Research Paper

Determination of Antibiotic Resistance Patterns of Escherichia Coli Strains to Twenty Antibiotics Used in the Iran

Aidin Azizpour*

Associate Professor of Poulry Diseases, Department of Medicinal Plants, Meshginshahr Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received: 2020/11/04 **Accepted:** 2021/01/27

Abstract

Background: Increasing antibiotic resistance of bacteria, especially *Escherichia coli*, is currently a global health problem. The aim of this study was to investigate the drug resistance patterns of E coli strains isolated from broiler poultry of Ardabil city to common twenty antibiotics in the Iran.

Materials & Methods: Five carcasses were randomly selected from 24 broiler flocks with clinical signs of colibacillosis and sampled from liver and heart using sterile swabs. After culture and isolation, colonies were identified by biochemical and serological methods. Antimicrobial susceptibility testing was performed by disk diffusion method based on CLSI guidelines for various groups of antibiotics.

Results: From 120 samples examined, E. coli was isolated in 111 cases (92.5%). The highest antibiotic resistance was in tetrayclin (100%), chlortetracycline (100%), nalidixic acid (100%), oxytetracycline (97.30%), flumequine (94.60%), tylosin (86.47%), enrofloxacin (83.78%), doxycycline (82.89%), neomycin (81.08%) and sulphadiazine+ terimethoprime (74.77%), respectively. The most sensitivity was seen in ceftiofur (100%), cefixime (89.19%), gentamicin (80.19%) and lincospectin (72.07%), respectively. Multiple antibiotic resistance was in all isolates.

Conclusion: The results of this study show the highest rate of drug resistance was observed to common antibiotics in the Iranian poultry industry. This can be due to excessive use of antibiotics in poultry farms. These findings are important for public health.

***Corresponding Author:** Aidin Azizpour
Address: Associate Professor of Poulry Diseases, Department of Medicinal Plants, Meshginshahr Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
Tel: (+98) 914-7069117
E-mail: Aidin_azizpour@uma.ac.ir

Keywords: *Escherichia coli*, Multiple antibiotic resistance, Antimicrobial susceptibility testing

How to cite this article: Azizpour A. Determination of Antibiotic Resistance Patterns of *Escherichia Coli* Strains to Twenty Antibiotics Used in the Iran, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2022; 29(1):101-114.

Copyright © 2022 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

Introduction

Escherichia coli is the causative agent of collibasillosis in poultry . The collibasillosis occurs in domestic birds of all ages, but this disease is more common in young birds than adults. Also E.coli causes various diseases include septicemia, respiratory tract infection, cellulitis, meningitis, endocarditis, yolk sac infection, omphalitis, peritonitis, salpingitis, synovitis, polyserositis, airsacculitis and coligranuloma.

However, E.coli infections in industrial poultry are particular importance and cause significant economic losses to countries annually. Today, the prevention of collibasillosis is mostly based on the use of antibacterial compounds. Antibiotic treatment is one of the most important methods to reduce morbidity and mortality as well as the damage associated with this infection.

But in the last decade, the widespread and long-term administration of antibiotics for therapy and growth promotion in poultry has led to the emergence and spread of resistant genes and consequently increasing in antibiotic resistance to some bacteria strains. This has led to reduce efficiency which has finally made it difficult to treat the disease. Increasing multidrug resistanc to E.coli has been reported worldwide and has raised many public health concerns in developing and developed countries.

Because the identification of common antibiotic resistance in the region is particular importance for therapy of infections and prevention of treatment failure. Therefore, the aim of this study was to investigate antibiotic resistance patterns of E coli strains isolated from broiler poultry flocks with collibasillosis of Ardabil city to twenty antibiotics which are commonly used in health centers of Iran.

Methodology

Twenty-four broiler flocks (2-7 weeks of old) from different parts of Ardabil city with clinical symptoms and suspected autopsy lesions of collibasillosis were examined in the laboratory during 2018. Five birds were randomly selected from each flock and after necropsy and initial diagnosis of the disease, the liver and heart were sampled next to the flame.

First, samples were cultured in McConkey agar medium (HiMedia Laboratories, Mumbai, India) and incubated at 37 ° C for 24 h. The lactose-positive colonies were then separated and sub-cultured on McConkey agar to obtain pure culture. To confirm the bacterial identity, a colony of pure culture was cultured on EMB (Eosin Methylene Blue) medium and if the colonies were produced with metallic green glaze, finally was identified and confirmed with Gram staining and biochemical tests including indole production, methyl red reaction and voges–proskauer reaction, urea production, gas production, citrate fermentation, glucose fermentation, oxidase reaction, catalase reaction, ornithine decarboxylase fermentation and lysine based on standard bacteriological procedure (1, 7). The *E.coli* isolates confirmed by biochemical tests were stored in LB medium with 30% glycerol in the freezer at -70 ° C for perform antibiogram test.

To determine the antibiotic resistance of the isolates against 20 drugs commonly in the veterinary and medical fields was used qualitative disc diffusion method by Kirby Bauer procedure on Mueller-Hinton agar (Merck, Germany) in according with instructions of Clinical Laboratory Standards Institute Guidelines (CLSI) 2018.

Antibiotic disks, procured from Padtan Teb Company of Iran, were sulphadiazine + trimethoprim (1.25/23,75 µg), ampicillin (10 µg), penicillin (100 µg), ciprofloxacin (5 µg), cefixime (5 µg), tylosin (30 µg), danofloxacin (10 µg), gentamicin (10 µg), neomycin (30 µg), ceftiofur (30 µg), florfenicol (30 µg), colistin (10 µg), lincoceptin (15/200 µg), chlortetracycline (30 µg), doxycycline (30 µg), oxytetracycline (30 µg), flumequine (30 µg), enrofloxacin (5 µg), tetracycline (30 µg) and nalidixic acid (30 µg)

To perform an antibiogram test, each isolate was removed from 70 ° C freezer and cultured on MacConkey agar for 24 hours at 37 ° C. Then 2 to3 colonies were transferred from the MacConkey Agar medium to the test tube containing TSB (Tryptic Soy Broth) and incubated for 3 hours at 37 ° C to prepare 0.5 McFarland turbidity. After adjusting the turbidity of bacterial suspension equivalent to 0.5 McFarland standard, 150 µl test suspension was inoculated on to Mueller–Hinton agar plates, and then antibiotic disks were placed and incubated at 37°C for 18 h. Then the diameter of the inhibition growth zone of each disk was measured and finally the resistance and sensitivity of each isolate were read by comparing standard table of antibiotic interpretation. In this study, resistance to more than three antibiotics was considered as multiple resistance.

Results

The results of the present study are shown in Tables 1 to 3. Out of 200 tested samples from broilers with colibacillosis in Ardabil, 111 isolates *E. coli* was recovered and in 9 samples *E. coli* was not isolated. Thus, the overall prevalence of *E. coli* was 92.5%.

The frequency of sensitivity and resistance of *E. coli* isolates to twenty antimicrobial agents is outlined in Table 1 . All isolates were susceptible to to ceftiofur. In contrast, 100% of the isolates were resistant to tetracycline, chlortetracycline and nalidixic acid (100%) and the resistance to the 16 other antibiotics ranged from 10.81 to 97.30%. In 16 other antibiotics, the highest resistance was found against oxytetracycline (97.30%), flumequine (94.60%), tylosin (86.47%), enrofloxacin (83.78%), doxycycline (82.89%), neomycin (81.08%), and sulphadiazine + trimethoprim (74.77%) and the lowest resistance was found in lincoceptin (27.93%), gentamicin (19.81%) and cefixime (`10.81%).

