نشریه دامپزشکی
(پژوهش و سازندگی)
شماره ۹۹، تابستان ۱۳۹۲

بررسی حضور $O_{157}:H_7$ *E.coli* به روش PCR و ارزیابی مقاومت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام در *E. coli*های جداسازی شده از کبوترهای شهرکرد

• **حسین طهماسبی** (نویسنده مسئول)
دانشجوی دانشکده دامپزشکی و عضو پژوهشکده بیماری های مشترک انسان و دام دانشگاه شهرکرد
• **حسن ممتاز**
دانشیار گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد
• **محمد رفیعی دولت آبادی،** • **سارا براتی،** • **سمانه مهرابیان**
• **میلاد جعفری،** • **مهرداد خسروی فارسانی و** • **محمد قاسمی**
دانشجویان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد
• **سید وحید احمدی سالیانه**
دانشجوی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

تاریخ دریافت: آبان ماه ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: مهر ماه ۱۳۹۱
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۷۳۲۵۰۷۱
Email: h.Tahmasby@yahoo.com

چکیده

کبوترها می توانند حامل بعضی از عوامل بیماری زای انسانی باشند و در انتقال و گسترش عوامل عفونی مقاوم به دارو به انسان نقش ایفا کنند. با توجه به اینکه بسیاری از مردم به نگه داری از کبوتر علاقه مندند، در این مطالعه به روش PCR به جستجوی *E. coli* $O_{157}:H_7$ که عامل بیماری های روده ای انسانی و سندروم مرگبار اورمی همولیتیک در دنیا می باشد و همچنین ارزیابی مقاومت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام در اشرشیا کلی های جداسازی شده از کبوترهای شهرکرد پرداخته شد. مجموعاً ۱۸۰ نمونه مدفوعی از کبوتر از نقاط مختلف شهرکرد به وسیله ی سواب استریل جمع آوری گردید. سواب ها مستقیماً درون محیط آبگوشت تریپتون سوی (TSB) قرار داده شدند. در آزمایشگاه نمونه ها بر روی محیط های مکانکی آگار و مکانکی آگار سوربیتول دار حاوی مکمل سفکسیم و تلئوریت به عنوان محیط های انتخابی کشت داده شدند. سپس آزمون آنتی بیوگرام با استفاده از روش انتشار دیسک انجام شد. کلنی های مشکوک به *E. coli* $O_{157}:H_7$ به وسیله آزمون واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) مورد آزمون قرار گرفتند. *E. coli* از ۹۳ نمونه از ۱۸۰ نمونه (۵۱/۷ درصد) جداسازی شد. میزان مقاومت جدایه ها به آنتی بیوتیک های سفوتاکسیم، ایمیپنم، سفیکسیم، آموکسی سیلین، سفالکسین، پنی سیلین جی و اگزاسیلین به ترتیب ۱/۱، ۳/۲، ۸/۶، ۲۲/۶، ۴۰/۹، ۹۰/۳ و ۹۶/۷ درصد بود. در هیچ کدام از نمونه ها *E. coli* $O_{157}:H_7$ یافت نگردید. اگرچه کبوترها در این منطقه منبع یا حامل *E. coli* $O_{157}:H_7$ نبودند، اما *E. coli* های مقاوم به آنتی بیوتیک های بتالاکتام را در خود جای داده بودند و می توانند عامل مهمی در انتقال عفونت های مقاوم به دارو از کبوتر به انسان، خصوصاً کودکان تلقی شوند و خطری جدی برای سلامت انسان ایجاد نمایند. با توجه به آنچه ذکر گردید توصیه می شود که صاحبان کبوتر و همچنین عموم مردم را از خطرات بالقوه ی نگه داری از کبوتر آگاه ساخت.

کلمات کلیدی: *E. coli*، کبوتر، مقاومت به آنتی بیوتیک، PCR

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 99 pp: 8-14

Detection of *Escherichia coli* O157:H7 by PCR and evaluation of resistance to beta-lactam antibiotics in *Escherichia coli* isolated from pigeons in Shahrekord, Iran

By: Tahmasby, H. Student, Faculty of Veterinary Medicine and Member of Research Institute of Zoonotic Diseases, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran, (Corresponding Author; Tel: +989137325071), Momtaz, H. Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran, Rafiee Dolatabadi, M. Barati, S. Mehrabiyan, S. Jafari, M. Khosravi Farsani M. and Ghasemi, M. Student, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran, Ahmadi Salianeh, S.V. Student, Faculty of Pharmacy, Ahvaz Jondishapour University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

