

## Isolation and survey for drug resistance of *Campylobacter jejuni* in poultry feces in kerman

Shahrmaz banuo Ashrafganjooyi ,Nosratollah Saeide Adeli

Department of Microbiology , school of Afzalipour Medicine , kerman university of Medical science ,kerman ,Iran

### Article Information

#### Article history:

Received: 2014/09/03

Accepted: 2015/01/24

Available online:2016/01/10

#### Article Subject:

Medical Bacteriology

IJMM 1394; 9(4): 95-98

#### Corresponding author at:

Ms Shahrmaz banuo Ashrafganjooyi

Department of Microbiology ,  
school of Afzalipour Medicine  
, kerman university of Medical  
science ,kerman ,Iran.

#### Tel:

+98 343 3257665

#### Email:

Sh\_ashrafganjooyi@Kmu.ac.ir

### Abstract

**Background and Aim:** *Campylobacter* spp. are pathogenic for human and animals. They are transmitted from animals and animal products to human and cause diarrhea and systemic disease. *Campylobacter jejuni* is the main species and the most common human pathogen. The aim of this study is the isolation of *Campylobacter jejuni* from the poultry feces and determination of their drug resistance pattern.

**Materials and Methods:** In this survey, within 2 years, 600 poultry feces samples randomly were collected from Islamkish in kerman. Collected samples were from some section of poultry. The feces containment were inoculated into *campylobacter selective medium* containing antibiotics and sheep blood agar and then were incubated in microaerophilic condition in 42 °C. The resulted colonies were confirmed to the species level using diagnostic tests. Drug resistance pattern against three antibiotics including tetracycline, ampicillin and co-trimoxazole was determined by disk diffusion method.

**Results and Conclusion:** In this survey, 190 (31.66%) *C. jejuni* were isolated. Drug resistance pattern showed that the prevalence of resistance to tetracycline, ampicillin and co trimoxazole were 54%, 54, and 91%, respectively. Regarding to the results, *C. jejuni* isolated in this study in Kerman had been more resistant to co-trimoxazole.

**Key Words:** Poultry disease, *Campylobacter* spp, Drug resistance

Copyright © 2016 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

### How to cite this article:

Ashrafganjooyi S B, Saeide Adlei N. Isolation and determine antibiotic susceptibility of *Campylobacter jejuni* in poultry feces in kerman. Iran J Med Microbiol. 2016; 9 (4) :95-98



## جداسازی و بررسی الگوی مقاومت داروئی کمپیلوباکتر ژژونی از مدفوع مرغ در کرمان

شهرناز بانو اشرف گنجوئی ، نصرت اله سعید عادل

گروه میکروبیولوژی شناسی دانشکده پزشکی افضلی پور ، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

زمینه و هدف: کمپیلوباکترها جزء باکتری های بیماریزاهای انسانی و حیوانی می باشند که از طریق حیوانات و محصولات حیوانی به انسان منتقل می گردند و باعث اسهال و بیماریهای سیستمیک می شوند. کمپیلوباکتر ژژونی گونه اصلی و به عنوان بیماریزای شایع انسانی است. هدف از این تحقیق جداسازی کمپیلوباکتر ژژونی از مدفوع مرغ و بررسی الگوی مقاومت داروئی آنها می باشد.

### تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۳/۰۶/۱۲

پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۰۴

انتشار آنلاین: ۱۳۹۳/۱۰/۲۰

### موضوع:

باکتری شناسی پزشکی

IJMM 1394; 9(4): 95-98

**مواد و روش ها:** در این مطالعه در طی دو سال، ۶۰۰ نمونه مدفوعی بطور تصادفی از کشتارگاه اسلام کیش در حومه کرمان از قسمت سکوم مرغ جمع آوری شد. محتویات مدفوع بر روی محیط انتخابی کمپیلوباکتر حاوی آنتی بیوتیک و خون گوسفند تلقیح شد. سپس در شرایط میکروائروفیلیک در حرارت  $42^{\circ}\text{C}$  گرماگذاری شدند. کلنی های به دست آمده براساس تست های تشخیصی تأیید شدند. الگوی مقاومت داروئی باکتریهای جداشده، نسبت به سه آنتی بیوتیک تتراسایکلین ، آمپی سیلین و کوتریموکسازول با روش انتشار در آگار تعیین شد.

