https://bjm.ui.ac.ir/?lang=en

Journal of Microbial Biology
E-ISSN: 2322-5173
13rd Year, Vol. 13, No. 49, Spring 2024 pp. 77-94
Received: 01/02/2024 Accepted: 29/04/2024

(Research Paper)

Prevalence of *Campylobacter* Isolates from Native Animals Based on the Presence of Certain Virulence Genes

Seyedeh Ommolbanin Ghasemian *
Department of Veterinary, Behbahan Branch, Islamic Azad University, Behbahan, Iran ghasemian1249@yahoo.com
Hamid Mahmoodipour
*Department of Nursing and Midwifery, Behbahan Branch, Islamic Azad University, Behbahan, Iran
hamidmahmoudipoor@yahoo.com

Abstract:

This study aimed to evaluate the prevalence of *Campylobacter* isolates based on the presence of certain invasive genes. The experimental study tested 392 samples from Behbahan city. After culturing the samples, microbial identification was performed using Gram staining. Molecular identification of *Campylobacter* isolates was then conducted using PCR and suitable primers for invasive genes *cdtA, B, C, cadF, pldA, ciaB*, and *16S rRNA*. According to the Gram staining results, 50 samples were infected with *Campylobacter*. Of these, 37 (74%) were chicken samples, 8 (16%) were cow samples, 2 (4%) were sheep and goat samples, and 3 (6%) were water samples. Analysis of the *16S rRNA* gene sequence showed that 72% of the contamination was related to *Campylobacter jejuni* and 28% was related to *Campylobacter coli*. Overall, the prevalence of *Campylobacter jejuni* in isolated samples was significantly higher than that of general *Campylobacter* (p=0.012). Among the *Campylobacter jejuni* isolates, the highest prevalence was related to the *CdtC* toxin production gene (76.2%), and among the *Campylobacter coli* isolates, it was related to the *CdtB* toxin production gene (30.2%). Although chickens are considered the main sources of *Campylobacter* species, it is necessary to investigate the significance of other contamination sources, especially cattle and sheep, to assess their role in human infections. Therefore, necessary precautions must be taken for human consumption, and hygiene standards must be maintained in storage areas, along the slaughter line, and in stores.

Keywords: *Campylobacter*, Virulence genes, Secretory systems genes, Domestic animals.

* Corresponding Author
2322-5181/ © 2023 The Authors

This is an open access article under the CC BY-NC-ND/4.0/ License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).
Ghasemian, S. O ., & Mahmoodipour, H. Prevalence of Campylobacter Isolates from Native Animals Based on the Presence of Certain Virulence Genes. *Journal of Microbial Biology*, 2024; 13 (49): 77-94. http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140567.1583

Introduction:

So far, a comprehensive and extensive study on the pathogenicity of Campylobacter from a molecular genetic point of view has not been conducted. On the other hand, the use of antimicrobial agents in animals whose meat is consumed has led to the emergence and spread of bacteria resistant to antimicrobial agents, especially Campylobacter resistant to antimicrobials, which potentially has serious effects on food safety, both in terms of animal health and human health. It seems that this situation has expanded more rapidly in developing countries because in these countries, there is widespread and uncontrolled use of antibiotics. Given that Campylobacter can be transmitted from animals and food to humans, it is necessary to develop a strategy for controlling and preventing infection with Campylobacter. In addition, it is essential to describe the sources of contamination and the appropriate diagnosis of Campylobacter obtained from animal sources that are more dangerous. Due to the importance and role of Campylobacter in causing diseases common between humans and livestock, and also the increase in the number of cases in Asia and the Middle East, this study examined the prevalence of Campylobacter isolates based on invasive genes in chicken, cow, sheep, and water samples in Behbahan city.

Material & Methods:

This experimental study was conducted in Behbahan city on 4875 cows and sheep and 505000 chickens in 2022-2023. The statistical sample was randomly selected using a cluster sampling method from four sections in Behbahan city, with a volume of 400 samples. In the initial examination, 8 samples were set aside due to contamination and lack of sterile transfer conditions, which after their removal, ultimately 392 samples were tested. The macroscopic and microscopic characteristics of the isolates were identified. After completing the phenotypic diagnosis, 50 samples were suspected to be Campylobacter, which after purification and re-cultivation, their DNA was extracted and PCR was performed for final confirmation on the samples. To perform PCR, suitable primers for invasive genes cdtA,B,C, cadF, pldA, and ciaB, as well as the general gene (16S rRNA) of gram-negative bacteria (primers 27F and 1492R) were used as the reference gene (Macrogen Company, South Korea). The sequence analysis of the 16S rRNA gene in the gene bank was performed with the highest similarity to the isolated bacteria using NCBI software. In the end, the analyses were performed using SPSS statistical software version 22. The data were analyzed using the Chi-square and Mann-Whitney tests. In the tests performed, a 95% confidence coefficient was considered**.**

Discussion of Results & Conclusions:

In total, of the 392 samples examined, 182 (46.4%) were related to chicken, 141 (36%) were related to cows, 41 (10.5%) were related to sheep and goats, and 28 (7.1%) were related to water. The highest number of samples taken were related to chicken (182) and the lowest number of samples taken were related to water. The results of Gram staining of the samples showed that 50 samples were contaminated with the genus Campylobacter. The highest prevalence of Campylobacter was in chicken (20.3%) and the lowest prevalence was in sheep and goats (4.9%). Also, the results of PCR related to the 16S rRNA gene confirmed that all 50

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140567.1583

samples had a 1490 nucleotide band and were therefore contaminated with Campylobacter isolates. Of the total 50 Campylobacter isolates, 72% were related to *Campylobacter jejuni* and 28% were related to *Campylobacter coli*. Of the total 36 samples containing *Campylobacter jejuni*, 29 samples (80.55%) were related to poultry and 5 cases (13.88%) were related to cattle. Also, among the 14 samples containing *Campylobacter coli*, 8 cases (57.14%) were related to poultry and 5 cases (35.71%) were related to livestock. In general, the prevalence of *Campylobacter jejuni* in the separated samples was significantly higher than *Campylobacter coli* ($p = 0.012$). While no significant correlation was observed between Campylobacter isolates and the type of host ($p = 0.252$).

Although chickens are considered as the main sources of Campylobacter species, it is necessary to investigate the importance of other sources of contamination, especially cows and sheep, for assessing their role in human infections. Direct contact of individuals with infected animals and consumption of food products obtained from these infected animals can be the cause of diarrhea caused by Campylobacter. The presence of Campylobacter in animal food products can be explained to some extent by livestock production systems. Several factors support this hypothesis about the adverse effects of modern animal production systems on food safety, including the higher reported prevalence of Campylobacter in concentrate-fed cows compared to forage-fed cows, which is probably due to increased density of stocks, common access of cows to community food and water wells, and constant physical contact with the feces of other animals. The present study clearly showed the importance of domestic animals (cows and sheep) and chickens in Behbahan city as sources of Campylobacter. However, the prevalence of Campylobacter in animal sources and food products was less than the reported values in Japan, Korea, and the United States. This diversity can be attributed to the fact that campylobacteriosis in these countries is like hyperendemic and due to poor hygiene, proximity of humans and domestic animals, different sample sizes, use of different laboratory techniques, and the effect of geographical features in different studies

In the present study, the cadF gene was observed in 25 (73.5%) cases, the ciaB gene in 27 (73%) cases, the cdtA gene in 24 (70.6%) cases, the cdtB gene in 30 (69.8%) cases, the cdtC gene in 32 (76.2%) cases, and the pldA gene in 28 (70%) cases of samples. In *Campylobacter jejuni* isolate, the highest prevalence was related to the CdtC toxin-producing gene (76.2%), in *Campylobacter coli* isolate it was related to the CdtB toxin-producing gene (30.2%). There was no significant correlation between the prevalence of invasion-related genes and the type of Campylobacter ($p > 0.05$). The highest prevalence of invasion gene was related to the cdtB gene at a rate of 74.4% in Campylobacter isolates separated from chicken. While the cadF and cdtA genes were not observed in Campylobacter isolates separated from sheep and goats. There was no significant correlation between the prevalence of invasion-related genes and the type of sample ($p > 0.05$).

