فصلنامه علمی تخصصی ایده های نو در علوم، مهندسی و فناوری ، دوره ۷، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، ص ۵۹-۴۲
ISSN: 2588-3984
http://www.Tajournals.com

عنوان مقاله: زیر ذره بین ژژونی: بررسی فراوانی کمپیلوباکتر ژژونی در مسمومیت های غذایی بیماران سبزوار از روش PCR
دوره ۷/ شماره ۴ / زمستان ۱۴۰۲/ ص ۵۹- ۴۲

زیر ذره بین ژژونی: بررسی فراوانی کمپیلوباکتر ژژونی در مسمومیت های غذایی بیماران سبزوار از روش PCR

شکوفه بهرامی نسب
کارشناسی ارشد ژنتیک ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار
bahrami7300@gmail.com

چکیده

زمینه و اهداف: اسهال یکی از مهم ترین و شایع ترین بیماری های در دنیا می باشد. علل مختلفی زمینه ساز بروز اسهال در بیماران می باشند که از جمله ی مهم ترین علل می توان به باکتری کمپیلوباکتر ژژونی اشاره کرد که توجه کمی به آن شده است. هدف این تحقیق بررسی کمپیلوباکتر ژژونی در بیماران اسهالی مراجعه کننده به بیمارستان سبزوار به روش PCR و کشت می باشد.

روش بررسی: این مطالعه که از نوع توصیفی-تحلیلی بوده و به شکل بررسی مقطعی انجام شده است، شیوع آلودگی با گونه کمپیلوباکتر ژژونی در بیماران اسهالی مراجعه کننده به بیمارستان سبزوار با استفاده از دو روش کشت میکروبی و PCR انجام گرفت. یافته ها: از مجموع ۱۲۰ نمونه ی گرفته شده ۴۷,۵٪ از نمونه ها با روش کشت مثبت شدند در حالیکه تنها ۳۵,۸٪ از نمونه ها با روش PCR مثبت گزارش شدند. علاوه براین از مجموع ۱۲۰ نمونه جمع آوری شده در فصول زمستان و بهار در این بررسی در مجموع ۴۳ مورد از نظر کمپیلو باکتر ژژونی در روش PCR مثبت بودند. در این بین ۲۳ مورد از افراد زیر ۱۲ سال بودند و ۲۰ مورد از افراد بالای ۱۲ سال بودند. هم چنین تعداد موارد مثبت کمپیلوباکتر به روش کشت در مجموع ۵۷ مورد بود که ۳۲ مورد از آن ها مربوط به افراد زیر ۱۲ سال و ۲۵ مورد آن مربوط به افراد بالای ۱۲ سال می باشد.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که جنس کمپیلوباکتر در شهر سبزوار می تواند به عنوان یک عامل مهم در بروز اسهال در بیماران نقش ایفا کند. هم چنین روش PCR در مقایسه با روش کشت می تواند با حساسیت و سرعت بیشتری در آزمایشگاه های طبی جهت تشخیص این باکتری کمک کند.

کلید واژه ها: کمپیلوباکتر ژژونی، اسهال، نمونه مدفوع، سبزوار

فصلنامه علمی تخصصی ایده های نو در علوم، مهندسی و فناوری ، دوره ۷، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، ص ۵۹-۴۲
ISSN: 2588-3984
http://www.Tajournals.com

۱.مقدمه

در سال ۱۸۸۶ تئودور اسچریچ[1] اولین فردی بود که کمپیلوباکتر را که به شکل باکتری های مارپیچی بود را گزارش و توصیف کرد. سپس در سال ۱۹۰۶، این باکتری برای نخستین بار توسط دو دامپزشک در مخاط رحمی یک گوسفند شناسایی گردید (Sheppard Maiden, 2015). سال ها بعد یک گروه از باکتری های استخراج شده از مدفوع گاو توسط دو دانشمند به نام های اسمیت[2] و اورکات[3] به نام *Vibrio jejuni* نام گذاری شدند دلیل این نام گذاری مورفولوژی مارپیچی شکل این باکتری بود.

کمپلیوباکتر ژژونی یکی از مهم ترین گونه های آن می باشد که عمدتا مواد غذایی را آلوده می کند. این باکتری بیماری ایجاد می کند که سابقا با عنوان کمپیلوباکتریوزیس در دهه ۷۰ میلادی شیوع پیدا کرده بود و به عنوان یکی از مهم ترین عفونت های غذایی در آمریکا و سایر کشورهای پیشرفته شناخته شد. جنس کمپلیوباکتر شامل ۲۰ گونه و زیر گونه می باشد. از جمله گونه های شناخته شده ی این جنس می توان به فتوس[4] هیوانتستینالیس[5] موکوزالیس[6] ونرالیس[7] و ژژونی[8] اشاره کرد که در انسان ها و حیوانات بیماری زایی ایجاد می کنند (D. M. Jones et al., 1991). مطالعات نشان می دهد که ۹۵٪ موارد کمپیلوباکتریوزیس در انسان توسط کمپیلوباکتر ژژونی و ۴٪ توسط کمپیلوباکتر کولی[9] و ۱٪ توسط سایر گونه ها انجام می شود(D. Jones et al., 1991).

اسهال یکی از مهم ترین مشکلات کشورهای در حال توسعه می باشد که همه ساله موجب زیان های جبران ناپذیر اقتصادی و تلفات انسانی می شود(Marcus, 2008). در این خصوص گزارش شده که اسهال حاد سالیانه موجب مرگ ۲,۵ میلیون کودک در سراسر جهان می شود(Marcus, 2008). از جمله ی شایع ترین عوامل ایجاد اسهال در کودکان گونه های کمپیلوباکتر، سالمونلا و اشریشیا کلای می باشد که در این بین بیشترین میزان عفونت مربوط به کمپیلوباکتر و سالمونلا می باشد(D. M. Jones et al., 1991; Marcus, 2008). کمپیلوباکتر در حال حاضر به عنوان یکی از اصلی ترین بیماری های باکتریایی ناشی از مواد غذایی در بسیاری از کشورهای توسعه یافته به رسمیت شناخته شده است. در سال های اخیر این بیماری افزایش قابل توجهی داشته است (D. M. Jones et al., 1991). در برخی از کشورها مثل تایلند گونه های کمپیلوباکتر و سالمونلا شایع ترین باکتری هایی هستند که از نوزادان و کودکان زیر ۵ سال جداگردیده اند. بر اساس مطالعات دیگری در جنوب آسیا، آمریکا و غرب اروپا بیشترین میزان آلودگی به کمپیلوباکتر در کودکان زیر ۴ سال و بالغین بین ۱۵-۴۴ سال سن بروز کرده است(Fernandez, 1988).

خانواده ی کمپیلو باکتر موجب ایجاد بیماری های اسهالی و سیستمیک می شوند. کمپیلوباکترژژونی یکی از مهم ترین عوامل ایجاد گاستروانتریت حاد باکتریایی در سراسر جهان به شمار می رود (Heikema et al., 2015). اسهال ناشی از این باکتری به صورت خود محدود شونده است اما مجموعه ای از عوارض بعد از این عفونت ایجاد می شود که شامل سندرم میلر-فیشر، نورپاتی های محیطی و سندرم گیلن باره است. عفونت ناشی از کمپیلوباکتر حتی در حیوانات خانگی نیز گزارش شده است (Heikema et al., 2015).

این باکتری یک باسیل گرم منفی خمیده یا باریک و مارپیچی شکل است که طول آن حدود۰/۵-۵میکرومتر و عرض۰/۲-۰/۵ میکرومتر دارد. وقتی دو یا تعداد بیشتری از این نوع باکتری ها در کنار یکدیگر قرار می گیرند ساختاری شبیه به V یا S و یا

[1] Theodore Escherich
[2] Smith
[3] Orcutt
[4] Fetus
[5] Hyointestinalis
[6] Mucosalis
[7] Venerealis
[8] Jejuni
[9] Campylobacter coli

حالتی شبیه به بال پرنده را ایجاد می کنند (Ghaffar et al., 2015). این باکتری دارای فلاژل قطبی می باشد که باعث می شود حرکت مارپیچی آن تند تر شود. این باکتری گرمادوست بوده و در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد به خوبی رشد می کند دمای بهینه برای رشد این باکتری ۴۲ درجه ی سانتی گراد می باشد. این باکتری در مقابل حرارت مقاومت ندارد و هم چنین در صورت وجود تغییرات دمایی (کاهش یا افزایش) آسیب می بیند. این باکتری در محیط بروسلا آگار در دمای ۴ درجه سانتی گراد پایدار می باشد (Humphrey, 1988). زمانی که در اثر کاهش دما یا حرارت ملایم آسیب می بیند حساسیت شدیدی نسبت به پراکسید هیدروژن نشان می دهد و در این حالت نیاز است که به محیط کشت نوترینت آگار،کاتالاز اضافه شود (Humphrey, 1988).

