بررسی میزان شیوع ژن CTX-M -1 در *اشریشیاکلی*های جدا شده ازجوجه های گوشتی در استان سمنان

صحافی، ا.[۱]، کفشدوزان، خ.[۲*]، استاجی، ح.[۲].

دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۱۹ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۱۹

خلاصه

بتالاکتامازهای وسیع الطیف نظیر *CTX-M* یکی از اصلی ترین دلایل مقاومت باکتری های خانواده انتروباکتریاسه به آنتیبیوتیک های مختلف، می باشند. تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تعیین حضور بتالاکتامازهای وسیع الطیف (*ESBLs*) گروه *CTX-M* در سویه های *اشریشیاکلی* جوجه های گوشتی استان سمنان صورت نپذیرفته است، این مطالعه با هدف بررسی شیوع ژن بتالاکتاماز وسیع الطیف *blaCTX-M* در اشریشیا کلی جدا شده از جوجه های گوشتی استان سمنان انجام گرفت. در این مطالعه ۱۵۶ نمونه از مزارع پرورش جوجه های گوشتی و آزمایشگاه های دامپزشکی استان سمنان جمع آوری گردید. صد جدایه، شامل ۵۰ سویه *اشریشیاکلی* جدا شده از کلواک پرندگان به ظاهر سالم و ۵۰ سویه *اشریشیاکلی* جدا شده از احشای جوجه های گوشتی مشکوک به کلی باسیلوز پس از تأیید به کمک تست های افتراقی بیوشیمیایی، جداسازی و خالص گردید. برای تشخیص وجود ژن *blaCTX-M* از واکنش زنجیره ای پلیمراز به کمک پرایمرهای اختصاصی استفاده شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد. ۱۸٪ (۹سویه جدا شده از احشاء مشکوک و ۹ سویه از پرندگان سالم) سویه های مورد مطالعه، واجد ژن *blaCTX-M* بودند. فراوانی ژن *blaCTX-M* در هر دو گروه مورد مطالعه فاقد اختلاف معنی دار بوده که این امر نشان می دهد طیور گوشتی به ظاهر سالم مزارع پرورشی استان سمنان ممکن است به عنوان یکی از منابع سویه های مولد *ESBLs* عمل نموده و از طریق زنجیره غذایی، در گسترش مقاومت ضدمیکروبی نقش داشته باشند. به همین خاطر طرح برنامه های مداوم مراقبت از سلامت دربرابر خطر حضور میکروارگانیسم های مولد *ESBLs* ضروری به نظر می رسد.

واژه‌های کلیدی: مقاومت ضدمیکروبی، اشریشیاکلی، بتالاکتاماز وسیع الطیف، *ESBLs*

۱. دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنانِ سمنان، ایران.

۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

*نویسنده مسؤول: **kafshdouzan@semnan.ac.ir**

مقدمه

با شناسایی بیماری‌های عفونی و عوامل ایجادکننده آن‌ها، بشر همواره در تلاش جهت به دست آوردن دارویی موثر بر علیه این بیماری‌ها بوده است. ولی میکروارگانیسم‌ها با کسب مکانیسم‌های مختلف مقاومت دارویی، باعث بروز مشکلاتی در این زمینه شده‌اند. به طوری که علیرغم اقداماتی که تاکنون در جهت تولید مواد ضدمیکروبی وسیع الطیف صورت گرفته است، ریشه‌کنی بسیاری از این عوامل میکروبی با موفقیت کامل همراه نبوده و حتی با ظهور و شیوع سویه‌های جدید بر دامنه این بیماری‌ها در اشکال جدید افزوده شده و موضوع بروز و شیوع مقاومت‌های میکروبی به خصوص مقاومت باکتری‌های گرم منفی یکی از موانع اساسی بر سر راه درمان قطعی بیماری‌های عفونی محسوب می‌شود (Aliasadi و همکاران، ۲۰۱۵).

