دانشور پزشکی

بررسی فراوانی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *کمپیلوباکتر* جدا شده از نمونه مرغ در ۲۲ منطقه تهران، ایران

نویسندگان: آتنا صادقی [۱]، پرویز اولیاء[۲]، لیلا گنجی[۳]، سعید بشارتی[۱]، فاطمه احمدی[۴]، الهه تاج الدین[۵]، مسعود آل‌بویه[۶*]، رضا محمدصالحی[۲]، فرشته فانی[۷]، غلامرضا پولادفر [۷]، بهرام نیک‌منش[۸]، علی مجیدپور [۹]، سمیه سلیمان زاده مقدم[۹]، پریسا اسلامی[۱۰]، مرجان رهنمای فرزامی[۳]

۱. گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲. مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

۳. مرکز تحقیقات آزمایشگاه مرجع سلامت، آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، ایران

۴. گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۵. انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۶. مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۷. مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی بالینی استاد البرزی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

۸. گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۹- مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی، پژوهشکده ایمونولوژی و بیماریهای عفونی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

۱۰. آزمایشگاه آسیب‌شناسی، بیمارستان مرکزی مهر، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: دکتر مسعود آل‌بویه Email:masoud.alebouyeh@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۲۸
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۸/۱۱/۱۵
پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۳

چکیده

مقدمه: گونه‌های بیماریزای *کمپیلوباکتر* می توانند علاوه بر ایجاد اسهال و بیماری در دستگاه گوارش سبب القای بیماری‌های ناتوان‌کننده‌ی مزمن و خود-ایمن در انسان شوند. بررسی حضور این باکتری‌ها در منابع غذایی، نمونه‌های بالینی و تعیین الگوهای مقاومتی آنها در کشور می‌تواند در کنترل انتشار و کمک به روند درمان کمک‌کننده باشد. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های کمپیلوباکتر جداسازی شده از گوشت مرغ صورت گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه از تیرماه ۱۳۹۷ تا اسفند ۱۳۹۷ مجموعاً ۱۰۰ نمونه گوشت مرغ از مناطق ۲۲ گانه شهری تهران نمونه‌گیری به عمل آمد. بدین منظور از روش استاندارد غنی‌سازی و کشت در محیط اختصاصی استفاده شد و جدایه‌ها با روش Polymerase chain reaction (PCR) تائید جنس و گونه‌ی میکروبی برای *C. jejuni, C. coli, C. upsaliensis* و *C. lari* قرار گرفتند. تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی با روش E-test و انتشار از دیسک برای تعداد ۷ آنتی بیوتیک انجام گرفت. در ادامه الگوی مقاومت چندداروی (MDR) مبتنی بر وجود مقاومت همزمان به سه یا تعداد بیشتر کلاس های مختلف آنتی بیوتیک‌ها تعیین شد و نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS16 مورد تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: *کمپیلوباکتر* از ۳۵٪ نمونه‌ی مرغ جداسازی گردید. از جمله گونه‌های جدا شده از گوشت مرغ، *کمپیلوباکتر ژژونی* (۲۳٪)، *کمپیلوباکتر کولای* (۱٪) و *کمپیلوباکتر لاری* (۲٪) بودند. بیشترین مقاومت جدایه-های *کمپیلوباکتر* نسبت به تتراسیکلین (۶۲/۸٪) و کمترین نسبت به آمپی‌سیلین و کلیندامایسین (هر یک ۱۷/۱٪) بود. الگوی MDR در ۴۲/۸٪ جدایه ها مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده وجود آلودگی بالا به *کمپیلوباکتر* را در گوشت مرغ نشان داد که تائید کننده وجود خطر بالای انتقال *کمپیلوباکترهای* دارای مقاومت دارویی چندگانه به مصرف کنندگان است. انجام مطالعات بر روی نمونه های انسانی می تواند این ارتباط را روشن‌تر بسازد.

