جداسازی *کلستریدیوم پرفرینجنز* از برخی طیور گوشتی استان فارس و مطالعه مقاومت داروئی

قربانی رنجبری، ع .[۱*]، اسماریان، ش. [۲]، قربانی رنجبری، ن. [۱و۳]، قربانی رنجبری، ز. [۳].

دریافت: ۱۳۹۱/۰۶/۲۴ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۲/۰۱

خلاصه

کلستریدیوم پرفرینجنز باسیل، گرم مثبت، ضخیم وکشیده، به صورت تکی یا دوتایی وبه ندرت زنجیره ای است. باکتری*کلستریدیوم پرفرینجنز* توکسین زای تیپ A و C باعث تورم روده نکروتیک درطیور گوشتی شده، ازطرفی سبب انتروتوکسمی در انسان می شود. از آنجا که این باکتری می تواند در طیور وانسان سبب آسیب های جدی شود تعیین الگوی مقاومت دارویی این باکتری ضروری به نظر می رسد. هدف از انجام این تحقیق تعیین الگوی مقاومت داروئی *کلستریدیوم پرفرینجنز* های جداسازی شده از طیورگوشتی می باشد. دراین مطالعه پس از جداسازی ۲۲ جدایه *کلستریدیوم پرفرینجنز* ازگله های گوشتی استان فارس آزمایش آنتی بیوگرام به روش استاندارد Kirby _ Baurer انجام یافت. نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS17 مورد ارزیابی آماری قرارگرفت. تمامی ۲۲ جدایه *کلستریدیوم پرفرینجنز* در این بررسی نسبت به پنی سیلین، ونکومایسین و کلرامفنیکل حساسیتی از۸۱٫۳ درصد تا ۸۸٫۲ درصد را داشتند؛ درحالی که به ترکیبات ضدباکتریایی تتراسایکلین، لینکومایسین، نئومایسین سولفات مقاومت دارویی از۷۱ درصد تا ۸۵ درصد را نشان دادند. همچنین مشخص گردید تمامی جدایه ها به بیش از یک ترکیب ضد باکتریایی مقاومت نشان می دهند. ازطرفی بین جدایه های مقاوم به دارو با جدایه های حساس اختلاف آماری معناداری وجود داشت ($P\leq0.05$). با توجه به مقاومت داروئی بالای *کلستریدیوم پرفرینجنز* های جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک های تتراسایکلین، لینکومایسین، نئومایسین سولفات، قبل از تجویزآنتی بیوتیک، انجام آزمایش آنتی بیوگرام الزامی می باشد

واژه‌های کلیدی: *کلستریدیوم پرفرینجنز*، مقاومت داروئی، آنتی بیوتیک، جوجه گوشتی.

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، کازرون، ایران.

۲. گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحدکازرون،کازرون، ایران.

۳. دانشجوی مهندسی شیلات، دانشگاه بین المللی خرم شهر، خرم شهر، ایران.

*نویسنده مسؤول: **Dr_alighorbani87@yahoo.com**

مقدمه

بیماری آنتریت نکروتیک، یکی از بیماری های باکتریایی در طیور می باشد، که براثر *کلستریدیوم پرفرینجنز* ایجاد می شود؛ *کلستریدیوم پرفرینجنز* باسیل، گرم مثبت، ضخیم وکشیده، به صورت تکی یا دوتایی وبه ندرت زنجیره ای است. *کلستریدیوم پرفرینجنز* توکسین زای تیپ A و C باعث تورم روده نکروتیک درطیور گوشتی شده، ازطرفی سبب مسمومیت غذایی در انسان می شود (جهان تیغ،۱۳۸۶; porter و Robert، ۱۹۹۸). عامل بیماری زای *کلستریدیوم پرفرینجنز* زهرابه (توکسین) می باشد، و به پنج نوع A تا E دسته بندی می شوند. در انسان فقط نوع A وبه ندرت نوع C بیماری زا هستند. این باکتری به همراه مواد غذایی آلوده بلعیده شده و در روده کوچک هاگ گذاری می کنند ودر جریان هاگ گذاری با تولید انتروتوکسین موجب مسمومیت غذایی با نشانه های دردهای شکمی و اسهال می شوند که معمولا کوتاه مدت است(سلطان دلال، ۱۳۸۰; Watkinsو همکاران ۱۹۹۷). در کشوری مانند ایران که استفاده از آنتی بیوتیک های محرک رشد و کوکسیدیواستات های یونوفوره که برباکتری های گرم مثبت اثر دارند متداول می باشد، وقوع بیماری و ایجاد مقاوت دارویی دوراز انتظارنیست. با این حال بروزبالینی این بیماری به خصوص در گله های گوشتی بسیارمحدودمی باشد. با این وجود تعیین الگوی مقاومت دارویی *کلستریدیوم پرفرینجنز*، موارد بالینی در منطقه الزامی به نظر می رسد. لذا هدف از انجام این تحقیق جداسازی کلستریدیوم پرفرینجنز از طیور گوشتی و تعیین الگوی مقاومت داروئی در برابر آ نتی بیوتیک ها است.

