Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره چهاردهم، شماره دوم، ۱۳۹۷، پیاپی ۳۷: ۶۰-۴۹

مقاومت آنتی بیوتیکی و ردیابی حضور ژن *fimH* در جدایه های *اشریشیاکلی* بدست آمده از انسان و طیور گوشتی

راحم خوشبخت [۱*]، سیده هانیه هادی‌نژاد [۲]، مجتبی خسروی [۱]، عباس میهن‌خواه [۳]، مائده صلواتی [۴]، علی محبت [۵]

۱- استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوریهای نوین آمل، آمل، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی علوم آزمایشگاهی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوریهای نوین آمل، آمل، ایران

۳- کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۴- کارشناسی ارشد بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۵- دکترای تخصصی میکروبشناسی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۳۰

چکیده

یکی از منابع بالقوه ی عفونت های باکتریایی در انسان و خصوصاً عفونت های ناشی از باکتری *اشریشیاکلی*، طیور پرورشی می باشد. مطالعات مختلف قرابت های ژنتیکی را بین سویه های پاتوژن پرندگان (APEC) و سایر سویه های بیماریزای انسان نشان داده است. در این مطالعه ضمن ردیابی حضور ژن *fimH* که از عوامل اتصال و کلونیزه شدن باکتری در غشاهای مخاطی می‌باشد، مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌های مختلف *اشریشیاکلی* بدست آمده از طیور گوشتی و انسان با یکدیگر مقایسه و بررسی شد. پس از جمع‌آوری و شناسایی جدایه ها (شامل ۲۶ جدایه انسانی و ۶۰ جدایه طیور گوشتی)، ابتدا DNA تام میکروارگانیسم ها با روش جوشاندن استخراج شده و سپس با کمک پرایمرهای اختصاصی ژن مورد نظر با روش واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) مورد ردیابی قرار گرفت. همچنین مقاومت سویه های مورد مطالعه نسبت به ۱۴ آنتی بیوتیک مختلف با کمک روش انتشار دیسک (Disk diffusion method) ارزیابی و تعیین شد. در مجموع از میان ۸۶ سویه *اشریشیاکلی* مورد مطالعه، ژن *fimH* در میان ۵۳ جدایه (۶۱/۶۲٪) ردیابی و شناسایی شد. همچنین جدایه‌ها، مقاومت بالایی را به آنتی بیوتیک های اکساسیلین (۹۳/۰۲٪)، کلیستین (۹۱/۸۶٪) و سفالکسین (۸۹/۵۳٪) نشان دادند. بر اساس نتایج بدست آمده حضور ژن مورد نظر در میان جدایه‌های انسانی به طور معناداری ($P<0.05$) بیشتر از جدایه‌های بیماریزای پرندگان بود. در مجموع ۷۰ الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه ها مشاهده شد و بررسی آنها تفاوت آشکار الگوهای غالب در جدایه های با منبع متفاوت را نشان داد که می تواند به دلیل مصرف آنتی بیوتیک‌های متفاوت در درمان عوارض ناشی از این باکتری در انسان و دام باشد.

کلمات کلیدی: *اشریشیاکلی*، *fimH*، مقاومت آنتی بیوتیکی

* نویسنده مسئول: راحم خوشبخت

آدرس: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوریهای نوین آمل، آمل، ایران. تلفن: ۰۱۱-۴۴۲۷۱۰۵۴

پست الکترونیک: r.khoshbakht@ausmt.ac.ir

مقدمه

اشریشیاکلی یک باکتری گرم منفی روده‌ای است که به خانواده ی *انتروباکتریاسه* تعلق دارد. این باکتری علاوه بر نقش فلور طبیعی در دستگاه گوارش به عنوان یکی از عوامل اصلی عفونت های سیستمیک و گوارشی و مرگ و میر در حیوانات و انسان در سراسر جهان گزارش شده است (۵). در حال حاضر تولیدات دام و طیور به عنوان یکی از مهم ترین بخش های صنایع غذایی در بسیاری از کشورها از جمله ایران، نقش بسیار مهمی در انتقال *اشریشیاکلی* بیماریزا و بروز مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها در جوامع در حال توسعه دارد.

استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها بخصوص در صنعت پرورش دام، احتمالاً مهم ترین عاملی است که باعث ظهور مقاومت آنتی بیوتیکی می باشد (۲۹). اغلب در پرورش حیوانات مرتبط با زنجیره ی غذایی استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها در سطح وسیعی رایج است و در نتیجه ی این استفاده ی بیش از حد، وقوع بیماری های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک در سال های اخیر افزایش یافته است. اغلب در مزارع پرورشی طیور در زمان بروز بیماری ها، تمام گله شامل تمام حیوانات بیمار و سالم، تحت درمان آنتی بیوتیکی قرار می‌گیرند و استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در غیاب بیماری ها از ابتلا به آن ها به هنگام مواجهه با عفونت ها پیشگیری می‌کند (۸). این عمل در کشورهای درحال توسعه که حضور پاتوژن روده ای در مزارع طیور شیوع زیادی دارد بسیار رایج است (۲۶،۱۵).

اشریشیاکلی بیماریزای پرندگان تحت عنوان Avian pathogenic *E. coli* (APEC) در حال حاضر یک عوامل مهم عفونت در صنعت طیور در سراسر جهان است و هر ساله زیان‌های اقتصادی وابسته به این سویه‌ها در زنجیره پرورش طیور اتفاق می‌افتد. سویه‌های *اشریشیاکلی* بیماریزای پرندگان متعلق به *اشریشیاکلی* های بیماریزای خارج روده ای (ExPEC) هستند که یکی از عوارض ناشی از این سویه ها عفونت دستگاه ادراری ناشی از سویه های *اشریشیاکلی* اوروپاتوژن یا Uropathogenic *E. coli* (UPEC) در انسان است که از شایع ترین بیماری‌هایی است که نیاز به درمان آنتی بیوتیکی دارد و از رایج ترین عفونت های بیمارستانی نیز محسوب می‌شود (۶، ۱۱). این عفونت توسط سویه های *اشریشیاکلی* خارج روده ای ایجاد می‌شود و به نظر می رسد ارتباطی بین جدایه های طیور *اشریشیاکلی* و این جدایه های عفونت ادراری یا Urinary tract infection (UTI) وجود داشته باشد (۲۰،۹).

