

شناسایی مولکولی و بررسی مقاومت ضد میکروبی سویه‌های کمپیلوباکتر

جدا شده از لاشه مرغ

مریم کلانتر^۱، دکتر بی‌تا بخشی^{۲*}، دکتر فاطمه فلاح^۳، دکتر محمد مهدی سلطان دلال^{۴،۵}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲. استادیار گروه باکتری‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳. استادیار مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
۴. استاد مرکز تحقیقات عفونی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۵. استاد بخش میکروبی‌شناسی غذایی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
۶. استاد مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: کمپیلوباکتر، از خانواده کمپیلوباکتریاسه، یکی از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای روده‌ای است. هدف از این مطالعه، جداسازی و توصیف گونه‌های کمپیلوباکتر با منشأ طیور برای ارزیابی میزان مقاومت ضد میکروبی و بررسی حضور ژن‌های اینتگرون می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۷۰ نمونه سواب رکتال از لاشه مرغ از یک کشتارگاه در استان تهران، شهر تهران گرفته شد. پس از غنی‌سازی، تعداد ۳۹ سویه کمپیلوباکتر با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی جداسازی گردید. از پرایمر طراحی شده *cadF* (ژن دخیل در اتصال) برای تأیید جنس کمپیلوباکتر و از پرایمرهای *hipO* و *asp* به ترتیب برای تشخیص گونه‌های کمپیلوباکتر ژرونی و کمپیلوباکتر کولای استفاده شد. از پرایمرهای *int1* و *hep2* به ترتیب برای شناسایی اینتگرون‌های کلاس ۱ و ۲ استفاده گردید. همچنین، تست آنتی‌بیوگرام برای ۱۰ آنتی‌بیوتیک با روش دیسک دیفیوژن انجام شد و نتایج بر طبق کتاب CLSI تفسیر شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از آزمون PCR نشان می‌دهد که ۱۰۰٪ سویه‌های جدا شده در این مطالعه، متعلق به گونه‌ی کمپیلوباکتر کولای می‌باشند و ژن‌های اینتگرون برای تمامی سویه‌ها منفی بودند. در میان ۱۰ آنتی‌بیوتیک مورد استفاده، بیشترین مقاومت مربوط به کوتریموکسازول (۹۷/۳۶٪)، نالیدیکسیک اسید (۹۴/۸٪)، سیپروفلوکساسین (۸۷/۷٪)، استرپتومایسین (۸۹/۷۲٪) و تتراسایکلین (۹۷/۴٪) می‌باشد و هیچ‌گونه مقاومتی نسبت به جنتامایسین دیده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که سویه‌های مورد بررسی در این مطالعه مقاومت بالایی به عوامل ضد میکروبی نشان می‌دهند اما با توجه به منفی بودن ژن‌های اینتگرون، آنها نقش مهمی در مقاومت در برابر سویه‌های کمپیلوباکتر در مطالعه حاضر بازی نمی‌کنند. با این حال احتمال دخالت سایر مکانیسم‌های مقاومت در ظهور فنوتیپ مقاومت چند دارویی این سویه‌ها در انسان و طیور وجود دارد.

واژگان کلیدی: کمپیلوباکتر ژرونی، کمپیلوباکتر کولای، مقاومت ضد میکروبی، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Kalantar M, Bakhshi B, Fallah F, Soltan Dallal MM. Molecular identification and investigation of antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated from chicken carcasses. *Pejouhandeh* 2015;20(5):295-301.

مقدمه

بیماری‌های food-borne illnesses در انسان در سرتاسر جهان و نیز به عنوان مهم‌ترین عوامل بیماری اسهال در کودکان و افراد بزرگسال در کشورهای در حال توسعه شناسایی شده است (۱). در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه، گونه‌های کمپیلوباکتر از اصلی‌ترین باکتری‌ها که در گاستروانتریت مزمن در انسان نقش دارد، می‌باشد (۲). آلودگی با کمپیلوباکتر در انسان نتیجه‌ی مصرف گوشت

گونه‌های کمپیلوباکتر به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر بی‌تا بخشی؛ گروه باکتری‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، بزرگراه جلال آل‌احمد، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران؛ مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران؛ تلفن: ۸۲۸۸۴۵۵۸ (۰۲۱)، شماره: ۸۲۸۸۴۵۵۵ (۰۲۱)؛ پست الکترونیکی: b.bakhshi@modares.ac.ir