### نویسنده مسئول:

شهرناز بانو اشرف گنجوئی

**یافته ها و بحث:** در این بررسی ۱۹۰ (۳۱/۶۶ درصد) باکتری کمپیلوباکتر ژژونی جدا شد. بررسی الگوی مقاومت داروئی میزان مقاومت کمپیلوباکترها نسبت به تتراسایکلین ، آمپی سیلین و کوتریموکسازول را به ترتیب ۵۴ ، ۹۱ و ۵۴ درصد نشان داد با توجه به نتایج به دست آمده درصد بالایی از ایزوله های کمپیلوباکتر ژژونی جداشده در کرمان نسبت به کوتریموکسازول مقاوم بودند .

گروه میکروبیولوژی شناسی دانشکده پزشکی افضلی پور ، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ، ایران

تلفن: ۰۳۴۱۳۲۲۱۶۶۵۲

### پست الکترونیک:

Sh.ashrafganjooyi@kmu.ac.ir

### کلمات کلیدی: مدفوع مرغ ، کمپیلوباکتر ، مقاومت داروئی

کپی رایت © حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبیولوژی شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

### مقدمه

از این باکتریها می باشد. با توجه به درصد آلودگی بالای انسان به کمپیلوباکترها (۲۲٪ تا ۳۳٪) در مقایسه با میزان آلودگی به سالمونلاها (۳/۵٪) اهمیت تشخیص عفونت ناشی از کمپیلوباکتر در انسان و دام قابل توجه می باشد (۱۳). با توجه به اینکه مطالعه ای در این زمینه در کرمان انجام نشده است، هدف از این بررسی تعیین میزان شیوع کمپیلوباکتر ژژونی در مدفوع مرغ و بررسی مقاومت داروئی آن می باشد .

کمپیلوباکترها باکتریهای گرم منفی، متحرک و میکروائروفیلیک به شکل S یا شبیه پرند در حال پرواز ( اشکال گالوی ) که عامل اسهال و بیماریهای سیستمیک بوده و از شایع ترین عوامل عفونت های منتقل شونده از طریق حیوانات در جهان هستند (۵،۷،۸،۱۲). این باکتریها اولین بار در سال ۱۸۸۶ توسط Theodore Escherich مشاهده شده اند. کمپیلوباکتر ژژونی گونه شایع این جنس می باشد که از عوامل بیماریزای شایع در انسان، بخصوص در کودکان می باشد (۱۲). عفونت کمپیلوباکتر در حیوانات اهلی نیز شیوع جهانی دارد. امروزه کمپیلوباکترها از شایع ترین علل اسهال های باکتریایی در سراسر جهان محسوب شده و بر طبق آمارهای جهانی ۲٪ تا ۲۵٪ از موارد اسهالی ناشی

### مواد و روش ها

در این تحقیق که از اسفند ماه سال ۸۶ تا اسفند ماه ۸۸ به طول انجامید ، ۶۰۰ نمونه سکوم مرغ به طور تصادفی هر ماه ۲۰ تا ۳۰ نمونه (به طور متوسط ۲۵ نمونه)، از کشتارگاه اسلام کیش با استناد به پرسشنامه های که اطلاعات مرغداری ها در آن ثبت شده

جدول ۱: توزیع انتشار در آگار (دیسک دیفیوژن) بر حسب آنتی بیوتیک های تتراسایکلین ، آمپی سیلین و کوتریماکسازول

آنتی بیوتیک	مقاوم (درصد)	نیمه حساس (درصد)	حساس (درصد)
تتراسایکلین	۱۰۳ (۵۴)	۴۰ (۲۱/۲)	۴۷ (۲۴/۸)
آمپی سیلین	۱۰۳ (۵۴)	۲۲ (۱۱/۶)	۶۵ (۳۴/۴)
کوتریماکسازول	۱۷۳ (۹۱)	۵ (۲/۶)	۱۲ (۶/۴)

عفونت کمپیلوباکتر در حیوانات اهلی نیز دیده می‌شود. این باکتریها از مدفوع مرغ نیز جدا می‌شوند و انسان از طریق خوردن غذاهای نظیر گوشت مرغ یا تخم مرغ آلوده، مبتلا به اسهال می‌گردد (۱۲). بر اساس بررسی‌های انجام شده تاکنون گزارشی از میزان شیوع و مقاومت دارویی این باکتری در کرمان گزارش نشده است. در شهرکرد در یک بررسی که بر روی آلودگی طیور به کمپیلوباکتر ژرژونی در سال ۱۳۸۱ انجام گرفته، ۶۴/۷۵ درصد باکتری جدا شده است (۱۲).

