Animal health and infectious diseases
Volume 1, Issue 2
Journal homepage: https://jahid.lu.ac.ir/

Phenotypic study of the prevalence of antibiotic resistance of *Escherichia coli* bacteria isolated from healthy camel feces

Sara Salari [1], Mohadeseh Amiri [2], Hamidreza Farzin [3], Majid Jamshidian [4]

1. Damghan Faculty of Veterinary Medicine
2. PhD student of Bacteriology,Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman. Iran/ Mashhad Branch,Razi Extension Organization (AREEO) Mashhad,Iran.
3. Mashhad Branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agriculturel Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad,Iran.
4. Mashhad Branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran.

ABSTRACT

Background and Aim: The bacterium *Escherichia coli*, which is naturally isolated from the human and animal digestive tract, is considered one of the most important microbiotas (natural flora) members of the device, and its pathogenic form causes very important complications in humans and animals. Pathogenic strains are divided into two groups: intestinal and extracorporeal pathogens. The aim of this study is to determine the resistance and sensitivity of *Escherichia coli* bacteria isolated from healthy camels.

Materials and Methods: The study collected 26 swabs of healthy camels from the city of Mashhad. Anal swabs were cultivated on the McConkey agar culture medium, and the separations obtained were confirmed by biochemical tests. The resistance and sensitivity of the separations were examined by the disk diffusion method.

Results: The results of the study showed that the highest resistance of the studied separations related to the antibiotic penicillin was 46.88%, followed by the antibiotics streptomycin (38.15%), amoxicillin (53.11%) and gentamycin (69.7%).

Conclusion: The results of this study show that the agar diffusion disc method can be used as a primary screening method to determine the sensitivity and antibiotic resistance of Escherichia coli bacteria compared to various antibiotics.

Keywords: *Escherichia coli*, natural flora, antibiotic resistance, camel

Received: 07.04.2024 **Accept: 12.06.2024** **Final Edit: 19.06.2024** **Online Publish: 28.06.2024**

Corresponding Information: Majid Jamshidian, Mashhad Branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran
Email: m.jamshidian@rvsri.ac.ir

Cite this article: Salari, Sara; Amiri, Mohadeseh; Farzin, Hamidreza; Jamshidian, Majid. (2024). Phenotypic study of the prevalence of antibiotic resistance of Escherichia coli bacteria isolated from healthy camel feces. *Animal health and infectious diseases*. 2(1), 32-37.

بهداشت و بیماری های عفونی دام
شماره ۱، دوره ۲
صفحه مجله: https://jahid.lu.ac.ir/

بررسی فنوتیپی میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری *اشرشیاکلی* جداشده از مدفوع شترهای سالم مشهد

سارا سالاری [۱]، محدثه امیری [۲]، حمیدرضا فرزین [۳]، مجید جمشیدیان مجاور [۴]

۱. دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشگاه آزاد دامغان، ایران.
۲. دانشجوی دکتری تخصصی باکتری شناسی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان-ایران./ بخش تحقیقات مؤسسهٔ تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبهٔ مشهد، ایران.
۳. استادیار موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبه مشهد، ایران.
۴. استادیار مؤسسهٔ تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبهٔ مشهد، ایران

چکیده

زمینه و هدف: باکتری *اشریشیاکلی*، که به‌طور طبیعی از د ستگاه گوارش انسان و حیوان جداسازی می‌شود، از مهم‌ترین اعضای میکروبیوتا (فلور طبیعی) این دستگاه محسوب شده و فرم بیماری‌زای آن ایجادکنندهٔ عوارض بسیار مهمی در انسان و حیوان است سویه‌های بیماری‌زا به دو گروه پاتوژن‌های روده‌ای و خارج‌روده‌ای تقسیم می‌شوند. هدف این مطالعه تعیین میزان مقاومت و حساسیت باکتری *اشریشیاکلی* جداشده از شترهای سالم است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۲۶ سوآب معقدی از شترهای سالم شهرستان مشهد جمع‌آوری شد. سواب‌های مقعدی برروی محیط کشت مک کانکی آگار کشت داده شدند و جدایه‌های به‌دست‌آمده به‌وسیلهٔ تست‌های بیوشیمیایی تأیید شد. بررسی میزان مقاومت و حساسیت جدایه‌ها با روش دیسک دیفیوژن انجام شد.