نخستین گزارش از شیوع کمپلیوباکتر ژژونی مربوط به یک منبع آب بود که منجر به بیماری دو هزار نفر گردید. علائم و نشانه های بیماری و درصد شکایت افراد به این صورت بود که ۸۸٪ دل درد و دل پیچه، اسهال ۸۳٪، بیقراری ۷۶٪، سردرد ۵۴٪ و تب ۵۲ ٪ را بروز دادند. مدت زمان بروز علائم بیماری از صفر تا دو روز متغیر بود. دوره ی کومون این بیماری بین ۴۸-۸۲ ساعت است ولی ممکن است تا ۷-۱۰ روز نیز ادامه پیدا کند. این ارگانیسم تا دو ماه پس از فروکش کردن نشانه های بیماری دفع می شود (Dasti et al., 2010; Zilbauer et al., 2008).

در اثر تکثیر ارگانیسم در روده، آسیب سلولی و پاسخ های التهابی ایجاد می شود. موسین ۲ که یکی از فراوان ترین موسین های ترشح شده در روده ی انسان است بعنوان جاذب شیمیایی اصلی برای این باکتری عمل می کند که در نهایت باکتری به آن متصل می شود. کمپیلوباکتر ژژونی می تواند به سلول های اپی تلیال روده و سلول های M متصل شود. هم چنین در برخی سویه ها دیده شده که می تواند توکسین حساس به حرارت تولید کند یا اینکه موجب بلع باکتری توسط سلول های میزبان شود. در اثر تولید اندوتوکسین حساس به حرارت یک اسهال آبکی ایجاد می شود. هم چنین در مواردی که این باکتری باعث شود که سلول های میزبان باکتری را ببلعند معمولا یک کولیت التهابی ایجاد می شود. بعد از اتصال به سلول های میزبان، باکتری برای وارد کردن پروتئین های باکتریایی به سلول های میزبان از یک سیستم ترشحی نوع ۳ استفاده می کنند(Dasti et al., 2010; Kemper Hensel, 2023). این پروتئین های باکتریایی باعث می شوند که سلول های باکتریایی بلعیده شوند. در نتیجه باکتری ها در واکوئل های میزبان تکثیر پیدا می کنند و کل سلول را در بر می گیرند. در اثر افزایش تعداد سلول های باکتری، سلول های اپی تلیال لیز می شوند و در نتیجه انتقال کمپلیوباکتر به داخل بافت های عمقی تر مثل زیر مخاط و پارین تسهیل می شود. در بافت های عمقی تر با انتشار به اندام های دیگر، سلول های التهابی جذب باکتری مهاجم می شوند. بقا و انتشار کمپلیوباکتر ژژونی به ویژگی های سویه و مقاومت آنتی ژن های در حال پردازش بستگی دارد (Dasti et al., 2010). در داخل ماکروفاژ، کمپلیوباکتر ژژونی در معرض انواعی از مکانیسم های از بین برنده قرار می گیرد که شامل انواع رادیکال های آزاد نظیر سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و مولکول های اکسیژن هالوژنه می گردد (Dasti et al., 2010; Kemper Hensel, 2023). کمپلیوباکتر ژژونی اثرات پراکسید هیدروژن را در ماکروفاژ از طریق کاتالاز مهار می کند. در مطالعه ای نشان داده شد که یک موتانت کاتالاز منفی کمپلیوباکتر ژژونی در داخل ماکروفاژهای صفاقی موش در عرض ۲۴ ساعت کشته شده بودند در حالیکه سویه های وحشی و کامل در تعداد زیادی از ماکروفاژها زنده باقی ماندند. بعضی از سویه های وحشی و کامل در تعداد زیادی از ماکروفاژها زنده باقی ماندند. بعضی از سویه های کمپلیوباکتر ژژونی یک توکسین به نام شیگاتوکسین یا وروتوکسین تولید می کنند که وارد سیتوپلاسم شده و موجب اختلال در سنتز پروتئین می شود(Dasti et al., 2010; Zilbauer et al., 2008). شیگاتوکسین سلول های میزبان را می کشد و در نتیجه زخم های سطحی در مخاط روده ایجاد می کند و یک پاسخ التهابی حاد را القاء می کند. علاوه براین این باکتری قادر است که یک سیتوتوکسین حساس به تریپسین ایجاد کند. این توکسین نسبت به حرارت ۶۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه مقاوم ولی نسبت به حرارت ۷۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه حساس است. علاوه براین دو نوع توکسین، یک توکسین دیگر به نام توکسین متورم کننده ی کشنده سلول نیز توسط این باکتری تولید می شود که به حرارت و

تریپسین حساس است و باعث می شود که سلول های میزبان در چرخه سلولی خود متوقف شوند و هم چنین در بیماری زایی اسهال التهابی در انسان دخالت دارند (Dasti et al., 2010; Zilbauer et al., 2008).

از دیگر بیماری هایی که این باکتری ایجاد می کند می توان به آرتریت واکنشی و بیماری های عصبی نظیر سندروم میلر-فیشر و سندرم گیلن باره اشاره کرد. این باکتری نسبت به دماهای پایین حساسیت دارد. دیده شده که دمای ۱۸- درجه سانتی گراد موجب کاهش سلول ها در لاشه ی مرغ می شود.

این بیماری عمدتا به دنبال ایجاد یک عفونت در بدن آشکار می شود و یک بیماری مرتبط با سیستم اعصاب محیطی می باشد که موجب ضعف سریع و پیش رونده در ماهیچه ها می شود (Nyati Nyati, 2013). آسیب به نورون ها در این بیماری به واسطه ی تقلید مولکولی بین لیپوالیگوساکارید های باکتری و گانگلیوزید های انسانی ایجاد می شود. از بین گونه های کمپیلوباکتر گونه ی کمپیلوباکترژژونی باعث بروز این بیماری می شود اما مشخص نشده که آیا دیگر گونه های این باکتری نیز می توانند چنین سندرمی ایجاد کنند یا خیر. شیوع سالانه ی این بیماری ۰,۶-۴ مورد از هر صدهزار نفر می باشد. نتایج مطالعات حاکی از آن است که بیش از دو سوم بیماران مبتلا به این بیماری دچار عفونت های ناشی از کمپیلوباکترژژونی، سیتومگالوویروس، و میکوپلاسما پنومونیه می شوند (Nyati Nyati, 2013). مطالعات هم چنین تاکید دارند که عفونت با کمپیلوباکتر ژژونی زمینه ساز گسترش این سندرم می باشد.

الایزا یکی دیگر از روش های سرولوژی بسیار حساس ولی با اختصاصیت کمتر نسبت به روش های مبتنی بر کشت است. هیچ گونه استانداردی برای اختصاصیت و حساسیت روش های سرولوژی در آزمایشگاه ها وجود ندارد. این روش مبتنی بر وجود آنتی بادی در سرم بیمار بر علیه باکتری است. سطح سرمی IgA و IgM در پاسخ به عفونت افزایش یافته و برای سه تا چهار هفته قبل از اینکه سطوح پایه کاهش یابد بالا می ماند اما سطوح سرمی IgA طی چند هفته اول عفونت بالا رفته و سپس سریع پایین می آید(Tsang, 2002).

عوامل مختلفی در بروز و شدت بیماری زایی این باکتری نقش دارند که از جمله ی آن ها می توان به قابلیت تولید توکسین، چسبندگی و قدرت تهاجم این باکتری اشاره کرد. اما بصورت کلی می توان گفت که این باکتری از طریق مکانیزم های خاصی میتواند بیماری زایی کند که از جمله ی آن ها می توان به : ۱. ایجاد آنتروتوکسین و سیتوتوکسین ۲. تهاجم به دیواره ی روده ۳. از طریق نفوذ به لایه های زیرین جداره روده اشاره کرد.

