Nova Biologica Reperta 7(1): 46-54 (2020)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.7.1.46

یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۷، شماره ۱، صفحات ۴۶ الی ۵۴ (۱۳۹۹)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

مقاومت چندگانه، اشرشیا کلی تولیدکننده بتالاکتامازهای طیف گسترده *ctx-m*، *per* و *veb* جدا شده از فراورده‌های لبنی خام

پوریا خداوندی[۱]، فهیمه علیزاده[۲] و علیرضا خداوندی[۳]

[۱]گروه علوم دامی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران؛ [۲]گروه میکروبیولوژی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران؛ [۳]گروه زیست شناسی، واحد گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی، گچساران، ایران

مسئول مکاتبات: علیرضا خداوندی، khodavandi@iaug.ac.ir

چکیده. شیوع باکتری‌های تولید کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده یکی از مسائل مهم در بهداشت عمومی است. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی فنوتیپی و ژنوتیپی جدایه‌های اشرشیا کلی دارای بتالاکتاماز طیف گسترده *ctx-m*، *per* و *veb* از فراورده‌های لبنی خام بود. برای این منظور، اشرشیا کلی از ۲۴۷ نمونه فراورده‌های لبنی خام (شیر و پنیر) از سال ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۶در یاسوج جداسازی و شناسایی شد. حساسیت آنتی‌بیوتیک این جدایه‌ها، تولید بتالاکتامازهای طیف گسترده و همچنین حضور ژن‌های *ctx-m*، *per* و *veb* در آن‌ها بررسی شد. از ۲۴۷ نمونه فراورده‌های لبنی خام ۲۰۰، جدایه اشرشیا کلی شناسایی شد. بیش‌ترین مقاومت مشاهده شده مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین (۹۶/۵ درصد) و آمپی‌سیلین (۹۵/۵ درصد) و کم‌ترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم (۱۲/۵ درصد) بود، همچنین مقاومت چندگانه به چهار یا تعداد بیش‌تری از آنتی‌بیوتیک‌ها مشاهده شد. تعداد ۸۶ جدایه (۴۳ درصد) اشرشیا کلی تولیدکننده آنزیم بتالاکتاماز طیف گسترده شناسایی شد و ژن‌های *ctx-m*، *per* و *veb* به ترتیب در ۸۲، ۰ و ۷ جدایه اشرشیا کلی قابل شناسایی بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که فراورده‌های لبنی خام ممکن است مخزن‌هایی برای انتشار آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام باشند و ژن‌های مقاومت آن‌ها می‌توانند از طریق زنجیره غذایی به انسان منتقل شوند.

واژه‌های کلیدی. آنتی‌بیوتیک، باکتری، پنیر فراوری‌نشده، ژن، شیر خام

The multidrug resistance and production of extended-spectrum beta-lactamases *ctx-m*, *per* and *ver* in *Escherichia coli* isolates derived from raw dairy samples

Pouria Khodavandi[1], Fahimeh Alizadeh[2] & Alireza Khodavandi [3]

[1]Department of Animal Science, Shiraz University, Shiraz, Iran; [2]Department of Microbiology, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran; [3]Department of Biology, Gachsaran Branch, Islamic Azad University, Gachsaran, Iran
Correspondent author: Alireza Khodavandi, khodavandi@iaug.ac.ir

Abstract. The occurrence of extended-spectrum beta-lactamases-producing bacteria is an important public health issue. The aim of this study was to investigate phenotypic and genotypic characteristics regarding the presence of extended spectrum β-lactamase *ctx-m*, *per* and *ver* producing *Escherichia coli* isolated from raw dairy samples. For this purpose, *E. coli* were isolated from 247 raw dairy samples (milk and cheese) in Yasooj in 2015-2017, and the isolates were screened for antibiotic resistance, extended spectrum β-lactamase and the presence of *ctx-m*, *per* and *ver*. In total, 200 isolates were selected. The highest frequency of resistance in isolates was against tetracycline (96.5%) and ampicillin (95.5%) antibiotics and the lowest against imipenem (12.5%), In addition, multidrug resistance against four or more antibiotics was observed in some isolates. Extended spectrum β-lactamase resistance was detected in 86 isolates (43%) and *ctx-m*, *per* and *ver* genes were detected in 82, 0 and 7 *E. coli* isolates, respectively. These findings demonstrated that raw dairy products may be reservoirs for the dissemination of β-lactam antibiotics and that resistance genes could be transmitted to humans through the food chain.

Key words. antibiotic, bacteria, gene, raw milk, unprocessed cheese

Received 12.08.2017/ Revised 09.10.2019/ Accepted 23.10.2019/ Published 04.04.2020

دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۲۱/اصلاح: ۱۳۹۸/۰۷/۱۷/پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۰۱/انتشار: ۱۳۹۹/۰۱/۱۶

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.1.3]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.46]

مقدمه

اشرشیا کلی (*Escherichia coli*) طیف وسیعی از عفونت‌های انسانی و حیوانی را به خود اختصاص داده است. این میکروارگانیسم قادر به ایجاد مکانیسم‌های متعددی در مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها است. در دهه‌های اخیر تعداد آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده جدا شده از خانواده انتروباکتریاسه افزایش یافته است. عفونت‌های ناشی از اشرشیا کلی دارای آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده‌ای از مشکلات بهداشت جهانی را ایجاد کرده است. آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده، توانایی هیدرولیز تعداد زیادی از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام از قبیل سفالوسپورین‌ها و منوباکتام‌ها را دارند (Kim et al., 2007; Schmid et al., 2013; Braun et al., 2016).

آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده موجب ایجاد مقاومت چندگانه در باکتری‌های گرم منفی از قبیل انتروباکتریاسه شده است. خانواده‌های مختلفی از آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده شناسایی شده که در اثر جهش‌های نقطه‌ای در آنزیم‌های فاقد فعالیت طیف گسترده ایجاد می‌شوند. در گروه CTX-M با توانایی هیدرولیز سفوتاکسیم پنج گروه فیلوژنی از آنزیم موجود است. علاوه بر این، بیش از صد تیپ از CTX-M شناسایی شده است. اشرشیا کلی دارای بتالاکتاماز طیف گسترده CTX-M از حیوانات مزارع تولید کننده مواد لبنی و فراورده‌های لبنی خام جداسازی و شناسایی شده *است* (Raveh et al., 2007; Snow et al., 2012). تحقیقات بیانگر آن است که این آنزیم‌ها باعث مقاومت به پنی سیلین و طیف وسیعی از سفالوسپورین‌های نسل سوم می‌شوند. اما به آنتی‌بیوتیک‌هایی مثل سفامایسین و کاربا‌پنم حساس هستند و عواملی مثل کلاولانات، تازوباکتام و سولباکتام باعث مهار عملکرد این آنزیم‌ها می‌شوند (Rupp & Fey, 2003). آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده هم بر روی کروموزوم باکتری و هم بر روی پلاسمید یافت شده است. گرچه وسیع‌ترین گروه آنزیم‌های بتالاکتاماز طیف گسترده، CTX-M است ولی گروه‌های دیگری از قبیل PER و VEB نیز شناسایی شده‌اند (Bonnet et al., 2004; Shaikh et al., 2015).

