

## جداسازی، تعیین سروتیپ و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالمونلاهای جدا شده از مرغ‌های کشتار شده استان گیلان

یداله اسدیپور<sup>۱</sup>، مهرداد محمدی<sup>۲\*</sup>، سیدعلی پوربخش<sup>۳</sup> و مهدی رسا<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۱۱

تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۱۸

### چکیده

هدف از این تحقیق تعیین میزان شیوع آلودگی به سالمونلا در مرغ‌های گوشتی کشتاری، تعیین سروتیپ و بررسی میزان حساسیت سالمونلاهای جدا شده نسبت به آنتی‌بیوتیک در استان گیلان بود. از تعداد ۲۰ گله‌ی مرغ گوشتی کشتار شده به صورت تصادفی ۲۰۰ لاشه (از هر گله ۱۰ لاشه) انتخاب و از قسمت‌های مختلف (پوست، گوشت، کیسه صفرا، کبد و روده) نمونه‌گیری و در کل ۱۰۰۰ نمونه اخذ گردید. نمونه‌ها در محیط‌های مختلف کشت داده شد و سپس سروتیپ سالمونلاهای جدا شده، شناسایی گردید. حساسیت و مقاومت سالمونلاهای جدا شده، نسبت به ۱۵ آنتی‌بیوتیک تعیین شد. میزان آلودگی در ۲ گله (۱۵٪) و در ۸ نمونه (۸/۰٪) نسبت به سالمونلا مثبت بود. سروتیپ‌های سالمونلا آنترتیپ‌۶ مورد (۷۵٪) و سالمونلا تامپسون ۲ مورد (۲۵٪) شناسایی گردیدند. بیشترین آلودگی به سالمونلا در کبد مرغ ۴ مورد (۵۰٪) و سپس در سطح پوست ۲ مورد (۲۵٪) و در سکوم ۲ مورد (۲۵٪) بود. در این تحقیق باکتری سالمونلا از گوشت مرغ جدا نشد. نتایج آنتی‌بیوگرام نشان داد، ۱۰۰٪ جدایه‌ها نسبت به سفازولین، استرپتومایسین، کانامایسین، تتراسیکلین، نالیدیکسیک اسید، سولفانامید + تری‌متوپریم مقاوم بوده و نیز ۱۰۰ درصد جدایه‌ها، حداقل به ۷ آنتی‌بیوتیک و ۲۵ درصد آن‌ها حداقل به ۸ آنتی‌بیوتیک از ۱۵ آنتی‌بیوتیک مورد آزمایش مقاوم هستند. جدایه‌ها در ۳ الگوی مقاومت دارویی قرار گرفتند. به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد میزان شیوع آلودگی عفونت سالمونلائی نسبت به سایر مطالعات پایین‌تر و سروتیپ غالب، سالمونلا آنترتیپ‌۶ است. تمام جدایه‌ها نسبت به سفتریاکسون، جنتامایسین و کلرامفنیکل حساسیت داشتند.

کلمات کلیدی: سالمونلا، تعیین سروتیپ، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، طیور

### مقدمه

تیفی‌موریوم و سالمونلا آنترتیپ‌۶ ایجاد می‌شود (عبودی ۱۳۸۰، سلطان دلال ۱۳۸۶، شاپوری و همکاران ۱۳۸۸). عمدتاً پیدایش مقاومت در این پاتوژن، به دلیل افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در سطح مرغ‌داری و مراکز درمانی است که به صورت یک معضل جهانی در آمده است. در حال حاضر این مسئله به عنوان خطری جدی تلقی می‌شود؛ زیرا احتمال انتقال سالمونلاهای مقاوم و دیگر باکتری‌های بیماری‌زای قابل انتقال بین انسان و حیوان در

بیماری‌های منتقل شده از راه غذا، یکی از مشکلات اصلی بهداشتی و عوامل خسارات اقتصادی در بین کشورهای صنعتی و غیرصنعتی است و سالمونلوز یکی از شایع‌ترین مسمومیت‌های غذایی در جهان بوده و طیور، به ویژه مرغ از گسترده‌ترین مخازن سالمونلا به شمار می‌روند (Kasimoglu et al. 2010). گوشت طیور منشاء سالمونلوزهای ناشی از مصرف مواد غذایی هستند که بیشتر به وسیله‌ی سروتیپ‌های متحرک و به ویژه سالمونلا

<sup>۱</sup> استادیار بخش دامپزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گیلان

<sup>۲\*</sup> دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده‌ی علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

<sup>۳</sup> دانشیار بخش تحقیق و تشخیص بیماری‌های طیور مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج

<sup>۴</sup> مربی گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم دانشگاه گیلان

سالمونلا در کشورهای مختلف درجات متفاوتی را نشان می‌دهد. در بررسی سال‌های ۱۹۸۴-۱۹۷۵ در اسکاتلند ۱۰۸ مورد شیوع سالمونلوز از طریق گوشت مرغ گزارش شده است و در سال ۱۹۹۵ در مرغ‌های سرد شده و منجمد سوپر مارکت‌های کشور انگلستان میزان آلودگی به ترتیب ۱۸/۶ و ۲۵/۵ درصد گزارش گردیده است (Plummer et al. 1995). در سال ۲۰۰۰ در آمریکا بالغ بر ۱۳۰۰۰۰۰ مورد ابتلا به سالمونلوز در انسان گزارش شده است که بیش از ۵۵۰ نفر از آن‌ها تلف شده و هزینه‌های مربوط به این بیماری ۲۳۰۰ میلیون دلار برآورد شده است (Elben et al. 2006). طبق قانون اتحادیه اروپا از آغاز سال ۲۰۱۱ محصولات گوشت مرغ تازه باید عاری از سالمونلا بوده و علاوه بر آن شیوع سالمونلا در بین گله‌های گوشتی و تخم‌گذار در سال ۲۰۱۲ باید کم‌تر از یک درصد در هر کشور باشد (Mederios et al. 2011, Mezali and Hamdi 2012). بنابراین با توجه به اهمیت سالمونلوز در مسمومیت‌های غذایی، هدف از این تحقیق نیز تعیین وضعیت شیوع آلودگی سالمونلا در مرغ‌های کشتار شده و قابل عرضه به بازار مصرف استان گیلان و همچنین تعیین سروتیپ‌های غالب و تعیین حساسیت آن‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج بود.