اشریشیاکلی یکی از عوامل بیماری‌زای بسیار مهم در طیور است که از بسیاری از موارد عفونت‌های انسانی نیز جداسازی شده است. این باکتری همچنین به صورت فلور طبیعی در روده حیوانات و انسان وجود دارد. کلی‌باسیلوز طیور یکی از شایع‌ترین عفونت‌های ثانویه محسوب می‌شود که به دنبال بیماری‌های ویروسی در مزارع پرورش طیور گوشتی در سراسر جهان دیده می‌شود و سالانه خسارات اقتصادی زیادی به صنعت پرورش طیور وارد می‌کند (Hirori و همکاران، ۲۰۱۲؛ Kasten و همکاران، ۱۹۹۷). برای پیشگیری و نیز درمان این بیماری عمدتاً از آنتی‌بیوتیک‌های مختلفی استفاده می‌شود. متأسفانه در سال‌های اخیر، مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام در دام و طیور سبب شیوع سویه‌های مقاوم باکتری *اشریشیاکلی* نسبت به این آنتی‌بیوتیک‌ها شده است (Aliasadi و همکاران، ۲۰۱۵).

آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، عوامل ضدمیکروبی باکتریوسید[1] هستند که اثر کشندگی آن‌ها مربوط به اختلال در سنتز دیواره سلولی باکتری‌ها می‌باشد. بتالاکتام‌ها به پروتئین‌هایی در دیواره سلولی باکتری به نام پروتئین‌های متصل شونده به پروتئین[2](PBP) اتصال می‌یابند و در واکنش‌های ترانس پپتیداسیون انتهایی سنتز دیواره باکتری‌ها که منجر به تشکیل ارتباطات متقاطع بین رشته‌های پپتیدوگلیکان مجاور هم می‌شوند، مداخله می‌کنند (Kasten و همکاران، ۱۹۹۷).

یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌هایی که در باکتری‌ها علیه آنتی‌بیوتیک‌های گروه بتالاکتام به کار گرفته می‌شود، تولید آنزیم‌های بتالاکتامازی می‌باشد. این آنزیم‌ها از طریق هیدرولیز حلقه بتالاکتام منجر به ایجاد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام می شوند (Dos Santos و همکاران، ۲۰۱۳).

بتالاکتامازهای وسیع الطیف[3](*ESBL*) یکی از انواع بتالاکتامازها هستند که علاوه بر ایجاد مقاومت نسبت به پنی‌سیلین‌ها در ایجاد مقاومت نسبت به سفالوسپورین‌های نسل اول، نسل دوم، نسل سوم و آزترونام‌ها نیز مؤثرند و معمولاً مقاومت نسبت به سفامایسین‌ها و نیز کارباپنم‌ها در آن‌ها مشاهده نمی‌شود. عوامل مهارکننده بتالاکتامازها (مانند کلاولونیک اسید، سولباکتام و تازوباکتام) اثر بازدارندگی بر عملکرد این آنزیم‌ها دارند (Dos Santos و همکاران، ۲۰۱۳).

این آنزیم غالبا در *اشریشیاکلی* و کلبسیلا گزارش شده اما از سایر اعضای انتروباکتریاسه و باکتری‌های غیر تخمیرکننده نیز به ندرت جداسازی شده‌است (Kasten و همکاران، ۱۹۹۷).

درمان عفونت‌های حاصل از باکتری‌های مولد این آنزیم‌ها بسیار مشکل است، زیرا از یک سو مقاومت به طیف وسیعی از سفالوسپورین‌ها مشاهده می شود و از سوی دیگر بسیاری از ژن‌های *ESBL* بر روی پلاسمیدهای بزرگی قرار دارند که همزمان حامل ژن‌های مقاومت به سایر عوامل ضدمیکروبی نظیر آمینوگلیکوزیدها نیز می باشند (Aliasadi و همکاران، ۲۰۱۵).

تا کنون انواع مختلفی از این آنزیم‌ها شناسایی شده اند که برخی از مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از SHV، *CTX-M* ، و.TEM بتالاکتامازهای وسیع الطیف نوع *CTX-M* برای اولین بار در سال ۱۹۸۹ در جدایه‌های بالینی *اشریشیاکلی* در آلمان گزارش شدند و پس از آن در نقاط مختلف دنیا گسترش یافتند (Hirori و همکاران، ۲۰۱۲).