The analysis of the prevalence of the cdtC gene showed that regardless of the species and their origin, 68 percent of Campylobacter species isolated from chicken, cow, and sheep feces possess this marker. The prevalence of disease-causing genes responsible for adhesion in Campylobacter is very high, regardless of the source and geographical region. It has also been proven that species lacking cdtC cannot colonize in the poultry gut. Therefore, the cdtC gene, which is essential for colonization in the gut, can play a significant role in the pathogenesis of

human infection. The high prevalence of cdtA and flhA genes among isolates obtained from different points in the supply chain of broiler meat indicates the important role of these genetic products in the pathogenesis of Campylobacter and at the same time reveals the regulation of motility and virulence coordinates. The high prevalence of the cadf gene for isolates obtained from broiler chicken samples confirms the importance of this gene product for the colonization of the broiler chicken gut. Toxins produced by Campylobacter may be another factor potentially involved in causing disease. In the present study, in more than half of the Campylobacter isolates, one of the three subunit toxin genes necessary for the expression of cytotoxin was observed, regardless of the origin and species of isolation. The prevalence of some disease-causing genes among *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* was different, which may be due to heterogeneity in the genetic reservoir of Campylobacter strains. Our results may indicate that the pathogenic potential of *Campylobacter jejuni* isolates is higher than Campylobacter coli strains, especially those responsible for toxin production (cdt genes), or responsible for invasion of epithelial cells (ciaB marker). In addition, it is important to note that the rate of disease-causing genes can vary among different sources, which can indicate genetic differences including various mechanisms for colonization, adhesion, and pathogenicity among Campylobacter species. Therefore, the presence of virulence genes determines the ability of Campylobacter isolates to adhere to and attack cells. It should be noted that the presence of specific genetic factors is not direct evidence of the pathogenicity of these strain species for humans. However, it strongly suggests that they may potentially be capable of causing disease. In general, chickens and cows are reservoirs of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*, and sheep are secondary reservoirs of these two Campylobacter species. Therefore, for human consumption, necessary precautions must be taken and hygiene points must be observed in the place of storage, along the slaughter line, and in stores.

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140567.1583

زیست‌شناسی میکروبی
سال سیزدهم، شماره ۴۹، بهار ۱۴۰۳، صفحه ۷۷-۹۴
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۲/۱۰
مقاله پژوهشی

شیوع *کمپیلوباکتر*های جدا شده ازحیوانات بومی بر اساس وجود برخی ژن‌های تهاجمی

سیده ام البنین قاسمیان* : گروه دامپزشکی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان، ایران.ghasemian1249@yahoo.com
حمید محمودی پور: گروه پرستاری و مامایی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان، ایران hamidmahmoudipoor@yahoo.com

چکیده

این مطالعه با هدف ارزیابی میزان شیوع جدایه‌های *کمپیلوباکتر* بر اساس وجود برخی ژن‌های تهاجمی انجام گرفت. در این مطالعه تجربی در شهرستان بهبهان ۳۹۲ نمونه بعد از کشت، با استفاده از رنگ آمیزی گرم از نظر آلودگی بررسی شد. سپس شناسایی ملکولی جدایه‌های کمپیلوباکتر با انجام PCR و با استفاده از پرایمرهای مناسب برای ژن‌های تهاجمی *cdtA,B,C*، *cadF*، *pldA*، *ciaB* و *16S rRNA* انجام شد. بر اساس نتایج رنگ آمیزی گرم ۵۰ نمونه آلوده به جنس *کمپیلوباکتر* بودند. که از این میان تعداد نمونه‌های مرغ ۳۷ (۷۴٪) مورد، گاو ۸ (۱۶٪) مورد، گوسفند و بز ۲ (۴٪) مورد و آب ۳ (۶٪) مورد آلوده به *کمپیلوباکتر* بوده‌اند. آنالیز توالی ژن *16S rRNA* نشان داد، که ۷۲٪ آلودگی مربوط به *کمپیلوباکتر ژژونی* و ۲۸٪ مربوط به *کمپیلوباکتر کلی* می‌باشد. در کل شیوع *کمپیلوباکتر ژژونی* در نمونه‌های جدا شده به طور معنی‌داری بیشتر از *کمپیلوباکتر کلی* بود (p =۰/۰۱۲). در جدایه *کمپیلوباکتر ژژونی* بیشترین شیوع مربوط به ژن تولید سم *CdtC* (۷۶/۲ ٪) و در جدایه *کمپیلوباکتر کلی* مربوط به ژن تولید سم *CdtB* (۳۰/۲ ٪) بوده است. به طور کلی اگر چه مرغ‌ها به عنوان منابع اصلی گونه‌های *کمپیلوباکتر* مطرح هستند، اما لازم است که اهمیت دیگر منابع آلودگی به ویژه گاو و گوسفند برای ارزیابی نقش آن‌ها در عفونت‌های انسانی، نیز بررسی شود. بنابراین برای مصرف انسان حتما باید احتیاط‌های لازم به عمل آید و رعایت نکات بهداشتی در محل نگهداری، در طول خط کشتار و در فروشگاه‌ها صورت گیرد.

واژه‌های کلیدی: حیوانات اهلی، ژن‌های تهاجم، ژن‌های سیستم‌های ترشحی، *کمپیلوباکتر*

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات

2322-5181/ © 2023 The Authors
This is an open access article under the CC BY-NC-ND/4.0/ License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

قاسمیان، سیده ام‌البنین، محمودی‌پور، حمید. شیوع کمپیلوباکترهای جدا شده ازحیوانات بومی بر اساس وجود برخی ژن‌های تهاجمی. *زیست‌شناسی میکروبی*. ۱۴۰۳، ۱۳ (۴۹): ۷۷-۹۴. http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140567.1583

مقدمه

کمپیلوباکتر (*Campylobacter*)، باکتری‌های گرم منفی مارپیچی، میله‌ای شکل یا منحنی هستند که بسته به گونه، یک تاژک قطبی واحد، تاژک دوقطبی یا بدون تاژک دارند. گونه‌های *کمپیلوباکتر* هاگ ساز نیستند، تقریباً ۰/۲ تا ۰/۸ در ۰/۵ تا ۵ میکرومتر و شیمیوارگانوتروف‌هایی هستند، که منابع انرژی خود را از اسیدهای آمینه یا واسطه‌های چرخه اسید تری کربوکسیلیک به دست می‌آورند (۱). این باکتری‌های ترموفیل با دمای ۳۰ تا ۴۶ درجه سانتیگراد و میکروآئروفیل با O_2 ۵٪ هستند و از خانواده Campylobacteraceae می‌باشند. بیشتر گونه‌های *کمپیلوباکتر* در شرایط میکروآروبی رشد می‌کنند و یک نوع متابولیسم تنفسی دارند. *کمپیلوباکتر* سرده‌ای از باکتری است که می‌تواند باعث بیماری به نام کمپیلوباکتریوز شود (۲). این بیماری معمولاً طی دو تا پنج روز پس از قرار گرفتن در معرض ارگانیسم منجر به علائمی مانند اسهال، گرفتگی عضلات، درد شکم و تب می‌شود. همچنین اسهال ممکن است خونی باشد و با حالت تهوع و استفراغ همراه باشد. این بیماری معمولا یک هفته طول می‌کشد (۳).

کمپیلوباکتر یک پاتوژن مشترک بین انسان و دام است که در مجرای روده حیوانات اهلی و وحشی و پرندگان ساکن می‌باشد و می‌تواند انسان را از طریق مصرف آب آلوده، غذاهای مختلف مانند گوشت خام یا نپخته، شیر غیرپاستوریزه و تماس با حیوانات آلوده یا انسان (به ندرت) آلوده کند (۴). این پاتوژن باکتریایی منتقله از غذا، عامل اصلی گاستروانتریت باکتریایی و سپتی سمی در انسان در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته است. در کشورهای توسعه یافته، باکتری *کمپیلوباکتر* مهم‌ترین عامل ایجاد کننده عفونت دستگاه گوارش است (۵). تخمین زده می‌شود که سالانه بین ۴۰۰ تا ۵۰۰ میلیون نفر در جهان به گونه‌های *کمپیلوباکتر* آلوده می‌شوند (۶). مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری تخمین می‌زند که عفونت *کمپیلوباکتر* سالانه ۱/۵ میلیون ساکن ایالات متحده را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۷).