#### مواد و روش کار

در طول تحقیق (سال‌های ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰) با مراجعه به کشتارگاه‌های صنعتی استان گیلان، از تعداد ۲۰ گله‌ی مرغ گوشتی کشتار شده، تعداد ۱۰ لاشه از هر گله به طور تصادفی انتخاب و با کشیدن سواب از تمام سطح پوست مرغ و تکه‌های بافت از گوشت (۲۵ گرم)، کیسه‌ی صفرا، کبد و روده نمونه گرفته شد و نمونه‌ها وارد لوله‌های حاوی لاکتوز برات شده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. در کل تعداد ۱۰۰۰ نمونه اخذ شد.

حال افزایش است. بررسی نتایج حاصل از آزمایش‌ها تعیین سروتیپ باکتری بیماری‌زای سالمونلا و حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن در مناطق مختلف جهان، نشان می‌دهد که نوع و فراوانی سروتیپ‌ها و مقاومت باکتری، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج در نقاط مختلف، متفاوت است (White et al. 2001, Capita et al. 2007). سندرم‌های بالینی ایجاد شده توسط سالمونلاها، به دو گروه اصلی تب تیفوئید و سالمونلوز غیر تیفوئیدی تقسیم می‌شوند. تقریباً سالمونلاهای غیر تیفوئیدی از بیشتر رده‌های حیوانی جدا می‌شوند که ماکیان و فرآورده‌های آن‌ها مهم‌ترین منشأ عفونت انسانی بوده و از بیماری آندمیک ایران به حساب می‌آیند (سلطان دلال ۱۳۸۶، شاپوری و همکاران ۱۳۸۸). بررسی‌های متعدد در ایران نشان‌دهنده‌ی میزان آلودگی مرغ به سالمونلا از ۱۹/۵ تا ۴۰٪ بوده است (خان‌ناظر و فیروزی ۱۳۷۷). میزان ۸/۷ درصد مسمومیت‌ها در شهر تهران در سال‌های ۶۴-۱۳۶۰ مربوط به سالمونلا بوده که در ۴۸/۶٪ موارد سروتیپ عامل سالمونلا تیفی‌موریوم گزارش شده است (عسگری ۱۳۷۵). در بررسی روی ۴۰۰ نمونه از لاشه‌های مرغ در اهواز میزان ۳۲٪ آلودگی در پوست مشاهده شده است (سعیدی اصل ۱۳۷۳). در بررسی روی ۵۲۵ نمونه‌ی گوشت مرغ عرضه شده در فروشگاه‌های شهر تهران آلودگی به سالمونلا ۴/۲۵٪ گزارش شده است (عسگری ۱۳۷۵). نتایج بررسی شیوع آلودگی سالمونلایی در مرغ‌های کشتاری استان مرکزی نیز نشان‌دهنده‌ی آلودگی ۱۷ درصدی بوده است (امین‌زارع ۱۳۹۱).

تجزیه و تحلیل‌های آماری بیانگر افزایش تعداد موارد ابتلای انسان به عفونت‌های سالمونلایی غیر تیفوئیدی در نقاط مختلف جهان بوده است؛ به طوری که موارد وقوع این عفونت‌ها در سال‌های ۱۹۶۵، ۱۹۷۵، ۱۹۸۵ و ۱۹۹۵ به ترتیب ۸، ۱۲، ۱۸ و ۲۰ مورد در صد هزار نفر در آمریکا بوده است (CDC 2002). آلودگی گوشت طیور به

گزیلوز ارزیابی شد. باکتری‌های سالمونلا تشخیص داده شده، با استفاده از آنتی‌سرم‌های O و H کیت Mast Diagnostic kit (Mast Group LTD. Merseyside, UK) در مؤسسه‌ی تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تعیین سروتیپ شدند.

الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالمونلاهای جدا شده نسبت به ۱۵ دیسک آنتی‌بیوتیک (شرکت پادتن طب، ایران) با آزمایش انتشار از دیسک به روش کربی-بوئر بر اساس اصول<sup>۱</sup> CLSI انجام گرفت (Kirby and Bauer 1996). دیسک‌های آنتی‌بیوتیک عبارت بودند از: سفتریاکسون، سفوتاکسیم، سفازولین، سفالکسین، سفالوتین، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، استرپتومایسین، کانامایسین، نئومایسین، تتراسیکلین، کلرامفنیکل، آمپی-سیلین، نالیدیکسیک اسید و سولفانامید+تری‌متوپریم. بر اساس نتایج، باکتری‌ها در سه گروه حساس (S)، حساس متوسط (MS) و مقاوم (R) قرار گرفتند.

