مقایسه‌ی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های سالمونلا تیفی‌موریوم و اشریشیاکلی جداشده از محتویات روده و پوست نزدیک به پرینه در سگ‌های استان اصفهان

فهیمه نگین تاجی زردک[۱]، سام ترکان[۲*]

۱- دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
۲- استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

دریافت مقاله: ۵ بهمن ۱۳۹۹، بازنگری: ۲۰ بهمن ۱۳۹۹، پذیرش نهایی: ۱۰ اسفند ۱۳۹۹

چکیده

سالمونلا و اشریشیاکلی از عوامل مهم عفونت‌های روده‌ای و اسهال می‌باشند. افزایش مقاومت سالمونلا و اشریشیاکلی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج به‌عنوان یک مشکل جهانی مطرح است. از آنجایی‌که سگ‌های خانگی به‌عنوان منابع بالقوه‌ی این دو باکتری مطرح می‌باشند، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های سالمونلا تیفی‌موریوم و اشریشیاکلی جداشده از محتویات روده و پوست نزدیک به پرینه در سگ‌های استان اصفهان انجام شد. سواب‌های رکتال و پوستی اخذ شده از ۱۰۰ سگ ارجاعی به کلینیک‌های حیوانات خانگی در شهر اصفهان کشت داده شدند. پس از کشت میکروبی و تائید مولکولی جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم و اشریشیاکلی، حضور شایع‌ترین ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این جدایه‌ها به روش PCR و الگوی فنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار دیسک ارزیابی شدند. تمام جدایه‌های اشریشیاکلی جداشده از محتویات روده به جنتامایسین، تتراسایکلین، سیپروفلوکساسین و تری متوپریم-سولفامتوکسازول مقاوم بودند. همچنین همه جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم جداشده از محتویات روده نسبت به تتراسایکلین مقاومت نشان دادند. در تمام جدایه‌های اشریشیاکلی جداشده از محتویات روده ژن dfrA1 ردیابی شد. شایع‌ترین ژن ردیابی شده در جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم جداشده از محتویات روده tetB و dfrA1، (۸۰ درصد) بودند. مقاومت آنتی‌بیوتیکی چندگانه در این جدایه‌ها نشان‌دهنده استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها بوده و لزوم انجام آنتی‌بیوگرام جهت انتخاب مؤثرترین آنتی‌بیوتیک در درمان بیماری‌ها را بیش از پیش نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: *مقاومت آنتی‌بیوتیکی، سالمونلا تیفی‌موریوم، اشریشیاکلی، سگ، اصفهان*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: saamtorkan@gmail.com

مقدمه

اشریشیاکلی یک باسیل گرم منفی و بی‌هوازی اختیاری از خانواده انتروباکتریاسه است که به‌طور شایع در روده‌ی جانوران خون‌گرم وجود دارد (۱، ۲). بیشتر سویه‌های اشریشیاکلی بی‌آزار هستند اما برخی از سروتیپ‌های آن می‌توانند مسمومیت‌های غذایی در میزبان‌هایشان ایجاد کنند (۳، ۴). اشریشیاکلی و سایر باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری، ۰/۱ درصد فلور روده را به خود اختصاص داده است. راه انتقال این باکتری مدفوعی-دهانی است (۵).

سالمونلا یک باکتری گرم منفی، میله‌ای شکل، بدون اسپور و بی‌هوازی اختیاری از خانواده‌ی انتروباکتریاسه می‌باشد. دو گونه‌ی اصلی سالمونلا شامل سالمونلا انتریکا و سالمونلا بونگوری هستند که سروتیپ‌های خاصی از آنها ایجاد بیماری می‌کند (۶، ۷).

سالمونلوز در انسان توسط سویه‌های غیر تیفوییدی سالمونلا ایجاد شده و معمولاً منجر به یک اسهال خود محدود شونده که به درمان آنتی‌بیوتیکی نیاز ندارد می‌شود.

سویه‌هایی از سالمونلا انتریکا که به طیف گسترده‌ای از داروهای ضد میکروبی مقاومند، ظهور یافته که امروزه به یکی از پراهمیت‌ترین مسائل بهداشت عمومی در سراسر جهان تبدیل‌شده است. حیوانات همراه به‌عنوان منابع بالقوه‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالمونلا مطرح‌شده‌اند (۸).

در طب حیوانات کوچک، برای درمان عفونت از عوامل ضد میکروبی که در انسان مورد مصرف قرار می‌گیرند و اهمیت اولیه در عفونت‌های انسانی دارند، استفاده می‌شود و همواره هنگام انتخاب آنتی‌بیوتیک کشت باکتریایی و تست‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی انجام نمی‌شود، که این امر موجب درمان‌های تجربی نامناسب می‌شود. دامپزشکان ممکن است آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف یا نسل‌های جدیدی از آنتی‌بیوتیک‌ها را به‌عنوان خط اول درمان دارویی تجویز کنند. چنین استفاده غیر محتاطانه‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها، مشابه آنچه در انسان‌ها دیده شده است می‌تواند در حیوانات همراه، باکتری‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک، شامل سالمونلای مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک را ایجاد کند.

اخیراً ارزیابی تأثیر مقاومت آنتی‌بیوتیکی مرتبط با حیوانات کوچک روی سلامت عمومی، به دلیل دسترسی محدود به داده‌ها دشوار است. در اغلب کشورها مقاومت آنتی‌بیوتیکی در حیوانات خانگی مرتباً نظارت نمی‌شود و داده‌های موجود کاملاً پراکنده‌اند. علاوه بر این، شرح ارتباطات بین ژن‌های مقاومت و حدت در ایزوله‌های سالمونلای جداشده از حیوانات خانگی گزارش نشده است. این شکاف‌های دانش نیاز به مطالعات بیشتر را درباره‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در حیوانات کوچک نشان می‌دهد (۹).

به این ترتیب این مطالعه، باهدف بررسی الگوی ژنوتیپی و فنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های سالمونلا تیفی‌موریوم و اشریشیاکلی جداشده از مدفوع و پوست نزدیک پرینه سگ‌ها در استان اصفهان انجام شد.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری: در این مطالعه توصیفی- مقطعی، از ۱۰۰ سگ ارجاعی به کلینیک‌های حیوانات خانگی در شهر اصفهان، در فاصله زمانی تیرماه ۱۳۹۸ تا تیرماه ۱۳۹۹، تعداد ۱۰۰ نمونه از پوست نزدیک به پرینه و ۱۰۰ نمونه از محتویات روده تهیه شد. نمونه‌های مدفوع و پوست به روش سواب گیری استریل از سگ‌ها اخذ شد.

برای قرار دادن نمونه محتویات روده در محیط انتقالی، ابتدا سواب پنبه‌ای سالم در محیط انتقال استریل (سرم فیزیولوژی) مرطوب گردید، سپس به اندازه‌ی۳-۲ سانتی‌متر داخل اسفنکتر رکتوم فرو

برده شد، به آرامی چرخانده و سپس سواب خارج شده تا عمق لوله محیط انتقالی وارد گردید.