به دلیل مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها مخصوصا سفالوسپورین‌ها، اشرشیا کلی تولیدکننده بتالاکتاماز طیف گسترده نه تنها از انسان‌ها، بلکه از حیوانات تولیدکننده غذا، حیوانات خانگی و غذاهای مختلف نیز قابل جداسازی است. انتقال ژن‌های مرتبط با بتالاکتاماز طیف گسترده از حیوان به انسان از طریق زنجیره غذایی و یا تماس مستقیم انجام می‌شود (Doi et al., 2010; Geser et al., 2012; Zamani et al., 2015; Braun et al., 2016). از دیرباز در کشور ما مصرف فراورده‌های لبنی سنتی معمول بود. علی‌رغم پیشرفت تکنولوژی و استفاده از تجهیزات نوین در تهیه و تولید صنعتی این فراورده‌ها، مصرف فراورده‌های لبنی سنتی جایگاه خاص خود را در بین مردم حفظ کرده است. گفتنی است که در استان کهکیلویه و بویر احمد و به خصوص شهر یاسوج به علت بافت سنتی و عشایری فرهنگ استفاده از محصولات لبنی خام و سنتی رواج فراوانی دارد. از سوی دیگر اطلاعات قبلی نشان می‌دهدکه شیر خام مورد استفاده ممکن است به عنوان منبع آلودگی به انواع میکروارگانیسم‌ها به خصوص باکتری‌های روده‌ای مطرح باشد. از این رو ضرورت انجام چنین تحقیقاتی با توجه به انتشار سریع این آنزیم‌ها در بین ارگانیسم‌ها و بالا رفتن میزان عفونت‌های ناشی از اشرشیا کلی به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های آلودگی مواد غذایی و بحران‌های درمان احساس می‌شود. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی فنوتیپی و ژنوتیپی جدایه‌های اشرشیا کلی دارای بتالاکتاماز طیف گسترده *ctx-m*، *per* و *veb* از فراورده‌های لبنی خام در یاسوج بود.

مواد و روش‌ها

میکروارگانیسم‌ها

در این مطالعه توصیفی مقطعی، تعداد ۲۴۷ نمونه فراورده‌های لبنی خام (شیر خام و پنیر فراوری نشده) در فاصله زمانی اردیبهشت ماه ۱۳۹۴ تا اردیبهشت ۱۳۹۶ از مراکز لبنیات سنتی در یاسوج جمع آوری شد. نمونه‌ها بلافاصله بر روی محیط کشت مکانکی (MAC, Merck, Darmstadt, Germany) و ائوزین متیلن بلو آگار (EMB, Merck, Darmstadt, Germany) کشت داده شدند. با انجام تست‌های بیوشیمیایی افتراقی نظیر TSI، سیمون سیترات، اوره‌از، MR/VP، SIM، ایندول و لیزین دکربوکسیلاز آگار، جدایه‌های اشرشیا کلی شناسایی شدند. همچنین با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و پرایمر عمومی 16S rRNA (جدول ۱) شناسایی مولکولی جدایه‌های اشرشیا کلی تایید شد (Suardana, 2014). علاوه بر این، برای آزمایش‌های بررسی حساسیت ضد باکتریایی از سویه استاندارد اشرشیا کلی ATCC 25922 به عنوان منبعی برای کنترل کیفیت استفاده شد. از باکتری‌های کلبسیلا پنومونیه U700603، پسودوموناس آئروژینوزا U2A1125 و اسنیتوباکتر بومانی U2A2026 به ترتیب به عنوان کنترل *ctx-m*، *per* و *veb* در آزمایش‌های تعیین اشرشیا کلی تولیدکننده بتالاکتاماز طیف گسترده استفاده شد.

آزمون حساسیت سنجی اشرشیا کلی به روش دیسک دیفیوژن

مطابق دستورالعمل استاندارد CLSI (M_{100}-S_{24})، از جدایه‌های اشرشیا کلی و سویه استاندارد برای اطمینان از فاز لگاریتمی رشد دو بار کشت مجدد تهیه شد و سوسپانسیون میکروبی استاندارد با غلظت

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.1.3]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.46]

جدول ۱- پرایمرهای اولیگونوکلئوتید استفاده شده برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز.
Table 1. Oligonucleotide primers used for PCR.

ژن	اندازه محصول واکنش زنجیره ای پلیمراز (pb)	سکونس پرایمر (5'→3')	منابع
rRNA	۱۳۸۰	Forward: AGAGTTTGATCCTGGCTCAG Reverse: GGTTACCTTGTTACGACTT	Suardana, 2014
ctx-m	۵۴۴	Forward: TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA Reverse: CGATATCGTTGGTGGTGCCATA	Edelstein et al., 2003
per	۹۳۳	Forward: AATTTGGGCTTAGGGCAGAA Reverse: ATGAATGTCATTATAAAAGC	Jiang et al., 2006
veb	۶۴۲	Forward: CGACTTCCATTTCCCGATGC Reverse: GGACTCTGCAACAAATACGC	Jiang et al., 2006