### نتایج

از تعداد ۲۰ گله‌ی مرغ گوشتی نمونه‌گیری شده، ۳ گله‌ی (۱۵٪) آلودگی به سالمونلا را نشان دادند و از تعداد کل ۱۰۰۰ نمونه، تعداد ۸ نمونه (۰/۸٪) از نظر سالمونلا مثبت بودند (۸ نمونه از ۸ قطعه‌ی مرغ جدا شد). بیشترین آلودگی در کبد با ۵۰٪، آلودگی سکوم ۲۵٪ و سطح خارجی پوست نیز ۲۵٪ را نشان دادند. در این بررسی باکتری سالمونلا از گوشت مرغ و کیسه‌ی صفرا جدا نشد.

بیشترین آلودگی به سالمونلا در کبد مرغ و سروتیپ غالب نیز، سالمونلا آنتریتیدیس بود (جدول ۱).

در آزمایشگاه میکروبیولوژی مراحل زیر برای جداسازی عامل باکتری انجام گرفت (Mallinson and Snoeyebos 1989):

۱ - تهیه‌ی سوسپانسیون اولیه و پیش غنی‌سازی در محیط مایع غیرانتخابی: برای تهیه‌ی سوسپانسیون اولیه ۲۵ گرم از نمونه‌های بافتی به ۲۲۵ میلی‌لیتر آبگوشت لاکتوز اضافه شد (۱۰ برابر وزن حجمی نمونه، محیط پیش غنی‌کننده اضافه شد). برای جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم مثبت مثل استرپتوکوک‌ها رنگ برلیانت گرین نیز اضافه شد. بعد از هم زدن، لوله‌ها در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در گرم‌خانه گذاشته شدند.

۲ - غنی‌سازی در محیط مایع انتخابی: الف) مقدار ۱ میلی‌لیتر از محیط مرحله‌ی اول به ۹ میلی‌لیتر سلنیت F اضافه شد و به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری گردید.

ب) مقدار ۱ میلی‌لیتر از محیط مرحله‌ی اول به ۹ میلی‌لیتر تتراتیونات نوویوسین اضافه شد و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در ۴۳ درجه‌ی سلسیوس نگهداری گردید.

۳ - کشت در محیط‌های جامد انتخابی: در این مرحله یک لوپ از هر کدام از دو محیط غنی شده‌ی مرحله‌ی دوم به طور جداگانه روی چند محیط انتخابی، شامل محیط آگار سبز درخشان/قرمزفول، محیط سالمونلا-شیگلا آگار (SS آگار) و محیط مک‌کانکی آگار کشت و به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در ۳۷ درجه‌ی سلسیوس نگهداری گردید.

۴ - کلنی‌های لاکتوز منفی (بی‌رنگ) با تولید  $H_2S$  و یا بدون تولید  $H_2S$  به عنوان کلنی‌های مشکوک به سالمونلا در نظر گرفته شدند.

۵ - کلنی‌های مشکوک در محیط‌های افتراقی شامل آگار TSI، SIM، اوره برات، سیمون سیترات آگار و MRVP کشت و واکنش آن‌ها در محیط‌های قندی شامل: مانیتول، مالتوز، لاکتوز، آرابینوز، ساکارز، گلوکز و D

جدول ۱: میزان فراوانی سروتیپ‌های سالمونلای جدا شده از مرغ‌های گوشتی کشتار شده‌ی استان گیلان

سروتیپ	درصد فراوانی	گوشت	کبد	سکوم	صفرا	سطح خارجی پوست
سالمونلا آنتریتیدیس	۰	۰	۲ (٪۲۵)	۲ (٪۲۵)	۰	۲ (٪۲۵)
سالمونلا تامپسون	۰	۰	۲ (٪۲۵)	-	۰	-
جمع	۰	۰	۴ (٪۵۰)	۲ (٪۲۵)	۰	۲ (٪۲۵)

جدول ۲: توزیع فراوانی حساسیت سالمونلاهای جدا شده نسبت به ۱۵ نوع آنتی‌بیوتیک

حساسیت سالمونلا		مقاوم (R)		حساس متوسط (MS)		حساس (S)	
آنتی‌بیوتیک (علامت اختصاری و غلظت بر حسب میکروگرم)		درصد فراوانی	درصد فراوانی	درصد فراوانی	درصد فراوانی	درصد فراوانی	درصد فراوانی
سفتریاکسون (CRO 30)		-	-	-	-	۸	۱۰۰
سفوناکسیم (CTX 30)		-	-	۸	۱۰۰	-	-
سفازولین (CZ 30)		۸	۱۰۰	-	-	-	-
سفالکسین (CN 30)		-	-	۸	۱۰۰	-	-
سفالوتین (CF 30)		۶	۷۵	۲	۲۵	-	-
سیپروفلوکساسین (CP 5)		-	-	۸	۱۰۰	-	-
جتتامایسین (GM 10)		-	-	-	-	۸	۱۰۰
استرپتومایسین (S 10)		۸	۱۰۰	-	-	-	-
کانامایسین (K 30)		۸	۱۰۰	-	-	-	-
نئومایسین (N 30)		۴	۵۰	۴	۵۰	-	-
تتراسیکلین (TE 30)		۸	۱۰۰	-	-	-	-
کلرآمفنیکل (C 30)		-	-	-	-	۸	۱۰۰
آمپی‌سیلین (AM 10)		-	-	۴	۵۰	۴	۵۰
نالیدیکسیک اسید (NA30)		۸	۱۰۰	-	-	-	-
سولفانامید+تری‌متوپریم (SXT 23/75)		۸	۱۰۰	-	-	-	-

S= Sensitive, MS= Moderate Sensitive, R= Resistant

آزمایش مقاوم بودند (جدول ۳). الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های سالمونلا نیز، تعیین شد. جدایه‌ها در ۳ الگوی مقاومت دارویی قرار گرفتند که در جدول ۴ نشان داده شده است.

