

“Research article”

DOI: 10.71876/jfh.2024.1127050

## Frequency of antibiotic resistance and presence of virulence genes in *Campylobacter jejuni* isolated from livestock and poultry meat supplied in Shahrekord

Behnia, A.<sup>1</sup>, Hashemi, S.M.<sup>2\*</sup>

1. M.Sc. Graduate, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

2. Assistant Professor, Research Center of Nutrition and Organic Products (R.C.N.O.P), Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

\*Corresponding Author: majidhashemi54@gmail.com

(Received: 2024/8/11 Accepted: 2024/10/26)

### Abstract

Campylobacteriosis is a common gastrointestinal disease that poses a significant risk to human health. This study aimed to investigate the contamination rate, the presence of virulence genes, and antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* isolates from meat and poultry sold in Shahrekord city. 272 meat and poultry samples were randomly collected from markets in Shahrekord. The detection of *C. jejuni* was exploited using standard techniques. Multiplex PCR was used to identify the frequency of virulence genes. The results revealed an average contamination rate of *C. jejuni* in the samples of 53.68%. Specifically, 43 (63.2%) packaged chicken meat samples, 48 (70.6%) unpackaged chicken meat samples, 34 (34%) unpackaged fresh meat samples, and 23 (63.9%) minced meat samples were found to be contaminated with *C. jejuni*. The most common virulence gene in minced meat was *flaA* (65.2%), while the least common was *cadF* (13%). Antibiotic resistance testing showed the highest resistance to ciprofloxacin (97.94%) and the lowest resistance to imipenem (58.9%). These findings indicate that all types of meat can serve as reservoirs for *C. jejuni*, and adherence to hygiene standards in slaughterhouses and supply centers can play a crucial role in reducing or eliminating contamination.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** *Campylobacter jejuni*, Animal meat, Poultry meat, Antibiotic resistance, Virulence gene

DOI: 10.71876/jfh.2024.1127050

(مقاله پژوهشی)

## بررسی فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و حضور ژن‌های حدت در کمپیلوباکتر ژژونای جداشده از گوشت دام و طیور عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژن‌های حدت در کمپیلوباکتر ژژونای

علی بهنیا<sup>۱</sup>، سیدمجید هاشمی<sup>۲\*</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲- مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

\*نویسنده مسئول مکاتبات: majidhashemi54@gmail.com

(دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۵/۲۱ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۸/۵)

### مقدمه

کمپیلوباکتریوزیس یک بیماری شایع گوارشی در سراسر جهان است. کمپیلوباکتر ژژونای در کشورهای صنعتی نیز بر سلامت عمومی تأثیر می‌گذارد، لذا هدف از پژوهش حاضر، بررسی فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ژن‌های حدت در کمپیلوباکتر ژژونای جداشده از گوشت دام و طیور عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد بود. ابتدا ۲۷۲ نمونه گوشت و مرغ به‌صورت تصادفی از بازار عرضه این محصولات از شهرستان شهرکرد گردآوری و به آزمایشگاه انتقال داده شد، سپس توسط روش‌های استاندارد جهت ردیابی آلودگی‌ها، فراوانی ژن‌های حدت به روش Multiplex PCR و ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها اقدام شد. نتایج نشان داد میانگین آلودگی به کمپیلوباکتر ژژونای در نمونه‌ها ۵۳/۶۸ درصد بود. به این ترتیب ۴۳ نمونه (۶۳/۲ درصد) برای گوشت مرغ بسته‌بندی‌شده، ۴۸ نمونه (۷۰/۶ درصد) گوشت مرغ بدون بسته‌بندی از ۱۰۰ نمونه گوشت تازه بدون بسته‌بندی ۳۴ نمونه (۳۴ درصد) و از ۳۶ نمونه گوشت چرخ‌شده، ۲۳ نمونه (۶۳/۹ درصد) آلوده به کمپیلوباکتر ژژونای بودند. بیشترین و کمترین فراوانی ژن در گوشت چرخ‌شده به *flaA*، ۶۵/۲ درصد و *cadF* با ۱۳ درصد بود. نتایج ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد بیشترین مقاومت مربوط به سیپروفلوکساسین ۹۷/۹۴ درصد و کمترین مقاومت مربوط به امی‌پنم ۹/۵۸ درصد بود. نتایج این پژوهش نشان داد انواع گوشت‌ها می‌توانند از مخازن آلودگی به کمپیلوباکتر ژژونای باشند که رعایت اصول بهداشتی در کشتارگاه‌ها و مراکز عرضه می‌تواند کمک فزاینده‌ای به کاهش و یا حذف آلودگی کند.

**واژه‌های کلیدی:** کمپیلوباکتر ژژونای، گوشت دام، گوشت طیور، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ژن‌های حدت

## مقدمه

گونه‌های کمپیلوباکتر از پاتوژن‌های مشترک بین انسان، دام و پرندگان هستند که باعث رخداد طیف گوناگونی از بیماری‌های گوارشی می‌شوند. کمپیلوباکتریوزیس شایع‌ترین بیماری مشترک انسان و دام در اتحادیه اروپا و یکی از بیماری‌های باکتریایی منتقل‌شونده از غذا در ایالات متحده است. در میان گونه‌های مختلف کمپیلوباکتر، کمپیلوباکتر ژژونای و کمپیلوباکتر کولای فراوان‌ترین هستند. مطابق گزارش‌های تأیید شده در اتحادیه اروپا در سال ۲۰۲۱، ۸۸/۴ درصد عفونت‌های غذایی کمپیلوباکتر، مربوط به کمپیلوباکتر ژژونای، ۱۰/۱ درصد توسط کمپیلوباکتر کولای و ۱/۵ درصد توسط سایر گونه‌های کمپیلوباکتر رخ داده است (Authority, 2023).

