

## *Frequency and Antimicrobial Resistance Pattern of Salmonella Spp in Asymptomatic Rural Dogs*

Somayeh Namroodi<sup>1</sup>,  
Hamid Estaji<sup>2</sup>,  
Milad Dehmordeh<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Assistant Professor, Department of *Environmental Sciences* Faculty of *Fisheries and Environmental Sciences*, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

<sup>2</sup> Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, *University of Semnan*, Semnan, Iran

<sup>3</sup> MSc Student in *Environmental Sciences* Faculty of *fisheries and Environmental Sciences*, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

(Received August 23, 2015 Accepted December 14, 2015)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Salmonellosis is one of the most important zoonotic diseases with global distribution. Rural dogs may not show clinical signs of *salmonella* infection. But could remain the bacteria carrier for a long period. The aim of this study was to assess the potential role of rural dogs in epidemiology of salmonellosis in Golestan and Mazandaran provinces.

**Materials and methods:** Rectal swabs of 210 asymptomatic rural dogs from Golestan and Mazandaran provinces (2013-2015) were cultured and evaluated by PCR using universal primers ST 11 and ST 15 at the genus level. *Salmonella* isolates were serotyped and tested for antimicrobial susceptibility applying standard methods.

**Results:** *Salmonella spp.* were isolated from 40 (19.4%) samples. Three *salmonella* serotypes were observed including *S. enteritidis* (50%), *S. typhimurium* (35%), and *S. dublin* (15%). Salmonellosis was more prevalent in autumn ( $P < 0.05$ ). Highest antimicrobial resistance was found against streptomycin, ampicillin, and neomycin.

**Conclusion:** Isolation of *Salmonella spp.* from asymptomatic dogs makes them dangerous source of *Salmonella* and a treat for human and animal health.

**Keywords:** Salmonella, dogs, North Iran

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26(135): 153-157 (Persian).

## بررسی فراوانی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سالمونلا در سگ های روستایی

سمیه نمرودی<sup>۱</sup>  
حمید استاجی<sup>۲</sup>  
میلاذ دهمرده<sup>۳</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** بیماری سالمونلوز با گسترش بالای جهانی، یکی از مهم ترین بیماری های زئونوتیک انسان و حیوانات می باشد. سگ های روستایی ممکن است به مدت طولانی بدون بروز هیچ علائمی حامل سروتیپ های مختلف سالمونلا باشند. هدف مطالعه حاضر بررسی آلودگی نمونه مدفوع سگ های روستایی به سالمونلا در ۲ استان گلستان و مازندران و مطالعه میزان مقاومت آنتی بیوتیکی سالمونلاهای جدا شده بود.

**مواد و روش ها:** سواب های رکتال به دست آمده از ۲۱۰ سگ روستایی به ظاهر سالم از ۲ استان شمالی، گلستان و مازندران (۱۳۹۲-۱۳۹۴) کشت داده شدند و با استفاده از روش مولکولی PCR با پرایمرهای عمومی ST 15 و ST 11 در سطح جنس مورد شناسایی قرار گرفتند. سروتایپینگ و مقاومت آنتی بیوتیکی سالمونلاهای جدا شده بر اساس روش های استاندارد صورت گرفت.

**یافته ها:** باکتری سالمونلا در ۴۰ نمونه از ۲۱۰ (۱۹/۰۴ درصد) مورد بررسی شناسایی شد. ۳ سروتیپ شناسایی شده در این تحقیق شامل سالمونلا اینترتیدیس (۵۰ درصد)، سالمونلا تیفی موریوم (۳۵ درصد) و سالمونلا دابلین (۱۵ درصد) بود. جداسازی سالمونلاها در فصل پانیز بالاتر از سایر فصول بود ( $p < 0.05$ ). بیش ترین مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های استرپتومایسین، نتومایسین، آمپی سیلین مشاهده شد.

**استنتاج:** جداسازی سویه های زئونوتیک سالمونلا از سگ های فاقد علائم بالینی، آن ها را به عنوان یکی از خطرناک ترین عوامل انتشار باکتری سالمونلا در محیط و خطرناک برای بهداشت عمومی و سلامت حیوانات معرفی می کند.

