

بررسی آلودگی به باسیلوس سرئوس، انتروکوکوس فکالیس و کلی فرم‌ها در ادویه‌جات عرضه شده در بازار شهرکرد

مرضیه خلیلی اردلی، ابراهیم رحیمی*

گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۳/۰۷/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۴

چکیده

زمینه و هدف: باسیلوس سرئوس و انتروکوکوس فکالیس از باکتری‌های پاتوژنی هستند که در طبیعت به وفور یافت می‌شوند و می‌توانند سمومی تولید کنند که سبب مسمومیت غذایی در مصرف‌کنندگان شوند. لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی آلودگی به باسیلوس سرئوس، انتروکوکوس فکالیس و کلی‌فرم‌ها در ادویه‌جات عرضه‌شده در بازار شهرکرد بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۳ انجام شد، ابتدا ۱۰۰ نمونه از ادویه‌جات شامل زردچوبه، دارچین، ادویه-کاری، فلفل سیاه و فلفل قرمز (هر کدام ۲۰ نمونه) به صورت تصادفی نمونه‌گیری و به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی انتقال داده شدند. برای ردیابی باسیلوس سرئوس و انتروکوکوس فکالیس از روش کشت خطی، تعیین فراوانی ژن‌های حدت به روش Multiplex PCR، ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی به روش Disk-Diffusion و شمارش کلی‌فرم به روش استاندارد استفاده شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری آنوا تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان‌دهنده آلودگی به باسیلوس سرئوس و انتروکوکوس فکالیس به ترتیب ۴۵ نمونه (۴۵ درصد) و ۱۲ نمونه (۱۲ درصد) بود. در باسیلوس سرئوس فراوانی ژن‌های حدت *Ces*، *CytK* و *hblC* به ترتیب ۲۵، ۱۱ و ۴ درصد بود. نتایج به دست آمده از شمارش کلی‌فرم‌ها نشان داد بیشترین میزان آلودگی به کلی‌فرم در زردچوبه و کمترین در دارچین می‌باشد. نتایج آنتی‌بیوگرام نشان داد بیشترین مقاومت باسیلوس سرئوس مربوط به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین و بیشترین مقاومت انتروکوکوس فکالیس مربوط به اریترومایسین بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، حضور باسیلوس سرئوس و انتروکوکوس فکالیس موجود در ادویه‌جات عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد می‌تواند زنگ خطری برای مصرف‌کنندگان باشد و بهداشت و سلامت عمومی را مورد مخاطره قرار دهد.

واژه‌های کلیدی: باسیلوس سرئوس، ژن حدت، انتروکوکوس فکالیس، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ادویه‌جات

*نویسنده مسئول: ابراهیم رحیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد گروه بهداشت مواد غذایی

Email: ebrahimrahimi55@yahoo.com

"نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می‌شوند."

مقدمه

رشد سریع جمعیت و روند افزایش تولید مواد غذایی و محصولات کشاورزی، بیانگر این واقعیت است که مواد غذایی مورد نیاز مردم جهان روز به روز با مشکلات فراوانی در تأمین، نگهداری و ذخیره‌سازی و توزیع مواجه است. بیش از ۲۰۰۰ سال است که ادویه‌جات بخش مهمی از تغذیه انسان را تشکیل می‌دهند و در تمامی فرهنگ‌های جهان جای دارند. ادویه‌جات به عنوان منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های قوی، برای عطر، طعم و رنگ غذاها مورد استفاده بوده، همچنین هضم را بهبود می‌بخشند (۱). ادویه‌جات به دلیل نقشی که در طعم، بو، رنگ و حفظ غذا دارد، چاشنی پرکاربرد در آشپزی است. آنها گاهی اوقات می‌توانند در معرض آلودگی میکروارگانیسم‌های مختلف به دلیل شرایط بهداشتی نامناسب و عوامل محیطی باشند. آلودگی می‌تواند قبل، در حین و بعد از برداشت، اما به ویژه در هنگام خشک کردن رخ دهد. ادویه‌ها توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) به عنوان هر گونه ماده گیاهی معطر به شکل کامل، شکسته یا آسیاب شده، در نظر گرفته می‌شوند (۲). زمانی تصور می‌شد که ادویه‌های خشک به دلیل شرایط فعالیت آبی (aw: Water Activity) کم ذاتی در این محصولات، محلی غیر قابل رشد برای

پاتوژن‌های غذایی هستند، اما با این وجود، در سال‌های اخیر، شیوع بالای پاتوژن‌ها بر روی ادویه‌جات گزارش شده است و آزمایش‌ها میزان بروز هشداردهنده بالایی از گونه‌های سالمونلا، گونه‌های اشرشیاکلا، گونه‌های باسیلوس و سایر پاتوژن‌ها مانند میکروارگانیسم‌های شاخص بهداشتی را نشان داده است (۳).

مصرف مواد غذایی آلوده به پاتوژن‌ها و محصولات جانبی میکروبی مانند سموم می‌تواند منجر به بیماری‌های جدی شود. پاتوژن‌های غذایی مانند باسیلوس سرئوس، کپک‌ها، انتروکوکوس‌ها و کلی‌فرم‌ها به دلیل توانایی رشد در AW پایین و تحمل شرایط نامناسب، می‌توانند روی این دسته از مواد غذایی رشد کنند (۴ و ۵). باسیلوس سرئوس باکتری میله‌ای گرم مثبت، اسپورساز و بی‌هوازی اختیاری است که در گرد و غبار، زمین، روی سطوح گیاهان یا در محیط‌های آبی یافت می‌شود. از آنجایی که، سلول‌های رویشی و به ویژه هاگ‌ها می‌توانند به راحتی وارد زنجیره غذایی شوند، توانایی آن در تشکیل هاگ باعث می‌شود که این باکتری در برابر اثرات محیطی مانند خشکسالی، گرما یا تشعشع و همچنین مقادیر pH پایین یا داروهای شیمیایی بسیار مقاوم باشد. محدوده رشد در دمای ۸ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد، و بهینه pH رشد این باکتری در محدوده ۵ تا ۷/۷

است (۶). دوز عفونی برای مسمومیت به وسیله باسیلوس سرئوس 10^5-10^8 یا 10^4-10^9 (واحد تشکیل کلنی در هر گرم غذا) تخمین زده شده و طبق اعلام EFSA (European Food Safety Authority، سازمان ایمنی غذایی اروپا)، تعداد کلنی در هر گرم غذا نباید فراتر از 10^2 (واحد تشکیل دهنده کلنی) باشد (۷). مطابق پژوهش‌های انجام شده می‌توان دریافت که سویه‌های استفراغ-دهنده، عمدتاً با مواد غذایی نشاسته‌ای مانند برنج، ماکارونی و شیرینی‌ها مرتبط هستند، در حالی که سویه‌های انتروپاتوژن در اکثر غذاها از جمله محصولات لبنی، سبزیجات، فرآورده‌های گوشتی، سس‌ها، سوپ، ادویه‌جات، ترشی‌جات و جوانه‌ها یافت می‌شوند (۶).

