مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۹، شماره۲، اردیبهشت ۱۳۹۳(شماره پی در پی۸۵)

تعیین آلودگی سالمونلایی تخم‌مرغ‌های بومی استان کهگیلویه و بویراحمد با استفاده از تکنیک PCR و ارزیابی مقاومت دارویی

مهدی منادی[1*]، محمد کارگر[1]، اصغر نقی‌ها[2]، رضا محمدی[3]

[1]گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران، [2]گروه علوم دامی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران،[3]مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۸/۲۹

چکیده

زمینه و هدف: بیماری‌های منتقل شده از راه غذا، یکی از مشکلات اصلی بهداشتی و اقتصادی در بین کشورهای صنعتی و غیرصنعتی می‌باشند. هدف از این مطالعه تعیین آلودگی سالمونلایی تخم‌مرغ‌های بومی استان کهگیلویه و بویراحمد به روش PCR و ارزیابی مقاومت دارویی آنها بود.

روش بررسی: این مطالعه مقطعی- توصیفی بر روی ۲۱۰ عدد تخم مرغ بومی جمع‌آوری شده از استان کهگیلویه و بویراحمد انجام شد. آزمایش‌های بیوشیمایی برای تعیین هویت باکتری‌های جدا شده انجام شد. باکتری‌هایی که دارای واکنش‌های مشکوک به سالمونلا بودند به وسیله آزمایش PCR با پرایمر اختصاصی ژن invA بررسی شدند. داده ها با آزمون‌های آماری فیشر و مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: تعداد ۱٤ عدد از تخم مرغ‌ها (٦/٦٦ درصد) آلوده به جنس سالمونلا بودند. بیشترین آلودگی مربوط به منطقه دهدشت و کمترینی آلودگی مربوط به مناطق چاروسا، دیشموک، لنده و باشت بود. ارتباط معنی‌داری بین نوع و میزان آلودگی و منطقه مورد نظر وجود نداشت. در بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بیشترین مقاومت به پنی‌سیلین(۱۰۰ درصد) وجود داشت.

نتیجه‌گیری: عوامل میکروبی از جمله سالمونلاها می توانند موجب فساد مواد غذایی و بروز بیماری شوند. جهت پرهیز از ایجاد مقاومت در سالمونلا توصیه می‌شود از مصرف بی رویه آنتی‌بیوتیک در دامداری‌ها و مرغداری‌ها اجتناب نمود.

واژه‌های کلیدی: سالمونلا، تخم مرغ، مقاومت دارویی

[*]**نویسنده مسئول: مهدی منادی**، جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی

Email: Mehdimonadi360@yahoo.com

مقدمه

سالمونلا یکی از منابع مهم بیماری‌های منتقل شده از طریق غذا در اکثر نقاط دنیا می‌باشد که موجب گاستروانتریت خفیف تا سپتی سمی کشنده در انسان می‌شود(۱). گوشت و تخم پرندگان و فرآورده‌های آنها همشه به عنوان منابع اصلی سالمونلا در مسمومیت‌های غذایی انسان مطرح بوده‌اند(۱)، به عنوان مثال بیش از یک سوم از موارد سالمونلوز در انسان بین سال‌های ۱۹۸۳ تا ۱۹۸۷ در ایالت متحده آمریکا با مصرف گوشت و تخم مرغ‌های آلوده پرندگان ارتباط داشتند(۲). سالمونلوز شایع‌ترین نوع مسمومیت غذایی در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه می‌باشد، اگرچه نسبت میزان شیوع مطابق با کشورهاست(۳). هم‌چنین سالمونلوز در میان بیماری‌های باکتریایی وابسته به غذا عامل زیان‌های اقتصادی بزرگی است(٤).

