

Prevalence of Antibiotic Resistance in *Escherichia coli* Isolated from Poultry Meat Supply in Isfahan

Farhad Safarpour Dehkordi¹, Emad Yahaghi², Ebrahim Khodaverdi Darian³

1. Department of Food Hygiene, College of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
2. Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Young Researchers and Elite Club, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

Article Information

Article history:

Received:2014/04/28
Accepted:2014/06/20
Available online:2014/08/18

article subject:

Antibiotic Resistance

IJMM 1393; 8(2): P 41-47

Corresponding author at:

Dr. Farhad Safarpourdehkordi

Ph.D Student of Food Hygiene,
College of Veterinary Medicine,
University of Tehran, Tehran,
Iran.

Email:

Dr.Farhads@yahoo.com

Abstract

Background and Aim: Unfortunately, conventional antibiotic therapies which were used for cases of food poisoning caused by *Escherichia coli* are costly and ineffective. This study was carried out in order to detection and investigates the antibiotic resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from chicken meat distributed in Isfahan province.

Materials and Methods: 220 chicken meat samples were collected from shopping centers in Isfahan province. Samples were initially cultured and genomic DNA was extracted from the typical colonies that indicate the presence of *Escherichia coli* and polymerase chain reaction for diagnosis and detection of genes encoding resistance to antibiotics was used. Finally, the antibiotic resistance pattern was studied using the simple disk diffusion method.

Results: Totally, 20.45% of samples were contaminated with *Escherichia coli*. Bacterial isolates has the highest antibiotic resistance to gentamicin (84.44%), ampicilin (80%), ciprofloxacin (77.77%), enrofloxacin (66.66%) and erythromycin (22.62%). The genes encoding resistance against gentamicin (*aac(3)-IV*), sulfonamide (*sul1*) and ampicillin (*CITM*) with incidence rate of 88.88%, 86.66% and 84.44% had the highest frequencies, respectively.

Conclusions: Despite the high contamination rate of chicken meat with *Escherichia coli*, majority of isolates had high resistance to common antibiotics. Complete cooking of meat and avoid indiscriminate prescribing of antibiotics, preventing the occurrence of food poisoning due to resistant *Escherichia coli*.

Key Words: Antibiotic resistance properties, *Escherichia coli*, chicken meat, Isfahan province

Copyright © 2014 Iranian journal of medical microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Safarpourdehkordi F, Yahaghi E, Khodaverdi Darian E. Prevalence of Antibiotic Resistance in *Escherichia coli* Isolated from Poultry Meat Supply in Isfahan. Iran J Med Microbiol. 2014; 8 (2) :41-47

بررسی شیوع مقاومت پادزیستی باکتری *اشریشیا کلی* جدا شده از گوشت مرغ های عرضه شده در استان اصفهان

فرهاد صفرپور دهکردی^۱، عماد یاحقی^۲، ابراهیم خداوردی داریان^۳

۱. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲. دانشگاه علوم پزشکی یقیه الله، تهران، ایران
۳. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و اهداف: درمان های رایج پادزیستی که برای موارد مسمومیت های غذایی ایجاد شده در اثر *اشریشیا کلی*، استفاده می شوند هزینه بر و کم اثر هستند. این بررسی به منظور تشخیص و بررسی الگوی مقاومت پادزیستی باکتری *اشریشیا کلی* جدا شده از گوشت مرغ توزیع شده در استان اصفهان، انجام شد. **مواد و روش کار:** ۲۲۰ نمونه گوشت مرغ از مراکز فروش استان اصفهان جمع آوری شد. نمونه ها ابتدا کشت داده شدند و از کلنی های تیپیک که نشان دهنده *اشریشیا کلی* بودند، DNA استخراج گردید و واکنش PCR برای ردیابی ژن های کد کننده مقاومت پادزیستی، استفاده شد. در پایان الگوی مقاومت پادزیستی به روش دیسک گذاری ساده بررسی شد.

یافته ها: در کل ۲۰/۴۵٪ از نمونه ها آلوده به باکتری *اشریشیا کلی* بودند. ایزوله های باکتریایی بیشترین مقاومت را به پادزیست های جنتامایسین (۸۴/۴۴٪)، آمپی سیلین (۸۰٪)، سیپروفلوکسازین (۷۷/۷۷٪)، انروفلوکسازین (۶۶/۶۶٪) و اریترومایسین (۲۲/۶۲٪) داشتند. ژن های کد کننده مقاومت علیه پادزیست های جنتامایسین (*aac(3)-IV*)، سولفونامید (*sulI*) و آمپی سیلین (*CITM*) به ترتیب با فراوانی ۸۸/۸۸٪، ۸۶/۶۶٪ و ۸۴/۴۴٪، بیشترین فراوان ترین موارد ردیابی شده بودند.