Received: November 2010 **Accepted: October 2012**

Pigeons can be carriers of some human pathogens and contribute to transmission and spread of drug resistant infectious agents to human. Considering many people's interests to keep pigeons, present study was conducted to PCR detection of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 that is responsible for outbreaks of human intestinal diseases and fatal haemolytic-uraemic syndrome worldwide and evaluation of resistance to beta-lactam antibiotics in *Escherichia coli* isolated from pigeons in Shahrekord. Altogether 180 samples of pigeon faeces were collected with sterile cotton swabs from different areas of Shahrekord, Iran. Swabs were placed directly into Tryptone Soya Broth (TSB). In the laboratory samples were streaked onto MacConkey agar and Cefixime Tellurite Sorbitol MacConkey agar as selective plating media. Antibiogram tests were then performed using disc diffusion method. Suspected colonies to *E. coli* O_{157}:H_7 were tested by polymerase chain reaction (PCR). E. coli was isolated from 93 (51.7%) of 180 the samples. Resistance of isolates to Cefotaxime, Imipenem, Cefixime, Amoxicillin, Cefalexin, Penicillin G and Oxacillin was 1.1%, 3.2% ,8.6% ,22.6% ,40.9% ,90.3% and 96.7% respectively. *E. coli* O_{157}:H_7 was not found in any samples. Although pigeons were not sources or carriers of *E. coli* O_{157}:H_7 in the region, they harbored beta-lactam antibiotics resistant *E. coli* and could be an important component of drug-resistant infections transmission from pigeons to human, especially kids and can pose a risk to human health. Considering of what mentioned it is recommended to make pigeons owners and general public aware of potential dangers of pigeons keeping.

Keywords: *Escherichia coli*, Pigeon, Antibiotic resistance, PCR

مقدمه

پرنـدگان زینتی از قبیـل کبوتر به صورت بالقوه مـی توانند به عنوان حامل بعضی از عوامل بیماری زای انسـانی نقش بازی کنند و این عوامل را در خود جای داده و به انسـان منتقل کنند. با این حال بسـیاری از مردم از پرندگان زینتی مراقبت کرده و به این ترتیب خود را در معرض بسـیاری از بیماری های مشترک باکتریایی، پروتوزوایی، قارچی، ویروسی یا انگلی قرار می دهند (۱۸).

در سـال های اخیر افزایش باکتری های مقـاوم به آنتی بیوتیک های مختلف تبدیل به یکی از نگرانی های اصلی مقامات سازمان بهداشت جهانی شـده اسـت. مقاومت باکتریایی که از طریق تولید بتالاکتامازهای وسـیع الطیـف در حال افزایش اسـت اخیرا به عنوان یک مشـکل درمانی جهانی مطرح گردیده اسـت (۵، ۶، ۱۵). بسـیاری از مطالعات انتقال نسبتاً سریع ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی (خصوصاً با منشا پلاسمیدی) بین سویه های *E. coli* را نشـان می دهند (۴، ۳۱). میـزان مقاومت آنتی بیوتیکی درپ *E. coli* به نقطه ای رسیده است که به عنوان چالش جدی درمانگاهی در انسان مطرح شده است.

E. coli، شـایع ترین میکروارگانیسـم فلور لوله گوارش انسان و سایر حیوانات اسـت ولی چند نوع بیماری زای آن بیمـاری های مختلفی را در انسـان ایجاد می نماید. در دهه گذشـته عفونت ناشی از *E. coli* $O_{۱۵۷}$ به عنوان یک بیماری نوپدید مشترک بین انسان و حیوان در آمریکای شمالی، اروپا و سایر نقاط دنیا معضلات بهداشتی زیادی به بار آورده است و هرچند تعداد بیماران نسـبت به عوامل بیماری زای روده ای دیگر نظیر سـالمونلا یا کمپیلوباکتر خیلی کمتر اسـت ولی مشـخص گردیـده که *E. coli* می تواند بیماری شـدید و مرگ آور ایجاد نماید. این ارگانیسـم برای اولین بار در سـال ۱۹۸۲ یعنی زمانی که باعث بروز دو اپیدمی کولیت هموراژیک با علائم کرامپ های شـکمی، اسهای آبکی بدون تب یا با تب خفیف گردید، به عنوان عامل بیماری زای انسانی شناخته شد. در سال ۱۹۸۳، Karmali و همکارانش (۱۷) ارتباط بین عفونت با نوعی *E. coli* که توکسـین شیگا تولید می کند (از جمله *E. coli* $O_{۱۵۷}$:$H_۷$) و سندروم همولیتیک اورمیک بعد از اسهال را که با آسیب حاد کلیوی، ترومبوستیوپنی و آنمی همولیتیک

میکروآنژیوپاتیک همراه است نشان داد (۲۶). مطالعات عمده ای که در زمینه بررسی آلودگی پرندگان از نظر آلودگی به *E.coli* $O_{157}:H_7$ در نقاط مختلف دنیا انجام شده است نشان دهنده ی شیوع متفاوت *E. coli* $O_{157}:H_7$ در پرندگان مناطق مختلف بوده است (۷، ۱۴، ۱۹، ۲۱، ۲۷، ۲۹، ۳۳، ۳۴).