از دیگر میکروارگانیسم‌های آلوده‌کننده ادویه‌جات می‌توان به انتروکوک‌ها اشاره کرد. انتروکوک‌ها از میکروارگانیسم‌هایی هستند که می‌توانند شرایط نامساعد را تحمل کنند و این ویژگی آن‌ها را به خوبی مقاوم می‌سازد. دو گونه عامل اکثر عفونت‌های انتروکوک‌ها هستند: انتروکوکوس فکالیز و انتروکوکوس فاسیوم که هر دو گونه مقاومت ذاتی به آنتی‌بیوتیک‌های رایج از جمله سفالوسپورین‌ها، آمینوگلیکوزیدها، کلیندامایسین و تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول نشان می‌دهند (۸)، انتروکوکوس‌ها، بخشی از میکروفلورای دستگاه

گوارش در انسان و حیوانات محسوب می‌شوند (۹).

باکتری‌های کلی‌فرم به‌عنوان باکتری‌های گرم منفی غیراسپورزا، میله‌ای شکل و باکتری‌های متحرک یا غیر متحرک تعریف می‌شوند که می‌توانند لاکتوز را با تولید اسید و گاز در دمای ۲۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد تخمیر کنند. آنها یک شاخص رایج برای کیفیت بهداشتی غذا و آب هستند (۱۰). با توجه به این که مسمومیت غذایی به وسیله این باکتری‌ها یک نگرانی مهم برای سلامت عمومی است، نظر به موارد یاد شده در مورد مخاطرات باکتری‌های ذکر شده و احتمال وجود پاتوژن‌های بیماری‌زا در ادویه‌ها؛ پایش آن‌ها ضروری به نظر می‌رسد. جداسازی میکروارگانیسم‌های مذکور از ادویه‌جات شامل؛ پودر دارچین، پودر ادویه‌کاری، فلفل قرمز، فلفل سیاه و زردچوبه عرضه شده شهرستان شهرکرد در مقالات ملی و بین‌المللی تا به حال گزارش نشده است، لذا هدف از مطالعه تعیین و بررسی آلودگی به باسیلوس سرئوس، انتروکوکوس فکالیز و کلی‌فرم‌ها در ادویه‌جات عرضه‌شده در بازار شهرکرد بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۴۰۳ انجام شد، ابتدا ۱۰۰ نمونه ادویه‌جات شامل

دارچین (۲۰ نمونه)، فلفل قرمز (۲۰ نمونه)، فلفل سیاه (۲۰ نمونه)، ادویه کاری (۲۰ نمونه) و زردچوبه (۲۰ نمونه) به صورت تصادفی از بازار و مراکز عرضه شده در شهرستان شهرکرد نمونه گیری و در شرایط سترون با رعایت نکات بهداشتی به آزمایشگاه انتقال داده شد.

ابتدا رقت سازی تا رقت 10^{-4} انجام شد. سپس هر کدام از نمونه ها داخل محیط کشت ویولت رد بایل آگار (VRBA)^(۱) (Merck, Germany) کشت داده شدند و بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد تعداد کلنی های قرمز یا صورتی رنگ که بیانگر آلودگی به کلی فرم بودند، شمارش و اعداد حاصل در عکس رقت ضرب شدند (۱۱).

ابتدا ۵ گرم از نمونه را در ۴۵ میلی لیتر محلول رینگر استریل ریخته و سپس سوسپانسیون تهیه شده را به خوبی مخلوط کرده و از آن روی محیط کشت اختصاصی باسیلوس سرئوس (MYP)^(۲) (Mirmedia, Iran) برده و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد گرما گذاری شدند. کلنی های بزرگ صورتی (عدم تخمیر مانیتول) با هاله رسوب دار (به دلیل تولید لستیناز) کلنی های مشکوک محسوب شدند. سپس برای جداسازی باکتری های این گروه از تست های بیوشیمیایی شامل؛ تست

کاتالاز، رشد در شرایط بی هوازی در ۴۵ درجه سانتی گراد، تست تحرک، تست لستیناز C، همولیز بتا در Blood آگار با ۵ درصد خون گوسفند، تست MR-VP، تست حرکت در محیط SIM و احیای نیترات استفاده شد (۱۲).^۱

از سوسپانسیون با رقت ۰/۱ رقت های ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۱ با پپیت به اندازه یک میلی لیتر روی محیط اختصاصی باسیلوس سرئوس (MYP) کشت داده شدند. این محیط حاوی سوسپانسیون زرده تخم مرغ و نگهدارنده پلی میکسین B بود که هر یک ویال که دارای ۵ سی سی از این نگهدارنده به ۵۰۰ میلی لیتر محیط اضافه شد. پلیت های کشت داده شده به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در ۳۰ درجه سانتی گراد گرما گذاری شدند. کلنی های بزرگ صورتی (عدم تخمیر مانیتول) با هاله رسوب دار (به دلیل تولید لستیناز) کلنی های مشکوک محسوب شدند. برای شمارش باسیلوس سرئوس پلیت هایی با ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی در نظر گرفته شد (۱۲).

