بررسی آلودگی گله های طیور گوشتی اطراف قائمشهر به *سالمونلا* ها : تعیین سروتیپ و الگوی آن ها به مقاومت دارویی

ارم، ن.[۱]، پیغمبری، س.م.[۲]، یزدانی، ا.[۲].

دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۰۸ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۲/۱۱

خلاصه

سالمونلا باکتری گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه (*Entrobacteriaceae*) و عامل بیماری سالمونلوز می باشد. این باکتری یکی از مهمترین عوامل بیماریزای مشترک انسان و دام است که در سراسر جهان گسترش دارد. هدف از این مطالعه جدا سازی *سالمونلا* از گله های گوشتی شهرستان قائمشهر و حومه، تعیین سروتیپ و تعیین الگوی مقاومت دارویی *سالمونلا*های جدا شده بود. تعداد ۲۲۸۰ نمونه از مدفوع تازه دفع شده جوجه های گوشتی به طور تصادفی از گله های مختلف جمع آوری شد. پس از مخلوط نمودن هر ۱۰ نمونه، تمامی نمونه ها بر اساس روش های استاندارد برای جداسازی *سالمونلا* کشت داده شدند. تعیین سروتیپ بر اساس روش استاندارد آگلوتیناسیون روی لام جهت تشخیص پادگن های O و H صورت گرفت. آنتی سرم های پلی والان A تا D و مونو والان های O2، O4، O5، O9، O12، H2، H6، HL، Hgm مورد استفاده قرار گرفتند. روش استاندارد دیسک دیفوزیون برای تعیین حساسیت جدایه ها نسبت به ۳۰ عامل ضد میکروبی انجام گردید. از مجموع ۲۲۸۰ نمونه (۲۲۸ نمونه مخلوط شده) تعداد ۳۰ جدایه *سالمونلا* بدست آمد. بر اساس نتایج آزمایشات سرمی، ۲۸ مورد از جدایه ها به گروه سرمی C و ۲ مورد از جدایه ها به گروه سرمی D (سروتیپ Enteritidis) تعلق داشتند. همه ی نمونه های جدا شده به Levofloxacin و Fosbac حساسیت کامل داشتند و بیشترین میزان مقاومت دارویی نیز نسبت به ترکیبات Nalidixic acid، Furazolidone، Streptomycin، Tetracycline و Lincospectine مشاهده شد. در بین جدایه های *سالمونلا*، وقوع مقاومت چندگانه بسیار شایع بود به طوری که آن ها حداقل به ۲ و حداکثر به ۱۷ دارو مقاوم بودند و ۲۹ الگوی مقاومت دارویی شناسایی شد. نتایج این مطالعه، آلودگی طیور گوشتی منطقه قائمشهر به *سالمونلا* و وقوع مقاومت ضد میکروبی در بین جدایه ها را نشان داد. این یافته ها برای صنعت طیور ایران دارای اهمیت و از نقطه نظر بهداشت عمومی نیز مورد توجه است.

واژه‌های کلیدی: *سالمونلا*، گروه سرمی، سروتیپ، مقاومت دارویی، جوجه گوشتی، قائمشهر، ایران.

۱.دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت و بیماری های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲. گروه بیماری های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

*نویسنده مسؤول: **mpeigham@ut.ac.ir**

مقدمه

سالمونلا باکتری‌گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه(*Entroba cteriaceae*) و عامل بیماری سالمونلوز می باشد. این باکتری یکی از مهمترین عوامل بیماریزای مشترک انسان و دام است که در سراسر جهان گسترش دارد. اعضای خانواده *سالمونلا* از نظر مقاومت در برابر عوامل فیزیکی و شیمیایی شاخص هستند و به سختی نابود می‌شوند به طوری که سروتیپ *کلراسوییس* آن شاخصی برای سنجش کیفیت ضدعفونی کننده‌ها می‌باشد. عفونت سالمونلوز در پرندگان به دلیل خطری که برای بهداشت انسانی دارد از اهمیت بالایی برخوردار است. بیماری های ناشی از سروتیپ های این باکتری از لحاظ اقتصادی و بهداشت جهانی اهمیت زیادی دارند. *سالمونلا* شامل بیش از ۲۶۰۰ سروتیپ غیرتیفوئیدی است که تقریبا ۱۰ درصد آن‌ها از طیور جدا شده‌اند (Gast، ۲۰۰۸).