Table 1. Antibiotic resistance profile of 111 E. coli isolates to 20 antibiotics

Antimicrobial Agent	Resistant No. (%)	Sensitive No. (%)
Macrolide Groups		
Tylosin	96 (86.48)	15 (13.52)
Tetracycline Groups		
Tetracycline	111 (100.00)	0
Chlortetracycline	111 (100.00)	0
Doxycycline	92 (82.89)	19 (17.11)
Oxytetracycline	108 (97.30)	3 (2.70)
Fenicol Groups		
Florfenicol	50 (45.04)	61 (54.96)
Quinolone and Fluoroquinolone Groups		
Nalidixic acid	111 (100.00)	0
Flomequine	105 (95.60)	6 (5.40)
Enrofloxacin	93 (83.78)	`18 (8.28)
Ciprofloxacin	67 (60.36)	44 (39.64)
Danofloxacin	62 (55.85)	49 (44.15)
Aminoglycoside Groups		
Neomycin	90 (81.08)	21 (18.25)
Gentamicin	22 (19.81)	89 (80.19)
Lincosamide Groups		
Lincospectin	31 (27.93)	80 (72.07)
Polymyxin Groups		
Colistin	61 (54.94)	50 (45.06)
Penicillin Groups		
Ampicillin	58 (52.25)	53 (47.75)
Penicillin	51 (45.94)	60 (54.06)
Sulfonamide Groups		
Sulphadiazine+trimethoprim	83 (74.77)	28 (25.33)
Cephalosporin Groups		
Cefixime	12 (10.81)	99 (89.19)
Ceftiofur	0	111 (100.00)

Multiple resistance was observed among resistant isolates. 100% of isolates were resistant to at least three compounds and 0.9% isolates to 18 compounds out of a total of 20 antibiotics tested (Table 2). More than 90% of E. coli isolates were resistant to five antibiotics, and none of the isolates were resistant to more than 19 antibacterial compounds (Table 2).

Table 2. Multiple resistance of *E. coli* isolates against 20 antibiotics

Resistant No. (%)	Antibiotics No.
111 (100.0)	1
111 (100.0)	2
111 (100.0)	3
105 (94.59)	4
100 (90.09)	5
81 (72.98)	6
76 (68.46)	7
65 (58.83)	8
62 (55.85)	9
56 (50.45)	10
40 (36.03)	11
28 (25.22)	12
20 (18.01)	13
13 (11.71)	14
11 (9.91)	15
5 (4.50)	16
3 (2.80)	17
1 (0.90)	18

According to Table 3 a comparison of the drug resistance pattern of five E. coli isolates obtained from each broiler flock showed that we found similarities between the antibiotic resistance pattern of isolates of 18 broiler flocks (81.8%), but in 6 broiler flocks (18.2%) had no similarity in antibiotic resistance pattern of their isolates. It is noteworthy that in only 9.1% of the positively studied broiler flocks, all five E.coli isolated from each broiler poultry had a similar antibiotic resistance pattern. In 13.7% of the flocks, out of every five isolates, four E.coli had a similar resistance pattern (Table 3).

Table 3. Similarity in antibiotic resistance patterns amoung five E.coli isolates obtained from each broiler flocks

E. coli isolates with similar drug resistance pattern No.	flocks No. (%)
5	2 (9.1)
4	3 (13.7)
2+3	1 (4.5)
3	5 (22.7)
2+2	2 (9.1)
2	3 (13.7)
1	2 (9.1)
0	4 (18.2)

Discussion

Collibasilosis is one of the most important economically diseases of the poultry industry in the worldwide, which is caused by *Escherichia coli*. According to reports, the drug resistance pattern is diverse and changing in different geographical areas and even at different time periods in a region.

In Dakahlia Governorate of Egypt, on 116 APEC strains, the highest resistance was reported for ampicillin (100%), followed by tetracycline (93.1%) and nalidixic acid (84.5%). Resistance to sulfamethoxazole + trimethoprim (58.6%), gentamicin (48.3%) and ciprofloxacin (41.4%) were in the next ranks. In APEC strains obtained from broilers with collibasillosis at Faisalabad of Pakistan, the highest resistance to ampicillin, tetracycline and ciprofloxacin were observed 98.6%, 97.3% and 72%, respectively. On 50 *Escherichia coli* isolates obtain from broilers with colibasilosis in Nepal, The highest resistance were for ampicillin (98%), followed by doxycycline (62%), gentamicin (55%), ciprofloxacin (55%). and Colistin (50%). A study in Chine on 87 APEC isolates from septicemia of broilers showed that the resistance rates to ampicillin, ciprofloxacin,

gentamicin, cefixime and neomycin were 97.7%, 94.3%, 93.1%, 58.6% and 52.9% ,respectively. In the study On 79 APEC strains in Korea, the highest resistance was related to ampicillin (83.5%) and nalidixic acid (65.8%), tetracycline (64.6%), ciprofloxacin (46.8%), sulfamethoxazole + trimethoprim (43.1%), cefixime (16.5%) and gentamicin (12.7%) were in the next ranks. Performed studies on 168 APEC strains isolated from Thai and Australian broiler flocks showed that resistance to tetracycline, ampicillin and sulfamethoxazole + trimethoprim in Thai isolates was 84.5, 70.5% and 51.2%, respectively and resistance to tetracycline, ampicillin and sulfamethoxazole + trimethoprim in Australian isolates was 36.9%, 29.8% and 17.8% ,respectively. Varga et al. studied *E. coli* isolates in Ontario, Canada and reported resistance to tetracycline, gentamicin, ampicillin and sulfamethoxazole + trimethoprim were 57%, 50%, 44 % and 18%, respectively. In a study on 30 commercial poultry E.coli isolates in Bangladesh, resistance for erythromycin, penicillin, tetracycline, chloramphenicol and gentamicin was reported 100, 100, 93.3, 53.3 and 23.1, respectively. In other study on 67 *Escherichia coli* isolates from poultry flocks with collibasillosis in Nigeria, The highest resistance was to chloramphenicol (11.9%) and tetracycline (10.5%), followed by neomycin (5.9%), sulfamethoxazole (4.5%), enrofloxacin (3.0%), ampicillin (2.9%) and erythromycin (1.5%). In survey on 51 isolates obtained from poultry in Italy showed that the highest resistance to ampicillin and nalidixic acid and the lowest to Cephalosporins. According to studies on 269 APEC strains in northern Jordan, the highest resistance was related to sulfamethoxazole + trimethoprim (95.5%), amoxicillin (93.3%) and doxycycline. (92.2%) and the lowest resistance were ceftriaxone (3.93%) and ceftazidime (0%) (16). In Nairobi, Kenya, the highest resistance to ampicillin (54.5%) and cotrimoxazole (26%) and the lowest resistance to ciprofloxacin (0%) and gentamicin (0%).

A lot of researches has been done on the antibiotic resistance of *Escherichia coli* in poultry of Iran, which indicates the high level of antibiotic resistance in different parts of the country. In Ardabil province has been reported that the highest resistance to tetracycline (99.43%) and erythromycin (97.75%) and the lowest resistance against fluorophenicol (58.99%) and lincospectin (36.52%). In the evaluation conducted in Urmia between 2006 and 2011 showed that the highest resistance had to tylosine, tetracycline, and erythromycin, and the highest sensitivity had to fluorophenicol and lincospectin. In the study on 120 *Escherichia coli* isolates obtained from broiler flocks in Ahvaz observed the highest resistance to enrofloxacin (90.8%), followed by fluorophenicol (83.3%), doxycycline (82.5%), sultrim (74.2%) and lincoceptin (66.7%). In Yazd was reported the highest resistance was to nalidixic acid (100%) and ciprofloxacin (86%) and the highest sensitivity was to colistin (100%) and gentamicin (93%). A study conducted on 80 *Escherichia coli* isolates from Mazandaran broiler flocks showed that isolates of resistance to tetracycline, erythromycin and ampicillin were 71.25%, 65%, 62.5%, respectively. In Sistan and Baluchestan province has been reported the highest resistance of *Escherichia coli* strains isolated from broiler against tetracycline (95.0%), ciprofloxacin (88.3%), cotrimoxazole (86.7%), lincoceptin (52.5%) and gentamicin (21.7%) (21). The study was conducted on 71 *Escherichia coli* isolates from broilers with colibacillosis in Tabriz showed that the percentage of resistance of doxycycline, danofloxacin, enrofloxacin, soltrim, fluorophenicol, colistin and neomycin were 66.1, 60.7, 55, 50.8, 41.7, 18 and 16.1, respectively.