برای جداسازی و شناسایی انتروکوکوس ۵ گرم از هر نمونه ادویه جات پودر شده به داخل ارلن حاوی ۱۰ میلی لیتر بافر فسفات سالین اضافه و همزده شد تا به حالت

1- Violet Red Bile Agar (VRBA)
2-Mannitol-Egg yolk-Polymyxin (MYP)

یکنواخت در آید. نمونه‌ها پس از تهیه رقت‌های سریال ده برابر بر روی سطح محیط کشت جامد کانامایسین آسکولین آزاید آگار (KAA)، کشت و در دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد ۲۴ تا ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. در اطراف کلنی این میکروارگانیسم‌ها هاله سیاهی ایجاد می‌شود. از بین کلنی‌های تیپیک انتروکوک در پلیت‌هایی که بین ۳۰ تا ۱۵۰ عدد کلنی دارند، پنج کلنی انتخاب و تست‌های تأییدی بر روی آنها انجام گرفت. این آزمایشات شامل مشاهده کوکسی‌های زنجیره‌ای گرم مثبت، تست کاتالاز، توانایی رشد در دمای ۱۰ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد و در حضور ۵ درصد نمک بود و همچنین توانایی هیدرولیز اسکولین در محیط کشت بایل اسکولین آگار انجام شد (۱۳). برای شناسایی انتروکوکوس فکالیس از روش PCR استفاده شد (۱۴)

نمونه مناسب برای PCR کلنی تازه باکتری است که بر روی محیط جامد بدون رنگ و یا محیط مایع کشت داده شده و ۱۸ تا ۲۴ ساعت بیشتر از انکوباسیون آن نگذشته باشد. جهت استخراج DNA از کیت Bacterial DNA Isolation kit شرکت کیاژن فناوری طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. برنامه PCR طبق روش معمول (Polymerase chain reaction) اعمال شد (۱۵). به این ترتیب ابتدا سوسپانسیون ۱۰۰ میکرولیتری

با معرف آماده‌سازی نمونه PrepMan Ultra و کلنی‌های جدا شده در لوله‌های میکروسانتریفیوژ تهیه شد. سوسپانسیون به مدت ۱۰ تا ۳۰ ثانیه ورتکس شد و مرحله انکوباسیون (۱۰ دقیقه در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) و سانتریفیوژ (۳ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه) به طور متوالی اعمال شد. DNA کل با چگالی نوری ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (Thermo Scientific, Waltham, USA) اندازه‌گیری شد. غلظت ۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر DNA برای مرحله PCR در نظر گرفته شد. فاکتورهای بیماری‌زا از جمله ژن‌های تولیدکننده سم انتروتوکسیژنیک (Ces، cytK و hblC) شناسایی شدند. سنجش PCR با استفاده از یک سیکل حرارتی (Eppendorf Mastercycler Gradient S) انجام شد. برنامه‌ی دمایی و زمانی استفاده شده برای انجام PCR به این شرح بود: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۳۵ چرخه ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه، ۵۴ درجه سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه، و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱ دقیقه، و در نهایت گسترش ۵ دقیقه در ۷۲ دقیقه درجه سانتی‌گراد. کنترل منفی حاوی تمام ترکیبات است و به جای DNA الگو، آب عاری از DNase و RNase استفاده شد. قطعات DNA با استفاده از تجهیزات پیشرفته QiAxiel (Qiagen, Hilden, آلمان) طبق دستورالعمل

سازنده به وسیله الکتروفورز تجزیه و تحلیل شدند (۱۵).

تست آنتی-بیوگرام به روش انتشار دیسک انجام شد. بعد از تهیه سوسپانسیون میکروبی مطابق با محلول استاندارد ۰/۵ مکفارلند، در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و پس از آن دیسک-های آنتی-بیوتیک روی محیط کشت قرار گرفت و پس از گذشت ۲۴ ساعت، حساسیت و مقاومت باکتری‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. دیسک‌های آنتی-بیوتیکی شامل آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، کانامایسین (۳۰ میکروگرم)، ونکومایسین (۳۰ میکروگرم) و ایمی‌پنم (۱۰ میکروگرم) بود (۱۶).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری آنوا تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

مطابق نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، میزان شیوع آلودگی به باسیلوس سرئوس از مجموع ۱۰۰ نمونه ادویه‌جات نمونه‌گیری شده در شهرستان شهرکرد، ۴۵ نمونه (۴۵ درصد) بود. در همین راستا، آلودگی به باسیلوس سرئوس در دارچین ۸ نمونه (۴۰ درصد)، فلفل قرمز ۴ نمونه (۲۰ درصد)، فلفل سیاه ۱۱ نمونه (۵۵ درصد)، ادویه‌کاری ۱۶ نمونه (۸۰ درصد) و زردچوبه ۶ نمونه (۳۰ درصد) بود. ارزیابی آماری نشان داد بین ادویه‌جات آلوده و ادویه‌جات غیرآلوده ارتباط آماری معنی‌داری وجود ندارد ($p < 0.05$). همچنین نتایج نشان داد شمارش بیشترین کلنی باسیلوس سرئوس مربوط به ادویه‌کاری و کمترین کلنی شمارش شده مربوط به فلفل قرمز بود (جدول ۲).

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR

Genes name	Sequence	Size (bp)	Annealing temperature (°C)	References
<i>Bacillus cereus</i> 16S rRNA	F: TGCAACTGTATTAGCACAAGCT R: TACCACGAAGTTTGTTCACTACT	۵۳۳	۵۶	(۱۶)
<i>hblC</i>	F: CGCAACGACAAATCAATGAA R: ATTGCTTCACGAGCTGCTTT	۴۲۱	۵۹	(۱۷)
<i>Ces</i>	F: TTCCGCTCTCAATAAATGGG R: TCACAGCACATTCCAAATGC	۶۳۴	۵۷	
<i>cytK</i>	F: TGCTAGTAGTGCTGTAAGT R: CGTTGTTTCCAACCCAGT	۸۸۱	۶۱	
<i>E. faecalis</i> 16S rRNA	F: ACTTATGTGACTAACTTAACC R: TAATGGTGAATCTTGGTTTGG	۳۱۰	۶۰	(۱۴)

ژن 16S rRNA بودند. ارزیابی آماری نشان داد بین ادویه‌جات آلوده و ادویه‌جات غیرآلوده ارتباط آماری معنی‌داری وجود ندارد ($p < 0.05$).

نتایج به دست‌آمده از شمارش کلی‌فرم‌ها نشان داد بیشترین میزان کلی‌فرم در زردچوبه و کمترین میزان آلودگی به کلی‌فرم در دارچین شمارش شد (جدول ۵).

