DOI: 10.48305/jhsr.v20i3.1555 Published by Vesnu Publications

Journal of Health System Research Vol. 20, No. 3, Autumn

Received: 15.11.2023 Accepted: 21.02.2024 Published: 06.10.2024

Examination of the Prevalence, Genetic Diversity and Antibiotic Resistance *of Clostridium Difficile* (*Clostridioides difficile*) in Semi-Cooked Ready-to-Eat Products in the Sale Centers of Isfahan Province, Iran

Parvin Ghorbani[1], Ebrahim Rahimi[2], Amir Shakerian[2], Zahra Esfandiari[3]

Original Article

Abstract

Background: *Clostridium difficile (Clostridioides difficile)* is known as one of the main causes of pseudomembranous colitis and is considered an important enteropathogen in humans. Antibiotic use has been introduced as one of the most significant risk factors contributing to the prevalence and incidence of "*Clostridium difficile* nosocomial infection". The aim of this study is to investigate the prevalence, antibiotic resistance, and genetic diversity of *Clostridium difficile* in semi-cooked ready-to-eat products in stores of Isfahan Province in Iran.

Methods: A total of 240 samples of semi-cooked ready-to-eat products, including potato kuku, herb kuku, cordon bleu, and chicken nuggets (each 60 samples), were randomly collected from stores of Isfahan Province between July 2020 and February 2021. *Clostridium difficile* was identified by culturing the samples in *Clostridium difficile* moxalactam norfloxacin. To determine the characteristics of the toxins, *tcdA* and *tcdB* genes were detected through multiplex polymerase chain reaction (M-PCR). The antibiotic sensitivity of the isolates was determined based on the minimum inhibitory concentration (MIC) test. The results were analyzed using chi-square test in SPSS software and P-value was considered significant at 0.05.

Findings: 37 samples were infected with *Clostridium difficile*. The contamination rate was 13.3%, 20.0%, 11.6%, and 16.6% in potato kuku, herb kuku, cordon bleu, and chicken nugget, respectively. The highest contamination was related to the semi-cooked herb kuku product. *TcdA* and *tcdB* gene toxins were identified in 15 and 17 isolates of *Clostridium difficile*, respectively. Among *Clostridium difficile* strains, the highest level of resistance was seen for ampicillin and penicillin antibiotics, and the highest sensitivity was related to chloramphenicol and metronidazole.

Conclusion: Semi-cooked ready-to-eat products can be considered as potential sources of antibiotic-resistant *Clostridium difficile*. Thus, complete cooking process of semi-cooked ready-to-eat foods at appropriate temperature and time (85 °C and 30 minutes) and following hygiene principles in food processing plants can prevent the probable gastrointestinal infections caused by strains of *Clostridium difficile* in consumers.

Keywords: *Clostridium difficile*; Antibiotic resistance; Genetic diversity; Ready to eat foods; Iran

Citation: Ghorbani P, Rahimi E, Shakerian A, Esfandiari Z. **Examination of the Prevalence, Genetic Diversity and Antibiotic Resistance *of Clostridium Difficile* (*Clostridioides difficile*) in Semi-Cooked Ready-to-Eat Products in the Sale Centers of Isfahan Province, Iran.** J Health Syst Res 2024; 20(3): 273-8.

1- PhD Student, Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
2- Professor, Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
3- Assistant Professor, Nutrition and Food Security Research Center AND Department of Food Science and Technology, School of Nutrition and Food Science, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Ebrahim Rahimi; Professor, Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran; Email: ebrahimrahimi55@yahoo.com

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2024-12-31]

[DOI: 10.48305/jhsr.v20i3.1555]

DOI: 10.48305/jhsr.v20i3.1555 Published by Vesnu Publications

بررسی شیوع، تنوع ژنتیکی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی *کلستریدیوم دیفیسیل (کلستریدیوس دیفیسیل)* در فرآورده‌های نیمه پخته آماده مصرف در مراکز فروش استان اصفهان

پروین قربانی[1]، ابراهیم رحیمی[2]، امیر شاکریان[2]، زهرا اسفندیاری[3]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: *کلستریدیوم دیفیسیل (کلستریدیوس دیفیسیل)* یکی از علل اصلی ناشی از کولیت کاذب غشایی و یکی از انتروپاتوژن‌های مهم در انسان شناخته شده است. مصرف آنتی‌بیوتیک، یکی از مهم‌ترین عوامل خطر در شیوع و بروز عفونت بیمارستانی *کلستریدیوم دیفیسیل* معرفی شده است. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی شیوع، مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تنوع ژنتیکی باکتری *کلستریدیوم دیفیسیل* در فرآورده‌های نیمه پخته آماده مصرف در مراکز فروش استان اصفهان بود.