نیم مک فارلند (CFU/ml ۱۰۸×۵-۱) در سرم فیزیولوژی تهیه شد. حدود ۳-۲ کلنی از باکتری به ۲ میلی لیتر ازمحیط کشت نوترینت براث استریل اضافه و ورتکس شد. سپس یک بار شستشو داده شد. با استفاده از اسپکتروفتومتر (UNICO 2150-UV, USA) در طول موج ۶۳۰ نانومتر تراکم سلول‌ها در حدود ۱۰۸× ۵-۱ سلول باکتریایی در میلی لیتر برای دستیابی به غلظت نیم مک فارلند تنظیم و با روش ویبل کانت تایید شد. پس از تهیه سوسپانسیون اشرشیا کلی، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون در سطح پلیت ۹ سانتی‌متری حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار (MHA, Merck, Darmstadt, Germany) به صورت چمنی پخش و به مدت ۱۵ دقیقه در زیر هود میکروبیولوژی خشک شد. سپس دیسک‌های آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام: آمپی سیلین (۱۰ میکروگرم/دیسک)، آزترئونام (۳۰ میکروگرم/دیسک)، ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم/دیسک)، سفالوتین (۳۰ میکروگرم/دیسک)، سفوکسیتین (۳۰ میکروگرم/دیسک)، سفتازیدیم (۳۰ میکروگرم/دیسک)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم/دیسک)، سفپیم (۳۰ میکروگرم/دیسک)، آنتی بیوتیک‌های کوئینولون: نالیدیکسیک اسید، (۳۰ میکروگرم/دیسک)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم/دیسک)، آنتی بیوتیک آمینوگلیکوزید: جنتامایسین (۱۰ میکروگرم/دیسک)، آنتی بیوتیک سولفانامید: تری متوپریم– سولفامتوکسازول (۲۵ میکروگرم/دیسک) و آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین: تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم/دیسک) (HiMedia Laboratories, Mumbai, India) به فاصله ۳-۲/۵ سانتیمتر از یکدیگر قرار داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس قطرهاله ممانعت از رشد در اطراف دیسک به وسیله خط‌کش میلیمتری مورد بررسی قرار گرفت. از دیسک خالی به عنوان کنترل منفی استفاده شد. سپس با جدول استاندارد مقایسه و نتایج به صورت مقاوم، حدواسط و حساس بر اساس استاندارد CLSI ثبت شد. آزمایش‌ها به صورت ۳ تکرار تکنیکی انجام گرفت و ۲ بار تکرار شد.

آزمون تاییدی فنوتیپی اشرشیا کلی تولیدکننـده بتالاکتاماز طیف گسترده به روش دیسک ترکیبی

برای شناسایی فنوتیپی جدایه‌های تولیدکننـده بتالاکتاماز طیف گسترده پس از شناسایی و تایید اشرشیا کلی مقاوم از دستورالعمل استاندارد CLSI استفاده شد. مطابق دستورالعمل، سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند تهیه و پس از پخـش کـردن کامـل سوسپانـسیون میکروبـی بـر روی محیط کشت MHA، مطابق دستورالعمل استاندارد CLSI دیسک‌های تکی و ترکیبی سفوتاکسیم (۳۰ میکـروگرم/دیسک)، سفوتاکسیم/کلاولانات (۱۰/۳۰ میکروگـرم/دیسک)، سفتازیدیم (۳۰ میکـروگرم/دیسک)، سفتازیدیم/کلاولانات (۱۰/۳۰ میکروگـرم/دیسک) بر روی محیط کشت قرار گرفتند (HiMedia Laboratories, Mumbai, India). پـس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد قطرهاله ممانعت از رشد بر حسب میلی‌متر توسط خط کش اندازه‌گیری شد. اختلاف قطر هاله ممانعت از رشد بین دو دیسک آنتی‌بیوتیکی حاوی یا بدون کلاولانات، ۵ ≥ به عنوان جدایه تولیدکننـده بتالاکتاماز طیف گسترده درنظرگرفته شد (Rawat & Nair, 2010; CLSI M_{100}-S_{24}).

آزمون تاییدی ژنوتیپی اشرشیا کلی تولیدکننـده بتالاکتاماز طیف گسترده با استفاده از ژن‌های *ctx-m*، *per* و *veb*

برای تایید ژنوتیپی اشرشیا کلی تولیدکننـده بتالاکتاماز طیف گسترده، استخراج DNA توسط روش جوشاندن انجام گرفت (Holoda et al., 2005). بعد از استخراج DNA، کیفیت و کمیت آن با استفاده از اسپکتروفتومتری و ژل آگاروز مورد بررسی قرار گرفت. ژن‌های *ctx-m*، *per* و *veb* با استفاده از پرایمرهای جدول ۱ تکثیر شدند. هر واکنش زنجیره‌ای پلی مراز شامل ۵ میکرولیتر بافر Taq ۱۰X (Taq buffer, Fermentas, Waltham, MA, USA)،

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.1.3]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.46]

جدول ۲- شرایط تکثیر برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز.
Table 2. Amplification conditions for PCR.

مرحله	برنامه	واسرشت شدن	اتصال پرایمرها	طویل‌سازی	تعداد چرخه
مرحله اول	دما (درجه سانتی‌گراد)	۹۴	-	-	۱
	زمان (ثانیه)	۱۲۰	-	-	
مرحله دوم	دما (درجه سانتی‌گراد)	۹۴	۵۱ (*ctx-m*)، ۵۵ (*per* و *veb*)	۷۲	۳۰
	زمان (ثانیه)	۲۵ (*ctx-m*)، ۱۵ (*per* و *veb*)	۳۰	۳۰ (*ctx-m*)، ۴۵ (*per* و *veb*)	
مرحله سوم	دما (درجه سانتی‌گراد)	-	-	۷۲	۱
	زمان (ثانیه)	-	-	۶۰۰	

۱ میکرولیتر dNTP ۱۰ میلی‌مولار (dNTP, Fermentas, Waltham, MA, USA)، ۰/۵ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای بالادست و پایین‌دست (Bioneer, Korea)، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم Taq DNAپلیمراز (Taq DNA polymerase, Fermentas, Waltham, MA, USA)، ۱ میکرولیتر DNA و مقدار مناسب آب دیونیزه (سیناژن، ایران) تا حجم ۲۵ میکرولیتر آماده شد. شرایط تکثیر مطابق جدول ۲ در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf, Germany) انجام پذیرفت. آزمایش‌ها به صورت ۳ تکرار تکنیکی انجام گرفت و ۲ بار تکرار شد. محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر روی ژل آگاروز الکتروفورز شد. با استفاده از تصویرساز ژل داک (Bio-Rad, USA) تصویر ژل آگاروز ثبت شد.

طرح مطالعه و آنالیز آماری

این مطالعه توصیفی مقطعی به صورت طرح کاملا تصادفی و آزمایش‌ها به صورت ۳ تکرار تکنیکی انجام گرفت و ۲ بار تکرار شد. نتایج حاصل از مطالعه، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۵ (SPSS Inc., Chicago, IL) تجزیه و تحلیل شد. ارزش $P< 0.05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد. همچنین برای تعیین ارتباط بین گروه‌ها از تست آماری مجذور کای استفاده شد.