نتایج حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های سالمونلا نسبت به ۱۵ آنتی‌بیوتیک در جدول ۲ نشان داده شده است. ۱۰۰ درصد جدایه‌ها به سفتریاکسون، جتتامایسین و کلرآمفنیکل حساسیت داشتند.

تمام جدایه‌ها، حداقل به ۷ آنتی‌بیوتیک و ۲۵ درصد آن‌ها حداقل به ۸ آنتی‌بیوتیک از ۱۵ آنتی‌بیوتیک مورد

جدول ۳: مقاومت چندگانه‌ی ۸ جدایه سالمونلا در طیور

گوشتی نسبت به ۱۵ نوع آنتی‌بیوتیک

درصد	تعداد آنتی‌بیوتیک
۱۰۰	>۱
۱۰۰	>۲
۱۰۰	>۳
۱۰۰	>۴
۱۰۰	>۵
۱۰۰	>۶
۱۰۰	>۷
۲۵	>۸
۰	>۹

جدول ۴: درصد جدایه‌های سالمونلا در ۳ الگوی مقاومت

دارویی

شماره الگو	آنتی‌بیوتیک	درصد
۱	TE, SXT, CF, NA, K, S, CZ	۵۰
۲	TE, SXT, N, NA, K, S, CZ	۲۵
۳	TE, SXT, CF, N, NA, K, S, CZ	۲۵

CZ : سفازولین، CF : سفالوتین، S : استرپتومایسین، K : کانامایسین، N : نوامایسین، TE : تتراسیکلین، NA : نالیدیکسیک اسید، SXT: سولفانامید+ تری‌متوپریم

## بحث

تحقیق حاضر نشان داد که میزان آلودگی مشاهده شده نسبت به سایر مطالعات پایین‌تر است. هم‌چنین در این بررسی در گوشت مرغ هیچ گونه آلودگی از نظر وجود سالمونلا مشاهده نشد و بیشترین آلودگی مربوط به کبد، سکوم و سطح خارجی لاشه بود که نشان‌دهنده‌ی کلونیزه شدن باکتری در سطح دستگاه گوارش بوده و یا احتمالاً با توجه به آلودگی سطوح خارجی پوست، امکان آلودگی ثانویه از تماس دست آلوده کارگر و یا تماس چاقوی آلوده با سطح خارجی لاشه وجود دارد.

یوسفی‌مشعوف در سال ۱۳۷۹ در استان همدان از ۱۴۰ نمونه‌ی مرغ، ۱۲ نمونه (۸/۶٪) را آلوده به سالمونلا گزارش کرد. در بررسی روی طیور ذبح شده در کشتارگاه‌های شیراز، سروتیپ سالمونلا آنتریتیدیس ۴۲/۸٪، سالمونلا تیغی‌موریوم ۲۸/۵٪ و سالمونلا مؤان‌چن (*S. muenchen*) ۱۹٪ گزارش شد (خان‌ناظر و فیروزی ۱۳۷۷). عبودی در سال ۱۳۸۰ میزان آلودگی مرغ و تخم‌مرغ‌های محلی و کارخانه‌ای به باکتری سالمونلا در شیراز را تعیین نمود که موارد آلودگی در مرغ‌های عرضه شده به فروشگاه‌ها ۶۸٪ آلوده به سالمونلا بودند. در بررسی روی ۱۲۰ تخم‌مرغ فله‌ای و مارک‌دار و ۱۲۰ نمونه از مرغ‌های مارک‌دار و فله‌ای شهر زنجان، میزان آلودگی تخم‌مرغ به سالمونلا ۵۶/۶۱٪ و در گوشت مرغ ۸۶/۶٪ گزارش شده است. شایع‌ترین سالمونلاهای جدا شده در مرغ سالمونلا گالیناروم با ۲۳/۳٪ و پس از آن سالمونلا آگونا (*S. agona*) و سالمونلا ویرشو (*S. virchow*) با ۱۳/۳٪ بوده است. بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک اریترومایسین ۹۲/۳٪ و بیشترین حساسیت نسبت به جنتامایسین با ۸۸/۵٪ نشان داده شد (شاپوری و همکاران ۱۳۸۸). از واحدهای عرضه کننده‌ی مرغ بسته‌بندی و غیر بسته‌بندی از مناطق جنوب تهران، از ۳۱۵ نمونه گوشت مرغ نمونه‌برداری و آزمایش شده، ۷۱ نمونه (۱۱/۳٪) به سالمونلا آلوده بوده‌اند (سلطان‌دلال ۱۳۸۶).