روش‌ها: ۲۴۰ نمونه از فرآورده‌های نیمه پخته شامل کوکو سیب‌زمینی، کوکو سبزی، کوردن بلو و ناگت مرغ (از هر کدام ۶۰ نمونه) توزیع شده در سطح استان اصفهان، در فاصله زمانی تیر ماه تا بهمن ماه سال ۱۴۰۰ به صورت تصادفی جمع‌آوری گردید. جهت جداسازی *کلستریدیوم دیفیسیل*، از محیط کشت کلستریدیوم دیفیسیل موکسالاکتام نورفلوکساسین استفاده شد. ژن‌های مربوط به توکسین‌های *کلستریدیوم دیفیسیل* با عناوین tcdA و tcdB از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چندگانه (Multiplex polymerase chain reaction یا M-PCR) شناسایی و حساسیت آنتی‌بیوتیکی این جدایه‌ها بر اساس آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی (Maximum Inhibitory Concentration یا MIC) تعیین گردید. نتایج شیوع با استفاده از آزمون χ^2 و سطح معنی‌داری $P < ۰/۰۵$ در نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: ۳۷ نمونه آلوده به *کلستریدیوم دیفیسیل* بودند. آلودگی به کلستریدیوم دیفیسیل در نمونه‌های نیمه پخته شامل کوکو سیب‌زمینی، کوکو سبزی، کوردن بلو و ناگت مرغ به ترتیب ۱۳/۳، ۲۰/۰، ۱۱/۶ و ۱۶/۶ درصد مشاهده شد. بیشترین آلودگی به محصول کوکو سبزی اختصاص داشت. توکسین‌های مسؤول تولید سموم شامل ۱۵ نمونه مثبت tcdA و ۱۷ نمونه مثبت tcdB شناسایی گردید. در جدایه‌های کلستریدیوم *دیفیسیل*، بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و پنی‌سیلین و بیشترین حساسیت مربوط به کلرامفنیکل و مترونیدازول بود.

نتیجه‌گیری: فرآورده‌های نیمه پخته آماده مصرف می‌توانند به عنوان منبع احتمالی *کلستریدیوم دیفیسیل* مقاوم به آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته شوند. بنابراین، پخت کامل غذاهای نیمه آماده قبل از مصرف در دما و زمان مناسب ۸۵ درجه سلسیوس و ۳۰ دقیقه و رعایت بهداشت در مراکز تولید، می‌تواند از بروز عفونت‌های گوارشی احتمالی از طریق سویه‌های *کلستریدیوم دیفیسیل* در مصرف‌کنندگان جلوگیری نماید.

واژه‌های کلیدی: *کلستریدیوم دیفیسیل*؛ مقاومت آنتی‌بیوتیکی؛ تنوع ژنتیکی؛ غذای آماده مصرف؛ ایران

ارجاع: قربانی پروین، رحیمی ابراهیم، شاکریان امیر، اسفندیاری زهرا. **بررسی شیوع، تنوع ژنتیکی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی *کلستریدیوم دیفیسیل (کلستریدیوس دیفیسیل)* در فرآورده‌های نیمه پخته آماده مصرف در مراکز فروش استان اصفهان.** مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۴۰۳؛ ۲۰ (۳): ۲۷۸-۲۷۳

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۸/۲۴ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۲/۲ تاریخ چاپ: ۱۴۰۳/۷/۱۵

مقدمه

کلستریدیوم دیفیسیل (کلستریدیوس دیفیسیل) باکتری گرم مثبت، بی‌هوازی اجباری و تشکیل دهنده اسپور می‌باشد. گزارش‌های پراکنده‌ای از «عفونت بیمارستانی *کلستریدیوم دیفیسیل*» در محیط‌های درمانی در دهه ۷۰ میلادی وجود دارد، اما از دهه ۹۰ میلادی تا به حال، شدت شیوع این عفونت تا حدود زیادی رو به افزایش بوده است (۱). بر اساس آمارهای سازمان بهداشت جهانی، نقش بیماری‌زایی *کلستریدیوم دیفیسیل* برای اولین بار در دهه ۷۰ میلادی به عنوان عامل کولیت با غشای کاذب مشخص گردید (۴-۲). از سال ۲۰۰۳، شدت و مرگ و میر «عفونت بیمارستانی *کلستریدیوم دیفیسیل*»، به صورت قابل توجهی در آمریکای شمالی و بسیاری از کشورهای اروپایی رو به افزایش گذاشت. تغییراتی در اپیدمیولوژی باکتری مشاهده شد که از آن جمله می‌توان به بروز عفونت اکتسابی *کلستریدیوم دیفیسیل* از جامعه، مشاهده بیماری در جوانان فاقد عوامل خطر و پدیدار شدن سویه‌های با قدرت تهاجمی بالا، بروز سویه‌های مقاوم به فلوروکینولون‌ها، شباهت بین ایزوله‌های *کلستریدیوم دیفیسیل* جدا شده از انسان و مواد غذایی اشاره کرد (۵).

