Archive of SID

بررسی شیوع ژن‌های بتالاکتاماز bla_{CTX-M} و bla_{TEM} در *اشریشیاکلی‌های* جداسازی شده از طیور مبتلا به کلی‌باسیلوز

محمد جهان‌تیغ[1*]، مرتضی اردونی[2]

۱. دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل- ایران.
۲. دانش آموخته دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل- ایران.

دریافت: ۲۱ اسفند ماه ۹۴ **پذیرش:** ۱ تیرماه ۹۵

چکیده

اشریشیاکلی به عنوان عامل بیماری‌زا در انسان، به‌ویژه در بیماران با نقص ایمنی، مطرح است و بتالاکتام‌ها به وفور برای درمان عفونت‌های ناشی از این میکروارگانیسم استفاده قرار می‌شوند. در سال‌های اخیر، شیوع بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) در بین جدایه‌های بالینی *اشریشیاکلی* به دست آمده از انسان مورد توجه قرار گرفته و این مکانیزم مقاومت، موجب نارسایی در درمان بیماری‌های عفونی گردیده است. امروزه خانواده جدیدی از ESBLهای پلاسمیدی تحت عنوان CTX-M و TEM شناسایی شده‌اند که به‌ترتیب توسط ژن‌های bla_{CTX-M} و bla_{TEM} کد می‌گردند و موجب انتقال مقاومت بین جنس‌ها و گونه‌های مختلف باکتری می‌شوند. عفونت حاصل از *اشریشیاکلی* در طیور کلی‌باسیلوز نامیده می‌شود که یکی از شایع‌ترین بیماری‌های طیور به شمار می‌رود. *اشریشیاکلی*‌های واجد بتالاکتامازهای نوع CTX-M و TEM از بسیاری از بخش‌های جهان شناسایی شده‌اند اما در برخی مناطق شیوع بیشتری دارند. به‌منظور بررسی شیوع ژن‌های بتالاکتاماز bla_{CTX-M} و bla_{TEM} در باکتری‌های *اشریشیاکلی* جداسازی شده از طیور مبتلا به بیماری کلی‌باسیلوز ده گله گوشتی مبتلا بررسی شدند. پس از کالبدگشایی از جوجه‌های مبتلا نمونه‌های بافتی به‌صورت استریل از کبد و کلیه تهیه گردید. از نمونه‌های بافتی باکتری‌های *اشریشیاکلی* به کمک آزمایش‌های استاندارد میکروب‌شناسی جداسازی و شناسایی شدند. ژنوم باکتری‌ها به روش جوشاندن استخراج شد و با استفاده از آزمایش PCR بررسی گردید. نتایج نشان داد که ۲۰ درصد جدایه‌ها دارای ژن CTX، ۲۴/۲۸ درصد از نمونه های باکتری ژن TEM و ۴/۲۸ درصد از جدایه‌ها هر دو ژن را دارند ($P<0/05$).

واژه‌های کلیدی: *اشریشیاکلی*، کلی‌باسیلوز، بتالاکتاماز، طیور.

مقدمه

کلی‌باسیلوز از مهم‌ترین بیماری‌های پرندگان است. سروتایپ‌های متعددی از *اشریشیاکلی* در محیط حیوانات اهلی و پرنده‌ها وجود دارد (۱۷). میزان مرگ‌ومیر ناشی از بیماری کلی‌باسیلوز در طیور ۵ تا ۵۰ درصد است. به باکتری که موجب مرگ‌ومیر نسبتا شدید در پرندگان می‌شود به اختصار APEC (Avian pathogenic *Escherichia coli*) نیز می‌گویند. در سال‌های اخیر، شیوع بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف ESBLs (Extended-spectrum beta-lactamases) در بین جدایه‌های بالینی *اشریشیاکلی* به دست آمده از انسان مورد توجه قرار گرفته است و این مکانیزم مقاومت، موجب نارسایی در درمان بیماری‌های عفونی گردیده است (۱۴). اکثر ESBLها را می‌توان بر اساس مشابهت توالی آمینواسید به دو گروه CTX و TEM تقسیم کرد که به‌ترتیب توسط ژن‌های bla_{CTX-M} و bla_{TEM} کد می‌شوند. علت اصلی پیدایش مقاومت دارویی، مصرف نامناسب و بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌هاست. مطالعات نشان