**واژه های کلیدی:** سالمونلا، شمال ایران

### مقدمه

آلوده فاقد علائم بالینی ممکن است تا ۱۰۰ روز سروتیپ های مختلف سالمونلا را در مدفوع خود دفع کنند. با توجه به حضور تعداد بالای سگ های روستایی در روستاهای ایران و با توجه به عدم رعایت بسیاری از

سروتیپ های مختلف باکتری سالمونلا با گستردگی بالای میزبانان عامل یکی از مهم ترین بیماری های مشترک انسان و حیوانات (خونگرم و خونسرد)، سالمونلوز، می باشند (۱). سگ سانان اهلی و وحشی

E-mail: snamroodi2000@yahoo.com

**مؤلف مسئول:** سمیه نمرودی - گرگان: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

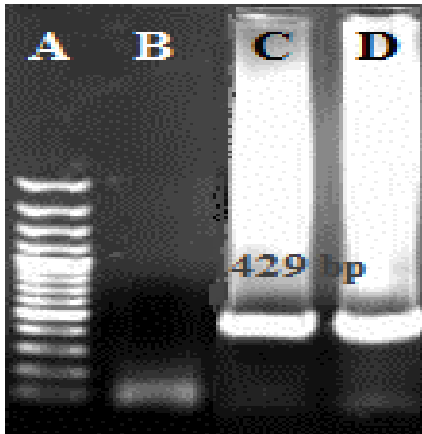
۱. استادیار، گروه محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۳. دانشجوی کارشناسی محیط زیست، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۶/۲ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۹/۲۳

شماره ۱) از نمونه‌های مدفوع جداسازی گردید که این میزان برابر با ۱۹/۰۴ درصد آلودگی می‌باشد. مطالعه رستگار و همکاران نیز حاکی از اختصاصیت و حساسیت مشابه ۲ روش ذکر شده بوده است (۶).



تصویر شماره ۱: نتیجه محصول PCR: A = DNA مارکر ۱۰۰ bp، B کنترل منفی، C: نمونه، D: کنترل مثبت.

با توجه به دفع دوره‌ای سالمونلا و تنها یک بار نمونه‌گیری از مدفوع در این تحقیق، می‌توان حدس زد که میزان آلودگی سگ‌های روستایی به باکتری سالمونلا بالاتر از نتیجه حاصله باشد (۷). مطالعات مشابه انجام شده در ایران محدود می‌باشد و نتایج فراوانی آلودگی به سالمونلا در جمعیت سگ‌ها در ایران متفاوت گزارش شده است. اولین مطالعه صورت گرفته توسط شیمی و همکاران در سال ۱۳۵۵ بیانگر آلودگی ۱۵/۸ درصدی سگ‌های ولگرد تهران به سروتیپ‌های سالمونلا دربی و سالمونلا نیوپورت بوده است (۸).

در مطالعه جلالی و همکاران باکتری سالمونلا از ۱۲/۵ درصد سگ‌های مبتلا به انتریت هموراژیک ارجاعی به درمانگاه‌های دامپزشکی شهرستان رشت جدا شد (۹). سروتیپ سالمونلاهای جدا شده در این تحقیق مورد بررسی قرار نگرفته است. به نظر می‌رسد شباهت بالای نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج مطالعه اخیر به علت شباهت بالای شرایط اقلیمی و آب و هوایی این ۲ ناحیه باشد. طی جدیدترین مطالعه صورت گرفته بر

نکات بهداشتی در روستاها و تماس نزدیک آن‌ها با انسان‌ها در مناطق روستایی، سگ‌های روستایی می‌توانند نقش بسیار مهمی در انتقال این باکتری به روستائیان ایفا کنند (۲). در مطالعه اخیر به بررسی آلودگی نمونه مدفوع سگ‌های روستایی به سالمونلا در ۲ استان گلستان و مازندران پرداخته شد. هم‌چنین در این مطالعه سروتیپ و میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالمونلاهای جدا شده نیز مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۲ در ۱۰ روستا واقع در استان‌های مازندران و گلستان، دارای شرایط آب و هوایی مشابه، به صورت تصادفی انجام شد. با در نظر گرفتن متوسط آلودگی ۱۵ درصدی سگ‌های روستایی، اطمینان ۹۵ درصد و  $d=0/05$  با استفاده از فرمول مطالعات مقطعی، از ۲۱۰ سگ روستایی به ظاهر سالم پس از مقیدسازی نمونه سواب رکتال تهیه شد. نمونه مدفوع از طریق سواب‌های استریل رکتال تهیه و جهت جداسازی سالمونلا از روش کشت قراردادی این باکتری شامل مراحل پیش غنی‌سازی، غنی‌سازی و کشت روی محیط‌های اختصاصی و افتراقی استفاده شد (۳). بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های به دست آمده، با استفاده از روش کوئین صورت گرفت (۴). جهت تشخیص جدایه‌های سالمونلا در حد جنس از پرایمرهای عمومی ژن‌های ST 11: 5'-GCCAACCATTGCTAAATTGGCGCA-3' و ST 15: 5'-GGTAGAAATCCAGCGGGTACTGC-3' مطابق با روش Soumet و همکاران استفاده شد (۵). نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۰ و آزمون کای اسکوار و دقیق فیشر با معنی‌دار در نظر گرفتن ( $p < 0/05$ ) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

## یافته‌ها و بحث

در این مطالعه، مجموعاً ۴۰ جدایه سالمونلا بعد از کشت و PCR (باند ۴۲۹ جفت نوکلئوتیدی، تصویر

سگ‌های گله در گرمسار، ۱۰/۵ درصد سگ‌ها به *S. Reading* آلوده بوده‌اند. با توجه به گرم و خشک بودن شهرستان گرمسار، پائین‌تر بودن شیوع سالمونلا در سگ‌های مورد مطالعه نسبت به مطالعه اخیر قابل توضیح می‌باشد (۱۰). با توجه به اهمیت سالمونلوز مطالعات زیادی در کشورهای مختلف روی آلودگی سگ‌ها به سالمونلا صورت گرفته است. مطالعات سایر محققین حاکی از جداسازی باکتری سالمونلا از ۰/۳۵ درصد سگ‌ها در اسلوواکی، ۲/۴ درصد در ایتالیا و ۱۱ درصد در ترکیه بوده است (۱۱-۱۳). گزارشاتی مبنی بر فصلی بودن بیماری در دست است و دیده شده است که دفع سالمونلا در فصول سرد بالاتر است. نتایج مطالعه اخیر نیز حاکی از بالاتر بودن دفع سالمونلا در سگ‌های روستایی در فصل پائیز نسبت به سایر فصل‌ها می‌باشد (۱۴). ممکن است استرس کاهش منابع غذایی در فصول سرد از عوامل افزایش دفع سالمونلا در مدفوع سگ‌ها در ماه‌های سرد سال باشد.

نتایج سروتایپینگ جدایه‌ها بیانگر تعلق ۲۰ (۵۰ درصد) جدایه به سروتایپ سالمونلا اینترتیدیس، ۱۴ (۳۵ درصد) جدایه به سروتایپ تیفی موریوم و ۶ (۱۵ درصد) جدایه به سروتایپ دابلین بود. سروتایپ‌های سالمونلای جدا شده از سگ‌ها در مطالعات و زمان‌های مختلف، حتی در یک ناحیه، متفاوت بوده و به نظر می‌رسد سویه‌های متداول و غالب در نواحی مختلف دنیا بنا بر شرایط آب و هوایی و شرایط بهداشت عمومی مناطق متفاوت می‌باشد. طی مطالعات اولیه صورت گرفته در آمریکا، آلودگی به بیش از ۵۳ سروتایپ سالمونلا با غالبیت سروتایپ‌های تیفی موریوم، آناتوم، پاناما و کرفلد در سگ‌ها گزارش شده است (۱۵). با توجه به این که اطلاعات زیادی در مورد میزان آلودگی سایر حیوانات به سالمونلا در شمال ایران وجود نداشته، نمی‌توان منبع آلودگی سگ‌های روستایی در این مطالعه را به صورت دقیق معرفی کرد.

در مطالعه اپیدمیولوژیک صورت گرفته بر طیور محلی در شمال ایران، مشابه مطالعه اخیر، غالبیت فراوانی بین سویه‌های سالمونلای جدا شده از پرندگان مورد مطالعه با سروتایپ سالمونلا اینترتیدیس بوده است. گفته می‌شود که پرندگان عامل اصلی انتشار سالمونلا در محیط می‌باشند. با توجه به شباهت سروتایپ‌های جدا شده از سگ‌های روستایی و پرندگان محلی شمال ایران این فرضیه تایید می‌شود (۱۶). مقاومت بالای سالمونلاهای جدا شده نسبت به نئوماکسین، استرپتومایسن و آمپی‌سیلین در این تحقیق مشاهده شد. شایان ذکر است که آنتی‌بیوتیک‌های نام برده از پرمصرف‌ترین داروهای مورد استفاده در صنعت طیور در شمال ایران می‌باشند و با توجه به معمول نبودن استفاده از آنتی‌بیوتیک برای درمان سگ‌های روستایی، ممکن است این نوع سالمونلاهای مقاوم از طریق مصرف گوشت پرندگان به این حیوانات منتقل شده باشد (۱۶). البته انجام مطالعات دقیق ژنتیکی جهت اثبات چنین نتیجه‌ای ضروری می‌باشد.

