فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال سوم، شماره ۹، بهار ۱۳۹۳، صفحه ۳۵- ۴۴
تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۲۹ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۴/۱۵

بررسی مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام در جدایه‌های اشریشیا کلی و جستجوی مولکولی اشریشیا کلی *O157:H7* در پرندگان زینتی شهرکرد

حسین طهماسبی: دکتری دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ایران، h.tahmasby@yahoo.com *
سارا براتی: کارشناس ارشد باکتری شناسی، دانشگاه شهرکرد، ایران، sarabarati52@yahoo.com
حسن ممتاز: دانشیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، ایران، hamomtaz@yahoo.com
محمد رفیعی دولت آبادی: دکتری دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ایران، rafiee1390@hotmail.com
محمد قاسمی: دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ایران، mohammad.ghasemi@ymail.com
سید وحید احمدی سالیانه: دکتری داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، ایران، vahid6150@yahoo.com
سمانه مهرابیان: دکتری دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ایران، samanehmehrabiyan@yahoo.com

چکیده

مقدمه: پرندگان زینتی می‌توانند عوامل بیماری‌زای انسانی را در خود جای دهند و در انتقال و گسترش عوامل عفونی مقاوم به دارو به انسان نقش داشته باشند. با توجه به علاقه بسیاری از مردم در نگه‌داری از پرندگان زینتی، مطالعه حاضر با مطالعه بر روی پرندگان زینتی شهرکرد، اشریشیا کلی‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام و جستجوی مولکولی اشریشیا کلی *O157:H7* بررسی شدند. شایان ذکر است اشریشیا کلی *O157:H7* عامل بیماری‌های روده ای انسانی و سندروم مرگبار اورمی همولیتیک در دنیاست.

مواد و روش‌ها: در مجموع ۲۵۶ نمونه مدفوعی از پرندگان زینتی (مرغ عشق، بلدرچین، بلبل، طوطی، مینا، سهره، فینچ، مرغ بهشتی، طاووس و قرقاول) از نقاط مختلف شهرکرد به وسیله ی سواب استریل جمع آوری شدند. سواب‌ها مستقیما درون محیط آبگوشت تریپتون سوی (TSB) قرار داده شدند. در آزمایشگاه نمونه‌ها بر روی محیط‌های مکانکی آگار و مکانکی محتوی آگار سوربیتول به عنوان محیط‌های انتخابی کشت داده شدند. سپس آزمون آنتی‌بیوگرام با استفاده از روش انتشار دیسک انجام شد. کلونی‌های مشکوک به اشریشیا کلی *O157:H7* به وسیله آزمون واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) ارزیابی شدند.

نتایج: اشریشیا کلی از ۳۱ نمونه (۱۲/۱ درصد) از ۲۵۶ نمونه جداسازی شد. میزان مقاومت جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های ایمیپنم، سفوتاکسیم، سفیکسیم، سفالکسین، آموکسی سیلین، پنی سیلین جی و اگزاسیلین به ترتیب صفر، ۳/۲، ۱۶/۱، ۹۰/۳، ۱۰۰، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد بود. در هیچ کدام از نمونه‌ها اشریشیا کلی *O157:H7* یافت نشد.

بحث و نتیجه‌گیری: گرچه پرندگان زینتی در این منطقه منبع یا حامل اشریشیا کلی *O157:H7* نبودند، اما اشریشیاکلی‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام را در خود جای داده بودند و می‌توانند عامل مهمی در انتقال عفونت‌های مقاوم به دارو از پرندگان زینتی به انسان، به ویژه کودکان تلقی شوند و خطری بالقوه برای سلامت انسان ایجاد کنند. با توجه به آنچه ذکر شد توصیه می‌شود، صاحبان پرندگان زینتی و همچنین عموم مردم را از خطرات بالقوه ی نگه داری از پرندگان زینتی آگاه کرد.

واژه‌های کلیدی: اشریشیا کلی، پرنده زینتی، مقاومت آنتی بیوتیکی، PCR

* نویسنده مسؤول مکاتبات

مقدمه

مطالعات همه‌گیر شناختی در سراسر دنیا برای اطلاع از وضعیت میکروبی پدیده‌های مختلف و به ویژه نقش آن‌ها در انتقال پاتوژن‌ها به انسان ضروری است. این مطالعات می‌توانند منابع اطلاعاتی ارزشمندی را برای مبارزه با بیماری‌های انسانی، یافتن منابع و سرآغاز، کنترل و یا ریشه کنی آن‌ها را فراهم آورند.

پرندگان زینتی می‌توانند بعضی از بیماری‌ها را در خود جای دهند و به صاحبان خود منتقل کنند. اگرچه مالکیت این پرندگان بدون خطر نیست، اما بسیاری از مردم در منزل خود از پرندگان زینتی مراقبت کرده و به این ترتیب خود را در معرض بسیاری از بیماری‌های مشترک باکتریایی، پروتوزوایی، قارچی، ویروسی یا انگلی قرار می‌دهند (۱).