در مطالعات صورت گرفته نشان داده شده است که در حیوانات اهلی و وحشی در تماس با فعالیت های انسانی، مقاومت آنتی بیوتیکی مشابه وجود دارد (۸، ۳۱). مطالعاتی که در زمینه بررسی آلودگی پرندگان مختلف از نظر آلودگی به *E.coli*های مقاوم به آنتی بیوتیک در نقاط مختلف دنیا انجام شده است نشان دهنده ی شیوع متفاوت *E. coli* در مناطق مختلف بوده است (۲، ۳، ۹، ۱۰، ۱۲، ۲۰، ۲۳، ۳۰). بنابراین با توجه به اینکه کبوترها نیز می توانند به عنوان مخزنی جهت ایجاد *E. coli*های جدید دارای ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی خصوصاً ژن های کدکننده ی بتالاکتازمازهای وسیع الطیف عمل کنند و در انتقال این مقاومت به انسان نقش داشته باشند، داشتن اطلاعات از وضعیت مقاومت داروئی در کبوترها و نقش آن ها در انتقال مقاومت داروئی به انسان ضروری به نظر می رسد.

پرندگان ممکن است میکروب های بیماری زا را از روده های خود به زنجیره غذایی منتقل کنند. به عنوان مثال پرندگان به محیط های فراوری مواد غذایی وارد می شوند یا سبزیجاتی که در محیط های باز رشد می کنند یا غذاهایی که در بازار آزاد فروخته می شوند را می توانند آلوده نمایند. همچنین پرندگان خانگی نیز به صورت بالقوه می توانند میکروب های بیماری زا را در خود جای داده و به صاحبان خود منتقل کنند (۱۸).

با توجه به علاقه ی بسیاری از مردم در نگه داری از کبوتر، همچنین امکان انتقال عوامل بیماری زا از قبیل *E. coli* $O_{157}:H_7$ توسط کبوتر و اینکه اطلاعات چندانی در مورد وضعیت مقاومت داروئی در کبوتر در کشور در دست نیست و نقش احتمالی کبوترها در انتشار و انتقال *E. coli*های مقاوم به آنتی بیوتیک به انسان در این منطقه در هاله ای از ابهام باقی مانده است، در این مطالعه که در کبوترهای شهرکرد صورت گرفت، به بررسی مقاومت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام در جدایه های *E. coli* و جستجوی مولکولی *E. coli* $O_{157}:H_7$ به عنوان مهم ترین عامل ایجاد اسهال به همراه خونریزی در میان سروتیپ های مختلف *E. coli* در انسان، پرداخته شد.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه

در این مطالعه که در زمستان سال ۱۳۸۹ و بهار سال ۱۳۹۰ صورت گرفت مجموعاً ۱۸۰ نمونه مدفوعی از کبوتر از نقاط مختلف شهرکرد به وسیله ی سواب استریل جمع آوری گردید.

جداسازی *E. coli*

سواب ها مستقیماً در محیط آبگوشت تریپتون سوی (TSB) (Merck، ساخت آلمان) قرار داده شدند و در آزمایشگاه بر روی محیط های مکانکی آگار و سوربیتول مکانکی آگار (Merck، ساخت آلمان) حاوی مکمل سفکسیم و تلئوریت به منظور ردیابی *E. coli* و *E. coli* O_{157} کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردیدند. پرگنه های مشکوک جدا شده در محیط TSB کشت داده شدند و آزمون های اندول، متیل رد، وگس پروسکوئر و سیترات (IMViC) بر روی نمونه های مشکوک انجام شد.

آزمون آنتی بیوگرام

جدایه های *E. coli* پس از کشت در محیط مولر هینتون آگار (Merck، ساخت آلمان)، برای تعیین میزان مقاومت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام با استفاده از آنتی بیوتیک های ایمیپنم، سفوتاکسیم، سفیکسیم، سفالکسین، آموکسی سیلین، پنی سیلین جی و اگزاسیلین (پادتن طب، ایران) مورد آزمون قرار گرفتند.

جست و جوی *E. coli* $O_{157}:H_7$

کنترل مثبت *E.coli* O۱۵۷:H۷ از کلکسیون باکتری های گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد تهیه گردید. جهت جست و جوی *E. coli* $O_{157}:H_7$ به وسیله ی PCR با استفاده از پرایمرهای درج شده در جدول ۱ که قبلاً توسط Paton و Paton (۱۹۹۸) و Ganon و همکاران (۱۹۹۷) به ثبت رسیده اند مورد آزمون قرار گرفتند (۱۳، ۲۲). PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر (۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X PCR ، ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$ ۵۰ میلی مولار، ۱ میکرولیتر dNTP ۱۰ میلی مولار، ۱/۵ واحد آنزیم Taq پلی مراز، ۱ میکرولیتر با غلظت ۱۰ میکرومولار از هر پرایمر، ۱ میکرولیتر DNA الگو) انجام شد. دماهای مورد استفاده در جدول ۱ درج شده است. در پایان محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز گردید.

