

جداسازی کلستریدیوم پرفرینجنز از برخی طیور گوشتی استان فارس و مطالعه مقاومت دارویی

قربانی رنجبری، ع.^{۱*}، اسماریان، ش.^۲، قربانی رنجبری، ن.^۳، قربانی رنجبری، ز.^۳

دریافت: ۱۳۹۱/۰۶/۲۴ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۲/۰۱

خلاصه

کلستریدیوم پرفرینجنز باسیل، گرم مثبت، ضخیم و کشیده، به صورت تکی یا دوتایی وبه ندرت زنجیره ای است. باکتری کلستریدیوم پرفرینجنز توکسین زای تیپ A و C باعث تورم روده نکروتیک در طیور گوشتی شده، از طرفی سبب انتروتوکسمی در انسان می شود. از آنجا که این باکتری می تواند در طیور وانسان سبب آسیب های جدی شود تعیین الگوی مقاومت دارویی این باکتری ضروری به نظر می رسد. هدف از انجام این تحقیق تعیین الگوی مقاومت دارویی کلستریدیوم پرفرینجنز های جداسازی شده از طیور گوشتی می باشد. در این مطالعه پس از جداسازی ۲۲ جدایه کلستریدیوم پرفرینجنز از گله های گوشتی استان فارس آزمایش آنتی بیوگرام به روش استاندارد Kirby _ Baurer انجام یافت. نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS17 مورد ارزیابی آماری قرار گرفت. تمامی ۲۲ جدایه کلستریدیوم پرفرینجنز در این بررسی نسبت به پنی سیلین، ونکومایسین و کلرامفنیکل حساسیتی از ۸۱،۳ درصد تا ۸۸،۲ درصد را داشتند؛ درحالی که به ترکیبات ضدباکتریایی تتراسایکلین، لینکومایسین، نئومایسین سولفات دارویی از ۷۱ درصد تا ۸۵ درصد را نشان دادند. همچنین مشخص گردید تمامی جدایه ها به بیش از یک ترکیب ضد باکتریایی مقاومت نشان می دهند. از طرفی بین جدایه های مقاوم به دارو با جدایه های حساس اختلاف آماری معناداری وجود داشت ($P \leq 0.05$). با توجه به مقاومت دارویی بالای کلستریدیوم پرفرینجنز های جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک های تتراسایکلین، لینکومایسین، نئومایسین سولفات، قبل از تجویز آنتی بیوتیک، انجام آزمایش آنتی بیوگرام الزامی می باشد

واژه های کلیدی: کلستریدیوم پرفرینجنز، مقاومت دارویی، آنتی بیوتیک، جوجه گوشتی.

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، کازرون، ایران.

۲. گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران.

۳. دانشجوی مهندسی شیلات، دانشگاه بین المللی خرم شهر، خرم شهر، ایران.

بیماری آنتریت نکروتیک، یکی از بیماری‌های باکتریایی در طیور می‌باشد، که بر اثر کلستریدیوم پرفرینجنز ایجاد می‌شود؛ کلستریدیوم پرفرینجنز باسیل، گرم مثبت، ضخیم و کشیده، به صورت تکی یا دوتایی و به ندرت زنجیره ای است. کلستریدیوم پرفرینجنز توکسین زای تیپ A و C باعث تورم روده نکروتیک در طیور گوشتی شده، از طرفی سبب مسمومیت غذایی در انسان می‌شود (جهان تیغ، ۱۳۸۶؛ porter و Robert، ۱۹۹۸). عامل بیماری زای کلستریدیوم پرفرینجنز زهرا به (توکسین) می‌باشد، و به پنج نوع A تا E دسته بندی می‌شوند. در انسان فقط نوع A و به ندرت نوع C بیماری زا هستند. این باکتری به همراه مواد غذایی آلوده بلعیده شده و در روده کوچک هاگ گذاری می‌کنند و در جریان هاگ گذاری با تولید انتروتوکسین موجب مسمومیت غذایی با نشانه های دردهای شکمی و اسهال می‌شوند که معمولاً کوتاه مدت است (سلطان دلال، ۱۳۸۰؛ Watkins و همکاران ۱۹۹۷). در کشوری مانند ایران که استفاده از آنتی بیوتیک های محرک رشد و کوکسیدواستات های یونوفوره که بر باکتری های گرم مثبت اثر دارند متداول می باشد، وقوع بیماری و ایجاد مقاومت دارویی دوراز انتظار نیست. با این حال بروز بالینی این بیماری به خصوص در گله های گوشتی بسیار محدود می باشد. با این وجود تعیین الگوی مقاومت دارویی کلستریدیوم پرفرینجنز، موارد بالینی در منطقه الزامی به نظر می رسد. لذا هدف از انجام این تحقیق جداسازی کلستریدیوم پرفرینجنز از طیور گوشتی و تعیین الگوی مقاومت دارویی در برابر آنتی بیوتیک ها است.

