سالمونلوز در گله‌های طیور گوشتی استان گلستان: فراوانی، تعیین گروه سرمی و الگوهای مقاومت دارویی جدایه‌های سالمونلا

سید مصطفی پیغمبری*[۱]، ریما مرشد[۲]، مهناز بازیار[۱]، آرین شریفی[۳]، اوستا صدرزاده[۳]

۱ - گروه بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲ - گروه کشاورزی و دامپزشکی، بنیاد دانشنامه نگاری ایران، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران، ایران
۳ - علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی- واحد گرمسار، گرمسار، ایران

دریافت مقاله : ۱۸ اسفند ۱۳۹۶، بازنگری: ۱۴ خرداد ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۶ مرداد ۱۳۹۷

چکیده

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در حیواناتی که برای مصارف انسانی پرورش داده می‌شوند سبب ظهور باکتری‌های زئونوز مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها همچون *سالمونلا*های مقاوم و انتقال آنها به انسان از طریق زنجیره غذایی می‌شود. این مطالعه در استان گلستان به منظور بررسی میزان آلودگی *سالمونلایی* گله‌های گوشتی به عنوان یکی از منابع مهم غذایی انسان و ارزیابی میزان مقاومت دارویی جدایه‌ها انجام شده است. در تحقیق کنونی از ۵۲ فارم گوشتی (مشتمل بر ۸۵ سالن گوشتی) در سنین مختلف نمونه‌برداری انجام شد و ۵۱۰ نمونه مدفوع تجمیع شده به‌دست آمد. نمونه‌ها به منظور جداسازی *سالمونلا* به روش استاندارد کشت داده شدند. سپس با کمک آنتی‌سرم‌های پلی‌والان و مونووالان سروگروپ هر جدایه *سالمونلا* تعیین شد و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها با روش انتشار دیسک مورد ارزیابی قرار گرفت. از مجموع ۵۱۰ نمونه، چهارده جدایه *سالمونلا* به‌دست آمد (٪ ۲/۷۴ درصد) و میزان شیوع *سالمونلا* بر اساس ۸۵ سالن، ۱۶/۴۷ درصد بود. سه جدایه گروه D و ۹ جدایه گروه C شناسایی شدند و دو جدایه به هیچ کدام یک از گروه‌های سرمی A تا D تعلق نداشتند. در مجموع ۱۳ الگوی مقاومت یافت شد. صددرصد جدایه‌های مورد بررسی نسبت به دو آنتی‌بیوتیک سفیکسیم و سفتریاکسون حساس و در مقابل نالیدیکسیک اسید، فلومکوئین، کلرتتراسایکلین، تایلوزین، اریترومایسین و داکسی‌سایکلین مقاوم بودند. مقاومت چندگانه در برابر حداقل چهار ترکیب ضد میکروبی در تمامی جدایه‌های *سالمونلا* مشاهده شد. بیشترین میزان مقاومت در مقابل ترکیبات ضد میکروبی پرمصرف در صنعت طیور مشاهده شد که کاملاً با پیش‌فرض مصرف بی‌رویه داروهای ضد میکروبی در گله‌ها و ایجاد باکتری‌های بیماری‌زای مقاوم همخوانی دارد.

واژگان کلیدی: *استان گلستان، ایران، سالمونلا، گله گوشتی، مقاومت دارویی*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: mpeigham@ut.ac.ir

