نشریه دامپزشکی
(پژوهش و سازندگی)
شماره ۱۰۱، زمستان ۱۳۹۲

ارزیابی الگوهای مقاومت در ایزوله های سالمونلایی جداشده از گله های مرغ گوشتی شهرستان آمل، ایران

• **ریما مرشد** (نویسنده مسئول)
عضو هیئت علمی پژوهشی گروه کشاورزی، منابع طبیعی و دامپزشکی؛
بنیاد دانشنامه نگاری ایران؛ وزارت علوم، تحقیقات و فناوری؛ تهران

تاریخ دریافت: مهرماه ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ماه ۱۳۹۲
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۱۱۲۷۸۰۳۱
Email: morshed@iecf.ir

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی شیوع و گستردگی الگوهای مقاومت و بویژه مقاومت چندگانهٔ ایزوله های سالمونلایی جداشده از گله های گوشتی شهرستان آمل در برابر آنتی بیوتیک های رایج در صنعت طیور ایران است. مقاومت آنتی بیوتیکی ۶۲ جدایه سالمونلا که از گله های مرغ گوشتی شهرستان آمل جدا شده بودند (۴۱ جدایه از این سالمونلاها متعلق به سروتیپ انتریتیدیس بودند) نسبت به ۷ آنتی بیوتیک تتراسایکلین، فلومکوئین، لینکواسپکتین، فلورفنیکل، نئومایسین، دانوفلوکساسین و انروفلوکساسین سنجیده شدند. در مجموع ۱۷ الگوی مقاومت پیدا شد که از این ۱۷ الگو، ۱۶ الگو در ۴۱ جدایهٔ سروتیپ انتریتیدیس نیز یافت شدند. پنج جدایه نسبت به هر ۷ آنتی بیوتیک مقاوم بودند و هیچ جدایه ای که نسبت به همه آنتی بیوتیک ها حساس باشد یافت نشد. بیشترین میزان مقاومت مربوط به آنتی بیوتیک فلومکوئین(۸۳/۸۷ درصد) و کمترین میزان مقاومت از آن دانوفلوکساسین (۳۰/۶۴درصد) بود. الگوی مقاومت نسبت به تتراسایکلین + فلومکوئین + لینکواسپکتین+ فلورفنیکل + انروفلوکساسین بیشترین الگوی یافت شده بود. الگوی مقاومت چندگانه در بین جدایه های سالمونلا ۹۶/۷۷ درصد بود و ۱۰۰ درصد سالمونلاها حداقل در برابر یک آنتی بیوتیک یا بیشتر از یک آنتی بیوتیک مقاوم بودند. افزایش سویه های سالمونلا با مقاومت بالا و نیز مقاومت چندگانهٔ بسیار بالا حاصل مصرف بی رویه و بدون برنامه آنتی بیوتیک ها در دامپزشکی بویژه صنعت طیور کشور است که علاوه بر صنعت مرغداری، از جنبه بهداشت عمومی و انتقال سویه های مقاوم به انسان از طریق زنجیره غذایی اهمیت فوق العاده ای می یابد. با بررسی و ارزیابی مداوم این مقاومت ها به خصوص در سطح ملی و منطقه ای و متعاقباً با استفاده از تدابیر خاص برای میزان و نوع مصرف آنتی بیوتیک ها در سطح گله ها می توان از شیوع و انتشار مقاومت تا حد زیادی جلوگیری کرد.

کلمات کلیدی: سالمونلا، مقاومت دارویی، مقاومت چندگانه، جوجه گوشتی، آمل

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 101 pp: 31-39

Resistance Patterns to Antibiotics in Salmonella Serovars Isolated from Broiler Flocks in Amol , Iran

By: Morshed, R. Members of Scientific Council, Agriculture and Veterinary Group, Iran Encyclopedia Compiling Foundation, Ministry of Science, Research and Technology, Tehran, Iran (Corresponding Author; Tel: +989111278031)

Received: October 2012 Accepted: May 2013

The aim of this study was to determine the occurrence and the level of antibiotic resistance patterns in 62 Salmonella isolates obtained from broiler chicken farms in Amol, Iran to common antibiotics in Iranian poultry industry. Antimicroibial resistance testing was performed using 7 useful antibiotics tetracycline, flumequin, lincospectin, florfenicol, neomycin, danofloxacin and enrofluxacin Foty one isolates were belonged to serotype Salmonella enteritidis. We found 17 different patterns of resistance in 62 salmonella isolates and 16 resistance patterns in 41 serotype *Salmonella enteritidis*. There were 5 resistant isolates to all antibiotics and there was not any sensitive isolate to all antibiotics. The highest and lowest percentage of resistance was found to flumacoin (83.87%) and danofluxacin (30.64%). The most frequent pattern of multiresistant isolates was tetracycline + flumequin + lincospectin + florfenicol + enrofluxacin. Multiple resistances were observed in 60 isolates (96.77%). All isolates were found to be resistant to one or more of the antibiotics tested. The high prevalence of resistance to antimicrobial agents found in this study might be attributed to uncontrolled use of antimicrobial agents in veterinary specially poultry industry in Iran that is serious implication for public health by transmitting resistant strains to human via food chain. Establishment of standardized monitoring systems for determining the occurrence of resistance among food animal for designing Salmonella control program in farms is needed.

Key words: Salmonella, Drug resistance, Multidrug resistance, Broiler,Amol

مقدمه

سالمونلا، از دسته مهمترین پاتوژن های با منشا غذایی و سالمونلوز، یکی از مهمترین بیماری های باکتریایی با منشا غذایی زئونوز در جهان به شمار می روند. سالمونلوز نه تنها سبب خسارات اقتصادی سنگین در طیور بویژه پرندگان جوان می شود بلکه به دلیل دارا بودن قابلیت انتقال از گوشت طیور به انسان از جنبه بهداشت عمومی نیز حائز اهمیت است (Uyttendaele و همکاران، ۱۹۹۸).

