

تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌های اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال در سه مقطع زمانی (۱۳۷۹، ۱۳۸۰ و ۱۳۸۶) از نمونه‌های ماکیان ارسالی به موسسه رازی

• منصور بنانی (نویسنده مسئول)

عضو هیات علمی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

• حمید شایگان

دانش آموخته مقطع دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرمسار، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۹۴ تاریخ پذیرش: فروردین ۹۵

Email: m.banani@rvsri.ac.ir



چکیده

اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال (ORT) یکی از عوامل ایجاد کننده بیماری‌های تنفسی طیور می‌باشد. در این تحقیق، حساسیت دارویی ۴۷ جدایه باکتری ORT، از گله‌های طیور صنعتی، که در سه مقطع زمانی سال‌های ۱۳۷۹، ۱۳۸۰ و ۱۳۸۶ به موسسه تحقیقاتی واکسن و سرم‌سازی رازی ارجاع داده شده بودند، با استفاده از روش انتشاری دیسک، نسبت به ۳۵ آنتی بیوتیک آزمایش شدند. هیچ جدایه‌ای نسبت به تیمولین مقاوم نبود و کمترین مقاومت‌ها (کمتر از ۵۰٪) نسبت به آمپی‌سیلین، کلیندامایسین، آموکسی‌سیلین، ایمپنم، داکسی‌سایکلین، سفالکسین، تایلوزین، کلرامفنیکل، فلورفنیکل، فورازولیدون، پنی‌سیلین، تیکارسیلین، دانوفلوکساسین، سیپروفلوکساسین، نورفلوکساسین و سفتیوفور مشاهده شد. مقاومت کامل تمامی جدایه‌ها نسبت به اریترومایسین، جنتامایسین، کوتریموکسازول، سولتریام، لینکومایسین، نافسیلین، نئومایسین و کلیستین دیده شد. هر چند مقایسه نتایج سال‌های مختلف در این تحقیق با توجه به یکسان نبودن نوع ماکیان تجاری (گوشتی، تخمگذار یا مادر گوشتی) و استان‌های محل مرغداری، قابل تعمیم نیست ولی افزایش مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌های استرپتو مایسین، فورازولیدون، تتراسیکلین، اکسی‌تتراسیکلین، کلر تتراسیکلین، پنی‌سیلین، تیکارسیلین، سفتیوفور، دانوفلوکساسین و لینکواسپکتین و کاهش مقاومت یا عدم تغییر مقاومت در خصوص سایر آنتی بیوتیک‌ها مشاهده گردید. به دلیل مقاومت اکتسابی عامل بیماری نسبت به داروهای آنتی بیوتیکی و نتایج مختلف درمان آنتی بیوتیکی، شایسته است که به آزمون آنتی بیوگرام این باکتری توجه بیشتری مبذول گردد.

کلمات کلیدی: اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال، آزمایش تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی، ماکیان، ایران

• Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 113 pp: 17-24

In vitro antibiotic resistance profiles of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolates from commercial chickens submitted to Razi institute in 3 different times (2000, 2001 & 2007)

By: Banani, M., (Corresponding Author) Member of Scientific Board of Razi Vaccine and Serum Research Institute. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. Shaigan, H., DVM graduated student from Garmsar veterinary faculty, Islamic Azad University, Iran.

Received: October 2015 Accepted: March 2016

Email: m.banani@rvsri.ac.ir

Ornithobacterium rhinotracheale (ORT) is one of the causes of poultry respiratory diseases. In this study in vitro drug sensitivity of 47 ORT isolates using standard disk diffusion were examined with 35 different antibiotics. The isolates originating from commercial chicken flocks submitted in 2000, 2001 and 2007 to Razi institute. None of the isolates was resistant to tiamulin, and less than 50% were resistant against ampicillin, amoxycillin, imipenem, doxycyclin, tylosin, cefalexin, penicillin, ciprofloxacin, norfloxacin, ticarcillin, chloramphenicol, danofloxacin, florphenicol, ceftiofur, furazolidone and clindamycin. All the isolates were completely resistant to colistin, erythromycin, gentamicin, co-trimoxazole, sultrim, lincomycin, nafcillin and neomycin. There were antibiotic resistance increase in 2007 isolates compared with 2000 and 2001 in several antibiotics including streptomycin, tetracycline, oxytetracycline, chlortetracycline, ticarcillin, ceftiofur, furazolidone, penicillin, danofloxacin, cefalexin, and linco-spectin. In others no change or even resistance decrease were seen. Of course because of different geographic area and different breeds of birds this comparison cannot be generalized. Because of acquired antibiotic resistance, and various results of antibiotic therapy, it must be stressed to ORT antibiogram test more than before.

Key words: *Ornithobacterium rhinotracheale*, chickens, In vitro antibiotic sensitivity test, Iran.

شامل مادر گوشتی، جوجه گوشتی، تخمگذار تجاری و مرغ بومی و در گله‌های با تلفات بالا گزارش شده است (۳). در دنیا هم پس از شناسایی باکتری در سال ۱۹۹۴، عفونت ناشی از آن در صنعت طیور بسیاری از کشورها گزارش شده است و مصرف آنتی‌بیوتیک علیه آن هم متداول بوده است (۱۸). الگوی مقاومت نسبت به داروها متغیر بوده و بستگی به منبع و محل جداسازی آن داشته است. علیرغم اینکه در هر مورد بیماری، توصیه به جداسازی ORT و آنتی بیوگرام آن است (۱۸، ۶)، ولی از آنجایی که باکتری ORT با بسیاری از عوامل بیماری‌زای تنفسی صنعت طیور همراه می‌شود و دسترسی به آزمایشگاه مجهز به تکنیک‌های جداسازی و شناسایی این باکتری در ایران معمولاً دشوار است، بنابراین، انجام آزمایش آنتی بیوگرام ORT در آزمایشگاه‌های دامپزشکی کشور هم متداول نیست. از سوی دیگر گزارش وضعیت مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری ORT در کشور هم بسیار اندک است (۵، ۲، ۱). بنابراین، از آنجایی که اطلاعات کلینیسی‌ها در رابطه با انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب اندک و مبهم است؛ مطالعه حاضر می‌تواند تا حدودی راهنمای انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب‌تر برای کلینیسی‌ها در طیور باشد. در این تحقیق اولاً طیف وسیعی از آنتی بیوتیک‌ها شامل ۳۵ آنتی بیوتیک مختلف مورد آزمایش قرار گرفته‌اند که در هیچ کدام از تحقیقات مشابه در خصوص ORT در دنیا این تعداد از آنتی بیوتیک برای شناسایی بهتر الگوی مقاومت این باکتری، مورد ارزیابی قرار نگرفته است و ثانیاً باکتری‌های جداسازی شده و ذخیره شده در سه زمان