این دسته از بتالاکتامازهای وسیع الطیف سبب مقاومت نسبت به پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌های وسیع الطیف می شوند و به وسیله کلاولونیک اسید و تازوباکتام مهار می‌شوند. بر خلاف بتالاکتامازهای وسیع الطیف نوع SHV و TEM اثر تخریبی بتا-لاکتامازهای *CTX-M* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم و سفتریاکسون بیشتر از سفتازیدیم است. حضور یک اسید آمینه سرین در موقعیت ۲۳۷ که در تمامی آنزیم‌های *CTX-M* وجود دارد، نقش اساسی در فعالیت بتالاکتامازی وسیع الطیف این آنزیم دارد. بتالاکتامازهای *CTX-M* توسط پلاسمید کد شده و این پلاسمیدها اغلب ژن مقاومت blaTEM را نیز با خود حمل می کنند که سبب مقاومت‌های چندگانه نسبت به آمینوگلیکوزیدها، کلرامفنیکل، سولفانامید، تری متوپریم، و تتراسایکلین‌ها می‌شوند (Hirori و همکاران، ۲۰۱۲).

منشأ بعضی از این آنزیم‌ها از ژن‌های کروموزومی گونه‌های کلوورا می‌باشد که ژن‌های مربوطه را درون پلاسمید داشته و سپس آن را به باکتری‌های بیماری‌زا منتقل نموده است.. به عنوان

[1] Bactericide
[2] Penicillin Binding Protein
[3] Extended Spectrum Beta-lactamase

مثال *blaCTX-M8* و *blaCTX-M9* از *Kluyvera georgiana* و *blaCTX-M1* و *blaCTX-M2* از Kluyvera ascorbata منشأ گرفته اند (Bauernfeind, و همکاران، ۱۹۹۰).

ژن های مولد آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف، به خصوص ژنهای مربوط به گروه *CTX-M* عمدتاً از اشریشیا کلی های جدا شده از حیوانات تولید کننده غذا، جداسازی شده اند. به دلیل امکان انتقال این ژنهای مقاومت از طریق باکتری های موجود در موادغذایی به باکتری های بیماریزا و یا فلور طبیعی دستگاه گوارش انسان، این مسأله یکی از تهدیدهای مهم سلامت انسان و بهداشت عمومی محسوب می‌شود. در این راستا، طیور و در درجه اول طیور گوشتی، به‌عنوان منبع انتقال ژنهای مقاومت و یا باکتریهای مقاوم مطرح هستند (Aliasadi و همکاران، ۲۰۱۵؛ Dallenne و همکاران، ۲۰۱۰).

با توجه به شیوع روزافزون انواع بیماری‌های عفونی در طیور و لزوم استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مناسب در درمان و پیشگیری از این بیماریها و نیز باتوجه به اینکه یکی از مسیرهای بالقوه و سریع در انتقال اشریشیا کلی های مولد آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف محصولات گوشتی آلوده است، ضروری است تا میزان شیوع این باکتریها در موارد بالینی کلی‌باسیلوز تعیین گردیده تا اطلاعات جامعی در ارتباط با مصرف آنتی‌بیوتیک های مناسب در اختیار سیاست‌گذاران بهداشتی منطقه قرار داده شود. از این رو هدف از مطالعه حاضر، بررسی میزان فراوانی آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف و نیز حضور ژن *CTX-M*-۱ در بین نمونه های *اشریشیاکلی* به دست آمده از جوجه های گوشتی می‌باشد.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری در یک دوره دوازده ماهه، از فروردین ۹۳ تا اسفند ماه ۹۳ در استان سمنان صورت گرفت. در مجموع ۱۵۶ نمونه از آزمایشگاه های دامپزشکی در شهر سمنان، شاهرود، گرمسار، و همچنین تعدادی از مزارع پررش طیور گوشتی در این شهرها جمع آوری گردید. هر سوآب در محیط انتقالی (Amies (Difco, USA قرار گرفته و در کوتاهترین زمان ممکن به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی سمنان منتقل گردید.

