دوره سیزدهم ـ شماره ۴ ـ زمستان ۱۳۹۶
10.22055/ivj.2017.37287.1618

بررسی مقاومت فنوتیپی و ژنوتیپی *اشریشیاکلی* جدا شده از جوجه‌های گوشتی شهرستان ارومیه به سولفونامید

سینا مجاوررستمی[۱]، ابوالفضل غنی‌ئی[۲*] و وحید محمدی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۲۲

چکیده

کلی باسیلوز یکی از بیماری‌های مهم صنعت طیور است. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، مهم‌ترین روش درمانی و کنترلی این بیماری است. یکی از نکات اساسی در انتخاب دارو، بررسی حساسیت باکتری جدا شده نسبت به آنتی‌بیوتیک مصرفی می‌باشد. در این مطالعه، مقاومت فنوتیپی تعداد ۴۴ جدایه باکتری از جوجه‌های گوشتی شهرستان ارومیه با نشانه‌های کلی سپتی سمی نسبت به آنتی‌بیوتیک سولفادیازین به روش انتشار در دیسک و مقاومت ژنوتیپی آن‌ها با استفاده از واکنش زنجیره‌ی پلی‌مراز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۲۰ جدایه (۴۵/۵ درصد) به سولفادیازین مقاوم بودند و ۲۵ جدایه (۵۶/۸ درصد) دارای ژن *Sul1* بودند. همچنین پنج جدایه که حامل ژن *Sul1* بودند در بررسی فنوتیپی مقاومتی از خود نشان ندادند. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که مقاومت جدایه‌های *اشریشیاکلی* در شهرستان ارومیه نسبت به سولفونامیدها بالا است و ژن *Sul1* نقش مهمی در بروز مقاومت نسبت به سولفونامیدها دارد.

کلمات کلیدی: *اشریشیاکلی*، سولفادیازین، آنتی بیوگرام، *Sul1*، ارومیه

مقدمه

کلی‌باسیلوز یکی از مهم‌ترین بیماری‌های صنعت طیور است که توسط سویه‌های مختلف *اشریشیاکلی* ایجاد می‌شود (Nolan et al. 2013). داروهای ضد باکتریایی به طور گسترده برای کاهش خسارات ناشی از کلی باسیلوز در ماکیان استفاده شده‌اند. همگام با مصرف داروهای ضدمیکروبی، مقاومت پیش رونده‌ای ایجاد شده است. مبنای ژنتیکی بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشخص می‌باشد و معمولاً بین یک گونه یا بین انواع مختلف باکتری‌ها با اجزای ژنتیکی مثل پلاسمید، اینتگرون‌ها و ترانسپوزون‌ها قابل انتقال است (Lanz et al. 2003). نگرانی از مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها به خصوص مقاومت چند دارویی (Multidrug resistance) و پتانسیل دریافت فاکتورهای مقاومت توسط باکتری‌های انسانی از باکتری‌های حیوانات، باعث تغییر در روش استفاده از داروی ضدمیکروبی برای درمان کلی‌باسیلوز در ماکیان شده است (Singer and Hofacre 2006).

سولفونامیدها از سال‌ها قبل به عنوان یک ترکیب ضدمیکروبی مؤثر و ارزان قیمت سنتتیک در طب انسانی و دامی مصرف می‌شوند. اولین بار از سولفونامیدها (پرونتوسیل) در سال ۱۹۳۵ استفاده شد (Rogers 2011). سولفونامیدها با تداخل در سنتز اسید فولیک در باکتری‌ها عمل می‌کنند (Skold 2001).