پیروات بر روی یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند. بعد از نمونه‌گیری سواب‌ها به ۲۲۵ میلی‌لیتر محیط غنی Preston (Biomark) enrichment broth base محتوی آنتی‌بیوتیک و ۵ درصد خون دفیبرینه گوسفند انتقال داده شده و در دمای ۴۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۲۴ ساعت در شرایط میکرواُتروفیلیک (۸۵٪ N₂، ۱۰٪ CO₂، ۵٪ O₂) گرماگذاری شدند. برای ایجاد شرایط میکرواُتروفیل قبل از انکوبه کردن، از گاز پک (gas pack C) استفاده گردید. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از محیط غنی روی محیط کشت Campylobacter Blood-Free Selective Agar (CCDA) حاوی آنتی‌بیوتیک‌های آمفوتریسین B و سفاپرازون کشت داده شد و پس از رشد تست‌های بیوشیمیایی شامل رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، تست اکسیداز و هیدرولیز هیپورات انجام گردید. مهم‌ترین تست بیوشیمیایی مورد استفاده در افتراق ۲ گونه‌ی ژژونی و کولای تست هیپورات می‌باشد. کمپیلوباکتر ژژونی توانایی هیدرولیز هیپورات را دارد اما کمپیلوباکتر کولای فاقد قدرت هیدرولیز هیپورات می‌باشد.

برای استخراج DNA با این روش ابتدا تعداد یک کلنی از کشت باکتری را در ۲۰۰ μl از آب مقطر استریل در یک میکروتیوب مخلوط کرده و سر تیوب را با پارافیلیم و فویل محکم بسته و به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار داده شد. سپس ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شده و مایع رویی آن را توسط سمپلر خارج کرده و در یک تیوب دیگر ریخته و پس از تهیه و بررسی رقت‌های مختلف آن، بهترین رقت به عنوان نمونه‌ی DNA استفاده شد.

برای تأیید ژنتیکی جنس کمپیلوباکتر، از PCR برای ژن اختصاصی *cadF* استفاده شد. این ناحیه‌ی ژنی در همه‌ی گونه‌های کمپیلوباکتر وجود دارد (۹). برای افتراق گونه‌های کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر کولای از PCR ژن‌های *hipO* و *asp* استفاده گردید. در این مطالعه از پرایمرهای اختصاصی طراحی شده برای تشخیص جنس و گونه‌های کمپیلوباکتر استفاده شد. از پرایمر *int1* برای اینتگرون کلاس ۱ و پرایمر *hep2* برای اینتگرون کلاس ۲ استفاده گردید. در جدول شماره ۱ به پرایمرها، سایز باند و توالی آنها اشاره شده است.

PCR در دستگاه ترموسایکلر Eppendorf با شرایط مرحله‌ی اول: واسرشت اولیه‌ی DNA (Denaturation) ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه، مرحله‌ی دوم با ۳۰ سیکل: واسرشت رشته‌ها با دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمرها به الگو (Annealing) برای ژن

ماکیان و محصولات آن که خام یا خوب پخته نشده‌اند، می‌باشد (۳). از مهم‌ترین سویه‌های کمپیلوباکتر که با بیماری در انسان رابطه دارند، کمپیلوباکتر ژژونی (*Campylobacter jejuni*) و کمپیلوباکتر کولای (*Campylobacter coli*) هستند (۴). در طول کشتار در کشتارگاه، تخریب مجرای روده می‌تواند آلودگی با کمپیلوباکتر ایجاد کند. همچنین آلودگی می‌تواند از طریق هوا، پرند به پرند یا تجهیزات موجود در کشتارگاه و آب انتقال یابد (۵). مقاومت سویه‌های کمپیلوباکتر به آنتی‌بیوتیک‌ها در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه گزارش شده است (۶).

نشان داده شده است که استفاده از مواد ضد میکروبی به‌عنوان افزودنی خوراکی در حیوانات باعث ظهور و گسترش مقاومت در میان سویه‌های کمپیلوباکتر شده است (۶). اریترومایسین یک داروی انتخابی برای درمان گاستروانتریت ناشی از کمپیلوباکتر می‌باشد و اریترومایسین و سیپروفلوکساسین دو داروی جایگزین برای درمان هستند (۶). گسترش مقاومت به اریترومایسین و سیپروفلوکساسین در کشورهای گوناگون منجر به کاهش استفاده کلینیکی آنها شده است (۷).