انتروتوکسین این باکتری یک انتروتوکسین حساس به حرارت می باشد که باعث افزایش آدنوزین مونوفسفات حلقوی (CAMP) می شود که در نهایت سبب تجمع مایعات در لوپهای ایلئال در موش صحرایی می شود. حداکثر میزان تولید این انتروتوکسین در یک محیط کشت اختصاصی در دمای ۴۲ درجه سلسیوس و به مدت ۲۴ ساعت حاصل می شود. علاوه بر این دیده شده است که پلی میکسین اثر افزایشی در تولید آن دارد. میزان تولید این انتروتوکسین توسط موش های مختلف متفاوت بوده و از صفر تا حدود ۵۰ نانوگرم بر میلی گرم می باشد. این باکتری علاوه بر تولید انتروتوکسین، سایتوتوکسین نیز تولید می کند که این سایتوتوکسین سلول های ورو و هلا را تحریک می کند. این توکسین عمدتا در باکتری های گرم منفی وجود دارد و مهم ترین توکسین در گونه های کمپیلوباکتر می باشد و نقش بسیار مهمی در پاتوژنز باکتری ایفا می کند. این توکسین شامل ۳ زیر واحد می باشد که توسط ژن های cdtB,cdt A و cdtC کد می شوند. این توکسین باعث می شود که سلول میزبان دچار توقف در فاز G2/M از چرخه ی سلولی شده و از ورود آن به مرحله ی میتوز جلوگیری می کند و در نهایت موجب مرگ سلولی و آپوپتوزیس می شود. دو پروتئین cdtA و cdtC برای انتقال cdtB به داخل سلول میزبان و شروع پاسخ برای اتصال توکسین به غشا سلولی ضروری می باشند سپس زیر واحد cdtB با شکستن دو رشته DNA باعث آسیب به سلول میزبان می شود.

این باکتری همانند باکتری شیگلا خاصیت تهاجمی دارد و می تواند به جدار مخاطی روده آسیب برساند که در نهایت موجب کرامپ های عضلانی و ایجاد اسهال خونی کند. علاوه براین به علت نفوذ این باکتری به لایه های پایینی روده و توزیع در سراسر بدن می تواند مشابه با باکتری سالمونلا ایجاد سپتی سمی کند.

براساس گزارشات مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری های اروپا در سال های ۲۰۰۷-۲۰۱۳ کمپیلوباکتریوزیس بیشترین بیماری زئونوز گزارش شده در اتحادیه ی اروپا می باشد که بعد از آن سالمونلوز و یرسینیوز در جایگاه های بعدی قرار دارند (Silva et al., 2011). در سال ۲۰۰۸ کمپیلوباکتریوز شایع ترین بیماری زئونوز در انسان با تعداد موارد ۱۹۰۵۶۶ گزارش شده است. هم چنین در سال ۲۰۰۷ دویست هزار مورد از کمپیلوباکتر انسانی گزارش شده است (Silva et al., 2011).

با رعایت اصول بهداشتی می توان این بیماری را کنترل کرد اما در خصوص کنترل این بیماری باید توجه کرد که از آب کلرینه درتغذیه ی پرندگان باید استفاده شود. علاوه بر این در مراحل مختلف کشتار در کشتارگاه ها، به طور ویژه در مرحله ی تخلیه ی دام های ذبح شده باید اصول بهداشتی را با دقت کافی رعایت کرد. در هنگام مصرف گوشت مرغ باید دمای آن به ۷۷-۸۲ درجه سانتی گراد برسد زیرا این دما برای باکتری قابل تحمل نبوده و عمدتا در این دما از بین می روند. علائم این بیماری در طی یک هفته از بین می روند و معمولا با تنظیم الکترولیت های بدن علائم بیماری بهبود می یابند. بهترین درمان برای انتریت ایجاد شده از آن استفاده از اریترومایسین می باشد. تمیز کردن و ضدعفونی محیط در جلوگیری از عفونت مجدد مفید است. کمپیلوباکترها به بسیاری از ضدعفونی کننده ها حساس اند. سدیم هیپوکلراید ۱٪، اتانول ۷۰٪، گلوتارآلدهید ۲٪، ضدعفونی کننده های بر پایه ید، ترکیبات فنولی و فرمالدهید روی آن موثر می باشند. هم چنین کمپیلوباکتر به اشعه گاما و فرابنفش و اکثر ضدعفونی کننده هایی که برای تصفیه آب استفاده می شوند حساس است.

کمپیلوباکترها عمدتا به آنتی بیوتیک های مختلف نظیر تتراسایکلین ها، ماکرولید ها، کلرامفنیکل و آمینوگلیکوزید ها حساس می باشند. اما تقریبا اکثر آن ها به تری متوپریم مقاومت نشان داده اند. در خصوص مقاومت به بتالاکتام هم گونه های کمپیلوباکتر فتوس و چندین گونه ی دیگر حساسیت نشان داده اند در حالیکه کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر کولای نسبت به بتالاکتام ها مقاومت نشان داده اند. کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر کولای به آسانی نسبت به فلوروکینولون ها مقاومت نشان می دهند بنابراین استفاده از فلوروکینولون ها در درمان انتریت ناشی از کمپلیوباکتر رایج نمی باشد. (Cooper et al., 2002).

حساسیت این گونه از باکتری ها به اکسیژن و رادیکال های اکسید کننده باعث شده که محیط کشت های انتخابی آن که دارای برداشت کنند های اکسیژن مانند پیرووات، یون آهن و... هستند توسعه یابند. علاوه بر این در این محیط های کشت آنتی بیوتیک های اختصاصی نیز استفاده می شود. اکثر متدها دارای یک تغلیظ اولیه در یک محیط مایع قبل از کشت روی آگار می باشند.

محیط های انتخابی مختلفی بر پایه ی آگار برای ایزولاسیون گونه های کمپیلوباکتر وجود دارد. در این میان پرستون[1]،شارکول[11] و سفوپرازون داکسی کولات[2](CCDA) از جمله محیط هایی هستند که در آزمایشگاه های بیشتر کاربرد دارند (Falahee et al., 2003). از میان محیط های نام برده شده استفاده از CCDA به همراه دمای ۳۷ درجه معمولا روش انتخابی و مرسومی برای ایزوله کردن بیشتر سویه کمپیلوباکتر می باشد. با این حال کشت گونه های کمپیلوباکتر به طور مرسوم در ازمایشگاه ها به دلیل رشد سخت و وقت گیر بودن این فرایند استفاده نمی شود (Shams et al., 2016).

۲. پیشینه تحقیق

در مطالعه ی Mahendru و همکاران در سال ۱۹۹۷، نتایج PCR نمونه های کشت ماکیان بعد از یک هفته نگهداری در دمای ۴ درجه ی سانتی گراد مثبت گزارش شد (Mahendru et al., 1997). هم چنین نتیجه ی مطالعه Denis و همکاران در سال ۲۰۰۱ نشان داد که شیوع بالای کمپلیوباکتر احتمالا به دلیل آن است که چون لاشه ی مرغ در موقعیت حلقه آویز در طول کشتارگاه و فرایند های بعدی قرار دارد کمپلیوباکتری می تواند از روده از طریق آلودگی مدفوعی بر روی سطح لاشه منتقل شود (Denis et al., 2001). اولین مواجهه با کمپیلوباکترها در سال ۱۸۸۶ هنگامی که تئودور اسچریچ ویبریوهای کوچکی را در

1 Preston 0
1 Charcoal 1
1 Charcoal Cefoperozone Deoxycholate Agar 2

مخاط روده بزرگ نوزادانی که در اثر وبای نوزادی مرده بودند ثبت شده است. او به این ارگانیسم ها شک کرد که شاید عامل بیماری باشند اما نتوانست که بیماری زا بودن آن ها را ثابت کند و آن ها را کشت بدهد (Park, 2002).

مطالعات مختلفی در این زمینه در ایران انجام شده است. بعنوان مثال در مطالعه ای که بکائیان و همکاران درسال ۲۰۰۳ در اصفهان انجام دادند میزان آلودگی لاشه ها به این باکتری را ۲۳,۲٪ براورد کردند(Bokaeian et al., 2003). در همین راستا مطالعه ی دیگری توسط طارمی و همکاران در سال ۲۰۰۶ میزان فراوانی این باکتری را در گوشت های مرغ سطح شهر تهران به روش کشت را ۱۰٪ گزارش کرد. در این تحقیق بر اساس روش بررسی ۷۰-٪۷۶ مرغداری های مورد مطالعه در پایان دوره پرورش آلوده به کمپلیوباکترهای بیماری زای انسانی بودند (Taremi et al., 2006).

در مطالعه ای در سال ۲۰۰۹ در انگلستان بقا کمپلیوباکتر کولی و کمپلیوباکتر ژژونی در دمای سرد و انجماد بر روی پوست مرغ بررسی شد. هدف از این مطالعه، مقایسه اثر سرعت خنک سازی بر بقای سویه های کمپلیوباکتر کولی و کمپلیوباکتر ژژونی، در دمای ۴ درجه سانتی گراد و ۲۰- درجه سانتی گراد، تلقیح شده روی پوست مرغ از کشت آکسنیک یا به عنوان تلقیح مخلوط بود. استفاده از خنک سازی سریع (در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد/دقیقه) بقای همه سویه های کمپلیوباکتر را در دمای ۴ درجه سانتی گراد در مقایسه با سردخانه استاندارد افزایش داد. همچنین نتایج معنی دار آماری بین نمونه های سرد شده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد با انجماد در فریزر خانگی با نمونه های سرد شده در شرایط انجماد سریع تا دمای ۲۰- درجه سانتی گراد مشاهده شد.