یافته‌ها: نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه نشان داد که بیشترین میزان مقاومت جدایه‌های مطالعه‌شده مربوط به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین به میزان ۸۸/۴۶ درصد بوده و آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین (۱۵/۳۸درصد)، آموکسی‌سیلین (۱۱/۵۳درصد) و جنتامایسین (۷/۶۹ درصد) بعد از آن قرار داشتند.

نتیجه گیری: نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که روش دیسک دیفیوژن آگار می‌تواند به‌عنوان روش غربال‌گری اولیه‌ای برای تعیین حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری *اشریشیاکلی* در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های گوناگون استفاده شود.

کلیدواژه‌ها: *اشریشیاکلی*، فلور طبیعی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، شتر

دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۹ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۳ ویرایش نهایی: ۱۴۰۳/۰۳/۳۰ انتشار آنلاین:۱۴۰۳/۰۴/۰۸

اطلاعات نویسنده مسئول: مجید جمشیدیان، استادیار مؤسسهٔ تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شعبهٔ مشهد، ایران

Email: m.jamshidian@rvsri.ac.ir

استناد: سالاری، سارا؛ امیری، محدثه؛ فرزین، حمیدرضا؛ جمشیدیان مجاور، مجید. (۱۴۰۳). بررسی فنوتیپی میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری اشرشیاکلی جداشده از مدفوع شترهای سالم مشهد. بهداشت و بیماری های عفونی دام، ۲ (۱)، ۳۷-۳۲.

مقدمه

اشریشیاکلی باکتری گرم منفی و میله‌ای شکل و جزء خانوادهٔ *انتروباکتریاسه* است که به‌طور شایع در بخش‌های تحتانی رودهٔ حیوانات خون گرم یافت می‌شود. در بین حیوانات نشخوارکنندگان به‌ویژه گاو، گوسفند مهم‌ترین مخزن این باکتری‌اند و نقش مهمی در اپیدمیولوژی عفونت‌های انسانی ایفا می‌کنند. انسان، بز، خوک، بوقلمون، جوجه و غاز نیز از سایر مخازن مهم این باکتری هستند (۱). مخاط ناحیهٔ رکتوآنال شرایط مطلوب و خوبی برای کلونیزه شدن و تکثیر باکتری فراهم می‌سازند، بنابراین مدفوع از مهم‌ترین منابع پخش باکتری بالا در محیط و ایجاد عفونت‌های غذازاد محسوب می‌شود (۲). *اشرشیاکلی* ممکن است عفونت‌های فرصت‌طلبی را در مکان‌های خارج‌روده‌ای مانند غدد پستانی و مجاری ادراری ایجاد کند. همچنین برخی سویه‌ها نیز با داشتن یا کسب عوامل ژنتیکی حدت، جزو بیماری‌زاهای اصلی به‌شمار می‌آید (۳).

مقاومت آنتی‌بیوتیکی به این معنا است که میکروب‌های بیماری‌زایی که برای مبارزه با آن‌ها از آنتی‌بیوتیک استفاده می‌شود، نسبت‌به یک یا بیش‌از یک آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دهند و نسل‌های جدیدی را به‌وجود بیاورند که دیگر قادر به مبارزه با آن‌ها نیستیم. مقاومت آنتی‌بیوتیکی معمولاً ازطریق موتاسیون یا کسب ژن‌های مقاومت از باکتری‌های دیگر به‌وجود می‌آید (۴). مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی یکی از چالش‌های مهم در پیشگیری، درمان و کنترل بیماری‌های عفونی است (۵). مقاومت‌های دارویی که دربارهٔ آنتی‌بیوتیک‌ها مطرح است، منجربه کاهش تأثیر بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج برروی میکروارگانیسم‌ها می‌شود (۶). از مهم‌ترین دلایل بروز این مشکل، استفادهٔ بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت پرورش دام، طیور و در عرصهٔ پزشکی است (۷).

مقاومت می‌تواند در میان باکتری‌های فلور طبیعی (میکروبیوتا) انسان و حیوان سالم رخ دهد. استفادهٔ مداوم از آنتی‌بیوتیک، موجب مرگ باکتری‌های حساس فلور طبیعی بدن می‌شود. در چنین شرایطی سویه‌های دارای ژن‌های مقاومت، به فضای بیشتری برای رشد و تکثیر دست خواهند یافت و بعد از مدتی جمعیت غالب میکروبیوتا را تشکیل خواهد داد (۸).

