



بررسی سیمای مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های جدا شده از لاشه های طیور شهرستان سمنان

خاطره کفشدوزان^{۱*}، عباس مومنی^۲، بهنام روزبهان^۲، سارا عالی^۲، نگار دامغانیان^۳

مقدمه و هدف: طبیعت خاص پرورش طیور باعث بروز بیماریهای متعدد از جمله بیماری های باکتریایی در طیور شده است. با توجه به روند رو به گسترش مصرف آنتی بیوتیک ها و شیوع روز افزون مقاومت های آنتی بیوتیکی در این مطالعه مقاومت و حساسیت باکتریهای موجود در لاشه طیور شهرستان سمنان به آنتی بیوتیکهایی از گروه تترا سایکلین ها- آمینو پنی سیلین ها- آمینو گلیکوزیدها- کینولنها و سایر گروههای آنتی بیوتیکی رایج مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار: در این مطالعه سیمای مقاومت آنتی بیوتیکی تعداد ۲۳۰ نمونه باکتری جدا شده از موارد مختلف عفونت که به آزمایشگاه های دامپزشکی سطح شهرستان سمنان مراجعه کرده بودند با روش Kirby bauer مورد بررسی قرار گرفت. در این روش بر اساس قطر هاله ی حساسیت ایجاد شده در هر باکتری، باکتری مورد نظر در گروه مقاوم، نیمه حساس، حساس و با حساسیت زیاد قرار گرفت. نتایج حاصل توسط نرم افزار آنالیز آماری sas، با روش anova در توزیع نرمال مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج : یافته های حاصل از این بررسی نشان می دهد، بیشترین حساسیت باکتری های جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک فوزباک وجود دارد (۴۸.۸ درصد) فلورفنیکول و سولتریم به ترتیب در مقام دوم و سوم قرار دارند. در این بررسی بیشترین مقاومت نیز به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، جنتامایسین، اکسی تترا سایکلین، فلومکوئین و اریترومایسین (۱۰۰ درصد) گزارش گردید.

بحث: فوزباک یک آنتی بیوتیک وسیع الطیف با ماده موثره فسفومایسین است. این آنتی بیوتیک یک باکتری سید قوی موثر بر باکتری گرم مثبت و گرم منفی است که از سنتز دیواره ی باکتری ها جلوگیری می کند. از آنجائیکه این آنتی بیوتیک به تازگی مورد مصرف قرار گرفته است نسبت به سایر آنتی بیوتیک ها که مدت مدیدی از مصرف آنها می گذرد موثرتر عمل می کند. لذا توصیه می شود جهت پیشگیری از بروز مقاومت به این آنتی بیوتیک، از مصرف بی رویه و بی مورد آن پرهیز شود و ترجیحا با دوز کمتر به همراه آنتی بیوتیک های سینرژیست مصرف شود. همچنین با توجه به اینکه فاکتور های مقاومت دارویی عمدتا بر روی پلاسمید ها یا ترانسپوزون ها قرار دارند و باکتری ممکن است در شرایط مختلف فاکتور جدیدی را کسب کرده و یا از دست بدهد، بنابراین بررسی الگوی مقاومت در مناطق و زمان های مختلف جهت اخذ سیاست های مناسب ضروری به نظر می رسد.

