نشریه تازه ها در میکروب‌شناسی دامپزشکی
وبگاه: nfvm.uoz.ac.ir
دو فصلنامه - شاپا چاپی: ۲۶۴۵-۴۴۹۱ شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۵۰۰۴

دوره ۷، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۳، صفحات ۱- ۹

بررسی مقاومت دارویی و فراوانی ژن‌های بتالاکتاماز bla_{SHV} و bla_{OXA} در *اشریشیاکلی* جداسازی شده از جوجه‌های گوشتی

حسین نوری[۱]، محمد جهانتیغ[۲*]

۱- دانش‌آموخته، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲- استاد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ۰۶ اردیبهشت ۱۴۰۲، بازنگری: ۲۰ خرداد ۱۴۰۲، پذیرش نهایی: ۱۵ تیر ۱۴۰۲

10.22034/NFVM.2023. 393796. 1185

چکیده

اشریشیاکلی یکی از شایع‌ترین عوامل بیماری‌زا در طیور است که باعث ایجاد کلی‌باسیلوز می‌شود. آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به فراوانی جهت درمان عفونت‌های ناشی از *اشریشیاکلی* مورد استفاده قرار می‌گیرند. تا به امروز تعداد زیادی از بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) شناسایی شده‌اند که از آنها می‌توان به SHV و OXA اشاره نمود که به‌ترتیب توسط ژن‌های bla_{SHV} و bla_{OXA} کددهی می‌شوند. با توجه به گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و نیز با در نظر گرفتن اثرات زیان‌باری که باکتری‌های مقاوم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام می‌توانند بر روی بهداشت عمومی و سلامت حیوانات داشته باشند کنترل و پیشگیری از عفونت‌های این باکتری دارای اهمیت زیادی است. در مطالعه حاضر ۵۰ جدایه *اشریشیاکلی* از ۶۰ نمونه سواب کلواکی جداسازی گردید. نمونه‌های سواب از جوجه‌های گوشتی سن ۷ تا ۲۱ روزه مرغداری‌های سطح شهرستان زابل جمع‌آوری شدند. حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار دیسک نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون، سفازولین، سفتیزوکسیم، سفالوتین، سفتازیدیم و سیفیکسیم انجام شد. همچنین حضور و فراوانی دو ژن bla_{SHV} و bla_{OXA} با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در جدایه‌های *اشریشیاکلی* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی مقاومت دارویی نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به سفازولین (۸۰ درصد) و کمترین مقاومت نسبت به سفتریاکسون (۸ درصد) وجود دارد. فراوانی ژن bla_{SHV} و bla_{OXA} در نمونه‌های *اشریشیاکلی* به‌ترتیب ۲۴ و صفر درصد بود.

واژگان کلیدی: *اشریشیاکلی، مقاومت دارویی، ESBLs، bla_{SHV}، bla_{OXA}*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: mjahantig@yahoo.com

مقدمه

اشریشیاکلی باکتری گرم‌منفی میله‌ای شکل است که در روده حیوانات خونگرم یافت می‌شود. اغلب گونه‌های *اشریشیاکلی بی‌ضرر* هستند، اما برخی از انواع آن باعث مسمومیت غذایی در انسان‌ها می‌شوند و گهگاهی شیوع بیماری ناشی از آنها به حذف مواد غذایی مشکوک به آلودگی می‌انجامد. گونه‌های بی‌ضرر این باکتری به‌طور طبیعی در روده انسان وجود دارند و ممکن است با تولید ویتامین K و با پیشگیری از استقرار باکتری‌های آسیب‌رسان درون روده به میزبان سود برسانند. *اشریشیاکلی* یک جزء عمده در مدفوع است و انتقال مدفوعی- دهانی راه عمده انتقال گونه‌های آسیب‌رسان این باکتری است (۱، ۲، ۳).