شایع‌ترین گونه‌های مرتبط با گاستروانتریت باکتریایی در انسان *کمپیلوباکتر ژژونی* (*C. jejuni*)، *کمپیلوباکتر کلی* (*C. coli*) و همچنین *کمپیلوباکتر فتوس* (*C. fetus*) مرتبط با عفونت‌های سیستمیک هستند. اکثر ژنوتیپ‌های جدا شده از بیماری‌های انسانی نیز به عنوان ساکنان گوارشی مشترک حیوانات اهلی و مخصوصا حیوانات خوراکی جدا شده‌اند. علاوه بر این، ایزوله‌های بالینی زیرمجموعه‌ای غیر تصادفی از این سویه‌ها هستند. تصور می‌شود که حامل بدون علامت *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکتر کلی* در انسان، به‌ویژه در میان مردم کشورهای صنعتی، نادر است، که نشان می‌دهد انسان میزبان اصلی این ارگانیسم‌ها در این مکان‌ها نیست (۲). علاوه بر این، در برخی موارد، این پاتوژن‌های روده‌ای با دو عارضه دیررس مرتبط با سیستم ایمنی، یعنی سندرم گیلن باره و آرتریت واکنشی همراه هستند. شدت عفونت‌های *کمپیلوباکتر* از یک بیماری خفیف و خود محدود شونده تا عفونت‌های شدید متفاوت است (۸).

چندین ژن مرتبط با بیماریزایی در *کمپیلوباکتر* توصیف شده است، از جمله ژن *cadF* که برای اتصال و کلونیزاسیون (تجمع) ضروری است، ژن *pldA* برای تهاجم ضروری است و ژن‌های *cdtB* و *cdtC* که تولید توکسین می‌کنند. تاکنون مطالعه گسترده و جامعی بر

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140567.1583

روی بیماریزایی *کمپیلوباکتر* از لحاظ ژنتیک مولکولی صورت نگرفته است. از سوی دیگر استفاده از عوامل ضدمیکروبی در حیواناتی که گوشت آن‌ها به مصرف می‌رسد موجب بروز و شیوع باکتری‌های مقاوم در برابر عوامل ضد میکروبی شده است، به‌خصوص *کمپیلوباکتر* مقاوم در برابر ضدمیکروب‌ها، که به طور بالقوه، بر روی ایمنی مواد غذایی، هم در خصوص سلامت حیوان و هم در خصوص سلامت انسان، اثرات جدی از خود بر جای می‌گذارد. به نظر می‌رسد که وضعیت در کشورهای در حال توسعه با سرعت بیشتری رو به وخامت است زیرا در این کشورها، استفاده گسترده و کنترل نشده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها به عمل می‌آید. اطلاعات دریافتی از کشورهای کم درآمد و با درآمد متوسط حاکی از آن است که مشکلات بیماری ناشی از ابتلا به *کمپیلوباکتر*، قابل‌توجه است (۹). با توجه به اینکه *کمپیلوباکتر* می‌تواند از حیوانات و مواد غذایی به انسان منتقل شود، لازم است که یک استراتژی برای کنترل و پیشگیری از عفونت با *کمپیلوباکتر* تدوین گردد. بعلاوه ضروری است که منابع آلودگی و تشخیص مناسب *کمپیلوباکتر*های بدست آمده از منابع حیوانی که خطرناکتر هستند، توصیف شوند (۱۰).

با توجه به اینکه استراتژی‌های موثر برای کنترل آلودگی با *کمپیلوباکتر* هنوز محدود بوده، و دانش فعلی ما در مورد مکانیسم‌های بیماری‌زایی، تهاجم و مکانیسم تعامل *کمپیلوباکتر* با میزبان خود یعنی طیور و گاو نسبتا ضعیف می‌باشد و همچنین با توجه به اینکه مرغ و گاو آلوده منبع اصلی کمپیلوباکتریوزیس در کشورهای صنعتی است، شناسایی عوامل تهاجم و کلونیزاسیون بدون شک منجر به کسب استراتژی جدید برای به حداقل رساندن کلونیزاسیون *کمپیلوباکتر* خواهد شد (۱۱). از آنجایی که تاکنون هیچ تحقیقی در مورد ژن‌های تهاجمی در *کمپیلوباکتر* صورت نگرفته است. بنابراین این مطالعه با هدف ارزیابی میزان شیوع جدایه‌های *کمپیلوباکتر* بر اساس وجود برخی ژن‌های تهاجمی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در شهرستان بهبهان بر روی ۴۸۷۵ راس گاو و گوسفند و ۵۰۵۰۰۰ قطعه مرغ در سال ۱۴۰۱ انجام شد. نمونه آماری با استفاده از روش نمونه‌گیری تصادفی خوشه‌ای چند مرحله‌ای و به حجم ۴۰۰ نمونه بر حسب جدول تعیین حجم نمونه گرجسی-مورگان (۱۲) انتخاب شدند. پس از کسب مجوزهای لازم و هماهنگی با مسئولین دامپزشکی شهرستان بهبهان، ابتدا از چهار بخش مرکزی، آقاجری، زیدون و تشان بهبهان، دو بخش مرکزی و آقاجری به‌طور تصادفی انتخاب شدند. سپس دو دامداری و دو مرغداری از هر کدام از بخش‌های مرکزی و آقاجری به صورت تصادفی انتخاب گردید و از هر دامداری و مرغداری به‌طور تصادفی، ۵۰ نمونه (از مدفوع گاو، گوسفند و بز، مرغ و آب مرغداری و دامداری) جمع‌آوری شد. در بررسی اولیه از این ۴۰۰ نمونه گرفته‌شده ۸ نمونه به دلیل آلوده شدن و نداشتن شرایط انتقال استریل، کنار گذاشته شد، که پس از حذف آن‌ها، در نهایت ۳۹۲ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت.

کشت و شناسایی میکروبی

از نمونه‌های جمع‌آوری شده میکروب‌ها با استفاده از دستگاه کاپادنیس-باصری (KB) جداسازی شده، سپس بر روی محیط کشت‌های بلاد آگار و مولر هینتون آگار

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140567.1583

بصورت منطقه‌ای کشت داده شدند و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سپس جدایه‌ها با استفاده از خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی شناسایی شدند. برای ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی و ویژگی‌های مرفولوژیک از رنگ آمیزی گرم استفاده شد. کلنی‌های *کمپیلوباکتر* بر روی محیط بلاد آگار، خاکستری، مرطوب، با سطحی برجسته و براق و بر روی محیط پایه انتخابی *کمپیلوباکتر* کلنی‌های خاکستری و شفاف بودند.

شناسایی ملکولی جدایه‌های کمپیلوباکتر

بعد از اتمام تشخیص فنوتیپی، از ۳۹۲ نمونه آزمایش شده، ۵۰ نمونه مشکوک به *کمپیلوباکتر* بودند که پس از خالص‌سازی و کشت مجدد، **DNA** آن‌ها استخراج و برای تایید نهایی بر روی نمونه‌ها، PCR انجام گرفت. در مجموع ۱ میلی لیتر از کشت مایع از هر ایزوله سانتریفیوژ شد و DNA نمونه‌های باکتری مورد نظر با استفاده از کیت استخراج DNA (یکتا تجهیز آزما، ایران) به روش ستونی مطابق با پروتوکل کیت استخراج گردید. به منظور تعیین غلظت و درجه خلوص DNA استخراج شده از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ در طول موج ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر) که شاخص میزان خلوص DNA می‌باشد، استفاده شد. همچنین با استفاده از الکتروفورز و ژل آگارز ۱٪ کیفیت باند DNA هر نمونه مورد بررسی قرار گرفت.

به منظور انجام PCR پرایمرهای مناسب برای ژن‌های تهاجمی *cdtA,B,C*، *cadF*، *pldA* **و** *ciaB* و همچنین ژن عمومی (*16S rRNA*) باکتری‌های گرم منفی (پرایمرهای 27F و 1492R) به عنوان ژن رفرنس از شرکت ماکروژن کره جنوبی خریداری گردید (جدول ۱). تکثیر در حجم واکنش ۲۵ میکرولیتری حاوی الگوی DNA (۱ میکرولیتر)، پرایمر (۱ میکرولیتر)، و مخلوط اصلی PCR (یکتا تجهیز آزما، ایران) با استفاده از ترموسایکلر Bio-Rad تحت برنامه زیر انجام شد: مرحله دناتوراسیون (۱ دقیقه در ۹۴ درجه سانتیگراد)، ۳۴ چرخه amplification (مرحله دناتوراسیون، ۲۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتیگراد، مرحله annealing، ۳۰ ثانیه در ۵۵ درجه سانتیگراد، مرحله گسترش، ۴۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد)، و گسترش نهایی، ۲ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد. محصولات نهایی PCR از طریق یک ژل آگارز ۲ درصد با بافر TBE **(**X10**)** الکتروفورز شده و توسط اتیدیوم بروماید و ترانس روشن کننده UV قابل مشاهده است. اندازه محصول مورد انتظار PCR تقریباً ۱۴۹۰ جفت باز که در نمونه عکس گرفته شد، مورد بررسی قرار گرفت.