در مطالعه ای که توسط رضیئی و همکاران (۱۳۹۶) بر روی شناسایی سریع کمپیلو باکترژژونی براساس واکنش PCR و ارزیابی حساسیت و اختصاصیت آن انجام شد. نتایج این مطالعه حاکی از آن است که پرایمر های طراحی شده کاملا اختصاصی ژن اکسیدوردوکتاز باکتری کمپیلو باکتر ژژونی بوده و پس از انجام PCR تک باند ۱۶۷ بازی تکثیر می شود

۳.مواد و روش کار

مطالعه ی حاضر یک مطالعه ی توصیفی-مقطعی می باشد که به منظور بررسی حضور کمپیلوباکتر ژژونی در بیماران اسهالی مراجعه کننده به بیمارستان سبزوار به روش های کشت و PCR صورت گرفته است. این مطالعه که از نوع توصیفی-تحلیلی بوده و به شکل بررسی مقطعی انجام شده است.

روش نمونه گیری و جمع آوری

نمونه ها از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان سبزوار که اسهال داشتند در بازه ی زمانی دی ماه ۱۴۰۱ تا خردادماه ۱۴۰۲ یک نمونه سواپ مدفوعی جهت بررسی اخذ گردید.

جداسازی و شناسایی گونه های کمپیلوباکتر

برای جداسازی کمپیلوباکتر از محیط کشت اختصاصی mCCD آگار استفاده گردید. ابتدا ۴۵,۵ گرم از پودر محیط کشت به یک لیتر آب مقطر اضافه شده و بعد از جوشاندن به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد استریل شده و بعد از خنک شدن و رسیدن دمای محیط کشت به ۴۵-۵۰ درجه سانتی گراد مکمل محیط کشت حاوی آنتی بیوتیک سفوبرازون و آمفوتریسین B به مقدار ۵ میلی لیتر به ازای یک لیتر به محیط کشت اختصاصی اضافه گردید. محیط کشت را در داخل پلیت ها پخش کرده و می گذاریم تا محیط کاملا سرد شود.

انتخاب کلنی ها برای آزمون های تاییدی

کلنی های مشکوک به کمپیلوباکتر حاصل از کشت های اول را با استفاده مورفولوژی و انجام آزمون حرکت، رشد در یک شرایط میکروآئروفیلیک در ۳۵ درجه سانتی گراد، رشد در شرایط هوازی در دمای ۴۱,۵ درجه سانتی گراد، آزمون اکسیداز، آزمون های بیوشیمیایی اختصاصی مثل تست کاتالاز افتراق داده شد.

رنگ آمیزی گرم

از کشت های تازه بر روی محیط کشت کلمبیا بلاد آگار بر روی لام گستره تهیه شده و پس از خشک شدن تثبیت با حرارت رنگ کریستال ویوله به مدت ۱ دقیقه رنگ آمیزی گردید و پس از شست شو با آب مقطر، محلول لوگول به مدت ۱ دقیقه جهت تثبیت رنگ به گستره افزوده شد. پس از شست شوی ملایم با آب مقطر از الکل استون به مدت ۱۰-۱۵ ثانیه جهت رنگبری استفاده گردید. در پایان از محلول سافرانین به مدت ۱ دقیقه برای رنگ آمیزی استفاده شد پس از خشک شدن لام تهیه شده آرایش سلولی رنگ و مورفولوژی سلول ها با استفاده از عدسی شماره ۱۰۰ میکروسکوپ نوری به کمک روغن ایمرسیون تعیین گردید.

آزمایش کاتالاز

لوپ کوچکی از کشت تازه بر روی لام قرار داده شد و سپس یک قطره از آب اکسیژنه ۳٪ به آن افزوده و واکنش کاتالاز و تشکیل حباب بررسی شد.

بررسی آنزیم اکسیداز

با استفاده از لوپ پلاتینیوم- ایریدیوم یا میله شیشه ای یک قسمت از یک کلنی که خوب ایزوله شده را از هر کدام از پلیت های کلمبیا بلاد آگار برداشته و روی دیسک های اکسیداز قرار داده شد وبا آب مرطوب شد. ظاهر شدن رنگ ارغوانی روشن، بنفش یا آبی بر رنگ در عرض ۱۰ ثانیه یک واکنش مثبت است.

آزمون حرکت

یک کلنی از پلیت کلمبیا بلاد آگار (در یک میلی لیتر از بروسلابراث) معلق گردید و با استفاده از میکروسکوپ از نظر مرفولوژی و حرکت، آن را بررسی و تمام کشت هایی که دارای باسیل خمیده با حرکت مارپیچی هستند برای بررسی های بعدی انتخاب شد.

استخراج ژنوم

برای استخراج ژنوم از روش رسوب دهی نمک استفاده شد.

پرایمرهای مناسب

نام باکتری	توالی پرایمر	اندازه آمپلیکون،bp
Camplyobacter Jejuni	CF: GGAAAATTCAAATAAAGTTAGAGGTTAGAA	۱۶۷
	CR: CCATAAGCACTAGCTAGCTGATTATC	۱۶۷

طراحی واکنش PCR

واکنش زنجیره ای پلی مراز در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام پذیرفت.

(۲/۵ میکرولیتر بافرPCR 10X ،۱/۵ میکرولیتر Mgcl2.۵۰ میلی مولار، ۰/۵ میکرولیترdNTP .۱۰ میلی مولار، ۱/۵ واحد آنزیم Taqپلی مراز، ۱ میکرولیتر از هرپرایمر با غلظت ۱۰ میکرومولار، ۱ میکرولیتر DNA الگو و آب مقطر تا حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر تنظیم گردید).برنامه های دمایی نیز مطابق با برنامه حرارتی linton وهمکارانش در دستگاه ترموسایکلر تنظیم شد

سپس از هرکدام از نمونه ها ۵ میکرولیتر بر روی ژل اگارز ۲ درصد، الکتروفورز انجام شد.

۴.بحث

از ۶۰ نمونه مدفوع اخذ شده در فصل زمستان ۲۴ مورد و از ۶۰ نمونه اخذ شده در فصل بهار ۳۳ مورد با روش کشت در محیط اختصاصی MCCD و تست های بیوشیمیایی کمپیلوباکتر ژژونی شناسایی گردید.

جدول تعداد و نسبت موارد مثبت کمپیلو باکتر کشت افراد زیر ۱۲ سال

	تعداد نمونه اسهالی اخذ شده از افراد زیر ۱۲ سال	تعداد موارد مثبت کمپیلو باکتر کشت افراد زیر ۱۲ سال	نسبت موارد مثبت کمپیلو باکتر کشت افراد زیر ۱۲ سال
زمستان	۳۰	۱۴	۰/۴۷
بهار	۳۰	۱۸	۰/۶۰
کل	۶۰	۳۲	

با توجه به نتایج به دست آمده درکشت افراد زیر ۱۲ سال موارد مثبت کمپیلو باکتر ۴۷ درصد در زمستان و ۶۰ درصد در بهار مشاهده شده اند. برای بهتر مشخص شدن نتیجه، آزمون می کنیم بین فصل های زمستان و بهار در افراد زیر ۱۲ سال نسبت کشت موارد مثبت کمپیلوباکتر تفاوت معناداری وجود دارند یا نه. برای انجام این آزمون از آزمون برابری دو نسبت استفاده کردیم و نتایج به صورت زیر به دست آمده است.

جدول آزمون نسبت متغیرها در کشت افراد زیر ۱۲ سال

زمستان	بهار
آماره	-۱/۰۴
سطح معناداری	۰/۴۳۸

با توجه به اینکه مقدار سطح معناداری آزمون برابری نسبت بین بهار با زمستان، موارد مثبت کمپیلو باکتر کشت افراد زیر ۱۲ سال برابر با ۰/۴۳۸ به دست آمده و بزرگتراز ۰/۰۵ است بنابراین با ۹۵ درصد اطمینان می توان نتیجه گرفت .یعنی با ۹۵ درصد اطمینان نسبت های موارد مثبت کمپیلو باکتر کشت افراد زیر ۱۲ سال بین فصل های زمستان و بهار مختلف تفاوت معناداری وجود ندارد.

جدول تعداد و نسبت موارد مثبت موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر افراد زیر ۱۲ سال

	تعداد نمونه اسهالی اخذ شده از افراد زیر ۱۲ سال	تعداد موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر افراد زیر ۱۲ سال	نسبت موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر افراد زیر ۱۲ سال
زمستان	۳۰	۸	۰/۲۷
بهار	۳۰	۱۵	۰/۵۰
کل	۶۰	۳۳	

با توجه به نتایج به دست آمده درکشت افراد زیر ۱۲ سال موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر افراد ۲۷ درصد در زمستان و ۵۰ درصد در بهار مشاهده شده اند.