مقدمه

گسترش جهانی عفونت‌های با منشأ غذایی ایجاد شده به وسیله پاتوژن‌های مقاوم در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از نگرانی‌های مهم در بخش سلامت و بهداشت عمومی جامعه است و به عنوان یکی از مشکلات بهداشتی بازپدید از طرف WHO مطرح شده است (۴-۱). *سالمونلا* بیشترین عامل عفونت‌های با منشأ غذایی و سالمونلوز شایع‌ترین بیماری با منشأ غذایی بعد از عفونت‌های *کمپیلوباکتر* است (۵). مرغ و فرآورده‌های گوشتی بزرگ‌ترین منابع سالمونلوز در اکثر کشورهای جهان می‌باشند. گوشت مرغ ممکن است در کشتارگاه با محتویات روده‌ای آلوده شود و ذخیره نامناسب و پخت ناقص آن موجب بقا و حتی تکثیر باکتری گردد (۶). در دو دهه اخیر ظهور *سالمونلا*های مقاوم نیز مشکلات را دوچندان کرده است. استفاده بی‌وقفه و بی‌برنامه از آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی دام و طیور باعث شکل‌گیری باکتری‌های مقاوم شده که از طریق چرخه غذایی به انسان نیز انتقال یافته و فرآیند درمانی را در انسان با اختلال مواجه کرده‌اند (۷، ۸). بنابراین برنامه‌ریزی برای کاهش آلودگی *سالمونلا*یی در سطح گله‌های طیور به‌ویژه گله‌های گوشتی به عنوان منبع غذایی انسان باید در دستور کار سازمان‌های مربوطه قرار گیرد و این امر بدون آگاهی از وضعیت کنونی شیوع سالمونلا در گله‌های طیور امکان‌پذیر نخواهد بود. در کشورهای درحال توسعه ارزیابی شیوع سالمونلا به دلیل فقدان سیستم دقیق پایش دشوار است (۹، ۱۲). بنابراین، انجام تحقیقات اپیدمیولوژیک وسیع برای گزارش شیوع سالمونلا در کشور و تفریق سروتیپ‌های آن در مناطق جغرافیایی مختلف امری ضروری است. با توجه به اهمیت موضوع، مطالعه‌ای با هدف جداسازی *سالمونلا* از ۵۲ گله طیور گوشتی شهرستان گرگان و گنبد در استان گلستان و تعیین سروگروپ *سالمونلا*های جداشده با استفاده از آنتی سرم‌های پلی‌والان و تعیین الگوی مقاومت دارویی این جدایه‌ها انجام پذیرفته است.

مواد و روش‌ها

از ۵۲ مرغداری گوشتی (در مجموع دارای ۸۵ سالن) اطراف شهرستان گنبد و گرگان در استان گلستان نمونه‌برداری انجام شد. هر سالن مرغداری به ۶ ناحیه تقسیم شده و از هر ناحیه، ۱۰ نمونه تازه مدفوعی برداشته شد و نهایتاً هر ۱۰ نمونه در هر سالن با هم مخلوط شد. در مجموع ۵۱۰۰ نمونه تازه مدفوعی به دست آمد که در ۵۱۰ نمونه مخلوط شده مورد بررسی قرار گرفت. جزئیات مربوط به نمونه‌برداری در جدول ۱ به تفصیل آمده است. پس از جمع‌آوری نمونه‌های تازه مدفوعی و مخلوط نمودن هر ۱۰ نمونه یک سالن، تمامی نمونه‌ها به یک محیط غنی‌سازی یعنی سلنیت F اضافه شدند و پس از ۱۸ ساعت باکتری‌ها به محیط‌های انتخابی مک کانکی و *سالمونلا*- شیگلا منتقل شدند. کلنی‌های مشکوک به *سالمونلا* به محیط Triple Sugar Iron (TSI) و اوره برده شدند. جدایه‌ها در محیط‌های بیوشیمیایی مختلف شامل محیط‌های نیترات، آب پپتونه MR-VP و سیترات کشت داده شدند و از لحاظ تخمیر قندهای ترهالوز، دولسیتول و مانیتول نیز مورد بررسی قرار گرفتند. جدایه‌ها پس از تأیید به عنوان *سالمونلا* در این محیط‌ها برای تعیین گروه سرمی آماده‌سازی شدند (۱۳). کلیه محیط‌های مورد استفاده از شرکت Merck آلمان تهیه شدند .

برای تعیین گروه سرمی از روش استاندارد آگلوتیناسیون روی لام جهت تشخیص پادگن‌های O استفاده شد. برای این منظور از آنتی‌سرم‌های پلی‌والان O (A-D) 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 اتواگلوتیناسیون، یک قطره از آنتی‌سرم‌های موجود را روی آن قرار داده و با هم مخلوط گردید. نتیجه در برابر چراغ و در زمینه سیاه قرائت شد. در صورتی که آگلوتیناسیون در کمتر از ۲ دقیقه مشاهده شود واکنش مثبت تلقی می‌گردد (۱۳).

برای تعیین الگوی مقاومت داروئی جدایه‌های سالمونلا به‌دست آمده از طیور گوشتی، روش کیفی دیسک دیفوزیون به روش استاندارد Kirby-Bauer (14)استفاده شد که قبلاً به‌طور کامل به آن پرداخته شده است (۱۷). اساس این روش به انتشار آنتی‌بیوتیک بر روی محیط آگاردار و ممانعت از رشد باکتری حساس در محوطه حرکت و انتشار آنتی‌بیوتیک استوار است. محیط کشت انتخابی در این روش مولر- هینتون (Merck, Germany) است که رشد پرگنه‌ها را به صورت انفرادی و در کنار هم به طور رضایت‌بخشی فراهم می‌کند. بیست و چهار دیسک ضد میکروبی این مطالعه از شرکت پادتن طب تهیه شدند و مورد استفاده قرار گرفتند که غلظت آن‌ها بر حسب میکروگرم عبارت بودند از :آمپی سیلین (۱۰)، کلرامفنیکل (۳۰)، 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)، دانوفلوکساسین (۱۰)، سفیکسیم (۵)، سفتریاکسون (۳۰)، سفتازیدیم (۳۰)، لووفلوکساسین (۵)، کاناماسین (۳۰)، فلورفنیکل (۳۰)، کلرتتراسایکلین (۳۰)، داکسی‌سایکلین (۳۰)، تایلوزین (۳۰) و اریترومایسین (۱۵).

