Molecular study of antibiotic resistance genes in *Escherichia coli* strains from broiler chickens in Kerman by multiplex PCR technique

Akbar Asadi[1*], Navid Asadi[2]

1. Shahr Babak Islamic Azad University, Shahr Babak, Iran
2. Student of Bahonar university, kerman ،Iran

Abstract

Aim and Background: Avian pathogenic *E. coli* is responsible for an extremely wide range of extraintestinal diseases in poultry, such as *colibacillosis*, *cellulitis*, *coligranuloma*, and yolk sac infection. The aim of this study is the molecular study of antibiotic-resistant resistance genes, such as *bla*, *aac*, *aad*, *qnr*, *sul*, *tet*, and *cat*, by the multiplex PCR method and the determination of antibiotic susceptibility.

Materials and Methods: One hundred and twelve strains of *E. coli* from colibacillosis cases and fifty-six strains from *cellulitis* cases were isolated from poultry slaughterhouses in Kerman province during eight months in 2021. The strains of *E. coli* were confirmed by biochemical methods, and then the PCR experiment and antibiotic susceptibility test were performed on the samples.

Results: The results of the studies showed that 65.85% of the samples for the *tetA* gene and 64.65% of those for the *tetB* gene were positive. Percentage of genes *qnrS* (47.3), *qnrB* (24.09), *sulI* (28.91), *dhfrV* (41.32), *dhfrA* (26.5), *aac (3)-1* (25.66), *aadA* (32.89), *floR* (28.95), *sulII* (43.31), and *qnrA* (22.30) %. None of the samples were positive with regard to *blaoxa*, *blaCTX*, *blasHV* and *blaTEM* genes. In this study, it was specified that 50-85 percent of isolates of all strains were resistant to one or more antibiotics. The highest percentage of resistance to antibiotics was, respectively, to tetracycline (94.18%), sulfamethoxazole (61.24), chloramphenicol (45.96), and trimethoprim (46.36) %.

Conclusion: In this study. Recognition of resistance patterns and microorganisms to susceptibility to antibiotics plays an effective role in the correct and suitable selection of antibiotics and infection control.

Keywords: ***Escherichia coli, celluitis, collibacillosis,*** Broiler chicken, Antibiotic resistance.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

Corresponding author:
Shahr Babak Islamic Azad University, Shahr Babak, Iran.
Email: Dr. asadi44@yahoo.com

مطالعهٔ مولکولی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های *اشریشیاکُلی* جداشده از لاشه‌های طیور گوشتی در کرمان به‌روش PCR چندگانه

اکبر اسدی*[۱]، نوید اسدی[۲]

۱. استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهربابک، ایران
۲. گروه دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *اشریشیاکُلی*، بیماری‌زای پرندگان مسئول ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌های خارج روده‌ای طیور مانند *کلی‌باسیلوز*، *سلولیت*، *کلی‌گرانولوما* و عفونت کیسهٔ زرده می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی مولکولی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی از قبیل *aac*، *aad*، *qnr*، *tet*، *sul*، *bla* و *cat* به‌روش PCR چندگانه و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: نمونه‌برداری از کُشتارگاه صنعتی کرمان طی ۸ ماه در سال ۱۴۰۰ انجام و تعداد ۱۱۲ جدایه از نمونه‌های مبتلا به کلی‌باسیلوز و ۵۶ نمونهٔ سلولیتی جدا گردید و پس از تأیید بیوشیمیایی، آزمون‌های PCR چندگانه و تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی روی نمونه‌ها صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که ۶۵/۸۵ درصد نمونه‌ها برای ژن *tetA* و ۶۴/۶۵ درصد برای *tetB* مثبت بودند. درصد فراوانی ژن‌های qnr_S (۴۷/۳)، qnr_B (۲۴/۰۹)، sul_I (۲۸/۹۱)، $dhfr_V$ (۴۱/۳۲)، $dhfr_A$ (۲۶/۵)، ۱-(۳) *aac* (۲۵/۶۶)، aad_A (۳۲/۸۹)، *flor* (۲۸/۹۵)، sul_{II} (۴۳/۳۱) و qnr_A (۲۲/۳۰) درصد بود. هیچ‌کدام از نمونه‌ها از نظر ژن‌های bla_{SHV}، bla_{CTX}، bla_{TEM}، bal_{OXA} مثبت نبودند. همچنین ۵۰ تا ۸۵ درصد جدایه‌ها به یک یا چند آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند. بیشترین درصد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین (۹۴/۱۸)، سولفامتوکسازول (۶۱/۲۴)، کلرامفنیکل (۴۵/۹۶) و تری‌متوپریم (۴۶/۳۶) درصد بود.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه مشخص گردید که جهت درمان قطعی و جلوگیری از بروز مقاومت‌های روزافزون در سویه‌های پاتوژن، تعیین الگوی مقاومتی میکروارگانیسم و انجام تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی قبل از تجویز دارو نقش مؤثری دارد.

واژگان کلیدی: *اشریشیاکُلی*، *سلولیت*، *کلی‌باسیلوز*، جوجه‌های گوشتی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی.

