

بررسی شیوع آلودگی به کلستریدیوم پرفرنجنس و باسیلیوس سرئوس در ساندویچ‌های عرضه‌شده در شهرستان خرم‌آباد و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها

فاطمه قاسمی^۱، نجمه واحد دهکردی^{۱*}، سید مجید هاشمی^۲^۱گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران. ^۲مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

تاریخ وصول: ۱۴۰۴/۰۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۱/۱۶

چکیده:

زمینه و هدف: باسیلوس سرئوس و کلستریدیوم پرفرنجنس، باکتری‌های اسپورزایی هستند که باعث فساد مواد غذایی و سبب سندرم‌های استفراغ و اسهال در انسان می‌شوند، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی شیوع آلودگی به کلستریدیوم پرفرنجنس و باسیلوس سرئوس در ساندویچ‌های عرضه‌شده در شهرستان خرم‌آباد و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها بود.

روش بررسی: این یک مطالعه توصیفی - مقطعی می‌باشد که در سال ۱۴۰۴ انجام شد، آلودگی میکروبی و فراوانی برخی عوامل بیماری‌زای باکتریایی در ساندویچ‌های آماده مصرف مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۱۰۰ نمونه ساندویچ آماده مصرف به‌صورت تصادفی از بازار شهرستان خرم‌آباد نمونه‌گیری و به آزمایشگاه انتقال و تعداد نمونه‌های مثبت به‌همراه ژن *cpe* کلستریدیوم پرفرنجنس و *hblA* و *nheA* در باسیلوس سرئوس تعیین شدند و سپس مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها به روش CLSI تعیین شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون کای-اسکوئر و تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد از ۱۰۰ نمونه مواد غذایی، ۹ درصد به باسیلوس سرئوس و ۱۶ درصد به کلستریدیوم پرفرنجنس آلوده بودند. در نتایج PCR مشخص شد ۳۷/۵ درصد جدایه‌ها حامل ژن *cpe* و ۵۵/۶ درصد ژن *nheA* و ۳۳/۳ درصد حامل ژن *hblA* بودند. ارزیابی‌های آماری نشان داد بین آلودگی به باسیلوس سرئوس و کلستریدیوم پرفرنجنس ارتباط معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$). نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد بیشترین مقاومت در کلستریدیوم پرفرنجنس مربوط به تتراسایکلین (۳۲/۲ درصد) و در باسیلوس سرئوس مربوط به پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد) بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد مواد غذایی خیابانی پتانسیل قابل توجهی برای آلودگی به کلستریدیوم پرفرنجنس و باسیلوس سرئوس دارند که لازم است مراجع ذی‌صلاح نسبت به وضع قوانین سخت‌گیرانه اقدام کنند.

واژه‌های کلیدی: ایمنی غذایی، باسیلوس سرئوس، کلستریدیوم پرفرنجنس، خرم‌آباد

*نویسنده مسئول: نجمه واحد دهکردی، شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه بهداشت مواد غذایی

Email: najmeh.vaheddehkordi@iaau.ir

"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

بیماری‌های منتقل‌شونده از مواد غذایی جزء نگرانی‌های مهم در حوزه سلامت عمومی هستند و بار اقتصادی قابل توجهی را بر جوامع دارند (۱). در ایالات متحده، تقریباً ۹ میلیون مورد بیماری ناشی از غذا هر ساله رخ می‌دهد که منجر به تقریباً ۱۲۰۰۰۰ بستری در بیمارستان و ۳۰۰۰ مرگ می‌شود (۲). سازمان بهداشت جهانی (WHO) غذاهای خیابانی را به عنوان غذاها و نوشیدنی‌های آماده برای خوردن که به وسیله فروشندگان و دست‌فروشان در خیابان‌ها و سایر اماکن عمومی تهیه و یا فروخته می‌شوند، تعریف می‌کند. علی‌رغم ارزش اجتماعی - اقتصادی آنها، جنبه‌های مرتبط با ایمنی باید در نظر گرفته شود، زیرا غذاهای خیابانی اغلب در شرایط نامناسب و بدون کنترل قانونی یا نظارت بهداشتی تهیه و مصرف می‌شوند که می‌تواند خطر ابتلا به عفونت‌ها و مسمومیت‌های غذایی را افزایش دهد (۳).