برای بهتر مشخص شدن نتیجه، آزمون می کنیم بین فصل های زمستان و بهار در افراد زیر ۱۲ سال نسبت موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر افراد تفاوت معناداری وجود دارند یا نه. برای انجام این آزمون از آزمون برابری دو نسبت استفاده کردیم و نتایج به صورت زیر به دست آمده است.

جدول آزمون نسبت موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر در کشت افراد زیر ۱۲ سال

زمستان	بهار
آماره	-۱/۹۱
سطح معناداری	۰/۰۵۶

فصلنامه علمی تخصصی ایده های نو در علوم، مهندسی و فناوری ، دوره ۷، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، ص ۵۹-۴۲
ISSN: 2588-3984
http://www.Tajournals.com

با توجه به اینکه مقدار سطح معناداری آزمون برابری نسبت بین بهار با زمستان، موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر در کشت افراد زیر ۱۲ سال برابر با ۰/۰۵۶ به دست آمده و بزرگتراز ۰/۰۵ است بنابراین با ۹۵ درصد اطمینان می توان نتیجه گرفت . یعنی با ۹۵ درصد اطمینان بین فصل های زمستان و بهار نسبت های موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر افراد زیر ۱۲ سال مختلف تفاوت معناداری وجود ندارد.

جدول تعداد و نسبت موارد مثبت کمپیلو باکتر کشت افراد بالای ۱۲ سال

	تعداد نمونه اسهالی اخذ شده از افراد زیر ۱۲ سال	تعداد موارد مثبت کمپیلو باکتر کشت افراد زیر ۱۲ سال	نسبت موارد مثبت کمپیلو باکتر کشت افراد زیر ۱۲ سال
زمستان	۳۰	۱۰	۰/۳۳
بهار	۳۰	۱۵	۰/۵۰
کل	۶۰	۲۵	

با توجه به نتایج به دست آمده درکشت افراد بالای ۱۲ سال موارد مثبت کمپیلو باکتر ۳۳ درصد در زمستان و ۵۰ درصد در بهار مشاهده شده اند. برای بهتر مشخص شدن نتیجه، آزمون می کنیم بین فصل های زمستان و بهار در افراد بالای ۱۲ سال نسبت کشت موارد مثبت کمپیلو باکتر تفاوت معناداری وجود دارند یا نه. برای انجام این آزمون از آزمون برابری دو نسبت استفاده کردیم و نتایج به صورت زیر به دست آمده است.

جدول آزمون نسبت متغیرها در کشت افراد بالای ۱۲ سال

زمستان	بهار
آماره	-۱/۳۳
سطح معناداری	۰/۱۸۴

با توجه به اینکه مقدار سطح معناداری آزمون برابری نسبت بین بهار با زمستان، موارد مثبت کمپیلو باکتر کشت افراد زیر ۱۲ سال برابر با ۰/۱۸۴ به دست آمده و بزرگتراز ۰/۰۵ است بنابراین با ۹۵ درصد اطمینان می توان نتیجه گرفت .یعنی با ۹۵ درصد اطمینان نسبت های موارد مثبت کمپیلو باکتر کشت افراد بالای ۱۲ سال بین فصل های زمستان و بهار مختلف تفاوت معناداری وجود ندارد.

جدول تعداد و نسبت موارد مثبت موارد مثبت PCRکمپیلوباکتر افراد بالای ۱۲ سال

	تعداد نمونه اسهالی اخذ شده از افراد زیر ۱۲ سال	تعداد موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر افراد زیر ۱۲ سال	نسبت موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر افراد زیر ۱۲ سال
زمستان	۳۰	۸	۰/۲۷
بهار	۳۰	۱۲	۰/۴۰
کل	**۶۰**	**۳۲**	

با توجه به نتایج به دست آمده درکشت افراد زیر ۱۲ سال موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر افراد ۲۷ درصد در زمستان و ۵۰ درصد بهار مشاهده شده اند.برای بهتر مشخص شدن نتیجه، آزمون می کنیم بین فصل های زمستان و بهار در افراد زیر ۱۲ سال نسبت موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر افراد تفاوت معناداری وجود دارند یا نه. برای انجام این آزمون از آزمون برابری دو نسبت استفاده کردیم و نتایج به صورت زیر به دست آمده است.

ISSN: 2588-3984
http://www.Tajournals.com

جدول آزمون نسبت موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر در کشت افراد زیر ۱۲ سال

زمستان	بهار
آماره	-۱/۱۱
سطح معناداری	۰/۲۶۸

با توجه به اینکه مقدار سطح معناداری آزمون برابری نسبت بین بهار با زمستان، موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر در کشت افراد زیر ۱۲ سال برابر با ۰/۲۶۸ به دست آمده و بزرگتراز ۰/۰۵ است بنابراین با ۹۵ درصد اطمینان می توان نتیجه گرفت .یعنی با ۹۵ درصد اطمینان بین فصل های زمستان و بهار نسبت های موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر افراد زیر ۱۲ سال مختلف تفاوت معناداری وجود ندارد.

جدول تعداد و نسبت موارد مثبت کمپیلو باکتر

	موارد مثبت کمپیلو باکتر کشت افراد زیر ۱۲ سال	موارد مثبت کشت کمپیلو باکتر افراد بالای ۱۲ سال
تعداد	۳۲	۲۵
نسبت	۰/۵۳	۰/۴۲

با توجه به نتایج به دست آمده درکشت افراد زیر ۱۲ سال ۵۳ درصد و درکشت افراد بالای ۱۲ سال ۴۲ درصد موارد مثبت کمپیلو باکتر مشاهده شده اند. برای بهتر مشخص شدن نتیجه، آزمون می کنیم بین نسبت موارد مثبت کمپیلو باکتر افراد زیر ۱۲ سال و بالای ۱۲ سال تفاوت معناداری وجود دارند یا نه. برای انجام این آزمون از آزمون برابری دو نسبت استفاده کردیم و نتایج به صورت زیر به دست آمده است.

جدول آزمون نسبت موارد مثبت کمپیلو باکتر درکشت افراد

زیر ۱۲ سال	بالای ۱۲ سال
آماره	۱/۲۹
سطح معناداری	۰/۱۹۸

با توجه به اینکه مقدار سطح معناداری آزمون برابری نسبت بین نسبت موارد مثبت کمپیلو باکتر افراد زیر ۱۲ سال و بالای ۱۲ سال برابر با ۰/۱۹۸ به دست آمده و بزرگتراز ۰/۰۵ است بنابراین با ۹۵ درصد اطمینان می توان نتیجه گرفت . یعنی با ۹۵ درصد اطمینان بین نسبت های موارد مثبت کمپیلو باکتر افراد زیر ۱۲ سال و بالای ۱۲ سال تفاوت معناداری وجود ندارد.

جدول تعداد و نسبت موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر

	موارد مثبت کمپیلو باکتر کشت افراد زیر ۱۲ سال	موارد مثبت کشت کمپیلو باکتر افراد بالای ۱۲ سال
تعداد	۲۳	۲۰
نسبت	۰/۳۸۳	۰/۳۳۳

با توجه به نتایج به دست آمده درکشت افراد زیر ۱۲ سال ۳۸,۳ درصد و درکشت افراد بالای ۱۲ سال ۳۳,۳ درصد موارد مثبت PCR کمپیلو باکتر مشاهده شده اند. برای بهتر مشخص شدن نتیجه، آزمون می کنیم بین نسبت موارد مثبت PCR

کمپیلوباکتر افراد زیر ۱۲ سال و بالای ۱۲ سال تفاوت معناداری وجود دارند یا نه. برای انجام این آزمون از آزمون برابری دو نسبت استفاده کردیم و نتایج به صورت زیر به دست آمده است.

جدول آزمون نسبت موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر در کشت افراد

زیر ۱۲ سال	بالای ۱۲ سال
آماره	۰/۵۷
سطح معناداری	۰/۵۶۷

با توجه به اینکه مقدار سطح معناداری آزمون برابری نسبت بین نسبت موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر افراد زیر ۱۲ سال و بالای ۱۲ سال برابر با ۰/۵۶۷ به دست آمده و بزرگتراز ۰/۰۵ است بنابراین با ۹۵ درصد اطمینان می توان نتیجه گرفت . یعنی با ۹۵ درصد اطمینان بین نسبت های موارد مثبت PCR کمپیلوباکتر افراد زیر ۱۲ سال و بالای ۱۲ سال تفاوت معناداری وجود ندارد.

۵.نتیجه گیری

کمپیلوباکتر ژژونی یکی از مهم ترین عوامل گاستروانتریت حاد باکتریایی در دنیا محسوب می شود. واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) یک واکنش سریع و حساس برای تشخیص DNA بعنوان شاخص حضور یک میکروارگانیسم در مقادیر بسیار کم است (Champion et al., 2005). این روش در مقایسه با سایر روش های تشخیصی از جمله کشت از حساسیت و اختصاصیت بالاتری برخوردار است و برخلاف روش کشت نیازی به زنده بودن باکتری در نمونه مورد نظر نیست (Khan et al., 2007). هم چنین آنالیز مولکولی نمونه های کلینیکی برای میکروارگانیسم ها نسبت به روش های قدیمی مانند کشت مزیت های زیادی دارد. از طرفی شناسایی گونه ی ژژونی از سایر گونه ها بر اساس تست کاتالاز و اکسیداز صورت می گیرد که ممکن است همیشه صحیح نباشد. لازم به ذکر است که این روش در کنار فواید معایبی نیز دارد بعنوان مثال مهم ترین عیب آن این است که در مقایسه با آزمون های سنتی این روش هزینه بر می باشد. علاوه بر این نیاز به مهارت و تخصص بالایی دارد. در این بررسی از تعداد ۱۲۰ نمونه جمع آوری شده ۴۳ مورد (۳۵,۸۳٪) از نمونه ها با روش PCR مثبت شدند. درحالیکه در تحقیقی که توسط ساری و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام شد نتایج آن نشان داد که از ۱۰۰ نمونه ایی که در آن مطالعه استفاده شده بود ۷۶٪ آن با تست هیپورات مثبت شد در حالیکه با استفاده از روش PCR، ۲۸٪ نمونه ها مثبت ارزیابی گردید. این مطلب بیان کننده ی این واقعیت است که روش PCR نسبت به روش های شناسایی سنتی، روشی بهتر و دقیق تر می باشد(Sari et al., 2011). در تحقیقی که توسط نوروزی و همکاران در کودکان زیر ۷ سال صورت گرفت از ۲۶۰ مورد نمونه تعداد ۱۲ مورد (۴,۶٪) مثبت بودند (نوروزی et al., 2002). در نتیجه به نظر می رسد شیوع موارد مثبت در این مطالعه در مقایسه با مطالعات قبلی بالاتر می باشد.

در مطالعه ی حاضر هم چنین از مجموع ۱۲۰ نمونه ی گرفته شده ۴۷,۵٪ از نمونه ها با روش کشت مثبت شدند در حالیکه تنها ۳۵,۸٪ از نمونه ها با روش PCR مثبت گزارش شدند. در همین راستا رضیئی و همکاران نیز در سال ۲۰۱۷ تایید کردند که روش PCR جهت شناسایی سریع کمپیلوباکتر ژژونی در مقایسه با روش کشت در نمونه های غذایی از حساسیت و اختصاصیت مطلوبی برخوردار می باشد (Razei et al., 2017).

هم چنین این پژوهش با هدف بررسی بررسی فراوانی کمپیلوباکتر ژژونی در بیماران اسهالی مراجعه کننده به بیمارستان سبزوار به روش PCR در بازه ی زمانی زمستان ۱۴۰۱ و بهار ۱۴۰۲ صورت گرفت، در نتیجه تاثیر ۲ فصل و سن نیز در این مطالعه بررسی گردید. از مجموع ۱۲۰ نمونه جمع آوری شده در فصول زمستان و بهار در این بررسی در مجموع ۴۳ مورد از نظر کمپلیو باکتر ژژونی در روش PCR مثبت بودند. در این بین ۲۳ مورد از افراد زیر ۱۲ سال بودند و ۲۰ مورد از افراد بالای ۱۲ سال بودند. هم چنین تعداد موارد مثبت کمپلیوباکتر به روش کشت در مجموع ۵۷ مورد بود که ۳۲ مورد از آن ها مربوط به افراد زیر ۱۲ سال و ۲۵ مورد آن مربوط به افراد بالای ۱۲ سال می باشد. براساس یافته های این مطالعه تفاوت معناداری بین فصول زمستان و بهار در

موارد ابتلا به کمپیلوباکتر در هر دو روش کشت و PCR در افراد زیر ۱۲ سال و بالای ۱۲ سال وجود نداشت. هم چنین بین موارد مثبت ابتلا به کمپیلوباکتر در هر دو گروه زیر ۱۲ سال و بالای ۱۲ سال تفاوت معناداری وجود نداشت.

در مطالعه ای که توسط حسن زاده و همکاران در سال ۲۰۰۶ که در بیمارستان نمازی شیراز صورت گرفت از مجموع ۱۱۴ نمونه ۱۱ مورد (۹,۶٪) آن برای کمپیلوباکتر مثبت شد و هم چنین بالاترین شیوع این باکتری در بیماران با بازه ی سنی ۱۱-۱۵ سال مشاهده شد (Hassanzadeh Motamedifar, 2006).

در مطالعه ی دیگری که توسط راستیانی و همکاران در سال ۲۰۱۵ در همدان صورت گرفت از مجموع ۱۲۰ نمونه ی مدفوع از کودکان زیر ۱۰ سال صورت گرفت. ۱۲ نمونه (۱۰٪) برای گونه های کمپیلوباکتر مثبت شد. علاوه براین نتایج تست حساسیت به آنتی بیوتیک نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین بوده است(Rastyani et al., 2015).

در مطالعه ای که ضیائی و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام دادند از مجموع ۴۵۵ نمونه اسهالی در شهر گرگان هیچ کدام از نمونه های کشت شده از نظر وجود کمپیلوباکتر مثبت نبودند در حالیکه در آزمایش با پرایمر اختصاصی جنس کمپیلوباکتر و گونه ی ژژونی ۳ مورد از آن ها مثبت شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که برخلاف مطالعه ی حاضر جنس کمپیلوباکتر در شهر گرگان عامل شایعی در ایجاد اسهال بخصوص در بین کودکان نمی باشد (Ziaei et al., 2008).

پیشنهادات

با توجه به اهمیت باکتری کمپیلوباکتر ژژونی در بهداشت عمومی افراد موارد ذیل جهت تحقیقات آینده پیشنهاد می گردد:

۱. بررسی باکتری کمپیلوباکتر ژژونی در فراورده های غذایی خام مانند سبزیجات و میوه جات
۲. بررسی باکتری کمپیلوباکتر ژژونی در گوشت های قرمز و سفید توزیع شده در شهرستان
۳. بررسی ارتباط بین آلودگی مواد غذایی به باکتری کمپیلوباکتر ژژونی و بیماری اسهال ناشی از آن
۴. بررسی پیشینه غذایی بیماران در بازه زمانی دوره کمون ۴۸-۷۲ ساعت قبل از شروع علائم و تعیین فراوانی عامل بیماری

۶.منابع

رضیئی, سروری, آقاملایی, موسوی, میرلطیف. (۲۰۱۷). شناسایی سریع باکتری کمپیلو باکتر ژژونی بر اساس واکنش PCR و ارزیابی حساسیت و اختصاصیت آن. مجله پزشکی بالینی ابن سینا, ۲۴(۱), ۶۲-۵۶.

غلامرضا, ا., علی, ج. م., السادات, ب. ا., تاج, ص. ع., مسعود, م., فاطمه, م. فراوانی حضور کمپیلوباکتر ژژونی در مدفوع مبتلایان به اسهال مراجعه کننده به مراکز بهداشتی شهرستان سمنان در سال ۱۳۸۶.

نوروزی, سوادکوهی, رستمکلائی, امین. (۲۰۰۲). کمپیلوباکتر ژژونی در کودکان کمتر از ۷ سال مبتلا به اسهال حاد، بابل، ۱۳۷۸. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل, ۴(۱), ۳۲-۳۰.

.Adzitey, F., Corry, J. (2011). A Comparison between Hippurate Hydrolysis and Multiplex PCR for Differentiating Campylobacter coli and Campylobacter jejuni *Trop Life Sci Res 22*(1), 91-98 .

Al Hakeem, W. G., Fathima, S., Shanmugasundaram, R., Selvaraj,.R. K. (2022). Campylobacter jejuni in Poultry: Pathogenesis and Control Strategies. *Microorganisms*, *10*(11). https://doi.org/10.3390/microorganisms10112134

Ali, A. M., Qureshi, A. H., Rafi, S., Roshan, E., Khan, I., Malik, A. M., Shahid, S. A Frequency of Campylobacter jejuni in diarrhoea/dysentery in children in Rawalpindi and Islamabad. *J Pak Med Assoc*, *53*(11), 517-520

Altekruse, S. F., Stern, N. J., Fields, P. I., Swerdlow, D. L. (1999). Campylobacter jejuni--an emerging foodborne pathogen. *Emerg Infect Dis*, *5*(1), 28-35. https://doi.org/10.3201/eid0501.990104

Ansarifar, E., Riahi, S. M., Tasara, T., Sadighara, P., Zeinali, T. (2023). Campylobacter prevalence from food, animals, human and environmental samples in Iran: a systematic review and meta-analysis. *BMC microbiology*, *23*(1), 1-20 .