گونه‌های کمپیلوباکتر از پراکنش پیرامونی گسترده‌ای برخوردار هستند. آن‌ها میکروآئروفیل، متحرک، مارپیچی، گرم‌منفی، میله‌ای یا منحنی شکل هستند که در گستره‌ی pH بین ۶/۵ تا ۷/۵ و گرمای ۳۸ تا ۴۷ درجه سلسیوس رشد می‌کنند؛ و قادر به رشد در گرمای پائین‌تر از ۳۰ درجه سلسیوس نیستند، چرا که ژن‌های کدکننده‌ی پروتئین، که در سازگاری با دماهای پایین نقش دارند، در گونه‌های کمپیلوباکتر وجود ندارند. بهینه Aw رشد ۰/۹۸۷ و حداکثر تاب‌آوری در غلظت ۲ تا ۴ درصد نمک بوده که جزو باکتری‌های حساس به حضور نمک هستند (Liao et al., 2022).

کمپیلوباکتر ژژونای، پاتوژن مهم انسانی است که به‌عنوان عامل اصلی گاستروانتریت باکتریایی در نظر گرفته می‌شود. خوردن غذاهای آلوده به این پاتوژن، مایه‌ی پدیداری نشانه‌های بیماری، شامل اسهال خفیف تا شدید خودمحدودشونده‌ی همراه با تب، حالت تهوع

تولید گوشت در گذر ۵۰ سال پیشین، چندین برابر شده است. میانگین مصرف گوشت در کشورهای شمال اروپا فراتر از ۱۰۰ گرم در روز است که مصرف سالانه، به بیش از ۳۶ کیلوگرم می‌رسد، مصرف گوشت نشانه ثروت در کشورها است و در عین حال ثابت شده است که استفاده بیش‌ازحد گوشت ارتباط تنگاتنگی با سرطان دستگاه گوارش دارد (Farvid et al., 2021). گوشت سفید (مرغ و بوقلمون) از جایگزین‌های گوشت قرمز بوده که دارای چربی و آهن پائین‌تری است؛ با این حال بررسی‌های سیستماتیک موجود بر اساس مطالعات کوهورت (Cohort Studies) نشان می‌دهد که گوشت سفید ممکن است از مرگ‌ومیر ناشی از سکته و سرطان جلوگیری کند (Lupoli et al., 2021). مصرف گوشت قرمز و سفید به‌صورت ناپخته یا کم‌پخت می‌تواند پدیدآور عفونت‌ها و مسمومیت‌های غذایی باشد؛ چرا که این مواد غذایی به‌صورت طبیعی از مخازن میکروارگانیزم‌های پاتوژن هستند. عمده‌ترین میکروارگانیزم‌های عامل عفونت و مسمومیت که گوشت می‌تواند از عوامل انتقال آن‌ها باشد، شامل: کلستریدیوم (*Clostridium*)، استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*)، اشرش‌یاکلائی (*Escherichia coli*)، سالمونلا (*Salmomella*)، پسودوموناس (*Pseudomonas*)، کمپیلوباکتر (*Campylobacter*)، لیستریا مونوسیتیوزنز (*Listeria monocytogenes*) و یرسینیا انتروکولیتیکا (*Yersinia enterocolitica*) هستند (Eriksson et al., 2023)، که یکی از فراوان‌ترین باکتری‌های پاتوژن، کمپیلوباکترها است.

## مواد و روش‌ها

### -نمونه‌گیری

در گام نخست با توجه به میانگین شیوع حدود ۲۳ درصدی کمپیلوباکتر ژرونا‌ی تعداد نمونه‌ها، ۲۷۲ مورد گزینش شد (Sadeghi *et al.*, 2020).

نمونه‌گیری استوار بر الگوی تصادفی که شامل ۱۳۶ نمونه گوشت (۱۰۰ نمونه تازه و ۳۶ نمونه چرخ شده بدون بسته‌بندی) و ۱۳۶ نمونه مرغ (۶۸ نمونه تازه دارای بسته‌بندی و ۶۸ نمونه بدون بسته‌بندی) بود و از بازار فروش این محصولات، در شهرکرد گردآوری و جهت تعیین میزان آلودگی به کمپیلوباکتر ژرونا‌ی، ژن-های *حَدت* و مقاومت آنتی‌بیوتیکی در شرایط سترون به آزمایشگاه منتقل شدند. تا هنگام آغاز پایش، نمونه‌های گوشتی در سرمای ۴-۲ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

### -روش جستجوی کمپیلوباکتر

به منظور غنی‌سازی، ابتدا ۱ گرم از هر نمونه وزن و پس از قرار دادن در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر آب پپتونه بافری استریل (Mirmedia, Iran) (رقت ۰/۱) و ورتکس مناسب، در گرمای ۴۲ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پس از سپری شدن این مدت، رقت‌های ۱۰<sup>-۷</sup> تا ۱۰<sup>-۵</sup> آماده‌شده و ۰/۱ میلی‌لیتر آن بر روی محیط کشت کمپیلوباکتر سلکتیو آگار (Campylobacter Selective Agar) (Mirmedia, Iran) حاوی مکمل آنتی‌بیوتیکی کمپیلوباکتر کشت سطحی داده شد. پس از گذر زمان ۴۸ ساعت از گرمخانه‌گذاری، پلیت‌هایی که در آن کلنی باکتری رشد کرده بودند، جداسازی و از نظر رنگ‌آمیزی گرم و تست حرکت بررسی شدند، در صورت مشاهده

