

بررسی مولکولی ژن‌های مقاومت به کینولون (*qnr*) در سالمونلا تیفی موریوم جدا شده از نمونه‌های غذایی

طیبه قاسمی نژاد رایینی^۱، بابک خیرخواه^{۲*}، کیومرث امینی^۳

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، واحد سیرجان، دانشگاه آزاد اسلامی، سیرجان، ایران

۲. استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

۳. استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: babakheirkhah@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۵/۷/۲۱ پذیرش نهایی: ۹۶/۳/۳۰)

چکیده

سالمونلوز یک بیماری مهم در انسان و گونه‌های حیوانات است که به وسیله سرووارهای مختلف سالمونلا انتریکا ایجاد می‌شود. سرووار تیفی موریوم یکی از شایع‌ترین سرووارها در انسان می‌باشد. کینولون‌ها و فلوروکینولون‌ها خانواده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف هستند که در درمان سالمونلوز مورد استفاده قرار می‌گیرند. ژن‌های *qnr* جزء عوامل مقاومت کینولونی وابسته به پلاسמיד (PMQR) هستند که باعث گسترش مقاومت در باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه می‌شوند. هدف از این تحقیق شناسایی ژن‌های مقاومت کینولونی *qnr* در سالمونلا تیفی موریوم جدا شده از نمونه‌های مواد غذایی بود. در این تحقیق ۶۰ نمونه سالمونلای جداسازی شده از مواد غذایی جمع‌آوری گردید و با استفاده از آزمون‌های کشت و بیوشیمیایی تأیید شدند. سروتایپینگ نمونه‌ها با استفاده از آنتی‌سرم‌های O و H انجام گرفت. آزمون Multiplex-PCR جهت شناسایی ژن‌های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* انجام گرفت. تمامی ۶۰ نمونه با استفاده از آزمون‌های کشت و بیوشیمیایی به عنوان سالمونلا تأیید شدند. نتایج سروتایپینگ نشان داد هر ۶۰ نمونه مربوط به گروه سرمی B و سرووار تیفی موریوم متعلق بودند. نتایج Multiplex-PCR نشان داد ۵ نمونه دارای ژن *qnrB* و ۴ نمونه دارای ژن *qnrS* مثبت و ۱ نمونه دارای ژن *qnrA* بود. نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده حضور ژن‌های *qnr* در نمونه‌های سالمونلا تیفی موریوم جداسازی شده از مواد غذایی می‌باشد که اهمیت ویژه‌ای از لحاظ بهداشت عمومی دارا می‌باشد. جهت جلوگیری از این مقاومت کینولونی، نیاز به برنامه‌های پایش و مراقبت جهت شناسایی این ژن‌ها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سالمونلا تیفی موریوم، Multiplex PCR، ژن‌های *qnr*

مقدمه

بیماری‌های منتقله از غذا یکی از مشکلات جدی در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه می‌باشد سالانه ۱۰۰ میلیون نفر در جهان مبتلا به بیماری‌های منتقله از طریق آب و غذا می‌شوند که این مسئله در افراد دارای ضعف سیستم ایمنی و سوء تغذیه بیشتر دیده می‌شود. گونه‌های متعددی از باکتری‌ها مانند *اشریشیا کولای*، *سالمونلا*، *لیستریا* و *یرسینیا* می‌توانند از طریق غذا وارد بدن انسان شده و بیماری ایجاد کنند (Egli et al., 2002; Tacket et al., 1984). *سالمونلا* یک باکتری گرم منفی و بی‌هوازی اختیاری و یکی از جنس‌های خانواده *انتروباکتریاسه* است که در دستگاه گوارش میزبان‌های متعددی از جمله طیور، حیوانات اهلی، وحشی و انسان زندگی می‌کنند و همچنین یکی از عوامل بیماری منتقله از طریق غذا می‌باشد. سالانه ۱/۴ میلیون نفر در کشور آمریکا به سالمونلوزیس مبتلا می‌شوند که ۹۵٪ آن‌ها از راه غذا می‌باشد (Cortez et al., 2006; Wang et al., 2015). *سالمونلا* دارای سروارهای متعددی می‌باشد که به دو دسته سالمونلاهای تیفوئیدی و غیر تیفوئیدی تقسیم می‌شود. سروارهای غیر تیفوئیدی *سالمونلا* به خصوص انتریتیدیس و تیفی موریوم از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده عفونت غذایی می‌باشند (Braden et al., 2006). گوشت مرغ، گوشت قرمز، تخم مرغ و شیر از جمله مهم‌ترین منابع عفونت‌های سالمونلایی در انسان می‌باشند (Ata et al., 2014). در بیشتر موارد این عفونت محدود به دستگاه گوارش می‌شود و خود محدود شونده است اما در افراد دارای

