تحقیقی

# توزیع فراوانی کمپیلوباکترژژونی درنمونه های اسهالی شهرگرگان

**ندا ضیائی**
کارشناس ارشد ، میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان

**نورامیرمظفّری**
دانشیار بیولوژی، مولکولی ،دانشگاه علوم پزشکی ایران

**هادی کوهساری**
مربی میکروبیولوژی ،،دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر

**عبدالوهّاب مرادی**
دانشیار ،دانشگاه علوم پزشکی گلستان،دانشکده پزشکی ،گروه میکروبیولوژی

**علیجان تبرّائی**
استادیار ، دانشگاه علوم پزشکی گلستان-دانشکده پزشکی ،گروه میکروبیولوژی-مرکز تحقیقات عفونی و گرمسیری

**تینا دادگر**
کارشناس ارشد ، دانشگاه علوم پزشکی گلستان-دانشکده پزشکی،گروه میکروبیولوژی

**صدیقه لیوانی**
کارشناس ،دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده پزشکی ،گروه میکروبیولوژی

**مریم عرب احمدی**
کارشناس زیست شناسی

**نویسنده مسئول:** ندا ضیائی
**تلفن:** ۰۹۳۵۷۷۱۷۹۸۷
**پست الکترونیک: :**
neda.ziaee61@gmail.com
**آدرس :** گرگان، گلها، سه راه مطهری گلبرگ یکم، پلاک ۱۶

**وصول مقاله:** ۸۷/۱۱/۱۵
**اصلاح نهایی:**۸۸/۱/۱۸
**پذیرش مقاله:**۸۸/۲/۶

## چکیده

***زمینه و هدف:*** *عفونتهای حادّ دستگاه گوارش ازجمله اسهال،یکی ازشایعترین عفونتهای انسانی درجهان می باشد. کمپیلوباکترژژونی یک عامل شایع اسهال باکتریایی دربسیاری ازکشورها بویژه کشورهای درحال توسعه است که به دلیل دشوار بودن تشخیص، عموماً درآزمایشگاههای تشخیص طبّی نادیده گرفته می شود.دراین تحقیق شیوع این باکتری درنمونه های اسهالی شهر گرگان مورد بررسی قرار گرفت .*

***روش بررسی:*** *این مطالعه توصیفی- مقطعی برروی ۴۵۵ نمونه اسهالی شهرگرگان که به مدت یک سال ازخرداد ۱۳۸۴تاخرداد ۱۳۸۵ جمع آوری شد،انجام گرفت.کشت ۲۵۵ نمونه اولیه بر روی محیط پرستون و دمای ۴۲ درجه انجام گردید ، استخراج DNA با روش فنل-کلروفرم مستقیماً روی نمونه مدفوع انجام شد.سپس از پرایمرهای اختصاصی 16srDNA برای تشخیص جنس کمپیلوباکتر، پرایمر hipo برای تشخیص گونه کمپیلوباکترژژونی ونیزپرایمرasp(ژن آسپارتوکیناز)برای تشخیص گونه C. coli استفاده شد.همچنین ازپرایمر یونیورسال برای تعیین صحت روش آزمایش وکنترل روش PCRاستفاده شد.*

***یافته ها:*** *هیچ کدام از نمونه های کشت شده از نظر وجود کمپیلوباکتر مثبت نبودند ولی درآزمایش با پرایمراختصاصی جنس کمپیلوباکتر و گونه ک.ژژونی ۳موردمثبت شدند ولی هیچ کدام باپرایمرگونه ک. کلی مثبت نشدند. موارد مثبت در PCRاز نمونه هایی بود که کشت برای آنها انجام نشده بود.۹۹ تا از نمونه ها با پرایمر یونیورسال مثبت شدند.*

***نتیجه گیری:*** *نتایج این مطالعه نشان داد که جنس کمپیلوباکتردرشهرگرگان عامل شایعی درایجاد اسهال بویژه در کودکان نمی باشد.*