در سال‌های اخیر، نقش اینتگرون‌ها به‌عنوان عناصر ژنتیکی متحرک در انتقال افقی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مشخص شده است. اینتگرون‌ها عناصری هستند که می‌توانند در پلاسمیدها، کروموزوم‌ها و یا ترانسپوزون‌ها جای گیرند. این عناصر از جمله فاکتورهای دخیل در توسعه‌ی مقاومت‌های چندگانه (Multi-drug resistance) بوده و همانند پلاسمیدها و ترانسپوزون‌ها جزو مؤلفه‌های ژنتیکی متحرک در کسب و انتشار عوامل مقاومت هستند. یک ارتباط قوی بین حمل اینتگرون و افزایش مقاومت به تعدادی از کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی وجود دارد (۸).

هدف از این مطالعه، شناسایی گونه‌های کمپیلوباکتر جداسازی شده از لاشه‌ی مرغ از یک کشتارگاه مهم در تهران با روش PCR، تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها در مقابل ۱۰ آنتی‌بیوتیک با روش دیسک دیفیوژن و همچنین بررسی حضور ژن‌های اینتگرون می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در تابستان سال ۱۳۹۲، هفتاد نمونه‌ی رکتال سواب به‌طور تصادفی و با فواصل یک هفته‌ای از لاشه‌ی مرغ‌های یکی از کشتارگاه‌های مهم تهران گرفته شد. نمونه‌ها به محیط کشت انتقالی Cary-Blair (Micromedia-India) حاوی سدیم

حاصل، یک اندازه بودند.

برای تعیین حساسیت ضد میکروبی، از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد که در اینجا به محیط کشت مولر هینتون آگار، خون گوسفند ۵٪ اضافه گردید. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک‌های (Mast Company) مورد استفاده شامل: نالیدیکسیک اسید (۳۰ میلی‌گرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میلی‌گرم)، اریترومایسین (۱۵ میلی‌گرم)، تتراسایکلین (۱۵ میلی‌گرم)، استریپتومایسین (۱۰ میلی‌گرم)، جنتامایسین (۱۰ میلی‌گرم)، آموکسی‌سیلین (۳۰ میلی‌گرم) و کلرامفنیکل (۳۰ میلی‌گرم) می‌باشد. نتایج به دست آمده بر طبق CLSI (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2008) تفسیر شدند (۱۴).

این‌تگرون کلاس ۱ در میان سویه‌ها توسط پرایمرهای *int*-*F/int-R* که مخصوص تکثیر ژن این‌تگراز هستند، بررسی شد. همچنین این‌تگرون کلاس ۲ توسط پرایمرهای *hep-F/hep-R* مورد بررسی قرار گرفت که این پرایمرها کل ناحیه‌ی ژنی حاوی ژن‌های مقاومت را تکثیر می‌کنند. برای ژن *int1* باند مورد نظر ۹۰۰ bp و برای ژن این‌تگرون کلاس ۲ باند، ۱۵۰۰ bp می‌باشد.

hep2 int1 hipO asp cadF به ترتیب ۴۳، ۵۲، ۵۵، ۵۴ و ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه، مرحله‌ی سوم: تکثیر اولیه (Extension) ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه و مرحله‌ی چهارم: گسترش نهایی (Final Exetension) ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه می‌باشد. در جدول ۲، مقادیر مواد مورد استفاده در واکنش PCR ذکر شده است. پس از انجام PCR میزان ۷ μl از محصول PCR را به همراه ۲ μl بافر لودینگ روی ژل آگاروز ۱٪ تهیه شده در بافر IXTBE قرار داده و در ۱۰۰ سی‌سی ژل مقدار ۱۰ μl بافر رنگ Red safe ریخته و ولتاژ دستگاه، ۱۰۰ و آمپر آن، ۵۰ تنظیم گردید. سپس محصول PCR در دستگاه Gel documentation رؤیت شد. سویه‌های استاندارد *Campylobacter jejuni* ATCC 29428 و *Campylobacter coli* ATCC 43478 به عنوان سویه‌های کنترل مثبت در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند. اختصاصیت تست با استفاده از DNA باکتری‌های رودهای دیگر مانند *ای کلای* و *سالمونلا* مورد بررسی قرار گرفت و این سویه‌ها برای ژن‌های اختصاصی کمپیلوباکتر منفی بودند. برای حساسیت تست، تمامی سویه‌ها با تست‌های بیوشیمیایی تأیید شده و سپس PCR روی آنها انجام گرفت و در تمامی واکنش‌ها از کنترل مثبت استفاده شد و تمامی باندهای

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده در PCR.