بررسی وضعیت مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد بیشترین مقاومت باسیلوس سرئوس در مقابل به پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین بود و بیشترین حساسیت باسیلوس سرئوس مربوط به ونکومایسین، کانامایسین و امی‌پنم بود. همچنین بیشترین مقاومت انتروکوکوس فکالایس در مقابل اریترومایسین و بیشترین حساسیت انتروکوکوس فکالایس مربوط به کانامایسین بود (جدول ۶) (تصویر ۱).

مطابق تست PCR انجام گرفته روی نمونه‌های مثبت، فراوانی ژن‌های *CytK*، *ces* و *hblC* به صورت زیر بود: فراوانی بیشترین و کمترین ژن حدت به ترتیب شامل؛ *CytK* ۲۵ نمونه (۲۵ درصد)، *ces* ۱۱ نمونه (۱۱ درصد) و *hblC* ۴ نمونه (۴ درصد) بودند (جدول ۳) (نمودار ۱).

مطابق نتایج به دست‌آمده در جدول ۴، میزان شیوع آلودگی به انتروکوکوس فکالایس از مجموع ۱۰۰ نمونه ادویه‌جات نمونه‌گیری شده در شهرستان شهرکرد، ۱۲ نمونه (۱۲ درصد) بود. در همین راستا، آلودگی به انتروکوکوس فکالایس در دارچین ۲ نمونه (۱۰ درصد)، فلفل قرمز ۱ نمونه (۵ درصد)، فلفل سیاه ۳ نمونه (۱۵ درصد)، ادویه‌کاری ۵ نمونه (۲۵ درصد) و زردچوبه ۱ نمونه (۵ درصد) بود. نتایج PCR نشان داد از مجموع ۱۲ نمونه آلوده، ۳ نمونه دارای

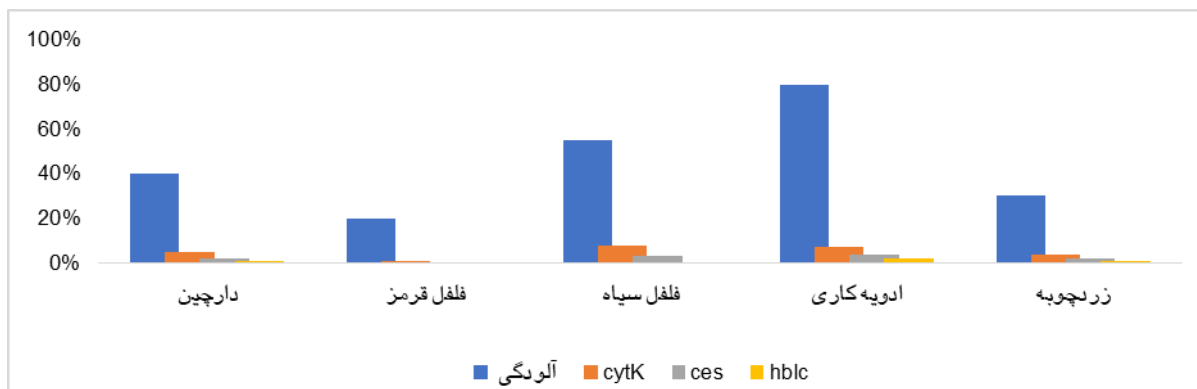
جدول ۲: نتایج شیوع آلودگی به باسیلوس سرئوس در ادویه‌جات نمونه‌گیری شده شهرستان شهرکرد

ادویه‌جات	تعداد نمونه	آلودگی	عدم آلودگی	سطح معنی‌داری	Min log10 CFU/g $\pm$ SD ^a	Max log10 CFU/g $\pm$ SD ^a
دارچین	۲۰	۸ ^{bc} نمونه (۴۰ درصد)	۱۲ نمونه (۶۰ درصد)		۲/۰۸ $\pm$ ۰/۰۲	۳/۸ $\pm$ ۰/۰۱
فلفل قرمز	۲۰	۴ ^d نمونه (۲۰ درصد)	۱۶ نمونه (۸۰ درصد)		۱/۲۰ $\pm$ ۰/۰۹	۲/۸۰ $\pm$ ۰/۰۲
فلفل سیاه	۲۰	۱۱ ^{ab} نمونه (۵۵ درصد)	۹ نمونه (۴۵ درصد)	۰/۱۷۵ ^{ns}	۱/۲۶ $\pm$ ۰/۲۴	۳/۰ $\pm$ ۰/۰۵
ادویه‌کاری	۲۰	۱۶ ^a نمونه (۸۰ درصد)	۴ نمونه (۲۰ درصد)		۳/۲۰ $\pm$ ۰/۰۴	۳/۹۰ $\pm$ ۰/۱۶
زردچوبه	۲۰	۶ ^{bcd} نمونه (۳۰ درصد)	۱۴ نمونه (۷۰ درصد)		۱/۸ $\pm$ ۰/۰۵	۳/۵۰ $\pm$ ۰/۱۹
مجموع	۱۰۰ نمونه	۴۵ نمونه (۴۵ درصد)	۱۸۵ نمونه (۹۲/۵۰ درصد)	—		

در هر سطر، اعداد برچسب خورده با حروف انگلیسی متفاوت، با $p < 0.01$ با هم تفاوت معنی‌دار آماری دارند.

جدول ۳: وضعیت فراوانی ژن‌های حدت باسیلوس سرئوس در ادویه‌جات عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد

نوع نمونه	تعداد نمونه (آلوده)	CytK	ces	hblC
دارچین	۲۰ (۸)	۵ (۵ درصد)	۲ (۲ درصد)	۱ (۱ درصد)
فلفل قرمز	۲۰ (۴)	۱ (۱ درصد)	—	—
فلفل سیاه	۲۰ (۱۱)	۸ (۸ درصد)	۳ (۳ درصد)	—
ادویه‌کاری	۲۰ (۱۶)	۷ (۷ درصد)	۴ (۴ درصد)	۲ (۲ درصد)
زردچوبه	۲۰ (۶)	۴ (۴ درصد)	۲ (۲ درصد)	۱ (۱ درصد)
مجموع	۱۰۰ (۴۵)	۲۵ (۲۵ درصد)	۱۱ (۱۱ درصد)	۴ (۴ درصد)



نمودار ۱: وضعیت آلودگی به باسیلوس سرئوس و فراوانی ژن‌های حدت در ادویه‌جات عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد

جدول ۴: نتایج شیوع آلودگی به انتروکوکوس فکالیس در ادویه‌جات نمونه‌گیری شده شهرستان شهرکرد

ادویه‌جات	تعداد نمونه	آلودگی	عدم آلودگی	16s rRNA	سطح معنی‌داری
دارچین	۲۰	۲ نمونه (۱۰ درصد) ^{bc}	۱۸ نمونه (۹۰ درصد)	۰/۱۰۱ ^{ns}	
فلفل قرمز	۲۰	۱ نمونه (۵ درصد) ^{cd}	۱۹ نمونه (۹۵ درصد)		
فلفل سیاه	۲۰	۳ نمونه (۱۵ درصد) ^{ab}	۱۷ نمونه (۷۵ درصد)		
ادویه‌کاری	۲۰	۵ نمونه (۲۵ درصد) ^a	۱۵ نمونه (۶۵ درصد)		
زردچوبه	۲۰	۱ نمونه (۵ درصد) ^{cd}	۱۹ نمونه (۹۵ درصد)		
مجموع	۱۰۰ نمونه	۱۲ نمونه (۱۲ درصد)	۸۸ نمونه (۸۸ درصد)	–	–

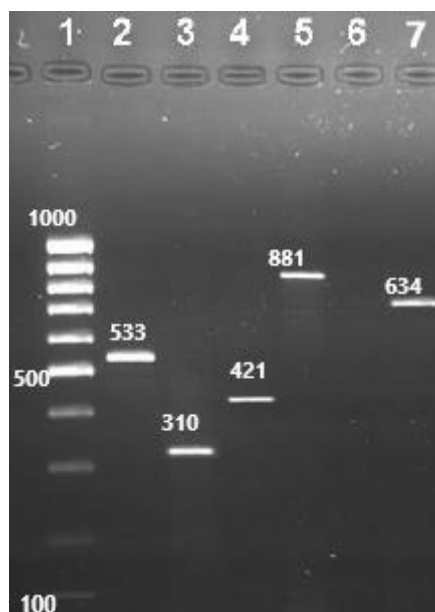
ns: بین ادویه‌جات آلوده و غیرآلوده ارتباط معنی‌داری وجود ندارد. در هر سطر، اعداد برچسب خورده با حروف انگلیسی متفاوت، با $p < ۰/۰۱$ با هم تفاوت معنی‌دار آماری دارند.

جدول ۵: شمارش کلی‌فرم در ادویه‌جات عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد (CFU/g)

نوع ادویه	تعداد	میزان آلودگی (CFU/g)
دارچین	۲۰	$۱/۳۰ \times ۱۰^۳$
فلفل قرمز	۲۰	$۱/۸ \times ۱۰^۳$
فلفل سیاه	۲۰	$۲/۶۰ \times ۱۰^۴$
ادویه‌کاری	۲۰	$۲/۸۰ \times ۱۰^۴$
زردچوبه	۲۰	$۳/۳۰ \times ۱۰^۳$
مجموع	۱۰۰	$۲/۳۶ \times ۱۰^۳$

جدول ۶: وضعیت جدایه‌های باسیلوس سرئوس و انتروکوکوس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

مقاوم	باسیلوس سرئوس (درصد)			انتروکوکوس فکالیس (درصد)		
	نیم‌حساس	حساس	مقاوم	نیم‌حساس	حساس	آنتی‌بیوتیک
آمپی‌سیلین	۲ (۱۶/۶۷)	۱۰ (۸۳/۳۳)	۴۲ (۹۳/۳)	۳ (۶/۶۷)	۰ (۰)	
پنی‌سیلین	۱ (۸/۳۳)	۲ (۱۶/۶۷)	۹ (۷۵)	۰ (۰)	۰ (۰)	
تتراسایکلین	۱ (۸/۳۳)	۱ (۸/۳۳)	۱۰ (۷۵)	۲۴ (۵۳/۳۳)	۱۲ (۲۶/۶۷)	
اریترومایسین	۵ (۴۱/۶۶)	۲ (۱۶/۶۷)	۱۰ (۸۳/۳۳)	۷ (۱۵/۵۳)	۲۱ (۴۶/۶۷)	
کانامایسین	۰ (۰)	۱ (۸/۳۳)	۱۱ (۹۱/۶۷)	۱ (۲/۲۲)	۴۲ (۹۳/۳۴)	
ونکومایسین	۲ (۱۶/۶۷)	۲ (۱۶/۶۷)	۸ (۶۶/۶۷)	۱ (۲/۲۲)	۴۳ (۹۵/۵۶)	
ایمی‌پنم	۰ (۰)	۲ (۱۶/۶۷)	۱۰ (۸۳/۳۳)	۲ (۴/۴۴)	۴۱ (۹۱/۱۲)	



تصویر ۱: ژل الکتروفورس؛ چاهک ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک ۲: ژن *Bacillus cereus* 16S rRNA با اندازه ۵۳۳ جفت باز، چاهک ۳: ژن *E. faecalis* 16srRNA با اندازه ۳۱۰ جفت باز، چاهک ۴: ژن *hblC* با اندازه ۴۲۱ جفت باز، چاهک ۵: ژن *cytK* با اندازه ۸۸۱ جفت باز، چاهک ۶: کنترل منفی و چاهک ۷: ژن *Ces* با اندازه ۶۳۴ جفت باز.

بحث

می‌شود، مرتبط است (۱۷)، لذا هدف از مطالعه تعیین و

بررسی آلودگی به باسیلوس سرئوس، انتروکوکوس فکالیس و کلی فرم‌ها در ادویه‌جات عرضه‌شده در بازار شهرکرد بود.

نتایج مطالعه نشان داد، آلودگی ۴۵ درصدی به باسیلوس سرئوس و بیشترین مقاومت به پنی‌سیلین و هم‌چنین آلودگی ۱۲ درصدی به انتروکوکوس فکالیس و بیشترین مقاومت به اریترومايسين را در پی داشت. در همین راستا پژوهشی به وسیله ترکی و همکاران روی آلودگی به باسیلوس سرئوس و بررسی وضعیت توکسینی آن در ادویه‌جات عرضه‌شده در شهرستان اصفهان در سال ۲۰۲۳ انجام گرفت. آن‌ها گزارش دادند از مجموع ۲۰۰ نمونه، ۴۲ درصد به باسیلوس سرئوس آلودگی وجود داشته است (۱۸) که با نتایج به دست

باسیلوس سرئوس یک پاتوژن انسانی تولید کننده سم است که مسئول آشکال اسهالی و استفراغی مسمومیت غذایی است. نوع بیماری اسهالی به وسیله حداقل ۴ سم همولیزین (Hbl)، انتروتوکسین غیر همولیتیک (Nhe)، انتروتوکسین (FM) و سیتوتوکسین K (cytK) ایجاد می‌شود. CytK یک سم منافذساز در باسیلوس سرئوس است و با یک مورد آنتریت نکروزه مرتبط است و می‌تواند سبب استفراغ حاد گردد؛ سندرم استفراغ می‌تواند حادثر از شکل اسهالی باشد و پس از مصرف مواد غذایی حاوی سم از پیش ساخته شده به نام سرولید رخ دهد؛ از طرفی حدت سویه‌های استفراغی با تولید یک سرولید پایدار در برابر حرارت که به وسیله ژن *ces* کدگذاری

آمده از پژوهش حاضر مطابقت دارد. پژوهشی به وسیله کورک و همکاران با هدف شناسایی شیوع باسیلوس سرئوس گزارش دادند که از مجموع ۷۰ نمونه، در مجموع ۴۸ نمونه (۲۸/۵۷ درصد) از ادویه‌ها جدا شد (۱۹) که با نتایج این مطالعه سازگار است. ستین و همکاران روی وجود باسیلوس سرئوس در ادویه‌جات گزارش دادند از مجموع ۱۰۰ نمونه میزان آلودگی به باسیلوس سرئوس ۴۹ درصد بود و میانگین شمارش آن، 4×10^4 CFU/g (۲۰)، که با پژوهش حاضر مطابقت دارد.

پژوهشی به وسیله کوفوگلو و همکاران روی آلودگی به باسیلوس سرئوس و ژن‌های توکسین‌زا در ادویه‌جات عرضه‌شده در ترکیه گزارش دادند که ۳۱/۵ درصد آلودگی وجود داشت. علاوه بر این، جدایه‌ها از نظر ۹ ژن تولیدکننده سم مورد بررسی قرار گرفتند و entFM (۹۴ درصد) به عنوان فراوان‌ترین ژن و پس از آن ژن‌های cytK (۶۰ درصد) و hblD (۶۰ درصد) یافت شد. هیچ ژن cesB در ایزوله‌ها یافت نشد (۲۱) که میزان آلودگی کمتر از نتایج به دست‌آمده از پژوهش حاضر است. جولاتی و همکاران در پژوهشی که با هدف ارزیابی آلودگی پاتوژنی در ادویه‌جات مختلف انجام شد، آلودگی به باسیلوس سرئوس را ۳۱ درصد گزارش دادند (۲۲)، که پائین‌تر از نتایج به دست‌آمده از پژوهش حاضر است. لسانی‌فر و حنفیان در مطالعه‌ای روی آلودگی ادویه‌جات، گزارش دادند که ۱۴/۰۷ درصد از نمونه‌ها به باسیلوس سرئوس آلوده بودند (۲۳)، که مطابقتی با پژوهش حاضر ندارد. پائین بودن درصد

آلودگی در پژوهش‌های ذکرشده نسبت به پژوهش حاضر را می‌توان تازگی محصول، دارا بودن روغن‌های فرار و پلی‌فنل‌های آروماتیک که دارای خاصیت ضد میکروبی هستند، مرتبط دانست.

در پژوهشی که به وسیله فوگل و همکاران برای شناسایی ژن‌های عامل استقرار و اسهال باسیلوس سرئوس موجود در ادویه‌جات انجام شد، از مجموع ۶۰ نمونه، ۵۰ نمونه (۷۵ درصد) به باسیلوس سرئوس آلوده بودند. نمونه فلفل سیاه آسیاب شده بیشترین آلودگی را با بالاترین غلظت ۲/۴۹ CFU/g نشان داد (۲۴) که هم‌سو با نتایج پژوهش حاضر نیست. بالابودن آلودگی به باسیلوس سرئوس در این مطالعه را می‌توان مرتبط با حضور گسترده باسیلوس سرئوس در محیط اطراف از جمله گرد و خاک، عدم رعایت بهداشت در مراحل پس از برداشت، ذخیره و هندلینگ دانست که در ادامه سبب ماندگاری و تشکیل بیوفیلم در محیط‌های آماده‌سازی و مراکز عرضه می‌شود. فلفل‌ها به دلیل داشتن ترکیبات آلکالوئیدی از رشد برخی باکتری‌ها از جمله باسیلوس سرئوس جلوگیری می‌کند، که پایین بودن میزان آلودگی در فلفل‌های نمونه‌گیری-شده در مطالعه حاضر را می‌توان با این دلیل توضیح داد.

اوسسپا و همکاران در مطالعه‌ای با هدف بررسی آلودگی به کلیفرم در ادویه‌جات عرضه‌شده در سال ۲۰۲۱ در روسیه گزارش دادند که در تمامی نمونه‌های آزمایش‌شده، وضعیت کلی‌فرم منفی (No detected) بود (۲۵) که با پژوهش حاضر مطابقتی ندارد.

پژوهشی به وسیله پروین و همکاران روی بررسی آلودگی به کلیفرم‌ها در بنگلادش گزارش دادند از CFU/g $5/26 \times 10^2$ تا $2/06 \times 10^2$ بود (۲۶)، میانگین آلودگی کلی فرمی در پژوهش حاضر $2/36 \times 10^2$ بود که تا حدودی مشابهت وجود دارد.

رواتی و همکاران در پژوهشی با هدف تعیین سویه‌های انتروکوکوس در ادویه‌جات، گزارش دادند از مجموع ۱۱۳ ادویه نمونه‌گیری شده، ۱۰۲ نمونه به انتروکوکوس فکالیز (۹۰ درصد) آلوده بودند (۲۷)، که میزان آلودگی، از مطالعه حاضر فراتر است. از آنجایی که انتروکوکوس‌ها دارای ریشه مدفوعی هستند، می‌توان ارتباط نزدیک بین ادویه‌ها و کودهای حیوانی در مراحل داشت و برداشت از مزرعه را از عوامل آلودگی بالا عنوان کرد.

