

Prevalence and Antibacterial Susceptibility of Thermophilic Campylobacter spp. in Broiler Chickens

Fereydoon Babaie Najad Basiri¹,
Payam Haghighi Khoshkhoo²,
Gita Akbariazad²

¹ PhD in Medical Laboratory Sciences, Department of Laboratory Sciences, Faculty of Medical Sciences, Islamic Azad University, Marand branch, Marand, Iran

² Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Karaj branch, Karaj, Iran

(Received December 15, 2014 Accepted March 9, 2016)

Abstract

Background and purpose: Thermophilic *Campylobacter* spp. are among the most frequently causes of human gastrointestinal infections worldwide which is mainly due to poultry meat consumption. This study aimed at investigating the prevalence and antibiotic resistance of *Campylobacter* isolates collected from gastrointestinal track of broiler chickens.

Materials and methods: A total of 150 fecal samples were taken from 30 commercial broiler farms during 6 months in 2014. The samples were cultured and incubated in microaerophilic conditions and stained by Carbol-fuchsin. The strains were then identified using biochemical tests (catalase and oxidase test). *C. jejuni* was detected by hippurate hydrolysis test and *C. coli* and *C. lari* were identified using indoxyl acetate hydrolysis. Antibiotic resistance against 12 common anti-microbial agents was tested by Kirby-Bauer method.

Results: Thermophilic *Campylobacter* spp. were isolated in 80% of broiler flocks and 65.3% of the samples. A total of 98 *Campylobacter* spp. isolates was found in which *C. jejuni* and *C. coli* were detected in 79.59% and 20.4%, respectively. The highest levels of resistance were found against nalidixic acid (67%) followed by ciprofloxacin (56%), and tetracycline (56%). The lowest levels of resistance were observed against gentamicin (0%), chloramphenicol (2.5 %), and erythromycin (3%).

Conclusion: Multiple resistance against anti-microbial agents was seen in several isolates and there was no isolate sensitive to all antibiotics.

Keywords: Thermophilic *Campylobacter*, Broiler chickens, Antibiotics

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26(136): 185-189 (Persian).

تعیین شیوع و تعیین حساسیت باکتریایی جدایه های ترموفیلیک کمپیلوباکتر از جوجه های گوشتی

فریدون بابایی نژاد بصیری^۱

پیام حقیقی خوشخو^۲

گیتا اکبری آزاد^۲

چکیده

سابقه و هدف: کمپیلوباکترهای ترموفیلیک از عوامل مهم گاستروآنتریت عفونی انسان در سرتاسر دنیا است که عمده موارد آن را به مصرف فرآورده های تهیه شده از گوشت مرغ نسبت می دهند. تحقیق حاضر با هدف تعیین فراوانی گونه های ترموفیلیک کمپیلوباکتر در دستگاه گوارش جوجه گوشتی و الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی آن ها طراحی شد.

مواد و روش ها: طی شش ماه دوم سال ۱۳۹۳، از ۳۰ مزرعه صنعتی پرورش جوجه گوشتی، ۱۵۰ نمونه مدفوع پرنده اخذ و به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه ها در شرایط میکروآنروفیلیک و در محیط بروسلا آگار انکوبه و سپس با کربول فوشین رنگ آمیزی و با آزمایشات تحرک، اکسیداز و کاتالاز تایید شدند. برای شناسایی کمپیلوباکتر ژرونی از آزمایش هیدرولیز هیپورات سدیم و برای گونه های کلی و لاری از آزمایش هیدرولیز ایندوکسیل استات استفاده شد. برای ارزیابی مقاومت آنتی باکتریال گونه های ترموفیلیک کمپیلوباکتر نیز از روش انتشاری استفاده شد.

یافته ها: در مجموع ۸۰ درصد گله های پرورشی و ۶۵/۳ درصد نمونه های اخذ شده به گونه های ترموفیلیک کمپیلوباکتر آلوده بودند. از ۹۸ جدایه کمپیلوباکتر، ۷۹/۵۹ درصد به گونه ژرونی و ۲۰/۴ درصد به گونه کلی تعلق داشتند. بیش ترین مقاومت به ترتیب مربوط به نالیدیکسیک اسید (۶۷ درصد)، سیروفلوکساسین (۵۶ درصد) و تراسایکلین (۵۶ درصد) و کم ترین مقاومت به جنتامایسین (۰ درصد)، کلرامفنیکل (۲/۵ درصد) و اریترومایسین (۳ درصد) بود.

استنتاج: پدیده مقاومت به چند آنتی بیوتیک در جدایه ها وجود داشت. هیچ سویه ای که به تمام آنتی بیوتیک ها حساس باشد، وجود نداشت.