ضعف سیستم ایمنی، کودکان، افراد سالمند، در موارد سالمونلوز مهاجم و یا عفونت‌های طولانی می‌تواند تهدید کننده زندگی باشد. در این موارد درمان آنتی‌بیوتیکی ضروری می‌باشد. فلوروکینولون‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام وسیع‌الطیف اولین خط درمانی این عفونت می‌باشند (Gonzales et al., 2013). استفاده بی‌رویه مواد ضد میکروبی در دام‌های تولیدکننده غذا و بیماری‌های انسانی منجر به ایجاد سویه‌های دارای مقاومت چندگانه (Multi Drug Resistance) شده است (Wang et al., 2015). مقاومت به فلوروکینولون‌ها در اثر تغییر در آنزیم‌های DNA ژیراز، توپوایزومراز IV و تغییر در ورود دارو و پمپ ایفلاکس (Efflux Pump) به وجود می‌آید. همچنین، سه مکانیسم وابسته به پلاسمید نیز وجود دارند که موجب مقاومت به اسید نالیدیکسیک و کاهش حساسیت به آنتی‌بیوتیک سپروفلوکساسین می‌شوند که عبارتند از: QepA ایفلاکس، aac(6')-ib-cr آمینوگلیکوزید اسیل ترانسفراز و پروتئین‌های QNR شامل qnrA، qnrB، qnrC، qnrD و qnrS. ژن‌های *qnr* پروتئین‌های پنتاپتیدی را کد می‌کنند که به DNA ژیراز متصل شده و آن را در برابر کینولون‌ها محافظت می‌کند (Gonzales et al., 2013). با توجه به بروز و شیوع بالای مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها، هدف از مطالعه حاضر بررسی حضور ژن‌های مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید شامل *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* در سویه‌های *سالمونلا تیفی موریوم* جداسازی شده از مواد غذایی به روش Multiplex-PCR می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- جمع‌آوری و تأیید جدایه‌های سالمونلا

در این مطالعه تعداد ۶۰ نمونه سالمونلای جداسازی شده از نمونه‌های مواد غذایی از آزمایشگاه‌های مواد غذایی سطح شهر کرمان جمع‌آوری و با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی نظیر سیمون سیترات تست، SIM، TSI، لیزین دکربوکسیلاز، متیل رد، ووگس پروسکوئر، (همگی محیط‌های مصرفی ساخت شرکت MERCK بودند) تأیید گردید. سروتایپینگ نمونه‌های سالمونلای جداسازی شده با استفاده از آنتی‌سرم‌های O و H با روش آگلوتیناسیون روی لام و آگلوتیناسیون داخل لوله طبق دستورالعمل شرکت سازنده (Difco, Detroit, USA) صورت گرفت.

- ردیابی ژن‌های مقاومت به کینولون‌ها

استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA ژنومیک باکتریایی گرم منفی (cat no. MBK0041) مرکز ذخایر ژنتیکی انجام شد. جهت شناسایی ژن‌های دخیل در مقاومت به کینولون‌ها، از پرایمرهای *qnrA*، *qnrB* و *qnrS*

استفاده شد (Cattoir et al., 2007) (جدول ۱). از آزمون Multiplex PCR جهت شناسایی این ژن‌ها بر روی نمونه‌ها انجام گرفت. آزمایش در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱/۵ mM کلرید منیزیم، ۲۵۰ μmol از dNTP، ۰/۴ μmol از هر یک از پرایمرها و ۱ واحد از *Taq* پلی‌مراز و ۳ میکرولیتر DNA الگو (با غلظت ۱۰ نانوگرم) انجام شد. شرایط سیکل حرارتی برای PCR بدین شرح بود: واسرشت اولیه در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل هر کدام شامل: واسرشت در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۰ ثانیه، اتصال در ۵۸ درجه سلسیوس به مدت ۴۰ ثانیه، مرحله بسط در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۹۰ ثانیه و نیز بسط نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام شد. محصولات PCR در ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شدند، با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند و تحت نور UV مشاهده و مستندسازی شدند. هم‌چنین در این آزمون از شاهد منفی باکتری/استاف اورئوس و کنترل مثبت باکتری کلبسیلا پنومونیه *BI* که واجد این ژن بوده است، استفاده گردید.

