

الگوی مقاومت دارویی و محتوی پلاسمیدی جدایه‌های *Escherichia coli* از موارد کلی باسیلوز طیور

دکتر پیام حقیقی خوشخو^۱ دکتر سید مصطفی پیغمبری^{*}

دریافت مقاله: ۱۸ فروردین ماه ۱۳۸۳
پذیرش نهایی: ۱۷ آبان ماه ۱۳۸۴

Drug resistance patterns and plasmid profiles of *Escherichia coli* isolated from cases of avian colibacillosis

Khoshkhoo, P.H.¹, Peighambari, S.M.¹

¹Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.

Objective: Determine the antimicrobial susceptibility and plasmid profiles of the *Escherichia coli* isolates from avian colibacillosis.

Design: Exploratory study.

Samples: One-hundred and fifty *Escherichia coli* isolates from broiler's pericarditis lesions (5 samples from each of 30 farms).

Procedure: Determine resistance to 20 antibacterial drugs and also determine plasmid profiles among *E. coli* isolates.

Results: All isolates were susceptible to ceftiofur and gentamicin. The percentages of isolates that were resistant to the other 18 antibacterial agents were as follows: nalidixic acid, 98.7; erythromycin, 97.3; ampicilin, 96.7; colistin, 96.7; tetracycline, 94; flumequine, 92; oxytetracycline, 90.7; difloxacin, 84; nitrofurantoin, 81.3; forazolidone, 79.3; sulfamethoxazol & trimethoprim, 72.6; enrofloxacin, 66; lincospectin, 64.7; norfloxacin, 52.7; neomycin, 52; chloramphenicol, 46.7; ciprofloxacin, 44; and streptomycin, 26.7. There were 82 resistance patterns among the isolates to 10 most commonly used drugs in poultry industry. Eighty-six isolates (57.2 %) belonged to more than one pattern, whereas the remaining 64 isolates (42.7%), each belonged to one pattern only. Plasmid profiles revealed 62 patterns in which molecular weights of the plasmid species ranged between 1- >68 Kb. No plasmid bands were found in 12 isolates.

Conclusion: Neither drug resistance pattern, nor plasmid profile could be used as a marker of avian colibacillosis *E. coli* but plasmid profiles and drug resistance pattern were useful in distinguishing among isolates from the same farm. *J.Fac.Vet.Med.Univ.Tehran. 60,2:97-105,2005.*

Keywords: *Escherichia coli*, Drug resistance, Plasmid profile, Colibacillosis, broilers

Corresponding author's email: mpeigam@ut.ac.ir

گونه‌های اهلی پرندگان موجب عفونت‌های غیرگوارشی عمومی و یا موضعی می‌شود که متعاقب آسیب دیدگی یا درهم شکستن سد دفاعی پرنده وقوع می‌یابد (۱۷). غالباً جدایه‌های *E. coli* پاتوژن طیور متعلق به گروه‌های سرمی O2، O1 و O78 می‌باشند (۴، ۵).

هدف: تعیین میزان مقاومت به ترکیبات آنتی‌باکتریال و الگوی محتوی پلاسمیدی در جدایه‌های *Escherichia coli* از موارد کلی باسیلوز طیور.

طرح: بررسی توصیفی.

نمونه‌ها: تعداد ۱۵۰ جدایه *E. coli* از جراحات پریکاردیت جوجه‌های گوشتی تلف شده از بیماری کلی باسیلوز (با توزیع ۵ نمونه از هر مرغداری).

روش: حساسیت هر کدام از ۱۵۰ جدایه نسبت به ۲۰ ترکیب آنتی‌باکتریال تعیین گردید. همچنین محتوی پلاسمیدی تعداد ۱۰۰ جدایه *E. coli* از ۲۰ مرغداری (با توزیع ۵ نمونه از هر مرغداری) نیز مشخص شد.

نتایج: همه جدایه‌ها حساس به سفتیوفور و جنتامایسین بودند و درصد وقوع مقاومت به دیگر ۱۸ ترکیب آنتی‌باکتریال در بین جدایه‌ها به ترتیب عبارت بود از: نالیدیکسیک اسید، ۹۸/۷؛ اریترومایسین، ۹۷/۳؛ آمپی‌سیلین، ۹۶/۷؛ کلیستین، ۹۶/۷؛ تتراسیکلین، ۹۴؛ فلومکوئین، ۹۲؛ اکسی تتراسیکلین، ۹۰/۷؛ دیفلوکساسین، ۸۴؛ نیتروفورانتوئین، ۸۱/۳؛ فورازولیدون، ۷۹/۳؛ سولفامتوکسازول + تری متوپریم، ۷۲/۶؛ انروفلوکساسین، ۶۶؛ لینکواسپکتین، ۶۴/۷؛ نورفلوکساسین، ۵۲/۷؛ نئومایسین، ۵۲؛ کلرامفنیکل، ۴۶/۷؛ سیپروفلوکساسین، ۴۴؛ و استرپتومایسین، ۲۶/۷. نسبت به ۱۰ ترکیب آنتی‌باکتریال رایج در صنعت طیور ۸۲ الگوی مقاومت شناسایی شد که ۸۶ جدایه (۵۷/۲ درصد) به بیش از یک الگو و ۶۴ جدایه (۴۲/۷ درصد) هر کدام فقط به یک الگو تعلق داشتند. محتوی پلاسمیدی ۱۰۰ جدایه مورد بررسی نیز در محدوده وزن ملکولی یک تا بیش از ۶۸ Kb، ۶۲ الگورا تشکیل دادند. ۱۲ درصد جدایه‌ها نیز فاقد پلاسمید بودند.

نتیجه‌گیری: هر چند محتوی پلاسمیدی و الگوی مقاومت دارویی برای تمایز اشریشیاکلی‌های جدا شده از یک مزرعه مفید بود ولیکن الگوی مقاومت دارویی و محتوی پلاسمیدی، هیچ‌کدام به‌عنوان نشانگر *E. coli* کلی باسیلوز طیور قابل استفاده نبودند. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۴، دوره ۶۰، شماره ۲، ۹۷-۱۰۵. واژه‌های کلیدی: اشریشیاکلی، کلی باسیلوز، مقاومت دارویی، پلاسمید، جوجه گوشتی.

اشریشیاکلی (*Escherichia coli*) جزء فلور طبیعی روده انسان، پستانداران و پرندگان است. عموماً *E. coli* یک پاتوژن فرصت طلب به‌شمار می‌رود که در پی سرکوب سیستم ایمنی میزبان و وقوع بیماری اولیه و ویروسی و میکروبی دستگاه تنفس به‌طور ثانویه بروز می‌کند (۳۰، ۴۰). غالباً *E. coli* در انسان و پستانداران مسئول عفونت‌های گوارشی است، در حالی که در

۱) گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

* نویسنده مسؤول: mpeigam@ut.ac.ir



استفاده شد. این کیت آزمایشات تشخیصی زیر را در برداشت: تولید اندول، تخمیر گلوکز، تولید سولفید هیدروژن، مصرف سیترات، دکربوکسیلاسیون ارنیتین، دکربوکسیلاسیون لیزین، تولید اوره، دامینازاسیون فنیل آلانین، تولید بتا گالاکتوزیداز در آزمون ONPG، واکنش متیل رد و واکنش ووز - پروسکوئر. به منظور استفاده بعدی، *E. coli* جدا شده با استفاده از روشهای معمول در نوترینت برات (Merck) کشت شده و به همراه محلول گلیسرول ۵۰ درصد (Merck) در فریژر ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند (۲۷).