واژه های کلیدی: آنتی بیوگرام، مقاومت آنتی بیوتیکی، لاشه طیور شهرستان

۱. استادیار بخش میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان،

۲. دامپزشک بخش خصوصی

۳. دانشجوی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان

*نویسنده مسؤول: kkafshdouzan@yahoo.com



مقدمه

کشف مواد ضد میکروبی از جمله آنتی بیوتیک ها در قرن بیستم یکی از ترقیات شگرفی است که بشر با یاری جستن از آن توانست بسیاری از بیماری های واگیردار را سرکوب کند و یا تحت کنترل در آورد. اما مدت زیادی طول نکشید که دانشمندان متوجه شدند بعضی از میکروب ها، نسبت به داروهای مذکور مقاوم شده اند. اگر چه امروز دانشمندان تلاش می کنند تا داروهای جدید که حساسیت بیشتری دارند به بازار عرضه کنند اما به موازات این تلاش ها، باکتری ها نیز درصد ایجاد تغییراتی برای فرار از اثر آنتی بیوتیک ها برآمده اند. چرا که میکروارگانیزم ها موجودات زنده ای هستند که برای بقا خود تلاش می کنند و نسبت به ناسازگاری های پیرامون، واکنشی در جهت سازگاری نشان می دهند تا بتوانند به زندگی خود ادامه دهند. (باکتری شناسی عمومی، دکتر تاج بخش) امروزه در پرورش صنعتی طیور به دلایل مختلف نظیر پیشگیری از عفونت های ثانویه باکتریایی، تحریک رشد و درمان عفونت از آنتی بیوتیک های مختلف به میزان زیادی استفاده می شود. از آنجاییکه مصرف این آنتی بیوتیک ها عمدتاً به صورت خود سرانه و بدون تجویز دامپزشک می باشد بروز مقاومت های آنتی بیوتیکی روز به روز در حال گسترش است. با توجه به اینکه صنعت طیور، سهم عمده ای در تامین منابع پروتئینی با ارزشی نظیر گوشت و تخم مرغ در جمعیت های انسانی ایفا می کند سلامت این فرآورده ها از اهمیت بسیاری برخوردار است. تحقیقات نشان می دهد گوشت طیور و تخم آنها ممکن است حاوی مقادیر بسیار زیاد انواع داروها نظیر آنتی بیوتیک ها باشد که از طریق زنجیره ی غذایی به انسان منتقل می شود. بنابر این بروز مقاومت های آنتی بیوتیکی از یک طرف موجب شکست درمان و تحمیل خسارت های زیاد به صنعت طیور شده و از طرف دیگر موجب انتقال مقاومت های آنتی بیوتیکی به جمعیت های انسانی و عوارض بسیار زیاد بالتبع آن می شود.

در این مطالعه تلاش می شود با بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های جدا شده از لاشه های طیور ارجاع داده شده به آزمایشگاههای دامپزشکی شهرستان سمنان که یکی از قطب های مهم صنعت پرورش طیور کشور محسوب می شود آنتی بیوتیک های مناسب معرفی گردیده تا اقدامات مدیریتی لازم جهت مصرف بهینه آن ها از سوی مراجع ذیربط صورت گرفته و از گسترش بیشتر مقاومت ها جلوگیری به عمل آید.

مواد و روش کار: جمع آوری نمونه:

طی مدت شش ماه دویست و سی نمونه لاشه ی طیور که به آزمایشگاه های دامپزشکی شهرستان سمنان مراجعه کرده بودند مورد بررسی قرار گرفتند.

کشت باکتری شناسی:

در آزمایشگاه میکروبیولوژی، پس از سوزاندن سطح هر قلب، توسط تیغ اسکالپل داغ، به وسیله ی یک آنس پلاتین استریل، از خون قلب، اقدام به اخذ نمونه شده و هر کدام از نمونه ها بصورت خطی در محیط بلاد آگار کشت گردید.

تعیین مقاومت دارویی:

جهت تعیین حساسیت باکتری جدا شده نسبت به داروهای آنتی باکتریال رایج، روش کیفی آزمایش حساسیت باکتریایی انتشار دیسک به روش استاندارد Kirby-bauer مورد استفاده قرار گرفت. این روش بر اساس انتشار آنتی بیوتیک بر روی محیط آگاردار و ممانعت از رشد باکتری حساس در محوطه ی حرکت استوار است. از محیط کشت muller-hinton agar جهت این منظور استفاده شد. ۱۷ عامل آنتی باکتریال عبارت بودند از:

lincospection, Florfenicol ,
Enrofloxacin, Difloxacin , Doxycycline
, Tetracycline, oxytetracycline, chlortet-
racycline, sultrim(Sd+TMP), Flumequine
, Neomycine , Erythromycin, Colistin
, Ampicillin, Gentamycin, Fosbac