منابع	توالی (۵'→۳')	محصول PCR (bp)	پرایمر	ارگانیزم
(۱۰)	TTGAAGGTAATTTAGATATG CTAATACCTAAAGTTGAAAC	400	<i>cadF</i>	جنس کمپیلوباکتر
(۱۱)	GAAGAGGGTTTGGGTGGTG AGCTAGCTTCGCATAATAACTTG	735	<i>hipO</i>	کمپیلوباکتر ژژونی
(۱۱)	GGTATGATTCTACAAAGCGAG ATAAAAGACTATCGTCGCGTG	500	<i>asp</i>	کمپیلوباکتر کولای
(۱۲)	TGCGTGAAATCATCGTCGT CAAGGTTCTGGACAGTTGC	۹۰۰	<i>int1</i>	این‌تگرون کلاس ۱
(۱۳)	GATGCCATCGCAAGTACGAG CGGGATCCCGGACGGCATGCACGATTGTA	۱۵۰۰	<i>hep2</i>	این‌تگرون کلاس ۲

یافته‌ها

در مجموع، هفتاد نمونه‌ی رکتال سواب جمع‌آوری شدند و از این تعداد ۳۹ نمونه با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی به‌عنوان کمپیلوباکتر جداسازی شدند. بر اساس نتایج تست هیپورات، هر ۳۹ گونه هیپورات منفی بودند که کمپیلوباکتر ژژونی قابلیت هیدرولیز هیپورات را داشته اما کمپیلوباکتر کولای فاقد این خاصیت بود. تمامی ۳۹ سویه با PCR برای جنس کمپیلوباکتر تأیید ژنتیکی شدند که تصویر مربوط به محصول PCR ژن *cadF* در شکل ۱ نشان داده شده است.

جدول ۲. مقادیر مورد استفاده در واکنش PCR.

ردیف	مواد	مقادیر (μl)
1	D.D.W	15.9
2	10x PCR buffer	2.5
3	MgCl ₂ (50 mM) 0.6μl	0.6
4	dNTP (10 mM)	0.3
5	Primer-F (100pM)	0.25
6	Primer-R (100pM)	0.25
7	Taq Polymerase (5 unit/μl)	0.2
8	DNA template	5
	Total volume	25

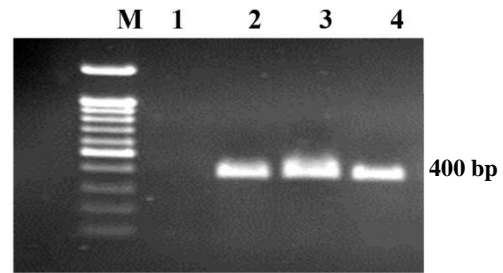
از میان ۱۰ آنتی‌بیوتیک مورد استفاده، بیشترین مقاومت به- ترتیب در کوتریموکسازول (۹۷/۳۶٪)، نالیدیکسیک اسید (۹۴/۸٪)، سیپروفلوکساسین (۸۷/۷٪)، استرپتومایسین (۸۹/۷۲٪) و تتراسایکلین (۹۷/۴٪) مشاهده شد و هیچ‌گونه مقاومتی به جنتامایسین مشاهده نگردید و تمام سویه‌ها به این آنتی‌بیوتیک حساس بودند. درصد‌های مقاومت و حساسیت ضد میکروبی در سویه‌ها، در جدول ۳ ذکر شده است.

جدول ۳. مقاومت و حساسیت ضد میکروبی در میان سویه‌های کمپیلوباکتر کولای جدا شده از لاشه ماکیان.

نام آنتی‌بیوتیک	درصد مقاومت	درصد نیمه حساس	درصد حساس
Ampicillin	۳۲ (۸۲/۱)		۱۷/۹٪
Amoxicillin	۳۰ (۷۹/۵)		۲۰/۵٪
Cotrimoxazol	۳۱ (۹۷/۳۶)		۲/۶۴٪
Streptomycin	۳۵ (۸۹/۷۲)		۱۰/۲۸٪
Gentamicin	۰ (۰)		۱۰۰٪
Erythromycin	۳۳ (۸۴/۴)		۱۵/۶٪
Ciprofloxacin	۳۴ (۸۷/۷)		۱۲/۳٪
Nalidixic acid	۳۶ (۹۴/۸)		۵/۲٪
Chloramphenicol	۲۷ (۶۹/۳)		۳۰/۷٪
Tetracyclin	۳۸ (۹۷/۴)		۲/۶٪

