Journal of Microbial World
Volume 15, No. 1, June 2022

Original Article

Antibiotic resistance and frequency of fimH, papC and sfa-foc virulence genes in Escherichia coli isolated from Caspian horse feces in Guilan province

Elham Nouri[1], **Leila Asadpour**[2]

[1]Msc, Department of Biology, Rasht Branch, Islamic azad University, Rasht, Iran. [2]Associate Professor, Department of Biology, Rasht Branch, Islamic azad University, Rasht, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Due to the widespread use of antimicrobials in veterinary medicine and the increase in livestock production, it seems that the risk of spreading antibiotic resistance in human societies is more related to animals and the veterinary field. In this study, antibiotic resistance and frequency of fimH, papC and sfa-foc virulence genes among Escherichia coli isolated from Caspian horse feces in Guilan were studied.

Materials & Methods: In this cross- sectional study, E. coli isolates were isolated from the feces of 157 apparently healthy Caspian horses by culture method and biochemical tests. Resistance patterns against 17 different antibiotics were determined by disk diffusion method and frequency of virulence genes were assessed by PCR in isolates.

Results: In phenotypic assay of antibiotic resistance, the isolates showed the most resistance to streptomycin and sulfamethoxazole-trimetoprim antibiotics. Imipenem and gentamicin were the most effective antibiotics and 51.59 percent of isolates showed multi drug resistance pattern. The frequency of fimH, papC and sfa-foc virulence genes in isolates were 91%, 56.6% and 33.3%, respectively. Frequency of all of three investigated genes were significantly higher in MDR isolates ($P< 0.05$).

Conclusion: The results of the present study indicate that Escherichia coli isolated from the feces of horses in Guilan has the potential to transmit antibiotic resistance and threaten public health.

Keywords: Antibiotic resistance, horse, Escherichia coli, Virulence genes.

Received: 5 January 2022 Revised: 9 April 2022 Accepted: 26 May 2022

Correspondence to: Leila Asadpour
Tel: +98 9113383860
E-mail: asadpour@iaurasht.ac.ir

Journal of Microbial World 2022, 15(1): 68-77
DOI:10.30495/jmw.2022.1932317.1978

Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.

مجله دنیای میکروب‌ها
سال پانزدهم شماره اول (پیاپی ۵۰) بهار ۱۴۰۱
صفحات ۷۷-۶۸

Original Article

مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های حدت fimH، papC و sfa-foc در *اشریشیا کلی* جدا شده از مدفوع

الهام نوری[۱]، لیلا اسدپور[۲*]

[۱]کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران. [۲]دانشیار، گروه زیست شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به مصرف گسترده مواد ضد میکروبی در دامپزشکی و افزایش تولیدات دامی به نظر می‌رسد خطر گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جوامع انسانی بیشتر در ارتباط با حیوانات و حوزه دامپزشکی باشد. در این مطالعه مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های حدت fimH، papC و sfa-foc در اشریشیا کلی جدا شده از مدفوع اسب‌های کاسپین در گیلان مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی، سویه‌های اشریشیا کلی از مدفوع ۱۵۷ اسب کاسپین به ظاهر سالم به روش کشت و انجام تست‌های بیوشیمیایی جداسازی شدند. الگوی مقاومت نسبت به ۱۷ آنتی‌بیوتیک، به روش انتشار دیسک و فراوانی ژن‌های حدت به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در جدایه‌ها بررسی شد.

یافته‌ها: در بررسی فنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها، بیشترین مقاومت به آنتی بیوتیک‌های استرپتومایسین و سولفامتوکسازول-تریمتوپریم بود. ایمیپنم و جنتامایسین موثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها بودند و ۵۱/۵۹ درصد جدایه‌ها الگوی مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی نشان دادند. فراوانی ژن‌های حدت fimH، papC و sfa-foc در جدایه‌ها به ترتیب ۹۱، ۵۶/۶ و ۳/۳۳ درصد بود. فراوانی هر سه ژن مورد مطالعه در جدایه‌های MDR به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر بیانگر آن است که اشریشیا کلی‌های جدا شده از مدفوع اسب‌های گیلان پتانسیل انتقال مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی از طریق محیط و به مخاطره انداختن بهداشت عمومی را دارند.

واژگان کلیدی: مقاومت آنتی‌بیوتیکی، اسب، اشریشیا کلی، ژن‌های حدت.