غلظت معادل لوله نیم مک فارلند (Mcfarland) از هر باکتری تهیه و به محیط مولر هینتون منتقل شد. در این روش دیسک های کاغذی که حاوی آنتی بیوتیک های مختلف با غلظت معین بودند مورد استفاده قرار گرفت. دیسک ها بر روی محیط کشت قرار داده شدند. آنتی بیوتیک موجود در دیسک در آگار اطراف خود نفوذ کرده و در صورت حساس بودن، مانع رشد میکروب مورد آزمایش شده، هاله ای در اطراف دیسک ایجاد می شود. با اندازه گیری قطر هاله و مقایسه ی آن با جداول استاندارد و راهنمای کمیته ملی استاندارد آزمایشگاهی بالینی (NCCLS) نمونه مورد نظر تحت عناوین فوق حساس (ultra sensitive)، حساس (sensitive)، نیمه حساس (intermediate) و یا مقاوم گزارش گردید. در پایان نتایج حاصل توسط نرم افزار انالیز اماری sas9.2 با روش anova توزیع نرمال مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.



نتایج:

نتایج حاصل از این بررسی نشان می دهد بیشترین حساسیت باکتری های جدا شده در فصل بهار نسبت به آنتی بیوتیک فوزباک (۴۸.۸ درصد) و سپس به ترتیب نسبت به آنتی بیوتیک های فلورفنیکول و سولتریم و کلیستین وجود دارد. در سه ماهه ی نخست سال بیشترین مقاومت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، جنتامایسین، تترا سایکلین اکسی تترا سایکلین، فلومکوئین و اریترومایسین (۱۰۰ درصد) گزارش گردید. (جدول شماره ی ۱) در سه ماهه ی دوم سال ۹۱ نیز نتایجی تقریباً مشابه با سه ماهه ی اول مشاهده گردید. همچنین علاوه بر آنتی بیوتیک های با مقاومت ۱۰۰ درصد در فصل بهار، آنتی بیوتیک های Neo-Lincospection و mycin نیز مقاومت ۱۰۰ درصدی ایجاد نمودند. (جدول شماره ی ۲) با توجه به تعداد زیاد نمونه های مورد بررسی و همچنین تعدد آنتی بیوتیک های مورد مطالعه، الگوهای مقاومتی متنوعی حاصل گردید.

بحث:

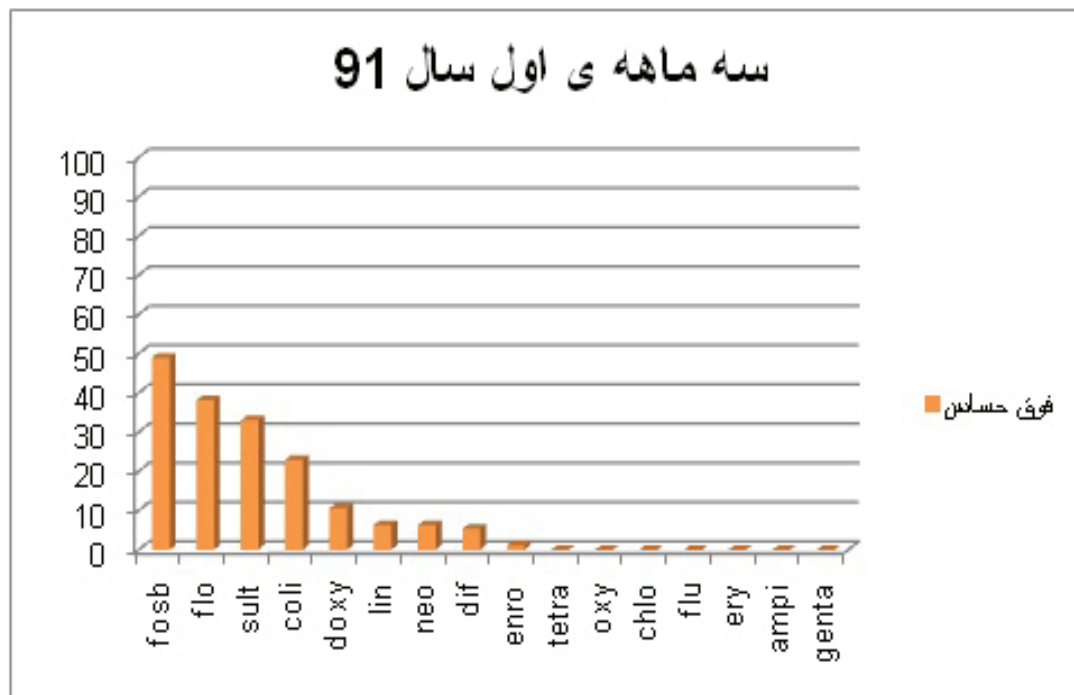
مطالعات گسترده ای در نقاط مختلف جهان، از جمله ایران جهت تعیین الگوی مقاومت سویه های مختلف جدا شده از عفونت های متنوع طیور صورت گرفته است. در مطالعه ی حاضر الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های جدا شده از موارد عفونت در لاشه های ارجاع داده شده به آزمایشگاههای دامپزشکی شهرستان سمنان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه می تواند در برنامه ریزیهای بهداشتی و درمانی صنعت طیور مورد استفاده ی سیاست گزاران این بخش قرار گیرد. الگوی مقاومت دارویی در مناطق مختلف و مقاطع زمانی متفاوت و حتی در یک ناحیه ممکن است متفاوت باشد. این تفاوت، احتمالاً ناشی از تفاوت در نوع، میزان و تداوم مصرف ترکیبات آنتی باکتریال است. با این وجود الگوی مقاومت باکتریایی یک نشانگر مفید برای جدایه های باکتریایی یک منطقه به شمار می آید. در این مطالعه، بیشترین حساسیت مشاهده شده مربوط به سه آنتی بیوتیک فوزباک، فلورفنیکل و سولتریم بود. در مطالعه صورت گرفته توسط رجائیان و همکاران نیز که لاشه های طیور گوشتی اطراف شیراز را مورد بررسی قرار دادند بیشترین حساسیت نسبت به کلرامفنیکل گزارش شد. (رجائیان و همکاران ۱۳۸۷) کلرامفنیکل و فلورامفنیکل با اتصال به تحت واحد ۵۰S ریبوزوم و ممانعت قابل برگشت از پروتئین سازی مانع از رشد باکتری ها می شوند