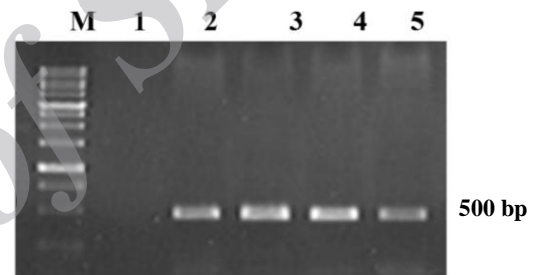
بحث

گونه‌های کمپیلوباکتر به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌های *food-borne illnesses* در انسان در سرتاسر جهان شناسایی شده‌اند و یکی از مهم‌ترین دلایل اسهال با منشأ مواد غذایی در بچه‌ها و بزرگسالان در کشورهای توسعه‌یافته می‌باشند. شناسایی و کنترل این منابع می‌تواند نقش مهمی در کنترل و جلوگیری از شیوع عفونت‌های ناشی از این باکتری داشته باشد. در این مطالعه، ۷۰ نمونه‌ی رکتال سوآب مرغ‌ها مورد مطالعه قرار گرفت که این نمونه‌ها با فاصله‌ی زمانی و به‌طور تصادفی از یک کشتارگاه مهم در تهران جمع‌آوری شدند. در کل، ۳۹ (۵۵/۷٪) جنس کمپیلوباکتر جداسازی گردید. در مطالعه‌ای که رحیمی و همکاران در سال ۲۰۱۱ روی نمونه‌های ماکیان انجام دادند، میزان جداسازی کمپیلوباکتر ۳۷/۹٪ گزارش گردید که ۴۷٪ گونه‌ی کمپیلوباکتر از گوشت مرغ جداسازی گردید (۱۵). از مقایسه‌ی این نتایج و یافته‌های حاصل از مطالعه‌ی حاضر، یک افزایش در میزان شیوع گونه‌های کمپیلوباکتر در نمونه‌های مرغ مشاهده شد که احتمالاً می‌تواند به دلیل صنعتی شدن شهرها و رعایت نکردن اصول بهداشتی در کشتارگاه‌ها و



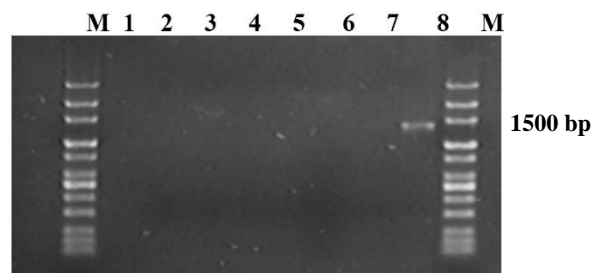
شکل ۱. PCR مربوط به ژن *cadF*. ستون ۱: کنترل منفی، ستون‌های ۲ و ۳: نمونه‌های مورد مطالعه، ستون ۴: کنترل مثبت، M: مارکر وزن مولکولی.

سپس شناسایی گونه‌ها توسط ژن‌های *hipO* و *asp* که به ترتیب مربوط به کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر کولای می‌باشد، انجام شد و نتایج نشان داد که تمامی ۳۹ گونه، متعلق به گونه‌ی کمپیلوباکتر کولای بوده و باند ۵۰۰ bp ژن *asp* معادل سویه استاندارد *Campylobacter coli* ATCC 43478 برای تمامی ایزوله‌ها به‌دست آمد که تصویر مربوطه در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲. PCR مربوط به ژن *asp*. ستون ۱: کنترل منفی، ستون‌های ۲ تا ۴: نمونه‌های مورد مطالعه، ستون ۵: کنترل مثبت، M: مارکر وزن مولکولی.

برای ژن *hipO* باند مورد نظر ۷۳۵ bp می‌باشد و فقط برای سویه استاندارد *Campylobacter jejuni* ATCC 29428 نتایج مثبت حاصل شد که نشان‌دهنده‌ی صحت آزمون PCR انجام شده می‌باشد و هیچ‌کدام از ایزوله‌ها کمپیلوباکتر ژژونی نبودند. سپس PCR برای ژن *int1* با باند ۹۰۰ bp و ژن اینتگرون کلاس ۲ با باند ۱۵۰۰ bp انجام شد که تمامی نمونه‌ها برای این دو ژن منفی بودند. در نتیجه، هیچ‌گونه کاست ژنی در رابطه با اینتگرون‌ها شناسایی نشد که تصویر مربوطه در شکل ۳ مشاهده می‌شود.



شکل ۳. PCR مربوط به ژن اینتگرون کلاس ۲. ستون ۱: کنترل منفی، ستون‌های ۲ تا ۷: نمونه‌های مورد مطالعه، ستون ۸: کنترل مثبت، M: مارکر وزن مولکولی.

