بررسی آلودگی گله‌های مرغ گوشتی اطراف شهرستان مشهد به *سالمونلا*: تعیین گروه سرمی و الگوی مقاومت ضدمیکروبی جدایه های *سالمونلا*

سیدمصطفی پیغمبری[1*]، احسان قربانیون[2]، ریما مرشد[3] و هادی حق‌بین‌نظرپاک[4]

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۶

چکیده

بیماری‌های مشترک منتقله از راه غذا، یکی از مشکلات اصلی بهداشتی و اقتصادی در کشورهای صنعتی و غیرصنعتی بوده و سالمونلوز یکی از شایع‌ترین بیماری‌های زئونوز در جهان است. ماکیان می‌توانند نقش مهمی در همه‌گیری و شیوع سالمونلوز در انسان داشته باشند. هدف از این مطالعه، تعیین وضعیت آلودگی سالمونلایی گله‌های گوشتی شهرستان مشهد و اطراف آن، تعیین سروگروپ و تعیین الگوی مقاومت ضدمیکروبی سالمونلاهای جدا شده بود. تعداد ۱۵۶۰ نمونه مدفوعی تازه از ۲۳ گله گوشتی جمع‌آوری شد. پس از مخلوط نمودن هر ۱۰ نمونه، تمامی نمونه‌ها بر اساس روش‌های استاندارد برای جداسازی *سالمونلا* کشت داده شدند. تعیین گروه سرمی بر اساس روش استاندارد آگلوتیناسیون روی لام، جهت تشخیص پادگن‌های O با استفاده از آنتی‌سرم‌های پلی والان A تا D صورت گرفت. روش استاندارد دیسک دیفوزیون برای تعیین حساسیت جدایه‌ها نسبت به ۲۷ عامل ضد میکروبی انجام گرفت. از مجموع ۱۵۶۰ نمونه (۱۵۶ نمونه مخلوط شده) تعداد ۳۰ جدایه *سالمونلا* به دست آمد. بر اساس نتایج آزمایشات سرمی، شش جدایه متعلق به سروگروپ D، یک جدایه متعلق به سروگروپی غیر از A-D و مابقی ۲۳ جدایه متعلق به گروه سرمی C بودند. بیش‌ترین میزان مقاومت نسبت به کلیستین، آموکسی کلاو، اکسی‌تتراسایکین، نیتروفورانتوئین، داکسی‌سایکلین، نالیدیکسیک اسید و بیش‌ترین حساسیت دارویی نسبت به فسفومایسین، سفتریاکسون، سفکسیم، نورفلوکساسین و جنتامایسین مشاهده شد. بین جدایه‌های مقاوم، وقوع مقاومت چندگانه بسیار شایع بود به طوری که حداقل به ۲ و حداکثر به ۱۸ دارو مقاوم بودند. تعداد ۱۹ الگوی مقاومت دارویی شناسایی شد. نتایج این مطالعه و مطالعات مشابه نشان‌دهنده‌ی گردش *سالمونلا*های غیرتیفوئیدی در سطح گله‌های گوشتی کشور با میزان قابل توجهی از مقاومت چندگانه در مقابل آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی است.

کلمات کلیدی: *سالمونلا*، مقاومت ضدمیکروبی، جوجه گوشتی، مشهد

مقدمه

سالمونلوز یکی از بیماری‌های باکتریایی مهم در صنعت طیور در سطح جهان است. گونه‌های *سالمونلا* سبب عفونت‌های روده‌ای بدون نشانه در پرندگان می‌شوند. شیوع سالمونلوزهای حاد در چند روز اول پس از هچ در جوجه‌ها می‌تواند باعث کاهش قابل توجه رشد و حتی تلفات بالا شود (Gast 2008). وجود بیماری‌های دیگر یا عوامل استرس‌زا ممکن است طیور را مستعد بیماری شدید سالمونلوز نماید. از طرف دیگر، آلودگی به *سالمونلا* می‌تواند پرنده را مستعد درگیری با بیماری‌های دیگر نیز نماید. آلودگی طیور بالغ به *سالمونلا* به دلیل اقدامات کنترلی که برای جلوگیری از انتقال به نتاج و انسان انجام می‌شود، هزینه‌های مختلفی را به تولیدکننده تحمیل می‌کند (Duchet-Suchaux et al. 1995).

ماهیت اندمیک، واگیری بالا، ارتباط با زنجیره‌ی غذایی و خطری که عفونت سالمونلوز در پرندگان برای بهداشت انسانی دارد، *سالمونلا* را به یکی از نگرانی‌های مهم

[1*] استاد گروه بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران E-mail: mpeigham@ut.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)

[2] دانش‌آموخته دکتری حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرمسار، گرمسار، ایران

[3] استادیار گروه کشاورزی و دامپزشکی، بنیاد دانشنامه‌نگاری ایران، وزارت علوم تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