استفاده بی رویه و نادرست ترکیبات آنتی بیوتیکی در فیلدهای مختلف همچون پزشکی، دامپزشکی و کشاورزی به صورت تصادفی و کمتر از مقادیر لازم و یا به عنوان مکمل های پیش گیری کننده یا محرک رشد در جیره غذایی حیواناتی که مصرف غذایی برای انسان دارند باعث ایجاد مقاومت ضدمیکروبی در میان پاتوژن های باکتریایی و میکروفلور اندوژن شده است (WHO, ۲۰۰۰). افزایش شیوع مقاومت بین میکروارگانیسم ها یک مشکل جدی در حال افزایش است که عواقب خطیری در درمان و پیش گیری از بیماری های عفونی هم در انسانها و هم در حیوانات دارد (EC,۱۹۹۹). مطالعات اخیر از کشورهای مختلف دنیا حاکی از ایجاد الگوهای مقاومت چندگانه و افزایش آنها در سروتیپ های سالمونلای جدا شده از غذاهای با منشا حیوانی است (Holt و همکاران.، ۲۰۰۷; Prats و همکاران، ۲۰۰۰; Winokur و همکاران.، ۲۰۰۰). موفقیت برنامه کنترل سالمونلا کاملاً به انتخاب داروی درمانی وابسته است (Rimler,۱۹۹۷ و Glisson). استفاده نابخردانه از آنتی بیوتیک ها بدون انجام آنتی بیوگرام منجر به گسترش مقاومت در بین سویه های باکتریایی و ناکارا شدن برنامه های کنترلی می شود. اجباری نمودن ارزیابی متناوب و مرتب الگوهای مقاومت یا حساسیت سرووارهای شایع سالمونلا در یک منطقه، کارآمدی برنامه های کنترلی را در پی خواهد داشت. علاوه بر این وجود باکتری های مقاوم در حیواناتی که مصرف انسانی دارند مانند طیور با انتقال ژن های مقاومت به جمعیت باکتری های انسانی از طریق چرخه غذایی، تاثیر داروهای انسانی را نیز تهدید می کند (Smith و همکاران، ۲۰۰۲). در کشورهای اروپایی استان ها موظفند مقاومت آنتی بیوتیکی سالمونلا و کمپیلوباکتر را در حیوانات و غذا بررسی و گزارش کنند (EFSA, ۲۰۱۰). درحالیکه در کشور ما درباره الگوهای مقاومت سالمونلاها در گله های طیور مناطق مختلف برخلاف تصورات موجود اطلاعات محدودی در دسترس است و بررسی این الگوها در استان های مختلف به غیراز تهران و بویژه قطب های پرورش طیور و در گله های طیور گوشتی که مصرف انسانی دارند و منبع اصلی سالمونلوز در انسان به شمار می روند امری ضروری به نظر می رسد. یکی از مهمترین قطب های این صنعت، استان مازندران با تولید بیش از ۳۰ درصد گوشت سفید کشور و بویژه شهرستان آمل در این استان است که به تنهایی ۳۸ درصد صنعت طیور استان را در اختیار دارد (اداره کل دامپزشکی استان مازندران). به عبارتی استان مازندران و

به ویژه شهرستان آمل از مهمترین مراکز تولید جوجه یک روزه و گوشت مرغ در کشور به شمار می‌روند.

مصرف گوشت و تخم مرغ طیور که بعنوان بزرگترین منبع سالمونلاها شناخته شده‌اند منشاء بسیاری از مسمومیت‌های غذائی انسان به شمار می‌روند. لاشه طیور اغلب در مواقع آماده شدن برای طبخ به علت آلوده شدن با محتویات روده، آلوده به سالمونلا می شود و در صورتیکه عامل این آلودگی، باکتری‌های حاوی ژن‌های مقاومت باشند و به انسان انتقال پیدا کنند قطعاً در فرآیند درمانی اختلال ایجاد کرده و به داروهای موجود پاسخ نمی‌دهند. امروزه این مسئله به یکی از دغدغه‌های جامعه درمانی کشور تبدیل شده است. هدف از انجام مطالعه کنونی نیز شناسایی سالمونلاهای مقاوم و بررسی الگوهای مقاومت و مقاومت چندگانه آنها در گله های طیور گوشتی شهرستان آمل بوده است تا از این رهگذر زمینه برای پایش‌های بعدی سالمونلایی و مقایسه تغییرات الگوهای مقاومت، در طیور این منطقه در طی زمان و نیز مقایسه آن با سایر مناطق کشور فراهم شده و در نهایت به تدوین برنامه‌های پایش و کنترل سالمونلا در کشور منتج گردد.

مواد و روش کار

جدایه های سالمونلایی

در این مطالعه از ۶۲ نمونه سالمونلای جداشده از مزارع گوشتی شهرستان آمل در طی سال های ۱۳۹۰-۱۳۸۸ که قبلاً مورد مطالعه سرولوژیک قرار گرفته بودند استفاده شده است. این ۶۲ جدایه سالمونلا از ۲۶ فارم گوشتی شهرستان آمل در سنین مختلف که در مجموع دارای ۳۹ سالن بوده اند بدست آمده است. روش نمونه برداری به این صورت بوده است: در گله های گوشتی یک روزه حداقل ۱۰ نمونه روزنامه بستر از هر سالن ۵۰۰۰تایی در داخل لوله حاوی محیط کشت سلنیت سیستئین قرار داده شده یا از ۲۵ نمونه ازکیسه زرده جوجه ها پس از مخلوط کردن هر ۵ نمونه، در آزمایشگاه کشت به عمل آمده است؛ در گله های گوشتی بالای یک هفته حداقل ۶۰ نمونه مدفوع تازه (حداقل یک گرم) از هر سالن۵۰۰۰ تایی اخذ شده که هر ۱۰ نمونه با هم مخلوط شده و در داخل لوله حاوی محیط کشت سلنیت سیستئین قرار داده شدند؛ در صورت وجود تلفات، از کبد و سکوم لاشه ها نیز نمونه گیری به عمل آمد که هر ۲ یا ۳ نمونه پس از پول شدن جهت کشت باکتریایی به آزمایشگاه ارسال شدند و پس از کشت در محیط غنی کننده سلنیت سیستئین به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه و محیط‌های جامد انتخابی مک کانکی آگار و سالمونلا-شیگلا آگار به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه و انتقال کلونی های مشکوک به محیط‌های افتراقی از قبیل TSB, TSI, simon's citrate, MR VPو اوره، نمونه های سالمونلایی جدا شده و در فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد و ازت مایع نگهداری شدند. لازم به ذکر است که گروه سرمی این جدایه ها قبلا با کمک آنتی‌سرم‌های پلی‌والان شناسایی شده است به این ترتیب که ۵۰ جدایه گروه D، ۱۱ جدایه گروه C و یک جدایه نامعلوم بوده و نیز ۴۱ جدایه از ۵۰ جدایهٔ گروه D، متعلق به سروتیپ انتریتیدیس بودند (جدول ۱).