در مجموع، بیماری‌های منتقل‌شونده از غذا در اثر مصرف غذا یا آب آلوده به عوامل بیماری‌زا یا سموم آنها ایجاد می‌شوند. عوامل بیماری‌زایی که پدیدآورنده‌ی عفونت‌ها و مسمومیت‌های غذایی می‌شوند، شامل؛ باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها هستند که شایع‌ترین عوامل بیماری‌زای ناشی از غذا شامل؛ لیستریا مونوسیتیز، کلسترییدیوم پرفرنجنس، اشرشیاکالی، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا، شیگلا، کمپیلوباکتر ژژونی، کلسترییدیوم بوتولینوم، باسیلوس سرئوس، گونه‌های ویبریو و

یرسینیا / انتروکولیتیکا، ویروس‌ها (هپاتیت A و

نوروویروس‌ها) و انگل‌ها (سیکوسپورا) است (۴).

باسیلوس سرئوس (*Bacillus cereus*) از

باکتری‌های گرم‌مثبت است که در غذاهای مختلفی

مانند برنج و غلات و همچنین گوشت و لبنیات یافت

می‌شود. باسیلوس سرئوس مسئول دو نوع مختلف

مسمومیت غذایی شامل اسهال و استفراغ است (۵).

بیماری اسهال دوره کمون ۸ تا ۱۶ ساعت دارد و

باعث درد شکم و اسهال مشخص می‌شود که به

وسیله انتروتوکسین‌هایی که در طول رشد باسیلوس

سرئوس در روده کوچک تولید می‌شوند، ایجاد

می‌شود. نوع دیگری از بیماری با تهوع و استفراغ

مشخص می‌شود و به وسیله سم استفراغ تولید شده

به وسیله سلول‌های رویشی در غذا ایجاد می‌شود،

وضعیتی که دوره کمون آن نیم‌ساعت تا ۵ ساعت

است (۶). باسیلوس سرئوس تولیدکننده اسپور و در

شرایط سخت دما و pH، زنده می‌ماند. علاوه بر این،

توانایی این باکتری به تشکیل بیوفیلم، مقاومت آن را

در برابر عوامل استرس‌زای محیطی در طول عملیات

فرآوری بیشتر می‌کند (۷). بنابراین نوع استفراغ‌آور

باسیلوس سرئوس می‌تواند با دوزهایی به کمی 10^2

واحد تشکیل کلنی در گرم غذا دهد، در حالی که

عفونت‌های نوع اسهالی معمولاً به دوزهایی از 10^5 تا

10^8 واحد تشکیل کلنی در گرم یا اسپور نیاز دارند (۸).

کلسترییدیوم پرفرنجنس

(*Clostridium perfringens*) از باکتری‌های گرم مثبت است

که در خاک، آب، غذا، مدفوع و روده انسان و حیوانات

غذاهای حیوانی جدا شده‌اند، به تدریج در سراسر جهان افزایش یافته است. استفاده غیرمنطقی و بیش از حد از انواع مختلف آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان عفونت‌ها و افزایش رشد دام‌ها و حیوانات مزرعه، عوامل اصلی ایجاد کننده افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین پاتوژن‌های منتقل‌شونده از غذا هستند (۱۸ و ۱۷). با توجه به مخاطرات یادشده، و عدم وجود مطالعه‌ای هم‌راستا با پژوهش حاضر، هدف از این مطالعه تعیین و بررسی شیوع آلودگی به کلستریدیوم پرفرنجنس و باسیلوس سرئوس در ساندویچ‌های عرضه شده در شهرستان خرم‌آباد و تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها است.

