

## آنالیز فیلوژنیک و تعیین الگوی آنتی‌بیوتیکی استرین‌های اش‌رشیا کلی جدا شده از سواحل منطقه

### گناوه

#### چکیده

اش‌رشیاکلی متعلق به گروهی از باکتری‌ها به نام گروه کلی فرم هستند که آن‌ها عضوی از خانواده انتروباکتریاسه می‌باشند. این باکتری برای سال‌ها به‌عنوان شاخص مدفوعی برای سلامت عمومی در نظر گرفته شده است. اش‌رشیاکلی به‌عنوان یک ارگانسیم اصلی در انتشار مقاومت آنتی‌بیوتیکی شناخته شده است. بر همین اساس هدف از تحقیق حاضر جداسازی سویه‌هایی از این باکتری از سواحل بندر گناوه و رسوبات آن است که به‌وسیله روش کلرمونت از نظر ژنتیکی طبقه‌بندی گردد و به دنبال آن الگوی آنتی‌بیوتیکی و آنزیمی جدایه‌ها مورد ارزیابی قرار گیرد. در تحقیق حاضر تعداد ۶۰ نمونه (۳۰ نمونه آب و ۳۰ نمونه رسوبات بندر گناوه) در طول خرداد تا شهریور ۱۳۹۴ جمع‌آوری شد. سپس بیشترین تعداد احتمالی نمونه‌ها ارزیابی گردید و نمونه‌ها بر روی محیط‌های مک کانکی و ائوزین متیلن بلو کشت داده شدند و به کمک رنگ‌آمیزی گرم، آزمون کاتالاز و اکسیداز مورد شناسایی قرار گرفتند. سپس طبقه‌بندی گروه‌های فیلوژنتیک سویه‌های اش‌رشیاکلی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی *vjaA* و *chuA* و قطعه TSPE4.C2 انجام شد و الگوی آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها ارزیابی گردید. از ۶۰ نمونه جمع‌آوری شده، ۶ مورد اش‌رشیاکلی جداسازی گردید که ۵ نمونه مربوط به آب دریا و ۱ مورد مربوط به رسوبات بود. بر اساس نتایج آنتی‌بیوگرام تمامی جدایه‌ها به جنتامایسن، سفتریاکسون و سفوتاکسیم با میزان ۱۰۰ درصد حساس بوده و شایع‌ترین گروه‌های فیلوژنتیک شناسایی شده D، B2 و A بودند. بر اساس یافته‌های این تحقیق می‌توان چنین نتیجه گرفت که مؤثرترین آنتی‌بیوتیک بروی سویه‌های اش‌رشیاکلی جدا شده از این منطقه آنتی‌بیوتیک‌های سفتریاکسون و سفوتاکسیم بود. بنابراین پیشنهاد می‌گردد در کنار سایر روش‌های درمانی بهتر است از این آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان عفونت‌های ناشی از اش‌رشیاکلی در این منطقه استفاده شود.

**واژگان کلیدی:** اش‌رشیا کلی، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، تریپلکس PCR، سواحل بندر گناوه.

#### مقدمه

اش‌رشیاکلی فلور نرمال مجاری گوارشی بیشتر جانوران و نیز انسان به شمار می‌آید. اغلب سویه‌های اش‌رشیاکلی بیماری‌زا نیستند، اما بعضی از سویه‌های پاتوژنیک آن می‌تواند باعث انواع بیماری‌های رودهای و خارج رودهای مانند سپتی سمی، مننژیت نوزادی، گاستروانتریت، عفونت‌های زخمی و ادراری شوند (Gordon et al., 2003). علاوه بر این غذاهای دریایی به‌عنوان یکی از مواد غذایی با پروتئین قابل‌هضم در بسیاری

#### رویا سرداری<sup>۱</sup>

نیما بهادر<sup>۲\*</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروب‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات فارس، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.
۲. استادیار میکروب‌شناسی، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم، کشاورزی و فناوری‌های نوین، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

#### \*مسئول مکاتبات:

bahador@iaushiraz.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۴/۲۳

کد مقاله: ۱۳۹۵۰۴۰۳۹۵

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است.