افزایش سویه‌های مختلف باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف تبدیل به یکی از نگرانی‌های اصلی سازمان بهداشت جهانی شده است. به تازگی مقاومت باکتریایی که از طریق تولید بتالاکتامازهای با طیف گسترده در حال افزایش است، به عنوان یک مشکل درمانی جهانی مطرح شده است (۲- ۴). مطالعات زیادی در مورد وضعیت مقاومت آنتی بیوتیکی اشریشیاکلی انجام شده است که انتقال کمابیش سریع ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی بین سویه‌ها (به ویژه با سرآغاز پلاسمیدی) را نشان می‌دهند (۵ و ۶). میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در اشریشیا کلی به نقطه ای رسیده است که به عنوان چالش جدی درمانگاهی در انسان مطرح شده است.

اشریشیا کلی، شایع‌ترین میکروارگانیسم فلور لوله گوارش انسان و سایر حیوانات است ولی چند نوع بیماری‌زای آن بیماری‌های مختلفی را در انسان ایجاد می‌کنند. در دهه گذشته عفونت ناشی از اشریشیاکلی *O157* به عنوان یک بیماری نوپدید مشترک بین انسان و حیوان در آمریکای شمالی، اروپا و سایر نقاط دنیا مشکلات بهداشتی زیادی به بار آورده است و هرچند تعداد بیماران نسبت به عوامل بیماری‌زای روده ای دیگر نظیر سالمونلا یا کمپیلوباکتر خیلی کمتر است ولی مشخص شده که *E. coli* می‌تواند بیماری شدید و مرگ آور ایجاد نماید. این ارگانیسم برای نخستین بار در سال ۱۹۸۲ یعنی زمانی که باعث بروز دو اپیدمی کولیت هموراژیک با علائم کرامپ‌های شکمی، اسهای آبکی بدون تب یا با تب خفیف شد، به عنوان عامل بیماری‌زای انسانی شناخته شد. در سال ۱۹۸۳، کارمالی و همکارانش[1] (۷) ارتباط بین عفونت با نوعی *E. coli* را نشان دادند. این نوعی *E. coli* توکسین شیگا تولید می‌کند (ازجمله اشریشیاکلی *O157:H7*) و سندروم همولیتیک اورمیک پس از اسهال را که با آسیب حاد کلیوی، ترومبوستیوپنی و آنمی همولیتیک میکروآنژیوپاتیک همراه است (۸). مطالعات زیادی که در زمینه بررسی آلودگی پرندگان از نظر آلودگی به اشریشیا کلی *O157:H7* در نقاط مختلف دنیا انجام شده است نشان دهنده شیوع متفاوت اشریشیا کلی *O157:H7* در پرندگان مناطق مختلف بوده است (۹- ۱۶).

در مطالعات انجام شده نشان داده شده است که در حیوانات اهلی و وحشی در تماس با فعالیت‌های انسانی، مقاومت آنتی بیوتیکی مشابه وجود دارد (۶ و ۱۷). مطالعاتی که در زمینه بررسی آلودگی پرندگان مختلف از نظر آلودگی به اشریشیا کلی‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در نقاط مختلف دنیا انجام شده است نشان دهنده شیوع متفاوت اشریشیا کلی در مناطق مختلف

بوده است (۱۸– ۲۵). بنابراین، با توجه به اینکه پرندگان زینتی نیز می‌توانند به عنوان مخزنی برای ایجاد اشریشیا کلی‌های جدید دارای ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی به ویژه ژن‌های کد کننده ی بتالاکتازمازهای با طیف گسترده عمل کنند و در انتقال این مقاومت به انسان نقش داشته باشند، داشتن اطلاعات از وضعیت مقاومت داروئی در پرندگان زینتی و نقش آن‌ها در انتقال مقاومت داروئی به انسان ضروری به نظر می‌رسد.

پرندگان ممکن است میکروب‌های بیماری‌زا را از روده‌های خود به زنجیره غذایی منتقل کنند. برای مثال پرندگان به محیط‌های فراوری مواد غذایی وارد می‌شوند ویا می‌توانند سبزیجاتی که در محیط‌های باز رشد می‌کنند و غذاهایی که در بازار آزاد فروخته می‌شوند را آلوده نمایند. همچنین، پرندگان خانگی نیز به صورت بالقوه می‌توانند میکروب‌های بیماری‌زا را در خود جای داده و به صاحبان خود منتقل کنند (۱).

با توجه به علاقه بسیاری از مردم در نگه داری از پرندگان زینتی، همچنین امکان انتقال عوامل بیماری‌زا از قبیل اشریشیا کلی *O157:H7* توسط پرندگان زینتی و این‌که اطلاعات چندانی در مورد وضعیت مقاومت داروئی در پرنگان زینتی در کشور در دست نیست، نقش احتمالی پرندگان زینتی در انتشار و انتقال اشریشیاکلی‌های مقاوم به آنتی بیوتیک به انسان در این منطقه در هاله ای از ابهام باقی مانده است. در این مطالعه با مطالعه بر روی پرندگان زینتی شهرکرد، به بررسی مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام در جدایه‌های اشریشیا کلی و جستجوی مولکولی اشریشیا کلی *O157:H7* به عنوان مهمترین عامل ایجاد اسهال به همراه خون‌ریزی در میان سروتیپ‌های مختلف اشریشیاکلی در انسان، پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه

در این مطالعه که در زمستان سال ۱۳۸۹ و بهار سال ۱۳۹۰ انجام شد در مجموع ۲۵۶ نمونه مدفوعی از پرندگان زینتی از نقاط مختلف شهرکرد به وسیله ی سواب استریل جمع آوری شد.