نتایج

پس از کشت و آزمایشات بیوشیمیایی ۵۱۰ نمونه مدفوع تازه و تجمیع شده از ۵۲ گله مرغ گوشتی دو شهرستان گرگان و گنبد در سنین مختلف ۱۴ جدایه سالمونلا به‌دست آمد (۲/۷۴ درصد) که سه جدایه آن مربوط به یک گله بوده‌اند. در مطالعه حاضر ۲۳ درصد گله‌های گوشتی (۱۲ گله از ۵۲ گله) و ۱۶/۴۷ درصد از سالن‌ها (۱۴ سالن از ۸۵ سالن) آلوده گزارش شده‌اند. نتایج تعیین گروه سرمی در جدول ۱ آمده است (جدول ۱).

براساس این نتایج ۹ جدایه در گروه سرمی C و ۳ جدایه در گروه سرمی D قرار داشتند و دو جدایه به هیچ‌کدام از گروه‌ها (A-D) تعلق نداشتند. الگوی مقاومت ۱۴ جدایه بسیار متنوع بوده و به جز دو جدایه که الگوی یکسان داشتند بقیه جدایه‌ها الگوهای مقاومت متفاوتی از هم را نشان دادند. در مجموع ۱۳ الگوی مقاومت شناسایی شد که در جدول ۲ نشان داده شده‌اند.

همه جدایه‌های مورد بررسی نسبت به دو آنتی‌بیوتیک سفیکسیم و سفتریاکسون حساسیت کامل نشان دادند. در مرتبه بعدی بالاترین حساسیت دارویی از آنِ سفتازیدیم، جنتامایسین، فلورفنیکل، کلرآمفنیکل، نورفلوکساسین و لووفلوکساسین بود. مقاومت جدایه‌های سالمونلا در مقابل نالیدیکسیک اسید، فلومکوئین، کلرتتراسایکلین، تایلوزین، اریترومایسین و داکسی‌سایکلین ۱۰۰ درصد بوده است. پس از این ترکیبات ضد میکروبی بیشترین مقاومت در مقابل تتراسایکلین، فورازولیدون، لینکواسپکتین و استرپتومایسین ثبت شد.

مقاومت همزمان نسبت به چندین ترکیب ضدمیکروبی در جدول ۴ نشان داده شده است. تمامی جدایه‌های سالمونلا در برابر چهار ترکیب ضد میکروبی به‌صورت همزمان مقاوم بودند. مقاومت

چندگانه حداقل در برابر سه و حداکثر در مقابل ۱۲ ترکیب ضد میکروبی مشاهده شد.

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های *سالمونلا*

شماره جدایه	شهر جداسازی	سن گله گوشتی (روز)	شماره گله	سروگروپ
۱	گرگان	۳۴	۱	C
۲	گرگان	۴۸	۲	C
۳	گرگان	۲۰	۱۱	C
۴	گرگان	۱۰	۱۸	C
۵	گرگان	۱۰	۱۸	C
۶	گرگان	۱۰	۱۸	C
۷	گنبد	۴۶	۹	N*
۸	گنبد	۴۲	۱۱	C
۹	گنبد	۲۲	۱۳	C
۱۰	گنبد	۴۲	۱۵	D
۱۱	گنبد	۲۷	۱۶	D
۱۲	گنبد	۴۵	۲۴	N
۱۳	گنبد	۳۵	۲۶	C
۱۴	گنبد	۲۲	۳۰	D