قابل برگشت از پروتئین سازی مانع از رشد باکتری ها می شوند (باکترشناسی عمومی، دکتر تاج بخش). این آنتی بیوتیک بر طیف وسیعی از باکترهای گرم مثبت، گرم منفی، ریکتزیا، کلامیدیا و هموفیلوس انفلوانزا موثر است. (باکتری شناسی عمومی، دکتر تاج بخش) اگرچه همانطور که اشاره شد الگوی مقاومت میکروبی جدایه های مناطق مختلف ممکن است با یکدیگر متفاوت باشد اما نتایج حاصل از مطالعه حاضر با نتایج نامبردگان تا حدی مطابقت دارد. در مطالعه مشابه دیگری که توسط رجائیان و همکاران در سال ۱۳۸۲ بر روی برخی از عوامل باکتریایی متداول در جوجه های گوشتی اطراف شیراز صورت گرفت بیشترین مقاومت نسبت به پنی سیلین و کمترین مقاومت نسبت به جنتا مایسین گزارش شد (رجائیان و همکاران ۱۳۸۲). این یافته صحت مطالب فوق مبنی بر تفاوت الگوی مقاومت در زمان های مختلف را تایید می کند. فوزباک یک آنتی بیوتیک وسیع الطیف با ماده موثره فسفومایسین است. این آنتی بیوتیک یک باکتری سید قوی موثر بر باکتری گرم مثبت و گرم منفی است که از سنتز دیواره ی باکتری ها جلوگیری می کند. از آنجائیکه این آنتی بیوتیک به تازگی مورد مصرف قرار گرفته است نسبت به سایر آنتی بیوتیک ها که مدت مدیدی از مصرف آنها می گذرد موثرتر عمل می کند. لذا توصیه می شود جهت پیشگیری از بروز مقاومت به این آنتی بیوتیک، از مصرف بی رویه و بی مورد آن پرهیز شود و ترجیحاً با دوز کمتر به همراه آنتی بیوتیک های سینرژیست مصرف شود. فاکتورهای مقاومت دارویی عمدتاً بر روی پلاسمیدها یا ترانسپوزون ها قرار دارند و باکتری ممکن است در شرایط مختلف فاکتور جدیدی را کسب کرده و یا از دست بدهد. بنابراین بررسی الگوی مقاومت در مناطق و زمان های مختلف جهت اخذ سیاست های مناسب ضروری به نظر می رسد (خوشخو و علی نژاد ۱۳۸۸). همچنین با توجه به روند رو به گسترش مقاومت های آنتی بیوتیکی توصیه می شود با رعایت اصول مناسب تغذیه و بهداشت نظیر استفاده از شیوه های مدیریتی مناسب مانند: انتخاب جوجه ی سالم، تغذیه مناسب، بهسازی بستر، معدوم سازی جوجه های مبتلا و جلوگیری از ورود بیماری به فارم و همچنین واکسیناسیون به موقع می توان از ابتلا به بیماری های طیور تا حد زیادی جلوگیری کرد تا از مصرف آنتی بیوتیک های مختلف کاسته شده و به سمت تولید فرآورده های بدون آنتی بیوتیک گام برداریم.



