بررسی شیوع و مقاومت آنتی بیوتیکی گوشت پرندگان مختلف آلوده به آرکوباکتر در مراکز فروش استان اصفهان در چهارفصل سال ۱۳۹۷

رویا نجفی گوجانی، ابراهیم رحیمی*، امیر شاکریان
گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

***نویسنده مسئول:** *rahimie968@gmail.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۰

چکیده

جنس آرکوباکتر همراه با کمپیلوباکتر در خانواده کمپیلوباکتریاسه قرار دارد. آرکوباکترها باکتری های گرم منفی، بدون اسپور و میکروآئروفیلیک هستند که به وسیله رشد در حضور اکسیژن و دماهای پایین از جنس کمپیلوباکتر متمایز می شوند. این باکتری ها میله ای، به شکلS و یا مارپیچی شکل هستند. آرکوباکتر بوتزلری رایج ترین گونه این جنس است به عنوان پاتوژن زئونوز و نوظهور شناخته شده است .هدف اصلی از این مطالعه ارزیابی فراوانی آرکوباکتر بوتزلری از گوشت ماکیان عرضه شده در مراکز فروش در استان اصفهان بود.این مطالعه به بررسی طیف وسیعی از انواع گوشت پرندگان از نظر آلودگی به گونه‌های آرکوباکتر پرداخت. نمونه ها در طول چهارفصل سال از استان اصفهان جمع‌آوری، در کنار یخ به آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد منتقل شد. جهت جداسازی گونه های آرکوباکتر که ۱۰ گرم از هر نمونه هموژن شده گوشت به آبگوشت غنی کننده آرکوباکتر Arcobacter Selective Broth (ASB) حامل مکمل انتخابی CAT منتقل و به مدت ۴-۲ روز در دمای ۴۲ درجه انکوبه، سپس به صورت خطی در محیط های اختصاصی ارکوباکتر ، آگار خون دار کشت داده و پلیت‌ها به مدت ۴-۲ روز در دمای ۴۲ درجه تحت شرایط هوازی انکوبه گردید.کلونی‌های تیپیک در محیط بروسلا آگار تحت همان شرایط کشت داده و کشت های خالص برای ویژگی های فنوتیپی، فعالیت کاتالاز و احیای نیترات مورد ارزیابی قرار گرفتند. جهت تائید تشخیص و تفکیک گونه های ارکوباکتر استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA (شرکت سیناژن ایران) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام شد. نتایج برای گوشت پرندگان نشان داد که میزان شیوع در مجموع (۳۹/۰۹درصد) بود. بیشترین میزان شیوع مربوط به بلدرچین ۶۰ درصد جوجه گوشتی (۵۰ درصد) و اردک (۵۰ درصد) بود، و کمترین میزان مربوط به شترمرغ (۱۵ درصد) بود. بیشترین میزان شیوع در گونه‌ی *Arcobacter. butzleri* برای تمام گونه‌ها مشاهده شد. در مجموع، بیشترین مقاومت مربوط به اریترومایسین (۱۳/۹۵درصد)، و تتراسایکلین (۱۶/۲۷درصد) و کمترین مقاومت مربوط به متی سیلین (۸۸/۳۷ درصد) و ونکومایسین (۹۵/۳۴درصد) بود. گونه‌ی (*A. butzleri* و *Arcobacter cryaerophilus* بیشترین مقاومت را به تتراسایکلین داشتند و کمترین مقاومت مربوط به ونکومایسین بود. تمام گونه‌ها برای فاکتورهای حدت *cadF*، *ciaB*، *cj1349*، *Mvin*، *pldA* و tlyA مثبت بود، که گونه‌های *A. butzleri* و *Arcobacter skirrowii* واجد تمام فاکتور های حدت مورد ارزیابی، بودند.، و گونه‌ی *A. cryaerophilus* واجد ژن *ciaB* و *Mvin* بود.

کلید واژه ها : آرکوباکتر، گوشت طیور، مقامت آنتی بیوتیکی، PCR.

مقدمه

اعضای جنس آرکوباکتر بدون اسپور، آئروتولرانت، گرم، منفی، خمیده به شکل میله ای S یا مارپیچی متحرک با تاژه ی منفرد قطبی بدون غلاف هستند توانایی رشد در حضور اکسیژن و دمای بین ۱۵ تا ۲۵ درجه سلسیوس

آرکوباکتر را از کمپیلوباکتر متمایز می سازد .این ارگانیسم ها از نظر متابولیکی خنثی هستند و نیاز به محیط های غنی بلادآگار یا شکلات آگار برای رشد دارد. آرکوباکترها به طور طبیعی در دستگاه گوارش اردک، خوک، گراز، خوک ماده با مشکلات تولید مثلی، جنین مرده خوک و طیف وسیعی از حیوانات اهلی هستند .علاوه بر این مخازن طبیعی، آرکوباکترها از بیماران مبتلا به باکتریمی، اندوکاردیت، پریتونیت و انتریت و اسهال جدا شده اند. به‌دلیل افزایش هشدار دهنده شیوع بیماری‌ها در سال‌های اخیر در سراسر جهان عفونت‌های ناشی از غذا اهمیت بیشتری پیدا کردند (Samie, 2007; Deb and Chakraborty 2012; Hsueh, 1997; Lee, 2013). مطالعات نشان داده اند که فراوان ترین عوامل باکتری های دخیل در همه گیری ها و مسمومیت های غذایی به ترتیب عبارتند از اشریشیای کولای، سالمونلا، کامپیلوباکتر، یرسینیا انتروکلیتیکا، باسیلوس سرئوس، کلستریدیوم پرفرنژنس، کلستریدیوم بوتولونیوم، آرکوباکتر بودند (Calvo et al., 2013; Collado and Figueras 2011; Dhama et al., 2008; Hsu and Lee 2015).