[4] استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرمسار، گرمسار، ایران

بهداشت و سلامت عمومی بدل کرده است (Kottwitz et al. 2008). بیش از ۲۵۰۰ سروار *سالمونلا* انتریکا شناسایی شده است که تقریباً ۱۰ درصد آن‌ها از طیور جدا شده‌اند. عفونت‌های سالمونلوز غیرتیفوئیدی در انسان در اثر تعداد محدودی از سروارها ایجاد می‌شوند که ممکن است از یک کشور به کشور دیگر و در طول زمان متفاوت باشند (Hendriksen et al. 2011). *سالمونلا* در انسان سبب آنتریت حاد خود محدودشونده همراه با اسهال، درد شکمی و تب در طول ۴ تا ۷ روز می‌شود (Crump et al. 2011). عفونت سالمونلوز عموماً از طریق غذا به انسان منتقل می‌شود اگر چه، تماس مستقیم با حیوانات آلوده نیز سبب انتقال آلودگی خواهد شد (Mead et al. 1999). بسیاری از تحقیقات در زمینه‌ی شیوع *سالمونلا* نشان داده‌اند که مهم‌ترین و شایع‌ترین منبع غذایی عفونت سالمونلایی در انسان طیور و فرآورده‌های طیوری هستند (Hennessy et al. 2004). بر طبق آمار مرکز کنترل و پیش‌گیری (CDC)، در امریکا گونه‌های سالمونلاهای غیرتیفوئیدی بیش‌تر از هر عامل بیماری‌زای دیگر با منشاء غذایی در ایجاد عفونت‌های با منشاء غذایی در انسان که به تأیید آزمایشگاه رسیده‌اند، نقش داشته‌اند و با وجود استانداردهای اجرایی شیوع *سالمونلا* در ۱۵ سال گذشته تغییر چندانی نداشته است (CDC 2012).

برای تعیین آلودگی به *سالمونلا* به ویژه سالمونلاهای غیرتیفوئیدی در گله‌های طیور برنامه‌های مدون پایش در کشورهای توسعه‌یافته اجرا می‌گردد. جدایه‌های حاصله از این برنامه‌های پایش برای مطالعات اپیدمیولوژیک تحت بررسی‌های عمیق‌تر قرار می‌گیرند. برای بررسی خصوصیات جدایه‌ها بعد از تعیین سروگروپ و سروتیپ مربوطه با آنتی‌سرم‌های پلی و منووالان، الگوی مقاومت دارویی، الگوی محتوی پلاسمیدی و تیپ فاژی جدایه‌ها تعیین می‌گردد. مقایسه‌ی این اطلاعات با اطلاعات حاصله از جدایه‌های انسانی برای متخصصین اپیدمیولوژی بسیار جالب توجه خواهد بود. در ایران با توجه به مشکلات ناشی از سالمونلاهای غیرتیفوئیدی در انسان و طیور، ضروری است که تحقیقات جامع و گسترده‌ای در مورد وضعیت آلودگی گله‌های طیور کشور اجرا شود. در راستای ضرورت‌های فوق، بررسی وضعیت آلودگی گله‌های طیور گوشتی شهرستان مشهد و اطراف آن به *سالمونلا*، جداسازی و شناسایی سروگروپ‌ها و تعیین الگوی مقاومت دارویی در بین جدایه‌های حاصله مد نظر قرار گرفت.

مواد و روش کار

از ۲۳ مرغداری گوشتی شهرستان مشهد شامل ۲۶ سالن در یک دوره‌ی یک ماهه در فصل پائیز نمونه‌برداری انجام گرفت. هر سالن مرغداری به شش قسمت تقسیم شده و از هر ناحیه ۱۰ نمونه‌ی تازه‌ی مدفوعی (از هر سالن ۶۰ نمونه) و در مجموع ۱۵۶۰ نمونه مدفوع از ۲۶ سالن اخذ شد که هر ۱۰ نمونه اخذ شده در هر ناحیه سالن با هم تجمیع و به عنوان یک نمونه محسوب شد. جزئیات مربوط به نمونه‌برداری در جدول ۱ به صورت کامل ذکر گردیده است (Wilks et al. 2000).

پس از جمع‌آوری نمونه‌های مدفوع و مخلوط نمودن هر ۱۰ نمونه با هم، نمونه‌ها در یک ظرف درب‌دار گذاشته شد و در مجاورت یخ در مدت کم‌تر از ۲۴ ساعت به آزمایشگاه شخصی مرحوم دکتر باسامی در مشهد منتقل شدند تا ادامه‌ی کار روی این نمونه‌ها جهت تشخیص انجام شود. تمامی نمونه‌ها به محیط غنی‌سازی سلنیت F اضافه شدند و پس از ۱۸ ساعت انکوباسیون با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، باکتری‌ها به محیط انتخابی BG و XLD آگار منتقل شدند کلونی‌های مشکوک به *سالمونلا* در محیط Triple sugar iron agar (TSI) کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفته و در صورت مشکوک بودن به رشد باکتری *سالمونلا*، نمونه‌ها در محیط اوره کشت داده می‌شدند. بعد از انجام این کار، تمامی جدایه‌های اوره‌آز منفی در محیط‌های بیوشیمیایی مختلف شامل سیمون سیترات، MR/VP، SIM کشت داده شدند و از لحاظ تخمیر قندهای

ترهالوز، دولسیتول و مانیتول، نیز مورد بررسی قرار گرفتند. جدایه‌ها سیمون سیترات مثبت، MR مثبت، VP منفی، اندول منفی، تولید کننده H2S، متحرک و تخمیر کننده‌ی ترهالوز، دولسیتول، مانیتول بودند. این جدایه‌ها به عنوان *سالمونلا* مورد تأیید قرار گرفتند و سپس برای تعیین گروه سرمی آماده‌سازی شدند (Waltman et al. 1998).