و گرفتگی شکم می‌شود که معمولاً بهبود این علائم به یک هفته زمان نیاز دارد؛ از دیگر پیشامدهای این پاتوژن می‌توان به میوکاردیت (التهاب عضله قلب)، عدم تعادل گونه‌های میکروبی و کاهش تنوع میکروبی در میکروبیوم‌های روده (Dysbiosis)، سندرم روده تحریک‌پذیر (Irritable Bowel Syndrome) و سندرم گیلن باره (Guillain-Barre Syndrome) اشاره کرد (Tikhomirova *et al.*, 2024). عفونت‌های شدید یا سیستمیک در گروه‌های پرخطر، از جمله زنان باردار، کودکان کمتر از ۵ سال، افراد ۶۵ سال و بالاتر و افرادی با سیستم ایمنی ضعیف رخ می‌دهد که در موارد شدید، درمان ضد میکروبی اغلب ضروری است. فلوروکینولون‌ها (مانند سیپروفلوکساسین) و ماکرولیدها (مانند اریترومايسين) معمولاً برای درمان ناخوشایندی‌های ناشی از این پاتوژن استفاده می‌شوند (Graham *et al.*, 2024).

گزارش‌هایی از ناکارآمدی طیف بزرگی از آنتی‌بیوتیک‌ها در بهبود بیماری‌های ناشی از عفونت‌های کمپیلوباکتریوز در کشورهای پیشرفته و در حال پیشرفت وجود دارد. مصرف خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از دلایل آن است (Dramé *et al.*, 2020)، که این امر، بستر و زمینه‌ی پایش آلودگی به کمپیلوباکتر در مواد غذایی و بررسی چگونگی مقاومت آنتی‌بیوتیکی را بیش‌ازپیش پراهمیت می‌سازد؛ بنابراین با توجه به مخاطرات یادشده، هدف از پژوهش پیش‌رو، بررسی شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ژن‌های *حَدت* کمپیلوباکتر ژرونا‌ی در گوشت دام و طیور عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد بود.

تعیین گونه نیز با به‌کارگیری پرایمرهای اختصاصی ژن اکسیدوردوکتاز کمپیلوباکتر ژژونای انجام گرفت. پرایمرهای اختصاصی به صورت  
 GGAAAATCAAATAAAGTTAGAGGTAGAA  
 R: F:  
 CCATAAGCACTAGCTAGCTGATTATC  
 اندازه آمپلیکون ۱۶۷ جفت باز و دمای اتصال ۵۶ درجه طراحی شدند.

همچنین حضور ژن‌های *flaA*، *hipO* *mapA* و *cadF* از طریق پرایمر اختصاصی ژن مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱). ترکیبات لازم جهت انجام PCR در حجم ۳۰ میکرولیتر به ترتیب شامل ۱۳ میکرولیتر آب مقطر، ۱۵ میکرولیتر مسترمیکس (-Ampliqon Denmark)، ۰/۵ میکرولیتر پرایمرهای Forward و Revers (Sinaclon-Iran) و ۱ میکرولیتر الگو DNA بود. برنامه حرارتی مورداستفاده شامل یک سیکل ۹۵ درجه سلسیوس، ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۵۳ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه و در نهایت یک سیکل ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه بود. پس از انجام PCR، محصولات واکنش بر روی ژل آگارز ۲ درصد با ولتاژ ۹۰ ولت الکتروفورز گردید. رنگ‌آمیزی ژل در مرحله ساخت ژل با DNA safe stain صورت گرفت. سپس با استفاده از دستگاه (UVI tech, UK) documentation (UVI tech, UK) و Gel در زیر نور فرابنفش رویت و عکس آن تهیه شد (Marimuthu et al., 2022).

باکتری به شکل باسیل خمیده، گرم منفی و متحرک، آزمون‌های بیوشیمیایی همچون کاتالاز و اکسیداز روی هر پرگنه انجام شد. مثبت بودن آزمون‌های یادشده بر روی کلنی‌های مورد آزمایش، به منزله‌ی محتمل بودن حضور کمپیلوباکتر بود. در ادامه به منظور خالص‌سازی، کلنی‌ها چندین بار بر روی محیط کشت کمپیلوباکتر سلکتیو آگار (Mirmedia, Iran) به صورت ایزوله کشت داده شدند. پلیت‌ها در داخل جار بی‌هوای با گازپک نوع C به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۲ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری و به منظور تأیید خلوص رنگ‌آمیزی گرم شدند (Ramarao et al., 2020, Cossetini et al., 2022).

#### -استخراج DNA ژنومی

استخراج DNA بر اساس دستورالعمل کیت Bactokia ذکرشده توسط شرکت سازنده (-Kiagene Iran) انجام شد. سپس به منظور ارزیابی کمیت DNA به دست آمده، میزان جذب نوری آن‌ها با استفاده از نانو دارپ و در طول موج‌های ۲۸۰ و ۲۶۰ نانومتر تعیین گردید. طول موج ۲۶۰ نشان‌دهنده میزان جذب نوری DNA و طول موج ۲۸۰ نشان‌دهنده میزان جذب نوری پروتئین در نمونه‌های استخراج‌شده است که مقدار قابل قبول در محدوده ۱/۸-۲/۲ است (Vizzini et al., 2021).