به همین ترتیب سواب مرطوب سالم، به‌صورت چرخشی روی سطح پوست نزدیک به پرینه چرخانده شد و سپس تا عمق لوله محیط انتقالی وارد گردید.

نمونه‌های جمع‌آوری شده در لوله‌های حاوی ۲ سی‌سی سرم فیزیولوژی در اسرع وقت به مرکز تحقیقات میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد منتقل گردید.

جداسازی باکتری: جهت جداسازی اشریشیاکلی، سواب‌های حاوی نمونه آغشته به سرم فیزیولوژی در محیط مایع آبگوشت مغذی (Nutrient broth) (مرک، آلمان) تلقیح و به مدت ۱۸ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. پس از غنی‌سازی، باکتری در سطح محیط EMB (مرک، آلمان) به‌صورت خطی کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۱۸ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد، گرمخانه‌گذاری شد. پرگنه‌های لاکتوز مثبت واجد جلای سبز فلزی، انتخاب و جهت تائید وجود اشریشیاکلی در آنها، روی محیط سه قندی آهن‌دار (TSI) (مرک، آلمان) کشت و همزمان تست IMViC روی آها انجام شد (۱۰).

در خصوص جداسازی باکتری سالمونلا، پس از غنی‌سازی اولیه در محیط آبگوشت مغذی، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر نمونه از این محیط برداشته و در محیط سلنیت براث (مرک، آلمان) تلقیح و به مدت ۱۸ ساعت در گرمخانه ۴۳ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. باکتری غنی‌شده به‌صورت خطی در محیط XLD (مرک، آلمان) کشت و پرگنه‌های لاکتوز منفی با مرکز سیاه انتخاب و جهت تائید وجود سالمونلا در آنها، روی محیط سه قندی آهن‌دار (TSI) کشت و همزمان تست IMViC روی آنها انجام شد. جهت تفریق سالمونلا از پروتئوس آزمایش هیدرولیز اوره روی پرگنه‌های مشکوک انجام شد (۱۱).

تائید مولکولی جدایه‌ها: به‌منظور استخراج DNA از باکتری‌های مورد مطالعه از روش جوشاندن استفاده شد. برای این منظور ۲۵ میکرولیتر از کشت یک شبه باکتری در محیط مایع قلب مغز (BHI)(مرک، آلمان) با ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد و پس از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ در دور ۱۲۰۰۰ در دقیقه، مایع رویی به‌عنوان منبع DNA استفاده شد. آزمایش PCR جهت شناسایی باکتری‌های جنس سالمونلا و ردیابی سروتیپ سالمونلا تیفی‌موریوم در قالب PCR چندگانه‌ای مطابق روش ارائه شده توسط جمشیدی و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام گرفت (۱۲).

به‌منظور تأیید جدایه‌های احتمالی اشریشیاکلی تکثیر ژن 16srRNA با روش PCR انجام گردید (۱۰).

در هر مرحله، محصول PCR روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردید و در پایان با دستگاه UV transilluminator (UK ،UviTech) مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی باندهای حاصل از محصول PCR از DNA ladder (سیناژن، ایران) به اندازه ۱۰۰ جفت باز و ۱ کیلو باز و از سویه استاندارد اشریشیاکلی ATCC25922 به‌عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد.

تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی: تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم و اشریشیاکلی به روش استاندارد Kirby-Bauer و بر اساس استاندارد CLSI انجام شد (۷۲). دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت پادتن طب ایران تهیه شدند. پس از تهیه غلظتی از پرگنه‌ها معادل غلظت استاندارد نیم مک‌فارلند، باکتری‌ها به روش کشت متراکم

روی محیط مولرهینتون آگار (مرک، آلمان) کشت داده شدند. دیسک‌ها در پلیت قرار داده شد و پس از گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها با اندازه‌گیری قطر هاله ممانعت از رشد، مورد بررسی قرار گرفت (۱۳).

به‌منظور ردیابی شایع‌ترین ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی شامل ژن‌های aac(3)-IV، qnr، tetA، tetB، sul1، dfrA1 و blaSHV از زوج پرایمرهای نشان داده شده در جدول ۱ با شرایط PCR ذکر شده در جدول ۲ در قالب PCR چندگانه (multiplex PCR) انجام شد. سپس الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد واجد محلول رنگی DNA safe stain (سیناژن، ایران) در حضور مارکرهای ۵۰ و ۱۰۰۰ جفت بازی با ولتاژ ثابت ۹۰ ولت به مدت حدوداً یک ساعت صورت گرفت. ژل مورد نظر با استفاده از دستگاه ترانس لومینار UV بررسی گردید.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی شایع‌ترین ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم و اشریشیاکلی (۱۰)

مقاومت آنتی بیوتیکی	نام ژن	توالی پرایمر	جفت باز
جنتامایسین	aac(3)-IV	(F) CTTCAGGATGGCAAGTTGGT (R) TCATCTCGTTCTCCGCTCAT	۲۸۶
سفوتاکسیم (سفالوسپورین)	blaSHV	(F) TCGCCTGTGTATTATCTCCC (R) CGCAGATAAATCACCACAATG	۷۶۸
تتراسایکلین	tetA	(F) GGTTCACTCGAACGACGTCA (R) CTGTCCGACAAGTTGCATGA	۵۷۷
تتراسایکلین	tetB	(F) CCTCAGCTTCTCAACGCGTG (R) GCACCTTGCTGATGACTCTT	۶۳۴
تری متوپریم-سولفامتوکسازول	dfrA1	(F) GGAGTGCCAAAGGTGAACAGC (R) GAGGCGAAGTCTTGGGTAAAAAC	۳۶۷
تری متوپریم-سولفامتوکسازول	Sul1	(F) TTCGGCATTCTGAATCTCAC (R) ATGATCTAACCCTCGGTCT	۸۲۲
سیپروفلوکساسین (فلوروکوئینولون)	qnr	(F) GGGTATGGATATTATTGATAAAG (R) CTAATCCGGCAGCACTATTTA	۶۷۰
سفتازیدیم (سفالوسپورین)	bla_{SHV}	(F) TCGCCTGTGTATTATCTCCC (R) CGCAGATAAATCACCACAATG	۷۶۸

نتایج

مطالعه‌ی حاضر به‌منظور ارزیابی میزان شیوع، الگوی فنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم و اشریشیاکلی جداشده از نمونه‌های محتویات روده و پوست نزدیک به پرینه در سگ انجام شد.

نمونه‌های پوستی به‌منظور ارزیابی امکان انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی به محیط زندگی از طریق پلاسمیدها اخذ شد.

