

## شناسایی و بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری‌های جدا شده از مدفوع سگ‌های سالم و مبتلا به اسهال در شیراز

رویا فیروزی<sup>۱\*</sup>، علی اصغر سرچاهی<sup>۲</sup>، ساسان نظریان<sup>۳</sup>، ابوالفضل سعیدزاده<sup>۱</sup>

(۱) گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.  
(۲) گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.  
(۳) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.

(دریافت مقاله: ۲۷ دی ماه ۱۳۸۵، پذیرش نهایی: ۲۴ اردیبهشت ماه ۱۳۸۷)

### چکیده

در این مطالعه ۷۷ مورد باکتری از مدفوع سگ‌های سالم و ۸۶ مورد باکتری از مدفوع سگ‌های مبتلا به اسهال شناسایی شدند. سالمونلاهای جدا شده با روش PCR و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *invA* تایید گردیدند. همچنین اثر آنتی بیوتیک‌های تایلوزین، جنتامایسین، اکسی تتراسیکلین، کلرامفنیکل، نئومایسین، تتراسیکلین، کانامایسین و سولفادیازین بر روی باکتری‌های جدا شده با استفاده از روش انتشار از دیسک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که درصد باکتری‌های اشریشیاکلی، پروتوس، پسدو موناس آئروژینوزا، لاکتوباسیلوس‌ها و کلوستریدوم پرفرنزانس در مدفوع سگ‌های سالم بیش از سگ‌های مبتلا به اسهال بوده است. از طرفی درصد باکتری‌های استافیلوکوکوس آرنوس، کورینه باکتریوم‌ها، سالمونلا و باسیلوس سرنوس در سگ‌های مبتلا به اسهال از سگ‌های سالم بیشتر بوده است. نتایج مربوط به اثر آنتی بیوتیک‌های مورد آزمایش نیز نشان داده است که سولفادیازین تنها آنتی بیوتیکی بوده است که کلیه باکتری‌های جدا شده از موارد اسهال با درصد بالایی به آن حساسیت نشان داده‌اند و در عین حال اثر ضد باکتریایی کمتری بر روی فلور طبیعی دستگاه گوارش داشته است.

واژه‌های کلیدی: فلور طبیعی مدفوع، اسهال، حساسیت آنتی بیوتیکی، سگ، شیراز.

سویه‌های مقاوم جلوگیری نمود.

### مقدمه

اسهال از جمله اختلالات دستگاه گوارش و از عمده ترین بیماری‌های گوارشی است که صاحبان سگ‌ها با آن مواجه می‌شوند. از آنجا که اسهال عوامل متعددی از جمله تغذیه‌ای، انگلی، ویروسی و باکتریایی دارد، درمان آن پیچیده به نظر می‌رسد و درمان قطعی به تشخیص عامل ایجاد کننده بستگی دارد. عوامل باکتریایی نقش مهمی در اختلالات گوارشی در سگ‌ها ایفا می‌کنند. برخی از این باکتری‌ها مانند سالمونلا و اشریشیاکلی می‌توانند به انسان منتقل گردند و سلامت جامعه را به خطر اندازند (۳). از آنجا که صاحبان سگ‌ها معمولاً ارتباط نزدیک با دام خود دارند بنابراین امکان انتقال آلودگی از سگ به انسان همواره وجود دارد. فلور طبیعی دستگاه گوارش نقش مهمی در جلوگیری از کلونیزه شدن باکتری‌های بیماری‌زا دارد و نیز باعث تحریک سیستم ایمنی روده می‌گردد. کاهش جمعیت فلور طبیعی می‌تواند اثرات نامطلوبی از جمله کارکرد غیر طبیعی دستگاه گوارش و نیز التهاب روده‌ها داشته باشد (۵). مصرف نادرست و بی‌رویه آنتی بیوتیک‌ها بدون شناسایی باکتری مولد بیماری می‌تواند نه تنها برای دام خطر آفرین باشد بلکه با انتقال مقاومت به سویه‌های انسانی باعث بروز مشکلاتی در بهداشت عمومی گردد، لذا شناسایی دقیق فلور طبیعی دستگاه گوارش سگ و باکتری‌های ایجاد کننده اسهال و نیز انتخاب درست آنتی بیوتیک مؤثر ضروری می‌باشد. با انجام آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی می‌توان آنتی بیوتیک مؤثر و کم خطرتر را برای درمان اسهال بکار برد و از عواقب سوء بروز