برای درمان کمپیلوباکتریوزیس است. این اولین بار است که میزان بالایی از مقاومت به اریترومايسين گزارش شده است که این موضوع نیاز به توجه و نظارت قابل توجهی دارد. همه‌ی سویه‌ها در مطالعه‌ی حاضر، متعلق به گونه‌ی کمپیلوباکتر کولای و بیشتر آنها در برابر بیشتر آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی، مقاوم بودند. همچنین مطالعات دیگر، افزایش مقاومت کمپیلوباکتر کولای‌های جدا شده به بیشتر عوامل ضد میکروبی مورد مطالعه نسبت به کمپیلوباکتر ژرونی را گزارش کرده‌اند (۲۸،۷).

کمپیلوباکتریوزیس در برنامه‌ی متداول تشخیصی آزمایشگاه‌های پزشکی در ایران و میزان مقاومت بالا در سویه‌های کمپیلوباکتر جدا شده از طیور، این نگرانی را افزایش می‌دهد که شاید بسیاری از موارد اسهال تشخیص داده نشده در پزشکی با توجه به مقاومت چند دارویی گونه‌های کمپیلوباکتر با منشأ حیوانی باشند. هنوز ساختار اینتگرون در گونه‌های کمپیلوباکتر مشخص نشده است و به همین دلیل دانش کمی در مورد سهم بالقوه‌ی آنها در مقاومت ضد میکروبی وجود دارد. در تحقیق حاضر، هیچ اینتگرونی در میان سویه‌های کمپیلوباکتر کولای جدا شده مشاهده نشد. همچنین در یک مطالعه در هلند، هیچ گونه اینتگرون کلاس ۱ و ۲ در کمپیلوباکترهای جدا شده از جوجه‌های گوشتی مشاهده نشد (۲۹). در مطالعه‌ی دیگر توسط لی و همکاران در سال ۲۰۰۲، حضور اینتگرون کلاس ۱ در ۲۱٪ از ۱۰۵ کمپیلوباکتر ژرونی با منشأ ماکیان، تعیین گردید (۳۰). شاید بتوان گفت که اینتگرون‌ها یک توزیع بسیار پایین در میان گونه‌های کمپیلوباکتر دارند و می‌توانند فقط در میان گونه‌های سویه‌های تحت مطالعه و همچنین مقاومت بالای نمونه‌ها به عوامل ضد میکروبی نشان می‌دهد که اینتگرون‌ها نقش مهمی در مقاومت در برابر سویه‌های جدا شده کمپیلوباکتر بازی نمی‌کنند. با این حال، احتمال دخالت سایر مکانیسم‌های مقاومت در ظهور فنوتیپ مقاومت چند دارویی این سویه‌ها در انسان و طیور وجود دارد. همچنین شاید بتوان گفت که یک مقاومت ذاتی در سویه‌های کمپیلوباکتر وجود دارد که باعث مقاومت بالای آنها به عوامل ضد میکروبی می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه‌ی بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۲۶۳۵۳

فراهم شدن محیط مساعد برای رشد کمپیلوباکتر باشد. همچنین در اهواز که یک ناحیه‌ی گرمسیری می‌باشد، درصد جداسازی گونه‌های کمپیلوباکتر بالاتر بود. مطالعه‌ی حاضر نیز در تابستان صورت گرفت که احتمالاً چون این ارگانیزم گرمادوست می‌باشد، درصد جداسازی افزایش یافته است.

حضور گونه‌های کمپیلوباکتر در گوشت مرغ یا محصولات آن در آمریکا ۷۰/۷٪ (۱۶)، در کره ۶۸/۳٪ (۱۷)، در پاکستان ۴۸٪ (۱۸) و در جنوب آفریقا ۳۲/۳٪ (۱۹) گزارش شده است. این گزارش‌ها نشان می‌دهند که نسبت جداسازی گونه‌های کمپیلوباکتر از ماکیان در کشورهای توسعه‌یافته بیشتر است. آمار مربوط به درصد جداسازی گونه‌های کمپیلوباکتر ژرونی و کمپیلوباکتر کولای از نمونه‌های ماکیان، اختلاف زیادی را نشان می‌دهد.

تعداد زیادی از گزارش‌ها از ایران و دیگر کشورها نشان داده است که کمپیلوباکتر ژرونی بیشتر از گوشت ماکیان جدا شده است (۲۲-۲۰). در مقابل، در هلند ۷۵/۵٪ گونه‌های جدا شده کمپیلوباکتر کولای بودند (۲۳). نتایج به دست آمده در مطالعه‌ی حاضر نشان داد که همه‌ی ۳۹ باکتری جدا شده کمپیلوباکتر کولای بودند. این تشابه می‌تواند به دلیل انتشار کلونال کمپیلوباکتر کولای در کشتارگاه تحت مطالعه باشد.