***واژه های کلیدی :*** کمپیلوباکترژژونی، اسهال، گرگان

**مقدمه**

بیماریهای اسهالی بعدازعفونتهای تنفسی،دومین عامل مرگ و میردرجهان محسوب می شوند.اسهال یکی از شایعترین بیماریها درکودکان به ویژه درکشورهای درحال توسعه می باشدکه رعایت بهداشت فردی درآنها پایین است.هرساله تقریباً ۵۰۰ میلیون کودک زیر۵ سال به اسهال مبتلا می شوندکه ازاین میان ۲میلیون کودک جان خود را از دست می دهند.(۱) کمپیلوباکتر ژژونی یکی از موارد مولد اسهال وپاتوژن غذایی درکشورهای مختلف می باشد.(۲)این باکتری را اولین بار در قرن نوزدهم Theodor Escherich شناسایی کرد.(۳) در روده و سطوح مخاطی پستانداران وپرندگان کلونیزه می شود.جایگاه اصلی C.jejun*i* درانسان مخاط ایلئوم وژژونوم می باشد.کمپیلوباکتر ژژونی عامل انتریت واسهال درانسان است وازطریق غذا، به طورعمده تولیدات حیوانی آلوده مانندگوشت نیم پزو شیر غیر پاستوریزه منتقل می شود.همه گروههای سنی تحت تاثیراین عفونتند ولی اوج آن در دوگروه سنی ۰-۴ ساله و۱۵تا۲۹سال است، عفونت به صورت اسپورادیک واغلب درفصول بهار و تابستان شایع است. گونه های کمپیلوباکتر می توانند اسهال آبکی یاخونی به صورت خفیف یا شدید ایجاد کنند. همچنین ممکن است منجربه بیماریهای ثانویه مانند سندروم Guillain–Barré - منتژیت - باکتریمی-کوله سیستیت گردند. کمپیلوباکترژژونی وسایر گونه های کمپیلوباکتر عامل اسهال دربین مسافرانند. (۲و ۴) در ایالات متحده آمریکا ۲/۵میلیون عفونت کمپیلوباکتر درهرسال گزارش می شود.(۵) همچنین این عفونت جزء شایعترین اسهالهای باکتریایی دربیشتر کشورهای صنعتی وکشورهای درحال توسعه می باشدکه درهرسال ۴۰۰ میلیون مورد درسراسرجهان گزارش می شود.(۲) درسال ۲۰۰۵ عفونت کمپیلوباکتریایی دومین عامل عفونت غذایی درامریکا بود که طی آماری ۱۲/۷۲ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ نفرگزارش شد.(۲)گونه های شایع کمپیلوباکترهایی که در دمای C ۴۲ به خوبی رشد می کنند مثل C.jejuni, C.col*i*درکشورهای توسعه یافته عامل اصلی گاستروانتریت کمپیلوباکتریایی می باشند ولی در کشورهای درحال توسعه علاوه برآنها گونه هایC.Concisis, C.upsaliensis نیزازموارد انسانی جدا می شوند.(۲و۶) همچنین جداسازی *کمپیلوباکتر* در کشورهای درحال توسعه اغلب ازبچه های اسهالی ۲- ۵ سال است ولی درکشورهای توسعه یافته عفونت هم در بزرگسالان و هم دربچه ها دارای اهمیت است.( ۲ و ۷)باتوجه به شیوع بالای اسهال کمپیلوباکتریایی درمناطق مختلف جهان، به دلیل دشوار بودن تشخیص، این باکتری عموماً در آزمایشگاههای تشخیص طبّی در کشورما و بویژه شهر گرگان نادیده گرفته می شود واهمیّت وفراوانی آن مشخص نیست.بنابراین ما برآن شدیم که بااستفاده ازتکنیک PCR میزان شیوع این باکتری را درنمونه های اسهال شهر گرگان که ازنظر موقعیت جغرافیایی درشمال ایران قرار دارد و ازآب وهوای مدیترانه ای برخوردار می باشد، تعیین نماییم.