جدول ۲- الگوهای مقاومت در بین ۱۴ *سالمونلا*ی جداشده از شهرهای گرگان و گنبد

ردیف	تعداد جدایه	شهر جداسازی	الگوی مقاومت
۱	۱	گرگان	TE, NA, FR, LP, E, D, FF, S, C, TY, CTE
۲	۱	گرگان	TE, NA, FR, LP, E, D, S, C, ENF, TY, CTE
۳	۱	گرگان	TE, NA, FR, LP, E, D, FF, C, TY, CTE
۴	۱	گرگان	TE, NA, FR, LP, E, D, FF, S, TY, CTE
۵	۱	گرگان	TE, NA, FR, LP, E, D, S, AM, TY, CTE
۶	۱	گرگان	TE, NA, FR, LP, E, D, S, TY, CTE
۷	۱	گنبد	TE, NA, FR, LP, N, S, FM, AM, ENF, SXT, K, CAZ
۸	۲	گنبد	TE, NA, FR, LP, N, S, FM, AM, ENF, SXT, K
۹	۱	گنبد	TE, NA, LP, S, FM, NOR, GM, AM, ENF, LOM, DFX
۱۰	۱	گنبد	TE, NA, FR, FM, AM, ENF
۱۱	۱	گنبد	NA, FR, FM, AM
۱۲	۱	گنبد	NA, FR, LP, FM, AM, ENF
۱۳	۱	گنبد	TE, NA, FR, LP, S, NOR, FM, AM, ENF, LOM, SXT, DFX

AM =Ampicilin, C=Chloramphenicol, CAZ=Ceftazidime, D=Doxycycline, DFX=Danofloxacin, ENF= Enrofloxacin, E= Erythromycin, FM=Flumequine, FR=Furazolidone, FF=Flofenicol, GM=Gentamycin, K=Kanamaycin, LOM=Levofloxacin, LP=Linco-spectin, NA=Nalidixic Acid, N=Neomycin NOR=Norfloxacin, S=Streptomycin, SXT= Sulfamethoxazol + Trimethoprim, CTE= Chlortetracycline, TE=Tetracycline, TY=Tylosine

بحث و نتیجه‌گیری

بیماری‌های ناشی از سالمونلاها در سراسر دنیا و در اکثر گونه‌های حیوانی مشاهده می‌شود. این باکتری در دستگاه گوارش مهره‌داران اعم از پستانداران، پرندگان، خزندگان و ماهیان سیطره پیدا کرده و بسته به سروتیپ، شرایط و عوامل متعدد میزبانی، بیماری‌هایی با نشانه‌ها و عوارض متعدد ایجاد می‌کنند. باکتری از راه مدفوع دفع شده و باعث آلودگی آب، غذا و محیط می‌گردد. انسان و حیوانات در بیشتر موارد در اثر مصرف این گونه مواد آلوده باکتری را وارد دستگاه گوارش خود کرده و در نتیجه این گردش دهانی- مدفوعی تداوم پیدا

مـی‌کنـد. یکـی از مهم‌تـرین دغدغـه‌های مـرتبط بـا سـالمونلا بحـث زوئونـوز و انتقـال آن از گوشـت و فرآورده‌هـای حیـوانی بـه انسـان اسـت. گوشـت مـرغ آلـوده بـه *سـالمونلا* اصـلی‌ترین منبـع انتقـال آلـودگی سـالمونلایی بـه انسـان اسـت کـه از جنبـه بهداشـت عمـومی دارای اهمیـت ویـژه‌ای اسـت، از ایـن رو تشـخیص فراوانـی عفونـت *سـالمونلا* در گلـه‌هـای طیـور صـنعتی بـه منظـور بـه‌کارگیری اقـدامات کنترلـی صحیح در سطح کشور امری ضروری است (۱۵).