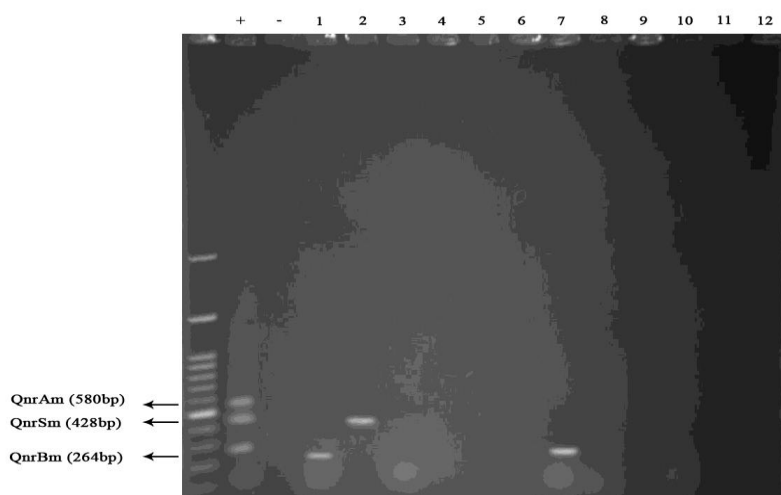
جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه جهت شناسایی ژن‌های مقاومت به کینولون‌ها (Cattoir et al., 2007)

اندازه محصول (bp)	توالی (۵' به ۳')	ژن
۵۸۰	F-AGAGGATTTCTCAGCCAGG R-TGCCAGGCACAGATCTTGAC	<i>qnrA</i>
۲۶۴	F-GGMATHGAAATTCGCCACTGC R-TTTCYGYCCGCGAGTCGAAC	<i>qnrB</i>
۴۲۸	F-GCAAGTTCATTGAACAGGGT R-TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG	<i>qnrS</i>

یافته‌ها

موریوم متعلق بودند. بر اساس نتیجه آزمایش مولتی پلکس PCR مشخص گردید ۵ نمونه (۸۳٪) دارای ژن *qnrB*، ۴ نمونه (۶۶٪) دارای ژن *qnrS* و ۱ نمونه (۱۶٪) دارای ژن *qnrA* بودند.

بر اساس آزمون‌های کشت و بیوشیمیایی هر ۶۰ نمونه به‌عنوان سالمونلا شناخته شدند. نتایج سروتایپینگ نشان داد تمامی نمونه‌ها به گروه سرمی B و سرووار تیفی



شکل ۱) - نتایج واکنش M-PCR برای شناسایی ژن‌های مورد مطالعه، به ترتیب از چپ به راست مارکر ۱۰۰ bp، کنترل مثبت، کنترل منفی، نمونه جداسازی شده ۱۲-۱ حاوی ژن *qnrB* با طول ۴۲۸ و ۲۶۴ bp قابل مشاهده می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

غذا از لحاظ بهداشت عمومی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. این مقاومت درمان آنتی‌بیوتیکی را با مشکل مواجه می‌سازد. این در حالی است که میزان واگیری سالمونلوزیس غیر تیفوئیدی تا ۶۰٪ و میزان مرگ‌ومیر در اثر این بیماری بسته به کشور و سرووار ۱ تا ۴ درصد می‌باشد. برای افراد سالمند و کودک و به‌خصوص در کشورهای در حال توسعه و در موارد حضور مقاومت آنتی‌بیوتیکی این میزان بالاتر می‌باشد حضور ژن‌های مقاومت کینولونی وابسته به پلاسמיד منجر به مقاومت به آنتی‌بیوتیک اسیدنالییدکسیک و کاهش حساسیت به