In the present study, the resistance to the majority of antibiotics commonly used in the poultry industry (tylosin, tetracycline, oxytetracycline, chlortetracycline, doxycycline, sulphadiazine + trimethoprim, flumequine, enrofloxacin, neomycin and nalidixic acid) was high. 100% of the isolates were resistant to the three antibiotics tetracycline, chlorotetracycline and nalidixic acid which the main reasons are the unprincipled and long-term use of these compounds, especially the group of tetracyclines and macrolides in poultry farms as growth-promoting and therapy. In this study, the resistance of the isolates to fluoroquinolones other than ciprofloxacin and danofloxacin was almost similar to tetracyclines and macrolides. Low resistance to lincospectin and gentamicin as well as cephalosporins compared to the studied drugs is due to limited use of these medicinal compounds in the prevention and treatment of commercial poultry flocks. Therefore, at present, these drugs can be effective in therapy of avian collibasilosis.

The findings of the this study are consistent with the some previous reports and different from the findings of other researchers. It seems that this

difference can be due to different in the type, amount and continuity of antimicrobial compounds and temporal and spatial differences and different in the studied isolates.

Multiple drug resistance during the last decades in many countries, including Iran , Pakistan, Nepal, China and Nigeria have been reported. In this study all 111 isolates to three types of antibiotics were resistant and 100 isolates (more than 90%) to five types of antibiotics of the 20 antimicrobial compounds tested which mainly due to the improper use of these drugs without accurate assessment of bacterial susceptibility in poultry farms. It is alarm a threat to the transmission of resistance genes to humans. This issue is very serious in developing countries where o not abide the use of antibiotics and the duration of abstinence from meat and other animal products of treated with antibiotics. Multiple drug resistance of the present study is consistent with the studies of Jafari et al., Kim et al., Jahantegh et al.

The similarity of antibiotic resistance patterns of isolates in farms has been in recent years. In the present study, 81.8% of poultry farms had the same antibiotic resistance pattern and 18.2% of poultry farms did not have similarities in drug resistance pattern of isolates. In this study, in 9.1% of poultry farms, all five isolates from one farm had a similar drug resistance pattern. Due to the variability of antibiotic resistance pattern of isolates studied, antibiogram test should be performed independently for each region or even each poultry to select the appropriate and effective drug for the treatment of colibacillosis.

Conclusions

The data obtained in this study indicate that that level resistance of isolates to the majority of antibiotics commonly used in the Iranian poultry industry is high. This can be due to the excessive use of antibiotics in poultry farms, which is very important for public health. Therefore, implementation of a national monitoring plan for antimicrobial resistance and rational administration of antibiotics seems necessary.

Acknowledgment

The author would like to thank all the people who helped me in this research.

Conflict of Interest

The author declare that there are no conflict of interest regarding the publication of this manuscript.

مقاله پژوهشی

تعیین الگوی مقاومت دارویی سویه های اشریشیاکلی نسبت به ۲۰ آنتی بیوتیک مورداستفاده در ایران

آیدین عزیزپور*

دانشیار بیماری‌های طیور، گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی مشگین‌شهر، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۰۸

* **نویسندهٔ مسئول:** آیدین عزیزپور
نشانی: گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی مشگین‌شهر، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
تلفن: ۰۹۱۴۷۰۶۹۱۱۷
رایانامه: Aidin_azizpour@uma.ac.ir
شناسه ORCID: 0000-0002-2834-2200
شناسه ORCID نویسنده اول: 0000-0002-2834-2200

چکیده

زمینه و هدف: در حال حاضر، افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری ها به‌خصوص اشریشیاکلی به عنوان یک مشکل بهداشتی جهانی مطرح می باشد. هدف از این مطالعه، بررسی الگوی مقاومت دارویی سویه های اشریشیاکلی جدا شده از طیور گوشتی شهرستان اردبیل نسبت به ۲۰ نوع آنتی بیوتیک رایج در کشور بود.

مواد و روش‌ها: از ۲۴ گله مرغ گوشتی دارای علایم بالینی و جراحات کالبدگشایی مشکوک به بیماری باکتریایی کلی باسیلوز به طور تصادفی تعداد پنج لاشه انتخاب شد و از کبد و قلب با استفاده از سوآب استریل نمونه برداری صورت گرفت. پس از کشت و جداسازی، کلونی های آن با روش های بیوشیمیایی و سرولوژی شناسایی شدند. آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن آگار و براساس دستوالعمل CLSI انجام گردید.

یافته‌ها: از ۱۲۰ نمونه بررسی شده، در ۱۱۱ مورد (۹۲/۵ درصد) باکتری اشریشیاکلی جداسازی شد. در این مطالعه بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به تتراسایکلین (۱۰۰ درصد)، کلرتتراسایکلین (۱۰۰ درصد)، نالیدیکسیک اسید (۱۰۰ درصد)، اکسی‌تتراسایکلین (۹۷/۳۰ درصد)، فلومکوئین (۹۴/۶۰ درصد)، تایلوزین (۸۶/۴۸ درصد)، انروفلوکساسین (۸۳/۷۸ درصد)، داکسی سایکلین (۸۲/۸۹ درصد)، نئومایسین (۸۱/۰۸ درصد) و سولفادیازین +تریمتوپریم (۷۴/۷۷ درصد) بود. بیشترین حساسیت در سفتیفور (۱۰۰ درصد)، سفیکسیم (۸۹/۱۹ درصد)، جنتامایسین (۸۰/۱۹ درصد) و لینکواسپکتین (۷۲/۰۷ درصد) مشاهده شد. در تمامی جدایه‌های اشرشیاکلی مقاومت چندگانه دارویی وجود داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان داد بیشترین میزان مقاومت دارویی نسبت به آنتی بیوتیک های رایج در صنعت طیور مشاهده گردید. این موضوع می‌تواند ناشی از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در مزارع طیور باشد که از نظر بهداشت عمومی اهمیت فراوانی دارد.

کلیدواژه‌ها:
اشریشیاکلی، مقاومت چندگانه دارویی، آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی

مقدمه

در طیور، باکتری *اشریشیاکلی*، عامل ایجادکننده بیماری کلی-باسیلوزیس می‌باشد (۱و۲). کلی‌باسیلوزیس در تمامی پرندگان اهلی و در سنین مختلف بروز می‌کند اما این بیماری در پرندگان جوان، نسبت به بالغین، شایع‌تر است و بیشتر در سنین ۴ تا ۹ هفته دیده می‌شود (۲). باکتری *اشریشیاکلی* نیز باعث بیماری‌هایی دیگر نظیر سپتی‌سمی، عفونت‌های دستگاه تنفسی، سلولیت، آندوکاردیت، پریتونیت، سالپنژیت، سینوویت، کلی‌گرانولوما، عفونت کیسه زده می‌شود (۲ و ۳). به هر حال، عفونت‌های حاصل از *اشریشیاکلی* در طیور صنعتی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند و صدمات اقتصادی قابل‌توجهی را سالیانه به کشورها وارد می‌کنند (۲). امروزه مقابله با بیماری کلی‌باسیلوزیس بیشتر متکی بر به‌کارگیری ترکیبات ضدباکتریایی است (۱ و ۴). درمان آنتی‌بیوتیکی یکی از روش‌های مهم برای کاهش مرگ‌ومیر و همچنین خسارات مرتبط با این عفونت است (۱ و ۳). اما در دهه اخیر، تجویز گسترده و طولانی‌مدت آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک رشد