## روش بررسی

این مطالعه به صورت توصیفی- مقطعی،برروی۴۵۵ فرد مبتلا به اسهال با میانگین سنی۸±۰۷/ 5سال، مراجعه کننده به بیمارستان کودکان طالقانی ومراکز درمانی وآزمایشگاههای تشخیص طبی شهرگرگان که به مدت یک سال ازخرداد۸۴- خرداد۸۵ جمع آوری شد،صورت گرفت.نمونه مدفوع بیماران همراه پرسشنامه ای حاوی اطلاعات دموگرافیک تهیه و طی کمتراز۲ ساعت به آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی گلستان (گرگان) فرستاده شد.نمونه های ارسال شده ازنظرخصوصیات ماکروسکوپی (کدورت-رنگ وقوام) مورد بررسی قرارگرفتند. کشت ۲۵۵ نمونه اولیه (تابستان و اوایل پاییز) مدفوع برای جداسازی کمپیلوباکتر در روی محیط پرستون (شرکتHIMEDIA) در دمای ۴۲ درجه و در جار حاوی گاز پک میکروائروفیلیک انجام یافت و کلنیهای مشکوک با تستهای استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای انجامPCR مراحل زیر اجرا گردید:

ابتدا استخراج DNA باروش فنل-کلروفرم مستقیماًروی نمونه مدفوع اجرا شد.

دراین روش از تامپون لیز، SDS ۱۰٪و پروتئیناز20mg/mlK برای لیز باکتری و ازمخلوط فنل کلروفرم ایزومیلیک الکل-

کلروفرم- اتانول خالص سرد استفاده شد و سپس دربافرTE حل و تا زمان به کارگیری در۲۰C- نگهداری شد. برای انجام PCR درتشخیص جنس کمپیلوباکتر از پرایمر اختصاصی 16srDNA استفاده شد(جدول ۱).برای این منظور حجم کلی واکنش۵۰µl استفاده شد:Buffer10x ۵µl (حاوی$Mgcl_2$)، dNTPs(10mM) ۱µl ، Taq(5 u/ µl) ۰/۵ µl و ۱µlاز هر پرایمر و۱µl از DNA نمونه استخراج شده ، با آب مقطّر استریل به حجم50µl رسانده شد. ازسویه استاندارد کمپیلوباکتر ژژونی CIP103726 (انستیتو پاستور ایران) برای کنترل مثبت واز آب مقطر استریل برای کنترل منفی استفاده شد. آمپلیفیکاسیون شامل مراحل دناتوراسیون اولیه در۹۴درجه سیلیسیوس به مدت ۲دقیقه سپس ۴۰ سیکل شامل مراحل دناتوراسیون در۹۴درجه سیلیسیوس به مدت ۱دقیقه - مرحله Annealing در۶۵درجه به مدت ۱دقیقه و۲۰ ثانیه ومرحله طویل شدن زنجیر۷۲درجه به مدت۱دقیقه ومرحله طویل شدن یا Extention نهایی۷۲ درجه به مدت 5 دقیقه صورت می گیرد. محصول PCR را با ژل آگار 1/5% با بکارگیری ۱۰µlازنمونه و ٤µl Loading buffer با ولتاژ۱۰۰ ولت و آمپر۵۰=A الکتروفورزکرده و درپایان با رنگ آمیزی در اتیدیوم بروماید وبا دستگاه ترانس لومیناتور توسط اشعه uv باندهای DNAرا مشاهده می کنیم. (۸) درادامه برای انجام PCR ازروشMultiplex PCR استفاده شد.دراین روش برای بررسی صحت PCR از پرایمر یونیورسال و از پرایمرhipo برای تشخیص گونه کمپیلو باکترژژونی وازپرایمرآسپارتوکیناز asp برای تشخیص گونه کمپیلوباکتر کلی استفاده شد. (۱۰-۹)

حجم کلی واکنش 25µl بودکه شامل Buffer10x ۲/۵ µl ( حاوی$Mgcl_2$) ، dNTPs (10mM) ۰/٦٥µl ، Taq (5 u/ µl) ۰/۲۵µl ، $Mgcl_2$ (50mM) ۰/۳۵µlو ۵µl از نمونه استخراج شده و 1µlاز هر پرایمر یونیورسال -hipo - asp (جدول۱) و با آب مقطّر استریل تا حجم 25µl رسانده شد ، از سویه استاندارد کمپیلوباکتر ژژونی CIP103726 (انستیتو پاستور ایران)به منظور کنترل مثبت واز آب مقطر استریل برای کنترل منفی استفاده شد. مراحل آمپلیفیکاسیون شامل دناتوراسیون اولیه در۹٤C به مدت ۶دقیقه، سپس ۳۵ سیکل شامل مراحل دناتوراسیون در۹۴ درجه سیلیسیوس به مدت ۵۰ثانیه-مرحله Annealing در۵۷درجه به مدت ۴۰ ثانیه ومرحله طویل شدن زنجیره در۷۲ درجه سیلیسیوس به مدت ۵۰ ثانیه ومرحله طویل شدن یا Extention نهایی ۷۲ درجه به مدت ۳ دقیقه صورت گرفت .محصولPCR مشابه روش قبل درژل با استفاده از اتیدیوم بروماید بررسی شد.(۱۰)

درخاتمه میزان واکنش تقاطعی (Cross Reaction)پرایمر یونیورسال با سایرباکتریها به خصوص پاتوژنهای روده ای بر اساس پروتکلهای ذکر شده ارزیابی شد.برای این منظور از کشت ۲۴ ساعته سویه های استاندارد شیگلا- سالمونلا-کلبسیلا- پروتئوس- میکروکوک- استاف ارئوس- ائروموناس-اشرشیاکلی- برای استخراج DNA با روش فنل کلروفرم استفاده شد و بعد از PCR ایجاد باندهای مورد نظر در الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت.

اطلاعات حاصله از پرسشنامه ،بررسی میکروسکوپی و ماکروسکوپی نمونه ها و کشت و PCR بعد از جمع آوری و ثبت در موارد مورد نیاز با آزمون x۲ با دقت ۰،۰۵ مورد ارزیابی قرار گرفت.

## یافته ها

از میان ۴۵۵ نمونه مورد بررسی، ۵۵/۷٪ مرد و ۴۴/۳٪ زن بودند که درتوزیع فراوانی برحسب جنس تعداد پسران از دختران بیشتر است ولی تفاوت دردو گروه معنی دار نیست.($P<0.05$) سن افراد مورد بررسی بین کمتر از یک ماه تا ۶۶ سال با میانگین ۸±۵/۰۷سال بود.افراد به گروههای سنی مختلف :کمتر از یک سال ۱۱۹ نفر(۲۶/۱۶٪) ، ۲-۵سال ۲۲۳ نفر (۴۹/۰۱٪) ، ۶-۱۲ سال ۷۱نفر (۱۵/۶۱٪) و بالاتراز ۱۲ سال ۴۲نفر (۹/۲۲٪) تقسیم شدند که اغلب درگروه سنی ۲-۵سال قرار داشتند .بیشترین میزان مراجعان (۴۵/۳٪) در فصل تابستان و کمترین آن (۱۲/۱٪) در فصل بهار بوده است.همه بیماران مورد مطالعه اسهالی بودند،که در بین آنها، ۴۵٪ اسهال شل داشتند. مشاهدات ماکروسکوپی نیز بیانگر آن است که در اکثر موارد مدفوع قهوه ای رنگ و شل بوده است.

در کشت ۲۵۵ نمونه اولیه هیچ مورد اثبات شده ای از

کمپیلوباکتر شناسایی نگردید.نتایج PCR این ۲۵۵ مورد نیز از نظر جنس و گونه های کمپیلوباکتر منفی بود (نتایج کشت و PCR همخوانی نشان داد) ولی در سایر نمونه ها که فقط PCR انجام شده بود و مربوط به فصول زمستان ،بهار و اواخر پاییز بود ،در۳ مورداز DNA های استخراج شده با پرایمرهای اختصاصی جنس کمپیلوباکتر (تصویرA ۱)و همچنین با پرایمر اختصاصی گونه ک.ژژونی مثبت شدند(تصویرB ۱) ولی هیچ کدام باپرایمرگونه ک.کلی مثبت نشدند.

از این ۳ نفر ۱مورد درگروه سنی بالای ۱۳سال،۱مورد در گروه سنی ۲-۵ سال و۱موردزیر۱سال بودند.ازلحاظ توزیع فصلی هر۳مورد مربوط به فصل زمستان بودند. هر۳مورد مدفوع شل(زرد-سبز و قهوه ای)داشتندکه در ۲مورد ۲-۳باردرروز ودریک مورد ۴-۶ بار در روز اسهال داشتند.از لحاظ توزیع جنسی۲مورد زن و۱مورد مرد بودند.

در این بررسی ۹۹ مورد با پرایمر یونیورسال مثبت شدندکه ۶۰ مورد مرد و ۳۹ مورد زن بودند. (جدول۲)

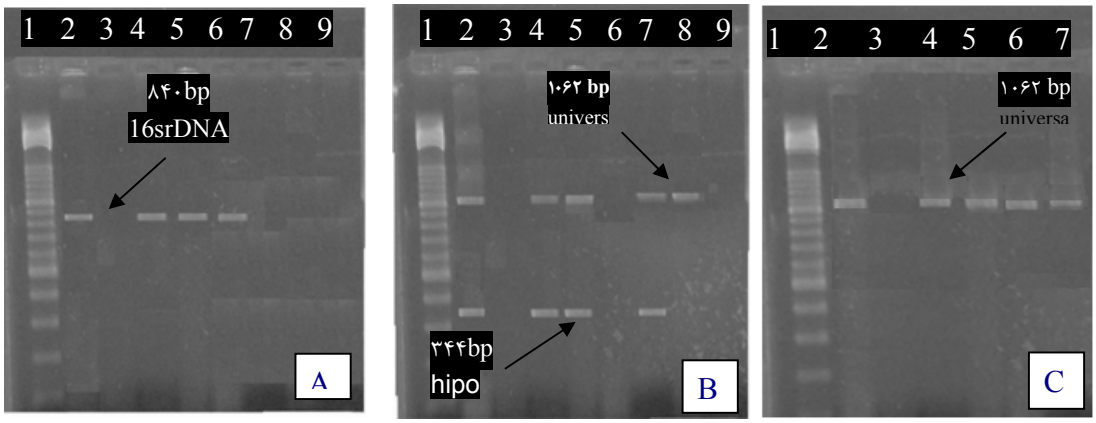
درارزیابی میزان واکنش تقاطعی (Cross Reaction)پرایمر یونیورسال با سایرباکتریها مشخص گردید که همه سویه های شیگلا- سالمونلا-کلبسیلا- پروتئوس- میکروکوک- استافیلوکوکوس اورئوس با پرایمر یونیورسال واکنش نشان داده ، باند مشخص bp ۱۰۶۲ را داشتند( تصویر C ۱).

**جدول ۱: لیست پرایمرهای استفاده شده و طول آمپلیکون مورد انتظار در این مطالعه**

| طول آمپلیکون | نام ژن | توالی پرایمر |
|---|---|---|
| 1062 bp | *Universal* | F- 5′ GGA GGC AGC AGT AGG GAA TA 3′<br>R- 5′ TGA CGG GCG GTG AGTACA AG 3′ |
| 840 bp | *C.spp(16srDNA)* | F -5′GGA GGA TGA CAC TTT TCG GAG CG 3′<br>R -5′TCG CGG TAT TGC GTC TCA TTG TAT ATG C 3′ |
| 344 bp | *C.jejuni (hipo)* | F- 5′GAC TTC GTG CAG ATA TGG ATG CTT 3′<br>R- 5′ GCT ATA ACT ATC CGA AGA AGC CAT CA 3′ |
| 500 bp | *C.coli (asp)* | F-5′GGT ATG ATT TCT ACA AAG CGA G 3′<br>R-5′ATA AAA GAC TAT CGT CGC GTG 3′ |

**جدول ۲: مشخصات دموگرافیک ، فرم مدفوع و عفونتهای همزمان با باکتریهای گوارشی در موارد مثبت با پرایمر یونیورسال**

| مشخصات | توزیع فراوانی |
|---|---|
| فرم مدفوع | آبکی ٤٠ (٤٠/٤٪) |
| | شل ۵۸(۵۸/٦٪) |
| | نرم۱(۱٪) |
| توزیع سنی | < یک سال۳٦(۳٦/٤٪) |
| | ۵-۲ سال۵۰(۵۰/۵٪) |
| | ٦-۱۲ سال۱۰(۱۰/۱٪) |
| | بیش از ۱۲ سال۳(۳٪) |
| توزیع جنسی | مرد٦۰ (٦۰٪) |
| | زن ۳۹(٤۰٪) |
| توزیع فصلی | تابستان۳۹(۳۹,٤٪) |
| | پائیز۲۱ (۲۱,۲٪) |
| | بهار۲۰(۲۰,۲٪) |
| | زمستان۱۹(۱۹/۲٪) |