* پست الکترونیک نویسنده‌ی مسؤول: mjahantig@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

می‌دهد، صرف‌نظر از الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌توانند در بین جمعیت باکتریایی منتقل شوند؛ در واقع مقاومت به دو شکل ذاتی و اکتسابی به وجود می‌آید (۲۱). بتالاکتامازها، آنزیم‌های تجزیه‌کننده آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام هستند که به دنبال مصرف آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام ظهور یافتند. داروهای گروه پنی‌سیلین و سفالوسپورین‌ها از آنتی بیوتیک‌هایی هستند که به طور وسیع استفاده می‌شوند و در جلوگیری از سنتز دیواره سلولی باکتری‌ها مؤثر هستند. این داروها تحت عنوان داروهای بتالاکتام شناخته می‌شوند. پنی‌سیلیناز اولین بتالاکتاماز شناخته شده است. در اوایل دهه ۱۹۸۰ ورود سفالوسپورین‌های نسل سوم در مراکز درمانی موجب کنترل و مهار باکتری‌های واجد آنزیم بتالاکتاماز گردید و در سال ۱۹۸۳ در آلمان اولین باکتری حامل پلاسمید بتالاکتامازی و دارای توانایی هیدرولیز سفالوسپورین‌های نسل سوم گزارش گردید. آنزیم‌های یاد شده که توانایی هیدرولیز سفالوسپورین‌های نسل سوم را داشتند ESBLs نامیده شدند. تعداد زیادی از بتالاکتامازها تاکنون شناسایی شده‌اند؛ اما آنزیم‌های TEM و SHV شایع‌ترین آنزیم‌های مشاهده شده در بین اعضای خانواده *انتروباکتریاسه* هستند. جهش در ژن‌های کدکننده بتالاکتامازها، طیف فعالیت آنزیم به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف و آزترونام را گسترش می‌دهد از این‌رو این آنزیم‌ها را بتالاکتامازهای وسیع‌الطیف (ESBLs) می‌نامند. تعریف اصلی واژه ESBLs به‌دلیل سوبستراهایی است که توسط این آنزیم‌ها هیدرولیز می‌شوند، اما اخیراً واژه ESBLs محدود به بتالاکتامازهایی می‌شود که با کلاولانیک اسید مهار می‌شوند و فعالیت آن را نیز افزایش می‌دهند. اکثر ژن‌های ESBLs گزارش شده مشتقاتی از بتالاکتامازهای TEM-1، TEM-2، SHV-1، CTX-M و OXA هستند (۶). با توجه به مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها در کنترل و درمان بیماری‌های طیور و اهمیت موضوع، هدف از این پژوهش بررسی شیوع ژن‌های بتالاکتاماز bla_{CTX-M} و bla_{TEM} در باکتری‌های *اشریشیاکلی* جداسازی شده از طیور مبتلا به بیماری کلی‌باسیلوز تعیین گردید.

مواد و روش کار

در این مطالعه از ۱۰ واحد پرورش مرغ گوشتی مبتلا به بیماری کلی‌باسیلوز در بخش‌های مختلف شهرستان زابل نمونه‌گیری به عمل آمد. به‌منظور نمونه‌گیری، جوجه‌های مشکوک به بیماری کلی‌باسیلوز، مورد کالبدگشایی قرار گرفتند و نمونه‌های بافتی به‌طور جداگانه از کبد و کلیه به‌صورت استریل در بطری‌های درپیچ‌دار تهیه و سریعاً در کنار یخ به آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل منتقل گردید. نمونه‌ها با هاون چینی هموژنیزه و سپس با آنس روی محیط آگار مک‌کانکی تلقیح گردید. نمونه‌های باکتری *اشریشیاکلی* به کمک روش‌های استاندارد میکروب‌شناسی جداسازی و شناسایی شدند. به طور خلاصه، از کلنی‌های تخمیر کننده قند لاکتوز مشکوک بر روی محیط آگار مک‌کانکی گسترش تهیه شد و به روش گرم رنگ‌آمیزی گردید. باکتری‌های میله‌ای گرم منفی که واکنش اسید/اسید داشتند در محیط TSI (Triple suger iron agar)، اکسیداز منفی، ایندول مثبت، H_2S منفی، اوره‌آز منفی و سیترات منفی بودند به‌عنوان *اشریشیاکلی* استفاده گردید (۲۰). از ۱۰۰ نمونه کبد و کلیه جوجه‌های مشکوک به کلی‌باسیلوز در مجموع ۷۰ نمونه *اشریشیاکلی* جداسازی شد که ۳۸ ایزوله از کبد و ۳۲ ایزوله از کلیه بودند. استخراج ژنوم باکتری‌ها به روش جوشانیدن انجام گرفت و DNA تا زمان استفاده در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند (۱۹).

