



بررسی فراوانی ژن های اینتگرون کلاس ۱، ۲ و ۳ در ایزوله های اشریشیا کلی یوروپاتوژن جدا شده از بیماران دیابتی در شهرستان شهرکرد

نگین دلی سرراکی^۱، فاطمه خداوردی پور^۲، نازیلا ارباب سلیمانی^{۳*}

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۲. مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۳. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>تاریخچه مقاله: دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۱۶ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۲۲ چاپ: تابستان ۱۴۰۳</p> <p>DOI:</p> <p>کلمات کلیدی: دیابت، اینتگرون، عفونت ادراری، اشریشیا کلی یوروپاتوژن.</p> <p>*نویسنده مسئول: nazilaarbab@yahoo.co.uk</p>	<p>سویه های اشریشیا کلی یوروپاتوژن شایع ترین سویه های بیماری زا در انسان می باشند. مهم ترین خصوصیت سویه های اشریشیا کلی یوروپاتوژن، توانایی کلونیزه شدن آن ها در سطح سلول های یورواپیتلیوم میزبان می باشد. مطالعه حاضر بر روی ۳۰۰ نمونه ادرار بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ مشکوک به عفونت ادراری، مراجعه کننده به آزمایشگاه های تشخیص طبی شهرستان شهرکرد در سال ۱۳۹۴ صورت گرفت. ۵ تا ۱۰ سی سی نمونه ادرار بیماران دیابتی در ظروف استریل جمع آوری و با استفاده از لوپ کالیبره، ۰/۰۱ میلی لیتر از نمونه ادرار سانتی فوژ نشده در شرایط استریل بر روی محیط مک کانکی آگار کشت داده شد. در این تحقیق پس از انجام آزمون PCR به منظور تشخیص قطعی باکتری اشریشیا کلی، حضور توالی ژن <i>16srRNA</i> تمامی نمونه ها مورد بررسی قرار گرفتند و در حضور پرایمرهای اختصاصی به فراوانی ژن های اینتگرون کلاس ۱، ۲ و ۳ پرداخته شد. از ۳۰۰ بیمار دیابتی مورد بررسی در ۱۰۰ نمونه عفونت ادراری تشخیص داده شد که در ۵۱ نمونه (۵۱ درصد) آلودگی به اشریشیا کلی گزارش شد. از ۵۱ ایزوله اشریشیا کلی مورد بررسی اینتگرون کلاس ۱ در ۳۰ ایزوله (۵۸/۸۲ درصد)، اینتگرون کلاس ۲ در ۲۰ ایزوله (۳۹/۲۱ درصد) و اینتگرون کلاس ۳ در ۵ ایزوله (۹/۸۰ درصد) گزارش گردید. بیشترین مقاومت به آمپی سیلین (۶۶/۶۶ درصد) و کمترین مقاومت به نیتروفوران توئین (۱/۹۶ درصد) گزارش شده است. در تجزیه و تحلیل آماری بین مقاومت به جنتامایسین، امی پنم و نیتروفوران توئین با اینتگرون کلاس ۱ ارتباط آماری معنی داری مشاهده گردید ($p\text{-value} < 0.05$).</p>

مقدمه

این مقدمه است. دیابت^۱ یا بیماری قند خون^۱ یک اختلال متابولیک در بدن است. در این بیماری توانایی تولید انسولین در بدن از بین می‌رود و یا بدن در برابر انسولین مقاوم شده و بنابراین انسولین تولیدی نمی‌تواند عملکرد طبیعی خود را انجام دهد(۱،۲). دیابت از جمله شایع‌ترین و مهم‌ترین بیماری‌های موجود در جهان می‌باشد و مبتلایان خود را در معرض خطر بالایی از نظر ابتلا به عفونت قرار می‌دهد(۸-۳). در این میان دستگاه ادراری شایع‌ترین محل بروز عفونت در بین مبتلایان به دیابت می‌باشد. دیابت به دلیل ایجاد چندین ناهنجاری در سیستم دفاعی، سبب مستعد شدن فرد به عفونت دستگاه ادراری می‌گردد(۹-۱۱). صدمات وارد شده در اعمال مختلف گلبول‌های سفید از جمله مهاجرت، فاگوسیتوز و کموتاکسی از جمله این ناهنجاری‌ها می‌باشند. علاوه بر این، نوروپاتی دیابتی نیز به علت نقص در تخلیه کامل مثانه، سبب ایجاد عفونت دستگاه ادراری می‌شود. غلظت‌های بالاتر قند در ادرار ممکن است نقش مهمی در افزایش بروز عفونت دستگاه ادراری در بیماران دیابتی بازی کند(۱۱، ۱۲). خطر مرگ و میر زودرس، بیماری‌های قلبی، کلیوی، عصبی و نابینایی در افراد دیابتی دو برابر افراد غیردیابتی است(۱۳). بنابراین نیاز به شناخت موثر و سریع عفونت ادراری و درمان آن با آنتی‌بیوتیک‌هایی که میکروارگانیسم‌های ایجاد کننده عفونت

دستگاه ادراری کم‌ترین درجه مقاومت را به آن نشان می‌دهند، به شدت احساس می‌شود. سویه‌های اشریشیاکلی یوروپاتوژن شایع‌ترین سویه‌های بیماری‌زا در انسان می‌باشند. مهم‌ترین خصوصیت سویه‌های اشریشیاکلی یوروپاتوژن توانایی کلونیزه شدن آن‌ها در سطح سلول‌های یورواپیتلیوم میزبان می‌باشد(۱۴، ۱۵). اینتگرون‌های کلاس ۱ اولین بار توسط استوکس^۳ و هال^۴ در سال ۱۹۸۹ کشف شدند و بیش از ۴۰ ژن مقاومتی در ارتباط با مقاومت به آمینوگلیکوزیدها بتالاکتام‌ها، کلرامفنیکل، ماکرولیدها، سولفانامیدها، ضد عفونی کننده‌ها و دزائفکتان‌ها را حمل می‌نمایند(۱۶، ۱۷). متعاقب اینتگرون‌های کلاس ۱، اینتگرون‌های کلاس ۲ شیوع بالایی را در ایزوله‌های بالینی در باکتری‌های گرم منفی نشان می‌دهند(۱۸). کاست‌های ژنی موجود در این دسته از کلاس‌ها عمدتاً در ارتباط با مقاومت‌های مختلف مثل: استرپتومایسین، اسپکتینومایسین و تری‌متوپریم می‌باشند. ژن اینتگراز در اینتگرون‌های کلاس ۲ در حدود ۴۶ درصد مشابه ژن اینتگراز در اینتگرون‌های کلاس ۱ می‌باشد(۱۹). اینتگرون‌های کلاس ۳ برای اولین بار توسط آرکاوا^۵ و همکارانش در سال ۱۹۹۶ در ژاپن شناسایی گردید. این دسته از اینتگرون‌ها به ندرت در نمونه‌های بالینی وجود دارند ولی اخیراً در نمونه‌های کلینیکی نظیر: سودوموناس آئروژینوزا، سراسیا مارسنس، سودوموناس پوتیدا و کلبسیلا پنومونیه در

⁴- Hall

⁵- Arakawa

¹- Diabetes

²- Diabetes Mellitus

³- Stokes

ژاپن، پرتغال و کانادا یافت شده است (۲۰). مطالعات نشان می‌دهد صرف نظر از الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، ژن‌های مقاوم آنتی‌بیوتیکی می‌توانند در بین جمعیت‌های باکتریایی منتقل شوند. ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی معمولاً در عناصر ژنتیکی به نام اینتگرون‌ها وجود دارند (۴). انتقال افقی اینتگرون‌ها موفق‌ترین راه انتشار ژن‌های مقاومت و پیدایش گونه‌های با مقاومت چندگانه^۶ MDR است. غالب گونه‌های جدا شده از بیماران و محیط بیمارستان با ویژگی MDR متعلق به کلاس ۱ هستند که بر روی پلاسمید یا ترانسپوزون قرار دارند (۲).

مواد و روش کار

تحقیق حاضر بر روی ۳۰۰ نمونه ادرار بیماران دیابتی مشکوک به عفونت ادراری مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شهرستان شهرکرد صورت گرفت. نمونه ادرار توسط بیمار در ظروف استریل جمع‌آوری و بلافاصله پس از نمونه گیری، جهت انجام کشت و آزمون‌های بیوشیمیایی و تشخیص نوع باکتری مورد بررسی قرار گرفتند. جهت کشت با استفاده از لوپ کالیبره، ۰/۰۱ میلی لیتر از نمونه ادرار سانتریفوژ نشده در شرایط استریل بر روی محیط مک کانکی آگار کشت داده شدند. پس از مشخص شدن نمونه‌های UTI مثبت، تعیین هویت باکتری توسط آزمون‌های بیوشیمیایی و PCR صورت پذیرفت (۲۱، ۲۲). برای تعیین حساسیت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها از روش کربی-بایر^۷ بر

طبق دستورالعمل CLSI (مندرج در راهنمای ارایه شده توسط شرکت پادتن طب) استفاده شد. در این تحقیق از سوبه استاندارد اشریشیاکلی ATCC 25922 به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک در این آزمایش شامل: کوتریموکسازول (تری‌متوپریم+سولفامتوکسازول) (SXT)، آمیکاسین (AM30)، سفتریاکسون (CRO30)، نیتروفورانئوتین (FM300)، سفالوتین (CF30)، نالیدیکسیک اسید (NA30)، نورفلوکساسین (NOR)، تتراسایکلین (TE30)، ایمی‌پنم (IPM10)، جنتامایسین (GM10) از شرکت پادتن طب-ایران مورد استفاده قرار گرفتند. جهت ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده از نمونه‌های مورد مطالعه از روش الکتروفورز روی ژل آگارز استفاده شد. بدین منظور ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده بر روی ژل ۱/۵ درصد آگارز الکتروفورز گردید. به منظور کمیت سنجی DNA تخلیص شده از دستگاه بیوفوتومتر استفاده شد و با اندازه گیری میزان DNA در نمونه در طول موج نوری ۲۸۰ نانومتر میزان DNA موجود در نمونه تعیین گردید. DNA های دارای کیفیت مناسب و کمیتی معادل ۵۰ نانوگرم، جهت مراحل بعدی و انجام آزمایش PCR انتخاب گردیدند.

بعد از استخراج DNA از زوج پرایمرهای مربوط به ردیابی ژن *16srRNA* به تایید ایزوله‌ها پرداخته شد و در نهایت در حضور پرایمرهای اختصاصی به بررسی فراوانی ژن

⁷- Kirby Bauer

⁶- multi-drug resistant

های اینتگرون کلاس ۱، ۲ و ۳ پرداخته شد. توالی پرایمرها در جدول (۱) نشان داده شده است (۲۳).

جدول ۳- نتایج مربوط به ردیابی ژن های اینتگرون در ایزوله های اشریشیا کلی

اندازه	توالی پرایمر (۳-۵)	ژن
محصول (bp)		
۱۳۰	F: ATT TGA AGA GGT TGC AAA CGA T R: TTC ACT CTG AAG TTT TCT TGT TT C	<i>16srRNA</i>
۴۳۶	F: GGT CAA GGA TCT GGA TTT CG R: ACA TGC GTG TAA ATC ATC GTC	<i>Int 1</i>
۷۸۸	F: AGT GGG TGG CGA ATG AGT G R: GTA GCA AAC GAG TGA CGA AAT G	<i>Int 2</i>
۶۰۰	F: TGT TCT TGT ATCGGC AGG TG R: GGC ATC CAA GCA GCA AG	<i>Int 3</i>

جهت ردیابی ژن های اینتگرون کلاس ۱ و اینتگرون کلاس ۲ واکنش PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر متشکل از ۵ میکرولیتر بافر با غلظت ۱۰ برابر، ۱۵۰ میکرومول Mix dNTP، ۱/۵ میلی مول کلرید منیزیم، ۱ میکرومول از زوج پرایمرهای F و R، ۱ واحد آنزیم تگ پلی مرز و ۲ میکرولیتر DNA (۵۰ نانوگرم)، صورت گرفت. برنامه حرارتی برای تکثیر ژن های ژن های اینتگرون کلاس ۱ و ۲ در ایزوله های اشریشیا کلی به صورت: یک سیکل ۹۴ درجه سانتی گراد ۵ دقیقه، ۳۲ سیکل تکراری ۹۴ درجه سانتی گراد ۵ دقیقه، ۶۰ درجه سانتی گراد ۷۲ درجه سانتی گراد ۲ دقیقه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه سانتی گراد ۱ دقیقه انجام شد.

واکنش PCR برای ردیابی ژن *16srRNA* در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر واجد ۲/۵ میکرولیتر بافر با غلظت ۱۰ برابر (PCR buffer 10X)، ۱۰۰ میکرومول dNTP Mix (۱۰ میلی مولار)، ۱/۵ میلی مول کلرید منیزیم (MgCl₂)، ۱ میکرومول از زوج پرایمرهای F و R، ۱ واحد آنزیم تگ پلی مرز و ۲ میکرولیتر DNA (۵۰ نانوگرم)، صورت گرفت. برنامه حرارتی برای تکثیر ژن *16srRNA*/اشریشیا کلی به صورت یک سیکل ۹۴ درجه سانتی گراد ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل تکراری ۹۴ درجه سانتی گراد ۳۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی گراد ۶۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد ۶۰ ثانیه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه سانتی گراد ۱ دقیقه انجام شد.

و پس از مشاهده ژل به دست آمده با دستگاه تراس لومیناتور (Uviteck, England) تصویر به دست آمده بر روی کاغذ حرارتی ثبت شد.

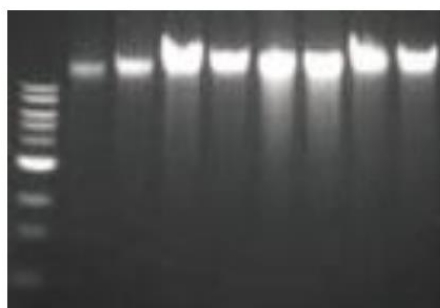
نتایج حاصل از ارزیابی اینتگرون های کلاس ۱، ۲ و ۳ با استفاده از آزمون دقیق فیشر (Fisher Exact test) و با نرم افزار SPSS شماره ۱۸ مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

مطالعه حاضر بر روی ۳۰۰ نمونه ادرار بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ مشکوک به عفونت ادراری، مراجعه کننده به آزمایشگاه های تشخیص طبی شهرستان شهرکرد در سال ۱۳۹۴ صورت گرفت. پس از کشت نمونه های ادرار، جداسازی باکتری های عامل عفونت ادراری توسط آزمون های بیوشیمیایی صورت گرفته و به منظور تشخیص قطعی آزمون PCR تایید شد. از ۳۰۰ نمونه مورد بررسی در ۱۰۰ نمونه عفونت ادراری تشخیص داده شد. که آلودگی به *شریشیا کلی* در ۵۱ مورد (۵۱ درصد) گزارش گردید. پس از استخراج DNA کیفیت DNA های مورد بررسی روی ژل آگارز ۱ درصد بررسی گردید. نتایج در شکل (۱) نشان داده شده است.