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۰/۱۵ ویرایش مقاله: ۱۴۰۱/۱/۲۰ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۳/۵

مقدمه

استفاده از مواد ضد میکروبی برای درمان و یا پیشگیری از بیماری‌های باکتریایی منجر به پیدایش میکروارگانیسم‌های مقاوم به مواد ضد میکروبی می‌شود(۱). تقریبا ۱۰ درصد از آنتی‌بیوتیک‌های تجویز شده برای درمان بیماری‌های عفونی استفاده می‌شوند، در حالیکه ۹۰ درصد از آن‌ها به عنوان محرک برای تقویت رشد، بهبود عملکرد تولید مثل، نگهداری مواد غذایی و همچنین کاهش مرگ و میر استفاده می‌شوند (۲و۳). استفاده از آنتی‌بیوتیک در دامپزشکی به عنوان یک مجرای بالقوه برای دستیابی به باکتری‌های مقاوم به ترکیبات ضد

*) آدرس برای مکاتبه: گروه زیست شناسی، بلوار لاکان، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.
تلفن: ۰۹۱۱۳۳۸۳۸۶۰ پست الکترونیک: asadpour@iaurasht.ac.ir

حقوق نویسندگان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد و تحت مجوز مالکیت خلاقانه (http://creativecommons.org/licenses/bync/4.0/) در فصلنامه دنیای میکروب‌ها منتشر شده است. هرگونه استفاده غیرتجاری فقط با استناد و ارجاع به اثر اصلی مجاز است.

میکروبی در نظر گرفته می‌شود (۲). اگرچه آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در پزشکی و دامپزشکی متفاوت هستند، اما علی‌رغم این اختلاف ارتباط نزدیکی با یکدیگر دارند. داروهای ضد میکروبی دامپزشکی اغلب دارای شباهت ساختاری با داروهای آنتی‌بیوتیکی انسانی هستند (۲و٤و٥). با توجه به برآورد مصرف مواد ضد میکروبی در کشورهایی که تولیدات حیوانی آن‌ها در طی دهه‌ی آینده رو به افزایش است، به نظر می‌رسد خطر گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی بیشتر در ارتباط با حیوانات و حوزه دامپزشکی می‌باشد (٦). استفاده از داروهای آنتی‌بیوتیک در حیوانات نه تنها در سویه‌های بیماری‌زا بلکه در سویه‌های باکتری‌های هم‌زیست افراد و گروه‌ها نیز باعث ایجاد مقاومت می‌شود (۷). اسب‌ها یک مخزن طبیعی از میکروارگانیسم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و عوامل تعیین کننده ژنتیکی مقاومت هستند که تأثیر مستقیمی بر سلامت، راندمان درمان، و ایمنی اپیدمیولوژیک افرادی که با این حیوانات در تماس هستند دارند (۸). مقاومت ضد باکتریایی بخصوص مقاومت چند دارویی (MDR) که شامل مقاومت همزمان به ۳ کلاس آنتی‌بیوتیک از جمله بتالاکتام‌ها، آمینوگلیکوزیدها، مشتقات سولفا- تری متوپریم و کینولون‌ها می باشد، در طیف گسترده‌ای از باکتری‌های بیماری‌زا و هم‌زیست اسب‌ها از جمله انتروباکتریاسه نگران کننده است و یافتن داروی مناسب درمان را در موارد بروز عفونت دشوار می‌سازد. مقاومت چند دارویی در خانواده انتروباکتریاسه در حال تبدیل شدن به یک نگرانی عمده در سراسر جهان بخصوص در دامپزشکی است (۷و۹). *اشریشیا کلی* یک میکروارگانیسم بی‌هوازی، گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه می‌باشد که به عنوان میکروفلور در دستگاه گوارش انسان و حیوانات وجود دارد. بیشتر سویه‌های *اشریشیا کلی* غیربیماری‌زا هستند و برخی از سویه‌ها در مجاری روده حیوانات سالم نقش مهمی دارند اما برخی از سویه‌ها عامل بیماری در روده و خارج از روده هستند، *اشریشیا کلی*های پاتوژن باعث انواعی از بیماری‌ها اعم از عفونت دستگاه گوارش، دستگاه ادراری و خون می‌شوند (۱۰). عوامل حدت که اغلب به سویه‌های بیماری‌زای *اشریشیا کلی* نسبت داده می‌شوند شامل فیمبریه، تاژک، تولید آئروباکتین، تولید باکتریوسین‌ها، تولید همولیزین، وجود پلاسمیدهای بزرگ مقاومت دارویی و بعضی عوامل دیگر می‌باشد. اتصال به سلول میزبان اولین مرحله ضروری برای ایجاد بیماری است که توسط ادهسین‌ها (آنتی‌ژن‌های فیمبریال) صورت می‌گیرد (۱۱و۱۲). از ادهسین‌های معمول موجود در *اشریشیا کلی* می‌توان به فیمبریه نوع P، فیمبریه نوع I، فیمبریه نوع S، F1C فیمبریه و ادهسین‌های خانواده Dr نام برد که توسط ژن‌های *fim*، *sfa*، *foc*، *afa* و *pap* کد می‌شوند (۱۳). در مطالعات پیشین همراهی این ژن‌ها با عفونت‌های حاد *اشریشیا کلی* گزارش شده است (١٤). در سال‌های اخیر با افزایش مصرف مداوم و گاهی نادرست از ترکیبات ضد میکروبی که سبب نابودی میکروارگانیسم‌های حساس و در نتیجه بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی و افزایش سویه‌های مقاوم می‌گردد، سلامت جوامع مورد تهدید قرار گرفته و این یکی از مهم‌ترین مشکلات و نگرانی‌های بهداشتی در حال توسعه در جهان است. بنابراین تحقیق حاضر با هدف ارزیابی میزان وفور جدایه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و الگوهای مقاومتی و نیز حضور عوامل حدت *fim*H، *pap*C و *sfa-foc* در *اشریشیا کلی*‌های جدا شده از مدفوع اسب‌های کاسپین استان گیلان صورت پذیرفته است.

مواد و روش‌ها

الف) جمع‌آوری نمونه‌ها وشناسایی فنوتیپی: در این تحقیق از ۱۵۷ نمونه مدفوع اسب کاسپین به ظاهر سالم استفاده شده است. نمونه‌ها از مرکز تحقیقات اسب کاسپین و ۷ باشگاه سوارکاری استان گیلان جمع‌آوری شد. از محیط مک کانکی آگار (Merk) و EMB (Quelab) برای شناسایی باکتری *اشریشیا کلی* استفاده شد. پلیت‌ها در انکوباسیون ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ ساعت قرار گرفتند. این باکتری بر روی محیط مک کانکی کلنی‌هایی با قطر یک الی سه میلی‌متر به رنگ صورتی روشن ایجاد می‌کند و در محیط EMB کلنی‌ها دارای جلای متالیک سبز رنگ هستند. از تست‌های بیوشیمیایی کاتالاز، اکسیداز، سیمون سیترات، TSI، SIM، اوره‌آز و

MR-VP (Merk) در تشخیص دقیق جدایه‌های *اشریشیا کلی* استفاده شد (۱۵و۱۶).

ب) تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار از دیسک: مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها به روش انتشار دیسک با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی تعیین شد. برای این منظور، ۱۰۰ میکرولیتر از کشت میکروبی با کدورتی معادل غلظت ۰/۵ مک فارلند بر روی محیط مولر هینتون آگار (Quelab) گسترده و سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیک (پادتن طب) بر روی کشت قرار داده شدند. سپس پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. قطر هاله‌های عدم رشد بر اساس جدول استاندارد CLSI به صورت حساس (S)، مقاوم (R) و دارای حساسیت بینابینی (I) گزارش شدند (۱۷). دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مورد مطالعه شامل آمیکاسین (۳۰ µg)، جنتامایسین (۱۰ µg)، ایمیپنم (۱۰ µg)، سفتازیدیم (۳۰ µg)، سفوتاکسیم-کلاولانیک اسید (۳۰/۱۰ µg)، سفوتاکسیم (۳۰ µg)، آمپی‌سیلین (۱۰ µg)، آموکسی-کلاو (۲۰/۱۰ µg)، آزترونام (۳۰ µg)، کلرآمفنیکول (۳۰ µg)، سیپروفلوکساسین (۵ µg)، نالیدیکسیک اسید (۳۰ µg)، تری متوپریم-سولفامتوکسازول (۲۵/۷۵-۱/۲۳ µg)، داکسی سایکلین (۳۰ µg)، اکسی تتراسایکلین (۳۰ µg)، استرپتومایسین (۱۰ µg) و انروفلوکساسین (۵ µg) بود.

ج) بررسی فراوانی ژن‌های حدت به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز: برای استخراج DNA ژنومی از جدایه‌های *اشریشیا کلی* از روش جوشاندن استفاده شد (۱۸). آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر روی DNA حاصل ۱۵۷ جدایه *اشریشیا کلی* برای ژن‌های *fim*H، *pap*C و *sfa-foc* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) انجام گرفت (۱۸). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۱۵ میکرولیتر انجام شد که هر واکنش شامل ۷ میکرولیتر مستر میکس (CinnaGen) (حاوی ۱۰ X PCR Buffer، MgCL2، dNTP با غلظت ۲۰ میلی‌مول و ۱ واحد آنزیم Taqpoymerase)، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۱۰ پیکومول، ۲ میکرولیتر DNA الگو و ۴ میکرولیتر آب مقطر استریل می‌باشد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای هر ژن در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، ۵۸ درجه سلسیوس به مدت ۴۰ ثانیه، ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵۰ ثانیه و ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۷ دقیقه انجام شد و برای مشاهده نتیجه تکثیر ژن‌های مورد مطالعه، الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد در شرایط ۱۲۰ ولت و بافر 0.5X TBE به مدت ۲۰ الی ۳۰ دقیقه انجام شد. محصول الکتروفورز تحت نور UV مشاهده شد. جهت تایید صحت انجام PCR، از هر ژن یک نمونه محصول PCR تعیین توالی گردید.

د) تجزیه و تحلیل آماری: ارتباط بین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و فراوانی ژن‌های مرتبط با حدت در باکتری‌های مورد آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون Chi-square مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $P\leq0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱: توالی نوکلئوتیدی پرایمر های مورد استفاده.

ژن	توالی آغازگر	طول محصول (bp)	منبع
fimH-F	-'5TGCAGAACGGATAAGCCGTG -3'	۵۰۸	۱۹
fimH-R	-'5GCAGTCACCTGCCCTCCGGT-3'		
papC-F	-'5GTGGCAGTATGAGTAATGACCGTTA-3'	۲۰۰	۱۹
papC-R	-'5GTGGCAGTATGAGTAATGACCGTTA-3'		
sfa-foc-F	-'5CTCCGGAGAACTGGGTGCAT CTTAC-3'	۴۱۰	۱۹
sfa-foc-R	-'5CGGAGGAGTAATTACAAACCTGGCA -3'		

یافته‌ها

الف) جداسازی باکتری و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه ها: تمامی جدایه‌ها با استفاده از آزمایشات کشت و بیوشیمیایی بررسی و مطابق با استانداردهای تشخیصی به عنوان *اشریشیا کلی* شناسایی و تایید گردیدند. از میان ۱۵۷ جدایه *اشریشیا کلی*، ۲۶ جدایه (۱۶/۵۶ درصد) به تمامی ۱۷ آنتی‌بیوتیک مورد استفاده در آزمون حساس (S) بودند و ۱۳۱ جدایه (۸۳/۴۴ درصد) حداقل به یک آنتی‌بیوتیک مقاوم (R) بوده‌اند. ۸۱ جدایه (۵۱/۵۹ درصد)، فنوتیپ MDR (مقاومت به ۳ کلاس آنتی‌بیوتیک) و یک جدایه (۰/۶۳ درصد) فنوتیپ XDR (مقاوم به ۳ کلاس آنتی‌بیوتیک + مقاومت به ایمیپنم) نشان دادند. نتایج آنتی‌بیوگرام جدایه‌های مورد مطالعه در جدول ۲ آورده شده است.

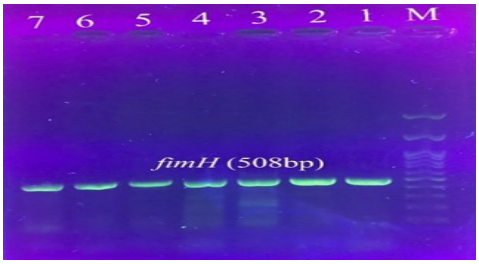
جدول ۲: نتایج بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *اشریشیا کلی* های مورد مطالعه.

آنتی‌بیوتیک	مقاوم	حساسیت بینابینی	حساس
آمیکاسین	۱۲ (٪۷/٦٤)	٦ (٪ ۳/۸۲)	۱۳۹ (٪ ۸۸/۵۳)
جنتامایسین	۱ (٪ ۰/٦۳)	٦ (٪ ۳/۸۲)	۱۵۰ (٪ ۹۵/۵)
ایمیپنم	۱ (٪ ۰/٦۳)	۱ (٪ ۰/٦۳)	۱۵۵ (٪۹۸/۷۲)
سفتازیدیم	۲۵ (٪۱۵/۹۲)	۱ (٪ ۰/٦۳)	۱۳۱ (٪ ۸۳/٤۳)
سفوتاکسیم- کلاولانیک اسید	۸ (٪ ۵/۰۹)	۵ (٪ ۳/۱۸)	۱٤٤ (٪۹۱/۷۲)
سفوتاکسیم	۹ (٪ ۵/۷۳)	۱ (٪ ۰/٦۳)	۱٤۷ (٪ ۹۳/٦۳)
آمپی‌سیلین	۳۲ (٪ ۲۰/۸۳)	٤ (٪۲/۵٤)	۱۲۱ (٪۷۷/۰۷)
آموکسی-کلاو	۲۷ (٪ ۱۷/۱۹)	۱ (٪ ۰/٦۳)	۱۲۹ (٪ ۸۲/۱٦)
آزترونام	۲۹ (٪۱۸/٤۷)	۰ (٪ ۰)	۱۲۸ (٪ ۸۱/۵۲)
کلرآمفنیکل	۱۹ (٪ ۱۲/۱۰)	٤ (٪ ۲/۵۲)	۱۳٤ (٪ ۸۵/۳۵)
سیپروفلوکساسین	۲ (٪ ۱/۲۷)	۲ (٪ ۱/۲۷)	۱۵۳ (٪ ۹۷/٤۵)
نالیدیکسیک اسید	۲٤ (٪ ۱۵/۲۸)	۳ (٪ ۱/۹۱)	۱۳۰ (٪ ۸۲/۸۰)
تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول	٤۷ (٪ ۲۹/۹۳)	۱ (٪ ۰/٦۳)	۱۰۹ (٪ ٦۹/٤۲)
داکسی سایکلین	۳۲ (٪ ۲۰/۳۸)	۱۲ (٪ ۷/٦٤)	۱۱۳ (٪ ۷۱/۹۷)
اکسی تتراسایکلین	٤۵ (٪ ۲۸/٦٦)	۰ (٪ ۰)	۱۱۲ (٪ ۷۱/۳۳)
استرپتومایسین	۹٤ (٪ ۵۹/۸۷)	۱۲ (٪ ۷/٦٤)	۵۱ (٪ ۳۲/٤۸)
انروفلوکساسین	۲ (٪ ۱/۲۷)	۰ (٪ ۰)	۱۵۵ (٪ ۹۸/۷۲)