بیماری که به وسیله سروتیپ های متحرک *سالمونلا* به استثنای آریزوناها در طیور ایجاد می‌گردد به عنوان عفونت پاراتیفوئیدی شناخته می‌شود. این سروتیپ ها طیف میزبانی متنوع وگسترده‌ای دارند. در سال‌های اخیر موضوع انتقال آن‌ها به انسان از طریق غذا و به ویژه گوشت مرغ و تخم‌مرغ و محصولات طیور اهمیت خاصی پیدا کرده است. بیماری پاراتیفوئید در جوجه‌ها و بوقلمون‌ها در سنین پایین سبب بیماری‌های مختلف شدیدتری نسبت به بالغین می‌شود در حالی که پرندگان با سن بالا فقط کلونیزاسیون روده یا حتی پخش سیستمیک باکتری بدون ابتلا و تلفات را داشته‌اند (Gast، ۲۰۰۸). در سال های اخیر ظهور جدایه های *سالمونلا* دارای مقاومت چند گانه در سراسر دنیا گزارش شده است که همین امر فرآیند درمان عفونت های ناشی از آنها را با مشکل مواجه ساخته است. بررسی میزان شیوع *سالمونلا* در مزارع پرورش ماکیان و مدیریت و کنترل صحیح آن از جمله راهکار های مهم در کاهش آلودگی متقاطع از طریق زنجیره غذایی و متعاقب آن کاهش عفونت های *سالمونلا*یی به ویژه *سالمونلا*های مقاوم در انسان هستند. با توجه به اهمیت موضوع و فقدان اطلاعات کافی در خصوص میزان آلودگی *سالمونلا*ئی گله‌های طیور در مناطق مختلف ایران، مطالعه ای با هدف جداسازی *سالمونلا* از ۲۰ گله ی گوشتی شهرستان قائمشهر و حومه با هدف تعیین سروتیپ *سالمونلا*های جدا شده با استفاده آنتی سرم های پلی و مونووالان و تعیین الگوی مقاومت دارویی این جدایه ها انجام شد. به طور قطع، توجه به نتایج حاصله از این تحقیق برای متخصصین بهداشت و اپیدمیولوژی و بیماری های مشترک در جوامع انسانی و نیز ماکیان صنعتی جهت تدوین برنامه های پایش و کنترل و حذف بیماری های ناشی از *سالمونلا* در انسان و ماکیان حائز اهمیت است.

مواد و روش کار

نمونه برداری

از ۲۰ مرغداری گوشتی اطراف شهرستان قائمشهر به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری شد. هر سالن مرغداری به ۶ ناحیه تقسیم شد و از هر ناحیه ۱۰ نمونه تازه مدفوعی برداشته شد. نمونه‌برداری شامل نمونه مدفوعی تازه دفع شده از پرندگان بود که در مجموع ۲۲۸۰ نمونه تازه مدفوعی بدست آمد.

روش کشت برای جداسازی *سالمونلا*

پس از جمع‌آوری نمونه‌های تازه مدفوعی و مخلوط نمودن هر ۱۰ نمونه، تمامی نمونه‌ها به محیط غنی‌سازی Selenite F اضافه شدند و پس از ۲۴ ساعت باکتری ها به محیط انتخابی MacConkey و *Salmonella*-Shigella منتقل شدند. کلنی‌های مشکوک به *سالمونلا* در محیط های (TSI)[1] و اوره کشت داده شدند. همچنین جدایه ها در محیط های بیوشیمیایی مختلف شامل محیط های نیترات، آب پپتونه MR-VP و سیترات کشت داده شدند و از لحاظ تخمیر قندهای ترهالوز، دولسیتول و مانیتول نیز مورد بررسی قرار گرفتند. جدایه ها پس از تأیید به عنوان *سالمونلا* در فریزر C °۷۰- و ازت مایع نگهداری شدند (Waltman و همکاران، ۱۹۹۸).

تعیین گروه سرمی و سروتیپ

جهت آماده سازی جدایه ها بعد از خارج کردن از ازت مایع، یک لوپ از هر جدایه داخل ۳ میلی لیتر محیط (TSB)[2] ریخته و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد، در محیط مک کانکی (Mc Conkey) کشت داده شد. مجددا" پس از ۲۴ ساعت از پرگنه های رشد کرده روی محیط مک کانکی در محیط TSI کشت داده و از پرگنه های به دست آمده جهت کارهای بعدی استفاده گردید. تعیین سروتیپ براساس روش استاندارد آگلوتیناسیون روی لام جهت تشخیص پادگن‌های O و H صورت گرفت. برای تعیین گروه سرمی و سروتیپ *سالمونلا*ی جدا شده، از آنتی سرم‌های O و H شرکت Prolab (England) و یا در مواردی از آنتی سرم‌های O شرکت بهارافشان (تهران، ایران) استفاده شد. جهت تعیین گروه از کشت ۲۴ ساعته و خالص باکتری در روی محیط TSI، شیرابه غلیظی با سرم فیزیولوژی ۰/۸۵ درصد بر روی یک لام تمیز تهیه کرده و پس از کنترل اتوآگلوتیناسیون، یک قطره از آنتی سرم‌های موجود را روی آن قرار داده و با هم مخلوط شدند. نتیجه در برابر چراغ و در زمینه سیاه قرائت شد. در صورتی که آگلوتیناسیون در کمتر از ۲ دقیقه مشاهده می شد واکنش مثبت تلقی