تعیین گروه سرمی جدایه‌ها بر اساس روش استاندارد آگلوتیناسیون روی لام جهت تشخیص پادگن‌های O انجام شد. برای تعیین گروه سرمی سالمونلاهای جدا شده، از آنتی‌سرم‌های O (شرکت بهار افشان، ایران) استفاده شد. از کشت ۲۴ ساعته و خالص باکتری روی محیط TSI، شیرابه‌ی غلیظی با سرم فیزیولوژی ۰/۸۵ درصد روی یک لام تمیز تهیه کرده و پس از کنترل اتوآگلوتیناسیون یک قطره از آنتی‌سرم‌های موجود روی آن قرار داده و با هم مخلوط گردید. نتیجه در برابر چراغ و در زمینه‌ی سیاه قرائت شد. در صورتی که آگلوتیناسیون در کم‌تر از ۲ دقیقه مشاهده شود واکنش مثبت تلقی می‌گردد (Waltman et al. 1998).

برای تعیین الگوی مقاومت دارویی، روش کیفی سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی به کار گرفته شد. روش کیفی مورد استفاده، دیسک دیفوزیون به روش استاندارد Kriby & Bauer (اصلاح شده بر اساس رهنمودهای CLSI) بود. اساس این روش به انتشار آنتی‌بیوتیک روی محیط آگاردار و ممانعت از رشد باکتری حساس در محوطه‌ی حرکت و انتشار آنتی‌بیوتیک استوار است. محیط کشت انتخابی در این روش مولرهینتون آگار است که رشد پرگنه‌ها را به صورت انفرادی و در کنار هم به طور رضایت‌بخشی فراهم می‌کند (CLSI, 2006). دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی از کاغذهایی با کیفیت و با غلظت مشخص از آنتی‌بیوتیک و به طور استاندارد تهیه شده‌اند. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک بکار رفته در این تحقیق از شرکت پادتن طب تهیه شده بودند که ۲۷ عامل آنتی باکتریال مورد آزمایش عبارت بودند از: کلرتتراسایکلین، تتراسایکلین، جنتامایسین، استرپتومایسین، نئومایسین، کلرامفنیکل، نالیدیکسیک اسید، سفکسیم، سفتریاکسون، فلوروفنیکل، فورازولیدون، لینکواسپکتین، انروفلوکساسین، داکسی‌سایکلین، آموکسی‌سیلین، سفازولین، سیپروفلوکساسین، کانامایسین، اکسی‌تتراسایکلین، نیتروفورانتوئین، کلیستین، تری متوپریم + سولفامتوکسازول، فلومکوئین، آموکسی‌کلاو، دای‌فلوکساسین، نورفلوکساسین و فسفومایسین.

ابتدا جدایه‌های *سالمونلای* برداشت شده از محیط ذخیره Brain Heart Infusion (BHI) روی محیط مک‌کانکی کشت خطی داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد و سپس از پرگنه‌های تک *سالمونلا* از محیط مک‌کانکی برداشته شد و به یک لوله‌ی آزمایش حاوی ۵-۴ میلی‌لیتر محیط BHI انتقال داده شد. محیط مایع تلقیح شده معمولاً به مدت ۴-۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد تا مشاهده‌ی یک کدورت واضح و قابل قبول و منطبق با استاندارد (محیط نیم مک فارلند) انکوبه گردید. سپس مرحله‌ی دیسک‌گذاری روی سطح محیط مولرهینتون کشت داده شده با سوسپانسیون باکتریایی انجام شد و در دمای ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت قرار گرفت. پس از آن با استفاده از خط‌کش دقیق، قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه گرفته شد و با استفاده از جدول استاندارد میزان حساسیت باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک به صورت حساس، نیمه-حساس و مقاوم ثبت گردید (CLSI, 2006).

نتایج

در این مطالعه ۱۵۶۰ نمونه‌ی مدفوعی تازه از ۲۳ مرغداری شهرستان مشهد و اطراف اخذ شد که هر ۱۰ نمونه با هم مخلوط و در مجموع ۱۵۶ نمونه مورد بررسی قرار گرفت. پس از کشت و تأیید خصوصیات بیوشیمیایی در مجموع ۳۰ جدایه *سالمونلا* به دست آمد (۱۹/۲ درصد). این تعداد *سالمونلا* از ۹ سالن گوشتی جدا شد بنابراین میزان آلودگی در ۲۶ سالن گوشتی مورد مطالعه (۳۴/۶ درصد) محاسبه گردید (جدول ۱).

بر اساس این نتایج از ۳۰ جدایه حاصله که از نظر وجود *سالمونلا* مثبت تلقی شدند، شش جدایه متعلق به سروگروپ D، یک جدایه متعلق به سروگروپی غیر از A-D و مابقی جدایه‌ها (۲۳ جدایه) متعلق به گروه سرمی C بودند (جدول ۱).

در این مطالعه میزان مقاومت جدایه‌های مورد بررسی نسبت به کلیستین و آموکسی‌کلاو ۱۰۰ درصد بود. اکسی‌تتراسایکین، نیتروفورانتوئین، داکسی‌سایکلین، نالیدیکسیک‌اسید، کلرتتراسایکلین، لینکواسپکتین، تتراسایکلین، فورازولیدون و سولفامتوکسازول+تریمتوپریم نیز مقاومت بالایی را نشان دادند. بیش‌ترین حساسیت دارویی (۱۰۰ درصد حساسیت) نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های فسفومایسین، سفتریاکسون، سفکسیم، نورفلوکساسین و جنتامایسین مشاهده شد (جدول ۲). ضمن این که حساسیت بالایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، آموکسی‌سیلین، دای‌فلوکساسین و سفازولین نیز وجود داشت. الگوی مقاومت ۳۰ جدایه *سالمونلا* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه متنوع بوده و ۱۹ الگوی مقاومت مشاهده شد (جدول ۳). بین جدایه‌های مقاوم، وقوع مقاومت چندگانه شایع بوده به طوری که حداقل به ۲ و حداکثر به ۱۸ دارو مقاوم بودند (جدول ۴).