مقاومت دارویی (Drug Resistance): برای تعیین حساسیت ۱۵۰ جدایه *Escherichia coli* نسبت به داروهای آنتی باکتریال روش دیسک دیفیوژن (Disk diffusion) بر اساس روش استاندارد Kirby-Bauer و بر روی محیط آگاردار مولر هینتون (Merck) مورد استفاده قرار گرفت (۲۵). بیست عامل آنتی باکتریال مورد آزمایش و غلظت بالقوه آنها (بر حسب میکروگرم) عبارت بودند از: آمپی سیلین (۱۰)، سفتیفور (۳۰)، کلرامفنیکل (۳۰)، سیپروفلوکساسین (۵)، کلیستین (۱۰)، دیفلوکساسین (۱۰)، انزوفلوکساسین (۵)، اریترومایسین (۱۵)، فلومکوئین (۳۰). فورازولیدون (۱۰۰)، جنتامیسین (۱۰)، لینکوساپکتین (۲۰۰/۱۵)، نالیدیکسیک اسید (۳۰)، نئومایسین (۳۰)، نیترو فورانتوئین (۳۰۰)، نورفلوکساسین (۱۰)، اکسی تتراسیکلین (۳۰)، استرپتومایسین (۱۰)، سولفامتوکسازول + تری متوپریم (۱۲۵/۲۳۷۵) و تتراسیکلین (۳۰). دیسکهای دیفلوکساسین از BBL (USA) و بقیه از شرکت پادتن طب (ایران) تهیه شدند.

آزمایش برای هر کدام یک از ۱۵۰ جدایه به شرح ذیل انجام شد. ابتدا *E. coli* برداشت شده از محیط ذخیره TSA بر روی محیط مکانکی کشت خطی داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. سپس ۴ تا ۵ کلنی تک *E. coli* از محیط مکانکی برداشت شده و به یک لوله آزمایش استریل در بدار حاوی ۴ تا ۵ میلی لیتر محیط مایع تربیتون سوی برات (Diagnostic, UK) (TSB, Antec) انتقال داده شد. محیط مایع تلقیح شده معمولاً به مدت ۲ تا ۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد تا مشاهده یک کدورت واضح و قابل قبول و منطبق با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند (0.5 turbidity standard) (McFarland) انکوبه گردید. سپس یک سوآپ استریل را به درون این سوپانسیون باکتریایی نموده مایع اضافی سوآپ را با فشار و چرخاندن به جداره داخلی لوله حاوی سوپانسیون باکتریایی گرفته و بعد سوآپ به صورت خطی و بدون فاصله بین خطوط کشت بر روی سطح محیط مولر هینتون که ۲۰ دقیقه قبل از استفاده از یخچال خارج گردیده بود، کشت داده شد. به منظور تلقیح یکنواخت کشت خطی سه مرتبه انجام شد، بدین نحو که هر مرتبه پلیت حاوی محیط کشت به میزان ۶۰ درجه نسبت به دفعه قبل چرخانده شده و مجدداً سوآپ بر روی آن به صورت خطی کشیده شد. در نهایت سوآپ را به لبه داخلی پلیت و در تماس با سطح محیط کشت چسبانده و یک دور کامل چرخانده شد. پلیتهای تلقیح شده به مدت ۳ تا ۵ دقیقه به همان حال باقی ماندند تا رطوبت اضافی قبل از گذاشتن دیسکهای آنتی بیوگرام توسط آگار جذب شود. بعد دیسکهای مورد آزمایش را که یک ساعت قبل به منظور رسیدن به درجه حرارت آزمایشگاه از

کلی باسیلوز در تمام گونه‌های پرندگان اهلی و در سنین مختلف بروز می‌کند اما عفونت در پرندگان جوان شایعتر از بالغین است و بیشتر در سنین ۴ تا ۹ هفتگی رخ می‌دهد. از علائم بارز بالینی این بیماری ناراحتی تنفسی، تلفات کمتر از ۵ درصد و شیوع بیش از ۵۰ درصد همراه با یافته کالبدگشایی به صورت پلی سرویت است (۵،۴۰). عفونت‌های حاصل از *E. coli* صدمات اقتصادی قابل توجهی را سالیان به صنعت طیور تحمیل می‌کنند. این کاهش سودآوری می‌تواند تمام مراحل تولید از جوجه‌کشی گرفته تا فرآوری کشتارگاهی را در برگیرد. ارزیابی دقیق خسارات اقتصادی مرتبط با اشکال مختلف عفونت‌های *E. coli* مشکل است چرا که تفاوت در حدت جدایه‌های مختلف *E. coli* و تعامل آنها با پاتوژنهای دیگر و عوامل استرسزای محیطی در این میان تأثیرگذار هستند (۵،۹،۳۰،۳۱،۴۰). به دلیل فقدان یک واکنش تجارتي مؤثر جهت کنترل کلی باسیلوز طیور، امروزه مقابله با این بیماری بیشتر متکی بر استفاده از ترکیبات آنتی باکتریال می‌باشد. با این وجود امروزه افزایش مقاومت نسبت به این ترکیبات دارویی، درمان این بیماری را با مشکل مواجه نموده است (۱۸).

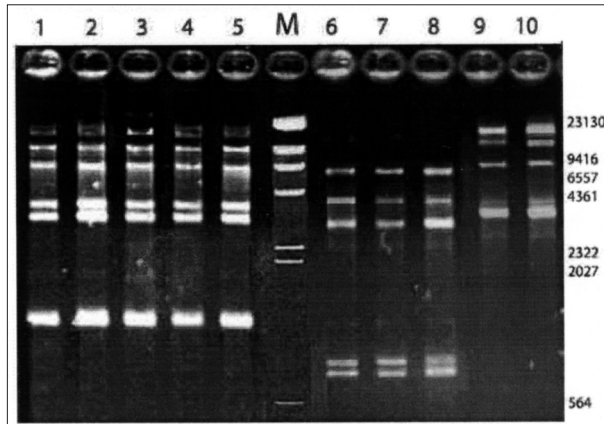
هدف از این مطالعه ارزیابی فراوانی مقاومت جدایه‌های *E. coli* کلی باسیلوز طیور نسبت به ترکیبات آنتی باکتریال مختلف و شناسایی الگوی محتوی پلاسמידی در این جدایه‌ها بود و اینکه آیا امکان استفاده از الگوی مقاومت دارویی و محتوی پلاسמידی به عنوان نشانگرهای اپیدمیولوژیک در سویه‌های *E. coli* پاتوژن طیور وجود دارد.

مواد و روش کار

نمونه برداری: در طی مدت ۴ ماه به هنگام اخذ تاربخچه بیماری، ۳۰ واحد صنعتی پرورش جوجه گوشتی استان تهران از بین مجموع مراجعین بیمارستان آموزشی و پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که احتمال درگیری آنها به بیماری کلی باسیلوز می‌رفت، شناسایی شدند. سپس تلفات تازه این مرغدارها مورد کالبدگشایی قرار گرفت و پس از تأیید بیماری کلی باسیلوز، از آنها نمونه برداری به عمل آمد. اساس نمونه برداری بدین شرح بود که هنگام کالبدگشایی قلب مبتلا به عارضه پریکاردیت از بین مجموع تلفات هر مرغداری در داخل یک پتری دیش استریل جمع‌آوری شدند و به منظور کشت باکتریایی سریعاً به آزمایشگاه میکروبی شناسی بخش بیماریهای طیور دانشکده انتقال یافتند. بدین منوال ۱۵۰ نمونه (با توزیع ۵ نمونه از هر مرغداری) به منظور جداسازی عامل مسبب پریکاردیت جمع‌آوری گردید.

کشت باکتری شناسی: در آزمایشگاه پس از سوزاندن سطح هر قلب پریکاردیتی توسط تیغ اسکالپل داغ توسط یک آنس پلاتین استریل از منطقه داغ شده و از خون قلب اقدام به اخذ نمونه شد و با استفاده از روشهای استاندارد کشت باکتریولوژی یک انجام و *Escherichia coli* لاکتوز مثبت دارای کلنی صاف (مورفولوژی نوع غالب بر روی پلیت مکانکی) جدا گردید (۲۵). جهت تأیید قطعی هویت *E. coli* و تفریق آن از سایر باکتری‌ها از کیت تشخیصی میکروبی آنتروباکتر یاسه (شرکت ایران دارو) که ۱۱ آزمایش تشخیصی را در برمی‌گرفت،





تصویر ۲- الگوی محتوی پلاسمیدی جدایه‌های اشریشیاکلی از موارد کلی باسیلوز مرغداری در الکتروفورز آگار ژل. ستون‌های ۵- الگوی محتوی پلاسمیدی کاملاً مشابه را در ۵ جدایه از مرغداری اول و ستون‌های ۱۰- الگوی محتوی پلاسمیدی بصورت تشابه ۲+۳ را در ۵ جدایه از مرغداری دوم را نشان می‌دهد. وزن ملکولی باندهای مارکر بر حسب bp در کنار تصویر درج شده است.

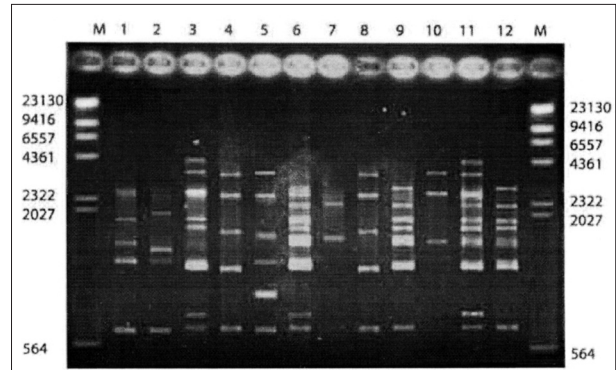
حاوی آب مقطر جهت شستشو قرار داده شد. باندهای DNA روی ژل، بلافاصله، با استفاده از نور ماوراء بنفش ترانس ایلومیناتور و دوربین عکسبرداری از ژل (Visi-Doc-It system; UVP, UK) مشاهده و تصویربرداری شدند. برای تعیین وزن ملکولی پلاسمیدها از نرم‌افزار کامپیوتری (State University Seqaid II (Ver.3.5, Kansas) استفاده شد.

نتایج

به هنگام کالبدگشایی در تمام ۱۵۰ لاشه انتخابی از تلفات ۳۰ مرغداری صنعتی پرورش جوجه گوشتی، پریکار دیت به وضوح دیده شد. ضایعه پریکار دیت در لاشه‌های فوق از یک کدورت کیسه پریکار دیوم تا تجمع اکسودای فیبرینی درون آن و حتی در برخی موارد تا بروز چسبندگی بین پریکار دیوم و میوکارد دیوم قابل رؤیت بود. در اکثریت قریب به اتفاق تلفات کالبدگشایی شده، به همراه پریکار دیت، پری هیپاتیت و در برخی موارد تورم کیسه‌های هوایی و پریتونیت خفیف تا شدید مشاهده شدند. سن همه گله‌های مورد بررسی به هنگام نمونه برداری مابین ۳ تا ۷ هفتگی بود.

در مطالعه باکتری شناسی، باکتری غالب در مورد هر ۱۵۰ نمونه پریکار دیت بر روی محیط مک‌کانکی *E. coli* لاکتوز مثبت بود. نتایج تعیین بیوتیپ در قالب ۱۱ آزمون برای تمام ۱۵۰ نمونه *E. coli* که توسط یک کیت تجارتي تشخیص تفریقی میکروبیهای آنتر و باکتریاسه انجام گردید، یکسان بود.

تمام ۱۵۰ جدایه *E. coli* به سفیتیوفور و جنتامایسین حساس بودند در حالی که به چهار آنتی باکتریال کلیستین، آمپی سیلین، اریترومایسین و نالیدیکسیک اسید مقاومت دارویی بالای ۹۶ درصد نشان دادند. مقاومت این جدایه‌ها به سایر آنتی باکتریال‌ها بین ۲۶ تا ۹۴ درصد متغیر بود (جدول ۱). در بین جدایه‌های مقاوم، وقوع مقاومت چندگانه بسیار شایع بود به طوری که ۱۰۰ درصد آنها حداقل به ۴ ترکیب و ۷۰ درصد آنها حداقل به ۱۷ ترکیب از مجموع ۲۰ آنتی باکتریال مورد آزمایش مقاوم بودند (جدول ۲). چگونگی حساسیت جدایه‌های *E. coli* در این



تصویر ۱- باندهای پلاسمیدی در ۱۲ جدایه اشریشیاکلی انتخاب شده از موارد کلی باسیلوز طیور در الکتروفورز آگار ژل. دامنه گسترده تعداد و وزن ملکولی پلاسمیدهای جدایه‌های اشریشیاکلی از موارد کلی باسیلوز طیور به وضوح در تصویر قابل مشاهده می‌باشد. وزن ملکولی باندهای مارکر بر حسب bp در کنار تصویر درج شده است.

یخچال خارج شده بودند توسط پنس استریل بر روی سطح محیط مولر هینتون تلقیح شده قرار داده شدند. به منظور رعایت فاصله بین دیسکها بر روی محیط کشت به میزان ۲۴ میلی‌متر از همدیگر و ۱۵ میلی‌متر از جدار پلیت فقط ۶ دیسک بر روی یک پلیت ۹۰ میلی‌متری گذاشته شد. ظرف مدت ۱۵ دقیقه پس از دیسک گذاری پلیت جمع آوری شده و در وضعیت وارونه و به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت در ۳۵ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. بعد از این مدت برای قرائت نتیجه آزمایش از چشم غیر مسلح و در حضور نور متمرکز، قطر هاله ممانعت شونده از رشد هر آنتی باکتریال بر حسب میلی‌متر توسط خطکش اندازه گیری شد و با مقایسه با جدول تفسیر قطر هاله ممانعت شونده بر اساس حساس (Susceptible) و مقاوم (Resistance) طبقه بندی شدند.

تعیین الگوی محتوی پلاسمیدی (Plasmid profile): در این تحقیق از کیت High Pure Plasmid (Roche Molecular Biochemicals, Switzerland) به منظور استخراج و پالایش پلاسمید DNA خالص ۱۰۰ جدایه *E. coli* استفاده شد. اساس کار این کیت، استخراج DNA پلاسمیدی به روش Alkaline lysis بود (۲۷). الکتروفورز پلاسمید DNA خالص هم به روش توصیه شده (Sambrook and Russell 2001) انجام شد. اساس این روش استفاده از آگاروز ۰/۸ درصد حل شده در ۱x TAE (Tris Acetate-EDTA) است. مخلوط ۸ میکرو لیتر DNA پلاسمیدی استخراج شده از هر جدایه *E. coli* مورد بررسی با ۴ میکرو لیتر Gel-loading buffer به داخل هر گوده ژل افزوده شد. این بافر مرکب از ۲۵/۲۵ گرم بروموفنل بلو و ۴ گرم ساکاروز در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر بود. جهت تعیین وزن ملکولی پلاسمیدهای جدایه‌های مورد آزمایش بر روی هر ژل از مارکر DNA MW Marker II (Roche Molecular Biochemicals) و پلاسمید ۶۸Kb استخراج شده از سویه MK11 (گنجینه میکروبی بخش بیماریهای طیور) استفاده شد. نحوه آماده سازی مارکر تجاری بر اساس توصیه کارخانه سازنده صورت گرفت. با استفاده از دستگاه ژل الکتروفورز (Applex, France) و بافر ۱x TAE جریانی به ظرفیت ۱۰۰ ولت به مدت ۴۵ دقیقه از ژل عبور داده شد. سپس ژل به مدت ۲۰ دقیقه در ظرف حاوی محلول اتید دیوم بروماید (10 mg/ml) (سینازن) جهت رنگ آمیزی و بعد به مدت ۱۰ دقیقه در ظرف



جدول ۲- مقاومت چندگانه جدایه های *Escherichia coli* از موارد کلی باسیلوز طیور به ترکیبات آنتی باکتریال از مجموع ۲۰ ترکیب.

درصد جدایه های مقاوم	تعداد ترکیبات آنتی باکتریال
۱۰۰	۱
۱۰۰	۱<
۱۰۰	۲<
۱۰۰	۳<
۱۰۰	۴<
۹۹/۳	۵<
۹۳/۳	۶<
۹۰	۷<
۸۷/۳	۸<
۸۶/۷	۹<
۸۲/۷	۱۰<
۷۵/۳	۱۱<
۶۶	۱۲<
۵۵/۳	۱۳<
۳۶/۷	۱۴<
۱۸	۱۵<
۹/۳	۱۶<
۰/۷	۱۷<
صفر	۱۸<

جدول ۳- الگوی مقاومت دارویی ۱۵۰ جدایه *Escherichia coli* از موارد کلی باسیلوز طیور نسبت به ۱۰ ترکیب آنتی باکتریال رایج در صنعت طیور ایران

شماره الگوی مقاومت دارویی	مقاوم به	درصد جدایه های متعلق به گوها
۱	Amp, Col, Tet, Flu, Fur, Sul, Enr, Lin, Neo, Chl	۱۱/۴
۲	همه بجز Chl	۹/۴
۳	همه بجز Neo	۸
۴	همه بجز Chl, Neo	۶
۵	همه بجز Enr	۴
۶	همه بجز Sul	۲/۸
۷	همه بجز Col	۱/۳
۸	همه بجز Col, Chl	۱/۳
۹	همه بجز Lin, Neo	۱/۳
۱۰	همه بجز Flu, Enr	۱/۳
۱۱	همه بجز Sul, Enr	۱/۳
۱۲	همه بجز Lin, Chl	۱/۳
۱۳	همه بجز Lin, Enr, Chl	۱/۳
۱۴	همه بجز Sul, Neo, Lin	۱/۳
۱۵	همه بجز Neo, Lin, Chl	۱/۳
۱۶	همه بجز Lin, Flu, Enr, Chl	۱/۳
۱۷	همه بجز Tet, Sul, Neo, Lin, Chl	۱/۳
۱۸	همه بجز Sul, Neo, Fur, Enr, Chl	۱/۳
۱۹-۸۲	متنوع	هر الگو ۰/۶
۴۲/۸		

Amp = آمپی سیلین، Col = کلیستین، Tet = تتراسیکلین، Flu = فلوکوئین، Fur = فورازولیدون، Enr = انروفلوکساسین، Sul = سولفامتوکسازول + تری متوپریم، Lin = لینکوسپکین، Neo = نئومایسین، Chl = کلرامفنیکل.

جدول ۱- درصد مقاومت دارویی ۱۵۰ جدایه *Escherichia coli* از موارد کلی باسیلوز طیور نسبت به ۲۰ ترکیب آنتی باکتریال.

ترکیبات آنتی باکتریال	% جدایه های E.coli مقاوم
نالیدیکسیک اسید	۹۸/۷
اریترومایسین	۹۷/۳
آمپی سیلین	۹۶/۷
کلیستین	۹۶/۷
تتراسیکلین	۹۴
فلووکوئین	۹۲
اکسی تتراسیکین	۹۰/۷
دیفلوکساسین	۸۴
نیترو فورانتوئین	۸۱/۳
فوزازولیدون	۷۹/۳
سولفامتوکسازول + تری متوپریم	۷۲/۶
انروفلوکساسین	۶۶
لینکوسپکین	۶۴/۷
نورفلوکساسین	۵۲/۷
نئومایسین	۵۲
کلرامفنیکل	۴۶/۷
سیپروفلوکساسین	۴۴
استرپتومایسین	۲۶/۷
جنتامایسین	صفر
سفتیوفور	صفر

مطالعه نسبت به ۱۰ آنتی بیوتیک مصرفی شایع در صنعت طیور ایران مؤید و جود ۸۲ الگوی مقاومت دارویی است. جدول ۳ نشان می دهد که ۵۷/۲ درصد جدایه ها در ۱۸ الگوی مقاومت دارویی (بیش از یک جدایه در هر الگو) و ۴۲/۸ درصد جدایه ها در ۶۴ الگوی مقاومت دارویی (یک جدایه در هر الگو) قرار گرفتند. حداکثر درصدی از جدایه ها که به یک الگو متعلق بودند برابر با ۱۱/۴ بود. مقایسه الگوی مقاومت دارویی ۵ جدایه *E. coli* جمع آوری شده از هر مرغداری مشخص نمود که مابین الگوی مقاومت دارویی جدایه های ۲۳ مرغداری (۷۷/۷ درصد) تشابهاتی وجود داشت اما ۷ مرغداری باقیمانده (۲۳/۳ درصد) هیچ گونه تشابهی در الگوی مقاومت دارویی جدایه های خود نداشتند. فقط در ۱۰ درصد مرغداری ها هر پنج جدایه *E. coli* از یک مرغداری دارای الگوی مقاومت دارویی مشابه بودند (جدول ۴).

وزن ملکولی پلاسمید ۱۰۰ جدایه مورد بررسی بین ۱ تا بیش از ۶۸ Kb بود و براساس همین اوزان ملکولی، محتوی پلاسمیدی این جدایه ها در ۶۲ الگو قرار گرفت. جدول ۵ طیف متنوع تعداد پلاسمیدهای جدایه ها را که از صفر تا ۱۱ متغیر بود، نشان می دهد. فقط ۳۳ درصد جدایه ها حاوی یک یا بیشتر از یک پلاسمید بزرگ (>۳۰ Kb) بودند. در ۲۰ درصد مرغداری ها هیچ گونه تشابهی در محتوی پلاسمیدی ۵ جدایه *E. coli* از همان مرغداری وجود نداشت، در حالی که محتوی پلاسمیدی جدایه ها در ۸۰ درصد مرغداری ها حداقل در دو و حداکثر در ۵ مورد



جدول ۴- میزان تشابه در الگوهای مقاومت دارویی بین پنج جدایه *Escherichia coli* جدا شده از هر واحد مرغداری.

تعداد جدایه های E.coli با الگوی مقاومت دارویی مشابه	درصد مرغداری ها
۵	۱۰
۴	۱۶/۷
۳+۲	۱۰
۳	۳/۳
۲+۲	۱۰
۲	۲۶/۷
صفر	۲۳/۳

جدول ۵- درصد پراکندگی تعداد پلاسمیدها در بین ۱۰۰ جدایه *Escherichia coli* از موارد کلی باسیلوز طیور

درصد جدایه های حاوی پلاسمید	تعداد پلاسمید
۱۲	۰
۱	۱
۱۱	۲
۸	۳
۱۲	۴
۱۱	۵
۱۷	۶
۱۱	۷
۹	۸
۶	۹
۱	۱۰
۱	۱۱

جدول ۶- میزان تشابه در الگوی محتوی پلاسمیدی پنج جدایه *Escherichia coli* از هر واحد مرغداری

تعداد جدایه های E.coli با محتوی پلاسمیدی یکسان	درصد مرغداری ها
۵	۵
۳+۲	۱۰
۳	۱۰
۲+۲	۱۰
۲	۴۵
صفر	۲۰

یکسان بودند (جدول ۶). تنوع در تعداد پلاسمیدها در بین ایزوله ها و همچنین دو الگوی متفاوت پلاسمیدی متعلق به دو فارم در تصاویر ۱ و ۲ نشان داده شده است.

بحث

کلی باسیلوز طیور از نقطه نظر اقتصادی یکی از مهمترین بیماریهای صنعت طیور در ایران و جهان است. اشریشیاکلی، عامل ایجاد کننده کلی باسیلوز، به دلیل دارا بودن خصوصیات گوناگون قادر است به بدن پرنده وارد شده و ایجاد بیماری نماید (۳۷، ۳۶، ۲۴، ۲۰، ۱۷، ۱۲، ۵). مقاومت اشریشیاکلی طیور نسبت به ترکیبات آنتی باکتریال مورد استفاده در صنعت طیور یکی از علل مهم بقای

باکتری در محیط و گسترش بیماری در گله های طیور می باشد. الگوی مقاومت در همه جای یکسان نیست و در مناطق مختلف و مقاطع زمانی متفاوت حتی در یک ناحیه ممکن است متفاوت باشد که می تواند ناشی از تفاوت در نوع، میزان و تداوم مصرف آنتی باکتریال ها باشد (۲۷). گزارشات در رابطه با افزایش مقاومت ترکیبات آنتی باکتریال نسبت به *E. coli* پاتوژن طیور در حال افزایش و الگوی مقاومت دارویی نواحی مختلف جغرافیایی متنوع و در حال تغییر است (۱، ۳۳).

حساسیت ۱۰۱ جدایه *E. coli* با منشأ گاو و طیور جدا شده در بین سالهای ۱۹۸۹ تا ۱۹۹۶ نسبت به ۱۳ ترکیب آنتی باکتریال در الجزایر نشان داد که بدون توجه به منشأ، میزان مقاومت جدایه ها به تتراسیکلین و استرپتومایسین بالا، کلرامفنیکل، سولفامتوکسازول + تری متوپریم، فورازولیدون و آمپی سیلین متوسط و نالیدیکسیک اسید کم بود. همچنین همه جدایه های *E. coli* مورد بررسی به جنتامایسین و کلیستین حساس بودند (۲۱). مطالعه ای گذشته نگر در تربینداد بر روی عفونت های *E. coli* در جوجه های گوشتی در حد فاصل بین سالهای ۱۹۹۰ الی ۱۹۹۷ نشان داد که تقریباً بیش از ۵۰ درصد جدایه های *E. coli* به آنتی باکتریال از ۱۱ ترکیب مورد آزمایش مقاوم بودند. بیش از ۴۰ درصد جدایه ها به استرپتومایسین، سولفانامیدها، تتراسیکلین، سولفامتوکسازول + تری متوپریم، آموکسی سیلین، آمپی سیلین، آپرامایسین، جنتامایسین و نئومایسین مقاوم بودند ولی فقط ۱/۱۶ و ۹/۳۰ درصد جدایه ها به ترتیب به نورفلوکسازین و نیترو فورانتوئین مقاوم بودند (۱۸).

ارزیابی مقاومت آنتی باکتریال جدایه های *E. coli* طیور در استان کبک کانادا در فاصله زمانی ۱۹۹۳ الی ۱۹۹۹ نشان دهنده افزایش مقاومت این جدایه ها نسبت به آمپی سیلین، سفتیوفورون و فلوکسازین می باشد، در حالی که از میزان مقاومت به نئومایسین و تری متوپریم کاسته شده و تغییر اندکی در مقاومت نسبت به تتراسیکلین و جنتامایسین به وجود آمده است (۲۲). در بررسی ۱۵۸ جدایه *E. coli* از موارد کلی باسیلوز جوجه های گوشتی در مراکش نیز ملاحظه گردید که بیش از ۴۰ درصد جدایه ها به سولفامتوکسازول + تری متوپریم، اکسی تتراسیکلین و کلرامفنیکل مقاوم بودند. ۱۵ تا ۴۰ درصد آنها نیز به استرپتومایسین، نالیدیکسیک اسید، فلومکوئین و انرو فلوکسازین مقاوم داشتند و کمتر از ۱۵ درصد جدایه ها هم به آمپی سیلین، جنتامایسین، نیترو فوران و کلیسین مقاوم بودند (۳). تحقیقات بر روی *E. coli* جدا شده از طیور در ژاپن نیز نشان داد که جدایه های مورد بررسی بیشترین مقاومت را نسبت به سولفامتوکسازول + تری متوپریم و کمترین مقاومت را به جنتامایسین دارا بودند که علت آن نیز مصرف فراوان سولفامتاکسازول + تری متوپریم و استفاده محدود جنتامایسین در صنعت طیور این کشور ذکر شده است (۸).

در مطالعات اخیر در ایران، مقاومت ۵۰ جدایه *E. coli* از کلی باسیلوز طیور نسبت به سه ترکیب فلوروکینولونی فلومکوئین، انرو فلوکسازین و نورفلوکسازین به ترتیب ۵/۶۷، ۸/۳۴ و ۴/۲۰ درصد تعیین گردید (۲). در مطالعه ای دیگر بر روی ۱۶۴ جدایه *E. coli* از نمونه های مرضی جوجه های گوشتی بیشترین (۵/۹۴) و کمترین (۸/۴) درصد مقاومت به ترتیب به پنی سیلین و جنتامایسین گزارش شد (۱).



مطالعات بر روی پلاسمیدهای حامل ژن‌های مقاومت نشان داده است که آنها قادرند در دیگر باکتری‌های آن جنس و حتی در باکتری‌های جنس‌های دیگر تکثیر و ژن‌های مقاومت را بیان نمایند (۲۸). که این مسئله از نظر گسترش ژن‌های مقاومت میکروبی به بسیاری از باکتری‌ها از جمله پاتوژن‌های انسانی مهم است. گرچه باکتری‌های حیوانات ممکن است منبع بالقوه‌ای از پلاسمیدهای حامل ژن‌های مقاومت برای باکتری‌های انسانی باشند، اما اهمیت این خطر از نظر بعضی پژوهشگران در دورنما باید نگه داشته شود (۱۴، ۲۸). پژوهشگران بریتانیایی اخیراً نقش کاربرد آنتی‌باکتریال‌ها در حیوانات را در بروز مشکلات مقاومت دارویی در انسان کمتر از ۴ درصد ارزیابی نموده‌اند (۲۸).

ارتقاء سطح مدیریت بهداشتی واحدهای تولیدی، مقابله با بیماری‌های واگیر از طریق واکسن، نظارت منظم و مداوم بر مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و پایش مقاومت آنتی‌باکتریال در حیوانات خوراکی توسط مراکز ذیربط، استفاده از ترکیبات پروبیوتیک و برپایی برنامه‌های آموزشی برای تولیدکنندگان اقداماتی هستند که بی‌تردید در کاهش مقاومت به ترکیبات آنتی‌باکتریال مؤثرند (۷، ۱۹).

گرچه الگوی مقاومت دارویی می‌تواند نشانگر مفیدی برای جدایه‌های *E. coli* پاتوژن طيور یک منطقه به‌شمار رود اما به تنهایی به عنوان یک مارکر اپیدمیولوژیک نمی‌تواند ارزشمند باشد. تعیین پروفایل پلاسمیدی در این خصوص دقیق‌تر از تست مقاومت دارویی و کمک‌کننده‌تر می‌تواند باشد. محتوی پلاسمیدی ممکن است دلالت بر وقوع پلاسمیدهای حدت، یعنی پلاسمیدهایی که حامل ژن‌های فاکتورهای حدت می‌باشند، داشته باشد. Sekizaki و همکاران در ۱۹۸۹ (۲۹) کاهش حدت یک جدایه پاتوژن *E. coli* طيور را با حذف یک پلاسمید ۹۵Kb نشان دادند. همچنین انتقال یک پلاسمید ۱۰۰ مگادالتون به یک جدایه *E. coli* طيور باعث افزایش حدت باکتری‌گیرنده شد زیرا توانایی تولید اثر و باکترین و مقاومت سرمی را در آن القا نمود (۱۳). ژن *tsh* که پژوهشگران در کلو نیز اسیون اولیه *E. coli* در دستگاه تنفسی طيور برای آن نقشی قائل شده‌اند و بر روی پلاسمید Col V قرار دارد در یک بررسی در ۹۶ درصد جدایه‌های *E. coli* بیماری‌زای طيور شناسایی گردید. در حالی که جدایه‌های غیر بیماری‌زا (همزیست) *E. coli* طيور فاقد این ژن بودند (۱۲). مطالعات بعدی بر روی یک جدایه *E. coli* از سندرم کله‌بادی روشن نمود که ژن *tsh* قابل شناسایی بر روی سایر پلاسمیدها غیر از پلاسمید Col V نیز می‌باشد ضمن اینکه محرز گردید که پلاسمیدهای با وزن مولکولی بیش از ۶۰ مگادالتون هم‌حالی ژن‌های چسبندگی می‌باشند و احتمالاً نقش اولیه را در کلونیزاسیون جدایه‌های *E. coli* بیماری‌زای طيور در قسمت فوقانی دستگاه تنفس طيور دارا هستند. مشاهده شد که چنین پلاسمیدهایی حاوی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی و کلیسین نیز می‌باشند و قادرند از طریق مکانیسم‌های نوترکیبی همچون آمیخته‌گری (Conjugation) اقدام به معاوضه ژنی در بین جدایه‌های مختلف *E. coli* نمایند (۳۳).

فراوانی پلاسمیدها و نقش احتمالی آنها به عنوان یک مارکر اپیدمیولوژیک مورد بررسی محققین مختلف قرار گرفته است. Davies و همکاران در ۱۹۸۱، ۱۶ محتوی پلاسمیدی در ۲۰ جدایه *E. coli* کلی باسیلوز طيور را شناسایی نمودند. یک تاهشت پلاسمید در بین جدایه‌های مورد بررسی موجود بود که وزن ملکولی

افزایش قابل توجه در بروز مقاومت‌های چندگانه (Multiple resistance) جدایه‌های *E. coli* طيور به آنتی‌باکتریال‌ها نیز در دهه اخیر مورد توجه محققین قرار گرفته است (۲۳، ۲۱، ۱۶، ۱۵، ۷). در مطالعه حاضر طیف و میزان مقاومت جدایه‌ها به ترکیبات آنتی‌باکتریال گسترده و بالا بود، به نحوی که ۱۳۰ (۸۶/۲) درصد) جدایه مورد بررسی به ۱۰ و یا حتی تعداد بیشتری از مجموع ۲۰ آنتی‌باکتریال مورد آزمایش مقاوم بودند و همچنین تمام ۱۵۰ جدایه به ۹ ترکیب آنتی‌باکتریال نیز مقاومتی بالای ۸۰ درصد داشتند که بی‌تردید عمدتاً به دلیل مصرف فراوان و بی‌رویه این ترکیبات دارویی در قالب برنامه‌های درمانی، متافیلاکسی و پروفیلاکسی گله‌های طيور می‌باشد. حساسیت کامل جدایه‌ها در این مطالعه به سفتیوفور و جنتامایسین و درصد مقاومت پایین نسبت به استرپتومایسین ناشی از عدم مصرف یا استفاده محدود از این ترکیبات دارویی در عرصه پیشگیری و درمان گله‌های طيور است.

تنوع فراوان در الگوی مقاومت دارویی در بین ۱۵۰ جدایه مورد بررسی (۸۲) (الگو) و همچنین تنوع فراوان حتی در الگوی مقاومت دارویی جدایه‌های متعلق به یک واحد مرغداری، اتخاذ برنامه‌های درمانی بر علیه بیماری‌های باکتریایی حاضر در مرغداری‌ها را با مشکل مواجه می‌نماید. باید توجه داشت که الگوی مقاومت دارویی یک پدیده محلی است و استفاده از آنتی‌باکتریال‌ها با توجه به الگوی مقاومت دارویی دیگر مناطق یا کشورها چندان جایز نیست چرا که بنا به مکان و زمان این الگوها تغییر می‌نمایند (۲۴، ۲۲، ۱۸، ۳). لذا آزمون حساسیت ضد میکروبی باید برای هر مرغداری مستقلاً پیش از تجویز آنتی‌باکتریال‌ها انجام شود (۲۶). البته آزمون تعیین حساسیت میکروبی به تنهایی ملاک انتخاب برای ترکیب مورد نظر نیست، زیرا دستیابی به حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد در بافت مورد نظر نیز حائز اهمیت است. پایداری آنتی‌بیوتیک، توانایی آنتی‌بیوتیک در عبور از سدهای طبیعی بدن و فعال بودن در محل اثر نیز سه شاخص مهم در انتخاب داروهای آنتی‌باکتریال می‌باشند (۶). روند استفاده بی‌رویه و نادرست از آنتی‌باکتریال‌ها در واحدهای پرورشی طيور، بدون ارزیابی دقیق از حساسیت باکتریایی، منجر به گسترش ژن‌های مقاومت به داروهای ضد میکروبی و متعاقباً گزینش شمار بیشتری از کلون‌های *E. coli* مقاوم می‌گردد که تاثیر بسیار منفی بر روی صنعت طيور دارد (۱۸). البته این واقعیت مهم را نیز نباید از نظر دور داشت که ممانعت از مصرف یک آنتی‌باکتریال ضرورتاً منجر به کاهش دراماتیک فراوانی مقاومت به داروی مربوطه نمی‌شود و لذا این باور که بروز مقاومت تنها به دلیل فشار ناشی از استفاده مداوم از عوامل ضد میکروبی است مورد سؤال قرار می‌گیرد و این امکان را مطرح می‌کند که عوامل دیگری در بقای ژن‌های مقاومت دارویی نقش داشته‌اند یا می‌توانند نقش داشته باشند (۳۴، ۱۴). که از آن جمله می‌توان به وجود ژن‌های مقاومت علیه داروهای ضد میکروبی از زمانی بسیار پیشتر از آنکه این داروها کاربرد بالینی در پزشکی و دامپزشکی پیدا کنند، و همچنین توانایی تبادل ژن‌های مقاومت و فعالیت عملی آن‌ها در میزبان‌های باکتریایی گوناگون اشاره نمود (۲۸). بر این اساس اگر ژن‌های مقاومت دارویی روی عناصر متحرک ژنتیکی مانند پلاسمیدها قرار داشته باشند می‌توانند به باکتری‌های هم‌گونه و جنس و حتی متفاوت با آن‌ها از طرق مختلف انتقال یابند (۳۶، ۱۰).



مدفوع طیور نشان داد که محتوی پلاسمیدی جدایه‌های سلولیتی در محدوده وزن ملکولی ۲/۱ تا ۱۲۵ Kb و محتوی پلاسمیدی جدایه‌های مدفوعی در محدوده وزن ملکولی ۲/۲ تا ۳۹۲ Kb به ترتیب دارای ۶۵ و ۱۱۴ الگوبود (۲۴). Doetkott و همکاران نیز در ۱۹۹۶ مشاهده نمودند که از بین ۱۳ جدایه *E. coli* از طیور سالم ۸ جدایه و از ۱۷ جدایه *E. coli* از طیور بیمار، ۷ جدایه حاوی پلاسمیدهای با وزن ملکولی بیش از ۵۰ Kb بودند (۱۱). در مطالعه این محققین هفده جدایه از مجموع ۳۰ جدایه مورد بررسی دارای حداقل یک و حداکثر ۴ پلاسمید ۵۰ Kb و بزرگتر بود. کم وزن ترین پلاسمید ۵۰ و سنگین ترین آن ۲۲۰ Kb بود (۱۱). در مطالعه حاضر، دامنه گسترده‌ای از تنوع و تفاوت در بین محتوی پلاسمیدی جدایه‌های *E. coli* کلی باسیلوز طیور مشاهده گردید که قابل مقایسه با یافته‌های قبلی در رابطه با *E. coli* طیور بود. مطالعه ما نشان داد که محتوی پلاسمیدی ۱۰۰ جدایه *E. coli* مورد بررسی در قالب ۱۶۲ الگوقابل طبقه‌بندی بود. در حالی که ۱۲ درصد جدایه‌ها فاقد هر گونه پلاسمیدی بودند، در برخی جدایه‌ها تا ۱۱ پلاسمید شناسایی شد. ۳۳ درصد جدایه‌های مورد مطالعه نیز حاوی یک یا بیشتر از یک پلاسمید بزرگ (>۳۰ Kb) و یا پلاسمید بزرگ و کوچک بودند.

میزان تشابه الگوی محتوی پلاسمیدی جدایه‌های یک فارم مورد توجه بعضی محققین قرار گرفته است (۲۴). در بررسی انجام گرفته بر روی ۱۰۰ جدایه *E. coli* از موارد سلولیت طیور مربوط به ۲۰ مرغداری مشاهده شد که در ۶ (۳۰ درصد) مرغداری حداقل سه محتوی پلاسمیدی مشابه در بین ۵ *E. coli* جدا شده از هر مرغداری وجود داشت. در ۱۱ (۵۵ درصد) مرغداری هم حداقل دو جدایه سلولیتی دارای گروه سرمی و محتوی پلاسمیدی یکسانی داشتند (۲۴). بررسی ما نیز نشان داد که حداقل سه جدایه از مجموع ۵ جدایه *E. coli* (۲۵ درصد) مرغداری دارای محتوی پلاسمیدی یکسان بودند و ۴ (۲۰ درصد) مرغداری هم هیچ‌گونه تشابهی در محتوی پلاسمیدی جدایه‌های خود نداشتند. مقایسه الگوی مقاومت دارویی جدایه‌هایی که محتوی پلاسمیدی یکسانی داشتند هویدا نمود که در ۵ (۲۵ درصد) مرغداری، این جدایه‌های واجد الگوی مقاومت دارویی کاملاً یکسان بودند، در ۵ (۲۵ درصد) مرغداری دیگر این جدایه‌ها در بیش از ۵۰ درصد موارد الگوی مقاومت دارویی یکسان داشتند و در ۱۰ (۵۰ درصد) مرغداری الباقی هیچ یکنواختی و تشابهی در الگوی مقاومت دارویی ملاحظه نگردید.

نتایج مطالعات ما نیز مانند تحقیقات قبلی (۲۴) نشان داد هر چند محتوی پلاسمیدی و الگوی مقاومت دارویی در تمایز بین جدایه‌های *E. coli* یک مرغداری مفید بودند اما هیچ‌کدام به عنوان نشانگر *E. coli* جدا شده از کلی باسیلوز طیور قابل استفاده نبودند.

تشکر و قدردانی

هزینه این پژوهش از محل اعتبارات طرح مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه تهران به شماره ۲۱۸/۲/۵۰۶ و قطب علمی علوم درمانگاهی دامپزشکی وزارت علوم، تحقیقات، و فناوری تامین گردیده است.

آنها بین ۱/۵۴ تا ۳۴/۶۷ Kb تخمین زده شد (۱۰). حضور باندهای پلاسمیدی متعدد در زل الکتروفورز با طیف دامنه گسترده‌ای از اوزان مولکولی در سویه‌های *E. coli* طیور توسط محققین هم نشان داده شده است (۳۷، ۳۲). این محققین به وجود پلاسمیدهایی با وزن مولکولی ۲۳ تا ۸۲ Kb تأکید نمودند. Wooley و همکاران در ۱۹۹۲، گزارش کردند که چندین پلاسمید که در *E. coli* حاد طیور شناسایی کرده‌اند اما در یک جدایه *E. coli* غیر حاد طیور مورد مطالعه آنها هیچ پلاسمیدی یافته نشده است (۳۹). در ۱۹۹۲، Wooley و همکاران در مطالعه‌ای دیگر، یک پلاسمید R منفرد و با وزن ملکولی بالا را به دو سویه *E. coli* گیرنده انتقال دادند و دریافتند که مقاومت آنتی بیوتیکی به آنها انتقال یافته اما سایر خصوصیات حدت به گیرنده‌ها منتقل نشده است. آنها چنین نتیجه‌گیری نمودند که ارتباطی بین پلاسمیدهای R و نشانگر حدت که مورد بررسی قرار داده بودند وجود ندارد (۳۸).

Tsubokura و همکاران در ۱۹۹۵، به هنگام بررسی دارویی پلاسمیدهای R الحاق پذیر در جدایه‌های *E. coli* از پرندگان مهاجر بین سالهای ۱۹۸۶-۱۹۸۳ در ژاپن ملاحظه نمودند که همه جدایه‌های *E. coli* به چندین آنتی بیوتیک از بین ۷ آنتی بیوتیک آزمایش شده مقاوم بودند که موید پدیده مقاومت چندگانه در بین جدایه‌ها بود (۳۵). این پژوهشگران همچنین گزارش نمودند که از بین ۲۳۳ سویه مورد مطالعه ۱۱۸ (۵۵ درصد) حامل پلاسمید R الحاق پذیر بودند و نتیجه‌گیری نمودند که پلاسمیدهای R الحاق پذیر احتمالاً با حدت ارتباط دارند.

Peighambari و همکاران در ۱۹۹۵، گزارش نمودند که ۴۸ درصد جدایه‌های مدفوعی *E. coli* فاقد محتوی پلاسمیدی بودند در حالی که این درصد در مورد جدایه‌های *E. coli* جدا شده از سلولیت جوچه‌های گوشتی فقط ۱۲ درصد بوده است (۲۴). در بررسی آنها مشخص گردید که در ۴۹ درصد موارد، جدایه‌های سلولیتی یا فقط پلاسمیدهای بزرگ (>۳۰ Kb) داشته‌اند و یا اینکه واجد پلاسمیدهای بزرگ و کوچک به طور توأم بوده‌اند. این در حالی است که تنها ۸ درصد جدایه‌های مدفوعی چنین خصوصیتی را دارا بودند. برخی از محققین ادعا نموده‌اند که پلاسمیدهای بزرگ با سویه‌های حاد *E. coli* در ارتباط هستند و چنین پلاسمیدهایی شاید تولید آکرو باکترین و مقاومت سرمی را رمز می‌کنند (۳۹، ۳۷)، در حالی که دیگران در مطالعه خود متوجه شدند که پلاسمیدهای بزرگ به عنوان یک نشانگر حدت مطرح نمی‌باشند (۲۴). ضمناً این گروه از محققین اختلاف معنی داری را بین گروه‌های سرمی جدایه‌های حاد *E. coli* سلولیت طیور همچون O1، O2 و O78 و سایر گروه‌های سرمی O از نظر دارا بودن پلاسمیدهای با وزن مولکولی بالا (>۳۰ Kb) مشاهده نکردند.

Wooley و همکاران در ۱۹۹۲، در رابطه با وزن ملکولی پلاسمیدهای *E. coli* اعلام نموده‌اند که از بین ۴۰ جدایه *E. coli* جدا شده از کلی سستی سمی طیور ۵۵ درصد حاوی پلاسمیدهای بزرگ (>۱۵ MD) و ۴۵ درصد حاوی پلاسمیدهای بزرگ و کوچک بودند در حالی که از ۴۰ جدایه *E. coli* جدا شده از روده طیور سالم ۳۵ درصد حاوی پلاسمید بزرگ، ۲۲/۵ درصد پلاسمید کوچک (<۱۵ MD)، ۴۰ درصد پلاسمید بزرگ و کوچک و ۲/۵ درصد بدون پلاسمید بودند (۳۹). گزارشی دیگر در رابطه با ۱۰۰ جدایه *E. coli* از سلولیت طیور و ۲۵ جدایه *E. coli* از