کشورها به شمار می‌آید و اش‌ریشیا یکی از ارگانیس‌های مهم است که از طریق بلع غذای دریایی آلوده می‌تواند عامل عفونت گوارشی باشد که بروز این ارگانیس‌م در غذا مستقیماً وابسته به آلودگی مدفوعی و ارتباط آن با آب است (Faber *et al.*, 2010). بر همین اساس کیفیت ماهی قویاً در ارتباط با میکروارگانیس‌های درگیر کننده آن است. بر همین اساس در سامانه‌های آبی جداسازی و شمارش تمامی میکروارگانیس‌های بیماری‌زا به دلیل تنوع بالای بیماری‌زاهای، عدم دسترسی به روش‌های ساده و کم‌هزینه بسیار مشکل بوده، بنابراین جهت مانیتور نمودن روتین سامانه‌های آبی از باکتری‌های شاخص مدفوعی جهت ارزیابی آلودگی آبی استفاده می‌شود؛ بنابراین باور بر این است که فراوانی این گروه از باکتری‌ها می‌تواند در ارتباط با تراکم باکتری‌های بیماری‌زا با منشأ مدفوعی باشد. امروزه اش‌ریشیا کلی و انتروکوک‌های روده‌ای به‌عنوان معمول‌ترین شاخص آلودگی آب مطرح می‌باشند و در مطالعات اپیدمیولوژیکی مورداستفاده قرار می‌گیرند (Fewtrell and Bartram, 2001; Edberg *et al.*, 2000). گزارش‌ها مبنی بر آن است که رسوبات اطراف محیط‌های آبی حاوی باکتری‌های شاخص مدفوعی می‌باشند، به‌طوری‌که طی سالیان مختلف وجود این ارگانیس‌م‌ها در رسوبات جویبارها و دریاها (Craig *et al.*, 2002; Smith *et al.*, 2008)، دریاچه‌ها (An *et al.*, 2002) و مناطق خلیجی (Roslev *et al.*, 2008) گزارش شده است. تحقیقات نشان داده است که اختلافات ژنتیکی فاحشی بین استرین‌های مختلف اش‌ریشیا کلی وجود دارد بطوریکه Clermont و همکاران در سال ۲۰۰۰ آن‌ها را در چهار گروه شامل A, B1, B2, D دسته‌بندی نموده است. پس‌از آن در سال ۲۰۱۱ آن‌ها را از نظر ژنو تیبی به ۷ گروه دسته‌بندی نمود که بر اساس این روش ژنو تیبی ساده و سریع، پاتوتیبی‌های اش‌ریشیا گروه‌بندی می‌شوند (Clermont *et al.*, 2011)؛ بنابراین با توجه به اهمیت این موضوع تحقیق حاضر برای اولین بار اقدام به جداسازی اش‌ریشیا کلی از مناطق آبی و رسوبی بندر گناوه پرداخته که وضعیت این جدایه‌ها را از نظر ژنو تیبی در منطقه تعیین نماید و با ارزیابی الگوی فیلوژنتیکی جدایه‌های به‌دست‌آمده سویه‌های بیماری‌زا تعیین هویت شوند و به دنبال آن بتوان هشدار به مردم منطقه داد.

## مواد و روش‌ها

استان بوشهر یکی از جنوبی‌ترین استان‌های کشور است که در جنوب غربی و در فاصله ۲۷ درجه و ۱۸ دقیقه تا ۳۰ درجه و ۱۴ دقیقه عرض جغرافیایی و ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه تا ۵ درجه و ۵۷ دقیقه طول جغرافیایی قرار دارد. بندر گناوه در شمال غرب این استان واقع شده است که دارای ۱۱۰ کیلومتر مرز آبی با خلیج فارس است (شکل ۱)؛ بنابراین مکان نمونه‌گیری شامل بخش‌هایی از آب دریای شهرستان گناوه و رسوبات ساحلی آن در نظر گرفته شد، بطوریکه نمونه‌برداری بیانگر کیفیت آب در مناطق تفریحی و شنا بوده و با توجه به مناطقی که دارای بیشترین تعداد شناگر هستند، صورت گرفت.



شکل ۱: تصویر ماهواره‌ای دریای شهرستان گناوه.