مقدمه

باکتری اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال (*Ornithobacterium rhinotracheale*) عامل بیماری اورنیتوباکتریوز در پرندگان، موجب علائم تنفسی، کاهش رشد، کاهش تولید تخم و افزایش مرگ و میر و حذف کشتارگاهی در بوقلمون و ماکیان می‌شود. علائم بالینی و کالبدگشایی، ارزش اندکی در تشخیص این بیماری و عامل آن دارد و جداسازی و شناسایی عامل برای تشخیص قطعی بیماری لازم است (۸، ۶). باکتری ORT در کنار سایر عوامل اولیه و ثانویه ویروسی و باکتریایی، یکی از عوامل مهم کمپلکس بیماری تنفسی طیور محسوب می‌شود. بیماری‌های تنفسی از مهم‌ترین مشکلات صنعت طیور به شمار می‌روند و بیشترین هزینه‌های دارو درمانی، صرف مبارزه با این بیماری‌ها شده و بر خسارات سنگین و مستقیم ناشی از این بیماری‌ها می‌افزاید (۷). عفونت ORT با ورود به کمپلکس‌های تنفسی طیور تجاری، تشخیص دقیق و کامل عوامل دخیل در سندرم تنفسی طیور و همچنین مبارزه اصولی و کامل با آن‌ها را بسی دشوارتر نموده است (۷، ۱۰، ۱۲). اولین گزارش عفونت ORT در مرغداری‌های ایران، در سال ۱۳۷۹ و از یک گله جوجه گوشتی و یک گله پالت تخم‌گذار با علائم تنفسی بوده است (۱). متعاقباً باکتری از بوقلمون (۲) و انواع متفاوت طیور گوشتی و تخمگذار ماکیان هم گزارش شد (۳). بیماری اورنیتوباکتریوز در انواع مختلف ماکیان ایران

غلظت آنتی‌بیوتیک در هر دیسک با توجه به نوع آنتی‌بیوتیک آن تعیین شده است.

دیسک‌های مورد استفاده و میزان غلظت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها

۱- کلر تتراسایکلین (۳۰mcg-per Disc)؛ ۲- استرپتومایسین (۱۰mcg-per Disc)؛ ۳- سفتیوفور (۳۰mcg-per Disc)؛ ۴- سفالکسین (۳۰mcg-per Disc)؛ ۵- اکسی تتراسایکلین (۳۰mcg-per Disc)؛ ۶- پنی سیلین (۱۰mcg-per Disc)؛ ۷- نروفلوکساسین (۵mcg-per Disc)؛ ۸- جنتامایسین (۱۰mcg-per Disc)؛ ۹- تیکارسیلین (۷۵mcg-per Disc)؛ ۱۰- تتراسایکلین (۳۰mcg-per Disc)؛ ۱۱- لینکومایسین (۲mcg-per Disc)؛ ۱۲- نور فلوکساسین (۱۰mcg-per Disc)؛ ۱۳- ایمی پنم (۱۰mcg-per Disc)؛ ۱۴- سولتریم (۷۵mcg-per Disc/۲۳)؛ ۱۵- فلومکوئین (۳۰mcg-per Disc)؛ ۱۶- کلرامفنیکل (۳۰mcg-per Disc)؛ ۱۷- نالیدیسیک اسید (۳۰mcg-per Disc)؛ ۱۸- لینکوسپکتین (۱۵mcg-per Disc/۲۰۰)؛ ۱۹- نافسیلین (۱۰mcg-per Disc)؛ ۲۰- دانوفلوکساسین (۱۰mcg-per Disc)؛ ۲۱- فورازولیدون (۱۰۰mcg-per Disc)؛ ۲۲- تیمولین (۳۰mcg-per Disc)؛ ۲۳- کوتریماکسازول (تری متوپریم + سولفامتوکسازول) (۷۵mcg-per Disc/۲۳)؛ ۲۴- تایلوزین (۳۰mcg-per Disc)؛ ۲۵- کلیستین (۱۰mcg-per Disc)؛ ۲۶- فلورفینیکل (۳۰mcg-per Disc)؛ ۲۷- کلیندامایسین (۲mcg-per Disc)؛ ۲۸- اریترومایسین (۱۵mcg-per Disc)؛ ۲۹- نئومایسین (۳۰mcg-per Disc)؛ ۳۰- سیپروفلوکساسین (۵mcg-per Disc)؛ ۳۱- آزیترومایسین (۱۵mcg-per Disc)؛ ۳۲- دیفلوکساسین (۱۰mcg-per Disc)؛ ۳۳- داکسی سایکلین (۳۰mcg-per Disc)؛ ۳۴- آمپی سیلین (۱۰mcg-per Disc)؛ ۳۵- آموکسی سیلین (۲۵mcg-per Disc).