جهت ردیابی ژن های اینتگرون کلاس ۳ واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر واجد ۲/۵ میکرولیتر بافر با غلظت ۱۰ برابر (PCR buffer 10X)، ۱۰۰ میکرومول dNTP Mix (۱۰ میلی مولار)، ۱/۵ میلی مول کلرید منیزیم (MgCl₂)، ۱ میکرومول از زوج پرایمرهای F و R، ۱ واحد آنزیم تگ پلی مزاز و ۲ میکرولیتر DNA (۵۰ نانوگرم)، صورت گرفت (۱۷). برنامه حرارتی برای تکثیر ژن های ژن اینتگرون کلاس ۳ در ایزوله های *شریشیا کلی* به صورت: یک سیکل ۹۴ درجه سانتی گراد ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹۴ درجه سانتی گراد ۶۰ ثانیه، ۵۸ درجه سانتی گراد ۶۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد ۲ دقیقه و ۱ سیکل انتهایی ۷۲ درجه سانتی گراد ۱ دقیقه انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده جدول (۱) نشان داده شده است.

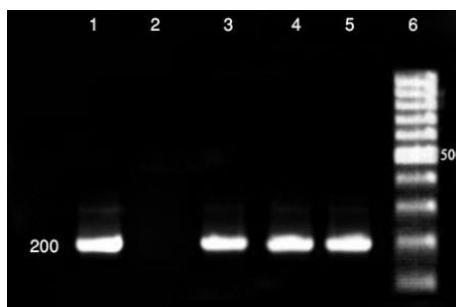
برای تکثیر قطعات ژنی مورد مطالعه از دستگاه Eppendorf Master cycler Gradient, Germany استفاده شد. به منظور ردیابی قطعه ژنی تکثیر یافته در PCR، ۱۵ میکرولیتر از محصول PCR بر روی ژل ۱/۵ درصد آگارز واجد اتیدیوم بروماید در ولتاژ ثابت ۹۰ ولت به مدت ۴۵ دقیقه در حضور مارکر ۱۰۰ جفت بازی DNA صورت گرفت



شکل ۱- ژل حاصل از الکتروفورز DNA استخراج شده از ایزوله های *شریشیا کلی*

پس از انجام آزمون PCR به منظور تشخیص قطعی باکتری اشریشیا کلی و حضور توالی *I6srRNA* تمامی

نمونه‌ها با داشتن باند ۲۰۰ جفت بازی مثبت تشخیص داده شدند. نتایج در شکل ۲ نشان داده شده است.

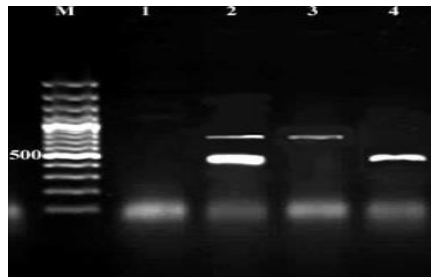


شکل ۲- ژل حاصل از الکتروفورز توالی ژن *I6srRNA* استخراج شده از ایزوله‌های اشریشیا کلی

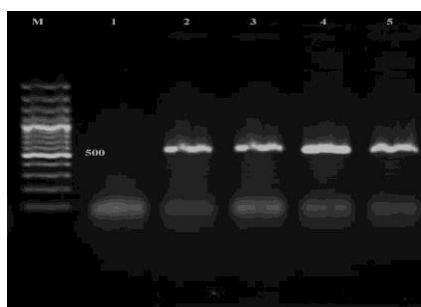
پس از تایید باکتری با استفاده از آزمون‌های میکروبیولوژی و مولکولی مقاومت نسبت به آمپی سیلین ۶۶/۶۶ ، تتراسایکلین ۵۶/۸۶، کوتریموکسازول ۵۴/۹۰، نالیدیکسیک اسید ۵۲/۹۴، سیپروفلوکساسین ۳۹/۲۱، سفالوتین ۴۱/۱۸، نورفلوکساسین ۳۵/۲۹، آمیکاسین ۲۵/۴۹، سفتریکسون ۲۹/۴۱، جنتامایسین ۱۷/۶۵، ایمپنم ۲۳/۵۳ درصد و مقاومت نسبت به نیتروفورانئوتین ۱/۹۶ درصد گزارش گردید. مقاومت نسبت به یک آنتی‌بیوتیک در ۱۱ ایزوله (۲۱/۵۶ درصد)، نسبت به ۲ آنتی‌بیوتیک در ۹ ایزوله (۱۷/۶۴ درصد)، نسبت به ۳ آنتی‌بیوتیک در ۶ ایزوله (۱۱/۷۶ درصد)، نسبت به ۴ آنتی‌بیوتیک در ۴ ایزوله (۷/۸۴ درصد)، نسبت به ۵ آنتی‌بیوتیک در ۴ ایزوله (۹/۸۰ درصد)، نسبت به ۶ آنتی‌بیوتیک در ۶ ایزوله (۱۱/۷۶ درصد)، نسبت به ۷ آنتی‌بیوتیک در ۳ ایزوله (۵/۸۸ درصد)، نسبت به ۸ آنتی‌بیوتیک در ۲ ایزوله (۳/۹۲ درصد)، نسبت به ۹ آنتی‌بیوتیک در ۳

ایزوله (۵/۸۸ درصد)، نسبت به ۱۰ آنتی‌بیوتیک در ۲ ایزوله (۳/۹۲ درصد)، نسبت به ۱۱ آنتی‌بیوتیک در ۱ ایزوله (۱/۹۶ درصد) و نسبت به ۱۲ آنتی‌بیوتیک در ۱ ایزوله (۱/۹۶ درصد) گزارش گردید. از ۵۱ ایزوله اشریشیا کلی مورد بررسی در این تحقیق اینتگرون کلاس ۱ در ۳۰ ایزوله (۵۸/۸۲ درصد)، اینتگرون کلاس ۲ در ۲۰ ایزوله (۳۹/۲۱ درصد) و اینتگرون کلاس ۳ در ۵ ایزوله (۹/۸۰ درصد) گزارش گردید. نتایج در جدول (۳) نشان داده شده است. حضور همزمان ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ و ۲ در ۱۴ ایزوله (۲۷/۴۵ درصد)، ژن‌های اینتگرون کلاس ۱ و ۳ در ۳ ایزوله (۵/۸۸ درصد) گزارش گردید، ژن‌های اینتگرون‌های کلاس ۲ و ۳ همزمان و ۳ همزمان در ۲ ایزوله (۳/۹۲ درصد) و حضور همزمان ژن‌های اینتگرون کلاس ۱، ۲ و ۳ در ۳ ایزوله (۵/۸۸ درصد) گزارش گردیدند. نتایج در شکل‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است.

نوع اینتگرون	کلاس ۱	کلاس ۲	کلاس ۳	کلاس ۱ و ۲	کلاس ۱ و ۳	کلاس ۲ و ۳	کلاس ۱، ۲ و ۳
تعداد	۳۰	۲۰	۵	۱۴	۳	۲	۳
ایزوله	(/۵۸/۸۲)	(/۳۹/۲۱)	(/۹/۸۰)	(/۲۷/۴۵)	(/۵/۸۸)	(/۳/۹۲)	(/۵/۸۸)



شکل ۳- الکتروفورز محصول PCR ژن های اینتگرون کلاس ۱ و ۲ ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتناز، ستون ۱: کنترل منفی. ستون ۲: باند ۴۳۶ جفت بازی اینتگرون کلاس ۱ و باند ۷۸۸ جفت بازی اینتگرون کلاس ۲، ستون ۳: باند ۷۸۸ جفت بازی اینتگرون کلاس ۲، ستون ۴: باند ۴۳۶ جفت بازی اینتگرون کلاس ۱.



شکل ۴- الکتروفورز محصول PCR ژن اینتگرون کلاس ۳، ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتناز، ستون ۱: کنترل منفی. ستون های ۲، ۳، ۴ و ۵: باند ۶۰۰ جفت بازی ژن اینتگرون ۳.

آنتی بیوتیک ها، ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی می توانند در ایجاد مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک ها نقش داشته باشند (۲۵، ۲۶). نقش اینتگرون ها در گسترش مقاومت آنتی بیوتیکی به ویژه از طریق انتقال افقی تا اندازه ای است که مقالات مختلف، نقش اینتگرون ها را در مقاومت چندگانه باکتری های گرم منفی قابل توجه می دانند (۲۷، ۲۸). همچنین اینتگرون ها، به عنوان ابزاری جهت کنترل عفونت ها و همچنین جهت مطالعه مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری ها شناخته می شوند (۲۹). با توجه به مطالب گفته شده بالا، در این مطالعه الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در ایزوله های /شریشیا کلی شیوع اینتگرون های کلاس ۱، ۲ و ۳ در آن ها و

در تجزیه و تحلیل آماری براساس آزمون دقیق فیشر بین مقاومت به آنتی بیوتیک جنتامایسین، ایمی پنم و نیتروفوران توئین و اینتگرون کلاس ۱ ارتباط معنی داری مشاهده گردید ($p\text{-value} < 0.05$) و بین سایر آنتی بیوتیک ها و اینتگرون های کلاس ۱، ۲ و ۳ ارتباط آماری معنی دار مشاهده نگردید ($p\text{-value} > 0.05$).

بحث

افزایش مقاومت دارویی معضل بزرگی است و علت اصلی پیدایش مقاومت، مصرف نامناسب و بی رویه آنتی بیوتیک ها می باشد. مطالعات نشان می دهد صرف نظر از الگوی مصرف

ارتباط اینتگرون‌ها با ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌ها مورد بررسی قرار گرفت. به طوری که اینتگرون کلاس ۱ در ۲۰ ایزوله (۳۹/۲۱ درصد)، اینتگرون کلاس ۲ در ۱۰ ایزوله (۱۹/۶۰ درصد) و اینتگرون کلاس ۳ در ۵ ایزوله (۹/۱۸ درصد) گزارش گردید.

بررسی نتایج آنتی‌بیوگرام به دست آمده در این مطالعه نشان دهنده افزایش میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های مورد بررسی نسبت به مطالعات صورت گرفته قبلی در ایران می‌باشد، به طوری که در مطالعه حاضر میزان مقاومت در ایزوله‌های /شیریشیا کلی نسبت به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی از جمله جنتامایسین، سیپروفلوکساسین، نیتروفورانئوئین و آمیکاسین بسیار بالاتر از مطالعه صورت پذیرفته توسط فرشاد و همکارانش می‌باشد. همچنین میزان فراوانی اینتگرون کلاس ۱ در مطالعه حاضر ۳۹/۲۱ درصد می‌باشد که از میزان فراوانی آن در مطالعه فرشاد بالاتر است (۳۲). همچنین به نظر می‌رسد که با افزایش میزان فراوانی اینتگرون کلاس ۱ در ایزوله‌های مورد بررسی در مطالعه ما نسبت به ایزوله‌های مورد بررسی در مطالعه فرشاد و همکارانش، میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی نیز در آن‌ها افزایش یافته است. کلاس ۱ اینتگرون‌ها غالباً در سویه‌های انتروباکتریاسه گزارش شده است که یک عامل جدی برای گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌باشد. مطالعات انجام شده بر ایزوله‌های /شیریشیا کلی جدا شده از مبتلایان به عفونت ادراری در اروپا و آسیا نشان می‌دهد که شیوع اینتگرون از ۲۲

تا ۵۹ درصد متغیر می‌باشد (۳۰). در مطالعه انجام شده توسط فلکیان و همکاران فراوانی اینتگرون کلاس ۱ در ایزوله‌های /شیریشیا کلی جدا شده از موارد عفونت ادراری ۴۱/۹ درصد برآورد گردید که نسبت به نتایج حاصل از تحقیق ما بیشتر می‌باشد. در این مطالعه از نظر آماری ارتباط معنی‌داری بین وجود اینتگرون و مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، آمیکاسین، سفوتاکسیم، سفنازیدیم، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین و از ترونام مشاهده گردید که حاکی از انتقال ژن مقاومت توسط این عناصر می‌باشد (۳۱). در تحقیق انجام شده توسط رنجبران و همکاران که به منظور بررسی مولکولی اینتگرون‌ها در ایزوله‌های اشیریشیا کلی و کلبسیلا پنومونیه جدا شده از عفونت‌های دستگاه ادراری بیماران بستری شده در بخش مراقبت‌های ویژه یک بیمارستان در اراک صورت گرفت، بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌های /شیریشیا کلی مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های کوتریموکسازول ۸۸، سفتریاکسون ۷۶، آموکسی‌کلاو ۷۴، سفنازیدیم ۷۲ و سفوتاکسیم ۷۲ درصد بود. در حالی که در تحقیق ما مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کوتریموکسازول و سفتریاکسون کمتر از مطالعه رنجبران و همکاران می‌باشد. در تحقیق ما مقاومت نسبت به ایمی پنم ۲۳/۵۳ درصد گزارش گردید، در صورتی که در تحقیق رنجبران تمامی ایزوله‌های اشیریشیا کلی نسبت به ایمی پنم حساسیت نشان دادند (۳۲). در مطالعه انجام شده توسط اسلامی و همکاران که بر روی ۲۰۰ ایزوله /شیریشیا کلی

انتقال مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌ها از طریق اینتگرون کلاس ۱ می‌باشد و علت این مقاومت می‌تواند حضور کاست‌های ژنی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در ژن اینتگرون کلاس ۱ باشد. اما بین اینتگرون‌های کلاس ۲ و ۳ و آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده نگردید که نشان دهنده این است که علاوه بر اینتگرون‌ها عوامل دیگری نظیر ترانسپوزون‌ها نیز می‌توانند در انتقال مقاومت نقش داشته باشند.

صورت گرفت، ۱۷۱ نمونه به عنوان مقاوم به چند دارو گزارش گردیدند که در ۳۵ ایزوله ژن اینتگراز گزارش گردید که در ۲۵ ایزوله (۱۴/۵ درصد) ژن اینتگرون کلاس ۱ و در ۱۰ ایزوله (۵/۸ درصد) ژن اینتگرون کلاس ۲ گزارش گردید که با نتایج حاصل از تحقیق ما مغایرت دارد. در این مطالعه ارتباط معنی‌داری بین وجود ژن اینتگرون و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، نورفلوکساسین، سفالوتین و نالیدیکسیک اسید گزارش گردید (۳۳).

نتیجه گیری

شیوع بالای اینتگرون کلاس ۱ در ایزوله‌های اشریشیاکلی مقاوم به ای‌می پنم، جنتامایسین و نیتروفورانتوئین در تحقیق ما می‌تواند حاکی از وجود ارتباط بین حضور اینتگرون و مقاومت آنتی‌بیوتیکی باشد. در تحقیق رنجبران ارتباط معنی‌داری بین حضور اینتگرون و مقاومت آنتی‌بیوتیکی کوتریموکسازول، جنتامایسین، سفوتاکسیم، سفنازیدیم و آموکسی کلاو گزارش گردید.