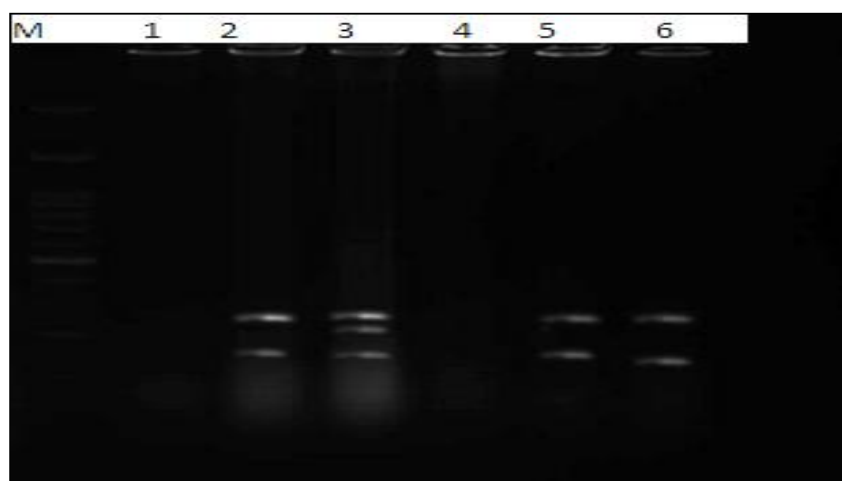
نمونه‌برداری از عمق ۱/۵ - ۱ متری آب که نشان‌دهنده بیشترین تعداد شناگر و استفاده‌کننده از آب صورت گرفت. همچنین نمونه‌برداری از عمقی که فوزک پا را می‌پوشاند و مختص مناطقی است که توسط بچه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد نیز صورت گرفت. نمونه‌ها از عمق ۳۰ - ۲۰ سانتی‌متری سطح آب (۳۰ نمونه) برداشت شدند و نمونه‌های رسوب (۳۰ نمونه) ساحل با استفاده از قاشق استریل از عمق ۵ - ۱۰ سانتی‌متری در ظروف شیشه‌ای استریل در محدوده زمانی ۱۰ تا ۱۱:۳۰ صبح هر دو هفته یک‌بار بین ماه‌های خرداد تا شهریور ۱۳۹۴ انجام گرفت. پس از انجام فرآیند نمونه‌برداری، تمامی نمونه‌ها بروی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند (Ramesh and Mathivanan, 2009). جهت جداسازی باکتری از نمونه‌های رسوب رقت سازی انجام گرفت و نمونه‌ها بر روی محیط کشت مک کانکی آگار منتقل گردید. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس کلنی‌های تخمیرکننده لاکتوز به محیط کشت ائوزین متیلن بلو آگار منتقل گردید و کلنی‌های شاخص با ویژگی جلای فلزی به کمک رنگ‌آمیزی گرم، آزمون‌های کاتالاز و اکسیداز مورد شناسایی اولیه قرار گرفت (باصری و بهادر، ۱۳۹۱). سپس نمونه‌های اشرشیاکلی خالص شده را به‌منظور بررسی و ارزیابی حساسیت آنتی‌بیوتیکی به محیط کشت مولر-هیتون آگار برده شد و با استفاده از سوآپ به‌صورت سفره ایبی کشت داده شد. حساسیت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از انتشار دیسک‌های دیفیوژن مطابق دستورالعمل CLSI بروی آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین (۱۰ میکرو گروم-S)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکرو گروم AM)، جنتامایسین (۱۰ میکرو گروم GM)، سفتریاکسون (۳۰ میکرو گروم CRO) و سفوتاکسیم (-CTX ۳۰ میکرو گروم) انجام شد و سپس محیط مولر-هیتون آگار حاوی دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی به مدت ۲۴ ساعت در محدوده دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه گردید و پس‌ازاین مدت قطر هاله‌های تشکیل‌شده (حساس بودن) و عدم تشکیل هاله (مقاوم بودن) در اطراف دیسک‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند (Forbes and Sahm., 2007). علاوه بر این فرضیه تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر باکتری‌های جداشده از محیط آب و رسوب به کمک آزمون‌های نا پارامتری کروسکال والیس به کمک نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۹ مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج ثبت گردید. درنهایت کلیه این‌زوله‌های شناسایی‌شده به‌منظور تایپینگ و گروه‌بندی فیلوژنتیک با استفاده از روش مالتی پلکس PCR تعیین هویت شدند. جهت استخراج DNA ابتدا چند کلنی خالص از ارگانیزم در ۲۵۰ میکرو لیتر آب مقطر استریل به‌صورت سوسپانسیون درآورده شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس نمونه‌ها سریعاً بر روی یخ به مدت ۵ دقیقه انتقال داده شد و پس‌ازآن به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ گردید و سوپرناتانت جهت آمپلی فیکاسیون مورد استفاده قرار گرفت. طبقه‌بندی فیلوژنتیک جدایه‌ها با استفاده از سه جفت پرایمر مار کر شامل *chuA*, *yjaA* TspE4C2 پذیرفت (جدول ۱). آمپلی فیکاسیون در حجم ۲۵ میکرو لیتر با چرخه‌های دمایی دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۴ دقیقه، ۵ ثانیه در ۹۴ درجه و ۱۰ ثانیه در ۵۷ درجه طی ۳۰ سیکل و طولیل سازی نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام گردید. درنهایت محصول آمپلی فیکاسیون بر روی ژل آگاروز ۲ درصد حاوی اتیدیم برومید برده شد چاهک‌ها به سمت قطب منفی قرار گرفته و به مدت ۴۵ دقیقه با ولتاژ ۸۰ ولت الکتروفورز شدند. سپس عکس‌برداری از ژل در زیر نور ماورا بنفش انجام پذیرفت و نتایج به کمک مارکرها مورد آنالیز قرار گرفت (Abdallah et al., 2011).