مواد و روش کار:

در بهار و تابستان سال ۱۳۹۰ تعداد ۱۵۰ نمونه به صورت تصادفی پس از کشتار از گله های گوشتی دارای سابقه آلودگی استان فارس (شهرستان های کازرون - فسا و داراب) اخذ گردید. برای جداسازی باکتری کلستریدیوم پرفرینجنز از لاشه طیور گوشتی، ابتدا سطح سرورزی روده لاشه های مبتلا توسط تیغه اسپاتول داغ استریل گردید. سپس موضع به وسیله بیستوری استریل برش داده شد و توسط یک لوپ استریل مخاط روده تخریش و پس از تهیه گسترش میکروبی و انجام رنگ آمیزی گرم، زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. شناسایی باکتری بر اساس روش های تشریح شده توسط Summanen و همکاران در سال ۱۹۹۳، Quinn ۲۰۰۲ و Miller و همکاران در سال ۱۹۹۸ صورت پذیرفت. در صورت مشاهده باسیل های گرم مثبت حاوی اسپور تشخیص احتمالی برمبنای کلستریدیوم پرفرینجنز قرار می گرفت. برای جداسازی کلنی های خالص کلستریدیوم پرفرینجنز از نمونه هایی که در رنگ آمیزی گرم، مثبت بودند، بر روی پلت آگار خون دار کشت خطی انجام شد (تمامی مراحل

کشت در زیرهود آزمایشگاه و در مجاورت شعله انجام شد). پلیت های کشت شده به صورت وارونه در داخل جاری هوازی (Anaerobic Jar, Merck, Germany) قرار گرفتند؛ سپس گاز پک A (Anaerobic A, Merck) در داخل جاری بی هوازی که حاوی پلت آگار خون دار کشت شده بود قرار داده شد و پس از بستن درب جار، این جارها در انکوباتور در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت گذاشته شدند. برای تایید شرایط بی هوازی از استریپ های اندیکاتور (Anaerotest, Merck) در هر جار استفاده شد؛ بعد از گذشت زمان فوق الذکر، درب جار بی هوازی باز شد و پلیت های آگار کشت داده شده زیر هود، در مجاورت شعله چراغ مورد بررسی قرار گرفتند. مشاهده کلنی های بزرگ صاف و گرد به قطر ۲ تا ۴ میلی متر با همولیز دوگانه (همولیز کامل در ناحیه داخلی و همولیز ناقص در ناحیه بیرونی) احتمال حضور کلستریدیوم پرفرینجنز را مطرح نمود. تعدادی از این کلنی ها انتخاب و پس از انجام رنگ آمیزی گرم زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند تا مورفولوژی مورد انتظار مشاهده شود. برای تایید تشخیص از محیط های متعددی استفاده شد. نمونه های احتمالا مثبت به صورت خطی بر روی پلیت های آگار زرده تخم مرغ (Merck) کشت داده شدند. پلیت های آگار زرده تخم مرغ کشت شده به مدت ۴۸ ساعت تحت شرایط بی هوازی در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردیدند. باکتری های کلستریدیوم پرفرینجنز لیسیتیناز تولید می کنند که به صورت وجود کدورت و سفیدی در محیط اطراف کلنی باکتری که دلیل برفعالیت لیسیتیناز باکتری است، مشخص می شود. آزمایش بعدی، تست برای عدم تولید لیپاز بود که بر روی محیط کشت آگار زرده تخم مرغ صورت گرفت. از آنجایی که این باکتری لیپاز تولید نمی کند در محیط آگار زرده تخم مرغ واکنش مربوط به لیپاز یعنی تولید هاله در اطراف کلنی باکتری کلستریدیوم پرفرینجنز به وجود نمی آید. آزمایش دیگری که بر روی نمونه ها انجام شد آزمایش کمپ - معکوس (Reverse-CAMP test) بود. باکتری کلستریدیوم پرفرینجنز تیپ A و باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه بتا همولیتیک با یک دیگر الگوی سنیرژیستیک همولایتیک کمانی شکل تیپیک روی آگار خون دار ایجاد می کنند. برای این منظور ابتدا باکتری کلستریدیوم پرفرینجنز احتمالی را به صورت یک خط روی محیط آگار خون دار کشت داده و سپس استرپتوکوکوس آگالاکتیه بتا همولیتیک به صورت خط عمود بر خط کشت نمونه مشکوک کشت داده شد، به نحوی که با هم تلاقی نداشته باشد (با چند میلی متر فاصله). پلیت ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت آنکوبه شدند. در موارد مثبت همولیزهای کمانی شکل مشاهده شدند. آزمایش بعدی، آزمایش اوره آز بود. برای این منظور محیط استریل اوره تهیه شده و نمونه ها