با توجه به سروتیپ‌های جدا شده از مرغ‌های گوشتی کشتاری در تحقیق حاضر که سالمونلا آنتریتیدیس سروتیپ غالب بوده و در بسیاری از مطالعات دیگران نیز جزء سروتیپ‌های شایع گزارش شده است، باید توجه ویژه‌ای نسبت به این سروتیپ که مشترک بین انسان و طیور است، صورت گیرد. از آنجایی که در این مطالعه، وضعیت سروتیپ‌های جدا شده از مرحله‌ی پرورش تا کشتار بررسی نشده است و تنها نمونه‌گیری از مرغ‌های کشتاری به دلیل اهمیت بهداشت انسانی مطرح بوده، بنابراین احتیاج به مطالعه‌ی دیگری در خصوص بررسی

وضعیت سالمونلا در جوجه‌های گوشتی در سالن‌های پرورشی از ابتدای دوره‌ی پرورش تا انتهای آن وجود دارد. در اسپانیا طی یک بررسی مشاهده شد که انتشار سالمونلا در گوشت مرغ طی کشتار و آماده‌سازی بیشتر بوده و برحسب مناطق جغرافیایی نیز، سروتیپ‌های جدا شده متفاوت هستند. بیشترین سروتیپ‌های جدا شده مربوط به سالمونلا هادار (*S. hadar*)، سالمونلا آنتریتیدیس، سالمونلا تیغی‌موریوم، سالمونلا ویرشو، سالمونلا نیوپورت (*S. newport*) و سالمونلا هیدلبرگ (*S. heidelberg*) بوده است (Dominguez et al. 2002). اما مطالعه‌ی دیگری توسط Capita و همکاران در سال ۲۰۰۷ انجام شده است که تعداد ۳۳۶ لاشه‌ی طیور از ۶ کشتارگاه در شمال غربی اسپانیا نمونه‌گیری و سالمونلا از ۶۰٪ نمونه‌ها (۱۷/۹٪) جدا شده است؛ جدایه‌ها متعلق به ۹ سروتیپ بوده که بیشترین سروتیپ مربوط به سالمونلا آنتریتیدیس گزارش شده است. سه سروتیپ (۵٪) نسبت به یک آنتی‌بیوتیک و ۲۴ سروتیپ (۴۰٪) به بیش از یک آنتی‌بیوتیک مقاومت داشته‌اند. بیشترین مقاومت نسبت به سولفامیدها، فلوروکینولون‌ها و تتراسیکلین گزارش شده است. Kasimoglu و همکاران در سال ۲۰۱۰ در ترکیه نیز، تعداد ۳۲ سالمونلا از ۴۰۰ لاشه‌ی طیور جدا و تعیین سروتیپ نمودند. سروتیپ‌های شناسایی شده شامل ۲۲ نمونه‌ی (۶۸/۷٪) سالمونلا آنتریتیدیس، ۵ نمونه‌ی (۱۵/۶٪) سالمونلا ویرشو، ۳ نمونه‌ی (۹/۳٪) سالمونلا تیغی‌موریوم و ۲ نمونه‌ی (۶/۲٪) سالمونلا هادار بود. در تمامی نمونه‌ها، مقاومت آنتی‌بیوتیکی شناخته شده از تعداد ۳۲ سروتیپ سالمونلا، ۲۲ نمونه (۶۸/۷۵٪) دارای الگوی مقاومت چند گانه بوده، ۳۲ نمونه (۱۰۰٪) نسبت به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین G، ۲۰ نمونه (۶۲/۵٪) به نالیدیکسیک اسید، ۴ نمونه (۱۲/۵٪) به سفالوتین، ۲ نمونه (۶/۲٪) به استرپتومایسین و ۲ نمونه (۶/۲٪) به تتراسیکلین مقاوم بودند. مطالعه‌ی فوق نشان داد، که سالمونلاهای جدا شده دارای مقاومت چندگانه بوده و در بین این جدایه‌ها، با توجه به سروتیپ، مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک متفاوت است.

در تحقیق Mezali و Hamdi در سال ۲۰۱۲ در الجزایر از تعداد ۳۱۴ نمونه (۱۴۴ نمونه از گوشت قرمز و فرآورده‌های آن، ۱۲۸ نمونه از گوشت طیور و فرآورده‌ی آن، ۴۲ نمونه از فرآورده‌های عمل‌آوری شده گوشت) ۶۱ نمونه (۱۹/۴۳٪) از نظر سالمونلا مثبت بوده‌اند و ۲۱ سرووار مختلف شناسایی شده که شایع‌ترین آن‌ها شامل سالمونلا آناتوم (*S. anatum*) (۱۴/۶٪)، سالمونلا آلتونا (*S. altona*) (۱۲/۵٪)، سالمونلا کوروالیس (*S. corvallis*) (۷/۸۱٪)، سالمونلا آنتریتیدیس (۷/۸٪)، سالمونلا تیغی‌موریوم (۷/۸۱٪) بوده‌اند. مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۴۶ جدایه، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مورد بررسی قرار گرفته که بیشترین مقاومت مربوط به سولفونامیدها (۸۷/۱٪) و کم‌ترین آن مربوط به نالیدیکسیک اسید (۱۶/۳٪) بوده است.