#### جدول ۱. پرایمر های مورد استفاده جهت انجام PCR (Clermont et al., 2007).

۱	F	<i>ChuA.1</i> (5'-GACGAACCA ACGGTCAGGAT-3')
	R	<i>ChuA.2</i> (5'-TGCCGCCAGTACC AAAGACA-3'), 279bp
۲	F	<i>YjaA.1</i> (5'-TGAAGTGT CAGGAGACGCT G-3')
	R	<i>YjaA.2</i> (5'-ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC-3'), 211bp
۳	F	TspE4C2.1 (5'-GAGTAATGTCGGGGCATTCA-3')
	R	TspE4C2.2 (5'-CGCGCCAACAAAGTATTACG-3'), 152bp

## نتایج

نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر بیانگر آن است که در مجموع ۶ جدایه از منابع آبی منطقه مذکور جداسازی گردید که متعلق به سه گروه بوده است. با توجه به آنالیز انجام شده بر اساس روش Clermont و همکاران در سال ۲۰۱۱، ۶ گروه به دست آمده متعلق به گروه A, B2, D است. در این میان، سه گروه D2، دو گروه زیرگروه A0 و یک گروه متعلق به B2<sub>3</sub> بوده است که هر یک از قطعه‌های ۲۷۹، ۲۱۱ و ۱۵۲ جفت بازی به ترتیب مربوط به ژن‌های TspE4C2 و *ychuA*، *yjaA* ارزیابی شده در شکل ۲ نشان داده شده است. علاوه بر این بر اساس نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام به دست آمده از ۶ نمونه اشریشیا کلی شناسایی شده و همچنین مقایسه با استانداردهای (CLSI ۲۰۱۱) بیشترین مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین با میزان ۱۶/۶ درصد بود و از سوی دیگر بیشترین میزان حساسیت مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، سفتریاکسون و سفوتاکسیم با ۱۰۰ درصد بوده است (جدول ۲).