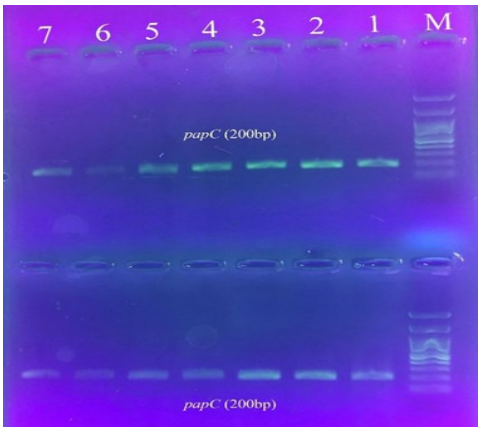
ب) بررسی فراوانی ژن‌های حدت در جدایه‌ها: در بین جدایه‌های *اشریشیا کلی*، پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و الکتروفورز و مشاهده باندها، برای هر یک از ژن‌های مورد بررسی، از میان ۱۵۷ جدایه *اشریشیا کلی*، ۱٤۳ جدایه (۹۱/۰۸ درصد) دارای ژن حدت *fimH*، ۸۹ جدایه (٦۵/٦۹ درصد) دارای ژن حدت *papC* و ۵۲ مورد از جدایه‌ها (۳۳/۱۲ درصد) دارای ژن حدت *sfa-foc* بودند (جدول۳). فراوانی هر سه ژن مورد مطالعه در جدایه‌های MDR به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (P<۰۵/۰). همچنین همه جدایه‌های مقاوم به استرپتومایسین، اکسی تتراسیکلین و سفوتاکسیم واجد ژن *fimH* و *papC* بودند. همه جدایه‌های مقاوم به تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول و نالیدیسکسیک اسید واجد ژن‌های *fimH* و *sfa-foc* بودند. فراوانی ژن *sfa*-foc در جدایه‌های مقاوم به استرپتومایسین، تتراسیکلین‌ها و تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول بیشتر از جدایه‌های حساس بود (P<۰۵/۰).

جدول ۳: فراوانی ژن های حدت در جدایه‌ها

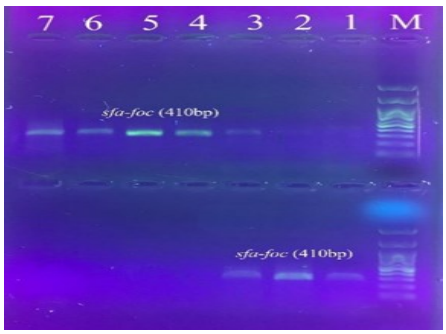
نام ژن	تعداد (درصد)
fimH	۱٤۳ (۹۱/۰۸)
papC	۸۹ (۵٦/٦۹)
sfa-foc	۵۲ (۳۳/۱۲)



تصویر ۱: الکتروفورز محصول PCR ژن *fimH*. ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱-۷: محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ژن *fimH* .



تصویر ۲: الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ژن *papC*. ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱-۷: محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ژن *papC*.



تصویر ۳: الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ژن *sfa-foc*. ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱-۷ در ژل بالا و ۱-۳در ژل پایین: محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ژن *sfa-foc*.

بحث

آنتی‌بیوتیک‌ها ترکیباتی هستند که به طور گسترده در درمان عفونت‌های باکتریایی در بخش‌های مختلف انسانی و دامی، گیاهان و محصولات زراعی و آبزی پروری مورد استفاده قرار می‌گیرند. باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک می‌توانند مستقیماً از طریق تماس با حیوان آلوده یا به طور غیرمستقیم از طریق زنجیره غذایی توسط مصرف غذای آلوده به انسان برسند. شیوع باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک سلامت عمومی جهانی را تهدید می‌کند (۲۰). میکروبیوم حیوانات و محیط زیست از عوامل تعیین کننده‌ی مقاومت هستند، که به عنوان یک پل ژنتیکی به میکروبیوم بدن انسان در نظر گرفته می‌شوند و می‌توانند ژن‌های مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها را به میکروبیوم روده انسان منتقل کنند (۲۱). در مطالعه حاضر از بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *اشرشیا کلی*‌های جدا شده از مدفوع اسب، ۸۳/٤٤ درصد از جدایه‌ها حداقل به یک آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند و ۵۱/۵۹ درصد آن‌ها دارای فنوتیپ مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی بودند. بیشترین میزان مقاومت جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین و سولفامتوکسازول-تریمتوپریم بود. ایمیپنم و جنتامایسین موثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها بودند. همسو با نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه‌ای که بر روی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *اشرشیا کلی*‌های جدا شده از انسان و دام‌های اهلی (اسب و گاو) در مصر انجام شد ایمی‌پنم موثرترین آنتی‌بیوتیک بود. اگرچه در این پژوهش ۹۰ درصد جدایه های اشرشیا کلی دارای مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی گزارش شد که بسیار بیشتر از مطالعه حاضر می‌باشد (۱٤). از سوی دیگر فراوانی سویه‌های با مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی در مطالعه حاضر بیشتر از مقدار گزارش شده در مطالعه رشادی و همکاران (۲۰۲۱) است که این مقدار را در *اشرشیا کلی*‌های جدا شده از مدفوع اسب‌های سالم در استان کرمان، ۲٦/۱۵ درصد شناسایی نمودند (۲۲).

در سال ۲۰۱۰ احمد و همکاران مقاومت آنتی‌بیوتیکی *اشریشیا کلی* مدفوعی جدا شده از اسب‌های غرب انگلستان را مورد مطالعه قرار دادند. از میان نمونه‌های جدا شده از اسب‌های بستری در بیمارستان، ۸۱/٦۵ درصد و از اسب‌های سالم ۲۵/۵ درصد حاوی حداقل یک جدایه باکتری *اشریشیا کلی* مقاوم به آنتی‌بیوتیک بودند و ۳۸/۸ درصد از جدایه‌ها دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی چند دارویی بودند که بیشتر آن‌ها (۹۲/۱۷ درصد) منشأ بیمارستانی داشتند (۲۳). در مطالعه برایان و همکاران در سال ۲۰۱۰ در بررسی شیوع مقاومت در باکتری *اشریشیا کلی* همزیست مدفوع اسب از میان ٤۱۲ جدایه *اشریشیا کلی*، ۱۱۸جدایه (۲۸/٦ درصد) حداقل به یک ترکیب ضد میکروبی مقاوم بودند و ۱۵/۳ درصد از آن‌ها مقاومت به چند دارویی را نشان دادند (۷). در سال ۲۰۱۲ جونز و همکاران در پی بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *اشریشیا کلی* از مدفوع اسب‌های بستری و غیر بستری در بیمارستان نشان دادند که از میان ۲۲۸ جدایه، ۱۳۸ مورد (٦۰/۵۳ درصد) دارای مقاومت چند دارویی هستند (۲٤). در مطالعه حاضر، جدایه‌های *اشرشیا کلی* حساسیت بالایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام بویژه سفالوسپورین‌های مورد مطالعه نشان دادند. در حالیکه در مطالعه‌ای در شرق ترکیه مقاومت سطح بالا به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در *اشرشیا کلی*‌های جدا شده از مدفوع اسب گزارش شد به گونه‌ای که در ۵۳/۵ درصد جدایه‌ها حداقل یک ژن بتالاکتاماز شناسایی گردید (۲۵). همچنین در مطالعه رشادی و همکاران (۲۲) و بنداری و همکاران (۱٤) نیز سطح بالایی از مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام بویژه پنی‌سلین‌ها گزارش شد. این تفاوت‌ها در الگوی مقاومت‌های ضد میکروبی، ممکن است با

نوع عوامل ضد میکروبی تجویز شده در مناطق مختلف، متفاوت بودن قوانین مرتبط با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در مناطق جغرافیایی مختلف و تنوع ژنتیکی باکتری‌ها از یک منطقه به منطقه دیگر مرتبط باشد.

به دنبال ورود باکتری، یکی از عوامل مهم در عفونت‌های ناشی از *اشریشیا کلی*، چسبیدن باکتری به سطح سلول میزبان است که توسط آنتی‌ژن فیمبریه و محصولات ژنی *fimH*، *papC*، *papGII*، *sfa-foc* و *afa* انجام می‌شود. از آنجا که اکثر فاکتورهای حدت روی عناصر ژنتیکی متحرک رمزگذاری شده‌اند، سویه‌هایی با ترکیب جدید ژن‌های حدت ممکن است در آینده پدیدار شوند (۲۶). در مطالعه حاضر فراوانی ژن‌های حدت *fimH*، *papC* و *sfa-foc* در جدایه‌ها به ترتیب ۹۱/۰۸، ۵۶/۶۹ و ۳۳/۱۲ درصد بود. این نتایج با مقادیر گزارش شده از فراوانی ژن‌های حدت در مطالعات قبلی همسو بود. در مطالعه کیانی بروجنی و ممتاز بر روی عوامل بیماری‌زا در جدایه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از مادیان‌های آلوده به اندومتریوز فراوانی حضور ژن‌های *fimH*، *afa-draBC*، *papC* و *papGII* به ترتیب ۹۰/۹ درصد، ۷۲/۷ درصد، ٤٥/٤ درصد و ۵۹ درصد بود (۱۶). در مطالعه بنداری و همکاران (۲۰۲۲) ۱۰۰ درصد *اشرشیا کلی*‌های جدا شده از اسب در مصر واجد ژن *fimH* بودند (۱٤). بیکالیو و همکارانش نیز در سال ۲۰۱۰ دریافتند که از بین عوامل بیماری‌زایی بررسی شده در *اشریشیا کلی* سه عامل *fimH* با فراوانی ۹۰ درصد، *hlyE* با فراوانی ۸۷ درصد و *iss* با فراوانی ۸٤ درصد شایع‌ترین عوامل دخیل در بیماری‌زایی بودند و ژن‌های *sfa* و *papGIII* به ترتیب با فراوانی ۲۲ و ۳٦ درصد نادرترین ژن‌های بیماری‌زا بودند (۲۷). در مطالعه کارنیرو و همکاران در سال ۲۰۱۷ *اشریشیا کلی*‌های مدفوعی اسب بالاترین میزان مقاومت را به تتراسیکلین نشان دادند. همچنین همسو با نتایج مطالعه حاضر، این محققین نیز در اغلب جدایه‌های *اشریشیا کلی* ژن *fimH* و حضور همزمان چندین ژن حدت را شناسایی کردند (۲۸).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر بیانگر وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *اشریشیا کلی*‌های جدا شده از مدفوع اسب‌های کاسپین استان گیلان و پتانسیل بیماری‌زایی این جدایه‌ها می‌باشد. راه‌یابی این باکتری‌ها به محیط خطر انتقال مقاومت به فلور میکروبی انسان را داشته و می‌تواند بهداشت عمومی را به مخاطره اندازد.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمامی نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول است. نویسندگان مقاله از حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت و تمامی کسانی که در انجام مراحل تحقیق یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

تعارض منافع

وجود ندارد.

References

1. Levy S. Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and aresponses. Nat Med. 2004: 10: S122–S129.
2. Graves AK. Liwimbi L. Israel DW. Van Heugten E. Robinson B. Cahoon CW. Lubbers JF. Distribiotion of ten antibiotic resistance genes in *E. coli* isolates from swine manure, lagoon effluent and soil collected froma lagoon waste application field. Folia microbial. 2011: 56: 131-137.
3. Daneshgar. P. Rajaei H. Firouzi R. Antibiotic Resistance of Salmonella and *Escherichia coli* Isolated from chicken in Shiraz, Iran, Journal of Veterinary Research. 2008: 62(6): 341-344 [in Persian].
4. Cantas L. Shah S. Cavaco L. Manaia C. Walsh F. Popowska M. Garelick H. Bürgmann H. A brief multi-disciplinary review on antimicrobial resistance in medicine and its linkage to the global environmental microbiota. Frontiers in Microbiology. 2013: 4: 96-102.
5. Walther B. Tedin K. Lübke-Becker A. Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control, Veterinary Microbiology. 2017: 200: 71-78.
6. Van Boeckel TP. brower C. Gilbert M. Grenfell BT. Levin SA. Robinson TP. Teillant A. Laxminarayan R. Global trends in antimicrobial use in food animals. PNAS. 2015: 112: 5649–5654.
7. Bryan J. Leonard N. Fanning S. katz L. Duggan V. Antimicrobial resistance in commensal faecal *Escherichia coli* of hospitalised horses. Ir Vet J . 2010: 63: 373-379.
8. Wolny-Koładka K. Lenart-Boroń A. Antimicrobial resistance and the presence of extended-spectrum beta-lactamase genes in *Escherichia coli* isolated from the environment of horse riding centers. Environ Sci Pollut Res. 2018: 25: 21789–21800.
9. Shnaiderman-Torban A. Paitan Y. Arielly H. Kondratyeva K. Tirosh-Levy S. Abells-Sutton G. Navon-Venezia, S. Steinman A. Extended-Spectrum β-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Hospitalized Neonatal Foals: Prevalence, Risk Factors for Shedding and Association with Infection. Animals. 2019: 9: 600-607.
10. Abu-Amer AE. Shobrak MY. Altalhi AD. Isolation and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from farm chicken in taif, Saudi arabia. Jurnal of global antimicrobial resistance. 2018: 15: 65-68.
11. Wang L. Wang J. Zhu L. Yang L. Yang R. Distribution characteristics of antibiotic resistant bacteria and genes in fresh and composted manures of livestock farms. Science of The Total Environment. 2019: 695: 133781.
12. Croxen M. Finlay B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. Nat Rev Microbiol. 2010: 8: 26–38.

13. Zeidabadi Nejad M. Amini k. Detection of pap, fim, sfa and afa Genes in *Escherichia coli* strains Isolated from patients with Urinary Tract Infection by Multiplex-PCR in Kerman, Iran. Jundishapur scientific Medical journal. 2017: 16(4): 393-400 [In Persian].

14. Bendary MM, Abdel-Hamid MI, Alshareef WA, Alshareef HM, Mosbah RA, Omar NN, Al-Sanea MM, Alhomrani M, Alamri AS, Moustafa WH. Comparative Analysis of Human and Animal E. coli: Serotyping, Antimicrobial Resistance, and Virulence Gene Profiling. Antibiotics. 2022 Apr 21;11(5):552.

15. Habibi M. Ghavami S. Tayefe Bagherlou J. Bazyar M. Hashemian MM. Comprehensive book of industrial poultry diseases. 2nd ed. Tehran. Nourbakhsh Publishers. 2017 [In Persian].

16. Boroujeni kiani L. Momtaz H. Virulence factors pattern of Escherichia Coli strain isolated from endometritis in mares in chaharmahal and bakhtiari province. New cell Mol Biotech. 2020: 10(37) 21-34 [In Persian].

17. Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; M100-S20. CLSI document 2010: 30(1): 27-44.

18. Momtaz H. Karimian A. Madani M. Dehkordi FS. Ranjbar R. Sarshar M. Souod N. Uropathogenic *Escherichia coli* in Iran, Serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2013: 12: 8 [In Persian].

19. Johnson JR. Stell AL. Extended Virulence Genotypes of *Escherichia coli* Strains from Patients with Urosepsis in Relation to Phylogeny and Host Compromise. the Journal of Infectious Diseases. 2000: 181: 261-272.

20. Thapa. SP. Shrestha S. Anal AK. Addressing the antibiotic resistance improving the food safety in food supply chain (farm-to-fork) in Southeast Asia. Food Control. 2020:108: 106809.

21. Tosh PK. McDonald LC. Infection control in the multidrug-resistant era: tending the human microbiome. Clinical infectious diseases. 2012: 54(5): 707-713.

22. Reshadi P, Heydari F, Ghanbarpour R, Bagheri M, Jajarmi M, Amiri M, Alizade H, Badouei MA, Sahraei S, Adib N. Molecular characterization and antimicrobial resistance of potentially human-pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from riding horses. BMC Veterinary Research. 2021 Dec;17(1):1-9.

23. Ahmed MO. Clegg PD. Williams NJ. Baptise KE. Bennet M. Antimicrobial resistance in equine faecal *Escherichia coli* isolates from North West England. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2010: 9: 12.

24. Johns I. Verheyen K. Good L. Rycroft A. Antimicrobial resistance in faecal *Escherichia coli* isolates from horses treated with antimicrobials: A longitudinal study in hospitalised and non-hospitalised horses. Veterinary Microbiology. 2012: 159(3-4): 381-389.

25. Yiğin A. Antimicrobial resistance and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) genes in E. coli isolated from equine fecal samples in Turkey. Journal of Equine Veterinary Science. 2021 Jun 1;101:103461.

26. Ferreira JC. Penha Filho RA. Yorika Kuaye AP. Andrade LN. Chang YF. Costa Darini AL. Virulence potential of commensal multidrug resistant *Escherichia coli* isolated from poultry in Brazil. Infection, Genetics and Evolution. 2018: 65: 251-256.

27. Bicalho MLS. Machado VS. Oikonomou G. Gilbert RO. Bicalho RC. Association between virulence factors of *Escherichia coli* Fusobacterium necrophorum, and Arcanobacteriumpyogenes and uterine diseases of dairy cows. Veterinary Microbiology. 2012: 157(1-2): 125-131.

28. Carneiro VC, Lessa DAB. Guttmann PM. Magalhaes H. Aquino MHC. Cunha LER. Arais LR. Cerqueira AMF. Virulence, resistance, and genetic relatedness of *Escherichia coli* and Klebsiella sp. isolated from mule foals. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2017: 69(5): 1073-1082.