1. Triple Sugar Iron Agar
2. Tryptic Soy Broth

می‌گردید. به همین ترتیب از آنتی سرم‌های مونو والان متعدد موجود برای تشخیص گروه سرمی O استفاده شد. در مرحله بعدی برای تعیین سروتیپ در داخل گروه، بنا بر دستورالعمل کارخانه سازنده Prolab از محیط کشت نیمه جامد TSB برای تعیین آنتی‌ژن تاژکی به روش آگلوتیناسیون روی لام و در لوله آزمایش استفاده شد. آنتی سرم‌های تاژکی موجود H2, H6, HL, Hgm بودند که برای تشخیص سروتیپ بعضی جدایه ها قابل استفاده بودند. در سایر موارد شناسایی جدایه ها فقط محدود به تعیین گروه سرمی O گردید (Waltman و همکاران، ۱۹۹۸).

تعیین الگوی مقاومت داروئی

برای تعیین الگوی مقاومت دارویی روش کیفی مورد استفاده دیسک دیفوزیون به روش استاندارد Kirby-Bauer بود (Quinn و همکاران، ۱۹۹۴). نتایج نیز بر اساس دستورالعمل (CLSI)[1] قرائت شد. تعداد ۳۰ عامل آنتی باکتریال مورد آزمایش و غلظت بالقوه آن‌ها (بر حسب میکروگرم)، عبارت بودند از: آمپی سیلین (۱۰)، کلرامفنیکل (۳۰)، سیپروفلوکساسین (۵)، انروفلوکساسین (۵)، فورازولیدون (۱۰۰)، فلومکوئین (۳۰)، جنتامایسین (۱۰)، لینکواسپکتین (۱۵/۲۰۰)، نالیدیکسیک اسید (۳۰)، نئومایسین (۳۰)، نورفلوکساسین (۱۰)، تتراسایکلین (۳۰)، استرپتومایسین (۱۰)، سولفامتوکسازول + تری متوپریم (۱/۲۵ + ۲۳/۷۵)، دانو فلوکساسین (۱۰)، کاربنیسیلین (۱۰۰)، سفیکسیم (۵)، ایمیپنم (۱۰)، سفالوتین (۳۰)، سفتی راکسون (۳۰)، آموکسی کلاو (۳۰)، سفتازیدیم (۳۰)، لووفلوکساسین (۵)، کانامایسین (۳۰)، آمیکاسین (۳۰)، پیپراسیلین (۱۰۰)، توبرامایسین (۱۰)، فلورفنیکل (۳۰)، فوزباک (۲۰۰)، و کلیستین (۱۰). دیسک فوزباک از شرکت پایا دارویه (ایران) و بقیه دیسک‌ها از شرکت پادتن طب (ایران) تهیه شدند. برای قرائت نتیجه آزمایش با استفاده از چشم غیر مسلح و در حضور نور متمرکز، قطر هاله ممانعت شونده از رشد هر ترکیب ضد میکروبی بر حسب میلی متر توسط خط کش اندازه گیری شد و با مقایسه با جدول تفسیر قطر هاله ممانعت شونده براساس حساس و مقاوم و حساسیت نسبی طبقه بندی شدند.

نتایج

در این مطالعه ۲۲۸۰ نمونه مدفوعی تازه از مرغداری های اطراف شهرستان قائم شهر اخذ شد و برای انجام آزمایشات هر ۱۰ نمونه باهم مخلوط و در مجموع ۲۲۸ نمونه مورد بررسی قرار گرفت که پس از کشت و تایید خصوصیات شیمیایی مجموعاً ۳۰ جدایه *سالمونلا* بدست آمد که این میزان برابر با ۱۳/۱۵٪ آلودگی است. بر اساس نتایج تعیین سروتیپ، ۲۸ جدایه (۹۳/۳۳٪) متعلق به گروه سرمی C (O7, O8) و ۲ جدایه (۶/۶۶٪) به گروه سرمی D (O9,O12) تعلق داشتند. هر ۲ جدایه سروگروپ (O9,O12) D به Hgm واکنش مثبت داشتند. لذا سروتیپ انتریتیدیس (ser. *enteritidis*) تشخیص داده شدند. الگوی مقاومت ۳۰ جدایه *سالمونلا* نسبت به ۳۰ ترکیب ضد میکروبی مورد مطالعه بسیار متنوع بوده و ۲۹ الگوی مقاومت بدست آمده است . تعداد ۲۸ جدایه (۹۳/۳۳٪) به ۲۸ الگوی مقاومت (هر جدایه به یک الگو) و ۲ جدایه (۶/۶۶٪) نیز یک الگوی یکسان از نظر مقاومت را به نمایش گذاشتند (جدول۱). همه جدایه های مورد بررسی نسبت به ترکیبات لووفلوکساسین و فوزباک حساس بودند. بعد از این ترکیبات، کمترین مقاومت داروئی به نورفلوکساسین، آمیکاسین، دانوفلوکساسین، ایمیپنم وسفتازیدیم مربوط می شد. بیشترین میزان مقاومت داروئی نیز متعلق به آنتی بیوتیک های استرپتومایسین، فورازولیدون، نالیدیکسیک اسید، تتراسایکلین و لینکواسپکتین بود. در بین جدایه های مقاوم، وقوع مقاومت چندگانه بسیار شایع بود به طوری که آن ها حداقل به دو دارو و حداکثر به ۱۷ دارو مقاوم بودند (جدول۲). هیچکدام از جدایه ها به بیش از ۱۷ دارو مقاوم نبودند.