در استان شانکسی چین روی ۷۶۴ نمونه متعلق به ۵۱۵ نمونه‌ی مرغ، ۹۱ نمونه‌ی خوک، ۷۸ نمونه گوشت گاو و ۸۰ نمونه گوشت بره بررسی انجام گرفته که ۵۴٪ (۲۷۶ نمونه) از گوشت مرغ، ۳۱٪ (۲۸ نمونه) از گوشت خوک، ۱۷٪ (۱۳ نمونه) از گوشت گاو و ۲۰٪ (۱۶ نمونه) از گوشت بره نسبت به سالمونلا مثبت بوده‌اند. در بررسی فوق ۲۴ سرووار مورد شناسایی قرار گرفته که سالمونلا آنتریتیدیس با ۳۱/۵٪ سروتیپ غالب بوده و پس از آن سالمونلا تیغی‌موریوم (۱۳/۴٪)، سالمونلا شوبرا (*S. shubra*) (۱۰٪) و سالمونلا ایندیانا (*S. indiana*) (۹/۷٪) بوده است. نزدیک به ۸۰٪ از جدایه‌ها (۲۸۳ نمونه) حداقل نسبت به یک آنتی‌بیوتیک و ۵۳٪ (۱۹۱ نمونه) به بیش از سه آنتی‌بیوتیک مقاوم بوده‌اند. بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک سولفامتوکسازول با ۶۷٪، سولفامتوکسازول+تری‌متوپریم (۵۸٪) و تتراسیکلین (۵۶٪) بوده است. بسیاری از جدایه‌ها نسبت به نالیدیکسیک اسید (۳۵٪)، سیپروفلوکساسین (۲۱٪) و سفتریاکسون (۱۶٪) مقاوم بوده‌اند. در بین سروتیپ‌ها، سروتیپ سالمونلا شوبرا و سالمونلا ایندیانا نسبت به بیش از ۹ آنتی‌بیوتیک، به ترتیب ۸۹٪ و ۸۸٪ مقاوم بوده‌اند و

آلوده به سالمونلا بوده‌اند؛ سروتپ غالب در این بررسی سالمونلا آگونا، سالمونلا امک (*S. emek*) و سالمونلا لندن (*S. london*) بوده است. این یافته حکایت از آن داشت که آلودگی سالمونلائی در گوشت مرغ‌های کشتاری وجود داشته و باید پایش و سیستم مراقبتی برای سالمونلا در این شهر به اجرا در آید.

در سه استان شمالی ویتنام از ۲۶۸ گوشت طیور نمونه‌برداری انجام شده است که ۱۱۵ نمونه ۴۲/۹٪ از نظر سالمونلا مثبت بوده‌اند. شایع‌ترین سالمونلاهای جدا شده در این بررسی سرووارهای سالمونلا آناتوم، سالمونلا تیفی‌موریوم، سالمونلا ردینگ و سالمونلا آنتریتیدیس، به ترتیب ۱۵/۸٪، ۹/۱٪، ۷/۵٪ و ۶/۲٪ بوده‌اند. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به تتراسیکلین ۵۸/۵٪، سولفامیدها ۵۸/۱٪، استرپتومایسین ۴۷/۳٪، آمپی‌سیلین ۳۹/۸٪، کلرآمفینکل ۳۷/۳٪ و نالیدیکسیک اسید ۲۷/۸٪ گزارش شده است. در این تحقیق هیچ‌کدام از جدایه‌ها نسبت به سفنازیدیم مقاومت نشان نداده‌اند (Thai et al. 2012).

همان‌طور که مشاهده شد، در مطالعه‌ی حاضر و سایر مطالعات انجام شده در ایران و کشورهای دیگر، سویه‌های مورد مطالعه مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی بالایی نشان داده‌اند. مصرف بی‌رویه و کنترل نشده‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها در پزشکی و دامپزشکی از علت‌های افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی است. در پرورش طیور نیز، از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان محرک رشد و هم به عنوان پیشگیری از بیماری‌ها استفاده می‌شوند و در صورت بیماری در سالن‌های پرورشی، استفاده بی‌رویه‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها قبل از آنتی‌بیوگرام باعث ایجاد سویه‌های مقاوم می‌شود که در هنگام کشتار طیور، این سویه‌های مقاوم از دستگاه گوارش خارج شده و به‌راحتی لاشه‌ی طیور را آلوده می‌کنند و در نتیجه، لاشه‌ی مرغ در اکثر مواقع با سویه‌های مقاوم به چند دارو آلوده است. این سویه‌های مقاوم، مستقیماً و یا از طریق غذا می‌توانند انسان را آلوده کنند. این باکتری‌های مقاوم در دستگاه گوارش کلونیزه

در مقایسه با سالمونلا آنتریتیدیس و سالمونلا اینفانتیس (*S. infantis*)، به ترتیب ۱۱٪ و ۹٪ مقاومت به بیش از ۹ آنتی‌بیوتیک را نشان دادند (Yang et al. 2010).

Medeiros در سال ۲۰۱۱ از ۱۵ شهر برزیل تعداد ۲۶۷۹ نمونه را از نظر شیوع گونه‌های سالمونلا در لاشه‌های طیور مورد بررسی قرار داده است که ۲/۷٪ مثبت بوده‌اند. ایالت ساوپائولو ۵۰/۶٪ آلودگی را نشان داده است. کلاً ۱۸ سروتپ شناسایی شده است که بیشترین شیوع مربوط به سالمونلا آنتریتیدیس (۴۸/۸٪)، سالمونلا اینفانتیس (۷/۶٪)، سالمونلا تیفی‌موریوم (۷/۲٪) و سالمونلا هیدلبرگ (۷/۲٪) بوده‌اند. تمام ۲۵۰ سویه‌ی آزمایش شده، نسبت به یک یا تعداد بیشتر آنتی‌بیوتیک و ۱۳۳ (۵۳/۲٪) به بیش از ۳ خانواده از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بوده‌اند. سالمونلا هیدلبرگ نسبت به سفتریاکسون (۷/۵٪) و به سفیتوفور (۳/۸٪) مقاوم بود. در مطالعه فوق ۶۷ نمونه تنها به یک سروتپ سالمونلا، ۱۰ نمونه با دو سروتپ سالمونلا و یک نمونه با چهار سروتپ سالمونلا آلوده بوده‌اند. شایع‌ترین سروتپ‌های شناسایی شده شامل سالمونلا آنتریتیدیس ۴۷ نمونه، سالمونلا هادار ۲۹ نمونه بوده است. حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از روش انتشار از دیسک نیز نشان داده است که، ۱۱ جدایه (۱۰/۷٪) از ۱۰۳ نمونه آزمایش شده، دارای حساسیت نسبت به تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها بوده‌اند. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به تتراسیکلین (۸۴/۵٪)، استرپتومایسین (۴۴/۷٪) و نالیدیکسیک اسید (۳۴٪) بوده است. ۴۱ جدایه (۳۹/۸٪) مقاومت چندگانه (مقاومت به ۳ یا بیش از ۳ آنتی‌بیوتیک از خانواده‌های مختلف) داشته‌اند که نسبت به سالمونلا هادار ۶۸/۳٪ و سالمونلا آنتریتیدیس ۱۲/۹٪ بوده است. بیشترین الگوی مقاومت در سالمونلا هادار نسبت به استرپتومایسین، تتراسیکلین و نالیدیکسیک اسید مشاهده شده است.