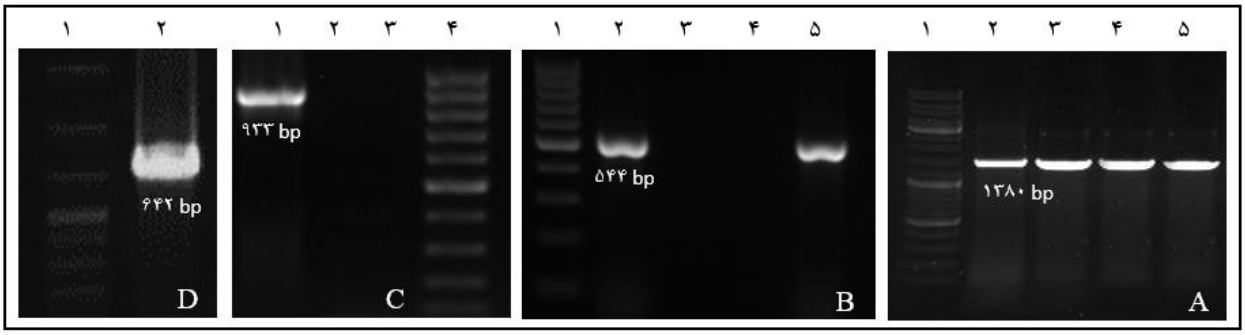
نتایج

از ۲۴۷ نمونه شیر خام (۱۶۸ نمونه شیر خام شامل ۱۱۳ نمونه شیر گاوی و ۵۵ نمونه شیر گوسفندی) و پنیر فراوری نشده (۷۹ نمونه پنیر فراوری نشده شامل ۵۴ نمونه پنیر گاوی و ۲۵ نمونه پنیر گوسفندی)، ۲۰۰ جدایه اشرشیا کلی، ۱۳۷ جدایه (۶۸/۵ درصد) از شیر خام و ۶۳ جدایه (۳۱/۵ درصد) از پنیر فرآوری نشده جداسازی و شناسایی شد. جدایه‌های اشرشیا کلی با استفاده از ژن 16S rRNA در این مطالعه تایید شد (شکل ۱ A). توالی ژن دو سویه از اشرشیا کلی با شماره دستیابی MN186855 و MN186856 به ترتیب برای سویه *Escherichia coli* Khodavandi-Alizadeh-1 (جدا شده از شیر خام گاوی) و *Escherichia coli* Khodavandi-Alizadeh-2 (جدا شده از پنیر فرآوری نشده گاوی) در بانک جهانی ژن ثبت شد.

نتایج حاصل از آزمون حساسیت سنجی اشرشیا کلی به روش دیسک دیفیوژن

الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی در بین جدایه‌های اشرشیا کلی در فراورده‌های لبنی شیر و پنیر فراوری نشده در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی حاصل از آزمون حساسیت سنجی اشرشیا کلی در کل فراورده‌های لبنی خام به ترتیب شامل آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین، آمپی‌سیلین، سفالوتین، جنتامایسین، آزترئونام، تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول، سفپیم، نالیدیکسیک اسید، سفتازیدیم، سیپروفلوکساسین، سفوتاکسیم، سفوکسیتین و ایمی‌پنم بود. نتایج حاصل از ارزیابی در فراورده‌های لبنی خام نشان داد که جدایه‌های اشرشیا کلی بیش‌ترین مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین (۹۶/۵ درصد) و آمپی سیلین (۹۵/۵ درصد) و کم‌ترین میزان مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم (۱۲/۵ درصد) از خود نشان دادند. همچنین نتایج نشان داد که مقاومت جدایه‌های اشرشیا کلی جمع-آوری شده از شیر خام و پنیر فراوری نشده نیز مشابه بود. بیش‌ترین مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و آمپی‌سیلین به ترتیب ۹۶/۴ درصد، ۹۵/۶ درصد و ۹۶/۸ درصد، ۹۵/۲ و کم‌ترین میزان مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک ایمی‌پنم به ترتیب ۱۱/۷ درصد و ۱۴/۳ درصد نشان داده‌اند. علاوه بر این، در میان آنتی-بیوتیک‌های سفالوسپورین، بیش‌ترین مقاومت مربوط به آنتی-بیوتیک سفالوتین (۹۴/۵ درصد) در کل فراورده‌های لبنی خام مشاهده شد که در شیر خام (۹۶/۴ درصد) و پنیر فراوری نشده (۹۰/۵ درصد) نیز مشابه بود. جدایه‌هایی که بیش‌ترین مقاومت نشان دادند به ایمی‌پنم حساسیت نشان دادند. از میان ۲۰۰ جدایه اشرشیا کلی جمع‌آوری شده از فراورده‌های لبنی خام تعداد ۲۰۰ (۱۰۰ درصد) مقاومت چندگانه به چهار یا بیش‌تر از آنتی بیوتیک‌ها از خود نشان دادند (شکل ۲).

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.1.3]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.46]



شکل ۱- الکتروفورز محصول واکنش زنجیره ای پلیمراز ژن‌های *rRNA*، *ctx-m*، *per* و *veb* اشرشیا کلی جدا شده از فراورده‌های لبنی خام در ژل آگاروز. **A**. ۱: مارکر، ۵-۲: تایید شناسایی جدایه‌های اشرشیا کلی. **B**. ۱: مارکر، ۲: کنترل مثبت ژن *ctx-m* (کلبسیلا پنومونیه ATCC 700603)، ۳ و ۴: کنترل منفی و جدایه اشرشیا کلی فاقد *ctx-m* ، ۵: ژن *ctx-m* در جدایه اشرشیا کلی. **C**. ۱: ژن *per* پسودوموناس آئروژینوزا U2A1125، ۲ و ۳: جدایه‌های اشرشیا کلی فاقد ژن *per*، ۴: مارکر. د: ۱: مارکر، ۲: ژن *veb* در اشرشیا کلی جدا شده از فراورده‌های لبنی خام.