سالمونلاهای غیر تیفوئیدی از مهم‌ترین عوامل عفونت غذایی می‌باشند. در بین سرووارهای سالمونلا سرووارهای تیفی موریوم و انتریتیدیس از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. نتایج تحقیقات در ایران نشان می‌دهد سرووار تیفی موریوم یکی از شایع‌ترین سرووارهای ایجاد کننده سالمونلوز در موارد انسانی می‌باشد (Firozeh *et al.*, 2011; Ranjbar *et al.*, 2011). فلوروکینولون‌ها و بتالاکتام‌های وسیع‌الطیف در درمان سالمونلوز مهاجم استفاده می‌شوند. حضور سویه‌های دارای مقاومت چندگانه به‌خصوص از طریق

سویه کلبسیلا پنومونیه دارای مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی در آمریکا شناسایی شد و در سایر باکتری‌های خانواده *انتروباکتریاسه* هم می‌تواند حضور داشته باشد (Veldman *et al.*, 2014). در مطالعه سال ۱۳۹۳، سویه‌های شیگلا از جهت وجود ژن‌های *qnr* مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این مطالعه نشان داد ۵/۴٪ نمونه‌ها دارای ژن *qnrS* بودند ولی هیچ‌کدام از نمونه‌ها واجد ژن *qnrA* یا *qnrB* نبودند (Moghbelli *et al.*, 2014). در مطالعه‌ای، نمونه‌های سالمونلا انتریتدیس جداسازی شده از گوشت مرغ از لحاظ حضور ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه ۸/۷٪ نمونه‌ها دارای ژن *qnrB*، ۴/۸٪ دارای ژن *qnrA* و ۰/۸٪ دارای ژن *qnrS* بودند (Wang *et al.*, 2014). در پژوهشی با بررسی حضور ژن‌های مقاومت در سرووارهای سالمونلا، مشخص گردید که هر ۸ سویه مورد مطالعه دارای ژن *qnrB* بودند. به‌علاوه در این مطالعه نشان داده شد بین حضور ژن‌های ESBL و ژن *qnrB* ارتباطی وجود دارد (Gonzales *et al.*, 2013). همچنین مکانیسم مقاومت کینولونی وابسته به پلاسמיד در سرووارهای سالمونلای جداسازی شده از گوشت مرغ مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه تنها ۲٪ سویه‌ها دارای ژن *qnrS* بود اما هیچ‌کدام از سویه‌ها ژن *qnrA* یا *qnrB* را نداشتند (Ata *et al.*, 2014). در پژوهش سال ۲۰۰۷، حضور ژن‌های *qnr* در سرووارهای سالمونلای جداسازی شده از کشور فرانسه مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه که مجموعاً ۴۹۹ سویه سالمونلا متعلق به

فلوروکینولون‌ها (مانند سپیروفلوکساسین) می‌شود (Jiang *et al.*, 2012). هم‌چنین گزارش‌ها متعددی مبنی بر رابطه بین حضور ژن‌های ESBL و ژن‌های مقاومت کینولونی وابسته به پلاسמיד وجود دارد که این امر می‌تواند بسیار مخاطره‌آمیز باشد (Wang *et al.*, 2015; Gonzales *et al.*, 2014; Jiang *et al.*, 2013). در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۶ بر روی نمونه‌های سالمونلای تیفوئیدی و غیرتیفوئیدی جداسازی شده از بیماران بستری مقاوم به آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید انجام شد، مشخص شد که ۲۴/۴٪ نمونه‌ها مقاوم به اسیدنالیدیکسیک بودند (Mozafari *et al.*, 2007). هم‌چنین در مطالعه سال ۱۳۸۸، از ۱۲۷ سویه سالمونلای جداسازی شده از بیماران مبتلا به اسهال، درصد بالایی از مقاومت به آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید (۴۵/۷٪) را نشان دادند (Hamidian *et al.*, 2009). از آنجایی مقاومت به اسید نالیدیکسیک و حضور ژن‌های مقاومت آن می‌تواند نشانگری در جهت کاهش حساسیت به سپیروفلوکساسین باشد و تاکنون مطالعه‌ای در کشور ما در مورد حضور این ژن‌ها در سویه‌های سالمونلا صورت نگرفته است، در مطالعه حاضر به بررسی حضور ژن‌های *qnr* که یکی از عوامل ایجاد مقاومت به اسید نالیدیکسیک و کاهش حساسیت به سپیروفلوکساسین می‌باشد، پرداخته شد. در مطالعه حاضر از مجموع ۶۰ نمونه سالمونلا تیفی‌موریوم جداسازی شده از مواد غذایی ۸/۳٪ دارای ژن *qnrB*، ۶/۶٪ دارای ژن *qnrS* و ۱/۶٪ دارای ژن *qnrA* بودند. مقاومت کینولونی وابسته به ژن‌های *qnr* اولین بار در یک

مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه از ۳۱ نمونه مورد بررسی، ۱۳ نمونه دارای ژن‌های مقاومت به فلوروکینولون‌ها بودند که از این میان ۵ نمونه دارای ژن *qnrA* بودند (Jiang et al., 2014). در تحقیقات دیگری جدایه سالمونلا جداسازی شده از منابع مختلف شامل انسان، دام و غذا از لحاظ مقاومت به فلوروکینولون‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه ۳۹ جدایه دارای مقاومت به سیپروفلوکساسین بودند که از این تعداد، ۷۹/۴٪ دارای ژن *qnrS* و ۷/۶٪ دارای ژن *qnrB* بودند (Veldman et al., 2008). در مطالعه در کشور چین بر روی ۲۴ نمونه سالمونلای جداسازی شده از شیر خشک نوزادان، ۴۵/۷٪ نمونه‌ها دارای ژن *qnrS*، ۱۷/۵٪ دارای *qnrA* و ۱۵٪ واجد ژن *qnrB* بودند (Yang et al., 2014). نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده حضور ژن‌های *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* در سویه‌های سالمونلا تیفی موریوم جداسازی شده از مواد غذایی بود که حضور این ژن‌ها اگرچه به‌میزان کم در سویه‌های جداسازی شده از مواد غذایی می‌تواند بسیار خطرناک باشد زیرا سبب کاهش حساسیت به فلوروکینولون‌ها شده و درمان عفونت‌های سالمونلایی را دچار مشکل می‌سازد. اما با این حال در مورد شناسایی حضور ژن‌های *qnr* در سویه‌های سالمونلا نیاز به مطالعات بیشتری می‌باشد. به‌علاوه شناسایی این ژن‌ها جهت اتخاذ سیاست‌های درمانی مناسب جهت کنترل و درمان عفونت‌ها و در عین حال جلوگیری از انتشار سویه‌های مقاوم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد.

سرووارهای تیفی موریوم، انتریتیدیس و هادار مورد مطالعه قرار گرفت، تنها ۲/۰٪ جدایه‌ها دارای ژن *qnrA* بودند، اما هیچ‌کدام از جدایه‌ها واجد ژن *qnrB* یا *qnrS* نبودند (Cattoir et al., 2007). در تحقیقی حضور ژن‌های مقاومت به کینولون‌ها در ۳۶۳ سویه سالمونلا و اشریشیاکولای مورد بررسی قرار گرفت که در این پژوهش ۴/۱٪ سویه‌ها دارای ژن‌های *qnrB* و *qnrS* بودند و هیچ‌کدام از سویه‌ها ژن *qnrA* را نداشتند (Jones et al., 2013). در سال ۲۰۱۳ حضور ژن‌های مقاومت کینولونی در سویه‌های سالمونلای جداسازی شده از کشور برزیل مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه ۱۲۶ سویه سالمونلا متعلق به سرووارهای مختلف سالمونلا مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه تنها یک نمونه (سالمونلا انتریتیدیس) دارای ژن *qnrA* و یک نمونه (سالمونلا کروالیس) دارای ژن *qnrB* بود (Ferrari et al., 2013). مطالعه سال ۲۰۱۴، بر روی ۲۱۴ نمونه سالمونلا/انتریکای جداسازی شده از بیماران مبتلا به سالمونلوز از لحاظ حضور ژن‌های مقاومت نشان داد که ۲۰٪ نمونه‌ها دارای ژن *qnrS*، ۱/۴٪ دارای ژن *qnrB* و ۰/۵٪ نمونه‌ها دارای ژن *qnrA* بودند (Gunell et al., 2014). بررسی سال ۲۰۱۵ ژن‌های مقاومت به کینولون‌ها در سویه‌های سالمونلای غیر تیفوئیدی مشخص نمود که از مجموع ۱۰۴ سالمونلای مورد بررسی ۵۰ نمونه (۴۸٪) دارای یکی از ژن‌های *qnr* بودند (Skov et al., 2015). در مطالعه سال ۲۰۱۴، ژن‌های مقاومت به فلوروکینولون‌ها در سویه‌های سالمونلای جداسازی شده از دام‌های بیمار

