزوله سالمونلا را موردبررسی قرار دادند. در این مطالعه میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده فلوروکئینولون از جمله سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین و انروفلوکساسین به ترتیب ۷۵٪، ۵۷/۱٪ و ۳۸/۸٪ گزارش شده است. در این مطالعه ۲٤/٤۹ دارای ژن *qnrB* بودند.[۱۷]

Long و همکاران الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی وفاکتورهای ویرولانس سویه‌های غیرتیفوییدی سالمونلا را موردبررسی قرار دادند. در این مطالعه ۸۹٪ سویه‌ها MDR گزارش شده‌اند. در این مطالعه ۳٤/۵٪ سویه‌ها به نالیدیکسیک اسید و ۱۳/۸٪ به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند.[۱۸] Abdi و همکاران تعداد ٦۱ ایزوله سالمونلا انتریتیدیس جدا شده را از لحاظ الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی موردبررسی قرار دادند.

نتایج آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که ٤٤ جدایه (۷۳/۳٪) به نالیدیکسیک اسید مقاوم بود. از بین سویه‌های موردبررسی به ترتیب فراوانی *qnrB* و *qnrS*، ٦۲/۵٪ و ۳۷/۵٪ گزارش شده است.[۱۹] در مطالعه ما هیچ کدام ازسویه‌های مقاوم به نالیدیکسیک اسید حاوی ژن‌های فوق نبودند. ولی ژن *gyrA* درتمام سویه‌های مقاوم به مشاهده گردید.

مقاومت به سفالوسپورین‌های با دامنه وسیع در میان سویه‌های سالمونلا طی دو دهه‌ی گذشته درحال افزایش بوده است. مطالعه حاضر نشانگر بروز مقاومت در جدایه‌های سالمونلا نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم نظیر سفتریاکسون، سفوتاکسیم، سفتازیدیم می‌باشد.

مطالعات انجام شده توسط Eshraghi وهمکاران، Fardsanei و همکاران نشان‌دهنده افزایش جدایه‌های سالمونلا نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم می‌باشد. میزان مقاومت به‌دست آمده نسبت به آنتی‌بیوتیک سفتازیدیم ٦/۸٪ به‌دست آمده است. همچنین ٦/۸٪ جدایه به سفتریاکسون مقاوم بودند.[۱و۲۰]

ایجاد مقاومت نسبت به سفتریاکسون اهمیت بالینی دارد زیرا سفتریاکسون به‌عنوان داروی نجات بخش حیات به خصوص در موارد درمان سالمونلوز مهاجم در کودکان محسوب می‌گردد. مشاهده مقاومت نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم، نشان‌دهنده استفاده بدون‌نظارت داروهای فوق می‌باشد که درمان عفونت سالمونلوز را در موارد ضروری مخاطره‌آمیز می‌نماید. از طرفی دلیل گسترش روز

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-17]

افزون این گونه مقاومت‌ها غالبا ژن‌های پلاسمیدی سازنده آنزیم بتالاکتاماز می‌باشند که باعث غیرفعال شدن هسته مرکزی سفالوسپورین‌ها و بی‌اثر شدن دارو می‌شوند.[۲۱]

باید توجه داشت که الگوی مقاومت دارویی یک پدیده محلی است و استفاده از آنتی‌باکتریال‌ها باتوجه به الگوی مقاومت دارویی دیگر مناطق یا کشورها چندان جایز نیست، چرا که بنا به مکان و زمان این الگوها تغییر می‌کنند. بنابراین نظارت و کنترل دقیق مواد غذایی از لحاظ آلودگی به سالمونلا و بررسی الگوی مقاومت دارویی آن یکی از راه‌های مهم پیشگیری و کاهش عفونت‌های انسانی می‌باشد.

نتیجه گیری، سالمونلا انتریکا زیر گونه انتریکا سروار انتریتیدیس، یکی از مهمترین عوامل گاستروانتریت اپیدمیک و آندمیک در انسان در سرتاسر جهان می‌باشد. در این مطالعه شاهد افزایش این سروار در جدایه‌های انسانی و غذایی به موازات افزایش آن در سرتاسر جهان هستیم.