به درون این سوسپانسیون باکتریایی وارد و مایع اضافی سوپ با فشار و چرخاندن به جداره داخلی لوله حاوی سوسپانسیون باکتریایی گرفته شد؛ سوپ به صورت خطی و بدون فاصله بین خطوط کشت بر روی سطح محیط مولر هینتون آگار (ضخامت محیط کشت فوق ۴ میلی متر بود) که ۲۰ دقیقه قبل از استفاده از یخچال خارج گردیده بود، کشت داده شد. به منظور تلقیح یک نواخت، کشت خطی سه مرتبه انجام شد. بدین نحو که هر مرتبه پلیت حاوی محیط کشت به میزان ۶۰ درجه نسبت به دفعه قبل چرخانده شده و مجدداً سوپ بر روی آن به صورت خطی کشیده شد. در نهایت سر سوپ به لبه خلفی پلیت و در تماس با سطح محیط کشت چسبانده و یک دور کامل چرخانده شد. پلیت های تلقیح شده به مدت ۳ تا ۵ دقیقه به همان حال باقی ماندند تا رطوبت اضافی قبل از گذاشتن دیسک های آنتی بیوگرام توسط آگار جذب شود؛ سپس دیسک های مورد آزمایش که ۱ ساعت قبل، به منظور رسیدن به درجه حرارت آزمایشگاه از یخچال خارج شده بودند توسط پنس استریل بر روی سطح محیط مولر هینتون آگار تلقیح شده قرار داده شدند. به منظور رعایت فاصله بین دیسک ها بر روی محیط کشت به میزان ۲۴ میلی متر از یکدیگر و ۱۵ میلی متر از جدار پلیت فقط ۶ دیسک بر روی یک پلیت ۹۰ میلی متری گذاشته شد. ظرف مدت ۱۵ دقیقه پس از دیسک گذاری، پلیت های جمع آوری شده و در وضعیت وارونه به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد و در شرایط بی هوازی آنکوبه شدند؛ بعد از این مدت برای قرائت نتیجه آزمایش با استفاده از چشم غیر مسلح و در حضور نور متمرکز، قطر هاله مانع از رشد هر دیسک ضد باکتریایی بر حسب میلی متر توسط کولیس اندازه گیری شد و با جدول تفسیر قطر هاله مانع بر اساس حساس و مقاوم طبقه بندی شدند (Dutta و Devriese ۱۹۸۱؛ Jung ۱۹۸۳؛ Quinn و همکاران، ۲۰۰۲). در ادامه نتایج حاصل از بررسی، به وسیله نرم افزار SPSS17 مورد ارزیابی آماری (T. test) قرار گرفت.