سپاسگزاری

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

نگارنده کمال تشکر و سپاسگزاری خود را از کارکنان آزمایشگاه پژوهشی میکروبیولوژی پاسارگاد مهندس ابوالفضل مقدم که در انجام مراحل عملی این تحقیق یاری نمودند، اعلام می‌دارد.

منابع

- Ata, Z., Yibar, A., Arslan, E., Mustak, K. and Gunaydin, E. (2014). Plasmid-mediated quinolone resistance in *Salmonella* serotypes isolated from chicken carcasses in Turkey. *Acta Veterinaria Brno*, 83: 281–286.
- Braden, C.R. (2006). *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and egg; a national epidemic in the united states. *Food Safety*, 43: 512-517.
- Cattoir, V., Weill, F.X., Poirel, L., Fabre, L., Soussy, C.J. and Nordmann, P. (2007). Prevalence of *qnr* genes in *Salmonella* in France. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59: 751–754.
- Cattoir, V., Poirel, L., Rotimi, V., Soussy, C.J. and Nordmann, P. (2007). Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance *qnr* genes in ESBL producing enterobacterial isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60: 394-397.
- Cortez, A.L.L., Carvalho, A.C.F.B., Ikunob, A.A., Burger, K.P. and Vidal-Martins, A.M.C. (2006). Identification of *Salmonella* spp. Isolates from chicken abattoirs by multiplex-PCR. *Research in Veterinary Science*, 81: 340-344.
- Egli, T., Koster, W., Meile, L. (2002). Pathogenic microbes in water and food: changes and challenges. *FEMS Microbiology Review*, 26(2): 111–12.
- Firoozeh, F., Shahcheraghi, F., ZahraeiSalehi, T., Karimi, V. and Aslani, M.M. (2011). Antimicrobial resistance profile and presence of class I integrons among *Salmonella enterica* serovars isolated from human clinical specimens in Tehran, Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, 3(3): 112-117.
- Ferrari, R., Galiana, A., Cremades, R., Rodriguez, J.C., Magnani, M., Tognim, M.C.B., et al. (2013). Plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) and mutations in the topoisomerase genes of *Salmonella enterica* strains from Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(2): 657-662.
- González, F.A.M. (2013). Association of transferable quinolone resistance determinant *qnrB19* with extended-spectrum β -Lactamases in *Salmonella* GIVE and *Salmonella* Heidelberg in Venezuela. *International Journal of Microbiology*, Article ID 628185: 1-7.
- Gunell, M., Aulu, L., Jsalava, J., Lukinmaa-Åberg, S., Österblad, M., Ollgren, J., et al. (2014). Cefotaxime-resistant *Salmonella enterica* in travelers returning from Thailand to Finland. *Emerging Infectious Diseases*, 20(7): 1214-1217.
- Hamidian, M., Tajbakhsh, M., Peighambari, S.M., Dabiri, H., Shokrzadeh, L. and RezaDehbashi, M. (2009). Resistance to fluoroquinolones in *Salmonella* isolated from patients with acute diarrhea referring to Tehran hospitals. *Iranian Journal of Infection Disease*, 14(44): 51-54.
- Jiang, H.X., Song, L., Liu, J., Zhang, X.H., Ren, Y.N., Zhang, W.H., et al. (2014). Multiple transmissible genes encoding fluoroquinolone and third-generation cephalosporin resistance co-located in non-