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۳- استادیار، مرکز تحقیقات تغذیه و امنیت غذایی و گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده مسؤول: ابراهیم رحیمی؛ استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
Email: ebrahimrahimi55@yahoo.com

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2024-12-31]
[DOI: 10.48305/jhsr.v20i3.1555]

نتایج مطالعات نشان داده است که برخی از انواع مواد غذایی، به خصوص فرآورده‌هایی که انسان نقشی در زنجیره تولید یا فرآوری آن‌ها دارد، می‌توانند از منابع *کلستریدیوم دیفیسیل* باشند (۶، ۵). آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین و تتراسایکلین در رژیم غذایی دام کاربرد فراوانی دارند و حتی جهت درمان بیماری نیز استفاده می‌شوند که این امر می‌تواند منجر به باقی ماندن آنتی‌بیوتیک در گوشت حیوان گردد. در نتیجه، با مصرف گوشت حیوان توسط انسان، ورود این آنتی‌بیوتیک به بدن فرد اتفاق می‌افتد و فرد به صورت غیر مستقیم می‌تواند مستعد ابتلا به عفونت بیمارستانی *کلستریدیوم دیفیسیل* باشد. به همین دلیل به صورت غالب، بیشتر تحقیقات مربوط به *کلستریدیوم دیفیسیل* در منابع مختلف غذایی به گوشت و فرآورده‌های گوشتی اختصاص دارد (۵). نتایج پژوهش‌های صورت گرفته نشان می‌دهد که اسپورهای *کلستریدیوم دیفیسیل* در حرارت ۷۱ درجه سلسیوس در حداقل زمان توصیه شده جهت پخت گوشت قابلیت بقا دارند (۷). مقاومت *کلستریدیوم دیفیسیل* نسبت به شرایط محیطی سبب شده است تا آن‌ها بتوانند در محصولات غذایی تهیه شده از مواد خام و مواد غذایی حرارت داده شده پایدار بمانند (۹، ۸).

در سال‌های اخیر به دلیل تغییر در سبک زندگی، شیوه تغذیه و مصرف فرآورده‌های غذایی آماده به ویژه به واسطه افزایش زمان ماندگاری، به طور چشمگیری در اقشار مختلف جامعه افزایش یافته است. همچنین، با توجه به این که انواع متنوعی از فرآورده‌های نیمه پخته آماده در سبد کالای مصرف خانوار قرار دارد و اصولاً مصرف‌کنندگان جهت آماده‌سازی این گروه از محصولات، گرم کردن و سرخ شدن مختصر این گروه از فرآورده‌ها را انجام می‌دهند، این شرایط می‌تواند منجر به باقی ماندن اسپور *کلستریدیوم دیفیسیل* شود. در پژوهش حاضر، میزان آلودگی، تنوع ژنتیکی و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *کلستریدیوم دیفیسیل* در نمونه‌های مختلف فرآورده‌های نیمه پخته آماده مصرف توزیع شده در مراکز فروش استان اصفهان مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، ۲۴۰ نمونه شامل کوکو سیب‌زمینی، کوکو سبزی، کوردن بلو و ناگت مرغ به صورت نیمه پخته (از هر کدام ۶۰ نمونه)، به صورت تصادفی از مراکز فروش استان اصفهان جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها از نظر بسته‌بندی کاملاً سالم و از خصوصیات ظاهری (رنگ، بو و قوام بافتی) مناسبی برخوردار بودند. نمونه‌ها به صورت سرد به مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد منتقل شدند. حدود ۵ گرم از هر نمونه در ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت *کلستریدیوم دیفیسیل* موکسالاکتام نورفلوکساسین برات انتقال داده شد. ترکیبات هیدروکلرید سیستئین، نورفلوکساسین و موکسالاکتام نیز به عنوان مکمل به محیط کشت اضافه شدند. این ترکیب به مدت ۵ تا ۷ روز در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در شرایط بی‌هوازی گرم‌خانه‌گذاری شد. پس از آن، محیط به ۲ میلی‌لیتر اتانول ۹۸ درصد اضافه و به مدت دو ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. سپس رسوب بر روی *کلستریدیوم دیفیسیل* موکسالاکتام نورفلوکساسین آگار حاوی ۷ درصد خون گوسفند کشت گردید. نمونه‌ها در شرایط بی‌هوازی در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد. پرگنه‌های مشکوک به *کلستریدیوم دیفیسیل* روی محیط کشت بلاد آگار کشت شدند و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت در شرایط بی‌هوازی قرار گرفتند. تشخیص بیوشیمیایی از روی شکل، بوی مدفوع اسب و رنگ‌آمیزی گرم بر روی پرگنه‌های مثبت انجام شد. آماده‌سازی DNA برای آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چندگانه (Multiplex polymerase chain reaction یا M-PCR) با داشتن پرگنه تازه و انتقال آن به ۱ میلی‌لیتر آب دیونیزه استریل در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۳ دقیقه انجام شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۱۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ گردید. ۱۰ میکرولیتر از سوپرناتانت برای آزمایش‌های M-PCR به کار گرفته شد.

در تحقیق حاضر، ژن ایزومراز تری‌فسفات برای تأیید باکتری *کلستریدیوم دیفسیل* و دو ژن tcdA و tcdB به علت این که به عنوان عوامل اصلی عفونت *کلستریدیوم دیفسیل* می‌باشند، بررسی شدند. همه مواد برای M-PCR از شرکت سیناژن (ایران) تأمین گردید. M-PCR با حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ترکیبی از ۲/۵ میکرولیتر بافر M-PCR، ۳ میکرولیتر کلرید منیزیم ۵۰ میلی‌مولار، ۲ میکرولیتر دی‌اکسی نوکلئوتید تری‌فسفات ۱۰ میلی‌مولار، ۰/۵ واحد آنزیم تک DNA پلی‌مراز، ۱ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای tcdA و tcdB، ۰/۵ میکرولیتر از آغازگر ایزومر تری‌فسفات و ۵ میکرولیتر DNA الگو بود. چرخه حرارتی مورد استفاده به ترتیب به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس برای دناتوراسیون صورت پذیرفت. فرایند تقویت نیز طی ۳۰ ثانیه در ۱۱ مرحله از دمای ۵۵ به ۶۵ درجه سلسیوس انجام شد. مرحله تکثیر در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و ۴۰ بار تقویت در دستگاه ترموسایکلر صورت گرفت. توکسین‌های tcdA و tcdB با واکنش M-PCR در آزمایشگاه مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد بر اساس روش Lemee و همکاران (۱۰) شناسایی گردید.

کیفیت DNA با استفاده از ژل آگاروز ۱/۵ درصد در تانک الکتروفورز افقی ارزیابی شد. شدت وضوح باندها، تحت تأثیر اشعه فرابنفش و با استفاده از دستگاه ترانس لومیناتور مورد بررسی قرار گرفت. آغازگرهای مورد استفاده برای تشخیص باکتری *کلستریدیوم دیفسیل* از شرکت Metabion (آلمان) تهیه گردید (جدول ۱) (۱۱).

جدول ۱. توالی آغازگرهای ژن‌های tcdA و tcdB برای تشخیص *کلستریدیوم دیفیسیل*

ژن هدف	سکانس آغازگر	اندازه محصول (جفت باز)	منبع
tpi	F[5'- AAAGAAGCTACTAAGGGTACAAA-3'] R [5'-CATAATATTGGGTCTATTCCTAC-3']	۲۳۰	۱۲
tcdA	F [5'- AGATTCCTATATTTACATGACAATAT-3'] R [5'-GTATCAGGCATAAAGTAATATACTTT-3']	۳۶۹	۱۰
tcdB	F [5'-GGAAAAGAGAATGGTTTTATTAA-3'] R [5'-TCTTTAGTTATAACTTTGACATCTTT-3']	۱۶۰	۱۰

https://hsr.mui.ac.ir
[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2024-12-31]
[DOI: 10.48305/jhsr.v20i3.1555]

تفسیر نتایج تست سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی بر اساس حداقل غلظت مهارکنندگی (Maximum Inhibitory Concentration یا MIC) مطابق روش Harvey و همکاران (۱۳) انجام گرفت. دیسک‌های آنتی‌بیوگرامی از شرکت پادتن‌طب (ایران) تهیه گردید. قطر هاله عدم رشد پس از ۴۸ ساعت گرم‌خانه‌گذاری و دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرائت و تفسیر شد. دامنه MIC برای هر یک از آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت حساس و مقاوم بیان گردید. زمانی که غلظت آنتی‌بیوتیک تا بیش از ۷۰ درصد رشد *کلستریدیوم دیفیسیل* مهار می‌شد، ایزوله حساس و زمانی که غلظت آنتی‌بیوتیک کمتر از ۳۰ درصد رشد *کلستریدیوم دیفیسیل* مهار می‌شد، مقاوم تعریف گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون χ^2 در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ (SPSS Inc., version 16, Chicago, IL) و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

از ۲۴۰ نمونه مورد بررسی در پژوهش حاضر، وجود *کلستریدیوم دیفیسیل* در ۳۷ نمونه تأیید گردید. آلودگی به *کلستریدیوم دیفیسیل* در نمونه‌های کوکو سیب‌زمینی، کوکو سبزی، کوردن بلو و ناگت مرغ به ترتیب ۱۳/۳، ۲۰/۰، ۱۱/۶ و ۱۶/۶ درصد بود. پلیت‌های حاوی پرگنه‌های سفید مایل به خاکستری، مات، دایره‌ای شکل و کمی برجسته نشان دهنده ایزوله‌های *کلستریدیوم دیفیسیل* بودند. ایزوله‌های دارای ژن‌های tcdA و tcdB در ۱۵ (۴۰/۵ درصد) و ۱۷ نمونه (۴۵/۹۴ درصد) شناسایی شدند ($P < ۰/۰۵$) (جدول ۲).

جدایه‌های *کلستریدیوم دیفیسیل* از نمونه‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر بیشترین میزان مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و پنی‌سیلین و بیشترین حساسیت را نسبت به مترونیدازول و کلرامفنیکل نشان دادند ($P < ۰/۰۵$) (جدول ۳).

بحث

پژوهش حاضر با هدف بررسی شیوع، تنوع ژنتیکی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی *کلستریدیوم دیفیسیل* در فرآورده‌های نیمه پخته آماده مصرف در مراکز فروش استان اصفهان انجام شد. بدین ترتیب، بیشترین و کمترین فراوانی *کلستریدیوم دیفیسیل* به ترتیب به کوکو سبزی و کوردن بلو اختصاص داشت. در مجموع، نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده آلودگی بیشتر در محصولات نیمه پخته آماده مصرف با منشأ گیاهی نسبت به محصولات نیمه آماده با منشأ حیوانی می‌باشد (جدول ۱). به عبارت دیگر، فرآورده‌های غیر گوشتی مانند کوکو سیب‌زمینی و کوکو سبزی، تعداد بیشتری از ایزوله‌های توکسیکوژنیک، به خصوص ژن tcdB را نسبت به فرآورده‌های گوشتی مانند کوردن بلو و ناگت مرغ دارد ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۲. بررسی آلودگی و تنوع ژنتیکی سویه‌های *کلستریدیوم دیفیسیل* در فرآورده‌های نیمه پخته آماده مصرف

نوع نمونه	آلودگی بر اساس M-PCR	ایزوله‌های توکسیژنیک	
		tcdB	tcdA
کوکو سیب‌زمینی	۸ (۱۳/۳)	۳ (۳۷/۵)	۵ (۶۲/۵)
کوکو سبزی	۱۲ (۲۰/۰)	۵ (۴۱/۶)	۶ (۵۰/۰)
کوردن بلو	۷ (۱۱/۶)	۴ (۵۷/۱)	۳ (۴۲/۸)
ناگت مرغ	۱۰ (۱۶/۶)	۳ (۳۰/۰)	۳ (۳۰/۰)
مجموع	۳۷ (۱۵/۴)	۱۵ (۴۰/۵)	۱۷ (۴۵/۹۴)

داده‌ها بر اساس تعداد (درصد) گزارش شده است.

M-PCR: Multiplex polymerase chain reaction

اگرچه منبع وجود *کلستریدیوم دیفیسیل* در محصولات غذایی نامشخص است و ناهمگونی قابل توجهی بین نتایج تحقیقات مشاهده می‌شود، اما با این حال، علاوه بر تفاوت‌های واقعی در شیوع، ممکن است این تفاوت‌ها به دلیل فصول مختلف نمونه‌برداری، دما و شرایط جغرافیایی، کیفیت پژوهش‌ها، حساسیت روش‌های تشخیص و یا انتقال آلودگی از دست کارکنان شاغل، وسایل و تجهیزات و محیط و فرایند باشد (۱۵، ۱۴).

جدول ۳. فراوانی و درصد حساسیت باکتری *کلستریدیوم دیفیسیل* جدا شده از فرآورده‌های نیمه پخته آماده مصرف

آنتی‌بیوتیک	دامنه MIC (میلی‌گرم)	غلظت آنتی‌بیوتیک (میلی‌گرم)	مقاومت [تعداد (درصد)]	حساسیت [تعداد (درصد)]
آموکسی‌سیلین	۱-۱۰	۲	۲۶ (۸۵/۷۲)	۰ (۰)
آمپی‌سیلین	۵-۲۵	۷	۵ (۱۰۰)	۰ (۰)
سفتارولین	۶-۶۴	۵۲	۱۲ (۲۸/۷۵)	۱۲ (۲۸/۷۵)
کلیندامایسین	۱-۱۶	۱	۵ (۷۱/۴۲)	۱ (۱۴/۲۸)
لینوزوئید	۱-۱۰	۴	۱ (۱۴/۲۸)	۵ (۷۱/۴۲)
مروپنم	۵-۲۵	۱۷	۲ (۲۸/۷۵)	۲ (۲۸/۷۵)
مترونیدازول	۰/۱۲۵-۸۰	۸۰	۰ (۰)	۸۰ (۱۰۰)
آموکسی فلوکساسین	۱-۱۰	۶	۲ (۲۸/۷۵)	۲ (۲۸/۷۵)
پنی‌سیلین	۱-۱۰	۴	۱ (۱۰۰)	۰ (۰)
جنتامایسین	۵-۲۵	۵	۱ (۱۴/۲۸)	۴ (۸۵/۷۲)
تتراسیکلین	۱-۲۵	۱	۶ (۸۵/۷۲)	۱ (۱۴/۲۸)
کلرامفنیکل	۰/۲۵-۴	۳	۰ (۰)	۴ (۱۰۰)

MIC: Maximum Inhibitory Concentration

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2024-12-31]

[DOI: 10.48305/jhsr.v20i3.1555]

مطالعات مختلفی در ایران و سایر کشورها انجام شده است. به عنوان مثال، آلودگی با *کلستریدیوم دیفیسیل* در درصد بالایی از محصولات با منشأ حیوانی در عربستان سعودی مشاهده گردید (۱۶). در ارتباط با وجود *کلستریدیوم دیفیسیل* در محصولاتی با منشأ گیاهی که توسط Bakri و همکاران بر روی ۴۰ نمونه سالاد آماده مصرف صورت گرفت، این باکتری در سه نمونه (۷/۵ درصد) جداسازی شد. از این میان، سه ایزوله حاوی ژن tcdB بودند. جدایه‌ها به ونکومایسین و مترونیدازول حساس، اما به دیگر داروهای ضد میکروبی مقاوم بودند (۸). در تحقیق Eckert و همکاران که در فرانسه انجام شد، از ۱۰۴ نمونه سالاد و سبزیجات آماده مصرف، سویه‌های مولد توکسین *کلستریدیوم دیفیسیل* در سه نمونه (۲/۹ درصد) شامل دو نمونه سالاد آماده مصرف (۱ مغز کاهو و ۱ برگ کاهو) و ۱ نمونه جوانه نخود جداسازی گردید (۱۷). در پژوهش جامعی که توسط برجی و همکاران صورت پذیرفت، آلودگی *کلستریدیوم دیفیسیل* در مقالات بررسی شده در بازه زمانی سال‌های ۲۰۰۹ تا ۲۰۱۹، به ترتیب مربوط به انواع سالادها، سبزیجات و انواع گوشت با میزان ۶/۱، ۵/۵ و ۵/۶ درصد بود که نشان دهنده شیوع *کلستریدیوم دیفیسیل* در محصولات با منشأهای مختلف دامی و گیاهی می‌باشد (۱۸). بنابراین، در رابطه با مطالعه حاضر می‌توان استنباط کرد که شیوع *کلستریدیوم دیفیسیل* در محصولات نیمه پخته آماده مصرف در ایران می‌تواند از نظر اصول بهداشتی مورد توجه باشد. از آن‌جایی که این باکتری قادر به تشکیل اسپور بسیار مقاوم است و می‌تواند برای مدت طولانی در محیط باقی بماند، انتقال این باکتری به غذا تسهیل می‌شود. یکی از دلایل اصلی انتقال *کلستریدیوم دیفیسیل* در انواع محصولات نیمه پخته آماده مصرف، مربوط به حضور و پراکندگی گسترده این باکتری در محیط و مشکلات احتمالی در فرایند تهیه آن به واسطه ناکافی بودن دمای فرآوری در راستای نابودی اسپور باکتری‌های مقاوم به حرارت می‌باشد.

در تحقیق حاضر، توکسین‌های tcdA و tcdB در محصولات نیمه پخته آماده مصرف نیز مورد بررسی قرار گرفت؛ چرا که این توکسین‌ها شایع‌ترین توکسین‌های سمیت *کلستریدیوم دیفیسیل* معرفی شده‌اند (۵). در پژوهشی در ایران، ۷۰ درصد ایزوله مثبت از توکسین‌های tcdA و tcdB *کلستریدیوم دیفیسیل* در قطعات مرغ بسته‌بندی توزیع شده در سطح عرضه مشهد جداسازی گردید (۱۹). در کشورهای دیگری مانند آلمان، درصد بالایی از ایزوله‌ها دارای ژن‌های tcdA و tcdB در نمونه‌های مرغ یافت شد و در آن‌ها مقاومت نسبتاً بالایی به آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و کلیندامایسین گزارش گردید (۲۰).

از جمله آنتی‌بیوتیک‌هایی که می‌توانند تعادل میکروبیوتای سالم را در دستگاه گوارش مختل کنند و در نتیجه، باعث تکثیر *کلستریدیوم دیفیسیل* شوند شامل آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، سفالوسپورین‌ها، کلیندامایسین و فلوروکینولون‌ها هستند (۱۹، ۲). بنابراین، در مطالعه حاضر به بررسی آنتی‌بیوتیک‌های مقاوم و حساس به *کلستریدیوم دیفیسیل* پرداخته شد. نتایج تحقیق حاضر نشان دهنده مقاومت جدایه‌های *کلستریدیوم دیفیسیل* به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و پنی‌سیلین بود. مقاومت آنتی‌بیوتیکی در *کلستریدیوم دیفیسیل* ماهیت چند عاملی دارد. به دست آوردن عناصر ژنتیکی و تغییر در محل‌های هدف آنتی‌بیوتیک و همچنین، عوامل دیگری مانند تغییرات در مسیرهای متابولیک و تولید بیوفیلم، به بقای این پاتوژن در حضور آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند کمک نماید (۱۴).

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر بیان‌کننده وجود *کلستریدیوم دیفیسیل* در محصولات غذایی نیمه پخته آماده مصرف با منشأ حیوانی و گیاهی مانند کوکو سیب‌زمینی، کوکو سبزی، کوردن بلو و ناگت مرغ بود. جداسازی این میکروارگانیسم می‌تواند مربوط به شرایط نامناسب محیطی و فرآوری بر روی این گروه از محصولات باشد. به نظر می‌رسد با توجه به رشد تولیدات صنعتی محصولات نیمه پخته آماده مصرف، نیاز است توجه جدی به اقدامات پیشگیرانه و اصول بهداشتی در خصوص کنترل انتقال باکتری گردد. همچنین، آموزش‌های لازم در خصوص نحوه پخت صحیح فرآورده به مصرف‌کنندگان در دمای ۸۵ درجه سلسیوس و به مدت ۳۰ دقیقه ارایه گردد تا این شرایط فرآوری بتواند منجر به غیر فعال‌سازی اسپور باکتری شود و انتقال آن به مصرف‌کنندگان کنترل و پیشگیری گردد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه مقطع دکتری تخصصی با شماره ۱۳۳۸۲۹۶۲۰۹۴۰۵۴۹۵۸۰۰۷۱۶۲۶۶۵۲۸۰، مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد می‌باشد. بدین وسیله از کلیه کارکنان مرکز تحقیقات میکروب‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که در انجام این مطالعه همکاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Vazquez-Cuesta S, Olmedo M, Reigadas E, Alcala L, Marin M, Munoz P, et al. Clostridioides difficile infection epidemiology and clinical characteristics in COVID-19 pandemic. Front Med (Lausanne) 2022; 9: 953724.
2. Esfandiari Z, Shoaei P, Vakili B, Farajzadegan Z, Tarrahi MJ, Emami Z, et al. Prevalence and antibiotic resistance of clostridioides (Clostridium difficile) In meat and meat products: A systematic review and meta-analysis. Iran J Public Health 2023; 52(12): 2516-27.
3. Tsutsumi LS, Owusu YB, Hurdle JG, Sun D. Progress in the discovery of treatments for C. difficile infection: A clinical and medicinal chemistry review. Curr Top Med Chem 2014; 14(1): 152-75.
4. Tortajada-Girbes M, Rivas A, Hernandez M, Gonzalez A, Ferrus MA, Pina-Perez MC. Alimentary and pharmaceutical approach to natural antimicrobials against clostridioides difficile gastrointestinal infection. Foods 2021; 10(5): 1124.
5. Esfandiari Z, Amani F, Khavari S, Sami M. Clostridioides difficile in non-hospital sources (Animals, food, and environment) in Asian countries: A literature review. Jundishapur J Microbiol 2021; 14(3): e115347.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2024-12-31]

[DOI: 10.48305/jhsr.v20i3.1555]

6. Primavilla S, Farneti S, Petruzzelli A, Drigo I, Scuota S. Contamination of hospital food with Clostridium difficile in Central Italy. Anaerobe 2019; 55: 8-10.
7. Esfandiari Z, Weese S, Ezzatpanah H, Jalali M, Chamani M. Occurrence of Clostridium difficile in seasoned hamburgers and seven processing plants in Iran. BMC Microbiol 2014; 14: 283.
8. Bakri MM, Brown DJ, Butcher JP, Sutherland AD. Clostridium difficile in ready-to-eat salads, Scotland. Emerg Infect Dis 2009; 15(5): 817-8.
9. Anderson OS, Sant KE, Dolinoy DC. Nutrition and epigenetics: An interplay of dietary methyl donors, one-carbon metabolism and DNA methylation. J Nutr Biochem 2012; 23(8): 853-9.
10. Lemee L, Dhalluin A, Testelin S, Mattrat MA, Maillard K, Lemeland JF, et al. Multiplex PCR targeting tpi (triose phosphate isomerase), tcdA (Toxin A), and tcdB (Toxin B) genes for toxigenic culture of Clostridium difficile. J Clin Microbiol 2004; 42(12): 5710-4.
11. Bingol EB, Hampikyan H, Muratoglu K, Akkaya E, Cetin O, Colak H. Characterisation and antibiotic susceptibility profile of clostridioides (Clostridium) difficile isolated from chicken carcasses. J Vet Res 2020; 64(3): 407-12.
12. Dhalluin A, Lemee L, Pestel-Caron M, Mory F, Leluan G, Lemeland JF, et al. Genotypic differentiation of twelve Clostridium species by polymorphism analysis of the triosephosphate isomerase (tpi) gene. Syst Appl Microbiol 2003; 26(1): 90-6.
13. Harvey RB, Norman KN, Andrews K, Norby B, Hume ME, Scanlan CM, et al. Clostridium difficile in retail meat and processing plants in Texas. J Vet Diagn Invest 2011; 23(4): 807-11.
14. Hazarika R, Sarmah H, Doley MK, Saikia DP, Hazarika G, Barkalita LM, et al. Clostridioides difficile in food and food products of animal origin in Assam, India. Anaerobe 2023; 81: 102723.
15. McInnes MDF, Moher D, Thombs BD, McGrath TA, Bossuyt PM, Clifford T, et al. Preferred reporting items for a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies: The PRISMA-DTA Statement. JAMA 2018; 319(4): 388-96.
16. Taha Attia AE. Retail chicken meats as potential sources of Clostridioides difficile in Al-Jouf, Saudi Arabia. J Infect Dev Ctries 2021; 15(7): 972-8.
17. Eckert C, Burghoffer B, Barbut F. Contamination of ready-to-eat raw vegetables with Clostridium difficile in France. J Med Microbiol 2013; 62(Pt 9): 1435-8.
18. Borji S, Kadivarian S, Dashtbin S, Kooti S, Abiri R, Motamedi H, et al. Global prevalence of Clostridioides difficile in 17,148 food samples from 2009 to 2019: A systematic review and meta-analysis. J Health Popul Nutr 2023; 42(1): 36.
19. Razmyar J, Jamshidi A, Khanzadi S, Kalidari G. Toxigenic Clostridium difficile in retail packed chicken meat and broiler flocks in northeastern Iran. Iran J Vet Res 2017; 18(4): 271-4.
20. Heise J, Witt P, Maneck C, Wichmann-Schauer H, Maurischat S. Prevalence and phylogenetic relationship of Clostridioides difficile strains in fresh poultry meat samples processed in different cutting plants. Int J Food Microbiol 2021; 339: 109032.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2024-12-31]

[DOI: 10.48305/jhsr.v20i3.1555]