روش کشت و جداسازی

هر یک از نمونه ها به صورت خطی روی محیط مکانکی آگار (Merck, Germany) کشت داده شد. سپس ۴-۳ پرگنه لاکتوز مثبت مشکوک به ا شریشیا کلی به وسیله آنس استریل برداشته شده و در محیط های اوره و TSI کشت گردید. جدایه های قادر به تخمیر قند لاکتوز که از نظر حضور آنزیم اوره آز منفی بودند، از لحاظ سایر خصوصیات بیوشیمیایی از جمله تولید اندول، عدم استفاده از سیترات به عنوان منبع کربن و تخمیر اسیدهای مخلوط (آزمایش MR) مورد بررسی قرار گرفتند. پس از کشت در محیط EMB آگار (Merck, Germany) صد نمونه به عنوان اشریشیا کلی، شامل پنجاه نمونه جدا شده از لاشه طیور مبتلا به کلی باسیلوز و پنجاه نمونه از کلواک پرندگان به ظاهر سالم تائید شد. نمونه های های تایید شده به عنوان اشریشیا کلی جهت انجام مراحل بعدی، در محیط BHI (Merck, Germany) حاوی ۳۰ در صد گلیسرول در دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند.

واکنش زنجیره ای پلیمراز

به منظور بررسی حضور ژن DNA ، *CTX-M* بدست آمده با روش جوشانیدن در بافر TE، از پرایمرهای اختصاصی و شرایط دمایی مندرج در جدول یک با استفاده از کیت L-۲۰۱ (شرکت تکاپوزیست) و ترموسایکلر BIOER XP cycler-China تکثیر گردید. این پرایمر قادر است حضور بتالاکتامازهای *CTX-M-1،CTX-M-3* و *CTX-M-15* را ردیابی نماید (Hiroi و همکاران، ۲۰۱۱).

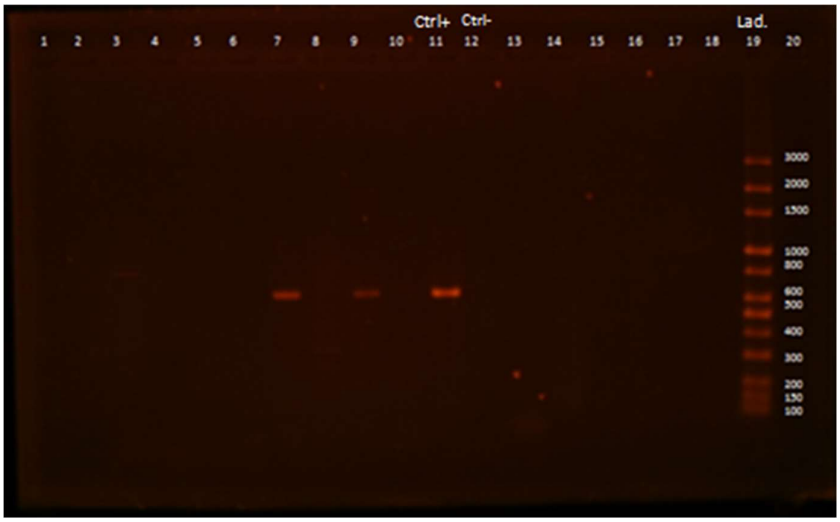
محصولات به دست آمده در ژل آگارز ۱/۲درصد الکترفورز شده و مورد بررسی قرار گرفتند. از کلبسیلا پنومونیه ۷۸۸۱ حاوی ژن *CTX-M* (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

Primer	Sequence (5'-3')	PCR condition			Amplicon (bp)	Target gene	Reference
		Denaturing	Annealing	Extension			
CTX-M-1-F CTX-M-1-R	TTA GGA ART GTG CCG CTG YA CGA TAT CGT TGG TRGTRCCAT	94°C, 30 s	50°C, 30 s	72°C, 60 s	688	*Ctx-M -1* *Ctx-M -3* *Ctx-M -15*	2

جدول ۱. توالی پرایمر و شرایط دمایی استفاده شده در واکنش زنجیره ای پلیمراز

نتایج

در این مطالعه از میان صد نمونه اشریشیاکلی، تعداد ۱۸ جدایه (۱۸٪) ، واجد ژن *CTX-M* بودند. ۹ جدایه مربوط به نمونه های کلواک و ۹ جدایه مربوط به احشاء پرندگان مبتلا به کلی باسیلوز بود.