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140567.1583

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی *کمپیلوباکتر*

Table 1: Primers used to identify Campylobacter

ژن	پرایمرها	توالی('۵ به '۳)	طول پرایمر	طول محصول PCR
16S rRNA	27F	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	۲۰	1490bp
	1492R	CGGTTACCTTGTTACGACTT	۲۰	
cdtA	Forward	CCTTGTGATGCAAGCAATC	۱۹	686bp
	Reverse	ACACTCCATTTGCTTTCTG	۱۹	
cdtB	Forward	CAGAAAGCAAATGGAGTGTT	۲۰	510bp
	Reverse	AGCTAAAAGCGGTGGAGTAT	۲۰	
cdtC	Forward	CGATGAGTTAAAACAAAAAGATA	۲۳	453bp
	Reverse	TTGGCATTATAGAAAATACAGTT	۲۳	
cadF	Forward	TTGAAGGTAATTTAGATATG	۲۰	777bp
	Reverse	CTAATACCTAAAGTTGAAAC	۲۰	
pldA	Forward	AAGCTTATGCGTTTTT	۱۶	706bp
	Reverse	TATAAGGCTTTCTCCA	۱۶	
ciaB	Forward	TTTTTATCAGTCCTTA	۱۶	1008bp
	Reverse	TTTCGGTATCATTAGC	۱۶	

آنالیز آماری

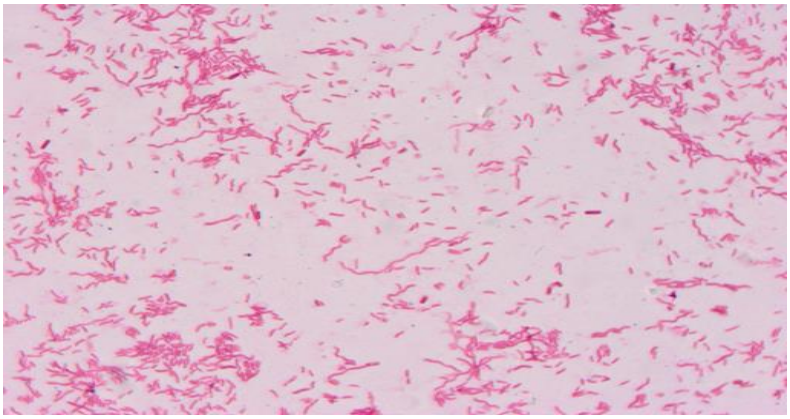
ابتدا مشخصات توصیفی متغیرها به صورت درصد و جدول توزیع فراوانی بیان شد و با استفاده از تست فیشر مورد بررسی قرار گرفتند. سپس داده‌های کمی در صورت برخورداری از توزیع نرمال از روش های آماری پارامتریک (آزمون کای دو) و در صورت عدم برخورداری از توزیع نرمال از روش های غیر پارامتریک (آزمون یو من ویتنی) استفاده شد. در آزمون‌های انجام شده ضریب اطمینان ۹۵٪ در نظر گرفته شد. تحلیل ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ورژن ۲۲ انجام شد.

نتایج

در کل از ۳۹۲ نمونه بررسی شده، ۱۸۲ (۴۶/۴٪) نمونه مربوط به مرغ، ۱۴۱ (۳۶٪) نمونه مربوط به گاو، ۴۱ (۱۰/۵٪) نمونه مربوط به گوسفند و بز و ۲۸ (۷/۱٪) نمونه مربوط به آب بوده است، که بیشترین نمونه گرفته شده مربوط به مرغ ۱۸۲ و کمترین نمونه گرفته شده مربوط به آب بوده است.

نتایج رنگ آمیزی گرم نمونه‌های بدست آمده، نشان داد که احتمالا ۵۰ نمونه آلوده به جنس *کمپیلوباکتر* می‌باشند. شکل ۱ نشان دهنده رنگ آمیزی گرم است که در آن *کمپیلوباکتر* به صورت باسیل‌های گرم منفی، میله‌ای شکل کوتاه، به شکل بال مرغی، مارپیچ و گاه تکی دیده می‌شود. براساس رنگ آمیزی گرم در کل ۵۰ (۱۲/۷٪) نمونه آلوده به *کمپیلوباکتر* بودند. که از این میان تعداد نمونه‌های مرغ ۳۷ (۷۴٪) مورد، گاو ۸ (۱۶٪) مورد، گوسفند و بز ۲ (۴٪) مورد و آب ۳ (۶٪) مورد آلوده به *کمپیلوباکتر* بوده‌اند. بنابراین بیشترین میزان شیوع کمپیلوباکتر در مرغ (۲۰/۳٪) و کمترین میزان در گوسفند و بز (۴/۹٪) بوده است.

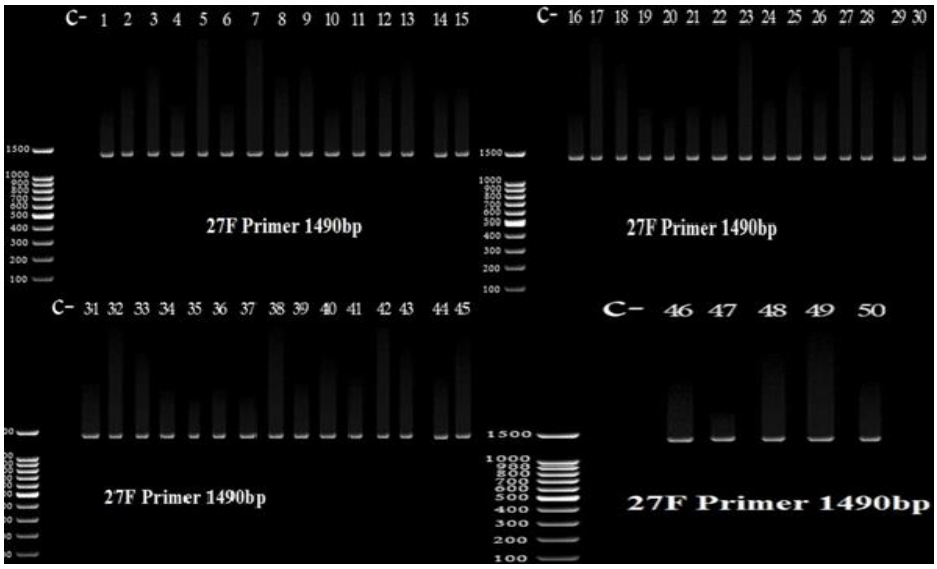
http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140567.1583



شکل ۱. نمایی از باسیل‌های خمیده گرم منفی *کمپیلوباکتر* حاصل از رنگ آمیزی گرم (X ۱۰۰۰)

Figure 1. A view of curved gram-negative bacilli of Campylobacter obtained by gram staining (X 1000)

همچنین نتایج PCR مربوط به ژن *16S rRNA* تایید کرد که تمامی ۵۰ نمونه دارای باند ۱۴۹۰ نوکلئوتیدی بوده و در نتیجه آلوده به جدایه‌های *کمپیلوباکتر* می‌باشند (شکل ۲).



شکل ۲. ژل الکتروفورز محصول **PCR** ژن ***16S rRNA***. ستون **c**: مارکر وزن مولکولی (لدر) **100 bp**، ستون -: کنترل منفی، چاهک‌های ۱ تا ۵۰: نمونه‌های مثبت آلوده به *کمپیلوباکتر*.

Figure 2. Gel electrophoresis of PCR of 16S rRNA gene. Column c: molecular weight marker (ladder) 100 bp, column -: negative control, lanes 1 to 50: positive samples infected with Campylobacter.