Blaser, M. J., Taylor, D. N., Feldman, R. A. (1983). Epidemiology of Campylobacter jejuni infections. *Epidemiol Rev*, *5*, 157-176. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a036256

Bodhidatta ,L., Vithayasai, N., Eimpokalarp, B., Pitarangsi, C., Serichantalergs, O., Isenbarger, D. (2002). Bacterial enteric pathogens in children with acute dysentery in Thailand: increasing importance of quinolone-resistant Campylobacter. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, *33*(4), 752-757 .

Bokaeian, M., SHAHRAKI, Z. S., QUREISHI, M., SALEHI, R. (2003). Detecting enteropathogenic Campylobacters in chicken feces by PCR and comparing with culture method .

Champion, O. L., Gaunt, M. W ,.Gundogdu, O., Elmi, A., Witney, A. A., Hinds, J., Dorrell, N., Wren, B. W. (2005). Comparative phylogenomics of the food-borne pathogen Campylobacter jejuni reveals genetic markers predictive of infection source. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *102*(44), 16 .۱۶۰۴۸-۰۴۳https://doi.org/10.1073/pnas.0503252102

Cloak, O. M., Fratamico, P. M. (2002). A multiplex polymerase chain reaction for the differentiation of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli from a swine processing facility and characterization of isolates by pulsed-field gel electrophoresis and antibiotic resistance profiles. *Journal of food protection*, *65*(2), 266-274 .

Conlan, A. J., Coward, C., Grant, A. J., Maskell, D. J., Gog, J. R. (2007). Campylobacter jejuni colonization and transmission in broiler chickens: a modelling perspective. *J R Soc Interface*, *4*(16), 819-829. https://doi.org/10.1098/rsif.2007.1015

Cooper, R., Segal, H., Lastovica, A. J., Elisha, B. G. (2002). Genetic basis of quinolone resistance and epidemiology of resistant and susceptible isolates of porcine Campylobacter coli strains. *J Appl Microbiol*, *93*(2), 241-249. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01650.x

Dasti, J. I., Tareen, A. M., Lugert, R., Zautner, A. E., Gross, U. (2010). Campylobacter jejuni: a brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms. *Int J Med Microbiol*, *300*(4), 205-211. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2009.07.002

Denis, M., Refrégier-Petton, J., Laisney, M. J., Ermel, G., Salvat, G. (2001). Campylobacter contamination in French chicken production from farm to consumers. Use of a PCR assay for detection and identification of Campylobacter jejuni and Camp. coli. *Journal of applied microbiology*, *91*(2), 255-267 .

El-Shibiny, A., Scott, A., Timms, A., Metawea, Y., Connerton, P., Connerton, I. (2009). Application of a group II Campylobacter bacteriophage to reduce strains of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli colonizing broiler chickens. *Journal of food protection*, *72*(4), 733-740 .

Engberg, J., Aarestrup, F. M., Taylor, D. E., Gerner-Smidt, P., Nachamkin, I. (2001). Quinolone and macrolide resistance in Campylobacter jejuni and C. coli: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerg Infect Dis*, *7*(1), 24 .

Falahee, M. B., Park, S. F ,.Adams, M. R. (2003). Detection and enumeration of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli by indirect impedimetry with an oxygen scavenging system. *Journal of food protection*, *66*(9), 1724-1726 .

Feizabadi, M. M., Dolatabadi, S., Zali, M. R. (2007 .(Isolation and drug-resistant patterns of Campylobacter strains cultured from diarrheic children in Tehran. *Japanese journal of infectious diseases*, *60*(4), 217 .

Fernandez, H. (1988). Species and biotype distribution of thermotolerant campylobacters in animal reservoirs in southern Chile. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, *30*(5), 357-360. https://doi.org/10.1590/s0036-46651988000500005

Fernández, H., Vera, F., Villanueva, M. P., García, A. (2008). Occurrence of campylobacter species in healthy well-nourished and malnourished children. *Braz J Microbiol*, *39*(1), 56-58. https://doi.org/10.1590/s1517-838220080001000013

Ghaffar, N. M., Connerton, P. L., Connerton, I. F. (2015). Filamentation of Campylobacter in broth cultures. *Front Microbiol*, *6*, 657. https//:doi.org/10.3389/fmicb.2015.00657

Ghorbanalizadgan, M., Bakhshi, B., Lili, A. K., Najar-Peerayeh, S., Nikmanesh, B. (2014). A molecular survey of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli virulence and diversity. *Iranian biomedical journal*, *18*(3), 15 .۸

Ghorbanalizadgan, M., Bakhshi, B., Najar-Peerayeh, S. (2016). PCR-RFLP Provides Discrimination for Total flaA Sequence Analysis in Clinical Campylobacter jejuni Isolates. *Jpn J Infect Dis*, *69*(5), 373-377. https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2015.386

Griekspoor, P., Engvall, E. O., Olsen, B., Waldenström, J. (2010). Multilocus sequence typing of Campylobacter jejuni from broilers. *Vet Microbiol*, *140*(1-2), 180-185. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.07.022

Gürbüz, M., İrem Omurtag Korkmaz, B .(۲۰۲۲) .The anti-campylobacter activity of eugenol and its potential for poultry meat safety: A review. *Food Chem*, *394*, 133519. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133519

Hassanzadeh, P., Motamedifar, M. (2006). Occurrence of Campylobacter jejuni in Shiraz, southwest Iran. *Medical Principles and Practice*, *16*(1), 59-62 .

Hassanzadeh, P., Motamedifar, M. (2007). Occurrence of Campylobacter jejuni in Shiraz, southwest Iran. *Medical Principles and Practice*, *16*(1), 59-62 .

Heikema, A. P., Islam, Z., Horst-Kreft, D., Huizinga, R., Jacobs, B. C., Wagenaar, J. A., Poly, F., Guerry, P., van Belkum, A., Parker, C. T., Endtz, H. P. (2015). Campylobacter jejuni capsular genotypes are related to Guillain-Barré syndrome. *Clin Microbiol Infect*, *21*(9), 852.e85 .۸۵۹-۱https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.05.031

Humphrey, T. J. (1988). Peroxide sensitivity and catalase activity in Campylobacter jejuni after injury and during recovery. *J Appl Bacteriol*, *64*(4), 337-343. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1988.tb018.۷۸x

Jamshidi, A., Bassami, M., Farkhondeh, T. (2008). Isolation and identification of Campylobacter spp. and Campylobacter coli from poultry carcasses by conventional culture method and multiplex PCR in Mashhad, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, *9*(2), 132-137 .

Jones, D., Sutcliffe, E., Curry, A. (1991). Recovery of viable but non-culturable Campylobacter jejuni. *Microbiology*, *137*(10), 2477-2482 .

Jones, D. M., Sutcliffe, E. M., Curry, A. (1991). Recovery of viable but non-culturable Campylobacter jejuni. *J Gen Microbiol*, *137*(10), 2477-2482. https://doi.org/10.1099/00221287-137-10-2477

Kaakoush, N. O., Castaño-Rodríguez, N., Mitchell, H. M., Man, S. M. (2015). Global Epidemiology of Campylobacter Infection. *Clin Microbiol Rev*, *28* (۳), ۶۸۷-۷۲۰. https://doi.org/10.1128/cmr.00006-15

Kemper, L., Hensel, A. (2023). Campylobacter jejuni: targeting host cells, adhesion, invasion, and survival. *Appl Microbiol Biotechnol*, *107*(9), 2725-2754. https://doi.org/10.1007/s00253-023-12456-w

Khan ,I. U., Gannon, V., Kent, R., Koning, W., Lapen, D. R., Miller, J., Neumann, N., Phillips, R., Robertson, W., Topp, E., van Bochove, E., Edge, T. A. (2007). Development of a rapid quantitative PCR assay for direct detection and quantification of culturable and non-culturable Escherichia coli from agriculture watersheds. *J Microbiol Methods*, *69*(3), 480-488. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.02.016

Levin, R. E. (2007). Campylobacter jejuni: a review of its characteristics, pathogenicity, ecology, distribution, subspecies characterization and molecular methods of detection. *Food Biotechnology*, *21*(4), 271-347 .

Linton, D., Lawson, A., Owen, R., Stanley, J. (1997). PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli direct from diarrheic samples. *Journal of clinical microbiology*, *35*(10), 2568-2572 .