۱- مقدمه

عفونت ناشی از *اشریشیاکُلی*[۱] در طیور انتشار جهانی دارد. حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد کلیِ فرم‌های روده مربوط به سروتیپ‌های بیماری‌زا می‌باشد. سروتیپ‌هایی از باکتری مانند O_1، O_2، O_8، O_{35}، O_{78} در *کلی‌باسیلوز*[۲] طیور نقش دارند (۱). عفونت‌های ناشی از *اشریشیاکُلی* در طیور شامل *پریتونیت*[۳] (التهاب صفاق) ناشی از تخم‌شکستگی، عفونت کیسهٔ زرده، *کلی‌گرانولوما*[۴]، *سندرم سرِ بادکرده*[۵]، *سلولیت*[۶]، *سینوویت*[۷] و *کلی‌سپتی سمی*[۸] می‌باشد (۲).

فاکتورهای مؤثر در بیماری‌زایی باکتری به‌عنوان عوامل حدّت تلقی شده و با شدت بیماری و میزان تلفات رابطهٔ مستقیمی دارند. ژن‌هایی از قبیل *sfa*، *afa*، *qnr*، *fimH*، *crl*، *flor*، *cat*، *chu*، *pap*، *sul*، *tet*، *bla* و *dhfr* از مهم‌ترین فاکتورهای حدت *اشریشیاکُلی* به‌شمار می‌روند که برخی از این ژن‌ها در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۳). یکی از مشکلات مهم در بخش درمان در حوزهٔ پزشکی و دام‌پزشکی، سیرِ پیشروندهٔ مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها

نویسنده مسئول:
استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهربابک، ایران
پست الکترونیکی:
Dr. asadi44@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۰۸

[1] *Escherichia Coli*
[2] *Colibacillosis*
[3] *Peritonitis*
[4] *Coligranuloma*
[5] *Cranial Deformation Syndrome*
[6] *Cellulitis*
[7] *Synovitis*
[8] *Colisepticemia*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

و انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب جهت درمان است. بنابراین اهمیت تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *اشریشیاکُلیِ* جداشده از طیور واضح است. طبق مطالعات انجام‌شده *اشریشیاکُلی* به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها مانند کلرامفنیکل، تتراسایکلین، انروفلوکساسین، جنتامایسین، استرپتومایسین، آمپی‌سیلین، پلی‌میکسین B، سولفانامیدها و نیتروفورازون حساس است (۴). بررسی ژنوتیپی که در سال ۲۰۱۶ توسط Osawa و Kawano صورت گرفت نشان داد که برخی از سویه‌های *اشریشیاکُلی* به‌علت وجود ژن مقاومت در برابر بعضی آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند و ازآنجایی‌که به روش‌های مختلف مانند پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها قادر به انتقال عوامل ژنتیکی مقاوم به سویه‌های دیگر هستند، افزایش قابل‌ملاحظهٔ این مقاومت‌ها قابل‌مشاهده است (۵). ژن‌های مسئول مقاومت آنتی‌بیوتیکی، مکانیسم عمل متفاوتی دارند؛ به‌طوری که ژن‌های کد کنندهٔ بتالاکتاماز bla_{SHV}، bla_{TEM}، bla_{OXA} و bla_{CTX} بوده که به‌دلیل داشتن آنزیم بتالاکتاماز موجب شکافتن پیوند آمیدیِ حلقهٔ بتالاکتام و در نتیجه غیرفعال شدن آنتی‌بیوتیک و مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌شوند. آنزیم‌های حاصل از ژن‌های aad_{A1} و ۱-(۳) *aac* موجب تغییر آمینوگلیکوزیدها و غیرفعال شدن داروهای آمینوگلیکوزیدی می‌شوند (۶). ژن مقاومت *tetB*، *tetC* و *tetA* با تولید پروتئین محلول با GTPase همولوگ بوده و از ریبوزومِ باکتری در برابر تتراسایکلین محافظت می‌نماید. ژن sul_{II}، sul_{I} و آنزیم دی‌هیدروپتروویک اسید سنتتاز را مهار می‌کند و سبب مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سولفانامیدها می‌گردد. ژن *flor*، cat_1 استیل‌تراسفراز را کد کرده و این آنزیم گروه استیل را به گروه هیدروکسیلِ رویِ کلرامفنیکل متصل و موجب استیلاسیون دارو و مقاومت در برابر کلرامفنیکل‌ها می‌شود. ژن $dhfr_V$ و $dhfr_A$ با ایجاد موتاسیون در ژن دی‌هیدروفولات ردوکتاز سبب مقاومت به تری‌متوپریم می‌شود و بالاخره ژن qnr_B و qnr_S باعث جهش در ژن‌های DNA ژیراز و توپوایزومراز VI و ایجاد مقاومت نسبت به کوئینولون‌ها می‌شود (۷).

تاکنون هیچ‌گونه مطالعهٔ جامعی در ارتباط با اهمیت تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی و ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در طیور صنعتیِ منطقه صورت نگرفته است. لذا هدف از پژوهش حاضر، بررسی اهمیت تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی و همچنین شناسایی ژن‌های حدّت و نقش آن‌ها در بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در طیور گوشتیِ شهرستانِ کرمان می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

این مطالعه شامل جداسازی *اشریشیاکُلی* و تأیید سویه‌های جداشدهٔ آن به روش‌های بیوشیمیایی، تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی، ذخیرهٔ نمونه، استخراج DNA، آزمایش PCR، الکتروفورز و آنالیز محصول‌های PCR است. در یک دورهٔ زمانی ۸ ماهه در سال ۱۴۰۰ از کُشتارگاه صنعتی طیورکرمان، ۱۱۲ نمونهٔ طیور مبتلا به *کلی‌باسیلوز* (کل نمونه جداشده از لاشه‌ها) و ۵۶ نمونه مبتلا به *سلولیت* جمع‌آوری گردید. بعد از سوزاندن سطح کبد و قلب لاشه‌های کالبدشکافی‌شده با اسپاتولای داغ، کشت در محیط مک‌کانکی آگار[1] به‌روش خطی انجام شد (۸). یک کلنی از باکتریِ رشدکرده در محیط لوریابرتانی LB (این محیط شامل تریپتون، عصارهٔ مخمر وکلریدسدیم بوده و *اشریشیاکُلی* در این محیط به‌خوبی رشد نموده و یکی از رایج‌ترین محیط‌ها برای نگه‌داری آن می‌باشد) را در محیط مولرهینتون کشت داده و سپس دیسک آنتی‌بیوتیک‌های موردمطالعه را بر اساس رفرانس CLSI 2004 در محیط‌کشت گذاشته و بعد از انکوباسیون براساس منطقهٔ رشد، ارزیابی انجام شد. سپس یک سی‌سی لوریابرتانی را داخل میکروتیوب ۲۰۰۰ میکرولیتری ریخته، یک کلنی تأیید شدهٔ باکتری به آن افزوده، ۲۴ ساعت بعد و پس از رشد باکتری، یک سی‌سی گلیسرول ۳۰ درصد به آن اضافه و پس از ورتکس، تا زمان استفاده در دمای۲۰- درجهٔ سلسیوس نگهداری شد.

برای استخراج DNA نیز نمونه‌های فریزشده را از فریزر خارج و پس از ذوب در دمای اتاق، در محیط لوریابرتانیِ جامد کشت داده و از کلنی رشدیافته به میکروتیوب‌های ۲۵ میکرولیتری حاوی سود سوزآور نیم‌نرمال اضافه و با افزودن ۴۵۰ میکرولیتر آب‌مقطر استریل حجم محلول را به ۵۰۰ میکرولیتر رسانده و به‌عنوان DNA استخراج‌شده که برای آزمایش‌های بعدی مورداستفاده قرار گیرد. بررسی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی bla_{OXA}، aad_A، qnr_B، sul_{II}، *aac*، sul_I، bla_{TEM}، *tetB*، *tetA*، *flor*، *cat*، $dhfr_v$، qnr_A، qnr_B و qnr_S طبق روش پیشنهادی Sharman و همکاران

[1] Macconkey Agar

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

در سال ۲۰۱۰ انجام گرفت (جدول ۱). همچنین برای کنترل مثبت از سویهٔ رفرانس *اشریشیاکُلی* ATCC 35218 و سویهٔ رفرانس *کلبسیلا*[1] ATCC 7006003 و برای کنترل منفی از سویهٔ رفرانس *اشریشیاکُلی* ATCC 25922 استفاده شد (شکل ۱).

جدول ۱ - پرایمرها و سویه‌های استاندارد مربوط به PCR چندگانه برای شناسایی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی

منبع	اندازهٔ قطعه (bp)	توالی (5′-3′)	ژن	آنتی‌بیوتیک
۳۷	۵۵۰	CGCTTTGCGATGTGCAG ACCGCGATATCGTTGGT	bla_{CTX-15}	بتالاکتاماز
۴۷	۴۴۵	AAAATTCTTGAAGACG TTACCAATGCTTAATCA	bla_{TEM}	
۴۷	۷۴۷	TTAACTCCCTGTTAGCCA GATTTGCTGATTTCGCCC	bla_{SHV}	
۲	۵۹۱	TCAACTTTCAAGATCGCA GTGTGTTTAGAATGGTGA	bla_{OXA}	
۵۰	۲۸۴	TGATTTGCTGGTTACGGTGAC CGCTATGTTCTCTTGCTTTTG	aad_A	آمینوگلیکوزیدها
	۱۵۷	ACCTACTCCCAACATCAGCC ATATAGATCTCACTACGCGC	*aac(3)-I*	
۵۰	۸۸۷	GTGAAACCCAACATACCCC GAAGGCAAGCAGGATGTAG	*tetA*	تتراسایکلین
	۷۷۳	CCTTATCATGCCAGTCTTGC ACTGCCGTTTTTTCGCC	*tetB*	
۵۰	۸۲۲	TTCGGCATTCTGAATCTCAC ATGATCTAACCCTCGGTCTC	sul_I	سولفونامیدها
۳۱	۲۹۳	GCGCTCAAGGCAGATGGCATT GCGTTTGATACCGGCACCCGT	sul_{II}	
۵۰	۴۳۲	CTGCAAAAGCGAAAAACGG AGCAATAGTTAATGTTTGAGCTAAAG	$dhfr_V$	تری‌متوپریم
	۳۹۱	AAGAATGGAGTTATCGGGAATG GGGTAAAAACTGGCCTAAAATTG	$dhfr_I$	
۵۰	۳۹۹	TATCTCCCTGTCGTTCCAG AGAACTCGCCGATCAATG	*flor*	کلرآمفنیکل
	۵۴۷	AGTTGCTCAATGTACCTATAACC TTGTAATTCATTAAGCATTCTGCC	cat_1	
۱۳	۵۸۰	AGA GGA TTT CTC ACG CCA GG TGCCAGGCACAGATCTTGAC	qnr_A	کینولون‌ها
	۲۶۴	GGMATHGAAATTCGCCACTG TTTGCYGYYCGCCAGTCGAA	qnr_B	
	۴۲۸	GCAAGTTCATTGAACAGGGT TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG	qnr_S	

[1] *Klebsiella*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

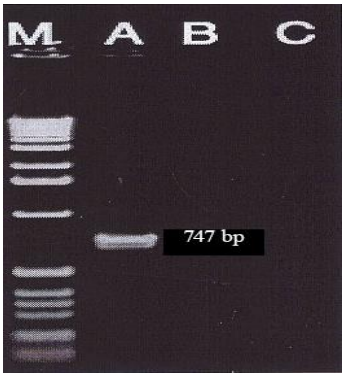
الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز ۲ درصد انجام و سپس ژن‌های الکتروفورز شده، جهت تشخیص تشکیل باندهای موردنظر با دستگاه UV موردبررسی قرار گرفتند.