به‌منظور بررسی فراوانی ژن‌های CTX و TEM از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز استفاده شد. آزمایش PCR در

www.SID.ir

Archive of SID

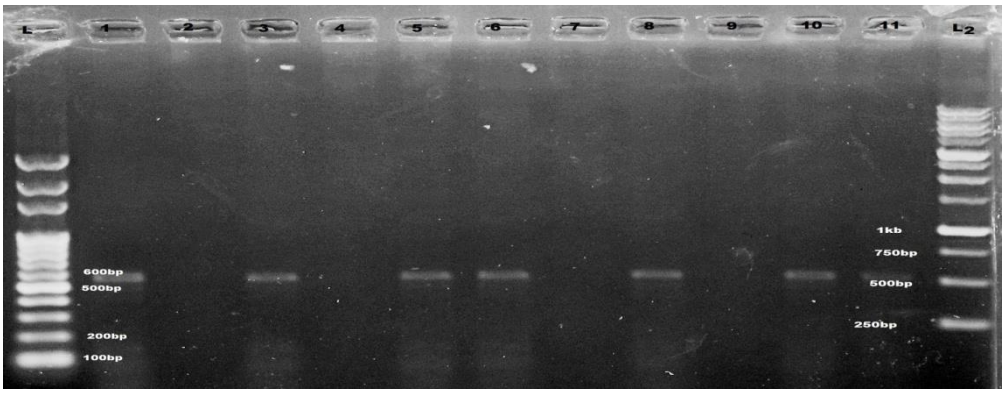
حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت و از غلظت آگارز یک درصد برای الکتروفورز محصول PCR استفاده شد. از دمای ۵۳ درجه سانتی‌گراد برای ژن TEM و ۵۰ درجه سانتی گراد برای ژن CTX در مرحله اتصال در دستگاه ترموسایکلر استفاده گردید. از نمونه‌های DNA که در مرحله اتصال، بهترین نتیجه را داشتند به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده به‌منظور انجام آزمایش PCR برای شناسایی ژن‌های TEM و CTX در جدول ۱ درج شده است (۵ و ۱۶). به‌منظور مقایسه میزان فراوانی ژن‌ها از آزمون آماری مربع‌کای استفاده گردید و سطح معنی‌داری P=۰/۰۵ در نظر گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ استفاده گردید.

جدول ۱– توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده برای انجام آزمایش PCR برای شناسایی ژن‌های *TEM* و *CTX-M*

نام ژن	توالی نوکلئوتیدی ('۳-'۵)	اندازه محصول (جفت باز)
bla_{TEM}	ATGAGTATTCAACATTTCCG CCAATGCTTAATCAGTGAGC	۹۳۱
bla_{CTX-M}	ATGTGCAGYACCAGTAARGT TGGGTRAARTARGTSACCAGA	۵۹۳

نتایج

نتایج این بررسی نشان داد که میزان شیوع ژن CTX در *اشریشیاکلی*های جداسازی شده از جوجه‌های مبتلا به کلی‌باسیلوز ۲۰٪ است که شیوع مساوی (۱۰٪) در اندام‌های کبد و کلیه داشتند. مقایسه آماری فراوانی ژن CTX تفاوت معنی‌داری را در اندام‌های کبد و کلیه نشان نداد (P>۰/۰۵). نتیجه الکتروفورز محصول PCR ژن CTX در شکل ۱ نشان داده شده است.