نتایج

نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام ۴۷ جدایه مورد مطالعه، به صورت درصد مقاومت نسبت به ۳۵ آنتی‌بیوتیک مختلف در خصوص جدایه‌های هر سال به تفکیک و در مجموع، در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج این بررسی، مقاومت باکتری نسبت به خیلی از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف از جمله داروهای متداول در صنعت مرغداری مشاهده گردید و مقاومت کامل تمامی جدایه‌ها نسبت به ۸ آنتی‌بیوتیک مختلف اریترومایسین، جنتامایسین، کوتریموکسازول، سولتریم، لینکومایسین، نافسیلین، نئومایسین و کلیستین و حساسیت همه آن‌ها در برابر تیمولین دیده شد. هر چند مقایسه نتایج سال‌های مختلف در این تحقیق با توجه به استان‌های مختلف و یکسان نبودن نوع ماکیان تجاری (گوشتی، تخمگذار یا مادر گوشتی)، قابل تعمیم نیست ولی افزایش مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین، فورازولیدون، تتراسایکلین، اکسی تتراسایکلین، کلرتراسایکلین، پنی سیلین، تیکارسیلین، سفالکسین، سفتیوفور، دانوفلوکساسین و لینکوسپکتین و کاهش مقاومت و یا عدم تغییر مقاومت در خصوص سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مشاهده گردید (جدول ۱). در خصوص مقاومت‌های دارویی چندگانه همزمان در یک جدایه، در سال ۱۳۷۹ یک جدایه (۳٪) مقاومت نسبت به ۲۸ آنتی‌بیوتیک و دو جدایه (۶٪) مقاومت در برابر ۱۳ آنتی‌بیوتیک و به ترتیب ۶۱٪ و ۳۰٪

مختلف از نمونه‌های ماکیان تجاری ارجاعی به بخش طیور مؤسسه رازی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. و همه آن‌ها پس از تأیید تشخیص باکتری با روش PCR (۴) مورد آزمایش آنتی‌بیوگرام قرار گرفتند.

مواد و روش کار

باکتری‌های مورد آزمایش

تعداد ۴۷ نمونه باکتری ORT بکار رفته در انجام این تحقیق، باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های ارجاعی به مؤسسه تحقیقاتی واکنس و سرم‌سازی رازی بوده که از قسمت نای پرندگان در سه سال مختلف ۱۳۷۹، ۱۳۸۰ و ۱۳۸۶ جداسازی شده بودند. از این ۴۷ نمونه، ۳۳ نمونه در سال ۱۳۷۹، ۶ نمونه در سال ۱۳۸۰ و ۸ نمونه در سال ۱۳۸۶ جداسازی و ذخیره شده بودند. هر باکتری جدا شده مربوط به یک گله یا مرغداری بود. بیشترین نمونه‌های سال ۱۳۷۹ از مرغداری‌های جوجه گوشتی استان البرز بودند و به ترتیب ۶۷٪، ۱۸٪ نمونه‌های مربوط به آن سال، از استان‌های البرز و قزوین بودند و ۱۵ درصد باقیمانده هم از مازندران، سمنان، قم، اصفهان و خراسان رضوی ارسال شده بودند. ۸۲ درصد نمونه‌های سال ۱۳۷۹، جوجه‌های گوشتی، ۱۲٪ تخمگذار تجاری و ۶٪ مادر گوشتی بودند. بیشترین نمونه‌های سال ۱۳۸۰ که در این تحقیق بررسی شدند، مانند سال قبل از جوجه‌های گوشتی استان البرز بودند و به ترتیب ۶۷٪ و ۳۳٪ نمونه‌های سال ۱۳۸۰ از جوجه‌های گوشتی استان البرز و مادر گوشتی استان مازندران تشکیل شده بود. بالاخره بیشترین نمونه‌های سال ۱۳۸۶ شامل نمونه‌های ارسالی از گله‌های مرغان مادر گوشتی استان گیلان بودند و به ترتیب ۷۵٪ و ۲۵٪ نمونه‌های آن سال در این تحقیق، از مرغان مادر استان گیلان و جوجه‌های گوشتی استان قزوین تشکیل شده بودند. تمامی این نمونه‌ها به صورت فریز شده در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد، به همراه گلیسرین در محیط Brain Heart Infusion (BHI) نگهداری شده بودند. نمونه‌های مورد بررسی قبلاً با روش‌های باکتریولوژیک و PCR به کمک پرایمرهای اختصاصی مورد تأیید قرار گرفته بودند (۴).

آزمون آنتی‌بیوگرام

در انجام این مطالعه در مجموع، ۴۷ باکتری ذخیره شده جدا شده از نمونه‌های ارجاعی به مؤسسه تحقیقاتی و سرم‌سازی رازی، از نظر آزمون آنتی‌بیوگرام به روش انتشار دیسک، مورد بررسی قرار گرفتند. از آنجا که دستورالعمل استاندارد برای نحوه آزمایش تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی ORT و تفسیر نتایج آن موجود نیست، روش استاندارد (NCCLS) برای باکتری‌های گرم منفی سخت رشد (fastidious) بدین منظور استفاده گردید (۵). پراگنده‌ها از محیط کشت بلاذ آگار پس از ۲۴ ساعت نگهداری در داخل دستگاه انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد با اتمسفر حاوی ۱۰-۵٪ گاز Co₂ برداشته شدند. سپس سوسپانسیون باکتری ORT با کدورت استاندارد مک فارلند (۱-۰/۵)، تهیه گردید. با کمک سوآپ، سوسپانسیون باکتری به طور کامل در ۳ جهت (افقی، عمودی، مورب) بر روی محیط جامد بلاذ مولر هینتون آگار کشیده و به طور یکنواخت پخش شد. دیسک گذاری و انتقال پلیت‌ها به گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد با اتمسفر حاوی ۱۰-۵٪ گاز Co₂ به مدت ۲۴ ساعت صورت گرفت. از ۳۵ دیسک آنتی‌بیوتیکی ساخت شرکت پادتن طب استفاده شده و میزان