نتایج

پس از کشت نمونه ها روی محیط های اختصاصی و انجام تست های بیوشیمیایی جهت تایید *E. coli*، *E. coli* از ۹۳ نمونه از ۱۸۰ نمونه (۵۱/۷ درصد) جداسازی گردید. در فصل زمستان نسبت به فصل بهار درصد بیشتری *E.coli* جداسازی شد (جدول۲). پس از انجام PCR روی نمونه های مشکوک به *E. coli* $O_{157}:H_7$، در هیچ کدام از نمونه ها *E. coli* $O_{157}:H_7$ یافت نشد. میزان مقاومت جدایه های *E.coli* به آنتی بیوتیک های سفوتاکسیم، ایمیپنم، سفیکسیم، آموکسی سیلین، سفالکسین، پنی سیلین جی و اگزاسیلین به ترتیب ۱/۱، ۳/۲، ۸/۶، ۲۲/۶، ۴۰/۹، ۹۰/۳ و ۹۶/۷ درصد بود.

کم اثرترین آنتی بیوتیک ها پنی سیلین جی و اگزاسیلین بودند که بیش از ۹۰ درصد جدایه های *E. coli* نسبت به آن ها مقاوم بودند. موثرترین آنتی بیوتیک ها سفوتاکسیم و ایمیپنم بودند که نسبت به آن ها مقاومت بسیار پایینی وجود داشت. ۹/۷ درصد (۹ از ۹۳) از جدایه ها به سفوتاکسیم و سفیکسیم (سفالوسپورین های نسل سوم) مقاوم بودند.

بحث

روند تولید آنتی بیوتیک های جدید در بازارهای جهانی بسیار کمتر از داروهای قلبی عروقی، اعصاب و روان و حتی داروهای شیمی درمانی است و شرکت های دارویی تمایل چندانی برای سرمایه گذاری روی آنتی بیوتیک ها ندارند چرا که دوره مصرف آنتی بیوتیک ها محدود بوده و دارای هزینه های

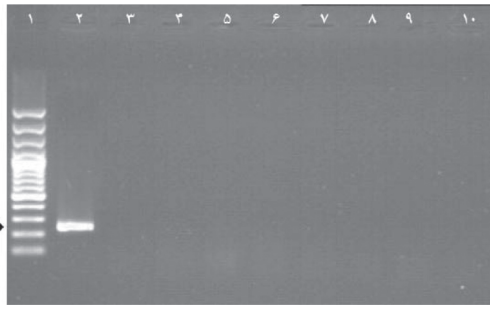
بسیار بالا در تولید هستند. مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها علاوه بر صرف هزینه های بالا و تحمیل عوارض، یکی از مهم ترین مشکلات یعنی مقاومت هـای میکروبی را ایجاد می کند. با توجه به اینکه کبوترها به صورت بالقوه می توانند در انتشـار و انتقال *E.coli*های مقاوم به آنتی بیوتیک به انسان نقش داشـته باشـند، اطلاع از وضعیت مقاومت های میکروبی و همچنین جلوگیری از مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها در درمان و یا پیشـگیری از بیماری در این پرنده ضروری به نظر می رسد.

در مطالعات انجام شده در نقاط مختلف دنیا وضعیت مقاومت به آنتی بیوتیکی در پرندگان مختلف متفاوت بوده به نحوی که در بعضی از مطالعات میزان بسـیار بالایی از مقاومت آنتی بیوتیکی (۲) و در بعضی دیگر شیوع پایین تری گزارش شده است (۳، ۹، ۱۰، ۱۲، ۲۰، ۲۳، ۳۰).