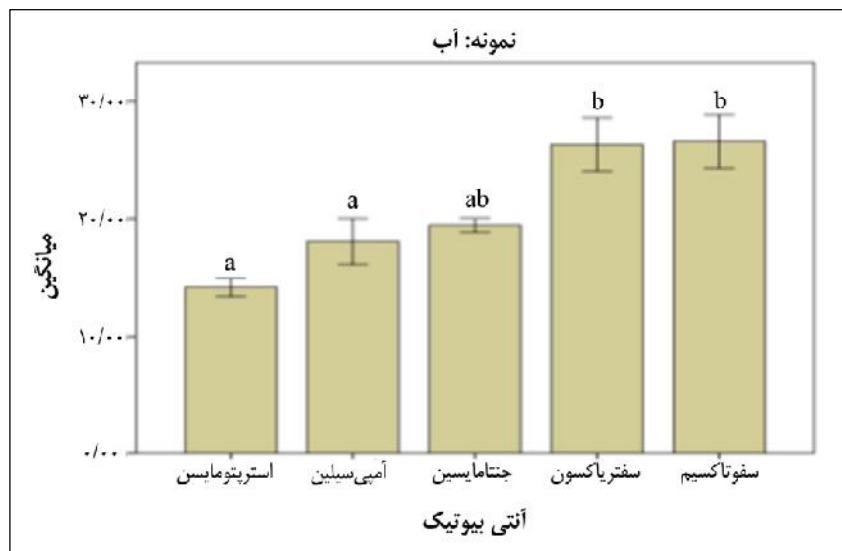


شکل ۲: تعیین فیلوژنی اشریشیا کلی‌های جدا شده از آب و رسوبات به روش کلرومونت با استفاده از مولتی پلکس PCR. آنالیز از چپ به راست: مارکر (۱۰۰ bp) ستون ۱: نمونه ۱۶ (گروه A، عدم حضور ژن)، ستون ۲: نمونه ۱۷ (گروه D، ۲۷۹ bp، ۱۵۲bp ستون ۳: نمونه ۱۸ (گروه B<sub>2</sub>، ۲۷۹bp، ۲۱۱ bp، ۱۵۲bp)، ستون ۴: نمونه ۱۹ (گروه A)، ستون ۵: نمونه ۲۰ (گروه D، ۲۷۹ bp، ۱۵۲bp)، ستون ۶: نمونه ۲۱ (گروه D، ۲۷۹ bp، ۱۵ bp).

جدول ۲. درصد فراوانی الگوی آنتی‌بیوگرام باکتری اشریشیا کلی جدا شده از نمونه‌های آب دریا و رسوب.

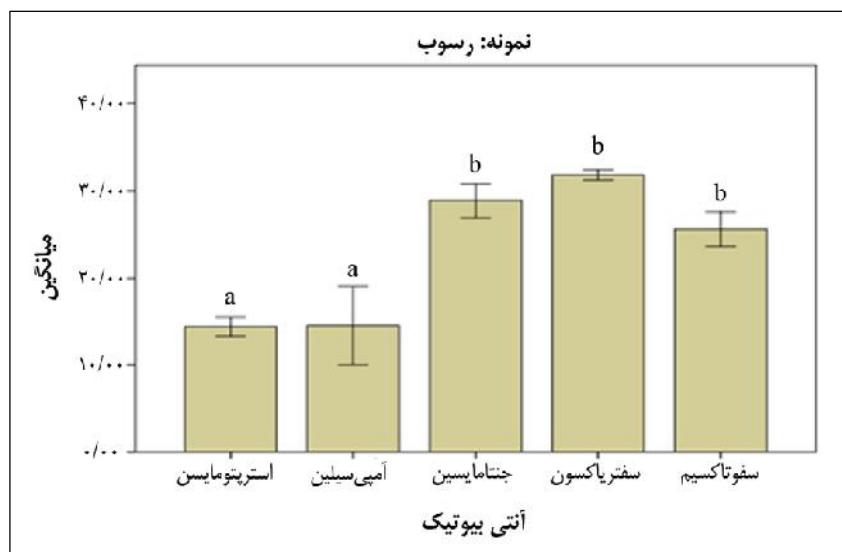
آنتی‌بیوتیک	درصد فراوانی، تعداد ایزوله‌های مقاوم و میانگین قطر هاله	درصد فراوانی تعداد ایزوله‌های نسبتاً مقاوم و میانگین قطر هاله	درصد فراوانی تعداد ایزوله‌های حساس و میانگین قطر هاله
استرینومایسین	-	۱۳،۵/۳، ۸۳/۳ (درصد)	۱۸،۱/۵، ۱۶/۶ (درصد)
آمپی‌سیلین	۱۰،۱، ۱۶/۶ (درصد)	-	۱۹،۵/۷، ۸۳/۳ (درصد)
جنتامایسین	-	-	۱۹،۶، ۱۰۰ (درصد)
سفتریاکسون	-	-	۲۹،۶، ۱۰۰ (درصد)
سفوتاکسیم	-	-	۲۹،۶، ۱۰۰ (درصد)

شکل ۳: تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر روی میانگین حاصل از اثر آن بر جدایه‌های به‌دست‌آمده از آب



\*حروف مشترک تفاوت معنی‌داری بین داده‌ها موجود نمی‌باشد.

شکل ۴: تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بر روی میانگین حاصل از اثر آن بر جدایه‌های به‌دست‌آمده از رسوبات



\*حروف مشترک تفاوت معنی‌داری بین داده‌ها موجود نمی‌باشد.

### بحث و نتیجه‌گیری

آلودگی آب‌های سطحی به دنبال میزان بالایی از انواع میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا شامل باکتری‌ها، ویروس‌ها و پروتوزواها صورت می‌پذیرد. منشأ اصلی این میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا مدفوع انسان و حیوانات خونگرم می‌باشد که از طریق فاضلاب، رانش خاک و سطح به محیط‌های

آبی منتقل می‌گردند (Quattara *et al.*, 2011) بنابراین حضور این ارگانسیم‌ها در منابع آبی و انتقال آن به انسان می‌تواند زمینه‌ساز بیماری‌های مختلفی باشد. استرین‌های اش‌ریشیا کلی در چهار گروه فیلوژنتیکی دسته‌بندی می‌شوند که هر یک می‌تواند نشانگر جایگاه خاص اکولوژیکی و تمایل آن به روند بیماری باشد (Walk *et al.*, 2007)؛ بنابراین علم به این طبقه‌بندی می‌تواند در درک، پیش‌بینی و اپیدمیولوژی عامل بیماری‌زا کمک نماید. تحقیقات نشان داده است که استرین‌های D جز انتروپاتوژن‌ها بوده و گروه B2 پاتوتیپ‌هایی را که باعث بیماری‌های خارج روده‌ای می‌شوند دربرمی‌گیرد (Sabarinath *et al.*, 2011). استرین‌های اش‌ریشیا کلی که باعث مننژیت نوزادی و سپتی سمی می‌شوند نیز در گروه B2 و D می‌باشند؛ بنابراین با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر و سویه‌های شناسایی شده که در سه گروه مهم قرار دارند توجه به حضور این ارگانسیم‌ها در منطقه حاضر حائز اهمیت می‌باشد، چنانکه می‌تواند به‌عنوان مهم‌ترین عامل در عفونت‌های ادراری نیز به‌حساب آیند (Bingen-Bidois *et al.*, 2002). از طرف دیگر ضمن تحقیقی که Quattara و همکاران طی سال‌های ۲۰۰۷ تا ۲۰۰۸ بر بستر رودخانه ایی شدلت فرانسه و رسوبات اطراف انجام دادند و مقایسه انجام‌شده بر روی حضور اش‌ریشیا کلی بیانگر آن بود که باکتری در مناطق آبی و رسوبی جداسازی شده بود، اما میزان آن در بخش آبی به‌مراتب کمتر از رسوبی بوده است درحالی‌که در تحقیق حاضر رسوبات حاصله فاقد استرین‌های مختلف اش‌ریشیا بوده است و اکثر استرین‌ها متعلق به نمونه‌های آبی است. قابل توجه است که Fujioka و همکاران نیز به وجود این ارگانسیم در مناطق نیمه گرمسیری و شرایط آب و هوایی معتدل اشاره کرده بودند و آن‌ها عواملی چون جزر و مد، بارش و نور ماوراءبنفش را مؤثر در حضور این ارگانسیم و سایر باکتری‌های پاتوژن می‌دانستند (Fujioka *et al.*, 1981). همچنین سایر محققین به حضور آن‌ها در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری اشاره کرده بودند (Desmarais *et al.*, 2002) که می‌تواند زمینه‌سازی جهت حضور این ارگانسیم در خاک‌های آلوده باشد و با خروج از سیستم گوارشی فرد و ایجاد تغییراتی در فیزیولوژی خود مانند تحمل مواد مغذی ناکافی، دمای بالا و نور توانایی بقا را کسب نماید (McLellan *et al.*, 2010) که شرایط ذکر شده با توجه به منطقه جغرافیایی کار شده در تحقیق حاضر نیز در ارتباط است و می‌تواند تأییدی بر آن باشد. از طرف دیگر غذاهای دریایی به‌ویژه انواع مختلف ماهیان دارای ارزش تغذیه‌ای زیادی بوده و در دهه اخیر مصرف آن‌ها در برخی از کشورهای جهان از جمله ایران رو به افزایش بوده است. البته به‌موازات افزایش مصرف ماهیان، میزان بیماری‌های ناشی (Feldhusen, 2000) از مصرف این فرآورده‌ها در اثر آلودگی به عوامل بیماری‌زا نیز افزایش یافته است. همچنین گزارش‌ها زیادی از وقوع سالمونلوز، شیگلوز، لیستریوز، ویبریوز و عفونت‌های ناشی از استافیلوکوک ارئوس و اش‌ریشیا کلی (Hosseini and Cheraghali, 2004) کلی در اثر مصرف غذاهای دریایی به‌ویژه ماهیان شور، دودی و میگوی آلوده در ایران وجود دارد. به‌طوری‌که حسن‌زاده و همکاران نیز در سال ۱۳۹۲ قادر به جداسازی ویبریو از اسفنج‌های جمع‌آوری شده از اسکله شهید حقانی بندرعباس شدند و ویبریو آلجینولیتیکوس به‌عنوان گونه غالب در منطقه مذکور معرفی گردید (حسن‌زاده و همکاران ۱۳۹۳). همچنین راه‌یابی فاضلاب‌ها به منابع آبی محیط‌زیست امکان آلودگی آب به باکتری‌هایی بیماری‌زا نظیر سالمونلا، اش‌ریشیا کلی و استافیلوکوک ارئوس را فراهم می‌سازد که آلودگی به کلی‌فرم‌های مدفوعی در غذاهای دریایی نظیر ماهی شور و دودی از اهمیت زیادی برخوردار است و سایر مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که آلودگی ماهیان (Sindayiaga and Debevere, 1989) پرورشی به باکتری‌های بیماری‌زا بیش از ماهیان دریایی است.