وجود یا عدم‌وجود ژن‌های بیان‌شده در سویه، بستگی به تشکیل باند در جایگاه‌های خاص داشت (جدول ۲ و شکل ۱).

جدول ۲- الگوی تشخیص ژن‌های حدّت ویروسی در ارتباط آن‌ها با زیرگروه‌های فیلوژنی/گروهی از *اِ.کولای*‌های جداشده از موارد *کلی‌باسیلوز و سلولیت* در نمونه‌های جوجه‌های گوشتی

Phylogenetic group Phylogenetic subgroup	A	B1	B2	D	Total No. (%)				
A0	A1	B1	B2-2	B2-3	D1	D2			
Patterns of detected genes	APEC								
crl fimH papC sfa/foc	*Colibacillosis*	۲۳	۴	۳	-	-	۱۰	-	۴۰ (۳۴/۱۸)
crl fimH sfa/foc	*Colibacillosis*	۳	۳	-	-	-	-	۱	۷ (۵/۹۸)
crl fimH iucD	*Colibacillosis*	۱	۲	-	-	-	-	-	۳ (۲/۵۶)
crl- fimH	*Colibacillosis*	۳	-	۱	۱	-	-	-	۵ (۴/۲۷)
crl- papC	*Colibacillosis*	-	۳	۱	۲	-	۱	-	۷ (۵/۹۸)
fimH-papC	*Colibacillosis*	-	-	-	-	-	۱	-	۱ (۰/۸۵)
fimH-sfa/foc	*Colibacillosis*	۱	-	-	-	-	-	-	۱ (۰/۸۵)
1	*Colibacillosis*	۱	۱	۱	۱	۱	-	-	۵ (۴/۲۰)
fimH	*Cellulitis*	۱۶	-	۲	-	-	-	۳	۲۱ (۱۷/۹۰)
crl	*Cellulitis*	-	۲	-	-	-	۴	۳	۹ (۷/۶۹)
papC	*Cellulitis*	۱	-	-	-	-	-	-	۱ (۰/۸۵)
Non detected	-	-	-	-	-	۱۴	۳	(۱۴/۵۲) ۱۷	
Total phylosubgroup	۴۹	۱۵	۸	۴	۱	۳۰	۱۰	۱۱۷	
Total phylogroup	۶۴	-	۸	۵	-	۴۰	-	۱۱۷	

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]



شکل ۱- آزمایش PCR جهت شناسایی ژن *blaSHV* (۷۴۷ bp).M: مارکر ۱ کیلوبازی، A: کنترل‌مثبت (سویهٔ استاندارد *کلبسیلا* ۷۰۰۶۰۳)، B: کنترل‌منفی (سویهٔ استاندارد *اشریشیاکُلی* ATCC25922)، C: جدایهٔ منفی

۳- نتایج

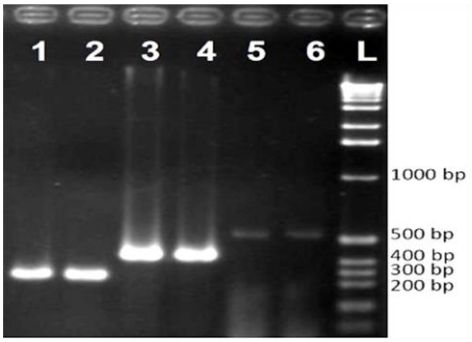
درمورد تأیید نمونه های *اشریشیاکُلی* از محیط مک کانکی آگار استفاده شد (۱۷) و در مورد تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی مقاومت دیسک‌های مورداستفاده به آنتی بیوتیک‌های فلورفنیکل، تری متوپریم، سولفامتوکسازول، انروفلوکساسین، جنتامایسین، آمپی سیلین، استرپتومایسین و تترا سایکلین که توسط شرکت پارس پیوند ساخته شده، بین ۵۰ تا ۸۵ درصد بود. تمام جدایه‌ها به یک یا چند آنتی‌بیوتیک موردمطالعه مقاوم بودند. بیشترین مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین ۹۴/۱۸ درصد، سولفامتوکسازول ۶۱/۲۴ درصد، فلورفنیکل ۴۵/۹۶ و تری‌متوپریم ۴۶/۳۶ درصد بود (جدول ۳).

جدول ۳- نتایج تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی به‌روش انتشار دیسکی

نوع آنتی‌بیوتیک	کد	میانگین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها	مقاوم (میلی‌متر یا بیشتر)	نیمه‌حساس	حساس (میلی‌متر یا کمتر)
سفالکسین	CN	۳۹/۴۱	۱۴	۱۵-۱۷	۱۸
کلرامفنیکل	C	۶۱/۵۳	۱۲	۱۳-۱۷	۱۸
انروفلوکساسین	NFX	۵۷/۵۲	۱۵	۱۶-۲۰	۲۱
فلومکوئین	FM	۴۵/۹۶	۱۳	۱۴-۱۸	۱۹
لینکواسپکتین	LP	۶۵/۶۸	۱۲	۱۳-۱۶	۱۷
استرپتومایسین	S	۴۲/۳۹	۱۱	۱۲-۱۴	۱۵
تتراسایکلین	TE	۹۴/۱۸	۱۴	۱۵-۱۸	۱۹
تری‌متوپریم	STX	۴۶/۳۶	۱۰	۱۱-۱۵	۱۶

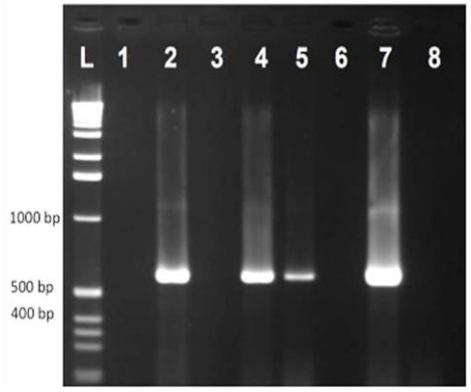
نتایج حاصل از PCR ژن‌های مربوط به مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که ۶۵/۸۵ درصد نمونه‌ها برای ژن *tetA* و ۶۴/۶۵ درصد برای ژن *tetB* مثبت بودند. درصد فراوانی ژن‌های qnr_S (۴۷/۳)، qnr_B (۲۴/۰۹)، sul_I (۲۸/۹۱)، $dhfr_V$ (۴۱/۳۲)، $dhfr_A$ (۲۶/۵)، *aac* (۳)-۱، aad_A (۲۵/۶۶)، *flor* (۳۲/۸۹)، sul_{II} (۲۸/۹۵) و qnr_A (۴۳/۳۱) و (۲۲/۳۰) درصد بود. هیچ‌کدام از نمونه‌ها از نظر ژن‌های bla_{SHV}، bla_{CTX}، bla_{TEM} و bal_{OXA} مثبت نبودند (شکل های ۲-۵).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]



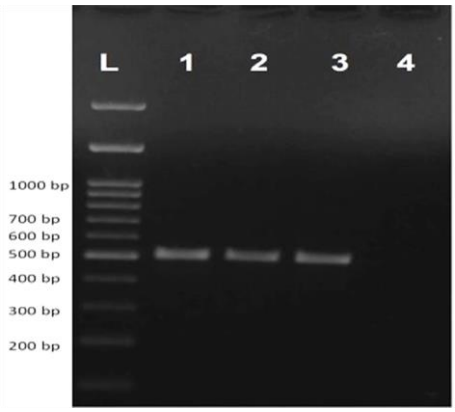
شکل ۲- نتیجهٔ آزمایش PCR جهت شناسایی ژن‌های *crl*، *saf/foc* و *fimH* جداشده از *کلی‌باسیلوز*

مارکر L: ۱ کیلوبازی، شمارهٔ ۱: کنترل‌مثبت برای ژن *crl* (*اِ.کولای* ۱۹۶)، شمارهٔ ۲: جدایهٔ مثبت برای ژن *crl*، شمارهٔ ۳: کنترل‌مثبت برای ژن *saf/foc* (سویهٔ استاندارد *اشریشیاکُلی* ۱۹۶)، شمارهٔ ۴: جدایهٔ مثبت برای ژن *saf/foc*، شمارهٔ ۵: کنترل‌مثبت برای ژن *fimH* (*اِ.کولای* ۱۹۶)، شمارهٔ ۶: جدایهٔ مثبت برای ژن *fimH*.



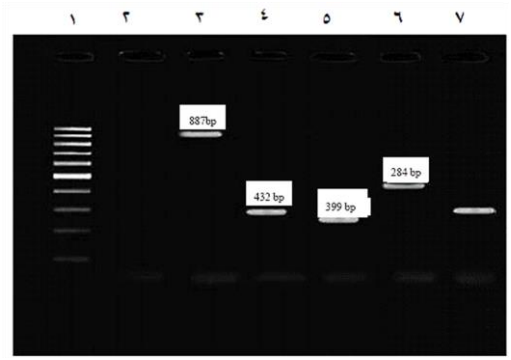
شکل ۳- نتیجهٔ آزمایش PCR برای شناسایی ژن *iucD* جداشده از *کلی‌باسیلوز*

مارکر L: ۱ کیلوبازی، شمارهٔ ۱: کنترل منفی (*اشریشیاکُلی* MG 1655)، شمارهٔ ۲: کنترل‌مثبت برای ژن *iucD* (*اِ.کولای* ۲۳۹)، شمارهٔ ۴، ۵ و ۷: جدایهٔ مثبت برای ژن *iucD*.



شکل ۴- نتیجهٔ آزمایش PCR برای شناسایی ژن *fimH* جداشده از نمونهٔ *سلولیت*

مارکر L: ۱ کیلوبازی، شمارهٔ ۱: کنترل‌مثبت برای ژن *fimH* (*اِ.کولای* ۱۹۶)، شمارهٔ ۲ و ۳: جدایهٔ مثبت برای ژن *fimH*، شمارهٔ ۴: کنترل‌منفی (سویهٔ *اشریشیاکُلی* MG 1655).



شکل ۵- نتیجهٔ آزمایش PCR جهت شناسایی ژن‌های *tetA* (bp887)، *dhfrV* (bp 432)، *floR* (bp 399) و *aadA* (bp284)

مارکر L: ۱ کیلوبازی، شمارهٔ ۲: کنترل‌منفی (سویهٔ استاندارد *اشریشیاکُلی* ATCC 25922)، شمارهٔ ۳: جدایهٔ مثبت برای ژن *tetA*، شمارهٔ ۴: جدایهٔ مثبت برای ژن *dhfrv*، شمارهٔ ۵: جدایهٔ مثبت برای ژن *floR*، شمارهٔ ۶: جدایهٔ مثبت برای ژن *aadA*، شمارهٔ ۷: کنترل‌مثبت (سویهٔ استاندارد *اشریشیاکُلی* R380).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

۴- بحث

در بیشتر مطالعه‌های انجام‌شده، *اشریشیاکُلی* یکی از باکتری‌های هم‌زیست معرفی شده که می‌تواند سبب ایجاد بیماری‌های گوارشی و خارج گوارشی در طیور گردد. از طرفی مصرف بی‌رویهٔ آنتی‌بیوتیک‌ها باعث ایجاد مقاومت دارویی و افزایش روزافزون بیماری *کلی‌باسیلوز* شده است (۲). براساس پژوهش‌های صورت‌گرفته امکان دارد ژن‌های حدّت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌صورت افقی در بین سویه‌های *اشریشیاکُلی* منتقل شوند و دلیل انتشار ژن‌های حدّت در گروه‌های فیلوژنی می‌تواند کسب این ژن‌ها به‌صورت افقی از سایر سویه‌های *اشریشیاکُلی* باشد که نهایتاً منجر به ایجاد تنوع ژنتیکی بین سویه‌های Avain *APEC* (Pathogenic *E.coli*) از نظر حدّت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌گردد، اگرچه علاوه‌بر انتقال افقی، موتاسیون هم در ایجاد این تنوع ژنتیکی دخالت دارد (۹). براساس نتایج این پژوهش ژن‌های bla_{OXA}، bla_{TEM}، bla_{SHV} و bla_{CTX} در نمونه‌های موردبررسی حضور نداشته، درصورتی‌که در سایر تحقیقات در کشورهای ژاپن و کانادا این ژن‌ها وجود داشتند (۱۰). براساس نتایج بیان‌شده ژن‌های *tetA* و *tetB* در جدایه‌های *اشریشیاکُلی* دارای بیشترین درصد مقاومت بوده که این مسئله با بیشتر مطالعات صورت‌گرفته هم‌خوانی داشته است. همچنین مطالعه‌ای که توسط Remazanzadeh و همکاران (۲۰۱۷) بر روی مقاطع فریزشدهٔ بافت‌های طیور مبتلا به *کلی‌باسیلوز* به‌روش ایمونو فلورسانس انجام شد، نشان داد که برخی از ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این جدایه‌ها وجود داشته و بیشترین موارد مربوط به ژن *tetA* می‌باشد (۱۱). در مطالعهٔ Ganbarpor و همکاران (۲۰۱۷) بر روی ۱۰۰ جدایهٔ *اِکولای*، ۵۳ جدایه دارای ژن *tetA* بوده و هیچ‌کدام ژن bla_{TEM} را نداشتند (۱۲). در مطالعه‌ای دیگر که توسط Murray (۲۰۱۹) در زمینهٔ تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر روی جدایه‌های *کلی‌باسیلوزی* صورت گرفت، مشاهده گردید که بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به تتراسایکلین بوده و علت آن این است که مرغداران در طول دورهٔ پرورشِ خودسرانه، این دارو را به مدت‌های طولانی به جیرهٔ طیور اضافه می‌نمایند که این مسئله در مطالعهٔ اخیر نیز تأیید گردید (۱۹). به علاوه در بررسی دیگری که در سال ۲۰۱۹ در ژاپن صورت گرفت، نشان داده شد که ژن *tetB* در ۵۷/۳۳ درصد جدایه‌های *اشریشیاکلی* وجود دارد (۷). همچنین در مطالعه‌های مشابه دیگر، فراوانی ژن‌های *tetA* و *tetB* بین ۲۳ تا ۶۵ درصد گزارش گردید (۱۳) و نیز نتایج مطالعهٔ گستردهٔ Murakamin و همکاران (۲۰۱۶) در ژاپن بر روی جدایه‌های *سلولیت* و *کلی‌باسیلوز* طیور گوشتی نشان داد که بیشتر ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی از جمله *tet*، *qnr* و *flor* در جدایه‌ها مثبت بوده و بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به ژن *tetA* و کمترین آن‌ها مربوط به ژن bla_{CTX} بوده که این نتایج تا حدود زیادی در مطالعهٔ اخیر نیز تأیید شده است (۱۰). بر طبق تحقیقات صورت‌گرفته نیز تعیین گردید که مشخصهٔ ویژه‌ای که می‌توان برای سویه‌های *APEC* قائل شد، حضور ژن‌های حدّت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های بیماری‌زا است که چنین ژن‌هایی را در سویه‌های غیربیماری‌زا نمی‌توان مشاهده نمود یا حداقل، فراوانی آن‌ها خیلی کمتر است (۱۸). علاوه بر این نتایج Johnson (۲۰۱۷) حاکی از آنست که از ۱۸۲ جدایهٔ *اشریشیاکُلی* ۴۰/۲۳ درصد دارای ژن qnr_s بودند (۳). Marthin و همکاران (۲۰۱۹) نیز گزارش کردند که ۲۸/۸ درصد از سویه‌های *APEC کلی‌باسیلوز*، ژن *aac*(3)-1 را دارند (۱۶). بیشتر مطالعاتی که در نقاط مختلف جهان صورت گرفته نیز نشان می‌دهند که به‌دلیل مصرف خودسرانه و بی‌رویهٔ داروها، بیشتر ژن‌های مربوط به مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *اشریشیاکُلی* وجود دارند. این گزارش‌ها همانند مطالعهٔ اخیر نشان‌دهندهٔ این است که بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به این ژن‌ها وجود دارد. به‌علاوه در مطالعه‌ای که توسط Van Bost (۲۰۱۹) در کشور کانادا صورت گرفت، نشان داده شد که در تست تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی بیشتر جدایه‌ها حداقل به یک یا دو آنتی‌بیوتیک مقاوم بودند و این مسئله، مؤید نتایج مطالعهٔ حاضر است (۲۰). برخی از محققان برای سویه‌هایی از *APEC* که احتمال بیماری‌زایی برای انسان را دارند، اهمیت زئونوتیکی قائل‌اند، به‌طوری‌که در سال‌های اخیر سویهٔ $O_{157}:H_7$ *اشریشیاکُلی* به‌عنوان پاتوژن مهم مشترک بین انسان و دام مطرح گردیده که از طریق غذا به انسان منتقل می‌شود (۱۵).

درحال حاضر با توجه به‌مصرف خودسرانهٔ آنتی‌بیوتیک‌ها و افزایش روزافزون بیماری‌های ناشی از *اشریشیاکُلی* و مقاومت بالای آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های گرم‌منفی از جمله *اشریشیاکُلی* به‌نظر می‌رسد توجه به نتایج آزمون حساسیت آنتی‌بیوتیکی قبل از تجویز دارو می‌تواند راه‌گشای انتخاب مسیر درمانی مناسب باشد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

۵- نتیجه‌گیری

نکته‌ای که هنوز در مورد کسب ژن حدّت بی‌پاسخ مانده این است که آیا فقط دریافت ژن حدّت قابلیت بیماری‌زایی و حدّت را در باکتری دریافت‌کننده افزایش می‌دهد یا علاوه‌بر دریافت ژن حدّت و مقاومت، سایر عواملِ زمینه‌ای نیز در مورد این ژن‌ها مؤثرند؟ ازآنجایی‌که حضور و شیوع *کلی‌سپتی سمیِ* طیور با وجود درمان آنتی‌بیوتیکی ارتباط زیادی با مسائل مدیریتی و بهداشتی دارد که از حیطهٔ بحث این پژوهش خارج است، اما قسمتی از این موضوع ارتباط با توانایی‌های باکتری در بقا و بروز بیماری‌زایی در طیور دارد. با نظر به افزایش روزافزون بیماری‌های ناشی از اشریشیاکِلی در جهان و از جمله ایران به‌نظر می‌رسد که توجه به مسئلهٔ تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی در مقطع کنونی می‌تواند راهگشای انتخاب مسیر درمانیِ مناسب باشد. با توجه به وجود بسیاری از عوامل مرتبط با ژن‌های حدّت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی که بررسی‌نشده یا اصلاً شناخته‌شده نیستند، لذا جهت شناخت بیشتر مکانیسم‌های بیماری‌زایی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی، مطالعه‌های بیشتری نیاز است که اهمیت بیماری کلی‌باسیلوز را در طیور مشخص نماید.

۶- ملاحظات اخلاقی

این مقاله به کاهش پیامدهای منفی مقاومت آنتی بیوتیکی در سطح ملی کمک می کند .ملاحظات اخلاقی شامل ارائه دقیق داده ها ،خطرات مرتبط با ژنهای مقاومت آنتی بیوتیکی،افشائ تعارض منافع واعلام حمایت مالی شرکت ها،ارجاع صحیح منابع مورد استفاده،حقوق ورفاه طیور،توجیه ضرورت پژوهش،تاکیدبر خطرات مقاومت آنتی بیوتیکی،ارائه راهکارعملی برای کاهش مصرف آنتی بیوتیک ،پرهیز از ایجاد ترس،حفظ اطلاعات محرمانه مرغداری ازجمله عدم افشای نام مرغدار،تاثیر ژنهای مقاومت بر محیط زیست ،برطرف نمودن نیازهای مناطق کم درآمد ودسترسی آزاد به اطلاعات مقاله ازجمله ملاحظات اخلاقی این مقاله است.

۷- تشکر و قدردانی

از کلیه افرادی که در نمونه گیری ها(ازجمله کارکنان کشتارگاه)وپرسنل آزمایشگاه دانشگاه شهید باهنر و دانشگاه شهربابک تشگر مینمایم.

۸- تعارض منافع

نویسنده گان مقاله اعلام می‌کنند که در رابطه با انتشار مقاله ارائه شده به طور کامل از اخلاق نشر، از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پرهیز نموده‌اند و منافعی تجاری در این راستا وجود ندارد و نویسندگان در قبال ارائه اثر خود وجهی دریافت ننموده‌اند.

۹- سهم نویسندگان

سهم هریک از نویسندگان ۵۰ درصد می‌باشد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]

۱۰-منابع

1. Suwanich Kul, A., Paningrahy, B., Wagner, M. Antigen relateness and partial amino acid sequence of pili of Escherichia coli serotype O_1, O_2 and O_{78} pathogenic to poultry. *Avian diseases 2019*; 31(3) ,809-813.

2. Barnes, H.J., Nolan, L.K., Vailan Court, J.P. Colibacillosis. In: Saif Y.M., Fadly A.M., Glisson J.R., McDougald L.R., Nolan L.K., Swayne D. E.:۱۲ edition: *Diseases of Poultry2018* ; 18(4) , 691-738.

3. Johnson, J.R., Kuskowski, M.A., Gajewski, A., Soto, S., Horcajada, J.P., Jimenez, M.T., de Anta, H., Vila, J. Extended virulence genotypes and phylogenetic background of Escherichia coli isolates from patients with cystitis, pyelonephritis, or prostatitis. *Jornal Infect Disease* 2017; 191(6) , 46-50.

4. Dho, M., Lafont, J.P. Adhesive properties and iron uptake abilities in E. coli lethal and non-lethal for chicks. *Avian Diseases* 2019; 28(2) , 1116-1125.

5-Kawano, M., Yaguchi, K., Osawa, R. Genotypic analyses of Escherichia coli isolated from chickens with colibacillosis and apparently healthy chickens in Japan. *Microbial Immunology* 2016; 51(3) , 961-966.

6. Vanderson, Cindy. Great Adventures in the Microbiology Laboratory (7th ed.). Pearson. pp.2013 3(6) , 175–176.

7. Marthin. JS, Nolan LK, Tonooka KH et al Virulence factors of Escherichia coli from cellulitis or colisepticemia lesions in chickens. *Avian Disease* 2019; 46(5) , 48-52.

8. Jeffrey JS, Nolan LK, Tonooka KH, et al. Virulence factors of *Escherichia coli* from cellulitis or colisepticemia lesions in chickens. Avian Dis . (2015); 49(1)

9. Fankhauser, C., Schrenzel, J., Prendki, V., Ris, F., Schiffer, E., Gastmeier, P., Harbarth, S. Prevalence of extended-spectrum betalactamase producing–Enterobacteriaceae (ESBL-E) carriage on admission at Geneva University Hospitals (HUG). *Antimicrob Resist Infect Control* 2015; 4(3) , 120-12.

10. Murakamin, M., Kwaga, J.K., White, D.G., et al. Escherichia coli cellulitis in broiler chickens: clonal relationships among strains and analysis of virulence-associated factors of isolates from diseased birds. *Infect Immunology2016* ; 64(8) , 3118-3126.

11.Ramazanzadeh,R., Farhadifar, F., Mansouri, M. Etiology and antibiotic resistance pattern of community-acquired extended-spectrum beta-lactamas-producing gram negative isolates in Sanandaj.*ResearchJornalMedicin Science2017* ; 4(9) , 243-7.

12. Ghanbarpour, R. genetipicanalysis of virulence genes antimicrobial profile of diarrrea agenic Escherichia coli isolaited from disease poultray in Iran tropanima healtprod. *Dol report microbiology* 2017; 10(6) , 017-1234.

13- Suwanich Kul, A., Paningrahy, B., Wagner, MAntigen relateness and partial a; mino acid sequence of pili of Escherichia coli serotype O_1, O_2 and O_{78} pathogenic to poultry. *Avian diseases2019* ;31(4) , 809-813.

14. Van Bost, S., Jacquemin, E., Oswald, E., mainil, J. Multiplex PCRs for indentification of necrotoxigenic Escherichia coli. *Clinical Microbiology* 2019; 41(13) , 4480-4482.

15. La Ragione, R.M., Woodward, M.J. Virulence factors of Escherichia coli serotypes associated with avian colisepticaemia. *Research Veterinary Science* 2018; 73(2) , 27-35.

16. Escobar-Paramo, P., Clermont, O., Blanc-Potard, A.B., Bui, H., Bouguenec C.Le., Denamur, E. A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in Escherichia coli. *Mol biology evolutionary* 2019; 21(7) ,1085-1094.

17- Gordon, D.M., Clermont, O., Tolley, H., Denamur, E. Assigning Escherichia coli strains to phylogenetic groups: multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method. *Environ Microbiol2018*; 10(3) , 2484-2496.

18. Facklam, R.R., Carvalho, M., Teixeira, L.M. History, taxonomy, biochemical characteristics, and antibiotic susceptibility testing of enterococci. Washington DC: *ASM jornal Science2017*; 6(5) , 1-54.

19. Jeffrey, J.S., Nolan, L.K., Tonooka, K.H., et al. Virulence factors of Escherichia coli from cellulitis or colisepticemia lesions in chickens. *Avian Disease2018*; 46(8) , 48-52.

20. McPeak, S.J.W., Smyth, J.A., Ball, H.J. Characterisation of avian pathogenic Escherichia coli (APEC) associated with colisepticaemia compared to fecal isolates from healthy bird. *Veterinary Microbiology* 2018 ;110(12) , 245-253

21.Sader, H.s. Antimicrobial activity of tetracycline tested against nosocomial bacterial pathogens from patients hospitalized in the intensive care unit. *Diagnosise Microbial Infect Disease*2015; 52(3) , 203-8..

22. Stordeur, P., Bree, A., Mainil, J., and Moulin-Schouleur, M. Pathogenicity of pap-negative avian Escherichia coli isolated from septicaemic lesions. *Microbes Infect2017*; 6(4) , 637-645.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-28]