جداسازی اشریشیا کلی

سواب‌ها مستقیما در محیط آبگوشت تریپتون سوی[۲] (TSB) (مرک[۳]، ساخت آلمان) قرار داده شدند و در آزمایشگاه بر روی محیط‌های مکانکی آگار و سوربیتول مکانکی آگار (مرک، ساخت آلمان) به منظور ردیابی اشریشیا کلی و اشریشیا کلی *O157* کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پرگنه‌های مشکوک جدا شده در محیط TSB کشت داده شدند و آزمون‌های اندول، متیل رد، وگس پروسکوئر و سیترات (IMViC) بر روی نمونه‌های مشکوک انجام شد.

آزمون آنتی بیوگرام

جدایه‌های اشریشیا کلی پس از کشت در محیط مولر هینتون آگار (مرک، ساخت آلمان)، برای تعیین میزان مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام با استفاده از آنتی بیوتیک‌های ایمیپنم، سفوتاکسیم، سفیکسیم، سفالکسین، آموکسی سیلین، پنی سیلین جی و اگزاسیلین (پادتن طب، ایران) آزمایش شدند.

جست و جوی اشریشیا کلی *O157:H7*

کنترل مثبت اشریشیاکلی *O157:H7* از کلکسیون باکتری‌های گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد تهیه شد. برای جست و جوی اشریشیاکلی *O157:H7* به وسیله PCR با استفاده از پرایمرهای درج شده در جدول ۱ که قبلا

توسط پاتون و پاتون[۴] و گانون و همکاران[۵] به ثبت رسیده اند آزمون شدند (۲۶ و ۲۷). PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر (۲/۵ میکرولیتر بافر X PCR۱۰، ۱/۵ میکرولیتر کلرید منیزیم ۵۰ میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر دزوکسی نوکلئوتید تری فسفات ۱۰ میلی‌مولار، ۱/۵ واحد آنزیم Taq پلی مراز، ۱ میکرولیتر با غلظت ۱۰ میکرومولار از هر پرایمر، ۱ میکرولیتر DNA الگو) انجام شد. دماهای استفاده شده در جدول ۱ درج شده است. در پایان محصولات PCR روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد.

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای استفاده شده (۲۶ و ۲۷)

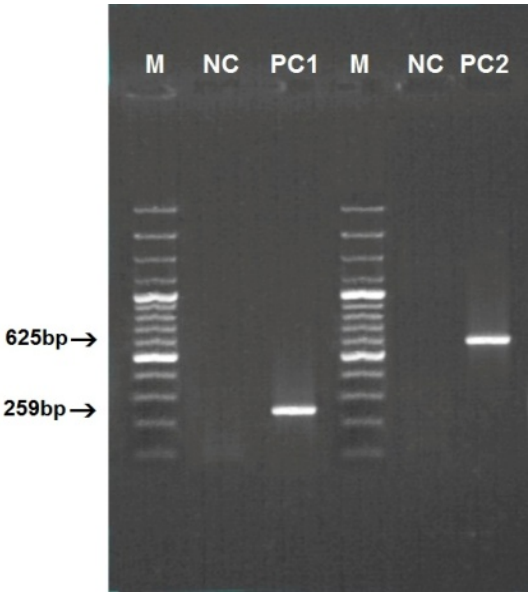
پرایمرها	گسترش	دمای Annealing	واسرشت	سیکل	توالی پرایمرها	اندازه محصول	منبع
O157	۷۲ درجه سانتی‌گراد ۶۰ ثانیه	۵۵ درجه سانتی‌گراد ۶۰ ثانیه	۹۴ درجه سانتی‌گراد ۶۰ ثانیه	۳۵	F: 5′ CGGACATCCATGTGATATGG 3′ R: 5′ TTGCCTATGTACAGCTAATCC 3′	۲۵۹ جفت باز	۲۶
fliC H7	۷۲ درجه سانتی‌گراد ۶۰ ثانیه	۶۰ درجه سانتی‌گراد ۶۵ ثانیه	۹۴ درجه سانتی‌گراد ۶۰ ثانیه	۳۵	F: 5′ GCGCTGTCGAGTTCTATCGAGC 3′ R: 5′ CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC 3′	۶۲۵ جفت باز	۲۷

تحلیل آماری

نتایج به دست آمده با استفاده از آزمون مربع کای (X^2) و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS14، تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

میزان آلودگی به اشریشیا کلی در پرندگان زینتی ۱۲/۱ درصد (۳۱ از ۲۵۶ نمونه) بود (جدول۲). در میان پرندگان مختلف میزان آلودگی به اشریشیا کلی در طاووس به میزان چشمگیری بیشتر از سایرین بود (جدول ۲). میزان مقاومت جدایه‌های اشریشیا کلی به آنتی بیوتیک‌های ایمپینم، سفوتاکسیم، سفیکسیم، سفالکسین، آموکسی سیلین، پنی‌سیلین جی و اگزاسیلین به ترتیب صفر، ۳/۲، ۱۶/۱، ۹۰/۳، ۱۰۰، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد بود. در هیچ کدام از نمونه‌ها اشریشیا کلی *O157:H7* یافت نشد.