جدول ۱: مشخصات جدایه‌های *سالمونلای* به دست آمده از نمونه‌های مدفوع گله‌های گوشتی

گله گوشتی	تعداد جوجه	تعداد سالن	سن گله (روز)	تعداد *سالمونلای* جدا شده	گروه سرمی
۱	۳۰۰۰۰	۳	۲۲	۰	–
۲	۱۰۰۰۰	۱	۳۵	۳	C
۳	۱۰۰۰۰	۱	۲۵	۰	–
۴	۷۰۰۰	۱	۵۰	۱	C
۵	۱۰۰۰۰	۱	۳۲	۰	-
۶	۶۰۰۰	۱	۲۵	۰	–
۷	۱۰۰۰۰	۱	۲۷	۰	-
۸	۱۰۰۰۰	۱	۷	۰	-
۹	۱۰۰۰۰	۱	۳۵	۰	-
۱۰	۵۰۰۰	۱	۱۵	۰	-
۱۱	۸۰۰۰	۱	۱۷	۴	C
۱۲	۱۰۰۰۰	۱	۴۰	۰	-
۱۳	۷۰۰۰	۱	۱۰	۲	D
۱۴	۲۰۰۰۰	۲	۳۸	۱۰	C*
۱۵	۱۰۰۰۰	۱	۲۰	۱	D
۱۶	۸۰۰۰	۱	۲۰	۰	-
۱۷	۱۰۰۰۰	۱	۳۶	۴	C
۱۸	۱۰۰۰۰	۱	۲۰	۰	–
۱۹	۱۰۰۰۰	۱	۳۵	۱	D
۲۰	۱۰۰۰۰	۱	۱۴	۴	C, D
۲۱	۹۰۰۰	۱	۳۵	۰	-
۲۲	۸۰۰۰	۱	۲۰	۰	–
۲۳	۱۰۰۰۰	۱	۴۳	۰	–

* از ۱۰ نمونه‌ی یافت شده در این گله‌ی گوشتی ۹ جدایه گروه سرمی C بود و یک نمونه به هیچ کدام از گروه‌های سرمی A-D تعلق نداشت.

جدول ۲: میزان حساسیت یا مقاومت ۳۰ جدایه *سالمونلا* به ۲۷ ترکیب ضدمیکروبی

ردیف	ترکیب ضدمیکروبی	٪ جدایه‌های مقاوم	٪ جدایه‌های نیمه‌حساس	٪ جدایه‌های حساس
۱	کلرتتراسایکلین (CTE)	۸۰	۱۰	۱۰
۲	کانامایسین (K)	۴۶/۶۶	۶/۶۶	۴۶/۶۶
۳	آموکسی سیلین (AMX)	۳/۳۳	–	۹۶/۲۶
۴	سیپروفلوکساسین (CP)	۳/۳۳	–	۹۶/۶۶
۵	سفکسیم (CFM)	–	–	۱۰۰
۶	نالیدیکسیک اسید (NA)	۸۶/۶۶	–	۱۳/۳۳
۷	فورازولیدون (FR)	۷۶/۶۶	۱۳/۳۳	۱۰
۸	انروفلوکساسین (NFX)	۳/۳۳	۵۰	۴۶/۶۶
۹	جنتامایسین (G)	–	–	۱۰۰
۱۰	فلورفنیکل (FF)	۲۶/۶۶	۳/۳۳	۷۰
۱۱	نئومایسین (N)	۵۰	–	۵۰
۱۲	استرپتومایسین (S)	۴۶/۶۶	–	۵۳/۳۳
۱۳	تتراسایکلین (TE)	۸۰	۱۶/۶۶	۳/۳۳
۱۴	داکسی سایکلین (D)	۸۶/۶۶	۶/۶۶	۶/۶۶
۱۵	لینکواسپکتین (LP)	۸۰	–	۲۰
۱۶	سفتی راکسون (CRO)	–	–	۱۰۰
۱۷	کلرامفنیکل (C)	۲۶/۶۶	–	۷۳/۳۳
۱۸	نیتروفورانتوئین (FM300)	۹۳/۳۳	۳/۳۳	۳/۳۳
۱۹	سولفامتوکسازول + تریمتوپریم (SXT)	۷۰	۶/۶۶	۲۳/۳۳
۲۰	سفازولین (CZ)	۱۳/۳۳	–	۸۶/۶۶
۲۱	اکسی تتراسایکلین (T)	۹۳/۳۳	۳/۳۳	۳/۳۳
۲۲	کلیستین (CL)	۱۰۰	–	–
۲۳	فلومکوئین (FM30)	۵۳/۳۳	۳۳/۳۳	۱۳/۳۳
۲۴	آموکسی کلاو (AMX)	۱۰۰	–	–
۲۵	دای فلوکساسین (DF)	۳/۳۳	۳/۳۳	۹۳/۳۳
۲۶	نورفلوکساسین (NOR)	–	–	۱۰۰
۲۷	فسفومایسین (FOS)	–	–	۱۰۰