روش بررسی

این یک مطالعه، توصیفی - مقطعی می‌باشد که در سال ۱۴۰۴ انجام شد. در این مطالعه، آلودگی میکروبی ساندویچ‌های آماده عرضه‌شده در بازار شهرستان خرم‌آباد مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا ۱۰۰ نمونه ساندویچ شامل ۲۰ نمونه ماکارونی، ۲۰ نمونه سوسیس، ۲۰ نمونه کالباس، ۲۰ نمونه ساندویچ مرغ و ۲۰ نمونه همبرگر از مراکز عرضه واقع در بازار شهرستان خرم‌آباد در مدت زمان سه‌ماه نمونه‌گیری به صورت تصادفی و در شرایط استریل به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی انتقال داده شد.

طبق استاندارد ابتدا رقیق‌سازی انجام گرفت و رقت‌های، 10^{-1} ، 10^{-2} و 10^{-3} تهیه شد و در محیط کشت اختصاصی باسیلوس سرئوس (MYP)^(۱)،

وجود دارد. قادر به تولید حداقل ۱۷ سم است که همگی پروتئینی هستند. چهار سم اصلی، آلفا (α)، بتا (β)، اپسیلون (ε) و یوتا (ι) برای طبقه‌بندی کلستریدیوم پرفرنجنس به انواع A، B، C، D و E استفاده می‌شوند که سبب مسمومیت غذایی می‌شوند (۹). سم اپسیلون مهم‌ترین سموم این باکتری است (۱۰). گوشت و فرآورده‌های گوشتی رایج‌ترین ناقل مسمومیت غذایی با کلستریدیوم پرفرنجنس نوع A هستند. آلودگی گوشت با محتویات روده حیوانات ذبح شده ممکن است به عنوان منبع مهم این پاتوژن به منابع غذایی باشد (۱۱). توزیع فراگیر کلستریدیوم پرفرنجنس، توضیحی منطقی برای وقوع شایع مسمومیت غذایی در نظر گرفته شده است. برخی از سویه‌های تولیدشده مقاومت حرارتی بالایی دارند (۱۲). مسمومیت غذایی با تایپ A به خاطر تولید شدن انتروتوکسین cpe است. انتروتوکسین در روده کوچک بعد از هضم غذای حاوی 10^7 واحد کلستریدیوم پرفرنجنس ایجاد می‌شود. در حدود ۸-۱۲ ساعت بعد از خوردن غذای آلوده علایم حاد، درد شکم، اسهال و استفراغ شروع می‌شود. شرایط بهینه برای ایجاد مسمومیت غذایی در محدوده دمایی ۱۰ تا ۵۴ درجه سانتی‌گراد است (۱۶).

در حال حاضر آنتی‌بیوتیک‌ها درمان اصلی بیماری‌های عفونی باکتریایی در انسان و حیوانات هستند. بنابراین، مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پاتوژن‌های باکتریایی منتقل شونده از غذا و به ویژه آنهایی که از

(Germany, Merck) مانیتول زرده تخم مرغ پلی میکسین فنل رد آگار) کشت داده شد. کلنی‌های بزرگ و صورتی رنگ و هاله دار به عنوان *باسیلیوس سرئوس* احتمالی شناخته و مورد شمارش قرار گرفتند و برای تأیید جدایه‌ها، آزمون همولیز و رنگ آمیزی گرم انجام گرفت. با توجه به این که باکتری *باسیلیوس سرئوس* یک باکتری بتاهمولیتیک بوده، نمونه‌های مثبت آن در اطراف کلنی لیز کامل گلبول‌های قرمز به صورت هاله‌ای شفاف بر روی آگار خون‌دار ایجاد کردند. در رنگ‌آمیزی گرم، *باسیلیوس سرئوس* به صورت میله‌ای شکل با آرایش تسبیح ماندنی اثبات شد و لبه‌های کروی اثبات قطعی *باسیلیوس سرئوس* بود (۱۳).