در تحقیق حاضر از ۵۱ ایزوله مورد بررسی در ۲۵ ایزوله (۴۹ درصد) به بیش از ۳ آنتی‌بیوتیک مقاومت داشتند و درصد بالایی از ایزوله‌ها فاقد مقاومت چندگانه بودند که این امر می‌تواند دلیلی برای کمتر بودن شیوع اینتگرون‌ها نسبت به تحقیقات سایر محققین باشد.

در این مطالعه بین وجود مقاومت با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، ای‌می پنم و نیتروفورانتوئین و اینتگرون کلاس ۱ ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده گردید که نشان دهنده

منابع

1. Melanitou E., Fain P., and Eisenbarth G. 2003. Genetics of Type 1A (immune mediated) diabetes. *J. Auto.* 21 (2): 93–98.
2. Seyedjavadi S., Eslami G., Goudarzi M., Goudarzi H., and Fallah F. 2013. Integrons and multidrug resistance among *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from children with urinary tract infections. *Health Med.* 7(1):243-249.
3. Shaw JE., Sicree RA., and Zimmet PZ. 2010. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 87 (1): 4-14.
4. Balasoiu D., van Kessel KC., Van kats-Renaud HJ., Collet J., and Hoepolman AI. 1997. Granulocytes function in women with diabetes and asymptomatic bacteriuria. *Diabetes Care*; 20: 393–395.
5. Bertoni AG., and Saydah S. 2001. Diabetes and the risk of infection related mortality in the US. *Diabetes Care*; 24: 1004–1009.
6. Pozzilli P and Lesli RDG. 1994. Infections and diabetes: Mechanisms and prospects for prevention. *Diabet Med*; 11: 935-941.
7. Carton JA., Maradona JA., Nuno FJ., Fernandez-Alvarez R., Perez-Gonzalez F., and et al. 1992. Diabetes mellitus and bacteremia: A comparative study between diabetic and non diabetic patients. *Eur J Med.* 1: 281-287.
8. Boyko EJ., Fihn SD., Scholes D., Abraham L., and Monsey B. 2005. Risk of urinary tract infection and asymptomatic bacteruria among diabetes and nondiabetic postmenopausal women. *J Am Epidemiol*; 161: 557-564.
9. Stapleton A., 2002. Urinary tract infection in patients with diabetes. *Am J Med* ;113(1A): 80- 84.
10. Hosking DJ., Bennet T., and Hampton JR. 1978. Diabetic autonomic neuropathy. *J Diabetes Care.* 27: 1043-54.
11. Ronald A., and Ludwig E. 2001. Urinary tract infection in adults with diabete. *J Antimicrobial Agent.* 17: 287-289.
12. Brown JS., Wessells H., Chancellor MB., Howards SS., Stamm WE., and et al. 2005. Urologic complication of diabetes. *Diabetes Care.* 8(1): 177–185.
13. Thomas GN., Jiang CQ., Taheri S., Xiao ZH, Tomlinson B., and et al .2010. A systematic review of life style modification and glucose intolerance in the prevention of type 2 diabetes. *Cur Diabetes Rev.* 6: 378-87.
14. Kargar M., Daneshvar M., Homayoun M. 2011. Surveillance of virulence markers and antibiotic resistance of shiga toxin purchase in Shiraz. *14: 76-83.*
15. Wilson BA., Salyers AA., and Whitt DD. 2010. *Bacterial Pathogenesis a Molecular Approach.* 3rd ed Washington DC ASM Press. 91-11.
16. Rowe-Magnus DA., Guerout AM., Ploncard P, Dychinco B., Davies J., and Mazel D .2001. The evolutionary history of chromosomal super integrons provides an ancestry for

- multiresistant integrons. *Proc Natl Acad Sci USA*. 98(2):652-657.
17. Stokes HT., and Hall RM. 1989. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. *Molecular microbiology*. 3(12):1669-83.
18. Stalder T., Barraud O., Casellas M., Dagot C., and Ploy MC. 2012. Integron involvement in environmental spread of antibiotic resistance. *Fron Microbiol*. 3(119):1-14.
19. Barlow RS., and Gobius KS. 2006. Diverse class 2 integrons in bacteria from beef cattle sources. *J Antimicrob Chemother*. 58(6): 1133-1138.
20. Partridge SR., Tsafnat G., Coiera E., and Iredell JR. 2009. Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. *FEMS microbiology reviews*. 33(4):757-84.
21. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved standard-Ninth Edition (M2-A9). Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2006.
22. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Methods for disk antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A5. Wayne, Pa. 2003.
23. Turton JF., Perry C., Elgohari S., and CV Hampton. 2010. PCR characterization and typing of *Klebsiella pneumoniae* using capsular type-specific, variable number tandem repeat and virulence gene targets. *J Med Microbiol*. 59(4):541-7.
24. Kerrn MB., Klemmensen T., Frimodt-Møller N., and Espersen F. 2002. Susceptibility of Danish *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infections and bacteraemia, and distribution of *sul* genes conferring sulphonamide resistance. *J Antimicrob Chemother*. 50, 513-516.
25. Schwartz T., Kohnen W., Jansen B., and Obst U. 2003. Detection of antibiotic resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. *FEMS Microbiol Eco*. 43(2): 325-335.
26. Kümmerer K. 2004. Resistance in the environment. *J Antimicrob Chemother*. 54(3): 311-320.
27. Hussein AI., Ahmed AM., Sato M., and Shimamoto T. 2009. Characterization of integrons and antimicrobial resistance genes in clinical isolates of Gram-negative bacteria from Palestinian hospitals. *Microbiol Immunol*. 53(11): 595-602.
28. Machado E., Canton R., and Baquero F. 2005. Integron content of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* strains over 12 years in a single hospital in Madrid, Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 49 (5): 1823-1829.
29. Dillon B., Thomas L., Mohmand G., Zelynski A., and Iredell J. 2005. Multiplex PCR for screening of integrons in bacterial lysates. *J Microbiol Methods*. 62(2): 221-232.

30. Farshad Sh., Japoni A., and Hosseini M. 2008. Low Distribution of Integrons among Multidrug resistant E.coli Strains Isolate from Children with community-Acquired urinary tract infections in Shiraz, Iran. Polish J Microbiol. 57 (3): 193-198.
31. Falakian Z., Nikokar I., Nafisi MR., and Karimi AM V. 2011. Frequency of class 1 Integrons among Escherichia coli isolates of patients with urinary tract infection Iran. J Clin Infect Dis. 6 (4): 24.
32. Ranjbaran M., Zolfaghari M., Japoni-Nejad A., Amouzandeh Nobaveh AR., Abtahi H., Nejad M., and et al. 2013. Molecular investigation of integrons in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolated from urinary tract infections. J Mazandaran Univ Med Sci. 23(105):20-7.
33. Islami G., Seyed Javadi S., and Fallah H FG. 2010. Prevalence of integrons in multi drug resistance E. coli and Kelebsiella isolated from urinary tract infections in children. Pajohandeh. 34(1):61-5.

The frequency of genes in integron class 1, 2 and 3 in uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from diabetic patients in Shahrekord city

Negin Deli Sarraki¹, Fatemeh Khodaverdipour², Nazila Arbab soleimani^{3*}

- 1- Master's degree in microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
- 2- Research Center of Nutrition and Organic Products (R.C.N.O.P), Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
- 3- Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.

*Corresponding author: Nazilaarbab@yahoo.co.uk

Abstract

The most common uropathogenic strains of *Escherichia coli* strains are pathogenic in humans. The most important feature of uropathogenic *Escherichia coli* strains, the ability of colonization on the surface of host is the euro epithelium cells.

The present study took place on 300 urine samples of patients with diabetes mellitus type 2 suspected urinary tract infections, referred to clinical laboratories of Shahrekord city, Iran in 1394. 5 to 10 cc of urine samples from diabetic patients were collected and by calibrated loop, 0.01 ml of urine cultured in Mac kanky agar media. After performing PCR test were examined to 16srRNA *Escherichia coli* gene, all samples tested for the presence of class 1, 2 and 3 integron genes at the present of specific primers.

Of 300 diabetic patients UTI diagnosed in 100 samples. In 51 patients (51%) *E.coli* was diagnosed. Results indicate that class 1 integron was seen in 30 isolations (58.82%), class 2 in 20 (39.2%) and the third class in 5 ones (9.8%). Most resistance reported to ampicillin (66.66%) and the lowest resistance reported to Nitrofurantoin (1.96%).

Based on statistical analysis had a significant relationship was observed between resistance to gentamicin, imipenem and Nitrofurantoin with class 1 integron (p-value < 0/05).

Keywords: Diabetic pateients, *Escherichia coli*, Integron, Urinary Tract nfection.



رهیافتهای نوین در علوم سلولی و مولکولی

JNACMS

دوره ۲ شماره ۲ تابستان ۱۴۰۳

Journal homepage: <https://sanad.iau.ir/journal/nacms>



اثر تمرینات هوازی بر میتوفاژی میتوکندریایی

فرانک امینی^۱، دکترمحمد علی آذربایجانی^{۲*}، دکتر شاهین ریاحی^۳، دکتر لیدا مرادی^۱

- ۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- ۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- ۳- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

میتوکندری یکی از اندامک‌های پویای سلولی بوده که اختلال در عملکردش موجب تضعیف عملکرد سلول و در نهایت مرگ سلولی می‌گردد. میتوفاژی اتوفاژی انتخابی میتوکندری‌های آسیب‌دهنده که به واسطه حذف میتوکندری‌های ناکارآمد موجب بهبود عملکردهای بیولوژیک سلولی می‌گردد. مسیر سیگنالینگ PINK1-Parkin از مهمترین مسیرهای تنظیم میتوفاژی می‌باشد. اختلال در میتوفاژی دلیل اصلی بسیاری از بیماری‌های متابولیک، نورودیژنراتیو، سرطان‌ها و سالمندی می‌باشد. شواهد به دست آمده از مطالعات انسانی و حیوانی نشان می‌دهد تمرینات هوازی به واسطه تنظیم و فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ، میتوفاژی میتوکندریایی را توسعه داده و موجب حفظ سلامتی در سطح سلول و به دنبال آن کاهش بروز بیماری‌ها می‌گردد. هرچند مکانیسم مولکولی دقیق اثر تمرینات هوازی در توسعه میتوفاژی میتوکندریایی مشخص نیست؛ اما نتایج مطالعه متعدد نشان می‌دهد کاهش فشار اکسایشی، التهاب، آپوپتوز و افزایش مایوکاین‌های ضد التهاب همراه با تمرینات هوازی منظم با فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ میتوفاژیک به ویژه مسیر سیگنالینگ PINK1-Parkin، میتوفاژی را در بافت‌های گوناگون و در شرایط سالمندی، چاقی، بی‌حرکی و اختلالات متابولیک تنظیم نموده و از توسعه بیماری‌های متعدد جلوگیری می‌نماید. نقش تنظیمی تمرینات هوازی بر میتوفاژی تاکید کننده کارایی این تمرینات بر محافظت بافتی و توسعه سلامتی می‌باشد.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۲۲

چاپ: تابستان ۱۴۰۳

DOI:

کلمات کلیدی: میتوفاژی، تمرینات هوازی، فشار اکسایشی، التهاب، آپوپتوز

* نویسنده مسئول: [Email](mailto:m_azarbayjani@iauctb.ac.ir)

m_azarbayjani@iauctb.ac.ir

مقدمه

میتوکندری اندامک بسیار پویا بوده که به طور پیچیده برای برآوردن نیازهای انرژی سلولی طراحی شده‌اند، به گونه‌ای که بسیاری از بیولوژیست‌ها آن را نیروگاه سلول می‌نامند (۱). در واقعیت عملکرد سلول‌ها بسیار وابسته به سلامت و کارایی میتوکندری‌ها می‌باشد. سلامت میتوکندری یک واسطه مهم برای عملکرد سلولی در طیف وسیعی از بافت‌ها است و در نتیجه به حفظ و توسعه سلامتی و مهار توسعه بیماری‌ها کمک می‌نماید. میتوکندری‌ها برای انطباق با تغییرات در تقاضای انرژی، میتوکندری‌ها دارای درجه بالایی از انعطاف‌پذیری هستند که در پاسخ به فعال شدن گذرا مسیرهای متعدد مرتبط با استرس تغییر می‌کنند (۲). این پاسخ انطباقی به ویژه در بافت‌هایی مانند عضله اسکلتی که دارای متابولیسم بالایی می‌باشند از اهمیت ویژه‌ای برای بسیاری از فرایندهای بیولوژیک سلول مانند متابولیسم، رشد و بازسازی سلول برخوردار است (۳). به همین دلیل، حفظ عملکرد میتوکندری به تنهاتمی به تنظیم کافی عملکردهایی است که واگردش آن‌ها را کنترل می‌کنند (بیوزنر میتوکندریایی)، بلکه وابسته به میتوفاژی که میتوکندری‌های آسیب دیده یا غیر ضروری را حذف می‌کند، می‌باشد (۴). میتوفاژی ناکافی منجر به تجمع میتوکندری‌های ضعیف و آسیب دیده، با ظرفیت کاهش یافته برای سنتز آدنوزین تری فسفات (+ATP) شده و همچنین موجب تولید سطوح بالایی از رادیکال سوپراکسید شده که می‌تواند فشار اکسایشی را در

سطح سلولی افزایش داده و موجب آسیب‌های بنیادی به سلول می‌شود (۵). اهمیت میتوکندری به اندازه‌ای است که عملکرد ضعیف میتوکندریایی یک نشانه شناخته شده از بیماری‌های متابولیک و نورودژنراتیو است که به شدت با پیشرفت‌های پاتولوژیک در ارتباط می‌باشد. به همین دلیل هر عاملی که بتواند عملکرد میتوکندریایی را بهبود بخشد، در واقعیت موجب بهبود عملکرد سلولی شده و احتمال وقوع بسیاری از بیماری‌ها را کاهش می‌دهد. یکی از مداخلاتی که می‌تواند موجب بهبود واگردش میتوکندری‌ها شده و سلامتی را در سطح سلولی توسعه دهد فعالیت‌های بدنی به ویژه تمرینات هوازی می‌باشد (۶). به خوبی مشخص شده فعالیت‌های بدنی منظم جزء جدایی‌ناپذیر زندگی انسان است که اثرات قابل توجهی بر حفظ سلامتی و پیشگیری از اختلالات مرتبط با عضله و سایر بافت‌ها دارد. سلامت و کارایی عملیاتی میتوکندری‌های عضله اسکلتی برای حفظ فعالیت بدنی بسیار مهم است زیرا آن‌ها مسئول تأمین انرژی از طریق فسفوریلاسیون اکسیداتیو در سلول‌های عضلانی اسکلتی هستند. جدا از نقش تثبیت شده آن‌ها به عنوان اندامک‌های تولید کننده انرژی، میتوکندری‌ها همچنین نقش حیاتی در تنظیم هموستاز کلسیم، یک فرآیند حیاتی برای انقباض عضلانی، ایفا می‌کنند. علاوه بر این، میتوکندری‌ها اندامک‌های کلیدی تنظیم کننده سیگنال هستند که گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را تولید می‌کنند که سیگنال‌های ردوکس را تعدیل نموده و مسیرهای حساس به