نتایج الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که تعداد بالایی از ایزوله‌ها به آمپی سیلین (۹۳/۳ درصد) و پنی سیلین (۱۰۰ درصد) مقاومت داشتند. به طور مشابه، مقاومت بالای باسیلوس سرئوس به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مانند پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین در موارد متعدد گزارش شده است. در واقع، باسیلوس سرئوس به دلیل توانایی خود در تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز شناخته شده است (۲۸).

با توجه به میزان آلودگی در ادویه‌جات، توصیه می‌گردد، پژوهش‌های بیشتری در این زمینه انجام شود تا زمینه دست‌یابی به استانداردهای سخت‌گیرانه را فراهم آورد؛ لذا پیشنهاد می‌شود از سایر مناطق مختلف ایران، نمونه‌برداری از ادویه‌جات

انجام شده و با روش‌های معتبر باکتری‌های مسمومیت‌زا جداسازی و مشخص شوند.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد شیوع آلودگی به باسیلوس سرئوس و انتروکوکوس فکالیز از مجموع ۱۰۰ نمونه ادویه‌جات نمونه‌گیری شده در شهرستان شهرکرد، به ترتیب ۴۵ نمونه (۴۵ درصد) و ۱۲ نمونه (۱۲ درصد) بود. بررسی وضعیت مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد بیشترین مقاومت باسیلوس سرئوس مربوط به پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد) و آمپی‌سیلین (۹۳/۳ درصد) بود و بیشترین مقاومت انتروکوکوس فکالیز مربوط به اریترومايسين (۴۱/۶۶ درصد) بود. نتایج بیان‌گر این است که استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت ضد میکروبی باکتری‌ها را افزایش داده است و تشدیدکننده‌ی عوامل بیماری‌زایی شده است که منجر به تهدید سلامتی در سراسر جهان، برای انسان می‌شود. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که در ادویه‌های عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد، خطر ابتلا به باسیلوس سرئوس و انتروکوکوس فکالیز وجود دارد. آلودگی ادویه‌ها و گیاهان دارویی با باسیلوس سرئوس به طور فزاینده‌ای در ایران و سایر نقاط جهان گزارش می‌شود. مطالعه حاضر نشان داد که اگر چه درصد شیوع باسیلوس سرئوس و انتروکوکوس در ادویه‌جات قابل توجه است، اما ادویه‌ها توصیه‌های ایمنی غذایی را برآورده می‌کنند. وجود باسیلوس سرئوس موجود در ادویه‌جات مصرفی

ملاحظات اخلاقی

این مقاله با کد اخلاق IR.IAU.SHK.REC.1403.290 برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بهداشت مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد می باشد.

مشارکت نویسندگان

نمونه گیری؛ آزمایشات و گردآوری داده ها به وسیله نویسنده اول و آنالیزهای آماری و نگارش مقاله با همکاری استاد راهنمای اول انجام شد.

انسان یک خطر جدی برای سلامتی است. شیوع بالای این باکتری ها در جمله ادویه جات را می توان از منشاء خاک و عدم رعایت اصول بهداشتی از مزرعه تا سفره توضیح داد. از آنجایی که هر دو میکروارگانیسم هدف، دارای خاصیت القای توکسین هستند، در صورت بالا بودن تعداد آن ها سلامت مصرف کنندگان به صورت جدی مورد مخاطره قرار می گیرد؛ بنابراین هنوز می توان با به کارگیری اصول بهداشتی و استفاده از فناوری پاستوریزاسیون که نه تنها ایمنی میکروبیولوژیکی را تضمین می کند، بلکه کیفیت ادویه های فرآوری شده را نیز حفظ می کند، از آلودگی مواد غذایی به این میکروارگانیسم ها جلوگیری کرد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مطالعه از کلیه همکاران گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که نهایت همکاری را در انجام این پروژه داشتند، تشکر به عمل می آورند.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله، تعارض منافی ندارند.

حمایت مالی

پژوهش حاضر با هزینه شخصی دانشجو انجام شد.