References

۱. رجائیان، ح.، فیروزی، ر.، جلائی، ج.، حیدری دزفولی، ف. (۱۳۸۲): مقاومت آنتی بیوتیکی چندین گونه باکتریایی معمول جدا شده از جوجه های گوشتی منطقه شیراز، مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۸، صفحه: ۲۲۶-۲۳۳.
2. Alimehr, M., Sadeghi-Hashjin, G., Pourbakhsh, S.A. and Nofouzi, K. (1999): Isolation, identification and in vitro susceptibility of avian *Escherichia coli* to selected fluoroquinolones. Arch. Razi Ins. 50: 77-82.
3. Amara, a., Ziani, Z. and Bouzoubaa, K. (1995): Antibioresistance of *Escherichia coli* strains isolated in morocco from chickens with colibacillosis. Vet. Microbiol. 43: 325-330.
4. Babai, R., Blum-Oehler, G., Stern, B.E., Hacker, J. and Ron, E.Z. (1997): Virulence patterns from septicemic *Escherichia coli* O78 strains. FEMS Microbiol. Lett. 149: 99-10.
5. Barnes, H.J., J.P. Vaillancourt, and R.G. Gross (2003): Colibacillosis. In Diseases of Poultry. Edited by YM Saif, BW Calnek, HJ Barnes, CW Beard, and LR MacDougal. 11th ed. Iowa State University Press, Iowa, USA. PP: 631-647.
6. Barragry, T.B. (1999): Veterinary Drug Therapy, 1st ed., Lea & Febiger Ltd, Philadelphia, PP: 282-291.
7. Barton, M.D., Pratt, R. and Hart, W.S. (2003): Antibiotic resistance in animals. Commun. Dis. Intell. 27 Suppl: S121-6.
8. Bebor, L.C., Oundo, J.O. and Yamaato, H. (1999): Resistance of *Escherichia coli* strains recovered from chickens to antibiotics with particular reference to tri-sulfonamides. East African J. 10: 624-627.
9. Berkhott, H.A. and Vinal, A.C. (1985): Congo red medium to distinguish between invasive and non-invasive *Escherichia coli* pathogenic for poultry. Avian Dis. 30: 117-121.
10. Davies, D.L., Falkiner, F.R. and Hardy, K.G. (1981): Colicin V production by clinical isolates of *Escherichia coli*. Infect. Immun. 31: 574-579.
11. Doetkott, D.M., Nolan, L.K., Giddings, C.W. and Berry hil, D.L. (1996): Large Plasmids of avian *Escherichia coli* isoltes. Avian Dis. 90: 927-930.
12. Dozois, C.M., Dho-Moulin, M., Bree, A., Fairbrother, J.M., Desaultels, C. and Curtis III, R. (2000): Relationship between the Tsh autotransporter and pathogenicity of avian *Escherichia coli* and localization and analysis of the tsh genetic region. Infect. Immun. 68: 4145-4154.
13. Ginns, C.A., Benham, M.L., Adams, L.M., Whithear, K.G., Bettelheim, K.A., Crabb, B.S. and Browning, G.F. (2000): Colonization of the respiratory tract by a virulent strain of avian *Escherichia coli* requires carriage of a conjugative plasmid. Infect. Immun. 68: 1535-1541.
14. Ginns, C.A., Browning, G.F., Ben ham, M.L., Anderson, G.A. and Whithear, K.G. (1996): Antimicrobial resistance and epidemiology of *Escherichia coli* in broiler breeder chickens. Avian Pathol. 25: 591-605.
15. Gopee, N.V., Adesiyun, A.A. and Caesar, K. (2000): A longitudinal study of *Escherichia coli* strains isolated from captive mammals, birds, and reptiles in Trinidad. J. Zoo Wildl. Med. 31: 353-360.
16. Gross. W.G. (1994): Diseases due to *Escherichia coli* in poultry. In *Escherichia coli* in domestic animals and humans. Edited by CL Gyles. CAB International, Wallingford, UK. PP: 237-259
17. Guerra, B., Junker, E., Schroeter, A., Malorny, B., Lehmann, S. and Helmuth, R. (2003): Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German *Escherichia coli* isolates from cattle, swine and poultry. J. Antimicrob. Chemother. 52: 489-92.
18. Lambie, N., Ngeleka, M., Brown, G. and Ryan, J. (2000): Retrospective study on *Escherichia coli* infection in broilers subjected to postmortem examinations and antibiotic resistance of isolates in Trinidad. Avian Dis. 44: 155-160.
19. McEwen, S.A. and Fedorka-Cray, P.J. (2003): Antimicrobial use and resistance in animals. Clin. Infect. Dis. 34 Suppl 3: S93-106.
20. Mellata, M., Bakour, R., Jacquemin, E. and Mainil, J.G. (2001): Genotypic and phenotypic characterization of potential virulence of intestinal avian *Escherichia coli* strains isolated in Algeria. Avian Dis. 45: 670-679.
21. Mellata, M., Jacquemin, E., Bakour, R. and Mainil, J. (1998): Antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains of bovine and avian origin isolated in Algeria.



- Ann. de Med. Vet. 142: 129-138.
22. Nadeau, M., Cote, G. and Higgins, R. (2000): Surveillance of antibiotic resistance in bacteria isolated from pigs and poultry in Quebec from 1993 to 1999. *Med. Vet. du Que.* 30: 195-199.
 23. Ngeleka M., Brereton L., Brown G., Fairbrother J.M. (2002): Pathotypes of avian *Escherichia coli* as related to tsh-, pap-, pil-, and iuc-DNA sequences, and antibiotic sensitivity of isolates from internal tissues and the cloacae of broilers. *Avian Dis.* 46: 143-52.
 24. Peighambari, S.M., Vaillancourt, J.P., Wilson, R.A. and Gyles, C.L. (1995): Characteristics of *Escherichia coli* isolates from avian cellulites. *Avian Dis.* 39: 116-124.
 25. Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B. and Carter, G.R. (1994): *Clinical Veterinary Microbiology*, Wolf publishing, London. PP: 95-102.
 26. Salmon, S.A. and Watts, J.L. (2000): Minimum inhibitory concentration determinations for various antimicrobial agents against 1570 bacterial isolates from turkey poult. *Avian Dis.* 44: 85-98.
 27. Sambrook, J. and Russell, D.W. (2001): *Molecular Cloning. A laboratory Manual*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York. PP: 1031-1034 and 504-5017.
 28. Schwarz, S., Kehrenberg, C. and Walsh, T.R. (2001): Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 17: 431-437.
 29. Sekizaki, T., Nonomura, I. And Imada, Y. (1989): Loss of virulence associated with plasmid curing of chicken pathogenic *Escherichia coli*. *Jap. J. Vet. Sci.* 51: 659-661.
 30. Shane, S.M. (2001): Coliform infections are responsible for heavy losses, part one. *World Poult.* 17: 58-59.
 31. Shane, S.M. (2001): Significant *Escherichia coli* related conditions of poultry, part two. *World Poult.* 17: 35-37.
 32. Spears, K.R., Wooley, R.E., Brown, J. and Nolan, L.K. (1992): Failure of the congo red dye uptake test to discriminate between virulent and avirulent avian *Escherichia coli*. *Avian Dis.* 36: 1012-1014.
 33. Stehling, E.G., Yano, T., Brocchi, M. and Silveira, W.D. (2003): Characterization of a plasmid encoded adhesin of an avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) strain isolated from a case of swollen head syndrom (SHS). *Vet. Microbiol.* 95: 111-120.
 34. Teuber, M. (2001): Veterinary use and antibiotic resistance. *Curr. Opin. Microbiol.* 4: 493-499.
 35. Tsubokura, M., Matsumoto, A, Otsuki, K., Animas, S.B. and Sanekata, T. (1995): Drug resistance and conjugative R plasmids in *Escherichia coli* strains isolated from migratory waterfowl. *Wildl. Dis.* 31: 352-357.
 36. Van-den-bogaard, A., London, N., Driessen, C. and Stobberingh, E. (2001): Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *J. Antimicrob. Chemother.* 47: 763-71.
 37. Vidotto, M.C., Muller, E.E., Freitas, J.C., Alfieri, A.A., Guimaraes, I.G. and Santos, D.S. (1990): Virulence factors of avian *Escherichia coli*. *Avian Dis.* 34: 531-538.
 38. Wooley, R.E., Spears, K.R., Brown, J., Nolan, L.K. and Dekich, M.A. (1992): Characteristic of conjugative R-plasmids from pathogenic avian *Escherichia coli*. *Avian Dis.* 36: 348-352.
 39. Wooley, R.E., Spears, K.R., Brown, J., Nolan, L.K. and Fletcher, O.S. (1992): Relation of complement resistance and selected virulence factors in pathogenic avian *Escherichia coli*. *Avian Dis.* 36: 679-684.
 40. Wray C. and Davies R.H. (2002): Colibacillosis. In *Poultry Diseases*. Edited by F.T.W. Jordan, M. Pattison, D. Alexande, and T. Faragher. 5th ed. W.B. Saunders Company, USA. PP:125-130.

