التیام، دوره ۸، شماره ۱: ۶۴-۵۶، ۱۴۰۰ Eltiam, 8 (1): 56-64, 2021

التیام

eltiam.ivsa@gmail.com

جداسازی و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس* جدا شده از جیره غذایی سگ و گربه جمع آوری شده از شهرستان‌های غرب استان مازندران

ابراهیم جان‌محمدی فیروز[۱]، مهدی شریفی سلطانی[۲]، عاطفه بزرگی[۳*]

۱. دانش آموخته دکترای دامپزشکی، گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

۲. استادیار، گروه دامپزشکی، واحد چالوس، دانشگاه آزاد اسلامی، چالوس، ایران

۳. استادیار، گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

* atefeh.bozorgi@yahoo.com

چکیده

آلودگی مواد غذایی حیوانات اهلی می‌تواند برای حیوانات و صاحبان آن‌ها از نظر اقتصادی و بهداشتی زیان آور باشد. هدف از این مطالعه، جداسازی *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس* از جیره غذایی سگ و گربه و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی آن‌ها می‌باشد. ۵۰ نمونه جیره غذایی خشک سگ و گربه در سال ۱۳۹۸ جمع‌آوری شدند. جداسازی *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس* به روش میکروب‌شناسی و تست آنتی بیوگرام به روش انتشار از دیسک انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۶، آزمون مجذورکای و تی مستقل صورت گرفت ($p\leq ۰/۰۵$). درصد آلودگی به *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس*، به ترتیب در غذای سگ ۶۱/۵۳٪ و ۱۹/۲۳٪ و در غذای گربه به ترتیب ۴۱/۶۶٪ و ۸/۳۳٪ بود. ۱۰۰٪ غذای فله‌ای خشک و ۵۰٪ از غذای بسته بندی خشک سگ به ترتیب به *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس* آلوده بودند. ۱۰۰٪ از غذا فله‌ای خشک گربه به *سالمونلا* و ۱۶/۶۶٪ به *استافیلوکوکوس* آلوده بودند. ۱۰۰٪ *سالمونلا* جدا شده از نمونه‌های غذای ایرانی، به دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی انتخاب شده مقاوم بودند. همچنین ۱۰۰٪ نمونه‌های جیره غذایی خارجی و ایرانی نسبت به دیسک‌های سیپروفلوکساسین، سفکسیم و سفتریاکسون مقاوم بودند. بین میزان آلودگی باکتریایی و نوع جیره غذایی فله‌ای یا بسته بندی و ایرانی یا خارجی رابطه معنا داری وجود داشت ($p\leq ۰/۰۵$). وجود باکتری‌ها همراه با مقاومت آنتی‌بیوتکی در این تحقیق مشخص شد. رعایت اصول بهداشتی و ارزیابی‌های میکروبی جهت کنترل و پیشگیری از آلودگی مواد غذایی حیوانات به باکتری‌ها لازم است.

کلمات کلیدی: مقاومت آنتی بیوتیکی، *سالمونلا*، *استافیلوکوکوس*، جیره غذایی، سگ، گربه

مقدمه

حیوانات خانگی نسبت به اثرات بالینی عفونت‌هایی که توسط عوامل بیماری زای غذایی انسان به وجود می‌آیند، بسیار

مقاوم هستند. مهمترین خطرات ایمنی غذایی حیوانات اهلی از نظر فراوانی وقوع و شدت آن مربوط به آفلاتوکسین‌ها، آلودگی به داروهای دامپزشکی و آلودگی به باکتری‌ها است (۱). وقوع آلودگی میکروبی، می‌تولند به دلیل خطای فردی و یا اختلال در دستگاه‌های فرآوری مواد غذایی رخ دهد. آلودگی مواد غذایی حیوانات اهلی می‌تواند برای حیوانات خطرناک و برای صاحبان آن‌ها از نظر عاطفی و اقتصادی زیان آور باشد (۲). بیماری در انسان نیز می‌تواند در اثر تماس مستقیم با غذاهای آلوده حیوانات اهلی و یا تماس با حیوانات آلوده بوجود آید. سگ‌ها و گربه‌ها می‌توانند بدون علائم بالینی آلوده شوند. بیماری‌هایی مانند هاری، عفونت‌های پوست، عضلات، مفاصل، استخوان، سیستم عصبی، خون و انواع بیماری‌های عفونی معدی روده‌ای از طریق عوامل میکروبی از حیولنات می‌توانند به انسان منتقل شوند (۳). غذاهای اکسترود شده خشک و نیمه مرطوب که دارای ماندگاری نسبتا بالایی هستند و محصولات کنسرو شده با اسید کم و آماده شده با فرآیند حرارتی از محصولات تجاری غذای این حیوانات می‌باشند. در غذای حیوانات اهلی از همان مواد تشکیل دهنده اصلی در تهیه مواد غذایی انسانی استفاده می‌شود. بنابراین، خطرات ایمنی مواد غذایی که به طور بالقوه در مواد غذایی حیوان خانگی وجود دارد، همان مواردی است که بطور کلی در صنایع غذایی انسانی وجود دارد (۴). گزارشات متفاوتی از سازمان غذا و داروی ایالات متحده مبنی بر شیوع بیماری سالمونلوز در انسان در رابطه با غذای خشک حیوانات خانگی موجود است. در سال ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۵ شیوع انسانی عفونت *سالمونلا تامپسون* در غرب آمریکا و کانادا به غذای خام حیوانات خانگی ربط داده شد (۵). در مطالعه انجام شده روی ۴۸۰ نمونه از جیره غذایی خشک و نیمه مرطوب گربه، تنها ۲ نمونه از جهت وجود *سالمونلا* و *لیستریا* در غذای خشک گربه مثبت بودند. در فاز دوم در این بررسی، مجموعا ۲۵۷۶ نمونه غذای خام گربه آزمایش شد، که ۱۵ نمونه حاوی *سالمونلا*، ۳۲ نمونه حاوی *لیستریا مونوسیتوژنز* و ۳۴ نمونه حاوی انواع دیگر باکتری‌ها بودند (۱). بررسی باکتریایی بیست نوع غذای خشک وارداتی سگ نشان داد که سویه های انتروباکتریاسه در ۱۲ و *اشریشیا کلی* در ۴ نمونه وجود داشت. نیمی از غذاهای مورد بررسی حضور *انتروکوکوس* را نشان دادند. همچنین وجود گونه های *باسیلوس* در ۷ محصول شناسایی شد (۶). در تحقیقی دیگر، بین ۱۶۶ نمونه جیره غذایی سگ، ۲۱٪ نمونه‌ها آلوده به *سالمونلا* بودند و هجده سروتیپ مختلف *سالمونلا* شناسایی شد، همچنین مقاومت به ۱۲ مورد از ۱۶ نوع آنتی بیوتیک مورد آزمایش مشاهده شد. بیشتر سویه‌ها به آمپی‌سیلین و تتراسایکلین مقاوم بودند (۷). امروزه تعداد حیوانات خانگی در سرتاسر دنیا افزایش چشمگیری داشته است که در این میان سگ و گربه بخش اعظم حیولنات خانگی را تشکیل می‌دهند. از این رو نیاز به غذاهای سالم و با ماندگاری بالا که نیاز تغذیه‌ای دام را برطرف کند روز به روز افزایش یافته است. بنابراین به دلیل اهیمت بالای غذای خشک در برطرف کردن نیازهای تغذیه ای سگ و گربه و همچنین جایگاه ویژه ی آن‌ها در حمل میکروب‌های بیماری‌زای غذایی زئونوز (گروهی از بیماری‌های عفونی هستند که بطور طبیعی بین حیوانات مهره دار و انسان ها قابل انتقال هستند)، ایمنی و عملکرد غذای حیوانات خانگی برای صاحبین و دامپزشکان از اهمیت بالایی برخوردار است. از طرفی مقاومت در برابر داروهای ضد باکتریایی هم در حیوانات و هم در انسان یک مشکل مهم است و استفاده گسترده و گاهی بی‌تفاوت از این داروها منجر به ظهور باکتری‌هایی می‌شود که ذاتاً مقاوم هستند. این باکتری‌های مقاوم نه تنها ممکن است به یک گونه غالب در یک جمعیت تبدیل شوند، بلکه ممکن است ژن‌های مقاومت خود را به سایر گونه‌های باکتریایی نیز منتقل کنند (۸).

با بررسی انجام شده در پایگاه‌های علمی و مجلات معتبر، داده‌های بسیار کمی در مورد جداسازی باکتری‌ها از جیره غذایی سگ و گربه و بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های جدا شده از آن‌ها وجود دارد. با توجه به این موضوع مهم که سگ و گربه رایج ترین حیوانات خانگی در سراسر جهان هستند، و ارتباط با آن‌ها از طرق مختلف امکان‌پذیر است. حیولنات مذبور با خوردن خوراک آلوده به راحتی با باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها آلوده شوند و

سلامت آن‌ها به خطر می‌افتد، از طرفی می‌توانند باکتری‌های مقاوم را به راحتی به انسان نیز منتقل کنند. بنابراین شناسایی و غربالگری باکتری از مواد غذایی این حیوانات و آگاهی رساندن به سازمان‌های مرتبط مانند غذا و دارو، دامپزشکی، کارخانه‌جات تولید مواد غذایی، محل‌های فروش، مدیران و صاحبان این مراکز جهت برنامه ریزی، کنترل و مدیریت عدم آلودگی خوراک حیوانات مهم است. بنابراین هدف از این تحقیق، جداسازی باکتری گونه *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس* از غذاهای خشک متداول سگ و گربه موجود در بازار ایران و بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی آن‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه

نمونه‌های مورد مطالعه شامل جیره غذایی خشک ایرانی و خارجی سگ و گربه، به صورت تصادفی از کلینیک‌ها و فروشگاه‌های فروش حیوانات اهلی شهر های نوشهر و چالوس (غرب استان مازندران) در زمستان سال ۱۳۹۸ جمع آوری شدند (کد اخلاق: IR.IAU.BABOL.REC.1398.056). مجموعا ۵۰ نمونه جیره خشک (۲۸ نمونه ایرانی بصورت فله‌ای (۱۶ نمونه غذای خشک سگ و ۱۲ نمونه غذای خشک گربه) و ۲۲ نمونه خارجی بصورت بسته بندی (۱۰ نمونه غذای خشک سگ و ۱۲ نمونه غذای خشک گربه)) از جیره غذایی خشک این حیوانات جمع آوری شدند.

آماده سازی نمونه‌ها جهت جداسازی باکتری‌ها

ابتدا ۲۲۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی در ارلن ریخته و سر آن با پنبه محکم شد. بعد از اتوکلاو شدن ارلن‌ها، ۲۵ گرم از نمونه‌های خرد شده در کنار شعله، به سرم فیزیولوژی داخل ارلن اضافه و به مدت یک دقیقه روی شیکر هم زده شد.

بررسی حضور باکتری *سالمونلا*

جهت جداسازی باکتری *سالمونلا*، ۱ میلی‌لیتر از محلول آماده شده به لوله های حاوی محیط سلنیت F (Selenite F (SF)) مایع (مرک، آلمان) اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت ۰/۱ میلی‌لیتر از محیط فوق به محیط بیسموت سولفید آگار (Bismuth sulfite agar) (مرک، آلمان) و همزمان روی محیط‌های گزیلوز لیزین دزوکسی کولات آگار (Xylose lysine Deoxycholate (XLD) agar) (مرک، آلمان) و کروم آگار *سالمونلا* (CHROMagar *Salmonella*) (مرک، آلمان) کشت داده شدند. سپس پلیتها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند و از لحاظ تشکیل کلونی‌های *سالمونلا* بررسی شدند (۸، ۹).

بررسی حضور باکتری *استافیلوکوکوس*

جهت تشخیص *استافیلوکوکوس* گرم مثبت، ۱ میلی‌لیتر از محلول به دست آمده روی محیط بردپارکر آگار (Bired-Agar parker) (به عنوان محیط انتخابی و تشخیصی برای جداسازی *استافیلوکوکوس* ها در غذاها استفاده می‌شود) (مرک، آلمان) ریخته و سپس توسط لوپ به صورت خطی در کنار شعله کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده‌شد. بعد از ۲۴ ساعت پلیت‌ها خارج و از لحاظ حضور کلونی‌های باکتری *استافیلوکوکوس* بررسی شدند. همچنین از کلونی‌های رشد یافته در محیط کشت مانیتول سالت آگار (Mannitol salt agar) (مرک، آلمان) کشت داده شد. آزمون کواگولاز لام و لوله نیز جهت تشخیص *استافیلوکوکوس* کواگولاز مثبت استفاده شد (۱۲-۱۰).

سنجش حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها

ابتدا از باکتری مورد مطالعه در سرم فیزیولوژی به قدری حل شدکه کدورتی معادل کدورت استاندارد نیم مک فارلند ایجاد شد. پس از ایجاد کدورت متناسب با کدورت نیم مک فارلند با چشم؛ برای تصحیح کدورت از دستگاه اسپکتوفتومتر با طول موج ۶۲۵ نانومتر استفاده شد. این سوسپانسیون حاوی $۱۰^{۸}$ × ۱/۵ باکتری در هر میلی‌لیتر است. سوسپانسیون تهیه شده بر روی محیط مولر هینتون آگار (Mueller-Hinton agar) (مرک، آلمان) کشت سفره‌ای داده شد. سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی در سطح محیط کشت به فاصله ۲ سانتی‌متر از یکدیگر قرار داده شدند. بدین منظور از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی تری‌متوپریم سولفامتاکسازول (۲۵ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۳۰ میکروگرم)، سفکسیم (۵ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکرگرم) و جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)

(پادتن طب، ایران) استفاده شد. محیط‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از آن قطر هاله‌های عدم رشد به وسیله‌ی کولیس حساس اندازه‌گیری و با استاندارد جهانی ۲۰۱۸ ((CLSI) Clinical and Laboratory Standard Institute) به صورت حساس و مقاوم ثبت گردیدند (۱۵-۱۳).

روش آماری

جهت تحلیل آماری از نرم (SPSS) Statistical Package for the Social Sciences نسخه ۱۶ و آزمون مجذورکای X2 و تی‌تست test-t مستقل استفاده شد ($p \leq ۰/۰۵$).

نتایج

نتایج حاصل از جداسازی باکتری‌ها از غذای حیوانات خانگی نشان داد که، درصد آلودگی بین ۵۰ نمونه جیره غذایی، به *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس*، به ترتیب در غذای سگ ۶۱/۵۳٪ (۱۶تا از ۲۶ نمونه) و ۱۹/۲۳٪ (۵ تا از ۲۶ نمونه) و این میزان در غذای گربه به ترتیب ۴۱/۶۶٪ (۱۰ تا از ۲۴ نمونه) و ۸٪/۳۳ (۲ تا از ۲۴ نمونه) بود.

۱۰۰٪ (۱۶ تا از ۱۶ نمونه) غذای فله‌ای ایرانی به *سالمونلا* آلوده بود، اما آلودگی به *استافیلوکوکوس* نداشتند. همچنین ۵۰٪ (۵ تا از ۱۰ نمونه) از غذای بسته بندی خارجی سگ به *استافیلوکوکوس* آلوده بودند، اما آلودگی به *سالمونلا* در این بخش مشاهده نشد.

۱۰۰٪ (۱۲ تا از ۱۲ نمونه) از غذا فله ای ایرانی گربه به *سالمونلا* و ۱۶/۶۶٪ (۲ تا از ۱۲ نمونه) به *استافیلوکوکوس* آلوده بودند، در این بین، ۱۶/۶۶٪ از غذا فله ای ایرانی گربه (۲ تا از ۱۲ نمونه) بصورت همزمان آلودگی به هر دو باکتری را نشان دادند. اما هیچ‌کدام (۱۲ نمونه) از نمونه‌های غذای بسته بندی خارجی گربه به *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس* آلوده نبودند.

سنجش حساسیت به آنتی بیوتیک‌ها نشان داد که، تمامی ۲۸ (۱۰۰٪) سویه *سالمونلا* جدا شده از نمونه‌های غذای فله‌ای ایرانی این حیوانات، نسبت به تمامی دیسک‌های آنتی بیوتیکی انتخاب شده مقاوم بودند و سویه حساس مشاهده نشد.

برای باکتری *استافیلوکوکوس* (کلا ۷ سویه جدا شد که همگی کوآگولاز مثبت بودند)، تمامی نمونه‌ها (۱۰۰٪)، اعم از جدا شده از نمونه‌های جیره غذایی بسته‌بندی خارجی (۵ سویه) و فله ای ایرانی (۲ سویه) نسبت به دیسک‌های سیپروفلوکساسین، سفکسیم و سفتریاکسون مقاوم بودند. ۵ سویه *استافیلوکوکوس به دیسک جنتامایسین* مقاوم و ۲ سویه دیگر به این دیسک حساس بودند. برای دیسک تری متوپریم سولفامتاکسازول، ۶ سویه مقاوم و ۱ سویه حساس وجود داشت.

بین میزان آلودگی باکتریایی و نوع جیره غذایی فله ای ایرانی یا خارجی بسته بندی رابطه معنا داری وجود داشت. در غذای سگ ($p \leq ۰/۰۵$) و گربه ($p \leq ۰/۰۵$) در نمونه های بسته بندی خارجی میزان آلودگی کمتر بود (جدول ۱).

جدول ۱. میزان آلودگی باکتریایی در بر اساس نوع جیره غذایی

جیره غذایی حیوانات	نوع جیره غذایی خشک	*سالمونلا*		*استافیلوکوکوس*		P-value
		فراوانی	درصد	فراوانی	درصد	
سگ	فله ای ایرانی (n=۱۶)	۱۶	۱۰۰	۰	۰	۰/۰۴۷
	بسته بندی خارجی (n=۱۰)	۰	۰	۵	۵۰	
گربه	فله ای ایرانی (n=۱۲)	۱۲	۱۰۰	۲	۱۶/۶۶	۰/۰۵
	بسته بندی خارجی (n=۱۲)	۰	۰	۰	۰	

بحث

نتایج حاصل از جداسازی باکتری‌ها از غذای این حیوانات خانگی در این بررسی نشان داد که، درصد آلودگی به *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس*، به ترتیب در غذای سگ ۶۱/۵۳٪ و ۱۹٪/۲۳ و این میزان در غذای گربه به ترتیب ۴۱/۶۶٪ و ۸٪/۳۳ بود. در تحقیقی که توسط Morelli و همکارانش در سال ۲۰۲۰ در ایتالیا انجام شد، ۲۹ نمونه فرآورده غذایی خام سگ جهت جدا سازی باکتری‌ها مورد آزمایش قرار گرفتند. در هیچکدام از نمونه‌ها باکتری *سالمونلا* دیده نشد. در نمونه‌های بسته بندی خارجی جیره غذایی سگ و گربه که در تحقیق حاضر مورد بررسی قرار گرفت نیز باکتری *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس* دیده نشدند. اما *لیستریا منوسایتوژنز* از ۱۹ نمونه، *یرسینیا انتروکولیتیکا* از ۳ نمونه، *کلستریدیوم پرفرنژنس* و *کلستریدیوم دیفیسل* به ترتیب از ۴ و ۶ نمونه در مطالعه Morelli و همکارانش شناسایی شدند (۱۶). Kananub و همکارانش در سال ۲۰۲۰ در تایلند نشان دادند که از مجموع ۱۷ نمونه غذای حیوانات خانگی، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا* و *لیستریا* جدا شدند (۱۷). در تحقیقی دیگر، Strohmeyer و همکارانش در سال ۲۰۰۶ در آمریکا گزارش دادند که از ۲۸۸ نمونه جیره غذایی سگ، ۱۷ (۵/۹٪) عدد از نمونه ها آلوده به *سالمونلا* بودند (۱۸). در دهه گذشته چندین مورد شیوع سالمونلوز به دلیل غذای خشک حیوانات خانگی گزارش شد که علاوه بر ایجاد بیماری، زیان اقتصادی بالایی برای تولید کنندگان به دلیل برگشت خوردن محصولات در مقیاس بزرگ داشته است (۱۹). آلودگی به دلایل مختلف می‌تواند ظاهر شود؛ در هنگام تولید مواد غذایی، مواد اولیه مخلوط، گرم و اکسترود می‌شوند. در نهایت پس از خنک شدن بسته بندی می‌شود. غذای خشک رطوبت حدود ۱۰ درصد و ماندگاری میانگین یک ساله دارد. اگرچه دمای اکستروژن برای بسیاری از میکروارگانیسم‌ها از جمله *سالمونلا* کشنده است (حداقل ۹۲ درجه‌ی سانتی‌گراد)، اما راه‌های مختلفی برای آلودگی محصول نهایی وجود دارد. مثلا ممکن است به دلیل اشکال فنی دستگاه‌ها، گرم کردن غیر متعادل یا مخلوط کردن ناکافی از توانایی گرما در نابودی میکروارگانیسم‌ها بکاهد و یا محصول نهایی قبل از بسته بندی آلوده شود، همچنین بسته‌بندی نادرست و عدم بسته‌بندی موجب آلودگی بیشتر می‌گردد (۱۶). ۱۰۰٪ غذای فله ای ایرانی و ۵۰٪ از غذای بسته بندی خارجی مربوط به سگ به ترتیب به *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس* آلوده بودند. همچنین ۱۰۰٪ از غذا فله ای ایرانی گربه آلوده به *سالمونلا* بودند و *استافیلوکوکوس* در ۱۶٪/۶۶ از نمونه ها شناسایی شد. با ارزیابی نتایج به دست آمده از بررسی باکتریایی، مشخص است که میزان آلودگی با باکتری *سالمونلا* در بین غذاهای فله بیشتر است. توانایی رشد *سالمونلا* در غذای خشکی که به آن آب اضافه شده باشد، بالا است. تحقیقات نشان داده است که از غذای خشک که به میزان کافی مرطوب بود، *سالمونلا انتریکا* جدا شد. همچنین فریز کردن غذای باقی ملانده طی دو تا سه ساعت بعد از افزودن آب، رشد *سالمونلا* را به شدت کاهش می‌دهد (۲۱، ۲۰). ۱۰۰٪ از نمونه غذای خشک ایرانی سگ، به *سالمونلا* آلوده بودند، اما آلودگی به *استافیلوکوکوس* در هیچکدام از نمونه‌ها دیده نشد. از نمونه‌های خارجی جیره غذایی خشک سگ‌ها، باکتری *سالمونلا* جدا نشد، اما ۵۰٪ از نمونه‌ها آلوده به *استافیلوکوکوس* بودند. ۸۳/۳۳٪ از جیره غذایی ایرانی گربه، به *سالمونلا* و ۱۶/۶۶٪ از آن ها به *استافیلوکوکوس* آلوده بودند. میزان آلودگی مواد غذایی به محیط نگهداری غذای حیوان، تفاوت در نمونه‌های مورد مطالعه، تکنیک های مختلف به کار برده شده جهت تولید مواد غذایی، موقعیت جغرافیایی منطقه، نوع جیره غذایی و نیز فصل نمونه برداری بستگی دارد، در مکان‌هایی که محیط نگهداری مواد غذایی مربوط باشد یا خوراک حیوان از مواد اولیه مرغوب ساخته نشده باشد آلودگی بیشتری مشاهده خواهد شد. همچنین در آب و هوا و فصول مرطوب میزان رشد میکروب‌ها بیشتر است (۲۲). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۲۰ Ge و همکارانش در آمریکا انجام دادند، ۱۰۲۵ نمونه خوراک حیوانات را جهت جداسازی *اشریشیا کلی* و جنس *انتروکوکوس* مورد بررسی قرار دادند. شیوع کلی *اشریشیا کلی*؛ ۱۲/۵٪ و *انتروکوکوس*؛ ۴۵/۲٪ بود. همچنین ۱۱/۲٪ از نمونه‌ها به هر دو باکتری آلوده بودند. در

مطالعه ما نیز آلودگی هم‌زمان در ۱۶/۶۶٪ از غذا فله ای ایرانی گربه مشـــاهده شـــد. در مطالعه Ge و همکاران، مقاومت به تتراسایکلین در ۱۱/۲٪ از سویه‌ها دیده شد. در مطالعه ما نیز سویه‌های مقاوم شناسایی شدند؛ ۱۰۰٪ سویه‌های *سالمونلا* جدا شـــده از نمونه‌های غذای فله ای ایرانی به تمامی دیســـک‌های آنتی‌بیوتیکی و ۱۰۰٪ از ســـویه‌های *استافیلوکوکوس* به دیسک‌های سیپروفلوکساسین، سفکسیم و سفتریاکسون مقاوم بودند (۲۳). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی حیوانات، ظهور باکتری‌های مقاوم و انتقال آن‌ها از چرخه غذایی به حیوانات، مشـــکلات مرتبط با مقاومت آنتی‌بیوتیکی مرتبط با حیوانات را دو چندان کرده اســـت (۱۹، ۱۷). در مطالعات انجام شـــده روی باکتری‌های جدا شـــده از خوراک و گوشت حیوانات نشان داده شده است که مقاومت در برابر سولفونامید، تریمتوپریم، آمینوگلیکوزید، کلرامفنیکل، β- لاکتام و تتراسایکلین بیشتر از سایر آنتی بیوتیک‌ها وجود دارد. بین فنوتیپ مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژن‌های مســـئول مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌ها نیز همبستگی وجود دارد، در سویه‌هایی که مقاومت آنتی‌بیوتیکی از نظر فنوتیپی مشاهده شـده اسـت، ژن‌های مقاومت یافت شـده‌اند، این مطلب بیانگر انتقال و پراکنش این ژن ها از باکتری به باکتری دیگر اســـت که بسیار سریع اتفاق می‌افتد (۲۵، ۲۴). تعداد حیوانات اهلی خانگی به طور قابل توجهی در جامعه مدرن افزایش یافته اســـت و توجه بیشـــتر به امور رفاهی حیوانات خانگی معطوف شـده اسـت. به دلیل این تغییرات، از عوامل ضـد میکروبی به طور مکرر در دامپزشکی دام‌های کوچک استفاده می‌شود، که اغلب شـــامل داروهای ضـــد میکروبی اســـت که در داروهای انسانی استفاده می‌شود. با استفاده زیاد از مواد طیف گسترده آنتی بیوتیک‌ها مانند آمینوپنی ســـیلین‌ها به اضـــافه اســـید کلاولانیک، ســـفالوســـپورین‌ها و فلوروکینولون‌ها، مقاومت در برابر عوامل مختلف ضـد میکروبی در میان سـویه‌های باکتری جدا شده از مواد غذایی حیوانات و همچنین نمونه‌های زیستی حیوانات خانگی مانند *استافیلوکوکوس اینترمیدیوس*، *اشرشیا کلی* و سایر باکتری‌ها، مانند *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین، *انتروکوکوس* مقاوم به متی سیلین، وانکومایسین و *سـالمونلا* مقاوم به چند دارو رو به افزایش اسـت. این نتایج نشـان‌دهنده این موضـوع مهم اسـت که کنترل و ریشـه کنی شـــیوع باکتری‌ها و مقاومت ضـــدمیکروبی آن‌ها در میان محصـــولات غذایی حیوانی نیاز به نظارت و برنامه‌ریزی دارد (۲۵، ۲۳).

طبق بررسـی‌های انجام شـده در این بررسـی، از غذاهای ایرانی و خـارجی حیوانـات، بخصـــوص نوع فلـه‌ای آن، بـاکتری‌هـای بیماری‌زای *اسـتافیلوکوکوس* و *سـالمونلا* جدا شـد. همچنین باکتری‌های جدا شده مقاومت گسترده‌ای به آنتی بیوتیک‌های مختلف داشتند. لذا کارخانه‌های تولیدکننده این از مواد غذایی و فروشـندگان می‌بایسـت در هنگام مراحل مختلف تولید غذا، بســـته‌بندی و انبارداری آن‌ها دقت و اهمیت بیشـــتری را در زمینـه‌های بهداشـــتی جهت کنترل آلودگی این نوع از مواد غذایی در نظر داشته باشند.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدســـت آمده از غربال‌ســـازی باکتریایی خوراک‌های فله‌ای و بسته‌بندی شده سگ و گربه نشان داد که نمونه‌ها حاوی باکتری‌های *استافیلوکوکوس* و *سالمونلا* بودند. همچنین سویه‌های *سالمونلا* به میزان بیشتری از نمونه‌ها جدا شـدند. از طرفی مقاومت به آنتی بیوتیک‌های مورد آزمایش در این نمونه‌ها مشاهده شد. آلودگی میکروبی خوراک حیوانات نه تنها باعث مشـــکلات اقتصـــادی و ایجاد عفونت‌ها در حیوانات می‌شـــود، بلکه انتقال باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها به انســـان نیز امکان پذیر اســـت. بنابراین صـــاحبان کارخانه‌های تولید محل‌های فروش غذای حیوانات و همچنین صـــاحبان حیوانات در نگهداری مواد غذایی می‌بایسـت دقت بیشـتری را مبذول دارند.

منابع

1. Nemser SM, Doran T, Grabenstein M, McConnell T, McGrath T, Pamboukian R, et al. Investigation of Listeria, Salmonella, and toxigenic Escherichia

coli in various pet foods. Foodborne Pathogens and Disease. 2014;11(9):706-9.
2. Feng T, Keller LR, Wang L, Wang Y. Product quality risk perception and decisions: contaminated pet food and lead-painted toys. Risk Analysis. 2010;30(10):1572–89.
3. Rahman MT, Sobur MA, Islam MS, Ievy S, Hossain MJ, El Zowalaty ME, Rahman AT, Ashour HM. Zoonotic diseases: etiology, impact, and control. Microorganisms. 2020;8(9):1405.
4. Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Fitzpatrick ES, Fanning S. Concise review of veterinary microbiology: 2nd Edition, New Delhi, India; 2015: 20-22.
5.Heyse S, Leigh FH, Woolston J, Sulakvelidze A, Charboneau, D. Bacteriophage cocktail for biocontrol of Salmonella in dried pet food. Journal of Food Protection. 2015;78 (1): 97-103.
6. Holda K, Wiczuk WI, Hac-Szymanczuk E, Glogowski R. Comprehensive microbiological evaluation of dry foods for growing dogs marketed in Poland. Annals of Warsaw University of Life Sciences-SGGW. Animal Science. 2017;56 (1):81–9.
7. Finley R, Reid-Smith R, Ribble C, Popa M, Vandermeer M, Aramini J. The occurrence and antimicrobial susceptibility of salmonellae isolated from commercially available canine raw food diets in three Canadian cities. Zoonoses and Public Health. 2008;55(8-10):462-9.
8. Soltan Dallal MM, Rahimi Forushani A, Sadigh Maroufi S, Sharifi Yazdi K. The comparison of PCR technique and API-20E kit with the conventional biomedical methods for the identification of Salmonella species in laboratory. Medical Laboratory Journal. 2011;5 (2):20-7.
9. Corry JEL, Curtis GDW, Baird RM. Handbook of culture media for food microbiology. 2003; 37(2003): 413-5.
10. Khoori E, Ataye Salehi A, Khoori M. Determination of antibiotic resistance pattern of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from the food samples by multiplex PCR. Journal of Food Microbiology. 2018;4(4):21-30.
11. Ebrahimi H, Mahmoudi R, Ghajarbeygi P, Shahsavari S, Mousavi Sh, Biglarikhoshmaram N. Study of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in traditional and device-made ice cream in Qazvin, 2017-2018: A Short Report. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences. 2019; 18 (7): 721-8.
12. Devoyod JJ, Millet L, Mocquot G. Un An agar medium for direct enumeration of Staphylococcus aureus: pork plasma medium for S. aureus (PPSA)]. Canadian Journal of Microbiology. 1976;22(11):1603-11.
13. Ranazanzadeh R, Moradi G, Zandi S, Mohammadi S, Rouhi, S, Pourzare, M, et al. A survey of contamination rate and antibiotic resistant of Gram-negative bacteria isolated from patients in various wards of Toohid and Besat Hospitals of Sanandaj city during 2013-2014 years. Pajouhan Scientific Journal. 2016;14(3):11-19.
14. Clinical and laboratory standards institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 27th Edition, CLSI supplement M100; 2018: 32-9 and 56-63.
15. Burt S. Essentialoils: their antibacterial propertied and potential application in foods-a review.