مواد و روش کار:

در بهار و تابستان سال ۱۳۹۰ تعداد ۱۵۰ نمونه به صورت تصادفی پس از کشتار از گله های گوشتی دارای سابقه آلودگی استان فارس (شهرستان های کازرون – فسا وداراب) اخذ گردید. برای جداسازی باکتری *کلستریدیوم پرفرینجنز* ازلاشه طیورگوشتی، ابتداسطح سروزی روده لاشه های مبتلا توسط تیغه اسپاتول داغ استریل گردید. سپس موضع به وسیله بیستوری استریل برش داده شد وتوسط یک لوپ استریل مخاط روده تخریش و پس از تهیه گسترش میکروبی و انجام رنگ آمیزی گرم، زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرارگرفت. شناسایی باکتری بر اساس روش های تشریح شده توسط Summanen وهمکاران در سال۱۹۹۳، Quinn ۲۰۰۲ وMiller وهمکاران درسال۱۹۹۸ صورت پذیرفت. درصورت مشاهده باسیل های گرم مثبت حاوی اسپور تشخیص احتمالی برمبنای *کلستریدیوم پرفرینجنز* قرار می گرفت. برای جداسازی کلنی های خالص *کلستریدیوم پرفرینجنز* ازنمونه هایی که در رنگ آمیزی گرم، مثبت بودند، برروی پلت آگارخون دارکشت خطی انجام شد (تمامی مراحل کشت درزیرهود آزمایشگاه ودرمجاورت شعله انجام شد). پلیت های کشت شده به صورت وارونه درداخل جاربی هوازی (Anaerobic Jar, Merck, Germany) قرارگرفتند؛ سپس گاز پک A (Anaerobic A , Merck) در داخل جار بی هوازی که حاوی پلت آگارخون دارکشت شده بود قرار داده شد و پس از بستن درب جار، این جارها در انکوباتور در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت گذاشته شدند. برای تایید شرایط بی هوازی از استریپ های اندیکاتور (Anaerotest, Merck) در هرجار استفاده شد؛ بعد از گذشت زمان فوق الذکر، درب جار بی هوازی باز شد وپلیت های آگار کشت داده شده زیر هود، در مجاورت شعله چراغ مورد بررسی قرار گرفتند. مشاهده کلنی های بزرگ صاف وگرد به قطر ۲ تا ۴ میلی متر با همولیز دوگانه (همولیز کامل در ناحیه داخلی و همولیز ناقص در ناحیه بیرونی) احتمال حضور *کلستریدیوم پرفرینجنز* را مطرح نمود. تعدادی از این کلنی ها انتخاب وپس از انجام رنگ آمیزی گرم زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند تا مورفولوژی مورد انتظار مشاهده شود. برای تایید تشخیص ازمحیط های متعددی استفاده شد. نمونه های احتمالا مثبت به صورت خطی بر روی پلیت های آگار زرده تخم مرغ (Merck) کشت داده شدند. پلیت های آگار زرده تخم مرغ کشت شده به مدت ۴۸ ساعت تحت شرایط بی هوازی در۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردیدند. باکتری های *کلستریدیوم پرفرینجنز* لسیتیناز تولید می کنند که به صورت وجود کدورت و سفیدی در محیط اطراف کلنی باکتری که دلیل برفعالیت لیستیناز باکتری است، مشخص می شود. آزمایش بعدی، تست برای عدم تولید لیپاز بود که بر روی محیط کشت آگار زرده تخم مرغ صورت گرفت. از آنجایی که این باکتری لیپاز تولید نمی کند درمحیط آگار زرده تخم مرغ واکنش مربوط به لیپاز یعنی تولید هاله در اطراف کلنی باکتری *کلستریدیوم پرفرینجنز* به وجود نمی آید. آزمایش دیگری که برروی نمونه ها انجام شد آزماش کمپ – معکوس (Reverse–CAMP test) بود. باکتری *کلستریدیوم پرفرینجنز* تیپ A و باکتری *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* بتا همولیتیک با یک دیگر الگوی سنیرژیستیک همولایتیک کمانی شکل تیپیک روی آگار خون دار ایجاد می کنند. برای این منظور ابتدا باکتری *کلستریدیوم پرفرینجنز* احتمالی را به صورت یک خط روی محیط آگارخون دار کشت داده وسپس *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* بتا همولیتیک به صورت خط عمود بر خط کشت نمونه مشکوک کشت داده شد، به نحوی که با هم تلاقی نداشته باشند (با چند میلی متر فاصله). پلیت ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت آنکوبه شدند. در موارد مثبت همولیزهای کمانی شکل مشاهده شدند. آزمایش بعدی، آزمایش اوره آز بود. برای این منظور محیط استریل اوره تهیه شده و نمونه ها