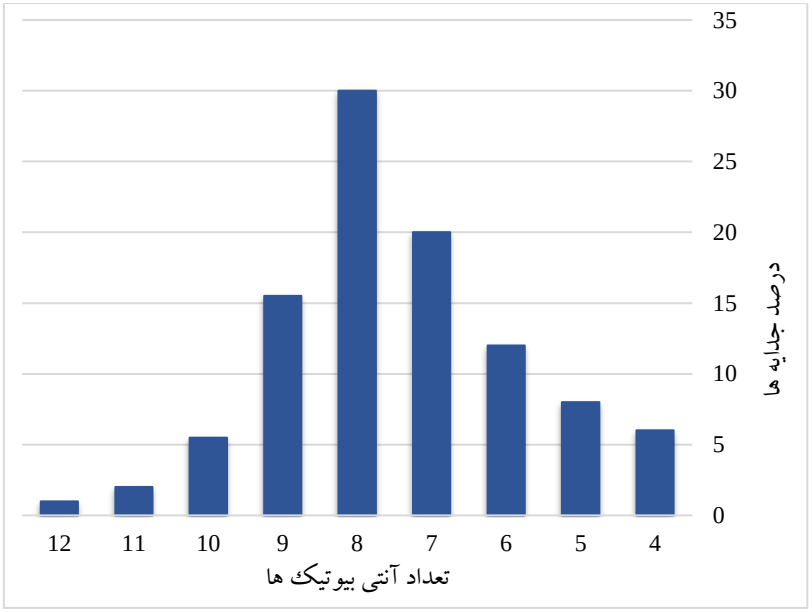
Fig. **1.** Gel electrophoresis of PCR products of *rRNA*, *ctx-m*, *per* and *veb* genes in *E. coli* isolated from raw dairy products. **A.** 1: DNA ladder, 2-5: *E. coli* isolates. **B.** 1: DNA ladder, 2: *ctx-m* positive control (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603), 3,4: Negative control and *E. coli* isolate without *ctx-m* , 5: *ctx-m* gene in *E. coli*. **C.** 1: *per* gene in *Pseudomonas aeruginosa* U2A1125, 2,3: *E. coli* isolates without *per*,4: DNA ladder. **D.** 1: DNA ladder, *veb* gene in *E. coli* isolated from raw dairy products.

جدول ۳- الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه‌های اشرشیا کلی در کل فراورده‌های لبنی خام.

Table 3. Antibiotic resistance pattern of *E. coli* isolated from raw dairy products.

آنتی‌بیوتیک/ الگوی مقاومت	حساس تعداد (درصد)			حدواسط تعداد (درصد)			مقاوم تعداد (درصد)		
	کل فراورده لبنی	شیر خام	پنیر فراوری نشده	کل فراورده لبنی	شیر خام	پنیر فراوری نشده	کل فراورده لبنی	شیر خام	پنیر فراوری نشده
آمپی سیلین	۸ (۴)	۵ (۳/۷)	۳ (۴/۸)	۱ (۰/۵)	۱ (۰/۷۳)	۰ (۰)	۱۹۱ (۹۵/۵)	۱۳۱ (۹۵/۶)	۶۰ (۹۵/۲)
آزترئونام	۳۶ (۱۸)	۲۵ (۱۸/۲)	۱۱ (۱۷/۵)	۱۱ (۵/۵)	۱۱ (۸)	۰ (۰)	۱۵۳ (۷۶/۵)	۱۰۱ (۷۳/۷)	۵۲ (۸۲/۵)
ایمی‌پنم	۱۴۷ (۷۳/۵)	۱۰۰ (۷۳)	۴۷ (۷۴/۶)	۲۸ (۱۴)	۲۱ (۱۵/۳)	۷ (۱۱/۱)	۲۵ (۱۲/۵)	۱۶ (۱۱/۷)	۹ (۱۴/۳)
سفالوتین	۱۰ (۵)	۴ (۲/۹)	۶ (۹/۵)	۱ (۰/۵)	۱ (۰/۷۳)	۰ (۰)	۱۸۹ (۹۴/۵)	۱۳۲ (۹۶/۴)	۵۷ (۹۰/۵)
سفوکسیتین	۱۲۴ (۶۲)	۸۱ (۵۹/۱)	۴۳ (۶۸/۳)	۲۰ (۱۰)	۱۸ (۱۳/۱)	۲ (۳/۲)	۵۶ (۲۸)	۳۸ (۲۷/۷)	۱۸ (۲۸/۶)
سفتازیدیم	۵۸ (۲۹)	۳۶ (۲۶/۳)	۲۲ (۳۴/۹)	۴۱ (۲۰/۵)	۲۴ (۱۷/۵)	۱۷ (۲۷)	۱۰۱ (۵۰/۵)	۷۷ (۵۶/۲)	۲۴ (۳۸/۱)
سفوتاکسیم	۸۹ (۴۴/۵)	۷۰ (۵۱/۱)	۱۹ (۳۰/۲)	۲۷ (۱۳/۵)	۱۷ (۱۲/۴)	۱۰ (۱۵/۹)	۸۴ (۴۲)	۵۰ (۳۶/۵)	۳۴ (۵۴)
سفپیم	۵۱ (۲۵/۵)	۳۵ (۲۵/۶)	۱۶ (۲۵/۴)	۱۰ (۵)	۵ (۳/۷)	۵ (۷/۹)	۱۳۹ (۶۹/۵)	۹۷ (۷۰/۸)	۴۲ (۶۶/۷)
نالیدیکسیک اسید	۵۸ (۲۹)	۳۵ (۲۵/۶)	۲۳ (۳۶/۵)	۱۵ (۷/۵)	۱۲ (۸/۸)	۳ (۴/۸)	۱۲۷ (۶۳/۵)	۹۰ (۶۵/۷)	۳۷ (۵۸/۷)
سیپروفلوکساسین	۹۸ (۴۹)	۵۵ (۴۰/۱)	۴۳ (۶۸/۳)	۱۵ (۷/۵)	۹ (۶/۶)	۶ (۹/۵)	۸۷ (۴۳/۵)	۷۳ (۵۳/۳)	۱۴ (۲۲/۲)
جنتامایسین	۱۸ (۹)	۴ (۲/۹)	۱۴ (۲۲/۲)	۲۸ (۱۴)	۱۸ (۱۳/۱)	۱۰ (۱۵/۹)	۱۵۴ (۷۷)	۱۱۵ (۸۳/۹)	۳۹ (۶۱/۹)
تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول	۵۰ (۲۵)	۱۴ (۱۰/۲)	۳۶ (۵۷/۱)	۸ (۴)	۶ (۴/۴)	۲ (۳/۲)	۱۴۲ (۷۱)	۱۱۷ (۸۵/۴)	۲۵ (۳۹/۷)
تتراسایکلین	۶ (۳)	۴ (۲/۹)	۲ (۳/۲)	۱ (۰/۵)	۱ (۰/۷۳)	۰ (۰)	۱۹۳ (۹۶/۵)	۱۳۲ (۹۶/۴)	۶۱ (۹۶/۸)

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.1.3]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.46]



شکل ۲- درصد مقاومت چندتایی اشرشیا کلی جدا شده از فراورده‌های لبنی خام.