نتایج

تمامی ۲۲ جدایه کلوستریدیوم پرفرینجنز در این بررسی نسبت به پنی سیلین، ونکوماپسین و کلرامفنیکل حساسیتی از حدود ۸۱،۳ درصد تا ۸۸،۲ درصد را داشتند؛ درحالی که به ترکیبات ضد باکتریایی تتراسایکلین، لینکوماپسین، نئوماپسین سولفات، مقاومت دارویی از ۷۱ درصد تا ۸۵ درصد را نشان دادند. همچنین مشخص گردید تمامی جدایه ها به بیش از یک ترکیب ضد باکتریایی مقاومت نشان می دهند (جدول ۱). همچنین مشخص شد که ۱۰۰ درصد جدایه های کلوستریدیوم پرفرینجنز به بیش از یک ترکیب ضد باکتریایی مقاومت نشان دادند (جدول ۲). از لحاظ آماری درمورد جدایه های مقاوم با

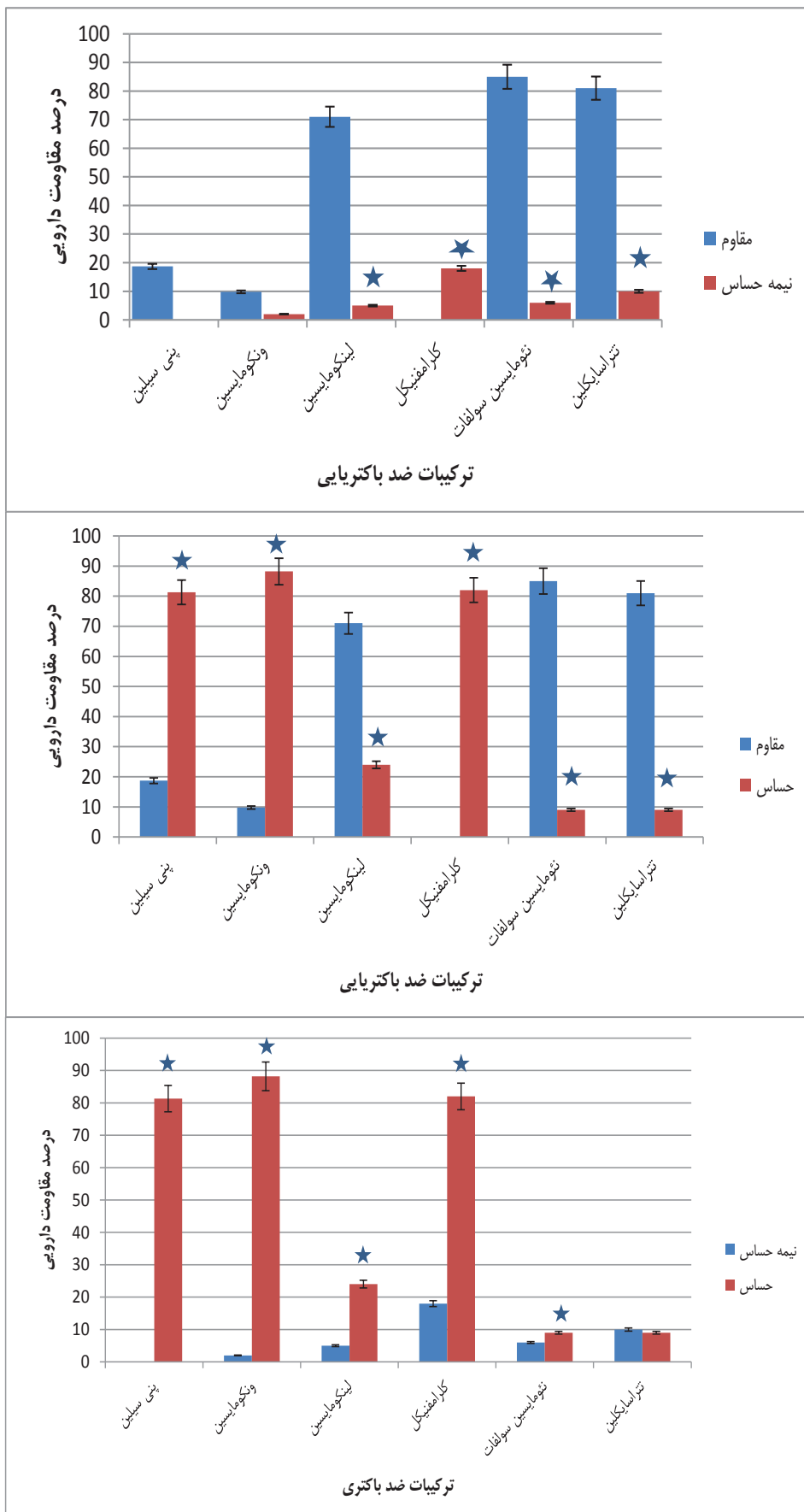
در آن کشت داده شدند و در شرایط بی هوازی و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت آنکوبه گردیدند. کلوستریدیوم پرفرینجنز اوره آز منفی بوده لذا تغییر رنگ ایجاد نشد. آزمایش حرکت نیز درمورد نمونه ها انجام شد. برای این منظور باکتری در لوله های حاوی محیط اوره کشت شد در صورت بروز کدورت و تولید گاز CO₂ باکتری محرک تلقی گردید. لازم به ذکر است که باکتری کلوستریدیوم پرفرینجنز فاقد حرکت می باشد. در ادامه تست ایندول بر روی نمونه ها نیز انجام شد. باکتری کلوستریدیوم پرفرینجنز ایندول تولید نمی نماید. برای تایید نهایی، نمونه های به دست آمده که در آزمایشات قبلی مثبت بودند (از نظر کلوستریدیوم پرفرینجنز) بر روی محیط (Tryptone Sulfite Neomycin agar) TSN آگار (Merck) که محیط اختصاصی کلوستریدیوم پرفرینجنز می باشد کشت داده شدند.