شکل۱- تصویر الکتروفورز ژل آگاروز کنترل مثبت اشریشیاکلی *O157:H7*. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، NC: کنترل منفی، PC1: کنترل مثبت *O157*، PC2: کنترل مثبت *H7*

جدول۲- مشخصات پرنده‌های آزمایش شده

نام پرنده	تعداد	جدایه‌های اشریشیاکلی		فصل نمونه گیری	مقاوم به سفوتاکسیم و سفیکسیم (سفالوسپورین‌های نسل سوم)		نام پرنده	تعداد	جدایه‌های اشریشیاکلی		فصل نمونه گیری	مقاوم به سفوتاکسیم و سفیکسیم (سفالوسپورین‌های نسل سوم)	
		تعداد	درصد		تعداد	درصد			تعداد	درصد		تعداد	درصد
مرغ عشق	۱۵۳	صفر	صفر	بهار	-	-	طاووس	۸	۵	۶۲/۵	زمستان	-	-
بلبل	۲۵	۹	۳۶	زمستان	۱	۴	فینچ	۶	صفر	صفر	زمستان	-	-
طوطی	۳۱	۳	۹/۶۷	زمستان	۱	۳/۲	مرغ بهشتی	۱	صفر	صفر	زمستان	-	-
مینا	۱۲	۷	۵۸/۳۳	زمستان	۱	۸/۳	بلدرچین	۱	صفر	صفر	زمستان	-	-
قرقاول	۸	۴	۵۰	زمستان	۲	۲۵	-	-	-	-	-	-	-
سهره	۱۱	۳	۲۷/۲۷	زمستان	-	-	مجموع	۲۵۶	۳۱	۱۲/۱		۵	۱۶/۱

کم اثرترین آنتی بیوتیک‌ها آموکسی سیلین، پنی‌سیلین جی و اگزاسیلین بودند که تمامی جدایه‌های اشریشیا کلی به آن‌ها ۱۰۰ درصد مقاوم بودند. موثرترین آنتی بیوتیک ایمیپنم بود که نسبت به آن هیچ گونه مقاومتی مشاهده نشد. ۱۶/۱ درصد (۵ از ۳۱) از جدایه‌ها به سفوتاکسیم و سفیکسیم (سفالوسپورین‌های نسل سوم) مقاوم بودند.

بحث و نتیجه‌گیری

روند تولید آنتی بیوتیک‌های جدید در بازارهای جهانی بسیار کمتر از داروهای قلبی عروقی، اعصاب و روان و حتی داروهای شیمی درمانی است و شرکت‌های دارویی تمایل چندانی برای سرمایه گذاری روی آنتی‌بیوتیک‌ها ندارند زیرا دوره مصرف آنتی بیوتیک‌ها محدود بوده و دارای هزینه‌های بسیار بالا در تولید هستند. مصرف بی رویه آنتی بیوتیک‌ها علاوه بر صرف هزینه‌های بالا و تحمیل عوارض، یکی از مهم‌ترین مشکلات یعنی مقاومت‌های میکروبی را ایجاد می‌کند. با توجه به این‌که پرندگان زینتی به صورت بالقوه می‌توانند در انتشار و انتقال اشریشیا کلی‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک به انسان نقش داشته باشند، اطلاع از وضعیت مقاومت‌های میکروبی در پرندگان زینتی و همچنین، جلوگیری از مصرف بی رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان و یا پیشگیری از بیماری در این پرنده‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

در مطالعات انجام شده در نقاط مختلف دنیا وضعیت مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پرندگان مختلف متفاوت بوده است، به نحوی که در بعضی از مطالعات میزان بسیار بالایی از مقاومت آنتی بیوتیکی (۱۸) و در بعضی دیگر شیوع پایین تری گزارش شده است (۱۹- ۲۵).

در مطالعه ای که توسط عسکر و همکاران[۶] روی کبوترهای خانگی در ترکیه انجام شد میزان بالایی از مقاومت آنتی بیوتیکی گزارش شد، بیشترین مقاومت جدایه‌های اشریشیا کلی در برابر آمپی سیلین- سولباکتام (۷۰ درصد)، اکسی تتراسایکلین (۶۴ درصد) و