### مواد و روش کار

۱- نمونه‌گیری: از مدفوع سگ‌های به ظاهر سالم (مراجعه شده به منظور واکسیناسیون، معاینه دوره ای و غیره) و سگ‌های مبتلا به اسهال (مراجعه شده برای تشخیص و درمان اسهال) ارجاعی به درمانگاه‌های شیراز نمونه اخذ گردید. نمونه‌گیری با استفاده از سواب استریل از ناحیه رکتوم انجام می‌گرفت و در محیط آبگوشت تریپتیک سوی (TSB) قرار داده می‌شد.  
۲- کشت و جدا سازی باکتری‌ها: پس از انتقال نمونه‌ها، یکی از سواب‌ها روی محیط آگار خوندار (۲ پلیت) و محیط آگار مک کانکی کشت داده می‌شد. یکی از پلیت‌های آگار خوندار در شرایط بی‌هوازی و دیگری در جار CO<sub>2</sub> (به منظور جداسازی احتمالی باکتری‌های میکروآئروفیلیک) و نیز پلیت آگار مک کانکی به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار می‌گرفت. سواب دیگر به منظور غنی سازی برای جدا سازی احتمالی باکتری سالمونلا ابتدا در محیط آبگوشت سلنیت و پس از ۲۴ ساعت در محیط آگار سالمونلا-شیگلا کشت داده می‌شد و پس از ۲۴ ساعت نتایج بررسی می‌گردید. سواب سوم برای جداسازی احتمالی باکتری‌های بی‌هوازی در لوله‌ای که حاوی محیط گوشت پخته بود قرار داده می‌شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری می‌شد و پس از آن از محتویات موجود در این محیط بر روی محیط آگار خوندار کشت داده شده و در جریبی‌های حاوی گاز پک (مرک - آلمان) قرار می‌گرفت و پس از ۲۴ تا ۴۸



دستگاه گوارش می‌باشد.

### بحث

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که میزان باکتری‌های اشریشیاکلی، پروتئوس میرابیلیس، لاکتوباسیلوس‌ها، پسودوموناس آئروژینوزا و کلستریدیوم پرفرنزانس در مدفوع سگ‌های سالم بیش از میزان آنها در مدفوع سگ‌های مبتلا به اسهال بود. در عین حال میزان باکتری‌های استافیلوکوکوس آرنوس، کورینه باکتریوم‌ها، سالمونلا باسیلوس سرئوس در مدفوع سگ‌های مبتلا به اسهال از میزان آنها در مدفوع سگ‌های سالم بیشتر بود.

اشریشیاکلی از جمله باکتری‌هایی است که به طور طبیعی مقیم روده بزرگ و کوچک تمامی پستانداران می‌باشد و در دستگاه گوارش گاو، گوسفند و خوک بیش از گیاهخواران یافت می‌گردد. در این مطالعه ۲۷/۲۷ درصد باکتری‌های جدا شده از مدفوع سگ‌های سالم و ۵۸/۲۵ درصد باکتری‌های جدا شده از مدفوع سگ‌های مبتلا به اسهال مربوط به این باکتری بود. این باکتری دارای سویه‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا است و جدا سازی آن از مدفوع حیوان صرفاً نمی‌تواند دال بر ایجاد بیماری باشد و انجام آزمایش‌هایی مانند PCR برای شناسایی سویه‌های بیماری‌زا لازم به نظر می‌رسد (۱۲). از یک سو این باکتری به عنوان فلور طبیعی دستگاه گوارش سگ مطرح می‌باشد و از سوی دیگر می‌تواند به عنوان یک عامل مؤثر ایجاد کننده اسهال عمل نماید. Munnich و Lubke در سال ۲۰۰۴ با مقایسه سویه‌های مختلف اشریشیاکلی در سگ و انسان به شباهت بین این سویه‌ها پی بردند و به این فرضیه که سگ به عنوان مخزن عمده‌ای برای عفونت‌های گوارشی ناشی از اشریشیاکلی در انسان می‌باشد قوت بخشیدند (۱۱). با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر و مطالعات انجام گرفته توسط دیگر محققین اشریشیاکلی به عنوان یکی از عمده ترین عوامل مولد اسهال باکتریایی به شمار می‌رود.

پروتئوس میرابیلیس، لاکتوباسیلوس‌ها و پسودوموناس آئروژینوزا به عنوان فلور طبیعی دستگاه گوارش سگ شناخته شده‌اند (۶). در این مطالعه میزان این سه باکتری در مدفوع سگ‌های سالم بیش از میزان آنها در مدفوع سگ‌های مبتلا به اسهال بود. با توجه به این که اسهال باعث تغییر در نوع و میزان فلور طبیعی دستگاه گوارش می‌گردد، کاهش این باکتری‌ها در سگ‌های مبتلا به اسهال منطقی به نظر می‌رسد.

کلستریدیوم پرفرنزانس از جمله باکتری‌های بی‌هوازی فلور دستگاه گوارش سگ است. این باکتری می‌تواند با تولید توکسین باعث بروز اسهال گردد. شرایط خاصی از جمله درمان با آنتی بیوتیک‌ها موقعیت را برای فعالیت بیش از حد کلستریدیوم پرفرنزانس فراهم می‌کند. شرایط ویژه جداسازی این باکتری به عنوان یک ارگانیزم بی‌هوازی می‌تواند دلیل پایین بودن میزان آن در بین باکتری‌های جدا شده از نمونه مدفوع سگ‌های سالم و مبتلا به اسهال باشد. از طرفی اسهال با از بین بردن شرایط بی‌هوازی روده‌ها باعث کاهش جمعیت این باکتری می‌گردد و علت کمتر بودن میزان

ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتیگراد نتایج بررسی می‌شد. پس از رشد باکتری‌ها و جدا سازی کلنی خالص با استفاده از روش رنگ آمیزی گرم، بررسی خواص کلنی و نیز واکنش‌های بیوشیمیایی لازم، جنس و گونه احتمالی باکتری‌ها تشخیص داده می‌شد (۱۲).