- typhoidal *Salmonella* isolated from food-producing animals in China. *International Journal of Antimicrobial Agent*, 43: 242–247.
- Jones-Dias, D., Manageiro, V., Francisco, A.P., Martins, A.P., Domingues, G., Louro, D., et al. (2013). Assessing the molecular basis of transferable quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. from food-producing animals and food products. *Veterinary Microbiology*, 167: 523–531.
 - Mozafari, A., Forouhesh Tehrani, H. and Niakani, M. (2007). Nalidixic Acid Resistance Rate in Typhoidal and Non-Typhoidal *Salmonella* Isolated from Hospitalized Patients During One Year Period (2005-2006). *Iran University Medical Science*. 14(56): 43-51. [In Persian]
 - Moghbelli, M., Behnod, V. and Ranjbar, R. (2014). A study to determine antibiotic resistance and recognition qnr genes in *Shigella* strains isolated from patients admitted to Mofid's Children Medical Center, Tehran. *Journal of Microbial World*, 7(1): 49-57. [In Persian]
 - Ranjbar, R., Giammanc, G.M., Farshad, S., Owlia, P., Aleo, A. and Mammina, C. (2011). Serotypes, antibiotic resistance, and class 1 integrons in *Salmonella* isolates from pediatric cases of enteritis in Tehran, Iran. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8: 547-553.
 - Skov, R., Matuschek, E., Sjolund-Karlsson, M., Ahman, J., Petersen, A., Stegger, M., et al. (2015). Development of a pefloxacin disk diffusion method for detection of fluoroquinolone-resistant *Salmonella enterica*. *Journal of Clinical Microbiology*. 53(11): 3411–3417.
 - Tacket, C.O., Narain, J.P., Sattin, R., Lofgren, J.P., Konigsberg, C.J.R. and Rendtorff, R.C. (1984). A multistate outbreak of infections caused by *Yersinia enterocolitica* transmitted by pasteurized milk. *JAMA*. 251(4): 483–86.
 - Veldman, K., Pelt, W.V. and Mevius, D. (2008). First report of qnr genes in *Salmonella* in The Netherlands. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61: 452–463.
 - Veldman, K.T., Mevius, Dik, Smith, H.E. and Dierikx, C.M. (2014). Plasmid mediated quinolone resistance in Enterobacteriaceae. First edition. Utrecht University. The Netherlands, pp. 27-53.
 - Wang, Y., Yang, B., Wu, Y., Zhang, Z., Meng, X., Xi, M., et al. (2015). Molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on retail raw poultry in six provinces and two National cities in China. *Food Microbiology*, 46: 74-80.
 - Yang, B., Zhao, H., Cui, S., Wang, Y., Xia, X., Xi, M. (2014). Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* in dried milk-related infant foods in Shaanxi, China. *Journal of dairy science*, 97(11): 6754–6760.

Molecular characterization of quinolone resistance genes (*qnr*) in *Salmonella* Typhimurium isolated from food samples

Ghaseminezhad Raeini, T.¹, Kheirkhah, B.^{2*}, Amini, K.³

1. M.Sc Graduate of Microbiology, Sirjan Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran
2. Assistant Professor of Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran
3. Assistant Professor of Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

*Corresponding Author's E.mail: babakkheirkhah@yahoo.com

(Received: 2016/10/12 Accepted: 2017/6/20)

Abstract

Salmonellosis is an important disease in animals and human which is caused by different serovars of *Salmonella enterica*. Serovars Typhimurium is one of the most prevalent serovars in humans. Quinolones and fluoroquinolones are the family of extended-spectrum antibiotics which are used in salmonellosis treatment. *qnr* genes are the plasmid-mediated quinolones resistance which leads to resistance in *Enterobacteriaceae*. The aim of this study is the identification of quinolone resistance genes *qnr* in *Salmonella* Typhimurium isolated from food samples. In this study, 60 *Salmonella* samples isolated from food was collected and confirmed by culture and biochemical tests. Serotyping was done by O and H antisera. Multiplex-PCR was performed to identify *qnrA*, *qnrB*, and *qnrS* genes. All of the 60 isolates were confirmed as *Salmonella* by culture and biochemical tests. The results of serotyping showed all the 60 isolates belonged to serogroup B and serovar Typhimurium. Multiplex-PCR test showed 5 samples had the *qnrB*, 4 had the *qnrS* and 1 harbored *qnrA* gene. The results of this study show the presence of *qnr* genes in *Salmonella* Typhimurium isolated from food samples which has a specific public health importance. Therefore, there should be surveillance and monitoring programs to prevent this quinolone resistance.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: *Salmonella* Typhimurium, Multiplex-PCR, *qnr* genes