#### -آزمون PCR

حضور جنس کمپیلوباکتر در نمونه با استفاده از پرایمر اختصاصی ژن *16s rRNA* بررسی شد. در نمونه‌هایی که از نظر جنس کمپیلوباکتر مثبت شدند؛

جدول (۱)- لیست پرایمرهای کمپلوباکتر ژرژونای در پژوهش حاضر

منبع	اندازه محصول	توالی پرایمر (۳-۵)	هدف
(Shams et al., 2017)	۴۰۰	TTGAAGGTAATTTAGATATG CTAATACCTAAAGTTGAAAC	16s rRNA
(Marimuthu et al., 2022)	۳۶۷	TCTGCTAAGGCTCCAAGT CTCAAGCGGCTCAAGATG	flaA
	۴۲۹	CTTGCTTGGTACGGATTG CTTGTAAGGCTCCTGGTG	mapA
	۱۳۶	TCCGAAGAAGCCATCATC GTGGTGCTAAGGCAATGA	hipO
(Barakat et al., 2020)	۴۰۰	TTGAAGGTAATTTAGATATG CTAATACCTAAAGTTGAAAC	cadF

## -مقاومت آنتی بیوتیکی

آماري تجزيه و تحليل داده‌ها، آزمون مربع کاي و فيشر بود.

آزمون مقاومت آنتی بیوتیکی در محیط کشت مولر هیتتون (Merck, Germany)، به روش Disk Diffusion Method انجام شد. دیسک‌های آنتی بیوتیکی شامل: آمپی سیلین (AM)، سولفامتوکسازول (SXT)، آموکسی کلاو (AMC)، ایمپی پنم (IM)، جنتامایسین (GM)، ریفامپین (RMP)، آمیکاسین (AC)، سیپروفلوکساسین (CIP) و تتراسایکلین (TE)، بودند (Heidarzadi et al., 2021).

## یافته‌ها

مطابق جدول (۲)، در مورد نمونه‌های گوشت تازه، از ۱۰۰ نمونه گوشت تازه بدون بسته بندی ۳۴ نمونه (۳۴ درصد) و از ۳۶ نمونه گوشت چرخ شده، ۲۳ نمونه (۶۳/۹ درصد) آلوده به کمپلوباکتر ژرژونای بوده‌اند. آنالیزهای آماری نشان داد، در مقایسه درصد آلودگی نمونه‌های مختلف با یکدیگر در آزمون کای اسکور، درصد آلودگی در نمونه‌های گوشت تازه با  $p < 0/01$  کمتر از نمونه‌های دیگر بود.

## آنالیزهای آماری

داده‌های حاصل از آزمون‌های انجام شده با نرم افزار Excel و نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ آنالیز شدند. روش

جدول (۲)- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی به کمپلوباکتر ژرژونای در نمونه‌های گوشتی مختلف عرضه شده در شهرستان شهرکرد

کل	نوع نمونه‌ها			
	گوشت چرخ شده	گوشت تازه	مرغ بدون بسته بندی	مرغ بسته بندی
۲۷۲	۳۶	۱۰۰	۶۸	۶۸
۱۴۶	۲۳	۳۲	۴۸	۴۳
۵۳/۶۸	۶۳/۹ <sup>a</sup>	۳۴ <sup>b</sup>	۷۰/۶ <sup>a</sup>	۶۳/۳ <sup>a</sup>

در هر ردیف، اعداد با حروف غیرمشابه، باهم تفاوت معنی دار دارند.

مطابق جدول (۳)، بیشترین فراوانی ژن‌های حدت مربوط به ژن‌های *flaA*، *mapA* و *hipO* و *cadF* بود. به همین ترتیب بیشترین فراوانی ژن در گوشت چرخ شده مربوط به *flaA* ۶۵/۲ درصد و کمترین میزان برای ژن *cadF* در گوشت چرخ شده با ۱۳ درصد بود.

جدول (۳) - توزیع ژن‌های حدت در جدایه‌های کمپیلوباکتر ژژونای در نمونه‌های مختلف گوشتی عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد

نام ژن	نوع نمونه‌ها (تعداد آلوده)				
	مرغ بسته‌بندی (۴۳)	مرغ بدون بسته‌بندی (۴۸)	گوشت تازه (۳۲)	گوشت چرخ شده (۲۳)	کل (۱۴۶)
<i>flaA</i>	۱۶ (درصد ۳۷/۲)	۲۲ (درصد ۴۵/۸)	۱۲ (درصد ۳۷/۵)	۱۵ (درصد ۶۵/۲)	۸۵ (درصد ۵۸/۲)
<i>mapA</i>	۹ (درصد ۲۰/۹) <sup>a</sup>	۲۰ (درصد ۴۱/۷) <sup>b</sup>	۱۰ (درصد ۳۱/۲) <sup>b</sup>	۱۳ (درصد ۵۶/۵) <sup>b</sup>	۵۲ (درصد ۳۵/۶)
<i>hipO</i>	۸ (درصد ۱۸/۶)	۱۴ (درصد ۲۹/۲)	۷ (درصد ۲۱/۹)	۸ (درصد ۳۴/۸)	۳۷ (درصد ۲۵/۳)
<i>cadF</i>	۹ (درصد ۲۰/۹)	۱۲ (درصد ۲۵)	۱۱ (درصد ۳۴/۴)	۳ (درصد ۱۳)	۳۵ (درصد ۲۴)

در هر ردیف، اعداد با حروف غیرمشابه، باهم تفاوت معنی‌دار دارند.