جدول ۱ - مقاومت دارویی ۴۷ جدایه ORT در سال‌های ۱۳۷۹، ۱۳۸۰ و ۱۳۸۶

ردیف	نوع آنتی بیوتیک	درصد مقاوم سال ۱۳۷۹	درصد مقاوم سال ۱۳۸۰	درصد مقاوم سال ۱۳۸۶	درصد مقاوم مجموع
۱	AZM	۱۰۰	۸۵/۷۱	۱۰۰	۹۸
۲	AM	۲۴/۳۲	۴۰	۱۲/۵	۲۳
۳	AMX	۲/۷	۰	۰	۲
۴	E	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۵	S	۹۷/۲۹	۱۰۰	۱۰۰	۹۸
۶	T	۶۲/۱۶	۸۰	۸۷/۵	۶۸
۷	IPM	۵/۴	۰	۰	۴
۸	P	۳۷/۱۵	۶۰	۶۲/۵	۴۴
۹	TE	۷۴/۲۸	۸۰	۱۰۰	۷۹
۱۰	TIC	۲۲/۲۳	۲۰	۵۰	۲۶
۱۱	GM	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۲	D	۲۵	۰	۰	۱۷
۱۳	CN	۵/۴	۰	۱۲/۵	۶
۱۴	NFX	۵۶/۷۵	۴۰	۳۷/۵	۵۳
۱۵	TY	۲۴/۳۲	۲۰	۱۲/۵	۲۱
۱۶	TM	۰	۰	۰	۰
۱۷	DFX	۲۲/۲۲	۴۰	۳۷/۵	۲۸
۱۸	DF	۷۱/۴	۴۰	۱۲/۵	۵۷
۱۹	CP	۵۱/۴۲	۵۰	۳۷/۵	۴۹
۲۰	FR	۱۰/۵۲	۶۰	۷۵	۲۸
۲۱	C	۳۷/۸۵	۶۰	۱۲/۵	۳۶
۲۲	CTE	۶۵/۸	۸۰	۸۷/۵	۷۲
۲۳	CC	۱۲/۱۳	۰	۱۲/۵	۱۱
۲۴	SXT	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۲۵	L	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۲۶	NF	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

ادامه جدول ۱ - مقاومت دارویی ۴۷ جدایه ORT در سال های ۱۳۷۹، ۱۳۸۰ و ۱۳۸۶

ردیف	نوع آنتی بیوتیک	درصد مقاوم سال ۱۳۷۹	درصد مقاوم سال ۱۳۸۰	درصد مقاوم سال ۱۳۸۶	درصد مقاوم مجموع
۲۷	نالیدیسیک اسید	۹۳/۹۴	۲۰	۷۵	۷۲
۲۸	نئوماپسین	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۲۹	نورفلوکساسین	۴۵/۴۶	۵۰	۲۵	۴۰
۳۰	سولتریم	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۳۱	فلورفنیکل	۱۳/۵۱	۰	۰	۱۱
۳۲	فلومکوئین	۷۵/۶۷	۶۰	۲۵	۶۵
۳۳	سفتیوفور	۰	۰	۱۲/۵	۲
۳۴	کلیستین	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۳۵	لینکو اسپکتین	۷۵/۵۹	۶۰	۸۷/۵	۷۷

بیوتیک مختلف اریتروماپسین، جنتاماپسین، کوتریموکسازول، سولتریم، لینکوماپسین، نافسیلین، نئوماپسین و کلیستین و حساسیت همه آن‌ها در برابر تیمولین دیده شد. به غیر از این تشابه، تفاوت در نتایج سایر آنتی بیوتیک‌ها مشهود بود.

شبهات علائم اورنیتو باکتریوز با بسیاری از بیماری‌های تنفسی طیور و شیوع بالای عفونت‌های مخلوط از یک طرف و مشکل بودن نسبی جداسازی و شناسایی قطعی باکتری ORT از طرف دیگر باعث شده است که تشخیص این بیماری به سادگی و سرعت امکان‌پذیر نباشد و آزمایش آنتی‌بیوگرام برای عامل بیماری در اغلب موارد نادیده گرفته شود. از عوارض کاربرد آنتی‌بیوتیک نا مناسب بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در عوامل بیماری‌زا و میکروفلور طبیعی است (۱۴، ۱۲، ۶). van Empel & Hafez اظهار می‌دارند که حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری ORT بسیار متغیر بوده و ظاهراً بستگی به منطقه جداسازی سویه باکتری دارد (۱۸). در این خصوص کل صنعت طیور کشور را با توجه به ارتباطات و مشترکات (دان، جوجه و...) زیادی که در آن وجود دارد، می‌توان یک منطقه واحد قلمداد نمود. هرچند بایستی اختلافات جغرافیایی و نحوه پرورش متفاوت، هم از نظر دور نداشت.

در این تحقیق کمترین درصد مقاومت آنتی‌بیوتیکی به ترتیب نسبت به تیمولین (۰٪)، آموکسی‌سیلین (۲٪)، سفتیوفور (۲٪)، ایمپینم (۴٪)، سفالکسین (۶٪)، فلورفنیکل (۱۱٪)، کلیندامایسین (۱۱٪)، داکسی‌سیکلین (۱۷٪)، تایلوزین (۲۱٪)، آمپی‌سیلین (۲۳٪)، تیکارسیلین (۲۶٪)، دانوفلوکساسین (۲۸٪) و فورازولیدون (۲۸٪) بوده است. این نتایج تا حدود