سویه های UPEC برای ایجاد عفونت باید به بافت پوششی مجاری ادراری متصل شوند. در واقع یک گام مهم در فرآیند ایجاد عفونت این سویه ها قدرت چسبندگی به اپی تلیوم است. این امر موجب می شود تا باکتری بر مکانیسم مقاومتی میزبان غلبه کرده و موفقیت بیشتری در امر کلونیزه شدن حاصل شود (۱۲). پدیده چسبندگی به واسطه پیلی تیپ ۱ است که دارای ساختاری پروتئینی است و در غشای خارجی بیشتر سویه های *اشریشیاکلی* و چندی دیگر از اعضای انتروباکتریاسه وجود دارد. قدرت چسبندگی که توسط پیلی تیپ ۱ مطرح شده، نقش اصلی را در حدت APEC بازی می کند (۲۱). بخش مهمی از پیلی تیپ ۱ زیر واحد کوچکی به نام fimH است که یک واسطه برای چسبندگی به سلول های اپی‌تلیال و بسیاری دیگر از سلول ها می‌باشد. گفته می شود که fimH برای ایجاد عفونت دستگاه ادراری و همچنین ایجاد واکنش سیستم ایمنی میزبان ضروری است و عدم حضور این

پروتئین می‌تواند سبب عدم موفقیت باکتری در بیماریزایی شود (۱۹، ۲۱).

بر اساس آنچه ذکر شد، جهت بررسی و مقایسه الگوی مقاومت های آنتی بیوتیکی جدایه‌های مختلف *اشریشیاکلی* بدست آمده از انسان و طیور گوشتی، به عنوان یکی از منابع مهم بروز سویه های بیماریزا و مقاوم در انسان، مطالعه حاضر انجام شد. همچنین حضور ژن *fimH* و تفاوت های فیلوژنی آن در میان جدایه‌های مذکور نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار

نمونه گیری و جداسازی سویه ها

این مطالعه بر روی ۸۶ نمونه باکتری *اشریشیاکلی* بدست آمده از طیور گوشتی و انسان انجام شد. نمونه های انسانی مربوط به عفونت ادراری انسان (۲۰ عدد) و عفونت گوارشی یا اسهال انسان (۶ عدد) از بیمارستان امام علی (ع) شهرستان آمل تهیه شد. همچنین جدایه های مربوط به طیور گوشتی بدون علائم بالینی (۴۰ عدد)، جدایه های کلی‌باسیلوز پرندگان (۱۰ عدد) و جدایه های مربوط به عفونت تنفسی طیور گوشتی (۱۰ عدد) از نمونه های سوآب تنفسی و مدفوعی طیور گوشتی استان، ارسالی به دانشکده دامپزشکی دانشگاه تخصصی فناوریهای نوین آمل، کشت و جداسازی شد. تمام نمونه های بدست آمده از انسان و سپس نمونه های طیور گوشتی در فاصله زمانی آبان ماه تا بهمن ماه سال ۱۳۹۵ بدست آمدند. برای جداسازی *اشریشیاکلی* از محیط کشت ائوزین متیلن بلو استفاده شد و در ادامه با استفاده از آزمون های بیوشیمیایی شامل تست های اندول، MR-VP، و سیترات، سویه ها جهت تأیید مورد ارزیابی قرار گرفتند. تمام محیط‌های کشت و تست‌های بیوشیمیایی از شرکت های‌مدیای (HiMedia) کشور هندوستان تهیه شدند. جدایه های تائید شده تا زمان انجام آزمون های دیگر با استفاده از محیط کشت آبگوشت مغذی و گلیسرول به میزان ۲۰ درصد درون فریزر با دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند.

تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی

در این تحقیق برای سنجش حساسیت میکروبی سویه های جداسازی شده نسبت به ۱۴ آنتی بیوتیک مختلف که در جدول ۱ لیست شده‌اند از آزمون انتشار دیسک بر اساس معیارهای مؤسسه استاندارد آزمایشگاه و بالین یا Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) استفاده شد (۲۹). دیسک‌های مورد استفاده شامل آمپی سیلین (AMP، ۱۰ µg)، سفکسیم (CFM، ۳۰ µg)، سولفامتوکسازول-تری متوپریم (SXT، ۳۰ µg)، کلیستین (CL، ۱۰ µg)، سیپروفلوکساسین (CIP، ۵ µg)، فلورفنیکل (FF، ۳۰ µg)، سفوتاکسیم (CTX، ۳۰ µg)، سفالکسین (CN، ۳۰ µg)، جنتامایسین (GM، ۱۰ µg)، سفالوتین (CF، ۳۰ µg)، نالیدیکسیک اسید (NA، ۳۰ µg)، اکساسیلین (OX، ۳۰ µg)، اکسی-تتراسایکلین (T، ۳۰ µg) و ایمی‌پنم (IPM، ۱۰ µg) بودند. همه آنتی بیوتیک ها از شرکت های‌مدیای کشور هندوستان تهیه شدند. در این روش چند کلنی از کشت ۲۴ ساعته خالص باکتری را در ۲ میلی لیتر محیط کشت نوترینت براث (های مدیا، هندوستان) کشت داده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه قرار داده شد تا کدورت آن به استاندارد نیم مک فارلند برسد، در ادامه پس از رسیدن به کدورت مورد نظر، توسط سوآپ پنبه ای آن را در دو محیط کشت مولر هینتون آگار پخش و سپس دیسک‌های آنتی بیوتیکی مورد نظر با فاصله ۲۵ میلی متر از یکدیگر روی محیط کشت گذاشته شد. سپس محیط کشت ها را ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه قرار دادیم. پس از انکوباسیون ناحیه ممانعت از

رشد بر حسب میلی متر توسط خط کش اندازه‌گیری و با جدول استاندارد (۲۹) مقایسه شد.

استخراج DNA و آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

قبل از انجام آزمون PCR برای شناسایی و ردیابی ژن *fimH*، ابتدا استخراج DNA از کشت خالص هر کدام از جدایه ها انجام شد. در این پژوهش از روش جوشاندن (boiling) جهت استخراج DNA نمونه های باکتریایی استفاده شد. در این روش ابتدا درون هر کدام از میکروتیوب های استریل حدود ۱/۵ میلی لیتر آب مقطر استریل ریخته و سپس ۲ لوپ پر از کشت خالص باکتری را برداشته و در آن حل کردیم. در مرحله بعدی به کمک عمل ورتکس سوسپانسیون حاصل را یکنواخت نمودیم. سپس سوسپانسیون فوق را به مدت ۱۰ دقیقه درون بن ماری در دمای بیش از ۹۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری کرده تا سلول های باکتریایی لیز گردد و DNA آن ها آزاد شود. در ادامه میکروتیوب های حاوی سوسپانسیون را به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفوژ کردیم تا اجزاء ساختمانی پیکره باکتری رسوب کند. سپس مایع رویی حاوی DNA را در درون میکروتیوب های استریل جدید ریختیم و در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری نمودیم. در ادامه، روش PCR ساده با کمک پرایمرهای اختصاصی شامل پرایمر جلو (Forward) با توالی: 5`- ATGAAACGAGTTATTACCT -3` و پرایمر معکوس (Reverse) با توالی 5`- TTATTGATAAACAAAGTCAC -3` ساخت شرکت تکاپوزیست ایران، جهت بررسی حضور ژن های مورد مطالعه در ژنوم تام استخراج شده از سوش های باکتریایی مورد استفاده قرار گرفت (۱۷). سپس محصولات واکنش PCR با اندازه ۹۰۳ جفت باز با استفاده از الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵ درصد و با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید و با کمک دستگاه ترانس لومیناتور مورد مشاهده و تصویربرداری قرار گرفت. برای مقایسه طول باند محصولات PCR از مارکر DNA با اندازه ۱۰۰ جفت باز استفاده شد.

تعیین توالی محصولات PCR

جهت مقایسه نتایج واکنش زنجیره ای پلیمراز، یک نمونه از محصول PCR ژن *fimH* از جدایه انسانی *اشریشیاکلی* و یک نمونه از محصول PCR این ژن مربوط به جدایه طیور برای تعیین توالی به شرکت تکاپوزیست ارسال گردید. نتایج تعیین توالی بعد از ثبت در بانک ژن در درگاه مرکز ملی اطلاعات بیوانفورماتیک (http://www.ncbi.nlm.nih.gov) با کمک نرم افزار MEGAنسخه ۵ با سایر توالی های مشابه در این بانک اطلاعاتی مورد مقایسه قرار گرفت و نتایج با استفاده از تست بوت استرپ به روش تامورا بصورت درخت فیلوژنی بدست آمد (۲۸).

آزمون آماری داده ها

در پایان نتایج حاصل از بررسی‌های ژنتیکی و فنوتیپی مربوط به مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی با استفاده از نرم افزار آماری SPSSنسخه ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقدار P <۰/۰۵ بعنوان سطح معنی داری برای میزان مقاومت به یک آنتی بیوتیک در جدایه ای خاص و میزان حضور ژن در گروه های مختلف جدایه ها در نظر گرفته شد و همچنین برای تعیین ارتباط از تست آماری مربع کای (chi square) استفاده گردید.

نتایج

مقاومت آنتی بیوتیکی

از مجموع ۸۶ جدایه *اشریشیاکلی* مورد مطالعه، بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیک به ترتیب در برابر آنتی بیوتیک های اکساسیلین (۹۳/۰۲٪)، کلیستین (۹۱/۸۶٪)

و سفالکسین (۸۹/۵۳٪) ارزیابی شد. نتایج مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها نسبت به همه ی آنتی بیوتیک های مورد مطالعه در جدول ۱ به تفکیک منبع جدایه‌های مختلف آورده شده است. مقاومت به آمپی سیلین، سولفامتوکسازول-تری متوپریم و کلیستین بصورت معناداری (P <۰/۰۵) در میان جدایه های UTI اشریشیاکلی بیشتر از سایر جدایه ها بود. مقاومت به کلیستین و سفکسیم بصورت معناداری (P <۰/۰۵) در میان جدایه‌های آنتریت انسانی اشریشیاکلی بیشتر از سایر جدایه‌ها بود. و مقاومت به فلورفنیکل، سولفامتوکسازول-تری‌متوپریم، سیپروفلوکساسین و نالیدیکسیک اسید بصورت معناداری (P <۰/۰۵) در میان جدایه‌های اشریشیاکلی کلی‌باسیلوز پرندگان بیشتر از سایر جدایه‌ها بود. همچنین جدایه‌های UTI، آنتریت انسانی و کلی‌باسیلوز پرندگان مقاومت بالایی را نسبت به سفالوتین نسبت به سایر جدایه‌ها نشان دادند (P <۰/۰۵). در مجموع ۷۰ الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه ها مشاهده شد که بررسی آنها تفاوت آشکار الگوهای غالب در جدایه های با منبع متفاوت را نشان می دهد (جدول ۲).

فراوانی ژن *fimH*

در مجموع از میان ۸۶ سویه اشریشیاکلی مورد مطالعه ژن *fimH* در میان ۵۳ جدایه (۶۱/۶۲٪) ردیابی و شناسایی شد (شکل ۱). میزان وقوع این ژن در میان جدایه های مختلف به شرح زیر می باشد: جدایه های UTI (۱۹/۲۰)، جدایه های کلی باسیلوز پرندگان یا APEC (۵/۱۰)، جدایه های تنفسی پرندگان (۱/۱۰)، جدایه های آنتریت انسانی (۰/۶) و جدایه های مدفوع پرندگان سالم (۲۵/۴۰). از نظر آماری ارتباط معناداری بین حضور ژن *fimH* در میان نمونه های مختلف از گروه‌های متفاوت عفونت مشاهده شد (P <۰/۰۵). بطوری که جدایه های عفونت ادراری انسان وقوع و حضور بیشتری از ژن مورد نظر را نشان دادند (۹۵٪). همچنین نتایج مقاومت های آنتی بیوتیکی و آنالیز آماری آنها نشان داد که روابط معنا داری بین نوع سویه ها و مقاومت آنتی بیوتیکی وجود دارد که به قرار زیر می باشد:

ارزیابی توالی محصولات PCR

توالی های بدست آمده از محصولات PCR مربوط به دو جدایه انسانی و طیور در پایگاه اطلاعاتی NCBI و در بخش بانک ژن شماره پذیرش های KY848624 و KY848625 را به ترتیب بدست آوردند. مقایسه نتایج تعیین توالی دو جدایه با سایر توالی های بانک ژن بصورت درخت فیلوژنی و جهت مقایسه میزان تفاوت های این توالی ها در شکل ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱: میزان مقاومت آنتی بیوتیکی و فراوانی ژن *fimH* در میان جدایه های *اشریشیاکلی* بدست آمده از منابع مختلف