سولفونامیدها جزو نخستین داروهایی بودند که برای سرکوب عفونت‌های باکتریایی استفاده شدند، اما به

[۱] دانش‌آموخته‌ی دکترای حرفه‌ای، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
[۲*] استادیار گروه بیماری‌های طیور، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه ارومیه E-mail: A.ghaniei@urmia.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)
[۳] استادیار گروه بیماری‌های داخلی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

سرعت داروهای دیگری مانند پنی‌سیلین جای آن‌ها را گرفتند که بخشی از آن به دلیل ظهور باکتری‌های مقاوم به سولفونامید بود. دلیل اصلی بروز مقاومت در باکتری‌های گرم منفی، حضور عواملی در پلاسمیدهای R می‌باشد. در خانواده انتروباکتریاسه، مقاومت با واسطه‌ی پلاسمید نسبت به سولفونامیدها توسط ژن‌های خانواده *Sul* کد می‌شود (Radstrom et al. 1991). سه ژن *sul1* *sul2* و *sul3* ژن‌های کدکننده‌ی مقاومت نسبت به سولفونامیدها هستند (Soufi et al. 2011). ژن *Sul1* قسمتی از اینتگرون کلاس ۱ است که شایع‌ترین اینتگرون جدا شده از آنتروباکتریاسه‌ها است به همین علت ژن *Sul1* بارزترین نقش را در ایجاد مقاومت نسبت به سولفونامیدها دارد (Carattoli 2001).

سولفونامیدها از داروهای مؤثر در صنعت طیور در درمان عفونت‌های باکتریایی و انگلی می‌باشند که بروز مقاومت‌های دارویی مصرف آن‌ها را با محدودیت مواجه کرده است. هدف از انجام این مطالعه بررسی فراوانی ژن مقاومت *Sul1* در جدایه‌های *اشریشیاکلی* از جوجه‌های گوشتی مبتلا به کلی‌باسیلوز در شهرستان ارومیه و مقایسه‌ی میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به سولفونامیدها در سطح فنوتیپی و ژنوتیپی جدایه‌های باکتریایی می‌باشد.

مواد و روش کار

تعداد ۴۴ جدایه باکتری در زمستان ۱۳۹۳ و بهار ۱۳۹۴ از ۳۰ گله گوشتی واقع در شهرستان ارومیه با نشانه‌های کلی سپتی سمی جدا گردید. نمونه‌ها از خون، قلب و کبد گرفته شد.

جهت بررسی میکروب شناسی، نمونه‌های برداشته شده روی محیط مک کانکی (مرک آلمان) کشت داده شد. سپس تک پرگنه‌های رشد یافته لاکتوز مثبت (صورتی رنگ) جهت خلوص بیش‌تر دوباره در این محیط کشت داده شد. کلونی‌های مورد نظر به محیط‌های افتراقی بیوشمیایی جهت تایید هویت آن‌ها به عنوان باکتری *اشریشیاکلی*، برده شدند. آزمایش‌های تشخیص تفریقی IMViC (ایندول، متیل رد، وژوس پرسکوور و سیترات) و تست اوره انجام گرفت. نتیجه‌ی تست IMViC برای شناسایی باکتری *اشریشیاکلی* به صورت – – + + (از چپ به راست) و تست اوره منفی بود همچنین هیدروژن سولفید نیز تولید نکرد (Quinn et al. 2011).

برای انجام آزمایش حساسیت ضدمیکروبی ابتدا از تمام جدایه‌های باکتری *اشریشیاکلی* سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ واحد مک فارلند (1.5×10^8 CFU/ml) تهیه گردید. برای انجام آنتی‌بیوگرام، محیط مولر هینتون (مرک آلمان) مطابق دستورالعمل سازنده تهیه شد. سپس با سوآپ استریل از باکتری کشت داده شده، بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. در مرحله‌ی بعد دیسک‌گذاری با استفاده از دیسک آنتی-بیوتیک سولفادیازین (۳۰۰ میکروگرم) شرکت پادتن طب انجام شد. پلت‌ها ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه‌ی انکوبه شده و سپس قطر منطقه‌ی مهاری اندازه‌گیری شد. قطر منطقه‌ی مهاری کم‌تر از ۱۲ میلی‌متر به عنوان مقاوم، قطر منطقه‌ی مهاری ۱۳ تا ۱۶ میلی‌متر به عنوان متوسط و قطر منطقه‌ی مهاری بیش‌تر از ۱۷ میلی‌متر به عنوان حساس قلمداد گردید (CLSI 2007).

بعد از تایید تشخیص نمونه‌هایی که روی محیط مک کانکی آگار رشد کرده بودند، یک کلونی از هر نمونه به محیط لوریا برتانی (مرک آلمان) منتقل شد و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت انکوبه شد. سپس از روش جوشاندن برای استخراج کل ژنوم باکتری استفاده شد. از هر نمونه ۱/۵ میلی‌لیتر به دو میکروتیوب منتقل شد. میکروتیوب‌ها با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از دور ریختن مایع رویی به پلت‌های باقی‌مانده در هر میکروتیوب مقدار ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل افزوده شد. بعد از ورتکس کردن، محتویات دو میکروتیوب با هم مخلوط شد. سپس میکروتیوب‌ها در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و به مدت پنج دقیقه انکوبه شدند. بعد از آن نمونه‌ها با

سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت پنج دقیقه دوباره سانتریفیوژ شدند. مایع رویی که حاوی ژنوم استخراج شده است به میکروتیوب دیگری منتقل شده و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند (Cattoir et al. 2007).

برای تکثیر قطعه‌ی مورد نظر از آغازگرهای *Sul1* استفاده شد (جدول ۱). واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتری شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر 10XPCR (غلظت 1X)، ۱/۲۵ میکرولیتر از کلرید منیزیم (غلظت ۲/۵ میلی-مول)، ۱ میکرولیتر از پرایمرهای رفت و برگشت (غلظت ۰/۴ میکرومولار)، ۰/۵ میکرولیتر از آنزیم Taq DNA polymerase (۱/۲۵ واحد)، ۰/۵ میکرولیتر از dNTP (غلظت ۰/۲ میلی‌مول)، ۱۶/۵ میکرولیتر آب دیونیزه و ۲ میکرولیتر از DNA استخراجی انجام شد. در واکنش کنترل منفی از آب دیونیزه به عنوان الگو استفاده شد. نمونه کنترل مثبت نیز از گنجینه باکتریایی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. برنامه‌ی حرارتی واکنش تکثیری شامل یک چرخه‌ی دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه و تعداد ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی-گراد به مدت یک دقیقه، چسبیدن پرایمر به مولکول DNA در دمای ۴۷ درجه به مدت ۹۰ ثانیه و در نهایت مرحله‌ی گسترش در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و یک چرخه‌ی نهایی گسترش رشته DNA در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ده دقیقه در ترموسایکلر (Eppendorf, Germany) انجام گرفت.

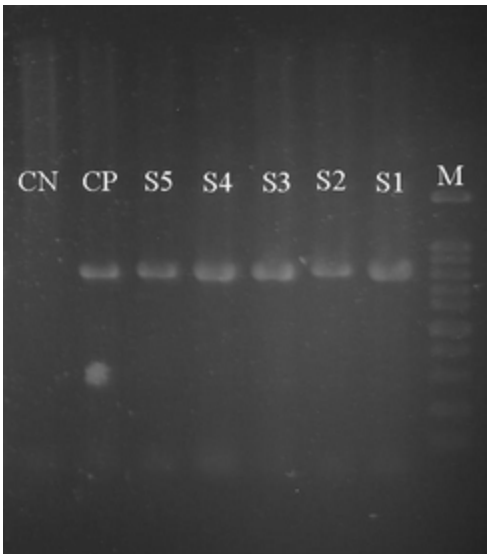
جدول ۱: توالی پرایمر مورد استفاده در مطالعه‌ی حاضر و اندازه‌ی قطعه‌ی تکثیری

نام پرایمر	اندازه قطعه محصول (جفت باز)	توالی	منبع
Sul1- F	۸۲۲	TTCGGCATTCTGAATCTCAC	Van et al. 2008
Sul1-R		ATGATCTAACCCTCGGTCTC	

پس از اتمام واکنش، محصول PCR روی ژل آگارز (سیناکلون، ایران) یک درصد منتقل و الکتروفورز گردید و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، با استفاده از دستگاه مستندساز ژل ترانس ایلومیناتور (کیاژن، ایران) ژل بررسی و عکس‌برداری انجام شد. در نهایت نتایج حاصل از واکنش تکثیری ژن *sul1* با نتایج حاصل از تست حساسیت ضدمیکروبی مقایسه گردید.