نتیجه گیری: علی رغم میزان آلودگی بالای نمونه های گوشت مرغ به *اشریشیا کلی*، اکثر جدایه ها مقاومت بالایی به پادزیست های معمول داشتند. پخت کامل گوشت و جلوگیری از تجویز بی رویه پادزیست ها از بروز مسمومیت های غذایی ناشی از *اشریشیا کلی* های مقاوم جلوگیری می کنند.

کلمات کلیدی: خصوصیات مقاومت پادزیستی، *اشریشیا کلی*، گوشت مرغ، استان اصفهان.

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروبی شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۳/۰۲/۲۰

پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۱۵

انتشار آنلاین: ۱۳۹۳/۰۶/۲۵

موضوع:

مقاومت پادزیستی

IJMM 1392; 8(2): P 41-47

نویسنده مسئول:

دکتر فرهاد صفرپور دهکردی

گروه بهداشت مواد غذایی،

دانشکده دامپزشکی، دانشگاه

تهران، تهران، ایران

تلفن: ۰۰۹۸۹۳۶۵۸۱۹۴۹۱

پست الکترونیک:

Dr.Farhads@yahoo.com

مقدمه

ویتامین D بوده و یکی از پر مصرف ترین اقلام غذایی ایرانیان محسوب می شود، بسیار پر اهمیت است.

از بین مطالعاتی که در این زمینه انجام پذیرفته اند، توانایی بالای باکتری *اشریشیا کلی* به عنوان عاملی برای فساد گوشت مرغ، به مراتب گزارش شده است (۱، ۲). *اشریشیا کلی* مهم ترین پاتوژن روده ای گرم منفی و میله ای شکلی است که موجب بروز مسمومیت غذایی مهلک در انسان می گردد (۱، ۲). پاتوتیپ های متفاوت این باکتری عبارتند از *اشریشیا کلی* توکسین زای روده

با وجود تمام پیشرفت هایی که در صنعت پرورش طیور گوشتی و خصوصاً مرغ انجام پذیرفته است، باز هم بیماری های منتقل شونده از طریق مصرف گوشت آلوده گریبان گیر بسیاری از اقشار جامعه است (۱، ۲). دلیل اصلی بروز این بیماری ها احتمالاً عدم انجام کنترل و بازرسی مؤثر در کشتارگاه های طیور و همچنین عدم رعایت بهداشت در مراکز عمل آوری و پخش مرغ است. بنابراین مشخص شدن جنبه های اپیدمیولوژیکی آلودگی گوشت مرغ که سرشار از منابعی مانند فسفر، آهن، پروتئین و

سریعاً به مرکز تحقیقات کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انتقال داده شد.

در ابتدا سطح عضله ران با آنس داغ و استریل ضد عفونی شد و از عمق عضله برای کشت در محیط *MacConkey agar* (Merck, Germany) استفاده شد. محیطها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری شدند. کلنی‌های تیپیک رشد کرده که دارای خصوصیات ظاهری *اشریشیا کلی* بودند (کلنی‌های صورتی رنگ)، با آنس استریل برداشته شده و دوباره در محیط آگار خوندار کشت و گرم خانه گذاری شدند و در نهایت به محیط *EMB agar* (Merck, Germany) انتقال یافتند و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرم خانه گذاری شدند. کلنی‌های سبز متالیک رشد کرده در محیط *EMB agar* به عنوان باکتری *اشریشیا کلی* تیپیک مورد پذیرش قرار گرفتند. به منظور تأیید تشخیص از روش واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) که توسط *Sabat* و همکاران (۱۰) ارائه شده بود، استفاده شد.