درآن کشت داده شدند ودر شرایط بی هوازی و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت آنکوبه گردیدند. *کلستریدیوم پرفرینجنز* اوره آز منفی بوده لذا تغییر رنگ ایجاد نشد. آزمایش حرکت نیز درمورد نمونه ها انجام شد. برای این منظور باکتری در لوله های حاوی محیط اوره کشت شد در صورت بروز کدورت و تولید گاز CO_2 باکتری محرک تلقی گردید. لازم به ذکراست که باکتری *کلستریدیوم پرفرینجنز* فاقد حرکت می باشد. در ادمه تست ایندول بر روی نمونه ها نیز انجام شد. باکتری *کلستریدیوم پرفرینجنز* ایندول تولید نمی نماید. برای تایید نهایی، نمونه های به دست آمده که در آزمایشات قبلی مثبت بودند (ازنظر کلستریدیوم پرفرینجنز) برروی محیط (Tryptone Sulfite Neomycin agar) TSN آگار (Merck) که محیط اختصاصی *کلستریدیوم پرفرینجنز* می باشد کشت داده شدند.

پلیت های کشت داده شده در شرایط بی هوازی به مدت ۱۸ ساعت در۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردیدند. بعد از طی مدت زمان مذکور درصورت وجود نتیجه مثبت، کلنی هایی با هسته مرکزی تیره رنگ مشاهده شدندکه بیانگر حضور باکتری *کلستریدیوم پرفرینجنز* بود.