نتایج

از تعداد ۴۴ جدایه *اشریشیاکلی* که هویت آن‌ها بر اساس نتایج حاصل از کشت میکروبی و تست‌های بیوشیمیایی تایید شده بود، ۲۰ جدایه (۴۵/۵ درصد) در تست آنتی‌بیوگرام نسبت به سولفادیازین مقاومت نشان دادند. قطر منطقه‌ی مهاری ۳ جدایه (۶/۸ درصد) در حالت متوسط بود و ۲۱ جدایه (۴۷/۷ درصد) نیز نسبت به آنتی‌بیوتیک سولفادیازین حساسیت نشان دادند. بررسی فراوانی ژن مقاومت *sul1* در جدایه‌های مورد بررسی تا حدی متفاوت بود و ۲۵ نمونه (۵۶/۸ درصد) مثبت بودند (شکل ۱). تمامی نمونه‌هایی که در تست آنتی بیوگرام نسبت به سولفادیازین مقاوم بودند، از نظر ژن *Sul1* مثبت بودند. از بین ۲۵ نمونه‌ای که از لحاظ ژنوتیپی مثبت بودند، ۲۰ نمونه در تست فنوتیپی نیز مقاومت به سولفادیازین را نشان دادند، قطر منطقه‌ی مهاری ۱ جدایه در حد متوسط و قطر منطقه‌ی مهاری ۴ جدایه در محدوده‌ی حساس قرار گرفت.



شکل ۱: محصول PCR ژن *Sul1* در جدایه‌های باکتری *اشریشیاکلی* بارگذاری شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد؛ M: نشانگر ۱۰۰ جفت بازی (سیناکلون، ایران)؛ S1، S2، S3، S4 و S5 نمونه‌های مثبت؛ CP: کنترل مثبت؛ CN: کنترل منفی.

بحث

آنتی‌بیوتیک‌ها به طور وسیع برای درمان و پیش‌گیری از بیماری‌ها در حیوانات استفاده می‌شود. هر چند در سالیان اخیر استفاده از آن‌ها به عنوان محرک رشد محدود شده است. در اثر استفاده وسیع از آنتی بیوتیک‌ها، باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها ظاهر می‌شوند. امروزه گزارش‌های زیادی وجود دارد که بیان می‌کند مقاوم شدن *اشریشیاکلی* به آنتی‌بیوتیک‌ها به مشکل جهانی تبدیل شده است (Wang et al. 2012). مقاومت به سولفونامیدها یکی از مهم‌ترین و گسترده‌ترین مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی شناخته شده است که در طول زمان توسعه‌ی بیش‌تری هم پیدا کرده است. مقاومت به این آنتی‌بیوتیک‌ها اولین بار در انسان در سال ۱۹۵۰ شناسایی شد و پس از آن در حیوانات در سال ۱۹۶۴ دیده شد (Tadesse et al. 2012).

در مطالعه‌ی حاضر، از بین ۴۴ جدایه *اشریشیاکلی* از گله‌های پرورشی مرغ گوشتی تعداد ۲۵ جدایه (۵۶/۸ درصد) دارای ژن *Sul1* بودند. ولی از این تعداد فقط ۲۰ جدایه (۴۵/۵ درصد) مقاومت نسبت به سولفادیازین را در محیط کشت از خود نشان دادند و ۵ جدایه که این ژن را داشتند ولی از خود مقاومت نشان ندادند. احتمالاً شرایط لازم برای بیان شدن و تأثیر ژن فوق برای مقاومت در باکتری مهیا نشده است که در فنوتیپ مورد نظر مقاومتی را نسبت به این ۵ جدایه مشاهده نشد. این اختلاف در میزان مقاومت در سطح فنوتیپی و ژنوتیپی نشان دهنده‌ی یکسان نبودن نتایج در آزمایش‌های شناسایی مختلف است و این امر می‌تواند حاکی از تفاوت در میزان صحت و حساسیت دو تست آنتی‌بیوگرام و PCR با هم باشد. تمامی ۲۰ مورد جدایه مقاوم از لحاظ فنوتیپی دارای ژن مورد نظر بودند و همچنین در ۵ جدایه‌ی دیگر نیز این ژن نیز شناسایی شد.