بنابراین یکی از مهم‌ترین وظایف مسئولین بهداشتی در هر کشور اطمینان از سلامت مواد غذایی مصرفی توسط مردم جامعه است که برای نیل به این هدف از روش‌های مختلفی استفاده می‌گردد. به‌طوری‌که گزارش‌های متعددی در ارتباط با آلودگی (Iwamoto *et al.*, 2010) آبزیان و حضور باکتری‌های اش‌ریشیا کلی هم‌رازی یک و انترواگریگاتیو ثبت و تأیید شده است

از طرف دیگر سویه‌های به‌دست‌آمده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، سفتریاکسون و سفوتاکسیم ۱۰۰ درصد حساس بوده و این درحالی‌که است که بیشترین مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین با میزان ۱۶/۶ درصد می‌باشد. مقاومت باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه به عوامل ضد میکروبی مختلف به علت مکانسیم‌های مقاومت ذاتی و اکتسابی، بسیار متغیر است. مقاومت اکتسابی در نتیجه مواجهه با عوامل ضد میکروبی



به دست می‌آید و این خانواده که جز مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زا به شمار می‌روند عموماً نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌باشند که یکی از علت‌های آن سو استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در پزشکی و حوزه دامداری است که اغلب باعث ( Gengoue *et al.*, 2006; Walsh *et al.*, 2005) تغییرات فنوتیپی و نیز جهش‌های کروموزومی می‌گردد بر همین اساس با توجه به اهمیت موضوع و از آنجایی که منطقه مورد ارزیابی در بخشی از سال مورد توجه گردشگران زیادی است و گروه‌های مختلف بیماری‌های روده ایی و غیر روده ایی در این منطقه به اثبات رسیده است، توجه به این اقلیم و حفاظت آن بسیار مهم بوده و می‌توان در تحقیقات بعدی به تعیین توزیع فراوانی و الگوی آنتی‌بیوتیکی این جدایه‌ها در زمان‌های مختلف سال پرداخت.

## منابع

- باصری، م. و بهادر، ن.، ۱۳۹۱. باکتری‌شناسی تشخیصی، انتشارات نوید.
- حسن‌زاده، ی.، بهادر، ن. و باصری صالحی، م.، ۱۳۹۳. جداسازی و شناسایی فنوتیپی ویبریو آلیجنولیتیکوس به صورت همزیست با اسفنج‌های خلیج فارس به وسیله کیت Api 20NE. مجله علمی پژوهشی زیست دریا. ۶ (۲۳): صفحات ۸۸-۶۱.
- Abdallah, K. S., Cao, Y. and Wei, D. J., 2011.** Epidemiologic Investigation of Extra-intestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC) based on PCR phylogenetic group and fimH single nucleotide polymorphisms (SNPs) in China. International Journal of Molecular Epidemiology and Genet, 2: 339- 353.
- An, Y. J., Kampbell, D. H. and Briedenbach, G. P., 2002.** *Escherichia coli* and total coliforms in water and sediment at lake marinas. Environmental Pollution, 120(3): 771-778.
- Bingen-Bidois, M., Clermont, O., Bonacorsi, S., Terki, M., Brahimi, N., LoukilCh, Barraud D. and Bingen E. 2002.** Phylogenetic analysis and prevalence of Urosepsis strains of *Escherichia coli* bearing pathogenicity island-like domains. Infection and Immunity, 70: 3216-3226.
- Clermont, O., Bonacorsi, S. and Bingen, E. 2000.** Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. Applied journal of Environmental Microbiology, 66: 4555-58
- Clermont, O., Gordon, D. M., Brisse, S., Walk, S.T. and Denamur, E., 2011.** Characterization of the cryptic *Escherichia* lineages: rapid identification and prevalence. Environmental Microbiology, 13:2468-2477.
- Craig, D. L, Fallowfield, H. J. and Cromar, N. J. 2002.** Enumeration of faecal coliforms from recreational coastal sites: Evaluation of techniques for the separation of bacteria from sediments. Journal of Applied Microbiology, 93(4): 557-565
- Derakhshandeh, A., Firouzi, R., Motamedifar, M., Motamedi, A., Bahadori, M. and Naziri, Z., 2013.** Phylogenetic analysis of *Escherichia coli* strains isolated from human samples. Molecular Biology Research Communications, 2(4):143-149
- Desmarais, T. R., Solo-Gabriele, H. M. and Palmer, C. J., 2002.** Influence of soil of fecal indicator organisms in a tidally influenced subtropical environment. Applied journal of Environmental Microbiology, 68:1165-1172.
- Edberg, S. C., Rice, E. W., Karlin, R. J. and Allen, M. J., 2000.** *Escherichia coli*: The best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88: 106S-116S.
- Faber, T. A., Hernot, D. C., Parsons, C. M., Swanson, K. S., Smiley, S., Bechtel, P. J. and Fahey, Jr., 2010.** Protein digestibility evaluations of meat and fish substrates using laboratory, avian, and ileal cannulated dog assays. Journal of Animal Science, 88: 1421-1432.