جدول۳- میزان حساسیت و مقاومت دارویی جدایه‌های *سالمونلا* و درصد آنها

ردیف	نام آنتی‌بیوتیک	نام شهر مورداستفاده		تعداد جدایه‌های حساس و نیمه حساس به کل جدایه‌های تست شده	درصد	تعداد جدایه‌های مقاوم به کل جدایه‌های تست شده	درصد
		گرگان	گنبد				
۱	آمپی‌سیلین	√	√	۱۴/۵	۷۲/۳۵	۱۴/۹	۲۸/۶۴
۲	کلرامفنیکل	√	√	۱۴/۱۱	۵۸/۷۸	۱۴/۳	۴۲/۲۱
۳	سفیکسیم	√	√	۱۴/۱۴	۱۰۰	۱۴/۰	۰
۴	سفتیریاکسون	√	√	۱۴/۱۴	۱۰۰	۱۴/۰	۰
۵	فلورفنیکل	√	√	۱۴/۱۱	۵۸/۷۸	۱۴/۳	۴۲/۲۱
۶	فورازولیدون	√	√	۱۴/۱	۱۵/۷	۱۴/۱۳	۸۵/۹۲
۷	جنتامایسین	√	√	۱۴/۱۲	۷۲/۸۵	۱۴/۲	۲۸/۱۴
۸	لینکواسپکتین	√	√	۱۴/۲	۲۸/۱۴	۱۴/۱۲	۷۲/۸۵
۹	نئومایسین	√	√	۱۴/۱۰	۴۳/۷۱	۱۴/۴	۵۷/۲۸
۱۰	نالیدیکسیک‌اسید	√	√	۱۴/۰	۰	۱۴/۱۴	۱۰۰
۱۱	انروفلوکساسین	√	√	۱۴/۷	۵۰	۱۴/۷	۵۰
۱۲	استرپتومایسین	√	√	۱۴/۴	۵۷/۲۸	۱۴/۱۰	۴۲/۷۱
۱۳	تتراسایکلین	√	√	۱۴/۱	۱۵/۷	۱۴/۱۳	۸۵/۹۲
۱۴	سفتازیدیم		√	۸/۷	۵/۸۷	۸/۱	۵/۱۲
۱۵	دانوفلوکساسین		√	۸/۶	۷۵	۸/۲	۲۵
۱۶	فلومکوئین		√	۸/۰	۰	۸/۸	۱۰۰
۱۷	کانامایسین		√	۸/۵	۵/۶۲	۸/۳	۵/۳۷
۱۸	لووفلوکساسین		√	۸/۶	۷۵	۸/۲	۲۵
۱۹	نورفلوکساسین		√	۸/۶	۷۵	۸/۲	۲۵
۲۰	سولفامتوکسازول+تری‌متوپریم		√	۸/۴	۵۰	۸/۴	۵۰
۲۱	کلرتتراسایکلین	√		۶/۰	۰	۶/۶	۱۰۰
۲۲	تایلوزین	√		۶/۰	۰	۶/۶	۱۰۰
۲۳	اریترومایسین	√		۶/۰	۰	۶/۶	۱۰۰
۲۴	داکسی‌سایکلین	√		۶/۰	۰	۶/۶	۱۰۰

جدول ۴- الگوی مقاومت چندگانه در بین۱۴ سالمونلای جداشده از شهرهای گرگان و گنبد

تعداد ترکیبات آنتی‌باکتریال	تعداد جدایه‌های مقاوم	درصد جدایه‌های مقاوم
۴ ≤	۱۴	۱۰۰
۵>	۱۳	۸۵/۹۲
۶>	۱۱	۵۷/۷۸
۷>	۱۱	۵۷/۷۸
۸>	۱۱	۵۷/۷۸
۹>	۱۰	۴۲/۷۱
۱۰>	۷	۵۰
۱۱>	۲	۲۸/۱۴
۱۲>	۰	۰

این مطالعه به منظور ارزیابی جداسازی *سالمونلا* از گله‌های گوشتی دو شهر بزرگ استان گلستان طراحی و اجرا شده است. به این ترتیب که از ۵۲ مرغداری گوشتی (دارای ۸۵ سالن) اطراف شهرستان گرگان و گنبد ۵۱۰۰ نمونه تازه مدفوعی جمع‌آوری شد که ۵۱۰ نمونه تجمیع شده مورد آنالیز و بررسی قرار گرفتند. پس از کشت و آزمایشات بیوشیمیایی، ۱۴ جدایه سالمونلا حاصل شد. در تعیین گروه سرمی، ۹ جدایه در گروه سرمی C و ۳ جدایه در گروه سرمی D قرار گرفتند و دو جدایه به هیچ‌کدام از گروه‌های (A-D) تعلق نداشتند. بررسی آمار و اطلاعات موجود در زمینه شیوع سالمونلوز در طیور صنعتی در کشور اعداد متفاوتی را نشان می‌دهد. آتابای در سال ۱۳۹۲ در بررسی ۶۱۴ مورد از لاشه‌های ارجاعی به کشتارگاه، ۳۷ جدایه *سالمونلا* به‌دست آورد که معادل ۷/۶۴ درصد آلودگی بود (۱۶). عزت پناه در سال ۹۱ در بررسی میزان آلودگی ماکیان به سالمونلا در شهرستان اراک، از مجموع ۲۴۵ نمونه کلواک ۷۵ مورد (۳۰/۶۱ درصد) سالمونلا جدا کرد (۱۷). ارم در سال ۱۳۹۰ در بررسی آلودگی سالمونلایی مرغداری‌های گوشتی شهرستان قائم‌شهر و حومه از مجموع ۲۲۸ نمونه مدفوعی تعداد ۳۰ جدایه *سالمونلا* جدا کرد که معادل ۱۳/۱ درصد آلودگی است (۱۸). در مطالعه وسیعی که توسط پیغمبری و همکاران در طی ۵ سال بر روی گله‌های گوشتی استان مازندران و گیلان صورت گرفت از شهرستان چالوس و حومه از مجموعه ۱۳۸ نمونه مدفوعی، تعداد ۱۱ جدایه سالمونلا جدا شد که معادل ۸ درصد آلودگی است، از شهرستان لاهیجان و حومه از مجموعه ۱۳۸ نمونه مدفوعی، تعداد ۱۰ جدایه سالمونلا جدا کرد که معادل ۷/۲ درصد آلودگی است؛ بابل، ساری و آمل نیز به‌ترتیب ۳/۰۳، ۱/۱۰، ۱/۰۱ درصد آلودگی سالمونلایی را نشان دادند (۱۹). مرشد در سال ۹۱ در بررسی آلودگی سالمونلایی گله‌های گوشتی آمل از مجموع ۲۲۶ نمونه ۶۲ جدایه سالمونلا به‌دست آورد که معادل ۲۷/۴۳ درصد آلودگی است (۲۰). در مطالعات آتابای در سال ۹۲ همگی جدایه‌ها متعلق به گروه سرمی D بودند (۱۶). ارم در همین سال ۹۳/۳۳ درصد سالمونلای گروه سرمی C و ۶/۶۶ درصد سالمونلای گروه سرمی D جدا کرد (۱۸). در مطالعه پیغمبری و همکاران در استان‌های حاشیه دریای خزر در مجموع ۳۵ ایزوله سالمونلا جدا شد که ۱۷ (۴۸/۵۷ درصد) ایزوله در گروه D و ۱۸ (۵۱/۴۳ درصد) ایزوله در گروه C دسته‌بندی شدند (۱۹). در مطالعه مرشد در سال ۹۱ نیز ۸۰/۶۴ درصد جدایه‌های به‌دست آمده به گروه D، ۱۷/۷۴ درصد به گروه C و ۱/۶۱ درصد جدایه‌ها به هیچ یک از گروه‌ها A تا D تعلق نداشتند (۲۰). به نظر می‌رسد که در طیور بین سروتیپ‌های مختلف چرخش وجود دارد و در دوران خاصی سروتیپی جایگزین سروتیپ دیگر می‌شود (۶). در بسیاری از مطالعات انجام شده در پنج سال اخیر در ایران سروگروپ C غالبیت پیدا کرده و به همراه سروگروپ D و حتی بیشتر از آن در گله‌های طیور یافت می‌شود (۱۸،۱۹،۲۱،۲۲).