واژه‌های کلیدی: *کمپیلوباکتر*، گوشت مرغ، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تهران

مقدمه

کمپیلوباکتر به عنوان یکی از عوامل اصلی گاستروانتریت حاد باکتریایی درکشورهای صنعتی و توسعه یافته به شمار می‌آید و مسئول ۴۰۰ تا ۵۰۰ میلیون مورد گاستروانتریت در سراسر جهان است (۲،۱). بروز *کمپیلوباکتریوز* در انسان به طور قابل توجهی در مقایسه با سایر عفونت‌های باکتریایی مانند *شیگلوز*، *سالمونلوزو اشریشیازیس* بسیار بیشتر است (۳-۵). عفونت *کمپیلوباکتر* می‌تواند منجر به عوارضی مانند آرتریت واکنشی(REA) ، سندرم گیلن باره(GBS)، سندرم روده تحریک‌پذیر (IBS) و بیماری التهابی روده (IBD)گردد (۶). بیش از ۳۰ گونه و یازده زیر گونه در جنس *کمپیلوباکتر* وجود دارد . عبارتند از *کمپیلوباکتر ژژونی*، *کمپیلوباکتر کولای* و تا حدودی *کمپیلوباکتر لاری* و *کمپیلوباکتر آپسالینسیس* شایع ترین گونه‌های مرتبط با عفونت‌های ناشی از غذا و آب در انسان هستند. در طیور، بیشترین گونه موجود *کمپیلوباکتر ژژونی* است و علت اصلی بیماریهای ناشی از غذا در انسان شناخته شده است (۷). گوشت پخته نشده، شیر خام و آب آلوده نیز از جمله منابع عفونت *کمپیلوباکتریایی* می‌باشند.گوشت مرغ به عنوان یک مخزن مهم *کمپیلوباکتر* انسانی مطرح است، به طوری که نتایج به‌دست آمده از نمونه‌های گوشت مرغ جمع‌آوری شده ازسوپر مارکت‌ها و کشتارگاه‌ها میزان آلودگی شدید *کمپیلوباکتر* را نشان می‌دهد (۸-۱۰). نتایجی که از اتحادیه اروپا گزارش شده نشان می‌دهد که میانگین درصد شیوع در لاشه جوجه‌های گوشتی مرغ تازه ۷۵/۸ درصد است (۱۱). بنابراین یکی روش‌های حذف *کمپیلوباکتر* از زنجیره غذایی، جلوگیری از کلونیزه شدن‌این باکتری در جوجه‌های گوشتی است (۱۲). تشخیص *کمپیلوباکتر ژژونی* مقاوم به آنتی‌بیوتیک در گوشت مرغ بسیار حائز اهمیت است زیرا جدایه‌های مقاوم ممکن است موجب بیماری طولانی‌تر یا شدیدتری شود. یکی دیگر از نگرانی‌های مهم و چالش برانگیز در مناطق مختلف جهان بروز مقاومت چندگانه(MDR)[1] در *کمپیلوباکتر ژژونی است* (۱۴،۱۳).

با توجه به محدودیت اطلاعات کشور در هر دو حوزه‌ی جداسازی و شناسایی *کمپیلوباکتر* و وضعیت مقاومت دارویی، مطالعه حاضر باهدف بررسی فراوانی‌این باکتری در نمونه‌های گوشت مرغ در انتهای زنجیره توزیع، تعیین مهم‌ترین گونه‌های باکتریایی مرتبط، سطوح MIC و مقاومت دارویی جدایه‌ها در ۲۲ منطقه تهران پرداخته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی تعداد ۱۰۰ نمونه مرغ از مراکز توزیع شهری مجاز در تیرماه ۱۳۹۷ لغایت اسفند ۹۷ جمع آوری گردید. نمونه‌های مرغ گرفته شده، کشتار روز، تازه و غیرمنجمد بودند که به طور روزانه و از مراکز و میادین میوه و تره بار ۲۲ منطقه تهران جمع آوری شدند. تمامی‌نمونه‌ها با رعایت زنجیره سرد در شرایط دمایی ۴ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شدند. از جمله معیارهای رد نمونه منجمد بودن نمونه‌های مرغ بود.

کشت نمونه‌های مرغ

به منظور غنی‌سازی نمونه‌ها، میزان ۲۵ گرم از قسمت‌های مختلف مرغ تهیه و در شرایط کاملاً استریل در درون فلاسک‌های حاوی ۲۲۵ میلی‌لیتر محیط پریستون دارای ساپلمنت (CCDA-Selective-Supplement) قرار داده شدند. محیط کشت تلقیح شده به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور شیکردار و در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. جهت جداسازی باکتری، مقدار ۲۰ میکرولیتراز محیط غنی کننده پریستون براث (Sigma-Aldrich- Germany)کشت روی محیط CCD-agar (Sigma-Aldrich-Germany) کشت داده شد و پلیت‌ها برای ۱ تا ۵ روز در شرایط

[1] Multi drug resistant

میکروآئروفیلیک و در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. بررسی روزانه پلیت‌ها از نظر رشد کلنی‌ها انجام و هر کلنی مشکوک رنگ‌آمیزی گرم و آزمایش اکسیداز انجام گرفت (شکل ۱). کلنی‌های مشکوک به *کمپیلوباکتر*، بر روی محیط Columbia agar (Liofilchem- Italy) حاوی ۱۰٪ خون گوسفند پاساژ داده شدند و در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و در شرایط میکروآئروفیلیک به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری گشتند.

تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC)

الگوی مقاومت میکروبی جدایه‌های *کمپیلوباکتر* با استفاده از روش رقت در آگار، دیسک دیفیوژن و E-test انجام گرفت (۱۵). آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده شامل آمپی‌سیلین (Germany-Biochemica)، جنتامایسین (Canada-BioBasic)، نالیدیکسیک اسید (E-test-Sweden-ABBIO DISK)، تتراسیکلین (Merck-Germany-30mg)، اریترومایسین-Merck (Germany-15mg)، سیپروفلوکساسین-Merck (Germany-5mg) و کلیندامایسین (E-test - Sweden-AB BIO DISK) بودند. در این بررسی از روش دیسک دیفیوژن جهت شناسایی *کمپیلوباکترهای* مقاوم و حساس به اریترومایسین، تتراسایکلین و سیپروفلوکساسین (Merck-Germany) در محیط Muller-Hinton agar (Merck-Germany) حاوی ۵٪ خون گوسفند استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و در شرایط میکروائروفیل گرمخانه گذاری گردیدند. در این بررسی از سویه‌های استاندارد ***E. coli*** ATCC25922 و ***S. aureous*** ATCC29213 برای کنترل دیسک‌ها استفاده شد (شکل ۲).

در روش E-test از نوارهای نالیدیکسیک اسید و کلیندامایسین (E-test -Sweden- AB BIO DISK) استفاده و محیط‌های کشت تلقیح شده پس از گرمخانه گذاری نمودن تحت شرایط مشابه روش انتشار از دیسک بررسی شدند.هاله‌ی عدم رشد بزرگتر از ۸ میلی متر برای کلیندامایسین وهاله‌ی عدم رشد بزرگتر از ۳۲ میلی متر برای نالیدیکسیک اسید به عنوان مقاومت در نظر گرفته شد.

تعیین حساسیت به دو آنتی بیوتیک جنتامایسین (Canada-BioBasic) وآمپی‌سیلین (Germany-Biochemica) با روش آگار دایلوشن انجام شد. بدین منظور محیط مولر هینتون آگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند (Merck-Germany) و حاوی غلظت‌های متوالی از دو آنتی بیوتیک جنتامایسین (۲-۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و آمپی‌سیلین (۴-۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تهیه و محیط‌ها توسط سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند از کشت تازه‌ی باکتری تلقیح شدند. پلیت‌ها در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند.

بر اساس دستوالعمل CLSI جدایه‌های دارای سطوح MIC بزرگ‌تر از ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر برای آنتی بیوتیک جنتامایسین و بزرگتر ۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر برای آنتی بیوتیک آمپی‌سیلین مقاوم و کمتر از آن حساس در نظر گرفته شدند (۱۵).

آنالیز داده‌ها: شاخص‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و بکار گیری آزمون‌هایChi-Square مورد بررسی قرار گرفت. برای مقادیر معنی‌دار $p < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج

فراوانی *کمپیلوباکتر* در نمونه‌های گوشت مرغ

از میان ۱۰۰ نمونه‌ی مرغ به دست آمده از مناطق مختلف شهری تعداد ۳۵ جدایه *کمپیلوباکتر* به دست آمد که شامل، *کمپیلوباکتر ژژونی* ۲۳ عدد، *کمپیلوباکتر کولای* ۱ عدد، *کمپیلوباکتر آپسالینسیس* ۰ عدد و سایر گونه‌ها ۹ عددجداسازی شدند. نمونه‌های مرغ متعلق به ۴۱ برند مختلف بوده که دامنه وزنی ۰/۷۶ کیلوگرم تا ۲/۷۱ کیلوگرم وزن را نشان دادند. بررسی آماری اختلاف معناداری را از نظر نوع برندهای مرغ تحت

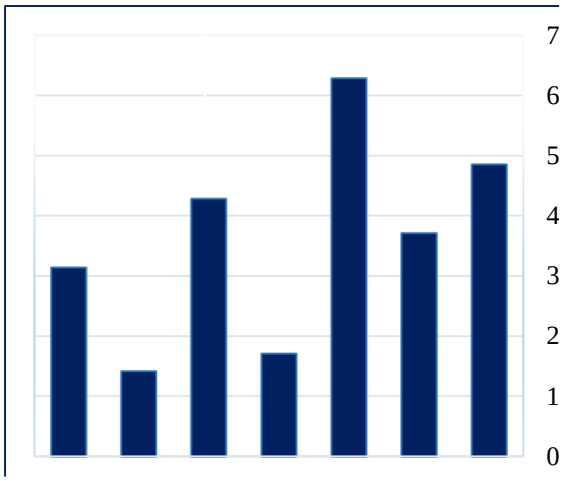
مطالعه با میزان آلودگی به *کمپیلوباکتر* نشان نداد (*p* value= 0.22). همچنین بررسی فراوانی گونه‌های *کمپیلوباکتر* و توزیع آن‌ها بر اساس برندهای تحت مطالعه اختلاف معناداری را نشان نداد (*P* value = 0.28).

شکل ۱. رشد کلنی‌های *کمپیلوباکتر ژژونی* جدا شده از نمونه گوشت مرغ بر روی محیط CCD Agar

نتایج بررسی مقاومت دارویی در جدایه‌های *کمپیلوباکتر* گوشت مرغ:

شکل ۲. تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های *کمپیلوباکتر*ایزوله شده از گوشت مرغ با روش انتشار از دیسک و E-test بر روی محیط مولر هینتون آگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند

همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود میزان مقاومت دارویی به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسیکلین، اریترومایسین، کلیندامایسین، سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک‌اسید، آمپی‌سیلین و جنتامایسین به ترتیب ۶۲/۸٪، ۳۷/۱٪، ۱۷/۱٪ و ۵۱/۴٪، ۴۲/۱۵٪، ۵۰٪ و ۳۱/۴٪ بود.



نمودار ۱. میزان فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *کمپیلوباکترهای*ایزوله شده از نمونه‌های مرغ.
CIP=ciprofloxacin, E=erythromycin, T=tetracycline.CM= Clindamycin (NAL=Nalidixicacid GEN=gentamicin). AMP =ampicillin

بحث و نتیجه‌گیری

کمپیلوباکتریوزیس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های منتقله از طریق مواد غذایی در سراسر جهان است که با مصرف گوشت مرغ ارتباط دارد و به عنوان شایعترین باکتری عامل گاستروانتریت انتقال یافته از غذا در انسان شناخته شده است. منبع اصلی *کمپیلوباکتریوزیس* انسان گوشت آلوده‌ی طیور است به طوری که ۷۰ درصد از عفونت‌های مربوط به *کمپیلوباکتر* درانسان از طریق مصرف گوشت آلوده‌ی مرغ ایجاد می‌شود (۱۶،۱۵). هر چند اسهال ناشی از *کمپیلوباکتر* اغلب خود محدود شونده است، ایجاد عوارضی مانند سندرم گیلن باره و سندرم رایتر اهمیت شناسایی و درمان به موقع عفونت ناشی از این باکتری را آشکار می‌نماید (۱۷). روند رو به رشد مقاومت دارویی به ویژه **MDR** ، نسبت به آنتی بیوتیک‌های اصلی که در حال حاضر در بین گونه‌های *کمپیلوباکتر ژژونی* مورد استفاده قرار می‌گیرند، یک مشکل جدی در حوزه سلامت عمومی محسوب می‌شود (۱۸) در این تحقیق در مجموع از تعداد ۱۰۰ نمونه مرغ جمع‌آوری شده تعداد ۳۵ جدایه *کمپیلوباکتر* جداسازی گردید که از این میان میزان شیوع *کمپیلوباکتر ژژونی* و

کمپیلوباکتر کولای به ترتیب ۲۳ و ۱ درصد گزارش شد. در مطالعه‌ی مکتبی (۲۰۱۹) میزان شیوع *کمپیلوباکتر* از نمونه‌ی جوجه بسته‌بندی شده در شهر اهواز صفر درصد گزارش شد (۱۹). آنها از محیط کشت پریستون براث و۵ درصد خون اسب دفیبرینه به همراه ساپلنت استفاده نمودند و جدایه‌ها با روش مولکولی **PCR** تائید شدند. در مطالعه‌ی بریزی و همکاران (۲۰۱۷) بر روی ۱۰۰ مرغداری درشیراز، میزان آلودگی با *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کولای* ۵۳/۷ درصد گزارش شد که نسبت به مطالعه ما افزایش داشت. محل اخذ نمونه (صرفا سکوم طیور) و زمان نمونه‌گیری (انتهای دوره‌پرورش طیور و مستقیما از کشتارگاه) می‌تواند از جمله دلایل‌این تفاوت در نتایج باشد (۲۰). همچنین در مطالعه رئیسی و همکاران (۲۱) ۴۰/۸ درصد از نمونه‌های گوشت مرغ و در مطالعه حسین پور و همکارن (۲۰۱۷)، ۳۱ درصد از نمونه‌های گوشت مرغ آلودگی *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کولای* گزارش شد (۲۲) که تقریبا مشابه نتایج ما است.

در حالکیه مطالعه‌ی بخشی (۲۰۱۶) بر روی نمونه‌ی گوشت مرغ در بازارهای تهران انجام شد میزان آلودگی نسبت به *کمپیلوباکتر ژژونی* را صفر گزارش کردند و آلودگی غالب را مربوط به *کمپیلوباکتر کولای* (۷۰ درصد) دانسته‌اند (۲۳). با توجه به این که *کمپیلوباکتر* فلور نرمال دستگاه گوارش طیور است برخی مطالعات ۳۰-۱۰۰٪ از مدفوع طیور آلودگی به *کمپیلوباکتر* را گزارش نموده‌اند (۲۴). طبق مطالعه **Kagambèga A** (۲۰۱۸) از ۲۰ لاشه مرغ، ۱۰ مورد *کمپیلوباکتر* جداسازی کردند که همه *کمپیلوباکتر ژژونی* بودند (۱۶) که نتایج با مطالعه ما همخوانی دارد.

ماکرولیدها به عنوان داروی انتخابی در درمان بالینی *کمپیلوباکتریوزیس* در نظر گرفته می‌شود، اما فلوروکینولون‌ها (سیپروفلوکساسین) نیز غالباً استفاده می‌شوند و به عنوان درمان جایگزین از جنتامایسین و تتراسایکلین در عفونت‌های سیستمیک *کمپیلوباکتر* استفاده می‌گردد (۲۵). در پژوهش حاضر مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها نسبت به ۷ آنتی بیوتیک مورد آزمایش قرار گرفت که بیشترین مقاومت نسبت به تتراسایکلین ۶۲/۸ درصد و کمترین نسبت به کلیندامایسین و آمپی‌سیلین (۱۷/۱ درصد) مشاهده شد. مقاومت نسبت به تتراسایکلین نیز با توجه به مصرف بدون رویه آن در جیره غذایی طیور کاملاً محتمل به نظر می‌رسید. متأسفانه جدایه‌های *کمپیلوباکتر* نسبت به اریترومایسین (۳۷/۱ درصد) که اولین انتخاب آنتی-بیوتیکی برای درمان *کمپیلوباکتریوزیس* انسانی است نیز مقاوم شده‌اند که مساله نگران کننده است. مقاومت به چندین دارو نیز در جدایه‌های *کمپیلوباکتر* ترموفیلیک مورد بررسی، میزان بالایی داشت (۴۲/۸ درصد) و تقریبا تمام جدایه‌ها به بیش از یک آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند که خود زنگ خطری برای افزایش مقاومت آنتی-بیوتیکی و شکست درمان است.

نتایج مطالعه در کنیا (۲۰۱۶) نشان داد که ۳۱ جدایه *کمپیلوباکترژژونی* ایزوله شده از طیور میزان بالایی از مقاومت در برابر نالیدیکسیک اسید، تتراسایکلین و سیپروفلوکساسین (۷۷/۴٪، ۷۱٪ و ۷۱٪) نشان دادند. مقاومت کم ۸/۲۵٪ برای جنتامایسین و کلرامفنیکل نیز گزارش شد. مقاومت به چند دارو در ۱۹ جدایه *کمپیلوباکتر ژژونی* ۳/۶۱٪ بود (۲۶) در صورتی که در مطالعه مامیزان **MDR** ۴۲/۸٪ بود و افزایش بالایی را نشان داد شاید مهم‌ترین دلیل اختلاف موجود و افزایش چندگانه مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مناطق مختلف و از جمله کشور ما، مصرف آنتی‌بیوتیک‌های متفاوت به عنوان محرک رشد و پیشگیری و درمان است. در مطالعه دیگری که درایران (۲۰۱۶) صورت گرفت میزان فراوانی آلودگی *کمپیلوباکتر* نسبت به گونه *ژژونی و کولای به ترتیب* ۵۹/۷۹ ٪ و ۴/۲٪ گزارش گردید که بیش‌ترین مقاومت مربوط به نالیدیکسیک اسید (۶۷ ٪) و تتراسایکلین (۵۶ ٪) و کم‌ترین مقاومت به جنتامایسین (۰ ٪) و اریترومایسین (۳ ٪) بود (۲۷) که نتایج مطالعه ما مقاومت بیشتری را نشان داد و شاید یکی از دلایل اصلی این اختلاف استفاده از روش‌های دقیق بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی است.

Ma H در چین (۲۰۱۷) مطالعه‌ای مشابه ما انجام دادند که در مجموع (۱۸ درصد) آلودگی به *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کولای* گزارش نمودند که نسبت قابل ملاحظه‌ای (۴۱/۹٪) از جدایه‌ها در برابر چندین دارو مقاوم بودند. این مطالعه نشان دهنده سطح بالایی از مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *کمپیلوباکتر ژژونی* جدا شده از محصولات مرغ بود (۲۸). مطالعه‌ای در رومانی (۲۰۱۵) میزان آلودگی به *کمپیلوباکتر ژژونی* را (۷ درصد) گزارش کردند و شایع‌ترین الگو شامل مقاومت در برابر چندین دارو(تتراسایکلین، سولفونامیدها و کینولون‌ها / فلوروکینولون‌ها) ۲۳ درصد گزارش نمودند که نسبت به مطالعه ما کاهش داشت (۲۹) که این موضوع نیاز نشان می‌دهد مساله مقاومت نیازمند پایش دائمی و احتیاط در مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها دارد.

طبق مطالعه‌ای که (۲۰۱۷) در آمریکا جهت بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های مرغی انجام شد، نتایج نشان داد که همه جدایه‌ها نسبت به سیپروفلوکساسین و کلرامفنیکل مقاوم‌اند، هیچکدام از *کمپیلوباکتر کولای*‌های ایزوله شده به اسید نالیدیکسیک مقاوم نبودند و هیچ یک از گونه‌های *کمپیلوباکتر ژژونی* به اریترومایسین مقاوم نبودند (۱۷) درصورتی که جدایه-های مرغی در مطالعه حاضر ۴۲/۸٪ و ۳۷/۱٪ نسبت به نالیدیکسیک اسید و اریترامایسین مقاومت داشتند. بررسی مطالعات بالا و همچنین نتایج ما نشان می‌دهد که استفاده از فلوروکوئینولون‌ها در درمان *کمپیلوباکتریوزیس* انسانی باعث افزایش مقاومت در *کمپیلوباکتر ژژونی* شده است.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر وجود درصد بالایی از آلودگی را در گوشت‌های مرغ در حال توزیع در شهر تهران را نشان داد. این آلودگی به میزان زیادی توسط *کمپیلوباکتر ژژونی* بود، هرچند سایر گونه‌ها نیز در این نمونه‌ها شناسایی گردیدند. عدم اختصاص آلودگی به برند ویژه‌ای از گوشت مرغ و پراکندگی توزیع جغرافیایی آن در مناطق مختلف شهری اهمیت اجرای کنترل انتقال آلودگی طی زنجیره غذایی به جامعه را گوشزد می‌نماید. بر اساس نتایج این مطالعه بالا بودن میزان مقاومت به فلوروکینولون‌ها، جنتامایسین و تتراسیکلین در جدایه‌های مرغ و بروز مقاومت‌های چندگانه در آنها می‌تواند بعنوان یک عامل خطر مهم در شکست درمان در عفونت‌های تهاجمی*کمپیلوباکتر* در مبتلایان در نظر گرفته شود.

قدردانی

نویسندگان این مطالعه از همه همکاران در موسسه ملی توسعه تحقیقات پزشکی جمهوری اسلامی ایران (NIMAD)، مرکز کنترل بیماریهای واگیر، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران؛ آزمایشگاه بهداشتی مرجع، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران؛ کارکنان مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران؛ و تکنسین های چهار آزمایشگاه در بیمارستان هایی که نمونه مدفوع جمع آوری شده است، تشکر می نمایند. این مطالعه با کمک مالی مؤسسه ملی توسعه تحقیقات پزشکی جمهوری اسلامی ایران (IR.NIMAD.REC.1396.105،۹۵۸۱۰۱) و بخشی از آن توسط مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران پشتیبانی گردید.

منابع

1. Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, Man SM. Global epidemiology of *Campylobacter* infection. Clinical Microbiology Reviews 2015;28(3):687-720.
2. Abulreesh HH, Organji SR, Elbanna K, Osman GEH, Almalki MHK, Ahmad I. *Campylobacter* in the environment: A major threat to public health. Asian Pacific Journal of Tropical Disease 2017;7(6):374-84.
3. Organization WH. The global view of *campylobacteriosis*: report of an expert consultation, Utrecht, Netherlands 2012. 2013.
4. Humphrey T ,O'Brien S, Madsen M. *Campylobacters* as zoonotic pathogens: a food production perspective. International journal of food microbiology 2007;117(3):237-57.
5. French N, Sheppard S, Meric G. *Campylobacter* ecology and evolution. by S Sheppard Caister Academic Press Chap Evolution of *Campylobacter* species in New Zealand 2014:221-40.
6. Keithlin J, Sargeant J, Thomas MK, Fazil A. Systematic review and meta-analysis of the proportion of *Campylobacter* cases that develop chronic sequelae. BMC Public Health 2014;14-1203.
7. Saint-Cyr MJ, Guyard-Nicodème M, Messaoudi S, Chemaly M, Cappelier J-M, Dousset X, et al. Recent advances in screening of anti-*Campylobacter* activity in probiotics for use in poultry. Frontiers in Microbiology 2016;7:553.
8. Wassenaar T. Following an imaginary *Campylobacter* population from farm to fork and beyond: a bacterial perspective. Letters in Applied Microbiology 2011;53(3):253-63.
9. Berghaus RD, Thayer SG, Law BF, Mild RM, Hofacre CL, Singer RS. Enumeration of *Salmonella* and *Campylobacter spp*. in environmental farm samples and processing plant carcass rinses from commercial broiler chicken flocks. Applied *and* Environmental Microbiology 2013;79(13):4106-14.
10. Skarp C, Hänninen M-L, Rautelin H. *Campylobacteriosis*: the role of poultry meat. Clinical Microbiology and Infection 2016;22(2):103-9.
11. Authority EFS. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses, in the EU, 2008-Part B: Analysis of factors associated with *Campylobacter* colonisation of broiler batches and with *Campylobacter* contamination of broiler carcasses; and investigation of the culture method diagnostic characteristics used to analyse broiler carcass samples. EFSA Journal 2010;8(8):1522.
12. Newell D, Fearnley C. Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens. Appl Environ Microbiol. 2003;69(8):4343-51.
13. Hashem F, Parveen S. *Salmonella* and *Campylobacter*: Antimicrobial resistance and bacteriophage control in poultry. Food Microbiology 2016;53:104-9.
14. Ghosh R, Uppal B, Aggarwal P, Chakravarti A, Jha AK. Increasing antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* isolated from paediatric diarrhea cases in a tertiary care hospital of New Delhi, India. Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR 2013;7(2):247.
15. McDougald L, Fitz-Coy S. Protozoa infection In: Saif, YM Disease of poultry 12th edition. Blackwell publishing, USA; 2008.
16. Kagambèga A, Thibodeau A, Trinetta V, Soro DK, Sama FN, Bako É, et al. *Salmonella* spp. and *Campylobacter spp*. in poultry feces and carcasses in Ouagadougou, Burkina Faso. Food Science & Nutrition 2018;6(6):1601-6.
17. Zirnstein G, Li Y, Swaminathan B, Angulo F. Ciprofloxacin Resistance in *Campylobacter jejuni* Isolates: Detection of gyrA Resistance Mutations by Mismatch Amplification Mutation Assay PCR and DNA Sequence Analysis. Journal of Clinical Microbiology 1999;37(10):3276-80.
18. Noormohamed A, Fakhr MK. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter spp*. in Oklahoma conventional and organic retail poultry. The Open Microbiology Journal 2014;8:130.
19. Maktabi S, Ghorbanpoor M, Hossaini M, Motavalibashi A, editors. Detection of multi-antibiotic resistant *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* in beef, mutton, chicken and water buffalo meat in Ahvaz, Iran. Veterinary Research Forum; 2019: Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
20. Berizi E, Shekarforoush S.S., Hosseinzadeh S, Abdollahi M , Study of the contamination of broiler-chicken flocks to *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* at the end of a rearing period. Journal of Veterinary Microbiology 2017; 13(1): 11-19.
21. Raeisi M, Khoshbakht R, Ghaemi EA, Bayani M, Hashemi M, Seyedghasemi NS, et al. Antimicrobial resistance and virulence-associated genes of *Campylobacter spp*. isolated from raw milk, fish, poultry, and red meat. Microbial Drug Resistance 2017;23(7):925-33.
22. Hoseinpour F, Foroughi A, Nomanpour B, Nasab RS. Identification and differentiation of *Campylobacter* species by high-resolution melting curve analysis. Microbial Pathogenesis 2017;108:109-13.
23. Bakhshi B, Kalantar M, Rastegar-Lari A, Fallah F. PFGE genotyping and molecular characterization of *Campylobacter spp*. isolated from chicken meat. Iranian Journal