طی سال‌های اخیر، *A. butzleri* در سراسر جهان به‌عنوان یک پاتوژن غذایی نوظهور شناخته شده وکمیسیون بین المللی میکروبیولوژیکی مواد غذایی(ICMSF) این باکتری را خطر جدی برای سلامتی انسان ارزیابی کرده است. آرکوباکتر در ابتدا از بافت جنین سقط شده گاو (Ellis et al., 1977) و بعداً از جنین خوک (Ellis et al., 1977; Ellis et al., 1978; Aydin et al., 2007; Rasmussen et al., 2013) جدا سازی شد.

آرکوباکتر ها به عنوان عوامل ایجاد کننده اسهال، ورم پستان و سقط جنین در حیوانات و باکتریمید(وجود عفونت باکتریایی در جریان خون)، اندوکاردیت (التهاب درون شامه قلب)، پریتونیت (التهاب صفاق)، گاستروانتریت (التهاب معده‌ای-روده‌ای) و اسهال در انسان شناخته می‌شود (Jiang et al., 2010; CLSI, 2012; Wayne et al., 2014). حضور آن‌ها در نمونه خون مبتلایان به سیروز و آپاندیسیت گانگرونوز (Ferreira et al., 2016) وضعیت را پیچیده تر می‌کند. سه گونه *آرکوباکتر* به نام‌های *بوتزلر، کریروفیلوس، اسکیروی* بیشتر با مشکلات بالینی همراه هستند (Lau et al., 2002; Gill, 1983; Golla et al., 2002; Kiehlbauch et al., 1991; de Oliveira et a., 1997; Figueras, et al., 2011; Merga et al., 2013; Patyal et al., 2011; Anderson et al., 1993; Atabay et al., 2002; Ramees et al., 2014).

به این دلیل که ارگانیسم‌های آرکوباکتر در نمونه‌های مدفوع حیوانات سالم و انسان‌ها یافت می‌شوند و برآوردن فرضیه کوچ غیر ممکن است آسیب شناسی و بیماری‌زایی آن‌ها مورد اختلاف است (Badilla-Ram et al., 2014; Rasmussen et al., 2013; Shah et al., 2011). اگرچه مطالعات فراوانی در خصوص شیوع آرکوباکتر در گوشت و مواد غذایی مختلف در ایران و سایر کشورها انجام شده است با این وجود مطالعه جامعی در خصوص شیوع، مقاومت ضد میکروبی و ژن‌های حدت آرکوباکتر در ایران انجام نشده است، لذا در این مطالعه طیف وسیعی از انواع گوشت پرندگان از نظر آلودگی به گونه‌های آرکوباکتر انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر کاربردی و از نوع توصیفی ۱ و مقطعی۲ می باشد .در این مطالعه جامعه آماری نمونه های گوشت جمع آوری شده از مراکز فروش استان اصفهان ، انواع گوشت مرغ (n =۸۰)، گوشت بوقلمون (n =۸۰)، گوشت کبک (n=۸۰)، گوشت اردک (n=۵۰)، گوشت غاز (n=۴۰)، گوشت شترمرغ (n=۸۰)، گوشت بلدرچین (n=۸۰) در طول چهارفصل سال از مناطق مختلف جمع‌آوری و در کنار یخ به آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد منتقل و مورد آزمایش قرار گرفتند. روش نمونه گیری در مطالعه حاضر، نمونه گیری تصادفی ساده بود.

جداسازی و تفکیک گونه‌های آرکوباکتر

جهت جداسازی گونه های آرکوباکتر مطابق دستورالعمل ارائه شده توسط Maruyama و همکاران (۲۰۰۱) استفاده شد. ۱۰ گرم از هر نمونه هموژن شده گوشت در شرایط سترون به ۹۰ سی سی محیط آبگوشت غنی کننده آرکوباکتر (Himedia,India) حامل مکمل انتخابی CAT منتقل شد و به مدت دو تا چهار روز در دمای ۴۲ درجه سلسیوس انکوبه شد. در ادامه از محیط آبگوشت غنی کننده نمونه‌ها به صورت خطی در محیط های اختصاصی ارکوباکتر(ASA)، آگار خون دار یا بروسلا آگار همراه با ۵ درصد خون دفیبرینه اسب کشت داده شد و سپس پلیت‌ها به مدت دو تا چهار روز در دمای ۴۲ درجه سلسیوس تحت شرایط هوازی انکوبه شد. سپس کلونی‌های تیپیک در پلیت ها انتخاب شدند و در محیط Brucella Agar تحت همان شرایط کشت داده شدند. و سپس کشت های خالص برای ویژگی های فنوتیپی، فعالیت کاتالاز و احیای نیترات مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جهت تائید تشخیص و تفکیک گونه های ارکوباکتر استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA (شرکت سیناژن ایران) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام شد.

جدول ۱-توالی ها

۱	*Arcobacter*	TTCGCTTGCGCTGCATCAT
۲	*A.butzleri*	AGCGTTCTATTCAGCGTAGAAGATGT
۳	*A.cryaerophilus*	ACCGAAGCTTTAGATTCGAATTTATTCA
۴	*A.skirrowii*	CGAGGTCACGGATGGAAGTG

روش آزمون و برنامه حرارتی اعمال شده مطابق دستورالعمل سان و همکاران (۲۰۰۷) اعمال و جهت ردیابی محصول مورد نظر از ژل ۱/۵ درصد آگاروز استفاده گردید.

ارزیابی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی

مقاومت گونه‌های آرکوباکتر جدا شده از نمونه‌ها به روش دیسک‌گذاری و مطابق دستورالعمل انستیتو استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (Clinical and LaboratoryStandards Institut2012) ارزیابی شد. با این هدف سوش‌های جدا شده از نمونه‌ها پس از احیاء در شرایط آسپتیک روی محیط کشت مولر هینتون آگار(Merck, Germany) به همراه ۵ درصد خون گوسفند کشت سطحی داده شدند و سپس جهت بررسی وضعیت مقاومت آنتی-بیوتیک بر روی هر پلیت پنج عدد از دیسک‌های آنتی-بیوتیکی مورد نظر آزمایش توسط پنس استریل گذاشته شد و سپس پلیت‌ها در دمای۴۲ درجه سلسیوس در انکوباتور Co_2 دار به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند.

دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده شامل: تتراسیکلین(µg/disk ۳۰)، آزیترومایسین و اریترومایسین (µg/disk ۱۵)، کانامایسین، نالیدسیک اسید، ونکومایسین، کلرامفنیکل، (µg/disk ۳۰)، جنتامایسین، استرپتومایسین، متی سیلین (µg/disk ۱۰) و کلیندومایسین (µg/disk ۲) Oxoid, UKبودند.

ارزیابی فراوانی فاکتور های حدت با PCR

در جدول ۲ زوج پرایمری‌ها جهت ردیابی ژن‌های گونه‌های آرکوباکتر جدا شده از نمونه‌ها نشان داده شده است.

آنالیز آماری داده‌ها

یافته‌های به‌دست آمده از آزمایش و اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون تست دقیق فیشر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

جدول ۲- زوج پرایمری‌ها جهت ردیابی ژن‌های گونه‌های آرکوباکتر جدا شده از نمونه‌ها

پرایمر	فاکتور *ویرولانس*	توالی نوکلئوتیدها (′۳-′۵)	اندازه سایز (bp)
cadF	پروتئین *فیبرونکتین* باند شده	TTACTCCTACACCGTAGT AAACTATGCTAACGCTGGTT	۲۸۳
ciaB	آنتی‌ژن تهاجمی B	TGGGCAGATGTGGATAGAGCTTGGA TAGTGCTGGTCGTCCCACATAAAG	۲۸۴
cj1349	پروتئین *فیبرونکتین* باند شده	CCAGAAATCACTGGCTTTTGAG GGGCATAAGTTAGATGAGGTTCC	۶۵۹
MviN	فاکتور *ویرولانس*	TGCACTTGTTGCAAAACGGTG TGCTGATGGAGCTTTTACGCAAGC	۲۹۴
pldA	*فسفولیپاز* A	TTGACGAGACAATAAGTGCAGC CGTCTTTATTTTGCTTTCAGGGA	۲۹۳
tlyA	*همولیزین*	CAAAGTCGAAACAAAGCGACTG TCCACCAGTGCTACTTCCTATA	۲۳۰

نتایج

شیوع آرکوباکتر در جدول ۳ نشان داده شده است. میزان شیوع در مجموع (۳۹/۰۹درصد) بود. که بیشترین میزان شیوع مربوط به بلدرچین (۶۰ درصد)، جوجه گوشتی (۵۰ درصد) و اردک (۵۰ درصد) بود، و پایین‌ترین میزان مربوط به شترمرغ (۱۵درصد) بود. بیشترین میزان شیوع در گونه‌ی *A. butzleri* برای تمام گونه‌ها مشاهده شد. میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در گونه‌های مختلف در جدول ۴ نشان داده شده است.نتایج برای گوشت پرندگان نشان داد که در مجموع،کمترین حساسیت مربوط به اریترومایسین (۱۳/۹۵درصد)، و تتراسایکلین (۱۶/۲۷درصد) و بیشترین حساسیت مربوط به متی سیلین (۸۸/۳۷ درصد) و ونکومایسین (۹۵/۳۴درصد) بود. گونه‌ی *A. butzleri* و *A. cryaerophilus* بیشترین مقاومت را به تتراسایکلین داشتند و کمترین مقاومت مربوط به ونکومایسین بود. ژن-های مربوط به حدت در پرندگان مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است.

نتایج نشان داد که تمام گونه‌ها واجد فاکتورهای حدت *cadF*، *ciaB*، *cj1349*، *Mvin*، *pldA* و *tlyA* بودند. نتایج نشان داد که دو گونه *A. butzleri* و *A. skirrowii* واجد تمام فاکتورها بودند، وگونه *A. cryaerophilus* برای ژن های *ciaB* و *Mvin* کاملا مثبت بودند.

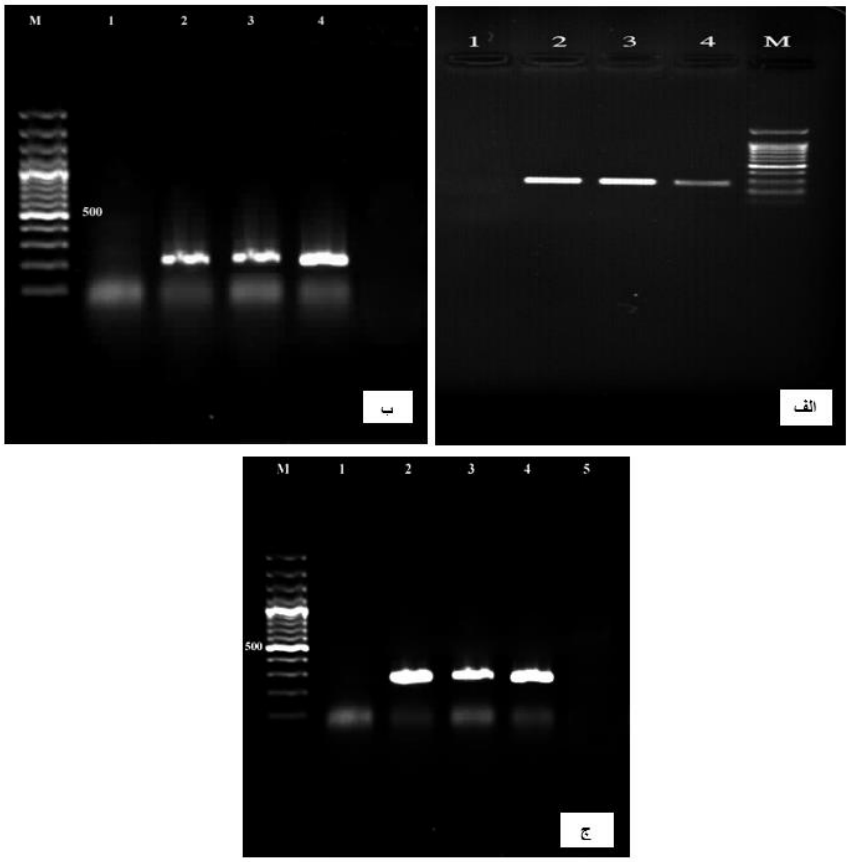
الکتروفورز محصولات PCR برای ردیابی ژن ها در شکل ۱ آورده شده است.

جدول ۳- شیوع آرکوباکتر و شیوع گونه‌های آرکوباکتر در پرندگان مختل

			Arcobacter species		
نمونه	تعداد نمونه	نمونه های مثبت	A.*butzleri*	A.*cryaerophilus*	A.*skirrowii*
مرغ	۲۰	۱۰ (۵۰٪)	۹(۹۰٪)	۱(۱۰٪)	-
بوقلمون	۲۰	۷ (۳۵٪)	۴ (۵۷٪)	۱(۱۴,۳۰٪)	۲ (۲۸,۷۰٪)
اردک	۱۰	۵ (۵۰٪)	۴ (۸۰٪)	۱ (۲۰٪)	-
بلدرچین	۲۰	۱۲ (۶۰٪)	۹ (۷۵٪)	۲ (۱۶,۷۰)	۱ (۸,۳۰٪)
کپک	۲۰	۶ (۳۰٪)	۵ (۸۳,۳۰٪)	۱ (۱۶,۷۰٪)	-
شترمرغ	۲۰	۳ (۱۵٪)	۳ (۱۰۰٪)	-	-
کل	۱۱۰	۴۳ (۳۹,۰۹٪)	۳۴ (۷۹٪)	۶ (۱۳,۹۰٪)	۳ (۶,۹۰٪)

جدول ۴- میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی گونه‌های مختلف جدا شده از پرندگان مختلف

	کاناماسین	جنتامایسین	کلرامفنیکل	کلیندومایسین	اریترومایسین	استرپتومایسین	تتراسایکلین	مثی سلین	ونکومایسین	آزیترومایسین	نالیدیکسیک اسید
Arcobacter (n=43)	-	-	۴۸,۸۳٪ (۲۱)	۶۵,۱۱٪ (۲۸)	۱۳,۶۹٪ (۶)	۶۹,۷۶٪ (۳۰)	۱۶,۲۷٪ (۷)	۸۸,۳۷٪ (۳۸)	۹۵,۳۴٪ (۴۱)	۵۱,۱۵٪ (۲۲)	۵۸,۱۳٪ (۲۵)
A. butzleri (n=34)	-	-	۴۴,۱۱٪ (۱۵)	۷۰,۵۸٪ (۲۴)	۱۴,۷۰٪ (۵)	۷۶,۴۷٪ (۲۶)	۱۷,۶۴٪ (۶)	۹۱,۱۷٪ (۳۱)	۹۷,۰۵٪ (۳۳)	(۵۰٪) ۱۷	۵۸,۸۲٪ (۲۰)
A. cryaerophilus (n=23)	-	-	۱۳,۰۴٪ (۳)	۱۷,۳۹٪ (۴)	(۸,۶۹٪) ۲	(۸,۶۹٪) ۲	(۴,۳۴٪) ۱	۲۱,۷۳٪ (۵)	۲۱,۷۳٪ (۵)	۱۳,۰۴٪ (۳)	۱۳,۰۴٪ (۳)
A. skirrowii (n=3)	-	-	(۳۶,۶۶٪) ۱	-	-	(۳۶,۶۶٪) ۱	-	(۶۶,۶۶٪) ۲	(۶۶,۶۶٪) ۲	(۳۶,۶۶٪) ۱	(۶۶,۶۶٪) ۲



شکل۱- تصویر الکتروفورز محصولات PCR برای ردیابی ژن ها، الف: *ciaB*، ب:*tlyA* ، ج:*MviN*

جدول ۵- ژن‌های مربوط به حدت در پرندگان مختلف

گونه ها	*tlyA*	*pldA*	*Mvin*	*cj1349*	*ciaB*	*cadF*
A. butzleri (n=34)	۳۴ (۱۰۰٪)	۳۴ (۱۰۰٪)	۳۴ (۱۰۰٪)	۳۴ (۱۰۰٪)	۳۴ (۱۰۰٪)	۳۴ (۱۰۰٪)
A. cryaerophilus (n=23)	۴ (۱۷,۳۹٪)	۱ (۴,۳۴٪)	۲۳ (۱۰۰٪)	۲ (۸,۶۹٪)	۲۳ (۱۰۰٪)	۲ (۸,۶۹٪)
A. skirrowii (n=3)	۳ (۱۰۰٪)	۳ (۱۰۰٪)	۳ (۱۰۰٪)	۳ (۱۰۰٪)	۳ (۱۰۰٪)	۳ (۱۰۰٪)

بحث

طی سال‌های اخیر وقوع بیماری‌های میکروبی ناشی از مواد غذایی نه تنها در کشورهای در حال توسعه با فقر بهداشتی بلکه در کشورهای توسعه یافته با استانداردهای بالای بهداشتی نیز روبه افزایش بوده است. باکتری سالمونلا یکی از خطرناکترین عوامل بیماری‌های ناشی از غذا بوده و بخش عمده‌ای از موارد بروز بیماری‌های غذازاد را به خود اختصاص داده‌اند (نصرتی و همکاران، ۱۳۹۰). *A. butzleri* عامل بیماریزای مشترک بین انسان و حیوانات است و از طریق آب و مواد غذایی انتقال می‌یابد.

این میکروارگانیسم از غذاهایی با منشا حیوانی به‌خصوص طیور، لاشه‌ی حیوانات ذبح شده، شیر، انواع صدف‌های دو کفه ای و همچنین از آب فاضلاب، نمونه‌های مدفوع گونه های مختلف جدا شده است (قانع و همکاران ۱۳۸۹). با وجود این‌که مطالعات فراوان از آلودگی گوشت ماکیان به گونه‌های آرکوباکتر در سراسر جهان خبر می‌دهد. زاچارو و همکاران (۲۰۱۵) مطالعه‌ای با عنوان شیوع و مقاومت آنتی میکروبی *A. butzleri* و *A. cryaerophilus* جدا شده از گوشت در خرده فروشی‌ها در هلند را مورد بررسی قرار دادند.

در این تحقیق ۷۹ نمونه *A. butzleri* و ۶ نمونه *A. cryaerophilus* از گوشت خوک، گاو، و جوجه جدا شدند. شیوع *A. butzleri* در جوجه‌های گوشتی ۸۳ درصد بود. میزان شیوع آن در گوشت گاو (۱۶ درصد) و و خوک (۱۴ درصد) بود. هارکل و همکاران (۲۰۱۹) مطالعه‌ای با عنوان مقاومت آنتی بیوتیکی گونه‌های آرکوباکتر جدا شده از آب فاضلاب، گوشت و ماهی را انجام دادند. در این مطالعه از مجموع ۱۷۰ نمونه‌ی مورد بررسی، ۵۰ نمونه از آب فاضلاب، ۴۰ نمونه از گوشت جوجه، ماهی، و گوسفند و از چوب و ساتور قصابی‌ها گردآوری شد. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی برای سفالوتین، کو-تریمکسازل، آمپی سیلین، ونکومایسین، کاناماسین، آزیترومایسین، و دیگر آنتی بیوتیک‌ها مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین مقاومت برای نالیدیکسیک اسید، اریترومایسین، سیپروفلاکسین، جنتامایسین، و اریترومایسین مشاهده شد. فانلی و همکاران (۲۰۱۹) ویژگی ژنومی *A. butzleri* جدا شده از حلزون صدف دار را بررسی کردند. این محققین همچنین مقاومت آنتی میکروبی و فاکتورهای حدت را بررسی کردند. نتایج این تحقیق نشان داد که سویه‌ها به بتا-لاکتام، وانکومایسین، تتراسایکلین و اریترومایسین مقاوم بودند، ولی به آمینوگلیکوزیدها، و سیپروفلاکسین حساس بودند. داده‌های ژنومی این مطالعه همبستگی فنوتیپی را با توزیع جغرافیایی را نشان داد. یافته‌های این تحقیق نشان داد که *A. butzleri* منبعی برای آلودگی برای حلزون صدف دار می‌باشد. سوما شکار و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی آتی بیوگرام گونه‌های آرکوباکتر از مواد دفعی حیوانات و غذاهای با منشأ حیوانی در هندوستان پرداختند. در این مطالعه ۴۱ نمونه‌ی آرکوباکتر (۱۶ نمونه *A. butzleri*، ۱۳ نمونه‌ی *A. cryaerophilus* و ۱۲ نمونه‌ی *A. skirrowii*) از ۲۱ نمونه‌ی مدفوع حیوانات، ۱۳ نمونه‌ی غذاهای با منشأ حیوانی و ۷ نمونه مدفوع انسانی جدا شد. در این مطالعه حساسیت آنتی میکروبی علیه ۱۰ آنتی بیوتیک مختلف توسط روش انتشار دیسک بررسی شد. تست‌های آنتی بیوگرام حساسیت (۱۰۰ درصد)، سیپروفلاکسین (۹۵/۱۰ درصد) و جنتامایسین (۸۲/۹۰ درصد) را نشان داد. مقاومت برای کوتریموزازول (۸۷/۸۰ درصد)، و اریترومایسین مشاهده شد. شیرزاد آسکی و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی شیوع و مقاومت آنتی میکروبی گونه-های آرکوباکتر جدا شده از گاو و گوسفند در ایران پرداختند.

تمام نمونه‌های مورد مطالعه حساسیت زیادی را به تتراسایکلین، اکسی تتراسایکلین، اریترومایسین، کاناماسین، جنتامایسین و انروفلوکساسین نشان دادند. مشابه به یافته‌های این مطالعه، تتراسایکلین، و آمینوگلیکوزیدها اثرات بزرگی را روی گونه‌های آرکوباکتر در آزمون آنتی بیوگرام نشان دادند و می‌تواند برای درمان عفونت‌های آرکوباکتر انسانی استفاده شود. مشابه به یافته-های این مطالعه، زاچارو و همکاران (۲۰۱۵) مطالعه‌ای با عنوان شیوع و مقاومت آنتی میکروبی *A. butzleri* و *A. cryaerophilus* جدا شده از گوشت در خرده فروشی‌ها در هلند را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که *A. cryaerophilus* به اریترومایسین حساس بود. تتراسایکلین و آمینوگلیکوزیدها بیشترین کارایی علیه *A. butzleri* و *A. cryaerophilus* نشان دادند، زیرا ۸۰

درصد از جمعیت به این مواد حساس بودند. نتایج نشان داد که دو گونه‌ی *A. butzleri* و *A. skirrowii* برای تمام فاکتورها ۱۰۰ درصد مثبت بودند، ولی گونه‌ی *A. cryaerophilus* برای *ciaB* و *Mvin* ۱۰۰ درصد مثبت بودند. در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که کولادو و همکاران (۲۰۱۴) در تحقیقی با عنوان مقاومت آنتی میکروبی و و ژن‌های حدت آرکوباکتر*های* جدا شده از حلزون‌های قابل خوردن، که ۱۰۶ نمونه حلزون را در طول سال‌های ۲۰۱۰ و ۲۰۱۳ مورد بررسی قرار دادند. کلنی-های به‌دست آمده توسط PCR، PCR-RFLP و ERIC-PCR مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که ژن‌های تشخیص یافته برای حدت شامل mviN (۸۳/۸۰ درصد)، و ciaB (۸۲/۸۰ درصد)، و tlyA (۷۲/۷۰ درصد) بود. در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که حلزون‌ها منابع بزرگی برای شیوع آرکوباکتر می‌باشند و این باکتری را می‌توانند انتقال دهند.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین میزان شیوع مربوط به بلدرچین (۶۰٪)، جوجه گوشتی (۵۰٪) و اردک (۵۰٪) بود، و پایین‌ترین میزان مربوط به شترمرغ (۱۵٪) بود در مجموع، بیشترین مقاومت مربوط به اریترومایسین (۱۳/۹۵ درصد)، و تتراسایکلین (۱۶/۲۷ درصد) و کمترین مقاومت مربوط به متی‌سیلین (۸۸/۳۷ درصد) و ونکومایسین (۹۵/۳۴ درصد) بود. گونه‌ی *A. butzleri* و *A. cryaerophilus* بیشترین مقاومت را به تتراسایکلین داشتند و کمترین مقاومت مربوط به ونکومایسین بود. با توجه به بالا بودن شیوع باکتری در نمونه های گوشت پرندگان و همچنین وجود مقاومت بر علیه آنتی بیوتیک های انسانی و احتمال انتقال آلودگی به انسان و ایجاد عوارضی مثل گاسترو انتریت، همچنین مصرف بالای گوشت طیور، به نظر میرسد با توجه به شیوع بالای کونه های آرکئوباکتر ، پیشنهاد می شود که نظارت و کنترل بیشتری بر مراکز تولید، کشتارگاه ها، تا مصرف و پخت کامل قبل از مصرف غذا اتخاذ گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مطالعه حاضر از زحمات آقای منوچهر مومنی شهرکی و تمامی پرسنل زحمتکش مرکز تحقیقات بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

1. Anderson K.F., Kiehlbauch J.A, and Anderson D.C. 1993. Arcobacter (Campylobacter) butzleri-associated diarrheal illness in a nonhuman primate population. Infect Immun. 61:2220– 2223.
2. Atabay H.I., Aydin F., Houf K., Sahin M, and Vandamme P. 2002. The prevalance of Arcobacter spp. on chicken carcasses sold in retail markets in Turkey, and identification of the isolates using SDS-PAGE. Int J Food Microbiol. 81:21–28.
3. Aydin F., Gumussoy K.S., Atabay H.I., Ica T, and Abay S. 2007. Prevalence and distribution of Arcobacter species in various sources in Turkey and molecular analysis of isolated strains by ERIC-PCR. J Appl Microbiol. 103:27–35.
4. Badilla-Ram_ırez Y., Fallas-Padilla K.L., Fern_andez-Jaramillo H, and Arias-Echandi M.L. 2016. Survival capacity of Arcobacter butzleri inoculated in poultry meat at two different refrigeration temperatures. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 58:22.
5. Calvo G., Arias M.L, and Fernez H. 2013. Arcobacter: a foodborne emerging pathogen. Arch Latinoam Nutr. 63:164–172.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2012). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-second informational
7. Collado L., and Figueras M.J. 2011. Taxonomy, epidemiology and clinical relevance of the genus Arcobacter. Clin Microbiol Rev. 24:174–192.

8. de Oliveira S.J., Wesley I, and Harmon K.M. 1997. Classification of Arcobacter species isolated from aborted pig fetuses and sows with reproductive problems in Brazil. Vet Microbiol. 57:347–354.
9. Deb R, and Chakraborty S. 2012. Trends in veterinary diagnostics. J Vet Sci Technol. 3:1.
10. Dhama K., Mahendran M., Tomar S, and Chauhan R.S. 2008. Beneficial effects of probiotics and prebiotics in livestock and poultry: the current perspectives. Intas Polivet. 9:1–12.
11. Ellis W.A, Neill S.D., O' Brien J.J., Ferguson H.W, and Hanna J. 1977. Isolation of Spirillum/Vibrio-like organisms from bovine fetuses. Vet Record. 100:451–452.
12. Ellis W.A., Neill S.D., O' Brien J.J, and Hannna J. 1978. Isolation of Spirullum-like organisms from pig fetuses. Vet Record. 102:106.
13. Ferreira S., Queiroz J.A., Oleastro M, and Domingues F.C. 2016. Insights in the pathogenesis and resistance of Arcobacter: a review. Crit Rev Microbiol. 42:364–383.
14. Figueras M.J., Collado, L., Levican A., Perez J., Solsona M.J, and Yustes C. 2011. Arcobacter molluscorum sp. nov., a new species isolated from shellfish. Syst Appl Microbiol. 34:105–109.
15. Gill K.P.1983. Aerotolerant campylobacter strain isolated from a bovine preputial sheath washing. Vet Rec. 112:459.
16. Golla S.C., Murano E.A., Johnson L.G., Tipton N.C., Cureington E.A, and Savell J.W. 2002. Determination of the occurrence of Arcobacter butzleri in beef and dairy cattle from Texas by various isolation methods. J Food Prot. 65:1849–1853.
17. Houf K., and Stephan R. 2007. Isolation and characterization of the emerging food-borne pathogen Arcobacter from human stool. J Microbiol Methods. 68:408–413.
18. Hsu T.T., and Lee J. 2015. Global distribution and prevalence of arcobacter in food and water. Zoonoses Public Health. 62:579–589.
19. Hsueh, P.R., Teng, L.J., Yang, P.C., Wang, S.K., Chang, S.C., Ho, S.W., Hsieh, W.C., and Luh, K.T. 1997. Bacteremia caused by Arcobacter cryaerophilus 1B. J Clin Microbiol. 35:489–491.
20. Jiang Z.D., DuPont H.L., Brown E.L.0., Nandy R.K., Ramamurthy T., Sinha A., Ghosh S., Guin S., Gurleen K., Rodrigues S, and et al. 2010. Microbial etiology of travelers' diarrhea in Mexico, Guatemala, and India: importance of enterotoxigenic Bacteroides fragilis and Arcobacter species. J Clin Microbiol. 48:1417–1419.
21. Kabeya H., Maruyama S., Morita Y., Kubo M., Yamamoto K., Arai S., Izumi T., Kobayashi Y., Katsube Y, and Mikami T. 2003. Distribution of Arcobacter species among livestock in Japan. Vet Microbiol. 93:153–158.
22. Kiehlbauch J.A., Brenner D.J., Nicholson M.A., Baker C.N., Patton C.M., Steigerwalt A.G, and Wachsmuth I.K. 1991. Campylobacter butzleri sp. nov. isolated from humans and animals with diarrheal illness. J Clin Microbiol. 29:376–385.
23. Lau S.K.P., Woo P.C.Y., Teng J., Leung K.W, and Yuen K.Y. 2002. Identification by 16S ribosomal RNA gene sequencing of Arcobacter bacteraemia in a patient with acute gangrenous appendicitis. Mol Pathol. 55:182–185.
24. Lee M.H., Choi C. 2013. Survival of Arcobacter butzleri in apple and pear purees. J Food Safety. 33:333–339.
25. Merga J.Y., Williams N.J., William G., Miller W.G., Leatherbarrow A.J.H., Bennett M., Hall N., Ashelford K.E, and Winstanley C. 2013. Exploring the diversity of Arcobacter butzleri from cattle in the UK using MLST and whole genome sequencing. PloS One. 8:e55240.
26. Ongor H., Cetinkaya B., Acik M.N, and Atabay H.I. 2004. Investigation of Arcobacters in meat and fecal samples of

clinically healthy cattle in Turkey. Lett Appl Microbiol. 38:339–344.
27. Patyal A., Rathore R.S., Mohan H.V., Dhama K, and Kumar A. 2011. of Arcobacter spp. in humans, animals and foods of animal origin including sea food from India. Transbound Emerg Dis. 58:402–410.
28. Ramees T.P., Rathore R.S., Bagalakote P.S., Mohan H.V., Kumar A, and Dhama K. 2014. Multiplex PCR detection of Arcobacter butzleri and Arcobacter cryaerophilus in skin of poultry. J Pure Appl Microbiol. 8:1755–1758.
29. Rasmussen L.H., Jette K., Jens P.C, and Hanne I. 2013. Multilocus sequence typing and biocide tolerance of Arcobacter butzleri from Danish broiler carcasses. BMC Res Notes. 6:322.
30. Rasmussen L.H., Jette K., Jens P.C, and Hanne I. 2013. Multilocus sequence typing and biocide tolerance of Arcobacter butzleri from Danish broiler carcasses. BMC Res Notes. 6:322.
31. Samie A., Obi, C.L., Barrett L.J., Powell, S.M, and Guerrant R.L. 2007. Prevalence of Campylobacter species, Helicobacter pylori and Arcobacter species in stool samples from the Venda region, Limpopo, South Africa: studies using molecular diagnostic methods. J Infect. 54:558–566.
32. Shah A.H., Saleha A.A., Zunita Z, and Murugaiyah M. 2011. Arcobacter– an emerging threat to animals and animal origin food products. Tr Food Sci Technol. 22:225–236.
33. supplement M100-S21. Wayne Pa.Figueras, M.J., Levican A., Pujol I., Ballester F., Rabadam Quilez M.J, and Gomez-Bertomeu F. 2014. A severe case of persistent diarrhoea associated with Arcobacter cryaerophilus but attributed to Campylobacter sp. and a review of the clinical incidence of Arcobacter spp. New Microbes New Infect. 2:31–37.

Prevalence and antibiotic resistance of meat of various birds infected with Arcobacter in sales centers of Isfahan province in four seasons of 2018

Najafi R, Rahimi E*, Shakerian A

Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

***Corresponding author:** *Ebrahimrahimi55@yahoo.com*

Received: 22 October 2020 Accepted: 08 February 2021

Abstract

The genus *Arcobacter*, along with *Campylobacter*, belongs to the family *Campylobacteriaceae*. *Arcobacteria* are gram-negative, non-spore-forming, microaerophilic bacteria that can be distinguished from *Campylobacter* genus by growing in the presence of oxygen at low temperatures.These rod-shaped bacteria are S-shaped or spiral. *Arcobacter butzleri* is the most common species of this genus; it is known as an emerging zoonotic pathogen. The main aim of the present research was to evaluate the prevalence of *Arcobacter butzleri* in the poultry meat offered in the sales centers located in Isfahan province. This study examined different types of poultry meat for their potential infection with *Arcobacter* species. Accordingly , the samples were collected in Isfahan province during four seasons; then they were transferred with ice to the Food Quality Control Laboratory of Islamic Azad University, Shahrekord branch.For the isolation of *Arcobacter* species, 10 g of each homogenized sample of meat was transferred to *Arcobacter* selective broth (ASB), which included the selected CAT supplement , and incubated for 2-4 days at 42 ° C; then the blood agar was cultured linearly in specific *Arcobacter* media. The plates were incubated for 2-4 days at the temperature of 42 ° C under aerobic conditions.Typical colonies were cultured in *Brucella Agar* medium under the same conditions; then the pure cultures were evaluated in terms of their phenotypic characteristics, catalase activity and nitrate reduction. To confirm the diagnosis and differentiation of *Arcobacter* species, DNA extraction was carried out by applying a DNA extraction kit (Sinagen Company, Iran), according to the kit manufacturer's instructions.The results obtained for the poultry meat showed that the total prevalence rate was 39.09%. The highest prevalence rate was related to quails (60%), broilers (50%) and ducks (50%), respectively, while the lowest one belonged to ostriches (15%). Meanwhile, the highest prevalence rate was observed in *A. butzleri* for all species.Overall, the highest resistance was recorded for *erythromycin* (13.95%) and *tetracycline* (16.27%), respectively; on the other hand, the least resistance was related to *methicillin* (88.37%) and *vancomycin* (95.34%). The species *A. butzleri* and *A. cryaerophilus* had the highest resistance to *tetracycline* and the least one to *vancomycin*.Finally, all species were found positive for some pathogenicity factors including *cadF*, *ciaB*, *cj1349*, *Mvin*, *pldA* and *tlyA*, such that *A. butzleri* and *A. skirrowii* species had all pathogenicity factors evaluated, while the *A. cryaerophilus* species was found to have only *ciaB* and *Mvin* genes.

Keywords: *Arcobacter*, Poultry Meat, Antibiotic Authority, PCR.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Copyright © 2022 Shahrekord Branch, Islamic Azad University