در این مطالعه در کل از ۱۰۰ سگ، تعداد ۱۰۰ نمونه از محتویات روده و ۱۰۰ نمونه از پوست نزدیک به پرینه اخذ و برای بررسی میزان شیوع باکتری‌های اشریشیا کلی و سالمونلا تیفی موریوم، بررسی الگوی مقاومت و ژن‌های کدکننده مقاومت مربوط به آنها مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جدول ۲- شرایط PCR چندگانه مورد استفاده جهت ردیابی شایع‌ترین ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم و اشریشیاکلی

ژن	برنامه PCR	حجم PCR (۵۰ میکرولیتر)
Sul1, aac(3)-IV, tetB, dfrA1	۱چرخه ۹۴ درجه.....۸ دقیقه ۳۲ چرخه ۹۵ درجه.....۶۰ ثانیه ۵۵ درجه.....۷۰ ثانیه ۷۲ درجه.....۲ دقیقه ۱چرخه ۷۲ درجه.....۸ دقیقه	۵میکرولیتر=PCR buffer 10x ۲/۵ میلی‌مول=Mgcl2 ۲۰۰میکرومول=dNTP(Fermentas) ۰/۵ میلی‌مول= primers F&R ۲ واحد= Taq DNA polymerase(fermentas) ۳ میکرولیتر=DNA template
blaSHV, tetA, qnr	۱چرخه ۹۴ درجه.....۸ دقیقه ۳۲ چرخه ۹۵ درجه.....۶۰ ثانیه ۵۵ درجه.....۷۰ ثانیه ۷۲ درجه.....۲ دقیقه ۱ چرخه ۷۲ درجه.....۸ دقیقه	۵میکرولیتر=PCR buffer 10x ۲/۵ میلی‌مول=Mgcl2 ۲۰۰میکرومول=dNTP(Fermentas) ۰/۵ میلی‌مول= primers F&R ۲ واحد= Taq DNA polymerase(fermentas) ۳ میکرولیتر=DNA template

نتایج به این صورت بود که، ۱۰ نمونه از ۱۰۰ نمونه محتویات روده (۱۰ درصد) اخذ شده از سگ‌ها آلوده به اشریشیاکلی بودند. همچنین، ۱۰ نمونه از ۱۰۰ نمونه محتویات روده (۱۰ درصد) آلوده به سالمونلا تیفی‌موریوم بودند.

۲۲ نمونه از ۱۰۰ نمونه پوست نزدیک به پرینه (۲۲ درصد) اخذ شده از سگ‌ها آلوده به اشریشیاکلی و ۲ نمونه از ۱۰۰ نمونه پوست نزدیک به پرینه (۲ درصد) آلوده به سالمونلا تیفی‌موریوم بودند.

شایان ذکر است تمام جدایه‌های جداشده در محیط کشت، در آزمایش PCR با ردیابی ژن‌های STM0159 و 16srRNA ازنظر حضور باکتری‌های اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم تائید گردیدند.

برای ارزیابی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم و اشریشیاکلی به روش استاندارد Kirby-Bauer و بر اساس استاندارد CLSI، دیسک گذاری انجام شد. نتایج الگوی مقاومت به دست آمده برای جدایه‌های اشریشیاکلی جداشده از محتویات روده شامل جنتامایسین (۱۰۰ درصد)، تتراسایکلین (۱۰۰ درصد)، تری متوپریم-سولفامتوکسازول (۱۰۰ درصد)، سیپروفلوکساسین (۱۰۰ درصد)، سفوتاکسیم (۸۰ درصد) و سفتازیدیم (۶۰ درصد) و برای جدایه‌های اشریشیاکلی جداشده از پوست نزدیک به پرینه شامل جنتامایسین (۵۹/۵۹ درصد)، تتراسایکلین (۱۰۰ درصد)، تری متوپریم-سولفامتوکسازول (۱۰۰ درصد)، سیپروفلوکساسین (۷۲/۷۲ درصد)، سفوتاکسیم (۴۵/۴۵ درصد) و سفتازیدیم (۴۵/۴۵ درصد) می‌باشد. نتایج نشان داد که در جدایه‌های اشریشیاکلی جداشده از محتویات روده، کمترین میزان مقاومت به ترتیب مربوط به سفتازیدیم (۶ درصد) و سفوتاکسیم (۸ درصد) بوده و همه ایزوله‌ها به سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، تتراسایکلین و تری متوپریم-سولفامتوکسازول مقاوم بودند. در خصوص جدایه‌های ایزوله شده از پوست نزدیک

پرینه کمترین میزان مقاومت متعلق به سفوتاکسیم و سفتازیدیم (۱۰ درصد) بوده و تمامی ایزوله‌ها به تتراسایکلین و تری متوپریم-سولفامتوکسازول مقاوم بودند.

نتایج الگوی مقاومت به‌دست آمده برای جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم جداشده از محتویات روده شامل جنتامایسین (۸۰ درصد)، تتراسایکلین (۱۰۰ درصد)، تری متوپریم-سولفامتوکسازول (۸۰ درصد)، سیپروفلوکساسین (۸۰ درصد)، سفوتاکسیم (۸۰ درصد) وسفتازیدیم (۸۰ درصد) و جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم جداشده از پوست نزدیک به پرینه به همه آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه به میزان ۱۰۰ درصد مقاومت نشان دادند.

به‌منظور ردیابی شایع‌ترین ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی شامل ژن‌های aac(3)-IV، qnr، tetA، tetB، sul1، dfrA1 وblaSHV، PCR چندگانه (multiplex PCR) انجام شد.

توزیع ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های اشریشیاکلی جداشده از محتویات روده شامل dfrA1 (۱۰۰ درصد)، tetA (۶۰ درصد)، Sul1، qnr و aac(3)-IV (۲۰ درصد) و tetB و bla_{SHV} (۰ درصد) و در جدایه‌های اشریشیاکلی جداشده از پوست نزدیک به پرینه شامل sul1 (۸۱/۸۱ درصد)، tetA (۷۲/۷۲ درصد)، dfrA1 (۶۳/۶۳ درصد)، qnr و aac(3)-IV (۳۶/۳۶ درصد)، tetB (۱۸/۱۸ درصد) و bla_{SHV} (۹/۰۹ درصد) بود.

حضور ژن‌های کدکننده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم جداشده از محتویات روده شامل tetB و dfrA1 (۸۰ درصد)، tetA و aac(3)-IV (۶۰ درصد)، sul1 و qnr (۲۰ درصد) و bla_{SHV} (۰ درصد) بود و در همه جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم جداشده از پوست نزدیک به پرینه تنها ژن tetA (۱۰۰ درصد) ردیابی شد.

همان‌طور که از اطلاعات فوق‌الذکر مشخص است، مقایسه الگوی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های جدا شده نشان می‌دهد که ژن‌های کاندید مورد مطالعه در بخشی از موارد مقاوم ردیابی شدند.

بحث و نتیجه‌گیری

سالمونلوز یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مشترک انسان و حیوانات (خونگرم و خونسرد) است که به واسطه سروتیپ‌های مختلف باکتری سالمونلا ایجاد می‌شود. این باکتری میزبان‌های بسیار گسترده‌ای دارد. سگ‌سانان اهلی و وحشی آلوده فاقد علائم بالینی ممکن است تا ۱۰۰ روز سروتیپ‌های مختلف سالمونلا را در مدفوع خود دفع کنند (۱۴).

اشریشیاکلی رایج‌ترین باکتری پاتوژن گرم منفی است که باعث ایجاد چالش‌های بالینی و اپیدمیولوژیکی می‌شود. در دهه گذشته سویه‌های مقاوم در برابر چند دارو، مانند E. coli ST131 ظاهرشده‌اند (۱۵).