بهار	فوق حساس	حساس	نیمه حساس	مقاوم
Lin	۶.۲۵	۰	۰	۹۳.۷۵
Flo	۳۸.۱	۶.۱	۶.۲	۴۹.۶
Enro	۱.۱	۱۶.۰	۱۵.۶	۶۷.۳
Dif	۵.۳	۱۰.۲	۶.۱	۷۸.۳
Doxy	۱۰.۶	۱.۹	۷.۱	۸۰.۴
Tetra	۰	۱.۱	۰	۹۸.۹
oxy	۰	۰	۰	۱۰۰
chlo	۰	۲.۳	۴.۲	۹۳.۵
sult	۳۳.۰	۴.۲	۰.۸	۶۲.۰
flu	۰	۰	۰	۱۰۰
neo	۶.۲	۰	۱.۶	۹۲.۲
ery	۰	۰	۰	۱۰۰
coli	۲۲.۹	۵۷.۳	۰	۱۹.۸
ampi	۰	۰	۰	۱۰۰
genta	۰	۰	۰	۱۰۰
fosb	۴۸.۹	۰	۰	۵۱.۱

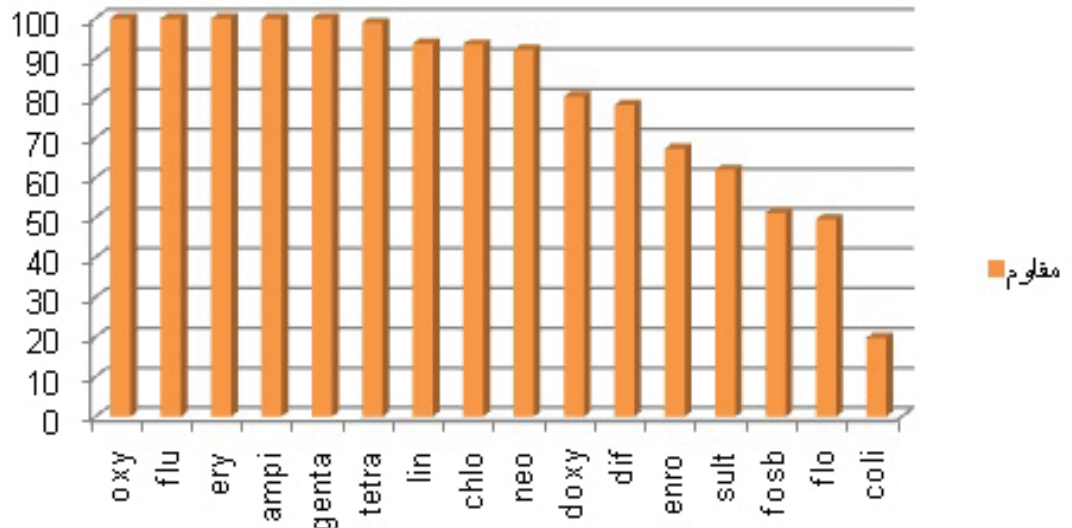
جدول ۱: میزان حساسیت (درصد) نمونه ها به آنتی بیوتیک های مختلف در فصل بهار