کلی‌باسیلوز از مهم‌ترین بیماری‌های پرندگان است. تیپ‌های سرمی متعددی از *اشریشیاکلی* در محیط حیوانات اهلی و پرنده‌ها وجود دارد. *اشریشیاکلی* یکی از شایع‌ترین عوامل بیماری‌زا در طیور به شمار می‌رود (۳). این باکتری به‌عنوان عامل بیماری‌زا در انسان، به‌ویژه در بیماران با نقص ایمنی، مطرح بوده و بتالاکتام‌ها به وفور جهت درمان عفونت‌های ناشی از این میکروارگانیسم مورد استفاده قرار می‌گیرند. در سال‌های اخیر، شیوع بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (Extended-spectrum beta-lactamases; ESBLs) در بین جدایه‌های بالینی *اشریشیاکلی* به‌دست آمده از انسان مورد توجه قرار گرفته است و این مکانیزم مقاومت باعث ایجاد مشکل در درمان بیماری‌های عفونی گردیده است. تا به امروز بیش از ۱۵۰ نوع بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) شناسایی شده‌اند که می‌توان به SHV و OXA اشاره نمود که به‌ترتیب توسط ژن‌های bla_{SHV} و bla_{OXA} کددهی می‌شوند و هریک از آنزیم‌های SHV و OXA نیز خود دارای زیرگروه‌هایی هستند. سفالوسپورین‌ها دستهٔ مهمی از داروهای بتالاکتام می‌باشند که هم اکنون پنج نسل از آنها تولید شده است و به‌طور وسیع و در کنار سایر داروهای دامی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲، ۴، ۵).

از آنجایی که طیور نقش مهمی در تولید گوشت دارد و نیز با در نظر گرفتن اثرات زیان‌باری که باکتری‌های مقاوم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام می‌توانند بر روی بهداشت عمومی و سلامت حیوانات داشته باشند و با توجه به درصد بالای مرگ و میر ناشی از این بیماری، کاهش تولید و نیز خسارات ناشی از مصرف دارو، کنترل و پیشگیری از این بیماری از رئوس مهم در مدیریت صنعتی طیور است. لازم به ذکر است که باکتری عفونت‌های متعددی را در طیور مثل سپتی‌سمی، عفونت کیسه زرده و حالت کلی‌گرانولوما را ایجاد می‌کند. میزان تلفات بیماری متغییر و بستگی به نوع آلودگی دارد مثلاً در عفونت کیسه زرده تلفات ممکن است تا ۱۰۰ درصد برسد ولی در کلی‌گرانولوما تلفات انفرادی است (۳). همچنین، با توجه به گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و نیز محدودیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در کنترل این بیماری، مطالعه مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها و ژن‌های موجود مقاومت در این باکتری لازم است. در این تحقیق مقاومت دارویی و فراوانی بتالاکتامازهای نوع SHV و OXA (زیرگروه OXA-2) در *اشریشیاکلی* جداسازی شده از جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری از ۶۰ قطعه جوجه گوشتی سن ۷ تا ۲۱ روزه از مرغداری‌های سطح شهرستان زابل و به‌صورت سواب کلواکی انجام گرفت. از ۶۰ نمونه سواب کلواکی جوجه‌ها ۵۰ نمونه *اشریشیاکلی* جداسازی شد. جهت جمع‌آوری نمونه‌ها با لوله‌های آزمایش در پیچدارکه حاوی ۳ میلی‌لیتر محیط کشت مایع TSB (Tryptic soy broth) و سواب استریل با رعایت شرایط استریل و بهداشتی از جوجه‌های سالم نمونه سواب کلواکی گرفته شد و سریعاً به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل منتقل گردید و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، با آنس روی محیط کشت EMB (Eosin methylene blue agar) Agar کشت داده شد (مرک، آلمان). *اشریشیاکلی* بر روی محیط EMB کلنی‌هایی به رنگ ارغوانی تیره با جلای

سبز فلزی ایجاد می‌کند. باکتری قند لاکتوز را تخمیر کرده و اسید تولید می‌کند و اسید موجب کاهش pH در محیط EMB شده و در نتیجه رنگ ارغوانی تیره با جلای سبز فلزی ایجاد می‌شود. باکتری در محیط کشت (Triple suger iron agar) TSI واکنش اسید/ اسید دارد و H2S تولید نمی‌کند. از نظر تست IMViC به‌صورت ایندول مثبت، MR (Methyl red) مثبت، (Voges-Proskauer) VPمنفی و سیترات منفی می‌باشد (مرک، آلمان) (۶).