از طرفی برای اطمینان از موفقیت در درمان آنتی‌بیوتیکی، دامپزشکان به‌طور مکرر تمایل دارند از داروهای جدیدتر و یا طیف گسترده مانند فلوروکینولون‌ها یا سفالوسپورین‌ها به‌عنوان آنتی‌بیوتیک‌های خط اول درمان، در درمان عفونت‌های خاص در حیوانات خانگی استفاده کنند. در نتیجه مقاومت در برابر این داروها در باکتری‌های بیماری‌زای حیوانات خانگی مثل اشریشیاکلی، سالمونلا و پسودوموناس آئروژینوزا و همچنین در باکتری‌های همزیست مثل گونه‌های انتروکوکوس ظاهر شده است. اگرچه به نظر می‌رسد مقاومت به فلوروکینولون‌ها و سفالوسپورین‌ها بسیار نادر است، اما چنین آنتی‌بیوتیک‌هایی باید به‌عنوان خط آخر درمان باشند و استفاده از آنها باید به مواردی محدود شوند که در آن نمی‌توان از سایر داروهای

ضد میکروبی استفاده کرد. این اقدامات پیشگیرانه می‌تواند اثر این داروهای مهم را در طب انسانی و همچنین در دامپزشکی حفظ کند، در صورتی که استفاده از آنها برای ریشه‌کن کردن عفونت‌های ناشی از سویه‌های چند مقاومتی ضروری است (۱۶).

برخی مطالعات حاکی از ارتباط احتمالی بین مصرف آنتی‌بیوتیک و ظهور مقاومت آنتی‌بیوتیکی در حیوانات خانگی است. به‌عنوان مثال افزایش استفاده از لینکوزامیدها در سوئد طی ۱۹۹۰-۱۹۹۸ با افزایش موازی مقاومت به لینکوزامید در بین ایزوله‌های استافیلوکوکی جداشده از پیودرم سگ مطابقت داشت (۱۷).

مطالعه Cooke و همکاران نشان داد که مقاومت در برابر ماکرولیدها، لینکوزامیدها، اسید فوزیدیک، تتراسایکلین و استرپتومایسین در ایزوله‌های جداشده از مبتلایان با عفونت مجدد، نسبت به موارد اول شایع‌تر است. این اختلافات احتمالاً به دلیل فشار انتخابی اعمال شده توسط درمان ضد میکروبی قبلی در موارد عودکننده‌ی پیودرم بود (۱۸).

Prescott و همکاران (۷۷) نوسانات در سطح مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان استافیلوکوک‌های کوآگولاز مثبت جداشده در یک بیمارستان آموزشی دامپزشکی در کانادا را طی سال‌های ۱۹۹۸-۱۹۸۴ نشان دادند. نتایج آنها نشان داد که این موارد منعکس‌کننده‌ی استفاده از طبقات مختلف آنتی‌بیوتیک‌ها در بیمارستان است. آنها همچنین افزایش شیوع گونه‌های انتروکوک مقاوم به چند داروی مرتبط با عفونت ادراری را نشان دادند (۱۹).

عفونت‌های بیمارستانی با باکتری‌های گرم منفی مقاوم به چند دارو مانند اسینتوباکتر بومانی و اشریشیاکلی و سروارهای سالمونلا انتریکا به تازگی در سگ‌های بستری در بیمارستان، به‌ویژه در بخش‌های مراقبت ویژه شناخته شده‌اند. ظهور پاتوژن‌های بیمارستانی مقاوم در برابر چند دارو در سگ‌ها، احتمالاً منعکس‌کننده استفاده فراوان از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف در بخش‌های مراقبت ویژه در بیمارستان‌های دامپزشکی است (۲۰).

در مطالعه‌ی حاضر میزان شیوع اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم جداشده از محتویات روده به ترتیب ۱۰ و ۱۰ درصد بود. با توجه به اینکه سالمونلا تیفی‌موریوم یک پاتوژن روده‌ای می‌باشد، به احتمال زیاد جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم جداشده، از سگ‌های مبتلا به اسهال جدا شده‌اند و سالمونلا عامل ایجاد اسهال در آنها بوده است. در غیر این صورت، اگر سگ‌ها فاقد علائم بالینی بوده‌اند، دفع سالمونلا از مدفوع نشان‌دهنده ناقل بودن آنها می‌باشد.

مطالعات مشابه انجام شده در ایران محدود می‌باشد و نتایج فراوانی آلودگی به سالمونلا در جمعیت سگ‌ها متفاوت گزارش شده است. اولین مطالعه صورت گرفته توسط شیمی و همکاران در سال ۱۳۳۵، آلودگی سگ‌های ولگرد تهران به سروتیپ‌های سالمونلا دربی و سالمونلا نیوپورت را ۱۵/۸ درصد بیان کرد (۲۱).

در مطالعه جلالی و همکاران (۲۰۱۰)، باکتری سالمونلا از ۱۲/۵ درصد سگ‌های مبتلا به انتریت هموراژیک ارجاعی به درمانگاه‌های دامپزشکی شهرستان رشت جدا شد (۲۲).

نمرودی و همکاران (۱۴) در سال ۲۰۱۶ طی مطالعه‌ای، از ۲۱۰ سگ روستایی به ظاهر سالم نمونه گرفته و باکتری سالمونلا در ۴۰ نمونه از ۲۱۰ نمونه (۱۹/۰۴ درصد) مورد بررسی شناسایی شد. سه سروتیپ شناسایی شده در این تحقیق شامل سالمونلا اینترتیدیس (۵۰ درصد)، سالمونلا تیفی‌موریوم (۳۵ درصد) و سالمونلا دابلین (۱۵ درصد) بود. بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین، نئومایسین و پنی‌سیلین بود.

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۳ بر روی سگ‌های چوپان در گرمسار، همه‌ی سویه‌های جداشده به استرپتومایسین، تریمتوپریم-سولفامتوکسازول، پنی‌سیلین و اریترومایسین مقاوم بودند (۲۳).

طی مطالعات اولیه صورت گرفته در آمریکا آلودگی به سروتیپ‌های سالمونلا با غالبیت سروتیپ‌های تیفی‌موریوم، آناتوم، پاناما و کرفلد در سگ‌ها گزارش شده است (۲۴).

پورمیربلوک جلالی و همکاران (۲۵) طی مطالعه‌ای از ۸۰ قلاده سگ مبتلا به انتریت هموراژیک که آنتی‌بیوتیک دریافت نکرده بودند نمونه مدفوع گرفتند. پس از بررسی باکتریولوژیک ۴ باکتری اشریشیاکلی، کلستریدیوم، کمپیلوباکتر و سالمونلا از نمونه‌ها جدا گردید. از مجموع ۸۰ قلاده سگ ۲۱/۲۵ درصد مبتلا به سالمونلا، ۸/۷۵ درصد مبتلا به کلستریدیوم، ۲۶/۲۵ درصد مبتلا به کمپیلوباکتر و ۴۳/۷۵ درصد مبتلا به اشریشیاکلی بودند. جدایه‌های اشریشیاکلی نسبت به سفتریاکسون و سفیکسیم حساسیت خوبی نشان دادند. سایر باکتری‌ها نیز در نمونه‌های بعدی نسبت به این دو دارو حساسیت خوبی نشان دادند. نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز نشان داد، ایزوله‌های اشریشیاکلی به دو ترکیب سفالوسپورینی مورد مطالعه نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها حساسیت بهتری نشان دادند.