استخراج DNA

باکتری‌های رشد کرده در طول یک شب در محیط *Trypticase Soy Agar (TSA, Merck, Germany)* در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری شدند و DNA ژنومی به وسیله کیت استخراج DNA شرکت فرمنتاز لیتوانی و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد و تا زمان انجام PCR در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

بررسی الگوی مقاومت پادزیستی جدایه های باکتریایی

به منظور بررسی مقاومت پادزیستی باکتری‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از گوشت مرغ، از روش دیسک گذاری (*Oxoid, UK*) در محیط مولر هینتون آگار (*HiMedia Laboratories, Mumbai, India, MV1084*) و با توجه به پروتوکول آزمایشگاهی و بالینی، استفاده شد. پس از گرم خانه گذاری هوازی در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در محیط آزمایشگاه، الگوی مقاومت پادزیستی باکتری‌ها به وسیله روش طرحی شده توسط انستیتو آزمایشگاهی و بالینی استاندارد (*CLSI*)، مورد بررسی قرار گرفت (۱۱). از باکتری *اشریشیا کلی ATCC 25922* به منظور کنترل در بررسی مقاومت پادزیستی استفاده شد.

ای (*EPEC*)، *اشریشیا کلی* پاتوژنی (*EPEC*)، *اشریشیا کلی* چسبنده روده ای (*EPEC*)، *اشریشیا کلی* متهاجم روده ای (*EIEC*) و *اشریشیا کلی* خونریزی دهنده روده ای (*EHEC*) (۳). تیپ *EHEC* شامل یک تحت تیپ مهم به نام *اشریشیا کلی* تولید کننده شیگا توکسین (*STEC*) می‌باشد (۳).

سوش های *اشریشیا کلی STEC* علاوه بر این که از موارد فساد گوشت جداسازی شده‌اند، عامل ایجاد اسهال خونی و غیر خونی، ترومبوسیتوپنی، کولیت خونریزی دهنده (*HC*)، سندرم همولیتیک اورمیک (*HUS*)، آنمی همولیتیک و اختلالات کلیوی حاد هستند (۴-۶).

متاسفانه علی رغم انجام درمان‌های پادزیستی موثری همچون استفاده از پادزیست‌های آمپی سیلین، جنتامایسین، آمیکاسین، انروفلوکسازین و تتراسایکلین، عفونت‌های ناشی از این باکتری نه تنها محدود نمی‌شوند بلکه مقاومت‌های پادزیستی شدیدی نیز در آن‌ها ایجاد شده است (۷). عامل اصلی بروز این مقاومت‌های پادزیستی حضور یکسری ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی از جمله ژن‌های کد کننده مقاومت به پادزیست آمپی سیلین (*SHV* و *TEM*)، سولفانامیدها (*int1* و *sul2*، *sul1*)، استرپتومایسین (*strA* و *strB*)، تتراسایکلین (*tetA-tetE*) و *tetG*، تری متوپریم (*dfr17* و *dfr7*، *dfrA13*، *dfrA1*) و کلرامفنیکل (*catI-catIII*)، می‌باشد (۸، ۹).

متاسفانه علی رغم اهمیت بالای مصرف گوشت مرغ در ایران، تا کنون هیچ مطالعه ای در مورد میزان شیوع و مقاومت پادزیستی باکتری *اشریشیا کلی* تولید کننده شیگا توکسین، انجام نگرفته است. در نتیجه مطالعه حاضر را به منظور ردیابی و بررسی خصوصیات مقاومت پادزیستی باکتری *اشریشیا کلی* تولید کننده شیگا توکسین جدا شده از گوشت مرغ‌های توزیع شده در استان اصفهان، انجام دادیم.

مواد و روش‌ها

نمونه‌ها و جداسازی *اشریشیا کلی*

در تابستان سال ۱۳۹۲، در کل ۲۲۰ نمونه گوشت مرغ از مراکز فروش و سوپرمارکت‌های استان اصفهان به طور تصادفی انتخاب گردید. کلیه نمونه‌ها از گوشت عضله ران مرغ همراه با پوست ناحیه اخذ گردید و در یخچال حاوی یخ به شکل جداگانه

برای بررسی محصولات PCR از الکتروفورز در ژل آگاروز ۱٪ و رنگ آمیزی DNA با رنگ سایبرگرین انجام شد. ژل‌ها با استفاده از دستگاه Gel Documentation مورد بررسی قرار گرفتند.

بررسی آماری

داده‌های حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) و آزمون‌های آماری مربع کای و فیشر تجزیه و تحلیل گردید و اختلافات آماری بین حضور و فراوانی انواع ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی در سویه‌های *اشریشیا کلی* جدا شده از گوشت مرغ‌ها بر پایه ضریب اطمینان ۰.۹۵٪ ($P_{value} < 0.05$) مورد بررسی قرار گرفت.