در مطالعه‌ی حاضر، میزان فنوتیپی مقاومت به چند دارو (MDR) ۱۰۰٪ بود. در مطالعات دیگر، میزان مقاومت چند دارویی در کمپیلوباکتر جدا شده از مرغ‌ها ۵۶/۵٪ در کره جنوبی (۱۷)، ۷۳/۳٪ در ژاپن (۲۴) و ۷۵٪ در ایران گزارش شده است (۲۵). از آنجا که گزارش‌ها از چندمقاومتی در کمپیلوباکتر در سراسر جهان افزایش یافته است، باید تلاش کرد تا استفاده از مواد ضد میکروبی در طیور کنترل شود.

همه‌ی نمونه‌ها در این مطالعه، کمپیلوباکتر کولای بودند و میزان بالایی از مقاومت را به اریترومايسين (۸۴/۴٪) نشان دادند. در مطالعه‌ی که توسط Ishihara و همکاران در سال ۲۰۰۴ انجام گرفت، همه‌ی کمپیلوباکتر ژرونی‌های جدا شده‌ی حساس به آنتی‌بیوتیک‌هایی از خانواده ماکرولیدها بودند، در حالی که ۴۸/۴٪ از کمپیلوباکتر کولای‌های جدا شده، مقاوم در برابر ماکرولیدها بودند (۲۶).

به طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً کمپیلوباکتر کولای ذاتاً مقاوم به اریترومايسين است در حالی که کمپیلوباکتر ژرونی حساس می‌باشد. همچنین مطالعات مختلف از بلژیک و سوئیس (۲۷،۶) نیز میزان مقاومت نسبت به اریترومايسين را در میان کمپیلوباکتر جدا شده، کم گزارش کرده‌اند که درمان با اریترومايسين به عنوان یک انتخاب اول

این طرح تحقیقاتی بوده‌اند، کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

مورخ ۹۳/۷/۲۳ می‌باشد. بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که از نظر مالی حامی

REFERENCES

1. Kere KG, Aldrich M, Guerra M, Schneider K. Continuous online processing of fecal-and ingesta-contaminated poultry carcasses using an acidified sodium chlorite antimicrobial intervention. *J Food Prot* 2001;64(6):807–12.
2. Garin B, Gouali M, Wouafo M, Perchec AM, Thu PM, Ravaonindrina N, *et al.* Prevalence, quantification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. on chicken neck-skins at points of slaughter in 5 major cities located on 4 continents. *Int J Food Microbiol* 2012;157(1):102–7.
3. Corry J, Atabay H. Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. *J Appl Microbiol* 2001;90(S6):96S–114S.
4. Ghorbanalizadgan M, Bakhshi B, Kazemnejad Lili A, Najar-Peerayeh S, Nikmanesh B. A molecular survey of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* virulence and diversity. *Iran Biomed J* 2014;18(3):158–64.
5. Chen X, Naren GW, Wu CM, Wang Y, Dai L, Xia LN, *et al.* Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates in broilers from China. *Vet Microbiol* 2010;144(1):133–9.
6. Van Looveren M, Daube G, De Zutter L, Dumont JM, Lammens C, Wijdooghe M, *et al.* Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* strains isolated from food animals in Belgium. *J Antimicrob Chemother* 2001;48(2):235–40.
7. Kang YS, Cho YS, Yoon SK, Yu M, Kim CM, Lee JO, *et al.* Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from raw chicken meat and human stools in Korea. *J Food Prot* 2006;69(12):2915–23.
8. Stokes Ht, Hall RM. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. *Mol Microbiol* 1989;3(12):1669–83.
9. Jamshidi A, Bassami M, Farkhondeh T. Isolation and identification of *Campylobacter* spp. and *Campylobacter coli* from poultry carcasses by conventional culture method and multiplex PCR in Mashhad, Iran. *Iran J Vet Res* 2008;9(2):132–6.
10. Nayak R, Stewart TM, Nawaz MS. PCR identification of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* by partial sequencing of virulence genes. *Mol Cell Probes* 2005;19(3):187–93.
11. Linton D, Lawson A, Owen R, Stanley J. PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. *J Clin Microbiol* 1997;35(10):2568–72.
12. Adabi M, Bakhshi B, Goudarzi H, Zahraei SM, Pourshafie MR. Distribution of class I integron and sulfamethoxazole trimethoprim constin in *Vibrio cholerae* isolated from patients in Iran. *Microb Drug Resist* 2009;15(3):179–84.
13. White PA, McIver CJ, Rawlinson WD. Integrons and Gene Cassettes in the Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(9):2658–61.
14. Wayne P. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Ninth informational supplement NCCLS document M100-S9; National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2008.
15. Rahimi E, Ameri M. Antimicrobial resistance patterns of *Campylobacter* spp. isolated from raw chicken, turkey, quail, partridge, and ostrich meat in Iran. *Food Control* 2011;22(8):1165–70.
16. Zhao C, Ge B, De Villena J, Sudler R, Yeh E, Zhao S, *et al.* Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork, and beef from the Greater Washington, DC, area. *Appl Environ Microbiol* 2001;67(12):5431–6.
17. Han K, Jang SS, Choo E, Heu S, Ryu S. Prevalence, genetic diversity, and antibiotic resistance patterns of *Campylobacter jejuni* from retail raw chickens in Korea. *I Int J Food Microbiol* 2007;114(1):50–9.
18. Hussain I, Shahid Mahmood M, Akhtar M, Khan A. Prevalence of *Campylobacter* species in meat, milk and other food commodities in Pakistan. *Food microbiol* 2007;24(3):219–22.
19. Van Nierop W, Duse A, Marais E, Aithma N, Thothobolo N, Kassel M, *et al.* Contamination of chicken carcasses in Gauteng, South Africa, by *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter*. *Int J Food Microbiol* 2005;99(1):1–6.
20. Ansari-Lari M, Hosseinzadeh S, Shekarfroush SS, Abdollahi M, Berizi E. Prevalence and risk factors associated with *Campylobacter* infections in broiler flocks in Shiraz, southern Iran. *Int J Food Microbiol* 2011;144(3):475–9.

21. Soltan Dallal MM, Sanaei M, Taremi M, Moezardalan S, Edalatkhah H, Azimirad M, *et al.* Prevalence and antimicrobial resistance pattern of thermophilic *Campylobacter* Spp. (*jejuni* and *coli*) isolated from beef and raw chicken in Tehran. *J Zanjan Univer Med sci* 2009;17(68):85–92. (Full Text in Persian)
22. Ge B, White DG, McDermott PF, Girard W, Zhao S, Hubert S, *et al.* Antimicrobial-resistant *Campylobacter* species from retail raw meats. *Appl Environ Microbiol* 2003;69(5):3005–7.
23. Maćkiw E, Korsak D, Rzewuska K, Tomczuk K, Rożynek E. Antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from food in Poland. *Food Control* 2012;23(2):297–301.
24. Hajian S, Rahimi E, Mohammadhoseini M, Shakerian A. Frequency of *Campylobacter* spp. in chicken, quail, turkey and ostrich meat in Ghom and Yazd, Iran. *Middle-East J Sci Res (MEJSR)* 2011;7(3):272–5.
25. Taremi M, Soltan Dallal MM, Gachkar L, MoezArdalan S, Zolfagharian K, Zali MR. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from retail raw chicken and beef meat, Tehran, Iran. *Int J Food Microbiol* 2006; 108(3):401–3.
26. Ishihara K, Kira T, Ogikubo K, Morioka A, Kojima A, Kijima-Tanaka M, *et al.* Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* isolated from food-producing animals on farms (1999–2001): results from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *I Int J Antimicrob Agents* 2004;24(3):261–7.
27. Ledergerber U, Regula G, Stephan R, Danuser J, Bissig B, Stärk KD. Risk factors for antibiotic resistance in *Campylobacter* spp. isolated from raw poultry meat in Switzerland. *BMC Public Health* 2003;3(1):39.
28. Thakur S, Morrow WM, Funk JA, Bahnson PB, Gebreyes WA. Molecular epidemiologic investigation of *Campylobacter coli* in swine production systems, using multilocus sequence typing. *Appl Environ Microbiol* 2006;72(8):5666–9.
29. van Essen-Zandbergen A, Smith H, Veldman K, Mevius D. Occurrence and characteristics of class 1, 2 and 3 integrons in *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Campylobacter* spp. in the Netherlands. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59(4):746–50.
30. Lee MD, Sanchez S, Zimmer M, Idris U, Berrang ME, McDermott PF. Class 1 integron-associated tobramycin-gentamicin resistance in *Campylobacter jejuni* isolated from the broiler chicken house environment. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(11):3660–4.

Archive of SID