مطابق جدول (۴)، در مجموع مقاومت میکروبی در نمونه‌های آلوده به ۱۰ آنتی‌بیوتیک مختلف از خانواده‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی بررسی شد. نتایج نشان داد بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی به

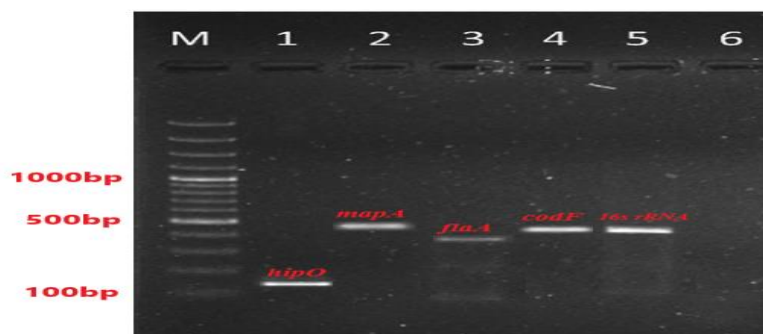
جدول (۴) - توزیع فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های کمپیلوباکتر ژژونای

نام آنتی‌بیوتیک	نوع نمونه‌ها (تعداد آلوده)				
	مرغ بسته‌بندی (۴۳)	مرغ بدون بسته‌بندی (۴۸)	گوشت تازه (۳۲)	گوشت چرخ شده (۲۳)	کل (۱۴۶)
AM	۲۲ (درصد ۵۱/۱۶) <sup>a</sup>	۳۲ (درصد ۶۶/۶۶) <sup>b</sup>	۲۰ (درصد ۶۲/۵) <sup>b</sup>	۱۳ (درصد ۵۶/۵۲) <sup>ab</sup>	۸۷ (درصد ۵۹/۵۸)
SXT	۲۲ (درصد ۵۱/۱۶) <sup>a</sup>	۲۵ (درصد ۵۲/۰۸) <sup>a</sup>	۱۷ (درصد ۵۳/۱۲) <sup>a</sup>	۱۴ (درصد ۶۰/۸۶) <sup>b</sup>	۷۸ (درصد ۵۳/۴۲)
AMC	۳۹ (درصد ۹۰/۷) <sup>a</sup>	۴۶ (درصد ۹۵/۸۳) <sup>ab</sup>	۳۲ (درصد ۱۰۰) <sup>b</sup>	۲۱ (درصد ۹۱/۳) <sup>a</sup>	۱۳۸ (درصد ۹۴/۵۲)
IPM	۴ (درصد ۹/۳) <sup>a</sup>	۵ (درصد ۱۰/۴۱) <sup>a</sup>	۳ (درصد ۹/۳۷) <sup>a</sup>	۲ (درصد ۸/۶۹) <sup>a</sup>	۱۴ (درصد ۹/۵۸)
GM	۲۰ (درصد ۴۶/۵۱) <sup>a</sup>	۲۳ (درصد ۴۷/۹۱) <sup>a</sup>	۱۲ (درصد ۳۷/۵) <sup>b</sup>	۱۰ (درصد ۴۳/۴۷) <sup>a</sup>	۶۵ (درصد ۴۴/۵۲)
RMP	۲۶ (درصد ۶۰/۴۶) <sup>a</sup>	۳۰ (درصد ۶۲/۵) <sup>a</sup>	۲۲ (درصد ۶۸/۷۵) <sup>b</sup>	۱۴ (درصد ۶۰/۸۶) <sup>a</sup>	۹۲ (درصد ۶۳/۰۱)
AN	۱۳ (درصد ۳۰/۲۳) <sup>a</sup>	۱۲ (درصد ۲۵) <sup>a</sup>	۱۰ (درصد ۳۲) <sup>a</sup>	۶ (درصد ۲۶/۰۸) <sup>a</sup>	۴۱ (درصد ۲۸/۰۸)
CP	۴۳ (درصد ۱۰۰) <sup>a</sup>	۴۶ (درصد ۹۵/۸۳) <sup>a</sup>	۳۱ (درصد ۹۶/۸۷) <sup>a</sup>	۲۳ (درصد ۱۰۰) <sup>a</sup>	۱۴۳ (درصد ۹۷/۹۴)
TE	۲۲ (درصد ۵۱/۱۶) <sup>a</sup>	۲۵ (درصد ۵۲/۰۸) <sup>a</sup>	۱۶ (درصد ۵۰) <sup>a</sup>	۱۲ (درصد ۵۲/۱۷) <sup>a</sup>	۷۵ (درصد ۵۱/۳۶)

در هر ردیف، اعداد با حروف غیرمشابه، باهم تفاوت معنی‌دار دارند.

cadF کمپیلوباکتر در نمونه‌های آلوده بود.

شکل (۱)، نشان‌دهنده واکنش PCR در شناسایی ژن 16s rRNA و شیوع ژن‌های *mapA*، *flaA*، *hipO* و



شکل (۱) - واکنش PCR. شیوع آلودگی به ژن‌های حدت *cadF* و *hipO* *mapA* *flaA* کمپیلوباکتر در نمونه‌های مختلف. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک ۱: ژن *hipO* (۱۳۶ جفت باز)، چاهک ۲: ژن *mapA* (۴۲۹ جفت باز)، چاهک ۳: ژن *flaA* (۳۶۷ جفت باز)، چاهک ۴: ژن *cadF* (۴۰۰ جفت باز)، چاهک ۵: ژن *16s rRNA* (۴۰۰ جفت باز)، چاهک ۶: کنترل منفی.