ردیابی مولکولی ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی

به منظور ارزیابی حضور ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی در جدایه های *اشریشیا کلی* از روش PCR با استفاده از پرایمر های ارائه شده در جدول ۱، استفاده شد. اجزا هر یک از واکنش‌های PCR، حجم واکنش و برنامه حرارتی در جدول ۲ آمده است. در تمام واکنش‌های PCR از دستگاه PCR ترموسایکلر ساخت شرکت Eppendorf آلمان (EppendorfMastercycler-Nethel-Hinz GmbH, Hamburg, Germany)، استفاده شد. در تمام واکنش‌های PCR، از آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی و از باکتری *اشریشیا کلی* O157:K88ac:H19 به عنوان کنترل مثبت واکنش، استفاده شد.

الکتروفورز محصولات PCR

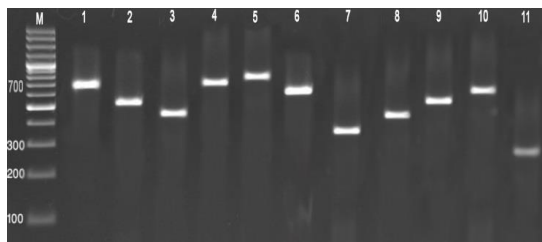
جدول ۱: لیست پرایمر های مورد استفاده به منظور ارزیابی حضور ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی در جدایه های *اشریشیا کلی*

نام ژن	نام پادزیست	توالی پرایمر (5'-3')	اندازه محصول (bp)	منابع
<i>aadA1</i>	استریتومایسین	(F) TATCCAGCTAAGCGGAACT (R) ATTTGCCGACTACCTTGGTC	447	(12)
<i>tetA</i>	تتراسایکلین	(F) GGTTCACTCGAACGACGTC (R) CTGTCCGACAAGTTGCATGA	577	(12)
<i>tetB</i>	تتراسایکلین	(F) CCTCAGCTTCTCAACGCGTG (R) GCACCTTGCTGATGACTCTT	634	(12)
<i>dfrA1</i>	تری متوپریم	(F) GGAGTGCCAAAGGTGAACAGC (R) GAGGCGAAGTCTTGGGTAAAAAC	367	(13)
<i>qnr</i>	فلوروکینولون	(F) GGGTATGGATATTATTGATAAAG (R) CTAATCCGGCAGCACTATTTA	670	(14)
<i>aac(3)-IV</i>	جنتامایسین	(F) CTCAGGATGGCAAGTTGGT (R) TCATCTCGTTCTCCGCTCAT	286	(15)
<i>sul1</i>	سولفونامید	(F) TTCGGCATTCTGAATCTCAC (R) ATGATCTAACCCCTCGGTCTC	822	(15)
<i>blaSHV</i>	سفالوتین	(F) TCGCCTGTGATTATCTCCC (R) CGCAGATAAAATCACCACAATG	768	(15)
<i>CITM</i>	آمپی سیلین	(F) TGGCCAGAACTGACAGGCAAA (R) TTTCTCTGAACGTGGCTGGC	462	(15)
<i>cat1</i>	کلرامفیکل	(F) AGTTGCTCAATGTACCTATAACC (R) TTGTAATCATTAAGCATTCTGCC	547	(15)
<i>cmlA</i>	کلرامفیکل	(F) CCGCCACGGTGTGTTGTTATC (R) CACCTTGCTGCCCATCATTAG	698	(15)

جدول ۲: حجم، فرایند دمایی و تعداد سیکل واکنش‌های زنجیره ای پلیمرز

ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی	PCR برنامه	حجم واکنش (۵۰ میکرولیتر)
<i>tetA</i> , <i>tetB</i> , <i>dfrA1</i> , <i>qnr</i> , <i>aac(3)-IV</i> , <i>sul1</i> , <i>blaSHV</i> , <i>CITM</i>	1 cycle:	5 μ L PCR buffer 10X
	94 0C ----- 8 min.	2.5 mM MgCl ₂
	32 cycle:	200 μ M dNTP (Fermentas)
	95 0C ----- 60 s	0.5 μ M of each primers F & R
	55 0C ----- 70 s	2 U Taq DNA polymerase (Fermentas)
72 0C ----- 2 min	3 μ L DNA template	
1 cycle:		
72 0C ----- 8 min		

یافته‌ها



شکل ۱: واکنش زنجیره ای پلیمرز جهت ردیابی ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی در باکتری *اشریشیا کلی* جداسازی شده از گوشت مرغ. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، شماره‌های ۱-۱۱ نمونه‌های مثبت از نظر حضور ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی.