Copyright © 2022 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

طیور یا به‌منظور کنترل بیماری، سبب پیدایش و انتشار ژن‌های مقاوم و در نتیجه افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر برخی از گونه‌های باکتری شده است که نهایتاً درمان بیماری را با مشکل مواجه کرده است (۵ و ۶)؛ به‌طوری‌که افزایش مقاومت چندگانه دارویی در برابر این باکتری در سراسر جهان گزارش شده است و نگرانی‌های زیادی را در کشورهای درحال‌توسعه و توسعه‌یافته ایجاد کرده است (۶ و ۷). از آنجایی که شناسایی مقاومت‌های دارویی شایع در منطقه، اهمیت ویژه‌ای برای درمان عفونت‌ها و جلوگیری از شکست درمان دارد؛ هدف از مطالعه حاضر بررسی الگوی مقاومت دارویی در سویه‌های *اشریشیاکلی* جدا شده از موارد کلی‌باسیلوز گله‌های گوشتی شهرستان اردبیل نسبت به ۲۰ نوع آنتی‌بیوتیک با مصرف رایج در مراکز درمانی کشور می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲۴ گله طیور گوشتی با سنین ۷-۲ هفتگی از نقاط مختلف اردبیل دارای علایم بالینی و جراحات کالبدگشایی مشکوک به بیماری کلی‌باسیلوز در آزمایشگاه طی سال ۱۳۹۷ بررسی شدند. از هر گله مورد مطالعه به‌طور تصادفی تعداد پنج پرنده انتخاب و بعد از کالبدگشایی و تشخیص اولیه بیماری، در کنار شعله از کبد و قلب نمونه‌برداری به‌عمل آمد.

ابتدا نمونه‌ها در محیط مک‌کانکی آگار (HiMedia Laboratories, Mumbai, India) کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شدند. سپس کلونی‌های لاکتوز مثبت جدا و مجدداً بر روی مک‌کانکی آگار کشت داده شدند تا کشت خالص به‌دست آمد. برای تأیید هویت باکتری، یک کلونی از کشت خالص بر روی محیط EMB [1] کشت داده شد و در صورت تولید کلونی‌ها با جلای سبز فلزی، در نهایت با رنگ‌آمیزی گرم و آزمون‌های تفریقی بیوشیمیایی (تولید اندول، کاتالاز، اکسیداز، واکنش متیل رد و واکنش وژوس پروسکائر، تولید اوره، مصرف سیترات، تخمیر گلوکز و دکربوکسیلایون ارنیتین و لیزین و ...) براساس روش‌های استاندارد باکتریولوژیکی تشخیص نهایی و تأیید هویت شدند (۱ و ۷). جدایه‌های *اشریشیاکلی* تأیید شده با آزمون‌های بیوشیمیایی، در محیط LB به همراه ۳۰ درصد گلیسرول تا انجام آزمایش آنتی‌بیوگرام در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های موردبررسی نسبت به ۲۰ داروی مصرفی متداول در حوزه‌های دامپزشکی و پزشکی، از روش کیفی انتشار از دیسک [2] به روش کربی‌بائر [3] و طبق دستورالعمل مؤسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) سال ۲۰۱۸ استفاده گردید (۷). برای انجام این تحقیق، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک (غلظت بر حسب میکروگرم) سولفادیازین+تریمتوپریم (۱.۲۵/۲۳.۷۵)، آمپی‌سیلین (۱۰)، پنی‌سیلین (۱۰۰)، سیپروفلوکساسین (۵)، سفیکسیم (۵)، تایلوزین (۳۰)، دانوفلوکساسین (۱۰)، جنتامایسین (۱۰)، نئومایسین (۳۰)، سفتیفور (۳۰)، فلورفنیکل (۳۰)، کلیستین (۱۰)، لینکواسپکتین (۱۵/۲۰۰)، کلرتتراسایکلین (۳۰)، داکسی‌سایکلین (۳۰)، اکسی‌تتراسایکلین (۳۰)، فلومکوئین (۳۰)، انروفلوکساسین (۵)، تتراسایکلین (۳۰)، نالیدیکسیک اسید (۳۰) از شرکت پادتن طب ایران تهیه شد (۷).

برای انجام آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی، هر جدایه باکتری از فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد خارج ضمن آماده‌سازی بر روی محیط مک‌کانکی آگار به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند. سپس ۴ تا ۵ کلنی از محیط مک‌کانکی آگار به لوله آزمایش حاوی TSB [4] منتقل و به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای تهیه کدورت ۰/۵ مک فارلند گرم‌خانه‌گذاری شدند. پس از تنظیم کدورت سوسپانسیون باکتریایی معادل ۰/۵ استاندارد مک‌فارلند، ۱۵۰ میکرولیتری از سوسپانسیون آزمایشی بر روی پلیت‌های مولر هینتون آگار (Merck, Germany) تلقیح شد و سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیک قرار داده شد و به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید (۵ و ۸). سپس قطر هاله عدم رشد هر دیسک به‌وسیله خط‌کش اندازه‌گیری و در نهایت میزان مقاومت و حساسیت هر جدایه با مقایسه اطلاعات موجود در جدول استاندارد تفسیر آنتی‌بیوتیک (شرکت پادتن طب) قرائت شد. در این بررسی، مقاومت به بیش از سه نوع آنتی‌بیوتیک به‌عنوان مقاومت چندگانه در نظر گرفته شد.

۳. یافته‌ها

نتایج مطالعه حاضر در جداول ۱ تا ۳ نشان داده شده است. از بین ۱۲۰ نمونه بررسی‌شده از طیور گوشتی مبتلا به بیماری کلی‌باسیلوزیس در شهرستان اردبیل، در ۱۱۱ مورد (۹۲/۵

1 Eosin Methylene Blue
2 Disc diffusion
3 Kirby Bauer
4 Trypicase Soy Broth

درصد) باکتری اشریشیاکلی جداسازی شد و در ۹ مورد (۷/۵ درصد) باکتری اشریشیاکلی رشد نکرد.

فراوانی مقاومت و حساسیت ۱۱۱ جدایه *اشریشیاکلی* جداسازی‌شده از طیور گوشتی مبتلا به کلی‌باسیلوزیس نسبت به ۲۰ آنتی‌بیوتیک موردآزمایش در جدول ۱ آورده شده است. تمامی جدایه‌ها در مقابل سفتیفور کاملاً حساس بودند. در مقابل ۱۰۰ درصد جدایه‌ها نسبت به تتراسایکلین، کلرتتراسایکلین و نالیدیکسیک‌اسید مقاومت کامل (۱۰۰ درصد) داشتند و میزان مقاومت به ۱۶ آنتی‌بیوتیک دیگر بین ۱۰/۸۱ تا ۹۷/۳۰ درصد متغیر بود. از نظر تقسیم‌بندی، آنتی‌بیوتیک‌های بررسی‌شده در سه گروه مقاومت دارویی قرار داشتند. در گروه اول، چهار آنتی بیوتیک سفتیفور، سفیکسیم، جنتامایسین و لینکواسپکتین با مقاومت پایین (بین ۰ تا ۳۰ درصد) بودند. گروه دوم، پنج آنتی‌بیوتیک فلورفنیکل، پنی‌سیلین، دانوفلوکساسین، کلیستین و آمپی‌سیلین مقاومت متوسطی (بین ۳۰ تا ۶۰ درصد) داشتند. در گروه سوم ۱۱ آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین، اکسی‌تتراسایکلین، کلرتتراسایکلین، فلومکوئین، تایلوزین، داکسی‌سایکلین، انروفلوکساسین، نئومایسین، سیپروفلوکساسین، سولفادیازین+ تریمتوپریم، نالیدیکسیک‌اسید مقاومت بالا (بین ۶۰ تا ۱۰۰ درصد) نشان دادند که از بین آنتی‌بیوتیک‌های با مقاومت بالا، بیشتر جدایه‌ها نسبت به ۵ آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین، کلرتتراسایکلین، اکسی‌تتراسایکلین، فلومکوئین و نالیدیکسیک اسید فوق مقاوم (بیش از ۹۴ درصد) بودند.