الگوی مقاومت دارویی در مناطق مختلف و مقاطع زمانی متفاوت حتی در یک ناحیه ممکن است متفاوت باشد که می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع، میزان و تداوم مصرف داروهای آنتی‌باکتریال باشد. روند استفاده نادرست و بی‌رویه از آنتی‌باکتریال‌ها در واحدهای پرورش طیور به دور از ارزیابی دقیق حساسیت باکتریایی منجر به گسترش ژن‌های مقاومت می‌گردد (۲۳). اهمیت این موضوع در حیواناتی که برای مصارف انسانی پرورش داده می‌شوند از جنبه بهداشت و سلامت عمومی است زیرا این نگرانی وجود دارد که درمان سالمونلوز با منشأ غذایی در انسان پیچیده شود و سویه‌های

مقاوم سبب بیماری طولانی‌تر یا شدیدتری نسبت به سویه‌های حساس شوند. نگرانی دیگر به خاطر افزایش مقاومت نسبت فلوروکینولون‌هاست زیرا این دسته داروهای انتخابی برای درمان عفونت *سالمونلایی* در کودکان و بزرگسالان به شمار می‌روند (۲۴). در مطالعه سالمونلاهای این دو شهر حساسیت در مقابل فلوروکینولون‌ها همچون نورفلوکساسین، لووفلوکساسین، دانوفلوکساسین ۷۵ درصد و انروفلوکساسین ۵۰ درصد بود. دلیل این امر استفاده کمتر از سه آنتی‌بیوتیک اول در گله‌های طیور است چنانچه انروفلوکساسین که به وفور در طیور استفاده می‌شود مقاومت بیشتری را نشان داد. سازمان غذا و داروی امریکا (FDA) استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های دسته فلوروکینولون‌ها را در طیور ممنوع اعلام کرده است و تنها به دو آنتی‌بیوتیک دانوفلوکساسین و انروفلوکساسین در گاو و خوک در شرایط خاص اجازه مصرف داده است تا بدین ترتیب از وقوع مقاومت اجتناب‌ناپذیر ممانعت شود (۲۵). همه جدایه‌های مورد بررسی در این مطالعه نسبت به دو آنتی‌بیوتیک سفیکسیم و سفتریاکسون از خانواده سفالوسپورین‌ها ۱۰۰درصد حساسیت نشان دادند. در مرتبه بعدی بالاترین حساسیت دارویی از آنِ سفتازیدیم، جنتامایسین، فلورفنیکل، کلرآمفنیکل، نورفلوکساسین و لووفلوکساسین بود. مقاومت جدایه‌های *سالمونلا* در مقابل نالیدیکسیک اسید، فلومکوئین، کلرتتراسایکلین، تایلوزین، اریترومایسین و داکسی‌سایکلین ۱۰۰ درصد بوده است که با توجه به طول و تداوم استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها در سطح گله‌های طیور ایران قابل پیش‌بینی و توجیه‌پذیر است. پس از این آنتی‌بیوتیک‌ها بیشترین مقاومت در مقابل تتراسایکلین، فورازولیدون، لینکواسپکتین و استرپتومایسین ثبت شد. در بین جدایه‌های مقاوم، وقوع مقاومت چندگانه بسیار شایع بود به طوری که آنها حداقل به ۴ و حداکثر به ۱۲ دارو به صورت همزمان مقاوم بودند.