آنالیز توالی ژن *16S rRNA* در بانک ژنی با بیشترین شباهت با باکتری‌های جدا شده با استفاده از نرم افزار NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) انجام شد. جدول ۲ منابع و کد دسترسی *کمپیلوباکترهای* جدا شده از مدفوع مرغ، گاو، گوسفند و بز و آب، بر اساس وجود توالی آن‌ها در بانک ژنی NCBI نشان داده شده است. همچنین براساس نتایج به دست آمده از کل ۵۰ جدایه *کمپیلوباکتر* ۷۲٪ مربوط به *کمپیلوباکتر ژژونی* و ۲۸٪ مربوط به *کمپیلوباکتر کلی* بوده است.

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140567.1583

جدول ۲: تأیید شناسایی *کمپیلوباکتر*های جداشده از نمونه‌ها بر اساس توالی یابی ژن *16S rRNA* (تعداد=۵۰)

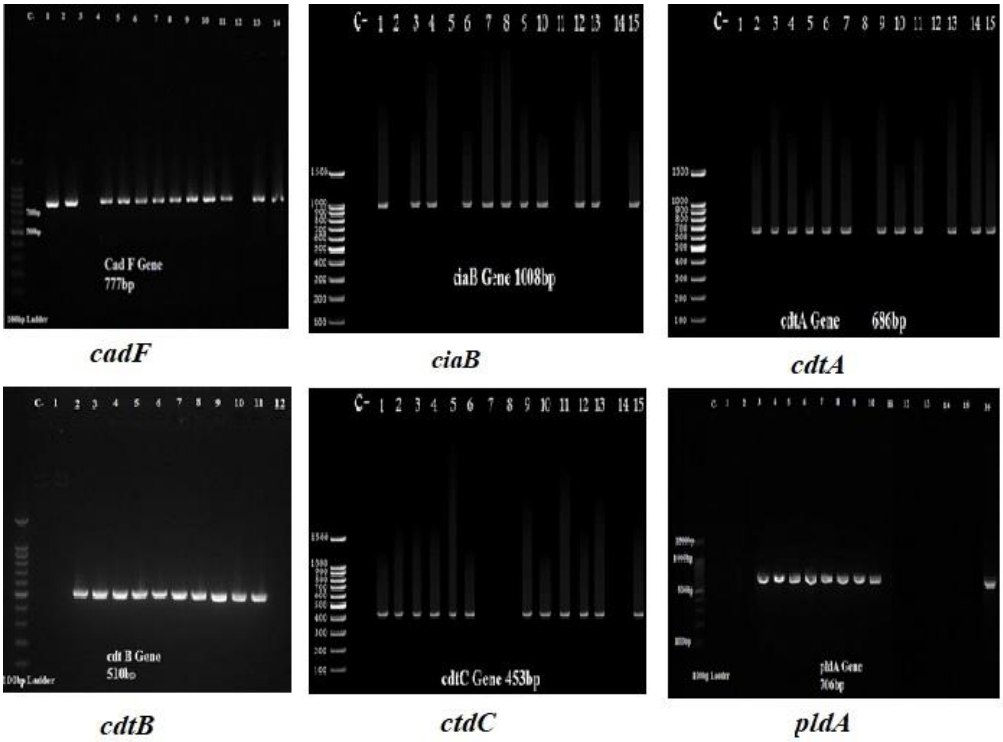
Table 2: Confirming the identification of Campylobacter isolated from samples based on 16S rRNA gene sequencing (n=50)

نمونه	جنس و گونه	کد دسترسی	فراوانی (درصد)	فراوانی (درصد)
مرغ	*کمپیلوباکتر ژژونی*	CP020776.1	۱۸ (۳۶)	۲۹ (۵۸)
		CP007193.1	۴ (۸)	
		CP017862.1	۲ (۴)	
		CP017456.1	۱ (۲)	
		CP007191.1	۲ (۴)	
		CP020045.1	۱ (۲)	
		CP007188.1	۱ (۲)	
	کمپیلوباکتر کلی	CP007181.1	۴ (۸)	۸ (۱۶)
		CP019977.1	۲ (۴)	
		CP007183.1	۲ (۴)	
گاو	*کمپیلوباکتر ژژونی*	CP017862.1	۱ (۲)	۴ (۸)
		CP020776.1	۱ (۲)	
		CP007193.1	۱ (۲)	
		CP007192.1	۱ (۲)	
	کمپیلوباکتر کلی	CP007183.1	۲ (۴)	۴ (۸)
		CP006702.1	۱ (۲)	
		CP019977.1	۱ (۲)	
گوسفند و بز	*کمپیلوباکتر ژژونی*	CP007193.1	۱ (۲)	۱ (۲)
	کمپیلوباکتر کلی	CP019977.1	۱ (۲)	۱ (۲)
آب	*کمپیلوباکتر ژژونی*	CP007188.1	۱ (۲)	۲ (۴)
		CP017862.1	۱ (۲)	
	کمپیلوباکتر کلی	CP007183.1	۱ (۲)	۱ (۲)

از مجموع ۳۶ نمونه دارای *کمپیلوباکتر ژژونی*، ۲۹ نمونه (۸۰/۵۵٪) مربوط به طیور و ۵ مورد (۱۳/۸۸٪) مربوط به بوده است. همچنین در میان ۱۴ نمونه دارای *کمپیلوباکتر کلی* ۸ مورد (۵۷/۱۴٪) مربوط به طیور و ۵ مورد (۳۵/۷۱٪) مربوط به در دام بوده‌اند. براساس آنالیز آماری انجام شده در کل شیوع *کمپیلوباکتر ژژونی* در نمونه‌های جدا شده به طور معنی‌داری بیشتر از *کمپیلوباکتر کلی* بوده است (p =۰/۰۱۲). در حالی که ارتباط معنی داری بین جدایه‌های *کمپیلوباکتر* با نوع میزبان مشاهده نشد (p =۰/۲۵۲).

نمونه‌ای از ژل‌های بررسی شده مربوط به ژن‌های تهاجمی در شکل ۳ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده ژن *cadF* در ۲۵ (۷۳/۵٪) مورد، ژن *ciaB* در ۲۷ (۷۳٪) مورد، ژن *cdtA* در ۲۴ (۷۰/۶٪) مورد، ژن *cdtB* در ۳۰ (۶۹/۸٪) مورد، ژن *cdtC* در ۳۲ (۷۶/۲٪) مورد و ژن *pldA* در ۲۸ (۷۰٪) مورد از نمونه‌ها مشاهده شد.

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140567.1583



شکل ۳. ژل الکتروفورز و تشخیص ژن‌های *cadF*، *ciaB*، *cdtA*، *cdtB*، *cdtC* و *pldA* جدایه‌های *کمپیلوباکترها*. ستونc: مارکر وزن مولکولی (لدر)bp100، ستون - کنترل منفی.

Figure 3. Gel electrophoresis and detection of cadF, ciaB, cdtA, cdtB, cdtC and pldA genes of Campylobacter isolates. Column c: molecular weight marker (ladder) bp100, column - negative control

شیوع ژن‌های مرتبط با تهاجم با توجه به نوع *کمپیلوباکتر* شناسایی شده در جدول ۳ نشان داده شده است. که در جدایه *کمپیلوباکتر ژژونی* بیشترین شیوع مربوط به ژن تولید سم *CdtC* (۷۶/۲ ٪)، در جدایه *کمپیلوباکتر کلی* مربوط به ژن تولید سم *CdtB* (۳۰/۲ ٪) بوده است. براساس آنالیز آماری بین شیوع ژن‌های مرتبط با تهاجم با نوع *کمپیلوباکتر* ارتباط معنی داری وجود نداشت (p >۰/۰۵).

جدول ۳. شیوع ژن‌های مرتبط با تهاجم با توجه به نوع جدایه‌های *کمپیلوباکتر*

Table 3: Table 3. Prevalence of genes related to invasion according to the type of Campylobacter isolates

نقش ژن	ژن‌های تهاجمی	*کمپیلوباکتر ژژونی* فراوانی (درصد)	*کمپیلوباکتر کلی* فراوانی (درصد)	χ^2	P. value
اتصالی	*CadF*	۲۵ (۷۳/۵)	۹ (۲۶/۵)	۰/۱۲	۰/۷۲
	CiaB	۲۷ (۷۳)	۱۰ (۲۷)	۰/۰۷	۰/۷۹
تولید سم	*CdtA*	۲۴ (۷۰/۶)	۱۰ (۲۹/۴)	۰/۱	۰/۷۴
	CdtB	۳۰ (۶۹/۸)	۱۳ (۳۰/۲)	۰/۷۶	۰/۳۸
	CdtC	۳۲ (۷۶/۲)	۱۰ (۲۳/۸)	۲/۲۹	۰/۱۳
	pldA	۲۸ (۷۰)	۱۲ (۳۰)	۰/۴	۰/۵۳

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140567.1583

شیوع ژن‌های مرتبط با تهاجم با توجه به نوع نمونه جمع‌آوری شده در جدول ۴ نشان داده شده است. شود بیشترین شیوع ژن تهاجم مربوط به ژن *cdtB* به میزان ۷۴/۴٪ در جدایه‌های *کمپیلوباکتر* جدا شده از مرغ بوده است. در حالی که ژن‌های *cadF* و *cdtA* در جدایه‌های کمپیلوباکتر جدا شده از گوسفند و بز مشاهده نشد. براساس آنالیز آماری بین شیوع ژن‌های مرتبط با تهاجم با نوع نمونه ارتباط معنی داری وجود نداشت (p >۰/۰۵).