تعیین الگوی مقاومت دارویی جدایه ها

برای تعیین حساسیت ۲۲ جدایه *کلستریدیوم پرفرینجنز* نسبت به داروهای ضد باکتریایی از آزمایش دیسک دیفوزیون به روش استاندارد Kirby-Bauer استفاده شد (Quinn و همکاران، ۲۰۰۲). محیط کشت انتخابی در این روش (Merck) Mueller – Hinton است که رشد پرگنه ها را به صورت انفرادی و در کنار هم به طور رضایت بخشی فراهم می کند. شش عامل ضد باکتریایی مورد آزمایش وغلضت بالقوه آن ها (برحسب میکروگرم) عبارت بودند از: پنی سیلین(۱۰)، ونکومایسین(۳۰)، لینکومایسین، کلرامفنیکل(۳۰)، تتراسایکلین(۳۰) و نئومایسین(۳۰) که همگی از شرکت پادتن طب (ایران) تهیه شده بود آزمایش برای هر ۲۲ جدایه به شرح زیر انجام شد: *کلستریدیوم پرفرینجنز* برداشت شده از محیط ذخیره BHB (Brain Heart infusion Broth) (آبگوشت مغز و قلب) روی محیط آگار خون دار کشت خطی داده شده وبه مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد در شرایط بی هوازی آنکوبه گردید. سپس ۴ تا ۵ کلنی تک *کلستریدیوم پرفرینجنز* از محیط آگار خون دار برداشت شده وبه یک لوله آزمایش درب دار حاوی ۴ تا ۵ سانتی متر مکعب محیط BHB انتقال داده شد. محیط تلقیح شده به مدت ۲ تا ۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و شرایط بی هوازی تا مشاهده یک کدورت واضح و قابل قبول با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند انکوبه گردید. سپس یک سواپ استریل به درون این سوسپانسیون باکتریایی وارد و مایع اضافی سواپ با فشار و چرخاندن به جداره داخلی لوله حاوی سوسپانسیون باکتریایی گرفته شد؛ سواپ به صورت خطی و بدون فاصله بین خطوط کشت بر روی سطح محیط مولرهینتون آگار (ضخامت محیط کشت فوق ۴ میلی متر بود) که ۲۰ دقیقه قبل از استفاده از یخچال خارج گردیده بود، کشت داده شد. به منظور تلقیح یک نواخت، کشت خطی سه مرتبه انجام شد. بدین نحو که هر مرتبه پلیت حاوی محیط کشت به میزان ۶۰ درجه نسبت به دفعه قبل چرخانده شده و مجددا سواپ بر روی آن به صورت خطی کشیده شد. در نهایت سر سواپ به لبه خلفی پلیت و در تماس با سطح محیط کشت چسبانده و یک دور کامل چرخانده شد. پلیت های تلقیح شده به مدت ۳ تا ۵ دقیقه به همان حال باقی ماندند تا رطوبت اضافی قبل ازگذاشتن دیسک های آنتی بیوگرام توسط آگار جذب شود؛ سپس دیسک های مورد آزمایش که ۱ساعت قبل، به منظور رسیدن به درجه حرارت آزمایشگاه از یخچال خارج شده بودند توسط پنس استریل بر روی سطح محیط مولرهینتون آگار تلقیح شده قرارداده شدند. به منظور رعایت فاصله بین دیسک ها بر روی محیط کشت به میزان ۲۴ میلی متر از یکدیگر و ۱۵ میلی متر از جدار پلیت فقط ۶ دیسک بر روی یک پلیت ۹۰ میلی متری گذاشته شد. ظرف مدت ۱۵ دقیقه پس از دیسک گذاری، پلیت های جمع آوری شده و در وضعیت وارونه به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد و در شرایط بی هوازی آنکوبه شدند؛ بعد از این مدت برای قرائت نتیجه آزمایش با استفاده از چشم غیر مسلح ودر حضور نور متمرکز، قطر هاله ممانعت از رشد هر دیسک ضد باکتریایی بر حسب میلی متر توسط کولیس اندازه گیری شد و با جدول تفسیر قطر هاله ممانعت براساس حساس و مقاوم طبقه بندی شدند (Dutta و ۱۹۸۱ Jung ; Devriese ۱۹۸۳; Quinn و همکاران، ۲۰۰۲). در ادامه نتایج حاصل از بررسی، به وسیله نرم افزار SPSS17مورد ارزیابی آماری (T. test) قرار گرفت.

نتایج

تمامی ۲۲ جدایه *کلستریدیوم پرفرینجنز* در این بررسی نسبت به پنی سیلین، ونکومایسین وکلرامفنیکل حساسیتی از حدود ۸۱,۳ درصد تا ۸۸,۲ درصد را داشتند؛ درحالی که به ترکیبات ضد باکتریایی تتراسایکلین، لینکومایسین، نئومایسین سولفات، مقاومت دارویی از ۷۱ درصد تا ۸۵ درصد را نشان دادند. همچنین مشخص گردید تمامی جدایه ها به بیش از یک ترکیب ضد باکتریایی مقاومت نشان می دهند (جدول ۱). همچنین مشخص شد که ۱۰۰ درصد جدایه های *کلستریدیوم پرفرینجنز* به بیش از یک ترکیب ضد باکتریایی مقاومت نشان دادند (جدول۲). از لحاظ آماری درمورد جدایه های مقاوم با

علامت * نشان دهنده وجود اختلاف معنادارمی باشد ($P \leq 0.05$).