مطالعات زیادی در دیگر مناطق جهان روی میزان فراوانی ژن‌های مقاومت نسبت به سولفونامیدها انجام شده است از جمله Zhang و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش نمودند که مجموع ژن‌های مقاومت به سولفونامید (*SulR*) در بین جدایه‌های بررسی شده باکتری *اشریشیاکلی* در شمال چین ۹۰ درصد بود. در مطالعه‌ی دیگری که روی جدایه‌های *اشریشیاکلی* طیور در کشور چین انجام گرفت، ۴۲/۱ درصد جدایه‌ها ژن مقاومت *sul1* را داشتند (Kashif et al. 2013). در ارزیابی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ۱۶۶ جدایه‌ی *اشریشیاکلی* در کشور تونس، ۶۸ جدایه حاوی ژن *sul1* بودند (Soufi et al. 2011). Mooljuntee و همکاران در سال ۲۰۱۰ روی ۳۰ نمونه از باکتری *اشریشیاکلی* در جوجه‌های گوشتی در کشور تایلند تحقیق نمودند که ۸ تا از این جدایه‌ها با استفاده از روش انتشار از دیسک مقاوم به سولفونامیدها بودند و از این تعداد تمامی آن‌ها ژن *sul1* را دارا بودند. Van و همکاران در سال ۲۰۰۸ روی جدایه‌های باکتری *اشریشیاکلی* در کشور ویتنام مطالعه نمودند که ۲۷ درصد از جدایه‌ها ژن *Sul1* را داشتند و نسبت به این آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند. مطالعه‌ی دیگری در پرتغال روی جدایه‌های باکتری *اشریشیاکلی* انجام شد که میزان فراوانی

ژن مذکور ۲۳ درصد تعیین شده است (Costa et al. 2009).

Momtaz و همکاران در سال ۲۰۱۲ شیوع ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتکی را در جدایه‌های *اشریشیاکلی* از جوجه‌های گوشتی کشتار شده در شهرکرد مطالعه نمودند. در این بررسی شیوع ژن‌های مقاومت به سولفونامیدها در بین جدایه‌های بررسی شده ۴۷ درصد بود. در مطالعه‌ی دیگری که در کشور ما انجام شده است میزان شیوع ژن مقاومت به سولفونامیدها (*Sul1*) در بین جدایه‌های *اشریشیاکلی* در طیور مبتلا به کلی باسیلوز در استان اصفهان ۸۶/۶۶ درصد گزارش شد (Safarpoor Dehkordi et al. 2014). در مطالعه‌ی دیگری در ایران در دو منطقه‌ی شمال (مازندران) و شمال غرب (آذربایجان غربی) میزان حساسیت آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در تست آنتی‌بیوگرام در باکتری *اشریشیاکلی* مشخص شد. میزان مقاومت فنوتیپی سولفونامیدها در مازندران ۶۹/۴ درصد و در آذربایجان غربی ۵۳/۹ درصد گزارش شده است (Ghaniei et al. 2014). در مطالعه‌ی اخیر هر چند شیوع ژن‌های مقاومت ارزیابی نشده است اما بیان‌گر آن است که میزان مقاومت جدایه‌های *اشریشیاکلی* نسبت به سولفونامیدها در مناطق مذکور بالا می‌باشد.

البته تأثیر ژن‌های مقاومت سولفونامیدی دیگر (*Sul3* و *Sul2*) و همچنین تأثیر ترکیبی این ژن‌ها نیازمند مطالعات بیش‌تر است که سهم هر کدام و اثرات ترکیبی آن‌ها سنجیده و گزارش گردد. در مطالعه‌ی حاضر مقاومت جدایه‌های *اشریشیاکلی* در برابر سولفادیازین به عنوان یک داروی سولفونامیدی مورد استفاده در دامپزشکی، بالا (۴۵/۵ درصد) بوده است. وجود این میزان مقاومت در بین باکتری‌های *اشریشیاکلی*، احتمالاً به علت مصرف زیاد و گسترده‌ی این خانواده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان عفونت‌های بالینی و تحت بالینی در پرورش طیور در این منطقه‌ی جغرافیایی می‌باشد.

در مجموع نتایج این مطالعه بیان‌گر این است که مقاومت وابسته به حضور ژن *Sul1* یکی از مکانیسم‌های مهم مقاومت *اشریشیاکلی*‌های پاتوژن طیور به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده‌ی سولفونامیدها در استان آذربایجان غربی می‌باشد و این مطلب، بازنگری در نحوه‌ی استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها را در صنعت طیور و سایر دام‌هایی که منبع غذایی برای انسان محسوب می‌شوند، امری ضروری جلوه می‌دهد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه ارومیه انجام گرفته است.

منابع

Costa, D.; Vinué, L.; Poeta, P.; Coelho, A.C.; Matos, M.; Sáenz, Y. et al. (2009). Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates in faecal samples of broilers. Veterinary Microbiology, 138: 339-344.

Ghaniei, A.; Mojaverrostami, S.; Lotfallahzadeh, B.; Darzi Lemraski, M.; Sepehrnia, P. and Imani Jajarmi, A. (2014). Geographical and seasonal variation in antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from broiler chicken carcasses in Iran. European Journal of Experimental Biology, 4: 173-177.

Carattoli, A. (2001). Importance of integrons in the diffusion of resistance. Veterinary Research, 32: 243-259.

Cattoir, V.; Weill, F.X.; Poirel, L.; Fabre, L.; Soussy, C.J. and Nordmann, P. (2007). Prevalence of *qnr* genes in salmonella in France. Antimicrobial Chemotherapy, 59: 751-754.

CLSI. (2007). Performance standards for antimicrobial susceptibility Testing; Seventeenth informational supplement. CLSI document M100-S17. CLSI, Wayne, Pennsylvania, USA.

Kashif, J.; Buriro, R.; Memon, J.; Yaqoob, M.; Soomro, J.; Dongxue, D. et al. (2013). Detection of class 1 and 2 integrons, β-lactamase genes and molecular characterization of sulfonamide resistance in *Escherichia coli* isolates recovered from poultry in China. Pakistan Veterinary Journal, 33(3): 321-324.

Lanz, R.; Kuhnert, P. and Boerlin, P. (2003). Antimicrobial resistance and resistance gene determinants in clinical *Escherichia coli* from different animal species in Switzerland. Veterinary Microbiology, 91: 73-84.

Momtaz, H.; Rahimi, E. and Moshkelani, S. (2012). Molecular detection of antimicrobial resistance genes in *E. coli* isolated from slaughtered commercial chickens in Iran. Veterinarni Medicina, 57: 193-197.

Mooljuntee, S.; Chansiripornchai, P. and Chansiripornchai, N. (2010). Prevalence of the cellular and molecular antimicrobial resistance against *E. coli* isolated from Thai broilers. The Thai Journal of Veterinary Medicine, 40: 311-315.

Nolan, L.K.; Barnes, H.J.; Vaillancourt, J.P.; Abdul-Aziz, T. and Logue, C.M. In: Swayne D.E. (2013). Diseases of poultry, 13th edition, Wiley-Blackwell, Pp: 751-805.