تعیین الگوی مقاومت دارویی

به منظور تعیین الگوی مقاومت دارویی و میزان حساسیت ۶۲ جدایه سالمونلا روش کیفی آزمایش دیسک دیفوزیون به روش استاندارد کربی بائر انجام شد(CLSI, ۲۰۰۶). محیط کشت انتخابی در این روش مولر-هینتون(Merck, Ger-many) بود و از سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند برای کشت استفاده شد. دیسک های مورداستفاده در این پژوهش مربوط به شرکت پادتن طب به ترتیب با غلظت های زیر بر حسب میکروگرم بود: تتراسایکلین(۳۰)، فلومکوئین(۳۰)، نئومایسین(۳۰)، لینکواسپکتین(۱۵/۲۰۰)، فلورفنیکل(۳۰)، دانوفلوکساسین(۱۰) و انروفلوکساسین(۵).

جدایه های سالمونلایی از محیط ذخیره TSB به روی محیط مک کانکی کشت داده شدند و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ۵-۴ پرگنه تک سالمونلا از محیط مک کانکی برداشت شده و به یک لوله آزمایش حاوی TSB انتقال داده شدند. محیط های مایع تلقیح شده به مدت ۳-۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد تا مشاهده کدورت منطبق با کدورت نیم مک فارلند انکوبه شدند. پس از آن با یک سوآب استریل از سوسپانسیون باکتریایی روی محیط مولر هینتون کشت خطی صورت گرفت و بعداز ۵ دقیقه به کمک پنس استریل، دیسک های آنتی بیوگرام بر روی سطح محیط مولر هینتون تلقیح شده قرار داده شد. بعد از گذشت مدت زمان ۱۸-۱۶ ساعت از انکوباسیونِ محیط ها در وضعیت وارونه در ۳۵ درجه سانتیگراد، قطر هاله عدمِ رشد هر آنتی بیوتیک به کمک خط کش اندازه گیری شده و با مقایسه با استاندارد جهانی (CLSI Clinical and Laboratory Standard Institute) به صورت حساس ، مقاوم و نیمه حساس تفسیر گردید.

نتایج

نتیجه بررسی مقاومت دارویی سالمونلاها نسبت به ۷ آنتی بیوتیک پرمصرف در درمان گله های گوشتی، وجود ۱۷ الگوی مختلف در میان ۶۲ جدایه بوده است (جدول ۲). همه ۱۷ الگوی مقاومت در ۵۰ جدایهٔ متعلق به گروه D و ۶ تا از این ۱۷ الگوی مقاومت در ۱۱ جدایهٔ متعلق به گروه C یافت شدند. ۴۱ جدایه *S. entritidis* ۱۶ الگو از ۱۷ الگو را نشان دادند.

بیشترین مقاومت دارویی و کمترین مقاومت دارویی به ترتیب از آنِ فلومکوئین (۸۳/۸۷ درصد) و دانوفلوکساسین (۳۰/۶۴ درصد) بود. بعد از فلومکوئین، تتراسایکلین با ۷۲/۵۸ درصد و نئومایسین با ۶۹/۳۵ درصد جلودار مقاومت باکتریایی بودند(جدول ۳). پنج جدایه که همگی گروه D بودند نسبت به هر ۷ آنتی بیوتیک مورد بررسی مقاومت نشان دادند و هیچ جدایه ای که نسبت به همه آنتی بیوتیک ها حساس باشد یافت نشد.

جدول ۱- الگوهای مقاومت دارویی ۶۲ جدایه سالمونلا در برابر ۷ آنتی بیوتیک پرمصرف در طیور