۳- تأیید سالمونلاها با روش PCR: استخراج DNA سالمونلاهای جدا شده با روش جوشاندن به مدت ده دقیقه و سانتریفوژ کردن در ۶۰۰۰ دور در ثانیه به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. پرایمرهای اختصاصی سالمونلا برای ژن *invA* (سیناژن - ایران) با سکانس

5'-GTG AAA TTA TCG CCA CGT TCG GGC AA-3'  
5'-TCA TCG CAC CGT CAA AGG AAC C-3'

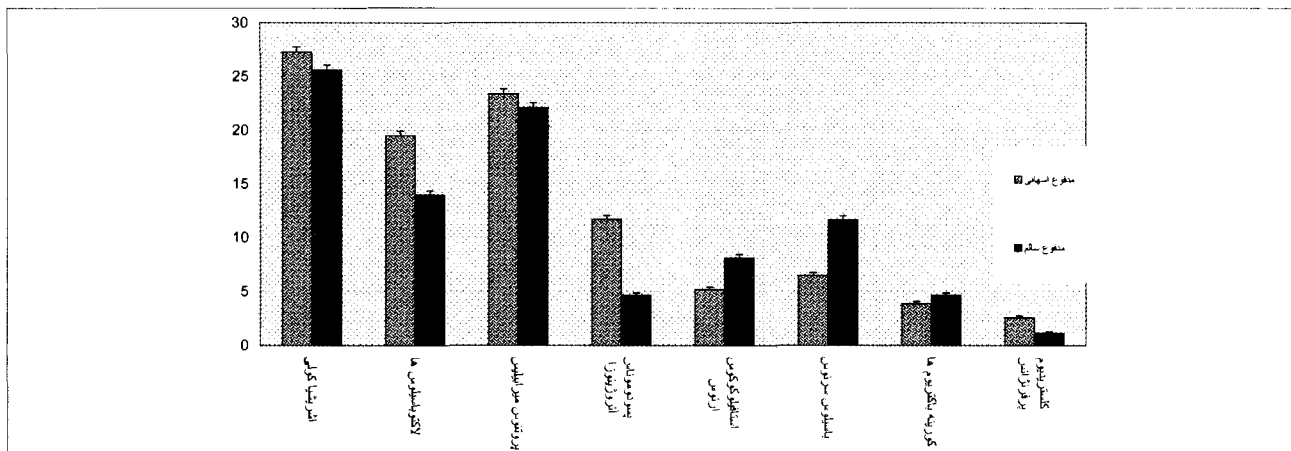
انتخاب گردید. تکثیر DNA نیز بر اساس برنامه Rahn و همکاران در سال ۱۹۹۲ انجام گرفت (۱۳). در خاتمه محصول PCR بر روی ژل ۱/۲ درصد و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید آنالیز شد.

۴- آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی: در این مرحله میزان حساسیت ۸ نوع آنتی بیوتیک (تهیه شده از شرکت پادتن طب) شامل تیلوزین، جنتامایسین، اکسی تتراسیکلین، کلرامفنیکل، نئومایسین، تتراسیکلین، کانامایسین و سولفادیازین، با استفاده از روش انتشار از دیسک بر روی باکتری‌های جدا شده بررسی می‌شد. در این بررسی میزان باکتری استاندارد با کدورت لوله استاندارد مک فارلند ۵/۵ تنظیم می‌گردید (۱۲) و نیز از محیط آگار مولر هینتون (مرک - آلمان) برای انجام آنتی بیوگرام استفاده می‌شد. نتایج بدست آمده بر اساس اندازه گیری قطر هاله عدم رشد و مقایسه آن با جدول استاندارد شرکت پادن طب (تهران - ایران) مشخص می‌گردید.

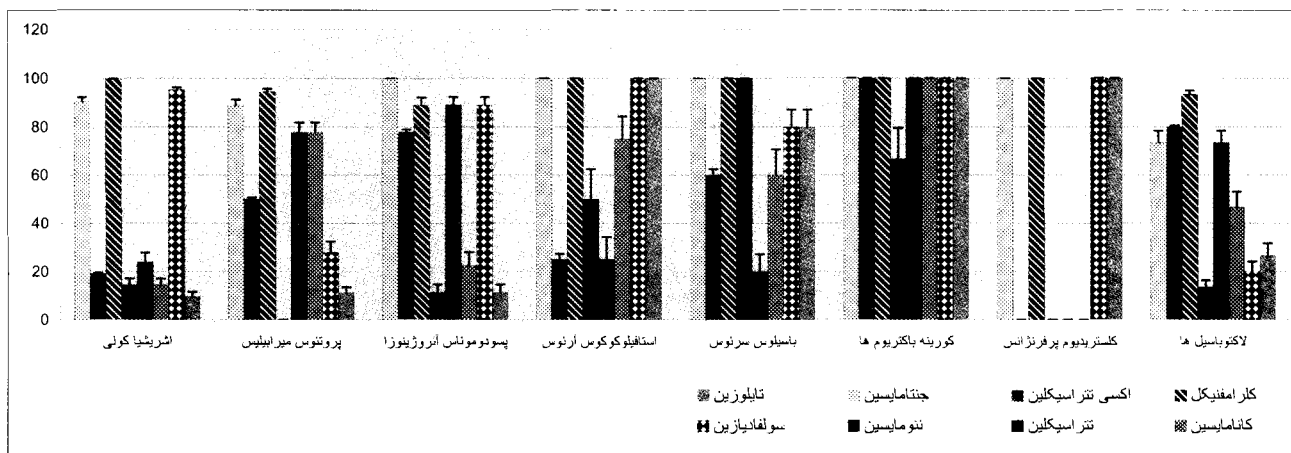
### نتایج

در این مطالعه ۷۷ مورد باکتری از مدفوع سگ‌های سالم و ۸۶ مورد باکتری از مدفوع سگ‌های مبتلا به اسهال جدا گردید. باکتری‌های جدا شده از مدفوع سگ‌های سالم شامل اشریشیاکلی ۲۷/۲۷ درصد، لاکتوباسیلوس‌ها ۱۹/۴۸ درصد، پروتئوس میرابیلیس ۲۳/۳۸ درصد، پسودوموناس آئروژینوزا ۱۱/۶۹ درصد، استافیلوکوکوس آرنوس ۵/۱۹ درصد، باسیلوس سرئوس ۶/۴۹ درصد، کورینه باکتریوم‌ها ۳/۹۰ درصد و کلستریدیوم پرفرنزانس ۲/۶۰ درصد بود. این میزان در مورد باکتری‌های جدا شده از مدفوع سگ‌های مبتلا به اسهال به ترتیب ۲۵/۵۸، ۱۳/۹۵، ۲۲/۰۹، ۴/۶۵، ۸/۱۴، ۱۱/۶۳، ۴/۶۵ و ۱/۱۶ درصد بود (نمودار ۱). همچنین ۷ مورد (۸/۱۴ درصد) سالمونلا نیز جدا گردید و مشخص شد که همگی واجد ژن *invA* بودند (تصویر ۱). همچنین با بررسی سن سگ‌های مبتلا به اسهال ۴۰ درصد کمتر از شش ماه، ۳۲ درصد ۷ تا ۱۲ ماه و ۲۸ درصد بالاتر از یکسال سن داشتند. حساسیت باکتری‌های جدا شده از سگ‌های سالم و مبتلا به اسهال نسبت به آنتی بیوتیک‌های مورد آزمایش به ترتیب در نمودارهای ۲ و ۳ مشخص شده است. نتایج نشان می‌دهد که سولفادیازین مناسب ترین آنتی بیوتیک برای درمان اسهال با کمترین اثر ضد باکتریایی بر روی فلور طبیعی





نمودار ۱- مقایسه درصد باکتریهای جدا شده از مدفوع سگهای سالم و مبتلا به اسهال.

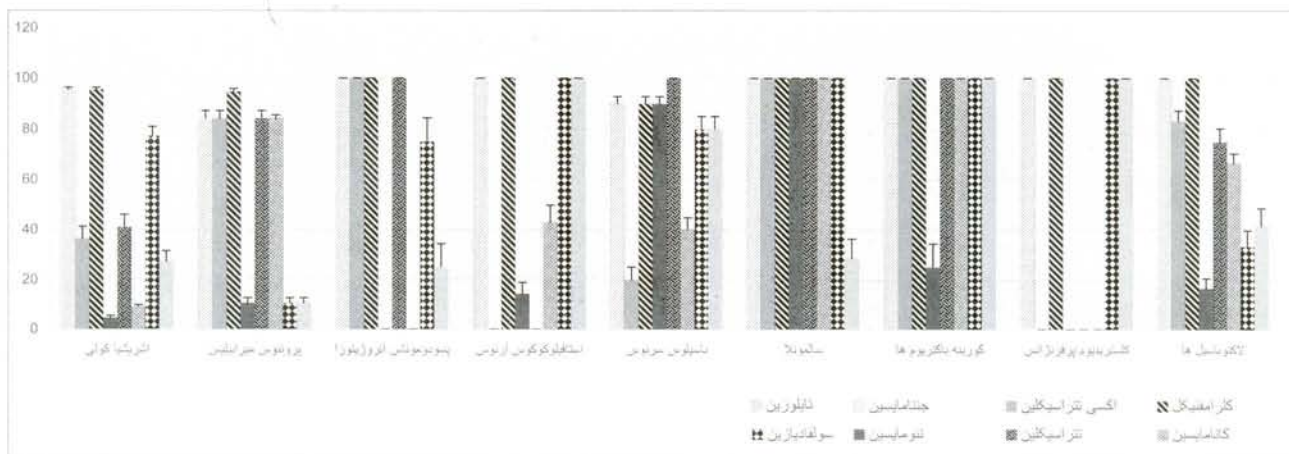


نمودار ۲- درصد باکتری های حساس به آنتی بیوتیک های مورد آزمایش، جدا شده از مدفوع اسهالی سگ های سالم.

باسیلوس سرتوس، استافیلوکوکوس آرنوس و کوریبیه باکتریوم ها جزء آن دسته از باکتری ها هستند که هم فلور طبیعی دستگاه گوارش سگ می باشند و هم در شرایطی مولد اسهال می گردند و افزایش میزان آنها در مدفوع سگ های مبتلا به اسهال منطقی به نظر می رسد (۶).  
 سالمونلاها به عنوان یکی از مهمترین باکتری های مولد اسهال در سگ و سایر پستانداران به شمار می روند و عدم وجود آن در نمونه های سالم طبیعی است (۶). در این بررسی ۸/۱۴ درصد سالمونلا از موارد اسهالی جدا گردید.  
 Seepersdsingh و همکاران در سال ۲۰۰۴ نمونه های مدفوع سگ های سالم را مورد آزمایش قرار دادند و مشخص کردند که ۳/۶ درصد از نمونه ها حاوی باکتری سالمونلا می باشد (۱۴). به نظر می رسد که وجود این باکتری در دستگاه گوارش لزوماً منجر به اسهال نمی گردد. همچنین جداسازی این باکتری از نمونه مدفوع می تواند بیانگر این موضوع باشد که حیوان ممکن است به عنوان حامل عمل کند که در این صورت فاقد نشانه های بالینی است.  
 Stone و همکاران در سال ۱۹۹۳ با بررسی سویه های مختلف سالمونلا که از نمونه مدفوع سگ های سالم و مبتلا به اسهال جدا شده بود و سویه هایی که در غذای آنها وجود داشت، شباهت بین سویه های جدا شده از اسهال و مواد

آن در مدفوع سگ های مبتلا به اسهال می تواند همین امر باشد (۶). Cave و همکاران در سال ۲۰۰۲ میزان شیوع کلستریدیوم دیفیسیل در سگ های مبتلا به اسهال و سالم را به ترتیب ۱۸ و ۵۵ درصد گزارش نمودند (۴). Weese و Armstrong در سال ۲۰۰۳ در یک همه گیری اسهال در سگ ها و گربه ها در کانادا از ۵۲ درصد از سگ ها توکسین های کلستریدیوم دیفیسیل را شناسایی کردند (۱۷). Marks و همکاران در سال ۲۰۰۲ نمونه مدفوع سگ های سالم و مبتلا به اسهال را مورد بررسی قرار دادند و ارتباط معنی داری بین وجود کلستریدیوم پرفرنزانتس و دیفیسیل با اسهال مشاهده نکردند (۱۰). Marks و Kather در سال ۲۰۰۳ با تحقیقاتی که روی نمونه مدفوع سگ های سالم و مبتلا به اسهال انجام دادند بیان داشتند که به دلیل وجود بسیاری از ارگانیزم ها به عنوان فلور طبیعی دستگاه گوارش سگ، جداسازی و شناسایی آنها به عنوان عامل مولد اسهال کافی به نظر نمی رسد، زیرا کلستریدیوم ها، کمپیلوباکترها و سویه های بیماری زای اشریشیا کلی از سگ های به ظاهر سالم نیز جدا گردیده اند. بنابراین برای تشخیص قطعی، عوامل مستعد کننده، نشانه های بالینی، آزمایش های سرولوژیک و PCR نیز ضروری می باشد (۹).



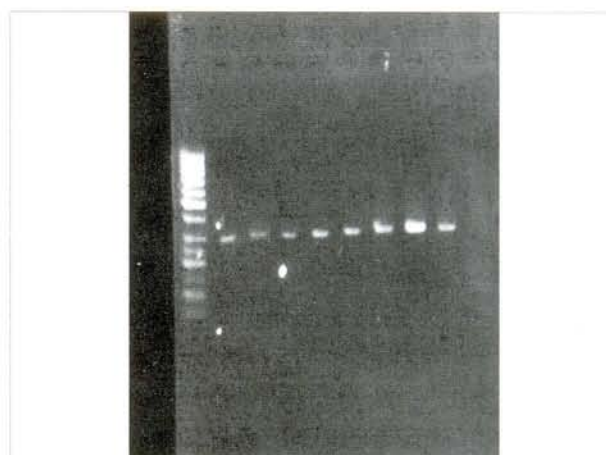


نمودار ۳- درصد باکتری های حساس به آنتی بیوتیک های مورد آزمایش، جدا شده از مدفوع اسهالی سگ.

بدست آمده در مطالعه حاضر و تحقیقات نامبردگان به نظر می رسد که سگ های زیر ۱ سال بیشتر در معرض ابتلا به اسهال قرار دارند.

درمان آنتی بیوتیکی به عنوان یک از مهمترین بخش های درمان اسهال به شمار می رود. از سوی دیگر لازم است آنتی بیوتیکی مورد استفاده قرار گیرد که در عین اینکه روی باکتری های عامل اسهال مؤثر می باشد کمترین اثر را روی فلور طبیعی دستگاه گوارش داشته باشد. استفاده از آنتی بیوتیکی که دارای تأثیرات مخرب بر فلور طبیعی باشد ممکن است باعث و خیم شدن وضعیت بیمار گردد (۱۶). در تحقیق حاضر اثر ۸ نوع آنتی بیوتیک روی باکتری های جدا شده از نمونه مدفوع سگ های سالم و مبتلا به اسهال با استفاده از روش انتشار از دیسک مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج بدست آمده آنتی بیوتیک های جنتامایسین و کلرامفنیکل به طور وسیعی بر کلیه باکتری های جدا شده مؤثر بودند. سولفادیازین تنها آنتی بیوتیک مورد بررسی بود که باکتری های مولد اسهال نسبت به آن حساسیت زیادی داشتند و در عین حال این آنتی بیوتیک تأثیرات جزئی بر فلور طبیعی دستگاه گوارش (پروتئوس میرابیلیس و لاکتوباسیلوس ها) داشت. بقیه آنتی بیوتیک های مورد مطالعه دارای اثرات متفاوت بر روی باکتری های جدا شده بودند.

Kather و Marks در سال ۲۰۰۳ با جداسازی کلستریدیوم دیفیسیل و پرفرنزانس از سگ های مبتلا به اسهال و انجام آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی اعلام کردند که آمپی سیلین، اریترومایسین، مترونیدازول و تایلوزین از جمله آنتی بیوتیک های مؤثر بر این ارگانیزم های بی هوازی هستند (۸). Berg و همکاران در سال ۱۹۷۹ در مطالعه ای روی باکتری های بی هوازی دستگاه گوارش سگ و گربه انواع گونه های کلستریدیوم را جدا سازی نمودند. آنها بیان داشتند آنتی بیوتیک های لینکومایسین، پنی سیلین، کلرامفنیکل و سفالوریدین روی این باکتری ها مؤثر می باشند (۲). در تحقیق حاضر نیز تمام سویه های کلستریدیوم پرفرنزانس جدا شده به آنتی بیوتیک های تایلوزین و کلرامفنیکل حساسیت نشان دادند. به نظر می رسد که این آنتی بیوتیک ها برای درمان عفونت های ناشی از کلستریدیوم ها



تصویر ۱- نتایج PCR با پرایمرهای اختصاصی ژن *inva*؛ ۱: مارکر (bp) ۵۰؛ ۲: کنترل مثبت ۳-۹: سالمونلاهای جدا شده ۱۰: کنترل منفی.

غذایی را ۵۱/۶۱۱ درصد اعلام کردند (۱۵).

به طور کلی تفاوت هایی که بین باکتری های جدا شده در تحقیق حاضر و مطالعات دیگر محققین وجود دارد می تواند ناشی از تفاوت های احتمالی موقعیت جغرافیایی، حیره غذایی متفاوت و شرایط محیط زندگی باشد. اما آنچه واضح به نظر می رسد این است که باکتری هایی مانند اشریشیا کلی و سالمونلا که در مطالعه حاضر به عنوان عمده باکتری های جدا شده از موارد اسهال به آن ها اشاره شده است، توسط سایر محققین نیز ثبت شده اند. از طرفی به نظر می رسد که جدا سازی باکتری از موارد اسهال به تنهایی برای تشخیص کافی نبوده و آزمایش های دیگری از قبیل الیزا، PCR و تشخیص توکسین باکتری های ضروری باشد.

در تحقیق حاضر ۷۲ درصد از مبتلایان به اسهال کمتر از ۱ سال سن داشتند و یکی از مهمترین دلایل آن را می توان پایین بودن قدرت سیستم های دفاعی دستگاه گوارش مانند کامل نشدن فلور باکتریایی روده ها و پایین بودن اسیدیته معده برشمرد. Adesiyun و همکاران در سال ۱۹۹۷ با مطالعه ۶۵ قلاده سگ مبتلا به اسهال اعلام کردند که میزان شیوع اسهال در سگ های زیر ۱ سال بیش از سگ های بالای ۱ سال است (۱). با توجه به نتایج



حساسیت باکتریایی در مناطق و زمان‌های مختلف و نیز تفاوت در الگوی مصرف آنتی بیوتیک‌ها در جوامع مختلف اشاره نمود. بنابراین ارزیابی حساسیت آنتی بیوتیکی در طول زمان و مناطق مختلف از جنبه‌های اقتصادی و بهداشت عمومی حائز اهمیت می‌باشد.

## References

1. Adesiyun, A. A., Campbell, M., Kaminjolo, J. S. (1997) Prevalence of bacterial enteropathogens in pet dogs in Trinidad. *Zentralbl. Veterinarmed.* 44: 19-27.
2. Berg, J. N., Fales, W. H., Scanlan, C. M. (1979) Occurrence of anaerobic bacteria in diseases of the dog and the cat. *Am. J. Vet. Res.* 40: 876-881.
3. Calum, N. L., Meslin, F. X., Wandeler, A. I. (2000) *Dogs Zoonoses and Public Health.* CABI, Oxon, UK. 93-96.
4. Cave, N. J., Marks, S. L., Kass, P. H., Melli, A. C., Brophy, M. A. (2002) Evaluation of a routine diagnostic faecal panel for dogs with diarrhea. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 221: 52-59.
5. Ettinger, S. J., Feldman, E. C. (2000) *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* (5<sup>th</sup> ed.), pp. 121-126. 1182-1193 (W. B. Saunders Company, London).
6. Greene, C. E. (1984) *Clinical Microbiology and Infectious Disease of the Dog and Cat.* W. B. Saunders Company, London, UK. pp. 252-256.
7. Lanz, R., Kuhnert, P., Boerlin, P. (2003) Antimicrobial resistance and resistance gene determinants in clinical *Escherichia coli* from different animal species in Switzerland. *Vet. Microbiol.* 91: 73-84.
8. Marks, S. L., Kather, E. J. (2003) Antimicrobial susceptibilities of canine *Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* isolates to commonly utilized antimicrobial drugs. *Vet. Microbiol.* 94: 39-45.
9. Marks, S. L., Kather, E. J. (2003) Bacterial-associated diarrhea in the dog: a critical appraisal. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.* 33: 1029-1060.
10. Marks, S. L., Kather, E. J., Kass, P. H., Melli, A. C. (2002) Genotypic and phenotypic characterization of *Clostridium perfringens* and *Clostridium difficile* in

مناسب باشند. Adesiyun و همکاران در سال ۱۹۹۷ با مطالعه نمونه مدفوع سگ‌های سالم و مبتلا به اسهال باکتری اشریشیاکلی را جدا نمودند. آنها با انجام آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی اعلام کردند که ۵۹/۶ درصد از اشریشیاکلی‌ها به تتراسیکلین و ۵۰/۵ درصد از آنها به آمپی سیلین مقاومت نشان دادند (۱). Lanz و همکاران در سال ۲۰۰۳ با انجام آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی روی اشریشیاکلی‌های جدا شده از حیوانات مختلف از جمله سگ دریافتند که این باکتری نسبت به سولفونامیدها، تتراسیکلین و استرپتومایسین تا حدودی مقاومت نشان می‌دهد. این محققان اعلام کردند مکانیسم‌های جدید مقاومت در این باکتری را نسبت به سولفونامیدها شناسایی کرده‌اند (۷).

در مطالعه حاضر نیز درصد کمی از اشریشیاکلی‌ها به تتراسیکلین حساسیت نشان دادند. دلیل این امر را می‌توان در استفاده وسیع این آنتی بیوتیک در دامپزشکی و همچنین در صنعت طیور که غذای عمده سگ‌ها را تشکیل می‌دهد دانست. این امر باعث شکل‌گیری مقاومت در این باکتری نسبت به تتراسیکلین گردیده است. همچنین سولفادیاژین به عنوان آنتی بیوتیک موثر بر اشریشیاکلی شناخته شد که با نتایج مطالعه نامبردگان تا حدودی متفاوت بود. دلیل این امر را می‌توان در تفاوت الگوی مصرف این آنتی بیوتیک در جوامع مختلف جستجو کرد. به نظر می‌رسد استفاده بی‌رویه از سولفونامیدها برای درمان عفونت‌های گوارشی در سگ باعث ایجاد و شکل‌گیری مقاومت در اشریشیاکلی می‌گردد. Seepersdsingh و همکاران در سال ۲۰۰۴ با انجام آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی روی سالمونلاهای جدا شده از سگ‌های سالم اعلام داشتند که این باکتری ۸۰/۶ درصد نسبت به استرپتومایسین، ۳۷/۳ درصد نسبت به سفالوتین، ۲۸/۸ درصد نسبت به نئومایسین و ۹/۰ درصد نسبت به جنتامایسین مقاوم بوده است. تمام سویه‌ها نسبت به آمپی سیلین، کلرامفنیکل و ترکیب سولفامتوکسازول - تری متوپریم حساسیت داشتند (۱۴). در تحقیق حاضر نیز تمام سالمونلاها نسبت به کلرامفنیکل، سولفادیاژین، جنتامایسین و نئومایسین حساسیت نشان دادند. به نظر می‌رسد جنتامایسین و سولفادیاژین برای درمان عفونت‌های روده‌ای ناشی از سالمونلاها مناسب باشند. کلرامفنیکل به عنوان آنتی بیوتیکی که به علت عوارض جانبی زیاد، در پزشکی و دامپزشکی کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد کمترین مقاومت را در بین باکتری‌های دستگاه گوارش دارا بود. به طور کلی عدم حساسیت مناسب باکتری‌های دستگاه گوارش به آنتی بیوتیک‌هایی مانند تتراسیکلین، اکسی تتراسیکلین و تایلوزین را می‌توان به استفاده وسیع آنها در دامپزشکی نسبت داد. با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد که سولفادیاژین مناسب‌ترین آنتی بیوتیک برای درمان اسهال باشد که کمترین اثرات ضد باکتریایی را روی فلور طبیعی دستگاه گوارش دارد و در عین حال روی باکتری‌های مولد اسهال نیز به خوبی موثر است.