حیوانات و ماکیان منابع اصلی این پاتوژن‌ها هستند. غذاهای حیوانی مانند گوشت گاو، گوشت مرغ و تخم مرغ و هم‌چنین شیر، انتقال این پاتوژن‌ها را بهبود می‌بخشند(٤و۳). اولین گزارش مربوط به وقوع مسمومیت غذایی ناشی از سالمونلا به وسیله گارتنر در سال ۱۹۸۸ در آلمان گزارش شد(٥). هم‌چنین در سال‌های ۱۹۸۹ تا ۱۹۹٦ در انگلستان و ولز از ٥۰۱ مورد مسمومیت غذایی ناشی از سالمونلا انتریتیدیس در انسان که از نظر منبع آلودگی ردیابی و تشخیص داده شدند، ۱۷۸ مورد به علت مصرف گوشت و تخم پرندگان و فرآورده‌های آن‌ها بودند و از ۳۳ مورد مسمومیت ناشی از انتریتیدیس، ١٤ مورد با منشأ طیور تشخیص داده شدند(٦). عفونت‌های سالمونلایی از گسترده‌ترین عفونت‌های میکروبی انسان است. در طیور سالمونلا به صورت عمودی و افقی منتقل می‌شوند و معمولاً عفونت‌های پایداری را در گله‌های آلوده ایجاد می‌کنند. سروتیپ‌های مختلف سالمونلا باعث بیماری‌هایی چون پلوروم، تیفوئید و پاراتیفوئید در طیور می‌شوند(۸ و۷). از عمومی‌ترین سروتیپ‌های جدا شده از طیور می‌توان به سالمونلا انتریتیدیس، سالمونلا هادار، سالمونلا هایدلبرگ و سالمونلا تیفی‌موریوم اشاره نمود(۹). پیدایش مقاومت در این پاتوژن عمدتاً به دلیل افزایش مصرف مواد ضد میکروبی در مراکز درمانی و کشتارگاه‌ها می‌باشد که به صورت یک معضل جهانی درآمده است(۱۱و۱۰).

باکتری سالمونلا سخت رشد نبوده و از محیط، نمونه‌های کلینیکی و مواد غذایی بعد از مرحله غنی‌سازی جدا می‌شود و تکنیک PCR نتایج سریع و دقیقی را در تشخیص باکتری فراهم می‌نماید(۱۳و۱۲). با توجه به اهمیت آلودگی سالمونلایی در صنعت پرورش طیور و بهداشت عمومی و نیز افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی(۱٥و۱٤)، این مطالعه به منظور شناسایی آلودگی تخم مرغ‌های محلی در استان کهگیلویه و بویراحمد به سالمونلا با استفاده از آزمایش‌های بیوشیمیایی و مولکولی و نیز الگوی مقاومت دارویی جدایه‌های باکتری صورت گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه مقطعی- توصیفی، برای جداسازی سالمونلا از مناطق دهگانه استان تعداد ۲۱۰ (هر منطقه ۲۱ عدد) نمونه تخم مرغ محلی از خرداد تا مرداد ۱۳۹۱ جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردیدند. در آزمایشگاه هر تخم مرغ جداگانه در ۱۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد تا باکتری‌های احتمالی پوسته به داخل سرم شسته شوند. سپس برای ضد عفونی شدن پوسته، تخم مرغ‌ها در الکل قرار داده شدند. پوسته آهکی با پنس استریل شکسته و محتویات با لوپ به طور کامل مخلوط شده و پس از ٢٤ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با سمپلر در آبگوشت سلنیت-F تلقیح گردید، هم‌چنین برای جداسازی باکتری از پوسته تخم‌مرغ ، از سرم حاصل از شستشوی باکتری‌ها در آبگوشت سلنیت-F تلقیح انجام گرفت. پس از ٢٤ الی ٤٨ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بر روی آگار سالمونلا- شیگلا به صورت سطحی کشت داده شد و گرمخانه‌گذاری ٢٤ الی ٤٨ ساعت در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. سپس پرگنه‌های مشکوک به سالمونلا بر روی محیط‌های افتراقی اندول، لیزین دکربوکسیلاز، اوره‌آز، TSI و MR-VP برای تأیید مورد بررسی قرار گرفتند(١٦).