تصویر۱. تصویر الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره ای پلیمراز-چاهک شماره بیست، مارکر(DNA ladder, Low Mid Range)، چاهک شماره یازده کنترل مثبت با وزن 688 bp (کلبسیلا پنومونیه ATCC 7887)، چاهک شماره یازده کنترل منفی(آب مقطر) و چاهک شماره هفت و نه مربوط به دو نمونه مثبت.

بحث

یکی از مهم‌ترین مسائل در رابطه با عدم کارکرد مؤثر آنتی‌بیوتیک‌های امروزی، مسأله مقاومت باکتری‌ها به عوامل ضدمیکروبی است. در طول زمان مکانیسم‌های مختلف مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها در باکتری‌ها ایجاد شده که یکی از مهم‌ترین انواع آن حضور آنزیم‌های بتالاکتاماز در باکتری‌ها می باشد (Paterson و همکاران ، ۲۰۰۵). امروزه در سراسر دنیا میزان شیوع بتالاکتامازهای وسیع الطیف مختلف به‌طور گسترده ای رو به افزایش است؛ به گونه‌ای که در بسیاری از جنس‌های مختلف باکتری‌ها (مانند خانواده انتروباکتریاسه) حضور آنها اثبات شده است. در حال حاضر انتشار وسیع اشریشیا کلی های مولد بتالاکتاماز های وسیع الطیف در حیوانات مولد محصولات غذایی، یکی از نگرانیهای جدی بهداشت عمومی به شمار میرود (Aliasadi و همکاران، ۲۰۱۵).

با توجه به اینکه تاکنون هیچ گونه مطالعه ای در ارتباط با بررسی حضور و میزان شیوع آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف در استان سمنان صورت نگرفته است، هدف از این مطالعه، بررسی حضورآنزیم های بتا-لاکتاماز وسیع الطیف و میزان شیوع ژن بتالاکتامازی *CTX-M* در اشریشیاکلی‌های جدا شده از مزارع طیور گوشتی استان سمنان بوده است.

نتایج این مطالعه نشان داد در میزان فراوانی آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف، در نمونه‌های اشرشیا کلی جدا شده از احشاء پرندگان مبتلا به کلی باسیلوز و نمونه های جداشده از پرندگان به ظاهر سالم اختلاف معنی داری وجود ندارد. همچنین فراوانی ژن-۱ *CTX-M* بین نمونه‌های سالم و مشکوک به کلی‌باسیلوز یکسان مشاهده گردید. فراوانی بالاتر میزان آنزیم‌های بتالاکتاماز نسبت به حضور ژن-۱ *CTX-M* در این مطالعه، احتمالا به دلیل حضور سایر ژن‌های کد کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز نظیر blaTEM -blaSHV می باشد.

در نقاط مختلف جهان نیز مطالعات زیادی برای ارزیابی میزان شیوع بتالاکتامازهای وسیع الطیف از جمله *CTX-M* انجام گرفته است و نتایج متفاوتی گزارش شده است. *اشریشیاکلی* تولیدکننده *CTX-M* در جهان به خصوص در بسیاری از کشورهای اروپایی، از میزبان‌های متعددی جدا شده است. در سال ۲۰۰۱ میلادی اولین نمونه *اشریشیاکلی* حامل *CTX-M* جداشده از پرنده سالم در اسپانیا و در گاو شیری در ژاپن گزارش گردید. و پس از آن *اشریشیاکلی* مولد *CTX-M* از حیوانات مختلف شامل طیور زنده در بلژیک و ژاپن، گوشت طیور در تونس، گاو شیری، طیور و خوک در فرانسه، و در طیور، حیوانات خانگی و حیوانات وحشی در پرتغال گزارش شد (Nagano و همکاران ، ۲۰۰۴).

مطالعات انجام شده در فرانسه، ایتالیا، آلمان و برزیل تایید می‌کنند که ژن بتالاکتامازی *CTX-M* در حال حاضر فراوان‌ترین ژن بتالاکتامازی موجود در حیوانات تولیدکننده غذاست (Randall و همکاران، ۲۰۰۶).

مطالعات مشابه صورت گرفته در آسیا نیز حضور *اشریشیاکلی* تولیدکننده آنزیم های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف را در حیوانات مولد محصولات غذایی نشان داده است. Hiroi و همکاران (۲۰۱۱) در ژاپن، تعدادی نمونه *اشریشیاکلی* شامل ۲۵۰ نمونه‌ی مدفوعی طیور گوشتی، مرغ تخم‌گذار، خوک، گاو شیری ، گاو پرواری و ۳۰۰ نمونه گوشت حیوانات شامل گوشت طیور، گوشت خوک و گوشت گاو را به منظور بررسی شیوع ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی مورد بررسی قراردادند که شیوع *CTX-M* در طیور گوشتی بررسی شده در مطالعه‌ی آنها ٪۱۳/۶ بود. نتایج به دست آمده در مطالعه این دانشمندان، تا حدی مشابه مطالعه حاضر است و نسبت به مطالعه‌ای که همین نویسنده در سال ۱۹۹۹ در ژاپن انجام داده بود، افزایش نشان می‌دهد (Dallenne و همکاران، ۲۰۱۰).

درمطالعه دیگری که توسط همین نویسنده در سال ۲۰۱۲ صورت گرفت میزان فراوانی ژن های مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف در حیوانات مولد محصولات غذایی غذا بررسی شد. نتایج آنها نشان داد *اشریشیاکلی* تولیدکننده آنزیم بتالاکتاماز وسیع الطیف در ٪۶۰ از نمونه های کلواک طیور گوشتی، ٪ ۹/۵ طیور تخمگذار، ٪ ۵/۱۲ گاو گوشتی و ٪۳ خوک ها مشاهده می‌شود. ژن های بتالاکتاماز جداشده در طیورگوشتی مطالعه آنها عمدتاً شامل SHV-12، *CTX-M*-15، 14CTX-M-، *CTX-M*-2 و *CTX-M*-44 بودند (Hiroi و همکاران، ۲۰۱۲).

فراوانی زیاد ژن‌های مقاومت عمدتاً مربوط به حضور این ژن‌ها بر روی عوامل ژنتیکی قابل انتقال متحرک نظیر پلاسمیدها، ترانسپوزون یا حتی انتگرون‌ها است که این موضوع به ویژه در مورد ژن CTX-M به اثبات رسیده است (Bauernfeind و همکاران، ۱۹۹۰).

در مطالعه تحت تیپ‌بندی اشریشیاکلی مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف که توسط Valentina و همکاران (۲۰۱۴) صورت گرفت، توزیع خواص ژنوتیپی و فنوتیپی اشریشیاکلی جدا شده از منابع انسانی و حیوانی مقایسه گردید. دراین تحقیق که به روی نمونه های به دست آمده از جوجه‌های گوشتی، خوک، گاوان داشتی و انسان انجام شده است، میزان فراوانی ژن CTX-M1 در ۶۳/۳ نمونه‌های حیوانی و ٪۲۹/۳ نمونه های انسانی گزارش شد. CTX-M-15 با فراوانی ٪۱۷/۷ در نمونه‌های حیوانی و٪۴۸ نمونه‌های انسانی و ژن CTX-M-14 با فراوانی ٪۵/۳ در نمونه‌های حیوانی و ٪۸/۷ نمونه‌های انسانی بیش از بقیه بودند. بیش از ٪۷۰ جدایه‌های حیوانی و بیش از ٪۵۰ سویه‌های انسانی شامل بخش گسترده‌ای از ژن‌های مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف *blaCTX-M*1 و*blaC*-*TX-M*-15 بوده و یا ترکیبی از blaTEM-blaSHV یا blaTEM-*blaCTX-M* داشتند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان میدهد اکثریت جدایه‌های حیوانی واجد *blaCTX-M*1 (٪۶۳/۳) بوده و یا ترکیبی از *blaCTX-M*۱ – blaTEM (٪۲۵/۸) را حمل می‌کردند. (Perilli و همکاران، ۲۰۰۸).