جدایه‌ها مقاومت چندگانه ۱۸ تا ۲۴ گانه و ۱۴ تا ۱۶ گانه را نشان دادند. تمامی جدایه‌های سال ۱۳۷۹ در مقاومت همزمان نسبت به ۹ آنتی‌بیوتیک مشابه بودند. در سال ۱۳۸۰ مقاومت ۹ تا ۱۱ گانه در ۳۳٪ جدایه‌ها و مقاومت ۱۸ تا ۲۱ گانه در ۶۷٪ جدایه‌ها مشاهده شد. تمامی جدایه‌های سال ۱۳۸۰ در مقاومت همزمان نسبت به ۹ آنتی‌بیوتیک مشابه بودند و این ۹ آنتی‌بیوتیک که در ۱۰۰٪ جدایه‌های آن سال، نسبت به آن‌ها مقاومت دیده می‌شد، تنها در یک آنتی‌بیوتیک با سال قبل متفاوت بود و به جای آزیترومایسین در سال ۱۳۷۹، همه جدایه‌ها در سال ۱۳۸۰ نسبت به استرپتوماپسین مقاومت نشان دادند (جدول ۱). تمامی جدایه‌های سال ۱۳۸۶ مقاومت بین ۱۵ تا ۱۷ گانه را نشان دادند و همه آن‌ها در مقاومت برابر ۱۱ آنتی‌بیوتیک از جمله شامل آزیترومایسین، استرپتوماپسین و تتراسیکلین مشابه بودند.

بحث

عفونت ORT می‌تواند به طور موفقیت‌آمیزی با کمک آنتی‌بیوتیک‌ها درمان شود ولی مقاومت اکتسابی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به سرعت در این باکتری پدیدار می‌شود (۷، ۱۳). در این مطالعه بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۴۷ جدایه در مقابل ۳۵ داروی مختلف و مقایسه آن با سایر تحقیقات در دنیا انجام شده است. بر اساس نتایج این بررسی، مقاومت جدایه‌ها نسبت به خیلی از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف از جمله داروهای متداول در صنعت مرغداری مشاهده گردید و مقاومت کامل تمامی جدایه‌ها نسبت به ۸ آنتی

بود که مشابه تحقیق حاضر است (۱۴). در فرانسه بررسی Roger & Leorat در ۱۹۹۷ نشان داد که تمام سویه‌ها به آموکسی‌سیلین و اسپکتینومایسین و تایلوزین حساس بوده ولی نسبت به جنتامایسین مقاوم بودند (۱۷). نتایج این بررسی در مورد جنتامایسین، و آموکسی‌سیلین با نتایج حاصل از کار آن‌ها تقریباً مطابقت دارد، البته در مورد تایلوزین در این مطالعه فقط ۵۲/۱۷ درصد حساسیت مشاهده شده است و مقاومت بالایی نسبت به ترکیب لینکومایسین و اسپکتینومایسین (لینکواسپکتین) دیده شد.

در امریکا، در بررسی Nagaraja و همکاران، تمامی سویه‌های مورد آزمایش نسبت به آمپی‌سیلین، اریترومایسین، پنی‌سیلین، اسپکتینومایسین و تایلوزین فاقد مقاومت بودند (۱۶). بر خلاف نتایج بررسی Nagaraja و همکاران، نتایج حاصل از این مطالعه متفاوت بود، به طوری که از ۴۷ نمونه مورد بررسی، ۲۳ درصد جدایه‌ها نسبت به آمپی‌سیلین، ۴۴ درصد نسبت به پنی‌سیلین، ۲۱ درصد نسبت به تایلوزین، ۷۷ درصد جدایه‌ها در برابر ترکیب اسپکتینومایسین - لینکومایسین و ۱۰۰ درصد جدایه‌ها نسبت به اریترومایسین مقاومت کامل نشان دادند. در مطالعه دیگری در امریکا، Malik و همکاران در سال ۲۰۰۳ با روش انتشار از دیسک، مقاومت ۱۲۵ جدایه از بوقلمون را نسبت به ۱۱ آنتی‌بیوتیک، بین سال‌های ۱۹۹۶ و ۲۰۰۲، بررسی نمودند (۱۴). در برابر کلیندامایسین هیچگونه مقاومتی دیده نشد ولی پس از آن مقاومت اندکی نسبت به اریترومایسین مشاهده گردید و مقاومت بالایی نسبت به سولفامیدها و ترکیب سولفامید و تری متو پریم - سولفامید دیده شد. در مقابل انرو فلوکساسین، پنی‌سیلین، سفیتیوفور، تتراسیکلین، پنی‌سیلین و اسپکتینومایسین مقاومت متغیر و متوسطی مشاهده گردید. در مطالعه حاضر نسبت به کلیندامایسین تنها ۱۱ درصد جدایه‌ها کاملاً مقاوم بودند. بر خلاف تحقیق Malik و همکاران، در مطالعه حاضر، در تمامی جدایه‌ها مقاومت کاملی نسبت به اریترومایسین مشاهده گردید.

Devriese و همکارانش در سال ۲۰۰۱؛ اثر ۱۰ نوع آنتی‌بیوتیک را بر روی ۴۵ جدایه ORT که از ۴۵ مزرعه جوجه گوشتی در بلژیک، بین سال‌های ۱۹۹۵ تا ۱۹۹۸ جداسازی شده بود، مورد بررسی قرار دادند و نتایج زیر را اعلام کردند. تمام جدایه‌های ORT نسبت به لینکو مایسین، آمپی‌سیلین و سفتی و فور مقاوم بودند و کمتر از ۱۰٪ از جدایه‌ها به تایلوزین، اسپیرامایسین، تیل‌مایکوزین و فلومکوئین حساس بودند، و تعداد کمی از سویه‌ها نسبت به انروفلوکساسین و داکی سایکلین حساس بودند، و تمام سویه‌ها نسبت به تیمولین حساسیت نشان دادند (۹).