یوسفی و همکاران در یک مطالعه در سال ۲۰۱۷، ۴۵۰ نمونه ادرار سگ را کشت دادند. ۲۰۰ نمونه (۴۴/۴ درصد) از نظر حضور اشریشیاکلی مثبت بودند. شیوع اشریشیاکلی در سگ‌های سالم و سگ‌های مبتلا به عفونت ادراری به ترتیب ۲۸ و ۶۵ درصد برآورد شد. سویه‌های UPEC بیشترین درصد مقاومت را به جنتامایسین (۹۵ درصد) نشان دادند. میزان مقاومت به تریمتوپریم-سولفامتوکسازول ۶۵ درصد بود. نتایج این مطالعه حضور ژن‌های ردیابی شده کدکننده مقاومت را به‌ترتیب aac(3)-IV (۷۷ درصد)، CI.TM (۵۲/۵ درصد)، tetA (۴۶/۵ درصد) و sul1 (۴۰ درصد) بیان کرد (۲۶). در نتایج مطالعه‌ی حاضر فراوانی هر سه ژن Sul1، qnr و aac(3)-IV ردیابی شده کدکننده مقاومت، ۲۰ درصد گزارش شده است.

کاروالو و همکاران در سال ۲۰۱۶ برای مشخص کردن الگوی مقاومت، سویه‌های اشریشیاکلی جداشده از ۱۳۴ سگ و ۱۳۴ صاحبان آنها و ۴۴ نفر به‌عنوان کنترل که ادعا داشتند با سگ‌ها هیچ ارتباطی نداشتند را بررسی کردند. سویه‌های اشریشیاکلی مقاوم به چند دارو از ۴۲ (۳۱/۳ درصد) نمونه مدفوع سگ‌ها و صاحبانشان و از ۱۹(۴۳/۱ درصد) نمونه کنترل جدا شدند. سویه‌ها سطح بالایی از مقاومت به تتراسایکلین، آمپی‌سیلین، تریمتوپریم-سولفامتوکسازول را نشان دادند. در همه‌ی گروه‌ها ژن‌های bla_{TEM}، bla_{CTX-M} و bla_{SHV} شناسایی شد. در این مطالعه سگ‌های خانگی به‌عنوان منبع بالقوه‌ی سویه‌های اشریشیاکلی چند مقاومتی مشخص شدند (۲۷).

ترکان و همکاران در سال ۲۰۱۶ طی مطالعه‌ای از ۷۰ سگ نمونه سواب رکتال تهیه کردند. از ۷۰ سواب کشت داده شده ۳۳ (۴۷/۱ درصد) نمونه از لحاظ حضور اشریشیاکلی مثبت بودند. از ۷۰ نمونه ۱۴ نمونه برای ردیابی ژن‌های کدکننده عوامل حدت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفتند. از ۱۴ ایزوله بررسی شده، ۹ (۶۴/۳ درصد) مورد مثبت برای ژن stx(1)، ۵ (۳۵/۷ درصد) مورد مثبت برای ژن stx(2)، ۷ (۵۰ درصد) مورد مثبت برای ژن eae، ۱ (۷/۱ درصد) مورد مثبت برای ژن cnf(1)، ۶ (۴۲/۹ درصد) مورد مثبت برای ژن‌های aad(A1) و bla_{SHV}، ۵ (۳۵/۷ درصد) مورد مثبت برای ژن‌های tetA و dfr(A1)، ۴ (۲۸/۶ درصد) مورد مثبت برای ژن aac(3)-IV و ۳ (۲۱/۴ درصد)

مورد مثبت برای ژن‌های tetB و sul1 ردیابی شد (۲۸). در مطالعه‌ی حاضر همه‌ی ایزوله‌ها از نظر حضور ژن dfrA1 مثبت بودند (۱۰۰ درصد) و ژن‌های tetB و bla_{SHV} در هیچ ایزوله‌ای یافت نشد (۰ درصد).

سریسانگا و همکاران (۲۹) در سال ۲۰۱۷، مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژن‌های حدت سالمونلا انتریکا جداشده از سگ و گربه‌های خانگی را به صورت ژنوتیپی و فنوتیپی مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق از محتویات رکتوم ۵۰ گربه و ۲۵۰ سگ نمونه‌برداری شد. ۱۲۲ ایزوله سالمونلا انتریکا از ۱۳۳ سگ و ۹ گربه جدا شد که سروارهای weltevreden (۱۵/۶ درصد) و تیفی‌موریوم (۱۳/۹ درصد) رایج‌ترین سروارها بودند. این میزان در مقایسه با نتایج حاصل از بررسی ما بیشتر است. نتایج آنها نشان داد که بیشترین میزان مقاومت مربوط به ژن‌های aadA2 و dfrA12 بود. میزان مقاومت به ژن qnr، ۴/۹ درصد بود که این میزان با نتایج حاصل از بررسی ما مطابقت دارد. در مطالعه حاضر نیز بیشترین ژن مقاومت ردیابی شده در جدایه‌های سالمونلا تیفی‌موریوم جداشده از محتویات روده مربوط به tetB (۸۰ درصد) و dfrA (۸۰ درصد) است.

در مقایسه با نتایج تحقیقات گذشته، میزان شیوع اشریشیاکلی جداشده از محتویات روده به دست آمده از تحقیق حاضر، کمتر (۱۰ درصد) گزارش شده است. احتمالاً یکی از دلایل این موضوع استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها در طب حیوانات خانگی بوده است. از طرفی، به دلیل مصرف گوشت در این حیوانات و از آنجایی‌که مطالعات مختلف حضور بقایای آنتی‌بیوتیکی در مواد غذایی با منشأ دامی و طیور را تائید کرده است، احتمالاً یکی دیگر از دلایل پایین بودن درصد شیوع اشریشیاکلی جداشده از محتویات روده گزارش شده در این تحقیق مربوط به این موضوع می‌باشد.

در راستای این موضوع، طبق مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۴ صورت گرفت، در تمام ۸۰ لاشه طیور گوشتی کشتار شده بقایای آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین یافت شد (۳۰).

در بررسی که در سال ۲۰۰۶ در تهران انجام شد، در نمونه‌های به دست آمده از ۲۷۰ قطعه طیور میزان بقایای آنتی‌بیوتیک در بافته‌ای مختلف بالاتر از حد مجاز به دست آمد (۳۱).

تفاوت در شیوع مقاومت همان‌طور که در مطالعات مختلف مشاهده شده است می‌تواند ناشی از استفاده از روش‌های مختلف برای تست حساسیت و نقطه نظرات متفاوت برای ارزیابی نتایج باشد (۴۵). همچنین به نظر می‌رسد که الگوی مقاومت دارویی در هر منطقه بستگی به میزان، نوع و تداوم مصرف داروهای آنتی‌باکتریال در آن منطقه داشته است (۳۲).