انرژی مانند AMPK را طی فعالیت تنظیم می‌نمایند. میتوکندری‌ها با تطبیق حجم، ساختار و عملکرد خود، مانند تقویت بیوژنز میتوکندری، فعال کردن میتوفاژی، تولید انرژی و کنترل تولید گونه‌های فعال اکسیژن درجه بالایی از انعطاف‌پذیری را طی تمرین از خود نشان می‌دهند (۷، ۸). بنابراین، فعالیت‌های بدنی منظم رویکرد قابل قبولی را ارائه می‌کند که پتانسیل بهبود کنترل کیفیت میتوکندیایی و مهار کاهش عملکرد سلولی گوناگون که معمولاً با افزایش سن رخ می‌دهد را القا می‌نماید (۹). هرچند اثر تمرین هوازی بر پویایی میتوکندیایی بیشتر در عضله اسکلتی و قلبی مورد بررسی قرار گرفته است (۱۰-۱۲)، اما شواهد نشان می‌دهد اثر تمرین بر کنترل کیفیت میتوکندیایی در سایر بافت‌ها نیز مشاهده می‌شود. از طرف دیگر به خوبی مشخص شده تمرینات هوازی اثر سلامتی‌افزای خود را به واسطه توسعه عملکرد میتوکندیایی اعمال می‌نماید (۱۳، ۱۴). شواهد نشان می‌دهد تمرین هوازی به واسطه کنترل میتوفاژی، موجب بهبود کنترل کیفیت میتوکندیایی می‌شود (۱۵). بسیاری از بیماری‌های مزمن مانند چاقی، دیابت نوع ۲، کبد چرب غیر الکلی، بیماری‌های قلبی عروقی ریشه در اختلال میتوفاژی میتوکندیایی دارند (۱۶). به همین دلیل از آنجایی که تمرینات هوازی می‌تواند میتوفاژی را تنظیم نماید، توجه پژوهشگران به رابطه تمرین هوازی و میتوفاژی جلب شده است. به دلیل اهمیت میتوفاژی در سلامتی و رابطه آن با تمرینات هوازی در این مطالعه مکانیسم میتوفاژی و اثر

تمرینات هوازی بر پروتئین‌های اثرگذار بر میتوفاژی مورد بررسی قرار گرفته است.

تعریف میتوفاژی

از نقطه نظر فیزیولوژیک میتوفاژی به عنوان اتوفاژی انتخابی میتوکندری‌های آسیب دیده تعریف می‌شود که برای اولین بار در مخمر مشاهده شد (۱۷). در اصل میتوفاژی یک فرآیند چند مرحله‌ای بسیار تنظیم‌شده است که مسئول تخریب انتخابی میتوکندری‌های آسیب‌دیده/ناکارآمد توسط اتوفاژی است و جنبه‌های مشترکی با سایر انواع اتوفاژی انتخابی دارد. در واقعیت ویژگی مورفولوژیکی میتوفاژی، قرار گرفتن میتوکندری در داخل یک واکوئل اتوفاژیک به نام میتوفاگوزوم می‌باشد (۱۸). مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر نشان می‌دهد سه نوع میتوفاژی وجود دارد: نوع ۱، ناشی از محدودیت مواد مغذی، نوع ۲، ناشی از سیگنال‌های آسیب، و نوع ۳، میکرو میتوفاژی، مرتبط با وزیکول‌های کوچک مشتق از میتوکندری (۱۹). شواهد اخیر نشان می‌دهد میتوفاژی نقش مهمی در رشد طبیعی بازی می‌کند (۲۰). به طور کلی، میتوفاژی مکانیسم بیولوژیکی اساسی در تمام سلول‌ها یا بافت‌ها بوده و در پاسخ به نیازهای انرژی سلولی تنظیم می‌شود. برخی از بافت‌ها مانند سیستم عصبی، کلیه، عضله اسکلتی، قلب و کبد، فعالیت میتوفاژی پایه بالایی داشته، در حالی که برخی دیگر مانند طحال و تیموس، سطح میتوفاژی پایینی دارند (۲۱). مسیرهای مولکولی و بیوشیمیایی درگیر در میتوفاژی ابتدا در مدل‌های سالمندی،

بیماری‌های عصبی، سرطان و بیماری‌های قلبی عروقی گزارش شد (۵، ۲۲-۲۴).

حذف میتوکندری توسط پدیده میتوفاژی نقش مهمی در فرآیندهای متعددی مانند التهاب، انتقال متابولیک و برنامه‌ریزی مجدد سلولی دارد (۲۵). شواهد بیولوژیک نشان می‌دهد میتوکندری‌های آسیب دیده نه تنها توانایی تولید ATP و سایر محصولات بیوسنتزی را ندارند، بلکه سطوح بالاتری از گونه‌های فعال اکسیژن را نیز آزاد می‌کنند. اگر گونه‌های فعال اکسیژن نتواند به موقع پاک شود و در سلول‌ها تجمع یابد، منجر به آپوپتوز می‌شود (۲۶). میتوفاژی با حذف میتوکندری‌های ناکارآمد، میتوکندری‌ها را در شرایط بهینه نگه می‌دارد. هموستاز میتوکندری توسط تعادل حذف و تولید زیستی حفظ می‌شود که می‌تواند توسط میتوفاژی کنترل نشده مختل شود (۲۷).

مسیر سیگنالینگ میتوفاژی

همان‌طور که اشاره شد، حذف به موقع و دقیق میتوکندری برای بقای سلول در پاسخ به تغییرات در شرایط رشد، انرژی زیستی و محیطی حیاتی است. بنابراین، سلول‌ها مسیرهای سیگنالینگ متنوعی را برای اطمینان از فعال‌سازی سریع و دقیق میتوفاژی در پاسخ به محرک‌های مختلف ایجاد کرده‌اند. یوله و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند پروتئین پارکینسون ۲ (پارکین) به واسطه دپلاریزه کردن میتوکندری

موجب آغاز تخریب اتوفاژیک میتوکندری می‌گردد (۲۸). از آن زمان به بعد، تحقیقات در مورد میتوفاژی در حال توسعه است و مسیرهای سیگنالینگ میتوفاژی متعددی کشف شده است، با این وجود اصلی‌ترین و شناخته‌شده‌ترین مسیر سیگنالینگ میتوفاژی محور PINK1-Parkin می‌باشد (۲۹). فعال شدن مسیر PINK1-Parkin موجب دپلاریزاسیون میتوکندری و آغاز القای میتوفاژی می‌گردد (۳۰). بررسی مطالعات نشان می‌دهد بسیاری از ترکیبات شیمیایی سنتتیک مانند عوامل جدید جداکننده میتوکندری^۱، القاکننده‌های استرس اکسیداتیو، شل‌کننده‌های آهن^۲، پیش‌سازهای NAD⁺، آنزیم‌های deubiquitinating و بازدارنده‌های p53 و همچنین مواد شیمیایی با منشاء طبیعی مانند اسپرمیدین^۳، رسوراترول A^۱، اورولیتین A^۲ و آنتی‌بیوتیک‌ها پاسخ‌های میتوفاژیک قوی را به واسطه فعال شدن مسیر سیگنالینگ PINK1-Parkin القا می‌کنند (۳۱). شناخته‌شده‌ترین مسیر سیگنال دهی میتوفاژی میتوکندریایی، مسیر سیگنالینگ PINK1-Parkin است که با به کارگیری پروتئین‌های اتوفاژیک، یوبیکوئیتیناسیون خاص، حذف میتوکندری‌های ناکارآمد یا آسیب دیده را میانجی‌گری می‌نماید (۳۲). PINK1 Ser/Thr و لیگاز هیبریدی RING/HECT سیتوزولی پارکین عوامل حیاتی این مکانیسم‌های مولکولی هستند. به طور کلی، مسیر PINK1-Parkin مستلزم تثبیت

¹ - resveratrol A

¹

¹ - urolithin A

²

⁸ - novel mitochondrial uncoupling agents

⁹ - iron chelators

¹ - spermidine

0

مهار لیپوژنز و کاهش چاقی می‌شود. شواهد نشان می‌دهد فعال شدن مسیر PINK/Parkin در سلول‌های بافت چربی هایپر تروفی شده سطح میتوفاژی را افزایش داده، تولید قطرات چربی را کاهش می‌دهد و در نتیجه موجب کاهش چاقی می‌گردد. علاوه بر این تنظیم میتوفاژی می‌تواند به طور قابل توجهی آپوپتوز بافت چربی را مهار کند، لیپوژنز را کاهش داده و قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید را برای کاهش چاقی بیش از حد افزایش دهد (۴۰).

دیابت نوع ۲

دیابت نوعی بیماری متابولیک است که به دلیل اختلال در عملکرد انسولین در بافت‌های محیطی به ویژه بافت عضله اسکلتی ایجاد شده و موجب افزایش قابل ملاحظه گلوکوز خون می‌گردد. افزایش مزمن مداوم گلوکز خون و اختلالات متابولیک طولانی مدت می‌تواند در بافت‌ها و اندام‌های بدن آسیب‌های جدی ایجاد نماید (۴۱). در شرایط بالا بودن گلوکز خون، در زنجیره تنفسی میتوکندری گونه‌های فعال اکسیژن بیشتری تولید شده و از میتوکندری به فضای سیتوزول وارد می‌شود و باعث آسیب دپلاریزاسیون میتوکندری گشته و فعالیت زنجیره تنفسی و میتوفاژی را مهار می‌کند و باعث آسیب اکسیداتیو و آپوپتوز در سلول‌های β جزایر پانکراس می‌شود که منجر به افزایش مقاومت به انسولین می‌شود (۴۲). شواهد نشان می‌دهد فعال‌سازی میتوفاژی از طریق مسیر PINK/Parkin می‌تواند آپوپتوز و پاسخ‌های التهابی را مهار کرده و بروز و توسعه عوارض دیابت را به تأخیر بیندازد. توسعه

PINK1 بر روی غشای خارجی میتوکندری (OMM)، به دنبال جذب و فعال‌سازی پارکین است (۳۳، ۳۴). به نوبه خود، پارکین فعال باعث افزایش یوبیکوئیتیناسیون گروهی از پروتئین‌های غشای خارجی میتوکندری و همچنین جذب آداپتورهای اتوفاژی، از جمله OPTN (optineurin) و NDP52 (پروتئین نقطه هسته‌ای ۵۲ کیلو دالتونی) به میتوکندری آسیب‌دیده می‌شود (۳۵، ۳۶). فعالیت کاتالیزوری گسترده محور PINK1-Parkin نشان دهنده دخالت این مسیر در چندین فرآیند سلولی است. بنابراین، تعامل عملکردی بین دینامیک میتوکندری و سیستم PINK/Parkin برای پاک‌سازی میتوکندری‌های آسیب‌دیده و ناکارآمد ضروری می‌باشد. در واقع، Mfn2 و Miro (یک ترکیب کمپلکس موتور/آداپتور میتوکندری) توسط PINK1 و پارکین هدف قرار می‌گیرند (۳۷، ۳۸). فعال شدن Mfn2 توسط PINK1 سرانجام روند میتوفاژی میتوکندریایی را منجر می‌گردد.

نقش میتوفاژی در بیماری‌ها:

چاقی

چاقی یک بیماری متابولیک است که با گسترش و تجمع غیرطبیعی سلول‌های چربی مشخص می‌شود. در چاقی، عملکرد میتوکندری بافت چربی غیر طبیعی شده، که به اختلالات تمایز و تولید چربی، اختلال در متابولیسم چربی، التهاب بیش از حد و مقاومت به انسولین منجر شده و به نوبه خود باعث تشدید چاقی می‌شود (۳۹). توسعه میتوفاژی باعث

و فشار اکسایشی را سرکوب می‌کند، که متعاقباً باعث کاهش ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی می‌شود.

بیماری‌های نورودیزنریتیو

بیماری تخریب عصبی یک اصطلاح کلی برای مجموعه‌ای از بیماری‌های ناشی از انحطاط پیش‌رونده مزمن بافت عصبی است که شایع‌ترین اختلال سیستم عصبی در سالمندان است و با انحطاط انتخابی و از دست دادن نورون‌های مرکزی مشخص می‌شود. اغلب بیماران علائمی از جمله زوال شناختی، از دست دادن حافظه و اختلالات گفتار و فعالیت روزانه دارند. بیماری‌های نورودیزنراتیو رایج شامل بیماری پارکینسون، بیماری آلزایمر، بیماری هانتینگتون و اسکروز جانبی آمیوتروفیک می‌باشند. نورون‌ها به انرژی زیادی نیاز دارند و ناهنجاری در ساختار و عملکرد میتوکندری می‌تواند باعث انحطاط عصبی شود. تحقیقات نوظهور نشان می‌دهد که اختلال در میتوفاژی میتوکندریایی ارتباط نزدیکی با بیماری‌های نورودیزنراتیو دارد (۴۶، ۴۷).

نقش میتوفاژی در سالمندی:

پیری یک فرآیند بیولوژیکی چند عاملی پیچیده است که تقریباً تمام سلول‌ها و بافت‌های بدن را تحت تأثیر قرار می‌دهد و منجر به اختلال در عملکرد و از دست دادن هموستاز می‌شود. شواهدی وجود دارد که آسیب ژنتیکی در بافت‌های بدنی در طول پیری پستانداران انباشته می‌شود (۴۸). در واقع، افزایش وابسته به سن در گونه‌های فعال اکسیژن مسئول فرآیند پیری در نظر گرفته می‌شود، در حالی که اختلال

میتوفاژی به طور قابل توجهی استرس شبکه آندوپلاسمی را مهار می‌کند و عملکرد سلول‌های β پانکراس را بهبود بخشیده و از توسعه دیابت و عوارض ناشی از آن جلوگیری می‌نماید.

کبد چرب غیر الکلی

بیماری کبد چرب غیر الکلی به مجموعه‌ای از بیماری‌های ناشی از اختلال عملکرد متابولیک چند سیستمی که منجر به آسیب مزمن کبدی از جمله استئاتوز کبدی، فیروز کبدی، سیروز کبدی، کارسینوم کبدی و غیره می‌شود (۴۳). پس از ابتلا به کبد چرب غیر الکلی، میتوفاژی کبدی غیرطبیعی شده و گونه‌های فعال اکسیژن در بافت کبد افزایش یافته که منجر به عدم تعادل متابولیسم چربی-انرژی کبدی شده و بیشتر باعث ایجاد التهاب و فیروز کبدی بیشتر می‌گردد (۴۴). مطالعات تأیید کرده‌اند که بهبود میتوفاژی، التهاب کبد و فشار اکسایشی را کاهش داده و از تشدید پاتولوژیک کبد چرب غیر الکلی جلوگیری می‌کند.

بیماری‌های قلبی عروقی

بیماری‌های قلبی عروقی تهدید اصلی برای سلامت انسان است و باعث مرگ و میر ناشی از بیماری‌های غیر عفونی در سراسر جهان می‌شود. اختلال عملکرد میتوکندری می‌تواند باعث جدا شدن زنجیره‌های تنفسی میتوکندری شده که منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش سنتز ATP شده و منجر به آسیب کاردیومیوسیت، القای آپوپتوز یا نکروز می‌شود و آسیب بافت میوکارد را تشدید می‌کند (۴۵). مطالعات نشان داده‌اند که افزایش میتوفاژی پاسخ‌های التهابی

عملکرد میتوکندری به عنوان مشخصه پیری در نظر گرفته می‌شود (۴۹). در طول پیری، میتوفاژی به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد و منجر به تجمع میتوکندری‌های ناکارآمد می‌شود که خود موجب تضعیف سلولی ناشی از سالمندی می‌گردد. به همین دلیل افزایش میتوفاژی می‌تواند روند پیری را کند نموده و به کیفیت عمر منجر گردد.

اثر تمرینات هوازی بر میتوفاژی

همان‌طور که اشاره شد میتوفاژی یکی از مکانیسم‌های اساسی برای حفظ کیفیت میتوکندری و هموستاز سلولی بوده و می‌تواند به طور انتخابی میتوکندری‌های آسیب دیده را حذف کند و نقش مفیدی در بسیاری از بیماری‌های ایفا نماید. فعالیت بدنی منظم اساس پیشگیری و درمان بیماری‌ها به ویژه بیماری‌های متابولیک در نظر گرفته می‌شود و می‌تواند با تنظیم میتوفاژی در فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیک بیماری‌های متابولیک مداخله کند (۱۵). از آنجایی که انواع برنامه‌های تمرینی مسیرهای گوناگون سیگنالینگ را فعال می‌کنند، این احتمال وجود دارد که اثر تمرینات بدنی متفاوت اثرات یکسانی بر میتوفاژی میتوکندریایی و به دنبال آن سلامتی نداشته باشند. با این وجود نتایج مطالعات بر این نکته توافق دارند که فعالیت‌های بدنی اثرات مثبتی بر سلامتی به واسطه تنظیم میتوفاژی دارند، اما میزان اثرگذاری آن‌ها به یک اندازه نمی‌باشد.

تمرینات هوازی پیوسته

تمرینات هوازی پیوسته یکی از قدیمی‌ترین و پرکاربردترین شکل تمرینات هوازی می‌باشد. این تمرینات معمولاً در زمان‌های طولانی و با شدت‌های زیر بیشینه انجام می‌شوند. اثر این نوع تمرینات بر میتوفاژی میتوکندریایی به دفعات توسط پژوهشگران مورد مطالعه قرار گرفته است. دورنمای مطالعات انجام شده نشان می‌دهد تمرینات هوازی پیوسته میتوفاژی را در بافت‌های گوناگون تنظیم می‌کند. گزارش شده چهار هفته تمرین دویدن روی چرخ گردان پروتئین‌های مسیر میتوفاژی به ویژه Parkin را در قلب رت‌ها افزایش داد. این افزایش با افزایش تعداد میتوکندری‌های قلبی و واگردش میتوکندریایی همراه بود (۵۰). همسو با این نتایج فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ PINK/Parkin همراه با توسعه اتوفاژی و میتوفاژی و بهبود توده عضلانی در موش‌های مسن پس از شانزده هفته دویدن روی چرخ گردان گزارش شده است (۵۱). شش هفته تمرین هوازی روی نوار گردان با افزایش بیان پروتئین PINK/Parkin، افزایش سطح میتوفاژی عضله اسکلتی رت همراه بود. این تغییرات با بهبود عملکرد میتوکندریایی شامل بهبود سنتز ATP و فعالیت سیترات سنتاز و افزایش حجم و تعداد میتوکندری و عملکرد هوازی همراه بود (۵۲). در رت‌های پیر هشت هفته تمرین هوازی روی نوار گردان موجب بهبود پویایی و عملکرد میتوکندریایی و کاهش آپوپتوز بافت میوکارد شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد تمرینات هوازی منظم از آسیب ناشی از سالمندی در عملکرد میتوکندری و آپوپتوز با واسطه

میتوکندری در عضلات قلب جلوگیری می‌کند (۵۳). تمرین هوازی روی نوار گردان در رت‌های مبتلا به آسیب ایسکمیک مغزی موجب بهبود عملکرد میتوکندریایی، کاهش حجم انفارکتوس مغزی، بهبود مورفولوژی بافت، کاهش از دست دادن نورون، مهار نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری ف مهار آپوپتوز و آسیب میتوکندریایی شد که نشان می‌دهد تمرین هوازی می‌تواند به واسطه حفظ یکپارچگی میتوکندریایی آسیب ناشی از ایسکمیک مغزی را کاهش دهد (۵۴). حتی یک جلسه فعالیت هوازی موجب افزایش بیان پروتئین‌های تنظیم کننده میتوفاژی عضله اسکلتی در بافت عضله اسکلتی رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۱ همراه با افزایش اتوفاژی و میتوفاژی بیوژنز میتوکندری شد. این یافته هانسان می‌دهد اثر مثبت فعالیت‌های هوازی با یک جلسه فعالیت آغاز شده و می‌تواند پس از تکرار آن به صورت سازگاری‌های با ثبات مشاهده گردد (۵۵).

تمرینات هوازی تناوبی

در سال‌های اخیر استفاده از تمرینات هوازی تناوبی به ویژه تمرینات تناوبی پر شدت جهت توسعه سلامتی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. گزارش شده تمرین تناوبی با شدت بالا سطوح میتوفاژی را ارتقا می‌دهد. چهار هفته تمرین تناوبی با شدت بالا سطوح PGC-1 α به عنوان پروتئین تنظیم‌گر بیوژنز میتوکندریایی، PINK/Parkin به عنوان تنظیم‌کننده‌ای میتوفاژی به طور قابل توجهی در عضله اسکلتی رت افزایش داده و هم‌زمان به طور قابل توجهی از

بیان پروتئین‌های التهابی و نشانگر فشار اکسایشی جلوگیری نمود. این تغییرات به بهبود عملکرد عضله اسکلتی (افزایش زمان رسیدن به خستگی) همراه بود (۵۶). در مطالعه دیگر دوازده هفته تمرین تناوبی با شدت بالا، سطوح پروتئین‌های درگیر در روند بیوژنز میتوکندریایی (TFAM) و میتوفاژی (Parkin) را در عضله اسکلتی افراد مسن چاق همراه با محتوای میتوکندری عضله اسکلتی و کنترل توده عضلانی را بهبود بخشید که این تغییرات با بهبود عملکرد عضله اسکلتی همراه بود. این یافته‌ها نشان دهنده نقش تنظیمی میتوکندری در بهبود عملکرد عضله اسکلتی می‌باشد (۵۷). این یافته‌ها (افزایش پروتئین‌های بیوژنز میتوکندریایی و میتوفاژی به همراه بهبود توده عضلانی و بهبود عملکرد عضلانی) در مطالعه دیگری که توسط Marcangeli و همکاران (۲۰۲۲) انجام شد در عضله اسکلتی افراد سالمند مورد تأیید قرار گرفته است (۵۸). در مطالعه دیگری هشت ماه تمرین تناوبی با شدت بالا در مقایسه با تمرین تداومی با شدت متوسط در رت‌های ماده سالمند موجب افزایش قابل ملاحظه در پروتئین‌های مرتبط با بیوژنز و میتوفاژی میتوکندری را تنظیم نموده و موجب بهبود عملکرد میتوکندریایی عضله اسکلتی در شرایط سالمندی شد (۵۹).

مکانیسم مولکولی تمرینات هوازی بر

میتوفاژی

مکانیسم‌های مولکولی متعددی برای بهبود میتوفاژی میتوکندریایی پس از تمرینات هوازی پیشنهاد شده است.

فشار اکسایشی فرآیندی است که در آن تولید گونه‌های فعال اکسیژن در یک ارگانسیم از ظرفیت مهار سیستم آنتی‌اکسیدانی فراتر می‌رود و در نتیجه به سلول‌ها و بافت‌ها آسیب می‌رساند (۶۰). کاهش فشار اکسایشی ناشی از تمرین که بیشتر به واسطه افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی ایجاد می‌گردد یکی از مکانیسم‌های مولکولی برای توجیه افزایش میتوفاژی می‌باشد. زیرا افزایش گونه‌های فعال اکسیژن روند میتوفاژی را مهار می‌نماید. از آنجایی که در اثر تمرینات هوازی ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی هم در سطح بافت و هم در گردش خون افزایش می‌یابد، توانایی بافتی برای خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن افزایش یافته و به دنبال آن بیان پروتئین‌های مسیر PINK/Parkin افزایش یافته و موجب بهبود میتوفاژی می‌گردد (۶۱). مکانیسم دیگر افزایش مایوکاین آزاد شده از عضله اسکلتی به ویژه آیرزین در پاسخ به تمرینات هوازی می‌باشد. شواهد نشان می‌دهد افزایش آیرزین با افزایش بیان پروتئین‌های PINK/Parkin همراه بوده که موجب افزایش میتوفاژی در بسیاری از سلول‌ها به ویژه سلول‌های عضله اسکلتی و عضله قلبی می‌شوند (۶۲). اثر تمرین هوازی بر بهبود میتوفاژی همراه با افزایش مسیر PGC1 α /FNDC5/irisin در مطالعه دیگر نیز در رت‌های سالمند گزارش شده که نشان می‌دهد تمرین هوازی به واسطه توسعه مایوکاین‌ها روند میتوفاژی میتوکندریایی را توسعه می‌دهد (۶). مکانیسم دیگری که تمرینات هوازی به واسطه آن موجب تنظیم و توسعه میتوفاژی می‌شود، مهار آپوپتوز

می‌باشد. آپوپتوز یکی از اشکال ضروری مرگ سلولی است و مهار آپوپتوز می‌تواند بروز و توسعه بیماری‌های متابولیک را کند نماید (۶۳). گزارش شده تمرین شنا به واسطه کاهش سطوح گلوکز، کاهش فشار اکسایشی و آپوپتوز موجب افزایش میتوفاژی در بافت قلب رت‌های چاق شد (۶۴). مکانیسم پیشنهادی دیگری که برای بهبود میتوفاژی ناشی از تمرین هوازی پیشنهاد شده است، کاهش التهاب می‌باشد (۶۵). گزارش شده تمرین هوازی به مدت ۱۶ هفته به طور قابل توجهی التهاب ناشی از پرفشار خونی را کاهش داده که این کاهش التهاب با بهبود میتوفاژی و بهبود عملکرد میتوکندریایی همراه بوده است (۶۶).

نتیجه‌گیری

در مجموع بررسی مطالعات انجام شده نشان می‌دهد میتوفاژی یکی از مکانیسم‌های تنظیمی میتوکندری بوده که به واسطه حذف میتوکندری‌های ناکارآمد و آسیب دیده موجب بهبود عملکردهای سلولی می‌گردد. اختلال در میتوفاژی میتوکندریایی از دلایل پاتوفیزیولوژی بسیاری از بیماری‌های متابولیک، نورودیزنریتیو، سرطان‌ها و سالمندی می‌باشد. فعالیت‌های بدنی به ویژه تمرینات هوازی به واسطه کاهش فشار اکسایشی، التهاب، آپوپتوز و تولید و آزادسازی مایوکاین‌ها به ویژه آیرزین موجب بهبود میتوفاژی میتوکندریایی، بهبود عملکرد سلولی و کاهش خطر ابتلا به بسیاری از بیماری‌های می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از رساله دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی می‌باشد که در گروه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی به تصویب رسیده است. نویسندگان این مقاله از مسئولین دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تربیت بدنی جهت مساعدت‌هایشان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله عدم تضاد منافع را اعلام می‌نمایند.

منابع

1. Martínez-Reyes I, Chandel NS. 2020. Mitochondrial TCA cycle metabolites control physiology and disease. *Nature communications*. 11(1):102.
2. Smith RL, Soeters MR, Wüst RC, Houtkooper RH. 2018. Metabolic flexibility as an adaptation to energy resources and requirements in health and disease. *Endocrine reviews*. 39(4):489-517.
3. Doblado L, Lueck C, Rey C, Samhan-Arias AK, Prieto I, Stacchiotti A, et al. 2021. Mitophagy in human diseases. *International journal of molecular sciences*. 22(8):3903.
4. Kim I, Rodriguez-Enriquez S, Lemasters JJ. 2007. Selective degradation of mitochondria by mitophagy. *Archives of biochemistry and biophysics*. 462(2):245-53.
5. Bakula D, Scheibye-Knudsen M. 2020. Mitophagy: mitophagy in aging and disease. *Frontiers in cell and developmental biology*. 8:239.
6. He W, Wang P, Chen Q, Li C. 2020. Exercise enhances mitochondrial fission and mitophagy to improve myopathy following critical limb ischemia in elderly mice via the PGC1a/FNDC5/irisin pathway. *Skeletal muscle*. 10:1-14.
7. Zhang Y, Oliveira AN, Hood DA. 2020. The intersection of exercise and aging on mitochondrial protein quality control. *Experimental Gerontology*. 131:110824.
8. Hood DA, Memme JM, Oliveira AN, Triolo M. 2019. Maintenance of skeletal muscle mitochondria in health, exercise, and aging. *Annual Review of Physiology*. 81(1):19-41.
9. Wang Y, Li J, Zhang Z, Wang R, Bo H, Zhang Y. 2023. Exercise improves the coordination of the mitochondrial unfolded protein response and mitophagy in aging skeletal muscle. *Life*. 13(4):1006.
10. Guan Y, Drake JC, Yan Z. 2019. Exercise-induced mitophagy in skeletal muscle and heart. *Exercise and sport sciences reviews*. 47(3):151-6.
11. Sanchez AM, Candau R, Bernardi H. 2019. Recent data on cellular component turnover: focus on adaptations to physical exercise. *Cells*. 8(6):542.
12. Balan E, Schwalm C, Naslain D, Nielens H, Francaux M, Deldicque L. 2019. Regular endurance exercise promotes fission, mitophagy, and oxidative phosphorylation in human skeletal muscle independently of age. *Frontiers in physiology*. 10:1088.
13. Delaney NF, Sharma R, Tadvalkar L, Clish CB, Haller RG, Mootha VK. 2017. Metabolic profiles of exercise in patients with McArdle disease or mitochondrial myopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 114(31):8402-7.
14. Liang J, Wang C, Zhang H, Huang J, Xie J, Chen N. 2021. Exercise-induced benefits for Alzheimer's disease by stimulating mitophagy and improving mitochondrial function. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 13:755665.
15. Memme JM, Erlich AT, Phukan G, Hood DA. 2021. Exercise and mitochondrial health. *The Journal of physiology*. 599(3):803-17.
16. Tang S, Geng Y, Lin Q. 2024. The role of mitophagy in metabolic diseases and its exercise intervention. *Frontiers in Physiology*. 15:1339128.
17. Palikaras K, Lionaki E, Tavernarakis N. 2018. Mechanisms of mitophagy in cellular homeostasis, physiology and pathology. *Nature cell biology*. 20(9):1013-22.
18. Zachari M, Ktistakis NT. 2020. Mammalian mitophagosome formation: a focus on the early signals and steps. *Frontiers in cell and developmental biology*. 8:171.
19. Lemasters JJ. 2014. Variants of mitochondrial autophagy: Types 1 and 2 mitophagy and micromitophagy (Type 3). *Redox biology*. 2:749-54.
20. Um J-H, Kim YY, Finkel T, Yun J. 2018. Sensitive measurement of mitophagy by flow cytometry using the pH-dependent fluorescent reporter mt-Keima. *Journal of visualized experiments: JoVE*. (138).
21. Cummins N, Götz J. 2018. Shedding light on mitophagy in neurons: what is the evidence for PINK1/Parkin mitophagy in vivo? *Cellular and Molecular Life Sciences*. 75(7):1151-62.
22. Zhang Y, Zhang M, Zhu W, Yu J, Wang Q, Zhang J, et al. 2020. Succinate accumulation induces mitochondrial reactive oxygen species

- generation and promotes status epilepticus in the kainic acid rat model. *Redox Biology*. 28:101365.
23. Bernardini J, Lazarou M, Dewson G. Parkin and mitophagy in cancer. 2017. *Oncogene*. 36(10):1315-27.
24. Bravo-San Pedro JM, Kroemer G, Galluzzi L. 2017. Autophagy and mitophagy in cardiovascular disease. *Circulation research*. 120(11):1812-24.
25. Gustafsson ÅB, Dorn GW. 2019. Evolving and expanding the roles of mitophagy as a homeostatic and pathogenic process. *Physiological reviews*. 99(1):853-92.
26. Cadenas E, Davies KJ. 2009. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free radical biology and medicine*. 29(3-4):222-30.
27. Ashrafi G, Schwarz T. 2013. The pathways of mitophagy for quality control and clearance of mitochondria. *Cell Death & Differentiation*. 20(1):31-42.
28. Narendra D, Tanaka A, Suen D-F, Youle RJ. 2008. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *The Journal of cell biology*. 183(5):795-803.
29. Iorio R, Celenza G, Petricca S. 2021. Mitophagy: molecular mechanisms, new concepts on parkin activation and the emerging role of AMPK/ULK1 axis. *Cells*. 11(1):30.
30. Georgakopoulos ND, Wells G, Campanella M. 2017. The pharmacological regulation of cellular mitophagy. *Nature chemical biology*. 13(2):136-46.
31. Killackey SA, Philpott DJ, Girardin SE. 2020. Mitophagy pathways in health and disease. *Journal of Cell Biology*. 219(11):e202004029.
32. Youle RJ, Narendra DP. 2011. Mechanisms of mitophagy. *Nature reviews Molecular cell biology*. 12(1):9-14.
33. Matsuda N, Sato S, Shiba K, Okatsu K, Saisho K, Gautier CA, et al. 2010. PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy. *Journal of Cell Biology*. 189(2):211-21.
34. Vives-Bauza C, Zhou C, Huang Y, Cui M, De Vries RL, Kim J, et al. 2010. PINK1-dependent recruitment of Parkin to mitochondria in mitophagy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 107(1):378-83.
35. Vargas JNS, Wang C, Bunker E, Hao L, Maric D, Schiavo G, et al. 2019. Spatiotemporal control of ULK1 activation by NDP52 and TBK1 during selective autophagy. *Molecular cell*. 74(2):347-62. e6.
36. Yamano K, Kikuchi R, Kojima W, Hayashida R, Koyano F, Kawawaki J, et al. 2020. Critical role of mitochondrial ubiquitination and the OPTN-ATG9A axis in mitophagy. *Journal of Cell Biology*. 219(9).
37. Wang X, Winter D, Ashrafi G, Schlehe J, Wong YL, Selkoe D, et al. 2011. PINK1 and Parkin target Miro for phosphorylation and degradation to arrest mitochondrial motility. *Cell*. 147(4):893-906.
38. Chen Y, Dorn GW. 2013. PINK1-phosphorylated mitofusin 2 is a Parkin receptor for culling damaged mitochondria. *Science*. 340(6131):471-5.
39. Wu H, Wang Y, Li W, Chen H, Du L, Liu D, et al. 2019. Deficiency of mitophagy receptor FUNDC1 impairs mitochondrial quality and aggravates dietary-induced obesity and metabolic syndrome. *Autophagy*. 15(11):1882-98.
40. Wang S, Zhao H, Lin S, Lv Y, Lin Y, Liu Y, et al. 2023. New therapeutic directions in type II diabetes and its complications: mitochondrial dynamics. *Frontiers in endocrinology*. 14:1230168.
41. Wen W, Wei Y, Gao S. 2023. Functional nucleic acids for the treatment of diabetic complications. *Nanoscale Advances*. 5(20):5426-34.
42. Čater M, Bombek LK. 2022. Protective role of mitochondrial uncoupling proteins against age-related oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Antioxidants*. 11(8):1473.
43. Boeckmans J, Rombaut M, Demuyser T, Declerck B, Piérard D, Rogiers V, et al. 2021. Infections at the nexus of metabolic-associated fatty liver disease. *Archives of Toxicology*. 95:2235-53.
44. Clare K, Dillon JF, Brennan PN. 2022. Reactive oxygen species and oxidative stress in the pathogenesis of MAFLD. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*. 10(5):939.
45. Li A-l, Lian L, Chen X-n, Cai W-h, Fan X-b, Fan Y-j, et al. 2023. The role of mitochondria in myocardial damage caused by

energy metabolism disorders: From mechanisms to therapeutics. *Free Radical Biology and Medicine*.

46. Hwang S, Disatnik MH, Mochly-Rosen D. 2015. Impaired GAPDH-induced mitophagy contributes to the pathology of Huntington's disease. *EMBO molecular medicine*. 7(10):1307-26.

47. Palomo G, Granatiero V, Kawamata H. 2018. Parkin is a disease modifier in the mutant SOD1 mouse model of ALS. *EMBO Mol Med* 10 (10): e8888.

48. Lombard DB, Chua KF, Mostoslavsky R, Franco S, Gostissa M, Alt FW. 2005. DNA repair, genome stability, and aging. *Cell*. 120(4):497-512.

49. Scialo F, Sriram A, Fernandez-Ayala D, Gubina N, Lohmus M, Nelson G, et al. 2016. Mitochondrial ROS produced via reverse electron transport extend animal lifespan. *Cell metabolism*. 23(4):725-34.

50. Nijholt KT, Sánchez-Aguilera PI, Mahmoud B, Gerding A, Wolters JC, Wolters AH, et al. 2023. A Kinase Interacting Protein 1 regulates mitochondrial protein levels in energy metabolism and promotes mitochondrial turnover after exercise. *Scientific Reports*. 13(1):18822.

51. Chen YL, Ma YC, Tang J, Zhang D, Zhao Q, Liu JJ, et al. 2023. Physical exercise attenuates age-related muscle atrophy and exhibits anti-ageing effects via the adiponectin receptor 1 signalling. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*. 14(4):1789-801.

52. Ma C, Zhao Y, Ding X, Gao B. 2022. The role of Sirt3 in the changes of skeletal muscle mitophagy induced by hypoxic training. *General Physiology & Biophysics*. 41(5).

53. No M-H, Heo J-W, Yoo S-Z, Kim C-J, Park D-H, Kang J-H, et al. 2020. Effects of aging and exercise training on mitochondrial function and apoptosis in the rat heart. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 472:179-93.

54. Pan G, Zhang H, Zhu A, Lin Y, Zhang L, Ye B, et al. 2021. Treadmill exercise attenuates cerebral ischaemic injury in rats by protecting mitochondrial function via enhancement of caveolin-1. *Life Sciences*. 264:118634.

55. Mikhail AI, Manta A, Ng SY, Osborne AK, Mattina SR, Mackie MR, et al. 2023. A single dose of exercise stimulates skeletal muscle

mitochondrial plasticity in myotonic dystrophy type 1. *Acta Physiologica*. 237(4):e13943.

56. Yamauchi N, Tamai K, Kimura I, Naito A, Tokuda N, Ashida Y, et al. 2023. High-intensity interval training in the form of isometric contraction improves fatigue resistance in dystrophin-deficient muscle. *The Journal of Physiology*. 601(14):2917-33.

57. Youssef L, Granet J, Marcangeli V, Dulac M, Hajj-Boutros G, Reynaud O, et al., editors. 2022. Clinical and biological adaptations in obese older adults following 12-weeks of high-intensity interval training or moderate-intensity continuous training.

58. Marcangeli V, Youssef L, Dulac M, Carvalho LP, Hajj-Boutros G, Reynaud O, et al. 2022. Impact of high-intensity interval training with or without l-citrulline on physical performance, skeletal muscle, and adipose tissue in obese older adults. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*. 13(3):1526-40.

59. Han C, Lu P, Yan S-z. 2022. Effects of high-intensity interval training on mitochondrial supercomplex assembly and biogenesis, mitophagy, and the AMP-activated protein kinase pathway in the soleus muscle of aged female rats. *Experimental Gerontology*. 158:111648.

60. Stavely R, Ott LC, Sahakian L, Rashidi N, Sakkal S, Nurgali K. 2023. Oxidative stress and neural dysfunction in gastrointestinal diseases: can stem cells offer a solution? *Stem Cells Translational Medicine*. 12(12):801-10.

61. Zhao D, Sun Y, Tan Y, Zhang Z, Hou Z, Gao C, et al. 2018. Short-duration swimming exercise after myocardial infarction attenuates cardiac dysfunction and regulates mitochondrial quality control in aged mice. *Oxidative medicine and cellular longevity*. (1):4079041.

62. Li H, Qin S, Liang Q, Xi Y, Bo W, Cai M, et al. 2021. Exercise training enhances myocardial mitophagy and improves cardiac function via Irisin/FNDC5-PINK1/Parkin pathway in MI mice. *Biomedicine*. 9(6):701.

63. Kaur B, Sharma PK, Chatterjee B, Bissa B, Nattarayan V, Ramasamy S, et al. 2023. Defective quality control autophagy in Hyperhomocysteinemia promotes ER stress and consequent neuronal apoptosis through proteotoxicity. *Cell Communication and Signaling*. 21(1):258.

64. Dun Y, Hu Z, You B, Du Y, Zeng L, Zhao Y, et al. 2023. Exercise prevents fatal stress-induced myocardial injury in obese mice. *Frontiers in Endocrinology*. 14:1223423.

65. Ma L, Li K, Wei W, Zhou J, Li Z, Zhang T, et al. 2023. Exercise protects aged mice against coronary endothelial senescence via FUNDC1-

dependent mitophagy. *Redox Biology*. 62:102693.

66. Bal NB, Bostanci A, Sadi G, Dönmez MO, Uludag MO, Demirel-Yilmaz E. 2022. Resveratrol and regular exercise may attenuate hypertension-induced cardiac dysfunction through modulation of cellular stress responses. *Life Sciences*. 296:120424.

The effect of aerobic exercise on mitochondrial mitophagy

Farank Amini¹, Mohammad Ali Azarbayjani², Shahin Riyahi Malayeri³, Lida Moradi

- 1- Department of exercise physiology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran.Iran
- 2- Department of exercise physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran.Iran
- 3- Department of exercise physiology, East, Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran.Iran

Abstract

Mitochondria is one of the dynamic organelles in the cell, the dysfunction of which weakens the function of the cell and ultimately causes cell death. Mitophagy is the selective autophagy of damaged mitochondria, which improves cell biological functions by removing dysfunctional mitochondria. The PINK1-Parkin signaling pathway is one of the most important mitophagy regulation pathways. The PINK1-Parkin signaling pathway is one of the most important mitophagy regulation pathways. Disruption of mitophagy is the main cause of many metabolic, neurodegenerative diseases, cancers and aging. The evidence obtained from human and animal studies shows that aerobic exercise develops mitochondrial mitophagy by regulating and activating signaling pathways and maintains health at the cell level, thereby reducing the incidence of diseases. Although the exact molecular mechanism of the effect of aerobic exercise on the development of mitochondrial mitophagy is not known, the results of several studies show a reduction in oxidative stress, inflammation, apoptosis, and an increase in anti-inflammatory myokines along with regular aerobic exercise by activating mitophagic signaling pathways, especially the PINK1 signaling pathway. -Parkin regulates mitophagy in various tissues and in the conditions of old age, obesity, inactivity and metabolic disorders and prevents the development of many diseases. The regulatory role of aerobic exercises on mitophagy emphasizes the effectiveness of these exercises on tissue protection and health development.

Keywords: Mitophagy, aerobic exercise, oxidative stress, inflammation, apoptosis



رهیافتهای نوین در علوم سلولی و مولکولی

JNACMS

دوره ۲ شماره ۲ تابستان ۱۴۰۳

Journal homepage: <https://sanad.iau.ir/journal/nacms>



بررسی الگوی سرمی کوکسیلا بورنتی در نمونه های بالینی کارکنان کشتارگاه های شهرستان های اصفهان

فهیمة نوربخش^{۱*}، حسین چهارده معصومی^۲، محمدرضا صائبی^۳

۱. دکتری تخصصی سم شناسی، کارشناس معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان-ایران.

۲. دکتری دامپزشکی، کارشناس معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان-ایران.

۳. دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد-ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۰۸

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۲۲

چاپ: تابستان ۱۴۰۳

DOI:

کلمات کلیدی: کوکسیلا بورنتی، تب کیو،

کشتارگاه های اصفهان

* نویسنده مسئول: [Email](mailto:Fahimeh_nourbakhsh@yahoo.com)

Fahimeh_nourbakhsh@yahoo.com

چکیده

تب کیو به عنوان یک بیماری نو پدید در بسیاری از کشورها از جمله ایران مطرح است. تعیین میزان شیوع آلودگی و فاکتورهای خطر باعث می شود که اهمیت عفونت برای مسئولین بهداشتی نمایان گردد و امکانات و تجهیزات لازم جهت کنترل و پیش گیری و نیز، اولویت های پژوهشی مشخص شود. در این بررسی که به مدت یک سال از شهریور ماه سال ۱۴۰۲ تا شهریور ماه ۱۴۰۳ در کشتارگاه های شهرستان اصفهان انجام شد، ۱۰۰ نمونه سرمی از کارکنان کشتارگاه های سطح اصفهان جداسازی و اطلاعات آن تهیه و تنظیم گردید. نتایج حاصل از این بررسی پس از آنالیز ارئه گردیده است.

۱۰۰ نمونه جداسازی شده از کارکنان کشتارگاه های مورد مطالعه، ۳۳٪ از موارد بعنوان مثبت گزارش شدند. جهت تایید نهایی از حضور باکتری در این ۳۳٪ نمونه مورد مطالعه مثبت، از روش مولکولی استفاده گردید. از بین موارد مثبت جداسازی شده، ۱۲ مورد کارکنان بخش دام های زنده، ۲۰ مورد کارکنان بخش کشتارگاه و ۱ مورد کارکنان بخش اداری بودند. در روش مولکولی ژن های گروه OMP جداسازی گردیدند. در این میان ژن های گروه ۱۰ مورد از نمونه های مورد بررسی واجد ژن COM1 بودند. نتایج مطالعات نشان می دهد که روش واکنش زنجیره ی پلی مرز تک مرحله ای جهت تشخیص کوکسیلا بورنتی دارای حساسیت کافی نمی باشد و پیشنهاد می شود که از روش واکنش زنجیره ی پلی مرز آشیانه ای استفاده گردد. این روش نسبت به روش های کلاسیک از سرعت، دقت، اختصاصیت و حساسیت بالایی برخوردار است.

مقدمه

آنتی بادی های قابل کشف با تست فلورسنت غیر مستقیم به مدت ۱۵-۱۰ سال دوام خواهد یافت. تست الیزا به عنوان یک روش مناسب و عمومی در بیوشیمی غربالگری است. که در این مطالعه با بهره گیری از این روش به مطالعه سرم های مشکوک از نظر حضور آنتی بادی های ضد کوکسیلا بورتتی پرداختیم.

مطالعات در زمینه‌ی آزمایش های ایمنی شناسی نشان می دهد که کوکسیلا بورتتی تنها جرمی است در بین ریکتزیا ها که تغییرات فاز نشان می دهد. به عبارت دیگر از نظر ساختمانی دو فاز موجود است: فاز یک : که در حقیقت نخستین مرحله‌ای است که آن را در روی حیوان بیمار و یا در اثر گذراندن در روی حیوان آزمایشگاهی می یابند و شکل توکسیک و خطرناک برای انسان نیز محسوب می شود و کپسول پلی ساکارید دارد. فاز دو : خاصیت توکسیک کمتری دارد و سوبه هایی در این فاز هستند که در تخم مرغ کشت داده و از این رو پادگن پوششی را از دست داده اند. در آزمایشگاه کار کردن با این سوبه ها برای کارکنان خطر کمتری دارد. در این بررسی که به مدت یک سال در کشتارگاه های اصفهان انجام شد، ۱۰۰ نمونه سرمی از کارکنان کشتارگاه های سطح اصفهان جداسازی و اطلاعات هر یک طی پرسش نامه ای مجزا تهیه و تنظیم گردید.

کلیه مراحل جداسازی و تشخیص آنتی بادی Igm با استفاده از کیت Virion/Serion مورد تایید قرار گرفت.

کوکسیلا بورتتی^۳ انگل اجباری درون یاخته می باشد. بنابر این در محیط کشت غیر زنده رشد نمی کند. کشت آن در رویان جوجه و در زرده تخم مرغ و در حرارت ۳۵ درجه بهتر است. و حداکثر رشد و نمو هنگامی است که مرگ رویان نزدیک می شود. این باکتری ارگانسیم مقاومی است، به طوری که به مدت ۷ تا ۱۰ روز در دمای ۱۵ تا ۲۰ درجه سانتی گراد در پشم گوسفندان و به مدت بیش از یک ماه در گوشت تازه و به مدت ۴۰ ماه در سر شیر، زنده می ماند (۱). احتمالاً شایع ترین چهره بالینی تب Q را تشکیل می دهد. به طوری که در سرم ۱۱-۱۲ درصد ساکنین مناطق بومی بیماری، آنتی بادی ضد کوکسیلا بورتتی یافت شده است. در حالی که اغلب آنها سابقه واضحی از ابتلاء به این بیماری را ذکر نمی کنند. به نظر می رسد عواملی نظیر سن ابتلاء و تعداد میکروارگانیسمی که وارد بدن می شود در میزان بروز این چهره بیماری دخیل باشد. ضمناً ممکن است عفونت مزبور، کاملاً بدون علامت باشد (۲-۴).

حساسیت به این بیماری عمومیت دارد. احتمالاً مصونیتی که بعد از بهبودی حاصل می شود تا پایان عمر، ادامه خواهد یافت و در این حالت دوام ایمنی سلولی بیشتر از ایمنی هومورال است. به طوری که آنتی بادی های فیکسایون کمپلمان به مدت ۳-۵ سال و

^۱ - Coxiella burnetii

مراحل انجام آزمایش مطابق با دستورالعمل کیت مربوطه انجام شد. جهت تایید نهایی از حضور باکتری در نمونه های واجد آنتی بادی ضد کوکسیلا بورتتی، از آزمون Nested-PCR استفاده شد (۵).

گر چه تشخیص با روش های سرولوژی راحت انجام می شود، حضور آنتی بادی های غالب بعد از دو یا سه هفته از شروع بیماری در انسان قابل پیگیری هستند. تست الایزا^{۱۴} نسبت به سایر تست های مورد بررسی مثل تثبیت کمپلمان و بررسی آنتی بادی های کمپلمان از دقت و سهولت بیشتری برخوردار است. از این جهت این مطالعه با هدف بررسی حضور آنتی بادی های تولید شده علیه کوکسیلا بورتتی با روش الایزا در سرم های مشکوک جداسازی شده از کارکنان کشتارگاه ها انجام شد.

روش کار

در این بررسی که به مدت یکسال در کشتارگاه های اصفهان انجام شد، ۱۰۰ نمونه سرمی از کارکنان کشتارگاه های سطح اصفهان جداسازی و اطلاعات هر یک طی پرسش نامه ای مجزا تهیه و تنظیم گردید. پرسشنامه شامل اطلاعات سن، جنس، سابقه ارتباط با احشام و همچنین رسیدگی های بهداشتی از جمله واکسیناسیون می باشد. از هر کدام از کارکنان ۵ سی سی نمونه خون وریدی اخذ و پس سانتریفیوژ در دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه، سرم بیمار جداسازی شد (۶). نمونه های جداسازی شده در فریزر ۲۰-

درجه تا انجام مراحل بعدی نگهداری شد. جهت بررسی حضور آنتی بادی های ضد کوکسیلا بورتتی، نمونه های سرمی با استفاده از آزمایش الایزا مورد بررسی قرار گرفت (۷-۹).

کلیه مراحل جداسازی و تشخیص آنتی بادی IgM با استفاده از کیت Virion/Serion مورد تایید قرار گرفت. مراحل انجام آزمایش مطابق با دستورالعمل کیت Serion-Rhumatoin Factor انجام شد (۱۰). با توجه به این که آنتی بادی های IgM غیر اختصاصی (فاکتور روماتوئید)^{۱۵} در روال آزمایش مثبت کاذب ایجاد می کنند، باید قبل از تشخیص IgM، این فاکتور حذف شود. محلول جاذب روماتوئید به صورت 4 ± 1 رقیق شدند. در مرحله بعد هر کدام از این نمونه ها به صورت 100 ± 1 رقیق شدند. سپس به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به هر یک از چاهک های میکروپلیت افزوده شد و پلیت ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. بعد از شستشو با محلول شستشوی داخل کیت، به مدت ۳۰ دقیقه محلول کنژوگه کیت اضافه شد. در مرحله بعد محلول سوبسترا اضافه گردید و در مرحله آخر محلول متوقف کننده اضافه گردید. جهت قرائت چاهک های میکروپلیت از دستگاه قرائت کننده الایزا در طول موج ۴۰۵ نانومتر استفاده شد (۱۱).

در نهایت اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از آمار توصیفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت تایید نهایی از حضور باکتری در نمونه های واجد آنتی بادی ضد کوکسیلا

بورنتی، از آزمون Nested-PCR^{۱۶} استفاده شد. جهت استخراج DNA از کیت استخراج سیناژن^۷ ساخت ایران استفاده شد و تمام مراحل کار مطابق با کیت مربوطه انجام گرفت. پرایمرهای مورد استفاده جهت تشخیص نهایی کوکسیلا بورنتی در جدول زیر ارائه شده است (۱۲).

جدول (۱): توالی پرایمرهای مورد استفاده

اندازه قطعه (bp)	توالی پرایمرها	پرایمرها
۵۰۱	AGTAGAAGCATCCCAAGCATTG TGCCTGCTAGCTGTAACGATTG	مرحله اول OMP1 OMP2
۴۳۸	GAAGCGCAACAAGAAGAACAC TTGGAAGTTATCACGCAGTTG	مرحله دوم OMP3 OMP4

در این مطالعه مقطعی-توصیفی همه شرکت کنندگان مورد مطالعه در کشتارگاه های اصفهان و مرد بودند. بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین کارکنان مورد مطالعه در بازه سنی ۲۰-۳۰ سال بودند. از این میزان بیشترین میزان آلودگی در کارکنان با همین میزان سن گزارش گردید. جدول (۲) مربوط به فراوانی سن کارکنان کشتارگاه های مورد مطالعه ارائه شده است.

نتایج بررسی الکتروفورز محصولات مرحله ی دوم PCR در ژل آگارز ارائه گردید. نتایج نهایی در نهایت با نرم افزار های آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها

در این بررسی که به مدت یک سال از شهریور ماه سال ۱۴۰۲ تا شهریور ماه ۱۴۰۳ در کشتارگاه های شهرستان اصفهان انجام شد، ۱۰۰ نمونه سرمی از کارکنان کشتارگاه های سطح اصفهان جداسازی و اطلاعات هر یک طی پرسش نامه ای مجزا تهیه و تنظیم گردید. از هر کدام از کارکنان ۵ سی سی نمونه خون وریدی اخذ و پس از سانتریفیوژ در دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه، سرم بیمار جداسازی شد.

^۱ - Cinnagen

7

^۶ - Polymerase Chain Reaction

جدول (۲): فراوانی عفونت کوکسیلا بر اساس سن

کارکنان کشتارگاه های مورد مطالعه

سن (سال)	تعداد کل	تعداد موارد مثبت	درصد موارد مثبت
۳۰-۲۰	۵۰	۲۳	۴۶٪
۴۰-۳۱	۳۵	۲۷	۷۷٪
۵۰-۴۱	۱۵	۹	۶۰٪
جمع	۱۰۰	۵۹	۵۹٪

پرسش نامه شامل اطلاعات سن، جنس، سابقه ارتباط با احشام و همچنین رسیدگی های بهداشتی از جمله واکسیناسیون می باشد. بر ارسال پرسشنامه های مورد بررسی تنها ۲۳٪ از کارکنان مورد واکسیناسیون قرار گرفته بودند. براین اساس اقدامات لازم جهت پیشگیری از ابتلا کارکنان و همچنین در نظر گرفتن واکسیناسیون اقدامی اساسی به نظر می رسد. طبق بررسی های انجام شده در این پژوهش، بیشترین ابتلا در کارکنان با میزان سابقه کار بین ۱۰-۶ سال سابقه کار بوده است. جدول مربوط به فراوانی عفونت کوکسیلا بورنتی در کارکنان کشتارگاه های مورد مطالعه بر اساس سابقه کار نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. از بین نمونه های سرم مورد مطالعه، ۵۹ نمونه سرم (۵۹٪) از نظر حضور آنتی بادی IgM مثبت بودند. با توجه به این که آنتی بادی های IgM غیر اختصاصی (فاکتور روماتوئید) در روال آزمایش مثبت

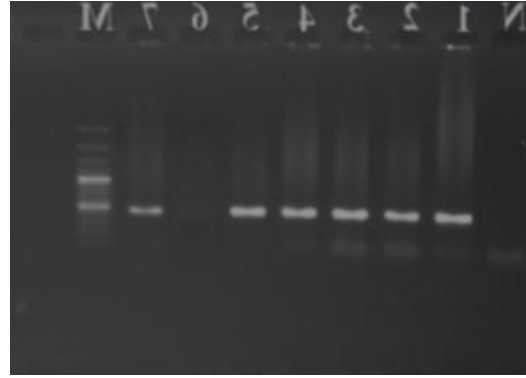
کاذب ایجاد می کنند، قبل از تشخیص IgM، این فاکتور حذف گردید.

محلول جاذب روماتوئید به صورت 4 ± 1 رقیق شد. در مرحله بعد هر کدام از این نمونه ها به صورت 100 ± 1 رقیق شدند. سپس به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به هر یک از چاهک های میکروپلیت افزوده شد و پلیت ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. بعد از شستشو با محلول شستشوی داخل کیت، به مدت ۳۰ دقیقه محلول کنژوگه کیت اضافه شد. در مرحله بعد محلول سوبسترا اضافه گردید و در مرحله آخر محلول متوقف کننده اضافه شد. در این مطالعه جهت قرائت چاهک های میکروپلیت از دستگاه قرائت کننده الایزا در طول موج ۴۰۵ نانومتر استفاده شد.

از ۱۰۰ نمونه جداسازی شده از کارکنان کشتارگاه های مورد مطالعه، ۵۹٪ از موارد بعنوان مثبت گزارش شدند. جهت تایید نهایی از حضور باکتری در این ۵۹٪ نمونه مورد مطالعه مثبت، از روش مولکولی استفاده گردید. از بین موارد مثبت جداسازی شده، ۱۲ مورد کارکنان بخش دام های زنده، ۲۰ مورد کارکنان بخش کشتارگاه و ۱ مورد کارکنان بخش اداری بودند. در روش مولکولی ژن های گروه OMP جداسازی گردیدند. در این میان ژن های گروه ۱۰ مورد از نمونه های مورد بررسی واجد ژن COM1 بودند. تصویر حاصل از الکتروفورز در نمونه های واجد ژن OMP در زیر ارائه شده است.

گروه OMP جداسازی گردید. در این میان ۱۰ مورد از نمونه های مورد بررسی واجد ژن گروه OMP بودند. نتایج مطالعات نشان می دهد که روش واکنش زنجیره ی پلی مرز تک مرحله ای جهت تشخیص کوکسیلا بورتتی دارای حساسیت کافی نمی باشد و پیشنهاد می شود که از روش واکنش زنجیره ی پلی مرز آشیانه ای استفاده گردد. این روش نسبت به روش های کلاسیک از سرعت، دقت، اختصاصیت و حساسیت بالایی برخوردار است (۱۵).

تب کیو یک بیماری شغلی در افرادی همچون دامپزشکان، کارگران کشتارگاه ها، دامداران و کارکنان آزمایشگاهی است. گسترش تب کیو به علت تماس افراد مستعد با دام آلوده اتفاق می افتد. در مطالعه حاضر از بین ۱۰۰ نمونه جداسازی شده از کارکنان کشتارگاه های اصفهان ۳۳ ایزوله کوکسیلا بورتتی جداسازی گردید (۱۶). گرچه هیچ گونه ارتباط معنی داری بین سابقه کاری کارکنان و آنتی بادی جداسازی شده پیدا نشد، اما بیشترین میزان نمونه جداسازی شده در بین کارکنان کمتر از ۳۰ سال با سابقه کاری بالا مشاهده گردید. این مساله نشان دهنده فراوانی ایزوله در کارکنانی است که با عدم واکسیناسیون در معرض نمونه های دامی آلوده قرار گرفته اند. از بین نمونه های سرم مورد مطالعه، تنها ۵۹ نمونه سرم (۵۹٪) از نظر حضور آنتی بادی های IgM مثبت بودند. با توجه به این که آنتی بادی های IgM غیر اختصاصی (فاکتور روماتوئید) در روال آزمایش مثبت کاذب ایجاد می کنند، قبل از تشخیص IgM



تصویر (۱): تصویر حاصل از الکتروفورز در نمونه های

واجد ژن OMP

بحث

تب کیو به عنوان یک بیماری نو پدید و باز پدید در بسیاری از کشورها از جمله ایران مطرح است. تعیین میزان شیوع آلودگی و فاکتورهای خطر باعث می شود که اهمیت عفونت برای مسئولین بهداشتی نمایان گردد و امکانات و تجهیزات لازم جهت کنترل و پیش گیری و نیز، اولویت های پژوهشی مشخص شود (۱۳).

مطالعه حاضر نخستین مطالعه در شهرستان اصفهان می باشد. تعیین میزان شیوع بیماری و فاکتورهای خطر باعث می شود که اهمیت این بیماری در جمعیت، برای مسئولین بهداشتی نمایان گردیده و امکانات و تجهیزات لازم کنترل و پیش گیری و نیز اولویت های پژوهشی مشخص شود. مطالعه حاضر، نشان داد که عفونت کوکسیلوزیس در سرم کارکنان شهرستان اصفهان وجود دارد و شیوع آن در ۱۰۰ نمونه جداسازی شده از کارکنان کشتارگاه های مورد مطالعه، ۵۹٪ گزارش مثبت است (۱۴). در این مطالعه جهت تایید نهایی از روش مولکولی استفاده گردید. در روش مولکولی ژن های

این فاکتور حذف گردید. با توجه به این که حضور آنتی بادی های IgM نشان دهنده ی فاز حاد بیماری است، می توان نتیجه گرفت که بیشتر کارکنان با سابقه کاری و سن بالای ۳۵ سال زمان لازم برای مقاومت در برابر محیط های آلوده به کوکسیلا داشته اند. از این جهت بیشترین میزان کوکسیلا بورتی جداسازی شده از کارکنان کشتارگاه ها با سن کمتر می باشد (۱۷).

در سال ۲۰۱۱ تربینداد و همکاران مطالعه ای در بین کارکنان کشتارگاه های مورد مطالعه خود انجام دادند که از ۴۵۵ مورد کارگر مورد مطالعه ۲۰ مورد (۴/۴٪) واجد IgM در سرم خون خود بودند. که با توجه به جامعه آماری مورد مطالعه ما نسبت متناسبی را نشان می دهد (۱۸). از بین موارد مثبت جداسازی شده، ۱۳ مورد کارکنان بخش دام های زنده، ۴ مورد کارکنان بخش کشتارگاه و ۳ مورد کارکنان بخش اداری بودند که مشابه به نتایج مطالعه حاضر می باشد. در مطالعه حاضر از بین موارد مثبت جداسازی شده، ۱۲ مورد کارکنان بخش دام های زنده، ۲۰ مورد کارکنان بخش کشتارگاه و ۱ مورد کارکنان بخش اداری بودند. در مطالعه ای که در سال ۱۹۸۸ در آدیس آبابا انجام شد، شیوع تب کیو در ۴۶۵ کارگر بررسی شد که از این میان ۶/۵٪ شیوع کوکسیلا بورتی سرمی گزارش شد (۱۹).

در مطالعه ای مشابه در ترکیه در سال ۲۰۰۰ نشان دهنده ی شیوع ۱۲٪ کوکسیلا بورتی از سرم کارکنان بخش کشتارگاه های مورد مطالعه بود (۲۰). نتایج مطالعه حاضر با

مطالعات انجام شده اخیر مطابقت دارد. و نشان دهنده شیوع کوکسیلا بورتی در سرم کارکنان کشتارگاه ها می باشد. با توجه به این که ایران در مرزهای شرقی با کشور افغانستان و پاکستان قرار دارد، و کنترل ورود دام های آلوده از این مرزها با عدم رعایت موازین بهداشتی انجام می شود، کنترل شیوع کوکسیلا بورتی مساله ای دشوار به نظر می رسد. در مناطق مختلف ایران نیز مطالعات سرولوژیک انجام شده و نتایج مختلفی از شیوع کوکسیلا بورتی گزارش می دهد. در مطالعه ای که توسط اسدی و همکاران انجام شد ۱۰۰٪ شیوع سرمی کوکسیلا بورتی گزارش گردید (۲۱). در این مطالعه ۱۱۳۷ نمونه سرمی از ۴۳ گله دامی جداسازی گردید. در شرق ایران خلیلی و سخایی شیوع کوکسیلا بورتی را ۶۵/۷۸٪ و ۱۰/۷۵٪ گزارش کردند (۲۲).

همچنین در مطالعه دیگری که توسط خلیلی و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام شد، شیوع سرمی کوکسیلا بورتی ۲۹/۴۲٪ برآورد شد. متاسفانه کشتارگاه ها اطلاعات کافی راجع به کوکسیلا بورتی و راه های انتقال آن ندارند و هیچ گونه اقدام پیشگیری از طرف مسئولین انجام نشده است (۲۳). تب کیو که به واسطه ی کوکسیلا بورتی است، یک بیماری مشترک بین انسان و دام با انتشار جهانی است که در نواحی جغرافیایی با آب و هوای متفاوت گزارش شده است. عامل بیماری یک میکروارگانیسم ریکتزیا مانند و دارای زندگی داخل سلولی اجباری به نام می باشد که طیف وسیعی از حیوانات از قبیل گاو، گوسفند، بز، سگ، گربه، و ماهی ها را

این گروه پاتوژن هایی می باشند که بیماری های آشکار ایجاد کرده و با استفاده از روش های مهندسی ژنتیک می توانند سرایت پذیری بسیار بالا و خطرناکی به علت در دسترس بودن، سهولیت در امر تولید و انتشار داشته باشند، این در حالی است که این میکروارگانیسم ها دارای آمار مرگ و میر بسیار بالا و همچنین تاثیرات چشمگیری بر روی سلامت هستند. از این رو بررسی حضور کوکسیلا در سرم کارکنان و کنترل ورود و خروج دام های آلوده ضروری به نظر می رسد.

آلوده می کند. از بین حیوانات اهلی، گاو های شیری، گوسفند و بز بزرگ ترین مخازن این باکتری هستند. رحم و غدد پستانی حیوان اولین محل جایگزینی عامل بیماری در فاز مزمن آلودگی با کوکسیلا بورنتی هستند. حیوانات آلوده این میکروارگانیسم را از طریق ترشحات دفعی، ترشحات رحمی و قطعاتی از جفت در طی زایمان، به میزان زیاد به محیط دفع می کنند. یکی دیگر از مهم ترین راه های دفع کوکسیلا بورنتی به محیط شیر دام های آلوده می باشد. شواهد سرولوژیکی در شرق ایران در مطالعه اسماعیلی و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دهنده ی آنتی بادی های فاز ۱ و ۲ در سرم کارکنان کشتارگاه های مورد مطالعه است. بیشترین میزان آنتی بادی گزارش شده در این کارکنان با مقادیر ۱۸/۱٪ گزارش شده است (۲۴-۲۵). در نهایت به نظر می رسد استفاده از روش های مولکولی همچون PCR از دقت بالاتری برای بررسی حضور کوکسیلا بورنتی برخوردار باشد.

نتیجه گیری

در نهایت به نظر می رسد استفاده از روش های مولکولی همچون PCR از دقت بالاتری برای بررسی حضور کوکسیلا بورنتی برخوردار باشد. سازمان بهداشت جهانی تخمین زده است که اگر کوکسیلا بورنتی در یک شهر که دارای حدود ۵ میلیون نفر جمعیت است به صورت اسپری پخش کنند، ۱۲۵،۰۰۰ نفر بیمار و ۱۵۰ مورد مرگ و میر رخ می دهد. همچنین این سازمان تخمین زده است که عامل می تواند تا شعاع ۲۰ کیلومتر در مسیر باد منتقل شود. عوامل میکروبی

منابع

1. Doosti A, Arshi A, Sadeghi M, *et al.* (2012). Investigation of *Coxiella burnetii* in Iranian Camels. *Journal of Medical Microbiology*. 6: 56-62.
2. Dupuis G, Petite J, Peter O, *et al.* An important outbreak of human *Q fever* in a Swiss Alpine Valley. *International Journal of Epidemiology*, 1987; 16: 282-287.
3. Fretz R, Schaeren W, Tanner M, *et al.* Screening of various foodstuffs for occurrence of *Coxiella burnetii* in Switzerland. *International Journal of Food Microbiology*, 2007; 116: 414-418.
4. Guatteo R, Beaudeau F, Shedding routs of *Coxiella burnetii* in dairy Cows: implications for detection and control. *Journal of Veterinary Research*, 2006; 37: 827-833.
5. Gyuranecz M, Hornok S, Viktor J, *et al.* Prevalence of *Coxiella burnetii* in Hungary: Screening of Dairy Cows, Sheep, Commercial Milk Samples, and Ticks. *Vector-borne and Zoonotic Diseases*, 2012; 12: 650-653.
6. Hirai A, Nakama A, Chiba T, *et al.* Development of a method for detecting *Coxiella burnetii* in Cheese samples. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2011; 74: 175-180.
- Hendrik J R, *Coxiella burnetii* in pregnant goats. *GVO drukkers&vormgevers*. 2013; 1: 10-21.
7. Howe GB, Loveless BM, Nonwood D, Craw P, *et al.* Real-time PCR for the early detection and Quantification of *Coxiella burnetii* as an alternative to the murine bioassay. *Journals Molecular and Cellular probes* 2009; 23: 127-31.
8. James H. Steele (Edit.) CRC Handbook Series in Zoonoses, Bacterial, Rickettsial and Mycotic Diseases, 2nd edition, volume 2, pp. 507-528.
9. Khalili M, Sakhaee E. An update on a serologic survey of Q fever in domestic animals in Iran. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2009; 80(6): 1031-2.
10. Khalili M, Sakhaee E, Golchin M, Q fever serology in febrile patients in Southeast Iran. *Transactions of the Royal society of Tropical Medicine & Hygiene*. 2010; 104(9): 623-4.
11. Kim S, Kim E, Lafferty C, *et al.* *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples, United States. *Emerging Infectious Diseases*, 2005; 11: 619-621.
12. Madariaga MG, Rezai K, Trenholme GM, *et al.* Q fever: a biological weapon in your backyard. 2003; 3(11): 709-21.
13. Maurin M, Q fever. *Clinical Microbiology Revoiuition*, 1999; 12: 518-553.18-2/2.
14. Motohiko O, Agus S, Kozue S, *et al.* Evaluation of PCR and Nested PCR assays currently used for detection of *Coxiella burnetii* in Japan. *National Institute of Infectious Diseases*, 2004; 35: 852-855.
15. Niemczuk K, Szymańska M. Epidemiology, Zoonotic Aspect and Current Epidemiological Situation of Q fever in Poland. *National Veterinary Research Institute*, 2012; 51: 380-392.
16. Rodolakis A. Q fever, state of: Epidemiology, diagnosis and prophylaxis. *Journal Small ruminant Research*, 2006; 62(1): 121-4.

17. Rudolf R, Rebecca M, Description of a *Coxiella burnetii* abortion outbreak in a Dairy Goat herd, and associated serology, PCR and genotyping results. *Research in Veterinary Science*, 2012; 93:1217–1224.
18. Trinidad A, Dookeran S, Stewart-Johnson A. Frequency of seropositivity for *Coxiella burnetii* immunoglobulins in livestock and abattoir workers in Trinidad. *J New Microbiol* 2011; 34(2): 219-24.
19. Abebe A. Prevalence of Q fever infection in the Addis Ababa abattoir. *Ethiop Med J* 1990; 28(3): 119-22.
20. Cetinkaya B, Kalender H, Ertas HB, Muz A, Arslan N, Ongor H, Gurçay M. Seroprevalence of coxiellosis in cattle, sheep and people in the east of Turkey. *Vet Rec* 2000; 146(5): 131-6.
21. Asadi J, Khalili M, Kafi M, Ansari-Lari M, Hosseini SM. Risk factors of Q fever in sheep and goat flocks with history of abortion. *Comp Clin Pathol* 2012; DOI 10.1007/s 00580-012-1661-9.
22. Khalili M, Sakhaee E. An update on a serologic survey of Q fever in domestic animals in Iran. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 80(6): 1031–2.
23. Khalili M, Shahabi-Nejad N, Golchin M. Q fever serology in febrile patients in southeast Iran. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2010; 104(9): 623-4.
24. Esmaili S, Gooya MM, Shirzadi MR, Esfandiari B, Amini FB, Behzadi MY, et al. Seroepidemiological Survey of tularemia among different groups in western Iran. *Int J Infect Dis* 2014; 18: 27-31.
25. Kirkan S, Kaya O, Tekbiyik S, Parin U. Detection of *Coxiella burnetii* in cattle by PCR. *Turk J Vet Anim Sci* 2008; 32(3): 215-20.

Study of *Coxiella burnetii* serotype in clinical samples of slaughterhouse workers in Isfahan cities

Fahimeh Nourbakhsh*1, Hossein Chahardeh Masoumi2, Mohammadreza Saebi3

1. PhD in Toxicology, Expert in the Deputy of Food and Drug Administration, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan-Iran.
2. PhD in Veterinary Medicine, Expert in the Deputy of Food and Drug Administration, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan-Iran.
3. PhD student in Food Hygiene, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord-Iran.

Abstract

Q fever is a newly emerging disease in many countries including Iran. Determining the prevalence of contamination and risk factors makes the importance of infection visible to health officials and the necessary facilities and equipment for control and prevention, as well as research priorities.

In this study, which was conducted for one year September 1402 to September 1403 in the slaughterhouses of Isfahan city, 100 serum samples were isolated from the employees of the slaughterhouses in Isfahan, and their information was prepared and adjusted. The results of this study have been presented after analysis.

100 samples isolated from the workers of the studied slaughterhouses, 33% of the cases were reported as positive. In order to finally confirm the presence of bacteria in these 33% positive samples, a molecular method was used. Among the isolated positive cases, 12 cases were employees of the live livestock department, 20 cases were employees of the slaughterhouse department and 1 case were employees of the administrative department. In the molecular method, the genes of the OMP group were isolated. Among these, the genes of 10 of the analyzed samples had the *COM₁* gene.

Conclusion: The results of the studies show that the one-step polymerase chain reaction method is not sensitive enough to detect *Coxiella burnetii* and it is suggested to use the nested polymerase chain reaction method. This method has high speed, accuracy, specificity and sensitivity compared to classical methods.

Key words: *Coxiella burnetii*, Q fever, Isfahan slaughterhouses