مواد و روش کار

در این مطالعه ۲۶ سوآب مقعدی شترهای سالم جمع‌آوری شد. پس از گرفتن نمونه‌ها، بلافاصله در محیط انتقالی آمیس ترنسپورت (مرک، آلمان) قرار داده شد. پس ازانتقال نمونه‌ها در کنار یخ در کمتر از ۲۴ ساعت به آزمایشگاه، نمونه‌ها به‌طور مستقیم در محیط مک کانکی آگار (مرک، آلمان) کشت داده شدند و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. برای تأیید، جدایه‌ها آزمایش‌های بیوشیمیایی (تست اوره، سیمون سیترات، TSI و SIM) (مرک، آلمان) انجام گرفت.

تعیین میزان حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌های مطالعه‌شده

برای تعیین میزان حساسیت و مقاومت سویه‌های *اشریشیاکلی* جداشده از ۲۶ نفر شتر در برابر آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، جنتامایسین، استرپتومایسین و آموکسی‌سیلین (پادتن طب، ایران) آنتی‌بیوگرام به‌روش، یعنی دیسک دیفیوژن آگار انجام شد. در این روش، که روش معمولی و رایج است، باکتری مدنظر را برروی محیط کشت اختصاصی کشت داده و پس از طی مدت زمان انکوباسیون یک کلنی از هر جدایه را انتخاب کرده و به محیط مایع مولر هینتون براث (مرک _آلمان) انتقال داده و پس از رسیدن به کدورت نیم مک فارلند با استفاده از سوآب استریل از محیط مایع برداشته و به‌صورت چمنی برروی محیط مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) کشت داده شدند و سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیک موردمطالعه را با فاصلهٔ مناسب با کمک پنس استریل برروی محیط قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه مقاومت یا حساسیت را براساس اندازه‌گیری منطقهٔ عدم رشد بررسی کرده و نتایج آن با کمک جدول CLSI بررسی شد (۹).

نتایج

نتایج میزان حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های موردمطالعه

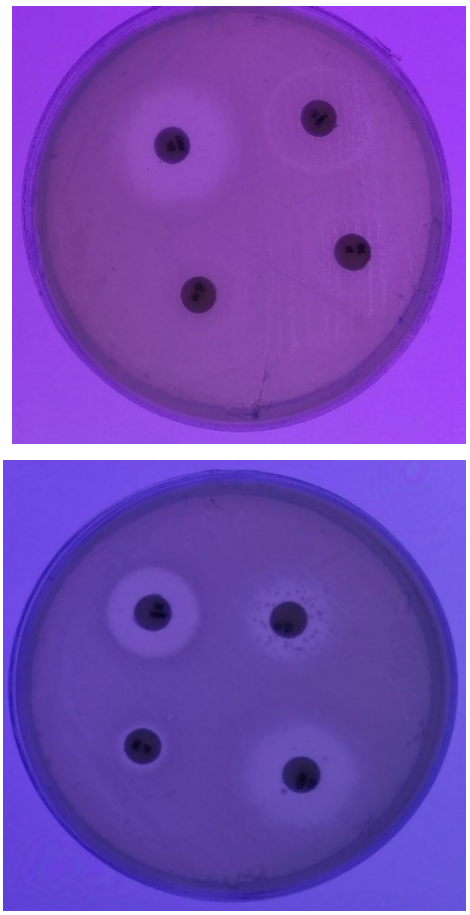
نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان دادکه بیشترین میزان مقاومت جدایه‌ها در مقایسه با آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین به میزان ۸۸/۴۶ درصد بوده و آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین (۱۵/۳۸درصد)، آموکسی‌سیلین (۱۱/۵۳درصد) و جنتامایسین (۷/۶۹ درصد) بعد از آن قرار داشتند. همچنین در این مطالعه ۵ پروفایل مقاومت مشاهده شد.

آنتی‌بیوتیک	حساس	نیمه‌حساس	مقاوم
پنی‌سیلین	۳/۸۴	۷/۶۹	۸۸/۴۶
جنتامایسین	۸۴/۶۱	۷/۶۹	۷/۶۹
آموکسی‌سیلین	۳۸/۴۶	۵۰	۱۱/۵۳
استرپتومایسین	۵۳/۶۹	۲۶/۹۲	۱۵/۳۸