برای استخراج ژنوم باکتری از روش جوشاندن استفاده شد. پس از تهیه سوسپانسیون باکتری سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰در دقیقه در مدت زمان ۵ دقیقه صورت گرفت و از DNA به دست آمده برای انجام تست PCR استفاده گردید. از پرایمر ژن تهاجم invA(F- GTG AAATTATCGCCACGTTCGGGCAA و R- TCATCGC-ACCGTCAAAGGAACC) برای انجام تستPCR استفاده شد. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل: PCR Buffer 10X ۲/٦ میکرولیتر، ۰/۵ میکرولیترdNTP، ۱ میکرولیتر کلرید منیزیم، ۰/۲۵ میکرولیتر آنزیم taq polymerase و از هر کدام از پرایمرهای F و R ۱میکرولیتر به همراه ۲/۵ میکرولیتر DNAالگو و ١٦ میکرولیتر آب دوبار تقطیر و برنامه دمایی ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل شامل٩٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ٦١ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و مرحله بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. در این بررسی از نشانگر ۱۰۰ جفت باز جهت مشخص نمودن اندازه باندها استفاده گردید. محصول نهایی در ژل آگارز ۱/۳ درصد مورد الکتروفورز قرار گرفت و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید با استفاده از اشعه ماوراء بنفش بررسی گردید.(١٦). برای تعیین حساسیت جدایه‌های سالمونلا به ترکیبات ضد باکتری از روش انتشار دیسک بر روی محیط آگار مولر هینتون استفاده شد و نتیجه پس از ٢٤ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تعیین گردید. برای آزمایش از ۸ دیسک آنتی‌بیوتیک شامل؛ تری متو پریم (۵ میکروگرم)، تترا سایکلین (۳۰ میکروگرم)، پنی سیلین (۱۰ میکروگرم)، کانامایسین (۳۰ میکروگرم) ، نئومایسین (۱۰ میکروگرم)، سفالکسین (۵ میکروگرم)، استرپتومایسین (۱۰

میکروگرم) وسیپروفلوکسازین (۵ میکروگرم) استفاده گردید.

نتیجه شناسایی سالمونلا از تخم مرغ، به صورت درصد آلودگی تخم مرغ‌ها محاسبه شد و نتایج حساسیت سالمونلاهای جداسازی شده به ترکیبات ضد باکتری بر اساس درصد در سه سطح حساس، نیمه حساس و مقاوم از تعداد نمونه‌های سالمونلا ارزیابی گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری فیشر و مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

با توجه به انجام تست‌های بیوشیمیایی و مولکولی مشخص شد که ۱۴(۶/۶۶ درصد) از تخم مرغ‌ها از نظر آلودگی به سالمونلا مثبت بودند. میزان آلودگی در پوسته ۷ (۳/۳۳ درصد) و زرده ۷ (۳/۳۳ درصد) در مجموع برابر بود. از نظر میزان آلودگی بیشترین مورد(۴ مورد)در شهر دهدشت بود و در مناطق چاروسا، دیشموک و لنده هیچ مورد آلوده‌ای وجود نداشت(جدول۱).

در بررسی انجام شده الگوی مقاومت دارویی سالمونلاهای جدا شده میزان مقاومت برای آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین ۱۰۰ درصد و نئومایسین ۷۸/۵۷ درصد بود. میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تری‌متوپریم، کانامایسین، استرپتومایسین و سیپروفلوکسازین صفر بود. هم‌چنین ۷۸/۵۷ درصد از نمونه‌ها نسبت به سفالکسین و ۷۱/۴۲ درصد نسبت به تتراسایکلین حساس بودند و ۲۱/۴۲ درصد نمونه‌ها نسبت به نئومایسین، ۲۸/۵۷ درصد نسبت تتراسایکلین و ۲۱/۴۲ درصد نسبت به سفالکسین نیمه حساس بودند. در نهایت بیشترین حساسیت به سیپروفلوکسازین و بیشترین مقاومت به پنی‌سیلین ثبت شد.

