

## Evaluation of the occurrence of *Salmonella serovars* and its Antibiotic Susceptibility in Apparently Healthy domestic animals in rural areas of East Azerbaijan province

Payman Zare<sup>1</sup>, Hassan Ghorbani-Choboghlo<sup>1</sup>, Mohammad Tolouei<sup>2</sup>, Jafar Hadavi<sup>3</sup>

1. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, I.R. Iran

2. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran

3. Graduated in Veterinary Medicine

### Article Information

#### Article history:

Received: 2014/12/04

Accepted: 2015/06/13

Available online: 2015/06/28

#### Article Subject:

Antimicrobial Agents

IJMM 1395; 10(1): 88-92

#### Corresponding author at:

Dr. Hassan Ghorbani-Choboghlo

Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, I.R. Iran

#### Tel:

+98 411 3392374

#### Email:

hghorbani67@yahoo.com

### Abstract

**Background and Aim:** Salmonellosis is one of the more common zoonotic diseases that cause diarrhea and systemic infections. Today, antimicrobial resistances are one of the major health problems in human and veterinary medicine which are more in rural areas. The aim of this study was investigation of presence and antimicrobial resistance profile of *Salmonella* species in domestic animals which were herd in rural areas (East Azerbaijan province).

**Materials and Methods:** In this study a total number of 250 samples were obtained from domestic ruminant (Including 100 cows, 50 sheep, 50 goat and 50 buffalo) in rural areas. The feces and rectal swab specimens cultured in enrichment and selective media and isolates were characterized by biochemical test and stereotyped by O and H antisera. *Salmonella* isolates were tested for sensitivities to routine antibiotic by method of Kirby-Bauer disc diffusion method.

**Results and Conclusions:** Out of two hundred and fifty samples tested, 15 (6%) were identified as *Salmonella* strains including *S. dublin* (7 cases), *S. typhimurium* (5 cases) and *S. enteritidis* (3 cases). Many isolates proved multi antibiotic resistance (MAR). In overall, isolating multiple antibiotic resistance *Salmonella* species at high rates showed apparently healthy ruminant might act as reservoirs and could pose an important public health threat.

**Key Words:** Antibiotic Resistance, *Salmonella* Spp., Domestic Animals, Rural Areas

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

### How to cite this article:

Zare P, Ghorbani-Choboghlo H, Tolouei M, Hadavi J. Evaluation of the occurrence of *Salmonella* serovars and its Antibiotic Susceptibility in Apparently Healthy domestic animals in rural areas of East Azerbaijan province. Iran J Med Microbiol. 2016; 10 (1) :88-92

## بررسی وقوع و حساسیت آنتی بیوتیکی زیر گونه‌های مختلف سالمونلا در دام‌های اهلی به ظاهر سالم مناطق روستایی استان آذربایجان شرقی

پیمان زارع<sup>۱</sup>، حسن قربانی چوبقلو<sup>۱</sup>، محمد طلوعی<sup>۲</sup>، جعفر هادوی آلفو<sup>۳</sup>

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران  
۲. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران  
۳. دانش آموخته دکتری دامپزشکی

### چکیده

### اطلاعات مقاله

**زمینه و هدف:** سالمونلوزیس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های زئونوز می‌باشد که سبب بروز فرم‌های اسهالی و سیستمیک می‌شود. امروزه مقاومت دارویی یکی از مشکلات مهم در جامعه پزشکی و دامپزشکی است که در مناطق روستایی در وسعت بالاتری می‌باشد. هدف از این مطالعه پایش وضعیت مقاومت آنتی بیوتیکی زیرگونه‌های سالمونلا در دام‌های اهلی مناطق روستایی استان آذربایجان شرقی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این بررسی ۲۵۰ نمونه شامل (۱۰۰ نمونه گاو، ۵۰ نمونه گاو میش، ۵۰ نمونه گوسفند، ۵۰ نمونه بز) از مناطق مختلف روستایی گردآوری و جهت جداسازی سالمونلا مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های مدفوع تازه و سوپ رکتال در محیط‌های غنی کننده و انتخابی کشت داده شد و سپس با تست‌های بیوشیمیایی تأیید و با آنتی‌ژن‌های O و H سروتایپینگ شدند. حساسیت آنتی بیوتیکی موارد جداسازی شده با روش دیسک دیفیوژن نسبت به آنتی بیوتیک‌های روتین مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌ها و بحث:** بیش از ۲۵۰ نمونه بررسی شد که ۱۵ مورد (۶ درصد) گونه‌های سالمونلا شامل سالمونلا دابلین (۷ مورد)، سالمونلا تیفی موربوم (۵ مورد) و سالمونلا انترتیدیس (۳ مورد) بود. در بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی اغلب سویه‌ها مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه را نشان دادند. به طور کلی جداسازی زیرگونه‌های سالمونلا و همچنین مقاومت آنتی بیوتیکی چندگانه جدایه‌ها نشان داد که دام‌های به ظاهر سالم به عنوان ناقلین این پاتوژن بوده و می‌توانند سبب آلودگی سایر دام‌ها و به تبع آن آلودگی جوامع بشری گردند و به‌عنوان خطری برای بهداشت عمومی باشند.