پلیت های کشت داده شده در شرایط بی هوازی به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد آنکوبه گردیدند. بعد از طی مدت زمان مذکور در صورت وجود نتیجه مثبت، کلنی هایی با هسته مرکزی تیره رنگ مشاهده شدند که بیانگر حضور باکتری کلوستریدیوم پرفرینجنز بود.

تعیین الگوی مقاومت دارویی جدایه ها

برای تعیین حساسیت ۲۲ جدایه کلوستریدیوم پرفرینجنز نسبت به داروهای ضد باکتریایی از آزمایش دیسک دیفوزیون به روش استاندارد Kirby-Bauer استفاده شد (Quinn و همکاران، ۲۰۰۲). محیط کشت انتخابی در این روش (Merck) Mueller - Hinton است که رشد پرگنه ها را به صورت انفرادی و در کنار هم به طور رضایت بخشی فراهم می کند. شش عامل ضد باکتریایی مورد آزمایش و غلظت بالقوه آن ها (بر حسب میکروگرم) عبارت بودند از: پنی سیلین (۱۰)، ونکوماپسین (۳۰)، لینکوماپسین، کلرامفنیکل (۳۰)، تتراسایکلین (۳۰) و نئوماپسین (۳۰) که همگی از شرکت پادتن طب (ایران) تهیه شده بود آزمایش برای هر ۲۲ جدایه به شرح زیر انجام شد: کلوستریدیوم پرفرینجنز برداشت شده از محیط ذخیره BHB (Brain Heart infusion Broth) (آبگوشت مغز و قلب) روی محیط آگار خون دار کشت خطی داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد در شرایط بی هوازی آنکوبه گردید. سپس ۴ تا ۵ کلنی تک کلوستریدیوم پرفرینجنز از محیط آگار خون دار برداشت شده و به یک لوله آزمایش درب دار حاوی ۴ تا ۵ سانتی متر مکعب محیط BHB انتقال داده شد. محیط تلقیح شده به مدت ۲ تا ۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و شرایط بی هوازی تا مشاهده یک کدورت واضح و قابل قبول با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند آنکوبه گردید. سپس یک سوپ استریل

علامت * نشان دهنده وجود اختلاف معناداری باشد ($P \leq 0.05$).