مقدار ۶-۴ سی‌سی سرم فیزیولوژی استریل درون لوله‌های استریل توزیع شد و تعدادی از پرگنه‌های باکتری *اشریشیاکلی* توسط آنس استریل درون سرم فیزیولوژی حل شده، به گونه‌ای که کدورت آن معادل کدورت نیم‌مک فارلند شد و در نهایت لوله‌ها شماره‌گذاری شدند و برای کشت در محیط مولر هینتون استفاده شدند (مرک، آلمان).

جدول ۱- دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده برای آنتی‌بیوگرام

آنتی‌بیوتیک	علامت اختصاری	میزان آنتی‌بیوتیک موجود در هر دیسک (µg)
سفتریاکسون (CEFTRAXON)	CRO 30	۳۰
سفتازیدیم (CEFTAZIDIME)	CAZ 30	۳۰
سفازولین (CEFAZOLIN)	CZ 30	۳۰
سفتیزوکسیم (CEFTIZOXIME)	CT 30	۳۰
سفیکسیم (CEFIXIME)	CFM 5	۵
سفالوتین (CEPHALOTHIN)	CF 30	۳۰

برای کشت بر روی محیط مولرهینتون، یک سواب استریل را در مجاورت شعله قرار داده و سوسپانسیون میکروبی به‌وسیله‌ی آن هم زده شد. سواب به دیواره لوله فشار داده شد تا محلول اضافی از آن گرفته شود. سپس در سطح محیط به‌صورت یکنواخت بر روی آگار کشت داده شد. در ادامه با استفاده از پنس، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی (شرکت پادتن طب، ایران) در سطح محیط کشت قرار داده شد (جدول ۱). پس از قرار گرفتن دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی برای همه پلیت‌ها، به مدت ۲۴ ساعت در آنکوباتور ۳۷ °C قرار داده شدند (۴).

سپس با استفاده از خط‌کش قطر هاله عدم رشد بر حسب میلیمتر اندازه گرفته و با استفاده از جدول CLSI (Clinical and laboratory standards institute guidelines) میزان حساسیت باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها به‌صورت حساس, نیمه حساس و مقاوم گزارش شد (۷).

استخراج DNA باکتری به روش جوشاندن (Boilling method) انجام گردید (۴). ابتدا به‌وسیله آنس استریل از تک‌کلنی باکتری رشد کرده بر روی محیط EMB برداشته شد و از هر ایزوله به‌صورت مجزا در محیط LB (Luria Bertoni) به حجم ۵ سی‌سی کشت داده شد. پس از ۱۸-۲۴ ساعت آنکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، جدایه‌های مورد نظر در سانتریفیوژ با سرعت۴۸۰۰-۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند و در نهایت مایع رویی آنها تخلیه گردید.

در مرحله‌ی بعد رسوب باکتری با یک میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر استریل یا PBS یک درصد استریل مخلوط و سپس به میکرو تیوپ ۱/۵ میلی‌لیتر انتقال داده شد. در مرحله بعد میکروتیوب را در ۴۸۰۰-۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ کرده و مایع رویی تخلیه شد. به‌طور مجدد رسوب باکتری با ۱ سی‌سی آب مقطر دوبار تقطیر استریل مخلوط و در ۴۸۰۰-۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه در دمای

اتاق سانتریفیوژ شد و در نهایت مایع رویی تخلیه شد. در مرحله‌ی بعدی آزمایش آب مقطر دوبار تقطیر استریل به مقدار ۲۰۰ میکرولیتر به رسوب اضافه گردید و میکروتیوب به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در نهایت میکروتیوب‌ها در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرانجام مایع رویی که دارای DNA بود، به میکروتیوب جدید منتقل گردید و در فریزر ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده‌های بعدی نگهداری گردید (۴).

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR): به‌منظور بررسی فراوانی ژن‌های bla_{OXA} و bla_{SHV} در باکتری‌های جداسازی شده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز استفاده گردید. پرایمرهای استفاده شده در این تحقیق از شرکت پیشگام تهیه شدند. توالی نوکلئوتیدی پرایمر مورد استفاده جهت انجام آزمایش PCR برای شناسایی ژن bla_{OXA} و ژن bla_{SHV} در جدول-۲ آورده شده است (۸، ۹). حجم محلول استفاده شده برای PCR و برنامه مورد استفاده در دستگاه ترموسایکلر جهت PCR برای ژن bla_{OXA} و ژن bla_{SHV} جداول ۳ الی ۵ نشان داده شده است.

جدول-۲ توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده در جدول نشان داده شده است.

ژن مورد نظر	توالی پرایمر (۳′ → ۵′)	اندازه باند (bp)
Bla_{OXA}	Forward: ′-3 AAGAAACGCTACTCGCCTGC –′ 5 Reverse: ′-3 CCACTCAACCCATCCTACCC –′ 5	۴۸۵
Bla_{SHV}	Forward: ′-3 – GGGTTATTCTTATTTGTCGC′ 5 Reverse: ′-3 TTAGCGTTGCCAGTGCTC –′ 5	۶۱۵

جدول-۳ حجم محلول‌های مورد استفاده جهت PCR در جدول نشان داده شده است

مواد مورد نیاز	حجم مورد نیاز (µl)
2x master mix-red	۱۳/۵
Primer (F& R)	۱+۱
DNA (Templete)	۲
H2O	۷/۵
جمع کل	۲۵

جدول-۴ برنامه مورد استفاده در دستگاه ترموسایکلر جهت PCR برای ژن bla_{OXA}

Cycle 38	C 94° 5min	Initial Denaturatuon	واسرشت‌سازی اولیه
	C 94° 1min	Denaturatuon	واسرشت‌سازی
	C 60° 1min	Annealing	اتصال
	C 72° 45sec	Extension	بسط
	C 72° 5min	Final Extension	بسط نهایی

جدول-۵ برنامه مورد استفاده در دستگاه ترموسایکلر جهت PCR برای ژن bla_{SHV}

Cycle 30	C 94° 5min	Initial Denaturatuon	واسرشت‌سازی اولیه
	C 94° 45sec	Denaturatuon	واسرشت‌سازی
	C 56° 1min	Annealing	اتصال
	C 72° 1min	Extension	بسط
	C 72° 5min	Final Extension	بسط نهایی

جدول-۶ درصد جدایه‌های حساس، نیمه‌حساس و مقاوم *اشریشیاکلی* جوجه‌های گوشتی

	سفتریاکسون	سفتازیدیم	سفازولین	سفتیزوکسیم	سفکسیم	سفالوتین
حساس	٪۸۸	٪۵۴	٪۰	٪۷۸	٪۷۰	٪۳۶
نیمه‌حساس	٪۴	٪۱۰	٪۲۰	٪۱۲	٪۱۲	٪۴۰
مقاوم	٪۸	٪۳۶	٪۸۰	٪۱۰	٪۱۸	٪۲۴
جمع کل	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰

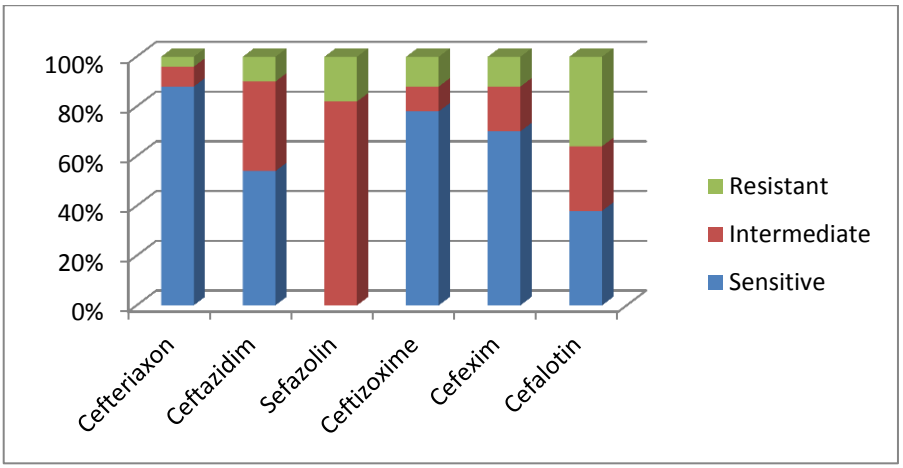
برای الکتروفورز محصول PCR از ژل آگارز یک درصد استفاده گردید.

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از بسته "IBM SPSS Statistics 20" از طریق آزمون k-square انجام شد. نتایج به‌دست آمده از نظر آماری در صورتی که $p<0.05$ باشد معنی‌دار درنظر گرفته شده‌اند.

نتایج

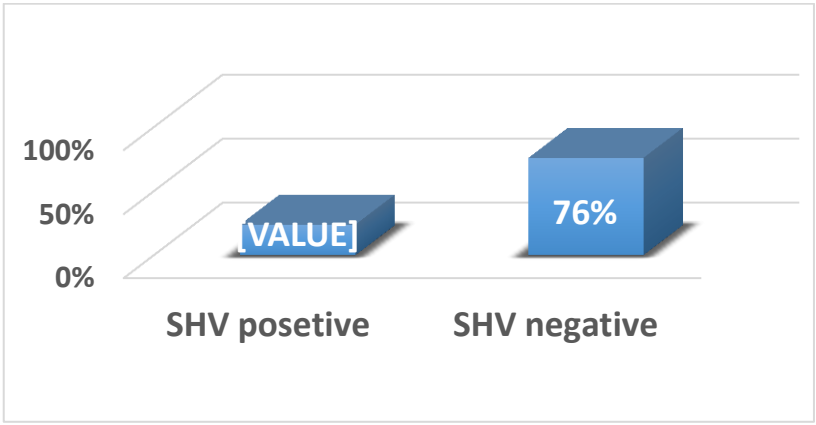
جدول ۶ درصد جدایه‌های حساس، نیمه‌حساس و مقاوم *اشریشیاکلی* در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج مقاومت دارویی، مقاومت چندگانه در جدایه‌های *اشریشیاکلی* یافت نشد.

در بررسی مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده شد ($X^2 = 1.3$، $p < 0.001$). چون اختلاف مقاومت بین آنتی‌بیوتیک‌ها در تست آنتی‌بیوگرام وجود دارد لذا نتایج آنالیز آماری از این جهت حائز اهمیت است که نشان می‌دهد این اختلاف تصادفی ناشی از خطاهای میکروبی نیست و کاملاً واقعی می‌باشد. همچنین بر اساس آنالیز آماری، اختلاف نتایج بین آنتی‌بیوتیک‌های سفالوسپورین نسل اول (سفالوتین و سفازولین) و نسل سوم (سفیکسیم، سفتریاکسون، سفتازیدیم و سفتیزوکسیم) کاملاً مشهود است که ناشی از جدیدتر بودن خانواده سفالوسپورین‌های نسل سوم نسبت به نسل اول می‌باشد.



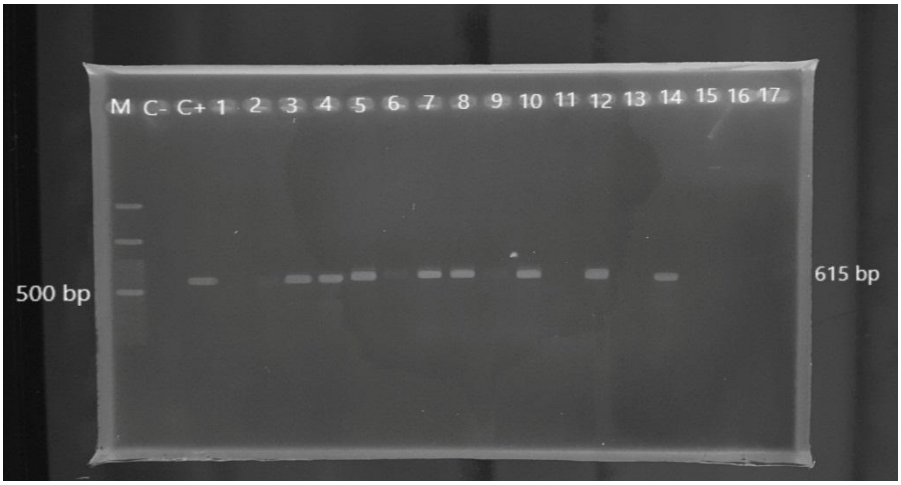
شکل -۱ میزان مقاومت ضد میکروبی جدایه‌های *اشریشیاکلی*

همان‌گونه که در شکل ۲ نشان داده شده است، میزان شیوع ژن bla_{SHV} در نمونه‌های جوجه‌های گوشتی ۲۴ درصد (۱۲ نمونه مثبت) می‌باشد. هیچ‌یک از نمونه‌ها دارای ژن bla_{OXA} نبود.



شکل -۲ نمودار فراوانی ژن bla_{SHV} در نمونه‌های *اشریشیاکلی* جداسازی شده از جوجه‌های گوشتی

شکل ۳ نتایج مربوط به PCR ژن bla_{SHV} در برخی از *اشریشیاکلی*های جداسازی شده از جوجه‌های گوشتی را نشان می‌دهد. اندازه این ژن ۶۱۵ جفت باز است.



شکل-۳ نتایج مربوط به PCR ژن bla_{SHV}/*شریشیاکلی*های جداسازی شده از جوجه گوشتی. M : مارکر -C:کنترل منفی +C: کنترل مثبت. نمونه‌های ۱،۲،۶،۹،۱۱،۱۳،۱۵،۱۶،۱۷ منفی و نمونه‌های ۳،۴،۵،۷،۸،۱۰،۱۲،۱۴ مثبت می‌باشند.

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه با بروز مقاومت‌های دارویی در میان باکتری‌های بیماری‌زا، درمان بیماری‌های عفونی با مشکلات فراوانی مواجه شده است. از دیرباز آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام از مرسوم‌ترین درمان‌های عفونت‌های باکتریایی محسوب می‌شوند. باکتری‌ها با تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز توانسته‌اند به این کلاس از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت یابند (۱۰). آنزیم‌های بتالاکتاماز در باکتری‌ها بسیار متنوعند و در پاسخ به فشار انتخابی آنتی‌بیوتیک، دائماً در حال موتاسیون و یا جایگزینی اسیدهای آمینه به‌ویژه در جایگاه فعال آنزیم هستند به‌طوری که باعث ظهور انواع جدیدی از بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) شده است (۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴). بر اساس عملکرد، آنزیم‌های بتالاکتامازی در چهار کلاس اصلی A، B، C و D طبقه‌بندی می‌شوند.

بر اساس این طبقه‌بندی، آنزیم SHV در گروه A و آنزیم OXA در گروه D قرار گرفته است. بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف علاوه بر ایجاد مقاومت به پنی‌سیلین‌ها، واسطه ایجاد مقاومت به طیف وسیعی از سفالوسپورین‌ها (نسل سوم) مثل سفتازیدیم، سفوتاکسیم، سفتریاکسون و مونوباکتام‌ها مثل آزترئونام محسوب می‌شوند. عوامل بازدارنده بتالاکتامازها مانند کلاولانیک اسید، سولباکتام و تازوباکتام اثر بازدارندگی بر عملکرد این آنزیم‌ها دارند (۱۵، ۱۶).

مطالعه‌ای برای بررسی مقاومت به سفالوسپورین‌ها در *اشریشیاکلی* و سالمونلا انتریکا جداسازی شده از جوجه‌های گوشتی انجام شد. در این بررسی تمام *سالمونلا انتریکا* (۱۰۰ درصد) مقاوم به آمپی‌سیلین و سفازولین و ۷۸/۹ درصد مقاوم به سفتازیدیم بودند و در *اشریشیاکلی* مولد ESBL، همگی آنها مقاوم به سفتازیدیم و ۶۵/۲ درصد نسبت به سفوکسیتین مقاومت نشان دادند (۱۷).

در مطالعه حاضر از ۶۰ نمونه سواب کلواکی از جوجه‌های گوشتی تهیه شد و در ۵۰ نمونه آن باکتری *اشریشیاکلی* یافت شد. از این ۵۰ نمونه در ۱۲ نمونه (۲۴ درصد) آن ژن bla_{SHV} شناسایی گردید. ولی در هیچ‌کدام از نمونه‌ها ژن bla_{OXA} وجود نداشت. لازم به ذکر است که در این تحقیق بتالاکتامازهای نوع SHV، (۹) و OXA، (زیرگروه (OXA-2) (۸) در *اشریشیاکلی* جداسازی شده از جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفته است.

با توجه به مطالعات زیادی که در سرتاسر دنیا انجام گرفته و همچنین نتایج به‌دست آمده از این مطالعه، می‌توان نتیجه گرفت ژن bla_{OXA} بیشتر در نمونه‌های انسانی یافت می‌شود و در نمونه‌های طیور شیوع کمی به نسبت سایر بتالاکتامازها دارد.

در مطالعه دیگری، شیوع *اشریشیاکلی* و *سالمونلا* و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها در جوجه‌های گوشتی، خوک‌ها، سگ‌ها و کارگران در یک فارم مورد بررسی قرار گرفت. به‌طور کلی در همه‌ی حیوانات و کارگران شیوع *اشریشیاکلی* بین ۵۱ تا ۵۳ درصد بود. شیوع *اشریشیاکلی* در جوجه‌های گوشتی بین ۳۶/۸ تا ۴۷/۶ درصد بود و میزان مقاومت آن به آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون، سفتیزوکسیم، انروفلوکساسین، آمپی‌سیلین و اکسی‌تتراسایکلین به‌ترتیب ۱/۵، ۲/۴، ۲۸/۷، ۶۱/۶ و ۹۱/۵ درصد بود (۱۸).

در مطالعه حاضر نتایج آنتی‌بیوگرام جدایه‌های *اشریشیاکلی* جداسازی شده از نمونه‌های جوجه‌های گوشتی بر حسب درصد مقاومت به‌ترتیب: سفازولین (۸۰ درصد)، سفتازیدیم (۳۶ درصد)، سفالوتین (۱۲ درصد)، سفیکسیم (۱۸ درصد)، سفتیزوکسیم (۱۰ درصد)، سفتریاکسون (۸ درصد) است. نتایج این مطالعه و همچنین سایر مطالعات نشان‌دهنده این است که استفاده از سفالوسپورین‌ها به‌خصوص سفالوسپورین‌های قدیمی‌تر (مانند نسل اول) مثل سفازولین و تا حدودی سفالوتین کارایی لازم را برای درمان عفونت‌های *اشریشیاکلی* ندارند و باکتری‌ها نسبت به آنها مقاومت پیدا کرده‌اند. دلیل آن احتمالاً استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها در طول سالیان متمادی و گذشته می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از همکاری کارشناسان آزمایشگاه میکروب‌شناسی و ژنتیک دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل نهایت قدردانی و تشکر را دارند. شماره گرنت: UOZ-GR-7846.

References

1- Swayne DE, Glisson JR, Jackwood MW, Pearson JE, Reed WM. A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens; 4th Ed.; American Association of Avian Pathologists, University of Pennsylvania, Kennett Square. 1998, pp: 14-16.

2- Fotadar U, Zaveloff P, Terracio L. Growth of Escherichia coli at elevated temperatures. *J*

Basic Microbial. 2005; 45(5): 403-404.

3- Rajesh C, Rao VDP, Gomez-Villamandos JC, Shukla SK, Banerjee PS. Diseases of poultry and their control. First edition. International Book Distributing Company; 2001.

4- Shahbazi P, Jahantigh M, Salari S. Antibiotial resistance pattern and prevalence of some extende-spectrum beta-lactamase genes in *Escherichia coli* isolated from turkey. *Vet Res Biol Prod.* 2018; 15: 647-679. [In Persian]

5- Jahantigh M, Dizaji RE. Antimicrobial drug resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from chickens farms with colibacillosis infection. *Open J Med Microbiol.* 2015; 5: 159-162. [In Persian]

6- Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJC, Leonar FC. Veterinary Microbiology and Microbial disease. USA: Wiley-Blackwell. 2002.

7- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. CLSI document M100-S21. In. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.

8- Aria M, Farajnia S, Ahadi Khosroshahi S, Naghilli B, Farajnia H, Sanjari A, *et al*. OXA-10 and OXA-2 ESBLs among multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from North West of Iran. *Progress Biolog Sciences*. 2017(7): 191-197. [In Persian]

9- Sadat Seyedjavadi S, Goudarzi M, Sabzehali F. Relation between bla_{TEM}, bla_{SHV} and bla_{CTX-M} genes and acute urinary tract infections. *J Acute Dis*. 2016(1): 71-76. [In Persian]

10- AL-Jasser, AM. Extended-Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs): A Global problem. *Kuwait Med J*. 2006; 38(3): 171-185.

11- Bahmani N, Rsmazanzadeh R. Detection of SHV type extended-spectrum B-lactamase and risk factors in Pseudomonas aeruginosa clinical isolates. *Pak J Med Sci*. 2013(29): 788-792. [In Persian]

12- Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Euro Surveill*. 2008; 13: 19–29.

13- Machado E, Coque TM, Canton R, Sousa JC, Peixe L. Antibiotic resistance integrons and extended-spectrum β-lactamases among *Enterobacteriaceae* isolates recovered from chickens and swine in Portugal. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 62: 296–302.

14- Samaha-Kfoury JN, Araj GF. Recent development in β-lactamase and extended spectrum β-lactamases. *BMJ*. 2003; 327: 1209-1213.

15- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and itc correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 1995; 39(6): 1211-1233.

16- AL-Zahrani AJ, Akhtar N. Susceptibility patterns of extended spectrum β-lactamases (ESBL) producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in a teaching hospital. *Pakistan J Med Res.* 2005; 44(2): 64-67.

17- Shahada F, Chuma T, Kosugi G, Kusumoto M, Iwata T, Akiba M. Resistance determinants in *Salmonella entrica* and *Escherichia coli* isolated from broilers in southern Japan. *Poultry science.* 2013; 92(6): 1641-1649.

18- Hanson R, Kaneene J, Padungtod P, Hirokawa K, Zeno C. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* in a Farm in Thailand. *Population Medicine Center*. 2014. 23(5): 142-156.

New Findings in Veterinary Medicine
Homepage: nfvm.uoz.ac.ir
Semiannual - Print ISSN: 2645-4491 Online ISSN: 2676-5004

Volume 7, Issue 1, Spring & Summer 2024, pages: 1-8

Drug resistance and frequency of beta-lactamases genes of bla_{SHV} and bla_{OXA} of *Escherichia coli* isolated from broiler chickens

Hossein Noori[1], Mohammad Jahantigh[2]*

1- Graduated student, faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
2- Professor, Department of Clinical Sciences, faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.

Receive: April 26, 2023; Revise: June 10, 2023; Accept: July 6, 2023

10.22034/NFVM.2023. 393796.1185

Summary

Escherichia coli is one of the most common pathogens in poultry that causes Colibasilosis. Until now many Extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) were identified that we can refer to SHV and OXA that they are coded by bla_{SHV} and bla_{OXA}, respectively. Regarding the development of antibiotics resistance and harmful effects of resistant bacteria on beta-lactam antibiotics, they can have an effect on human health and animal health, and due to the high mortality rate of disease, reducing production, as well as damage caused by drug use, it's very important to control and prevention this disease. In the present study, 50 isolates of *Escherichia coli* were collected from 60 cloacal swabs from broiler chicken farms between 7 to 21 days old in Zabol. Antibiogram test was performed by disk diffusion method to investigate drug resistance to Ceftriaxon, Cefazolin, Ceftizoxime, Cephalothin, Ceftazidime and Cefixime. Besides, the frequency of bla_{SHV} and bla_{OXA} were investigated by PCR. The results showed that the highest resistance was to Cefazolin (80%) and the lowest resistance was to Ceftriaxon (8%). The frequency of bla_{SHV} and bla_{OXA} genes in *Escherichia coli* isolates was 24% and 0.0%, respectively.

Keywords: *Escherichia coli, Drug resistance, ESBLs,* bla_{SHV}, bla_{OXA}