واژه های کلیدی: کمپیلوباکتر ترموفیلیک، آنتی بیوتیک، جوجه گوشتی

مقدمه

و جزء انواع ترموفیلیک می باشند. هر پنج گونه مخزن حیوانی داشته و جزء بیماری های زئونوز طبقه بندی می شوند (۱). طيور به عنوان اولین میزبان مخزن کمپیلوباکترهای ترموفیلیک معرفی شده اند. این مطالعه به

کمپیلوباکترها باکتری های گرم منفی و میکروآنروفیل، به شکل خمیده هستند که بیماری زایی پنج گونه ژرونی، کلی، فتوس، آپسالینسیس و لاری برای انسان شناخته شده است و گونه های ژرونی و کلی بیش ترین اهمیت را داشته

E-mail: pkhoshkho@kiau.ac.ir

مؤلف مسئول: پیام حقیقی خوشخو - کرج: دانشگاه آزاد اسلامی کرج، دانشکده دامپزشکی

۱. دکترای علوم آزمایشگاهی تشخیص طبی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرند، مرند، ایران

۲. استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۹/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۹/۲۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱۲/۱۹

منظور تعیین میزان فراوانی گونه‌های ترموفیلیک کمپیلوباکتر در محتویات مدفوعی سکوم جوجه‌های گوشتی و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری و جداسازی: از ۳۰ مزرعه صنعتی پرورش جوجه گوشتی، به‌طور اتفاقی ۱۵۰ نمونه سوآب مدفوعی (۵ سوآب از هر گله) از جوجه‌های گوشتی سالم در آخر دوره پرورش در استان البرز، طی شش ماه (مهرماه لغایت اسفند ماه ۱۳۹۳) اخذ شد. سوآب‌ها در محیط پپتون واتر به آزمایشگاه منتقل و ۴۸ ساعت در شرایط میکروآنروبیلیک در ۴۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه و با آزمایشات بیوشیمیایی اکسیداز و کاتالاز تایید شدند. تمام کمپیلوباکترها اکسیداز مثبت و انواع ترموفیلیک کمپیلوباکتر (ژژونی، کلی و لاری) که از طيور جدا می‌شوند، کاتالاز مثبت هستند. برای تفریق گونه‌ای از آزمایش هیدرولیز هیپورات سدیم (برای گونه ژژونی) و آزمایش هیدرولیز ایندوکسیل استات (برای گونه کلی) استفاده شد (۳،۲).

آزمایش حساسیت نسبت به عوامل آنتی‌بیوتیکی

از روش کیفی حساسیت باکتریایی با دیسک دیفوزیون به روش استاندارد Kirby-Bauer استفاده شد. دوازده آنتی‌بیوتیک و غلظت آن‌ها (بر حسب میکروگرم) عبارت بودند از: اریترومايسين (۱۵)، انروفلوکسازین (۵)، تتراسایکلین (۳۰)، استرپتومايسين (۱۰)، جنتامايسين (۱۰)، اسپکینومايسين (۱۰۰)، آمپی‌سیلین (۱۰)، سپیروفلوکسازین (۵)، آموکسی‌سیلین (۳۰)، کلرامفنیکل (۳۰)، نالیدیکسیک اسید (۳۰) و نتومايسين (۳۰). برای استاندارد کردن مقدار باکتری موجود با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند مقایسه (۴،۲) و تفسیر شد (۵).