در شهر هانوی ویتنام در سال ۲۰۰۶ تحقیقی توسط Luu انجام شده است که به طور تصادفی از فروشگاه‌های مرغ تعداد ۲۶۲ نمونه جمع‌آوری کردند. ۴۸/۹٪ نمونه‌ها

می‌شوند و ممکن است ژن‌های مقاومت را به فلورای آندوژن انسان انتقال دهند.

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که میزان شیوع آلودگی عفونت سالمونلایی در مرغ‌های کشتاری استان گیلان، نسبت به سایر مطالعات پایین‌تر است و مقاومت

سالمونلای‌های جدا شده، نسبت به ۷ آنتی‌بیوتیک می‌تواند به دلیل مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در مرغداری‌ها باشد. همچنین ۱۰۰٪ جدایه‌ها، نسبت به سفتریاکسون، جنتامایسین و کلرامفنیکل حساسیت داشتند و سروتیپ غالب نیز سالمونلا آنترتیپیدیس بود.

### تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی و فن‌آوری دانشگاه گیلان که بودجه‌ی لازم برای انجام این تحقیق را فراهم نمودند و از مساعدت‌های معاون محترم پژوهشی و فن‌آوری دانشکده‌ی علوم کشاورزی و نیز رئیس محترم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گیلان و هم‌چنین از زحمات جناب آقایان: دکتر نیک‌بخش، مهندس رفیعی، مهندس سایه‌بان، دکتر میراعلمی و سرکار خانم حسین‌پورمقدم سپاسگزاریم.

### منابع

شاپوری، رضا؛ رهنما، مهدی و اقبال‌زاده، شبنم (۱۳۸۸). بررسی شیوع سروتیپ‌های سالمونلا در گوشت مرغ و تخم‌مرغ و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی آن در شهر زنجان. فصلنامه علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، شماره‌ی ۶، جلد ۲، صفحات ۶۳-۷۱.

عبودی، برات (۱۳۸۰). بررسی میزان آلودگی مرغ و تخم‌مرغ‌های محلی و کارخانه‌ای به باکتری سالمونلا در شیراز. مجله‌ی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی شیراز، شماره‌ی (۱۴) ۶، صفحات ۴۳-۴۰.

عسگری، غلامحسین (۱۳۷۵). مقایسه انواع سروتیپ‌های سالمونلای‌های جدا شده از گوشت مرغ، گوساله و گوسفند مصرفی شهر تهران و الگوی مقاوت داوری آنها. پایان‌نامه‌ی دکتری تخصصی میکروبیولوژی، دانشگاه تهران.

یوسفی‌مشعوف، رسول (۱۳۷۹). بررسی شیوع آلودگی سالمونلایی در مرغ‌های عرضه شده برای مصرف در همدان. مجله‌ی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی استان زنجان، شماره‌ی (۳۳) ۸، صفحات ۴۷-۵۱.

امین‌زارع، مجید؛ غفاری‌خلیق، سحر؛ بازرگانی‌گیلانی، بهناز و امینی، منوچهر (۱۳۹۱). بررسی شیوع آلودگی سالمونلایی در مرغ‌های کشتاری استان مرکزی به روش سنتی و PCR، مجله‌ی تحقیقات علوم آزمایشگاهی دامپزشکی، دوره‌ی ۴، شماره‌ی ۱، صفحه‌ی ۵۵.

خان‌ناظر، حسین و فیروزی، رویا (۱۳۷۷). بررسی میزان آلودگی سالمونلایی طیور گوشتی ذبح شده در کشتارگاه‌های شیراز و تعیین سروتیپ آنها. پژوهش و سازندگی، شماره‌ی ۳۹، صفحات ۹۸-۱۰۰.

سعیدی‌اصل، محمدرضا (۱۳۷۳). بررسی حضور انواع سالمونلا در لاشه‌های مرغ کشتارگاه‌های اهواز. پایان‌نامه‌ی دکترای عمومی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز.

سلطان‌دلال، محمدمهدی (۱۳۸۶). مقایسه میزان شیوع آلودگی میکربی گوشت‌های قرمز و مرغ بسته‌بندی و غیر بسته‌بندی در خرده‌فروشی‌ها و فروشگاه‌های زنجیره‌ای جنوب تهران. مجله‌ی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید صدوقی یزد، دوره‌ی پانزدهم، شماره‌ی اول، صفحات ۳۵-۴۳.