جدول ۳: الگوهای مقاومت یافت شده در بین ۳۰ جدایه *سالمونلا*

شماره الگو	تعداد جدایه	شماره گله	الگوی مقاومت
۱	۱	۲	LP, C, TE, CP, K, NA, FR, FM300, SXT, N, CL, D, FM30, S, AMC, FF, CTE, T
۲	۲	۲ و ۴	LP, C, TE, K, NA, FR, FM300, SXT, N, CL, D, FM30, S, AMC, FF, CTE, T
۳	۱	۲	LP, C, TE ,K, NA, FR, FM300, SXT, N, CL, D, S, AMC, FF, CTE, T
۴	۳	۱۱	LP, TE, NA, FR, FM300, CL,D, FM30, AMC, CTE, T
۵	۱	۱۱	LP, TE, NA, FR, FM300, CL, D, SXT, AMC, CTE, T
۶	۱	۱۳	CL, AMC
۷	۱	۱۳	TE, FM300, CL, D, AMC, T
۸	۱	۱۴	LP, C, TE, NFX, K, NA, FR, FM300, SXT, N, CL, D, FM30, S, AMC, DF, CTE, T
۹	۲	۱۴	LP, TE, K, NA, FR, FM300, SXT, N, CL, D, S, AMC, CTE, T
۱۰	۶	۱۴	LP, TE, K, NA, FR, FM300, SXT, N, CL, D, FM30, S, AMC, CTE, T
۱۱	۱	۱۴	LP, TE, K, NA, FR, FM300, SXT, N, CL, D, FF, S, AMC, CTE, T
۱۲	۱	۱۵	C, NA, CL, AMC, FF, T, AMX
۱۳	۱	۱۷	LP, TE, NA, FR, FM300, SXT, N, CL, D, FM30, AMC, CTE, T
۱۴	۳	۱۷	LP, TE, NA, FR, FM300, SXT, CL, D, AMC, CTE, T
۱۵	۱	۱۹	NA, FM300, CL, AMC
۱۶	۱	۲۰	LP, C, TE, NA, FR, FM300, SXT, CL, D, FM30, AMC, FF, CTE, T
۱۷	۱	۲۰	FM300, CL, AMC, T
۱۸	۱	۲۰	LP, C, NA, FR, FM300, SXT, CL, D, FM30, AMC, FF, CTE, T
۱۹	۱	۲۰	FM300, CL, D, AMC, T

جدول ۴: الگوی مقاومت چندگانه در بین ۳۰ جدایه *سالمونلا*

تعداد ترکیبات ضد میکروبی	تعداد (٪) جدایه‌های مقاوم
≤ ۲	۳۰ (۱۰۰)
< ۳	۲۹ (۹۶/۶۶)
< ۴	۲۷ (۹۰)
< ۵	۲۶ (۸۶/۶۶)
< ۶	۲۵ (۸۳/۳۳)
< ۷	۲۴ (۸۰)
< ۸	۲۴ (۸۰)
< ۹	۲۴ (۸۰)
< ۱۰	۲۴ (۸۰)
< ۱۱	۱۷ (۵۶/۶۶)
< ۱۲	۱۷ (۵۶/۶۶)
< ۱۳	۱۵ (۵۰)
< ۱۴	۱۲ (۴۰)
< ۱۵	۵ (۱۶/۶۶)
< ۱۶	۴ (۱۳/۳۳)
< ۱۷	۲ (۶/۶۶)
< ۱۸	۰

بحث

نتایج جدول ۱، نشان‌دهنده‌ی شیوع گونه‌های *سالمونلا* در گله‌های گوشتی سنین مختلف مورد بررسی در شهرستان مشهد است. میزان آلودگی این گله‌ها ۳۴/۶ درصد تخمین زده شده است که حدود یک سوم گله‌های مورد بررسی را شامل می‌شود و با نتایج مطالعات اخیر صورت گرفته در استان‌ها و شهرهای مختلف تهران، مشهد، اراک، گیلان، سنندج، آمل و قائم‌شهر کم و بیش مشابهت دارد (Jamshidi et al. 2007, Morshed and Peighambari 2010, Eram et al. 2013, Ezzatpanah et al. 2013, Morshed 2013, Asadpour et al. 2014, Doulatyabi et al. 2017). اهمیت بررسی آلودگی و جداسازی *سالمونلا* از گله‌های گوشتی بدان سبب است که جوجه‌های گوشتی آلوده قادرند در زمان کشتار سبب آلودگی سایر لاشه‌ها و خطوط کشتار در کشتارگاه‌ها شوند (Corry et al. 2002, Olsen et al. 2003).

در این تحقیق بیست و سه جدایه *سالمونلا* (۷۶/۶۶ درصد) متعلق به گروه سرمی C بودند که با مطالعه‌ی دیگری در مشهد در سال ۱۳۸۶ هم‌خوانی دارد. در مطالعه‌ی قبلی در مشهد روی لاشه‌های مرغ گوشتی در کشتارگاه‌ها در سال ۲۰۰۷، آلودگی در ۱۱/۶۶ درصد نمونه‌ها گزارش شد که ۷۱/۴ درصد از جدایه‌های *سالمونلا* متعلق به گروه سرمی C بودند (Jamshidi et al. 2007). این گروه سرمی به ویژه سروار *سالمونلا اینفنتیس* در طی ۱۰ سال گذشته سروتیپ غالب در لاشه‌های مرغ گوشتی آلوده در اروپا بوده و سومین رتبه را در موارد عفونت انسانی ناشی از *سالمونلا* در اروپا به خود اختصاص داده است. منبع عمده‌ی این باکتری، حیوانات به ویژه جمعیت‌های طیور صنعتی می باشند (EFSA 2010). تغییر سروگروپ غالب از D به C نیز از نکات قابل توجه در مطالعات سال‌های اخیر روی گله‌های گوشتی در ایران است (Rahmani et al. 2013, Peighambari et al. 2015) که قطعاً نیاز به انجام مطالعات تطبیقی در انسان و یافتن رابطه‌ی این تغییر در موارد سالمونلوز انسانی در بیمارستان‌ها دارد.