**کلمات کلیدی:** مقاومت آنتی بیوتیکی، سالمونلا، دام‌های اهلی، مناطق روستایی

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

### تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۳/۰۹/۱۳

پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۲۳

انتشار آنلاین: ۱۳۹۴/۱۲/۲۱

### موضوع:

مواد ضد میکروبی

IJMM 1395; 10(1): 88-82

### نویسنده مسئول:

دکتر حسن قربانی چوبقلو

دکتری تخصصی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تلفن: ۰۴۱۱۳۳۹۲۳۷۴

### پست الکترونیک:

ghorbani67@yahoo.com

### مقدمه

زئونوز می‌باشد. علاوه بر این تماس بیشتر افراد با جمعیت حاملین (اغلب به صورت سنتی نگهداری می‌شود) و نیز فرآورده‌های ناشی از این دام‌ها سبب بروز این بیماری‌ها در وسعت بالایی می‌گردد. از طرفی دیگر به علت عدم گزارش بیماری‌های روده‌ای و عدم مراجعه بیماران به مراکز تشخیصی و درمانی، می‌توان گفت بروز سالمونلوزیس و بیماری‌های مشابه در این مناطق بسیار بالاتر از گزارش‌های موجود می‌باشد. در دامداری‌های سنتی معمولاً دام‌های مختلف (گاو، گوسفند، بز و گاو میش) کنار هم نگهداری می‌شوند که این امر سبب

گونه‌های سالمونلا از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده بیماری‌های زئونوز در سرتاسر جهان است. افزایش روز افزون مقاومت آنتی بیوتیکی در بین سویه‌های انتروباکتریایی از مهم‌ترین دغدغه‌های پزشکان و میکروبیولوژیست‌ها می‌باشد (۱).

بیماری‌های زئونوز در مناطق روستایی به مراتب بیشتر رخ می‌دهد. در این مناطق پایین بودن میزان بهداشت، آگاهی عمومی و امکانات بهداشتی از عوامل فزاینده بیماری‌های

سفتریاکسون ( $30 \mu\text{g}$ )، سیروفلوکساسین ( $5 \mu\text{g}$ )، کلرامفنیکل ( $30 \mu\text{g}$ )، داکسی سایکلین ( $30 \mu\text{g}$ )، جنتامایسین ( $10 \mu\text{g}$ )، کانامایسین ( $30 \mu\text{g}$ ) و تراسایکلین ( $10 \mu\text{g}$ ) بر اساس رهنمودهای (CLSI) انجام شد.

## نتایج و بحث

از ۲۵۰ نمونه جمع‌آوری شده از دامداری‌های سنتی در مناطق روستایی ۱۵ مورد (۶ درصد) زیرگونه‌های سالمونلا بود که شامل سالمونلا دابلین (۷ مورد)، سالمونلا تیفی موریوم (۵ مورد) و سالمونلا انترتیدیس (۳ مورد) بود (جدول شماره ۱). نتایج آنتی‌بیوگرام نیز برای اکثر سویه‌ها مقاومت بالایی را نشان داد. در بین آنتی‌بیوتیک‌های تست شده برای اریترومایسین مقاومت ۱۰۰ درصدی مشاهده شد. سیروفلوکساسین با (۹۰٪) و جنتامایسین با (۸۰٪) جزو حساس‌ترین آنتی‌بیوتیک‌ها بودند. در نتایج اغلب سوش‌های جداسازی شده حداقل به ۶ مورد (۴۵٪) از ۱۴ آنتی‌بیوتیک مقاوم شده بودند. درصد آنتی‌بیوتیک‌های حساس و مقاوم برای هر سویه جداسازی شده در نمودار ۱ آورده شده است.