بحث

بیماری‌های ناشی از *سالمونلا*ها در سراسر دنیا و در اکثر گونه های حیوانی مشاهده می شود. انتقال *سالمونلا* به انسان از طریق گوشت مرغ و تخم‌مرغ و محصولات طیور از درجه اهمیت زیادی برخوردار است. بررسی آمار و اطلاعات موجود در زمینه شیوع سالمونلوز در انسان و حیوانات در کشورهای مختلف اعداد متفاوتی را نشان می دهد. به نظر می رسد که در طیور چرخشی بین سروتیپ های مختلف وجود دارد و در دوران خاصی، سروتیپی جایگزین سروتیپ دیگر می شود (زهرایی صالحی، ۱۳۷۸).

در مطالعه حاضر که بر روی نمونه های اخذ شده از گله های طیور گوشتی شهرستان قائمشهر و حومه صورت گرفت پس از انجام آزمایشات لازم تعداد ۳۰ جدایه *سالمونلا* مورد تایید قرار گرفت که برابر با ۱۳/۱۵٪ آلودگی است که این میزان تقریباً با یافته ها در سایر مناطق همخوانی دارد. فقیه نصیری (۱۳۹۰) در بررسی مرغداری های گوشتی شهرستان چالوس و حومه ۸٪ آلودگی سالمونلایی و فلاح دوست (۱۳۹۰) در مطالعه ای مشابه در شهرستان لاهیجان و حومه ۷/۲٪ آلودگی سالمونلایی را گزارش نمود. در مطالعه ای در ژاپن، شیوع به *سالمونلا* در ۲۸ گله گوشتی مورد بررسی قرار

1. Clinical and Laboratory Standards Institute

ردیف	دارو	تعداد مقاوم (٪)	تعداد حساسیت متوسط (٪)	تعداد حساس (٪)
۱	آمپی سیلین	۰ (۰)	۵ (۱۶/۶۶)	۲۵ (۸۳/۳۳)
۲	آموکسی کلاو	۱۳ (۴۳/۳۳)	۱۴ (۴۶/۶۶)	۳ (۱۰)
۳	آمیکاسین	۰ (۰)	۲ (۶/۶۶)	۲۸ (۹۳/۳۳)
۴	کلرآمفنیکل	۱۵ (۵۰)	۲ (۶/۶۶)	۱۳ (۴۳/۳۳)
۵	سفتازیدیم	۰ (۰)	۳ (۱۰)	۲۷ (۹۰)
۶	کاربنیسیلین	۲۵ (۸۳/۳۳)	۴ (۱۳/۳۳)	۱ (۳/۳۳)
۷	سفالوتین	۱ (۳/۳۳)	۶ (۲۰)	۲۳ (۷۶/۶۶)
۸	سفیکسیم	۳ (۱۰)	۷ (۲۳/۳۳)	۲۰ (۶۶/۶۶)
۹	سیپروفلوکساسین	۱ (۳/۳۳)	۴ (۱۳/۳۳)	۲۵ (۸۳/۳۳)
۱۰	سفتی راکسون	۰(۰)	۹ (۳۰)	۲۱ (۷۰)
۱۱	کلیستین	۱۹ (۶۳/۳۳)	۱۰ (۳۳/۳۳)	۱ (۳/۳۳)
۱۲	دانوفلوکساسین	۲ (۶/۶۶)	۰ (۰)	۲۸ (۹۳/۳۳)
۱۳	فلورفنیکل	۱۷ (۵۶/۶۶)	۶ (۲۰)	۷ (۲۳/۳۳)
۱۴	فلومکوئین	۲۴ (۸۰)	۴ (۱۳/۳۳)	۲ (۶/۶۶)
۱۵	فورازولیدون	۲۸ (۹۳/۳۳)	۱ (۳/۳۳)	۱ (۳/۳۳)
۱۶	جنتامایسین	۰ (۰)	۵ (۱۶/۶۶)	۲۵ (۸۳/۳۳)
۱۷	ایمیپنم	۰ (۰)	۲ (۶/۶۶)	۲۸ (۹۳/۳۳)
۱۸	کانامایسین	۱۸ (۶۰)	۴ (۱۳/۳۳)	۸ (۲۶/۶۶)
۱۹	لووفلوکساسین	۰ (۰)	۰ (۰)	۳۰ (۱۰۰)
۲۰	لینکواسپکتین	۲۹ (۹۶/۶۶)	۰ (۰)	۱ (۳/۳۳)
۲۱	نئومایسین	۱۹ (۶۳/۳۳)	۴ (۱۳/۳۳)	۷ (۲۳/۳۳)
۲۲	نالیدیکسیک اسید	۲۹ (۹۶/۶۶)	۰ (۰)	۱ (۳/۳۳)
۲۳	انروفلوکساسین	۱۴ (۴۶/۶۶)	۱۲ (۴۰)	۴ (۱۳/۳۳)
۲۴	نورفلوکساسین	۰ (۰)	۱ (۳/۳۳)	۲۹ (۹۶/۶۶)
۲۵	فوزباک	۰ (۰)	۰ (۰)	۳۰ (۱۰۰)
۲۶	پیپراسیلین	۱۱(۳۶/۶۶)	۹ (۳۰)	۱۰ (۳۳/۳۳)
۲۷	استرپتومایسین	۲۸ (۹۳/۳۳)	۱ (۳/۳۳)	۱ (۳/۳۳)
۲۸	سولفامتوکسازول+تری متوپریم	۲۷ (۹۰)	۰ (۰)	۳ (۱۰)
۲۹	تتراسایکلین	۲۸ (۹۳/۳۳)	۱ (۳/۳۳)	۱ (۳/۳۳)
۳۰	توبرامایسین	۱(۳/۳۳)	۳ (۱۰)	۲۶ (۸۶/۶۶)

جدول۱. میزان حساسیت یا مقاومت ۳۰ جدایه ی *سالمونلا* به ۳۰ ترکیب آنتی باکتریال

گرفت که از مجموع ۲۳۴۵ نمونه ۱۴/۳٪ به *سالمونلا* آلوده بودند (Limawongpranee و همکاران، ۱۹۹۹). مطالعه ای در نیجریه نیز نشان داد که نمونه های مدفوعی گرفته شده از گله های طیور، به میزان ۱۱٪ به *سالمونلا* آلوده بودند (Fashae و همکاران، ۲۰۱۰). در برزیل نیز، *سالمونلا* به میزان ۱۱/۲۸٪ از مرغداری ها و کشتارگاه های طیور جدا شد (Boni و همکاران، ۲۰۱۱). در این مطالعه ۲۸ جدایه (۹۳/۳۳٪) متعلق به گروه سرمی C و ۲ جدایه (۶/۶۶٪) متعلق به گروه سرمی D بودند. در مطالعه

تعداد ترکیب آنتی باکتریال	تعداد جدایه مقاوم (درصد)
حداقل ۱	۳۰ (۱۰۰)
>۱	۳۰ (۱۰۰)
>۲	۲۹ (۹۶.۶۶)
>۳	۲۹ (۹۶.۶۶)
>۴	۲۸ (۹۳.۳۳)
>۵	۲۸ (۹۳.۳۳)
>۶	۲۷ (۹۰)
>۷	۲۷ (۹۰)
>۸	۲۷ (۹۰)
>۹	۲۶ (۸۶.۶۶)
>۱۰	۲۵ (۸۳.۳۳)
>۱۱	۲۰ (۶۶.۶۶)
>۱۲	۱۵ (۵۰)
>۱۳	۱۰ (۳۳.۳۳)
>۱۴	۴ (۱۳.۳۳)
>۱۵	۱ (۳.۳۳)
>۱۶	۱ (۳.۳۳)
>۱۷	۰ (۰)

جدول ۲. الگوی مقاومت چندگانه به ۳۰ آنتی باکتریال در بین ۳۰ جدایه ی *سالمونلا*

فقیه نصیری (۱۳۹۰)، ۹۰/۹٪، *سالمونلا* به گروه سرمی C و ۹/۰۹٪ به گروه سرمی D تعلق داشتند. فلاح دوست (۱۳۹۰) نیز در مجموع ۶۰٪ *سالمونلای* گروه سرمی C و ۴۰٪ *سالمونلای* گروه سرمیD گزارش نمود. در بررسی های اکبریان و همکاران (۱۳۹۱) برروی گله های ماکیان ۷ استان کشور، علاوه بر گروه های سرمی D، و C، گروه سرمی B نیز جدا شد. Morshed and Peighambari در سال ۲۰۱۰ گزارش نمودند که در بین۳۱ جدایه *سالمونلای* بدست آمده از ۱۴۶۳ نمونه مدفوعی متعلق به ۲۸ گله گوشتی، ۷۶/۶٪ و ۱۳/۳٪ به ترتیب به گروه های C و D تعلق داشتند. Pooladgar و همکاران (۲۰۱۰) نیز طی مطالعه که در اهواز بر روی گله های طیور صنعتی انجام دادند توانستند سرو گروپ های D, C, B را جدا سازی نمایند. در سایر کشور ها نیز در مطالعاتی گوناگونی انجام شده است. در آمریکا، بعد از تعیین گروه سرمی ۹۲ نمونه، ۹۲/۲۵ درصد *سالمونلا* ها متعلق به دو گروه B وC بودند (۵۷٪ گروه C و ۳۵٪ گروه B) (Roy و همکاران، ۲۰۰۲). افزایش جداسازی گروه C از گله های گوشتی قابل توجه است. در مطالعه ای اخیر در ایران (۱۳۹۱) و با استفاده از PCR مشخص شد که درصد بالائی از جدایه های *سالمونلای* گروه C به *سالمونلا اینفنتیس* تعلق دارند که از نظر بهداشت عمومی اهمیت زیادی دارد (قدوسی، ۱۳۹۱). بر خلاف *سالمونلا*های گروه های B و D که تهاجمی‌تر هستند و معمولا از راه عمودی منتقل می شوند، *سالمونلای*گروه C از قدرت تهاجمی کمتری برخوردار هستند و در دستگاه گوارش باقی می مانند. *سالمونلا*های گروه C معمولا از راههای مکانیکی (غذا، حشرات، جوندگان، وسائل نقلیه) یا شکسته شدن سدهای امنیت زیستی در مزرعه به گله وارد می‌شوند. لذا ریشه‌کنی این گروه از *سالمونلا*ها نیازمند اقدامات کنترلی شدید فاکتورهای محیطی (جوندگان، حشرات، پرندگان، غذا، و ...) می‌باشد که به نظر می‌رسد صنعت طیور در این خصوص چندان موفق نبوده است.

الگوی مقاومت دارویی در مناطق مختلف و مقاطع زمانی متفاوت حتی در یک ناحیه ممکن است متفاوت باشد که می تواند ناشی از تفاوت در نوع، میزان و تداوم مصرف داروهای آنتی باکتریال باشد. با این وجود الگوی مقاومت دارویی یک نشانگر برای جدایه های باکتریایی یک منطقه به شمار می رود. روند استفاده نادرست و بی رویه از آنتی باکتریال ها در واحدهای پرورش طیور به دور از ارزیابی دقیق از حساسیت باکتریایی، منجر به گسترش ژن های مقاوم به داروهای ضد میکروبی و متعاقباً مقاومت دارویی در انسانها به دلیل اثرات باقی مانده دارویی در فرآورده های طیور می گردد (Schwarz و همکاران، ۲۰۰۱). در این مطالعه، همه ی جدایه های مورد بررسی نسبت به آنتی بیوتیک های لووفلوکساسین و فوزباک حساس بودند و کمترین مقاومت دارویی به آنتی بیوتیک های نورفلوکساسین، آمیکاسین، دانوفلوکساسین، ایمیپنم و سفتازیدیم مربوط می شد. در مطالعات فقیه نصیری (۱۳۹۰)، صد در صد جدایه ها به آمپی سیلین، سفتازیدیم، دانوفلوکساسین، لووفلوکساسین، نورفلوکساسین، ایمپنم و فوزباک حساس بودند. همچنین همه ی جدایه ها به کاربنیسیلین و داکسی سیکلین مقاوم بودند. در مطالعات فلاح دوست (۱۳۹۰)، همه ی جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین، فلورفنیکل، دانوفلوکساسین، لووفلوکساسین، نورفلوکساسین، ایمپنم و فوزباک حساس بودند. همچنین تمامی جدایه ها به آنتی بیوتیک کلیستین مقاومت نشان دادند.

در مطالعات ساله‌ای اخیر در مرغداری های اطراف تهران، درصد کمی از جدایه ها به کینولون ها مقاوم بودند بجز فلومکوئین که بیش از ۳۴٪ جدایه ها به آن مقاومت نشان دادند (Morshed و Peighambari ، ۲۰۱۰). شایان ذکر است که فلومکوئین یکی از

آنتی بیوتیک های پر مصرف در صنعت طیور ایران است. در مطالعه ای در هند، از ۵۶۰ عدد تخم مرغ، ۲۷ عدد از نظر *سالمونلا* مثبت بوده اند که تمام جدایه های *سالمونلا* نسبت به سیپروفلوکساسین و تتراسایکلین و استرپتومایسین و انروفلوکساسین حساس و نسبت به آنتی بیوتیک های کلیستین و پلی میکسین-B مقاوم بودند لذا وضعیت آنها قابل مقایسه با جدایه های ایرانی است (Sing و همکاران، ۲۰۱۰). در تایوان، از تعداد ۱۵۹۵ سوآب کلواکی، ۱۶۴ ایزوله *سالمونلا* بدست آمد که تمامی نمونه های جدا شده به سفازولین، سفتی راکسون حساس بودند ولی به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، کلرامفنیکل، استرپتومایسین، تتراسایکلین، سولفامتوکسازول+ تری متوپریم مقاومت نشان دادند (Chiu و همکاران، ۲۰۱۰). در کره، از مجموع ۴۶ *سالمونلا انتریتیدیس* جدا شده از گوشت، مدفوع و پوسته ی تخم مرغ ماکیان همه ی سویه های *سالمونلای* جدا شده حداقل به یک آنتی بیوتیک حساس بودند. اکثر آنها به سولفیسوکسازول و نالیدیکسیک اسید مقاومت نشان دادند و ۵۲ درصد سویه ها به استرپتومایسین، پیپراسیلین و تیکارسیلین و همچنین ۵۰ درصد به آمپی سیلین مقاومت نشان دادند (Hur و همکاران، ۲۰۱۱). به نظر می رسد هنوز درصد بالائی از جدایه های *سالمونلا* در سراسر جهان، به اکثر کینولون ها به ویژه موارد مورد استفاده در انسان حساسیت بالائی دارند. مقاومت چندگانه *سالمونلا*ها به ترکیبات ضد میکروبی نیز بسیار شایع است که در همه مطالعات فوق الذکر نیز به آن اشاره شده است. این باکتری ها معمولا توسط زنجیره غذائی به انسان منتقل می شوند و ممکن است در روده انسان کلنیزه شوند. بدنبال آن، ژن های مقاومت داروئی ممکن است به باکتری های فلور طبیعی یا باکتری های بیماریزا منتقل شوند. این باکتری ها نیز در محیط دفع می شوند و حیوانات را آلوده می کنند و مجددا از طریق زنجیره غذائی به انسان بر می گردند (Hawkey، ۲۰۰۸).

جداسازی *سالمونلا* از مدفوع و سوآب کلواک نمی تواند نشان دهنده شیوع واقعی *سالمونلا* در گله ها باشد و قطعا" میزان آلودگی گله های ماکیان در سطح کشور بسیار بالاتر از یافته های این بررسی است (Solano و همکاران، ۲۰۰۰). گروه C *سالمونلا* فراوان ترین *سالمونلای* جدا شده از گله های گوشتی و کشتارگاه ها بوده است که می تواند نتیجه آلودگی محیطی و نیز آلودگی متقاطع باشد. همان گونه که در بسیاری از بررسی های اخیر بر روی گله های گوشتی و گوشت ماکیان در نقاط مختلف جهان جداسازی گروهC افزایش یافته است. از سوی دیگر مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها در گله های ماکیان که در ایران بسیار متداول است، پیدایش *سالمونلای* مقاوم به آنتی بیوتیک را در پی داشته است. انتقال این *سالمونلا* ها به انسان ممکن است عدم پاسخ به درمان آنتی بیوتیکی را به دنبال داشته باشد. بنابراین توجه به کنترل عفونت های پنهان *سالمونلا*یی در گله های ماکیان نه تنها از جنبه اقتصادی در ماکیان بلکه از جنبه بهداشت عمومی در انسان دارای اهمیت بسزایی است.

Journal of Veterinary Laboratory Research 5 (2013) 85-94

Study on *Salmonella* spp. in broiler farms around Ghaemshahr: Determination of serotypes and their drugs resistance

Eram, N.[1], Peighambari, S.M.[2*], Yazdani, A. [2]

Received: 28.11.2012 Accepted: 01.05.2013

Abstract

Salmonella spp. is Gram-negative bacteria and belongs to *entrobacteriaceae* family. *Salmonella* spp. is one of the most important zoonotic agents with worldwide distribution. The aims of this study were to isolate *Salmonella* from poultry farms around Ghaemshahr city, identify the serotypes, and determine the drug resistance patterns of the isolated *Salmonella spp*. A total number of 2280 samples were randomly collected from freshly dropped feces of broiler chickens in different flocks. Each 10 samples were pooled and processed for *Salmonella* isolation according to the standard procedures. Serotyping was performed by slide agglutination test to determine the O and H antigens of the isolates. The antigens included A to D polyvalent, and O2, O4, O5, O9, O12, H2, H6, HL, Hgm monovalent antisera. Antimicrobial susceptibility of the isolates against 30 antimicrobial agents was determined by using standard disk diffusion method. Out of 2280 samples (228 pooled-samples), 30 *Salmonella* isolates were recovered. Serotyping revealed that two isolates were *Salmonella* spp. *enteritidis* and 28 isolates belonged to serogroup C. All 30 *Salmonella* isolates were susceptible to levofloxacin and Fosbac. Also, the highest resistances were related to streptomycin, furazolidone, nalidixic acid, tetracycline, and lincospectin. Multi-resistance to drugs was common among the *Salmonella* isolates and ranged between 2 to 17. There were 29 resistance patterns. The results of this study showed the presence of *Salmonella* spp. infection among broiler chickens in Ghaemshar regions and the occurrence of antimicrobials resistance among the isolates. These findings are important for Iranian poultry industry and of concern to public health.

Key words: *Salmonella* spp. Serogroup, Serotype, Drugs resistance, Broiler chickens, Ghaemshahr, Iran.

1. PhD Student, Department of Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

2.Department of Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

*Corresponding author: **mpeigham@ut.ac.ir**

منابع

اکبریان، ر.؛ پیغمبری، س.م.؛ مرشد، ر.؛ یزدانی، ا. ۱۳۹۱. بررسی آلودگی *سالمونلائی* گله های ماکیان صنعتی ایران. مجله دامپزشکی ایران. **۸(۳)**، ۵-۱۰.