بیش‌ترین مقاومت در مقابل کلیستین، آموکسی‌کلاو، اکسی‌تتراسایکین، نیتروفورانتوئین، داکسی‌سایکلین، نالیدیکسیک‌اسید، کلرتتراسایکلین، لینکواسپکتین، تتراسایکلین، فورازولیدون و سولفامتوکسازول+تریمتوپریم مشاهده شد. تمامی این داروها به جز آموکسی‌کلاو در فهرست پرمصرف‌ترین داروهای ضدباکتریایی دامپزشکی به ویژه طیور در ایران قرار دارند که بحث جلوگیری از تداوم مصرف داروهای آنتی‌بیوتیکی و استفاده از ترکیبات جایگزین آن‌ها چون پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها را پررنگ می‌کند. بیش‌ترین حساسیت دارویی به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های فسفومایسین، سفتریاکسون، سفکسیم، نورفلوکساسین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، آموکسی‌سیلین، دای‌فلوکساسین و سفازولین مشاهده شد. به نظر می‌رسد میزان حساسیت در مقابل کینولون‌های نسل سوم همچون دای‌فلوکساسین، نورفلوکساسین و سیپروفلوکساسین؛ سفالوسپورین‌های نسل سوم همچون سفتریاکسون و سفیکسیم؛ آمینوگلیکوزیدها مثل جنتامایسین و فسفومایسین بسیار بالا است. حساسیت بالا در مقابل آموکسی‌سیلین و سفازولین نیز با توجه به عدم مصرف آن‌ها در گله‌های طیور ایران دور از انتظار نیست. آنچه در زمینه‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی دارای اهمیت است، انتقال ژن‌های مقاومت به جدایه‌های انسانی است به ویژه انتقال ژن‌های مقاومت در مقابل فلوروکینولون‌ها و سفالوسپورین‌ها که داروهای حیاتی و مهم در درمان موارد سالمونلوز در انسان محسوب می‌شوند (WHO 2001).

نوزده الگوی مقاومت در بین ۳۰ جدایه *سالمونلا* نسبت به ۲۷ داروی ضد میکروبی یافت شد. الگوهای مقاومت مشابه در بین *سالمونلا*های جدا شده از یک گله مشاهده شد. به طوری که سه جدایه در گله ۱۱ و شش

جدایه در گله ۱۴ و و دو جدایه در گله ۱۴ و سه جدایه در گله ۱۷ الگوهای مشابه مقاومت از خود نشان دادند.

در مطالعه‌ی وسیعی در مازندران و گیلان، ۳۵ جدایه *سالمونلا* یافت شد، ۱۷ جدایه گروه D و ۱۸ جدایه گروه C شناسایی شدند. در بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مجموع ۳۲ الگوی مقاومت پیدا شد. بیش‌ترین میزان مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین، ونکومایسین، کلیندامایسین، پنی‌سیلین، داکسی‌سایکلین، کلستین، اکسی‌تتراسایکلین، کربنی‌سیلین، فورازولیدون و تتراسایکلین بود. جدایه‌های *سالمونلا* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون، دانوفلوکساسین، لووفلوکساسین، ایمیپنم، افلوکساسین، سفازولین و آموکسی‌سیلین حساسیت ۱۰۰ درصدی نشان دادند (Peighambari et al. 2019). در تحقیق دیگری در گیلان از بیست گله‌ی گوشتی ۸ *سالمونلا* با سه الگوی مقاومت به دست آمد. ۱۰۰ درصد جدایه‌ها نسبت به سفازولین، استرپتومایسین، کانامایسین، تتراسایکلین، نالیدیکسیک اسید و سولفامتوکسازول+ تری متوپریم مقاوم و نسبت به سفتریاکسون، جنتامایسین و کلرامفنیکل حساس بودند (Asadpour et al. 2014). در تحقیقی دیگر در شهر اراک روی گله‌های گوشتی در کشتارگاه ۷۵ مورد *سالمونلا* جدا شد که همگی در مقابل جنتامایسین، انروفلوکساسین، ایمیپنم و سفتریاکسون حساس و در مقابل نیتروفورانتوئین و نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند (Ezzatpanah et al. 2013). در بررسی گله‌های گوشتی استان گلستان ۱۴ *سالمونلا* جدا شد، سه جدایه گروه D و ۹ جدایه گروه C و دو جدایه نامعلوم شناسایی شدند. در مجموع ۱۳ الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی یافت شد. صد در صد جدایه‌های مورد بررسی نسبت به دو آنتی‌بیوتیک سفیکسیم و سفتریاکسون حساس و در مقابل نالیدیکسیک اسید، فلومکوئین، کلرتتراسایکلین، تایلوزین، اریترومایسین و داکسی‌سایکلین مقاوم بوده‌اند (Peighambari et al. 2018).

همه‌ی ۳۰ جدایه *سالمونلا* در این آزمایش به بیش از یک آنتی‌بیوتیک به صورت همزمان مقاوم بودند به طوری که حداقل به ۲ و حداکثر به ۱۸ دارو مقاومت همزمان نشان دادند. ظهور مقاومت‌های چندگانه در بین جدایه‌های باکتریایی از چالش‌های مهم درمان عفونت‌های حاصل از این میکروارگانیسم‌ها در انسان و حیوانات در ایران و سراسر جهان است (M'ikanatha et al. 2010, Gieraltowski et al. 2016, Trongjit et al. 2017). این جدایه‌های دارای مقاومت چندگانه در گله‌های گوشتی می‌توانند منابع بالقوه‌ی عفونت سالمونلوز انسانی در آینده در ایران باشند.