مشکلات ناشی از اعضای خانواده انتروباکتریاسه مخصوصاً سالمونلا در محیط‌های روستایی به علت روش‌های سنتی نگهداری و کشتار دام‌ها، ارتباط بیشتر با جمعیت دامی و کمبود آگاهی‌های بهداشتی در حد بالایی می‌باشد. از طرف دیگر استفاده بی‌رویه از داروها بدون نظر دامپزشک فاکتور مهمی در افزایش مقاومت می‌باشد که این امر در دامداری‌های سنتی بیشتر رخ می‌دهد (۳، ۴، ۵). نتایج جداسازی ۸ درصدی سالمونلا از گاوها (۶ مورد سالمونلا دابلین و ۲ مورد سالمونلا تیفی موریوم)، که بیشترین دام اهلی موجود در مناطق روستایی می‌باشد، نشان داد دام‌های آلوده به سالمونلا می‌توانند نقش مهمی در بروز مسمومیت غذایی و بیماری‌های زئونوز داشته باشند چرا که با افزایش ناقلین این پاتوژن‌ها احتمال بروز بیماری‌ها و مسمومیت‌ها در جوامع مرتبط افزایش می‌یابد (۶). از طرف دیگر با وجود اینکه دامداری‌های سنتی سهم عمده‌ای در صنعت دامداری کشور دارند به علت مشکلات موجود در نمونه‌گیری و انتقال به آزمایشگاه مطالعات زیادی در این زمینه صورت نگرفته است و اغلب مطالعات در دامداری‌های صنعتی انجام شده است. Nadalian و همکاران نشان دادند که گوساله‌های به‌ظاهر سالم جزو حاملین مهم برای سالمونلا می‌باشد و چون علائم بالینی ندارند به صورت خاموش سبب پراکنده شدن پاتوژن می‌شوند (۷).

تکمیل چرخه اپیدمیولوژیکی بیماری‌ها می‌گردد (۲، ۳).

استفاده بی‌رویه و ناصحیح از آنتی‌بیوتیک‌ها در مناطق روستایی و دامداری‌های سنتی و عدم همکاری مناسب با دامپزشکان سبب بروز روزافزون مقاومت‌های دارویی خواهد شد که این امر سبب انتقال مقاومت در بین خانواده انتروباکتریاسه و افزایش سویه‌های مقاوم می‌شود که زمینه‌ساز افزایش بیماری‌ها در دام‌ها و انتقال به حوزه انسانی می‌شود (۴).

هدف از این مطالعه پایش وضعیت مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین سالمونلاهای جداسازی شده از دامداری‌های سنتی می‌باشد.

## مواد و روش کار

### نمونه‌گیری

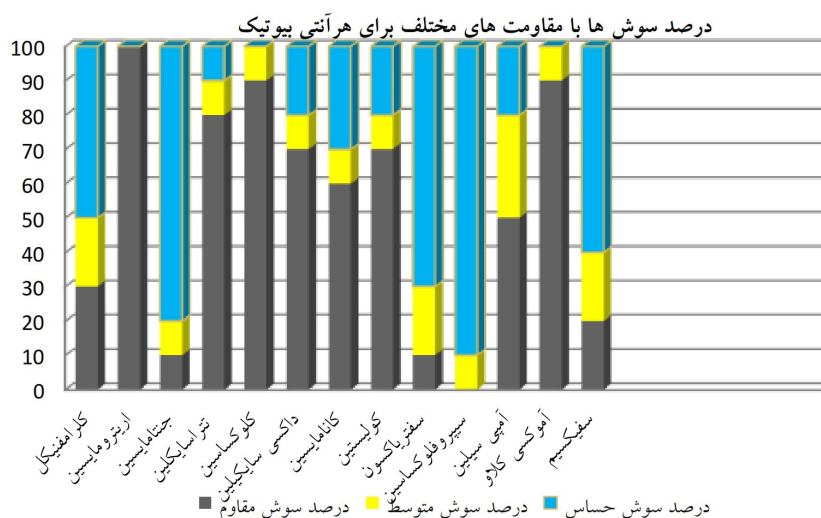
در این بررسی در مجموع ۲۵۰ نمونه که شامل (۱۰۰ نمونه گاو، ۵۰ نمونه گاو میش، ۵۰ نمونه گوسفند، ۵۰ نمونه بز) در سال ۱۳۹۰ از دامداری‌های سنتی جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها شامل نمونه‌های سوپ رکتال و نمونه‌های مدفوع تازه بود.