جدول ۱. فراوانی مقاومت و حساسیت ۱۱۱ جدایه اشریشیاکلی از موارد کلی باسیلوز گله های گوشتی نسبت به ۲۰ آنتی بیوتیک

ردیف	ترکیبات آنتی‌بیوتیک	جدایه‌های مقاوم		جدایه‌های حساس	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد
	گروه ماکرولیدها				
۱	تایلوزین	۹۶	۸۶/۴۸	۱۵	۱۳/۵۲
	گروه تتراسایکلین‌ها				
۲	تتراسایکلین	۱۱۱	۱۰۰	۰	۰
۳	کلرتتراسایکلین	۱۱۱	۱۰۰	۰	۰
۴	داکسی‌تتراسایکلین	۹۲	۸۲/۸۹	۱۹	۱۷/۱۱
۵	اکسی‌تتراسایکلین	۱۰۸	۹۷/۳۰	۳	۲/۷۰
	گروه فنیکل‌ها				
۶	فلورفنیکل	۵۰	۴۵/۰۴	۶۱	۵۴/۹۶
	گروه کلینولون‌ها و فلوروکلینولون‌ها				
۷	فلومکوئین	۱۰۵	۹۴/۶۰	۶	۵/۴۰
۸	نالیدیکسیک‌اسید	۱۱۱	۱۰۰	۰	۰
۹	سیپروفلوکساسین	۶۷	۶۰/۳۶	۴۴	۳۹/۶۴
۱۰	دانوفلوکساسین	۶۲	۵۵/۸۵	۴۹	۴۴/۱۵
۱۱	انروفلوکساسین	۹۳	۸۳/۷۸	۱۸	۸/۲۸
	گروه آمینوگلیکوزیدها				
۱۲	نئومایسین	۹۰	۸۱/۰۸	۲۱	۱۸/۹۵
۱۳	جنتامایسین	۲۲	۱۹/۸۱	۸۹	۸۰/۱۹
	گروه پلی میکسین‌ها				
۱۴	کلیستین	۶۱	۵۴/۹۴	۵۰	۴۵/۰۶
	گروه لینکوزامیدها				
۱۵	لینکواسپکتین	۳۱	۲۷/۹۳	۸۰	۷۲/۰۷
	گروه پنی سیلین				
۱۶	آمپی‌سیلین	۵۸	۵۲/۲۵	۵۳	۴۷/۷۵
۱۷	پنی‌سیلین	۵۱	۴۵/۹۴	۶۰	۵۴/۰۶
	گروه سولفانامیدها				
۱۸	سولفادیازین+تریمتوپریم	۸۳	۷۴/۷۷	۲۸	۲۵/۳۳
	گروه سفالوزپورین‌ها				
۱۹	سفیکسیم	۱۲	۱۰/۸۱	۹۹	۸۹/۱۹
۲۰	سفتیفور	۰	۰	۱۱۱	۱۰۰

در بین جدایه های مقاوم، وقوع مقاومت چندگانه شایع بود؛ به‌طوری که ۱۰۰ درصد جدایه ها حداقل به سه ترکیب و ۰/۹ درصد آنها به ۱۸ ترکیب از مجموع ۲۰ آنتی‌بیوتیک موردآزمایش مقاوم بودند. بیش از ۹۰ درصد جدایه‌های اشریشیاکلی به پنج ترکیب آنتی بیوتیک مقاوم بودند و هیچ‌کدام از جدایه ها به بیش از ۱۹ ترکیب ضدباکتریایی مقاوم نبودند (جدول ۲).

جدول ۲. الگوی مقاومت چندگانه ۱۱۱ سویه اشریشیاکلی جدا شده از گله‌های گوشتی به ۲۰ آنتی‌بیوتیک

ردیف	تعداد جدایه‌های مقاوم (درصد)	تعداد ترکیبات آنتی‌بیوتیک
۱	۱۱۱ (٪ ۱۰۰)	۱
۲	۱۱۱ (٪ ۱۰۰)	۲
۳	۱۱۱ (٪ ۱۰۰)	۳
۴	۱۰۵ (٪ ۹۴/۵۹)	۴
۵	۱۰۰ (٪ ۹۰/۰۹)	۵
۶	۸۱ (٪ ۷۲/۹۷)	۶
۷	۷۶ (٪ ۶۸/۴۶)	۷
۸	۶۵ (٪ ۵۸/۸۳)	۸
۹	۶۲ (٪ ۵۵/۸۵)	۹
۱۰	۵۶ (۵۰٪/۴۵)	۱۰
۱۱	۴۰ (٪ ۳۶/۰۳)	۱۱
۱۲	۲۸ (٪ ۲۵/۲۲)	۱۲
۱۳	۲۰ (٪ ۱۸/۰۱)	۱۳
۱۴	۱۳ (٪ ۱۱/۷۱)	۱۴
۱۵	۱۱ (٪ ۹/۹۱)	۱۵
۱۶	۵ (٪ ۴/۵)	۱۶
۱۷	۳ (٪ ۲/۸)	۱۷
۱۸	۱ (٪ ۰/۹)	۱۸

مقایسه الگوی مقاومت دارویی پنج جدایه اشریشیاکلی به‌دست‌آمده از هر واحد طیور گوشتی نشان داد که بین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های ۱۸ واحد طیور گوشتی (۸۱/۸ درصد) تشابه‌هایی وجود دارد اما چهار واحد طیور باقیمانده (۱۸/۲ درصد) هیچ‌گونه تشابهی در الگوی مقامت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های خود نداشتند. فقط در ۹/۱ درصد واحدهای بررسی شده مثبت، هر پنج اشریشیاکلی جدا شده از یک واحد گوشتی دارای الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشابه بودند و در ۱۳/۷ درصد واحدها، از هر پنج اشریشیاکلی جدا شده، چهار اشریشیاکلی الگوی مقاومت مشابه داشتند (جدول ۳).

جدول ۳: میزان تشابه در الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی بین پنج جدایه *اشریشیاکلی* از هر واحد طیور

ردیف	تعداد جدایه‌های اشریشیاکلی با الگوی مقاومت دارویی مشابه	درصد مرغداری (تعداد)
۱	۵	۹/۱ (۲ واحد)
۲	۴	۱۳/۷ (۳ واحد)
۳	۳+۲	۴/۵ (۱ واحد)
۴	۳	۲۲/۷ (۵ واحد)
۵	۲+۲	۹/۱ (۲ واحد)
۶	۲	۱۳/۷ (۳ واحد)
۷	۱	۹/۱ (۲ واحد)
۸	۰	۱۸/۲ (۴ واحد)

٤. مبحث و نتیجه‌گیری

کلی‌باسیلوز از نظر اقتصادی، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های صنعت طیور در دنیا است که باکتری اشریشیاکلی عامل ایجادکننده آن می‌باشد (۹). طبق گزارش‌های پژوهشگران، الگوی مقاومت دارویی در نواحی مختلف جغرافیایی و حتی در مقاطع زمانی متفاوت در یک منطقه متنوع و در حال تغییر است (۲ و ۷).