در یک مطالعه در مالزی (Mohd-Zain (۱۵) و همکاران مقاومت کامل ۱۸ جدایه از ماکیان نسبت به انرو فلوکساسین، تایلوزین، تیل‌مایکوزین، تری متو پریم سولفا و آمپی‌سیلین و مقاومت اغلب جدایه‌ها (۷۷٫۸٪) نسبت به آموکسی‌سیلین و حساسیت تمامی آن‌ها نسبت به کلرامفنیکل را گزارش نمودند. آن‌ها با این تحقیق خود، مقاومت ORT نسبت به آنتی‌بیوتی‌های متداول در درمان بیماری‌های تنفسی طیور مالزی را نشان دادند (۱۵).

افزایش مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین، فورازولیدون، تتراسیکلین، اکسی‌تتراسیکلین، کلر تتراسیکلین، پنی‌سیلین، تیکارسیلین، سفالکسین، سفیتیوفور، دانوفلوکساسین و لینکواسپکتین و کاهش مقاومت و یا عدم تغییر مقاومت در خصوص سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مشاهده گردید

زیادی با نتایج تحقیقات سایر کشورها هم منطبق می‌باشد (۶، ۷، ۱۸). به عبارت دیگر آنتی بیوتیک‌های انتخابی احتمالاً می‌بایستی از بین داروهای فوق و با در نظر گرفتن سایر فاکتورها، برگزیده شود. هر چند همانطور که در این تحقیق هم مشاهده شد با توجه به تفاوت نتایج آنتی بیوگرام، انجام آزمون آنتی‌بیوگرام در خصوص هر جدایه بهترین گزینه است. حساسیت کامل جدایه‌های سال ۲۰۰۲ آمریکا نسبت به سفیتیوفور در بررسی Malik و همکاران (۱۴) و در صد بالای حساسیت به آن در تحقیق van Veen و همکاران (۱۹) در هلند هم دیده شده است. هر چند مقاومت بین ۲۳ تا ۷۴ درصدی سایر جدایه‌های سال‌های دیگر آمریکا نسبت به سفیتیوفور دیده شده است (۱۴). در بررسی Devriese و همکاران از بلژیک مقاومت کامل جدایه‌ها نسبت به سفیتیوفور و حساسیت کامل آن‌ها در برابر تیمولین گزارش شده است (۹). بنظر می‌رسد که در باکتری ORT نسبت به تمامی آنتی بیوتیک‌های مورد مصرف در صنعت طیور، البته به استثنای تیمولین، کما بیش مقاومت اکتسابی ایجاد شده باشد (۸).

در این تحقیق بیشترین در صد مقاومت آنتی‌بیوتیکی هم به ترتیب نسبت به جنتامایسین (۱۰۰)، اریترومایسین (۱۰۰)، کوتریموکسازول (۱۰۰)، لینکومایسین (۱۰۰)، نافسیلین (۱۰۰)، کلیستین (۱۰۰)، استرپتومایسین (۹۸٪)، آزیترو مایسین (۹۸٪)، تتراسیکلین (۷۹٪) و لینکو اسپکتین (۷۷٪)، نالیدیسیک اسید (۷۲٪)، کلر تتراسیکلین (۷۲٪)، اکسی تتراسیکلین (۶۸٪) و فلومکوئین (۶۵٪) مشاهده گردید. سایر آنتی بیوتیک‌ها هم در تحقیق حاضر، کما بیش در وضعیت بینابینی قرار دارند. در تحقیق انجام شده در امریکا حساسیت بیشتر جدایه‌ها نسبت به اریترومایسین مشاهده شده است (۱۴). در صورتی که در کارهای van Veen و همکاران (۱۹) کمترین حساسیت نسبت به اریترومایسین، مشابه این تحقیق، دیده شده است. مقاومت بین ۶۰ تا ۸۸ درصدی نسبت به لینکو اسپکتین در سال‌های ۱۳۷۹، ۱۳۸۰ و ۱۳۸۶ مشابه مقاومت ۸۰ درصدی نسبت به اسپکتینومایسین در جدایه‌های سال ۱۹۹۸ در امریکا می‌باشد (۱۴) و بر خلاف آن در جدایه‌های سایر سال‌های مورد بررسی در امریکا هیچ‌گونه مقاومتی نسبت به این آنتی بیوتیک دیده نشد (۱۴). در تحقیق بنانی و همکاران مربوط به جدایه‌های ابتدای ۲۰۰۱ تا انتهای ۲۰۰۲ تنها ۲ درصد جدایه‌ها مقاومت به ترکیب لینکومایسین و اسپکتینومایسین (لینکواسپکتین) را نشان داده بودند (۵). مقاومت نسبت به سولفامیدها و ترکیب سولفامید و تری‌متوپریم و همین‌طور جنتامایسین همچون این مطالعه در سایر تحقیقات هم دیده شده است ولی مواردی از حساسیت نسبت به این آنتی بیوتیک‌ها هم گزارش شده است (۱۹).

در آلمان، بررسی Hafez در سال ۱۹۹۶ نشان داد که ۹۰ تا ۱۰۰ درصد سویه‌های جدا شده از آلمان به انروفلوکساسین، نفومایسین، جنتامایسین و تری‌متوپریم - سولفانامید مقاوم بودند و تمامی سویه‌های مورد بررسی در برابر تتراسیکلین، کلرامفنیکل و آموکسی‌سیلین کمترین مقاومت را نشان دادند (۱۱). وضعیت جدایه‌های ایران در این تحقیق در خصوص دو آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و تتراسیکلین، تفاوت زیادی با مطالعه فوق در آلمان نشان داده است. ۵۳ درصد جدایه‌های این مطالعه نسبت به انروفلوکساسین و نزدیک به ۸۰ درصد جدایه‌ها هم در برابر تتراسیکلین کاملاً مقاومت نشان می‌دادند. مقاومت بین ۴۷ تا ۵۹ درصدی جدایه‌ها در سال‌های ۱۹۹۶ تا ۲۰۰۱ در آمریکا نسبت به انروفلوکساسین دیده شده

در این میان انجام اقدامات مدیریتی، بهداشتی و واکسیناسیون، بهترین راه پیشگیری و مبارزه با بروز عفونت‌های تنفسی به ویژه ORT محسوب می‌شوند (۱۸، ۶).

منابع مورد استفاده

- Banani M., Khaki, P., Goodarzi, H., Vandyousefi, J., and Pourbakhsh, S.A. (2000). Isolation and identification of *Ornithobacterium rhinotracheale* from a broiler and a pullet flock. *Pajouhesh & Sazandegi* 46: 106-109. (In Persian).
- Banani M., Pourbakhsh, S.A., and Khaki, P. (2001). Isolation and identification of *Ornithobacterium rhinotracheale* from turkey and its antibiotic sensitivity. Proceeding of 4th Congress of Microbiology. Shahed University, Tehran, Iran. Pp: 180-181. (In Persian).
- Banani M., Pourbakhsh, S.A., Moazeni Jula, G., Momayez, R. and Ezzi, A. (2002). Natural infection with *Ornithobacterium rhinotracheale* in commercial poultry and experimental infection in specific – pathogen-free chickens. *Pajouhesh & Sazandegi* 55 : 28-37. . (In Persian).
- Banani M., Pourbakhsh, S.A., Erami, M., Gholamin, F., and Fatehmanesh, M (2009). Diagnosis of *Ornithobacterium rhinotracheale* using polymerase chain reaction (PCR). *J. Vet. Res.* (Tehran University). 64,1:41-45. . (In Persian).
- Banani M., Pourbakhsh SA, Deihim AH. Antibiotic sensitivity of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolates associated with respiratory diseases. *Arch. Razi Ins.* 2004;58:111–117.
- Chin, R.P., van Empel, P.C.M., and Hafez, H.M. (2013). *Ornithobacterium rhinotracheale* Infection. In: Diseases of poultry. Swayne, D.E. et al. (eds). 13th edition. Wiley- Blackwell press, AAAP. Pp: 1124- 1132.
- Gornatti Churria CD, Machuca M, Vigo G, Petruccelli M. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in poultry: an updated review. *Int. J. Mol. Zool.* 2012;2: 23–38.
- De Herdt, P. Cauwerts, K., Vervloesem, J., and Ducatelle, R. (2001). The relevance and efficacy of *Ornithobacterium rhinotracheale* control in chickens. *World Poultry-Elsevier.* 17, 10: 32-33.
- Devriese LA, De Herdt P, Haesebrouck F. Antibiotic sensitivity and resistance in *Ornithobacterium rhinotracheale* strains from Belgian broiler chickens. *Avian Pathol.* 2001;30:197–200
- EL-Sukhon, S.N., Musa, A. & Al-Attar, M. (2002). Studies on the bacterial etiology of airsacculitis of broilers in northern and middle Jordan with special reference to *Escherichia coli*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, and *Bordetella vium*. *Avian Diseases* 46: 605-612.
- Hafez H.M. (1996) . Current status on the role of *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) in respiratory disease complexes in

(جدول ۱). هر چند مقایسه نتایج سال‌های مختلف در این تحقیق با توجه به استان‌های مختلف و یکسان نبودن نوع ماکیان تجاری (گوشتی، تخمگذار یا مادر گوشتی)، همین‌طور تفاوت در نحوه نگهداری و مدیریت پرندگان و میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و بروز بیماری‌ها در گله‌ها، قابل تعمیم نیست و نیاز به کار بیشتری است. مشابه این یافته‌ها، در یک تحقیق از امریکا هم دیده شد و در آنجا هم مواردی کاهش مقاومت نسبت به برخی آنتی‌بیوتیک‌ها گزارش شد (۱۴). به عنوان مثال در آن تحقیق، مقاومت جدایه‌های ORT نسبت به سفتیوفور و انروفلوکساسین در سال ۲۰۰۲ دیده نشد ولی در سال‌های قبل از آن مقاومت قابل توجهی نسبت به این دو آنتی‌بیوتیک دیده شده بود. ولی آنچه مسلم است مجموعه تحقیقات در دنیا، در خصوص مقاومت دارویی ORT، مؤید آن است که در طول زمان با مصرف مداوم آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت بیشتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها ایجاد شده است (۷، ۶).

در یک بررسی در ایران باکتری ORT جدا شده از یک نمونه بوقلمون محلی، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسیکلین، فورازولیدون، کلرامفنیکل، پنی سیلین، اریترومیسین، تایلوزین، لینکومایسین، فلومکوئین، انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین حساسیت نشان داد. عدم مواجهه قبلی این جدایه با آنتی‌بیوتیک‌ها دلیل احتمالی این حساسیت ذکر شده است (۲). اولین جدایه از ایران هم که در سال ۱۳۸۷ از ماکیان پرورشی جدا شده بود، نسبت به تیمولین، سفالکسین، سفتریاکسون و کلرامفنیکل حساسیت کامل و نسبت به نوویوسین، انروفلوکساسین، فلومکوئین، آموکسی سیلین، پنی سیلین، باسیتراسین، داکسی‌سیکلین حساسیت متوسط و در برابر فورازولیدون، لینکومایسین، اسپکتینو مایسین، تایلوزین، تری متوپریم-سولفامید، تتراسیکلین، نئومایسین و اکسی‌تتراسیکلین مقاومت کامل نشان داده بود (۱).

تحقیق مشابه قبلی در ایران تنها ۱۹ آنتی‌بیوتیک استفاده شده بود و جدایه‌های ORT مربوط به انتهای سال ۱۳۷۹ تا انتهای سال ۱۳۸۱ بدون تفکیک زمانی، بررسی شده بودند (۵). در صورتی‌که نتایج این مطالعه نمونه‌های ابتدای سال ۱۳۷۹ و نمونه‌های ارسالی سال ۱۳۸۶ را هم شامل می‌شود. در آن بررسی، تمامی جدایه‌ها به تیمولین و اکثر آن‌ها به کلرامفنیکل و لینکومایسین حساس بودند. به عبارت دیگر به ترتیب ۱ و ۲ در صد جدایه‌های مورد بررسی در آن تحقیق (۵)، به ترتیب نسبت به کلرامفنیکل و لینکومایسین مقاوم بودند. در صورتی‌که در این مطالعه در جدایه‌های ابتدای سال ۱۳۷۹ به ترتیب ۳۸ و ۷۶ درصد، سال ۱۳۸۰ به ترتیب ۶۰ و ۶۰ درصد و در جدایه‌های سال ۱۳۸۶ به ترتیب ۱۳ و ۸۸ در صد مقاومت نسبت به این دو آنتی‌بیوتیک مشاهده شده است.

با توجه به نتایج بررسی حاضر و تحقیقات سایرین، درمان دارویی این عفونت بدلیل ایجاد مقاومت اکتسابی علیه آنتی‌بیوتیک‌های متداول مصرفی در بیماری‌های تنفسی، به سادگی میسر نیست، لذا انجام آزمون تعیین حساسیت دارویی جهت انتخاب دارویی مناسب و کارآمد جهت مقابله و پیشگیری از عفونت ORT و نیز کاهش ضررهای اقتصادی ناشی از انتخاب درمان دارویی کور، امری لازم و ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین، آنتی‌بیوگرام وسیع سوپه‌های مختلف باکتری ORT به صورت مستمر ضروری می‌باشد تا استراتژی کلی درمان دارویی علیه این عفونت مشخص شود (۱۸، ۷).

poultry. *Archiv fur Geflugelkunde*, (Germany) , 61: 208-211.

12- Hafez, M.H. (2002) : Diagnosis of *Ornithobacterium rhinotracheale*. *International journal of Poultry Science*. 1(5) : 114-118.

13- Jansen R., Chansiripornchai N., Gaastra W., van Putten JPM. Characterization of pOR1 from *Ornithobacterium rhinotracheale* and construction of a shuttle plasmid. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004;70:5853-5858.

14- Malik, Y., S. Olsen, K. Kumar, K. Kuldeep and S.M. Goyal, 2003: In vitro antibiotic resistance profiles of *Ornithobacterium rhinotracheale* strains isolated from Minnesota turkeys during 1996-2002. *Avian Dis.* 47, 588-593.

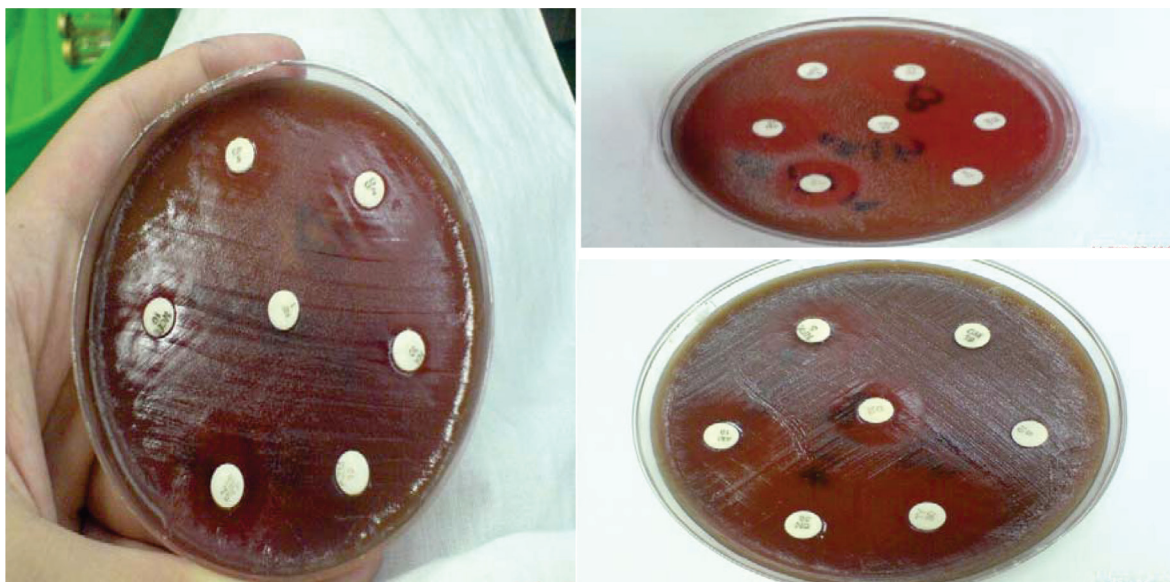
15- Mohd-Zain Z, Jee TL, Jusoff K. (2008). Phenotypic characteristics, antibiotic susceptibility, and pathogenicity of *Ornithobacterium rhinotracheale*. *WSEAS Trans. Biol. Med.*;7:133-142.

16- Nagaraja, K., Back, A., Sorenger, S., Rajashekara , G. & Halvorson, D. (1998). Tissue distribution post-infection and antimicrobial sensitivity of *Ornithobacterium rhinotracheale*. In Proceedings of the 47th Western Poultry Disease Conference, Sacramento , pp. 57- 60.

17- Roger, M-F., & Leorat, J. (1997). A l'origine de troubles respiratoires chez la dinde: *Ornithobacterium rhinotracheale* est mieux maitrise. *Filie re Avicole Juin* 1997: 62- 63.

18- van Empel, P.C.M., & Hafez, H.M. (1999). *Ornithobacterium rhinotracheale* : a review. *Avian Pathology* 28: 217-227.

19- Van veen, L. , Hartman, E. & Fabri, T.(2001). In vitro antibiotic sensitivity of strains of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolated in the Netherlands between 1996 and 1999. *Veterinary Record.* 149:611-613.



شکل ۱- تصاویر نتایج آزمایش آنتی بیوگرام باکتری اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال

