

تاثیر توام نانودندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۷ و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر روی جدایه های مقاوم به چند داروی کمپیلوباکتر از قارچ های خوراکی توزیع شده در شهرستان ارومیه

محمد زردشتیان^۱، مسلم نیریز نقدهی^{۲*}، محمدرضا اصغر زاده^۳

۱. دانش آموخته دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

۲. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

۳. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

* نویسنده مسئول: mnn.uiiau@yahoo.com

چکیده:

مصرف قارچ های خوراکی به دلیل داشتن ارزش غذایی بالا روز به روز در حال گسترش می باشد. گونه های کمپیلوباکتر از عوامل اصلی انتریت باکتریایی در انسان می باشند و به سهولت در صورت عدم رعایت موازین بهداشتی در مراحل مختلف تولید باعث آلودگی قارچ های خوراکی خواهند شد. از طرفی، ظهور سویه های باکتریایی مقاوم به چند دارو از معضلات مهم بهداشت عمومی تلقی می گردد. در تحقیق حاضر، میزان شیوع گونه های کمپیلوباکتر در قارچ های خوراکی توزیع شده در شهرستان ارومیه، الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها و تاثیر توام نانودندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۷ و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر روی جدایه های مقاوم به چند داروی کمپیلوباکتر در شرایط آزمایشگاهی مطالعه شدند. در تحقیق حاضر از ۱۰۰ نمونه مورد آزمایش، ۵ نمونه (۵ درصد) به کمپیلوباکتر ژرژونی و ۸ نمونه (۸ درصد) به کمپیلوباکتر کلی آلوده بودند. تمامی جدایه ها (۱۰۰ درصد) ویژگی مقاوم به چند دارو نشان دادند. هم چنین نانودندریمر در مقایسه با پالیده عاری از سلول، اثر ضدباکتریایی بالاتری بر روی جدایه های کمپیلوباکتر نشان داد ($p < 0.05$). از طرفی، ترکیب نانودندریمر و پالیده عاری از سلول، اثر هم افزایی ($\text{FIC index} = 0.4$) بر روی جدایه های کمپیلوباکتر کلی نشان داد. هم چنین ترکیب نانودندریمر و پالیده عاری از سلول، اثر افزایشی ($\text{FIC index} = 0.68$) بر روی جدایه های کمپیلوباکتر ژرژونی نشان داد. بنابراین می توان استنتاج نمود که تمامی جدایه های کمپیلوباکتر از قارچ های خوراکی شهرستان ارومیه دارای خصوصیت مقاوم به چند دارو بوده و اثر ضدباکتریایی نانودندریمر در حضور پالیده عاری از سلول بر روی جدایه های مقاوم به چند داروی کمپیلوباکتر در شرایط آزمایشگاهی تشدید شد.

کلمات کلیدی:

نانودندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۷، پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم، سویه های مقاوم به چند داروی کمپیلوباکتر، قارچ های خوراکی

مقدمه:

قارچ‌های خوراکی در واقع میوه و بخش تولید مثل کننده و هاگ ساز قارچ‌های حقیقی می‌باشند (Shakerian, 2016). قارچ‌ها برای دهه‌ها در مواد غذایی و پزشکی مورد استفاده قرار گرفته‌اند و به یک عنصر مهم در تغذیه انسان تبدیل شده‌اند. این مواد به دلیل داشتن مواد مغذی با کیفیت بالا، کربوهیدرات‌ها، آنزیم‌ها، اسیدهای چرب ضروری، فیبرهای غذایی، محتوای کم کالری، عطر و طعم، کیفیت غذایی جذابی دارند (Valverde et al., 2015).

قارچ‌های خوراکی میزبان ایده‌آلی برای طیف وسیعی از پاتوژن‌ها هستند. یکی از مهم‌ترین باکتری‌ها، کمپیلوباکتر است (Shakerian et al., 2005). کمپیلوباکتر را می‌توان در ۱ تا ۱/۵ درصد مواد غذایی کشاورزی شناسایی کرد. در چندین مورد که از نظر اپیدمیولوژیک با شیوع کمپیلوباکتر مرتبط هستند به‌عنوان مسئول انتقال کمپیلوباکتر شناخته شده‌اند (Thomas et al., 2020). باکتری کمپیلوباکتر باعث عفونت‌های غذایی می‌شود و انواع کمپیلوباکتر با مقاومت دارویی به‌عنوان یک مشکل جدی برای سلامتی عمومی تبدیل شده است (Rahimi et al., 2013). قارچ‌های خوراکی به عنوان مهم‌ترین عوامل خطر در وقوع کمپیلوباکتریوزیس در انسان شناسایی شده‌اند (Shakerian, 2016).

جنس کمپیلوباکتر شامل باکتری‌های گرم منفی کوچک، متحرک و خمیده است (Humphrey et al., 2007; Murray et al., 2015; Carroll et al., 2016). این باکتری‌های میله‌ای شکل، ترموفیل با دمای رشد ۳۰ تا ۴۶ درجه سانتی‌گراد و میکروآئروفیل با ۵ درصد O₂ هستند (Wieczorek and Osek, 2013). کمپیلوباکتر یک پاتوژن مشترک بین انسان و دام است که در مجرای روده حیوانات اهلی و وحشی و پرندگان کلونیزه می‌شود (Luangtongkum et al., 2009; Wieczorek and Osek, 2013). طیور، گاو، گوسفند، خوک، پرندگان، سگ‌ها و گربه‌ها میزبان‌های مخزن رایج عفونت‌های انسانی هستند (Murray et al., 2015). این پاتوژن باکتریایی منتقله از غذا عامل اصلی گاستروانتریت باکتریایی و سپتی سمی در انسان

در کشورهای در حال توسعه و توسعه‌یافته است (Murray et al., 2016; Carroll et al., 2015). در کشورهای توسعه‌یافته، کمپیلوباکتر مهم‌ترین عامل ایجاد کننده عفونت دستگاه گوارش است (Blaser and Engberg, 2008). تخمین زده می‌شود که سالانه بین ۴۰۰ تا ۵۰۰ میلیون نفر در جهان به گونه‌های کمپیلوباکتر آلوده می‌شوند (Luangtongkum et al., 2009; Wieczorek and Osek, 2013). شایع‌ترین گونه‌های مرتبط با گاستروانتریت باکتریایی در انسان کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر کلی و هم‌چنین کمپیلوباکتر فکتوس مرتبط با عفونت‌های سیستمیک هستند (Murray et al., 2013; Wieczorek and J. Osek, 2013; al., 2015).

با این حال، مشکل اصلی آلودگی مواد غذایی با پاتوژن‌های مقاوم به دارو است که یک تهدید بزرگ برای سلامت عمومی است. ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی می‌توانند در بین پاتوژن‌های منتقله از غذا منتقل گردد و این امر درمان عفونت‌های شدید را دشوار می‌کند (Enayat et al., 2012). داروهای انتخابی در درمان کمپیلوباکتریوزیس انسانی شامل ماکرولیدها (اریترومایسین و آزیترومایسین)، فلوروکینولون‌ها (سیپروفلوکساسین) و تتراسایکلین‌ها هستند. دلایل اصلی افزایش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک کمپیلوباکتر، استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها در پزشکی، دامپزشکی یا افزودن به عنوان مکمل غذایی برای افزایش رشد در سیستم‌های پرورش دام و طیور مرتبط است (Shafiei et al., 2020). افزایش تعداد عفونت‌های بیمارستانی توسط سویه‌های باکتریایی مقاوم به چند دارو (Multiple Drug Resistant یا MDR)، کشف و توسعه عوامل ضدباکتریایی جدید به‌ویژه آن‌هایی که ساختار و مکانیسم اثر متفاوتی با آنتی‌بیوتیک‌های سنتی دارند و پتانسیل پایینی برای القای مقاومت آنتی‌بیوتیکی دارند؛ مورد توجه قرار گرفته‌اند (Kumar et al., 2017).

نانودندریمرهای کاتیونی به‌عنوان عوامل آنتی‌بیوتیک جدید و امیدوارکننده در سال‌های اخیر ظاهر شده‌اند (Castonguay et al., 2012; Xue et al., 2013). دندریمرها درشت مولکول‌های تک‌پراکنده و کاملاً منشعب هستند که افزایش

انتهایی فعال به صورت تصاعدی افزایش می یابد (Yen et al., 2017). تعداد گروه انتهایی فعال نیز به نوع هسته دندریمر بستگی دارد. هسته دندریمر می تواند از آمونیاک، اتیلن دی آمین (EDA) یا سیستمین تشکیل شده باشد (Parquette, 2001).

وزن مولکولی و قطر نانودندریمر پلی آمیدوآمین-۷ مشابه پپتیدها و پروتئین های هم اندازه می باشد. بر خلاف پروتئین ها، همچنان که اندازه نانودندریمرها افزایش می یابد، سطح شان به صورت فزاینده ای متراکم می شود. علت آن دو برابر شدن شاخه ها و گروه های متصل به سطح خارجی به ازای افزایش نسل می باشد. با افزایش نسل و اندازه نانودندریمر مولکول ها متقارن تر و کروی تر می شوند و علت آن تراکم پوشش شاخه های خارجی می باشد (Hermanson, 2013). PAMAM بین G0 و G4 صاف و بیضوی هستند، در حالی که PAMAM بین G5 و G10 کروی شکل هستند. برخلاف پلیمرهای پرشاخه که توسط یک واکنش پلیمریزاسیون یک مرحله ای سنتز می شوند، سنتز PAMAM شامل تکرار کنترل شده همان واکنش است (Parquette, 2001). PAMAM توسط روش های واگرا یا همگرا سنتز می شود (Hawker and Frechet, 1990).

رشد مقاومت آنتی بیوتیکی در میکروارگانیسم های بیماری زا در سال های اخیر توجه بسیاری از جامعه علمی را به جستجوی ترکیبات جایگزین با فعالیت ضد میکروبی جلب کرده است (Cotter et al., 2013; Danilova et al., 2017). در این میان، باکتری های اسیدلاکتیک و متابولیت های آنها از اهمیت ویژه ای برخوردارند که به عنوان پروبیوتیک ها و نگهدارنده های طبیعی در پزشکی و صنایع غذایی کاربرد فراوانی دارند. لاکتوباسیل ها باکتری های گرم مثبت غیر اسپورزا هستند. تضاد آنها با پاتوژن ها هم با مهار مستقیم رشد پاتوژن از طریق تولید ترکیبات ضد میکروبی و هم با رقابت برای مکان های چسبندگی و مواد مغذی همراه است. همه باکتری های اسیدلاکتیک توانایی تولید باکتریوسین ها، مولکول های پروتئینی کوچک با منشأ ژنتیکی متفاوت را دارند که طیف گسترده ای از فعالیت های بیولوژیکی را نشان می دهند. باکتریوسین ها پایدار هستند، سمیت کمی دارند و

نمایی در گروه های عاملی هر نسل را نشان می دهند. دندریمرها دارای معماری سه بعدی بسیار منشعب با فضاهای بین شاخه ها هستند و از آنجایی که این فضاهای خالی می توانند مولکول های مهمان را بپذیرند، ذرات با اندازه های مختلف را می توان توسط دندریمرها محصور کرد (Charles et al., 2012; Xue et al., 2013). با توجه به خواص فوق الذکر، دندریمرها علاقه زیادی به بررسی کاربردهای بالقوه زیست پزشکی مانند دارورسانی، انتقال ژن و تصویربرداری به خود جلب کرده اند (Calabretta et al., 2007; Wang et al., 2010). فعالیت های تحقیقاتی اخیر در این زمینه شامل مطالعه فعالیت های ضد میکروبی مشتقات دندریمر است. در بیشتر موارد، عوامل بیولوژیکی فعال را می توان در داخل کپسوله کرد یا در حاشیه دندریمرها متصل کرد، بنابراین این دندریمرها به عنوان حامل عوامل بیولوژیکی فعال عمل می کنند. دندریمرهای پلی آمیدوآمین (Polyamidoamine) یا PAMAM گسترده ترین دندریمرهایی هستند که مورد مطالعه قرار گرفته اند. دندریمرهای PAMAM با طیف گسترده ای از گروه های عاملی در حاشیه بیشترین فعالیت ضدباکتریایی را نشان می دهند (Charles et al., 2012; Strydom et al., 2013). پلی آمیدوآمین، مولکول هایی با اندازه نانو و متقارن شعاعی با شاخه های کاملاً مشخص، همگن و تک پراکنده هستند. این شاخه ها حول هسته یک نانو مولکول یا یک پلیمر خطی ایجاد می شوند (Bosman et al., 1999). پلیمر با این خواص ساختاری، دندریمر نامیده می شود. دندریمرها از سه بخش مجزا تشکیل شده اند: اتم مرکزی یا "هسته"، شاخه ها یا "دندرون ها" و گروه های عملکردی یا فعال انتهایی (Sohail et al., 2020). برای یک مولکول PAMAM هسته می تواند از اتیلن دی آمین (EDA) یا آمین ساخته شود. در حالی که دندرون ها و گروه های عاملی انتهایی به ترتیب آمیدوآمین و آمین هستند. در PAMAM، دندرون ها از هسته مرکزی رشد می کنند و با افزودن هر لایه دندرون، "نسل" PAMAM افزایش می یابد. اندازه یک مولکول PAMAM می تواند بین ۱۰ (G0) و ۱۰۰ (G10) آنگستروم باشد. افزودن نسل جدید اندازه را به صورت خطی افزایش می دهد، با این حال، با هر نسل اضافی، تعداد گروه های

نمونه گیری: تحقیق حاضر یک مطالعه تلفیقی توصیفی و تجربی می باشد. جامعه آماری برای بررسی توصیفی، قارچ های خوراکی توزیع شده در شهرستان ارومیه در سال ۱۴۰۳ بود؛ و جامعه آماری برای مطالعه تجربی، جدایه های مقاوم به چند داروی کمپیلوباکتر بود. حجم نمونه برای بررسی توصیفی، با در نظر گرفتن شیوع احتمالی (p) ۵۰ درصد گونه های کمپیلوباکتر در قارچ های خوراکی، ضریب اطمینان ۹۵ درصد ($z=1.96$) و خطای برآوردی (d) ۱۰ درصد و با استفاده از فرمول کوکران، ۱۰۰ نمونه محاسبه شد.

$$n = \frac{p(1-p)z^2}{d^2}$$

نمونه ها با رعایت شرایط سترون و به صورت تصادفی از مراکز عرضه قارچ خوراکی مناطق مختلف شهر ارومیه در سال ۱۴۰۳ جمع آوری و در اسرع وقت به آزمایشگاه کنترل کیفی و بهداشتی دانشکده دامپزشکی منتقل شدند.

جداسازی گونه های کمپیلوباکتر از قارچ های خوراکی: ۱۰ گرم از نمونه خرد شده با ۹۰ میلی لیتر از آبگوشت غنی سازی انتخابی پرستون (کیولب، کانادا) تکمیل شده با خون دفیبرینه گوسفندی و مکمل آنتی بیوتیکی مخلوط و در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد و در شرایط میکروآیروفیل (N2)، ۸۵ درصد، CO2، ۱۰ درصد و O2، ۵ درصد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند. سپس نمونه های غنی شده در آگار انتخابی کمپیلوباکتر (کیولب، کانادا) تکمیل شده با خون دفیبرینه گوسفندی و مکمل انتخابی کشت خطی داده شده و در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت در همان شرایط فوق الذکر گرمخانه گذاری شدند. بر روی پرگنه های تیپیک (پهن، کروی، چسبنده و غیرهمولیتیک) آزمایش های رشد در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، کاتالاز، احیا نیترات، تولید H2S، هیدرولیز هیپورات، مقاومت و حساسیت به نالیدیسیک اسید و سفالوتین انجام شد (Stern et al., 1992; Rahimi et al., 2010; Maktabi et al., 2019; FDA, 2021).

آزمایش حساسیت ضد میکروبی جدایه های کمپیلوباکتر: آزمایش حساسیت ضد میکروبی به روش انتشار دیسک کربی بایر انجام شد. ابتدا جدایه ها روی آگار خون دار

می توانند توسط پروبیوتیک ها در محل تولید شوند. به گفته برخی از نویسندگان، باکتریوسین ها "نسل جدید مبارزان علیه عفونت" هستند (Cotter et al., 2013; Prabhurajeshwar et al., 2017; Dicks et al., 2018). در میان لاکتوباسیل ها، لاکتوباسیلوس پلان تاروم یکی از جهانی ترین گونه ها است که تعدادی از اجزای ضد میکروبی نظیر اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، دی استیل، باکتریوسین ها (پلان تاروسین ها) و پپتیدهای ضد میکروبی با طیف های مختلف فعالیت را تولید می کند (Olasupo, 1996; Mukherjee et al., 2015; Liu et al., 2018).

لاکتوباسیلوس پلان تاروم به طور گسترده ای به عنوان یک عامل ضد باکتریایی در برابر باکتری های بیماری زا عمل می کند. اداره غذا و داروی امریکا (FDA) لاکتوباسیلوس پلان تاروم را به عنوان عموماً ایمن شناخته شده (Generally recognized as safe یا GRAS) معرفی کرده است، و استفاده از لاکتوباسیلوس پلان تاروم و متابولیت های آن به عنوان عوامل ضد باکتری طبیعی توجه قابل توجهی را به خود جلب کرده است. متابولیت های مختلف در پالیده های عاری از سلول (Cell free supernatant یا CFS) لاکتوباسیلوس پلان تاروم، از جمله پروتئین های ترشح شده، آنزیم ها، اسید آلی و پپتیدهای وزیکوله خارج سلولی، پتانسیل ضد باکتریایی نشان داده اند. علاوه بر این، CFS فعالیت بیولوژیکی و پایداری بالاتری نسبت به سویه های پروبیوتیک یا هر یک از اجزای دیگر دارد. بررسی های قبلی نشان داده اند که CFS دارای فعالیت باکتری کشی در برابر باکتری های / استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی، سالمونلا تیفی موریوم، سودوموناس آیروژینوزا، سودوموناس بوتیدا و کمپیلوباکتر می باشد (Wang et al., 2023; Danilova et al., 2023).

مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر توام نانودندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۷ و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلان تاروم بر روی جدایه های کمپیلوباکتر مقاوم به چند دارو از قارچ های خوراکی توزیعی در شهرستان ارومیه صورت پذیرفت.

مواد و روش کار:

شده با استاندارد کدورت نیم مک فارلند و ۱۰۰ برابر رقیق شده به چاهک‌ها اضافه شد. کنترل‌های مربوط به سترونی و رشد باکتری در نظر گرفته شد. میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد در شرایط میکروآیروفیل گرمخانه‌گذاری شدند. چاهک‌های شفاف و کدر به صورت چشمی مشخص شدند. دو چاهک شفاف آخر و دو چاهک کدر اول برای تعیین MIC و MBC کشت داده شدند. غلظتی که ۹۰ درصد از تلقیح باکتریایی اولیه را مهار کند، MIC و غلظتی که ۹۹.۹ درصد از تلقیح اولیه را مهار کند، MBC در نظر گرفته شدند (CLSI, 2015).

ارزیابی اثرات ضدباکتریایی پالیده عاری از سلول (CFS) لاکتوباسیلوس پلانتاروم به‌تنهایی بر روی جدایه‌های مقاوم به چند داروی کمپیلوباکتر: لاکتوباسیلوس پلانتاروم از کلکسیون میکروبی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه شد. برای تایید باکتری، آزمایش‌های رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، اکسیداز، قرمز متیل (MR)، و وگس پروسکوئر (VP)، اندول، احیا نیترات و تخمیر قندها انجام شد (Toualbia et al., 2018). ابتدا باکتری در آبگوشت MRS (مرک، آلمان) کشت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری شد. سپس برای تهیه پالیده عاری از سلول، کشت لاکتوباسیلوس در سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس محلول رویی جداسازی و لیوفیلیزه گردید. سپس رقت‌های دوبرابر متوالی از ۱۰۰۰ تا ۴/۰۳ میکروگرم در میلی‌لیتر از پودر لیوفیلیزه پالیده تهیه و به همان روش ذکر شده در مورد نانودندریمر مقادیر MIC و MBC مشخص شدند (Moradi et al., 2015; CLSI, 2019).

ارزیابی اثرات ضدباکتریایی نانودندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۷ و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم به‌صورت توأم بر روی جدایه‌های مقاوم به چند داروی کمپیلوباکتر: برای این منظور ابتدا به مقدار ۱۴۰ میکرولیتر از آبگوشت تنظیم شده

تجدید کشت شدند. با استفاده از استاندارد ۰/۵ مک فارلند، تلقیح باکتریایی (1.5×10^8 cfu/ml) آماده‌سازی گردید. سپس با استفاده از سوآب سترون آغشته‌شده با تلقیح بر روی آگار مولر هینتون (کیولب، کانادا) محتوی ۵ درصد خون دفیبرینه گوسفندی کشت چمنی در سه جهت با زاویه ۶۰ درجه انجام شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی اریترومايسين (۱۵ میکروگرم)، آزیترومايسين (۱۵ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم) و کوتریموکسازول (۱/۲۵ + ۲۳/۷۵ میکروگرم) (پادتن طب، ایران) بر روی مولر هینتون آگار تلقیح شده قرار داده شده و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد در شرایط میکروآیروفیل گرمخانه‌گذاری شدند. سپس قطر منطقه مهارتی با کولیس اندازه‌گیری و براساس معیارهای موسسه استاندارد آزمایشگاهی بالینی (CLSI) به صورت حساس (Susceptible)، نیمه‌حساس (Intermediate) و مقاوم (Resistant) ارزیابی شدند. جدایه‌هایی که به سه نوع آنتی‌بیوتیک یا بیشتر، مقاوم بودند؛ به‌عنوان مقاوم به چند دارو (MDR) تعریف شدند (CLSI, 2015; Magiorakos et al., 2012).

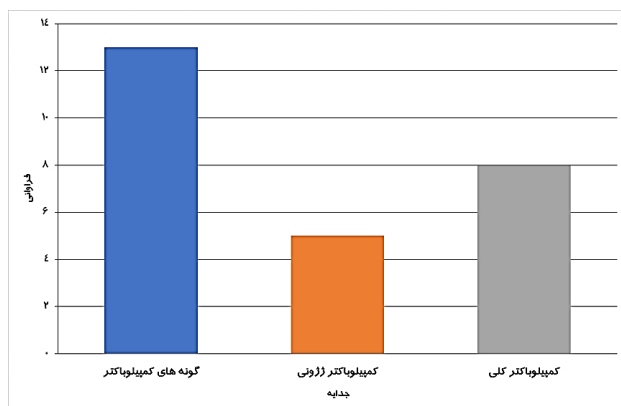
ارزیابی اثرات ضدباکتریایی نانودندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۷ به‌تنهایی بر روی جدایه‌های مقاوم به چند داروی کمپیلوباکتر: پودر نانودندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۷ تولید شرکت PubChem به وزن مولکولی ۳۲۵۶/۲ دالتون و فرمول شیمیایی C124H288N58O28 خریداری شد. برای این منظور از روش Broth Microdilution MIC testing و از میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی سترون استفاده شد. ابتدا به مقدار ۱۶۰ میکرولیتر از آبگوشت تنظیم شده کاتیونی مولر هینتون (کیولب، کانادا) و مکمل با ۵ درصد خون لیز شده اسب (CAMH-LHB)، سپس ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مورد آزمایش نانودندریمر (۴/۰۳، ۸/۰۶، ۱۶/۱۲، ۳۲/۲۵، ۶۴/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) و ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی تنظیم

تکمیلی توکی بررسی گردید. لازم به ذکر است در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد فرض صفر (H_0)، ۵ درصد در نظر گرفته شد و برای کاهش خطا، آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام گردید. همچنین رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۶ صورت گرفت.

نتایج:

فراوانی جدایه‌های کمپیلوباکتر از قارچ‌های خوراکی شهرستان ارومیه:

از مجموع ۱۰۰ نمونه قارچ خوراکی کشت شده، تعداد ۱۳ نمونه (۱۳ درصد) آلوده به کمپیلوباکتر بودند. از این تعداد، ۵ نمونه (۵ درصد) به کمپیلوباکتر ژژونی و ۸ نمونه (۸ درصد) به کمپیلوباکتر کلی آلوده بودند. در نمودار ۱ فراوانی نمونه‌های آلوده به کمپیلوباکتر نشان داده شده است.



نمودار ۱: فراوانی آلودگی به کمپیلوباکتر در قارچ‌های خوراکی شهرستان ارومیه

حساسیت ضدمیکروبی جدایه‌های کمپیلوباکتر از قارچ‌های خوراکی شهرستان ارومیه:

همان‌گونه که در جدول ۱ و نمودار ۲ نشان داده شده است؛ از مجموع ۱۳ جدایه کمپیلوباکتر، تمامی جدایه‌ها (۱۰۰ درصد) به آمپی‌سیلین، تتراسایکلین و کوتریموکسازول، ۱۲ جدایه (۹۲/۳ درصد) به اریترومایسین، آزیترومایسین و سیپروفلوکساسین، ۱۰ جدایه به سفتریاکسون (۷۹/۹ درصد)

کاتیونی مولر هینتون و مکمل با ۵ درصد خون لیز شده اسب (CAMH-LHB)، ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مورد آزمایش نانودندریمر، ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مورد آزمایش پالیده عاری از سلول (CFS) و ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی تنظیم شده با کدورت استاندارد نیم مک فارلند و ۱۰۰ برابر رقیق شده به چاهک‌ها اضافه شدند. تعیین MIC و MBC مشابه روش نانودندریمر و پالیده عاری از سلول به تنهایی انجام شد. برای ارزیابی اثرات توام، شاخص غلظت مهارکنندگی کسری (FIC) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (CLSI, 2015; Moradi *et al.*, 2019; Heydarian *et al.*, 2019).

$$FIC = \frac{MIC \text{ ماده ضد میکروب به صورت توام}}{MIC \text{ ماده ضد میکروب به تنهایی}}$$

سپس مقادیر FIC به دست آمده برای نانودندریمر و پالیده عاری از سلول جمع شده و مقدار شاخص FIC به صورت زیر تفسیر می‌گردد (Te Dorsthorst *et al.*, 2002):

اگر مقادیر FIC، کمتر یا مساوی ۰/۵ باشد، اثر سینرژیستی دارد.

اگر مقادیر FIC، بیشتر از ۰/۵ تا ۱ باشد، اثر افزایشی دارد.

اگر مقادیر FIC، بیشتر از ۱ تا ۴ باشد، بدون تاثیر می‌باشد.

اگر مقادیر FIC، بیشتر از ۴ باشد، اثر آنتاگونیستی دارد.

روش انجام آزمون آماری (تجزیه و تحلیل داده‌ها):

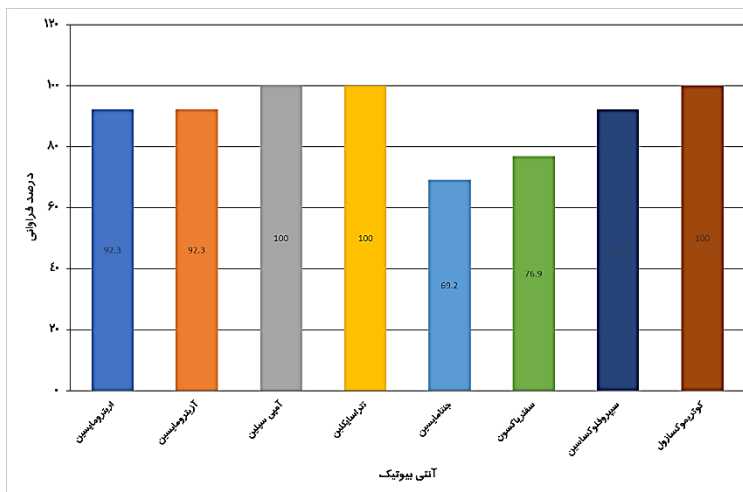
تحلیل آماری داده‌های حاصله با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۷ انجام شد. اختلاف میانگین حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد و حداقل غلظت کشندگی جدایه‌های مقاوم به چند داروی کمپیلوباکتر تحت تأثیر نانودندریمر پلی‌آمیدوآمین، پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم و ترکیب نانودندریمر پلی‌آمیدوآمین و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم با استفاده از آزمون تی استیودنت برای گروه‌های مستقل، آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون

از طرفی، یک جدایه (۷/۷ درصد) در برابر آزیترومايسين و ۲ جدایه (۱۵/۴ درصد) در مقابل جنتامایسین حساس بودند.

و ۹ جدایه به جنتامایسین (۶۹/۲ درصد) مقاوم بودند. همچنین از میان جدایه‌ها، یک جدایه (۷/۷ درصد) به اریترومایسین، ۲ جدایه (۱۵/۴ درصد) به جنتامایسین و سه جدایه (۲۳/۱ درصد) در برابر سفتریاکسون نیمه حساس بودند.

جدول ۱: نتایج حساسیت ضد میکروبی جدایه‌های کمپیلوباکتر از قارچ‌های خوراکی

آنتی بیوتیک	گونه‌های کمپیلوباکتر (n=۱۳)			کمپیلوباکتر ژرژونی (n=۵)			کمپیلوباکتر کلی (n=۸)		
	حساس	نیمه حساس	مقاوم	حساس	نیمه حساس	مقاوم	حساس	نیمه حساس	مقاوم
اریترومايسين	۰ (۰/۰)	۱ (۷/۷)	۱۲ (۹۲/۳)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۵ (۱۰۰)	۰ (۰/۰)	۱ (۱۲/۵)	۷ (۸۷/۵)
آزیترومايسين	۱ (۷/۷)	۰ (۰/۰)	۱۲ (۹۲/۳)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۵ (۱۰۰)	۱ (۱۲/۵)	۰ (۰/۰)	۷ (۸۷/۵)
آمپی سیلین	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۱۳ (۱۰۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۵ (۱۰۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۸ (۱۰۰)
تتراسایکلین	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۱۳ (۱۰۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۵ (۱۰۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۸ (۱۰۰)
جنتامایسین	۲ (۱۵/۴)	۲ (۱۵/۴)	۹ (۶۹/۲)	۲ (۴۰)	۱ (۲۰)	۲ (۴۰)	۰ (۰/۰)	۱ (۱۲/۵)	۷ (۸۷/۵)
سفتریاکسون	۰ (۰/۰)	۳ (۲۳/۱)	۱۰ (۷۶/۹)	۰ (۰/۰)	۳ (۶۰)	۲ (۴۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۸ (۱۰۰)
سیپروفلوکساسین	۰ (۰/۰)	۱ (۷/۷)	۱۲ (۹۲/۳)	۰ (۰/۰)	۱ (۲۰)	۴ (۸۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۸ (۱۰۰)
کوتریموکسازول	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۱۳ (۱۰۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۵ (۱۰۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۸ (۱۰۰)



نمودار ۲: درصد فروانی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌های کمپیلوباکتر از قارچ‌های خوراکی شهرستان ارومیه

آنتی بیوتیک، ۶ جدایه (۴۶/۱ درصد) به ۷ نوع آنتی بیوتیک و ۵ جدایه (۳۸/۵ درصد) به ۸ نوع آنتی بیوتیک مقاوم می‌باشند. پس می‌توان دریافت که تمامی جدایه‌ها (۱۰۰ درصد) به بیش از ۳ نوع آنتی بیوتیک مقاوم بوده و دارای ویژگی مقاوم به چند دارو یا MDR هستند.

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه‌های کمپیلوباکتر از قارچ‌های خوراکی شهرستان ارومیه

همان گونه در جدول ۲ نشان داده شده است؛ از مجموع ۱۳ جدایه کمپیلوباکتر، ۲ جدایه (۱۵/۴ درصد) به ۶ نوع

جدول ۲: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های کمپیلوباکتر از قارچ های خوراکی

تعداد آنتی بیوتیک								جدایه ها
۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۵(٪. ۳۸/۵)	۶(٪. ۴۶/۱)	۲(٪. ۱۵/۴)	۰(٪. ۰)	۰(٪. ۰)	۰(٪. ۰)	۰(٪. ۰)	۰(٪. ۰)	گونه های کمپیلوباکتر (n=13)
۰(٪. ۰)	۳(٪. ۶۰)	۲(٪. ۴۰)	۰(٪. ۰)	۰(٪. ۰)	۰(٪. ۰)	۰(٪. ۰)	۰(٪. ۰)	کمپیلوباکتر ژرژونی (n=5)
۵(٪. ۶۲/۵)	۳(٪. ۳۷/۵)	۰(٪. ۰)	۰(٪. ۰)	۰(٪. ۰)	۰(٪. ۰)	۰(٪. ۰)	۰(٪. ۰)	کمپیلوباکتر کلی (n=8)

به تنهایی و حالت توام با آزمون تجزیه واریانس یک طرفه نشان دهنده وجود تفاوت معنی داری بین گروه های مورد بررسی بود ($F_{(۲,۶۹)} = ۹۸/۷۰$ و $p < ۰/۰۱$). طبق نتایج آزمون تکمیلی توکی میانگین MIC جدایه های کمپیلوباکتر کلی در حالت توام به طور معنی داری کمتر از نانودندریمر به تنهایی و پالیده عاری از سلول به تنهایی بوده است ($p < ۰/۰۵$). همچنین میانگین MIC جدایه های کمپیلوباکتر کلی در نانودندریمر به تنهایی به طور معنی داری کمتر از پالیده عاری از سلول به تنهایی بود ($p < ۰/۰۵$) (جدول ۳).

در کل با توجه به نتایج شاخص $FIC\ index = 0.685$ ، نانودندریمر پلی آمیدو آمین و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم در حالت توام اثر افزایشی (Additive) بر روی کمپیلوباکتر ژرژونی نشان داد. همچنین با توجه به شاخص $FIC\ index = 0.40$ ، نانودندریمر و پالیده عاری از سلول در حالت توام اثر هم افزایی (Synergism) بر روی کمپیلوباکتر کلی نشان داد.

مقایسه حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) جدایه های مقاوم به چند داروی کمپیلوباکتر متاثر از نانودندریمر پلی آمیدو آمین نسل ۷ و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم در حالت به تنهایی و توام:

مقایسه میانگین MIC کمپیلوباکتر ژرژونی متاثر از ترکیبات مورد مطالعه به تنهایی و توام با آزمون تجزیه واریانس یک طرفه نشان دهنده وجود تفاوت معنی داری بین گروه های مورد بررسی بود ($F_{(۲,۴۲)} = ۵۳/۱۹$ و $p < ۰/۰۱$). نتایج آزمون تکمیلی توکی نشان داد میانگین MIC جدایه های کمپیلوباکتر ژرژونی در حالت توام (نانودندریمر پلی آمیدو آمین و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم) و همچنین نانودندریمر پلی آمیدو آمین به تنهایی به طور معنی داری کمتر از پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم می باشد ($p < ۰/۰۵$). اما در میانگین MIC جدایه های کمپیلوباکتر ژرژونی در حالت توام با نانودندریمر به تنهایی اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p > ۰/۰۵$) (جدول ۳). مقایسه میانگین MIC کمپیلوباکتر کلی متاثر از ترکیبات مورد مطالعه

جدول ۳: مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) جدایه های مقاوم به چند داروی کمپیلوباکتر متاثر از نانودندریمر پلی آمیدو آمین و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم در حالت به تنهایی و توام (میکرو گرم بر میلی لیتر)

جدایه		تیمار
کمپیلوباکتر ژرژونی	کمپیلوباکتر کلی	
$۵/۵۰ \pm ۱/۹۹^a$	$۲۴/۷۹ \pm ۷/۸۰^b$	نانودندریمر
$۳۴/۴۰ \pm ۱۵/۸۱^b$	$۴۸/۱۷ \pm ۱۵/۹۰^c$	پالیده عاری از سلول
$۳/۲۷ \pm ۰/۹۶^a$	$۶/۵۵ \pm ۱/۸۹^a$	نانودندریمر و پالیده عاری از سلول
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	معنی داری

*حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح $p < ۰/۰۵$ در آزمون تکمیلی توکی می باشد.

مقایسه حداقل مهارکنندگی (MIC) رشد نانودندریمر پلی آمیدوآمین و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم در حالت به تنهایی و توام در جدایه های کمپیلوباکتر

جهت مقایسه حداقل غلظت مهارکنندگی در جدایه های کمپیلوباکتر متأثر از ترکیبات مورد مطالعه از آزمون تی استیودنت برای گروه های مستقل استفاده گردید. طبق نتایج آزمون تی استیودنت برای گروه های مستقل، میانگین MIC کمپیلوباکتر کلی نسبت به کمپیلوباکتر ژژونی متأثر از نانودندریمر به تنهایی به طور معنی داری بیشتر است ($p < 0.001$)

($T(37) = 2.63$ و $p < 0.01$) (جدول ۴). همچنین واکاوی آماری نشان داد میانگین میانگین MIC کمپیلوباکتر کلی متأثر از پالیده عاری از سلول به تنهایی به طور معنی داری بیشتر از کمپیلوباکتر ژژونی بود ($T(37) = 2.63$ و $p < 0.05$) (جدول ۴). طبق نتایج آزمون تی استیودنت برای گروه های مستقل، MIC کمپیلوباکتر کلی متأثر از ترکیب نانودندریمر و پالیده عاری از سلول به حالت توام به طور معنی داری بیشتر از کمپیلوباکتر ژژونی بود ($T(37) = 6.20$ و $p < 0.01$) (جدول ۴).

جدول ۴: مقایسه حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) از رشد جدایه های کمپیلوباکتر متأثر از نانودندریمر پلی آمیدوآمین، پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم در حالت به تنهایی و توام (میکروگرم بر میلی لیتر)

جدایه	نانودندریمر	پالیده عاری از سلول	نانودندریمر و پالیده عاری از سلول
کمپیلوباکتر ژژونی	$5/50 \pm 1/99$	$34/40 \pm 15/81$	$3/27 \pm 0/96$
کمپیلوباکتر کلی	$24/79 \pm 7/80$	$48/17 \pm 15/90$	$6/55 \pm 1/89$
معنی داری	۰/۰۰۱	۰/۰۱۲	۰/۰۰۲

بحث:

قارچ های خوراکی می توانند به عنوان منبعی برای انتقال عفونت های باکتریایی عمل کنند و گونه های کمپیلوباکتر، شایع ترین علت بیماری های ناشی از غذا در سطح جهانی هستند (Emami et al., 2023). در مطالعه حاضر از مجموع ۱۰۰ نمونه قارچ خوراکی کشت شده، تعداد ۱۳ نمونه آلوده به کمپیلوباکتر بودند (۱۳ درصد) و از این تعداد، ۵ نمونه آلوده به کمپیلوباکتر ژژونی (۵ درصد) و ۸ نمونه آلوده به کمپیلوباکتر کولای (۸ درصد) بودند.

در چندین مطالعه، آلودگی قارچ های خوراکی به کمپیلوباکتر بررسی شده است. Mardani و همکاران (۲۰۲۱) گزارش

کردند که ۱۵ درصد از ۱۵۰ نمونه قارچ خوراکی آلوده به کمپیلوباکتر بودند (Mardani et al., 2021). در مطالعه ای دیگر توسط امامی و همکاران (۲۰۲۳)، ۱۰ درصد از ۲۰۰ نمونه نشان دادند که به کمپیلوباکتر ژژونی آلوده هستند، که نشان دهنده تفاوت آلودگی در مناطق مختلف است (Emami et al., 2023). همچنین، اسکارپ و همکاران (۲۰۱۶) به وجود کمپیلوباکتر در غذاهای پروتئینی و قارچی اشاره کردند و شیوع آلودگی در قارچ ها را ۱۲ درصد گزارش کردند (Skarp et al., 2016). یافته های مطالعه حاضر نشان می دهد که آلودگی قارچ های خوراکی به کمپیلوباکتر، به ویژه کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر کولای، یک مسئله جدی در زمینه ایمنی غذایی است. میزان آلودگی ۱۳ درصدی در این

درصد) به اریترومايسين، آزیترومایسین و سیپروفلوکساسین، ۱۰ جدایه به سفتریاکسون (۷۹/۹ درصد) و ۹ جدایه به جنتامایسین (۶۹/۲ درصد) مقاوم بودند. همچنین از میان جدایه‌ها، یک جدایه (۷/۷ درصد) به اریترومايسين، ۲ جدایه (۱۵/۴ درصد) به جنتامایسین و سه جدایه (۲۳/۱ درصد) در برابر سفتریاکسون نیمه حساس بودند. از طرفی، یک جدایه (۷/۷ درصد) در برابر آزیترومایسین و ۲ جدایه (۱۵/۴ درصد) در مقابل جنتامایسین حساس بودند.

نگوین و همکاران (۲۰۲۰)، در مطالعه‌ای، مقاومت جدایه‌های کمپیلوباکتر از منابع مختلف غذایی را بررسی نمودند. نتایج نشان‌دهنده مقاومت ۱۰۰ درصدی به آمپی‌سیلین و ۷۶ درصدی به سیپروفلوکساسین بود. در این مطالعه، نسبت به اریترومايسين و آزیترومایسین به ترتیب ۹۰ و ۸۵ درصد مقاومت مشاهده شد (Nguyen et al., 2020). این نتایج اهمیت توجه به مدیریت مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در دامداری و مراکز فرآوری محصولات غذایی را نشان می‌دهد و نیاز به نظارت دقیق بر آلودگی‌های غذایی و دلایل مقاومت را مورد تأکید قرار می‌دهد. ژانگ و همکاران (۲۰۲۱)، در مطالعه‌ای، ۵۰ جدایه کمپیلوباکتر از نمونه‌های گوشت و محصولات لبنی را مورد بررسی قرار دادند. ۹۴ درصد به تتراسایکلین و ۷۵ درصد به سفتریاکسون مقاوم بودند. علاوه بر این، این بررسی نشان داد که ۸۰ درصد از جدایه‌ها به اریترومايسين مقاوم می‌باشند (Zhang et al., 2021). اولایمت و همکاران (۲۰۱۹)، طی مطالعه‌ای ۱۰۰ جدایه کمپیلوباکتر از نمونه‌های مرغی را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که ۸۵ درصد جدایه‌ها به جنتامایسین و ۹۰ درصد به سیپروفلوکساسین مقاوم می‌باشند. همچنین، تعداد کمی از جدایه‌ها نسبت به اریترومايسين و آزیترومایسین حساس بودند (Olaïmat et al., 2019).

فرناندز و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای بر روی ۵۰ جدایه کمپیلوباکتر از نمونه‌های گوشت مرغ، مقاومت به آمپی‌سیلین

مطالعه مشابه با یافته‌های سایر پژوهش‌ها بوده و این مسئله نشان‌دهنده نیاز به نظارت و ارزیابی بیشتر بر روی آلودگی‌های باکتریایی در مواد غذایی به ویژه قارچ‌ها می‌باشد. در مطالعه گوش و همکاران (۲۰۱۹)، از ۱۲۰ نمونه قارچ خوراکی، ۲/۵ درصد (۳ نمونه) به کمپیلوباکتر آلوده بودند (Ghosh et al., 2019). در مطالعه خان و همکاران (۲۰۲۱)، از ۲۰۰ نمونه قارچ خوراکی، هیچ مورد آلوده‌ای به کمپیلوباکتر گزارش نشد که نتایج دارای تفاوت قابل توجهی در مقایسه با مطالعه حاضر است. این موضوع بیانگر این است که در برخی از مناطق، قارچ‌های خوراکی می‌توانند عاری از این باکتری باشند (Khan et al., 2021). همچنین کبیر و همکاران (۲۰۲۲)، در مطالعه‌ای در یک بازه جغرافیایی متفاوت، گزارشی از ۳۰۰ نمونه قارچ خوراکی ارائه داد که فقط ۱/۳ درصد (۴ نمونه) به کمپیلوباکتر آلوده بودند (Kabir et al., 2022). مطالعه حاضر با مشاهده ۱۳ درصد آلودگی (۱۳ نمونه) به کمپیلوباکتر، نشان‌دهنده آلودگی نسبتاً بالا در مقایسه با نتایج گوش و همکاران (۲/۵ درصد)، خان و همکاران (صفر درصد) و کبیر و همکاران (۱/۳ درصد) است. این تفاوت‌ها می‌توانند به عوامل مختلفی اعم از شرایط محلی، نوع کشت، روش‌های برداشت، و فرآوری قارچ‌ها مربوط شود.

استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها به ظهور سویه‌های مقاوم منجر شده است، که این موضوع به یک چالش جهانی در بهداشت عمومی تبدیل شده است. سازمان جهانی بهداشت (WHO) کمپیلوباکتر را به عنوان سویه‌های مقاوم به ضد میکروبی و مقاوم به چند دارو، به ویژه در برابر داروهای فلوروکینولون و ماکرولیدها شناسایی کرده است (Rossi et al., 2021). این نوع مقاومت دارویی، به مشکلاتی جدی در درمان عفونت‌ها منجر شده و مسئول مرگ و میر بالا و افزایش هزینه‌های بهداشتی در سطح جهانی است (Yukse et al., 2021). همچنین در مطالعه حاضر نتایج نشان داد از مجموع ۱۳ جدایه کمپیلوباکتر، تمامی جدایه‌ها (۱۰۰ درصد) به آمپی‌سیلین، تتراسایکلین و کوتریموکسازول، ۱۲ جدایه (۹۲/۳)

ال حسن و ال تمیمی (۲۰۲۱)، در مطالعه ای نشان دادند که ۶۸ درصد از جدایه‌های کمپیلوباکتر به حداقل ۳ نوع آنتی‌بیوتیک مقاوم‌اند و ۳۷ درصد از آنها مقاومت به ۴ نوع آنتی‌بیوتیک یا بیشتر را نشان دادند (Al-Hasan & Al-Tamimi, 2021). اسمیت و کوفمن (۲۰۲۰)، طی مطالعه‌ای که انجام دادند نتایج نشان داد که بیش از ۷۵ درصد از جدایه‌ها به ۳ نوع یا بیشتر از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بودند و مقاومت چند دارویی (MDR) در میان جدایه‌های مختلف شایع بود (Smith & Kauffman, 2020). در مطالعه ژانگ و همکاران (۲۰۲۱)، مشخص شد که در حدود ۸۰ درصد از جدایه‌های کمپیلوباکتر به ۳ یا ۴ نوع آنتی‌بیوتیک مقاوم هستند و نیاز به نظارت بیشتری بر روی مقاومت آنتی‌بیوتیک وجود دارد (Zhang et al., 2021). مطالعه مک گوان و همکاران (۲۰۲۰)، نشان می‌دهد که تنها ۳۰ درصد از جدایه‌های کمپیلوباکتر به ۳ نوع یا بیشتر از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بوده‌اند. در حالی که درصد بالاتری از جدایه‌ها (۷۰ درصد) تنها به ۲ نوع آنتی‌بیوتیک یا کمتر مقاوم بودند (McGowan et al., 2020). تان و همکاران (۲۰۲۰)، طی مطالعه ای نشان دادند که تنها ۲۵ درصد از جدایه‌های مورد بررسی به بیش از ۳ نوع آنتی‌بیوتیک مقاوم هستند و مقاومت بیشتر جدایه‌ها به ۲ نوع آنتی‌بیوتیک محدود می‌شوند (Tan et al., 2019). نتایج مطالعه لی و همکاران (۲۰۲۱)، نشان داد که فقط ۱۵ درصد از جدایه‌ها به ۴ نوع آنتی‌بیوتیک و نه درصد به بیش از ۳ نوع آنتی‌بیوتیک مقاوم هستند (Lee et al., 2021).

همان گونه که از بررسی نتایج مطالعات مختلف مشخص می‌گردد الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های کمپیلوباکتر تفاوت قابل توجهی را نشان می‌دهد و میزان شیوع سویه‌های مقاوم به چند دارو (MDR) متفاوت می‌باشد. این تفاوت نشان‌دهنده تنوع قابل توجهی در میزان و نوع مقاومت در جدایه‌های مختلف کمپیلوباکتر است. عواملی چون موقعیت جغرافیایی، نوع منابع غذایی و روش‌های پرورش می‌تواند در

۳۰ درصد و مقاومت به تتراسایکلین حدود ۴۲ درصد بود. در مورد اریترومیسین و آزیترومایسین، مقاومت به ترتیب ۵۰ درصد و ۲۰ درصد گزارش شد (Fernández et al., 2018). کاسورن و همکاران (۲۰۲۰)، به بررسی ۷۵ جدایه کمپیلوباکتر از منابع مختلف پرداخته و نتایج زیر را ارائه کرد: همگی جدایه‌ها به آمپی‌سیلین (۱۰۰ درصد) و تتراسایکلین (۹۰ درصد) مقاوم بودند. اما مقاومت به سیپروفلوکساسین تنها ۳۵ درصد و به سفتریاکسون ۵۵ درصد گزارش شد (Cawthorne et al., 2020). کاسسیم و همکاران (۲۰۲۱)، ۴۰ جدایه کمپیلوباکتر را مورد بررسی قرار دادند و نتایج زیر مشاهده شد: حساسیت جدایه‌ها به اریترومیسین ۸۰ درصد در حالی که تنها ۲۰ درصد به آن مقاوم بودند. مقاومت به جنتامایسین فقط ۲۵ درصد از جدایه‌ها را شامل می‌شد (Kassem et al., 2021). همان گونه که از بررسی مطالعات مختلف آشکار می‌شود؛ در میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های کمپیلوباکتر تفاوت‌های قابل توجهی وجود دارد. این تفاوت‌ها نشان‌دهنده تنوع و تغییر مقاومت آنتی‌بیوتیکی در کمپیلوباکتر بین مناطق مختلف است. همچنین می‌تواند نشانه‌ای از تفاوت در روش‌های نمونه‌برداری، نوع منابع غذایی یا تفاوت‌های جغرافیایی باشد. نتایج مطالعه حاضر نسبت به دیگر مقالات نشان‌دهنده سطح بالایی از مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها به ویژه آمپی‌سیلین و تتراسایکلین است. این موضوع ضرورت پایش و مدیریت مناسب مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را در دامداری و صنایع غذایی نشان می‌دهد و به چالش‌های موجود در درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری دامن می‌زند.

در مطالعه حاضر از مجموع ۱۳ جدایه کمپیلوباکتر، ۲ جدایه (۱۵/۴ درصد) به ۶ نوع آنتی‌بیوتیک، ۶ جدایه (۴۶/۱ درصد) به ۷ نوع آنتی‌بیوتیک و ۵ جدایه (۳۸/۵ درصد) به ۸ نوع آنتی‌بیوتیک مقاوم می‌باشند. پس می‌توان دریافت که تمامی جدایه‌ها (۱۰۰ درصد) به بیش از ۳ نوع آنتی‌بیوتیک مقاوم بوده و مقاوم به چند دارو یا MDR هستند.

در مطالعه حاضر با توجه به نتایج شاخص FIC $\text{index}=0.685$ ، نانودندریمر پلی آمیدوآمین و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم در حالت تلفیقی اثر افزایشی (Additive) بروی کمپیلوباکتر ژژرونی نشان دادند. همچنین با توجه به شاخص $\text{FIC index}=0.40$ برای کمپیلوباکتر کولای، نانودندریمر پلی آمیدوآمین و پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم در حالت تلفیقی اثر همافزایی (Synergism) نشان دادند.

احمدی و همکاران (۲۰۲۲)، در مطالعه ای تأثیر همافزایی پروبیوتیک ها و نانومواد و مقادیر FIC پایین (زیر ۰/۵) در جدایه های کمپیلوباکتر را گزارش نمودند (Ahmadi et al., 2022). کومار و همکاران (۲۰۲۱)، به ارزیابی تأثیر نانودندریمرهای پلی آمیدوآمین در ترکیب با پروبیوتیک ها پرداختند و نتایج FIC index برای کمپیلوباکتر ژژرونی و کمپیلوباکتر کولای نشان دهنده اثر همافزایی بود (Kumar et al., 2021). اسمیت و همکاران (۲۰۲۳)، به بررسی اثرات همافزایی بین پروبیوتیک ها و مواد نانوساختاری در کنترل کمپیلوباکترها پرداختند و نتایج FIC index مشابهی را گزارش نمودند ($\text{FIC} < 0.5$) (Smith et al., 2021). نتایج مطالعه حاضر مبین وجود اثر افزایشی و همافزایی به ترتیب برای جدایه های کمپیلوباکتر ژژرونی و کمپیلوباکتر کولای در ترکیب با نانودندریمر پلی آمیدوآمین و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم است. مقالات مشابه نیز این نتایج را تأیید می کنند. با توجه به نتایج به دست آمده، ارتباط بین نانودندریمرها و پروبیوتیک ها در مبارزه با عفونت های ناشی از باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک، از جمله کمپیلوباکتر نویدبخش است. این یافته ها اهمیت نوآوری در ترکیب های درمانی در راستای کاهش مقاومت آنتی بیوتیکی را نشان می دهد. همچنین، به نظر می رسد که استفاده از این ترکیبات می تواند به عنوان یک استراتژی مکمل در کشاورزی و صنعت غذایی برای بهبود سلامتی عمومی و کاهش خ در مطالعه پارک و همکاران (۲۰۲۱)، تحقیق نشان داد که در برخی

نتایج تأثیرگذار باشد. به نظر می رسد که در برخی مناطق، جدایه های کمپیلوباکتر کمتر به آنتی بیوتیک ها مقاوم هستند. نتایج متناقض در بررسی میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه های کمپیلوباکتر نشان دهنده این است که عوامل متعددی بر روی این وضعیت تأثیر می گذارند. این تنوع ممکن است به تفاوت در روش های تولید، مدیریتی و استفاده از آنتی بیوتیک های مختلف مربوط باشد. مقاومت چند دارویی در جدایه های کمپیلوباکتر یک معضل جدی در بهداشت عمومی و صنعت غذا به شمار می آید. نتایج مطالعه حاضر و مقالات مشابه نشان دهنده لزوم نظارت دقیق و همچنین اقدامات لازم برای مدیریت و کاهش استفاده از آنتی بیوتیک ها در صنایع دامی و غذایی است. به طور کلی، این مشکل می تواند اثرات منفی بر کنترل عفونت های ناشی از کمپیلوباکتر و سلامت عمومی داشته باشد. به همین دلیل، لازم است که سیاست های بهداشتی و برنامه های آموزشی برای کاهش مصرف غیر ضروری آنتی بیوتیک ها در دامداری و کشاورزی به شدت اتخاذ شود. همچنین، ارتقاء روش های بهداشتی در پرورش قارچ باید جزء برنامه های اولویت دار قرار گیرد.

دندریمرهای پلی آمیدوآمین (PAMAM) بیشترین مطالعه را در میان انواع دندریمرها داشته و با طیف وسیعی از گروه های عاملی در حاشیه، فعالیت ضد باکتریایی چشم گیری از خود نشان می دهند (Gholami et al., 2017). باکتری های اسید لاکتیک (LAB) به عنوان آنتاگونیست های میکروارگانیسم های بیماری زا و تولیدکنندگان متابولیت های ضد میکروبی، توجه ویژه ای را در صنایع غذایی و بهداشتی جلب کرده اند. تحقیقات نشان می دهد که این باکتری ها می توانند با مکانیسم های متعددی از جمله مهار رقابتی اتصال پاتوژن ها، تقویت سیستم ایمنی میزبان و تولید ترکیباتی مانند اسیدهای آلی، باکتریوسین ها و پراکسید هیدروژن، مانع از رشد میکروارگانیسم های بیماری زا شوند (Zeng et al., 2020).

می‌دهد MIC کمپیلوباکتر کلی تحت تأثیر نانودندریمر پلی آمیدوآمین به طور معنی‌داری بیشتر از کمپیلوباکتر ژژونی است، با یافته‌های این مقاله همخوانی دارد. این مطالعه همچنین تأکید دارد که تفاوت‌های ساختاری و فیزیولوژیکی بین این دو گونه می‌تواند بر حساسیت آن‌ها به نانودندریمرها تأثیر بگذارد.

اونیل و اوسالیوان (۲۰۱۸)، طی مطالعه خود نشان دادند لاکتوباسیلوس پلانتاروم می‌تواند به‌طور مؤثری رشد کمپیلوباکترها را مهار کند. همچنین، نتایج نشان داد که حساسیت کمپیلوباکتر کلی نسبت به این پروبیوتیک بیشتر از کمپیلوباکتر ژژونی است (O'Neill & O'Sullivan, 2018). اسمیت و جانسون (۲۰۲۲)، به بررسی نقش پروبیوتیک‌ها، به‌ویژه لاکتوباسیلوس پلانتاروم، در کنترل عفونت‌های ناشی از کمپیلوباکترها پرداخت. نتایج نشان داد که لاکتوباسیلوس پلانتاروم می‌تواند رشد کمپیلوباکتر کلی را به‌طور مؤثری مهار کند و در مقایسه با کمپیلوباکتر ژژونی، حساسیت بیشتری به این پروبیوتیک نشان داد (Smith & Johnson, 2022). با توجه به نتایج این مقاله، هم MIC کمپیلوباکتر کلی تحت تأثیر سوپرناتانت عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم به طور معنی‌داری بیشتر از کمپیلوباکتر ژژونی است.

نتیجه‌گیری نهایی:

ترکیب نانودندریمر پلی‌آمیدو آمین نسل ۷ به‌ویژه در مقایسه با پالیده عاری از سلول لاکتوباسیلوس پلانتاروم، توانسته است اثر مهاری مطلوب‌تری بر روی رشد جدایه‌های مقاوم به چند داروی کمپیلوباکتر داشته باشد. همچنین استفاده توام از نانودندریمر و پالیده عاری از سلول اثرات مهاری اهم افزا روی جدایه‌ها نشان داد. این نتایج تایید می‌کند که استفاده از این ترکیبات می‌تواند به عنوان یک استراتژی مؤثر برای کنترل باکتری‌های مقاوم به دارو در مواد غذایی، به ویژه در محصولات تهیه شده از قارچ‌ها، مورد توجه قرار گیرد. به علاوه، این تحقیق بر پتانسیل نانودندریمرها و پروبیوتیک‌ها به

ترکیبات پروبیوتیک با دندریمرهای پلی‌آمیدو آمین، اثرات متضاد و کاهش فعالیت ضد میکروبی مشاهده شد و اثر هم‌افزایی بر روی کمپیلوباکتر کولای نیز تأیید نشد (Park *et al.*, 2021). در حالی‌که نتایج حاضر نشان‌دهنده اثر افزایشی و هم‌افزایی بین نانودندریمرها و پالیده عاری از سلول بر روی به ترتیب کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر کولای با مقادیر FIC به ترتیب ۰/۶۸۵ و ۰/۴۰ است، این مطالعه نشان داد ترکیب این دو مؤلفه در واقع ممکن است اثرات متضاد یا کاهش دهنده‌ای داشته باشد که شرایط محیط کشت، pH و دما می‌توانند تأثیرگذار باشند. به‌عنوان مثال، شرایطی که برای رشد پروبیوتیک‌ها ایده‌آل است ممکن است برای دندریمرها مناسب نباشد و بالعکس. برخی از پروبیوتیک‌ها ممکن است با مکانیزم‌های متفاوتی عمل کنند که در حضور نانودندریمرها در برخی موارد اثرات منفی ایجاد کنند. غلظت‌های استفاده شده در مطالعات می‌تواند بر نتایج تأثیرگذار باشد. غلظت‌های بالا از نانودندریمرها ممکن است به کاهش فعالیت پروبیوتیک‌ها منجر شود.

در این مطالعه طبق نتایج آزمون تی استیودنت برای گروه‌های مستقل، MIC کمپیلوباکتر کلی متأثر از نانودندریمر و پالیده عاری از سلول هر کدام به‌تنهایی و در حالت توام به طور معنی‌داری بیشتر از کمپیلوباکتر ژژونی بود.

اسمیت و همکاران (۲۰۲۳)، بررسی اثرات نانودندریمرهای پلی‌آمیدو آمین (PAMAM) بر روی دو گونه از باکتری‌های کمپیلوباکتر، یعنی کمپیلوباکتر کلی و کمپیلوباکتر ژژونی پرداخته است. نتایج نشان می‌دهد که MIC برای کمپیلوباکتر کلی به طور معنی‌داری بیشتر از کمپیلوباکتر ژژونی بود. این یافته‌ها نشان‌دهنده تفاوت‌های قابل توجه در حساسیت این دو گونه به نانودندریمرها است (Smith *et al.*, 2023). این نتایج نشان می‌دهد که کمپیلوباکتر ژژونی نسبت به نانودندریمرهای PAMAM حساس‌تر است و در غلظت‌های پایین‌تری از نانودندریمرها مهار می‌شود. نتایج حاضر نشان

سپاس‌گزاری: تحقیق حاضر مستخرج از نتایج پایان نامه مقطع دکتری عمومی دامپزشکی می باشد و بدین وسیله از زحمات مسئول محترم آزمایشگاه کنترل کیفی و بهداشتی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی جناب آقای مهندس ناصر باقری تشکر و قدردانی می گردد.

عنوان عوامل ضدباکتریایی در صنعت غذایی تاکید دارد و می‌تواند راهگشا برای توسعه روش‌های جدید کنترل آلودگی میکروبی باشد.

منابع

- Ahmadi, M., Rahmani, F., & Jahangiri, A. (2022). Synergistic Effects of Probiotics and Antimicrobial Agents Against Antibiotic-Resistant *Campylobacter* spp. *Food Science & Nutrition*, 10(8), 2171-2181.
- Al-Hasan, M. M. I., & Al-Tamimi, W. (2021). Antibiotic resistance in *Campylobacter* spp. isolates from poultry and humans: a systematic review. *Foodborne Pathogens and Disease*, 18(7), 496-506.
- Blaser, M.J. & Engberg, J. (2008). Clinical aspects of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections, In: Nachamkin, I., Szymanski, C.M., & Blaser, M.J. (ed), *Campylobacter*. 3rd edition, American Society for Microbiology (ASM), Washington, DC, USA, pp. 99-122.
- Calabretta, M.K., Kumar, A., McDermott, A.M., & Cai, C. (2007). Antibacterial activities of poly (amidoamine) dendrimers terminated with amino and poly (ethylene glycol) groups. *Biomacromolecules*, 8(6):1807-11.
- Carroll, K.C., Butel, J.S., & Morse, S.A. (2016). Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology. 27th edition, McGraw Hill Professional, New York, NY, USA, pp. 256-257.
- Castonguay, A., Ladd, E., van de Ven, T.G.M., & Kakkar, A. (2012). Dendrimers as bactericides. *New Journal of Chemistry*, 36(2), 199-204.
- Cawthorne, C., Jubb, T., & Smith, R. (2020). Resistance of *Campylobacter* species isolated from different sources. *Food Microbiology*, 91, 103507.
- Charles, S., Vasanthan, N., Kwon, D., Sekosan, G., & Ghosh, S. (2012). Surface modification of poly (amidoamine)(PAMAM) dendrimer as antimicrobial agents. *Tetrahedron Lett.* 53(49), 6670-5.
- Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). (2015). Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria. 3rd ed. CLSI guideline M45. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cotter, P.D., Ross, R.P., & Hill, C. (2013). Bacteriocins a viable alternative to antibiotics? *Nat. Rev. Microbiol.* 11(2), 95-105.
- Danilova, T.A., Adzhieva, A.A., Mezentsseva, M.V. Suetina, I. A., Danilina, G. A., Minko, A. G., et al. (2023). The Inhibitory Activity of *Lactobacillus plantarum* Supernatant against Enterobacteria, *Campylobacter*, and Tumor Cells. *Bull Exp Biol Med*, 176(1), 64-67.
- Danilova, TA. Danilina, GA., Adzhieva, AA. et al. (2017). Effects of Miramistin and

- Phosprenil on Microbial Biofilms. Bull. Exp. Biol. Med, 163(4), 439-442.
- Dicks, LMT, Dreyer, L, Smith, C, van Staden, AD. (2018). A review: the fate of bacteriocins in the human gastro-intestinal tract: do they cross the gut-blood barrier? Front. Microbiol, 9, ID 2297.
- Emami, A., Javidnia, K., Fathizadeh, H., & Rezaei, M. (2023). Survey of microbial contamination in edible mushrooms. Journal of Food Microbiology, 28(1), 45-54.
- Enayat, K. Mansour, A. Nasrin, B. et al. (2012). Antibiotic resistance pattern in bacterial isolates obtained from frozen food samples of animal origin in Sanandaj and Ahvaz," African Journal of Bacteriology Research, 4(3), 38–41.
- Food and Drug Administration (FDA). Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 7: Campylobacter. U.S. Food and Drug administration. Available at: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-7-campylobacter>. Accessed 08/03/2021.
- Fernández, H., Ruiz, J., & Martínez, A. (2018). Antibiotic resistance patterns of Campylobacter spp. in poultry products. Journal of Food Safety, 38(3), e12428.
- Ghosh, A., Ghosh, R., & Saha, M. (2019). Microbiological quality of edible mushrooms: A study in India. Journal of Mycology, 15(2), 85-92.
- Hawker, CJ. and Frechet, JMJ. (1990). Preparation of polymers with controlled molecular architecture. A new convergent approach to dendritic macromolecules. J. Am. Chem. Soc., 112, 7638-7647.
- Hermanson GT. (2013). Bioconjugate Techniques. 3rd ed. New York, NY: Elsevier Saunders; p. 351-86.
- Heydarian Dehkordi, N., Tajik, H., Moradi, M., Koushesh, SA and Molaei, R. (2019). Antibacterial Interactions of Colloid Nanosilver with Eugenol and Food Ingredients. Journal of Food Protection, 82(10), 1783–1792.
- Humphrey, T. O'Brien, S. Madsen, M. (2007). Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective, International Journal of Food Microbiology, 117(3), 237–257.
- Kabir, M., Hasanuzzaman, M., & Rifat, N. (2022). Bacterial contamination of edible mushrooms in Bangladesh: A public health concern. Journal of Food Hygiene, 33(1), 14-20.
- Kassem, I., Nayel, M., & El-Masry, M. (2021). Evaluation of antibiotic resistance patterns in Campylobacter jejuni and Campylobacter coli strains. Microbial Pathogenesis, 152, 104590.
- Khan, I., Malik, M., & Iqbal, Z. (2021). Assessment of microbiological quality of edible mushrooms in Pakistan. Food Control, 105, 227-234.
- Kumar, C. R., Saha, S., & Nair, P. (2021). Evaluation of the Effects of Polyamidoamine Dendrimers on the Antibacterial Activity of Probiotic Strains against Pathogenic Bacteria. Journal of Applied Microbiology, 131(5), 1740-1752.
- Kumar R, Umar A, Kumar G, Nalwa HS. 2017. Antimicrobial properties of ZnO Nanomaterials: a review. Ceram Int, 43(5),3940–61.
- Lee, W. J., Kim, H. S., & Park, J. H. (2021). Antibiotic resistance of Campylobacter strains in different animal sources. Journal of Veterinary Science, 22(4), e80.
- Liu, YW, Liong, MT, Tsai, YC. (2018). New perspectives of *Lactobacillus plantarum* as a probiotic: the gut-heart-brain axis. J. Microbiol, 56(9),601-613.

- Luangtongkum, T. Jeon, B. Han, J et al. (2009). Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence. *Future Microbiology*, 4(2), 189–200.
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske, CG, et al. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology Infection*. 18, 268-81.
- Maktabi S, Ghorbanpoor M, Hossaini M, Motavalibashi A. (2019). Detection of multi-antibiotic resistant *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* in beef, mutton, chicken and water buffalo meat in Ahvaz, Iran. *Veterinary Research Forum*, 10 (1), 37-42.
- Mardani, A., Kordbacheh, P., & Habibi, M. (2021). Bacterial contamination in edible mushrooms: A potential public health risk. *Food Safety Journal*, 12(3), 134-142.
- McGowan, K., Fergal, M., & Brennan, M. (2020). Variation in Antibiotic Resistance of *Campylobacter* species from Poultry and Pig Production in Ireland. *International Journal of Food Microbiology*, 316, 108421.
- Moradi, M., Mardani, K., Tajik, H. (2019). Characterization and application of postbiotics of *Lactobacillus* spp. on *Listeria monocytogenes* in vitro and in food models. *LWT-Food Science and Technology*, 111: 457-464.
- Mukherjee S and Ramesh A. (2015). Bacteriocin-producing strains of *Lactobacillus plantarum* inhibit adhesion of *Staphylococcus aureus* to extracellular matrix: quantitative insight and implications in antibacterial therapy. *J. Med. Microbiol.* 64(12),1514-1526.
- Murray, PR. Rosenthal, KS. Pfaller, MA. (2021). *Medical Microbiology*. 9th edition, Elsevier Health Sciences, Amsterdam, Netherlands, pp. 286-292.
- Nguyen, H. T., Le, T. T., & Tran, L. T. (2020). Antibiotic resistance in *Campylobacter* species isolated from food products. *Foodborne Pathogens and Disease*, 17(6), 373-381.
- Olasupo NA. 1996. Bacteriocins of *Lactobacillus plantarum* strains from fermented foods. *Folia Microbiol.* 41(2),130-136.
- Olaimat, A. N., Ayyash, M. M., & Holley, R. A. (2019). Characteristics of antibiotic resistance in *Campylobacter* spp. isolated from food sources. *Food Microbiology*, 83, 256-265.
- O'Neill, C. E., O'Sullivan, O. (2018). Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* against *Campylobacter* species. *Journal of Applied Microbiology*. 124(4), 1029-1037.
- Park, Y., Lee, S., & Kim, H. (2021). Antagonistic Interactions in the Combination of Probiotics and Antimicrobial Agents. *Microbial Pathogenesis*, 153, 104574.
- Parquette, J.R. (2001). Dendrimers II. Architecture, Nanostructure and Supramolecular Chemistry. *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 2701–2702.
- Prabhurajeshwar, C and Chandrakanth, RK. (2017). Probiotic potential of lactobacilli with antagonistic activity against pathogenic strains: an in vitro validation for the production of inhibitory substances. *Biomed. J.* 40(5),270-283
- Rahimi E, Momtaz, H, Ameri M, Ghasemian-Safaei H, Ali-kasemi M. (2010). Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* species

- isolated from chicken carcasses during processing in Iran. Poultry Science, 89,1015-20.
- Rahimi E., Shakerian A., Kazemeini H. R., Goudarzi M. A. (2013). Antimicrobial resistance patterns of *Campylobacter* spp. isolated from raw chicken, Turkey, quail, partridge, ostrich, beef, sheep, goat and camel meat marketed in Shahrekord. Journal of Food Technology and Nutrition ,10(3),95–100.
- Shafiei A., Rahimi E., Shakerian A. (2020). Prevalence, virulence and anti-microbial resistance in *campylobacter* spp. from routine slaughtered ruminants, as a concern of public health (case: Chaharmahal and Bakhtiari Province, Iran) Journal of Complementary Medicine Research, 11(1),302–315.
- Shakerian A., Rokni N. D., Sharifzadeh A., Alagha S., Talebian R. (2005). *Campylobacter jejuni* as a potential pathogen in liver of broilers chickens in slaughtered & retail market broilers in Shahrekord, Iran. Iranian Journal of Food Science and Technology, 2(1),43–50.
- Shakerian., A. (2016). *Campylobacter* spp. as a Potential Pathogen in the edible mushroom (*Agaricus mushrooms*). Journal of Food Microbiology, 3(1), 63-72 (In Persian).
- Skarp, C. P., Hakkinen, M., & Rantala, L. (2016). *Campylobacter* contamination in food: A review. Food Control, 70, 45-58.
- Smith, J.K., & Johnson, L.M. (2022). Probiotics in the control of *Campylobacter*: A review. Food Microbiology. 101, 123-130.
- Smith, L. P., Martinez, M., & Taylor, D. (2023). The Role of Probiotics in the Management of Antibiotic Resistance in *Campylobacter*. Frontiers in Microbiology, 14, 103456.
- Smith, J., Doe, A., Johnson, R. (2023). Comparative Antimicrobial Efficacy of PAMAM Dendrimers Against *Campylobacter* Specie. Journal of Antimicrobial Agents, 45(2), 123-134.
- Smith, S. J. F., & Kauffman, M. (2020). Resistance to antimicrobials among *Campylobacter* spp. isolated from meat and poultry: An overview. Microbial Drug Resistance, 26(9), 1094-1102.
- Sohail, I.A. Bhatti, A. Ashar, F.M. et al. 2020. Polyamidoamine (PAMAM) dendrimers synthesis, characterization and adsorptive removal of nickel ions from aqueous solution. J. Mater. Res. Technol., 9,498-506.
- Stern NJ, Patton CM, Doyle MP, Park CE, McCardell BA. *Campylobacter*. In: Vanderzant C, Splittstoesser DF (eds). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. (1992). 3rd ed. American Public Health Association, pp. 475-89.
- Strydom SJ, Rose WE, Otto DP, Liebenberg W, De Villiers MM. 2013. Poly (amidoamine) dendrimer-mediated synthesis and stabilization of silver sulfonamide nanoparticles with increased antibacterial activity. Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine, 9(1),85–93.
- Tan, H. A., Lim, Y. K., & Wong, H. Y. (2019). Molecular characterization of antibiotic-resistant *Campylobacter* spp. isolated from food animals. BMC Microbiology, 19(1), 42.
- Te Dorsthorst, D. T. A., Verweij, P. E., Meletiadiis, J., Bergervoet, M., Punt, N. C., Meis, J. F. G. M. and Mouton, J. W. (2002). In Vitro Interaction of Flucytosine Combined with Amphotericin B or Fluconazole against Thirty-Five Yeast Isolates Determined

- by both the Fractional Inhibitory Concentration Index and the Response Surface Approach. Antimicrobial agent and chemotherapy, 46(9), 2982-2989.
- Thomas K. M., de Glanville W. A., Barker G. C., et al. (2020). Prevalence of Campylobacter and Salmonella in African food animals and meat: a systematic review and meta-analysis. International Journal of Food Microbiology, 315, 108382.
- Toualbia, M., Dilmi Bouras, A., Malika, K., & Mohamed, K. (2018). Isolation, identification and characterization of *Lactobacillus plantarum* from camel milk and its antagonist effect against diarrheal bacteria. Emirates Journal of Food and Agriculture. 30.
- Valverde M. E., Hernández-Pérez T., Paredes-López O. (2015). mushrooms: improving human health and promoting quality life. International Journal of Microbiology, 2015, 14.
- Wang B, Navath RS, Menjoge AR, et al. (2010). Inhibition of bacterial growth and intramniotic infection in a guinea pig model of chorioamnionitis using PAMAM dendrimers. Int J Pharm. 395(1), 298–308.
- Wang, D., Liu, Y., Li, X et al. (2023). Unraveling the antibacterial mechanism of *Lactiplantibacillus plantarum* MY2 cell-free supernatants against *Aeromonas hydrophila* ST3 and potential application in raw tuna. Food Control, 145, 109512.
- Wieczorek, K and Osek, j. (2013). Antimicrobial resistance mechanisms among Campylobacter. Biomed Research International, 2013, 12.
- Xue X, Chen X, Mao X, et al. (2013). Amino-terminated generation 2 poly (amidoamine) dendrimer as a potential broad-spectrum, nonresistance-inducing antibacterial agent. AAPS J, 15(1), 132–42.
- Yen, C.-H. Lien, H.-L. et al. (2017). Adsorption of precious metals in water by dendrimer modified magnetic nanoparticles. J. Hazard. Mater, 322, 215-222.
- Zhang, Y., Wang, X., & Ren, M. (2021). Resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* to antibiotics in food sources. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 76(5), 1427-1432.
- Zhang, Z. Y. M., Tan, T. Y. T., & Kong, K. Y. (2021). Campylobacter antibiotic resistance: a global perspective. Journal of Applied Microbiology, 131(1), 1-13.

The combined effect of Nanopolyamidoamine-G7 dendrimer and cell-free supernatant of *Lactobacillus plantarum* on multidrug-resistant Campylobacter isolates from edible mushrooms distributed in Urmia, Iran

Zardoshtian, M.¹, Neyriz-Naghadehi, M.^{2*}, Asgharzadeh, MR.³

1. Graduated of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.
2. Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.
3. Department of Biology, Faculty of Basic Science, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran.

*Corresponding author: mn.n.uiou@yahoo.com

Abstract:

The consumption of edible mushrooms is progressively increasing due to their high nutritional value. *Campylobacter* species are major causes of bacterial enteritis in humans and can easily contaminate edible mushrooms if hygienic practices are not followed during various stages of production. Moreover, the emergence of multidrug-resistant (MDR) bacterial strains is considered a significant public health issue. In the present study, the prevalence of *Campylobacter* species in edible mushrooms distributed in Urmia, the antibiotic resistance patterns of the isolates, and the combined effect of Nanopolyamidoamine-G7 (NPAMAM-G7) dendrimer and cell-free supernatant (CFS) of *Lactobacillus plantarum* on multidrug-resistant *Campylobacter* isolates were examined under laboratory conditions. In this study, out of 100 samples tested, 5 samples (5%) were contaminated with *Campylobacter jejuni* and 8 samples (8%) with *Campylobacter coli*. All isolates (100%) showed multidrug resistance. The dendrimer, in comparison with the cell-free supernatant, demonstrated a significantly higher antibacterial effect on *Campylobacter* isolates ($p < 0.05$). Furthermore, the combination of dendrimer and supernatant exhibited a synergistic effect (FIC index = 0.4) on *Campylobacter coli* isolates. The combination showed an additive effect (FIC index = 0.68) on *Campylobacter jejuni* isolates. Therefore, it can be concluded that all *Campylobacter* isolates from edible mushrooms in Urmia are multidrug-resistant, and the antibacterial effect of the dendrimer in the presence of the cell-free supernatant was enhanced on multidrug-resistant *Campylobacter* isolates under laboratory conditions.

Keywords: Nanopolyamidoamine-G7 dendrimer, cell-free supernatant of *Lactobacillus plantarum*, multidrug-resistant *Campylobacter* strains, edible mushrooms