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

طیبه قاسمی‌نژاد رایینی[۱]، بابک خیرخواه*[۲]، کیومرث امینی[۳]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سیرجان، سیرجان، ایران

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

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

*نویسنده مسئول مکاتبات: babakkheirkhah@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۵/۷/۲۱ پذیرش نهایی: ۹۵/۱۰/۱۵)

چکیده

سالمونلوز یک بیماری مهم در انسان و گونه‌های حیوانات است که به‌وسیله سروارهای مختلف *سالمونلا انتریکا* ایجاد می‌شود. سرووار تیفی‌موریوم یکی از شایع‌ترین سروارها 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 پلاسمید (PMQR) هستند که باعث گسترش مقاومت در باکتری‌های خانواده *انتروباکتریاسه* می‌شوند. هدف از این تحقیق شناسایی ژن‌های مقاومت کینولونی *qnr* در سالمونلا یفی‌موریوم 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 به‌عنوان *سالمونلا* تایید شدند. نتایج سروتایپینگ نشان داد هر ۶۰ نمونه مربوط به گروه سرمی B و سرووار تیفی‌موریوم متعلق بودند. نتایج Multiplex-PCR نشان داد ۵ نمونه دارای ژن *qnrB* و ٤ نمونه دارای ژن *qnrS* مثبت و ۱ نمونه دارای ژن *qnrA* بود. نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده حضور ژن‌های *qnr* در نمونه‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* 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* تیفی‌موریوم، 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 سوءتغذیه بیشتر دیده می‌شود. گونه‌های متعددی از باکتری‌ها مانند *اشریشیاکلی*، *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 ۱/٤ 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 سرووارهای متعددی می‌باشد که به دو دسته سالمونلاهای تیفوئیدی و غیر تیفوئیدی تقسیم می‌شود. سرووارهای غیر تیفوئیدی *سالمونلا* به‌خصوص انتریتیدیس و تیفی‌موریوم از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده عفونت غذایی می‌باشند (Braden *et al*., 2006). گوشت مرغ، گوشت قرمز، تخم‌مرغ 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 ضدمیکروبی 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 پنتاپپتیدی 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 ٦٠ 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، (TSI) ،SIM)،(لیزین دکربوکسیلاز

(LDC ،(متیل رد (MR ،(ووگس پروسکوئر (VP) صورت گرفت (همگی محیط‌های مصرفی ساخت شرکت MERCK بودند) تایید 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

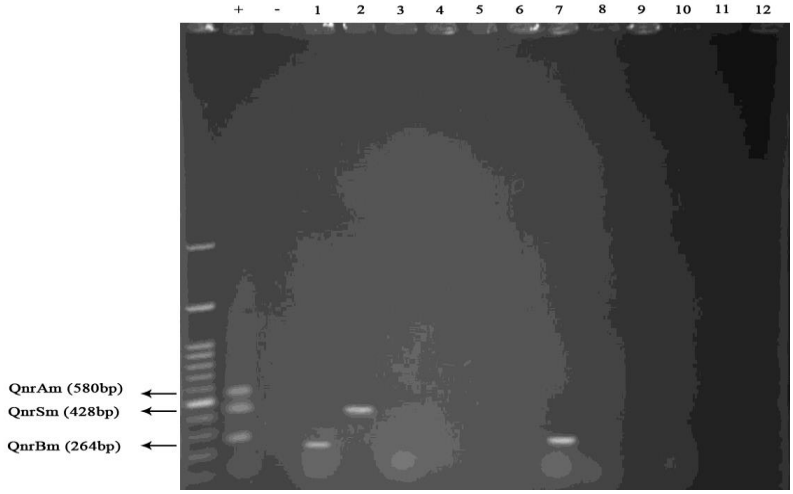
استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA ژنومیک باکتریایی گرم منفی (cat no. MBK0041) مرکز ذخایر ژنتیکی انجام شد. جهت شناسایی ژن‌های دخیل در مقاومت به کینولون‌ها، از پرایمرهای *qnrA*، *qnrB* و *qnrS* استفاده شد (Cattoir *et al.*, 2007) (جدول ۱). از آزمون Multiplex PCR جهت شناسایی این ژن‌ها بر روی نمونه‌ها انجام گرفت. آزمایش در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱/۵ mM کلرید منیزیم، ۲۵۰ µmol از dNTP، ۰/٤ 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 ٤٠ ثانیه، اتصال در ۵۸ درجه سلسیوس به مدت ٤٠ 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* B1 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)