### کشت و جداسازی

جهت غنی‌سازی اولیه از محیط پیتون واتر و برای جداسازی زیرگونه‌های سالمونلا از محیط‌های انتخابی تتراتیونات، راپاپورت واسیلیادیس، سالمونلا شیگلا آگار (SS Agar) و گریلوز لایزین داکسی کلات آگار (XLD) (Merck Co., Darmstadt, Germa-) استفاده گردید. با کمک تست‌های بیوشیمیایی (TSI/محیط سه قندی)، اوره، لیزین ایرون آگار، سیترات، (Merck) MRVP (Co. Darmstadt, Germany) موارد مشکوک شناسایی شد. آزمون سروتاپینگ جهت مشخص نمودن آنتی‌ژن‌های O، H، Vi با استفاده از آنتی‌سرم مربوطه (شرکت بهار افشان) جهت تأیید نهایی انجام شد.

### تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی

در این مرحله روی ۱۵ مورد سالمونلاي جداسازی شده از کل نمونه‌ها، تست تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار در دیسک (Kirby- Baure disk diffusion method) نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های (شرکت پادتن طب) آمپی‌سیلین ( $10 \mu\text{g}$ )، آموکسی کلاو ( $30 \mu\text{g}$ )، اریترومایسین ( $15 \mu\text{g}$ )، سفیکسیم ( $5 \mu\text{g}$ )، کولیستین ( $10 \mu\text{g}$ )، سفتریاکسون ( $30 \mu\text{g}$ )، کلوکساسین ( $10 \mu\text{g}$ ).



نمودار ۱: یافته‌های حاصل از شمارش کلنی زخم‌های آلوده به سودوموناس در طول ۲۱ روز درمان

جدول ۱: تعداد و درصد جداسازی سالمونلا از دام‌های اهلی مناطق روستایی مورد مطالعه

نام دام	تعداد نمونه	تعداد و درصد موارد سالمونلا	سویه‌های جداسازی شده
گوسفند	۵۰	۳/۶٪	سالمونلا تیفی موریوم (۲)، سالمونلا انترتیدیس (۱)
گاو	۱۰۰	۸/۸٪	سالمونلا دابلین (۶)، سالمونلا تیفی موریوم (۱)، سالمونلا انترتیدیس (۱)
بز	۵۰	۲/۴٪	سالمونلا تیفی موریوم (۱)، سالمونلا دابلین (۱)
گاومیش	۵۰	۲/۴٪	سالمونلا انترتیدیس (۱)، سالمونلا تیفی موریوم (۱)
کل	۲۵۰	۱۵/۶٪	سالمونلا دابلین (۷)، سالمونلا تیفی موریوم (۵)، سالمونلا انترتیدیس (۳)

محیط‌های روستایی به علت بافت زندگی و محصولات دامی مورد استفاده بسیار حائز اهمیت است. در حالت کلی نبود آگاهی‌های لازم در زمینه استفاده از داروها و نحوه برخورد با دام‌ها در محیط‌های روستایی بر اهمیت مسئله می‌افزاید (۱۰، ۱۱). انجام کارهای مشابه و سالیانه در سایر مناطق برای رسیدن به یک الگوی کامل و مناسب لازم و ضروری می‌باشد. البته مسئله مهم‌تر ارائه نتایج و افزایش آگاهی عمومی و پیشگیری از این معضل می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه کارکنان آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی تبریز مخصوصاً جناب آقای مفتونی جهت همکاری صادقانه‌شان تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