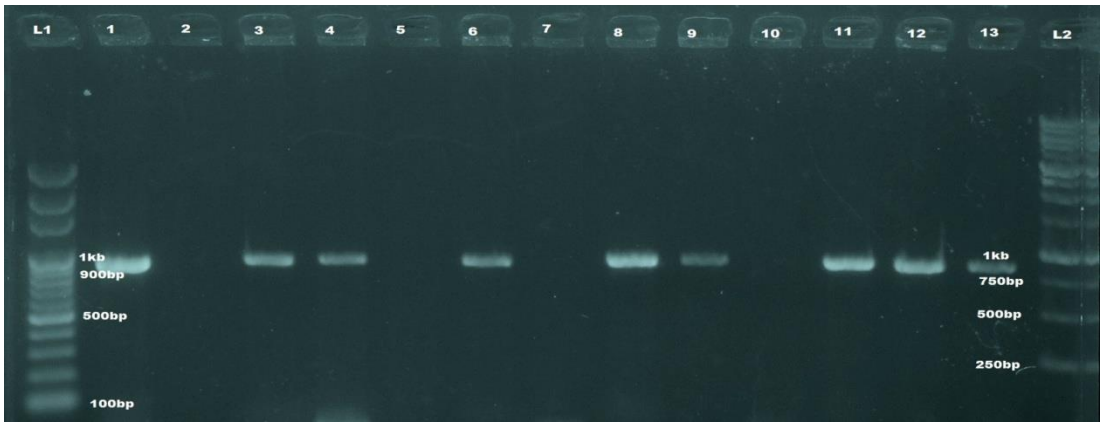
شکل ۱– نتیجه الکتروفورز ژن CTX

L مارکر وزن مولکولی 100bp چاهک ۱: نمونه کنترل مثبت، چاهک ۲: کنترل منفی، چاهک‌های ۴، ۷، ۹ نمونه‌های بالینی فاقد ژن CTX، چاهک‌های ۳، ۵، ۶، ۸، ۱۰، ۱۱، نمونه‌های بالینی واجد ژن CTX، چاهک L2 مارکر 250b.

در بررسی ژن TEM با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در *اشریشیاکلی*های جداسازی شده از کبد و کلیه فراوانی ۲۴/۲۸٪ مشاهده شد که به‌ترتیب در کبد و کلیه ۱۴/۲۸ و ۱۰ درصد فراوانی داشت. مقایسه آماری فراوانی ژن فوق تفاوت معنی‌داری را در اندام‌های کبد و کلیه نشان نداد (P>۰/۰۵). نتیجه الکتروفورز محصول PCR ژن TEM با پرایمرهای ذکر شده روی آگارز ۱٪ در شکل ۲ نشان داده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲– نتیجه الکتروفورز ژن TEM در *اشریشیاکلی* طیور

L مارکر وزن مولکولی 100bpچاهک ۱:نمونه کنترل مثبت، چاهک ۲: کنترل منفی، چاهک‌های ۵، ۷، ۱۰ نمونه‌های بالینی فاقد ژن TEM، چاهک‌های ۳، ۴، ۶، ۸، ۹، ۱۱، ۱۲، ۱۳ نمونه های بالینی واجد ژن TEM، چاهک L2 مارکر 250bp

مقایسه آماری فراوانی ژن *TEM* با ژن CTX در *اشریشیاکلی* بیماری‌زای طیور نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین فراوانی این دو ژن در اندام‌های کبد و کلیه طیور وجود دارد (جدول ۲). همان‌طوری که در جدول ۲ مشاهده می‌شود فراوانی ژن TEM به‌طور معنی‌داری بیشتر از ژن CTX است. نتایج بررسی نشان داد که میزان جدایه‌هایی که واجد هر دو ژن CTX و TEM در اندام‌های کبد و کلیه هستند ۴/۲۸ درصد است. مقایسه آماری همچنین نشان داد که بین فراوانی جدایه‌هایی که هر دو ژن CTX-M و TEM دارند با فراوانی جدایه‌هایی که حاوی یکی از ژن‌های CTX-M و TEM هستند تفاوت معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵).

جدول ۲– مقایسه فراوانی ژن‌های CTX و TEM

نام ژن	موارد شناسایی شده (تعداد)	فراوانی (٪)
bla_{CTX-M}	۱۴	۲۰*
bla_{TEM}	۱۷	۲۴/۲۸*
bla_{CTX-M}, bla_{TEM}	۳	۴/۲۸*

*تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵).

بحث

آنتی‌بیوتیک‌ها اولین بار در کنترل عفونت‌های حاصله از *اشریشیاکلی* مؤثر بودند؛ لیکن امروزه به‌دلیل ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی مؤثر نیستند. ایجاد مقاومت به دو آنتی‌بیوتیک یا بیشتر، در دامپزشکی (۱۱ و ۱۳) و هم در پزشکی (۹) عادی شده است. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در محصولات طیور با افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی میکروفلور طیور مرتبط است (۴، ۱۰ و ۱۵). مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *اشریشیاکلی* پاتوژن پرندگان (APEC) ممکن است مشکلات جدی را در بحث درمان بیماری‌های طیور ایجاد کند (۱۲). در مطالعاتی که در نقاط دیگر دنیا صورت گرفته است، میزان حضور ESBLs در باکتری *اشریشیاکلی* متفاوت گزارش شده است. کوستا و همکاران در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۹ روی ۳۴ ایزوله *اشریشیاکلی* مقاوم به سفوتاکسیم در پرتغال انجام دادند مشاهده کردند که ۳۱ ایزوله CTX-M و TEM دارند (۸). در یک بررسی *اشریشیاکلی‌های جداسازی شده* از طیور خانگی در هند، حامل هیچ یک از ژن‌های ESBL نبودند، اما ۲۹/۴٪ از جدایه‌های *اشریشیاکلی* که از طیور صنعتی جداسازی شدند حامل ژن‌های ESBLs بودند که

www.SID.ir

Archive of SID

احتمالاً به خاطر استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در پرورش طیور صنعتی باشد (۱۸). وارن و همکاران در سال ۲۰۰۸ مشاهده کردند که ۳۳/۳٪ از *اشریشیاکلی*‌های جداسازی شده از گوشت طیور در بریتانیا ژن‌های ESBLs دارند (۲۲).

در ایران نیز مطالعات متعددی در مورد حضور ESBLs در بین باکتری‌های خانواده *انتروباکتریاسه* مانند *کلبسیلا*، *سالمونلا* و *اشریشیاکلی* در حیوانات و طیور صورت گرفته است. در مطالعه انجام شده روی جدایه‌های *اشریشیاکلی* از موارد کلی‌باسیلوز طیور گوشتی در استان ایلام تعداد ۱۰۰ جدایه از نظر حضور ژن‌های بتالاکتاماز (bla_{SHV} و bla_{TEM}) به روش PCR بررسی شدند، نتایج نشان داد که ۱۰ درصد واجد ژن bla_{TEM}، ۲ درصد نیز دارای ژن bla_{SHV} و ۲ درصد هم واجد هر دو ژن بودند (۳). در مطالعات شعبانی و همکاران در سال ۱۳۹۰ میزان فراوانی ژن TEM در اشریشیاکلی‌های جداسازی شده از بیماری کلی‌باسیلوز طیور ۳۷٪ گزارش گردید (۱). علی اسعدی و همکاران در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۹۱ روی ۵۶ جدایه *اشریشیاکلی* به دست آمده از نمونه‌های مدفوع طیور در ارومیه انجام دادند دریافتند که ۲۶ جدایه (۴۶/۴٪) دارای ژن bla_{CTX-M} و ۱۵ جدایه (۲۶/۷٪) ژن bla_{TEM} داشتند (۲).

شیوع باکتری‌های تولیدکننده ESBLs در سرتاسر جهان سرعت چشم‌گیری داشته است و این حقیقت نشان‌دهنده این مطلب است که سیستم‌های کنترل کننده مؤثری مورد نیاز است. انتخاب درمان مناسب برای عفونت‌های حاصل از سویه‌های واجد ESBLs ممکن است سبب کنترل این نوع مقاومت در سویه‌های باکتری شود. شناسایی به موقع ایزوله‌های تولیدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف و اتخاذ تدابیر درمانی مناسب می‌تواند نقش بسیار مهمی در کاهش این نوع مقاومت در باکتری‌ها داشته باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که ۲۰ درصد جدایه‌ها ژن CTX، ۲۴/۲۸ درصد از نمونه‌های باکتری ژن TEM و ۴/۲۸ درصد از جدایه‌ها هر دو ژن را دارند. هم‌زمانی حضور ESBLهای نوع CTX-M با TEM در ۴/۲۸ درصد از جدایه‌ها در این بررسی نشان از خطر بیشتر برای شکست درمان با بتالاکتام را می‌دهد. نشان داده شده که حضور بیش از یک بتالاکتاماز ممکن است سطح مقاومت بتالاکتام را افزایش دهد و احتمالاً مقاومت را به طیف گسترده‌تری از بتالاکتام‌ها بکشاند (۷). چنین به نظر می‌رسد که شیوع ژن‌های بتالاکتاماز در مناطق مختلف جغرافیایی رابطه نزدیکی با میزان آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده و مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی داشته باشد.

منابع

۱- شعبانی، علی‌اکبر؛ ابراهیمی ورکیانی، مرتضی؛ آقایی، سید سهیل و نصر، رضا؛ بررسی فراوانی ژن TEM-1 در سویه‌های E.coli جدا شده از نمونه‌های کلینیکی در شهرستان دامغان. مجله علمی پژوهشی زیست فناوری میکروبی؛ ۱۳۹۰؛۱۱: ۱۵-۲۲.

۲- علی اسعدی، سعیده؛ دستمالچی ساعی، حبیب و حسینی، سید شهرام؛ شناسایی ژن‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف (ESBLs) متعلق به گروه‌های bla_{TEM}، bla_{CTX-M} و bla_{SHV} در جدایه‌های *اشریشیاکلی* به دست آمده از نمونه‌های مدفوع طیور در منطقه ارومیه. مجله تحقیقات آزمایشگاهی دامپزشکی؛ ۱۳۹۱؛ ۴(۱): ۲۰۵.

۳- قنبرپور، رضا؛ بناوند، روح‌الله و همتی، زهرا؛ شناسایی ژن‌های *بتالاکتاماز* و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *اشریشیاکلی* از موارد کلی‌باسیلوز طیور گوشتی در استان ایلام. مجله تحقیقات آزمایشگاهی دامپزشکی؛ ۱۳۹۱؛ ۴(۱): ۹۰.

4- Aarestrup, F.M; Occurrence of

www.SID.ir

Archive of SID

producing *Escherichia coli* isolates in faecal samples of broilers. Vet. Microbiol; 2009; 138: 339–344.

9- Dennesen, P.J; Bonten, M.J. and Weinstein, R.A; Multiresistant bacteria as a hospital epidemic problem. Ann. Med; 1998; 30:176-185.

10- Endtz, H.P; Mouton, R.P; van der Reyden, T; Ruijs, G.J; Biever, M. and van Klingeren, B; Fluoroquinolone resistance in *Campylobacter* spp. isolated from human stools and poultry products. Lancet; 1990; 335: 787.

11- Gonzalez, E.A. and Blanco, J; Serotypes and antibiotic resistance of verotoxigenic (VTEC) and necrotizing (NTEC) *Escherichia coli* strains isolated from calves with diarrhoea. FEMS Microb. Letter; 1989; 51:31-36.

12- Hammerum, A.M. and Heuer, O.E; Human health hazards from antimicrobial-resistant *Escherichia coli* of animal origin. Clin. Infect. Dis; 2009; 48:916-921.

13- Harnett, N.M. and Gyles, C.L; Resistance to drugs and heavy metals, colicin production, and biochemical characteristics of selected bovine and porcine *Escherichia coli* strains. App. Env. Aarestrup, F.M; Occurrence of glycopeptide resistance among *Enterococcus faecium*isolates from conventional and ecological poultry farms. Microbial. Drug. Resist; 1995; 1: 255-257.

5- Arlet, G; Brami, G; Decre, D; Flippo, A; Gaillot, O; Lagrange, P.H. and Philippon, A; Molecular characterisation by PCR-restriction fragment length polymorphism of TEM beta-lactamases. FEMS Microbiol Lett; 1995; 134: 203-208.

6- Bradford, PA; Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin. Microbiol. Rev; 2001; 14: 933-51.

7- Brinas, L; Moreno, M.A; Zarazaga, M; Porrero, C; Saenz, Y; Garcia, M; Dominguez, L. and Torres, C; Detection of CMY-2, *CTX-M*-14, and SHV-12 β-lactamases in *Escherichia coli* fecal-sample isolates from healthy chickens. Antimicrob. Agents. Chemother; 2003; 47: 2056-2058.

8- Costa, D; Vinué, L; Poeta, P; Coelho, A.C; Matos, M; Sáenz, Y; Somalo, S; Zarazaga, M; Rodrigues, J. and Torres, C; Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-

www.SID.ir

Archive of SID

Microbiol; 1984; 48:930-935.