**تصویر۱-نتایج الکتروفورز محصولات PCR ، A)باند اختصاصی جنس کمپیلوباکترB، 16srDNA) باندهای حاصل از MultiplexPCR با پرایمر یونیورسال و پرایمر اختصاصی گونه ک. ژژونی وC) آمپلیفیه شدن باندهای حاصل از PCRپرایمر یورنیوسال باDNA باکتریهای روده ای.**

**۱ =Ladder ۱۰۰جفت بازی، ۲=کنترل مثبت ،۳=کنترل منفی،سایر ردیف ها مربوط به نمونه های اسهالی مثبت و منفی است . در تصویر C ردیف ٤- ۷ به ترتیب ائرومونا‌س ،اشرشیاکلی ، شیگلا و سالمونلا می باشد.**

## بحث

دراین مطالعه فقط۳مورد مثبت اثبات شده ازگونه کمپیلوباکترژژونی درمواردا‌سهالی شهرگرگان یافت شد (۰/۶٪). این مسأله برخلاف انتظار بود زیرا دربسیاری ازمطالعات کمپیلوباکتر بویژه درکشورهای درحال توسعه بعنوان یکی ازعوامل اصلی اسهال بویژه درکودکان معرفی شده است.(۱۶-۱۱)افراد مورد بررسی دراین تحقیق اکثراً کودک و ساکن شهرگرگان،یکی ازشهرهای کشورایران می باشندکه ازکشورهای در حال توسعه است.دلیل این پدیده برای ما مشخص نمی باشد وانجام مطالعات بیشتر مورد نیاز است.سطح بهداشت محل زیست،فصل، فقر، سن، تماس باحیوان ، ضعف سیستم ایمنی را از عوامل موثر دربروز این بیماری می دانند . (۱۷و۱۲) نقش هرکدام از این عوامل و یا سایر عوامل احتمالی درعدم وجود کمپیلوباکتر در منطقه باید مورد توجه قرار گیرد.اشکالات تکنیکی ممکن است از دلایل این پدیده باشد.در این تحقیق تلاش شد با به کار گیری روش استاندارد کشت و پرایمر اختصاصی جنس کمپیلوباکتر و نیز استفاده از دو پرایمر اختصاصی گونه های ک.ژژونی و ک.کلی که از گونه های اصلی مولد بیماری اند خطاهای احتمالی به حداقل رسد. همچنین تلاش شد که مطالعه درطی یک سال و در فصول مختلف و در گروههای مختلف سنی و جنسی انجام شود تا تاثیر فصل، سن وجنس مورد نظرقرار گیرد. علی رغم بالا بودن نقش کمپیلوباکتر در نقاط مختلف جهان در مواردی گزارشهای محدودتری از نقش این باکتری نیز مشاهده می شود. مثلا درسالهای ۲۰۰۳-۲۰۰۲ درترکیه از۵۱۶۷ نمونه ۱/۴۳٪ کمپیلوباکتر ژژونی یافت شد که این میزان نسبت به بقیه مطالعات پایین است که به نظر می رسد به علت تغذیه مناسب، رعایت بهداشت، عدم تماس با حیوان ، بهداشت آب وشیر باشد.(۱۷)درسال۱۹۹۸دراسترالیا دربین ۴۹۳ نمونه (۲/۴۳٪) کمپیلوباکترژژونی جداشد.(۱۰) شهر اسلامشهر تهران،در بین ۱۶۰۰کودک زیر ۵ سال، (۰/۹٪) کمپیلوباکتر وجود داشت.( ۱۸) دراطفال تبریز شیوع کمپیلوباکتر (۱/۴٪)(۱۹) در تهران شیوع کمپیلوباکترژژونی ۱/۹٪ بود.(۲۰) که پایین بودن شیوع کمپیلوباکترها در این مطالعات با تحقیق ما مطابقت دارد و نشان

می دهدکه در بعضی از نقاط دیگر ایران نیز کمپیلوباکتر از بروز بالایی برخوردار نیست.نتایج این مطالعه نشان داد دادکه پرایمر یونیورسال با بعضی باکتریهای پاتوژن گوارشی آمپلیفیه می شود.این پرایمر درمطالعات OmarA.Oyarzabal(۲۰۰۶)– Søren Persson(۲۰۰۵) استفاده شد.(۱۰-۹) ، باتوجه به اطلاعات موجود درGenebank و نتایج این تحقیق مشخص است که این پرایمر حداقل با باکتریهایی مانند شیگلا، سالمونلا، کلبسیلا، پروتئوس، میکروکوک، استاف اورئوس، ائرومونا‌س،اشرشیاکلی، تکثیر می گردد و به همین دلیل کاربرد آن در مطالعات مشابه برای Multiplex PCR نمونه های مدفوع مناسب است ولی عدم ایجاد باند در بیش از ۳۵۰ مورد از مدفوع اسهالی نشان می دهد که همیشه نمی توان از آن برای کنترل صحت تکنیک در آزمایشهای ملکولی مدفوع استفاده نمود و جستجو برای پرایمرهای با قدرت بالاتر ضرورت دارد.

درمطالعه حاضرنتیجه کاربرد پرایمراختصاصی جنس و نیز پرایمرهای اختصاصی دو گونه اصلی کمپیلوباکتر مولد اسهال (ژژونی و کلی) تائید کننده این مطلب است که در این منطقه کمپیلوباکتر عامل قابل توجهی در موارد اسهالی نمی باشد.این نتیجه نشانگرآن است که حداقل درنمونه های مورد آزمون که ازگروههای سنی مختلف و از نقاط مختلف شهر درطی چهار فصل تهیه شده بود،کمپیلوباکتربسیارکم وجود داشت.

آیا این به معنی آن است که در منطقه ما کمپیلوباکتراهمیتی در ایجاد اسهال ندارد؟آیاپخت مناسب غذا مانع از انتقال آن به انسان وایجاد اسهال می گردد؟ و یا اشکالات تکنیکی مانع از شناسایی آنها شده است؟پاسخ این سوالات را می توان ازطریق ادامه مطالعات در دامهای منطقه ، تیمارهای غذایی که در منطقه انجام می شود نیز استفاده از تکنیکهای دیگر وجدیدترمورد ارزیابی بیشتر قرارداد.

**محدودیت های تحقیق**: این مطالعه توزیع کمپیلوباکتر در موارد اسهالی را مورد بررسی قرار داده است ولی به علت دشواریهای موجود در کسب رضایت خانواده ها در نمونه گیری از افراد سالم امکان مقایسه نتایج با افراد سالم وجود نداشت.در این تحقیق کسانی که سابقه مصرف آنتی بیوتیک در ۷۲ ساعت قبل را داشتند مورد بررسی قرا ر نگرفتند ولی با توجه با ساختار فرهنگی ممکن است بخشی از بیماران سابقه مصرف آنتی بیوتیک را بدرستی ذکر نکرده باشند و یکی از دلایل کم بودن موارد مثبت این مسأله باشد که در مطالعات بعدی باید مورد توجه بیشتری قرارگیرد.

## تشکر وقدردانی

این تحقیق با حمایت مالی مرکز تحقیقات عفونی و بیماریهای انگلی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان انجام شده است.

## Reference

1- Efrye R, Guandalini S, TM Akram. *Diarrhea*, Emedicine Journal. Febauary .2002,3(2); 1-23

2- Allos BM . *Campylobacter jejuni Infections: update on emerging issues and trends*. Clin Infect Dis. 2001,32; 1201-1206.

3- Altekruse SF,Tollefson LK. *Human campylobacteriosis: a challenge for the veterinary profession. From the Division of Cancer Epidemiology and Genetics. National Cancer Institute*. J Am Vet Med Assoc. 2003,223(4);445-52

4- Adedayo O, Kirkpatrick B.*Campylobacter jejuni Infections: Update on presentation, Diagnosis, and Management* . Hospital Physician. 2008, 44(7); 9-15.

5- Centers for Disease Control and Prevention. *Preliminary FoodNet data on the incidence of foodborne illnesses selected sites, United States* . MMWR Morb Mortal Wkly Rep .2002,51; 325–329

6- Friedman CR, Neimann J, Wegener HC, Tauxe RV. *Epidemiology of Campylobacter jejuni infections in the United States and other industrialzed nations. In: Nachamkin, I. and Blaser, M.J. (Eds.), Campylobacter*. American Society for Microbiology, Washington. 2000, 121-138.

7- Rao MR, Naficy AB, Savarino SJ, Abu Elyazeed R, Wierzba TF, Peruski LF, et al. *Pathogenicity and convalescent excretion of Campylobacter in rural Egyptian children*. Am J Epidemiol.2001,154; 166-73

8- Vanniasinkam T, Lanser JA, Barton MD. *PCR for the detection of Campylobacter spp. in clinical Specimens in Adelaide, Australia*. The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology .1999, 28;52–56.

9- Oyarzabal OA, Backert S, Nagaraj M, Miller RS, Hussain SK, Oyarzabal EA. *Efficacy of supplemented buffered peptone water for the isolation of Campylobacter jejuni and C. coli from broiler retail products*.Journal of Microbiological Methods. 2007, 69 ; 129–136.

10- Persson S, Epolsen K.*Multiplex PCR for identification of campylobacter coli and campylobacter jejuni from Pure Cultures and directly on stool samples*.Journal of Medical Microbiol.2005, 54;1043-1047.

11- Lijima Y, Asaco N, Aihara M, Hayashi K. *Improvment in detection rate of diarrheagenic bacteria in human stool specimens by a rapid real time PCR assay*. Journal of Medical Microbiology. 2004, 53; 617-622.

12- Mdegela RH, Nonga HE, Ngowi HA, Kazwala RR. *Prevalence of Thermophilic Campylobacter Infections in Humans, Chickens and Crows in Morogoro, Tanzania.* J. Vet. Med. 2006, 53; 116–121.

13-Desheng L, Zhixin C, Bolun W . *Age distribution of diarrhoeal and healthy children infected with Campylobacter jejuni*. J Trop Med Hyg. 1992,95(3); 218-20.

14- Samie A, Ramalivhana J, Igumbor EO, Obi CL . *Prevalence, Haemolytic and Haemagglutination Activities and Antibiotic Susceptibility Profiles of Campylobacter spp. Isolated from Human Diarrhoeal Stools in Vhembe District, South Africa*. Journal of Health, Population and Nutrition.2007, 25(4);406-413.

15 - Workman SN, Sobers SJ, Mathison GE, Lavoie MC. *Human Campylobacter-associated enteritis on the Caribbean island of Barbados*. Am J Trop Med Hyg. 2006,74(4);623-7.

16-Wardak S, Szych J, Todys MS.*The first report on Campylobacter coli family outbreak detected in Poland .Survellance and outbreak reports*. Eurosurveillance. 2008 ,13( 1–3);1-3.
www.eurosurveillance.org,

17- Fuat A, Semih K, Tuba A, Blent S, Duygu E, Mehmet A, Ay Z. *The Prevalence of Campylobacter jejuni in Various Sources in Kayseri, Turkey, and Molecular Analysis of Isolated Strains by PCR-RFLP*. TURK J. Vet. Anim.Sci.2007, 31(1); 13-19.

18- Soltan Dallal MM, Golkarieh N. *Campylobacter infection in children*.Urmia Medical Journal. 2000,3(11); 200-196.

19- Shafiei S, Jalali A.*Clinical and laboratory study of Campylobacter Jejuni in children: Three years study in Children Medical Center*.Scientific Medical Journal of Ahwaz University of Medical Sciences. 1998,23; 90-83.

20- Modarres Sh. *A survey of bacterial agents causing acute diarrhea in children under 5 years of age in Tehran*. Journal of Medical Council of Islamic Republic of Iran. 1999,3(17); 225-222.