منبع نمونه	تعداد نمونه	فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی (٪)														ژن *fimH*
		AMP	CFM	SXT	CL	CIP	FF	CTX	CN	GM	CF	NA	OX	T	IPM	
عفونت ادراری انسان	۲۰	۱۹	۸	۱۸	۱۷	۹	۷	۱۰	۱۹	۶	۱۹	۱۰	۲۰	۱۸	۴	۱۹
عفونت گوارشی انسان	۶	۴	۵	۴	۶	۳	۰	۱	۵	۱	۶	۵	۶	۶	۱	۰
کلی‌باسیلوز طیور	۱۰	۳	۰	۱۰	۵	۹	۱۰	۰	۱۰	۲	۱۰	۹	۹	۷	۳	۵
بیماری تنفسی طیور	۱۰	۰	۴	۲	۶	۱	۱	۵	۹	۱	۲	۵	۱۰	۷	۱	۲
نمونه مدفوعی طیور گوشتی	۴۰	۱۲	۲۷	۹	۳۵	۹	۱	۱۵	۳۴	۱	۱۰	۳۱	۳۶	۳۵	۵	۲۷
مجموع	۸۶	۳۸	۴۴	۴۳	۷۹	۳۱	۱۹	۳۱	۷۷	۹	۴۷	۶۰	۸۰	۶۷	۱۴	۵۳
درصد	-	۴۴/۱۸	۵۱/۱۶	۵۰	۹۱/۸۶	۳۶/۰۴	۲۲/۰۹	۳۶/۰۴	۸۹/۵۳	۱۰/۴۶	۵۴/۶۵	۶۹/۷۶	۹۳/۰۲	۷۷/۹	۱۶/۲۷	۶۱/۶۲

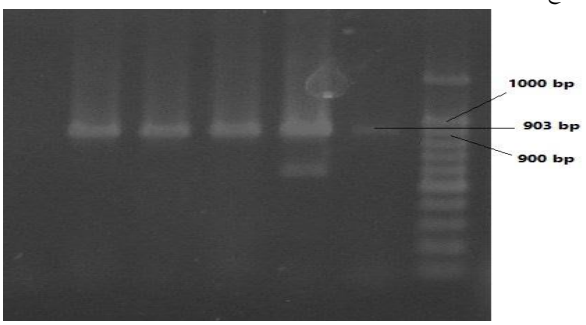
واحد کرمسار

جدول ۲: انواع الگو های مقاومت آنتی بیوتیکی در ارتباط با ژن *fimH* و منبع جداسازی

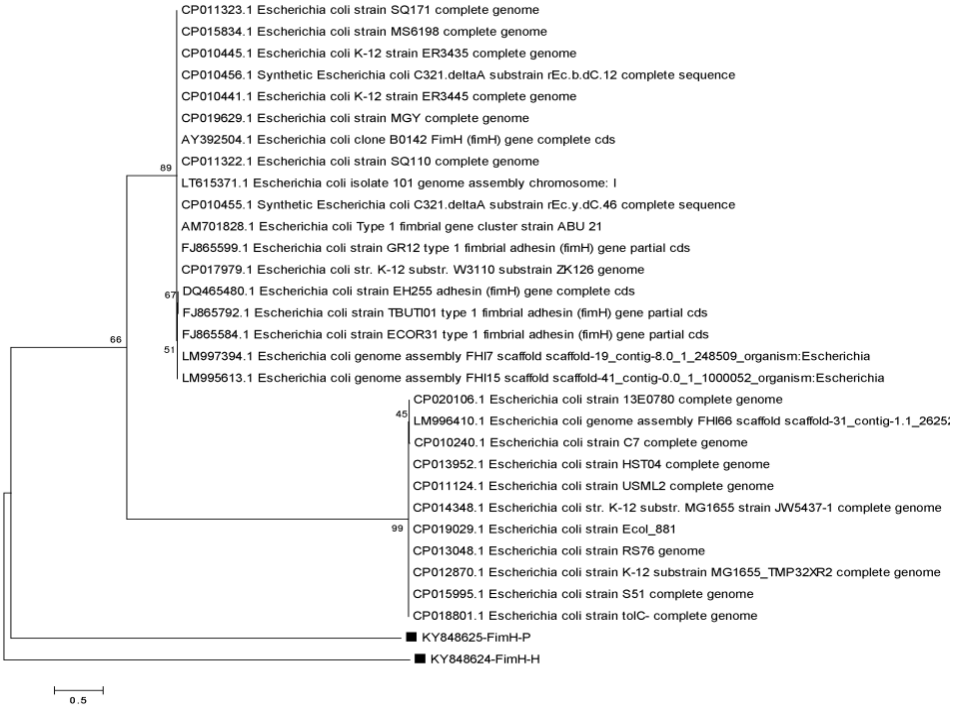
الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی	منبع (موارد مثبت از نظر ژن *fimH*)					مجموع
	UTI[الف]	D[ب]	C[ج]	RI[د]	AF[ه]	
SXT, CIP, FF, CTX, CN, GM, CF, NA, OX, T	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, SXT, CIP, FF, CTX, CN, GM, CF, NA, OX, T	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, SXT, CIP, GM, OX, T, IMP	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, SXT, CL, CN, CF, OX, T	۳ (۳)	–	–	–	–	۳ (۳)
AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CTX, CN, CF, OX	۲ (۲)	–	–	–	–	۲ (۲)
AMP, CFM, SXT, CL, CIP, FF, CTX, CN, GM, CF, NA, OX, T	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CTX, CN, GM, CF, NA, OX, T	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, CL, FF, CN, CF, NA, OX, T	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, SXT, CL, FF, CN, CF, OX, T	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CTX, CN, CF, NA, OX, IPM	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, CL, CN, CF, NA, OX, T	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, SXT, CL, FF, CTX, CN, CF, OX, T	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, CFM, SXT, CL, FF, CTX, CN, CF, OX, T	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CTX, CN, GM, CF, OX, T	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, SXT, CL, CN, CF, NA, OX, T, IPM	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, SXT, CL, CN, CF, NA, OX, T	۱ (۱)	–	–	–	–	۱ (۱)
AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CTX, CN, CF, NA, OX, T, IPM	۱ (۰)	–	–	–	–	۱ (۰)
AMP, SXT, CL, CIP, FF, CN, CF, NA, OX, T, IPM	-	–	۱ (۱)	–	–	۱ (۱)
AMP, SXT, CL, CIP, FF, CN, CF, OX, T	-	–	۱ (۱)	–	–	۱ (۱)
AMP, SXT, CL, CIP, FF, CN, CF, NA, OX	–	–	۱ (۰)	–	–	۱ (۰)
SXT, CL, CIP, FF, CN, CF, NA, OX	–	–	۱ (۰)	–	–	۱ (۰)
SXT, CL, CIP, FF, CN, GM, CF, NA, OX, T, IPM	–	–	۱ (۱)	–	–	۱ (۱)
SXT, FF, CN, CF, NA, OX	–	–	۱ (۱)	–	–	۱ (۱)
SXT, CIP, FF, CN, GM, CF, NA, OX, T	–	–	۱ (۰)	–	–	۱ (۰)
SXT, CIP, FF, CN, CF, NA, OX, T	–	–	۲ (۱)	–	–	۲ (۱)
SXT, CIP, FF, CN, CF, NA, T, IPM	–	–	۱ (۰)	–	–	۱ (۰)
CN, CF, OX	–	–	–	۱ (۰)	–	۱ (۰)
CFM, CL, CTX, CN, OX, T	–	–	–	۱ (۰)	–	۱ (۰)
CFM, CL, CN, NA, OX, T	–	–	–	۱ (۰)	–	۱ (۰)
CFM, CN, NA, OX, T	–	–	–	۱ (۱)	۲ (۱)	۳ (۲)
CN, NA, OX	–	–	–	۱ (۰)	–	۱ (۰)
CL, CIP, FF, CTX, GM, CF, NA, T, IPM	–	–	–	۱ (۰)	–	۱ (۰)
SXT, CL, CN, OX, T	–	–	–	۱ (۱)	–	۱ (۱)
CL, CTX, CN, NA, OX	–	–	–	۱ (۰)	–	۱ (۰)
SXT, CL, CTX, CN, OX, T	–	–	–	۱ (۰)	–	۱ (۰)
CFM, CTX, CN, OX, T	–	–	–	۱ (۰)	–	۱ (۰)
CFM, SXT, CL, CTX, CN, CF, NA, OX, T, IPM	–	۱ (۰)	–	–	۱ (۰)	۲ (۰)
AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CN, CF, NA, OX, T	–	۱ (۰)	–	–	۱ (۱)	۲ (۱)
SXT, CL, CIP, CF, NA, OX	–	۱ (۰)	–	–	–	۱ (۰)
AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CN, GM, CF, NA, OX, T	–	۱ (۰)	–	–	–	۱ (۰)
AMP, CFM, CL, CN, CF, NA, OX, T	–	۱ (۰)	–	–	۱ (۱)	۲ (۱)
AMP, CFM, CL, CN, CF, OX, T	–	۱ (۰)	–	–	۱ (۱)	۲ (۱)
CFM, SXT, CL, CN, NA, T, IPM	–	–	–	–	۱ (۱)	۱ (۱)
CL, CN, NA, OX, T	–	–	–	–	۳ (۱)	۳ (۱)
CN, CF, NA, OX, T	–	–	–	–	۱ (۱)	۱ (۱)
AMP, CFM, CL, CTX, CN, NA, OX, T	–	–	–	–	۱ (۰)	۱ (۰)
AMP, CFM, CL, NA, OX, T	–	–	–	–	۱ (۱)	۱ (۱)
CL, CN, NA, OX, T, IPM	–	–	–	–	۲ (۱)	۲ (۱)
CL, CN, OX	–	–	–	–	۱ (۰)	۱ (۰)
CL, NA, OX, T	–	–	–	–	۱ (۱)	۱ (۱)
CFM, CL, CTX, CN, NA, OX, T	–	–	–	–	۲ (۲)	۲ (۲)
CFM, SXT, CL, CTX, CN, NA, OX, T	–	–	–	–	۱ (۰)	۱ (۰)

۱ (۱)	۱ (۱)	–	–	–	–	CFM, CL, CIP, CTX, CN, NA, T
۱ (۱)	۱ (۱)	–	–	–	–	CL, CIP, CTX, CN, OX, T, IPM
۱ (۱)	۱ (۱)	–	–	–	–	CN, OX, T
۲ (۱)	۲ (۱)	–	–	–	–	CFM, CL, CN, NA, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	–	–	–	–	AMP, CL, CTX, CN, CF, OX, T
۱ (۱)	۱ (۱)	–	–	–	–	AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CTX, CN, CF, NA, OX, T
۱ (۱)	۱ (۱)	–	–	–	–	CFM, CL, CIP, CN, NA, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	–	–	–	–	CFM, CL, OX, T
۱ (۱)	۱ (۱)	–	–	–	–	AMP, CFM, SXT, CL, FF, CTX, CN, NA, OX
۱ (۱)	۱ (۱)	–	–	–	–	AMP, CFM, SXT, CL, CTX, CN, NA, OX, T
۱ (۱)	۱ (۱)	–	–	–	–	AMP, CFM, CL, CN, OX, T
۱ (۱)	۱ (۱)	–	–	–	–	CFM, CL, CTX, CN, CF, NA, T
۲ (۲)	۲ (۲)	–	–	–	–	CFM, CL, CIP, CTX, CN, NA, OX, T
۱ (۱)	۱ (۱)	–	–	–	–	CFM, CL, CTX, CN, OX
۱ (۰)	۱ (۰)	–	–	–	–	AMP, CFM, CL, CN, NA, OX, T
۱ (۱)	۱ (۱)	–	–	–	–	SXT, CL, CIP, CF, NA, OX
۱ (۱)	۱ (۱)	–	–	–	–	AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CN, GM, CF, NA, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	–	–	–	–	–

[الف] UTI (urinary tract infection)؛ عفونت ادراری انسان، [ب] D (diarrhea)؛ عفونت گوارشی انسان، [ج] C (colibacillosis)؛ کلی‌باسیلوز طیور، [د] RI (respiratory infection)؛ بیماری تنفسی طیور، [ه] AF (avian feces)؛ نمونه مدفوع طیور



شکل ۱: الکتروفورز محصول PCR ژن *fimH* با اندازه محصول ۹۰۳ جفت باز



شکل ۲: درخت فیلوژنی مقایسه توالی های ژن *fimH* با استفاده از نزم افزار MEGA5

■ شماره‌های مربوط به دو توالی بدست آمده از نتایج تحقیق

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت حیوانات در چرخه تولید غذا و در انتقال و ایجاد عفونت های مختلف باکتریایی انسان، مطالعه و بررسی مداوم ویژگی های فنوتیپی و ژنوتیپی میکروارگانیسم های بیماریزا نظیر باکتری های گرم منفی روده‌ای امری ضروری به نظر می رسد. در دهه-های اخیر با استفاده بی‌رویه از آنتی بیوتیک‌های مختلف در صنعت پرورش دام و طیور بخصوص در کشورهای در حال توسعه، همواره شاهد افزایش شیوع مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی وابسته به چنین جدایه‌های حیوانی بوده ایم (۲۴،۱۸). نتایج مطالعه حاضر نشان می-دهد که جدایه های UTI/*شریشیاکلی* مقاومت بالایی را نسبت به اکساسیلین، آمپی‌سیلین و سفالکسین دارا می باشند. در مورد جدایه‌های کلی‌باسیلوز پرندگان مقاومت قابل توجهی به آنتی بیوتیک‌های سولفامتوکسازول-تری‌متوپریم، فلورفنیکل، سفالوتین و سفالکسین مشاهده شد. این در حالی بود که جدایه های مربوط به عفونت های تنفسی طیور مقاومت بسیار بالایی را به آنتی بیوتیک‌های اکساسیلین و سفالکسین نشان دادند. این اختلاف در الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان جدایه‌ها و بخصوص اختلاف بین جدایه های طیور با عوارض متفاوت، می‌تواند به دلیل استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های متفاوتی باشد که در بیماری‌های مختلف ناشی از *اشریشیاکلی* در طیور مورد استفاده قرار می‌گیرند. همچنین در مطالعه حاضر مقاومت بالایی نسبت به اکساسیلین، اکسی تتراسایکلین، کلیستین و سفالکسین در میان جدایه های *اشریشیاکلی* بدست آمده از طیور پرورشی سالم و بدون علائم کلینیکی مشاهده شد. طالبیان و همکاران در سال ۲۰۱۴ در بررسی الگوی مقاومت *اشریشیاکلی*های طیور در شهرکرد، میزان مقاومت بالای ۸۸/۶٪ و ۷۱/۷٪ را به ترتیب برای تایلوزین و اریترومایسین بدست آوردند (۲۷). در مطالعه دیگری که توسط کاظم نیا و همکاران در سال ۲۰۱۴ در آذربایجان غربی صورت گرفت، تمام جدایه های *اشریشیاکلی* طیور و انسان به پنی‌سیلین و اریترومایسین مقاوم بودند (۱۴). علاوه بر موارد فوق نباید به راحتی از نقش موثر و مهم سویه‌های غیر بیماریزای طیور در انتشار مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و حتی عوامل حدت مختلف گذشت. چراکه همواره امکان آلودگی مواد غذایی مرتبط با طیور با چنین سویه‌هایی وجود دارد و حضور این سویه‌ها در انسان می‌تواند احتمال انتقال مقاومت‌ها به سویه‌های بیماریزای انسانی را افزایش دهد (۱۰).

یکی از موارد مهمی که در زمینه الگوهای مقاومت مطرح می‌شود، مشخص نمودن موثرترین آنتی‌بیوتیک از میان عوامل ضد میکروبی مورد آزمایش است. در مطالعات مختلف در سال‌های اخیر آنتی‌بیوتیک های متفاوتی توسط محققین مختلف برای درمان عفونت‌های ناشی از اشریشیاکلی در انسان و طیور توصیه شده‌اند. آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر نیتروفورانتوئین (۴)، ایمی‌پنم و مروپنم (۶،۲)، توبرامایسن (۲)، جنتامایسین (۱۴،۲) و سیپروفلوکساسین (۱۴). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که موثرترین آنتی‌بیوتیک برای جدایه‌های UPEC، و سویه های دخیل در مشکلات تنفسی طیور و عفونت-های گوارشی انسان به ترتیب ایمی‌پنم، آمپی‌سیلین و فلورفنیکل بودند. همچنین *اشریشیاکلی* های جداشده از کلی‌باسیلوز پرندگان نسبت به سفوتاکسیم و سفکسیم حساسیت بالایی را نشان دادند، درحالیکه جدایه‌های طیور سالم نسبت به جنتامایسین و فلورفنیکل حساس بودند. به نظر می رسد که جدایه‌های طیور نسبت به داروهای مورد استفاده در درمان انسان و متعاقباً جدایه-

هـای انسـانی نسـبت بـه داروهـای مـورد اسـتفاده در دامپزشکی پاسخ های مناسبی خواهند داشت.

در رونـد بیمـاریزایی *اشریشـیاکلی* بخصـوص ایجـاد عفونت های ادراری، اتصال باکتری به سلول هـای اپی تلیال یکی از فاکتورهای مهم پاتوژنز میکرواگانیسم می باشد. سویه های مختلف اشریشیاکلی بخصوص سویه های UPEC دارای انواع عوامل اتصالی بـه نـام پیلی یـا خـار هسـتند کـه نقـش اصـلی را در اتصـال بـه اپیتلیـال مجـاری ادراری و کلیـه ایفـا مـی کننـد (۱۳). یکـی از مهمترین این پیلی هـا، پیلـی نـوع ۱ (Type 1 pilli) نـام دارد. خوشه ژنی *fim* کـه پیلـی نـوع ۱ را کـد مـی کنـد شامل ۹ ژن است که ۷ تای آن در یـک اپـرون سـازمان یافته اند. زیر واحد پروتئینی عمده تشـکیل دهنـده پیلـی پیلی نوع ۱، fimA است و چند زیرواحـد جزئـی دیگـر نیز به نـام هـای fimF, fimG و fimH دارد. زیـر واحـد کوچـک کـه fimH اسـت در فـرم بـالغ خـود از ۲۷۹ اسـیدآمینه تشـکیل شـده اسـت. و یـک واسـطه بـرای چسبندگی به باقی مانده دی مانوز است کـه در سـلول-های ماکروفاژ اپی‌تلیـال و بسـیاری دیگـر از سـلول‌هـای میزبـان حضـور دارد (۲۲،۱۶). هرچنـد کـه هنـوز هـم اندکی تردید در نقش اصلی پیلـی و قـدرت چسـبندگی fimH آن وجود دارد، اما گفته می شود که fimH برای ایجاد عفونت دستگاه ادراری که اغلب در زنان بیشتر از مردان اتفاق می افتد ضروری است زیرا با حذف fimH عفونـت ادراری هـم ناپدیـد مـی شـود (۲۵،۷). در ایـن مطالعه میـزان حضـور ژن *fimH* در جدایـه‌هـای UPEC بصورت معناداری ($P<0.05$) بیشتر از سایر جدایـه‌هـای *اشریشیاکلی* انسـان و APEC بـود. ایـن موضـوع کـاملاً مطابق با نقش این ژن در اتصال بـاکتری بـه اپـی‌تلیـال و بروز عفونـت‌هـای ادراری مـی‌باشـد. در مطالعـه‌ای کـه توسط مهدیخانی و همکاران در سـال ۱۳۹۴ انجـام شـد شـیوع ایـن ژن در جدایـه هـای UPEC/*شریشـیاکلی* ۳۳/۳٪ گزارش شد (۳). در مطالعه دیگـری کـه توسـط حجتی و همکاران در سال ۲۰۱۵ صورت گرفت میـزان حضور این ژن در میان سویه‌های UPEC ۹۲/۸٪ بدست آمد (۱۱). همچنین شمس و جایدری در سال ۱۳۹۵ این میـزان را ۲۶٪ گـزارش کردنـد کـه میـزان شـیوع نسـبتاً پایینی از این ژن در میان سویه‌های UPEC می‌باشد (۱). حجم وسیعی از مستندات عنوان می کنند که سویه هـای طیور بـاکتری *اشریشـیاکلی* تحـت عنـوان APEC مـی-توانند یک منبع بسیار محتمـل بـرای سـویه‌هـای عامـل عفونت ادراری (UTI) و یا دیگر عفونـت‌هـای ناشـی از سـویه‌هـای خـارج روده‌ای *اشریشـیاکلی* (ExPEC) در انسـان باشـد (۳۰،۲۳). شـناخت دقیـق ایـن قرابـت‌هـای ژنتیکی و مشخص نمودن راه‌های بیماریزایی ایـن سـویه های مشترک شروع مسیر انتخاب یک راهکـار مناسـب برای جلوگیری از انتشار این سویه ها در میـان جمعیـت انسانی است. در مطالعه حاضـر نیـز از تعـداد ۴۰ جدایـه طیور گوشتی سالم ۲۷ مورد (۶۷/۵٪) دارای ژن حـدت *fimH* بودند که به نوعی می‌تواند مؤید همـین موضـوع باشد که سویه‌هـای طیـور *اشریشـیاکلی* بصـورت بـالقوه توانـایی بـروز عفونـت‌هـای ادراری در انسـان را دارنـد. بررسی توالی ژن *fimH* بدست آمده از جدایه‌های طیور و انسان در مطالعه حاضر و ارزیـابی و مقایسـه آن هـا بـا سایر تـوالی هـای مشـابه در بانـک ژن، تشـابه دو تـوالی بدست آمده در این مطالعه بـا یکـدیگر و تفـاوت نسـبتاً زیـاد آن‌هـا بـا سـایر تـوالی هـای ثبـت شـده در پایگـاه اطلاعاتی NCBI را نشان می‌دهد (شکل ۲).

در آخر با توجه به نتایج مطالعه حاضـر، مـی تـوان ذکـر کرد که الگوی مقاومت جدایه‌های *اشریشیاکلی* انسان و طیور به طور معناداری متفاوت است که می تواند بیانگر تفـاوت در روش‌هـای درمـانی و داروهـای انتخـابی در

عفونت‌های *اشریشیاکلی* انسان و طیور باشد. همچنین فراوانی ژن *fimH* در جدایه‌های UPEC، بیشتر از سویه‌های طیوری *اشریشیاکلای* بود. با این وجود با توجه به حضور این ژن که دارای نقش مؤثری در بیماریزایی این سویه ها دارد، می توان ابراز داشت که سویه های طیوری نیز بصورت بالقوه می‌توانند توانایی ایجاد بیماری در انسان را داشته باشند.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر با استفاده از منابع مالی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل صورت گرفته است. همچنین نویسندگان مقاله کمال تشکر و قدردانی را از جناب آقای دکتر سعید سیفی بابت همکاری و مساعدت ایشان در انجام این مطالعه دارند.

منابع

۱- شمس، ن.، جایدری، امین. (۱۳۹۵). ردیابی مولکولی ژن کد کننده فیمبریه نوع یک (fimH) در سویه های اوروپاتوژنیک *اشریشیاکلی* جداشده از بیماران سرپایی مبتلا به عفونت مجرای ادراری. *مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا*، دوره ۶، شماره ۲، صفحات ۲۲۱-۲۲۶.

۲- عبدالهی خیرآبادی، س.، نجفی پور، س.، کفیل زاده، ف.، عبدالهی، ع.، جعفری، س.، مروج. ع. (۱۳۹۱). بررسی الگوی مقاومت دارویی در سویه‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان ولی عصر شهرستان فسا. *مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا*، دوره ۲، شماره ۴، صفحات ۲۷۳-۲۷۸.

۳- مهدیخانی، م.، پیمانی، امیر.، ناصرپور فریور، ت و اصلانیمهر، م. (۱۳۹۴). فراوانی ژنهای کدکننده فیمبریه های نوع ۱ و P در جدایه های *اشریشیاکلی* بیماران بستری در بیمارستانهای کرج و قزوین، مجله دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دوره ۱۹، شماره ۳، صفحات ۳۵-۴۰.

۴- میرمصطفی، س.م.، حدادی، ا.، امیرمظفری ثابت, ن. (۱۳۹۲). تعیین الگوی پلاسمیدی و مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های بالینی *اشریشیاکولی* جدا شده از بیماران مناطق مختلف شهر کرج. *مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی*، دوره ۳، شماره ۱۲، صفحات ۹۳-۹۷.

5. Akhtar, F., Rabbani, M., Muhammad, K., Younus, M., Ghafoor, A., Sheikh, A.A., Ahmad, A., Muhammad, J., Rasool, A. and Shaheen, A.Y. (2016). Comparative antibiotic resistance profile of the multidrug resistant *E. coli* isolated from commercial and backyard poultry. japs: *Journal of Animal & Plant Sciences* **26**:1628-1632.
6. Amiri, P., Pournajaf, A., Shavalipour, A., Tayebi, Z., Goudarzi, H., Eslami, G., Hashemi, A. and Gholami, M. (2015). Evaluation of Antimicrobial Resistance in the Beta-lactamase Producing *Escherichia Coli* Isolated from Urinary Tract Infection in the Patients Referring to Taleghani Hospital of Tehran. *Tabari Journal of Preventive Medicine* **1**: 11-19.
7. Chen, Swaine L., Chia S. Hung, Jerome S. Pinkner, Jennifer N. Walker, Corinne K. Cusumano, Zhaoli Li, Julie Bouckaert, Jeffrey I. Gordon, and Scott J. Hultgren. (2009). Positive selection identifies an in vivo role for FimH during urinary tract infection in addition to mannose binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**: 22439-44.
8. Cho, S.H., Lim, Y.S. and Kang, Y.H. (2012). Comparison of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from healthy poultry and swine farm workers using antibiotics in Korea. *Osong Public Health and Research Perspectives* **3**:151-5.
9. Ferreira, A.J.P., L. Revolledo, Ferreira, C.S.A. (2009). *Colibacilose*. Patologia Aviária. Manole, Barueri: 67-74.
10. Hammerum, A.M., Heuer, O.E. (2009). Human health hazards from antimicrobial-resistant Escherichia coli of animal origin. *Clinical Infectious Diseases* **48**: 916-21.
11. Hojati, Z., Zamanzad, B., Hashemzadeh, M., Molaie, R., Gholipour, A. (2015). The *FimH* Gene in Uropathogenic *Escherichia coli* Strains Isolated From Patients With Urinary Tract Infection. *Jundishapur Journal Of Microbiology* **8**: e17520
12. Johnson, J.R., Manges, A.R., O'Bryan, T.T., Riley, L.W. (2002). A disseminated multidrug-resistant clonal group of uropathogenic *Escherichia coli* in pyelonephritis. *Lancet* **359**:2249–51.

Nolan, L.K. (2005). Comparison of *Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. *Microbiology* **151**:2097-110.
24. Smith, D.L., Harris, A.D., Johnson, J.A., Silbergeld, E.K., Morris, J.G. (2002). Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **99**:6434-9.
25. Sokurenko, E.V., Feldgarden, M., Trintchina, E., Weissman, S.J., Avagyan, S., Chattopadhyay, S., Johnson, J.R., Dykhuizen, D.E. (2004). Selection footprint in the FimH adhesin shows pathoadaptive niche differentiation in *Escherichia coli*. *Molecular Biology and Evolution* **21**:1373-83.
26. Srinivasan, V., Nam, H.M., Sawant, A.A., Headrick, S.I., Nguyen, L.T., Oliver, S.P. (2008). Distribution of tetracycline and streptomycin resistance genes and class 1 integrons in *Enterobacteriaceae* isolated from dairy and nondairy farm soils. *Microbial Ecology* **55**:184-193.
27. Talebiyan, R., Kheradmand, M., Khamesipour, F., & Rabiee-Faradonbeh, M. (2014). Multiple antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens in Iran. *Veterinary Medicine International* 2014: Article ID 491418, 4 pages
28. Tamura, K. and Nei M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* **10**:512-526.
29. van der Sluijs, M.T., Kuhn, E.M., Makoschey, B. (2010). A single vaccination with an inactivated bovine respiratory syncytial virus vaccine primes the cellular immune response in calves with maternal antibody. *BMC Veterinary Research* **6**: 2.
30. Zhao, L., Gao, S., Huan, H., Xu, X., Zhu, X., Yang, W., Gao, Q., Liu, X. (2009). Comparison of virulence factors and expression of specific genes between uropathogenic *Escherichia coli* and avian pathogenic *E. coli* in a murine urinary tract infection model and a chicken challenge model. *Microbiology* **155**:1634-44.
13. Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H.L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* **2**:123-40.
14. Kazemnia, A., Ahmadi, M., Dilmaghani, M. (2014). Antibiotic resistance pattern of different *Escherichia coli* phylogenetic groups isolated from human urinary tract infection and avian colibacillosis. *Iranian biomedical journal* **18**: 219–224.
15. Koluman, A., Dikici A. (2013). Antimicrobial resistance of emerging foodborne pathogens: status quo and global trends. *Critical Reviews In Microbiology* **39**: 57-69.
16. Krogfelt, K.A., Bergmans, H., Klemm, P. (1990). Direct evidence that the FimH protein is the mannose-specific adhesin of *Escherichia coli* type 1 fimbriae. *Infection and Immunity* **58**: 1995-8.
17. Lai, Y.M., Norgainathai, R., Zaw, M.T., Lin, Z., A (2015). A New Primer Set for Detection of *fimH* Gene in *Escherichia coli* Isolates. *International Journal of Collaborative Research on Internal Medicine & Public Health* **7**: 65-71.
18. Mathew, A.G., Cissell, R., Liamthong, S. (2007). Antibiotic resistance in bacteria associated with food animals: a United States perspective of livestock production. *Foodborne pathogens and disease* **4**: 115-133.
19. Mulvey, M.A., Lopez-Boado, Y.S., Wilson, C.L., Roth, R., Parks, W.C., Heuser, J., Hultgren, S.J. (1998). Induction and evasion of host defenses by type-1 piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *Science* **282**:1494-7.
20. Nakazato, G., Campos, T.A., Stheling, E.G., Brocchi, M., Silveira, W.D. (2009). Virulence factors of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Pesquisa Veterinária Brasileira* **29**:479-86.
21. Pourbakhsh, S.A., Boulianne, M., Marineau-Doizé, B., Fairbrother, J.M. (1997a). Virulence mechanisms of avian fimbriated *Escherichia coli* in experimentally inoculated chickens. *Veterinary Microbiology* **58**:195-213.
22. Pourbakhsh, S.A., Dho-Moulin M., Bree A., Desautels C., Marineau-Doizé B., Fairbrother J.M. (1997b) Localization of the in vivo expression of P and F1 fimbriae in chickens experimentally inoculated with pathogenic *Escherichia coli*, *Microbial Pathogenesis* **22:**331-341.
23. Rodriguez-Siek, K.E., Giddings, C.W., Doetkott, C., Johnson, T.J., Fakhr, M.K.,

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 14, Issue 2, 2018

Antibiotic resistance and detection of the *fimH* gene among *Escherichia coli* isolates obtained from human and broilers

Khoshbakht, R.[1]*, Hadinezhad, S.H.[2], Khosravi, M.[1], Mihankhah, A.[3], Salavati, M.[4], Mohabbat, A.[5]

1. *Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran*
2. *Bachelor of Science, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran*
3. *Master of Microbial Biotechnology, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran*
4. *Master of Food Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Chamran, Ahvaz, Iran*
5. *Ph.D. of Veterinary Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Chamran, Ahvaz, Iran*

Received: 10 June 2017 Accepted: 20 May 2018

Abstract

Broilers are one of the potential sources of bacterial infections particularly Escherichia coli infections in human. Different studies have previously showed genetic similarities between APEC (avian pathogenic E. coli) strains and human pathogen strains of the microorganism. In this study we evaluate the presence of the fimH virulence gene among human and broiler isolates of E. coli. In addition the antibiotic susceptibility of the strains was investigated. After collection and identification of the isolates (including 26 human isolates and 60 broilers isolates), at first, total DNA of the pure microorganisms was extracted using boiling method and then DNA samples were subjected to PCR using specific primers for fimH gene. Antibiotic resistance pattern was evaluated by disk diffusion methods for 14 different antibacterial agents. Among 86 E. coli isolates, the fimH gene was detected in 53 (61.62%) isolates. In addition, the isolates showed high resistance to oxacilin (93.02%), colistin (91.86%) and cephalexin (89.53%) respectively. According to the results, the prevalence of the fimH gene among human isolates was significantly ($P<0.05$) higher than avian isolates. In total, 70 different antibiotic resistance patterns were observed among isolates which showed that there are significant differences between the resistance patterns of different isolates with different sources. It can be due to the use of various antibiotics in treating the complications of this bacterium in humans and livestock.

Keywords: E. coli, fimH, antibiotic resistance

**Corresponding author: Khoshbakht, R.*
Address: Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran. Tel: +981144271054
E-mail address: r.khoshbakht@ausmt.ac.ir