نتایج بررسی حاضر نشان داد که از کل ۲۲۰ نمونه گوشت مرغ بررسی شده، ۴۵ نمونه (۲۰/۴۵٪) آلوده به باکتری *اشریشیا کلی* بودند (جدول ۳). الگوی مقاومت پادزیستی باکتری *اشریشیا کلی* جداسازی شده از گوشت مرغ‌های توزیع شده در استان اصفهان در جدول ۳ آمده است. ایزوله‌های باکتریایی بیشترین مقاومت پادزیستی را به پادزیست‌های جنتامایسین (۸۴/۴۴٪)، آمپی سیلین (۸۰٪)، سیپروفلوکسازین (۷۷/۷۷٪)، انروفلوکسازین (۶۶/۶۶٪) و اریترومایسین (۲۲/۶۲٪) و کمترین مقاومت پادزیستی را به پادزیست‌های سولفامتوکسازول (۲۰٪) داشتند. (جدول ۳ و شکل ۲). اختلاف معنادار آماری ($P < 0/05$) بین میزان شیوع مقاومت *اشریشیا کلی* ها به جنتامایسین و سولفامتوکسازول مشاهده شد.

واکنش PCR نشان دهنده حضور باندهای اختصاصی برای ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی ردیابی شده در *اشریشیا کلی*‌های جداسازی شده از گوشت مرغ بود (شکل ۱).

فراوانی ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی در باکتری *اشریشیا کلی* جداسازی شده از گوشت مرغ‌های توزیع شده در استان اصفهان در جدول ۴ آمده است. بر طبق نتایج بدست آمده ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی بر علیه پادزیست‌های جنتامایسین (*aac(3)-IV*)، سولفونامید (*sul1*) و آمپی سیلین (*CITM*) به ترتیب با فراوانی ۸۸/۸۸ درصد، ۸۶/۶۶ درصد و ۸۴/۴۴ درصد، بیشترین فراوانی و ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی بر علیه پادزیست‌های تتراسایکلین (*tetB*) و کلرامفنیکل (*cmlA*) کمترین فراوانی را داشتند (جدول ۴). اختلاف معنادار آماری ($P < 0/05$) بین میزان فراوانی ژن‌های *sul1* و *CITM* با *tetB* و *cmlA* و همچنین $P < 0/05$ بین فراوانی حضور ژن *aac(3)-IV* و ژن‌های *tetB*، *cmlA*، *dfrA1* و *cat1* مشاهده شد.

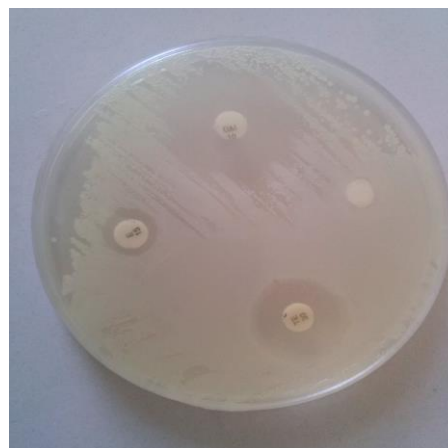
جدول ۳: الگوی مقاومت پادزیستی در باکتری *اشریشیا کلی* جدا شده از گوشت مرغ

میزان مقاومت پادزیستی (%)							تعداد نمونه‌ها مثبت (%)	نمونه‌های مورد بررسی (تعداد)
جنتامایسین	آمپی سیلین	انروفلوکسازین	تتراسیکلین	سولفامتوکسازول	اریترومایسین	سیپروفلوکسازین		
۳۸ (۸۴/۴۴)	۳۶ (۸۰)	۳۰ (۶۶/۶۶)	۲۵ (۵۵/۵۵)	۹ (۲۰)	۲۸ (۶۲/۲۲)	۳۵ (۷۷/۷۷)	۴۵ (۲۰/۴۵)	مرغ (۲۲۰)

جدول ۴: فراوانی ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی در باکتری *اشریشیا کلی* جدا شده از گوشت مرغ

فراوانی ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی (%)											نمونه‌های مثبت
<i>cmlA</i>	<i>cat1</i>	<i>CITM</i>	<i>blaSHV</i>	<i>sul1</i>	<i>aac(3)-IV</i>	<i>qnr</i>	<i>dfrA1</i>	<i>tetB</i>	<i>tetA</i>	<i>aadA1</i>	
۱۲ (۲۶/۶۶)	۱۵ (۳۳/۳۳)	۳۸ (۸۴/۴۴)	۳۰ (۶۶/۶۶)	۳۹ (۸۶/۶۶)	۴۰ (۸۸/۸۸)	۲۸ (۶۲/۲۲)	۱۴ (۳۱/۱۱)	۱۰ (۲۲/۲۲)	۲۲ (۴۸/۸۸)	۲۴ (۵۳/۳۳)	۴۵

بررسی حاضر نشان می‌دهد که تجویز پادزیست‌های معمولی همچون سیپروفلوکسازین، اریترومايسين، تتراسایکلین، انروفلوکسازین، آمپی سیلین و جنتامایسین برای درمان موارد مسمومیت‌های غذایی ناشی از باکتری /شیریشیا کلی نه تنها کارآمد نیست بلکه پر هزینه خواهد بود. به عبارت دیگر به دلیل مقاومت پادزیستی کم در برابر پادزیست سولفامتوکسازول (۲۰٪)، تجویز آن‌ها می‌تواند به مراتب موثرتر از سایر پادزیست‌ها در درمان موارد ابتلا به /شیریشیا کلی باشد. مطالعه ای در تایلند (۲۲) نشان می‌دهد که کلیه /شیریشیا کلی‌های جداسازی شده از گوشت طیور دارای مقاومت پادزیستی در حد ۱۰۰٪، ۱۰۰٪، ۱۰۰٪، تتراسایکلین، آمپی سیلین، اریترومايسين، سفالوتین و سولفونامید+تری متوپریم، بوده‌اند. مطالعه ای دیگر نشان داده که ۸۲٫۴٪ از /شیریشیا کلی‌های جدا سازی شده از گوشت طیور دارای مقاومت پادزیستی نسبت به تتراسایکلین بوده‌اند (۲۳). مطالعه ای دیگر نشان می‌دهد /شیریشیا کلی‌های جدا شده از گوشت طیور دارای ۸۲٪ مقاومت به سیپروفلوکسازین بوده‌اند (۲۴) که با نتایج بررسی ما مشابهت دارد. Altalhi و همکاران (۲۰۱۰) (۲۵) در بررسی ای که بر روی ۱۱۵ نمونه گوشت مرغ انجام دادند نشان دادند که از کل ۳۷ سوش /شیریشیا کلی جداسازی شده، ۸۹٪، ۷۸٪، ۷۰٪، ۴۸٪، ۳۲٪ و ۲۴٪ درصد به ترتیب مقاوم به پادزیست‌های سولفامتوکسازول، آمپی سیلین، نالیدیکسیک اسید، استرپتومايسين، کلرامفنیکل و جنتامایسین، بودند. Gregova و همکاران (۲۰۱۲) (۲۶) نیز میزان مقاومت پادزیستی سوش های /شیریشیا کلی جداسازی شده از کشتارگاه‌های طیور نسبت به پادزیست‌های آمپی سیلین و سفتی اوفور را به ترتیب ۸۹ و ۶۲ درصد گزارش کردند. بنابراین علاوه بر نتایج بررسی حاضر، نتایج مطالعات پیشین نیز نشان دهنده شیوع بالای مقاومت پادزیستی سوش های /شیریشیا کلی جداسازی شده از گوشت طیور نسبت به پادزیست‌های آمپی سیلین، جنتامایسین و سیپروفلوکسازین بودند. به نظر می‌رسد که مصرف بی رویه پادزیست‌ها خصوصاً در فیلد طیور می‌تواند به معضل بزرگی برای افزایش میزان مقاومت‌های پادزیستی شود. بررسی پیشین نشان داد که مصرف سالیانه پادزیست در مزارع پرورش طیور در کشورهای پیش رفته به ۳۰۰۰۰۰ کیلوگرم رسیده است (۲۰). در نتیجه مصرف زیاد و بی رویه پادزیست سبب بروز مقاومت پادزیستی شدیدی در اکثر باکتری‌ها شده است.



شکل ۲: بررسی الگوی مقاومت پادزیستی جدایه های /شیریشیا کلی از گوشت مرغ (روش دیسک گذاری ساده).

بحث

بررسی حاضر نشان دهنده حضور بالای باکتری /شیریشیا کلی در نمونه‌های گوشت مرغ در استان اصفهان می‌باشد. حضور بالای این باکتری در نمونه‌های گوشت مرغ نشان دهنده عدم رعایت بهداشت از سوی کارکنان مراکز کشتار، فراوری، بسته بندی، نگه داری و پخش این ماده غذایی است. از سوی دیگر احتمالاً دست کارکنان مراکز توزیع و فروش و همچنین آب مصرفی برای شست و شوی لاشه های طیور کشتار شده، آلوده با باکتری /شیریشیا کلی بوده اند.

علاوه بر گوشت مرغ (بررسی حاضر) باکتری /شیریشیا کلی به عنوان عامل فساد در گوشت انواع طیور (۱۶)، محصولات گوشتی (۱۷)، گوشت گوساله (۶)، گوشت ماهی (۱۸)، شیر (۱۹)، و تخم مرغ (۱۸) معرفی شده است. در بررسی Momtaz and Jamshidi (۲۰۱۲) (۸) از کل ۴۲۲ نمونه گوشت جوجه بررسی شده، ۱۴۶ نمونه (۳۴٪/۵۹٪) آلوده به باکتری /شیریشیا کلی بودند. آن‌ها نشان دادند که ژن *suII* و مقاومت به پادزیست‌های تتراسایکلین، کلرامفنیکل و نیتروفوران‌توین بیشترین فراوانی را در جدایه های بررسی شده داشتند (۸). ایزوله‌های باکتریایی مطالعه حاضر بیشترین مقاومت پادزیستی را به پادزیست‌های جنتامایسین (۸۴/۴۴٪)، آمپی سیلین (۸۰٪)، سیپروفلوکسازین (۷۷/۷۷٪)، انروفلوکسازین (۶۶/۶۶٪) و اریترومايسين (۲۲/۶۲٪) داشتند. نتایج مشابهی در بررسی‌های Momtaz و همکاران (۸)، Bogaard (۲۰)، Van و همکاران (۱۵) و Fazeli and Salehi (۲۱)، مشاهده شد.

اشریشیا کلی از مراحل مختلف در کشتارگاه، آزمایش مکرر کارکنان کشتارگاه‌های طیور از نظر وجود *اشریشیا کلی* و صدور کارت بهداشتی برای آن‌ها می‌توانند از آلودگی لاشه‌های طیور به باکتری *اشریشیا کلی* جلوگیری به عمل آورند.

تشکر و قدر دانی

کلیه نویسندگان این مقاله از کارکنان محترم مرکز تحقیقات بهداشت مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و جناب آقای دکتر حسن ممتاز کمال تشکر را دارند.

تعارض منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهند که روش PCR می‌تواند به عنوان یک روش دقیق، سریع، حساس و بی‌خطر برای تشخیص باکتری *اشریشیا کلی* و ژن‌های کد کننده مقاومت پادزیستی این باکتری و هم چنین کنترل نمونه‌های گوشت مرغ از نظر وجود این باکتری مورد استفاده قرار گیرد. نویسندگان بررسی حاضر استفاده از روش دیسک گذاری ساده را به منظور کاهش میزان بروز مقاومت‌های پادزیستی، پیشنهاد می‌کنند. بهتر است دامپزشکان در مصرف انواع پادزیست‌ها در طیور گوشتی و حیواناتی که مصارف انسانی دارند، دقت بیشتری نمایند. رعایت اصول بهداشت خصوصاً در کشتارگاه‌های طیور، کنترل و بازرسی لاشه‌های طیور و حذف لاشه‌های آب دار، تب دار و نامرغوب، انجام تست‌های باکتری شناسی به منظور جداسازی باکتری

References

- Lee GY, Jang HI, Hwang IG, Rhee MS. Prevalence and classification of pathogenic *Escherichia coli* isolated from fresh beef, poultry, and pork in Korea. *Int J Food Microbiol.* 2009;134(3):196-200.
- Henry YM, Natrajan N, Lauer WF. Detex for detection of *Escherichia coli* O157 in raw ground beef and raw ground poultry. *J AOAC Int.* 2001;84(3):752-60.
- Holko I, Bisova T, Holkova Z, Kmet V. Virulence markers of *Escherichia coli* strains isolated from traditional cheeses made from unpasteurised sheep milk in Slovakia. *Food Control.* 2006;17(5):393-6.
- Karmali MA, Gannon V, Sargeant JM. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Vet Microbiol.* 2010;140(3-4):360-70.
- Karch H, Tarr PI, Bielaszewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int J Med Microbiol.* 2005;295(6-7):405-18.
- Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL: Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolyticuraemic syndrome. *Lancet.* 2005;365(9464):1073-1086.
- Seifi S, Shirzad MR: Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from free range poultry or wild birds at the southern Caspian Sea coast of Iran. *J Hellenic Vet Med.* 2013;64(4):249-254.
- Momtaz H, Jamshidi A., 2013. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from chicken meat in Iran: serogroups, virulence factors, and antimicrobial resistance properties. *Poult Sci* 2013;92(5):1305-13.
- Momtaz H, Safarpour Dehkordi F, Rahimi E, Ezadi H, Arab R., 2013. Incidence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in ruminant's meat. *Meat Sci.* 2013;95(2):381-8.
- Sabat G, Rose P, Hickey WJ, Harkin JM. Selective and sensitive method for PCR amplification of *Escherichia coli* 16SrRNA genes in soil. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66(2):844-9.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved standard-Ninth Edition (M2-A9). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2006.
- Randall LP, Cooles SW, Osborn MK, Piddock LJ, Woodward MJ: Antibiotic resistance genes, integrons and multiple antibiotic resistance in thirty-five serotypes of *Salmonella enterica* isolated from humans and animals in the UK. *J Antimicrob Chemother.* 2004;53(2):208-216.
- Toro CS, Farfán M, Contreras I, Flores O, Navarro N, Mora GC, et al: Genetic analysis of antibiotic-resistance determinants in multidrug-resistant *Shigella* strains isolated from Chilean children. *Epidemiol Infect.* 2005;133(1):81-86.
- Mammeri H, Van De Loo M, Poirel L, Martinez-Martinez L, Nordmann P: Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* in Europe. *Antimicrob Agent Chemother.* 2005;49(1):71-76.
- Van TT, Chin J, Chapman T, Tran LT, Coloe PJ: Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *International Journal of Food Microbiol.* 2008;124(3):217-223.
- Doyle MP, Schoeni JL. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Appl Environ Microbiol.* 1987;53(10):2394-6.
- Chapman PA, Ellin M, Ashton R. A comparison of immune magnetic separation and culture, Reveal and VIP for the detection of *E. coli* O157 in enrichment cultures of naturally-contaminated raw beef, lamb and mixed meat products. *Lett Appl Microbiol.* 2001;32(3):171-5.

18. Lih-chingChiueh LC, Shiang WH, Shih DYC. Characterization of *Escherichia coli* serotype O157 strains isolated in Taiwan by PCR and Multilocus enzyme analysis. *J Food Drug Analysis*. 2001; 9(1):129.
19. Bürk C, Braumiller IG, Becker H, Märtlbauer E. Nuclease fluorescence assay for the detection of verotoxingenes in raw milk. *Lett Appl Microbiol*. 2002;35(2):153-6.
20. van den Bogaard A. Veterinary use of antibiotics in the Netherlands. Facts and numbers. *Tijdschr Diergeneeskd*. 2000;125(17):527-30.
21. Fazeli H, Salehi R. Antibiotic resistance pattern in shiga toxin producing *Escherichia coli* isolated from diarrheal patients in Al-Zahra Hospital, Isfahan, Iran. *Res Pharm Sci*. 2007;2:29-33.
22. Mooljunttee S, Chansiripornchai P, Chansiripornchai N. Prevalence of the Cellular and Molecular Antimicrobial Resistance against *E. coli* Isolated from Thai Broilers. *Thai J Vet Med*. 2010;40(3): 311-5.
23. Miles TD, McLaughlin W, Brown PD. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from broiler chickens and humans. *BMC Vet Res*. 2006;2:7.
24. Akond MA, Alam S, Hassan SMR, Shirin M. Antibiotic Resistance of *Escherichia Coli* Isolated From Poultry and Poultry Environment of Bangladesh. *Int J Food Safe*. 2009;11:19-23.
25. 25. Altalhi AD, Gherbawy YA, Hassan SA. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolated from retail raw chicken meat in Taif, Saudi Arabia. *Foodborne Pathogen Dis*. 2010;7(3):281-285.
26. 26. Gregova G, Kmetova M, Kmet V, Venglovsky J, Feher A. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from a poultry slaughterhouse. *Ann Agric Environ Med*. 2012 ;23:19(1):75-7.