جدول ۴. شیوع ژن‌های مرتبط با تهاجم با توجه به نوع نمونه

Table 4: Prevalence of invasion-related genes according to sample type

نقش ژن	ژن‌های تهاجمی	مرغ فراوانی (درصد)	گاو فراوانی (درصد)	گوسفند و بز فراوانی (درصد)	آب فراوانی (درصد)	χ^2	P. value
اتصالی	*CadF*	۲۷ (۷۹/۴)	۴ (۱۱/۸)	۰ (۰)	۳ (۸/۸)	۳/۲۹	۰/۱۴
	CiaB	۲۸ (۷۵/۷)	۴ (۱۱/۸)	۲ (۵/۴)	۳ (۸/۸)	۰/۷۹	۰/۴۴
تولید سم	*CdtA*	۲۵ (۷۳/۵)	۷ (۲۰/۶)	۰ (۰)	۲ (۵/۹)	۰/۱۴	۰/۹۹
	CdtB	۳۲ (۷۴/۴)	۷ (۱۶/۳)	۲ (۴/۷)	۲ (۴/۷)	۰/۰۵	۰/۹۹
	CdtC	۳۱ (۷۳/۸)	۷ (۱۶/۳)	۱ (۲/۴)	۳ (۷/۱)	۲/۶۵	۰/۱۵
	pldA	۲۸ (۷۰)	۷ (۱۷/۵)	۲ (۵)	۳ (۷/۵)	۲/۶۸	۰/۱۴

بحث

به دلیل اهمیت و نقش *کمپیلوباکتر* در ایجاد بیماری‌های مشترک بین انسان و دام، و همچنین از آنجایی که تعداد موارد کمپیلوباکتریوز در آمریکای شمالی، اروپا و استرالیا افزایش یافته است و اطلاعات اپیدمیولوژیک از آفریقا، آسیا و خاورمیانه هنوز کامل نیست (۱۳, ۱۴). در این مطالعه میزان شیوع جدایه‌های *کمپیلوباکتر* را بر اساس ژن‌های تهاجمی در نمونه‌های مرغ، گاو، گوسفند و آب در شهرستان بهبهان مورد بررسی قرار دادیم. براساس نتایج به دست آمده در کل نمونه‌های بررسی شده میزان شیوع *کمپیلوباکتر* ۱۲/۷ درصد بود، که بیشترین میزان شیوع مربوط به نمونه‌های مرغ و کمترین میزان مربوط به نمونه‌های گوسفندان بوده است. شیوع *کمپیلوباکتر ژژونی* در نمونه‌های جدا شده به طور معنی‌داری بیشتر از *کمپیلوباکتر کلی* بود، در حالی که شیوع ژن تهاجمی با نوع *کمپیلوباکتر* و نوع نمونه‌های جمع‌آوری شده ارتباط مشخصی نداشت.

Zbrun و همکاران در یک مطالعه متا آنالیز عنوان کردند که تقریباً ۳۰ درصد از محصولات غذایی حیوانی، بدون توجه به گونه‌های حیوانی، دارای *کمپیلوباکتر* هستند. این نتیجه مهم است زیرا انتقال در طول زنجیره غذایی به طور کلی به عنوان رایج‌ترین مسیر مورد استفاده توسط پاتوژن برای ایجاد کمپیلوباکتریوز انسانی پذیرفته شده است (۱۵). حضور *کمپیلوباکتر* در محصولات غذایی حیوانی ممکن است حداقل تا حدی توسط سیستم‌های تولید دام توضیح داده شود. این امر در دهه‌های گذشته شدیدتر بوده است. چندین عامل این فرضیه را در مورد اثرات نامطلوب سیستم‌های مدرن تولید حیوانات بر ایمنی مواد غذایی پشتیبانی می‌کند. به این ترتیب، شیوع *کمپیلوباکتر* در کنسانتره به جای گاوهای علوفه‌ای بیشتر گزارش شده است که احتمالاً به دلیل افزایش تراکم ذخایر، فراوانی دسترسی مشترک گاوها به غذای جامعه و چاه‌های آب و تماس فیزیکی مداوم با مدفوع سایر حیوانات در حین حبس است (۱۶).

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140567.1583

مرادی و همکاران در شیراز میزان آلودگی گوشت مرغ‌های کشتار شده به این باکتری را ۶۸/۷۳ درصد گزارش نمودند (۱۷). گیلانی و همکاران میزان شیوع *کمپیلو باکتر* در مرغ‌ها در شهر آمل را ۶۰/۷٪ گزارش کردند (۱۸). همچنین در بررسی آلودگی گوشت سطح تهران که توسط سلطانی و همکاران انجام گرفت، میزان آلودگی به *کمپیلو باکتر* را ۴۹/۷ درصد اعلام نمودند (۱۹). در مطالعه دیگر ایرانژاد و همکاران میزان شیوع *کمپیلوباکتر* در لاشه طیور طی مراحل کشتار در کشتارگاه نجف آباد اصفهان را ۶۳/۷۵ درصد گزارش کردند (۲۰). در همین راستا مطالعه حاضر به وضوح اهمیت حیوانات اهلی (گاو و گوسفند) و مرغ در شهرستان بهبهان را به عنوان منابع *کمپیلوباکتر* نشان داد. همچنین نتایج نشان داد که شیوع *کمپیلوباکتر* در منطقه مورد مطالعه بالا است. با این حال، شیوع *کمپیلوباکتر* در منابع حیوانی و محصولات غذایی بالاتر یا کمتر از مقادیر گزارش شده در ژاپن (۲۱)، کره (۲۲) و ایالات متحده (۲۳) بوده است. این تنوع را می‌توان به این واقعیت نسبت داد که کمپیلوباکتریوز در این کشورها هیپرآندمیک است و به دلیل بهداشت نامناسب، مجاورت انسان و حیوانات اهلی، اندازه‌های مختلف نمونه برداری، استفاده از تکنیک‌های مختلف آزمایشگاهی و تأثیر ویژگی‌های جغرافیایی در مطالعات مختلف باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در طیور و گاو و گوسفند گونه‌های مختلف *کمپیلوباکتر* (*کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکتر کلی*) وجود دارد، که این حیوانات می‌توانند جایگاه و مخزنی برای این *کمپیلوباکترهای* پاتوژن باشند. همچنین شیوع *کمپیلوباکتر ژژونی* در نمونه‌های جدا شده به طور معنی‌داری بیشتر از *کمپیلوباکتر کلی* بود. بنابراین، تماس مستقیم افراد با حیوانات آلوده و مصرف محصولات غذایی به دست آمده از این حیوانات آلوده، می‌تواند دلیل اسهال ناشی از *کمپیلوباکتر* باشد. در همین راستا Hoepers و همکاران *کمپیلوباکتر ژژونی* در محصولات طیور شیوع بیشتری نسبت سایر گونه‌های *کمپیلوباکتر* داشته است (۲۴). در آمریکای جنوبی و شمالی *کمپیلوباکتر ژژونی* شیوع بیشتری در بین حیوانات آلوده داشته است (۵, ۲۵). در حالی که نتایج مطالعه حاضر مشابه با اکثر مطالعات *کمپیلوباکتر ژژونی* به عنوان گونه غالب مشاهده کردیم، اما مرادی و همکاران در شیراز عنوان کردند که شیوع جدایه *کمپیلوباکتر کلی* در گوشت مرغ‌های کشتار شده شایع‌تر می‌باشد (۱۷). از سوی دیگر، براساس جغرافیایی جدایه‌ها، *کمپیلوباکتر کلی* در اسپانیا، ایتالیا و بلغارستان شیوع بیشتری دارد (۲۶). بر اساس گزارش نویسندگان، تفاوت در فراوانی گونه‌های *کمپیلوباکتر* در مناطق مختلف مشاهده می‌شود، که این تفاوت می‌تواند به عواملی از جمله فصل نمونه‌گیری، منطقه جغرافیایی و اندازه نمونه بستگی داشته باشد (۲۷). به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که عفونت *کمپیلوباکتر* در نمونه‌های مرغ، گاو، گوسفند و آب در شهرستان بهبهان شیوع نسبتا بالایی دارد و این میزبان‌ها را می توان منبع اصلی گونه‌های هر دو *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکتر کلی* و خطر احتمالی کمپیلوباکتریوز انسانی دانست.