تصویر ۱: نمودار مربوط به درصد مقاومت دارویی *کلستریدیوم پرفرینجنز* های جداسازی شده به آنتی بیوتیک های مورد بررسی

ترکیبات ضد باکتریایی	٪جدایه های مقاوم	٪ جدایه های نیمه حساس	جدایه های حساس
پنی سیلین	۱۸.۷	۰	۸۱.۳
ونکومایسین	۹.۸	۲	۸۸.۲
لینکومایسین	۷۱	۵	۲۴
کلرامفنیکل	۰	۱۸	۸۲
نئومایسین سولفات	۸۵	۶	۹
تتراسایکلین	۸۱	۱۰	۹

جدول ۱. درصد مقاومت دارویی ۲۲ جدایه کلستریدیوم پرفرینجنز از مرغ گوشتی نسبت به ۶ ترکیب ضد باکتریایی

درصد جدایه های مقاوم	تعداد ترکیبات ضد باکتریایی
۱۰۰	۱
۱۰۰	۱<
۹۵	۲<

جدول ۲. مقاومت چندگانه جدایه های کلستریدیوم پرفرینجنز جدا شده از مرغ گوشتی نسبت به ترکیبات ضدباکتریایی از مجموع ۶ ترکیب

جدایه های حساس و نیمه حساس در خصوص تمامی آنتی بیوتیک های مورد بررسی، اختلاف آماری معناداری وجود دارد ($P\leq0.05$). درضمن بین جدایه های حساس با نیمه حساس بجز تتراساکلین در خصوص دیگر آنتی بیوتیک ها اختلاف آماری معناداری وجود دارد ($P\leq0.05$) (تصویر۱).

بحث

بیماری ورم روده نکروتیک به وسیله تکثیر باکتری *کلستریدیوم پرفرینجنز* تیپ A یا C در روده کوچک ماکیان ایجاد می شود، از طرفی دو تیپ مذکور در انسان نیز سبب انتروتوکسین می شوند، لذا به عنوان یک بیماری زئونوز مطرح می باشد. لازم به ذکراست که از میان ۱۷۰۹عامل بیماری زا، ۸۳۲ عامل زئونوز می باشند (قربانی رنجبری، ۱۳۹۰). ورم روده نکروتیک در اروپا، آسیا و آمریکای شمالی در حال تبدیل شدن به یک بیماری عمومی است. در سال ۱۹۹۵، بیماری ورم روده نکروتیک ۴درصد از بیماری های گزارش شده در فرانسه را شامل می شد و در سال ۱۹۹۹این رقم به ۱۲/۴ درصد افزایش یافت (Drouin، ۱۹۹۹). Devriese و همکاران طی سال های ۱۹۹۱ و ۱۹۹۲ حداقل غلظت مهاری ۷ آنتی بیوتیک محرک رشد علیه ۹۵ جدایه *کلستریدیوم پرفرینجنز* جدا شده از طیور، خوک وگوساله را مورد ارزیابی قراردادند. همه این سویه ها به آنتی بیوتیک های بامبرمایسین، فلاووومایسین (فلاووفسفولیپول) مقاومت نشان دادند ولی به آووپارسین، آویلامایسین و سالینومایسین حساس بودند. مقاومت به تایلوزین و ویرجینیامایسین در بعضی جدایه های حاصل از تمام گونه های بررسی شده، شناسایی گردید (Devriese و همکاران، ۱۹۹۳). دربررسی که توسط Tansuphasiriu و Sang (۲۰۰۵)، روی ۲۰۱ جدایه *کلستریدیوم پرفرینجنز* جدا شده از مدفوع انسان، خوک وغذا وسایر منابع محیطی (که به وسیله PCR تایید شده بود) نسبت به ۷ ترکیب ضدباکتریایی انجام شد، مشخص گردید که بیشترین مقاومت این جدایه ها به ترتیب در برابر تتراساکلین (۵۶/۲ درصد)، ایمیپنوم (۲۴/۹درصد)، مترونیدازول (۹/۵ درصد)، پنی سیلین G (۹درصد) و ونکومایسین(۴/۵ درصد)، کلرامفنیکل(۳درصد) و سفتراکسون(۱درصد) می باشد. در مطالعه حاضر طیف و میزان مقاومت جدایه ها به ترکیبات ضدباکتریایی گسترده وبالا بود به طوری که جدایه *کلستریدیوم پرفرینجنز* مورد بررسی، بیشترین مقاومت را نسبت به ۳

ترکیب ضد باکتریایی نئومایسین سولفات با ۸۵ درصد، تتراسایکیلین با ۸۱ درصد و لینکومایسین با ۷۱ درصد نشان دادند. همچنین کمترین مقاومت جدایه *کلستریدیوم پرفرینجنز* نسبت به کلرامفنیکل با صفر درصد، ونکوماییسین با ۹/۸ درصد و پنی سیلین با ۱۸/۷درصد بود. Martel و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی خود حساسیت جدایه های *کلستریدیوم پرفرینجنز* که از روده طیور گوشتی از ۳۱ مزرعه مختلف طیورگوشتی در بلژیک جدا شده بودند را نسبت به ۱۲ ترکیب آنتی بیوتیک که برای درمان، تحریک رشد یا پیشگری از کوکسیدیوز به کار می رفت، ارزیابی نموده ونشان دادند که جدایه ها به طور یکسانی به آنتی بیوتیک های یونوفوره از قبیل موننسین، لازولاسید، سالینومایسین، مادورامایسین وناراسین حساس بودند (Martel و همکاران، ۲۰۰۴). در این مطالعه نیز درصد بالایی ازمقاومت نسبت به بعضی از آنتی بیوتیک ها مانند: تتراسایکلین، لینکومایسین و نئومایسین سولفات دیده شد. با این حال Johansson و همکاران (۲۰۰۴)، دریافتند که مقاومت به تتراسایکلین در سویه های جدا شده از ۳ کشور سوئد با ۷۶ درصد، دانمارک با ۱۰ درصد و نروژ با ۲۹ درصد و در ۸۰ درصد جدایه های مقاوم به تتراسایکلین (با روش PCR) ۲ ژن مقاومت tetA(p) و tetB(p) شناسایی گردید وتنها در۲۰ درصد جدایه های مقاوم به تتراسایکلین ژن tetA(p) وجود داشت. این درجات مقاومت به تتراسایکلین در جدایه های *کلستریدیوم پرفرینجنز* طیورگوشتی درسوئد، درحالی بود که میزان مصرف تتراسایکلین در طیور این کشور در کمترین مقداربود. در انتها به نظر می رسد با توجه به مقاومت داروئی بالای *کلستریدیوم پرفرینجنز*، قبل از تجویزآنتی بیوتیک، انجام آزمایش آنتی بیوگرام الزامی می باشد. امید است با انجام آنتی بیوگرام در تجویز دارو در دامپزشکی ازمقاومت دارویی جلوگیری شود و با درمان به موقع خطرات ناشی از انتقال بیماری های زئونوز کاهش یابد.

Journal of Veterinary Laboratory Research 5 (2013) 39-46

Study of drug resistance patterns of separated *Clostridium perfringens* from broiler in Fars province

Ghorbani-Ranjbry, A. *[1], Asmarian, Sh.[2], Ghorbani-Ranjbry, N.[1,3], Ghorbani-Ranjbry, Z.[3].

Received: 14.09.2012 Accepted: 19.02.2013

Abstract

Clostridium perfringens is a thick, gram positive and long bacteria (basil) that is seen in single or double. It is rarely like chain. Type C and D toxins of Clostridium cause necrotic enteritis in broiler. It is also cause enteric toxin in human. The aim of this study was to determine drug resistance patterns of separated Clostridium perfringens in broiler. Antibiogram test was performed after separation of 22 strains of *Clostridium perfringens* from broiler of Fars province and sensitivity to penicillin, chloramphenicol and vancomycin was recorded. Results were analyzed by using statistical software SPSS17. In this research, sensitivity in all 22 isolates of *Clostridium perfringens* to penicillin, vancomycin and chloramphenicol was 81.3 percent to 88.2 percent, while in the other antibacterial compounds such as tetracycline, lincomycin, neomycin sulfate resistance showed a 71% to 85%. Furthermore, all isolates showed resistance to more than one antibacterial compound. Also there was statistically significant difference ($P \leq 0.05$) between susceptible isolates and resistant isolates. According to drug resistance of *Clostridium perfringens* isolates to antibiotics tetracycline, lincomycin, neomycin sulfate before antibiotic prescription, antibiogram tests are required.