Mahendru, M., Prasad, K., Dhole, T., Ayyagari, A. (1997). Rapid identification of Campylobacter jejuni strains by polymerase chain reaction their restriction fragment length polymorphism analysis. *The Indian Journal of Medical Research*, *105*, 9-14 .

Marcus, R. (2008). New information about pediatric foodborne infections: the view from FoodNet. *Curr Opin Pediatr*, *20*(1), 79-84. https://doi.org/1۰,۱۰۹۷MOP.0b013e3282f43067

Nachamkin, I., Allos, B. M., Ho, T. (1998). Campylobacter species and Guillain-Barré syndrome. *Clin Microbiol Rev*, *11*(3), 555-567. https://doi.org/10.1128/cmr.11.3.555

Nagamine, K., Hase, T., Notomi, T. (2002). Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers. *Molecular and cellular probes*, *16*(3), 223-229 .

Nyati, K. K., Nyati, R. (2013). Role of Campylobacter jejuni infection in the pathogenesis of Guillain-Barré syndrome: an update. *BioMed research international*, *2013* .

Nyati, K. K., Prasad, K. N., Rizwan, A., Verma, A., Paliwal, V. K., Pradhan, S. (2010). Lymphocyte transformation test detects a response to Campylobacter jejuni antigens in patients with Guillain-Barré syndrome. *Med Microbiol Immunol*, *199*(2), 109-116. https://doi.org/10.1007/s00430-010-0144-3

Ó Cuív, P., Aguirre de Cárcer, D., Jones, M., Klaassens, E. S., Worthley, D. L., Whitehall, V. L., Kang, S., McSweeney, C. S., Leggett, B. A., Morrison, M. (2011). The effects from DNA

extraction methods on the evaluation of microbial diversity associated with human colonic tissue. *Microbial ecology*, *61*, 353-362 .

On, S. L. (2001). Taxonomy of Campylobacter, Arcobacter, Helicobacter and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. *Symp Ser Soc Appl Microbiol*(30), 1s-15s. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01349.x

Palumbo, S. A. (1984). Heat injury and repair in Campylobacter jejuni. *Appl Environ Microbiol*, *48*(3), 477-480. https://doi.org/1۰,۱۱۲۸aem.48.3.477-480.1984

Park, S. F. (2002). The physiology of Campylobacter species and its relevance to their role as foodborne pathogens. *Int J Food Microbiol*, *74*(3), 177-188. https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00678-x

Rahimi, E., Ameri, M., Alimoradi, M., Chakeri, A., Bahrami, A. R. (2013). Prevalence and antimicrobial resistance of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from raw camel, beef, and water buffalo meat in Iran. *Comparative Clinical Pathology*, *22*, 467-473 .

Rastyani, S., Alikhani, M. Y., Sedighi, I., Kazemi, S., Kohan, H. F., Arabestani, M. R. (2015). Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in children with acute diarrhea in health centers of Hamadan, Iran. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection*, *2*(4), 29791-29791 .

Razei, A., Sorouri, R., Aghamollaei, H., Mousavi, S. (2017). Rapid Detection of Campylobacter jejuni by Polymerase Chain Reaction and Evaluation of its Sensitivity and Specificity [Original]. *Avicenna Journal of Clinical Medicine*, *24*(1), 56-62. https://doi.org/10.21859/hums-24018

Rees, J. H., Gregson, N. A., Griffiths, P. L., Hughes, R. A. (1993). Campylobacter jejuni and Guillain-Barré syndrome. *Q J Med*, *86*(10), 623-634. https://doi.org/10.1093/qjmed/86.10.623

Sahin, O., Kassem, II, Shen, Z., Lin, J., Rajashekara, G., Zhang, Q. (2015). Campylobacter in Poultry: Ecology and Potential Interventions. *Avian Dis*, *59*(2), 185-200. https://doi.org/10.1637/11072-032315-Review

Sari, A., Jamshidi, A., Bassami, M. (2011). Isolation and identification of from poultry carcasses using conventional culture methods and multiplex PCR assay. *Int. J. Vet. Res*, *5*(1), 31-35 .

Sasaki, Y., Haruna, M., Murakami, M., Hayashida, M., Ito, K., Noda, M., Yamada, Y. (2013). Prevalence of Campylobacter spp., Salmonella spp., Listeria monocytogenes, and hepatitis E virus in swine livers collected at an abattoir. *Jpn J Infect Dis*, *66*(2), 161-164. https://doi.org/10.7883/yoken.66.161

Shams, S., Bakhshi, B., Nikmanesh, B. (1395). Designing a rapid and accurate method for transportation and culture of the Campylobacter jejuni and Campylobacter coli-fastidious bacteria in the children with bacterial gastrointestinal symptoms [Research]. *Koomesh journal*, *18*(1), 71-78. http://koomeshjournal.semums.ac.ir/article-1-3140-fa.html

Shams, S., Bakhshi, B., Nikmanesh, B. (2016). Designing a rapid and accurate method for transportation and culture of the Campylobacter jejuni and Campylobacter coli-

fastidious bacteria in the children with bacterial gastrointestinal symptoms. *Koomesh*, *18* .(۱)

Sheppard, S. K., Maiden, M. C. (2015). The evolution of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, *7*(8), a018119. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018119

Silva, J., Leite, D., Fernandes, M., Mena, C., Gibbs, P. A., Teixeira, P. (2011). Campylobacter spp. as a Foodborne Pathogen: A Review. *Front Microbiol*, *2*, 200. https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00200

T, O. C., Backert, S. (2012). Host epithelial cell invasion by Campylobacter jejuni: trigger or zipper mechanism? *Front Cell Infect Microbiol*, *2*, 25. https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00025

Taremi, M., Dallal, M. M. S., Gachkar, L., MoezArdalan, S., Zolfagharian, K., Zali, M. R. (2006). Prevalence and antimicrobial resistance of Campylobacter isolated from retail raw chicken and beef meat, Tehran, Iran. *International journal of food microbiology*, *108*(3), 401-403 .

Tsang, R. S. (2002). The relationship of Campylobacter jejuni infection and the development of Guillain-Barré syndrome. *Curr Opin Infect Dis*, *15*(3), 221-228. https://doi.org/10.1097/00001432-200206000-00002

Vercellone, P. A., Smibert, R. M., Krieg, N. R. (1990). Catalase activity in Campylobacter jejuni: comparison of a wild-type strain with an aerotolerant variant. *Can J Microbiol*, *36*(6), 449-451. https://doi.org/10.1139/m90-078

Zeng, D., Zhang, X., Xue, F., Wang, Y., Jiang, L., Jiang, Y. (2016). Phenotypic Characters and Molecular Epidemiology of Campylobacter Jejuni in East China. *J Food Sci*, *81*(1), M106-1 .۱۳https://doi.org/10.1111/1750-3841.13146

Zhang, L., Man, S. M., Day, A. S., Leach, S. T., Lemberg, D. A., Dutt, S., Stormon, M., Otley, A., O'Loughlin, E. V., Magoffin, A., Ng, P. H., Mitchell, H. (2009). Detection and isolation of Campylobacter species other than C. jejuni from children with Crohn's disease. *J Clin Microbiol*, *47*(2), 453-455. https://doi.org/10.1128/jcm.01949-08

Ziaei, N., Amir Mozafari, N., Kouhsari, H., Moradi, A., Tabarai, A., Dadgar, T., Livani, S., Arab Ahmadi, M. (2008). Prevalence of Campylobacter jejuni in Diarrhea samples in Gorgan, East north of Iran. *Medical Laboratory Journal*, *2*(2), 0-0 .

Zilbauer, M., Dorrell, N., Wren, B. W., Bajaj-Elliott, M. (2008). Campylobacter jejuni-mediated disease pathogenesis: an update .*Trans R Soc Trop Med Hyg*, *102*(2), 123-129. https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2007.09.019

رضیئی, سروری, آقاملایی, موسوی, میرلطیف. (۲۰۱۷). شناسایی سریع باکتری کمپیلو باکتر ژژونی بر اساس واکنش PCR و ارزیابی حساسیت و اختصاصیت آن. مجله پزشکی بالینی ابن سینا, ۲۴(۱), ۶۲-۵۶.

غلامرضا, ا., علی, ج. م., السادات, ب. ا., تاج, ص. ع., مسعود, م., فاطمه, م. فراوانی حضور کمپیلوباکتر ژژونی در مدفوع مبتلایان به اسهال مراجعه کننده به مراکز بهداشتی شهرستان سمنان در سال ۱۳۸۶.

نوروزی, سوادکوهی, رستمکلائی, امین. (۲۰۰۲). کمپیلوباکتر ژژونی در کودکان کمتر از ۷ سال مبتلا به اسهال حاد، بابل، ۱۳۷۸. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل, ۴(۱), ۳۲-۳۰.