تصویر ۱: نمودار مربوط به درصد مقاومت دارویی کلستریدیوم پرفرینتجنز های جداسازی شده به آنتی بیوتیک های مورد بررسی

ترکیبات ضد باکتریایی	% جدایه های مقاوم	% جدایه های نیمه حساس	□ جدایه های حساس
پنی سیلین	۱۸.۷	۰	۸۱.۳
ونکومايسين	۹.۸	۲	۸۸.۲
لینکومايسين	۷۱	۵	۲۴
کلرامفیکل	۰	۱۸	۸۲
نئومايسين سولفات	۸۵	۶	۹
تتراسایکلین	۸۱	۱۰	۹

جدول ۱. درصد مقاومت دارویی ۲۲ جدایه کلوستریدیوم پرفرینجنز از مرغ گوشتی نسبت به ۶ ترکیب ضد باکتریایی

درصد جدایه های مقاوم	تعداد ترکیبات ضد باکتریایی
۱۰۰	۱
۱۰۰	۱ <
۹۵	۲ <

جدول ۲. مقاومت چندگانه جدایه های کلوستریدیوم پرفرینجنز جدا شده از مرغ گوشتی نسبت به ترکیبات ضدباکتریایی از مجموع ۶ ترکیب

و ۱۹۹۲ حداقل غلظت مهاری ۷ آنتی بیوتیک محرک رشد علیه ۹۵ جدایه کلوستریدیوم پرفرینجنز جدا شده از طیور، خوک و گوساله را مورد ارزیابی قرار دادند. همه این سویه ها به آنتی بیوتیک های بامبرمایسین، فلاوومايسين (فلاووفسفولیبول) مقاومت نشان دادند و به آووپارسین، آویلامایسین و سالیونومايسين حساس بودند. مقاومت به تایلوزین و ویرجینیامایسین در بعضی جدایه های حاصل از تمام گونه های بررسی شده، شناسایی گردید (Devriese و همکاران، ۱۹۹۳). در بررسی که توسط Sang و Tansuphasiriu (۲۰۰۵)، روی ۲۰۱ جدایه کلوستریدیوم پرفرینجنز جدا شده از مدفوع انسان، خوک و غذا و سایر منابع محیطی (که به وسیله PCR تایید شده بود) نسبت به ۷ ترکیب ضدباکتریایی انجام شد، مشخص گردید که بیشترین مقاومت این جدایه ها به ترتیب در برابر تتراساکلین (۵۶/۲ درصد)، ایمینوم (۲۴/۹ درصد)، مترونیدازول (۹/۵ درصد)، پنی سیلین G (۹ درصد) و ونکومايسين (۴/۵ درصد)، کلرامفیکل (۳ درصد) و سفتراکسون (۱ درصد) می باشد. در مطالعه حاضر طیف و میزان مقاومت جدایه ها به ترکیبات ضدباکتریایی گسترده و بالا بود به طوری که جدایه کلوستریدیوم پرفرینجنز مورد بررسی، بیشترین مقاومت را نسبت به ۳

جدایه های حساس و نیمه حساس در خصوص تمامی آنتی بیوتیک های مورد بررسی، اختلاف آماری معناداری وجود دارد ($P \leq 0.05$). در ضمن بین جدایه های حساس با نیمه حساس بجز تتراساکلین در خصوص دیگر آنتی بیوتیک ها اختلاف آماری معناداری وجود دارد ($P \leq 0.05$) (تصویر ۱).

بحث

بیماری ورم روده نکروتیک به وسیله تکثیر باکتری کلوستریدیوم پرفرینجنز تیپ A یا C در روده کوچک ماکیان ایجاد می شود، از طرفی دو تیپ مذکور در انسان نیز سبب انترتوکسین می شوند، لذا به عنوان یک بیماری زئونوز مطرح می باشد. لازم به ذکر است که از میان ۱۷۰۹ عامل بیماری زا، ۸۳۲ عامل زئونوز می باشند (قربانی رنجبری، ۱۳۹۰). ورم روده نکروتیک در اروپا، آسیا و آمریکای شمالی در حال تبدیل شدن به یک بیماری عمومی است. در سال ۱۹۹۵، بیماری ورم روده نکروتیک ۴ درصد از بیماری های گزارش شده در فرانسه را شامل می شد و در سال ۱۹۹۹ این رقم به ۱۲/۴ درصد افزایش یافت (Drouin, ۱۹۹۹). Devriese و همکاران طی سال های ۱۹۹۱

ترکیب ضد باکتریایی نئومایسین سولفات با ۸۵ درصد، تتراسایکلین با ۸۱ درصد و لینکومایسین با ۷۱ درصد نشان دادند. همچنین کمترین مقاومت جدایه کلاستریدیوم پرفرینجنز نسبت به کلرامفتیکل با صفر درصد، ونکومایسین با ۹/۸ درصد و پنی سیلین با ۱۸/۷ درصد بود. Martel و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی خود حساسیت جدایه های کلاستریدیوم پرفرینجنز که از روده طیور گوشتی از ۳۱ مزرعه مختلف طیور گوشتی در بلژیک جدا شده بودند را نسبت به ۱۲ ترکیب آنتی بیوتیک که برای درمان، تحریک رشد یا پیشگیری از کوکسیدیوز به کار می رفت، ارزیابی نموده و نشان دادند که جدایه ها به طور یکسانی به آنتی بیوتیک های یونفورزه از قبیل مونسین، لازولاسید، سالینومایسین، مادورامایسین و ناراسین حساس بودند (Martel و همکاران، ۲۰۰۴). در این مطالعه نیز درصد بالایی از مقاومت نسبت به بعضی از آنتی بیوتیک ها مانند: تتراسایکلین، لینکومایسین و نئومایسین سولفات دیده شد. با

این حال Johansson و همکاران (۲۰۰۴)، دریافتند که مقاومت به تتراسایکلین در سویه های جدا شده از ۳ کشور سوئد با ۷۶ درصد، دانمارک با ۱۰ درصد و نروژ با ۲۹ درصد و در ۸۰ درصد جدایه های مقاوم به تتراسایکلین (با روش PCR) ۲ ژن مقاومت tetA(p) و tetB(p) شناسایی گردید و تنها در ۲۰ درصد جدایه های مقاوم به تتراسایکلین ژن tetA(p) وجود داشت. این درجات مقاومت به تتراسایکلین در جدایه های کلاستریدیوم پرفرینجنز طیور گوشتی در سوئد، در حالی بود که میزان مصرف تتراسایکلین در طیور این کشور در کمترین مقدار بود. در انتها به نظر می رسد با توجه به مقاومت دارویی بالای کلاستریدیوم پرفرینجنز، قبل از تجویز آنتی بیوتیک، انجام آزمایش آنتی بیوگرام الزامی می باشد. امید است با انجام آنتی بیوگرام در تجویز دارو در دامپزشکی از مقاومت دارویی جلوگیری شود و با درمان به موقع خطرات ناشی از انتقال بیماری های زئونوز کاهش یابد.



Study of drug resistance patterns of separated *Clostridium perfringens* from broiler in Fars province

Ghorbani-Ranjbry, A. ^{*1}, Asmarian, Sh.², Ghorbani-Ranjbry, N.^{1,3}, Ghorbani-Ranjbry, Z.³.

Received: 14.09.2012

Accepted: 19.02.2013

Abstract

Clostridium perfringens is a thick, gram positive and long bacteria (basil) that is seen in single or double. It is rarely like chain. Type C and D toxins of *Clostridium* cause necrotic enteritis in broiler. It is also cause enteric toxin in human. The aim of this study was to determine drug resistance patterns of separated *Clostridium perfringens* in broiler. Antibiogram test was performed after separation of 22 strains of *Clostridium perfringens* from broiler of Fars province and sensitivity to penicillin, chloramphenicol and vancomycin was recorded. Results were analyzed by using statistical software SPSS17. In this research, sensitivity in all 22 isolates of *Clostridium perfringens* to penicillin, vancomycin and chloramphenicol was 81.3 percent to 88.2 percent, while in the other antibacterial compounds such as tetracycline, lincomycin, neomycin sulfate resistance showed a 71% to 85%. Furthermore, all isolates showed resistance to more than one antibacterial compound. Also there was statistically significant difference ($P \leq 0.05$) between susceptible isolates and resistant isolates. According to drug resistance of *Clostridium perfringens* isolates to antibiotics tetracycline, lincomycin, neomycin sulfate before antibiotic prescription, antibiogram tests are required.

Key words: *Clostridium perfringens*, antibiotic resistance, antibiotics, broiler

1. Young Researchers and Elite Club, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

2. Departement of Pharmacology, Faculty of specialized Veterinary Science, Islamic Azad University, Kazeroon, Iran.

3. Khoramshahr Marine Science, Technology University, Khoramshahr, Iran.

*Corresponding author: Dr_alighorbani87@yahoo.com

جهان تیغ، م. ۱۳۸۶. بیماری های عفونی دستگاه گوارش طیور. ویرایش یکم. تهران: انتشارات نوربخش. ص: ۱۵-۲۰.
 قربانی رنجبری، ع. ۱۳۹۰. زئونوزهاوراه های پیشگیری. ویرایش یکم. شیراز. انتشارات نامه پارسی. ص: ۲۴-۲۵.
 سلطان دلال، م.، محمدیان، ز.، غریبیان، ن. ۱۳۸۰. میزان آلودگی ماکارونی تولید شده به کلستریدیوم پرفرینجنز در منطقه جاجرد-رودهن، مجله علوم پزشکی گرگان، ۳(۱)، ۲۰-۲۴.

- Robert**, E., Porter, J.R. 1998. Bacterial enteritides of poultry. *Science*, **77**, 1159-1162.
- Devriese**, L.A, Daube, G., Hommeze, J., Haesebrouck, F. 1993. In vitro susceptibility of clostridium perfringens isolated from farm animals to growth- enhancing antibiotics. *Journal of Applied Bacteriology*, **75**, 55-57.
- Drouin**, P. 1999. Rerour en farce de I enterite necrotique. *Filieres Avicles*, 78-79.
- Dutta**, G.N., Devriese, L.A. 1981. Macrolid- Lincosamide-steptogramin resistance patterns in clostridium perfringens from animals. *Antimicrobial Agents of Chemotherapy*, **19(2)**, 274-278.
- Johansson**, A., Greko, C., Engstrom, B.E., Karlsson, M. 2004. Antimicrobial susceptibility of Swedish, Norwegian and Danish isolates of *Clostridium perfringens* from poultry, and distribution of tetracycline resistance genes. *Veterinary Microbiology*, **99(3-4)**, 251-257.
- Jung**, W.k. 1983. Susceptibility of 50 isolates of vencomycin. *Chemotherapy*, **29(2)**, 99-103.
- Martel**, A., Devriese, L.A., Cauwerts, K., De Gussem, K., Decostere A., Haesebrouck, F. 2004. Susceptibility of *Clostridium perfringens* strains from broiler chickens to antibiotics and anticoccidials. *Avian Pathology*, **33**, 3-7.
- Miller**, D.A. 1998. Clostridial diseases, P. 61. In D. E. Swayne, J.R. Glisson, M.M. Jakwood, J.E. pearson, W.M. Reed (ed.), *A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens*. 4ed., American Association of Avian Pennsylvania, USA.
- Quinn**, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., Donnelly, W.J., Leonard, F.C. 2002. *Veterinary Microbiology and Microbial Diseas*. Black Well publishing, Iowa State press, USA., pp:28-35.
- Summanen**, P., Baron, E.N., Citron, J., Strong, D.M., Wexler, H.M., Firegold, S.M. 1993. *Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual*. 5 ed., Star publishing company, Belmont. California, pp: 248-288.
- Tansuphasiriu**, M.W., Sang, S.K.L. 2005. Antimicrobial Resistance among *clostridium perfringens* solated from various sources in Thailand. *Southeast. Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, **36(4)**, 954-961.
- Watkins**, K.L., shryock, T.R., Dearth. R.N., Saif, Y.M. 1997. In vitro antimicrobial susceptibility of clostridium perferingens from commercial turkey and broiler chikens origim. *Veterinary Microbiology*, **54(2)**, 195-200.