of Veterinary Research 2016;17(3):177.
24. Bokaeian M, Salehi R. Detecting enteropathogenic *Campylobacters* in chicken feces by PCR and comparing with culture method. Journal of Shahrekord Uuniversity of Medical Sciences 2003;5.
25. Luangtongkum T, Jeon B, Han J, Plummer P, Logue CM, Zhang Q. Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence 2009.
26. Nguyen TNM, Hotzel H, Njeru J, Mwituria J, El-Adawy H, Tomaso H, et al. Antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates from small scale and backyard chicken in Kenya. Gut Pathogens 2016;8(1):39.
27. Babaie Najad Basiri F, Haghighi Khoshkhoo P, Akbariazad G. Prevalence and Antibacterial Susceptibility of Thermophilic *Campylobacter spp*. in Broiler Chickens. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences 2016;26:1369-1385.
28. Ma H, Su Y, Ma L, Ma L, Li P, Du X, et al. Prevalence and characterization of *Campylobacter jejuni* isolated from retail chicken in Tianjin, China. Journal of Food Protection 2017;80(6):1032-40.
29. Dan SD, Tabaran A, Mihaiu L, Mihaiu M. Antibiotic susceptibility and prevalence of foodborne pathogens in poultry meat in Romania. The Journal of Infection in Developing Countries 2015;9(01):035-41.

Daneshvar

Medicine

Scientific-Research

Received: 26/10/2019
Last revised: 31/12/2019
Accepted: 08/01/2020

Investigation of the prevalence of Campylobacter species and their antibiotic resistance phenotypes among poultry meat samples in 22 regions of Tehran, Iran

Atena Sadeghi[1], Parviz Owlia[2], Leila Ganji[3], Saeed Besharati[1], Fatemeh Ahmadi[4], Elahe Tajeddin[5], Masoud Alebouyeh[6]*, Reza MohammadSalehi[2], Fereshteh Fani[7], Gholamreza Pouladfar[7], Bahram Nikmanesh[8], Ali Majidpour[9], Somayeh Soleymanzadeh Moghadam[9], Parisa Eslami[10], Marjan Rahnamaye Farzami[3]

1. Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Molecular Microbiology Research Center, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.
3. Health Reference Laboratory Research Center, Reference Health Laboratory, Ministry of Health and Medical Education, Iran
4. Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
5. National Nutrition and Food Technology Research institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6. Pediatric Infections Research Center, Research Institute for Children Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
7. Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.
8. Department of Medical Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
9. Antimicrobial Resistance Research Center, Institute of Immunology and Infectious Diseases, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
10. Pathology Laboratory, Mehr General Hospital, Tehran, Iran

* Corresponding author e-mail: **masoud.alebouyeh@gmail.com**

Abstract

Background and Objective: Pathogenic species of Campylobacter, in addition to diarrhea and gastrointestinal diseases, could cause debilitating auto-immune and chronic diseases in humans. Investigation of the existence of this bacterium in food sources and clinical samples, and detection of antibiotic resistance could be helpful in the control of its spread and treatment procedures. The aim of this study was to evaluate the frequency and antibiotic resistance of Campylobacter isolates isolated from poultry meat.

Materials and Methods: In this study, a total of 100 poultry meat samples were collected from 22 districts of Tehran from July 2018 until March 2019. Accordingly, standard enrichment of the collected samples and their culture in selective medium was done. The isolates were characterized biochemically and by polymerase chain reaction for genus and species specific primers for C. jejuni, C. coli, C. upsaliensis, and C. lari. Antimicrobial susceptibility of the isolates to 7 antibiotics were done using E-test and disk diffusion methods. Moreover, resistance to three or greater classes of antibiotics was determined as multiple drug resistance phenotype (MDR) and the results were statistically analyzed using SPSS16 software.

Results: Campylobacter was isolated from 35% of the poultry meat samples. C. jejuni (23%), C. coli (1%), and C. lari (1%) were among the Campylobacter isolates from these samples. Highest resistance phenotype and the lowest ones were detected against tetracycline (62.8%), and ampicillin and clindamycin (17.1%, each one), respectively. The MDR phenotype was detected among 42.8% of the isolates.

Conclusion: Our results showed high level of contamination with Campylobacter in the poultry meat samples which proposed increased risk of the infection with MDR strains among the consumers in Tehran. Further studies on human clinical samples could better determine this correlation.

Keywords: Campylobacter, Poultry meat, Antibiotic resistance, Tehran