در مطالعه آواد و همکاران بر روی ۱۱۶ سویه بیماریزای اشریشیاکلی پرندگان (APEC) در استان داکالیا مصر، بیشترین مقاومت مربوط به آمپی‌سیلین (۱۰۰ درصد) و سپس تتراسایکلین (۹۳/۱ درصد) و نالیدیکسیک‌اسید (۸۴/۵ درصد) گزارش گردید و مقاومت در برابر سولفامتوکسازول+تریمتوپریم (۵۸/۶ درصد)، جنتامایسین (۴۸/۳ درصد) و سیپروفلوکساسین (۴۱/۴ درصد) در رتبه‌های بعدی قرار داشتند (۳). عظم و همکاران با مطالعه روی سویه‌های APEC به‌دست‌آمده از فارم‌های جوجه گوشتی مبتلا به کلی‌باسیلوزیس در فیصل‌آباد پاکستان، بالاترین میزان مقاومت را در برابر آمپی‌سیلین، تتراسایکلین و سیپروفلوکساسین به‌ترتیب ۹۸/۶ درصد، ۹۷/۳ درصد و ۷۲ درصد گزارش کردند (۴). سوبدی و همکاران با بررسی ۵۰ جدایه اشریشیاکلی از ۵۰ مورد کلی باسیلوز جوجه گوشتی در نپال، بیشترین مقاومت در برابر آمپی‌سیلین (۹۸ درصد) و پس از آن داکسی‌سایکلین (۶۲ درصد)، جنتامایسین (۵۵ درصد)، سیپروفلوکساسین (۵۵ درصد) و کلیستین (۵۰ درصد) مشاهده کردند (۸). لی و همکاران با بررسی ۸۷ جدایه APEC از موارد سپتی سمی جوجه‌های گوشتی چین، میزان مقاومت در برابر آمپی‌سیلین، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، سفیکسیم و نئومایسین به‌ترتیب ۹۷/۷ درصد، ۹۴/۳ درصد، ۹۳/۱ درصد، ۵۸/۶ درصد و ۵۲/۹ درصد را نشان دادند (۹). در بررسی کیم و همکاران روی ۷۹ سویه APEC در کره بالاترین میزان مقاومت، مربوط به آمپی‌سیلین (۸۳/۵ درصد) بود و نالیدیکسیک‌اسید (۶۵/۸ درصد)، تتراسایکلین (۶۴/۶ درصد)، سیپروفلوکساسین (۴۶/۸ درصد)، سولفامتوکسازول+ تریمتوپریم (۴۳/۱ درصد)، سفیکسیم (۱۶/۵ درصد) و جنتامایسین (۱۲/۷ درصد) در رتبه‌های بعدی قرار داشتند (۱۰). تومرونگسوواناکیج و همکاران روی ۱۶۸ سویهAPEC جدا شده از گله‌های گوشتی تایلندی و استرالیایی مطالعاتی انجام دادند که مشخص گردید در جدایه‌های تایلندی، مقاومت در برابر تتراسایکلین، آمپی‌سیلین و سولفامتوکسازول + تریمتوپریم به‌ترتیب ۸۴/۵ درصد، ۷۰/۲ درصد و ۵۱/۲ درصد و در جدایه‌های استرالیایی مقاومت در برابر تتراسایکلین، آمپی‌سیلین و سولفامتوکسازول+تریمتوپریم به‌ترتیب ۳۶/۹ درصد، ۲۹/۸ درصد و ۱۷/۸ درصد بود (۱۱). وارگا و همکاران با بررسی جدایه‌های به‌دست‌آمده از جوجه‌های گوشتی در اونتاریو کانادا مقاومت در برابر تتراسایکلین، جنتامایسین، آمپی‌سیلین و سولفامتوکسازول+تریمتوپریم به‌ترتیب ۵۷ درصد، ۵۰ درصد، ۴۴ درصد و ۱۸ درصد مشاهده کردند (۱۲). در تحقیقی که خان و همکاران بر روی ۳۰ جدایه اشریشیاکلی طیور تجاری در بنگلادش انجام دادند، درصد مقاومت مربوط به اریترومایسین، پنی‌سیلین، تتراسایکلین، کلرآمفنیکل و جنتامایسین به‌ترتیب ۱۰۰، ۱۰۰، ۹۳/۳، ۵۳/۳ و ۲۳/۱ بود (۱۳). واکاوا و همکاران در سال ۲۰۱۵ با بررسی ۶۷ باکتری اشریشیاکلی جدا شده از گله‌های طیور تجاری مبتلا به کلی¬باسیلوز در نیجریه بیشترین مقاومت در برابر کلرآمفنیکل (۱۱/۹ درصد) و تتراسایکلین (۱۰/۵ درصد) و پس از آنها در برابر نئومایسین (۵/۹ درصد)، سولفامتوکسازول (۴/۵ درصد)، انروفلوکساسین (۳/۰ درصد)، آمپی‌سیلین (۲/۹ درصد) و اریترومایسین (۱/۵ درصد) مشاهده کردند (۱۴). ساگاریگلیا و همکاران با بررسی ۵۱ جدایه به‌دست‌آمده از ماکیان در ایتالیا بیشترین مقاومت را در برابر آمپی‌سیلین و نالیدیکسیک‌اسید و کمترین آن را در گروه سفالوسپورین‌ها گزارش کردند (۱۵). طبق بررسی‌های ابراهیم و همکاران روی ۲۶۹ سویهAPEC ایزوله شده از گله‌های گوشتی در شمال اردن، بیشترین مقاومت مربوط به سولفامتوکسازول+تریمتوپریم (۹۵/۵ درصد)، آموکسی‌سلین (۹۳/۳ درصد) و داکسی‌سایکلین (۹۲/۲ درصد) و کمترین آن به سفتریاکسون (۳/۹۳ درصد) و سفتازیدیم (۰ درصد) بود (۱۶). لانگاتا و همکاران در نایروبی کنیا بیشترین میزان مقاومت اشریشیاکلی را در برابر آمپی‌سیلین (۵۴/۵ درصد) و کوتریموکسازول (۲۶ درصد)، کمتر آن را در برابر سیپروفلوکساسین (۰ درصد) و جنتامایسین(۰ درصد) نشان دادند (۱۷).

در ایران نیز در خصوص مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری اشریشیاکلی طیور، تحقیقاتی فراوان انجام شده است که بیانگر بالا بودن میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مناطق مختلف کشور می‌باشد. عزیزپور و سعیدی در استان اردبیل بیشترین میزان مقاومت اشریشیاکلی جدا شده از گله‌های گوشتی مبتلا به کلی-باسیلوزیس را در برابر تتراسایکلین (۹۹/۴۳ درصد) و اریترومایسین (۹۷/۷۵ درصد) و کمترین آن را در برابر فلورفنیکل (۵۸/۹۹ درصد) و لینکواسپکتین (۳۶/۵۲ درصد) گزارش کردند (۱۸). مددی و همکاران در ارزیابی مقاومت

ضدمیکروبی جدایه‌های اشریشیاکلی در ارومیه در فاصله زمانی ۲۰۰۶ تا ۲۰۱۱ نشان دادند که بالاترین درصد مقاومت نسبت به تایلوزین، تتراسایکلین و اریترومایسین بود و بالاترین حساسیت به فلورفنیکل و لینکواسپکتین وجود داشت (۱۹). جعفری و همکاران در بررسی ۱۲۰جدایه اشریشیاکلی به‌دست‌آمده از گله‌های جوجه گوشتی سالم و گله‌های مبتلا به کلی‌سپتی‌سمی در اهواز بالاترین میزان مقاومت را نسبت به انروفلوکساسین (۹۰/۸ درصد) مشاهده کردند اما مقاومت در برابر فلورفنیکل (۸۳/۳ درصد)، داکسی‌سایکلین (۸۲/۵ درصد)، سولتریم (۷۴/۲ درصد) و لینکواسپکتین (۶۶/۷ درصد) در رتبه‌های بعدی بودند (۶). بخشی و همکاران در یزد نیز بالاترین میزان مقاومت را در برابر نالیدیکسیک اسید (۱۰۰ درصد) و سپروفلوکساسین (۸۶ درصد) و بالاترین حساسیت را در مقابل کلیستین (۱۰۰ درصد) و جنتامایسین (۹۳ درصد) گزارش کردند (۲). در بررسی سیفی و همکاران روی ۸۰ جدایه اشریشیاکلی از گله‌های گوشتی مازندران، بالاترین میزان مقاومت جدایه‌های اشریشیاکلی مربوط به دو آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین (۷۱/۲۵ درصد)، اریترومایسین (۶۵ درصد) و آمپی‌سیلین (۶۲/۵ درصد) بود (۲۰). جهانتیغ و همکاران در استان سیستان و بلوچستان، بیشترین میزان مقاومت سویه‌های اشریشیاکلی جدا شده از گله‌های گوشتی مبتلا به کلی-باسیلوزیس را در برابر تتراسایکلین (۹۵/۰ درصد)، سپروفلوکساسین (۸۸/۳ درصد)، کوتریموکسازول (۸۶/۷ درصد)، لینکواسپکتین (۵۲/۵ درصد) و جنتامایسین (۲۱/۷ درصد) نشان دادند (۲۱). حسنی و همکاران با بررسی ۷۱ جدایه از جوجه‌های گوشتی مبتلا به کلی‌باسیلوز، درصد مقاومت به داکسی‌سایکلین، دانوفلوکساسین، انروفلوکساسین، سولتریم، فلورفنیکل کلیستین و نئومایسین را به‌ترتیب ۶۶/۱ ، ۶۰/۷، ۵۵، ۵۰/۸، ۴۱/۷، ۱۸ و ۱۶/۱ گزارش کردند (۲۲).