REFERENCES

1. Rahman MS. Handbook of food preservation. 2nd ed. New York: crc press; 2020; 512-2.
2. Nollet, AC. Food, Administration D. Spices-definitions. 3rd ed. New York: Elsevier; 1980; 37-45.
3. Gurtler JB, Keller SE. Microbiological safety of dried spices. Annual Review of Food Science and Technology 2019; 10: 409-27.
4. Xie Y, Zhang S, Sun S, Zhu M-J, Sablani S, Tang J. Survivability of Salmonella and Enterococcus faecium in chili, cinnamon and black pepper powders during storage and isothermal treatments. Food Control 2022; 137: 108935.
5. Zhu MJ, Song X, Tsai HC, Shen X, Taylor M, Tang J. Desiccation and thermal resistance of Salmonella and Enterococcus faecium NRRL B-2354 in almond meal as impacted by water activity and storage temperature. Food Control 2021; 126: 108037.
6. Jessberger N, Dietrich R, Granum PE, Märtlbauer E. The Bacillus cereus food infection as multifactorial process. Toxins 2020; 12(11): 701.
7. Logan N. Bacillus and relatives in foodborne illness. Journal of Applied Microbiology 2012; 112(3): 417-29.
8. García-Solache M, Rice LB. The Enterococcus: a model of adaptability to its environment. Clinical Microbiology Reviews 2019; 32(2): 12-21.
9. Mehdeyan R, Tajbakhsh E, Bamzaheh Z. Prevalence of virulence factors in Enterococcus faecalis isolated from hamburger. Journal of Food Microbiology 2021; 8(4): 1-11.
10. Daoliang L, Shuangyin L. Chapter. Water quality monitoring in aquaculture. Water Quality Monitoring and Management Basis, Technology and Case Studies 2019; 16(9): 158-70.
11. Heidarzadi MA, Kohn Poushi M, Karami M, Sabzibalkhkanlo A, Gorgin Karaji K. Investigating the amount of microbial contamination of pasteurized milk in kermanshah city with coliform and the total number of bacteria. Journal of Alternative Veterinary Medicine 2022; 5(12): 702-9.
12. Soltan DMM, Nabatchian F, Sharifi YS, Haghighat KS. Isolation and Identification of Bacillus cereus of Dry Bulk and Packaged Vegetables by Culture and PCR. Journal of Food Quality and Hazards Control 2022; 5(12): 29-32.
13. Mahdavi S, Alilou S, Shafiei Y. Isolation and identification of Enterococcus species from fresh and pot cheeses in Khoy area. Food Microbiology 2016; 7(12): 212-9.
14. Azad A, Rostamifar S, Modaresi F, Bazrafkan A, Rezaie Z. Assessment of the antibacterial effects of bismuth nanoparticles against Enterococcus faecalis. BioMed Research International 2020; 2020(1): 5465439.
15. Ombui JN, Gitahi JN, Gicheru MM. Direct detection of Bacillus cereus enterotoxin genes in food by multiplex Polymerase Chain Reaction. Ombui JN, Gitahi JN, Gicheru MM. Direct detection of Bacillus cereus enterotoxin genes in food by multiplex. Polymerase Chain Reaction 2008; 2(3): 172-82.
16. Abou Zeid MA, Samir A, Ezzat Hassan A. Rapid molecular technique for detection of food borne Bacillus cereus pathogen. Iranian Journal of Medical Microbiology 2023; 17(3): 347-353.
16. Heidarzadi M, Rahnema M, Alipoureskandani M, Saadati D, Afsharimoghadam A. Salmonella and Escherichia coli contamination in samosas presented in Sistan and Baluchestan province and antibiotic resistance of isolates. Food Hygiene 2021; 11(2): 42.
17. Aragon-Alegro LC, Palcich G, Lopes GV, Ribeiro VB, Landgraf M, Destro MT. Enterotoxigenic and genetic profiles of Bacillus cereus strains of food origin in Brazil. Journal of Food Protection 2008; 71(10): 2115-8.
18. Torki Baghbadorani S, Rahimi E, Shakerian A. Investigation of virulence and antibiotic-resistance of bacillus cereus isolated from various spices. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology 2023; 2023(1): 8390 -9.
19. Çürek S, Geniş B, Özden Tuncer B, Tuncer Y. Prevalence, Toxin genes, and antibiotic resistance profiles of bacillus cereus isolates from spices in antalya and isparta provinces in türkiye. Indian Journal of Microbiology 2023; 63(4): 549-61.
20. Çetin E, Yaman G, Yıbar A. Investigation of toxin-producing and antibiotic-resistant bacillus cereus in spices used in the production of sucuk. Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi 2021(31): 331-40.
21. Cufaoglu G, Ayaz ND. Potential risk of Bacillus cereus in spices in Turkey. Food Control 2022; 132: 108570.
22. Gulati D, Das N. Microbiological quality of spices marketed in Uttarakhand, India. JBINO 2021; 10(3): 750-9.

23. Lesanifar N, Hanifian S. Occurrence, quantity and diversity of aerobic spore-forming bacteria in spices and herbs of Tabriz retails. *Journal of Food Quality and Hazards Control* 2019; 8(3): 87-101.
24. Fogle B, Granta R, Valciņa O, Bērziņš A. Occurrence and diversity of *Bacillus cereus* and moulds in spices and herbs. *Food Control* 2018; 83: 69-74.
25. Osipova M, Petrova A, Laricheva K, Toshkina E. To the question of the possibilities of reducing the microbiological contamination of spices. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science: IOP Publishing* 2021: 770-93.
26. Parveen S, Das S, Begum A, Sultana N, Hoque M, Ahmad I. Microbiological quality assessment of three selected spices in Bangladesh. *International Food Research Journal* 2014; 21(4): 13-27.
27. Revati S, Bipin C, Chitra PB, Minakshi B. In vitro antibacterial activity of seven Indian spices against high level gentamicin resistant strains of enterococci. *Archives of Medical Science* 2015; 11(4): 863-8.
28. Fiedler G, Schneider C, Igbinosa EO, Kabisch J, Brinks E, Becker B, et al. Antibiotics resistance and toxin profiles of *Bacillus cereus*-group isolates from fresh vegetables from German retail markets. *BMC Microbiology* 2019; 19: 1-13.

Investigate the Contamination of *Bacillus Cereus*, *Enterococcus Faecalis*, and Coliforms in Spices sold in Shahrekord

Khalili Ardali M, Rahimi E*

Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Received Date: 09 Oct 2024

Accepted Date: 22 Feb 2025

Abstract

Background & aim: *Bacillus cereus* and *Enterococcus faecalis* are pathogenic bacteria that are abundant in nature and can produce toxins that cause food poisoning in consumers. The aim of the present study was to investigate the contamination of *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, and coliforms in spices sold in Shahrekord market.

Methods: In this study, first, 100 samples of spices including turmeric, cinnamon, spices, black pepper and red pepper (20 samples each) were randomly sampled and transferred to the food hygiene laboratory. To detect *Bacillus cereus* and *Enterococcus faecalis*, linear culture method, determination of the frequency of virulence genes by Multiplex PCR method, evaluation of antibiotic resistance by Disk-Diffusion method and coliform enumeration by standard method were used.

Result: The results showed that 45 samples (45%) and 12 samples (12%) were contaminated with *Bacillus cereus* and *Enterococcus faecalis*, respectively. In *Bacillus cereus*, the frequency of virulence genes CytK, Ces and hblC was 25%, 11% and 4%, respectively. The results obtained from the coliform enumeration showed that the highest amount of coliform was counted in turmeric and the lowest amount of coliform contamination was counted in cinnamon. The results of the antibiogram showed that the highest resistance of *Bacillus cereus* was related to penicillin and ampicillin and the highest resistance of *Enterococcus faecalis* was related to erythromycin.

Conclusion: According to the results obtained from the present study, the presence of *Bacillus cereus* and *Enterococcus faecalis* in spices sold in Shahrekord city can be a warning for consumers and endanger public health.

Keywords: *Bacillus cereus*, Virulence gene, *Enterococcus faecalis*, Antibiotic resistance, Spices

***Corresponding author:** Rahimi E, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Email: ebrahimrahimi55@yahoo.com

Please cite this article as follows: Khalili Ardali M, Rahimi E. Investigate the Contamination of *Bacillus Cereus*, *Enterococcus Faecalis*, and Coliforms in Spices sold in Shahrekord . Armaghane-danesh 2025; 29(6):915-929.

The scientific research journal Armaghan Danesh, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal