



## شناسایی ژن‌های موثر جدید در پیشبرد مقاومت به اریترومایسین در کمپیلوبیاکتر ژرژونی با بهره گیری از ابزار بیوانفورماتیکی

مه لقا چراغی<sup>۱</sup>، فسترن اصغری مقدم<sup>\*۱</sup>، بی‌تا بخشی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>گروه زیست شناسی، دانشکده علوم و فناوری های همگرا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران

<sup>۲</sup>گروه باکتری شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۰

### چکیده

آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولید برای درمان عفونت‌های ناشی از کمپیلوبیاکتر ژرژونی مهم هستند. ایجاد مقاومت در برابر این دسته از آنتی‌بیوتیک‌ها در کمپیلوبیاکتر فرایندی پیچیده توأم با تغییرات مولکولی پویا است که به خوبی تعریف نشده‌اند. در پژوهش حاضر برای پر کردن جای خالی موجود در ارتباط با ایجاد مقاومت آنتی‌بیوتیکی به درمان با اریترومایسین، پاسخ ترانسکریپتومیک کمپیلوبیاکتر ژرژونی سویه‌ی NCTC11168 به درمان با اریترومایسین (ERY) با روش میکروواری تعیین شد. داده‌های به دست آمده شناسایی، استخراج و با ابزارهای آنلاین GEO2R و نرم‌افزار R آنالیز شدند. ژن‌های با بیشترین بیان افتراقی با استفاده پارامترهای  $p < 0.05$  و  $|LogFC| > 1$  شناسایی شدند. سپس، بیان ژن‌های مرتبط جدا و برای ژن‌های با افزایش بیانی، توسط پایگاه داده STRING شبکه پروتئینی در نظر گرفته شد و با نرم‌افزار Cytoscape رسم شد. با شناسایی ژن‌های مختلف با کاهش و یا افزایش بیان معنادار، مشخص شد مجموعه‌ای از ژن‌های *flaA*, *flaB*, *flgB*, *CmeC*, *sdhA*, *sdhB* می‌توانند در مقاومت آنتی‌بیوتیکی کمپیلوبیاکتر ژرژونی نسبت به درمان با آنتی‌بیوتیک اریترومایسین نقش داشته باشند. در این مطالعه با بررسی اهداف، اثرگذاری و آنالیز عملکردی این ژن‌ها، راهکارهای مناسبی برای مهار مقاومت ارائه گردید.

**کلمات کلیدی:** مقاومت آنتی‌بیوتیکی، کمپیلوبیاکتر ژرژونی، اریترومایسین، میکروواری

### مقدمه

\* nas.asgharimoghaddam@iauctb.ac.ir

های ژنتیکی زمینه ساز مقاومت، دانشمندان می‌توانند اهداف بالقوه‌ای را برای درمان‌های آینده یا اقدامات پیشگیرانه کشف کنند. همکاری بین کشورها و به اشتراک گذاری داده‌ها برای پیگیری گسترش سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و پیش‌بینی چالش‌های آینده ضروری است. تلاش‌های تحقیقاتی چندملیتی همچنین می‌تواند توسعه آنتی‌بیوتیک‌های جدید یا درمان‌های جایگزین موثر علیه کمپیلوباکتر ژئونی را تسهیل کند. برای جلوگیری از ظهور مقاومت به ماکروولیدها، لازم است چگونگی ایجاد مقاومت کمپیلوباکتر نسبت به این دسته از آنتی‌بیوتیک‌ها بررسی شود. به عنوان یک مهارت‌کننده ترجمه پروتئین در سلول‌های باکتریایی، اریترومایسین و سایر آنتی‌بیوتیک‌های ماکروولید با جابجایی آمینواسیل تداخل دارند و از انتقال آن جلوگیری می‌کنند.<sup>[۸,۹]</sup>

مکانیسم مولکولی مقاومت به اریترومایسین در کمپیلوباکتر ژئونی به طور گستردۀ مطالعه شده است و تا حد زیادی به جهش در ژن rRNA 23S، پروتئین‌های ریبوزومی L<sub>4</sub> و L<sub>22</sub> و پمپ فعال افلاکس مربوط می‌باشد. به نظر می‌رسد جهش در پروتئین‌های L<sub>4</sub> و L<sub>22</sub> به واسطه‌ی سطوح پایین مقاومت به ERY ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) تا متوسط ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) تا ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) اتفاق می‌افتد، در حالی که جهش ERY در ژن rRNA 23S با سطح بالای مقاومت در برابر ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) ( $\geq 256$ ) MIC است.<sup>[۱۰,۱۱]</sup>

چنین استنباط می‌شود که قرار گرفتن طولانی مدت در معرض آنتی‌بیوتیک‌های ماکروولید برای انتخاب جهش در ژن rRNA 23S مورد نیاز باشد. این امر نشان دهنده وقوع جهش یا تغییرات دیگری در کمپیلوباکتر پیش از وقوع جهش‌های CmeABC<sup>۶</sup> از 23S rRNA است.<sup>[۱۲]</sup> پمپ فعال افلاکس<sup>۷</sup> از طریق خروجی چند دارو، مکانیزم دیگری است که باعث مقاومت در برابر ماکروولیدها در کمپیلوباکتر می‌شود.<sup>[۱۳,۱۴]</sup> مطالعات قبلی نشان داد که با غیر فعال‌سازی پمپ

کمپیلوباکتر ژئونی<sup>۸</sup> یک باکتری گرم منفی، مارپیچی شکل، متحرک و عامل اصلی اسهال و آنتریت باکتریایی ناشی از غذا در انسان در سراسر جهان است.<sup>[۱,۲]</sup> بیشتر عفونت‌های انسانی کمپیلوباکتر ژئونی از مصرف مرغ آلوده، شیر یا آب آلوده و یا دست زدن به آنها ناشی می‌شوند. عالمی بالینی کمپیلوباکتریوزیس<sup>۹</sup> می‌تواند از اسهال خفیف تا تب، سردرد، گرفتگی شکم، استفراغ و اسهال خونی متغیر باشد. همچنین، مطالعات نشان داد که عفونت کمپیلوباکتر با سندروم گیلن باره (GBS)<sup>۱۰</sup> به عنوان یک عارضه پس از عفونت مرتبط است.<sup>[۳]</sup> اگرچه در اکثر موارد کمپیلوباکتریوزیس خود محدود شونده است، اما ممکن است درمان آنتی‌بیوتیکی برای موارد شدید یا بیماری مزمن، ضروری باشد.<sup>[۴]</sup> اگرچه، به دلیل کاهش اثربخشی درمانی فلوروکینولون‌ها<sup>۱۱</sup>، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های ماکروولید<sup>۱۲</sup> (به عنوان مثال، اریترومایسین [ERY]<sup>۱۳</sup>) برای درمان عفونت‌های کمپیلوباکتر در انسان اهمیت بیشتری پیدا کرده‌اند، اما فراوانی مقاومت به این دسته از آنتی‌بیوتیک‌ها در حال افزایش است.<sup>[۵,۶]</sup> علاوه بر این، برخی از آنتی‌بیوتیک‌های ماکروولید از جمله تایلوزین (TYL)<sup>۷</sup>، اریترومایسین (ERY) و تیلمیکوزین<sup>۱۴</sup>، در تولید مواد غذایی حیوانی و برای درمان و اهداف فرعی درمانی نیز استفاده می‌شوند.<sup>[۷]</sup> کمپیلوباکتر به عنوان یک پاتوژن مشترک بین انسان و دام، از مسیر غذایی تحت فشار انتخابی ناشی از استفاده ماکروولیدها در دامپزشکی و پزشکی منتقل می‌شود. بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی کمپیلوباکتر ژئونی در مقیاس جهانی به دلایل متعددی حیاتی است. کمک به درک میزان مشکل و شناسایی الگوهای مقاومت در مناطق مختلف یکی از دلایل این بررسی است. این اطلاعات به سازمان‌ها و محققان سلامت اجازه می‌دهد تا استراتژی‌های هدفمندی را برای پیشگیری و کنترل توسعه دهند. علاوه بر این، تحقیقات جهانی عوامل موثر در ایجاد و گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در کمپیلوباکتر ژئونی را روشن می‌کند. با مطالعه مکانیسم

<sup>6</sup> Erythromycine (ERY)

<sup>7</sup> Tylosin (TYL)

<sup>8</sup> Tilmicosin (TIL)

<sup>9</sup> Efflux pump

<sup>1</sup> *Campylobacter jejuni*

<sup>2</sup> Campylobacteriosis

<sup>3</sup> Guillain-Barré syndrome (GBS)

<sup>4</sup> Fluoroquinolones

<sup>5</sup> Macrolide

تغییرات قابل توجهی را در بیان سویه ۶۸E۱ مقاوم در برابر ماکرولید سطح پایین نشان دادند. در حالی که، تعداد زیادی از ژن‌ها تغییرات قابل توجهی را در رشته ۶۸E۶۴ مقاوم در سطح میانی و بالا نشان دادند. ژن‌های تنظیم شده در سویه‌های مقاوم در پروتئین‌های پری‌پلاسمیک متفرقه، پمپ افلاکس پروتئین و آمینوتانسفراز احتمالی را ترشح می‌کند، در حالی که، اکثر ژن‌های تنظیم شده پایین در انتقال الکترون، لیپوپروتئین، پروتئین شوک حرارتی و پروتئین‌های عملکرد ناشناخته نقش دارند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تغییر زیادی در سویه کمپیلوباکتر ژرژونی مقاوم به ماکرولید در سطح پایین وجود ندارد. بیان بیش از حد پمپ افلاکس و پروتئین پری‌پلاسمیک در ایجاد مقاومت به ماکرولید در کمپیلوباکتر ژرژونی نقش داشت.

## جمع آوری و تجزیه داده‌های میکروواری

در این مرحله با جست‌وجو در پایگاه GEO (www.ncbi.nlm.nih.gov/geo)، میکروواری مناسب با کلید واژه مقاومت آنتی‌بیوتیکی کمپیلوباکتر ژرژونی به اریترومایسین برای پیدا کردن مطالعات مرتبط در نظر گرفته شد. برای این کلید واژه از میان مطالعات میکروواری، مطالعات غیر‌حیوانی انتخاب شد و سپس مطالعات غیر مرتبط حذف شدند. کد دسترسی GSE17881 انتخاب و استخراج نتایج آنالیزها و تحلیل آنها انجام شد. پس از تهیه داده‌های خام مربوط به میکروواری مورد بررسی، پیش‌پردازش اولیه (شامل استاندارد سازی، نرم‌افزار سازی، GEO2R و Limma) و ارزیابی با استفاده از ابزارهای آنلاین نرم‌افزار R و با کمک پکیج هایی مانند `ggplot2`، `Regualted` انجام شد. با تجزیه کد دسترسی مربوط به داده میکروواری، تعداد ژن‌های مورد نظر شناسایی شدند. تجزیه و بررسی داده‌ها انجام شد و ژن‌ها با در نظر گرفتن سطح معنی‌داری در بیان ( $p < 0.05$ ) و به صورت فهرست ژنی استخراج شدند. در ادامه پارامتر  $\log_{FC} > 1$  برای انتخاب ژن‌های Up-Down و  $\log_{FC} < -1$  برای انتخاب ژن‌های Regualted استفاده شد.

افلاکس CmeABC در سویه‌های مقاوم کمپیلوباکتر ژرژونی، CmeABC به طور هم‌افزایی با جهش در پروتئین‌های L22 و (G74D) L4 (G74D) و (درج در موقعیت ۸۶ یا ۹۸) ۲۳S rRNA (A2075 G) می‌باشد. برای ایجاد مقاومت ماکرولیدی عمل می‌کند. در کمپیلوباکتر ژرژونی، بیان CmeABC توسط CmeR کنترل می‌شود که به پروموتر CmeABC متصل می‌شود و بیان اپرون پمپ افلاکس را تنظیم می‌کند. علاوه بر CmeABC، مطالعات قبلی پیوسته پیشنهاد می‌کنند که مکانیسم‌های دیگر پمپ افلاکس ممکن است با مقاومت اریترومایسین مرتبط باشند، اما هویت مشکوک افلاکس پمپ‌ها ناشناخته هستند [۱۵، ۱۶، ۱۷].

با وجود درک بهتر از مکانیسم‌های مقاومت ماکرولید در کمپیلوباکتر ژرژونی در مقیاس جهانی، فرایندهای مولکولی تا حد زیادی منجر به تولید مقاومت ناشناخته پایدار در سطح بالا می‌شوند. درک این رویدادهای مولکولی به طور بالقوه استفاده باقی از آنتی‌بیوتیک‌ها و کنترل هدفمند کمپیلوباکتر ژرژونی مقاوم به ماکرولید را تسهیل می‌کند و می‌توان در جهت تلاش برای حفاظت از سلامت عمومی و بهبود توانایی مبارزه با این تهدید باکتریایی از آن استفاده کرد.

## مواد و روش‌ها

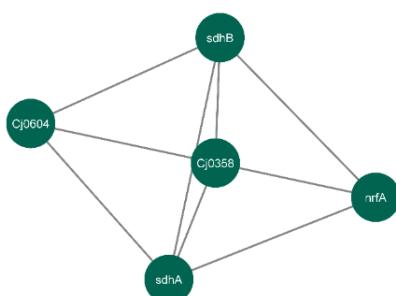
با بهره بردن از مجموعه روش‌های آنالیز بیوانفورماتیک بر روی داده‌های میکروواری، برای یافتن ژن‌های با بیان متفاوت و تاثیرگذار در پاتوژن باکتری و مقاومت آنتی‌بیوتیکی، سری‌های متعدد جهش کمپیلوباکتر ژرژونی مقاوم به ماکرولید در شرایط آزمایشگاهی با قرار گرفتن گام به گام کمپیلوباکتر ژرژونی سویه‌ی NCTC11168 در معرض اریترومایسین و تایلوزین با افزایش غلظت، انتخاب شدند. مجموعه‌ای از سویه‌های مقاوم برای بررسی با تکنیک میکروواری انتخاب شدند. مشخصات رونویسی گلوبال آنالیز شد. در این سری، میکروواری<sup>۱</sup> DNA برای مقایسه پروفایل‌های بیان ژن سویه‌های مقاوم به ماکرولید (۶۸E۶۴، ۶۸E۱، ۶۴E۸) با نوع وحشی سویه NCTC11168 استفاده شد. این آزمایش تعداد کمی از ژن‌ها را شناسایی کرد که

<sup>۱</sup> Microarray

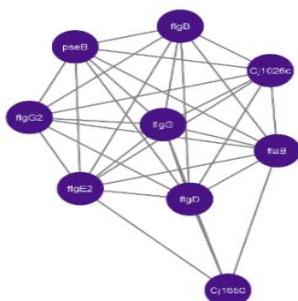


## بررسی ارتباطات ژنی

برای شناسایی ارتباطات ژنی از جمله تعاملات پروتئین-پروتئین<sup>۱</sup> از پایگاه‌های داده‌ای String استفاده شد و در نهایت مازول‌های عملکردی مورد نظر با استفاده از نرم‌افزار Cytohubba به دست آمدند. از پلاگین Cytoscape برای رسیدن به ژن‌های Hub در شبکه استفاده شد و برای آنالیز و پیدا کردن مازول‌ها و مهم‌ترین بخش‌های شبکه بیولوژیکی که بیشترین آثار متقابل را داشتند، از پلاگین MCODE استفاده شد. ژن‌های Hub با دو پارامتر درجه<sup>۲</sup> و بینایی<sup>۳</sup> برای هر شبکه پیدا شدند.



تصویر ۱. مازول برتر اول



تصویر ۲. مازول برتر دوم

جدول ۱. مازول‌ها و ژن‌های عملکردی

اعداد	مازول ۱	مازول ۲
۱	flgB	Cj0604
۲	flaB	nrfA
۳	Cj1026c	Cj0358
۴	flgG	sdhB
۵	pseB	sdhA
۶	Cj1650	
۷	flgD	
۸	flgE2	
۹	flgG2	

پس از جداسازی ژن‌های دارای افزایش و کاهش بیان بین دسته‌های ژنی مختلف مورد بررسی، از آنها برای ترسیم شبکه و بررسی شبکه برهمکنش با سایر ژن‌ها از دیتابیس‌های مختلف استفاده شد و شبکه‌ای از این برهمکنش‌ها ترسیم شد. در این شبکه هر یک از ژن‌های مورد مطالعه علاوه بر برهمکنش با یکدیگر با یک سری از سایر ژن‌ها ارتباط برقرار کردند.

برای انتخاب مازول‌های برتر با کمک MCODE از پارامترهای زیر کمک گرفته شد:

Degree Cutoff = 2

Node Score Cutoff = 0.2

K-Core = 2

Max. Depth = 100

هر دو مازول عملکردی به واسطه‌ی ژن‌های کلیدی با افزایش بیان شناسایی شده، در مقاومت آنتی‌بیوتیکی اثرگذار می‌باشند و در این زمینه نقش‌های متفاوتی دارند (تصویر ۱ و ۲؛ جدول ۱).

<sup>۳</sup> Betweenness

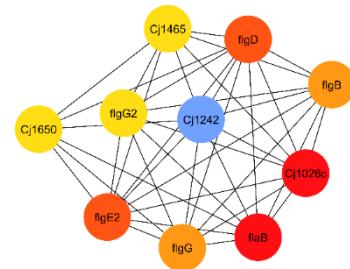
<sup>۱</sup> Protein-Protein interaction(PPI)

<sup>۲</sup> Degree

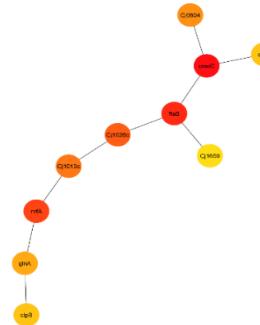
## بحث

از زمان تأسیس شبکه‌ی نظارت بر بیماری‌های فعال منتقله از مواد غذایی در ایالات متحده در سال ۱۹۹۶، گونه‌های کمپیلوباکتر به دنبال گونه‌های *Salmonella*<sup>۱</sup> و *Shigella*<sup>۲</sup>، شایع‌ترین پاتوژن غذایی در انسان تشخیص داده شدند [۱۸]. به دنبال تلاش‌های جهانی و علیرغم کاهش بروز عفونت‌های ناشی از تعدادی از عوامل بیماری‌زا اصلی منتقله از مواد غذایی، عفونت‌های کمپیلوباکتر همچنان در مناطق توسعه یافته و در حال توسعه سراسر جهان از جمله ایالات متحده، اروپا، استرالیا، آفریقا، آسیا و خاورمیانه در حال افزایش هستند. علاوه بر این، کمپیلوباکتر زیستگاه ژن‌های مقاومت ضدمیکروبی با قابلیت انتقال افقی بین میکرووارگانیسم‌های بیماری‌زا و همسو است، که احتمالاً می‌تواند به ظهور میکرووارگانیسم‌های مقاوم به چند دارو منجر شود. بنابراین، محققان گمان می‌کنند در سال‌های آینده کمپیلوباکتر همچنان به عنوان تهدیدی برای سلامت عمومی جهانی باقی خواهد ماند. موضوع فعلی نیازمند یک رویکرد چند جانبه برای مداخله و کنترل عفونت‌های کمپیلوباکتر، از جمله شناسایی ژن‌های ضروری دخیل در عملکرد های سلولی یا مسیرهای فرایند متابولیک است [۱۹، ۲۰]. در این مطالعه برای بررسی و شناسایی ژن‌های جدید دخیل در مقاومت آنتی‌بیوتیکی، از رویکرد بیوانفورماتیک بهره برده شده است و به به نظر می‌رسد این دسته از مطالعات بتواند در این حوزه مفید واقع شوند.

کمپیلوباکترها برای مستقرشدن در بدن، ابتدا باید توانایی حرکت به داخل لایه موکوسی پوشاننده سطح سلول‌های روده را داشته باشند. این حرکت توسط تاژک قطبی انجام می‌شود و آنها با حرکت مارپیچی به سد روده نفوذ می‌کنند. تاژک‌های کمپیلوباکتر ژئونی به صورت پلیمری است که از غلاف خارج شده و از زیر واحد فلاژلین<sup>۴</sup> است. این تاژک‌ها توسط ژن‌های *flaA* و *flaB* که در مجاور هم هستند رمز می‌شوند. ترکیبات موسین روده‌ای، به ویژه L-fucose برای کمپیلوباکتر ژئونی کموتاکتیک هستند و ممکن است



تصویر ۳. ارتباط ژن‌های Hub براساس پارامتر Degree



تصویر ۴. ارتباط ژن‌های Hub براساس پارامتر Betweenness  
این نمودارها میزان ارتباط ژن‌های یک GSE را نشان می‌دهند. پارامتر درجه (Degree) یک گره، تعداد گره‌هایی است که با آن گره در همسایگی مستقیم قرار دارند. هر چه درجه یک گره بیشتر باشد، اهمیت آن گره بیشتر می‌شود (تصویر ۳).

پارامتر بینایینی<sup>۱</sup> به تعداد دفعاتی اشاره دارد که یک گره یا یک یال بر روی کوتاه‌ترین مسیر نودهای مختلف یک گراف قرار دارد. در حقیقت، این معیار محاسبه می‌کند که چه تعداد از نودهای شبکه ژنی برای ارتباط سریعتر باهم و با واسطه‌ی کمتر، به این نود نیاز دارند. هر چه بینایینی نود زیادتر باشد، به این معنا است که این نود در مکان استراتژیک تری قرار گرفته است (تصویر ۴).

با توجه به آنالیزهای انجام شده و نتایج حاصل، از بین ژن‌های *flaA*, *flaB*, *flgB*, *CmeC*, موجود تعداد شش ژن با نام‌های *sdhA*, *sdhB* جدا شدند و به صورت اختصاصی مطالعه و بررسی شدند.

<sup>3</sup> *Shigella*

<sup>4</sup> Flagellin

<sup>1</sup> Betweenness

<sup>2</sup> *Salmonella*

دیفیسل<sup>۵</sup> نیز تغییر بیان این ژن در مواجه با استرس اکسیداتیو مشاهده می شود و با توجه به مقاوم بودن این سویه ها، با سویه<sup>۶</sup> مورد بررسی در مطالعه حاضر هم راستا هستند [۳۲، ۳۳]. به طور کلی، ژن های *flaB* و *flgB* و سایر ژن های دخیل در دستگاه حرکتی به ویژه تازک می توانند با تنظیم تحرک، ترویج پراکندگی باکتری ها، فرار از پاسخ های ایمنی میزبان و کلون سازی، به زنده ماندن و مقاومت آنتی بیوتیکی کمپیلو باکتر ژرونی کمک کنند.

*CmeABC* جزء ABC ترانسپورترها است که در خروج دارو در باکتری ها و کمک قابل توجه به مقاومت ذاتی و اکتسابی باکتری کمپیلو باکتر ژرونی در برابر آنتی بیوتیک های متنوع از جمله فلورو کینولون ها و ماکرولیدها، با کاهش تجمع CmeABC داروها در آن نقش دارد. کمپلکس سه جانبه *CmeABC* شامل غشای خارجی کانال یا *CmeC*، *CmeB* یا غشای داخلی انتقال دهنده دارویی و بخش ادغام شده با غشای پر پلاسمیک پروتئین یا *CmeA* می باشد. علاوه بر ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی، *CmeABC* نقش مهمی در مقاومت صفرا و کلونیزاسیون دارد. به عنوان یک پاتوژن روده ای، و با توجه به وجود اسید های صفراوی در روده، کمپیلو باکتر ژرونی باید توانایی سازگاری در دستگاه روده حیوانات را داشته باشد [۳۴، ۳۵].

نشان داده شده است که در یچه هی *CmeC* در سطح غشای خارجی و نیز در انتهای فضای پر پلاسمیک بسته است. از این موضوع می توان نتیجه گرفت که این کانال دو در یچه را برای عبور و مرور مواد تشکیل می دهد که در خارج کردن مواد مختلف نظر آنتی بیوتیک ها از فضای سیتو پلاسمی به کار می روند [۳۶]. به طور کلی، ژن *cmeC* با تنظیم پمپ های خروجی علاوه بر فرار از واکنش دفاعی، نقش مهمی در مقاومت ضد میکروبی و خارج کردن مواد آنتی بیوتکی وارد شده به سلول بازی می کند. وجود و تنوع این ژن در بسیاری از گونه های باکتری ثابت شده است و به توانایی کمپیلو باکتر

حرکت به طرف این اجزاء در بیماری زایی آن مهم باشد [۲۱، ۲۲]. ژن *flaB* یک ژن کد کننده فلاژلین است [۲۳، ۲۴]. در حالی که، پروتئین های فلاژلین کمپیلو باکتر ژرونی *FlaA* و *FlaB* به طور همزمان رونویسی می شوند، ژن *flaA* توسط *flaB* و ژن *flaB* توسط <sup>۵</sup> تنظیم می شود [۲۵، ۲۶]. لی و همکاران (۲۰۲۱) اشاره کردند که یک ایزوله کمپیلو باکتر ژرونی فاقد <sup>۶</sup> که توسط ژن *fliA* کد گذاری می شود، قادر به تشکیل یک رشته کوتاه متشکل از پروتئین فلاژلین است [۲۷]. نتیجه هی مطالعه ای لی نشان داد که نحوه تنظیم بیان ژن های تازک در کمپیلو باکتر ژرونی با تنظیم آن در سیستم هایی که بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته اند، مانند سالمونلا اتریکا<sup>۱</sup> متفاوت است. برخلاف بیان ژن تازک در کمپیلو باکتر ژرونی، بیان ژن تازک در سالمونلا اتریکا توسط یک تنظیم کننده اصلی آغاز می شود. در حالی که <sup>۵</sup>، برای بیان مستمر ژن های تازک مورد نیاز است [۲۷، ۲۸]. بنابراین، ژن *flaB* یک ژن مهم در باکتری های حرکتی است که نقش بسیاری در حرکت و موتابیتی های باکتری دارد. به نظر می رسد از اولین تمهدات باکتری برای مواجه با محیط دارای آنتی بیوتیک، فرار باکتری است که با بیان بیشتر ژن های مربوط به ساخت فلاژل انجام می شود.

ژن *flgB* جزء ساختاری تازک، دستگاه حرکت باکتری و بخشی از ساختار میله ای جسم پایه ای تازک داراست. جسم پایه ای بخش عمده اندامک تازک را تشکیل می دهد و از تعدادی حلقه تشکیل شده است که بر روی یک میله مرکزی نصب شده اند. جسم پایه ای هر دو غشای داخلی و خارجی را پوشش می دهد [۲۹]. نقش کلیدی این ژن در تشکیل و مونتاژ تازک در سایر باکتری ها از جمله باسیلوس سرئوس<sup>۲</sup> اثبات شده است [۳۰]. همچنین، این ژن در تنظیم تحرک و حدت نقش دارد، زیرا به طور هماهنگ با سایر ژن های تازک تنظیم می شود و مسئول ترشح پروتئین های حدت از کمپیلو باکتر ژرونی است که برای پاتوژن آن مهم هستند [۳۱]. در باکتری های سودوموناس آئروژنوزا<sup>۳</sup> و کلستریدیوم

<sup>4</sup> *Pseudomonas aeruginosa*

<sup>5</sup> *Clostridium difficile*

<sup>1</sup> Hee Jung Lee

<sup>2</sup> *Salmonella enterica*

<sup>3</sup> *Bacillus cereus*

(*sdhABC*)، در بیوفیلم‌های استافیلوکوکوس اورئوس<sup>۷</sup> تنظیم مثبت می‌شوند. برای مطالعه بهتر نقش این کمپلکس آنزیمی، سویه‌ای جهش یافته (*sdh*) از حذف ژن‌های (*sdhABC*)، ساخته شد. نوع جهش یافته در مقایسه با نوع وحشی، در رشد تحت شرایط هوایی دچار اختلال شد. کاهش رشد در زیرشرایط هوایی به دلیل قطع چرخه TCA است که با تجمع سوکسینات و اسید استیک همراه بود. نتایج نشان داد چرخه TCA برای کاتابولیسم استات و اسید آمینه مورد نیاز است و تجزیه و تحلیل سلول‌های رشد یافته در محیط شیمیایی تعریف شده، کاهش متابولیسم را نشان داد [۴۲].

آدولف<sup>۸</sup> و همکاران (۲۰۲۲)، طی مطالعه‌ای روی مایکروبکتریوم تویرکلوزیس<sup>۹</sup> که با از بین بردن ژن‌های *sdhA2* و *sdhA1* با هدف جلوگیری از اکسیداسیون سوکسینات و غلبه بر افزونگی عملکردی در این ژن‌ها و رشد بهینه انجام شد، دریافتند فعالیت زنجیره تنفسی به طور قابل توجهی با حذف ترکیب ضروری *sdhA2* و *sdhA1* مختلف شد و از رشد در طیف وسیعی از منابع کربن جلوگیری کرد. علاوه بر این، مشاهده شد مختلط شدن اکسیداسیون سوکسینات بر فعالیت آنتی‌بیوتیک‌های هدف گیرنده دیواره سلولی و مهارکننده‌های انرژی زیستی تأثیر می‌گذارد. این داده‌ها با هم، بینش‌های اساسی در مورد متابولیسم انرژی و حساسیت ضد میکروبی در مایکروبکتریوم تویرکلوزیس ارائه کرد [۴۳].

کمپیلوباکتر ژرژونی تمام آنزیم‌های لازم برای یک چرخه اسید تری کربوکسیلیک (TCA) اکسیداتیو کامل را کد می‌کند. به دلیل ناتوانی در استفاده از گلوکتر، کمپیلوباکتر ژرژونی منحصرأ به اسیدهای آمینه به عنوان منبع کربن کاهش یافته متکی است و آنها در متابولیسم کربن مرکزی گنجانده می‌شوند. اکسیداسیون سوکسینات به فومارات یک مرحله کلیدی در چرخه TCA اکسیداتیو است. در ک بهتر چرخه در کمپیلوباکتر ژرژونی ممکن است به شناسایی TCA

در ایجاد مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و سایر عوامل ضد میکروبی کمک می‌کند.

پروتئین SdhA با نام زیر واحد فلاووپروتئین سوکسینات دهیدروژنаз<sup>۱</sup> توسط اگرالواستات<sup>۲</sup> مهار می‌شود. SdhB با نام سوکسینات دهیدروژناز پروتئینی دارای زیر واحد آهن-گوگرد<sup>۳</sup> است. این دو در تبدیل فومارات به سوکسینات فعالیت دارند و در مسیرهای زیستی نظیر چرخه اسید تری کربوکسیلیک (TCA) نقش بازی می‌کنند. محصولات دو ژن *A* و *B* در غشاء پلاسمایی، فعالیت‌های سلولی و مولکولی مانند فعالیت اکسیدو ردوکتاز و تولید متابولیت‌های پیش‌ساز و انرژی را پیش می‌برند. این ژن‌ها تکمیل کننده *sdhB* و *sdhA* و آنزیم سوکسینات دهیدروژناز هستند. ژن‌های *A* و *B* بخشی از یک کمپلکس آنزیمی با چهار زیر واحد است. این زیر واحدها، یک فلاووپروتئین، یک آهن-گوگرد، سیتوکروم b-۵۵۶ و یک پروتئین لنگر آب گریز است که کمپلکس ترامری تشکیل می‌دهد. این زیر واحد‌ها می‌توانند با *sdhE* تشکیل پیوند دهند [۳۷، ۳۸، ۳۹]. در مطالعه‌ای که توسط استینزی<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد کمپیلوباکتر ژرژونی سویه‌ی NCTC11168 تحت شرایط اسیدی خفیف شیوه به شرایط روده، رشد داده شد. رشد در pH ۵/۵ و قرار گرفتن در معرض شوک اسیدی منجر به تنظیم پایین زیر واحدهای سوکسینات دهیدروژناز (sdhAB) شد [۴۰].

اسید تری کربوکسیلیک<sup>۵</sup> یا چرخه (TCA) نقش مرکزی در متابولیسم دارد. بسیاری از مواد مغذی مانند قدها، اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب می‌توانند به واسطه TCA متابولیزه شوند و در چندین دوره وارد این چرخه شوند. فعالیت چرخه TCA با اثرات متفاوتی مانند بقا، حدت و تولید ماده لجن بیوفیلم اصلی و چسب بین سلولی پلی‌ساکارید (PIA) همراه بوده است [۴۱]. گوتز<sup>۶</sup> و همکاران (۲۰۱۰)، در مطالعه‌ای اثبات کردند در چرخه اسید تری کربوکسیلیک (TCA)، ژن‌های مختلفی به ویژه ژن‌های سوکسینات دهیدروژناز

<sup>5</sup> Tricarboxylic acid

<sup>6</sup> Friedrich Gotz

<sup>7</sup> *Staphylococcus aureus*

<sup>8</sup> Cara Adolph

<sup>9</sup> *Mycobacterium tuberculosis*

<sup>1</sup> Succinate Dehydrogenase Complex Flavoprotein Subunit A (sdhA)

<sup>2</sup> Oxaloacetate

<sup>3</sup> Succinate Dehydrogenase Complex Iron Sulfur Subunit B (sdhB)

<sup>4</sup> Alain Stintzi

و البته تعین میزان اثرگذاری هر یک از این ژن‌ها نیازمند مطالعات آزمایشگاهی و تخصصی تری می‌باشد. به طور کلی، این مطالعه قدرت بیوانفورماتیک را در تجزیه و تحلیل داده‌های بیولوژیکی پیچیده و کشف بازیگران مولکولی کلیدی جدید در پاسخ‌های باکتریایی به عوامل استرس‌زای محیطی نشان می‌دهد. تحقیقات بیشتر در این زمینه در ک ما از پاتوژن کمپیلو باکتر ژرونی را افزایش می‌دهد و به توسعه اقدامات کنترلی مؤثرتر برای کاهش تأثیر این باکتری بر سلامت انسان کمک می‌کند.

### منابع

- Jorgensen F, Ellis-Iversen J, Rushton S, Bull SA, Harris SA, Bryan SJ, Gonzalez A, Humphrey TJ: Influence of season and geography on *Campylobacter jejuni* and *C. coli* subtypes in housed broiler flocks reared in Great Britain. *Appl Environ Microbiol* 2011, 77(11):3741–3748.
- Chen J, Sun XT, Zeng Z, Yu YY: *Campylobacter* enteritis in adult patients with acute diarrhea from, 2005 to 2009 in Beijing, China. *Chin Med J (Engl)* 2011, 124(10):1508–1512.
- Koga M, Gilbert M, Takahashi M, Li J, Koike S, Hirata K, Yuki N: Comprehensive analysis of bacterial risk factors for the development of Guillain-Barre syndrome after *Campylobacter jejuni* enteritis. *J Infect Dis* 2006, 193(4):547–555.
- Skirrow MBM: Clinical aspects of *Campylobacter* infection. 2nd edition. Washington, DC: ASM Press; 2000.
- Engberg J, Aarestrup FM, Taylor DE, Gerner-Smidt P, Nachamkin I: Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerg Infect Dis* 2001, 7(1):24–34.
- Gibreel A, Taylor DE: Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J Antimicrob Chemother* 2006, 58(2):243–255.
- McEwen SA, Fedorka-Cray PJ. 2002. Antimicrobial use and resistance in animals. *Clin. Infect. Dis.* 34(Suppl 3):S93–S106.
- Gibreel A, Taylor DE. 2006. Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J. Antimicrob. Chemother.* 58:243–255.
- Lévesque S, Frost E, Michaud S. 2007. Comparison of antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* isolated from humans, chickens, raw milk, and environmental water in Quebec. *J. Food Prot.* 70:729–735.
- Luangtongkum T, Jeon B, Han J, Plummer P, Logue CM, Zhang Q. 2009. Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission
- Lin J, Yan M, Sahin O, Pereira S, Chang YJ, Zhang Q. 2007. Effect of macrolide usage on

مسیرهای متابولیک حیاتی برای توانایی رشد کمپیلو باکتر ژرونی کمک کند. در مطالعات انجام شده نشان داده شد که در این باکتری آنزیم های *SdhA* و *SdhB* به فعالیت فومارات ردوکتاز در چرخه TCA و تنفس کمک می کنند [۴۴, ۴۵]. بر اساس اطلاعات موجود، مشخص نیست که آیا ژن‌های *sdhA* و *sdhB* مستقیماً به مقاومت آنتی‌بیوتیکی در کمپیلو باکتر ژرونی کمک می کنند یا خیر. اما نقش آنها در مقاومت آنتی‌بیوتیکی سایر باکتری‌ها از گذشته اثبات شده است. با این حال، این ژن‌ها در متابولیسم انرژی نقش دارند که عامل مهمی در بقا و کلونیزاسیون و پاتوژن کمپیلو باکتر ژرونی هستند و به نظر می‌رسد توجه به این زیرواحدهای فراموش شده می‌تواند در توسعه و طراحی داروهای جدید مهم باشد.

بررسی الگوی بیان ژن‌های مختلف که نقش فعالی در مقاومت آنتی‌بیوتیکی دارند، از گذشته تا امروز قابل توجه بسیاری از محققین است، زیرا شناسایی ژن‌های مرتبط با پتانسیل تبدیل شدن به اهداف جدید برای تولید آنتی‌بیوتیک‌ها یا واکسن‌های جدید، می‌تواند به کشف نقاط ضعف در مسیرهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی و بهبود روش‌های درمانی برای کنترل عفونت‌های کمپیلو باکتر ژرونی کمک کند. به طور کلی استفاده از اطلاعات پایگاه‌های داده‌های مختلف و به کار بردن روش‌های نوین آنالیز، مانند میکروواری و RNA-Seq، راهکاری سریع و مطمئن برای ارزیابی بیان ژن‌های مختلف در شرایط خاص است.

### نتیجه‌گیری

مقاومت آنتی‌بیوتیکی به عنوان یک مشکل جهانی شناخته شده است. به طور کلی، در پژوهش حاضر مجموعه‌ای از ژن‌های جدید شناسایی شدند که با استفاده از تجزیه و تحلیل داده‌های بیان ژنی میکروواری، نقش مهم آن‌ها چه به صورت مستقیم و چه غیر مستقیم در مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داده شد. مازولهای شناسایی شده‌ی ۱ و ۲ به ترتیب ۹ و ۵ ژن *flaA*, *flaB*, *flgB*, *CmeC*, *sdhA*, *sdhB* را شامل می‌شد. ارتباط این ژن‌ها با یکدیگر برای زنده ماندن باکتری و ایجاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها مشخص شد

24. Nuijten, P.J. et al. (1990) Structural and functional analysis of two *Campylobacter jejuni* flagellin genes. *J. Biol. Chem.* 265, 17798–17804.
25. Guerry, P. (2007). *Campylobacter* flagella: not just for motility. *Trends in Microbiology*, 15(10), 456–461.
26. Hendrixson, D.R. and DiRita, V.J. (2003) Transcription of σ54 dependent but not σ28 dependent flagellar genes in *Campylobacter jejuni* is associated with formation of the flagellar secretory apparatus. *Mol. Microbiol.* 50, 687–702.
27. Hendriksen, J. J., Lee, H. J., Bradshaw, A. J., Namba, K., Chevance, F. F. V., Minamino, T., & Hughes, K. T. (2021). Genetic Analysis of the *Salmonella* FliE Protein That Forms the Base of the Flagellar Axial Structure. *MBio*, 12(5), 1–15. <https://doi.org/10.1128/mBio.02392-21>
28. Aldridge, P., and K. T. Hughes. 2002. Regulation of flagellar assembly. *Curr. Opin. Microbiol.* 5:160–165
29. Macnab, R.M., 2003. How bacteria assemble flagella. *Annu. Rev. Microbiol.* 57, 77–100.
30. Zhu, G. Y., Sha, P. F., Zhu, X. X., Shi, X. C., Shahriar, M., Zhou, Y. D., Wang, S. Y., & Laborda, P. (2021). Application of melatonin for the control of food-borne *Bacillus* species in cherry tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 181(July), 111656.
31. Chen, H., Ji, P. C., Qi, Y. H., Chen, S. J., Wang, C. Y., Yang, Y. J., Zhao, X. Y., & Zhou, J. W. (2023). Inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by thymoquinone in combination with nisin. *Frontiers in Microbiology*, 13(January), 1–17.
32. McKee, R. W., Harvest, C. K., & Tamayo, R. (2018). Cyclic Diguanylate Regulates Virulence Factor Genes via Multiple Riboswitches in *Clostridium difficile*. *MSphere*, 3(5). <https://doi.org/10.1128/msphere.00423-18>
33. Kovács, J. K., Cox, A., Schweitzer, B., Maróti, G., Kovács, T., Fenyvesi, H., Emody, L., & Schneider, G. (2020). Virulence traits of inpatient *Campylobacter jejuni* isolates, and a transcriptomic approach to identify potential genes maintaining intracellular survival. *Microorganisms*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040531>
34. Lin J, Michel LO, Zhang Q (2002) CmeABC functions as a multidrug efflux system in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrob Agents Chemother* 46:2124–2131.
35. Lin J, Sahino O, Michel LO, Zhang Q (2003) Critical role of multidrug efflux pump CmeABC in bile resistance and in vivo colonization of *Campylobacter jejuni*. *Infect Immun* 71:4250–4259.
36. Su, C. C., Radhakrishnan, A., Kumar, N., Long, F., Bolla, J. R., Lei, H. T., Delmar, J. A., Do, S. V., Chou, T. H., Rajashankar, K. R., Zhang, Q., & Yu, E. W. (2014). Crystal structure of the *Campylobacter jejuni* CmeC outer membrane channel. *Protein Science*, 23(7), 954–961.
- emergence of ERYthromycin-resistant *Campylobacter* isolates in chickens. *Antimicrob Agents Chemother*. 51:1678–1686.
12. Guo B, Wang Y, Shi F, Barton YW, Plummer P, Reynolds DL, Nettleton D, Grinnage-Pulley T, Lin J, Zhang Q: CmeR functions as a pleiotropic regulator and is required for optimal colonization of *Campylobacter jejuni* in vivo. *J Bacteriol* 2008, 190(6):1879–1890.
13. Mamelli L, Prouzet-Mauleon V, Pages JM, Megraud F, Bolla JM. 2005. Molecular basis of macrolide resistance in *Campylobacter*: role of efflux pumps and target mutations. *J. Antimicrob. Chemother.* 56:491–497.
14. Cagliero C, Mouline C, Payot S, Cloeckaert A. 2005. Involvement of the CmeABC efflux pump in the macrolide resistance of *Campylobacter coli*. *J. Antimicrob. Chemother.* 56:948–950.
15. Cagliero C, Mouline C, Cloeckaert A, Payot S. 2006. Synergy between efflux pump CmeABC and modifications in ribosomal proteins L4 and L22 in conferring macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50:3893–3896.
16. Gibreel A, Wetsch NM, Taylor DE. 2007. Contribution of the CmeABC efflux pump to macrolide and tetracycline resistance in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51:3212–3216.
17. Lin J, Akiba M, Sahin O, Zhang Q. 2005. CmeR functions as a transcriptional repressor for the multidrug efflux pump CmeABC in *Campylobacter jejuni*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49:1067–1075.
18. Skirrow, M. B., and M. J. Blaser. 2000. Clinical aspects of *Campylobacter* infection, p. 66–88. In M. J. Nachamkin and M. J. Blaser (ed.), *Campylobacter*, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
19. Kaakoush NO, Castano-Rodriguez N, Mitchell HM, Man SM. Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clin Microbiol Rev*. 2015;28(3):687–720.
20. Epps SV, Harvey RB, Hume ME, Phillips TD, Anderson RC, Nisbet DJ. Foodborne *Campylobacter*: infections, metabolism, pathogenesis and reservoirs. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10(12):6292–304.
21. Szymanski CM, King M, Haardt M, Armstrong GD, *Campylobacter jejuni* motility and invasion of Caco-2 cells, *Infection and Immunity* 1995; 63:4295-4300.
22. Hugdahl MB, BeERY JT, Doyle MP. Chemotactic behavior of *Campylobacter jejuni*. *Infection and Immunity* 1988; 56:1560-66.
23. Guerry, P. et al. (1991) Role of two flagellin genes in *Campylobacter* motility. *J. Bacteriol.* 173, 4757–4764

- increases during tricarboxylic acid cycle stress. *Journal of Bacteriology*, 187(9), 2967–2973. <https://doi.org/10.1128/JB.187.9.2967-2973.2005>
42. Gaupp, R., Schlag, S., Liebeke, M., Lalk, M., & Götz, F. (2010). Advantage of upregulation of succinate dehydrogenase in *Staphylococcus aureus* biofilms. *Journal of Bacteriology*, 192(9), 2385–2394.
43. Adolph, C., McNeil, M. B., & Cook, G. M. (2022). Impaired Succinate Oxidation Prevents Growth and Influences Drug Susceptibility in *Mycobacterium tuberculosis*. *MBio*, 13(4), 1–18. <https://doi.org/10.1128/mbio.01672-22>
44. Weingarten, R. A., Taveirne, M. E., & Olson, J. W. (2009). *The Dual-Functioning Fumarate Reductase Is the Sole Succinate: Quinone Reductase in *Campylobacter jejuni* and Is Required for Full Host Colonization*. 191(16), 5293–5300.
45. Juhnke, H. D., H. Hiltscher, H. R. Nasiri, H. Schwalbe, and C. R. Lancaster. 2009. Production, characterization, and determination of the real catalytic properties of the putative ‘succinate dehydrogenase’ from *Wolinella succinogenes*. *Mol. Microbiol.* 71:1088–110
37. Yankovskaya V, Horsefield R, Törnroth S, Luna-Chavez C, Miyoshi H, Léger C, et al. Architecture of succinate dehydrogenase and reactive oxygen species generation. *Science*. 2003;299(5607):700-4.
38. Ruprecht J, Yankovskaya V, Maklashina E, Iwata S, Cecchini G. Structure of *Escherichia coli* succinate:quinone oxidoreductase with an occupied and empty quinone-binding site. *J Biol Chem*. 2009;284(43):29836-46.
39. Maklashina E, Rajagukguk S, Starbird CA, McDonald WH, Koganitsky A, Eisenbach M, et al. Binding of the Covalent Flavin Assembly Factor to the Flavoprotein Subunit of Complex II. *J Biol Chem*. 2016;291(6):2904-16.
40. Mutagenesis, G., Reid, A. N., Pandey, R., Palyada, K., Whitworth, L., Doukhanine, E., & Stintzi, A. (2008). *Identification of *Campylobacter jejuni* Genes Contributing to Acid Adaptation by Transcriptional Profiling and*. 74(5), 1598–1612.
41. Vuong, C., Kidder, J. B., Jacobson, E. R., Otto, M., Proctor, R. A., & Somerville, G. A. (2005). *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin production significantly

## Identification of new effective genes in promoting Erythromycin resistance in *Campylobacter jejuni* by using bioinformatics tools

Mahlagha Cheraghi<sup>1</sup>, Nastaran Asghari Moghaddam<sup>1\*</sup>, Bita Bakhshi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Master student, Department of Biology Faculty of convergent sciences & technoligies, Central Tehran Branch,  
Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>1</sup> Assistant professor, Department of Biology, Faculty of convergent sciences & technoligies, Central Tehran  
Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Professor, Department of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

### Abstract

Macrolide antibiotics are important for the treatment of *Campylobacter jejuni* infections. Resistance to this class of antibiotics in *Campylobacter* is a complex process with dynamic molecular changes that are not well defined. In the present study, to fill the gap related to antibiotic resistance to Erythromycin treatment, the transcriptomic response of *Campylobacter jejuni* strain NCTC11168 to Erythromycin (ERY) treatment was determined by microarray method. The obtained data were identified, extracted and analyzed with GEO2R online tools and R software. Genes with the highest differential expression were identified by using parameters  $P<0.05$  and  $\text{LogFC} |>1|$ . Then, the expression of the related genes was separated and for the genes that had an increase in expression, the protein network was predicted through the STRING database and visualized with the Cytoscape software. By identifying different genes that had a significant decrease or increase in expression, it was found that a set of *flaA*, *flaB*, *flgB*, *CmeC*, *sdhA*, *sdhB* genes can play a role in the antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* to the treatment with Erythromycin antibiotic. In this study by examining the goals, effectiveness and functional analysis of these genes, suitable solutions to curb the resistance were presented.

**Key words:** Antibiotic resistance, *Campylobacter jejuni*, Erythromycin, Microarray

\* nas.asgharimoghaddam@iauctb.ac.ir