Fig. 2. The percentage of multidrug resistance of *E. coli* isolates, isolated from raw dairy products.

نتایج حاصل از آزمون تاییدی فنوتیپی اشرشیا کلی تولیدکننـده بتالاکتاماز طیف گسترده به روش دیسک ترکیبی

نتایج حاصل از آزمون تاییدی فنوتیپی اشرشیا کلی تولیدکننـده بتالاکتاماز طیف گسترده به روش دیسک ترکیبی نشان داد که تعداد ۸۶ جدایه (۴۳ درصد) از ۲۰۰ جدایه اشرشیا کلی تولید کننده آنزیم بتالاکتاماز طیف گسترده و ۱۱۴ جدایه (۵۷ درصد) قادر به تولید آنزیم بتالاکتاماز طیف گسترده نبودند (جدول ۴).

نتایج حاصل از آزمون تاییدی ژنوتیپی اشرشیا کلی تولیدکننـده بتالاکتاماز طیف گسترده با استفاده از ژن‌های *ctx-m*، *per* و *veb*

نتایج حاصل از آزمون تاییدی ژنوتیپی اشرشیا کلی تولیدکننـده بتالاکتاماز طیف گسترده نشان داد که جدایه‌های اشرشیا کلی جمع آوری شده از فراورده‌های لبنی خام دارای ژن‌های *ctx-m* و *veb* بودند در حالی که در هیچ یک از جدایه‌ها ژن *per* مشاهده نشد (شکل ۱ D-B). نتایج حاکی از آن است که از ۸۶ جدایه تولیدکننـده بتالاکتاماز طیف گسترده در ۸۲ جدایه ژن *ctx-m* و در ۷ جدایه ژن *veb* مشاهده شد علاوه بر این نتایج نشان داد که تنها سه جدایه دارای هر دو ژن *ctx-m* و *veb* بودند (جدول ۴).

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمون‌های حساسیت سنجی، فنوتیپی و ژنوتیپی نشان داد که جدایه‌های اشرشیا کلی تولید کننده بتالاکتاماز طیف گسترده مقاومت بالاتری در برابر سفالوتین (۱۰۰ درصد)، تتراسایکلین (۹۶/۵)، آمپی‌سیلین (۹۵/۳) و سفپیم (۸۴/۹ درصد) دارند ($P \leq 0.05$). تمام جدایه‌های اشرشیا کلی مولد بتالاکتاماز طیف گسترده به ایمی‌پنم حساس بودند. تفاوت معناداری ($P \geq 0.05$) در الگوی مقاومت جدایه‌های مقاوم اشرشیا کلی مولد بتالاکتاماز طیف گسترده در نمونه‌های شیر خام و پنیر فراوری نشده مشاهده نگردید (جدول ۵).

بحث

مطالعه حاضر برای ارزیابی فنوتیپی و ژنوتیپی جدایه‌های اشرشیا کلی تولید کننده بتالاکتاماز طیف گسترده از فراورده-های لبنی خام در یاسوج طراحی شده است. امروزه بتالاکتامازهای طیف گسترده به عنوان یک مشکل عدیده در مرکز بالینی انسانی و حیوانی در سراسر جهان مطرح است. شیوع اشرشیا کلی حاوی بتالاکتامازهای طیف گسترده در بین میکروارگانیسم‌های گرم منفی به خصوص خانواده انتروباکتریاسه در مناطق مختلف جغرافیایی سراسر جهان و در نمونه‌های مختلف متفاوت است (Edelstein et al., 2003; Doi et al., 2010; Zamani et al., 2015; Braun et al., 2016). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که نمونه‌های فراورده‌های لبنی خام جمع‌آوری شده در طی دو سال حاوی باکتری اشرشیا کلی بود. این جدایه‌ها نسبت به ۱۳ آنتی‌بیوتیک مورد مطالعه الگوی مقاومت متفاوتی داشتند. مقاومت نسبت به تتراسایکلین و آمپی‌سیلین در کل جدایه‌ها به ترتیب ۹۶/۵ درصد و ۹۵/۵ درصد بود. در حالی که مقاومت نسبت به ایمی‌پنم ۱۲/۵ درصد بود. دلیل شیوع کم‌تر جدایه‌های مقاوم به این آنتی بیوتیک ممکن است عدم رواج مصرف آن در کشور باشد. علاوه بر این، ۱۰۰ درصد جدایه‌های اشرشیا کلی جمع‌آوری شده از فراورده‌های لبنی خام مقاومت چندگانه به چهار یا تعداد بیش‌تری از آنتی‌بیوتیک‌ها

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.1.3]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.46]

جدول ۴- نتایج فنوتیپی و ژنوتیپی اشرشیا کلی تولیدکننـده بتالاکتاماز طیف گسترده در فراورده‌های لبنی خام.

Table 4. Phenotype and genotype results of *E. coli* producing extended-spectrum β-lactamases in raw dairy products.

جدایه‌های اشرشیا کلی	کل فراورده لبنی	شیر خام	پنیر فراوری نشده
تولید کننده آنزیم بتالاکتاماز طیف گسترده	۸۶	۵۴	۳۲
ctx-m	۸۲	۵۰	۳۲
per	۰	۰	۰
veb	۷	۶	۱

جدول ۵- الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های اشرشیا کلی تولیدکننـده بتالاکتاماز طیف گسترده در فراورده‌های لبنی خام.

Table 5. Antibiotic resistance pattern of *E. coli* producing extended-spectrum β-lactamases in raw dairy products.

آنتی‌بیوتیک/ الگوی مقاومت	حساس تعداد (درصد)			حدواسط تعداد (درصد)			مقاوم تعداد (درصد)		
	کل فرآورده لبنی	شیر	پنیر	کل فراورده لبنی	شیر	پنیر	کل فراورده لبنی	شیر	پنیر
آمپی‌سیلین	۴ (۴/۷)	۲ (۳/۷)	۲ (۶/۲)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۸۲ (۹۵/۳)	۵۲ (۹۶/۳)	۳۰ (۹۳/۸)
آزترئونام	۱۲ (۱۴)	۴ (۷/۴)	۸ (۲۵)	۱۱ (۱۲/۸)	۱۱ (۲۰/۴)	۰ (۰)	۶۳ (۷۳/۳)	۳۹ (۷۲/۲)	۲۴ (۷۵)
ایمی‌پنم	۸۶ (۱۰۰)	۵۴ (۱۰۰)	۳۲ (۱۰۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)
سفالوتین	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۸۶ (۱۰۰)	۵۴ (۱۰۰)	۳۲ (۱۰۰)
سفوکسیتین	۳۵ (۴۰/۷)	۱۹ (۳۵/۲)	۱۶ (۵۰)	۱۱ (۱۲/۸)	۱۰ (۱۸/۵)	۱ (۳/۱)	۴۰ (۴۶/۵)	۲۵ (۴۶/۳)	۱۵ (۴۶/۹)
سفتازیدیم	۲۴ (۲۸)	۱۵ (۲۷/۸)	۹ (۲۸/۱)	۱۳ (۱۵)	۸ (۱۴/۸)	۵ (۱۵/۶)	۴۹ (۵۷)	۳۱ (۵۷/۴)	۱۸ (۵۶/۳)
سفوتاکسیم	۲۵ (۲۹/۱)	۱۶ (۲۹/۶)	۹ (۲۸/۱)	۱۴ (۱۶/۳)	۹ (۱۶/۷)	۵ (۱۵/۶)	۴۷ (۵۴/۷)	۲۹ (۵۳/۷)	۱۸ (۵۶/۳)
سفپیم	۷ (۸/۱)	۴ (۷/۴)	۳ (۹/۴)	۶ (۷)	۳ (۵/۶)	۳ (۹/۴)	۷۳ (۸۴/۹)	۴۷ (۸۷)	۲۶ (۸۱/۳)
نالیدیکسیک اسید	۲۳ (۲۶/۷)	۱۳ (۲۴/۱)	۱۰ (۳۱/۳)	۹ (۱۰/۵)	۷ (۱۳)	۲ (۶/۳)	۵۴ (۶۲/۸)	۳۴ (۶۳)	۲۰ (۶۲/۵)
سیپروفلوکساسین	۲۴ (۲۸)	۱۵ (۲۷/۸)	۹ (۲۸/۱)	۱۲ (۱۴)	۸ (۱۴/۸)	۴ (۱۲/۵)	۵۰ (۵۸)	۳۱ (۵۷/۴)	۱۹ (۵۹/۴)
جنتامایسین	۱۳ (۱۵/۱)	۴ (۷/۴)	۹ (۲۸/۱)	۱۰ (۱۱/۶)	۱۰ (۱۸/۵)	۰ (۰)	۶۳ (۷۳/۳)	۴۰ (۷۴/۱)	۲۳ (۷۱/۹)
تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول	۲۱ (۲۴/۴)	۱۲ (۲۲/۲)	۹ (۲۸/۱)	۷ (۸/۱)	۵ (۹/۳)	۲ (۶/۳)	۵۸ (۶۷/۴)	۳۷ (۶۸/۵)	۲۱ (۶۵/۶)
تتراسایکلین	۳ (۳/۵)	۱ (۱/۹)	۲ (۶/۲)	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	۸۳ (۹۶/۵)	۵۳ (۹۸/۱)	۳۰ (۹۳/۸)

را از خود نشان دادند. اصولا باکتری‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای طیف گسترده موجب ایجاد مقاومت چندگانه به آنتی‌بیوتیک‌ها، شکست درمانی و مشکلات عدیده در درمان شده‌اند (Edelstein et al., 2003; Snow et al., 2012; Schmid et al., 2013; Braun et al., 2016). مطالعات نشان داده که اشرشیا کلی تولید کننده بتالاکتامازهای طیف گسترده از حیوانات تولید کننده مواد لبنی و لبنیات خام نیز جدا شده‌اند (Raveh et al., 2007; Snow et al., 2012; Vrabec et al., 2015; Kürekci et al., 2016). پژوهشگران بیان کردند که از ۵۰ جدایه اشریشیا کلی، ۴۷ جدایه (۹۴ درصد) نسبت به یک یا چند آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند و بیش‌ترین مقاومت نسبت به کلیندامایسین (۸۰/۸۵ درصد) و تتراسایکلین (۲۷/۶۵ درصد) بود (Bonyadian et al., 2013).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که آنزیم بتالاکتاماز طیف گسترده *ctx-m* در جدایه‌های زیادی شناسایی شد، در حالی که دو گروه دیگر شامل *veb* و *per* به ترتیب در تعداد کم و یا هیچ یک از جدایه‌ها مشاهده شد. در مطالعه انجام شده توسط (Skočková et al., 2015) شیوع اشرشیا کلی تولیدکننده بتالاکتامازهای طیف گسترده از شیر خام در جمهوری چک بررسی شد. نتایج حاکی از مقاومت جدایه‌های اشرشیا کلی به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین، بتالاکتام وکوئینولون و مقاومت چندگانه بود. علاوه بر این، ژن مقاومت

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.1.3]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.46]

ctx-m در جدایه‌های تولیدکننده بتالاکتامازهای طیف گسترده مشاهده شد. پژوهشگران اشرشیا کلی تولیدکننده بتالاکتامازهای طیف گسترده را از نمونه‌های پنیر سورک سنتی ترکیه جدا کردند (Kürekci et al., 2016). این جدای‌ه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین (۴۱/۷ درصد)، تری متوپریم– سولفامتوکسازول (۲۵ درصد)، داکسی سایکلین (۲۵ درصد) و کلرامفنیکل (۱۶/۷ درصد) مقاومت نشان دادند. در مطالعه مذکور جداسازی و شناسایی تعداد زیاد اشرشیا کلی تولید کننده بتالاکتامازهای طیف گسترده *ctx-m* از پنیر سورک سنتی ترکیه می‌تواند منبع انتقال آلودگی قابل ملاحظه برای انسان‌ها باشد.

مطالعات نشان داده که مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در علوم پزشکی و علوم دامی موجب گسترش باکتری‌های مقاوم به آنتی-بیوتیک‌های مختلف شده است. مقاومت باکتری‌ها تولید کننده بتالاکتاماز طیف گسترده به عنوان یک تهدید بزرگ در مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها به شمار می‌رود. انتقال ژن‌های مرتبط با بتالاکتاماز طیف گسترده از حیوان به انسان از طریق زنجیره غذایی و یا تماس مستقیم انجام می‌شود. مطالعه حاضر حاکی از آن است که فراورده-های لبنی خام (شیر خام و پنیر فراوری نشده) باید به عنوان منابع ژنتیکی انتقال اشرشیا کلی تولید کننده بتالاکتاماز طیف گسترده در نظر گرفته شوند. با توجه به عرضه و مصرف فراوان شیر خام و پنیر فراوری نشده در شهر یاسوج، یافته‌های حاضر نشان می‌دهد که فراورده‌های لبنی خام ممکن است مخازنی برای انتشار آنتی‌بیوتیک-های بتالاکتام باشند. از سویی دیگر ژن‌های مولد مقاومت دارویی پتانسیل انتقال به انسان را خواهند داشت که این امر در سلامتی و بهداشت مردم مصرف کننده حائز اهمیت فراوان خواهد بود.