با توجه به افزایش اهمیت *سالمونلاهای* غیرتیفوئیدی به ویژه *سالمونلاهای* گروه C در انسان و طیور در سال‌های اخیر در جهان و از جمله در کشور ما و نیاز به تحقیقات وسیع و پیشرفته در این زمینه به منظور کاهش و کنترل عفونت در طیور و متعاقباً در انسان، انجام مطالعات اپیدمیولوژیک گسترده و سراسری بر روی جدایه‌های *سالمونلا*، تعیین سروتیپ، تعیین فاکتورهای خطر و تعیین پاتوژنیسیته در انواع گله‌های طیور مناطق مختلف جغرافیایی کشور پیشنهاد می‌شود.

References

1. Centers for disease control and prevention (CDC). Preliminary food net data on the incidence of infection with pathogen transmitted commonly through food 10 state/2005. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2006; 55(14):392-395.

2- Dalton CB, Gregory J, Kirk MD, Stafford RJ, Givney R, Kraa E et al. Foodborne disease outbreaks in Australia, 1995 to 2000. Commun Dis Intell. 2004; 28(2):211-214.

3- Lynch M, Painter J, Woodruff R, Braden C. Centers for disease control and prevention. Surveillance for foodborne-disease outbreaks United States, 1998-2002. MMWR Surveill Summ. 2006; 55(10):1-42.

4- Much P, Pichler J, Allerberger F. Foodborne infectious outbreaks, Austria 2005. Wien Klin Wochenschr. . 2007; 11 (5-6):139-141.

5- Meldrum RJ, Wilson IG. *Salmonella* and Campylobacter in United Kingdom retail raw chicken in 2005. J Food Protect. 2007; 70:1937-1939.

6- Zahraei Salehi MT. *Salmonella*. University of Tehran press, Tehran, Iran: 1999; 24-29. [Book in Persian]

7- Kikuvi GM, Ombui JN, Mitema ES. Serotypes and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* isolates from pigs at slaughter in Kenya. J Infect Dev Ctries. 2010; 4(4):243-248.

8- Fallah SH, Asgharpour F, Naderian Z,

Moulana Z. Isolation and determination of antibiotic resistance patterns in Non- typhoid *Salmonella* Spp. isolated from chicken. Enterpathog. 2013; 1(1):17-21. [Article in Persian].

9- Layton AN, Galyov EE. *Salmonella*-induced enteritis: molecular pathogenesis and therapeutic implications. Expert Rev Mol Med. 2007; 9(18):1-17.

10- Solghan SM, Dumas NB, Root TP, Quinlan TM, Armstrong LR, Spina NL et al. Multidrug-resistant nontyphoidal *Salmonella* in New York State's foodborne diseases active surveillance network counties. Foodborne Pathog Dis. 2010; 7(2):167-73.

11- Soltan Dallal MM, Taremi M, Gachkar L, Modarressi SH, Sanaei M, Bakhtiari R et al. Characterization of antibiotic resistant patterns of *Salmonella* serotypes isolated from beef and chicken samples in Tehran. Jundishapour J Microbiol. 2009; 2(4):124-131. [Article in Persian].

12- Voetsch AC, Van Gilder TJ, Angulo FJ, Farley MM, Shallow S, Marcus R, et al. FoodNet estimate of the burden of illness caused by nontyphoidal *Salmonella* infections in the United States. Clin Infect Dis. 2004; 38 Suppl 3:S127-134.

13- Waltman WD, Gast RK, Mallinson ET. Salmonellosis. In: Swayne DE, Glisson JR, Jackwood MM, Pearson JE, and Read WM. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens, 4th ed. Pennsylvania: American Association of Avian Pathologists; 1998.