نمودار ۱: میزان پاسخ فوق حساس نمونه ها به آنتی بیوتیک ها در فصل بهار



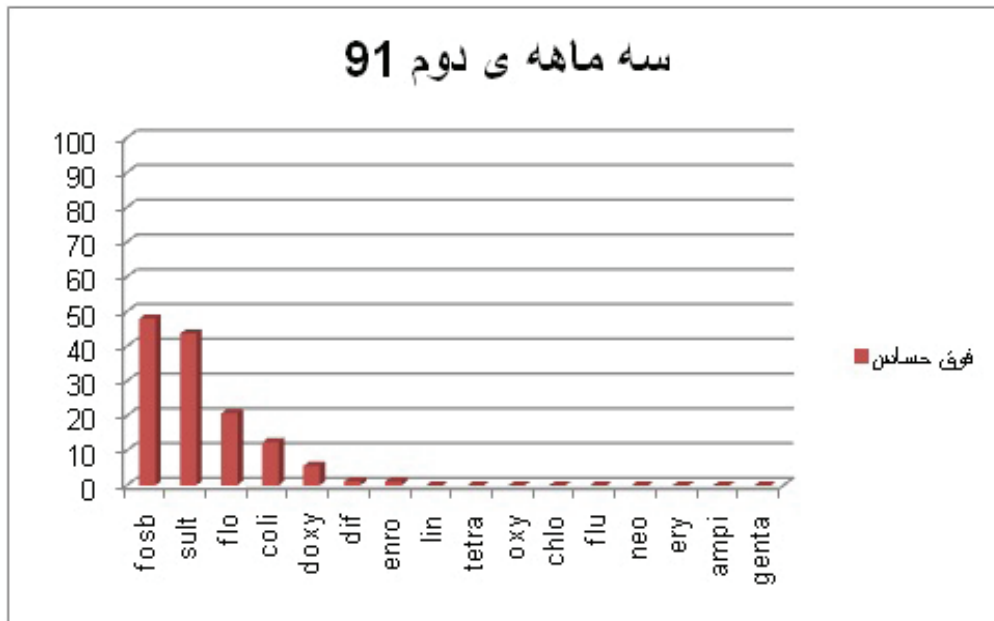
سه ماهه ی اول سال 91



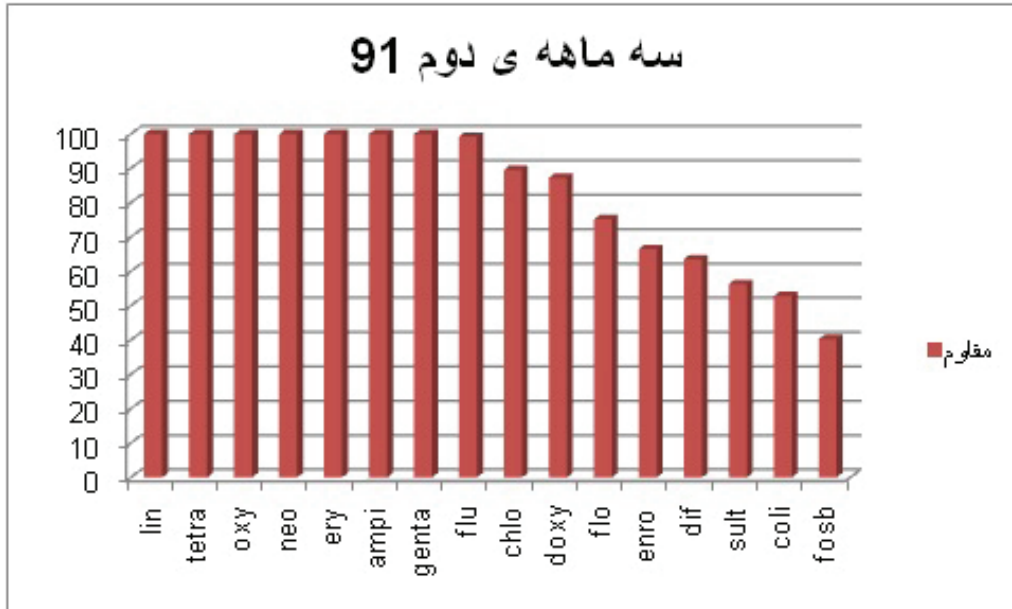
نمودار شماره ۲: میزان پاسخ مقاوم نمونه ها به آنتی بیوتیک ها در فصل بهار