زهرایی صالحی، ت. (۱۳۷۸). *سالمونلا*، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران.

فقیه نصیری، ز. (۱۳۹۰)، "بررسی آلودگی سالمونلوز در گله‌های طیور اطراف چالوس: تعیین سروتیپ و الگوی مقاومت داروئی *سالمونلا*های جدا شده". پایان‌نامه جهت دریافت دکتری عمومی دامپزشکی، شماره ۳۳۱۲، دانشگاه تهران.

فلاح دوست، م. (۱۳۹۰)، "بررسی آلودگی سالمونلوز در گله‌های طیور اطراف لاهیجان: تعیین سروتیپ و الگوی مقاومت داروئی *سالمونلا*های جدا شده". پایان‌نامه جهت دریافت دکتری عمومی دامپزشکی، شماره ۳۳۱۷، دانشگاه تهران.

قدوسی، ع. (۱۳۹۱)، "تمایز ملکولی *سالمونلا*های جدا شده از طیور و تعیین ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها به‌روش PCR". پایان‌نامه جهت دریافت دکتری عمومی دامپزشکی، شماره ۳۴۰۳، دانشگاه تهران.

Boni, H.F.K., Carrijo, A.S., Fascina, V.B. 2011. Detection of *Salmonella* spp. in broiler buildings and stuff of slaughterhouse in the central region of Mato Grosso do Sul. Revista Brasileira de Saude e Producao Animal. **12**, 84-89.

Chiu, L., Chiu, C., Horn, Y., Chiu, C., Lee, C., Yeh, C., Yu, C., Wu, C., Chang, C., Chu, C. 2010. Characterization of 13 multi-drug resistant *Salmonella* serovars from different broiler chickens associated with those of human isolates. BMC Microbiology. **10**, 86.

Fashae, K., Ogunsola, F., Aarestrup, F.M., Hendriksen, R.S. 2010. Antimicrobial susceptibility and serovars of *Salmonella* from chickens and humans in Ibadan, Nigeria. The Journal of Infection in Developing Countries. **4**, 484-494.

Gast, R.K. 2008. *Salmonella* infection. In: Saif, Y.M., Fadly, A.M., Glisson, J.R., McDougald, L.R., Nolan, L.K., Swayne, D.E. (eds). Diseases of poultry, 12th ed., Blackwell Publishing, Iowa, USA, pp: 636-665.

Hawkey, P.M. 2008. Molecular epidemiology of clinically significant antibiotic resistance genes. British Journal of Pharmacology. **153**, S406-S413.

Hur, J., Kim, J.H., Park, J.H., Lee, Y.J., Lee, J.H. 2011. Molecular and virulence characteristics of multi-drug resistant *Salmonella* Enteritidis strains isolated from poultry. The Veterinary Journal. **189**, 306-311.

Limawongpranee, S., Hayashidani, H., Pkatani, A.T., Ono, K., Hirota, C., Kaneko, K., Ogava, M. 1999. Prevalence and persistence of *Salmonella* in broiler chicken flocks. Journal of Veterinary Medical Science. **61**, 255-259.

Morshed, R., Peighambari, S.M. 2010. Drug resistance, plasmid profile and random amplified polymorphic DNA analysis of Iranian isolates of *Salmonella* Enteritidis. New Microbiologica. **33**, 47-56.

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

Pooladgar, A.A., Yousefi, J.V., Nemati, M. 2010. Salmonellosis in Ahwaz poultry farms-southwest of

Iran. Journal of Experimental Zoology, India. **13**, 503-507.

Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B., Carter, G.R. 1994. Clinical Veterinary Microbiology. Wolf publishing, London, UK.

Roy, P., Dhillon, A.S., Lauerman, L.H., Schaberg, D.M., Bandli, D., Johnson, S. 2002. Results of *Salmonella* isolation from poultry products, poultry, poultry environment, and other characteristics. Avian Diseases. **46**, 17-24.

Schwarz, S., Kehrenbery, C., Walsh, T.R. 2001. Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. International Antimicrobial Agents. **17**, 431-437.

Sing, S., Sing, A., Sing, S.M., Bharti, P. 2010. Prevalence of *Salmonella* in chicken eggs collected from poultry farms and marketing channels and their antimicrobial resistance. Food Research International. **43**, 2027-2030.

Solano, C., Galindo, J., Sesma, B., Alvarez, M., Salsona, M.J., Gamazo, C. 2000. Enzyme-linked immunosorbent assay with a *Salmonella* Enteritidis antigen for differentiating infected from vaccinated poultry. Veterinary Research. **31**, 491-497.

Waltman, W.D., Gast, R.K., Mallinson, E.T. 1998. Salmonellosis. In: Swayne, D.E., Glisson, J.R., Jackwood, M.M., Pearson, J.E., Reed, W.M. (eds). A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens, 4th ed., American Association of Avian Pathologists, Pennsylvania, USA, pp: 4-13.