- Capita, R.; Alonso-Calleja, C. and Prieto, M. (2007). Prevalence of *Salmonella enterica* serovars and genovars from chicken carcasses in slaughter houses in Spain. *Journal of Applied Microbiology*, 103 (5):1366-1375.
- CDC (Center of Disease Control). (2002). Foodnet data on the incidence of foodborn illness selected sites, United States, 51: 325-329.
- Dominguez, C.; Gomez, I. and Zumala, C.J. (2002). Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. *International Journal of Food Microbiology*, 72: 165-168.
- Elben, D.R.; Barlow, K.E. and Naugle, A.L. (2006). Food safety and inspection service testing for *Salmonella* in selected raw meat and poultry products in the United States, 1998 through 2003: an establishment-level analysis, *Journal Food Protection*, 69 (11): 2600-2606.
- Kasimoglu, D.A.; Ayaz, N.D. and Gencay, Y.E. (2010). Serotype identification and antimicrobial resistance profiles *Salmonella SPP.* isolated from chicken carcasses. *Tropical Animal Health and Production*, 42 (5): 893-897.
- Kirby, W.M. and Bauer, A.M. (1996). Antibiotic sensitivity testing by a standardized disc diffusion method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45: 493-496.
- Luu, Q.N.; Fries, R.; Padungtod, P.; Tran, T.H.; Kyule, M.N.; Baumann, M.P.; et al. (2006). Pervalence of *Salmonelle* in retail chicken meat in Hanoi, Vietnam. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1081:257-261.
- Mallinson, E.T. and Snoeyenbas G.H.(1989). Salmonellosis. In: Purchase, H.G. Arp, H.L. and Domermth, H.C. A laboratory manual for the isolation and identification od avian pathogens. Third ed. American Association of Avian Pathologists, Kendall Hunt Publishing, Iowa, USA, pp: 3-11.
- Mederios, M.A.; Oliveira D.C.; Rodrigues, P. and Freitas, D.R. (2011). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in chicken carcasses at retail in 15 Brazillian cities. *Revista Panamericana de Salud Publica*, 30 (6): 555-560.
- Mezali, L. and Hamdi, T.M. (2012). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from meat and meat products in Algiers (Algeria). *Foodborne Pathogens and Disease*, 9 (6): 522-529.
- Plummer, R.A.S.; Blissett, S.J. and Dodd, C.E.R. (1995). *Salmonella* contamination of retail chicken products sold in the U.K. *Journal of Food Protection*, 58: 843-846.
- Thai, T.A.; Hirai, T.; Lun, N.T. and Yamauchi, R. (2012). Antibiotic resistance profiles of *Salmonella* serovars isolated from retail pork and chicken meat in Northen Vietnam. *International Journal of Food Microbiology*, 15: 147-151.
- White, D.G.; Zhao, S.; Sudler, R.; Ayers, S.; Friedman, S.; Chen, S.; et al. (2001). The isolation of antibiotic-resistant *Salmonella* from retail ground meat. *The New England Journal of Medicine*, 18: 1147-1157.
- Yang, B.; Qu, D.; Zhang, X.; Shen, J.; Cui, S.; Shi, Y.; et al. (2010). Prevalence and characterization of *Salmonella* serovars in retail of marketplace in Shaanxi, China. *International Journal of Food Microbiology*, 141: 63-72.

## Isolation, serotyping and antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from chicken carcasses in Guilan province

Asadpour, Y.<sup>1</sup>; Mohammadi, M.<sup>2</sup>; Pourbakhsh, S.A.<sup>3</sup> and Rasa, M.<sup>4</sup>

Received: 30.01.2013

Accepted: 8.06.2013

### Abstract

The aim of this study was determining the prevalence rate, serotyping and sensitivity to antibiotics of *Salmonella* isolated from slaughtered broiler chickens of Guilan province. Two hundred carcasses were randomly selected out of 20 slaughtered broiler flocks and then 1000 samples were collected from different parts of carcasses (skin, meat, gallbladder, liver and intestine). All samples were cultured in different media, and the isolated *Salmonella* serotypes were identified. Sensitivity and resistance of isolated *Salmonella* were determined to 15 antibiotics. Three flocks (15%) and in 8 cases (0.8%) were positive to the *Salmonella*. Two serotypes were identified, including 6 samples (75%) of *Salmonella enteritidis* and 2 samples (25%) of *Salmonella thompson*. *Salmonella* was isolated from 4 samples of liver (50%), 2 samples of skin (25%) and 2 samples of caecum (25%). In this study, no salmonella was isolated from poultry meat. The results of sensitivity and resistance of *Salmonella* to antibiotics indicated that, 100% of isolates were resistant to cefazolin, streptomycin, kanamycin, tetracycline, nalidixic acid and sulfonamide + trimetoprim. There were three resistance patterns among the isolates, 100% of isolates were resistant at least to seven antibiotics and 25% were resistant to eight antibiotics from fifteen antibiotics. It is concluded that, the prevalence rate of *Salmonella* infection was lower than to the other studies, the dominant serotype was *Salmonella enteritidis* and 100% of isolates were sensitive to ceftriaxone, gentamicin and chloramphenicol.

**Key words:** *Salmonella*, Serotyping, Antibiotic resistance, Poultry

---

1- Assistant Professor, Veterinary Department, Agricultural and Natural Resources Research Center of Guilan, Rasht, Iran

2- Associated Professor, College of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

3- Associated Professor, Poultry Research and Diagnosis Department, Razi Serum and Vaccine Institute, Karaj, Iran

4- Academic Staff, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

**Corresponding Author:** Mohammadi, M., E-mail: mrmohammadi1342@yahoo.com