نالیدیکسیک اسید (۴۹ درصد) مشاهده شد (۱۸). سیلوا و همکاران[۷] در مطالعه ای که در برزیل روی جدایه‌های اشریشیا کلی ایجاد کننده ی اسهال جدا شده از کبوترهای شهری انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که ۳۷/۹ درصد از آن‌ها نسبت به حداقل یکی از آنتی‌بیوتیک‌های آزمایش شده مقاوم بودند. در این میان آمیکاسین با ۳۶/۸ درصد مقاومت دارای کمترین مقاومت بود. اما خلاف مطالعه ی ما که نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم ۱۶/۱ درصد مقاومت وجود داشت، در مطالعه ی سیلوا و همکاران نسبت به سفتریاکسون و سفتازیدیم (سفالوسپورین‌های نسل سوم) هیچ مقاومتی دیده نشد (۱۹). در گزارشی دیگر در اشریشیا کلی‌های جدا شده از کبوترهای چکوسلواکی ۱/۵ درصد مقاومت آنتی بیوتیکی مشاهده شد (۲۰). دولجسکا و همکاران[۸] در مطالعه‌ای که روی اشریشیا کلی‌های جدا شده از مرغ نوروزی سر سیاه انجام دادند اعلام کردند که ۲۹/۹ درصد از گونه‌های اشریشیا کلی جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک‌ها مقاوم بودند. همه گونه‌هایی که مقاومت در آن‌ها ایجاد شده بود حداقل به یک آنتی بیوتیک یا بیشتر مقاوم بودند. در میان آنتی‌بیوتیک‌های آزمون شده، بیشترین مقاومت نسبت به تتراسایکلین (۱۹/۱درصد) و کمترین مقاومت نسبت به کلرامفنیکل (۱/۹ درصد) وجود داشت (۲۱). در مطالعه دیگر که در شمال شرقی چکوسلواکی انجام شد ۲۸ درصد از اشریشیا کلی‌های جدا شده از مرغ نوروزی نسبت به آنتی بیوتیک‌ها مقاوم بودند. در میان آنتی‌بیوتیک‌های آزمون شده، بیشترین مقاومت نسبت به تتراسایکلین (۲۲ درصد) وجود داشت اما خلاف مطالعه ما نسبت به سفتریاکسون و سفتازیدیم (سفالوسپورین‌های نسل سوم) هیچ مقاومتی دیده نشد (۲۲). در مطالعه ای که در فرانسه بر روی انتقال اشریشیا کلی‌های تولیدکننده ی بتلاکتاماز بین انسان و مرغ نوروزی پنجه زرد انجام شد، اعلام شد که ۴۷/۱ درصد از ایزوله‌ها حداقل به یک آنتی بیوتیک یا بیشتر مقاوم بودند. بیشترین مقاومت نسبت به تتراسایکلین و کمترین مقاومت نسبت به نالیدیکسیک و کلرامفنیکل وجود داشت (۲۳). در مطالعه ای که در آلمان بر روی مرغابی وحشی انجام شد در جدایه‌های اشریشیا کلی بیشترین مقاومت نسبت به آموکسی سیلین، آمپی سیلین، تتراسایکلین و سولفونامیدها گزارش شد (۲۴). لیتراک و همکاران[۹] در مطالعه ای که روی اشریشیا کلی‌های مقاوم در برابر آنتی بیوتیک جدا شده از کلاغ‌های روسی انجام دادند، مشاهده کردند که ۱۳/۷ درصد از ایزوله‌ها به آنتی بیوتیک‌های آزمایش شده مقاوم بودند و بیشترین مقاومت در برابر تتراسایکلین وجود داشت (۷/۶درصد نمونه‌ها) و هیچ کدام از نمونه‌های جداشده اشریشیا کلی نسبت به سفالوتین، سفتازیدیم و سفتریاکسون مقاوم نبودند (۲۵).

در این مطالعه، اشریشیا کلی‌هایی که از پرندگان زینتی جداسازی شد مقاومت بالای آنتی بیوتیکی را نشان داد. بیشتر جدایه‌ها مقاومت به چندین آنتی بیوتیک را از خود نشان دادند. این مسئله احتمال اینکه این پرندگان به عنوان مخزن باکتری مقاوم به ضد میکروب‌ها و یا ژن‌های کد کننده ی بتالاکتامازهای مختلف عمل کنند را به میزان زیادی افزایش می‌دهد. این جدایه‌های مقاوم، به عنوان مشکلی جدی می‌توانند مطرح باشند چون گزینه‌های درمانی علیه عفونت‌های انسانی و حیوانی را به شدت محدود می‌کنند (۲۸).

این مطالعه نشان می‌دهد که پرندگان زینتی با اشریشیا کلی‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام

می‌توانند آلوده شوند. این مسئله می‌تواند بازتاب تماس مستقیم یا غیر مستقیم با فعالیت‌های انسانی در منطقه ای با مصرف کمابیش بالای آنتی بیوتیک و استفاده بدون نظارت و بی رویه از آنتی بیوتیک‌های مختلف برای درمان و یا پیشگیری از بیماری در این پرنده‌ها باشد؛ و یا نشان دهنده حضور چنین جدایه‌هایی در غذا یا آبی است که از آن تغذیه می‌کنند. البته شایان ذکر است که صاحبان پرنده‌ها نیز اظهار داشتند که بدون نظارت دامپزشک از آنتی بیوتیک‌های مختلف استفاده کرده‌اند.

اشریشیا کلی *O157:H7* برجسته ترین و نخستین سروتیپ شناخته شده در تحت گروه اشریشیا کلی خونریزی دهنده روده ای و عامل کولیت خونریزی دهنده و سندرم اورمی همولیتیک است. این باکتری از جمله باکتری‌هایی است که توجه محققان و دست‌اندرکاران بهداشتی را به خود معطوف کرده است. با توجه به اینکه عامل اصلی انتشار و مخزن اصلی اشریشیاکلی*O157:H7*، گاو و محصولات غذایی با این سرآغاز است بیشتر مطالعات و گزارش‌های موجود به آلودگی این محصولات مربوط بوده است(۲۹- ۳۱). شیوع این پاتوژن در گوشت و محصولات حاصل از گوشت گاو بین ۱ تا ۲۷/۸ درصد گزارش شده است (۳۰).