با مقایسه‌ی مطالعه‌ی کنونی با مطالعات پراکنده انجام شده در نواحی مختلف کشور می‌توان به این نتیجه رسید که الگوهای مقاومت در مقابل *سالمونلا*ها بسیار متنوع بوده و نه تنها از کشوری به کشور دیگر بلکه از استانی به استان دیگر و حتی در طول زمان در یک ناحیه‌ی متفاوت خواهند بود. بنابراین نیاز است تا مطالعات هدفمندی از سوی مراکز کنترل و پیش‌گیری بیماری‌های با منشاء غذایی ساماندهی گردد تا در آن ارتباط بین شیوع مقاومت در گله‌های طیور و موارد سالمونلوز انسانی در بیمارستان‌های کشور بررسی و برنامه‌ای مدون برای پایش دوره‌ای *سالمونلا* و محدودیت در مصرف داروهای ضدباکتریایی به ویژه در حیواناتی که برای مصارف انسانی پرورش داده می‌شوند تدوین و اجرایی شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از پرسنل کلینیک تشخیص بیماری‌های طیور زنده یاد مرحوم دکتر باسامی جهت مساعدت در جمع‌آوری نمونه‌ها و همچنین پرسنل آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد گرمسار تشکر می‌نمایند.

منابع

Asadpour, Y.; Mohammadi, M.; Pourbakhsh, S.A. and Rasa, M. (2014). Isolation, serotyping and antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from chicken carcasses in Guilan province. Iran Veterinary Journal, 9: 5-13.

Centers for Diseases Control and Prevention. Foodborne diseases active surveillance network (foodnet) (2012). Foodnet surveillance report for 2011 (final report). Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, CDC. Available at://www.cdc.gov/foodnet/PDFs/2011_annual_report_508c.pdf. Accessed 22 April 2014.

Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) (2006). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing. 16th informational supplement. Wayne, PA: CLSI.

Corry, J.E.L.; Allen, V.M.; Hudson, W.R.; Breslin, M.F. and Davies, R.H. (2002). Sources of *Salmonella* on broiler carcasses during transportation and processing: modes of contamination and methods of control. Journal of Applied Microbiology, 92: 424-432.

Crump, J.A.; Medalla, F.M.; Joyce, K.W.; Krueger, A.L.; Hoekstra, R.M.; Whichard, J.M. et al. (2011). Antimicrobial resistance among invasive nontyphoidal *Salmonella enterica* isolates in the United States: National Antimicrobial Resistance Monitoring System, 1996 to 2007. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 55: 1148-1154.

Doulatyabi, S.; Peighambari, S.M. and Morshed, R. (2017). Survey of *Salmonella* infections in broiler farms around Sanandaj. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 25: 70-78.

Duchet-Suchaux, M.; Lechopier, P.; Marly, J.; Bernardet, P.; Delaunay, R. and Pardon, P. (1995). Quantification of experimental *Salmonella enteritidis* carrier state in B13 leghorn chicks. Avian Diseases, 39: 796-803.

Eram, N.; Peighambari, S.M. and Yazdani, A. (2013). Study on *Salmonella* infection in broiler farms around Ghaemshahr: Determination of serotypes and drug resistance pattern of the *Salmonella* isolates. Journal of Veterinary Laboratory Research. 5: 85-93.

European Food Safety Authority (2010). The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. European Food Safety Authority Journal, 8: 1496.

Ezzatpanah, E.; Moradi Bidhendi, S.; Khaki, P.; Ghaderi, R.; Seyedan Jasbi, E. and Moghtadaei far, S. (2013). Isolation, serotyping and antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from poultry in Arak city. Iran Veterinary Journal, 9: 88-96.

Gast, R.K. *Salmonella* infection. In: Saif, Y.M.; Fadly, A.M.; Glisson, J.R.; McDougald, L.R.; Nolan, L.K and Swayne, D.E. (eds). (2008). Diseases of Poultry. 12th ed. Iowa, Blackwell Publishing, Pp: 636-651.

Gieraltowski, L.; Higa, J.; Peralta, V.; Green, A.; Schwensohn, C.; Rosen, H. et al. (2016). National outbreak of multidrug resistant *Salmonella* Heidelberg infections linked to a single poultry company. PLoS One. 11: e0162369.

Hendriksen, R.S.; Vieira, A.R.; Karlsmose, S.; Lo Fo Wong, D.M.; Jensen, A.B.; Wegener, H.C. et al. (2011). Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization global foodborne infections network country data bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. Foodborne Pathogens and Diseases, 8: 887-900.

Hennessy, T.W.; Cheng, L.H.; Kassenborg, H.; Ahuja, S.D.; Mohle-Boetani, J.; Marcus, R. et al. (2004). Egg consumption is the principal risk factor for sporadic *Salmonella* serotype Heidelberg infections: a case-control study in FoodNet sites. Clinical Infectious Diseases, 38: 237-243.

Jamshidi, A.; Zahraie Salehi, M.T. and Afsharinic, S. (2007). Detection of *Salmonella* spp. contamination of carcasses slaughtered in poultry abattoir in Mashhad, Iran. Archives of Razi Institute, 62: 229-233.

Kottwitz, L.B.M.; Back, A.; Leão, J.A.; Alcocer, I.; Karan, M. and Oliveira, T.M. (2008). *Salmonella* contamination in an egg production chain of a laying hens integration. Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science, 60 (2): 496-498. [Abstract in English].