تماس تنگاتنگ بین حیوانات خانگی و انسان‌ها، شرایط مساعدی را برای انتقال باکتری‌ها از طریق تماس مستقیم (نوازش کردن، لیس زدن، صدمات فیزیکی و...) یا از طریق محیط داخلی (آلودگی غذا، اثاثیه و ...) فراهم می‌کند. کودکان به دلیل تماس فیزیکی نزدیک‌تر با گربه‌ها و سگ‌ها و همچنین با محیط‌هایی از خانه که توسط حیوانات خانگی آلوده است، (کف، فرش و ...) نسبت به بزرگسالان بیشتر در معرض خطر قرار دارند.

همچنین در مطالعه حاضر، میزان شیوع اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم جداشده از پوست نزدیک به پرینه به ترتیب ۲۲ و ۲ درصد برآورد شده است. نمونه‌های پوستی به منظور ارزیابی امکان انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی به محیط زندگی از طریق پلاسمیدها اخذ شد. نتایج ما به این صورت بود که از ۱۰۰ نمونه پوستی اخذ شده، ۲ نمونه از نظر حضور سالمونلا مثبت بودند در صورتی

که با بررسی نمونه مدفوع سگ‌های مورد نظر، سالمونلا در مدفوع آنها یافت نشد. بنابراین با توجه به این موضوع و با اشاره به این‌که سالمونلا یک باکتری پاتوژن روده‌ای می‌باشد، می‌توان احتمال داد که منبع سالمونلاهای جدا شده از پوست، محیط بوده است. در راستای این موضوع اخیراً، بروز سروارهای سالمونلا در تشویقی‌های سگ نشان داده شده است (۸). مطالعات نشان داده‌اند که تشویقی‌های مشتق شده از حیوانات می‌تواند یک منبع بالقوه عفونت با سالمونلا در حیوانات و انسان باشد، که شامل سالمونلا تیفی‌موریوم DT104 مقاوم به چند دارو می‌باشند.

انتقال افقی ژن‌های مقاومت ممکن است در خلاف جهت انتقال باکتری‌ها اتفاق بیفتد. برای مثال، باکتری‌های انسانی منتقل شده به حیوانات اهلی ممکن است ژن‌های مقاومت از فلور همزیست حیوانات خانگی را به دست آورند و ممکن است توسط درمان ضد میکروبی در این حیوانات انتخاب شوند.

علاوه بر این، حتی در مورد انتقال باکتری‌ها از انسان به حیوانات خانگی، حیوانات خانگی به انتشار باکتری‌های مقاوم به‌دست آمده از طریق مدفوع کردن کمک می‌کنند، بنابراین باعث افزایش شیوع آن در جمعیت انسانی و محیط می‌شوند.

برخلاف بسیاری از بیماری‌ها، مقاومت ضد میکروبی با وجود تعداد کم باکتری‌ها از یک میزبان به میزبان دیگر منتقل می‌شود. در تئوری حتی یک سلول باکتریایی واحد ممکن است قادر به انتقال ژن‌های مقاومت در فلور باکتریایی میزبان گیرنده باشد. انتقال ژن مقاومت بین باکتری‌های حیوانات خانگی و منشأ انسانی ممکن است از طریق حیوانات خانگی، انسان یا محیط انجام شود.

بیشتر اطلاعات موجود در مقالات علمی در مورد انتقال باکتری‌ها بین حیوانات خانگی و انسان، مربوط به باکتری‌های بیماری‌زای انسان است. زخم‌های ناشی از گزش در انسان، فرصت انتقال ارگانیسم‌های مقاوم را از سگ‌ها و گربه‌ها به انسان فراهم می‌کنند و می‌توانند عواقب جدی داشته باشند، مگر اینکه حساسیت ارگانیسم‌ها مشخص و درمان مناسب انجام گیرد. حداقل ۱ درصد از موارد سالمونلوز که سالانه در ایالات متحده گزارش می‌شود مربوط به حیوانات همراه است (۳۳).

در این راستا، انتقال سالمونلا ویرشوو از دو سگ خانگی به نوزاد با استفاده از روش پالسفیلد ژل الکتروفورز (PFGE) تائید شد (۳۴).

در سال ۲۰۰۱ شیوع سالمونلا تیفی‌موریوم با مقاومت چندگانه که مرتبط با تجهیزات دامپزشکی حیوانات خانگی بود در واشنگتن گزارش شد (۳۵).

تخمین زده می‌شود که تقریباً ۶ درصد کمپیلوباکتریوز روده از حیوانات خانگی منتقل می‌شود (۳۶).

در یک مطالعه (۳۷) مشخص شد که یک دختربچه ۲ ساله و سگش سویه مشابه مقاومت به فلوروکینولون را به اشتراک گذاشته‌اند. هیچ یک از آنها تاکنون تحت درمان با فلوروکینولون‌ها نبودند، که این نشان می‌داد این سویه با قرار گرفتن قبلی این دو فرد در معرض کینولون‌ها انتخاب نشده است، بلکه از یک منبع خارجی حاصل شده است. حتی اگر این سگ با یک رژیم غذایی تجاری تغذیه می‌شد، کسب آن از یک منبع غذایی معمولی هم ممکن بود، زیرا گاهاً به این سگ‌ها ضایعات مواد غذایی انسان داده می‌شد.

گونه‌های E.coli که باعث عفونت مجاری ادراری در سگ‌ها می‌شوند، از نظر فیلوژنیک با E.coli بیماری‌زای خارج روده انسانی (EXPEC) مرتبط هستند و ژن‌های حدتی را نشان می‌دهند که مشخصه ایزوله‌های بالینی انسانی است (۳۸، ۳۹).

اثبات انتقال ژن مقاومت آنتی‌بیوتیکی از حیوان

خانگی به انسان، نسبت به انتقال باکتری‌های مقاوم از حیوان خانگی به انسان دشوارتر است. در حالی که در حالت دوم، تایپ کردن مولکولی سویه‌های مورد نظر اطلاعات ارزشمندی را برای تائید یا رد رابطه نزدیک بین سویه‌های مقاوم جداشده از حیوانات خانگی و انسان ارائه می‌دهد، تشخیص همان ژن مقاومت در باکتری‌ها از هر دو منبع می‌تواند به‌عنوان یک نشانه در نظر گرفته شود. برای مثال، ژن‌های مقاومت به سولفانامید؛ sul1 و sul2، ژن‌های مقاومت به استرپتومایسین؛ strA، strB و aadA2 و ژن‌های مقاومت به تتراسایکلین؛ tetA و tetB نشان داده شده که در سویه‌های E.coli جداشده از عفونت دستگاه ادراری وجود داشته است (۴۰).

با این حال تمام این ژن‌ها با عناصر ژنتیکی متحرک مانند ترانسپوزون‌ها، اینتگرون‌ها یا پلاسمیدها همراه هستند. بنابراین جای تعجب نیست که همان ژن‌های مقاومت در سویه‌های E.coli از انسان و سایر حیوانات و همچنین در سایر باکتری‌های روده‌ای مانند سالمونلا تیفی‌موریوم نیز یافت شود (۴۲-۴۰).