## بحث و نتیجه‌گیری

کمپیلوباکترها عمدتاً از طریق غذاهای آلوده با منشأ جانوری به انسان منتقل می‌شوند. آلودگی غذا به کمپیلوباکتر که میکروارگانسمی حساس به سرما و گرمادوست است، می‌تواند در هنگام تولید، فرآوری، توزیع و آماده‌سازی در زنجیره‌ی تأمین مواد غذایی رخ دهد. مصرف فرآورده‌های گوشتی ناپخته‌ی آلوده به این پاتوژن به‌عنوان یک عامل خطر برای کمپیلوباکتریوزیس انسانی شناخته‌شده است (Jainonthee et al., 2024). تحرک یکی از عوامل اصلی بیماری‌زایی کمپیلوباکتر است و می‌توان با دستیابی به بیان ژنی، میزان بیماری‌زایی را برحسب تحرک، تا حدودی تشخیص داد. ژن *flaA* با نرخ‌های بالاتری نسبت به *flab* بیان می‌شود و بنابراین برای تحرک کمپیلوباکتر ضروری است؛ پس توانایی کمپیلوباکتر برای ایجاد بیماری از طریق ژن‌های کدکننده *mapA* *flaA* و *hipO* *cadF* افزایش می‌یابد که دلیل آن، توانایی کمپیلوباکتر برای چسبیدن و حمله

به سلول‌های اپی‌تلیال روده به‌واسطه حضور ژن‌های یادشده است (Abdallah et al., 2022).

آلودگی گوشت با کمپیلوباکتر ژرژونای هنگام تهی‌سازی اندرونه در کشتارگاه‌ها یا تماس دست و افزارهای آلوده‌ی کارکنان به کمپیلوباکتر ژرژونای با انواع گوشت‌های مختلف رخ می‌دهد. در همین راستا، پژوهش پیش‌رو با انگیزه‌ی بررسی فراوانی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی ژن‌های حدت کمپیلوباکتر ژرژونای جداشده از گوشت دام و طیور عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد انجام شد که برون‌داد آن، آلودگی ۵۳/۶۸ درصدی به کمپیلوباکتر ژرژونای، بیشترین فراوانی ژن در گوشت چرخ‌شده به *flaA* ۶۵/۲ درصد، کمترین میزان برای ژن *cadF* در گوشت چرخ‌شده با ۱۳ درصد، بیشترین مقاومت نسبت به سیپروفلوکساسین ۹۷/۹۴ درصد، آمی‌کاسین ۹۴/۵۲ درصد و پنی‌سیلین ۹۱/۰۹ درصد و کمترین میزان مقاومت مربوط به امی‌پنم ۹/۵۸ درصد را در پی داشت.



بامطالعه حاضر در تایلند نرخ آلودگی در گوشت مرغ به کمپیلوباکتر ژژونای را ۶۳ درصد گزارش دادند که هم-سو با نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر است. (Wangroongsarb *et al.*, 2021). یافته‌های پژوهشی در استرالیا میانگین نرخ آلودگی در انواع گوشت مرغ و گوساله را ۵۳ درصد گزارش داده‌اند، که مطابق با میانگین نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر است (Walker *et al.*, 2019). پژوهشی روی آلودگی به انواع گوشت‌های عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد به کمپیلوباکتر انجام شد که آلودگی گوشت گوساله را ۳۳ درصد و فراوانی ژن *flaA* را ۱۰۰ درصد گزارش دادند، که در خصوص میزان آلودگی هم‌راستا با پژوهش حاضر است، اما در خصوص فراوانی ژن *flaA* (۳۷/۵ درصد) پائین‌تر از پژوهش یادشده است (Rahimi *et al.*, 2024). پژوهشی مروری در جنوب آمریکا و برزیل انجام شد که نشان دادند بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به سیپروفلوکساسین نسبت به انواع کمپیلوباکترهای جداشده از گوشت بوده است که مطابق با پژوهش حاضر است (Portes *et al.*, 2023).

بالا بودن آلودگی در گوشت مرغ نسبت به گوشت قرمز را می‌توان به دلیل مستقر بودن کمپیلوباکتر در روده‌ی ماکیان و انتقال آن ضمن مراحل کشتار تا عرضه به گوشت دانست و به همین دلیل اطمینان از پخت کامل گوشت مرغ به‌عنوان یکی از بهترین روش‌های جلوگیری از انتقال آلودگی است. سازمان جهانی بهداشت، کمپیلوباکتر را در فهرست باکتری‌هایی قرار داده است که آنتی‌بیوتیک‌های جدید و فوری برای آن‌ها موردنیاز است و به دلیل ظهور جهانی سویه‌هایی با سطح بالایی از مقاومت به فلوروکینولون‌ها، آن را

در پژوهشی در چین روی نمونه‌های گوشتی انجام دادند، میزان آلودگی به کمپیلوباکتر ژژونای را ۵۷/۵ درصد گزارش دادند که اندکی از نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش فراتر است (Tang *et al.*, 2020). پژوهشی بر روی شناسایی گونه‌های کمپیلوباکتر در مرغ‌های کشتارگاه‌های جهرم گزارش دادند از ۳۲۸ لاشه مرغ، ۲۱۷ نمونه (۶۶/۲ درصد) آلوده به انواع کمپیلوباکتر بودند که ۱۴۶ نمونه (۶۷/۳ درصد) مربوط به کمپیلوباکتر ژژونای بود، که با نتایج این پژوهش، ناسازگار است (Pourahmadi *et al.*, 2022). در پژوهشی که در غرب آفریقا انجام گرفت، گزارش شد از مجموع ۲۵۶ نمونه گوشت مرغ بدون بسته‌بندی، میزان آلودگی کمپیلوباکتر ۳۲/۸ درصد بود، که پائین‌تر از نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش در خصوص گوشت مرغ بدون بسته‌بندی (۶۳/۲ درصد) است (Kouglenou *et al.*, 2020). پژوهشی در ایتالیا انجام شد که در آن آلودگی به کمپیلوباکتر ژژونای ۵۷/۹۶ درصد در گوشت مرغ فاقد بسته‌بندی گزارش شد و سیپروفلوکساسین (۸۸/۲۵ درصد)، بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی را در بین سایر آنتی‌بیوتیک‌ها داشته است، که در خصوص میانگین آلودگی به کمپیلوباکتر در گوشت مرغ و مقاومت آنتی‌بیوتیکی هم‌راستا با پژوهش حاضر است (Di Giannatale *et al.*, 2019).