مطالعات مختلف نتایج متفاوتی را از میزان شیوع سروتیپ اشریشیا کلی *O157:H7* در پرندگان نشان می‌دهند. چنانچه در مطالعه ی سانتانیلو و همکاران[۱۰] ۵۰۴ نمونه سواب کلواک کبوتر از شهر ناپولی[۱۱] واقع در ایتالیا جمع آوری شد که در این بین ۴ نمونه آلوده به *O157:H7* یافت شد (۱۰). همچنین شر و همکاران[۱۲] از ۹۹ پرنده مورد بررسی در حوالی کارخانه‌های تولید کننده مواد لبنی در ایالت ویسکونسین[۱۳] آمریکا، در یک کبوتر آلودگی به *O157:H7* یافتند (۱۱). در مطالعه دیگر در استان فوجیان[۱۴] واقع در چین شیوع *O157* در حیوانات مختلف بررسی شد، طی این تحقیق این پاتوژن از کبوتر نیز جداسازی شد (۱۲). در مطالعه ی لجئونو همکاران[۱۵] بر روی پرستوهای اروپایی میزان ۳ درصد از نمونه‌ها به *O157:H7* آلوده بودند (۱۳).

اما مشابه با بعضی از مطالعات پیشین در ایران و سایر کشورها، نتایج این مطالعه نیز عدم وجود اشریشیا کلی *O157:H7* را در پرندگان زینتی منطقه بررسی شده، نشان می‌دهد. برای مثال در مطالعه ای که توسط طهماسبی و همکاران[۱۶] در پرندگان زینتی یزد انجام شد هیچ نمونه ی آلوده به اشریشیا کلی *O157* یافت نشد (۹). طی مطالعه ای که توسط مورابیتو و همکاران[۱۷] در ایتالیا بر روی نمونه‌های مدفوعی کبوتر انجام شد در ۷۰ نمونه از ۶۴۹ نمونه که بررسی شده بود، اشریشیا کلی شیگاتوکسین‌زا یافت شد اما سروتیپ اشریشیا کلی *O157* در هیچ کدام یک از نمونه‌های مورد بررسی یافت نشد (۱۴). در مطالعه ای نیز که در ژاپن انجام شد ۱۰۸ نمونه بررسی شد اما همه نمونه‌ها نسبت به اشریشیا کلی *O157* منفی بودند (۱۵) و طی تحقیقی که در سال ۲۰۰۹ روی پرستوهای وحشی اروپایی انجام شد نیز سروتیپ اشریشیا کلی *O157* در هیچ کدام یک از نمونه‌های مورد بررسی یافت نشد (۱۶).

اگرچه در نمونه‌های اخذ شده اشریشیا کلی *O157:H7* یافت نشد، اما ممکن است سوش‌های اسهال‌زای دیگری از اشریشیا کلی در میان نمونه‌های این پرندگان وجود داشته باشد که در این زمینه بررسی‌های بیشتر توصیه می‌شود.

مشابه با بعضی از مطالعات پیشین در ایران (۹) و سایر کشورها (۱۴ و ۱۵)، نتایج این مطالعه نیز نبود اشریشیا

کلی *O157:H7* را در پرندگان زینتی این منطقه نشان می‌دهد. بنابراین به نظر می‌رسد که نمی‌توان پرندگان زینتی این منطقه را به عنوان منبع یا حامل اشریشیا کلی *O157:H7* تلقی نمود.

سرد و خشک بودن آب و هوا بر کاهش بقای میکروب‌ها بسیار موثر است و از علل میزان پایین آلودگی به اشریشیا کلی و به دنبال آن، عدم آلودگی به اشریشیا کلی *O157:H7* در این مطالعه شاید بتوان این مسئله را ذکر کرد که مطالعه حاضر در فصل زمستان و بهار که شیوع میکروب‌ها در آن کاهش می‌یابد انجام شده است. همچنین، از آن‌جایی که سطح بهداشتی وضعیت تغذیه ای و محیط زندگی در پرندگان زینتی نسبت به سایر پرندگان در میزان بالاتری قرار دارد ممکن است این مسئله بر نتایج به دست آمده در این مطالعه موثر بوده باشد.

با توجه به مقاومت بالای جدایه‌های اشریشیا کلی در این مطالعه در برابر آنتی بیوتیک‌های آزمون شده و خطر بالقوه‌ای که می‌تواند سلامت مردم را در اثر نگه داری از پرندگان زینتی تهدید کند، باید به صاحبان پرندگان زینتی و همچنین عموم مردم در مورد نحوه ارتباط با پرندگان زینتی و عدم استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های پرندگان زینتی، آموزش‌های لازم داده شود و همچنین آن‌ها را از خطرات احتمالی نگه‌داری از این پرنده‌ها مطلع نمود. همچنین، اگرچه نمی‌توان پرندگان زینتی این منطقه را به عنوان منبع یا حامل اشریشیا کلی *O157:H7* تلقی نمود اما ممکن است که پرندگان زینتی این منطقه، حامل سایر سوش‌های بیماری‌زای اشریشیا کلی باشند که با توجه به این مسئله تحقیقات بیشتر در این زمینه توصیه می‌شود.

References

(1) Krauss H, Weber A, Appel M, Enders B, Isenberg HD, Schiefer HG, et al. Zoonoses: Infectious Diseases Transmissible From Animals to Humans, 3rd ed. Washington, DC: *American Society for Microbiology Pr*ess, 2003.

(2) Bush K. Extended-spectrum b-lactamases in North America, 1987–2006. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 (1): 134–43.

(3) Canto´ R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, et al. Prevalence and spread of extended-spectrum b-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 (1): 144–53.

(4) Hawkey PM. Prevalence and clonality of extendedspectrum b-lactamases in Asia. Clin Microbiol *Infect* 2008; 14 (1): 159–65.

(5) Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(1): 1-14.

(6) Sorum H, Sunde M. Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Vet Research* 2001; 32(3-4): 227-41.

(7) Karmali MA, Steele BT, Petric M, Lim C. Sporadic cases of haemolyTic-uraemic sgndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *E. coli* in stools. *Lancet* 1983; 19, 1(8325):619-20.

(8) Riley IW, Remis RS, Helgerson SD. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New England J Med* 1983; 308(12):681-85.

(9) Tahmasby H, Momtaz H, Salehi N, Rafiee Dolatabadi M, Yektaneh F. Prevalence of Escherichia *Coli O157:H7* in pet birds in Yazd, Iran. *Pajouhandeh* 2011; 16(5): 252-5.

(10) Santaniello A, Gargiulo A, Borrelli L, Dipineto L, Cuomo A, Sensale M, et al.

livia) in the city of Napoli, Italy. *Italian J Animal Sci* 2007; 6(3): 313-16.

(11) Shere JA, Bartlett KJ, Kaspar CW. Longitudinal Study of *Escherichia coli O157:H7* Dissemination on Four Dairy Farms in Wisconsin. *Appl Environ Microbiol* 1998; 164(4): 390–99.

(12) Chen K, Guo W, Cheng F, Lin C, Lin J, Dong X. Investigation on *E. coli O157* in Fujian, China; *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2000; 34(3):156-58.

(13) LeJeune J, Homan J, Linz G, L. Pearl D. Role of the European Starling in the Transmission of *E. coli O157* on Dairy Farms. *Proceedings of the 23th Vertebrate Pest Conference*. Published at University of California, Davis. 2008; 31-34.

(14) Morabito S, Dell'Omo G, Agrimi U, Schmidt H, Karch H, Cheasty T, et al. Detection and characterization of Shiga toxinproducing *Escherichia coli* in feral pigeons. *Vet Microbiol* 2001; 82(3): 275-83.

(15) Tanaka C, Miyazawa T, Watarai M, Ishiguro N. Bacteriological survey of feces from feral pigeons in Japan; *J Vet Med Sci* 2005; 67 (9): 951-953.

(16) Gaukler SM, Linz GM, Sherwood JS, Dyer NW, Bleier WJ, Wannemuehler YM, et al. *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in Wild European Starlings at a Kansas Cattle Feedlot. *Avian Dis* 2009; 53(4): 544–51.

(17) Costa D, Poeta P, Saenz Y, Vinue L, Rojo-Bezares B, Jouini A, et al. Detection of *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases of the CTX-M, TEM and SHV classes in faecal samples of wild animals in Portugal. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58(6): 1311–12.

(18) Aşkar Ş, Sakarya F, Yıldırım M. The Potential Risk in Epizootiology of Bacterial Zoonozis: Pigeon (*Columba livia domestica*) Feces. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2011, 17: 13-16.

Survey of Shiga toxin-producing *Escherichia coli O157:H7* in urban pigeons (*Columba*

(19) Silva VL, Nicoli JR, Nascimento TC, Diniz CG. Diarrheagenic *Escherichia coli* strains recovered from urban pigeons (Columba livia) in Brazil and their antimicrobial susceptibility patterns. *Curr Microbiol*. 2009; 59(3): 302-8.

(20) Radimersky T, Frolkova P, Janoszowska D, Dolejska M, Svec P, Roubalova E, et al. Antibiotic resistance in faecal bacteria (*Escherichia coli*, *Enterococcus* spp.) in feral pigeons. *J Appl Microbiol* 2010; 109(5): 1687-95.

(21) Dolejská M, Cízek A, Literák I. High prevalence of antimicrobial-resistant genes and integrons in *Escherichia coli* isolates from Black-headed Gulls in the Czech Republic. *J Appl Microbiol* 2007; 103(1): 11-9.

(22) Dolejská M, Bierosová B, Kohoutová L, Literák I, Cízek A. Antibiotic-resistant *Salmonella* and *Escherichia coli* isolates with integrons and extended-spectrum beta-lactamases in surface water and sympatric black-headed gulls. *J Appl Microbiol* 2009; 106(6): 1941-50.

(23) Bonnedahl J, Drobni M, Gauthier-Clerc M, Hernandez J, Granholm S, Kayser Y, et al. Dissemination of *Escherichia coli* with CTX-M Type ESBL between Humans and Yellow-Legged Gulls in the South of France. *PLoS One* 2009 18;4(6):e5958.