از طرف دیگر، در مطالعه حاضر از نمونه‌های پوستی ۱۰۰ قلاده سگ مورد بررسی، ۲۲ مورد از نظر حضور باکتری E.coli مثبت بودند، که تنها در ۲ قلاده سگ باکتری E.coli در مدفوع نیز مشاهده گردید. پس با توجه به موارد بحث شده می‌توان نتیجه گرفت که امکان انتقال ژن‌های مقاومت به واسطه‌ی اشریشیاکلی پوست به سایر باکتری‌های پوست یا روده یا حتی به محیط وجود دارد.

در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه مشخص کرد که اکثر سویه‌های اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم جداشده از محتویات روده، واجد مقاومت چندگانه به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بوده که این خود ناشی از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در انسان و حیوانات همراه است، لذا این موضوع اهمیت بررسی آنتی‌بیوگرام قبل از تجویز آنتی‌بیوتیک در درمان بیماری‌های دامی و انسانی را آشکار و خطر بالقوه بروز سالمونلوز را به‌خصوص در کودکان و سالخوردگان که عملکرد سیستم ایمنی ضعیف دارند، یادآوری می‌کند. بنابراین خطر انتقال باکتری‌های مقاوم و یا ژن‌های مقاومت از حیوانات خانگی به انسان‌ها وجود دارد که شامل گونه‌های باکتریایی و ژنوتیپ‌های مقاومتی است که در حوزه‌ی بالینی وجود دارند.

مطالعات مشخص کرده‌اند که یک عامل مؤثر در شیوع ژن‌های مقاومت در جمعیت باکتری‌ها و میزبان، موقعیت بسیاری از این ژن‌ها در عناصر متحرک می‌باشد.

همچنین، انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی با این واقعیت که تقریباً کلاس‌های آنتی‌بیوتیکی مشابهی در طب انسان و حیوانات کوچک در حال استفاده است، احتمالاً با تماس فیزیکی نزدیک حیوانات خانگی و انسان‌ها افزایش می‌یابد. با این حال کمیت این خطر از آنجایی‌که داده‌های کلیدی در مورد مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در طب حیوانات خانگی و در مورد حساسیت آنتی‌بیوتیکی و شیوع و تحرک ژن‌های مقاومت در بین پاتوژن‌های باکتریایی در حیوانات خانگی در حال حاضر در دسترس نیست، بسیار مشکل‌ساز است.

در نتیجه نقش حیوانات خانگی به‌عنوان مخازن مقاومت باکتریایی به بررسی‌های بیشتری نیاز دارد و از آنجایی‌که تقریباً تمام داده‌های مربوط به شیوع ژن‌های مقاومت در باکتری‌ها از مطالعات منتخب تهیه شده و اغلب به جمعیت آزمایشی کوچک و متوسط مراجعه شده، نیاز است که مطالعات مشابه گسترده‌تری در این زمینه انجام پذیرد.

از طرفی پیشنهاد می‌شود به منظور بررسی ارتباط فیلوژنتیکی بین باکتری‌های رکتوم و سطح

پوســـت حیوانـــات خـــانگی بـــا باکتری‌هـــای روده‌ای صاحبان آنها، نمونـه‌گیری از صـاحبان حیوانـات خـانگی نیـز انجـام شـود کـه ایـن امـر در نهایـت احتمـالاً بـه اصـــلاح الگـــوی مصـــرف آنتی‌بیوتیک‌هـــا در انســـان و حیوانات خانگی خواهد انجامید.

References

1- Tenaillon O, Skurnik D, Picard B, Denamur E. The population genetics of commensal Escherichia coli. *Nature reviews microbiology*. 2010; 8(3): 207-17.

2- Singleton P, Mazliak P. Bacteria, in Biology, Biotechnology and Medicine. *Annee Biologique*. 1997; 36(3): 212.

3- Vogt RL, Dippold L. Escherichia coli O157: H7 outbreak associated with consumption of ground beef, June–July 2002. *Public health reports*. 2005; 120(2): 174-8.

4- Centers for Disease Control and Prevention. National center for emerging and zoonotic divisions/dfbmd/diseases/campylobacter/technical. html. Accessed Jan. 2014 May.

5- Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. science. 2005; 308(5728): 1635-8.

6- Su L, Chiu C. Salmonella: clinical importance and evolution of nomenclature. *Chang Gung medical journal*. 2007; 30(3): 210

7- Fàbrega A, Vila J. Salmonella enterica serovar Typhimurium skills to succeed in the host: virulence and regulation. *Clinical microbiology reviews*. 2013; 26(2): 308-41.

8- White DG, Datta A, McDermott P, Friedman S, Qaiyumi S, Ayers S, English L, McDermott S, Wagner DD, Zhao S. Antimicrobial susceptibility and genetic relatedness of Salmonella serovars isolated from animal-derived dog treats in the USA. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003; 52(5): 860-3.

9- Srisanga S, Angkititrakul S, Sringam P, Le Ho PT, Vo AT, Chuanchuen R. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance and virulence genes of Salmonella enterica isolated from pet dogs and cats. *Journal of veterinary science*. 2017; 18(3): 273-81.

10- Momtaz H, Karimian A, Madani M, Dehkordi FS, Ranjbar R, Sarshar M, Souod N. Uropathogenic Escherichia coli in Iran: serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. 2013; 12(1): 1-2.

11- Mumtaz H, Qaed Amini M, Momeni M. Detection of virulence genes in Salmonella typhimurium and Salmonella enteritidis serotypes isolated from chicken meat in Chaharmahal and Bakhtiari province. *Journal of Food Microbiology*. 2014; Pages 22-17 [In Persian].

12- Jamshidi AE, Basami M, Afshari NS. Identification of Salmonella spp. and Salmonella typhimurium by a multiplex PCR-based assay from poultry carcasses in Mashhad-Iran.

13- Nakadomari GH, Charalo AC, Pavan AC, Vignoto VK, Sfaciotte RA, Wosiacki SR. MULTIPLEX-PCR FOR DETECTION OF β-LACTAM RESISTANCE IN Staphylococcus spp. *Revista De Ciência Veterinária E Saúde Pública*. 2019; 6(2): 262-75.

14- Namroodi S, Estaji H, Dehmordeh M. Frequency and antimicrobial resistance pattern of Salmonella Spp in asymptomatic rural dogs. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2016; 26(135): 153-7.

15- Paitan Y. Current trends in antimicrobial resistance of Escherichia coli. Escherichia coli, a Versatile Pathogen. *Current Topical Microbiology and Immunology*. 2018; 416: 181-211

16- Guardabassi L, Schwarz S, Lloyd DH. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2004; 54(2): 321-32.

17- Holm BR, Petersson U, Mörner A, Bergström K, Franklin A, Greko C. Antimicrobial resistance in staphylococci from canine pyoderma: a prospective study of first-time and recurrent cases in Sweden. *Veterinary Record*. 2002; 151(20): 600-5.