شماره جدایه	گروه سرمی	محل جداسازی	الگوی مقاومت	شماره جدایه	گروه سرمی	محل جداسازی	الگوی مقاومت
۱	C	مدفوع	TE,FM,LP, N,NFX	۳۲	D(SE)	مدفوع	TE,FM,LP,NFX
۲	D(SE)	روزنامه بستر	TE,FM,LP,FF,NFX	۳۳	D(SE)	کیسه زرده	TE,FM,LP,FF,NFX
۳	D	مدفوع	LP,FF,N	۳۴	D(SE)	روزنامه بستر	LP,FF,N
۴	D(SE)	مدفوع	TE,FM,LP,DFX,FF	۳۵	D(SE)	روزنامه بستر	TE,FM,DFX,FF,N
۵	D	کیسه زرده	TE,FM,DFX,FF,N	۳۶	D(SE)	کیسه زرده	TE,N,NFX
۶	D(SE)	مدفوع	FM,N	۳۷	D(SE)	کیسه زرده	TE,FM,LP,DFX,FF,N,NFX
۷	D	روزنامه بستر	TE	۳۸	D(SE)	مدفوع	TE,FM
۸	D(SE)	مدفوع	TE,FM,LP,N	۳۹	D(SE)	مدفوع	TE,FM,DFX,N
۹	D(SE)	روزنامه بستر	TE,FM	۴۰	D(SE)	مدفوع	TE,FM,LP,N
۱۰	C	مدفوع	TE,FM,DFX,FF,N	۴۱	D(SE)	کیسه زرده	TE,FM,LP,N
۱۱	D(SE)	مدفوع	FM,N	۴۲	D(SE)	کیسه زرده	TE,FM,LP,DFX,FF,N,NFX
۱۲	D(SE)	کیسه زرده	TE,FM,LP,DFX,N,NFX	۴۳	D(SE)	کیسه زرده	TE,FM,LP,DFX,N,NFX
۱۳	C	مدفوع	TE,FM,LP,N,NFX	۴۴	D	روزنامه بستر	TE
۱۴	D	مدفوع	LP,FF,N	۴۵	D(SE)	مدفوع	TE,FM,LP,N
۱۵	D(SE)	کیسه زرده	FM,NFX	۴۶	C	مدفوع	TE,FM,LP,FF,NFX
۱۶	نامعلوم	کبد و سکوم	TE,FM,DFX,N	۴۷	C	کبد و سکوم	TE,FM,DFX,FF,N
۱۷	D(SE)	مدفوع	TE,FM,LP,DFX,FF,N,NFX	۴۸	C	مدفوع	FM,N
۱۸	D(SE)	کیسه زرده	TE,FM,DFX,FF,N	۴۹	C	کبد و سکوم	FM,NFX
۱۹	D(SE)	کیسه زرده	TE,FM,LP,FF,NFX	۵۰	D(SE)	کبد و سکوم	LP,FF,N
۲۰	C	مدفوع	TE,FM,LP,FF,NFX	۵۱	D(SE)	روزنامه بستر	FM,FF,N,NFX
۲۱	D	کبد و سکوم	TE,FM,LP,FF,NFX	۵۲	D(SE)	مدفوع	TE,FM,LP,NFX
۲۲	D	روزنامه بستر	TE,FM,LP,N	۵۳	C	مدفوع	LP,FF,N
۲۳	D(SE)	کیسه زرده	TE,FM,LP,N,NFX	۵۴	D(SE)	روزنامه بستر	TE,FM,LP,FF,NFX
۲۴	D(SE)	کیسه زرده	TE,DFX,NFX	۵۵	D(SE)	کیسه زرده	FM,N
۲۵	C	مدفوع	TE,FM,DFX,FF,N	۵۶	D(SE)	کبد و سکوم	TE,FM,LP,FF,NFX
۲۶	D(SE)	مدفوع	TE,FM,LP,FF,N,NFX	۵۷	D(SE)	کبد و سکوم	TE,FM,LP,N
۲۷	D(SE)	کبد و سکوم	TE,FM,LP,DFX,FF,N,NFX	۵۸	D(SE)	کیسه زرده	FM,N
۲۸	D	مدفوع	LP,FF,N	۵۹	D(SE)	مدفوع	FM,FF,N,NFX
۲۹	D(SE)	کیسه زرده	TE,FM,DFX,N	۶۰	D(SE)	مدفوع	TE,FM,DFX,FF,N
۳۰	D	کبد و سکوم	FM,NFX	۶۱	D(SE)	مدفوع	FM,N
۳۱	D(SE)	مدفوع	TE,FM,DFX,N	۶۲	D(SE)	مدفوع	TE,FM,LP,FF,NFX

جدول ۲- درصد الگوهای مقاومت دارویی در بین ۶۲ جدایه سالمونلا

الگوی	مقاوم به	تعداد جدایه (درصد)
۱	TE,FM,LP,DFX,FF,N,NFX	۵ (۸/۰۶)
۲	TE,DFX,NFX	۱ (۱/۶۱)
۳	TE	۲ (۳/۲۲)
۴	TE,FM	۲ (۳/۲۲)
۵	FM,N	۶ (۹/۶۷)
۶	TE,FM,LP,N	۶ (۹/۶۷)
۷	TE,FM,LP,N,NFX	۳ (۴/۸۳)
۸	TE,FM,LP,FF,N,NFX	۱ (۱/۶۱)
۹	TE,FM,LP,DFX,N,NFX	۲ (۳/۲۲)
۱۰	FM,NFX	۳ (۴/۸۳)
۱۱	TE,FM,LP,NFX	۲ (۳/۲۲)
۱۲	FM,FF,N,NFX	۲ (۳/۲۲)
۱۳	TE,N,NFX	۱ (۱/۶۱)
۱۴	TE,FM,DFX,N	۴ (۶/۴۵)
۱۵	TE,FM,DFX,FF,N	۷ (۱۱/۲۹)
۱۶	LP,FF,N	۶ (۹/۶۷)
۱۷	TE,FM,LP,FF,NFX	۹ (۱۴/۵۱)

جدول ۳- درصد مقاومت دارویی ۶۲ جدایه سالمونلا در برابر ۷ آنتی بیوتیک پرمصرف در طیور

ترکیب آنتی باکتریال	تعداد جدایه های مقاوم سالمونلا	درصد جدایه های مقاوم سالمونلا	تعداد جدایه های مقاوم سالمونلا انتریتیدیس	درصد جدایه های مقاوم سالمونلا انتریتیدیس
تتراسایکلین	۴۵	۷۲/۵۸	۳۲	۷۸/۰۴
فلومکوئین	۵۲	۸۳/۸۷	۳۷	۹۰/۲۴
لینکواسپکتین	۳۴	۵۴/۸۳	۲۴	۵۸/۵۳
دانوفلوکساسین	۱۹	۳۰/۶۴	۱۴	۳۴/۱۴
فلورفنیکل	۳۰	۴۸/۳۸	۱۹	۴۶/۳۴
نئومایسین	۴۳	۶۹/۳۵	۲۹	۷۰/۷۳
انروفلوکساسین	۲۹	۴۶/۷۷	۲۲	۵۳/۶۵

جدول۴- الگوی مقاومت چندگانه بین ۶۲ جدایه سالمونلا

تعداد ترکیب آنتی باکتریال	تعداد جدایه های مقاوم سالمونلا	درصد جدایه های مقاوم سالمونلا	تعداد جدایه های مقاوم سالمونلا انتریتیدیس	درصد جدایه های مقاوم سالمونلا انتریتیدیس
۱	۶۲	۱۰۰	۴۱	۱۰۰
۱<	۶۰	۹۶/۷۷	۴۱	۱۰۰
۲<	۴۹	۷۹/۰۳	۳۴	۸۲/۹۲
۳<	۴۱	۶۶/۱۲	۳۱	۷۵/۶۰
۴<	۲۷	۴۳/۵۴	۱۹	۴۶/۳۴
۵<	۸	۱۲/۹۰	۹	۲۱/۹۵
۶<	۵	۸/۰۶	۵	۱۲/۱۹

میزان ۱۰۰ درصد جدایه های سالمونلا حداقل نسبت به یک آنتی بیوتیک مقاومت داشتند. در این مطالعه ۶۰ جدایه از ۶۲ جدایه سالمونلا (۹۶/۷۷ درصد) دارای مقاومت چندگانه بودند، به عبارتی نسبت به دو یا تعداد بیشتر آنتی بیوتیک، مقاومت همزمان داشتند. میزان مقاومت چندگانه در جدایه های *S. entritidis* ۱۰۰درصد بود یعنی تمام جدایه های *S. entritidis* دارای مقاومت همزمان نسبت به حداقل دو آنتی بیوتیک مختلف بودند. الگوی مقاومت چندگانه جدایه ها نسبت به ترکیبات آنتی بیوتیک در جدول ۴ آمده است.

بحث

مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سالمونلا ها در دو دهه گذشته مورد توجه قرار گرفته است و علت مقاومت را مرتبط با مصرف دارو در دام‌ها می دانند. مرگ و میر در اپیدمی‌های ناشی از سویه های مقاوم نسبت به آنتی بیوتیک افزایش یافته است که احتمالاً به علت تأخیر در ارائه درمان و یا ناکافی بودن آن است. ایجاد مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک در بین منابع سالمونلای غیرتیفوییدی پدیده ای در حال فزونی است. اکتساب آن در پی برخورد با حیوانات مزارع و محصولات گوشتی گوناگون رخ می‌دهد. ظهور سویه مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های متداول منجر به عفونت های سالمونلایی در حیوانات منبع غذایی گردیده است که کنترل آن مشکل و به عنوان یک معضل زئونوتیک مطرح است.

در پژوهش حاضر، الگوی مقاومت و نیز مقاومت چندگانه ۶۲ جدایه سالمونلا که در پژوهش قبلی خصوصیات باکتریولوژیکی آنها مشخص شده بود مورد ارزیابی قرار گرفته است. از ۶۲ جدایه سالمونلا ۵۰ جدایه گروه D و ۱۱ جدایه گروه C و یک جدایه نامعلوم بود. چهل و یک جدایه از ۵۰ جدایهٔ گروه D، متعلق به سروتیپ انتریتیدیس بودند که در دهه اخیر، مسئول بیشترین درصد ابتلا به عفونت‌های انسانی سالمونلا در ایران بوده است (میرمهدوی و همکاران، ۱۳۸۱؛ اشراقی و همکاران، ۱۳۸۸). بدین ترتیب، شناسایی *S. entritidis* به عنوان سروتیپ غالب غیرتیفوئیدی در طیور و انسان خود موید این ادعا است که منبع عفونت‌های انسانی سالمونلا فرآورده‌های طیوری هستند. سالمونلاها از جمله باکتری‌هایی هستند که قادرند از راه های مختلف، مقاومت در مقابل ترکیبات آنتی‌باکتریال را کسب و به یکدیگر و نیز به سایر باکتری‌های روده‌ای منتقل کنند و سبب بسیاری از اپیدمی‌ها شوند. مصرف بی‌رویه آنتی بیوتیک ها در انسان، صنایع کشاورزی، دامپزشکی بویژه دام و طیوری که برای تامین غذای انسان پرورش داده می‌شوند باعث افزایش الگوهای مقاومت وظهور سویه هایی از سالمونلاها با مقاومت چندگانه شده است و آن را به یک مشکل اپیدمیولوژیک در سراسر دنیا تبدیل نموده است (Threlfall۲۰۰۲ و Angulo و همکاران; ۲۰۰۰). ایجاد مقاومت دارویی در سویه‌های غیرتیفوئیدی که شیوع بیشتری در طبیعت و حیوانات دارند و قابل سرایت به انسان هستند حائز اهمیت بیشتری است.

در مطالعه کنونی بیشترین میزان مقاومت دارویی به ترتیب از آن فلومکوئین، تتراسایکلین، نئومایسین و کمترین مقاومت دارویی مربوط به دانوفلوکساسین، انروفلوکساسین و فلورفنیکل بود که به وضوح بیانگر ارتباط مستقیم مقاومت دارویی با گستردگی مصرف دارو است زیرا به نظر می رسد آنتی بیوتیک‌های جدیدتر در مقایسه با داروهایی که دوره مصرف طولانی‌تری داشته‌اند مقاومت کمتری را نشان می دهند. مقاومت نسبت به فلومکوئین و نئومایسین با توجه به مصرف قابل توجه آن در درمان طیور قابل پیش بینی است، مقاومت به تتراسایکلین نیز با توجه به مصرف بدون رویه آن در جیره غذایی طیور کاملاً محتمل به نظر می‌رسید. اما به نظر می‌رسد سالمونلاها نسبت به کینولون‌ها حساس هستند و می‌توان فعلاً از آنها برای درمان بیماران سود جست اما مقاومت نسبت به کینولون‌ها نیز در حال افزایش است.

در مجموع ۱۷ الگوی مختلف در میان ۶۲ سالمونلای جدا شده از شهرستان آمل یافت شد که الگوی TE,FM,LP,FF,NFX بیشترین فراوانی را داشت(۱۴/۵۱درصد). پنج جدایه در مقابل همه آنتی بیوتیک های مورد استفاده مقاوم بودند. هیچ جدایه‌ای نسبت به هر ۷ آنتی بیوتیک ها مورد مطالعه حساس نبود که خود زنگ خطری برای افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی است. الگوی مقاومت دارویی در مناطق مختلف و مقاطع زمانی متفاوت حتی در یک ناحیه متفاوت است که می تواند ناشی ازتفاوت در نوع، میزان و تداوم مصرف داروهای آنتی‌باکتریال باشد. بنابراین استفاده از آنتی بیوتیک‌ها با توجه به الگوی مقاومت دارویی دیگر مناطق یا کشور ها جایز نیست چرا که بنا به زمان و مکان این الگوها فرق می کند و بررسی الگوهای مقاومت در هر منطقه به صورت دوره‌ای توصیه می‌شود.

در مطالعه مرشد و پیغمبری در سال ۱۳۸۵، ۲۲ الگوی مختلف مقاومت در مقابل ۳۰ آنتی بیوتیک در بین ۳۵ جدایه طیوری *S. entritidis* گزارش شد که بیشترین میزان مقاومت از آن فلومکوئین، فورازولیدون، نالیدیکسیک اسید و تتراسایکلین بود (Morshed و Peighambari ,۲۰۱۰) در مطالعه دیگری که بوسیله اکبریان و همکاران در سال۱۳۸۷ انجام پذیرفت، ۷۱ الگوی مقاومت در مقابل ۳۰ آنتی بیوتیک بین ۱۲۳ جدایه طیوری سالمونلا و ۳۱ الگو در برابر ۹ آنتی بیوتیک پرمصرف در صنعت طیور پیدا شد و بیشترین مقاومت نسبت به آنتی یوتیک های تتراسایکلین، فورازولیدون، نالیدیکسیک اسید و لینکواسپکتین و فلومکوئین گزارش شد.

همانطور که مشاهده می‌شود در این دو مطالعه نیز فلومکوئین و تتراسایکلین از مقاومت بالایی برخوردار بودند که با نتایج ما همخوانی دارد. در مطالعه ای در هند از ۲۷ سالمونلای جدا شده از تخم مرغ ها ۲۴ الگوی مقاومت در مقابل ۲۱ آنتی بیوتیک گزارش شد (Singh و همکاران , ۲۰۱۰). در اسپانیا در بررسی مقاومت ۱۳۳ ایزوله سالمونلای جداشده از مرغ های گوشتی در کشتارگاه ها نسبت به ۱۹ آنتی بیوتیک، بالاترین مقاومت دارویی مربوط به سولفادیازین، نئومایسین، تتراسایکلین و استرپتومایسین بود و ۲۳ الگوی مقاومت بین ۱۰۶ ایزوله سالمونلا انتریتیدیس از بین ۱۳۳ ایزوله سالمونلا یافت شد. همه ایزوله ها حداقل در برابر یک آنتی بیوتیک مقاوم بودند(Carraminana و همکاران, ۲۰۰۴). در تحقیق دیگری که بر روی ایزوله های سالمونلایی جدا شده از لاشه های مرغ های گوشتی در سال۱۹۹۳ و ۲۰۰۶ در اسپانیا صورت پذیرفت به ترتیب ۹ الگوی مقاومت بین ۴۰ ایزوله و ۱۳ الگوی مقاومت بین ۱۹ ایزوله سالمونلا در برابر ۱۵ آنتی بیوتیک یافت شد و بالاترین میزان مقاومت از آن ریفامپین، اریترومایسین و نالیدیکسیک اسید بود (Alvarez-Fernandez و همکاران, ۲۰۱۲). در مطالعه مشابهی در ترکیه ۱۲ الگوی مقاومت در برابر ۱۴ آنتی بیوتیک، بین ۶۸ سالمونلای جدا شده از لاشه های طیور گوشتی یافت شد. مقاومت در مقابل پنی سیلین در ۱۰۰ درصد ایزوله ها وجود داشت. اکساسیلین، کلیندامایسین و ونکومایسین در رتبه های بعدی بودند و مقاومت در مقابل تتراسایکلین، نئومایسین و استرپتومایسین نیز به طور متوسط وجود داشت (Yildirim و همکاران , ۲۰۱۱).

درسال ۱۹۸۹ اولین سالمونلای مقاوم به چندین دارو به وجود آمد که نسبت به کلرامفنیکل، آمپی سیلین، استرپتومایسین، سولفانامیدها و تتراسیکلین مقاومت نشان داد و با افزایش طی دو دهه در ایزوله های سالمونلای با منشا غذایی به یک مشکل اساسی برای سلامت جامعه بدل شد که نیاز به پایش دائمی و احتیاط در مصرف آنتی بیوتیک ها دارد. در تحقیق ما، تعداد ۶۰ جدایه از ۶۲ جدایه سالمونلا و به عبارتی ۹۶/۷۷ درصد دارای مقاومت چندگانه نسبت به دو یا تعداد بیشتری آنتی بیوتیک بودند. همه ۴۱ جدایه سالمونلا انتریتیدیس(۱۰۰ درصد) مقاومت چندگانه را نشان دادند. در مطالعه سال ۱۳۸۵ میزان مقاومت چندگانه ۳۵ جدایه طیوری سالمونلا انتریتیدیس ۷۲/۴۱ درصد و در مطالعه ۱۳۸۷، مقاومت چندگانه ۱۲۳ جدایه سالمونلا ۸۱ درصد بوده است. آنچه که قابل تامل است افزایش روزافزون مقاومت چندگانه سالمونلاهای طیوری در طی سالیان اخیر در کشور ماست که با بسیاری از تحقیقات صورت گرفته در دنیا مطابقت دارد (Antunes و همکاران, ۲۰۰۳; Musgrove, ۲۰۰۶; Zhao و همکاران, ۲۰۰۵; Carraminana et al., ۲۰۰۴; Dias de Oliveira و همکاران, ۲۰۰۵; Shrestha و همکاران, ۲۰۱۰; Miranda و همکاران, ۲۰۰۹; Singh ;۲۰۱۰ ,Yang و همکاران, ۲۰۱۰; Yildirim و همکاران., ۲۰۱۱; Alvarez-Fernandez و همکاران, ۲۰۱۲). این یافته ها موید این نکته هستند که طیور مهمترین منبع سالمونلاهای دارای مقاومت چندگانه بوده و دستیابی به درمان آنتی بیوتیکی موفق در انسان برای سالمونلوزی که بوسیله سویه های با منشا طیوری ایجاد شده باشد دشوار است.