نتایج بدست آمده در این تحقیق ممکن است با شماری از نتایج که در نقاط دیگر بدست می‌آید متفاوت باشد. از جمله دلایل آن را می‌توان به تفاوت



- diarrhoeic and healthy dogs. J. Vet. Intern. Med. 15: 533-540.
11. Munnich, A., Lubke-Becker, A. (2004) *Escherichia coli* infections in newborn puppies- clinical and epidemiological investigation. Theriogenol. 62: 562-573.
  12. Quinn, P. J., Carter, M. E., Markey, B. K., Carter JR. (1994) Clinical Veterinary Microbiology. Mosby Publication, London, UK. pp. 118-126, 137-143, 178-247.
  13. Rahn, K., Grandis, S. A., Curtiss, R., Gyles, C. L. (1992) Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella* Typhimurium by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. Mol. Cell. Probes. 6: 271-279.
  14. Seepersadsingh, N., Adesiyun, A. A., Seebarsingh, R. (2004) Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* Spp. in non- diarrhoeic dogs in Trinidad. J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public. Health. 51: 337-342.
  15. Stone, C. G., Chengappa, M. M., Oberst, R. D., Gabbert, N. H., McVey, S., Hennessy, K. J., Muenzenberger, M., Staats, J. (1993) Application of polymerase chain reaction for the correlation of *Salmonella* serovars recovered from greyhound faeces with their diet. J. Vet. Diagn. Invest. 5: 378-385.
  16. Strombeck, D. R., Guilford, W. G. (1991) Small Animal Gastroenterology. Wolf Publishing, Ltd. Virginia, USA. pp. 279-291
  17. Weese, J. S., Armstrong, J. (2003) Outbreak of *Clostridium difficile*-associated disease in a small animal veterinary teaching hospital. J. Vet. Intern. Med. 17: 813-816.



## IDENTIFICATION AND ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF BACTERIAL ISOLATES IN FAECES OF HEALTHY AND DIARRHOEIC DOGS IN SHIRAZ

Firouzi, R.<sup>1\*</sup>, Sarchahi, A.A.<sup>2</sup>, Nazarian, S.<sup>3</sup>, Saeedzadeh, A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz-Iran.

<sup>2</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz-Iran.

<sup>3</sup>Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz-Iran.

(Received 16 January 2007 , Accepted 13 May 2008)

### Abstract:

In this study 77 and 86 bacterial strains were isolated from faeces of healthy and diarrhoeic dogs respectively. All *Salmonella* isolates were confirmed by PCR method using specific *invA* genes. Antibacterial activity of 8 routine antibiotics including tylosin, gentamycin, kanamycin, neomycin, tetracycline, oxytetracycline, chloramphenicol and sulfadiazine on the isolated bacteria was evaluated by disk diffusion method. Isolated bacteria from faeces of healthy dogs were as follow: *Escherichia coli* (27.27%), *Proteus mirabilis* (23.38%), *Lactobacilli* (19.48%), *Pseudomonas aeruginosa* (11.69%), *Staphylococcus aureus* (5.19%), *Bacillus cereus* (4.49%), *Corynebacteria* (3.90%), and *Clostridium perfringens* (2.60%). Isolated bacteria from faeces of diarrheic dogs were as follows: *Escherichia coli* (25.58%), *Proteus mirabilis* (22.09%), *Lactobacilli* (13.95%), *Bacillus cereus* (11.63%), *Staphylococcus aureus* (8.14%), *Salmonella* (8.14%), *Corynebacteria* (4.65%), *Pseudomonas aeruginosa* (4.65%), and *Clostridium perfringens* (1.16%). The results showed that all isolated bacteria from diarrheal faeces were sensitive to sulfadiazine. However this antibiotic had weak antibacterial activity against gastrointestinal normal flora.

**Key words:** faeces, normal flora, diarrhea, antibiotic sensitivity, dog, Shiraz.

\*Corresponding author's email: firouzi@shirazu.ac.ir, Tel: 0711-6138668, Fax: 0711-2286940