Mead, P.S.; Slutsker, L.; Dietz, V.; McCaig, L.F.; Bresee, J.S.; Shapiro, C. et al. (1999). Food-related illness and death in the United States. Emerging Infectious Diseases, 5: 607-625.

M'ikanatha, N.M.; Sandt, C.H.; Localio, A.R.; Tewari, D.; Rankin, S.C.; Whichard, J.M. et al. (2010). Multidrug-resistant *Salmonella* isolates from retail chicken meat compared with human clinical isolates. Foodborne Pathogens and Disease. 7: 929-934.

Morshed, R. (2013). Bacteriological study of broiler flocks (*Salmonella* contamination) in Amol city. Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 97: 23-28.

Morshed, R. and Peighambari, S.M. (2010). *Salmonella* infections in poultry flocks in the vicinity of Tehran. International Journal of Veterinary Research, 4: 273-276.

Olsen, J.E.; Brown, D.J.; Madsen, M. and Bisgaard, M. (2003). Cross contamination on a broiler slaughterhouse line demonstrated by use of epidemiological markers. Journal of Applied Microbiology, 94: 826-835.

Peighambari, S.M.; Morshed, R.; Baziar, M.; Sharifi, A. and Sadrzadeh, A. (2018). Salmonellosis in broiler flocks of Golestan province: frequency, serogroups and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* isolates. New Findings in Veterinary Microbiology. 2: 72.

Peighambari, S.M.; Morshed, R.; Shojadoost, B.; Nikpiran, H.; Haghbin Nazarpak, H.; Khakpour, M. et al. (2019). Survey of non-typhoid *Salmonella* infections among some broiler flocks of Mazandaran and Gilan provinces, 2010-2015. Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences. *In press*.

Peighambari, S.M.; Sorahi Nobar, M. and Morshed, R. (2015). Detection of *Salmonella entrica s*erovar Infantis among serogroup C *Salmonella* isolates from poultry using PCR and determination of drug resistance patterns. Iranian Veterinary Journal, 11:54-60.

Rahmani, M.; Peighambari, S.M.; Svendsen, C.A.; Cavaco, L.M.; Agersø, Y. and Hendriksen, R.S. (2013) Molecular clonality and antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovars Enteritidis and Infantis from broilers in three Northern regions of Iran. BMC Veterinary Research, 9: 66.

Trongjit, S.; Angkititrakul, S.; Tuttle, R.E.; Poungseree, J.; Padungtod, P. and Chuanchuen, R. (2017) Prevalence and antimicrobial resistance in *Salmonella* enterica isolated from broiler chickens, pigs and meat products in Thailand-Cambodia border provinces. Microbiology and Immunology. 61: 23-33.

Waltman, W.D.; Gast, R.K. and Mallinson, E.T. Salmonellosis. In: Swayne, D.E.; Glisson, J.R.; Jackwood, M.M.; Pearson, J.E. and Read, W.M. (eds). (1998). A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens. 4th ed. Pennsylvania, American Association of Avian Pathologists, pp: 4-13.

WHO (2001). (WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance) WHO, Geneva. WHO/CDC/CSR/DRS/2001.2.

Wilks, C.; Parkinson, G. and Young, P. (2000). International review of (SE) epidemiology and control policies. Rural Industries Research and Development Corporation, Project: DAV-146A. Publication No: 00-145. Kingston, Australia.

A survey on *Salmonella* infection in broiler farms around Mashhad city: determination of serogroups and antimicrobial resistance pattern of the *Salmonella* isolates

Peighambari, S.M.[1]; Qorbaniun, E.[2]; Morshed, R.[3] and Haghbin Nazarpak, H.[4]

Received: 22.02.2017 Accepted: 28.10.2017

Abstract

Zoonotic diseases of food origin such as salmonellosis are among the main economic and health issues in industrialized and non-industrialized countries. Poultry can play an important role in epidemiology and distribution of salmonellosis in humans. The aims of this study were to isolate *Salmonella* from poultry farms around Mashhad city, identify the serogroups and determine the antimicrobial resistance patterns of the isolated *Salmonella*. A total number of 1560 samples were collected from freshly dropped feces of broiler chickens in 23 flocks. Every 10 samples were pooled and processed for *Salmonella* isolation according to standard procedures. Slide agglutination test was used for determination of O serogroups using polyvalent antisera of A to D. Antimicrobial susceptibility of the isolates against 27 agents was determined using standard disk diffusion method. Out of 1560 samples (156 pooled-samples), 30 *Salmonella* isolates were recovered. The results of serological tests identified six serogroup D, one serogroup other than A-D and the rest of 23 isolates as serogroup C. The highest resistance was belonged to colistin, amoxiclav, oxytetracycline, nitrofurantoin, doxycycline, nalidixic acid and the highest susceptibility belonged to fosfomycin, ceftriaxone, cefixime, norfloxacin and gentamycin. Multi-drug resistance was common among the *Salmonella* isolates. Resistance to at least 2 and at most 18 antimicrobial agents was shown. Nineteen drug resistance patterns were found. The results of this study showed the presence of *Salmonella* infection among broiler chickens in Mashhad region and the occurrence of antimicrobial resistance among the isolates.

Key words: *Salmonella*, Antimicrobial resistance, Broilers, Mashhad

1- Professor, Department of Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
2- DVM Graduated, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University- Garmsar branch, Garmsar, Iran
3- Assistant Professor, Veterinary and Agriculture Group, Iran Encyclopedia Compiling Foundation, Ministry of Science Research and Technology, Tehran, Iran
4- Assistant Professor, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Garmsar branch, Garmsar, Iran
Corresponding Author: Peighambari, S.M., E-mail: mpeigham@ut.ac.ir