مقاومت باکتری نسبت به آنتی بیوتیکها یک مسئله بحرانی در سلامت عمومی است. با توجه به اینکه کمپیلوباکتر عامل بیماریهای اسهال منتقل شونده از طریق غذا به انسان در سرتاسر جهان میباشد (۶،۹)، احتیاج به درمان آنتی بیوتیکی دارد (۶). در مطالعه ای در کانادا از ۲۷۵ نمونه دامی، ۵۲ درصد کمپیلوباکتر ژرژونی جدا شد، که بیشترین مقاومت (۳۹ درصد) را به تتراسایکلین داشته اند (۱۱). در بررسی در استرالیا از ۳۹ مزرعه مرغداری، ۱۲۵ کمپیلوباکتر ژرژونی جدا شد، که به ترتیب ۱۸/۴ درصد و ۱۷/۶ درصد از جدایه‌ها نسبت به تتراسایکلین و آمپی سیلین مقاوم بوده اند (۱۰). در مطالعه ای در مریلند شیوع کمپیلوباکتر در فراورده های مرغی، ۷۴ درصد گزارش شده که ۸۲ درصد نسبت به تتراسایکلین مقاوم بوده اند، (۵). بر اساس یافته های Luber و همکارانش در آلمان میزان مقاومت آنتی بیوتیکی ایزوله های کمپیلوباکتر قویاً افزایش یافته است. این محققین پیشنهاد می کنند که حداقل بعضی از سویه های کمپیلوباکتر که عامل عفونت در انسان هستند، از منابع مرغی و دیگر منابع حیوانی منشأ گرفته اند (۹). با توجه به اینکه در این مطالعه در کرمان ۱۹۰ کمپیلوباکتر ژرژونی (۳۱/۶۶) درصد از مدفوع مرغ جدا شده و با توجه به بررسی الگوی مقاومت دارویی آنها و مقایسه با مطالعات در دیگر کشورها، این بررسی به درمان دارویی اسهال و بیماریهای سیستمیک ناشی از کمپیلوباکتر ژرژونی کمک کرده و پیشنهاد می‌گردد که در این زمینه مطالعات بیشتری در دیگر نقاط کشور انجام بگیرد.

### تشکر و قدردانی

با تشکر و قدردانی از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان و اعضا گروه میکروبی شناسی و آقای محمدحسین صالحی

بود، جمع آوری گردید. این کشتارگاه مرکز جمع آوری نمونه‌ها از مرغداری‌های شمال، جنوب، شرق و غرب کرمان است. نمونه‌ها در ظروف استریل به آزمایشگاه میکروبی شناسی دانشکده پزشکی اهلی پور کرمان منتقل شدند. در آزمایشگاه سکوم را پاره کرده و محتویات مدفوع در ۱۰ ml محیط کشت (Himedia) - Cam- *pylobacter enrichment broth* (بدون آنتی بیوتیک) مخلوط و با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس ۰/۲ ml از مایع رویی که حاوی باکتری مورد نظر است، به منظور غنی سازی به محیط *Campylobacter enrichment broth* حاوی آنتی بیوتیک های ( پلی میکسین B، ریفامپین، تری متوپریم و سیکوهگزامید ) و خون گوسفند تلقیح شد و در شرایط میکروانروفلیک ( جار حاوی گازیک C ) در درجه حرارت ۴۲ C<sup>۰</sup> به مدت ۷۲ ساعت گرماگذاری گردید. باکتریها رشد کرده از این محیط بر روی محیط کشت *Campylobacter selective Agar* حاوی آنتی بیوتیکهای (پلی میکسین B، وانکومایسین، تری متوپریم، آمفوتریسین B، سفالوتین) ( شرکت هایمدیا، هند) و خون گوسفند کشت شده، و مطابق شرایطی که قبلاً ذکر گردید گرماگذاری شدند. بر روی کلنی های ظاهر شده، پس از رنگ آمیزی گرم و مشاهده اشکال گالوی، تست های اکسیداز و حساسیت نسبت به نالیدیکسیک اسید و سفالوتین انجام شد. در نهایت گونه کمپیلوباکتر ژرژونی از طریق آزمون هیدرولیز هیپورات تأیید گردید (۱۳و۱۰). الگوی مقاومت دارویی باکتریهای جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک های تتراسایکلین (۳۰ μg)، آمپی سیلین (۱۰ μg) و کوتریماکسازول (۱/۲۵/۳/۷۵ μg) (تهیه شده از شرکت هایمدیا) به روش انتشار در آگار بر اساس استانداردهای ذکر شده در CLSI تعیین گردید (۴).

تجزیه تحلیل آماری: اطلاعات پس از جمع آوری وارد نرم افزار SPSS گردیده اند و اطلاعات به صورت تعداد و درصد گزارش گردیده اند. از آزمون آماری X<sup>2</sup> برای تحلیل داده ها استفاده شده است. سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### نتیجه گیری و بحث

در این بررسی از مجموع ۶۰۰ نمونه مدفوعی به دست آمده از سکوم مرغ، ۱۹۰ جدایه کمپیلوباکتر ژرژونی (۳۱/۶۶ درصد)، شناسائی شد. الگوی مقاومت دارویی سه آنتی بیوتیک مهم در درمان (۲) تتراسایکلین، آمپی سیلین و کوتریماکسازول به روش انتشار در آگار تعیین شد، که نتایج آن در جدول (۱) ارائه شده است.

با توجه به جدول (۱) بیشترین مقاومت نسبت به کوتریموکسازول و بیشترین حساسیت نسبت به آمپی سیلین مشاهده شد. در این بررسی ۵۶ جدایه (۲۹/۵ درصد) به هر سه آنتی بیوتیک، ۴۰ جدایه (۲۱ درصد) به آمپی سیلین و کوتریماکسازول و ۳۷ جدایه (۱۹/۵ درصد) به تتراسایکلین و کوتریماکسازول مقاوم بوده اند.

افضلی پوردانشگاه علوم پزشکی کرمان .

## Reference

1. Bailey, Scott S, Forbes Betty A, Sahm Daniel F, Wissfeld Alice S: *Diagnostic Microbiology*. 10th ed. Boston, Mosby 1998:567-576
2. Ban MA, Martin JB. *Campylobacter jejuni and Related Species*. In; Mandell GL, Dolin R, Bennett JE, ed. *Principles and practice of Infectious diseases*. 17th ed. Churchill Living stone, 2010, v.2. PP; 2798-2799.
3. Baserisalehi M, Bahador N, Kapadnis B P. Isolation and Characterization of *Campylobacter* spp. From Domestic Animals and poultry in south of Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2007; 10(9) : 1519-1524.
4. CLSI. *Performance Standards For antimicrobial Susceptibility testing*, 21st informational Supplement. CLSI document M100-S21. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute: 2011.
5. Cui S, Ge B, Zheny J, Meny J. Prevalence and Antimicrobial Resistance of *campylobacter* spp. and *Salmonella* serovars in organic chickens from Maryland Retail stores. *Appl. Environ Microbiol* 2005, 71 (7): 4108-4111.
6. Desmonts MH, Dufour- Gesbert F, Avrain L, Kempf I. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* Strains isolated from French broilers before and after antimicrobial growth promoter bans. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* .2004.54:1025-1030.
7. Kemper N, Aschfalk A, Holler C. *Campylobacter* spp, *Enterococcus* spp, *Escherichia* , *Salmonella* spp, *Yersinia* spp , and *Cryptosporidium* oocysts in semi domesticated reindeer in Northern Finland and Norway . *Acta veterinaria scandinavica* 2006, 48(7) 1-7.
8. Lillehaug A, Monceyron Jonassen C . Bergsj B, Hofshagen M, Tharaldsen J, Nesse L, et al. Screening of Feral pigeon, Mallard and Graylag Goose population for *Campylobacter* spp, *Salmonella* spp, Avian Influenza virus and Avian Paramyxovirus. *Acta vet. Scand* .2005 46(4) .193-202
9. Luber P, Wagner J, Hahn H, Bartelt E. Antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains isolated in 1991 and 2001-2002 from poultry and humans in Berlin, Germany. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 ;47(12):3825-30.
10. Mifflin JK, Templeton JM, Blackall PJ. Antibiotic resistance in *campylobacter jejuni* and *campylobacter coli* isolated from poultry in the south. East Queensland region. *Journal of Antimicrobial chemotherapy*. 2007; 59, 775-778.
11. Scott L, Menzies P, Reidsmith RJ , Avery BP, McEwen SA , Moon CS , et al . Antimicrobial Resistance in *Campylobacter* spp. Isolated from Ontario Sheep Flocks and Associations between Antimicrobial use and Antimicrobial Resistance. *Zoonoses and public Health* 2012: 59,294- 301.
12. Silva J , Leite D , Fernandes M , Mena C , Gibbs PA, Teixeira P . *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. *Frontiers in microbiology* .2011; 2,1-12
13. Shakerian A , Rokni N, Sharifzadeh A, Al Aga S, Talebian R. *Campylobacter jejuni* as a potential Pathogenic factor in the liver of Slaughtered poultry and meat chicken in Supermarket in Shahre – kord . *Journal Science and Iran food Industrial* 2005, (4): 43-49.