بهار	فوق حساس	حساس	نیمه حساس	مقاوم
Lin	۰	۰	۰	۱۰۰
Flo	۲۰.۷	۱.۷	۲.۴	۷۵.۲
Enro	۱.۱	۲۰.۷	۱۱.۷	۶۶.۵
Dif	۱.۲	۱۲.۷	۲۲.۶	۶۳.۵
Doxy	۵.۶	۷۰.۱	۰	۸۷.۳
Tetra	۰	۰	۰	۱۰۰
oxy	۰	۰	۰	۱۰۰
chlo	۰	۵.۶	۴.۸	۸۹.۶
sult	۴۳.۷	۰	۰	۵۶.۳
flu	۰	۰	۰.۸	۹۹.۲
neo	۰	۰	۰	۱۰۰
ery	۰	۰	۰	۱۰۰
coli	۱۲.۴	۳۴.۸	۰	۵۲.۸
ampi	۰	۰	۰	۱۰۰
genta	۰	۰	۰	۱۰۰
fosb	۴۸.۰	۶.۹	۴.۸	۴۰.۳

جدول شماره ۲: میزان حساسیت (درصد) نمونه ها به آنتی بیوتیک های مختلف در فصل تابستان



نمودار شماره ۳: درصد پاسخ فوق حساس نمونه ها به آنتی بیوتیک ها در فصل تابستان



نمودار شماره ۴: درصد پاسخ مقاوم نمونه ها به آنتی بیوتیک ها در فصل تابستان



Investigation of resistance profile in some strains isolated from poultry carcasses in Semnan

Abstract

The specific nature of poultry nurture, causes to several bacterial diseases and increased application of antibacterial agents, followed by outbreak of antibacterial resistance. the aim of this study is determination of resistance profile in some strains isolated from poultry carcasses in Semnan.

Materials and methods: in this study the profile of 230 samples isolated from poultry septicemic carcasses referred to veterinary laboratories in semnan were investigated by Kirby Bauer method. According to this method each bacterium classified in to resistant, semi sensitive, sensitive and high sensitive group.

Results: the results of this study showed ,more isolates(48.8 %) are sensitive to Fosbac and all isolates are resistance to Ampicilin, Gentamycin and Oxy tetracycline.

Conclusion: Fosbac is a wide spectrum antibiotic based on phosphomycin that inhibits cell wall synthesis. since this antibiotic have applied recently, most of isolates are sensitive. Because of most of resistance factors specially in gram negative bacteria possess with plasmids and it can transferred between bacteria, the profile of resistance is variable in different regions, so its nessecery to be developed a good policy in use of aniibiotics.

منابع

- تاج بخش، ح، ۱۳۸۰، باکتری شناسی عمومی، چاپ پنجم، انتشارات دانشگاه تهران.
- دانشگر، پ، رجائیان، ح، فیروزی، ر، ۱۳۸۷ بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی در سالمونلا و اشریشیاکلاهی های جدا شده از جوجه ها در اطراف شیراز، مجله تحقیقات دامپزشکی، شماره ۲۵۰، صفحه ۳۴۱.
- حیدری دزفولی، ف، رجائیان، ح، فیروزی، ر، جلایی، ج، ۱۳۸۲ مقاومت آنتی بیوتیکی برخی عوامل باکتریایی متداول جوجه های گوشتی در مرغداری های اطراف شیراز، مجله تحقیقات دامپزشکی شماره ۲۳۱، صفحه ۲۲۳.
- خوشخو، پ، علی نژاد، الف، ۱۳۸۸، الگوهای مقاومت آنتی باکتریال در اشریشیاکلاهی های جدا شده از جوجه های گوشتی مبتلا به کلی باسیلوز در استان گلستان، مجله پژوهش های بالینی دامپزشکی شماره اول، صفحات ۳۹-۴۷.

Mahoon, CR and Mansuselis G (1995).Textbook of diagnostic microbiology, WB Sanders Company, Philadelphia, pp: 66-68.

Finegold SM, Baron EJ. (2002) Diagnostic microbiology. ST Louis: mosby company.

Prescott LM., Harley JP and Klein KA. (2002) Microbiology, 5th Ed., McGraw-Hill company, UK, pp: 53-66, 297-301, 790 and 787-820.