(24) Ewers C, Guenther S, Wieler LH, Schierack P. Mallard ducks – a waterfowl species with high risk of distributing *Escherichia coli* pathogenic for humans. *Environ Microbiol Rep* 2009; 1(6): 510–17.

(25) Literák I, Vanko R, Dolejská M, Cízek A, Karpísková R. Antibiotic resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* in Russian rooks (*Corvus frugilegus*) wintering in the Czech Republic. *Lett Appl Microbiol* 2007; 45(6): 616-21.

(26) Paton AW and Paton JC. Detection an characterization of shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR

assay for stx1, stx2, eae A, enterohemorrhagic *E. coli* hlyA, rfbO111 and rfbO157. *J Clin Microbiol* 1998; 36(2): 598-602.

(27) Ganon VP, D'Souza S, Graham T, King RK, Red S. Use of the flagellar H7 genes as a target in multiplex PCR assay and improved specificity in identification of enterohemorrhagic *E. coli* strains; *J Clin Microbiol* 1997; 35 (3): 656-62.

(28) Rice LB. The clinical consequences of antimicrobial resistance. *Curr Opin Microbiol* 2009; 12(5):476–81.

(29) Elder RO, Keen JE, Siragusa GR, Barkocy-Gallagher GA, Koohmaraie M. Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli O157* prevalence in feces, hides and carcasses of beet cattle during processing. *Natl Acad Sci* 2000; 28; 97(7): 2999-3003.

(30) Reid CA, Small SM, Avery S, Buncic S. Presence of food borne pathagens on cattle hides. *Food Control* 2002; 13 (6-7): 411-15.

(31) Stampi S, Caprioli A, De Luca G, Quaglio P, Sacchetti R. Detection of *Escherichia coli O157* in bovine meat products in northern Italy. *Int J Food Microbiol* 2004; 1; 90(3):257-62.

[1]. Karmali et al.
[2]. Trypton Soy Broth
[3]. Merck
[4]. Paton and Paton
[5]. Ganon et al.
[6]. Aşkar et al.
[7]. Silva et al.
[8]. Dolejská et al.
[9]. Literák et al.
[10]. Santaniello et al.
[11]. Napoli
[12]. Shere et al.
[13]. Wisconsin
[14]. Fujian
[15]. LeJeune et al.
[16]. Tahmasby et al.
[17]. Morabito et al.

An Investigation of beta-lactam antibiotics resistance in *Escherichia coli* isolates and molecular detection of *Escherichia coli O157:H7* in cage birds from Shahrekord, Iran

Hossein Tahmasby *
DVM, University of Shahrekord, Iran, h.tahmasby@yahoo.com
Sara Barati
M.Sc. in Bacteriology, University of Shahrekord, Iran, sarabarati52@yahoo.com
Hassan Momtaz
Associate Professor of Microbiology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Iran, hamomtaz@yahoo.com
Mohammad Rafiee Dolatabadi
DVM, University of Shahrekord, Iran, rafiee1390@hotmail.com
Mohammad Ghasemi
DVM Student, University of Shahrekord, Iran, mohammad.ghasemi@ymail.com
Seied Vahid Ahmadi Salianeh
Pharm.D, Faculty of Pharmacy, Ahvaz Jondishapour University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran, vahid6150@yahoo.com
Samaneh Mehrabiyan
DVM, University of Shahrekord, Iran, samanehmehrabiyan@yahoo.com

Abstract

Introduction: Cage birds can harbor human pathogens and contribute to the transmission and spread of drug resistant infectious agents to human. Since many people are interested in keeping cage birds, present study was conducted in cage birds from Shahrekord to investigate the beta-lactam antibiotics resistant *E. coli* and molecular detection of *E. coli O157:H7* that is responsible for outbreaks of human intestinal diseases and fatal haemolytic-uraemic syndrome worldwide.

Materials and methods: Altogether 256 samples of cage birds (lovebirds, quails, nightingales, parrots, mynahs, goldfinchs, finches, kingbirds, peacocks, and pheasants) faeces were collected with sterile cotton swabs from different areas of Shahrekord, Iran. Swabs were placed directly into Tryptone Soya Broth (TSB). In the laboratory, samples were streaked onto MacConkey agar and also Sorbitol MacConkey agar as selective plating media. Then, antibiogram tests were performed using disc diffusion method. Suspected colonies to *E. coli O157*:*H7* were tested by polymerase chain reaction (PCR).

Results: *E. coli* was isolated from 31 (12.1%) out of 256 the samples. Resistance of isolates to Imipenem, Cefotaxime, Cefixime, Cefalexin, Amoxicillin, Penicillin G and Oxacillin was 0, 3.2, 16.1, 90.3, 100, 100 and 100% respectively. *E. coli O157:H7* was not found in any samples.

Discussion and conclusion: Although cage birds were not sourcee or carriers of *E. coli O157:H7* in the studied region, they harbored beta-lactam antibiotics resistant *E. coli* and could be an important component of drug-resistant infections transmission from cage-birds to human, especially to kids and can pose a potential risk to human health. For this reason, it is recommended to make pet birds owners and general public aware of potential dangers of cage bird keeping.

Key words: *Escherichia coli*, Cage bird, Antibiotic resistance, PCR

* Corresponding author
Received: February 17, 2013 / **Accepted:** July 6, 2013