Quinn, P.J.; Markey, B.K.; Leonard, F.C.; Fitzpatrick, E.S.; Fanning, S. and Hartigan, P.J. *Enterobacteriaceae.* In: Quinn, P.J.; Markey, B.K.; Leonard, F.C.; Fitzpatrick, E.S.; Fanning, S. and Hartigan, P.J. (2011). Veterinary microbiology and microbial disease. Second ed. UK, Wiley-Blackwell, Pp: 263-286.

Radstorm, P.; Swedberg, G. and Skold, O. (1991). Genetic analyses of sulfonamide resistance and its dissemination in gram-negative bacteria illustrate new aspects of R plasmid evolution. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 35(9): 1840-1848.

Rogers, K. (2011). Medicine and healers through history, first edition, Britannica educational publishing, New York, P: 78.

Safarpoor-Dehkordi, F.; Yahaghi, E. and Khodaverdi Darian, E.K. (2014). Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolated from poultry meat supply in Isfahan. Iranian Journal of Medical Microbiology, 8: 41-47.

Singer, R.S. and Hofacre, C.L. (2006). Potential impacts of antibiotic use in poultry production. Avian Diseases, 50: 161-172.

Skold, O. (2001). Resistance to trimethoprim and sulfonamides. Veterinary Research, 32: 261–273.

Soufi, L.; Sáenz, Y.; Vinué, L.; Abbassi, M.S.; Ruiz, E.; Zarazaga, M. et al. (2011). *Escherichia coli* of poultry food origin as reservoir of sulfonamide resistance genes and integrons. International Journal of Food Microbiology, 144: 497-502.

Tadesse, D.A.; Zhao, S.; Tong, E.; Ayers, S.; Singh, A.; Bartholomew, M.J. and McDermott, P.F. (2012). Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950-2002. Emerging Infectious Diseases, 18: 741-749.

Van, T.T.H.; Chin, J.; Chapman, T.; Tran, L.T. and Coloe, P.J. (2008). Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: An analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. International Journal of Food Microbiology, 124: 217-223.

Wang, L.; Oda, Y.; Grewal, S.; Morrison, M.; Michel, F.C. and Yu, Z. (2012). Persistence of resistance to erythromycin and tetracycline in swine manure during simulated composting and lagoon treatments. Microbial Ecology, 63: 32-40.

Zhang, T.; Wang, C.G. and Zhong, X.H. (2012). Survey on sulfonamide antibiotic-resistant genotype and phenotype of avian *Escherichia coli* in North China. Poultry Science, 91: 884-887.

Phenotypic and genotypic resistance of *Escherichia coli* isolated from broiler chickens of Urmia to sulfonamides

Mojaverrostami, S.[1]; Ghaniei, A.[2] and Mohammadi, V.[3]

Received: 15.05.2016 Accepted: 11.01.2017

Abstract

Colibacillosis is one of the most important infectious diseases in the poultry industry. Antibiotics are the most important tool in dealing with the treatment and control of the disease. Checking the sensitivity of bacterial isolates to antimicrobial compounds, before choosing an antibiotic drug in the region is essential. In this study, phenotypic resistance profile of 44 isolates of *Escherichia coli* recovered from broiler chickens of Urmia city suspected to colisepticemia to sulfadiazine evaluated by disk diffusion method. Genotypic resistance profile was also assessed by polymerase chain reaction (PCR) of *Sul1* gene. Results showed that 20 (45.5%) *Escherichia coli* isolates were resistant to sulfadiazine and *Sul1* gene was detected in 25 (56.8%) isolates. Five isolates that had the *Sul1* gene showed no antibiotic resistance in antibiogram test. The results showed that the resistance rate of isolates to sulfonamides was high and *sul1* gene had a major role in sulfadiazine resistance of these isolates.

Key words: *Escherichia coli*, Sulfadiazine, Antibiogram, *sul1*, Urmia

1- DVM Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
2- Assistant Professor, Department of Poultry Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
3- Assistant Professor, Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
Corresponding Author: Ghaniei, A., E-mail: A.ghaniei@urmia.ac.ir