در مطالعـه ای که توسـط Aşkar و همکاران روی کبوترهای خانگی در ترکیه انجام شـد میزان بالایی از مقاومت آنتی بیوتیکی گزارش گردید، بیشـترین مقاومت جدایه های *E.coli* در برابر آمپی سـیلین- سولباکتام (۷۰ درصد)، اکسـی تتراسـایکلین (۶۴ درصد) و نالیدیکسیک اسید (۴۹ درصد) مشـاهده شـد (۲). Silva و همکاران در مطالعه ای که در برزیل روی جدایـه های *E.coli* ایجادکننده ی اسـهال جدا شـده از کبوترهای شـهری انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که ۳۷/۹ درصد از آن ها نسبت به حداقل یکی از آنتی بیوتیک های تسـت شده مقاوم بودند. در این میان آمیکاسـین با ۳۶/۸ درصد مقاومت دارای کمترین مقاومت بود. اما خلاف مطالعه ی ما که نسبت به سفالوسپورین های نسل سوم ۹/۷ درصد مقاومت وجود داشـت، در مطالعه ی Silva و همکاران نسـبت به سفتریاکسون و سفتازیدیم (سفالوسپورین های نسل سوم) هیچ مقاومتی دیده نشد (۳۰). در گزارشـی دیگر در *E. coli*های جدا شده از کبوترهای چک و اسلواکی ۱/۵ درصد مقاومت آنتی بیوتیکی مشـاهده گردیـد (۲۳). Dolejská و همـکاران در مطالعـه ای که روی *E. coli*های جدا شـده از مرغ نوروزی سـر سـیاه انجام دادند اعلام کردند که ۲۹/۹ درصد از گونه های اشریشیا کلی جدا شـده نسبت به آنتی بیوتیک ها مقاوم بودند. همه ی گونه هایی که مقاومت در آن ها ایجاد شده بود حداقل به یک آنتی بیوتیک یا بیشتر مقاوم بودند. در میان آنتی بیوتیک های مورد آزمون قرار گرفته، بیشترین مقاومت نسـبت به تتراسـایکلین (۱۹/۱درصد) و کمترین مقاومت نسبت بـه کلرامفنیکل (۱/۹ درصد) وجود داشـت (۱۰). در مطالعه ای دیگر که در شـمال شرقی چکوسـلواکی انجام شـد ۲۸ درصد از *E.coli*های جدا شـده از مرغ نوروزی نسـبت به آنتـی بیوتیک ها مقاوم بودنـد. در میان آنتی بیوتیک های مورد آزمون قرار گرفته، بیشـترین مقاومت نسبت به تتراسـایکلین (۲۲ درصد) وجود داشـت اما خلاف مطالعه ی ما نسبت به سفتریاکسـون و سفتازیدیم (سفالوسپورین های نسل سوم) هیچ مقاومتی دیده نشـد (۹). در مطالعه ای که در فرانسـه بر روی انتقال *E.coli*های تولیدکننده ی بتلاکتاماز بین انسـان و مرغ نوروزی پنجه زرد انجام شـد، اعـلام گردید که ۴۷/۱ درصد از ایزوله هـا حداقل به یک آنتی بیوتیک یا بیشـتر مقاوم بودند. بیشترین مقاومت نسـبت به تتراسایکلین و کمترین مقاومـت نسـبت به نالیدیکسـیک و کلرامفنیـکل وجود داشـت (۳). در

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده (۲۲، ۱۳)

اندازه محصول	منبع	سیکل	گسترش	دمای Anealing	واسرشت	توالی پرایمرها	پرایمرها
bp ۲۵۹	۲۲	۳۵	۷۲ °C ۶۰ S	۵۵ °C ۶۰ S	۹۴ °C ۶۰ S	F: ۵′ CGGACATCCATGTGATATGG ۳′ R: ۵′ TTGCCTATGTACAGCTAATCC ۳′	O۱۵۷
bp ۶۲۵	۱۳	۳۵	۷۲ °C ۱۵ S	۶۰ °C ۶۵ S	۹۴ °C ۱۵ S	F: ۵′ GCGCTGTCGAGTTCTATCGAGC ۳′ R: ۵′ CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC ۳′	fliC H۷



شکل ۱- تصویر الکتروفورز ژل آگارز جستجوی *E. coli* O_{157}:H_7 ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ۲: کنترل مثبت (۲۵۹ جفت باز)، ۳: کنترل منفی، ۴ تا ۱۰: نمونه های مشکوک مورد آزمون قرار گرفته.

جدول۲- وضعیت آلودگی به *E. coli* و میزان مقاومت به آنتی بیوتیک های مورد آزمون گرفته به تفکیک فصل در کبوترهای شهرکرد

فصل نمونه گیری	تعداد	جدایه های *E. coli*		میزان مقاوت به آنتی بیوتیک های بتالاکتام (درصد)						
		تعداد	درصد	ایمیپنم	سفوتاکسیم	سفیکسیم	آموکسی سیلین	سفالکسین	پنی سیلین جی	اگزاسیلین
بهار	۱۲۰	۵۸	۴۸/۳	۵/۸	۰	۵/۲	۲۴/۱	۵۱/۷	۹۶/۵	۹۸/۳
زمستان	۶۰	۳۵	۵۸/۳	۰	۲/۸	۱۴/۳	۲۰	۲۲/۸	۸۰	۹۴/۳
مجموع	۱۸۰	۹۳	۵۱/۷	۳/۲	۱/۱	۸/۶	۲۲/۶	۴۰/۹	۹۰/۳	۹۶/۷

مطالعه ای که در آلمان بر روی مرغابی وحشی انجام شد در جدایه های *E. coli* بیشترین مقاومت نسبت به آموکسی سیلین، آمپی سیلین، تتراسایکلین و سولفونامیدها گزارش گردید (۱۲). Literák و همکاران در مطالعه ای که روی *E. coli*های مقاوم در برابر آنتی بیوتیک جدا شده از کلاغ های روسی انجام دادند، مشاهده کردند که ۱۳/۷ درصد از ایزوله ها به آنتی بیوتیک های تست شده مقاوم بودند و بیشترین مقاومت در برابر تتراسایکلین وجود داشت (۷/۶ درصد نمونه ها) و هیچ کدام از نمونه های جداشده ی *E. coli* نسبت به سفالوتین، سفتازیدیم و سفتریاکسون مقاوم نبودند (۲۰).