در مطالعه حاضر نیز میزان مقاومت به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌های با مصرف رایج در صنعت طیور (تایلوزین، تتراسایکلین، اکسی‌تتراسایکلین، کلرتتراسایکلین، داکسی‌سایکلین، سولفادیازین+تریمتوپریم، فلومکوئین، انروفلوکساسین، نئومایسین و نالیدیکسیک‌اسید) بالا می‌باشد که ۵۰ درصد از ترکیبات ضدباکتریایی موردبررسی را تشکیل می‌دهند. ۱۰۰ درصد از اشریشیاکلی‌های جدا شده موردبررسی نسبت به سه آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین، کلرتتراسایکلین و نالیدیکسیک‌اسید فوق‌مقاوم بودند که دلایل عمده آن به استفاده غیراصولی و طولانی‌مدت این ترکیبات به‌ویژه گروه تتراسایکلین‌ها و ماکرولیدها در قالب برنامه‌های درمانی و تحت درمانی و محرک رشد در مزارع پرورش طیور برمی‌گردد. عوامل دیگری نظیر وجود ژن‌های مقاومت در برابر داروهای ضدمیکروبی و همچنین توانایی تبادل ژن‌های مقاومت و فعالیت آنها در میزبان‌های مختلف، در بروز مقاومت دارویی می‌توانند نقش داشته باشند (۲۳). سه آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین، کلرتتراسایکلین و نالیدیکسیک‌اسید نمی‌توانند در درمان موارد بیماری کلی‌باسیلوز نقش مؤثری داشته باشند (۷). در این مطالعه، مقاومت جدایه‌های موردبررسی در برابر فلوروکینولون‌ها به‌غیر از سپروفلوکساسین و دانوفلوکساسین تقریباً مثل تتراسایکلین‌ها و ماکرولیدها دیده شد. درصد مقاومت پایین نسبت به لینکواسپکتین و جنتامایسین و همچنین گروه سفالوزپورین‌ها در مقایسه با داروهای موردبررسی در این مطالعه ناشی از مصرف کردن یا استفاده محدود (به دلایل ترکیبی بودن ساختار و هزینه بالای داروها یا از نظر زمانی در مقایسه با داروهایی که زودتر وارد بازار مصرف شدند، دیرتر به بازار مصرفی معرفی شدند) این ترکیبات دارویی در عرصه‌های پیشگیری و درمان گله‌های تجاری طیور است. بنابراین، در حال حاضر این داروها می‌توانند در درمان کلی‌باسیلوز طیور مؤثر باشند. با توجه به جدید بودن برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها همچون سیپروفلوکساسین، پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین در سال‌های اخیر و مقایسه آنها با نتایج مطالعه حاضر مشخص گردید که درصد مقاومت این داروها روند صعودی داشته و این روند صعودی مقاومت به داروها در کشور می‌تواند بهداشت انسانی را تحت تأثیر قرار دهد و کارایی آنها را در درمان بیماری‌های انسانی کاهش دهد. یافته‌های مطالعه حاضر از نظر فراوانی مقاومت دارویی تا حدودی با نتایج برخی گزارش‌ها (۲ و ۱۹ و ۲۰) در سایر مناطق جعرافیایی کشور هم‌خوانی دارد اما با یافته‌های برخی از محققان (۶ و ۱۱) متفاوت می‌باشد. به نظر می‌رسد این اختلاف می‌تواند به علت تفاوت در نوع، میزان و تداوم مصرف ترکیبات ضدمیکروبی و تفاوت زمانی و مکانی و تفاوت در جدایه‌های مورد بررسی باشد.

ایجاد مقاومت‌های چندگانه دارویی به ترکیبات آنتی‌بیوتیکی به‌عنوان یک مشکل اساسی و پدیده‌ای شایع در بیشتر سویه‌های بیماری‌زای اشریشیاکلی طیور دیده می‌شود که در آن جدایه‌های باکتری حداقل به سه نوع آنتی‌بیوتیک مقاوم می‌باشند (۳ و ۲۰)؛ به‌طوری‌که افزایش قابل‌توجه در بروز مقاومت چندگانه جدایه‌های اشریشیاکلی به ترکیبات آنتی‌بیوتیکی در دهه‌های اخیر در بسیاری از کشورهای جهان از جمله ایران (۷ و ۱۸ و ۲۰)، پاکستان (۳)، نپال (۴)، چین (۱۰) و نیجریه (۱۴) گزارش شده است. در این مطالعه نیز طیف

و میزان مقاومت جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها گسترده و بالا بود؛ به نحوی که تمامی ۱۱۱ جدایه موردبررسی به سه نوع آنتی‌بیوتیک و ۱۰۰ جدایه (بیش از ۹۰ درصد) به پنج نوع آنتی‌بیوتیک از مجموع ۲۰ ترکیب ضدمیکروبی مورد آزمایش مقاوم بودند که عمدتاً به‌دلیل استفاده بی‌رویه و نادرست این ترکیبات دارویی بدون ارزیابی دقیق از میزان حساسیت باکتریایی در گله‌های پرورشی طیور می‌باشد. زنگ خطری برای انتقال ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک به انسان محسوب می‌شود. این موضوع در کشورهای درحال‌توسعه که مدت‌زمان پرهیز از مصرف گوشت و سایر فراورده‌های دامی تحت درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها رعایت نمی‌شود، بسیار جدی می‌باشد. این یافته مطالعه حاضر (در خصوص اینکه جدایه‌های موردبررسی به بیش از سه نوع آنتی‌بیوتیک مقاوم داشتند) با مطالعات جعفری و همکاران، کیم و همکاران و جهانتیغ و همکاران، هم‌راستا است (۶ و ۱۰ و ۲۱).

میزان تشابه الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های اشریشیاکلی گله‌ها طی سال‌های اخیر موردتوجه پژوهشگران قرار گرفته است. در مطالعه حاضر ۸۱/۸ درصد مرغداری‌ها الگوی مقاومت یکسانی داشتند و ۱۸/۲ درصد مرغداری‌ها نیز تشابهی در الگوی مقاومت دارویی جدایه‌های خود نداشتند. در این مطالعه نیز در ۹/۱ درصد از مرغداری‌های موردبررسی، هر پنج جدایه اشریشیاکلی از یک مرغداری دارای الگوی مقاومت دارویی مشابهی بودند. با توجه به تنوع فراوانی الگوی مقاومت دارویی جدایه‌ها در مزارع موردبررسی در این مطالعه، آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی (آنتی‌بیوگرام) باید مستقلاً برای هر منطقه و یا حتی هر واحد مرغداری پیش از تجویز آنتی‌بیوتیک‌ها انجام شود تا داروی مناسب و مؤثر برای درمان کلی‌باسیلوز انتخاب گردد.