سپاسگزاری

نویسندگان از حمایت مالی مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی واحد گچساران و مراکز لبنیات سنتی یاسوج به دلیل همکاری در جمع‌آوری اطلاعات اولیه و فرایند نمونه‌گیری کمال امتنان را دارند.

REFERENCES

Bonnet, R. 2004. Growing group of extended-spectrum β-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob. Agents Chemother. 48: 1-14.

Bonyadian, M., Ebrahimi, A. & Jamali, M. 2013. Study on the antibiotic resistance of *E. coli* isolated from raw milk and unpasteurized cheese and survey on resistance transmission to *E. coli* O2: K12. Iranian J. Vet. Sci. 7: 26-31.

Braun, S.D., Ahmed, M.F., El-Adawy, H., Hotzel, H., Engelmann, I., Weiß, D., Monecke, S. & Ehricht, R. 2016. Surveillance of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in dairy cattle farms in the Nile Delta, Egypt. Front Microbiol. 7: 1-14.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Supplement M_{100}-S_{24}.

Doi, Y., Paterson, D.L., Egea, P., Pascual, A., Lopez-Cerero, L., Navarro, M.D., Adams-Haduch, J.M., Qureshi, Z.A., Sidjabat, H.E. & Rodriguez-Bano, J. 2010. Extended-spectrum and CMY-type beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in clinical samples and retail meat from Pittsburgh, USA and Seville, Spain. Clin. Microbiol. Infect. 16: 33-38.

Edelstein, M., Pimkin, M., Palagin, I., Edelstein, I. & Stratchounski, L. 2003. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. Antimicrob. Agents Chemother. 47: 3724-3732.

Geser, N., Stephan, R. & Hächler, H. 2012. Occurrence and characteristics of extended-spectrum β-lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae* in food producing animals, minced meat and raw milk. BMC Vet. Res. 8: 21.

Holoda, E., Vu-Khac, H., Andraskova, S., Chomova, Z., Wantrubova, A., Krajnak, M. & Pilipcinec, E. 2005. PCR assay for detection and differentiation of K88ab(1), K88ab(2), K88ac, and K88ad fimbrial adhesins in *E. coli* strains isolated from diarrheic piglets. Folia Microbiol (Praha) 50: 107-112.

Jiang, X., Zhang, Z., Li, M., Zhou, D., Ruan, F. & Lu, Y. 2006. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother. 50: 2990-2995.

Kim, S., Hu, J., Gautom, R., Kim, J., Lee, B. & Boyle, D.S. 2007. CTX-M extended-spectrum β-lactamases, Washington State. Emerg. Infect. Dis. 13: 513-516.

Kurekci, C., Arkadaş, M. & Avsar, Y.K. 2016. Occurrence, genetic characterization and antimicrobial resistance of extended spectrum β-lactamase producing *Escherichia coli* isolated from Sürk samples, a traditional Turkish cheese. J. Food Meas. Charact. 10: 709-714.

Raveh, D., Yinnon, A.M., Broide, E. & Rudensky, B. 2007. Susceptibilities of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* to ertapenem, meropenem and piperacillin-tazobactam with and without clavulanic acid. Chemotherapy 53: 185-189.

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.1.3]
[DOI: 10.29252/nbr.7.1.46]

Rawat, D. & Nair, D. 2010. Extended-spectrum β-lactamases in gram negative bacteria. J. Glob Infect. Dis. 2: 263-274.

Rupp, M.E. & Fey, P.D. 2003. Extended spectrum betalactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae*: considerations for diagnosis, prevention and drug treatment. Drugs 63: 353-365.

Schmid, A., Hormansdorfer, S., Messelhäusser, U., Kasbohrer, A., Sauter-Louis, C. & Mansfeld, R. 2013. Prevalence of extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* on Bavarian dairy and beef cattle farms. Appl. Environ. Microbiol. 79: 3027-3032.

Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S.M. & Kamal, MA. 2015. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: types, epidemiology and treatment. Saudi J. Biol. Sci. 22: 90-101.

Skockova, A., Bogdanovicova, K., Kolackova, I., Karpískova, R. 2015. Antimicrobial-resistant and extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* in raw cow's milk. J. Food Protect. 78: 72-77.

Snow, L.C., Warner, R.G., Cheney, T., Wearing, H., Stokes, M., Harris, K., Teale, C. J. & Coldham, N.G. 2012. Risk factors associated with extended spectrum beta-lactamase *Escherichia coli* (CTX-M) on dairy farms in North West England and North Wales. Prev. Vet. Med. 106: 225-234.

Suardana, I.W. 2014. Analysis of nucleotide sequences of the 16S rRNA gene of novel *Escherichia coli* strains isolated from feces of human and bali cattle. J. Nucleic Acids 2014: 1-7.

Vrabec, M., Lovayova, V., Dudrikova, K., Gallo, J. & Dudrikova, E. 2015. Antibiotic resistance and prevalence of *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* isolated from Bryndza cheese. Italian J. Anim. Sci. 14: 609-614.

Zamani, K., Emami, A., Bazargani, A. & Moattari, A. 2015. Phenotypic and molecular characterization of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates in Shiraz, Iran. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 48: 479-482.

*****

How to cite this article:

Khodavandi, P., Alizadeh, F., & Khodavandi, A. 2020. The multidrug resistance and production of extended-spectrum beta-lactamases *ctx-m*, *per* and *ver* in *Escherichia coli* isolates derived from raw dairy samples. Nova Biologica Reperta 7: 46-54. (In Persian).

خداوندی، پ.، علیزاده، ف. و خداوندی، ع. ۱۳۹۹. مقاومت چندگانه، اشرشیا کلی تولید کننده بتالاکتامازهای طیف گسترده *ctx-m*، *per* و *veb* جدا شده از فراورده‌های لبنی خام. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۷: ۵۴-۴۶.

[Downloaded from nbr.khu.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.1.1.3]

[DOI: 10.29252/nbr.7.1.46]