ژن	توالی (′۵ به ′۳)	اندازه محصول (bp)
qnrA	F-AGAGGATTTCTCACGCCAGG R-TGCCAGGCACAGATCTTGAC	۵۸۰
qnrB	F-GGMATHGAAATTCGCCACTGC R-TTTGCYGYYCGCCAGTCGAAC	٢٦٤
qnrS	F-GCAAGTTCATTGAACAGGGT R-TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG	٤٢٨

یافته‌ها

بر اساس آزمون‌های کشت و بیوشیمیایی هر ٦٠ نمونه به‌عنوان *سالمونلا* شناخته شدند. نتایج سروتایپینگ نشان داد تمامی نمونه‌ها به گروه سرمی B و سرووار تیفی موریوم متعلق بودند. بر اساس نتیجه آزمایش مولتی‌پلکس PCR مشخص گردید ٥ نمونه (٨/٣٪) دارای ژن *qnrB*، ٤ نمونه (٦/٦٪) دارای ژن *qnrS* و ١ نمونه (١/٦٪) دارای ژن *qnrA* بودند.



تصویر ١: نتایج واکنش M-PCR برای شناسایی ژن‌های مورد مطالعه، به ترتیب از چپ به راست مارکر ١٠٠ bp، کنترل مثبت، کنترل منفی، نمونه جداسازی شده ١٢-١ حاوی ژن *qnrB* با طول ٢٦٤ bp و *qnrS* با طول ٤٢٨ bp قابل مشاهده می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

سالمونلاهای غیر تیفوئیدی از مهم‌ترین عوامل عفونت غذایی می‌باشند. در بین سروارهای *سالمونلا* سروارهای تیفی موریوم و انتریتیدیس از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. نتایج تحقیقات در ایران نشان می‌دهد سرووار تیفی‌موریوم یکی از شایع‌ترین سروارهای 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 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 ٦٠٪ و میزان مرگ‌ومیر در اثر این بیماری بسته به کشور و سرووار ١تا ٤ درصد می‌باشد. برای افراد سالمند و کودک و به خصوص در کشورهای در حال توسعه و در موارد حضور مقاومت آنتی‌بیوتیکی این میزان بالاتر می‌باشد حضور ژن‌های مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید منجر به مقاومت به آنتی‌بیوتیک اسیدنالیدکسیک و کاهش حساسیت به فلوروکینولون‌ها (مانند سیپروفلوکساسین) می‌شود (Jiang *et al*., 2012). هم‌چنین گزارش‌ها متعددی مبنی بر رابطه

بین حضور ژن‌های ESBL و ژن‌های مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید وجود دارد که این امر می‌تواند بسیار مخاطره‌آمیز باشد (Wang *et al*., 2015; Gonzales *et al*., 2013; Jiang *et al*., 2014). در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸٦ بر روی نمونه‌های *سالمونلاهای* تیفوئیدی و غیر تیفوئیدی جداسازی شده از بیماران بستری مقاوم به آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید انجام شد، مشخص شد که ۲٤/٤٪ 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 (٤٥/۷٪) 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 سیپروفلوکساسین 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 سیپروفلوکساسین می‌باشد، پرداخته شد. در مطالعه حاضر از مجموع ٦۰ نمونه *سالمونلا* تیفی‌موریوم جداسازی شده از مواد غذایی ۸/۳٪ دارای ژن *qnrB*، ٦/٦٪ دارای ژن *qnrS* و ۱/٦٪ دارای ژن *qnrA* بودند. مقاومت کینولونی وابسته به ژن‌های *qnr* اولین بار در یک 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 ٥/٤٪ نمونه‌ها دارای ژن *qnrS* بودند ولی هیچ‌کدام از نمونه‌ها واجد ژن *qnrA* یا *qnrB* نبودند (Moghbelli *et al*., 2014). در مطالعه سال ۲۰۱٥، نمونه‌های *سالمونلا* انتریتدیس جداسازی شده از گوشت مرغ از لحاظ حضور ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه ۸/۷٪ نمونه ها دارای ژن *qnrB*، ٤/۸٪ دارای ژن *qnrA* و ۰/۸٪ دارای ژن *qnrS* بودند (Wang *et al*., 2014). در پژوهش سال ۲۰۱۳ با بررسی حضور ژن‌های مقاومت در سروارهای *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 در سال ۲۰۱٤، مکانیسم مقاومت کینولونی وابسته به پلاسمید در سروارهای *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 سروارهای *سالمونلای* جداسازی شده از کشور فرانسه مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه که مجموعاً ٤۹۹ سویه سالمونلا متعلق به سروارهای تیفی موریوم، انتریتیدیس و هادار مورد مطالعه قرار گرفت، تنها ۰/۲٪