- Feldhusen, F., 2000.** The role of seafood in bacterial food-borne diseases. *Microbes and Infection*, Z, 1651-1660.
- Fewtrell, L. and Bartram, J., 2001.** Water quality: Guidelines, standards and health. World Health Organization Water Series, London: IWA. 20–21
- Forbes, B. A. and Sahm, D., 2007.** Bailey and Scotts Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, p.194-220
- Fujioka, R. S., Hashimoto, H. H., Siwak, E. B., and Young, R. H. F., 1981.** Effect of sunlight on survival of indicator bacteria in seawater. *Applied journal of Environmental Microbiology*, 41:690–696.
- Gordon, D. and Cowling, A., 2003.** The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology*, 149: 3575-3586.
- Hosseini, H. and Cheraghali, A. M., 2004.** Incidence of vibrio spp in seafood caught of south coast of Iran. *Food control*, 8(2): 91-98
- Iwamoto, M., Ayers, T., Mahon, B. E. and Swerdlow, D. L., 2010.** Epidemiology of seafood-associated infections in the United States. *Clinical Microbiology Reviews*, 23: 399-411.
- McLellan, S. L., Huse, S. M., Mueller-Spitz, S. R., Andreischcheva, E. N., Sogin, M. L., 2010.** Diversity and population structure of sewage-derived microorganism in wastewater treatment plant influent. *Environmental Microbiology*, 12(2):378-392.
- Quattara, N.K., Passerat, J., and Servais P., 2011.** Faecal contamination of water and sediment in the rivers of the Scheldt drainage network. *Environ Monit Assess.* 1918-9.
- Ramesh, S. and Mathivanan, N., 2009.** Screening of marine *Actinomycetes* isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes, *World Journal of Microbiology*, 25(12): 2103-2111.
- Roslev, P., Bastholm, S. and Iversen, N., 2008.** Relationship between fecal indicators in sediment and recreational waters in Danish estuary. *Water Air and Soil Pollution*, 194(1–4): 13–21.
- Sabarinath A., Tiwari, K. P., Deallie, C., Belot, G., Vanpee, G., Matthew, V., Sharma, R. and Hariharan, H., 2011.** Antimicrobial resistance and phylogenetic groups of commensal *Escherichia Coli* isolates from healthy pigs in Grenada. *Webmed Central Veterinary Medicine*, 25:WMC001942
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T., 1998.** In: *Molecular Cloning: a laboratory manual*. 2nd edition. N.Y., Cold Spring Harbor Laboratory.
- Sindayiaga, E. and Debevere, I. M., 1989.** Microbiological quality of dried and smoked fish from lake Tanganyika, *Sciences des Aliments*, 9(3): 507-516.
- Smith, J., Edwards, J., Hilger, H. and Steck, R. T., 2008.** Sediment can be a reservoir for coliform bacteria released into streams. *Journal of General and Applied Microbiology*, 54(3); 173–179.
- Walk, S. T., Alm, E. W., Calhoun, L. M., Mladonicky, J. M. and Whittam, T. S., 2007.** Genetic diversity and population structure of *Escherichia coli* isolated from freshwater beaches. *Environ Microbiol*, 9: 2274-2288.
- Walsh, C., Duffy, G., O'Mahony, R., Fanning, S., Blain, I. S. and McDowell, D. A., 2005.** Antimicrobial resistance in Irish isolates of verocytotoxigenic *Escherichia coli*- VTEC. *International Journal of Food Microbiology*, 109(3):173–178.