یافته‌ها و بحث

شیوع: نتایج نشان داد که از ۳۰ گله، ۲۴ گله (۸۰

درصد) و از ۱۵۰ نمونه، ۹۸ نمونه (۶۵/۳ درصد) به گونه‌های ترموفیلیک کمپیلوباکتر آلوده بودند. از ۹۸ جدایه کمپیلوباکتر، ۷۹/۵۹ درصد به ژژونی و ۲۰/۴ درصد به کلی تعلق داشتند. در این بررسی به گونه لاری برخورد نشد. در ۳۵ درصد گله‌ها، هر ۵ نمونه اخذ شده آلوده بود و ۲۰ درصد گله‌ها، فاقد هر گونه آلودگی به میکروارگانیزم فوق بودند. همسو با نتایج مطالعات قبل در ایران و در سایر کشورها، کمپیلوباکتر ژژونی عمده‌ترین عامل شیوع کمپیلوباکتریوزیس در سطح گله‌های گوشتی بود. گرچه وجود کمپیلوباکتر به تنهایی در گله‌های طیور باعث ایجاد مشکل و ضرر اقتصادی قابل توجهی نمی‌شود، ولی به راحتی می‌تواند در کشتارگاه باعث آلودگی گوشت مرغ شود. بین سال‌های ۲۰۰۵-۲۰۰۶ میزان آلودگی به کمپیلوباکتر در گله‌های گوشتی در کشورهای چک، ایتالیا، انگلیس، و آمریکا بالای ۷۰ درصد و در کرواسی، آلمان، فرانسه، هند، سوئیس و ژاپن حدود ۵۰-۴۰ درصد و در نروژ، سوئد و تایوان حدود ۲۰ درصد گزارش شده است (۱۱-۶). در ایران، روند آلودگی گوشت مرغ به این باکتری تقریباً ثابت بوده است؛ به عنوان مثال ۵۰ درصد در سال ۱۳۸۴ (۴)، ۶۲ درصد در سال ۱۳۸۶ (۲)، ۵۵ درصد در سال ۲۰۱۰ (۱۲) و ۵۵ درصد در سال ۲۰۱۴ گزارش شده است (۱۳).

تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی: درصد مقاومت جدایه‌ها در جدول شماره ۱ آورده شده است. پدیده مقاومت به چند آنتی‌بیوتیک در جدایه‌های کمپیلوباکتر ترموفیلیک مورد بررسی نیز به چشم خورد و تقریباً تمام جدایه‌ها به بیش‌تر از یک آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند و هیچ سویه‌ای وجود نداشت که به تمام آنتی‌بیوتیک‌ها حساس باشد. اریترومايسين و فلوروکینولون‌ها (سپروفلوکسازین، تتراسایکلین) از آنتی‌بیوتیک‌های مهم در درمان کمپیلوباکتریوزیس هستند. از طرفی مقایسه میزان مقاومت جدایه‌های طیوری با نمونه‌های بالینی انسانی می‌تواند میزان انتقال مقاومت را تا حدودی نشان دهد. به نظر می‌رسد مقاومت به کمپیلوباکتر جدا شده از

جدول شماره ۱: درصد مقاومت دارویی ۹۸ جدایه کمپیلوباکتر ترموفیلیک نسبت به ۱۲ آنتی بیوتیک

آنتی بیوتیک	اسپکتینومایسین	استرپتومایسین	ریترومایسین	کلرامفنیکل	جتنامایسین	نومایسین	آمی سیلین	آموکسی سیلین	لروفلوکسازین	تراسایکلین	سیپروفلوکسازین	نالدیکسیک اسید
جدایه کمپیلوباکتر	۵/۴	۶	۳	۲/۵	۰	۲۹	۱۵	۱۶/۶	۴۲	۵۶	۵۶	۶۷
کد. ژوژونی	۴/۲	۶	۳	۲/۴	۰	۳۴	۱۵/۵	۱۸/۲	۴۳	۵۸	۵۹	۶۵
کد. کلی	۹	۴/۷	۲/۲۵	۲/۲۵	۰	۱۴	۱۲	۹۰	۳۶	۴۵	۳۲	۶۹

مطابقت دارد و خوشبختانه هنوز سویه‌های کمپیلوباکتر نسبت به اریترومایسین که اولین انتخاب آنتی‌بیوتیکی برای درمان کمپیلوباکتر یوزیس انسانی است، مقاوم نشده‌اند.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نتایج این مطالعه، میزان آلودگی به کمپیلوباکتر در بین گله‌های مرغ گوشتی استان البرز را ۸۰ درصد نشان می‌دهد که درصد نسبتاً بالایی است. مساله نگران‌کننده، مقاومت زیاد کمپیلوباکتر به سیپروفلوکسازین و تراسایکلین به عنوان انتخاب‌های اول درمان موارد انسانی، می‌باشد. حساسیت بالا به جنتامایسین، کلرامفنیکل، اریترومایسین، استرپتومایسین و اسپکتینومایسین دیده می‌شود که می‌توان از این آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان کمپیلوباکتر یوزیس در انسان و حیوان استفاده کرد.

موارد انسانی و طیوری در گزارشات کشورهای مختلف نسبت به فلوروکینولون‌ها بالا و نسبت به جنتامایسین، اریترومایسین، استرپتومایسین و اسپکتینومایسین کم باشد (۱۵،۱۴،۱۱،۶) که این نتایج با یافته‌های ما همسو می‌باشد. میزان مقاومت بالا به سیپروفلوکسازین و نالدیکسیک اسید در بین جدایه‌های کمپیلوباکتر می‌تواند نشان دهنده مقاومت متقاطع بین آن‌ها باشد که نکته مهمی در بهداشت و سلامت عمومی است.