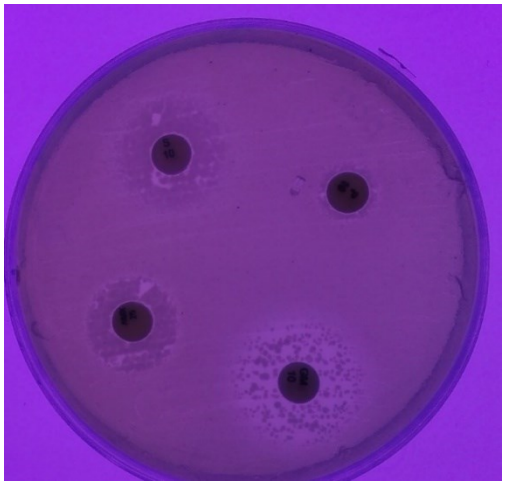
جدول ۱) فراوانی مقاومت و حساسیت جدایه‌ها در برابر آنتی بیوتیک‌های موردمطالعه

پروفایل مقاومت	درصد
P,S	۷/۶۹
P	۶۹/۲۳
AMX, P	۷/۶۹
S	۷/۶۹
AMX, GM, P, S	۳/۸۴

جدول ۲) پروفایل مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های موردمطالعه



تصویر ۱) میزان حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های موردمطالعه



تصویر ۲) میزان حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های موردمطالعه

بحث

آگاهی از الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، نقش مهمی در انتخاب بهترین آنتی‌بیوتیک برای درمان ایفا می‌کند (۱۰). گسترش روزافزون مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی باعث بروز مشکلاتی در جهت درمان شده است. بررسی‌های ژنوتیپی نشان می‌دهد برخی از سویه‌های *اشریشیاکلی* در برابر یک‌سری از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند و از آنجایی که به طرق مختلف مانند پلاسمیدها، ترانسپوزون‌ها و اینتگرون‌ها قادر به انتقال عوامل ژنتیکی مقاومت به سویه‌های دیگرند، شاهد افزایش چشمگیر این مقاومت‌ها هستیم (۱۱و۱۲).

در مطالعهٔ حاضر از میان ۲۶ سوآب مقعدی از ۲۶ نفر شتر سالم جمع‌آوری شد. میزان مقاومت و حساسیت ایزوله‌ها نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین، آموکسی‌سیلین، جنتامایسین و پنی‌سیلین بررسی شد؛ نتایج نشان داد که جدایه‌ها نسبت‌به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین با میزان فراوانی ۸۸/۴۶درصد بیشترین مقاومت را داشته و آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین (۱۵/۳۸درصد)، آموکسی‌سیلین (۱۱/۵۳درصد) و جنتامایسین (۷/۶۹ درصد) بعد از آن قرار داشتند.

بنیادیان و همکاران در سال ۱۳۹۵ در شهرکرد به بررسی میزان مقاومت و حساسیت *اشریشیاکلی*‌های به‌دست‌آمده از سوآب‌های مقعدی گاوهای سالم گاوداری‌های شهرکرد نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین، آمپی‌سیلین، جنتامایسین، سیپروفلوکساسین و سفتاکسیم پرداختند. نتایج نشان داد که بیشترین مقاومت جدایه‌ها نسبت‌به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین به میزان ۸۷/۱ درصد بوده است و آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۵۱/۶۲ درصد)، سفتاکسیم (۴۸/۳۸

درصد)، جنتامایسین (۲۵/۸۱ درصد) و سیپروفلوکساسین (۳/۲۲ درصد) بعد از آن قرار گرفتند (۱۳).

بهزادیان‌نژاد و همکاران در مطالعهٔ خود در سال ۲۰۱۱ به بررسی میزان مقاومت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی *اشریشیاکلی*‌های جداشده از مدفوع گاوهای سالم پرداختند. در این مطالعه میزان حساسیت و مقاومت جدایه‌ها نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، اریترومایسین، پلی میکسین–ب، تتراساکلین و جنتامایسین سنجیده شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان مقاومت جدایه‌ها نسبت‌به آنتی‌بیوتیک اریترومایسین (۳۸ درصد) بوده و آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۲۹ درصد)، تتراساکلین (۲۶ درصد)، جنتامایسین (۶ درصد) و پلی‌میکسین–ب (۲ درصد) بعد از آن قرار گرفتند (۱۴).

نادری و همکاران در سال ۲۰۱۶ به بررسی میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *اشریشیاکلی* به‌دست‌آمده از گوساله‌های اسهالی گاوداری‌های کرمان پرداختند. در این پژوهش میزان شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم/کلاولانیک اسید، سفتازیدیم/کلاولانیک اسید، پنی‌سیلین، انروفلوکساسین، جنتامایسین، استرپتومایسین، اسپکتینومایسین، کانامایسین، تتراسیکلین، سولفامتازین، فلورفنیکل، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول بررسی شد. براساس نتایج به‌دست‌آمده بیشترین مقاومت جدایه‌ها نسبت‌به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین (۷۳/۵ درصد) بوده و کمترین مقاومت جدایه‌ها مربوط به آنتی‌بیوتیک کانامایسین (۵۳/۵ درصد) بوده است (۱۵).

نتیجه‌گیری

امروزه به‌دلیل مصرف بی‌رویه و خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها و افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها و به‌وجود آمدن ژن‌های خاص و جهش‌های خاص در باکتری‌ها، انجام آزمایش‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در آزمایشگاه لازم است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان از کارکنان آزمایشگاه بخش تحقیقات مؤسسهٔ «تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی» شعبهٔ شمال شرق کشور که از هیچ کوششی در راستای انجام این پژوهش دریغ نکردند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تضاد منافع

در این تحقیق، هیچ‌گونه تضاد منافع وجود ندارد. تمامی محققان و اعضای تیم تحقیق با رعایت اصول اخلاقی و حرفه‌ای به انجام این پژوهش پرداخته‌اند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی در خصوص این مقاله با یکدیگر ندارند.

منابع

1. Synge BA. Veterinary significance of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2000;16(8):725-32.
2. Sheng H, Davis MA, Knecht HJ, Hovde CJ. Rectal administration of *Escherichia coli* O157: H7: novel model for colonization of ruminants. Applied and environmental microbiology. 2004;70(8):4588-95.
3. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. Nature reviews microbiology. 2004;2(2):123-40.
4. Jamshidian-Mojaver M, Amiri M, Farzin H. Phenotypic and genotypic evaluation of fluoroquinolones resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolates from urinary tract infections in Bojnourd city. medical journal of mashhad university of medical sciences. 2020 Jul 22;63(3):2335-40.
5. Amiri M, Jajarmi M, Ghanbarpour R. Prevalence of resistance to quinolone and fluoroquinolone antibiotics and screening of qnr genes among *Escherichia coli* isolates from urinary tract infection. Int J Enteric Pathog. 2017;5(4):100-5.
6. Farzi S, Ranjbar R, Niakan M, Ahmadi MH. Molecular characterization of antibiotic resistance associated with TEM and CTX-M ESBL in uropathogenic *E. coli* strains isolated from outpatients. Iranian Journal of Pathology. 2021;16(4):386.
7. Ghanbarpour R, Daneshdoost S. Identification of shiga toxin and intimin coding genes in *Escherichia coli* isolates from pigeons (Columba livia) in relation to phylotypes and antibiotic resistance patterns. Tropical animal health and production. 2012;44:307-12.
8. Girardeau JP, Dalmasso A, Bertin Y, Ducrot C, Bord S, Livrelli V, Vernozy-Rozand C, Martin C. Association of virulence genotype with phylogenetic background in comparison to different seropathotypes of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates. Journal of clinical microbiology. 2005;43(12):6098-107.

9. Wayne PA. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.
10. Trabulsi LR, Keller R, Gomes TA. 10.321/eid0805. Typical and Atypical Enteropathogenic *Escherichia coli*. Emerging infectious diseases. 2002;8(5):508.
11. Davis MA, Besser TE, Orfe LH, Baker KN, Lanier AS, Broschat SL, New D, Call DR. Genotypic-phenotypic discrepancies between antibiotic resistance characteristics of *Escherichia coli* isolates from calves in management settings with high and low antibiotic use. Applied and environmental microbiology. 2011 15;77(10):3293-9.
12. Lee JC, Oh JY, Cho JW, Park JC, Kim JM, Seol SY, Cho DT. The prevalence of trimethoprim-resistance-conferring dihydrofolate reductase genes in urinary isolates of *Escherichia coli* in Korea. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001 1;47(5):599-604.
13. Bonyadian M, Moshtaghi H, Behroozi P. Occurrence of verotoxigenic *E. coli* in cow feces and antimicrobial resistance of the isolates in cattle farms in Shahrekord area. Biological Journal of Microorganism. 2017 23;6(23):75-84.
14. Hasona IF, Helmy SM, El Gamal AM. Prevalence, virulence factors, and antimicrobial resistance profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from broiler chickens in Egypt. InVeterinary Research Forum 2023 (Vol. 14, No. 3, p. 131). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
15. Naderi Z, Ghanbarpour R, Sami M. Antimicrobial resistance characteristics and phylogenetic groups of *Escherichia coli* isolated from diarrheic calves in southeast of Iran. Int J Enteric Pathog. 2016;4(4):1-7.