در این مطالعه *E. coli*هایی که از کبوتر جداسازی گردید مقاومت بالای آنتی بیوتیکی را نشان داد. بیشتر جدایه ها مقاومت به چندین آنتی بیوتیک را از خود نشان دادند. این مسئله احتمال اینکه این پرندگان به عنوان مخزن باکتری مقاوم به ضد میکروب ها و یا ژن های کدکننده ی بتالاکتامازهای مختلف عمل کنند را به میزان زیادی افزایش می دهد. این جدایه های مقاوم، به عنوان مشکلی جدی می توانند مطرح باشند چون گزینه های درمانی علیه عفونت های انسانی و حیوانی را محدود می کنند (۲۵).

این مطالعه نشان می دهد که کبوترها با *E. coli*های مقاوم به آنتی بیوتیک های بتالاکتام می توانند آلوده شوند که این مسئله می تواند بازتاب تماس مستقیم یا غیرمستقیم با فعالیت های انسانی در منطقه ای با مصرف نسبتاً بالای آنتی بیوتیک و استفاده بدون نظارت و بی رویه از آنتی بیوتیک های مختلف جهت درمان و یا پیشگیری از بیماری در این پرنده ها باشد و یا نشان دهنده ی حضور چنین جدایه هایی در غذا یا آبی است که از آن تغذیه می کنند.

E.coli O_{157}:H_7 برجسته ترین و نخستین سروتیپ شناخته شده در تحت گروه *E. coli* خونریزی دهنده روده ای و عامل کولیت خونریزی دهنده و سندرم اورمی همولیتیک می باشد. این باکتری از جمله باکتری هایی است که توجه محققان و دست اندرکاران بهداشتی را به خود معطوف کرده است. با توجه به اینکه عامل اصلی انتشار و مخزن اصلی *E.coli* O_{157}:H_7، گاو و محصولات غذایی با این منشا است بیشتر مطالعات و گزارش های موجود مربوط به آلودگی این محصولات بوده (۱۱، ۲۴، ۳۲) شیوع این پاتوژن در گوشت و محصولات حاصل از گوشت گاو بین ۱ تا ۲۷/۸ درصد گزارش شده است (۲۴).

مطالعات مختلف نتایج متفاوتی را از میزان شیوع سروتیپ *E.coli* O_{157}:H_7 در پرندگان نشان می دهند چنانچه در مطالعه ی Santaniello و همکاران ۵۰۴ نمونه ی سواب کلواک کبوتر از شهر ناپولی ایتالیا جمع آوری گردید که در این بین ۴ نمونه آلوده به O_{157}:H_7 یافت شد (۲۷). همچنین Shere و همکاران از ۹۹ پرنده ی مورد بررسی در حوالی کارخانه های تولیدکننده مواد لبنی در ایالت ویسکونسین آمریکا در یک کبوتر آلودگی به O_{157}:H_7 یافتند (۲۹). در مطالعه ای دیگر در استان فوجیان چین شیوع O_{157} در حیوانات مختلف مورد بررسی قرار گرفت، طی این تحقیق این پاتوژن از کبوتر نیز جداسازی گردید (۷). در بررسی کبوتر های وحشی کالیفرنیای آمریکا (۲۰۱۰) میزان آلودگی به *E.coli* O_{157}:H_7، ۵ درصد گزارش گردید (۱۶). در مطالعه LeJeune و همکاران بر روی پرستوهای اروپایی میزان ۳ درصد از نمونه ها به O_{157}:H_7 آلوده بودند (۱۹).

اما مشابه با بعضی از مطالعات دیگر، نتایج این مطالعه نیز عدم وجود *E.coli* O_{157}:H_7 را در کبوترهای منطقه ی مورد بررسی قرار گرفته، نشان می دهد. به عنوان مثال در مطالعه ای که در پرندگان زینتی یزد (۲۰۱۱) صورت گرفت هیچ نمونه ی آلوده به *E. coli* O_{157} یافت نشد (۳۳). Apun و همکاران در سال ۲۰۱۱ در استان ساراواک مالزی ۱۰۵ پرنده از گونه های مختلف را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که پرندگان استان ساراواک حامل *E. coli* O_{157} نیستند (۱). در مطالعه ای که در یکی از استان های چین صورت گرفت (۲۰۱۱) در کبوترهای مورد بررسی هیچ نمونه ی آلوده به *E. coli* O_{157} یافت نشد (۲۸). طی مطالعه ای که توسط Morabito و همکاران در ایتالیا بر روی نمونه های مدفوعی کبوتر صورت گرفت *E. coli* شیگاتوکسین زا در ۷۰ نمونه از ۶۴۹ نمونه ای که مورد بررسی قرار گرفته شده بود یافت شد اما سروتیپ *E. coli* O_{157} در هیچ کدام یک از نمونه های مورد بررسی یافت نگردید (۲۱). در مطالعه ای نیز که در ژاپن صورت گرفت ۱۰۸ نمونه مورد بررسی قرار گرفت اما همه ی نمونه ها نسبت به *E. coli* O_{157} منفی بودند (۳۴) و طی تحقیقی که در سال ۲۰۰۹ روی پرستوهای وحشی اروپایی صورت گرفت نیز سروتیپ *E. coli* O_{157} در هیچ کدام یک از نمونه های مورد بررسی یافت نگردید (۱۴).