مقایسه نتایج مطالعات قبلی در ایران و نتایج ما تاییدکننده برخی یافته‌ها (۱۶،۱۳) و مغایر با برخی دیگر است (۱۷). لازم به ذکر است که مصرف این آنتی‌بیوتیک‌ها (که حساسیت بالایی را نشان می‌دهند) در صنعت طیور در مقایسه با سایر آنتی‌بیوتیک‌ها کم‌تر است. نتایج ما با پژوهش‌های قبلی در سایر کشورها

References

- Doyle MP, Beuchat LR, Montville ThJ. Food Microbiology: Fundamentals and frontiers, 2nd ed. Washington: ASM Press; 2001.
- Farin Kia. Prevalence of Campylobacter infection in commercial broiler chickens in Tehran province, Dissertation of veterinary medicine, Islamic Azad University, Karaj branch. 2007.
- Naderi Nasab M, Rashed T, Nazem M. Laboratory bacteriology. Mashhad: Imam Reza University press; 2003. (Persia).
- Sanaie M. Antibacterial susceptibility pattern of Campylobacter spp in red meat and poultry meat in Tehran, MS thesis dissertation, Islamic Azad University, Science and Research branch. 2005.
- NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard. 8th ed. NCCLS document M2-A8. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA. 2003.
- Bardon J, Kolar M, Cekanova L, Hejnar P, Koukalova D. Prevalence campylobacter jejuni and its resistance to antibiotics in poultry in the Czech Republic. Zoonoses Public Health 2009; 56(3): 111-116.
- Prukner-Radovcic E, Horvatek D. Prevalence of campylobacter spp. in broiler chickens in Croatia. 12th European poultry conference 2006, Verona, Italy. 10-14 Sep, 2006.
- Newell DG, Fearoley C. Source of campylobacter colonization in Broiler

- chickens. *Appl Environ Microbiol* 2003; (69)8: 4343-4351.
9. Wittwer M, Keller J, Wassenaar TM, Stephan R, Howald D, Regula G, Bissig-Chaisat B. Genetic Diversity and Antibiotic resistance patterns in campylobacter population Isolated from poultry farms in Switzerland. *Appl Environ Microbiol* 2004; 71(6): 2840-2847.
10. Saba FD, Parkar SFD, Sachdev D, deSouza N, Kamble A, Suresh G, et al. Prevalence, seasonality and antibiotic susceptibility of thermophilic Campylobacters in ceca and carcasses of poultry birds in the "live-bird market". *Afr J Microbiol Res* 2013; 7(21): 2442-2453.
11. Kaijser B, Ronner AC, Engrall ED, Andersson L. Species identification by genotyping and determination of antibiotic resistance in campylobacter jejuni and campylobacter coli from humans and chickens in Sweden. *Int J Food Microbiol* 2004; 96(2): 173-179.
12. Rahimi E, Momtaz H, Ameri M, Ghasemian-Safaei H, Ali-kasemi M. Prevalence and antimicrobial resistance of Campylobacter species isolated from chicken carcasses during processing in Iran. *Poult Sci* 2010; 89(5): 1015-1020.
13. Dabiri H, Aghamohammad Sh, Goudarzi H, Noori M, Ahmadi-Hedayati M, Ghoreyshiamiri SM. Prevalence and Antibiotic Susceptibility of *Campylobacter* species Isolated From Chicken and Beef Meat. *Int J Enteric Pathol* 2014; 2(2): e17087.
14. Elzbieta Mackiw E, Korsak D, Rzewuska K, Tomczuk K, Rozynek E. Antibiotic resistance in Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from food in Poland. *Food Cont* 2012; 23(2): 297-301.
15. Borck Hog B, Stehr Larsen L, Torpdahl W. Campylobacter in DANMAP, Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark, ISSN 1600-2032. DANMAP 2013. Available from: www.danmap.org. Accessed October 2, 2015.
16. Taremi M, Soltan Dallal MM, Gachkar L, Moez Ardalan S, Zolfagharian K, Zali MR. Prevalence and antimicrobial resistance of campylobacter isolated from retail raw chicken and beef meat, Tehran, Iran, *Int J Food Microbiol*. 2006; 108(3): 401-403.
17. Ghane M, Bahador N, Baserisalehi M, Eghbali M. A comparative study on antimicrobial susceptibility of campylobacter spp. Isolates from fecal samples of domestic animals and poultry in Tonekabon and Shiraz, Iran. *Journal of Paramedical Sciences (JPS)* 2011; 2(2): 21-26.