فلوروکینولون‌ها و نسل سوم سفالوسپورین‌ها داروهای انتخابی درمان سالمونلوز مهاجم در انسان و نیز حیوانات می‌باشند. متاسفانه در سال‌های اخیر مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های فوق در میان سرووارهای سالمونلا بروز نموده که درمان موفقیت‌آمیز موارد سالمونلوز مهاجم را پیچیده و مشکل نموده است.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی ازپایان نامه تحت عنوان "ارزیابی اثرآنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین به عنوان داروی انتخابی در درمان گاستروانتریت‌های ناشی سالمونلا ا نتریتیدیس" در مقطع دکتری عمومی در رشته پزشکی در سال ۱۴۰۲ با کد پایان نامه ۱۷۷۶ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی قزوین،دانشکده پزشکی گروه میکروب شناسی اجرا شده است.

References

1. Eshraghi S, Dalall MM, Fardsanei F, Salehi TZ, Ranjbar R, Nikmanesh B, Aminharati F, Abdosamadi Z, Akbari A. Salmonella enteritidis and antibiotic resistance patterns: a study on 1950 children with diarrhea. *Tehran University Medical Journal* 2010;67(12):876-82.
2. McKelvey JA, Yang M, Jiang Y, Zhang S. Salmonella enterica serovar Enteritidis antimicrobial peptide resistance genes aid in defense against chicken innate immunity, fecal shedding, and egg deposition. *Infect Immun* 2014;82:5185– 202.
3. Zou M, Keelara S, Thakur S. Molecular characterization of Salmonella enterica serotype Enteritidis isolates from humans by antimicrobial resistance, virulence genes, and pulsed-field gel electrophoresis. *Foodborne Pathog Dis* 2012;9:232–8. [3
4. Herrera-Sánchez MP1, Castro-Vargas RE1, Fandiño-de-Rubio LC2, Rodríguez-Hernández R2, Molecular identification of fluoroquinolone resistance in Salmonella spp. isolated from broiler farms and human samples obtained from two regions in Colombia. *Vet World* 2021
5. Washington Winner JR, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, P S, et al. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th edn. Lippincott Williams and Wilkins Press, Philadelphi. 2001.
6. Popoff MY, Bockemühl J, Gheesling LL. Supplement 2002 (no. 46) to the Kauffmann–White scheme. Microbiol. *Res* 2004;155 (7):568-70.
7. Mirzaie S, Hassanzadeh M, Ashrafi I. Identification and characterization of Salmonella isolates from captured house sparrows. Turk J Vet Anim Sci. 2010; 34(1):181-6.
8. Patel J, Cockerill F, Alder J, Bradford P, Eliopoulos G, Hardy D. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; thirty-three informational supplement. *CLSI standards for antimicrobial susceptibility testing* 2023; 34(1):1-226.
9. Ahmed AM, Ishida Y, Shimamoto T. Molecular characterization of antimicrobial resistance in Salmonella isolated from animals in Japan. *Journal of applied microbiology* 2009;106(2):402-9.
10. Ayelo Navarro A, Geronimo Pardo M, Torres Lamberti V, Mateo Cerdan CM, Jimenez Vizuete JM, Peyro Garcia R. [Salmonella enteritidis bacteraemia as clinical onset of acquired immune deficiency syndrome]. *Revista espanola de anestesiologia y reanimacion* 2013; 60(2):103-5.
11. Taneja N, Appannanavar SB, Kumar A, Varma G, Kumar Y, Mohan B, Sharma M. Serotype profile and molecular characterization of antimicrobial resistance in non-typhoidal Salmonella isolated from gastroenteritis cases over nine years. *Journal of medical microbiology* 2014;63(1):66-73.
12. Rayamajhi N, Kang SG, Kang ML, Lee HS, Park KY, Yoo HS. Assessment of antibiotic resistance phenotype and integrons in Salmonella enterica serovar Typhimurium isolated from swine. *Journal of Veterinary Medical Science* 2008;70(10):1133-7.
13. Galanis E, Wong DM, Patrick ME, Binsztein N, Cieslik A, Chalermchaikit T, Aidara-Kane A, Ellis A, Angulo FJ, Wegener HC. Web-based surveillance and global Salmonella distribution, 2000–2002. *Emerging infectious diseases* 2006;12(3):381.
14. Tack B, Vanaenrode J, Verbakel JY, Toelen J, Jacobs J. Invasive non-typhoidal Salmonella infections in sub-Saharan Africa: a systematic review on antimicrobial resistance and treatment. *BMC medicine* 2020;18:1-22.
15. Eshaghi Zadeh SH, Fahimi H, Fardsanei F, Soltan Dallal MM. Antimicrobial resistance and presence of class 1 integrons among different serotypes of Salmonella spp. recovered from children with diarrhea in Tehran, Iran. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders*) 2020;20(2) :160-6.
16. Hur J, Kim JH, Park JH, Lee YJ, Lee JH. Molecular and virulence characteristics of multi-drug resistant Salmonella Enteritidis strains isolated from poultry. *Vet Journal* 2011; 189:306–11.
17. Herrera-Sánchez MP, Castro-Vargas RE , Fandiño-de-Rubio LC , Rodríguez-Hernández R , Molecular identification of fluoroquinol-one resistance in Salmonella spp. isolated from broiler farms and human samples obtained from two regions in Colombia. *Vet World* 2021
18. Long L, You L, Wang D, Wang M, Wang J, Bai G, et al. Highly prevalent MDR, frequently carrying virulence genes and antimicrobial resistance genes in Salmonella enterica serovar 4,[5],12:i:- isolates from Guizhou Province, China. *PLoS ONE*