18- Cooke CL, Singer RS, Jang SS, Hirsh DC. Enrofloxacin resistance in Escherichia coli isolated from dogs with urinary tract infections. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2002 1; 220(2): 190-2.

19- Prescott JF, Hanna WB, Reid-Smith R, Drost K. Antimicrobial drug use and resistance in dogs. *The Canadian veterinary journal*. 2002; 43(2): 107.

20- Current trends in antimicrobial resistance of Escherichia coli. Escherichia coli, a Versatile Pathogen. *Current Topical Microbiology and Immunology*. 2018; 416: 181-211.

21- Shimi A, Keyhani M, Bolurchi M. Salmonellosis in apparently healthy dogs. *The Veterinary record*. 1976; 98(6): 110-1.

22- Jalali PA, Beygi MD, Asadpoor L. Isolation and antibiotic resistance of Salmonella from dogs with hemorrhagic enteritis. *J Azad University*. 2010; 9(3): 12-7.

23- Salehi TZ, Badouei MA, Madadgar O, Ghiasi SR, Tamai IA. Shepherd dogs as a common source for Salmonella enterica serovar Reading in Garmsar, Iran. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2013; 37(1): 102-5.

24- Morse EV, Duncan MA. Canine salmonellosis: prevalence, epizootiology, signs, and public health significance. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1975; 167(9): 817-20.

25- Pourmirblouk Je, Dadash Bm, Asadpour L. Investigation On The Bacterial Of Dog's Hemorrhagic Enteritis And Determining Their Antibiotic Resistance In Rasht Veterinary Clinics.

26- Yousefi A, Torkan S. Uropathogenic Escherichia coli in the urine samples of Iranian dogs: antimicrobial resistance pattern and distribution of antibiotic resistance genes. *BioMed research international*. 2017 Oct; 2017.

27- Carvalho AC, Barbosa AV, Arais LR, Ribeiro PF, Carneiro VC, Cerqueira AM. Resistance patterns, ESBL genes, and genetic relatedness of Escherichia coli from dogs and owners. *brazilian journal of microbiology*. 2016; 47: 150-8.

28- Torkan S, Bahadoranian MA, Khamesipourc F, Anyanwu MU. Detection of virulence and antimicrobial resistance genes in Escherichia coli isolates from diarrhoiec dogs in Iran. *Austral Journal of Veterinary Sciences.* 2016; 48(2): 181-90.

29- Srisanga S, Angkititrakul S, Sringam P, Le Ho PT, Vo AT, Chuanchuen R. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance and virulence genes of Salmonella enterica isolated from pet dogs and cats. *Journal of veterinary science*. 2017; 18(3): 273-81.

30- Ghasemi F, Fathi B, Jamshidi A. Detection of antibiotic residues in poultry carcasses in Mashhad poultry abattoir. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*. 2014; 6(1): 30-6.

31- Salehzadeh F, Madani R, Salehzadeh A, Rokni N, Golchinefar F. Oxytetracycline residue in chicken tissues from Tehran slaughterhouses in Iran. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2006; 5(4): 377-81.

32- Emadi CS, Hasanzadeh M, Bozorg MM, Mirzaei S. Characterization of the Salmonella isolates from backyard chickens in north of Iran, by serotyping, multiplex PCR and antibiotic resistance analysis.

33- Guardabassi L, Schwarz S, Lloyd DH. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2004; 54(2): 321-32.

34- Sato Y, Mori T, Koyama T, Nagase H. Salmonella Virchow infection in an infant transmitted by household dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2000; 62(7): 767-9.

35- Saeed AM, Harris NV, DiGiacomo RF. The role of exposure to animals in the etiology of Campylobacter jejuni/coli enteritis. *American journal of epidemiology*. 1993; 137(1): 108-14.

36- Damborg P, Olsen KE, Møller Nielsen E, Guardabassi L. Occurrence of Campylobacter jejuni in pets living with human patients infected with C. jejuni. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004; 42(3): 1363-4.

37- Johnson JR, Stell AL, Delavari P, Murray AC, Kuskowski M, Gaastra W. Phylogenetic and pathotypic similarities between Escherichia coli isolates from urinary tract infections in dogs and extraintestinal infections in humans. *The Journal of infectious diseases*. 2001; 183(6): 897-906.

38- Starčič M, Johnson JR, Stell AL, Van Der Goot J, Hendriks HG, Van Vorstenbosch C, Van Dijk L, Gaastra W. Haemolytic Escherichia coli isolated from dogs with diarrhea have characteristics of both uropathogenic and necrotoxigenic strains. *Veterinary microbiology*. 2002; 85(4): 361-77.

39- Lanz R, Kuhnert P, Boerlin P. Antimicrobial resistance and resistance gene determinants in clinical Escherichia coli from different animal species in Switzerland. *Veterinary microbiology*. 2003; 91(1): 73-84.

40- Lanz R, Kuhnert P, Boerlin P. Antimicrobial resistance and resistance gene determinants in clinical Escherichia coli from different animal species in Switzerland. *Veterinary microbiology*. 2003; 91(1): 73-84.

41- Sørum H, Sunde M. Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Veterinary research*. 2001; 32(3-4): 227-41.

The comparison of Antibiotic Resistance Patterns of Salmonella typhimurium isolates and Escherchia coli separated from intestinal contents and the skin close to the perineum in dogs in Esfahan province.

Fahimeh NeginTaji Zardak[1] , Saam Torkan*[2]

1 - Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University of Shahr Kord, Shahr Kord, Iran.
2 - Assistant professor, Department of clinical science, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University of Shahr Kord, Shahr Kord, Iran.

Accept: February 28, 2021 Receive: January 24, 2021; Revise: February 8, 2021;

Summary

Salmonella and Escherichia coli are important bacteria that cause intestinal infections and diarrhea. The increment of salmonella and E.coli antibiotic resistance is considered as a major global problem. Since indoor dogs are known as potential reservoirs for these two bacteria, this study was designed for investigation of antibiotic resistance pattern of salmonella typhimurium and Escherichia coli isolated from rectal and perineal region skin swabs of these dogs in Isfahan Province. Skin and rectal swabs obtained from 100 dogs referred to veterinary clinics were cultured for bacterial isolation. After bacterial culture and isolation, salmonella and E.coli positive colonies were confirmed using Polymerase chain reaction. Then the presence of the most prevalent antibiotic resistance genes were investigated using PCR method and phenotypic patterns were determined using disc diffusion method. All of the E.coli bacteria isolated from rectal samples were resistant to gentamycin, tetracycline, ciprofloxacin, and trimethoprim- sulfamethoxazole. Furthermore, all of the salmonella rectal isolates were resistant to tetracycline. DfrA1 gene was detected in all of the E.coli bacteria isolated from rectal swabs. Tet B and dfrA1 were the most detected genes in salmonella typhimurium bacteria isolated from rectal swabs. Multiple antibiotic resistance in these isolates shows extra usage of antibiotics and to overcome this problem, antibiogram test is suggested to choose the best antibiotic for the treatment of infectious diseases.

Keywords: *Antibiotic Resistance, Salmonella typhimurium, Escherchia coli , dogs.*