مطالعه حاضر شیوع بالایی از مقاومت آنتی بیوتیکی را در میان گونه های سالمونلای جدا شده از گله های طیور گوشتی شهرستان آمل نشان داد که می تواند ناشی از استفاده بدون کنترل عوامل ضدباکتریایی به عنوان محرک رشد و دسترسی نامحدود مرغداران به آنتی بیوتیک ها در درمان عفونت های باکتریایی و حتی در مواردی تجویز بدون پایه و اساس دامپزشکان بدون انجام آزمایش‌های آنتی بیوگرام باشد. از سویی دیگر در کشور ما از جمله منطقه مورد بررسی، حتی به قانون قطع دارو قبل از کشتار جهت حذف بقایای دارویی از گوشت نیز بی‌توجهی می‌شود. به نظر می‌رسد سازمان دامپزشکی کشور به عنوان ارگان حاکم باید برنامه‌های مدونی را برای مهار سالمونلاهای غیرتیفوئیدی براساس پایش‌های وسیع در همه استان‌های کشور برای شناسایی سروتیپ‌های غالب و الگوهای مقاومت آنها طراحی نماید و پشتوانه اجرایی آن را با نظارت دقیق فراهم آورد. این کار در مرحله نخست جز با پایه گذاری اجباری سیستم های غربالگری استاندارد به صورت دوره ای برای تعیین شیوع مقاومت در گله های طیوری و فرآورده های آنها در هر منطقه امکان‌پذیر نیست. استفاده از جوجه‌های عاری از سالمونلاهای غیرتیفوئیدی برای پرورش و پایش گله‌های مادر، رعایت دقیق

نکات بیوسکوریتی در مرغداری ها و استفاده از فلور طبیعی روده برای حذف رقابتی سالمونلاها و نیز استفاده از پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها از جمله راهکارهای کلی کاهش آلودگی سالمونلایی به شمار می‌روند که می‌توان از آنها در برنامه کنترلی بهره برد. به خاطر داشـــته باشیم که پس از یک مرحله آغازین وقوع مقاومت که البته سرعت آن متغیر است، میزان مقاومت بســـته به فشار ناشی از گزینش، در یک سطح تثبیت می شـــود. در شرایط مســـاعد، یعنی در صورت کاهش فشار گزینش، میزان مقاومت به طور پیشرونده ای کاهش نشان می دهد. کاهش فشار گزینش به معنای توقف مصرف تمامی آنتی بیوتیک ها نیســـت، چرا که همواره طیور بیمار و نیازمند درمان در گله یافت می شوند اما اســـتفاده محتاطانه ترکیبات ضدمیکروبی بر اساس آزمایش های آنتی بیوگرام و شناســـایی دوزهای مناسب، به حفظ این داروهای با ارزش در جمعیت های حیوانی و انسانی کمک خواهد کرد.

منابع مورد استفاده

۱- اشراقی، ســـید سعید؛ ســـلطان دلال، محمدمهدی؛ فرد صانعی، فاطمه؛ زهرایی صالحی، تقی؛ رنجبـــر، رضا؛ نیک منش، بهرام؛ امین هراتی، فرزانه؛ عبدالصمدی، زهرا؛ اکبری، ابوالفضل (۱۳۸۸). سالمونلا انتریتیدیس و الگوی مقاومت آنتـــی بیوتیکی آن: مطالعه در ۱۹۵۰ کودک مبتلا به اسهال. مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دوره ۶۷، شماره ۱۲، صفحه ۸۷۶-۸۸۲.

۲- عبداللهـــی، عبـــاس؛ نجفی پور، ســـهراب؛ کوهپایه، ســـیدامین؛ مشکی باف، محمدحســـن؛ نقدی، مجید (۱۳۹۰). سالمونال انتریکا: ســـروتایپینگ، الگوی مقاومت دارویی و بتالاکتامازهای وسیع اطیف. مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا، سال اول، شماره ۱، صفحه ۳۸-۴۴.

۳- مرشد، ریما. مطالعه باکتریولوژیکی گله‌های مرغ گوشتی شهرستان آمل از نظر آلودگی به سالمونلا (۱۳۹۱). پژوهش و سازندگی. شماره ۹۷، صفحه ۲۳-۲۸.

۴- میرمهـــدوی، فخرالســـادات؛ حکیمی، شـــهلا؛ قاضی ســـعیدی ، کیومرث (۱۳۸۱) .بررســـی الگوی مقاومت دارویی سالمونلاهای جدا شـــده از مراکز درمانی شـــهر تهران. مجله پزشکی ارومیه، شماره ۲، صفحه ۱۵۴- ۱۶۳.

1-Álvarez-Fernández, E., Alonso-Calleja, C., García-Fernández, C., Capita, R. (2012) Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella serotypes isolated from poultry in Spain: Comparison between 1993 and 2006. *International Journal of Food Microbiology*, 153, 281-287.