در مطالعه صورت گرفته بر سگ‌های چوپان در گرمسار، همه سویه‌های جدا شده به استرپتومایسن، تریمتوپریم سولفامتوکسازول، پنی‌سیلین و اریتروماکسین مقاوم بودند (۱۰). به نظر می‌رسد که الگوی مقاومت دارویی در هر منطقه بستگی به نوع، میزان و تداوم مصرف داروهای آنتی‌باکتریال در آن منطقه داشته باشد (۱۶). وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سالمونلاهای جدا شده از سگ‌های روستایی اهمیت بررسی آنتی‌بیوگرام قبل از تجویز آنتی‌بیوتیک در درمان بیماری دامی و انسانی را آشکار می‌کند. آلودگی ۱۹/۴ درصدی سگ‌های روستایی فاقد علائم بالینی در این مطالعه که حضور آن‌ها در نواحی روستایی کاملاً پذیرفته می‌باشد و تماس، مستقیم و غیر مستقیم آن‌ها با روستائیان بالا می‌باشد، خطر بالقوه بروز سالمونلوز را به خصوص در کودکان و سالخوردگان که عملکرد سیستم ایمنی ضعیف می‌باشد، یادآوری می‌کند.

## References

1. Gas RK, Saif YM, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Swayne DE. *Salmonella* infection. 12<sup>th</sup> ed. USA: Blackwell Publishing, Iowa; 2008.
2. Fukata T, Naito F, Youshida N, Yamaguchi T, Mizumura Y, Hirai K. Incidence of *Salmonella* infection in healthy dogs in Gifu prefecture, Japan. *J Vet Med Sci* 2002; 64(11): 1079-1080.
3. Waltman WD, Gast R K, Mallinson ET. Salmonellosis. In: Swayne DE, Glisson JR, Jackwood MM, Pearson JE, Read W M (eds). *A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens*. 4<sup>th</sup> ed. American Association of Avian Pathologists, Pennsylvania, USA; 1998. p. 4-13.
4. Markey B, Finola L, Archambault M, Cullinane A. *Clinical Veterinary Microbiology*. 2<sup>nd</sup> ed. US. Missouri: Mosby ;2013.
5. Soumet C, Ermel G, Rose V, Rose N, Drouin P, Salvat G, et al. Identification by a multiplex PCR based assay of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* strains from environmental swabs of poultry houses. *Lett Appl Microbiol* 1999; 29(1): 1-6.
6. Rastegar M, Ghahraman MH, Nishaboori SH, Jalali M. Isolation of *Salmonella typhimurium* in milks by microbial culture and PCR. *Nut Sci Fo Tech* 2009; 3(3): 45-52.
7. Bagcigil AF, Ikiz S, Dokuzeylul B, Basaran B, Or E, Ozgur NY. Fecal shedding of *Salmonella* spp. In dogs. *J Vet Med Sci*. 2007; 69(7): 775-777.
8. Shimi A, Keyhani M, Blurchi M. Salmonellosis in apparently healthy dogs. *Vet Rec* 1976; 98(6): 110-111.
9. Jalali P A, Beygi M D, Asadpoor L. Isolation and antibiotic resistance of *Salmonella* from dogs with hemorrhagic enteritis. *J Azad University* 2010; 9(3): 12-17.
10. Zahrai-Salehi T, Askari-Badouei M, Madadgar O, Ghiasi S R, Ahrafi-Tamai I. Shepherd dogs as common source for *Salomonella enterica* serovar Reading in Garmsar, Iran. *Tur J Vet Ani Sci* 2013; 37(1): 102-105.
11. Kocabiyik AL, Cetin C, Dedicova D. Detection of *Salmonella* spp. in stray dogs in Bursa Province, Turkey: first isolation of *Salmonella* Corvallis from dogs. *J Vet Med B Infect Dis Public Health* 2006; 53(4): 194-196.
12. Nastasi A, Massenti MF, Scarlata G, Mammina C, Calco C, Villafrate MR. *Salmonella* and *Yersinia enterocolitica* in soil and dog faeces. *Boll Ist Sieroter Milan* 1986; 65(2): 150-152.
13. Kozak M, Horosova K, Lasanda V, Bilek J, Kyselova J. Do dogs and cats present a risk of transmission of salmonellosis to humans? *Bratisl Lek Listy* 2003; 104(10): 323-328.
14. Roholamin R, Ghazi Saidi K. Survey of salmonelaa in dogs and it's public health importance. *Journal of Veterinary Research* 1991; 1(10): 38-56.
15. Morse EV, Duncan MA. Canine salmonellosis: prevalence, epizootiology, signs, and public health significance. *Am Vet Med Assoc* 1975; 167(9): 817-820.
16. Emaddi Chashni SH, Hassanzadeh M., Bozorgmehri Fard MH, Mirzaie S. Characterization of the *Salmonella* Isolates from Backyard Chickens in North of Iran, by Serotyping, Multiplex PCR and Antibiotic Resistance Analysis. *Archives of Razi Institute* 2009; 64(2): 77-83.