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-17]

2022; 17(5): e0266443.
19. Hanieh Abdi, Kumars Amini , Akram Sadat Tabatabaee Bafroee.Detection of Quinolone resistance genes in the Salmonella enteritidis strains isolated from food samples by Multiplex-PCR method. S*abzevar University of Medical Sciences* 2018.1-6.
20. Fardsanei F, Nikkhahi F, Bakhshi B, Salehi TZ, Tamai IA, Dallal MS. Molecular characterization of Salmonella enterica serotype Enteritidis isolates from food and human samples by serotyping, antimicrobial resistance, plasmid profiling,(GTG) 5-PCR and ERIC-PCR. *New microbes and new infections* 2016;14:24-30.
21. 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 Pathogens and Disease* 2013;10(11):963-8.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-17]

TUMJ Tehran University Medical Journal, December 2023; Vol. 81, No. 9: 676-684 Original Article

Investigation of the frequency of resistance to fluoroquinolones in Salmonella enterica subspecies enterica serovar Enteritidis isolates isolated from hospital gastroenteritis samples

Kasra Mardani M.D.[1,2]
Farhad Nikkhahi Ph.D.[1]
Fatemeh fardsanei Ph.D[1*]

1- Medical Microbiology Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.
2- Student Research Committee, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

[*]Corresponding author: Medical Microbiology Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
Tel: +98-28-33336008
E-mail: f.fardsanei@qums.ac.ir

Abstract

Received: 02 Oct. 2023 Revised: 09 Oct. 2023 Accepted: 15 Nov. 2023 Available online: 22 Nov. 2023

Background: Salmonella enterica subspecies enterica serotype Enteritidis (S. Enteritidis) is one of the leading causes of food-borne infections associated with the consumption of contaminated food products of animal origin in humans. gastroenteritis due to Salmonella is usually a self-limiting disease and does not require antibiotic therapy. However, antibiotic treatment for salmonellosis may be lifesaving for patients with severe infections.The objective of the present study was to examine antimicrobial resistance and determine its genetic basis in recently isolated S.Enteritidis strains.

Methods: During this study, in a cross-sectional descriptive study, 44 isolates of Salmonella enteritidis from human sources were investigated between September 2021 and September 2022.. After identification of the isolates using phenotypic and molecular methods by Multoplex-PCR, antibiotic resistance testing was performed according CLSI 2023. The strains were examined for the presence of qnrA,qnrB,qnrS and gyrA resistance genes by PCR.

Results: In a cross-sectional descriptive study, 44 isolates of Salmonella Enteritidis from human sources were investigated between September 2022 and September 2023. 100% of the strains were sensitive to imipenem and meropenem, and the sensitivity to the antibiotics ceftriaxone, ceftazidime, and cefotaxime were 93.2%, 90.9%, and 94.1%, respectively. 81.8% of isolates were sensitive to cotrimoxazole, sensitivity to ampicillin was 84.1%. Only 9.1% of isolates were sensitive to ciprofloxacin. Based on MIC results, 16 isolates had MIC between 0.002 and 0.064 and were placed in the sensitive area. 28 isolates had MIC between 0.125 and 0.5 and were placed in the area of reduced sensitivity. None of the strains resistant to disk diffusion method were resistant to MIC method. qnrA, qnrB and qnrS genes were not observed among ciprofloxacin resistant strains. All nalidixic acid resistant strains had gyrA gene.

Conclusion: In general, it was shown in this study that the resistance to the fluoroquinolone family is increasing among Salmonella Enteritidis isolates. On the other hand, we see a decrease in the sensitivity and prevalence of strains resistant to broad-spectrum cephalosporins among serovar Enteritidis, which is the drug of choice for extraintestinal infections.

***Keywords*:** Salmonella Enteritidis, antibiotic resistance, gastroenteritis, ciprofloxacin.

Copyright © 2023 Mardani et al. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-07-17]