International Food Mashinicrobiology. 2004;94(3):223-53.
16. Morelli G, Catellani P, Miotti Scapin R, Bastianello S, Conficoni D, Contiero B, Ricci R. Evaluation of microbial contamination and effects of storage in raw meat-based dog foods purchased online. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 2020;104(2):690-697.
17. Kananub S, Pinniam N, Phothitheerabut S, Krajanglikit P. Contamination factors associated with surviving bacteria in Thai commercial raw pet foods. Veterinary World. 2020;13(9):1988-91.
18. Strohmeyer RA, Morley PS, Hyatt DR, Dargatz DA, Scorza AV, Lappin MR. Evaluation of bacterial and protozoal contamination of commercially available raw meat diets for dogs. J Am Vet Med Assoc. 2006;228(4):537-42.
19. Cummings KJ, Mitchell PK, Rodriguez-Rivera LD, Goodman LB. Sequence analysis of Salmonella enterica isolates obtained from shelter dogs throughout Texas. Veterinary Medicine and Science. 2020;6(4):975-9.
20. Olatunde GA, Atungulu GG. Chapter 3 - emerging pet food drying and storage strategies to maintain safety. Food and Feed Safety Systems and Analysis. 2018; 45-61.
21. Mir R, Rashki Ghalehnoo Z. Frequency and antimicrobial resistance pattern of salmonella spp in asymptomatic rural dog in Zabol. New Findings in Veterinary Microbiology. 2018;1(1): 44-50.
22. Roohi S, Azizi IG, Hashemi M. Fumonisin contamination based on flour quality used in bakeries and confectioneries in Qaemshahr (city of the Northern Iran). African Journal of Microbiology Research. 2012;6(8):1815-8.
23. Ge B, Domesle KJ, Gaines SA, Lam C, Bodeis Jones SM, Yang Q, Ayers SL, McDermott PF. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Indicator Organisms Escherichia
coli and Enterococcus spp. Isolated from U.S. Animal Food, 2005-2011. Microorganisms. 2020;8(7):1048.
24. Guardabassi L, Schwarz S, Lloyd DH. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. J Antimicrob Chemother. 2004;54(2):321-32.
25. Liu Z, Zhang Z, Yan H, Li J, Shi L. Isolation and molecular characterization of multidrug-resistant Enterobacteriaceae strains from pork and environmental samples in Xiamen, China. J Food Prot. 2015;78(1):78-88.

Abstract in English

Isolation and determination of antibiotic resistance of Salmonella and Staphylococcus isolated from dog and cat diets

Ebrahim Janmohammadi Firooz[1], Mehdi Sharifi Soltani[2], Atefeh Bozorgi[3]*

1. Graduated Student of Veterinary, Veterinary Faculty, Islamic Azad University, Babol Branch, Babol, Iran.

2. Assistant Professor, Agriculture Faculty, Islamic Azad University, Chalus Branch, Chalus, Iran.

3. Assistant Professor, Veterinary Faculty, Islamic Azad University, Babol Branch, Babol, Iran.

*** atefeh.bozorgi@yahoo.com**

Contamination of pet food can be economically and hygienically harmful to animals and their owners. The aim of this study was to isolate *Salmonella* and S*taphylococcus* from the diet of dogs and cats and determination of their antibiotic resistance. 50 samples of dry dog and cat diets were collected in 2019. Isolation of *Salmonella* and *Staphylococcus* was performed by microbiological method and antibiogram test by disk diffusion method. Data were analyzed using SPSS 16 software, chi-square test and independent t-test ($p \geq 0.05$). The percentage of *Salmonella* and *Staphylococcus* infection were 61.53% and 19.23% in dog food and 41.66% and 8.33% in cat food, respectively. 100% of dry bulk food and 50% of dry packaged dog food were infected with *Salmonella* and *Staphylococcus*, respectively. 100% of dry cat food was infected with *Salmonella* and 16.66% with *Staphylococcus*. 100% *Salmonella* isolated from Iranian food samples were resistant to selected antibiotic discs. Also, 100% of the foreign and Iranian diet samples were resistant to ciprofloxacin, cefixime and ceftriaxone discs. There was a significant relationship between the level of bacterial contamination and the type of bulk or packaged and Iranian or foreign diet ($p \leq 0.05$). The presence of bacteria along with antibiotic resistance was identified in this study. Observance of hygienic principles and microbial evaluations is necessary to control and prevent contamination of animal food with bacteria.

Key words: Antibiotic resistance, *Salmonella*, *Staphylococcus*, Food diet, Dog, Cat