نتایج این بررسی نشان داد که طیف و میزان مقاومت جدایه‌های اشریشیاکلی موردبررسی نسبت به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌های با مصرف رایج در صنعت طیور ایران، گسترده و بالا می‌باشد که این موضوع می‌تواند ناشی از مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در مزارع طیور باشد؛ بنابراین لزوم اجرای طرح پایش ملی برای مقاومت ضدمیکروبی ضروری به نظر می‌رسد، تا با مصرف اصولی داروها در مزارع پرورش طیور به همراه ارتقای سطح بهداشتی و رعایت نکات امنیت زیستی از گسترش باکتری‌های مقاوم و در نتیجه افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها جلوگیری شود.

تشکر و قدردانی

از کلیه افرادی که در اجرای این پژوهش همکاری داشتند، تقدیر و تشکر می‌شود.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تضاد منافعی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

[1]. Nolan LK,Vaillancourt JP, Barbieri NL, Logue CM. Colibacillosis. In: Swayne DE, Boulianne M, Logue CM, Mcdougald L, Nair V, Suarez DL, et al. Diseases of Poultry. 14th ed. Iowa, John Wiley and Sons: USA; 2019; pp.770-830.

[2]. Bakhshi M, Fatahi Bafghi M, Astani A, Ranjbar VR, Zandi H, Vakili M. Antimicrobial Resistance Pattern of Escherichia coli Isolated from Chickens with Colibacillosis in Yazd, Iran. Journal of Food Quality and Hazards Control. 2017; 4: 74-78.

[3]. Awad A, Arafat N, Elhadidy M. Genetic elements associated with antimicrobial resistance among avian pathogenic Escherichia coli. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials . 2016; 15: 59.

[4]. Azam M, Mohsin M, Rahman, SU, Saleemi MK. Virulence-associated genes and antimicrobial resistance among avian pathogenic Escherichia coli from colibacillosis affected broilers in Pakistan. Tropical Animal Health and Production. 2019; 51(5):1259-1265.

[5]. Azizpour A. A Study of Salmonella Spp. Contamination Rate of Eggs and Assessment of their Antibiotic Resistance Pattern in Ardabil, Iran. Qom University of Medical Sciences Journal. 2020; 14(1): 38-50. (Persian)

[6]. Jafari R, Ghanbarpour R, Ghorbanpour Najaf Abadi M, Mayahi M, Amani A. Determination of antibiotic resistance patterns in Escherichia coli isolatedfrom healthy and colisepticemic broiler chickens in Ahvaz. Journal of Veterinary Microbiology. 2015; 11 (2): 109-117. (Persian)

[7]. Azizpour A. A survy of Escherichia coli Contamination in eggs of Ardabil and determination their Antibiotic Resistanc. Veterinary Researches and Biological Products. 2021; 4 (4): 112-120. (Persian)

[8]. Subedi M, Luitel H, Devkota B, Bhattarai RK, Phuyal S, Panthi P, et al. Antibiotic resistance pattern and virulence genes content in avian pathogenic Escherichia coli (APEC) from broiler chickens in Chitwan, Nepal. BMC Veterinary Research. 2019; 14:113.

[9]. Li Y, Chen L, Wu X, Huo S. Molecular characterization of multidrug-resistant avian pathogenic Escherichia coli isolated from septicemic broilers. Poultry Science. 2015; 94 (4):601–611.

[10]. Kim YB, Yoon MY, Ha JS, Seo KW, Noh EB, Son SH, et al. Molecular characterization of avian pathogenic Escherichia coli from broiler chickens with colibacillosis. Poultry Science. 2020; 99 (2): 1088-1095.

[11].Thomrongsuwannakij T, Blackall PJ, Djordjevic S P, Cummins M L, Chansiripornchai N. A comparison of virulence genes, antimicrobial resistance profiles and genetic diversity of avian pathogenic Escherichia coli (APEC) isolates from broilers and broiler breeders in Thailand and Australia. Avian Pathology. 2020; 49 (5): 457-466.

[12].Varga C, Brash ML, Slavic D, Boerlin P, Ouckama R, Weis A, e

t al. Evaluating virulence-associated genes and antimicrobial resistance of avian pathogenic Escherichia coli isolates from broiler and broiler breeder chickens in Ontario, Canada. Avian Diseases. 2018; 62 (3): 291–299..

[13]. Khan MS, Akhtar N, Haque M.E, Barua A, Chowdhury T, Mullick R, et al. Isolation and identifi cation of non-plasmid multidrug resistant Escherichia coli from poultry wastes in chittagong region, bangladesh. Journal of Bacteriology and Parasitology. 2014; 5:1-7.

[14]. Wakawa AM, Mohammed FI, Mamman HP. Isolation and Antibiotic Susceptibility of Escherichia Coli and Salmonella Gallinarum Isolated from Rats in Commercial Poultry Farms with Recurrent Colibacillosis and Fowl Typhoid Cases in Zaria, Nigeria. Journal of Advanced Veterinary Research. 2015; 5(11): 1147-1152.

[15]. Sgariglia E, Mandolini NA, Napoleoni M, Medici L, Fraticelli R, Conquista M, et al. Antibiotic resistance pattern and virulence genes in avian pathogenic Escherichia coli (APEC) from different breeding systems. Veterinary Italiana. 2019; 55(1): 27-33.

[16]. Ibrahim RA, Cryer TL, Lafi SHQ, Basha E, Good L, Tarazi.YH. Identification of Escherichia coli from broiler chickens in Jordan, their antimicrobial resistance, gene characterization and the associated risk factors. BMC Veterinary Research. 2019; 15:159.

[17]. Langata1 LM, Maingi JM, Musonye HA, Kiiru J, Nyamache AK. Antimicrobial resistance genes in Salmonella and Escherichia coli isolates from chicken droppings in Nairobi, Kenya. BMC Research Notes. 2019; 12: 22.

[18]. Azizpour A, Saeidi Namin V. Investigation of antibiotic resistance patterns in Escherichia coli isolated from broiler chickens with colibacillosis to ten antibacterial agents commonly used in the Iranian poultry industry. Journal of Comparative Pathobiology Iran. 2017; 14 (4): 2345- 2352. (Persian)

[19]. Madadi MS, Ghaniei G, Zare P, Isakakroudi N. Antimicrobial susceptibility pattern of Escherichia coli isolates to antibacterial agents in urmia, Iran. International Journal of Basic and Applied Sciences. 2014; 3 (10): 695-697.

[20]. Seifi S, Khoshbakhat R, Atabak AR. Antibiotic susceptibility, serotyping and pathogenicity evaluation of avian Escherichia coli isolated from broilers in northern Iran. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. 2015; 18 (2): 173–179.

[21]. Jahantigh M, Samadi K, Dizaji RE, Salari S. Antimicrobial resistance and prevalence of tetracycline resistance genes in Escherichia coli isolated from lesions of colibacillosis in broiler chickens in Sistan, Iran. BMC Veterinary Research. 2020; 16:267.

[22]. Hasani B, Banani M, Nouri A, Goudarzi H, Mahmoudzadeh Akhijahani, M. Detection of three virulence genes and antibiotic resistance profiles in Escherichia coli isolates from commercial broilers with colibacillosis in Tabriz, Iran. Archives of Razi Institute. 2017; 72 (1): 1-8.

[23]. Azizpour A. A Survey on prevalence of Salmonella enteritidis and Salmonella typhimurium serotypes in broiler flocks of Ardabil province and determination of their antibiotics resistance to five antibacterial agents widely used in the Iranian medical field. Journal of Health. 2018; 9(2): 143-151. (Persian)