اگرچه در نمونه های اخذ شده *E.coli* O_{157}:H_7 یافت نشد، اما ممکن است سروتیپ های اسهال‌زای دیگری از *E. coli* در میان نمونه های اخذ

شده از این پرندگان وجود داشته باشد که در این زمینه بررسی های بیشتر توصیه می گردد.

مشابه با بعضی از مطالعات پیشین در ایران (۳۳) و سایر کشورها (۱، ۲۱، ۲۸، ۳۴)، نتایج این مطالعه نیز عدم وجود *E.coli* O_{157}:H_7 را در کبوترهای این منطقه نشان می دهد. بنابراین به نظر می رسد که نمی توان کبوترهای این منطقه را به عنوان منبع یا حامل *E.coli* O_{157}:H_7 تلقی نمود.

از علل عدم آلودگی به *E.coli* O_{157}:H_7 در این مطالعه شاید بتوان این مسئله را ذکر کرد که سطح بهداشتی وضعیت تغذیه ای و محیط زندگی در کبوترهای خانگی نسبت به سایر پرندگان در میزان بالاتری قرار دارد احتمالا این مسئله بر نتایج به دست آمده در این مطالعه موثر بوده است.

نتیجه گیری

با توجه به مقاومت بالای جدایه های *E. coli* در این مطالعه در برابر آنتی بیوتیک های مورد آزمون قرار گرفته و خطر جدی که می تواند سلامت مردم را در اثر نگه داری از کبوترها تهدید کند، باید به صاحبان کبوترها و همچنین عموم مردم در مورد نحوه ی ارتباط با کبوتر و عدم استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها در درمان بیماری های کبوتر آموزش های لازم داده شود و آن ها را از خطرات احتمالی نگه داری از این پرنده ها مطلع نمود. همچنین اگرچه نمی توان کبوترهای این منطقه را به عنوان منبع یا حامل *E.coli* O_{157}:H_7 تلقی نمود اما ممکن است که کبوترهای این منطقه، حامل سایر سروتیپ های بیماری زای *E. coli* باشند که با توجه به این مسئله تحقیقات بیشتر در این زمینه توصیه می گردد.

منابع مورد استفاده

1- Apun, K., Kho, K.L., Chong, Y.L., Hashimatul, F.H., Abdullah, M.T., Rahman, M.A., Lesley, M.B., Samuel, L. (2011) Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in wildlife from disturbed habitats in Sarawak, Malaysia. *Research Journal of Microbiology*. 6 (2): 132-139.

2- Aşkar, Ş., Sakarya, F., Yıldırım, M. (2011) The potential risk in epizootiology of bacterial zoonozis: Pigeon (*Columba livia domestica*) feces. Kafkas Univ, *Vet Fak Derg*. 17: 1-4.

3- Bonnedahl, J., Drobni, M., Gauthier-Clerc, M., Hernandez, J., Granholm, S., Kayser, Y., Melhus, Å., Kahlmeter, G., Waldenström, J., Johansson, A., Olsen, B. (2009) Dissemination of *Escherichia coli* with CTX-M Type ESBL between Humans and yellow-legged gulls in the south of France. *PLoS One.* 18;4(6):e5958.

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

5- Bush, K. (2008) Extended-spectrum b-lactamases in North America, 1987–2006. *Clinical Microbiology and Infection*. 14: 134–143.

6- Canto´, N.R, Novais, A., Valverde, A., Machado, E., Peixe, L., Baquero, F., Coque, T.M. (2008) Prevalence and spread of extended-spectrum b-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clinical Microbiology and Infection.* 14: 144–153.

7- Chen, K., Guo, W., Cheng, F., Lin, C., Lin, J., Dong, X. (2000) Investigation on *E. coli* O157 in Fujian, China. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 34(3): 156-8.

8- Costa, D., Poeta, P., Saenz, Y., Vinue, L., Rojo-Bezares, B., Jouini, A., Zarazaga, M., Rodrigues, J., Torres, C. (2006) Detection of *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases of the CTX-M, TEM and SHV classes in faecal samples of wild animals in Portugal. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 58: 1311–1312.

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

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

11- Elder, R.O., Keen, J.E., Siragusa, G.R., Barkocy-Gallagher, G.A., Koohmaraie, M. (2000) Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides and carcasses of beet cattle during processing. *National Academy of Sciences.* 97:2999-3003

12- Ewers, C., Guenther, S., Wieler, L.H., Schierack, P. (2009) Mallard ducks – a waterfowl species with high risk of distributing *Escherichia coli* pathogenic for humans. *Environmental Microbiology Representative*. 1: 510–517.

13- Gannon, V.P., D'Souza, S., Graham, T., King, R.K., Rahn, K., Read, S. (1997) Use of the flagellar H7 genes as a target in multiplex PCR assay and improved specificity in identification of enterohemorrhagic *E. coli* strains. *Journal of Clinical Microbiology*. 35(3): 656-662.

14- Gaukler, S.M., Linz, G.M., Sherwood, J.S., Dyer, N.W., Bleier, W.J., Wannemuehler, Y.M., Nolan, L.K., Logue, C.M. (2009) *Escherichia coli*, Salmonella, and *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in Wild European Starlings at a Kansas Cattle Feedlot. *Avian Diseases*. 53: 544-551.

15- Hawkey, P.M. (2008) Prevalence and clonality of extendedspectrum b-lactamases in Asia. *Clinical Microbiology and Infection.* 14: 159–165.

16- Jay, M.T., Atwill, E.R., Cooley, M., Carychao, D., Vivas, E., Chandler, S., Orthmeyer, D., Li, X., Mandrell, R.E. (2010) *Occurrence of Escherichia coli O_{157}:H_7 in wildlife populations in a major produce production region in california.* 110th General Meeting of the American Society for Microbiology. San Diego, California. 23-27.

17- Karmali, M.A., Steele, B.T., Petric, M., Lim, C. (1983) Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *E. coli* in stools. *Lancet*. 1:619-20

18- Krauss, H., Weber, A., Appel, M., Enders, B., Isenberg, H.D., Schiefer, H.G., Slenczka, W., Von Graevenitz, A., Zahner, H. (2003) *Zoonoses: Infectious diseases transmissible from animals to humans*. 3rd ed. Washington DC: American Society for Microbiology Press.

19- LeJeune, J., Homan, J., Linz, G., Pearl, D. (2008) *Role of the European starling in the transmission of E. coli* O_{157} *on dairy farms.* Proceedings of the 23th Vertebrate Pest Conference. Published at University of California, Davis: 31-34.

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

21- Morabito, S., Dell'Omo, G., Agrimi, U., Schmidt, H., Karch, H., Cheasty, T., Caprioli, A. (2001) Detection and characterization of shiga toxinproducing *Escherichia coli* in feral pigeons. *Veterinary Microbiology.* 82: 275-283.

22- Paton, A.W., Paton, J.C. (1998) Detection an characterization of shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assay for stx1, stx2, eae A, enterohemorrhagic *E. coli* hlyA, rfbO111 and rfbO_{157}. *Journal of Clinical Microbiology*. 36: 598-602.

23- Radimersky, T., Frolkova, P., Janoszowska, D., Dolejska, M., Svec, P., Roubalova, E., Cikova, P., Cizek, A., Literak, I. (2010) Antibiotic resistance in faecal bacteria (*Escherichia coli*, Enterococcus spp.) in feral pigeons. *Journal of Applied Microbiology*. 109(5):1687-95.

24- Reid, C.A., Small, S.M., Avery, S., Buncic, S. (2002) Presence of food borne pathagens on cattle hides. *Food Control.* 13:411-415

25- Rice, L.B. (2009) The clinical consequences of antimicrobial resistance. *Current Opinion in Microbiology.* 12:476–481.

26- Riley, I.W., Remis, R.S., Helgerson, S.D. (1983) Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New England Journal of Medicine*. 308:681-685.

27- Santaniello, A., Gargiulo, A., Borrelli, L., Dipineto, L., Cuomo, A., Sensale, M., Fontanella, M., Calabria, M., Musella, V., Menna, L.F., Fioretti, A. (2007) Survey of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O_{157}:H_7 in urban pigeons (*Columba livia*) in the city of Napoli, Italy. *Italian Journal of Animal Science.* 6: 313-316.

28- Shen, J., Song, C., Tao, J., Wang, Y., Ji, J., Luo, H. (2011) The intestinal bleeding *E. coli* O_{157}:H_7 animal host carrier situation survey of Xishuangbanna state. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*. 6: 1515-1516.

29- Shere, J.A., Bartlett, K.J., Kaspar, C.W. (1998). Longitudinal Study of *Escherichia coli* O157:H7 dissemination on four dairy farms in wisconsin. *Applied and Environmental Microbiology*. 64(4): 1390-99.

30- Silva, V.L., Nicoli, J.R., Nascimento, T.C., Diniz, C.G. (2009) Diarrheagenic *Escherichia coli* strains recovered from urban pigeons (*Columba livia*) in Brazil and their antimicrobial susceptibility patterns. *Current Microbiology*. 59(3):302-8.

31- Sorum, H., Sunde, M. (2001) Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Veterinary Research.* 32: 227–241.

32- Stampi, S., Caprioli, A., De Luca, G., Sacchetti, R., Quaglio, P., Zanetti, F. (2004) Detection of *Escherichia coli* O_{157} in bovine meat products in northern Italy. *International Journal of Food Microbiology* 22:241-245.

33- Tahmasby, H., Momtaz, H., Salehi, N., Rafiee Dolatabadi, M., Yektaneh, F. (2011) Prevalence of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 in pet birds in Yazd, Iran. *Pejouhandeh*. 16(5):252-5.

34- Tanaka, C., Miyazawa, T., Watarai, M., Ishiguro, N. (2005) Bacteriological survey of feces from feral pigeons in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*. 67: 951-953.