با وجود اینکه سفالوسپورینهای نسل سوم و چهارم در صنعت طیور مصرف بسیار محدودی دارند، اما نتایج این مطالعه به وضوح نشان میدهد مقاومت نسبت به این دسته از آنتی بیوتیک ها در هر دو گروه جوجه های به ظاهر سالم و مشکوک به کلی باسیلوز پدیدار گشته است. باتوجه به اینکه تتراسایکلینها و فلوروکوئینولونها معمولترین آنتی بیوتیک های مورد استفاده در صنعت طیور بوده و با اهداف مختلف پیشگیری، کنترل، درمان و تحریک رشد مورد استفاده قرار می‌گیرند، فراوانی زیاد آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف و ژنهای مقاومت به سفالوسپورین‌های نسل سوم و چهارم ممکن است به علّت حمل این دسته از ژن‌های مقاومت به همراه ژن‌های مقاومت به سایر کلاس های آنتی بیوتیکی باشد (Aliasadi و همکاران، ۲۰۱۵).

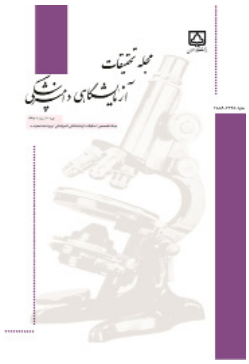
در ایران مطالعات زیادی در رابطه با حضور آنزیم های بتالاکتاماز وسیع الطیف در حیوانات مولّد محصولات غذایی انجام نشده است. در مطالعه ای که توسط دستمالچی و همکاران به منظور بررسی حمل مدفوعی اشریشیاکلی های واجد ژن های بتالاکتاماز وسیع الطیف توسط گوسفند و جوجه های گوشتی در منطقه ارومیه صورت گرفت ٪ ۵۷/۱ نمونه ها واجد حداقل یک ژن کد کننده *ESBL* بودند که ٪ ۳۰/۴ آنها از نوع *CTX-M* بود. همانگونه که مشاهده می‌شود فروانی این ژن در این منطقه بیشتر از مطالعه حاضراست، لذا با توجه به اینکه مقاومت دارویی پدیده ای محلّی بوده و استفاده آنتی بیوتیک‌ها با توجه به الگوی مقاومت دارویی مناطق یا کشورها چندان جایز نیست، انجام مطالعات مشابه در مناطق مختلف کشور ضروری به نظر می‌رسد.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد سویه‌های اشریشیاکلی مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف از نمونه‌های احشایی و مدفوع جوجه های گوشتی استان سمنان قابل جداسازی بوده و آنها می‌توانند به عنوان یکی از مخازن مهم اشریشیاکلی مولد *CTX-M*محسوب شوند که با توجه به مصرف بالای گوشت طیور این موضوع از لحاظ

بهداشت عمومی حائز اهمیت می‌باشد. لذا انجام مطالعات جامع در ارتباط با غربالگری اپیدمیولوژی سویه های مولد $CTX\text{-}M$ در حیوانات مولّد محصولات غذایی در مناطق مختلف کشور باید مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از جناب آقای دکتر عباس مؤمنی مسؤول محترم آزماشگاه دامپزشکی آریا و نیز سرکار خانم بهناز رئیسیان و آقای رسول رستمی لیما (کارشناسان محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان) به دلیل همکاری در جمع آوری نمونه ها و انجام مراحل آزمایشگاهی این مطالعه صمیمانه قدردانی می‌نمایند.



Journal of Veterinary Laboratory Research 12 (2020) 79-87

Prevalence of *CTX-M*-1 gene in *Escherichia coli* isolated from broilers in Semnan province of Iran

Received: 08.06.2016 Accepted: 08.06.2020

Sahafi, E.[1], Kafshdouzan, Kh.[2*], Staji, H.[2].

Abstract

The presence of Extended-Spectrum β-lactamase (ESBL) such as CTX-M is one of the major reasons for

the resistance of Enterobacteriaceae to β-lactam antibiotics. Since there is no detailed description of the prevalence of CTX-M in *Escherichia coli* isolates in Semnan province of Iran, the purpose of this study was the determination of prevalence *blaCTX-M* t gene in broiler chicken farms in Semnan. In this study, of 156 isolates collected from poultry farms and veterinary laboratories, 100 strains include 50 *E. coli* from cloac of apparently healthy broilers and 50 *E. coli* from viscera of broilers, were isolated and purified by biochemical differential tests. *BlaCTX-M* gene was determined by PCR amplification. The results of this study showed that 18% (9 strains isolated from suspicious viscera and 9 strains from healthy birds) strains had the *blaCTX-M* gene. According to the results, there was no significant difference between the two groups. This finding indicates that healthy broilers in Semnan broiler farms could be an important reservoir for the dissemination of antimicrobial resistance gene by contaminating the food chain. Therefore, it is necessary to plan continuous health care programs against the risk of the presence of ESBLs-producing microorganisms.