### تعارض منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

افزایش روزافزون مقاومت آنتی بیوتیکی در آینده نه چندان دور سبب کاهش موفقیت درمانی و نارضایتی دامداران خواهد شد چون در اکثر مناطق از این آنتی بیوتیک‌های روتین استفاده می‌شود. سویه‌های مقاوم ایجاد شده در دام‌ها با توجه به ارتباط تنگاتنگی که به محیط انسانی در مناطق روستایی دارند به افراد ساکن در این مناطق منتقل می‌گردد به طوری که در مطالعه Fey و همکاران ثابت شد که سویه‌های سالمونلا جداسازی شده از گاوها و کودک مرتبط با این دام‌ها از لحاظ ژنتیکی، الگوی پلاسمیدی و پروفایل مقاومت آنتی بیوتیکی از یکدیگر غیر قابل افتراق هستند (۸).

مطالعه Zare و همکاران نیز قرابت الگوی پلاسمیدی در بین سالمونلاهای جدا شده از منابع مختلف را نشان داد (۹). Ahadian و همکاران نشان دادند که ژن‌های مقاومت علیه آنتی بیوتیک‌ها می‌تواند از سالمونلاهای دامی به کمک پلاسمید به اشریشیا کلی انسانی منتقل شود (۱۰). انتقال باکتری‌های مقاوم به وسیله غذا یا ارتباط مستقیم از دام‌ها به انسان می‌تواند سبب بروز بیماری‌ها و عفونت‌های سخت علاج شود. این امر در

## Reference

1. Sockett P, Roberts J. The social and economic impact of salmonellosis. *Epidemiol. Infec.* 1991;107: 335-347.
2. Hoelzer K, Moreno Switt A.I, Wiedmann M. Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. *Vet. Res.* 2011;42: 34-41.
3. Cummings K, Warnick L, Alexander K, Cripps C, Gröhn Y, James K et al. The duration of fecal Salmonella shedding following clinical disease among dairy cattle in the northeastern USA. *Prev. Vet. Med.* 2009; 92:134-139.
4. Taylor D.N. The growing problem of antimicrobial resistance among enteric pathogens. *Clin. Updates Infect. Dis.* 2003; 6:1-4.
5. Trevor A, Jay Y, Tim R, Ronald R, Brent S, Tim MA. Longitudinal characterization of antimicrobial resistance genes in feces shed from cattle fed different subtherapeutic antibiotics. *BMC Microbiol.* 2003; 11:51-56.
6. Ebrahimi A, Lotfalian S, Karimi S. Drug resistance in isolated bacteria from milk of sheep and goats with subclinical mastitis in Shahrekord district. *Iran. J Vet Res.* 2007;8: 76-79.
7. Nadalian M.Gh, Zahrae salehi T, Fatahneia A.R. Diagnosis of salmonella infection in appearnt healthy calves with using skin test. *J. Vet. Res.* 2002;57:79-82.
8. Fey P.D, Safraneck M.E, Rupp E.F, Dunne E, Ribot P.C, Iwen P.A, Bradford, F.J, Angulo S. H. Salmonella infection acquired by a child from cattle. *N Eng J Med,* 2000; 342:1242–1249.
9. Zare P, Ghorbani-Choboghlo H, Jaberi S, Razzaghi S, Mirzae M, Mafuni K. Occurrence and Antimicrobial Resistance of Salmonella spp. and Escherichia coli Isolates in Apparently Healthy Slaughtered Cattle, Sheep and Goats in East Azarbaijan Province. *Int J Entric Pathog.* 2014, 2(1): 51-54.
10. Ahadian M, Zahraei Salehi T, Madadgar O. Transmissibility of Antibiotic Resistance from Animal salmonella isolates to human enteric E.coli. *Zoo noses Res.* 2012; 2:1-8.
11. Dallal M.M.S, Taremi M, Gachkar L, Modarressi S, Sanaei M, Bakhtiari R, Yazdi M.K.S, Zali M.R.Characterization of antibiotic resistant patterns of Salmonella serotypes isolated from beef and chicken samples in Tehran. *J Microbiol.* 2009; 2:124-131.