گیلانی و همکاران ژن *cdtC* را به عنوان شایع‌ترین ژن، در بین جدایه‌های *کمپیلوباکتر* به دست آمده از اردک‌ها ۹۲/۶ درصد عنوان کردند، که توانایی *کمپیلوباکتر* را برای اتصال به فیبرونکتین میزبان و کلونیزاسیون روده افزایش می‌دهد (۱۸). این نتیجه

مشابه تحقیقات انجام شده توسط Kim و همکاران در کره جنوبی (۹۳٫۳٪) (۲۸) و Rossler و همکاران در آرژانتین (۹۲٪) (۲۹) بوده است. در مطالعه حاضر آنالیز شیوع ژن *cdtC*، نشان داد که با وجود گونه‌ها و منشا آن‌ها، ۶۸ درصد گونه‌های کمپیلوباکتر جدا شده از مدفوع مرغ، گاو و گوسفند دارای این مارکر هستند. نتایج مشابهی با تحقیق ما برای ژن *cdtC* در نمونه‌های حیوانات، گوشت و انسان ارائه شده است (۳۰, ۳۱). در حالی که میزان شیوع پایین ژن *cdtC* در جوجه های گوشتی در آفریقای جنوبی (۲۳٫۱٪) مشاهده شده است (۳۲). به طور کلی، شیوع ژن‌های بیماریزای مسئول چسبندگی در *کمپیلوباکتر*ها بدون توجه به منبع و منطقه جغرافیایی بسیار زیاد است (۳۳). همچنین ثابت شده است که گونه‌های فاقد *cdtC* نمی‌توانند در روده طیور کلونیزه شوند. بنابراین، ژن *cdtC*، که برای کلونیزه شدن در روده ضروری است احتمالاً می‌تواند نقش مهمی در پاتوژنز عفونت انسانی داشته باشد (۳۴).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ژن‌های *CiaB*، *cdtA*، *cdtB* و *cdtC* در نمونه‌های بررسی شده وجود دارد. Rossler و همکاران ژن‌های *flaA*، *flhA*، *cadF* که مسئول بیان چسبندگی و کلونیزاسیون *کمپیلوباکتر* هستند را در نسبت بالایی در سویه‌های ارزیابی شده شناسایی کردند (۲۹). شیوع بالای ژن‌های *cdtA* و *flhA* در بین جدایه‌های به‌دست‌آمده در نقاط مختلف زنجیره تامین گوشت جوجه‌های گوشتی نشان‌دهنده نقش مهم این محصولات ژنی در پاتوژنز *کمپیلوباکتر* است و در عین حال تنظیم مختصات تحرک و ویرولانس را آشکار می‌کند (۳۵). شیوع بالای ژن *cadf* برای جدایه‌های به دست آمده از نمونه‌های جوجه‌های گوشتی، اهمیت محصول این ژن را برای کلونیزاسیون روده جوجه‌های گوشتی تایید می‌کند. از سوی دیگر، فراوانی مشابهی از ژن‌های *cdt* در جدایه‌های مزرعه و کشتارگاه مشاهده شده است. سموم تولید شده توسط *کمپیلوباکتر* ممکن است عامل دیگری باشد که به طور بالقوه در ایجاد بیماری نقش دارد (۳۶). در مطالعه حاضر در بیش از نیمی از جدایه‌های *کمپیلوباکتر* یکی از سه ژن زیر واحد سم که برای بیان سیتوتوکسین صرف نظر از منشا و گونه جداسازی ضروری است، مشاهده شد. شیوع برخی از ژن‌های بیماری‌زا بین *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکتر کلی* متفاوت بوده است، که ممکن است به دلیل ناهمگونی در مخزن ژنتیکی سویه‌های *کمپیلوباکتر* باشد. نتایج ما ممکن است نشان دهد که پتانسیل بیماریزای جدایه‌های *کمپیلوباکتر ژژونی* بالاتر از سویه‌های *کمپیلوباکتر کلی*، به ویژه آن‌هایی که مسئول تولید سم (ژن‌های *cdt*)، و یا مسئول تهاجم سلول‌های اپیتلیال (مارکر *ciaB*) است. علاوه بر این، توجه به این نکته مهم است که نرخ ژن‌های بیماریزا می‌تواند در بین منابع متفاوت باشد، که می‌تواند تفاوت‌های ژنتیکی شامل مکانیسم‌های مختلف برای کلونیزاسیون، چسبندگی و بیماری‌زایی را در میان گونه‌های *کمپیلوباکتر* نشان دهد. بنابراین، حضور ژن‌های ویرولانس، توانایی جدایه‌های *کمپیلوباکتر* را برای چسبیدن و حمله به سلول‌ها تعیین می‌کند. لازم به ذکر است که وجود فاکتورهای ژنی خاص شواهد مستقیمی مبنی بر بیماریزا بودن این گونه سویه‌ها برای انسان نیست. با این حال، قویا نشان می‌دهد که آن‌ها ممکن است به طور بالقوه قادر به ایجاد بیماری باشند.

http://dx.doi.org/10.22108/BJM.2024.140567.1583

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه چنین نتیجه‌گیری می‌شود که میزان آلودگی در طیور نسبتا بالا می‌باشد، که می‌تواند ابزار مهمی برای عفونت‌های *کمپیلوباکتر* در انسان باشند. اگر چه مرغ‌ها به عنوان منابع اصلی گونه‌های *کمپیلوباکتر* مطرح هستند، اما لازم است که اهمیت دیگر منابع آلودگی به ویژه گاو و گوسفند برای ارزیابی نقش آن‌ها در عفونت‌های انسانی، نیز بررسی شود. بنابراین نقش مرغ، گاو و گوسفند به عنوان منابع این پاتوژن‌ها ممکن است در درک اپیدمیولوژی عفونت *کمپیلوباکتر* مفید باشد. همچنین بر اساس شواهد به دست آمده، مرغ‌ها و گاوها مخازن *کمپیلوباکتر ژژونی* و *کمپیلوباکتر کلی*، و گوسفندان مخازن ثانویه این دو گونه *کمپیلوباکتر* محسوب می‌شوند. بنابراین برای مصرف انسان حتما باید احتیاط‌های لازم به عمل آید و رعایت نکات بهداشتی در محل نگهداری، طول خط کشتار و در فروشگاه‌ها صورت گیرد.

References

(1) Wu Z, Sahin O, Zhang Q. Campylobacter. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. 2022:393-412. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119754862.ch18

(2) Endtz HP. Campylobacter infections. Hunter's tropical medicine and emerging infectious diseases: Elsevier; 2020. p. 507-11. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-55512-8.00050-8

(3) Zhang Q, Sahin O. Campylobacteriosis. Diseases of poultry. 2020:754-69. https://doi.org/10.1002/9781119371199.ch17

(4) Abd El-Hack ME, El-Saadony MT, Shehata AM, Arif M, Paswan VK, Batiha GE-S, et al. Approaches to prevent and control Campylobacter spp. colonization in broiler chickens: a review. Environmental Science and Pollution Research. 2021;28:4989-5004. https://doi.org/10.1007/s11356-020-11747-3

(5) Hakeem MJ, Lu X. Survival and control of Campylobacter in poultry production environment. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2021;10:615049. doi: 10.3389/fcimb.2020.615049

(6) Hansson I, Sandberg M, Habib I, Lowman R, Engvall EO. Knowledge gaps in control of Campylobacter for prevention of campylobacteriosis. Transboundary and emerging diseases. 2018;65:30-48. https://doi.org/10.1111/tbed.12870