Key words: antimicrobial resistance, Escherichia .coli, Extended-Spectrum β-lactamase (*ESBL*)

1. Student Research Committee, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran.

2. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran.

*Corresponding author: **kafshdouzan@semnan.ac.ir**

منابع

Aliasadi, S., Dastmalchi Saei, H. 2015. Fecal carriage of *Escherichia coli* harboring extended-spectrum beta-lactamase (*ESBL*) genes by sheep and broilers in Urmia region, Iran. Iran J Vet Med **9(2)**: 93-101.

Bauernfeind, A., Schweighart, S., & Grimm, H. (1990). A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of Escherichia coli. Infection, **18(5)**, 294-298.

Bonnet, R. (2004). Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the *CTX-M* enzymes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, **48**, 1-14.

Dallenne, C., Da Costa, A., Decré, D., Favier, C., & Arlet, G. (2010). Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β-lactamases in Enterobacteriaceae. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, **65(3)**, 490-495.

Hiroi, M., Harda, T., Kawamori, F., Takashi, N., Kanda, T., Sugiyama, K., Masuda, T., Yoshikawa, Y., Ohashi, N. (2011). A Survey of beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and Raw Retail Meat in Shizuoka Prefecture, Japan. Japan Journal of Infectious Disease. **64**, 153-155.

Hiroi, M., Yamazaki, F., Harda, T., Takahashi, N., Lida, N., Noda Y. (2012). Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and Klebsiella pneumonia in food-producing animals. Journal of Veterinary Medical Science, **74(2)**, 189-195.

Kasten, B., & Reski, R. (1997). β-lactam antibiotics inhibit chloroplast division in a moss (Physcomitrella patens) but not in tomato (Lycopersicon esculentum). Journal of plant physiology, **150(1-2)**, 137-140

Nagano, N., Nagano, Y., Cordevant, C., Shibata, N., Arakawa, Y. (2004). Nosocomial transmission of *CTX-M*-2 beta-lactamase-producing Acinetobacter baumannii in a neurosurgery ward. Journal of Clinical Microbiology, **42**, 3978-3984.

Randall, L. P., Clouting, C., Horton, R. A., Coldham, N. G., Wu, G., Clifton-Hadley, F. A., ... & Teale, C. J. (2011). Prevalence of *Escherichia coli* carrying extended-spectrum β-lactamases (CTX-M and TEM-52) from broiler chickens and turkeys in Great Britain between 2006 and 2009. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, **66(1)**, 86-95.

dos Santos, L., Moura, R. A., Ramires, P. A., de Pestana Castro, A., & Lincopan, N. (2013). Current status of extended-spectrum β-lactamase (*ESBL*)-producing *Enterobacteriaceae* in animals. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Badajoz: Formatex Research Center, 1600-1607

Paterson, D. L., & Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum β-lactamases: a clinical update. Clinical microbiology reviews, **18(4)**, 657-686.

Perilli, M., Celenza, G., De Santis, F., Pellegrini, C., Forcella, C., Rossolini, G. M., ... & Amicosante, G. (2008). E240V substitution increases catalytic efficiency toward ceftazidime in a

New natural TEM-type extended-spectrum β-lactamase, TEM-149, from Enterobacter aerogenes and Serratia marcescens clinical isolates. Antimicrobial agents and chemotherapy, **52(3)**, 915-919.

Valentin, L., Sharp, H., Hille, K., Seibt, U., Fischer, J., Pfeifer, Y., ... & Friese, A. (2014). Subgrouping of *ESBL*-producing *Escherichia coli* from animal and human sources: an approach to quantify the distribution of *ESBL* types between different reservoirs. International Journal of Medical Microbiology, **304(7)**, 805-816.