Key words: *Clostridium perfringens*, antibiotic resistance, antibiotics, broiler

1. Young Researchers and Elite Club, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

2. Departement of Pharmacology, Faculty of specialized Veterinary Science, Islamic Azad University, Kazeroon, Iran.

3. Khoramshahr Marine Science, Technology University, Khoramshahr, Iran.

*Corresponding author: **Dr_alighorbani87@yahoo.com**

منابع

جهان تیغ، م. ۱۳۸۶. بیماری های عفونی دستگاه گوارش طیور. ویرایش یکم. تهران: انتشارات نوربخش. ص: ۱۵-۲۰.

قربانی رنجبری، ع. ۱۳۹۰. زئونوزهاوراه های پیشگیری. ویرایش یکم. شیراز. انتشارات نامه پارسی. ص :۲۴-۲۵.

سلطان دلال، م.، محمدیان، ز.، غریبیان، ن. ۱۳۸۰. میزان آلودگی ماکارونی تولید شده به *کلستریدیوم پرفرینجنز* درمنطقه جاجرود-رودهن، مجله علوم پزشکی گرگان، **۳(۱)**، ۲۴-۲۰.

Robert, E., Porter, J.R. 1998. Bacterial enteritides of poultry. Science, **77**, 1159-1162.

Devriese, L.A, Daube, G., Hommez, J., Haesebrouck, F. 1993. In vitro susceptibility of clostridium perfringens isolated from farm annimals to growth- enhancing antibiotics. Journal of Applied Bacteriology, **75**, 55-57.

Drouin, P. 1999. Rerour en farce de I enterite necrotique. Filieres Avicles, 78-79.

Dutta, G.N., Devriese, L.A. 1981. Macrolid- Lincosamide-steptogramin resistance patterns in clostridium perfringens from annimals. Antimicrobial Agents of Chemotherapy, **19(2)**, 274-278.

Johansson, A., Greko, C., Engstrom, B.E., Karlsson, M. 2004. Antimicrobial susceptibility of Swedish, Norwegian and Danish isolates of *Clostridium perfringens* from poultry, and distribution of tetracycline resistance genes. Veterinary Microbiology, **99(3-4)**, 251-257.

Jung, W.k. 1983. Susceptibility of 50 isolates of vencomycin. Chemotherapy, **29(2)**, 99-103.

Martel, A., Devriese, L.A., Cauwerts, K., De Gussem, K., Decostere A., Haesebrouck, F. 2004. Susceptibility of *Clostridium perfringens* strains from broiler chickens to antibiotics and anticoccidials. Avian Pathology, **33**, 3-7.

Miller, D.A. 1998. Clostridial diseases, P. 61. In D. E. Swayne, J.R. Glisson, M.M. Jakwood, J.E. pearson, W.M. Reed (ed.), A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. 4ed., American Association of Avian Pennsylvania, USA.

Quinn, P.J,. Carter, M.E., Markey, B.K., Donnelly, W.J., Leonard, F.C. 2002. Veterinary Microbiology and Microbial Diseas. Black Well publishing, Iowa State press, USA., pp:28-35.

Summanen, P., Baron, E.N., Citron, J., Strong, D.M., Wexler, H.M., Firegold, S.M. 1993. Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual. 5 ed., Star publishing company, Belmont. Califoria, pp: 248-288.

Tansuphasiriu, M.W., Sang, S.K.L. 2005. Antimicrobial Resistance among *clostridium perfringens* solated from various sources in Thailand. Southeast. Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, **36(4)**, 954-961.

Watkins, K.L., shryock, T.R., Dearth. R.N., Saif, Y.M. 1997. In vitro antimicrobial susceptibility of clostridium perferingens from commercial turkey and broiler chikens origim. Veterinary Microbiology, **54(2)**, 195-200.