(7) Sher AA, Ashraf MA, Mustafa BE, Raza MM. Epidemiological trends of foodborne Campylobacter outbreaks in the United States of America, 1998–2016. Food Microbiology. 2021;97:103751. https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103751

(8) Barakat AM, Abd El-Razik KA, Elfadaly HA, Rabie NS, Sadek SA, Almuzaini AM. Prevalence, molecular detection, and virulence gene profiles of Campylobacter species in humans and foods of animal origin. Veterinary World. 2020;13(7):1430. doi: 10.14202/vetworld.2020.1430-1438

(9) Choi J-H, Moon DC, Mechesso AF, Kang HY, Kim S-J, Song H-J, et al. Antimicrobial resistance profiles and macrolide resistance mechanisms of Campylobacter coli isolated from pigs and chickens. Microorganisms. 2021;9(5):1077. https://doi.org/10.3390/microorganisms9051077

(10) Ammar AM, El-Naenaeey E-SY, Abd El-Hamid MI, El-Gedawy AA, Elmalt RM. Campylobacter as a major foodborne pathogen: A review of its characteristics, pathogenesis, antimicrobial resistance and control. Journal of microbiology, biotechnology and food sciences. 2021;10(4):609-19. https://doi.org/10.15414/jmbfs.2021.10.4.609-619

(11) Qin X, Wang X, Shen Z. The rise of antibiotic resistance in Campylobacter. Current Opinion in Gastroenterology. 2023;39(1):9-15.

DOI: 10.1097/MOG.0000000000000901

(12) Seif Naraghi M, Naderi E. Research methods. Tehran: Arsbaran Publishing; 2012.

(13) Gordat K, Kosyra M, Sadkowska-Todys M. Campylobacteriosis in Poland in 2018-2019. Epidemiological Review/Przegląd Epidemiologiczny. 2021;75:4. DOI:10.32394/pe.75.61

(14) Li Y-J, Yang Y-F, Zhou Y-J, Zhang R-H, Liu C-W, Liu H, et al. Estimating the burden of foodborne gastroenteritis due to nontyphoidal Salmonella enterica, Shigella and Vibrio parahaemolyticus in China. PLoS One. 2022;17(11):e0277203. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277203

(15) Zbrun MV, Rossler E, Romero-Scharpen A, Soto LP, Berisvil A, Zimmermann JA, et al. Worldwide meta-analysis of the prevalence of Campylobacter in animal food products. Research in Veterinary Science. 2020;132:69-77. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.05.017

(16) Iannetti S, Calistri P, Di Serafino G, Marotta F, Alessiani A, Antoci S, et al. Campylobacter jejuni and Campylobacter coli: Prevalence, contamination levels, genetic diversity and antibiotic resistance in Italy. Veterinaria Italiana. 2020;56(1):23-34. DOI: 10.12834/VetIt.1819.9596

(17) Moradi F, Akbari M, Zandi H, Jahromi RR. Prevalence and antimicrobial resistance of Campylobacter coli and Campylobacter jejuni in the animals, food products, and human clinical specimens in Iran during 2004-2017: a review study. Jundishapur Journal of Health Sciences. 2020;12(4):e108609. https://doi.org/10.5812/jjhs.108609

(18) Gilani H, Jafari RA, Gharibi D, Khoshbakht R, Talazadeh F. Isolation, Antimicrobial Resistance, and Virulence Genes of Thermophilic Campylobacter Species from Backyard Ducks in Amol, Northern Iran. Iranian Journal of Veterinary Science and Technology. 2023;15(4):56-67. Doi: 10.22067/ijvst.2023.82732.1262

(19) Soltan Dallal M, Sanaei M, Taremi M, Moezardalani 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. Journal of Advances in Medical and Biomedical Research. 2009;17(68):85-92. http://journal.zums.ac.ir/article-1-994-en.html

(20) Irannejhad A, Rahimi E, Gholamiahangaran M. Isolation of campylobacter in different processing stage and presentation of poultry carcasses. Journal of Food Microbiology. 2015;2(1):59-67. https://sanad.iau.ir/journal/jmvr/Article/643528?jid=643528&lang=en

(21) Linn KZ, Furuta M, Nakayama M, Masuda Y, Honjoh K-i, Miyamoto T. Characterization and antimicrobial resistance of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from chicken and pork. International Journal of Food Microbiology. 2021;360:109440. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109440

(22) Wei B, Cha S-Y, Yoon R-H, Kang M, Roh J-H, Seo H-S, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of Campylobacter spp. isolated from retail chicken and duck meat in South Korea. Food Control. 2016;62:63-8. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.10.013

(23) Collins JP, Shah HJ, Weller DL, Ray LC, Smith K, McGuire S, et al. Preliminary Incidence and Trends of Infections Caused by Pathogens Transmitted Commonly Through Food—Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 US Sites, 2016–2021. Morbidity and Mortality Weekly Report. 2022;71(40):1260. http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm7140a2

(24) Hoepers PG, Medina G, Rossi DA, Fernandez H. About Campylobacter spp. Campylobacter spp and Related Organisms in Poultry: Pathogen-Host Interactions, Diagnosis and Epidemiology. 2016:1-18. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29907-5_1

(25) Zbrun MV, Romero-Scharpen A, Olivero C, Rossler E, Soto LP, Rosmini M, et al. Occurrence of thermotolerant Campylobacter spp. at different stages of the poultry meat supply chain in Argentina. New Zealand Veterinary Journal. 2013;61(6):337-43. https://doi.org/10.1080/00480169.2013.817294

(26) Authority EFS, Prevention ECfD, Control. The European Union one health 2018 zoonoses report. EFSa Journal. 2019;17(12):e05926. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5926

(27) Thomas KM, de Glanville WA, Barker GC, Benschop J, Buza JJ, Cleaveland S, et al. Prevalence of Campylobacter and Salmonella in African food animals and meat: A systematic review and meta-analysis. International journal of food microbiology. 2020;315:108382. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108382

(28) Kim J, Park H, Kim J, Kim JH, Jung JI, Cho S, et al. Comparative analysis of aerotolerance, antibiotic resistance, and virulence gene prevalence in Campylobacter jejuni isolates from retail raw chicken and duck meat in South Korea. Microorganisms. 2019;7(10):433. https://doi.org/10.3390/microorganisms7100433

(29) Rossler E ,Olivero C, Soto LP, Frizzo LS, Zimmermann J, Rosmini MR, et al. Prevalence, genotypic diversity and detection of virulence genes in thermotolerant Campylobacter at different stages of the poultry meat supply chain. International journal of food microbiology. 2020;326:108641. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108641

(30) Wang J, Wang Z, Zhang J, Ding Y, Ma Z, Jiang F, et al. Prevalence, antibiotic susceptibility and genetic diversity of Campylobacter jejuni isolated from retail food in China. Lwt. 2021;143:111098. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111098

(31) Lapierre L, Gatica MA, Riquelme V, Vergara C, Yañez JM, San Martin B, et al. Characterization of antimicrobial susceptibility and its association with virulence genes related to adherence, invasion, and cytotoxicity in Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolates from animals ,meat, and humans. Microbial Drug Resistance. 2016;22(5):432-44. https://doi.org/10.1089/mdr.2015.0055

(32) Ramatla T, Mileng K, Ndou R, Tawana M, Mofokeng L, Syakalima M, et al. Campylobacter jejuni from slaughter age broiler chickens: genetic characterization, virulence, and antimicrobial resistance genes. International Journal of Microbiology. 2022;2022. https://doi.org/10.1155/2022/1713213

(33) Wysok B, Sołtysiuk M, Stenzel T. Wildlife waterfowl as a source of pathogenic Campylobacter strains. Pathogens. 2022;11(2):113. https://doi.org/10.3390/pathogens11020113

(34) Wysok B, Wojtacka J, Kivistö R. Pathogenicity of Campylobacter strains of poultry and human origin from Poland. International journal of food microbiology. 2020;334:108830. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108830

(35) Frazão MR, Medeiros MIC, Duque SdS, Falcão JP. Pathogenic potential and genotypic diversity of Campylobacter jejuni: a neglected food-borne pathogen in Brazil. Journal of medical microbiology. 2017;66(3):350-9. https://doi.org/10.1099/jmm.0.000424

(36) Koolman L, Whyte P, Burgess C, Bolton D. Distribution of virulence-associated genes in a selection of Campylobacter isolates. Foodborne pathogens and disease. 2015;12(5):424-32. https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1883