پژوهشی هم‌راستا با پژوهش حاضر در تایوان انجام شد و گزارش دادند که کمپیلوباکتر ژژونای ۵۵/۱ درصد جدایه‌های گوشت مرغ را به خود اختصاص داد و بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به جدایه سیپروفلوکساسین بود، که هم‌راستا با پژوهش حاضر است (Wei *et al.*, 2024). در پژوهشی هم‌راستا

گوشت طیور مؤثر باشد. همچنین مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در گوشت و سایر غذاها به کمپیلوباکتر باید جدی گرفته شود و اقدامات بهداشتی در این زمینه ضروری است. تجویز آنتی‌بیوتیک در دام و طیور زیر نظر دامپزشک، در نظر گرفتن زمان اجباری ترک آنتی‌بیوتیک قبل از کشتار و مصرف، اعمال روش کاملاً بهداشتی در زمان کشتار، نظارت دائمی میکروبیولوژیک در کشتارگاه‌ها و لاشه‌ها، جلوگیری از فعالیت کشتارگاه‌های سنتی، آموزش بهداشتی عموم مردم در کشتارگاه‌ها، خرده‌فروشی‌ها، رستوران‌ها و محیط‌های خانگی و پخت کامل گوشت خام می‌تواند در کاهش خطر عفونت کمپیلوباکتر مفید باشد.

#### سیاسگذاری

بدین وسیله از کلیه همکاران گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که نهایت همکاری را در انجام این پروژه را داشتند تشکر به عمل می‌آید.

#### تعارض منافع

نویسندگان تعارض منافی برای اعلام ندارند.

به‌عنوان یک پاتوژن با اولویت بالا طبقه‌بندی کرده است؛ فلوروکینولون‌ها داروهای انتخابی در درمان کمپیلوباکتریوز هستند اما با این حال، روند افزایش مقاومت در گونه‌های کمپیلوباکتر جداشده از منشأ انسانی و حیوانی در ایالات متحده آمریکا و کانادا (۱۹-۴۷ درصد)، کشورهای اروپایی (۱۷-۹۹ درصد) و آفریقا و آسیا (بیش از ۸۰ درصد) گزارش شده است که بر اساس مطالعه‌ای متاآنالیز، مقاومت گونه‌های کمپیلوباکتر جداشده از منشأ انسانی و حیوانی به فلوروکینولون‌ها همچون سیپروفلوکساسین نیز در ایران شایع و از ۰ درصد تا ۸۷/۳ درصد متغیر بوده که جهش‌های ژنتیکی تک نقطه‌ای در DNA مانند جهش C257 T، شایع‌ترین جهش، در مقاومت فلوروکینولون با واسطه کروموزومی در گونه‌های کمپیلوباکتر می‌توان ذکر کرد (Khademi and Sahebkar., 2020).

با توجه به میانگین به‌دست‌آمده از نتایج پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که گوشت‌های خام خرده‌فروشی و کشتارگاه‌ها، عاملی برای انتقال عامل کمپیلوباکتریوز هستند. مقایسه مرغ‌های کشتار شده در کشتارگاه‌های صنعتی و مرغ‌هایی که به‌طور سنتی کشتار می‌شوند، گویای این مطلب است که فرآیند بهداشتی کشتارگاه می‌تواند در حذف یا کاهش کمپیلوباکتر در

#### منابع

- Abdallah, M., Abaza, M. A., Fathy, R., Yousef, G., Sobhy, M., Abdelhamid, H. et al. (2022). Detection of Some Virulence and Antibiotic Resistance Genes in *Campylobacter jejuni* isolated from Poultry and Human. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 89 (12): 6373-6381.
- Authority E. F. S. (2023). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 21.
- Barakat, A. M., Abdelrazik, K. A., Elfadaly, H. A., Rabie, N. S., Sadek, S. A. Almuzaini, A. M. (2020). Prevalence, molecular detection, and virulence gene profiles of *Campylobacter* species in humans and foods of animal origin. *Veterinary World*, 13(15): 143-158.

- Cosettini, A., Vidic, J., Maifreni, M., Marino, M., Pinamonti, D. Manzano, M. (2022). Rapid detection of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Campylobacter* spp., and *Escherichia coli* in food using biosensors. *Food Control*, 137(15): 108-119.
- Di Giannatale, E., Calistri, P., Di Donato, G., Decastelli, L., Goffredo, E., Adriano, D., et al. (2019). Thermotolerant *Campylobacter* spp. in chicken and bovine meat in Italy: Prevalence, level of contamination and molecular characterization of isolates. *PLoS One*, 14(12): 1-15.
- Dramé, O., Leclair, D., Parmley, E. J., Deckert, A., Ouattara, B., Daignault, D., et al. (2020). Antimicrobial resistance of *Campylobacter* in broiler chicken along the food chain in Canada. *Foodborne pathogens and disease*, 17(8): 512-520.
- Eriksson, D., Råhlén, E., Bergenkvist, E., Skarin, M., Fernström, L. L., Ryden, J., et al. (2023). Survival of *Campylobacter jejuni* in frozen chicken meat and risks associated with handling contaminated chicken in the kitchen. *Food Control*, 145(3): 109-119.
- Farvid, M. S., Sidahmed, E., Spence, N. D., Mante Angua, K., Rosner, B. A., & Barnett, J. B. (2021). Consumption of red meat and processed meat and cancer incidence: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *European journal of epidemiology*, 36(15): 937-951.
- Graham, A., Hawkins, L., Balasegaram, S., Narasimhan, S., Wain, J., Clarke, J., et al. (2024). A decade of *Campylobacter* and *Campylobacter* bacteraemias in a district general hospital and the surrounding London and South East region, England. *Journal of Infection*, 88(1): 15-20.
- Heidarzadi, M. A., Rahnema, M., Alipoureskandani, M., Saadati, D., & Afsharimoghdam, A. (2021). *Salmonella* and *Escherichia coli* contamination in samosas presented in Sistan and Baluchestan province and antibiotic resistance of isolates. *Food Hygiene*, 11(2): 81-92. [In Persian]
- Jainonthee, C., Chaisowwong, W., Ngamsanga, P., Meeyam, T., Sampedro, F., Wells, S. J., et al. (2024). Exploring the Influence of Slaughterhouse Type and Slaughtering Steps on *Campylobacter jejuni* Contamination in Chicken Meat: A Cluster Analysis Approach. *Heliyon*, 10(1): 1-17.
- Khademi, F., & Sahebkar, A. (2020). Prevalence of Fluoroquinolone-Resistant *Campylobacter* Species in Iran: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Microbiology*, 2020(1), 8868197.
- Kouglénou, S. D., Agbankpe, A. J., Dougnon, V., Djeuda, A. D., Deguenon, E., Hidjo, M., et al. (2020). Prevalence and susceptibility to antibiotics from *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from chicken meat in southern Benin, West Africa. *BMC research notes*, 13(1): 1-6.
- Liao, Y. S., Chen, B. H., Teng, R. H., Wang, Y. W., Chang, J., Shiu-Yun L., et al. (2022). Antimicrobial resistance in *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* from human campylobacteriosis in Taiwan, 2016 to 2019. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(1): 15-29.
- Lupoli, R., Vitale, M., Calabrese, I., Giosuè, A., Riccardi, G., Vaccaro, O. (2021). White meat consumption, all-cause mortality, and cardiovascular events: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Nutrients*, 13(2): 67-76.
- Marimuthu, D., Sekar, M., Gunasaleen, L., Vivekanandan, B., Singaram, B., Raj, G. D. (2022). Sensitivity of *Campylobacter jejuni* Virulence genes *flaA*, *mapA* and *hipO* by Polymerase chain reaction. *Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology*, 18(5): 111-114.
- Portes, A. B., Panzenhagen, P., Pereira dos Santos, A. M., Junior, C. A. C. (2023). Antibiotic resistance in *Campylobacter*: a systematic review of South American isolates. *Antibiotics*, 12(3): 54-61.
- Pourahmadi, M., Rouhijahromi, R., Moradi, F., Faraji, Z., Farhangzargar, M. Razeghi, B. (2022). Identification of *Campylobacter* species in Jahrom slaughterhouse chickens in 2016-17. *Pars Journal of Medical Sciences*, 17(3): 1-6..
- Rahimi, E., Mousavinafchi, S. B., & Shakerian, A. (2024). Isolation, characterization, and antimicrobial resistance profiles of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from raw meat of large livestock in Shahrekord, Iran. *Archives of Razi Institute*, 79(1): 9-18.
- Ramarao, N., Tran, S. L., Marin, M., & Vidic, J. (2020). Advanced methods for detection of *Bacillus cereus* and its pathogenic factors. *Sensors*, 20(9): 26-38.

- Sadeghi, A., Owlia, P., Ganji, L., Besharati, S., Ahmadi, F., Tajeddin, E., et al. (2020). Investigation of the prevalence of *Campylobacter* species and their antibiotic resistance phenotypes among poultry meat samples in 22 regions of Tehran, Iran. *Daneshvar Medicine*, 27(6): 1-8.
- Shams, S., Ghorbanalizadgan, M., Haj Mahmmodi, S., Piccirillo, A. (2017). Evaluation of a Multiplex PCR Assay for the Identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Infection Epidemiology and Microbiology*, 3(1): 6-18.
- Tang, M., Zhou, Q., Zhang, X., Zhou, S., Zhang, J., Tang, X., et al. (2020). Antibiotic resistance profiles and molecular mechanisms of *Campylobacter* from chicken and pig in China. *Frontiers in Microbiology*, 11(1): 59-69.
- Tikhomirova, A., McNabb, E. R., Petterlin, L., Bellamy, G. L., Lin, K. H., christopher, AS., et al. (2024). *Campylobacter jejuni* virulence factors: update on emerging issues and trends. *Journal of Biomedical Science*, 31(1), 45-56.
- Vizzini, P., Vidic, J., Manzano, M. (2021). Enrichment Free qPCR for Rapid Identification and Quantification of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C. upsaliensis* in Chicken Meat Samples by a New Couple of Primers. *Foods*, 10(10): 23-41.
- Walker, L. J., Wallace, R. L., Smith, J. J., Graham, T., Saputra, T., Symes, S., et al. (2019). Prevalence of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* in retail chicken, beef, lamb, and pork products in three Australian states. *Journal of Food Protection*, 82(12): 2126-2134.
- Wangroongsarb, P., Cheunban, N., Jittaprasatsin, C., Kamthalang, T., Saipradit, N., Chaichana, P., et al. (2021). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* isolated from retail chickens in Thailand. *International Journal of Food Microbiology*, 33(9): 109-119.
- Wei, H. L., Liao, Y. S., Chen, B. H., Teng, R. H., Wang, Y. W., Chang, JH., et al. (2024). Antimicrobial resistance and genetic relatedness among *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* from humans and retail chicken meat in Taiwan. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 38(1): 27-34.