14- Livermore, D.M; Defining an extended-spectrum β-lactamase. Clin. Microbiol. Infect; 2008; 14(1): 3-10.

15- McEwen, S.A. and Fedorka-Cray, P.J; Antimicrobial use and resistance in animals. Clin. Infect. Dis; 2002; 34 Suppl 3: S93-S106.

16- Pagani, L; Dell'Amico, E; Migliavacca, R; D'Andrea, M.M; Giacobone, E; Amicosante, G; Romero, E. and Rossolini, G.M; Multiple *CTX-M*-type extended-spectrum β-lactamases in nosocomial isolates of *Enterobacteriaceae* from a hospital in northern Italy. J. Clin. Microbiol; 2003; 41: 4264-4269.

17- Paterson, D.L; Bonomo, R.A; Extendedspectrum β-lactamases: a clinical update. Clin. Microbiol. Rev; 2005; 18: 657-686.

18- Samanta, I; Joardar, S.N; Das, P.K. and Sar, T.K; Comparative possession of Shiga toxin, intimin, enterohaemolysin and major extended spectrum beta lactamase (ESBL) genes in *Escherichia coli* isolated from backyard and farmed poultry. Iran. J. Vet. Res; 2015; 16: 90-93.

19- Sharifi Yazdi, H; Khazraiinia, P; Zahraei Salehi, T. and Behroozikhah, A.M; Development of a multiplex polymerase chain reaction assay for differentiation of field strain isolates and vaccine strains S19 and RB51 of *Brucella* in Iran. Iran. J. Vet. Res; 2008; 9: 19-24.

20- Swayne, D.E; Glisson, J.R; Jackwood, M.W; Pearson, J.E. and Reed, W.M; 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.

21- Tzouvelekis, L.S; Tzelepi, E; Tassios, P.T. and Legakis, N.J; *CTX-M*-type β-lactamases: an emerging group of extended-spectrum enzymes. Int. J. Antimicrob. Agents; 2000; 14(2): 137-142.

22- Warren, R.E; Ensor, V.M; O'Neill, P; Butler, V; Taylor, J; Nye, K; Harvey, M; Livermor, D.M; Woodford, N. and Hawkey, P.M; Imported chicken meat as a potential source of quinolone-resistant *Escherichia coli* producing extended-spectrum β-lactamases in the UK. J. Antimicrob. Chemother; 2008; 61: 504-508.

www.SID.ir

Archive of SID

Study of prevalence of *bla$_{TEM}$* and *bla$_{CTX-M}$* genes in *Escherichia coli* isolated from poultry with colibacillosis infection

Jahantigh, M.[1*]; Ordoni, M.[2]

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

Recieved: 12 March 2015 ***Accepted:*** 22 June 2016

Summary

Escherichia coli act as a pathogen in humans, especially in patients with immune deficiency and beta-lactam is widely used for treatment of infections caused by these microorganisms. In recent years, the prevalence of ESBLs among clinical isolates of *Escherichia coli* from humans is taken into consideration and the mechanism of resistance caused failure in the treatment of infection diseases. Recently a new family of plasmid ESBLs named CTX-M and TEM were identified which codes by *bla$_{CTX-M}$* and *bla$_{TEM}$* genes, respectively and cause resistance transmission between different genus and species of bacteria. *Escherichia coli* infection in poultry is named colibacillosis. Collbacillosis infection is one of the most prevalence diseases of poultry. *Escherichia coli* which contain CTX-M and TEM types of ESBLs were recognized from different regions of the world but their prevalence is different. In order to study the prevalence of *bla$_{TEM}$* and *bla$_{CTX-M}$* genes in *Escherichia coli* isolated from poultry with colibacillosis infection 10 broiler chickens farms with colibacillosis infection were necropsied and tisusue samples from livers and kidneys were aseptically prepared. Bacterial isolates were identified *Escherichia coli* using standard bacteriological methods. The DNA samples of the bacteria were extracted using boiling methods and then examined by PCR. The results showed that 20 percent of the *Escherichia coli* were positive to CTX gene, 24.28 percent to TEM gene and 4.28% of the isolates contains both CTX and TEM genes (P<0.05).

Keywords*: Escherichia coli*, Colibacillosis, Betalactamase, Poultry.

* Corresponding Author E-mail: mjahantig@yahoo.com

www.SID.ir