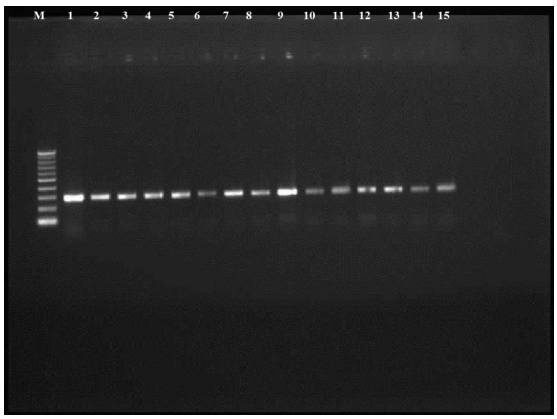
آزمایش‌های مولکولی با استفاده از پرایمر اختصاصی ژن (invA(۲۸۴bp، ژن اختصاصی جنس سالمونلا در حجم و برنامه دمایی مشخص انجام گرفت و از نمونه استاندارد سالمونلا کلراسوئیس با توجه به وجود ژن invA در همه سروتیپ‌های سالمونلا و اختصاصیت بالای آن به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. نتایج حاصل از PCR نشان داد که هر ۱۴ نمونه شناسایی شده در مرحله کشت میکروبی مربوط به جنس سالمونلا بوده و دارای ژن مشترک invA در ساختار ژنتیکی خود بودند(تصویر۱).

بحث

سالمونلا یکی از منابع مهم بیماری‌های منتقل شده از غذا در اکثر نقاط دنیا می‌باشد که موجب گاستروانتریت خفیف تا سپتی سمی کشنده در انسان می‌شود(۱). گوشت و تخم پرندگان و فرآورده‌های آنها همشه به عنوان منابع اصلی سالمونلا در مسمومیت‌های غذایی انسان مطرح بوده‌اند(۱)، بنابراین، کنترل میکروبی مواد غذایی اهمیت خاصی دارد. هدف این پژوهش بررسی آلودگی سالمونلایی تخم مرغ های بومی استان کهگیلویه و بویراحمد به روش PCR و ارزیابی مقاومت دارویی آنها می‌باشد.

جدول ۱: مقایسه توزیع فراوانی نسبی(تعداد و درصد) موارد آلودگی تخم‌مرغ‌ها به سالمونلا در مناطق مختلف استان کهگیلویه و بویراحمد

منطقه	آلودگی سالمونلایی	پوسته	زرده
چاروسا	(۰)۰	(۰)۰	(۰)۰
دیشموک	(۰)۰	(۰)۰	(۰)۰
لنده	(۰)۰	(۰)۰	(۰)۰
دهدشت	(۲۸.۵۷)٤	(۲۸/۵۷)٤	(۰)۰
چرام	(۱٤.۲۷)۲	(۷/۱٤)۱	(۷/۱٤)۱
یاسوج	(۱٤.۲۷)۲	(۷/۱٤)۱	(۷/۱٤)۱
سی‌سخت	(۱٤.۲۷)۲	(۰)۰	(۱٤/۲۷)۲
گچساران	(۷.۱٤)۱	(۰)۰	(۷.۱٤)۱
باشت	(۰)۰	(۰)۰	(۰)۰
لیکک	(۲۱.٤۳)۳	(۷.۱٤)۱	(۱٤/۲۷)۲
جمع	(۱۰۰)۱٤	(۵۰)۷	(۵۰)۷



تصویر۱: محصول الکتروفوز ژن(۲۸۴bp) invA روی ژل آگارز ۱.۳ درصد (M: سایز مارکر ۱۰۰bp، ۱: کنترل مثبت(سالمونلا کلراسوئیس)، ۲-۱۵: نمونه‌های مورد بررسی)

در این مطالعه میزان آلودگی تخم‌مرغ‌های محلی استان کهگیلویه و بویراحمد به سالمونلا ۱٤ درصد تشخیص داده شد. ارگانیسم‌های داخل تخم مرغ از طریق انتقال مستقیم از تخمدان یا از طریق آلودگی پوسته به داخل تخم مرغ نفوذ می‌کنند، هم‌چنین آلودگی پوسته تخم مرغ را می‌توان تا حدودی به آلودگی محیط زندگی مرغ و محیط تخم‌گذاری نسبت داد(۱۷). در این مطالعه الگوی مقاومت دارویی سالمونلاهای جدا شده میزان مقاومت برای آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین در نتیجه استفاده بیش از حد استاندارد بسیار بالا بود و نسبت به تری‌متوپریم، کانامایسین، استرپتومایسین و سیپروفلوکسازین در کمترین حد، تشخیص و گزارش شد که ممکن است در اثر عدم استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها درموارد درمانی

در منطقه و عدم پیدایش مقاومت نسبت به آنها باشد. در مطالعه‌ای که لیتل و همکاران در سال ۲۰۰٦ در بعضی مناطق انگلستان انجام دادند، از ۱۵۷ تخم مرغی که پوسته آلوده داشتند، تنها محتویات ۱۰ عدد از آنها (٦/۳٦ درصد) آلودگی سالمونلایی داشتند(۱۸) که این میزان آلودگی با میزان آلودگی در این مطالعه شباهت نشان می‌دهد. جعفری و همکاران(۱۳۸٤) میزان آلودگی به سالمونلا در تخم مرغ‌های بومی اهواز را با استفاده از آزمایش‌های بیوشیمیایی و سرولوژیک بررسی و میزان آلودگی را ۱/٦٦ درصد تعیین نمودند(۱۹). چینگ و کاتز(۱۹۹۱) با بررسی۳۰۰ عدد تخم مرغ خوراکی در هاوایی موفق به جداسازی سالمونلا از پوسته ۹/٤ درصد تخم‌مرغ‌ها شدند(۲۰). شریف و همکاران در سال ۱۹۹۷ با نمونه گیری از ۱۰۰ عدد تخم مرغ بومی و تخم اردک در عراق توانستند *سالمونلا تیفی* را از ۰/٦ درصد پوسته تخم اردک جدا کنند(۲۱). در تحقیقی که در سال ۲۰۰۰ در کره جنوبی به وسیله چانگ جهت تعیین سرووواریته‌های *سالمونلا* بر روی ۱٦۲۰ عدد تخم مرغ و ۲۷ جوجه کبابی خام مورد آزمایش قرار گرفت، زرده هیچ‌کدام از تخم مرغ‌های مورد مطالعه حاوی جرم *سالمونلا* نبودند ولی *اشرشیاکلی*، *اشرشیا هرمانی* و *سیتروباکتر فروندی* از پوسته تخم‌مرغ‌ها جداسازی شدند. سرووواریته‌های *سالمونلا* از ۲۵/۹ درصد جوجه کبابی‌ها جدا شدند(۲۲). داویس و واری نیز در سال ۱۹۹٦ آلودگی مزارع مرغ مادر را به باکتری *سالمونلا* ۱۱/۷ درصد گزارش نمودند که بیشترین گونه جدا شده *سالمونلا انتریتیدیس* بود(۲۳). پاپ در سال ۱۹۹۲ ، ۱٤۰٤ تخم مرغ را از چند گله مرغ تخم‌گذار در کانادا مورد بررسی قرار داد که *سالمونلا انتریتیدیس* فقط در یک مورد از پوسته تخم‌مرغ جدا گردید(۲٤). زارع و همکاران در سال ۱۳۸۸ در بررسی که در شهرستان ارومیه انجام دادند، تعداد ۱۰۰ نمونه تخم‌مرغ را از شهرستان ارومیه جمع‌آوری نموده و از محتوای تخم‌مرغ‌ها کار جداسازی را انجام دادند. از ۱۰۰ تخم مرغ مورد آزمایش ٦ عدد از آنها به *سالمونلا* آلوده بودند. گروه‌بندی نمونه‌ها با استفاده از آنتی سرم پلی والان انجام شد و در نهایت مشخص شد که همه سالمونلاهای جدا شده متحرک و متعلق به گروه سرمی *D* (*سالمونلا انتریتیدیس*) بودند(۲۵). چایوات و همکاران (۲۰۱۲) مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالمونلاهای جدا شده از گوشت خوک را در ایالت ساکایی تایلند مورد بررسی قرار دادند. بیشترین مقاومت به تتراسایکلین ۹٦ درصد و پس از آن بیشترین مقاومت به ترتیب به آمپی‌سیلین ۵۰ درصد، سولفامتوکسازول- تری‌متوپریم ۳٦ درصد، استرپتومایسین ۳۱ درصد، کلرامفنیکل ۱٤ درصد، سفوتاکسیم ۵ درصد و سیپروفلوکسازین ۲ درصد گزارش شد(۲٦).

جهت پرهیز از ایجاد مقاومت در سروتایپ‌های مختلف سالمونلا توصیه می‌شود از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک در دامداری‌ها و مرغداری‌ها اجتناب نمود، زیرا این سویه‌های مقاوم می‌توانند از طریق مصرف مرغ و فرآورده‌های آن به انسان منتقل شوند(۲۷).

نتایج به دست آمده بر اساس محاسبات آماری نشان می‌دهد که هیچ ارتباطی بین نمونه و مناطق مورد پژوهش وجود ندارد.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج این تحقیق روش‌های مولکولی از جمله PCR سریع‌تر و و دقیق‌تر از روش‌های سنتی و میکروبیولوژی در تشخیص باکتری‌ها از مواد غذایی و نمونه‌های کلینیکی هستند، لذا استفاده از روش PCR برای تشخیص سریع عفونت‌های سالمونلایی و به دنبال آن با به کار گیری روش‌های درمانی مؤثر می‌توان از گسترش بیماری در طیور به ویژه مراکز کنترل و نگهداری، جلوگیری کرد.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد میکروب‌شناسی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم می‌باشد که با همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم و دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شد.

.

REFERENCES

1.Gast RK, Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LR, et al. Diseases of Poultry. 11th ed. Iowa State University Press: Ames Iowa; 2003; 583-613.
2.Taux RV. Salmonella: A postmodern pathogen. Journal of Food Protection 1991; 54: 563-8.
3.Tajbakhsh F, Tajbakhsh E, Momenii E, Momenii R, Momenii M. Determination of Antibiotic Resistance in Salmonella Spp Isolated from Raw Cow, Sheep and Goat's Milk in Chaharmahal Va Bakhtiyari Provience, Iran. Global Veterinaria 2013; 10(6): 681-5.
4.Shahzad A, Shahid Mahmood M, Hussain I, Siddique F, Zahid Abbas R. prevalena of Salmonella species in hen eggs and egg storing-trays collected from poultry farms marketing outlets of faisalabad, Pakistan. Pak J Agri Sci 2012; 49(4): 565-8.
5.Barnhart HM. Prevalence of Salmonella enteritidis and other serovars in ovaries of layer hens attime of slaughter: J Food Prot 1991; 54(2): 488-91.
6.Humphrey T. Public – health aspects of Salmonella infection In: Wray C, Wray A(editors). Salmonella in Domestic Animals. Chapter 15, CABI Publishing: UK; 2000; 245-63.
7.Rajesh C, Rao VDP, Gomez-Villamandos JC, Shukla SK, Banerjee PS. Diseases of poultry and their control. International Book Distributing Company 2001; 8(2): 74-82.
8.Swayne DE, Glisson JR, Jackwood MW, Pearson JE, Reed WM. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. American Association of Avian Pathologists University of Pennsylvania 1998; 6(7): 4-13.
9.Byrd JA, DeLoach JR, Corrier DE, Nisbet DJ, Stanker LH. Evaluation of Salmonella serotype distributions from commercial broiler hatcheries and grower houses. Avian Diseases 1999; 43(3): 39-47.
10.Tauxe RV. Salmonella: a postmodern pathogen. J Food Prot 1991; 54(1): 563-8.
11.Van Duijkeren E, Houwers DJ. A critical assessment of antimicrobial treatment in uncomplicated Salmonella enteritidis. Vet Microbiol 2000; 73(2): 61-75.
12.Soumet C, Ermel G, Rose N, Rose V, Drouin P, Salvat G, et al. Evaluation of a multiplex PCR assay for simultaneous identification of Salmonella sp. Salmonella Enteritidis and Salmonella typhimurium from environmental swabs of poultry houses. Letters in Applied Microbiology 1999; 28(6): 113-7.
13.Van Duijkeren E, Wannet WJ, Houwers DJ, Van Pelt W. Antimicrobial susceptibilities of Salmonella strains isolated from humans, cattle, pigs, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. Journal of Clinical Microbiology 2003; 41(4): 3574-8.
14.Adesiym A, Offiah N , Seepersadsingh N, Rodrigo S, Lashley V , Musai L. Antimicrobial resistance of Salmonella spp and Escherichia coli isolated from table eggs. Food Control 2007; 18(7): 306-11.
15.Cailhol J, Lailler R, Bouvet P, La Vieille S, Gauchard F, Sanders ……, et al. Trends in antimicrobial resistance phenotypes in non-typhoid salmonellae from human and poultry origins in France. Epidemiology and Infection 2006; 134(2): 171-8.
16.Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Veterinary Microbiology and Microbial disease: First published. Blackwell Science 2002; 14(6): 113-8.
17.Nazer AHK , Safari GH. Bacterial flora from dead-in-shell chicken embryos and their drug resistance in Fars Province of Iran. Indian Journal of Animimal Sciences 1994; 64(10): 1006-9.
18.Little C, Walsh S, Hucklesby L, Surman-Lee S, Pathak K, Hall Y, et al. Salmonella contamination in non-UK produced shell eggs on retail sale in some regions of England. Euro Surveill 2006; 11(11):102-14.
19.Jafari R, fazl ara A, deliran nia A. Salmonella contamination of eggs native -consumed in Ahvaz. Proceedings of the Fourth Meeting of Veterinary Clinical Sciences 1384; 3(1): 325.
20.Ching – Lee MR, Katz AR. Salmonella egg survey in Hawaii: Evidence forroutine bacterial surveillance. American Journal of Public Health 2006; 81(6): 764.

21.Shareef AM, Al- Sanjary RA, Hassan AA. Recovery of two types of Salmonella from eggs of range rearing hens and ducks. Iraqi Journal of Veterinary Science 1997; 10 (2): 25-8.
22.Chang YH. Prevalence of Salmonella spp In poultry broilers and shell eggs in Korea. Journal of Food Protection 2000; 63(5): 655-8.
23.Davis RH, Wray C. Determination of an effective sampling regime to detect salmonella enteritidis in the environment of poultry units. Vet Microb 1996; 50(1-2) :117-27.
24.Poppe J. Salmonella in laying hens and eggs from flocks with salmonella intheir environment. Canadian Jornal of Veterinary Research 1992; 56(3): 226-43.
25.Zare M, Nayriz Naghdahi M, Rasuoli S, Delshad R. Salmonella isolation from egg yolk local city Uromie. Journal of Veterinary Medicine, Islamic Azad University 2008; 7(3): 51-7.
26.Chaiwat P, Phattharaphron C, Serirat P, Yukio M, Shigeki Y, Sumalee T. Serotype, Antimicrobial Susceptibility and Genotype of Salmonella Isolatesfrom Swine and pork in Sa Kaew Province, Thailand. J Vet Med 2012; 42(1): 21-7.
27.Shapouri R, Rahnema M, eghbalzadeh SH. Prevalence of Salmonella serotypes in chicken meat and eggs Haas and antimicrobial susceptibility in Zanjan. Journal of Sciences, Islamic Azad University Zanjan 1388; 2(3): 63-71.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Salmonella contamination of eggs of native Kohgiluyeh va Boyerahmad using PCR[1] techniques and the evaluation of drug resistance

Monadi M[1*], Kargar M[1], Naghiha A[2], Mohammadi R[3]

[1]Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran, [2]Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Yasuj, Yasuj, Iran, [3]Plant Medicine Research Center, Yasuj University of Medical sciences, Yasuj, Iran

Received: 07 Sep 2013 Accepted: 19 Nov 2013

Abstract

Background & aim: Foodborne disease is a major health and economic problem in industrialized and non-industrialized countries. The purpose of this study was to investigate salmonella contamination of native eggs in kohgiloyeh & Boyerahmad province by PCR and evaluation of drug resistance.

Methods: This cross-sectional study-descriptive study has done on 210 eggs which collected from native Kohgiluyeh & Boyerahmad.province. Biochemical tests were used to identification of b isolates acteria. Suspected salmonella reactions were tested by PCR with primers *invA* gene. The data were analyzed by chi-square test and Fisher.

Results: The results showed that 14 eggs (6.66%) of all were contaminated with salmonella genus. The highest contamination area was seen in Dehdasht whereas the lowest area was shown in Charvsa, Dyshmvk, Lendeh and Basht. No significant correlation was found between the type and extent of contamination and the region. The most antibiotic resistance was seen to penicillin (100%).

Conclusion: Microbial agents such as salmonella can cause food spoilage and disease. To avoid of resistance to salmonells species discriminate use of antibiotics in livestock and poultry should be recommended.

Key words: Salmonella, Egg, Drug resistance, invA, PCR

[*]**Corresponding author: Monadi M,** Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran
Email: Mehdimonadi360@yahoo.com