جدایه‌ها دارای ژن *qnrA* بودند، اما هیچکدام از جدایه‌ها واجد ژن *qnrB* یا *qnrS* نبودند (Cattoir *et al*., 2007). بررسی سال ۲۰۱۳ حضور ژن‌های مقاومت به کینولون‌ها در۳٦۳ سویه *سالمونلا* و *اشریشیاکلی* انجام گرفت که در این پژوهش ٤/۱٪ 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 ۱۲٦ 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 ۲۰۱٤، بر روی ۲۱٤ نمونه *سالمونلا انتریکای* جداسازی شده از بیماران مبتلا به سالمونلوز از لحاظ حضور ژن‌های مقاومت نشان داد که ۲۰٪ نمونه ها دارای ژن *qnrS*، ۱/٤٪ دارای ژن *qnrB* و ۰/۵٪ نمونه ها 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 ۱۰٤ سالمونلای مورد بررسی ۵۰ نمونه (٤۸٪) دارای یکی از ژن‌های *qnr* بودند (Skov *et al*., 2014). در مطالعه سال ۲۰۱٤، ژن‌های مقاومت به فلوروکینولون‌ها در سویه‌های *سالمونلای* جداسازی شده از دام‌های بیمار 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 سال ۲۰۰۸، ۱۵۰۰۰ 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، ۷۹/٤٪ دارای ژن *qnrS* و ۷/٦٪ دارای ژن *qnrB* بودند (Veldman *et al*., 2008). در مطالعه در کشور چین در سال ۲۰۱٤ بر روی ۲٤ نمونه *سالمونلای* جداسازی شده از شیر خشک نوزادان، ٤۵/۷٪ نمونه ها 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 تیفی‌موریوم جداسازی شده از مواد غذایی می‌باشد که حضور این ژن‌ها اگرچه به میزان 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 بااین‌حال 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 درعین‌حال جلوگیری از انتشار سویه‌های مقاوم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد.

تشکر و سپاسگزاری

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.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Ata, Z., Yibar, A., Arslan, E., Mustak, K., 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 apidemic in the united states. Food safety. 43: 512-17.
- Cattoir, V., Weill, F.X., Poirel, L., Fabre, L., Soussy, C.J., 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., Nordmann, P. (2007). Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance qnr genes in ESBL producing enterobacterial isolates. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 60: 394e397.
- Cortez, A.L.L., Carvalho, A.C.F.B., Ikunob, A.A., Burger, K.P., 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., Aslani, M.M. (2011). Antimicrobial resistance profile and presence of class I integrongs among *Salmonella enterica* serovars isolated from human clinical specimens in Tehran, Iran. Iranian journal of microbiology. 3(3): 112-17.
- 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., RezaDehbashi, M. (2009). Resistance to floroquinolones in *Salmonella* isolated from paitients with acute diarrhea referring to Tehran hospitals. Iranian Journal Infection Diseas. 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 innon-

typhoidal *Salmonella* isolated from food-producinganimals 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., ForouheshTehrani, H., 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., 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., 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., 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., 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., 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. Department of Microbiology, Sirjan Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran
2. Assistant Professor, Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran
3. Assistant Professor, Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

Corresponding Author: babakkheirkhah@yahoo.com
(Received: 2016/10/12 Accepted: 2017/1/4)

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 sorvars in humans. Quinolones and floroquinolones 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 *Enterobacteiacea*. The aim of this study is 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 were belonged to serogroup B and serovar Typhimurium. Multiplex-PCR test showed 5 samples had the *qnrB*, 4 had the *qnrS* and 1 harboured *qnrA* gene. The results of this study shows the presence of *qnr* genes in *Salmonella* Typhimurium isolated from food samples which has a specific public health importance. Therefore, there should be sureveillance and montoring programs to prevent this quinolone resistance.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: *Salmonella Typhimurium*, Multiplex-PCR, *qnr* genes