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

15- Gast RK. *Salmonella* infection. In: Saif YM, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Swayne DE. Diseases of Poultry. 12th ed. Iowa: Blackwell Publishing; 2008; P.636-651.

16- Atabay Z. Bacteriologic survey of hepatic and cardiac lesions in commercial poultry carcasses. DVM thesis, 3482, University of Tehran, Tehran, Iran; December, 2013 (Thesis in Persian).

17- Ezatpanah E, Moradi Bidhendi S, Khaki P, Ghaderi R, Seyedan Jasbi E, Moghtadaee Far S. Isolation, serotyping and antibiotic-resistance pattern of isolated *Salmonella* from chicken of Arak. Iranian Vet J, 2013; 39(2):88-96. [Article in Persian].

18- Eram N, Peighambari, SM, Yazdani A. Study on *Salmonella* spp. in broiler farms around Ghaemshahr: determination of serotypes and their drug resistance. J Vet Lab Res. 2013; 5:85-94. [Article in Persian].

19- Peighambari SM, Morshed R, Shojadoost B, Nikpiran H, Haghbin Nazarpak H, Khakpour M et al. Occurrence of Non-typhoid *Salmonella* in Mazandaran and Gilan Iranian J Vet Clinic Sci. [Article in Persian]. (In Press).

20- Morshed R. Bacteriological study of broiler flocks (*Salmonella* contamination) in Amol city. Pajouhesh & Sazandegi Vet J. 2012; 97:23-28. [Article in Persian].

21- Peighambari SM, Sorahi Nobar M, Morshed R. Detection of *Salmonella* enterica serovar Infantis among serogroup C *Salmonella* isolates from poultry using PCR and determination of drug resistance patterns. Iranian Vet J, 2015; 11(2):54-61. [Article in Persian].

22- Rahmani M, Peighambari SM, Svendsen CA, Cavaco LM, Agerso Y, Hendriksen, RS. Molecular clonality and antimicrobial resistance in *Salmonella* enteric serovars Enteritidis and Infantis from broilers in three Northern regions of Iran. BMC Vet Res. 2013; 9:66.

23- Schwarz S, Kehrenbery C, Walsh TR. Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. Int. Antimicrob. Agents. 2001; 17:431-437.

24- Butaye P, Michael BM, Schwarz S, Barret TJ, Brisabois A, White DG. The clonal spread of multidrug – resistance nontyphi *Salmonella* serotypes. Microb. Infect. 2006; 8:1891-1997.

25- FDA. Extera label use and antibacterials. 2014. Available at: http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/ucm421527.htm

Salmonellosis in broiler flocks of Golestan province: frequency, serogroups and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* isolates

Seyed Mostafa Peighambari[1*], Rima Morshed[2], Mahnaz Baziar[1], Aryan Sharifi[3], Avesta Sadrzadeh[3]

1 - Department of Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
2 - Veterinary and Agriculture Group, Iran Encyclopedia Compiling Foundation, Ministry of Science, Research, and Technology, Tehran, Iran.
3 - Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University- Garmsar branch, Garmsar, Iran.

Receive; March 9, 2018; Revise: June 4 2018; Accept: July 28, 2018

Summary

The use of antibiotics in food animal production systems has resulted in emergence of antibiotic resistant zoonotic bacteria such as *Salmonella* that can be transmitted to humans through the food chain. This survey was done to determine *Salmonella* contamination and to evaluate *Salmonella* drug resistance in broiler flocks as one of the most important sources of food in Golestan province. In this survey, samples were taken from 52 broiler farms (85 broiler houses) at different ages and, in total, 510 pooled manure samples were collected. Standard cultural method was performed for *Salmonella* isolation. The serogroup of each isolate was determined by using polyvalent and monovalent *Salmonella* antisera. The occurrence and the level of antimicrobial resistance patterns in *Salmonella* isolates were determined by disk diffusion method. Fourteen *Salmonella* were isolated from 510 pooled samples (2.74%). There was an occurrence rate of 16.47% in 85 houses. Three isolates belonged to group D, 9 isolates belonged to group C, and 2 isolates did not belong to serogroups A to D. Thirteen different patterns of resistance were found. All of the isolates (100%) were sensitive to ceftriaxone and cefixime and resistant to nalidixic acid, flumequine, chlortetracycline, tylosin, erythromycin, and doxycycline. Multiple resistances to at least four antimicrobial drugs were observed in all isolates. The highest resistance rate was found against most prevalent drugs in poultry industry, reinforcing this hypothesis that wide usage of drugs results in the emergence of drug resistant bacteria.

Keywords: *Antimicrobial resistance, Broiler, Golestan province, Iran, Salmonella*