2- Angulo FJ, Johnson KR, Tauxe RV, Cohen ML. (2000) Origins and consequences of antimicrobial-resistant nontyphoidal Salmonella: implications for the use of fluoroquinolones in food animals. *Microb Drug Resist*, 6(1):77-83.

3- Antunes, P., Reu, C., Sousa, J.C., Peixe, L., Pestana, N. (2003). Incidence of Salmonella from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. *International Journal of Food Microbiology*, 82, 97–103.

4- Carramiñana, J.J., Rota, C., Agustín, I., Herrera, A. (2004) High prevalence of multiple resistance to antibiotics in Salmonella serovars isolated from a poultry slaughterhouse in Spain. *Veterinary Microbiology,* 104, 133–139.

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

6- Dias de Oliveira, S., Siqueira Flores, F., Ruschel dos Santos, L., Brandelli, A. (2005) Antimicrobial resistance in Salmonella enteritidis strains isolated from broiler carcasses, food, human and poultry-related samples. *International Journal of Food Microbiology*, 97, 297–305.

7- European Commission (EC) (1999) Opinion of the Scientific Steering Committee on Antimicrobial Resistance. Directorate-General XXIV, Consumer Policy and Consumer Health Protection Directorate B-Scientific Health Opinions Unit B3-Management of scientific committees II, pp.7–8, 34.

8- EFSA, (2010) The Community Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from animals and food in the European Union in 2008. *EFSA Journal* 8, 1658–1918 Available at: http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/ doc/1658.pdf Date last accessed: May 4, 2011.

9- Holt, K. E., Thomson, N. R., Wain, J., Phan, M. D., Nair, S., Hasan, R., et al. (2007) Multidrug-resistant Salmonella enterica serovar Paratyphi A harbors IncHI1 plasmids similar to those found in serovar typhi. *Journal of Bacteriology*, 189, 4257−4264.

10- Miranda, J.M., Mondragón, A.C., Martínez, B., Guarddon, M., Rodríguez, J.A. (2009) Prevalence and antimicrobial resistance patterns of Salmonella from different raw foods in Mexico. *Journal of Food Protection*, 72, 966–971.

11- Morshed, R. and Peighambari, S. M. (2012) Drug resistance, plasmid profile, and random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis o f Iranian isolates of *Salmonella Enteritidis. New Microbiologica*, 33:47-56.

12- Musgrove, M. T., Jones, D. R., Northcutt, J. K., Cox, N. A., Harrison, M. A., Fedorka-Cray, P. J., et al. (2006) Antimicrobial resistance in Salmonella and *E. coli* isolated from commercial shell eggs. *Poultry Science*, 85, 1665−1669.

13- Prats, G., Mirelis, B., Lovet, T., Munoz, C., Miro, E., & Navarro, F. (2000) Antibiotic resistance trends in enteropathogenic bacteria isolated in 1985–1987 and 1995– 1998 in Barcelona. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 44, 1140−1145.

14- Rimler, R. B., & Glisson, J. R. (1997) *Fowl cholera*. In B. W. Calnet, H. J. Barnes, C. W. L. R. Medougald, & Y.M. Saif (Eds.), Diseases of poultry (pp. 143−159)., 10th edn. Ames, IA: Iowa State University Press.

15- Shrestha, A., Regmi, P., Dutta, R.K., Khanal, D.R., Aryal, S.R., Thakur, R.P., Karki, D., Singh, U.M. (2010). First report on antimicrobial resistance of Salmonella isolated from poultry in Nepal. *Veterinary Microbiology,* 144, 522–524.

16- Singh, S., Yadav, A. S., Singh, S. M., & Bharti, P. (2010) Prevalence of Salmonella in chicken eggs collected from poultry frms and marketing channels and their antimicrobial resistance. *Food Research International*, 43, 2017−2030.

17- Smith, D. L., Harris, A. D., Johnson, J. A., Silbergeld, E. K., & Morris, J. G. (2002) *Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence in human commensal bacteria*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the UnitedStates of America, 99, 6434−6439.

18- Threlfall EJ. (2002) Antimicrobial drug resistance in Salmonella: problems and perspectives in food- and waterborne infections. *FEMS Microbiol Rev*, 26(2):141-8.

19- Uyttendaele, M. R., Debevere, J. M., Lips, R. M., & Neyts, K. D. (1998). Prevalence of Salmonella in poultry carcasses and their products in Belgium. *International Journal of Food Microbioogy,* 40(1), 1−8.

20- Winokur, P. L., Brueggemann, A., DeSalvo, D. L., Hoffmann, L., Apley, M. D., Uhlenhopp, E. K., et al. (2000). Animal and human multidrug-resistant, cephalosporin-resistant Salmonella isolates expressing a plasmid-mediated CMY-2 AmpC ßeta lactamase. *Antimicrobial Agents and Chemotheraphy*, 44(10), 2777−2783.

21- World Health Organization (WHO), (2000) WHO global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food. WHO Department of Communicable Disease Surveillance and Response, Geneva, Switzerland, 5–9 June 2000. Report of a WHO Consultation, pp. 1–7.

22- Yildirim, Y., Gonulalan, Z., Pamuk, S., Ertas, N. (2011) Incidence and antibiotic resistance of Salmonella spp. on raw chicken carcasses. *Food Research International* 44, 725–728.

23- Yang, B., Qu, D., Zhang, X., Shen, J., Cui, S., Shi, Y., Xi, M., Sheng, M., Zhi, S., Meng, J. (2010) Prevalence and characterization of Salmonella serovars in retail metas of marketplace in Shaanxi, China. *International Journal of Food Microbiology,* 141, 63–72.

24- Zhao, S., Fedorka-Cray, P.J., Friedman, S., McDermott, P.F., Walker, R.D., Qaiyumi, S., Foley, S.L., Hubert, S.K., Ayers, S., English, L., Dargatz, D.A., Salamone, B., White, D.G. (2005) Characterization of Salmonella Typhimurium of animal origin obtained from the national antimicrobial resistance monitoring system. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2, 169–181.