نمونه‌ها در محیط کشت پیش غنی کننده آب پپتونه قلیایی، منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در شرایط بی‌هوازی گرم‌خانه‌گذاری شدند. آنگاه از محیط مذکور بر روی محیط اختصاصی سولفیت پلی میکسین - سولفادیازین، کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در شرایط بی‌هوازی گرم‌خانه‌گذاری شدند. از پرگنه‌های رشد کرده در محیط مورد نظر برای انجام آزمون‌های تکمیلی شامل؛ رنگ‌آمیزی گرم، آزمون لسیترین، آزمون تخمیر در محیط شیرتورنسل، همولیز در محیط آگار خون دار، تخمیر گلوکز، الکتون، ساکارز و ژلاتیناز استفاده شد (۱۳).

ردیابی ژن‌های حدت و شناسایی باکتری‌ها با استفاده از روش PCR: ۱- استخراج و خالص‌سازی،

پیش از اجرای واکنش PCR، DNA ژنومی باکتری‌ها با خلوص و غلظت مناسب از ماتریکس پیچیده استخراج شد. استخراج DNA با استفاده از کیت تجاری (SinaPure DNA Isolation Kit، سیناکلون، ایران) انجام شد تا از کارایی و خلوص بالای DNA برای مراحل بعدی اطمینان حاصل شود. با استفاده از بافرهای کیت، سلول‌های باکتریایی لیز شده و DNA آزاد شد. در نهایت، DNA روی ستون‌های سیلیکا اتصال یافته، شستشو داده شد و با استفاده از Elution Buffer از ستون جدا و با خلوص بالا برای واکنش PCR آماده شد. ۲- شرایط واکنش PCR، پس از استخراج موفقیت‌آمیز DNA، واکنش PCR با استفاده از مسترمیکس تجاری (CinnaGen، ایران) و توالی پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر ژن‌های هدف آغاز شد.

فعال‌سازی اولیه: واکنش با یک مرحله فعال‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه آغاز شد تا DNA الگو به طور کامل دناتوره شد و آنزیم DNA پلیمرز فعال شد. چرخه‌های تکثیر (۳۵ چرخه): شامل؛ دناتوراسیون: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۵ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ازدیاد طول در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ تا ۶۰ ثانیه و ازدیاد نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه برای اطمینان از سنتز کامل تمام قطعات انجام شد. پس از اجرای PCR، محصولات تکثیر شده با استفاده

۶ نمونه (۳۰ درصد)، سوسیس ۴ نمونه (۲۰ درصد) و در ماکارونی، کالباس و مرغ هر کدام ۲ نمونه (۱۰ درصد) آلودگی به کلوستریدیوم پرفرنجنس آلوده بودند. ارزیابی‌های آماری نشان داد بین میزان آلودگی به باسیلوس سرئوس و کلوستریدیوم پرفرنجنس ارتباط معنی‌داری وجود ندارد ($p > 0.05$). شیوع آلودگی به کلوستریدیوم پرفرنجنس (۱۶ درصد) تقریباً دو برابر باسیلوس سرئوس (۹ درصد) بود (جدول ۲).

نتایج PCR برای ژن *cpe* در جدایه‌های کلوستریدیوم پرفرنجنس نشان داد از مجموع ۱۶ جدایه، ۶ نمونه (۳۷/۵ درصد) حامل ژن *cpe* بود و ژن‌های *hlyA* ۵ نمونه (۵۵/۶ درصد) و *hlyB* ۳ نمونه (۳۳/۳ درصد) در جدایه‌های باسیلوس سرئوس وجود داشتند (جدول ۳ و شکل ۱).

نتایج آنالیز کمی بار میکروبی و خطر مسمومیت‌زایی نشان داد در کلوستریدیوم پرفرنجنس، اگرچه میانگین کلی کمتر از 10^4 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم بود، اما ۱۸/۸ درصد از نمونه‌های آلوده به کلوستریدیوم پرفرنجنس با بار میکروبی (کمتر از 10^4 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم) در سطح خطر قرار داشتند. همچنین میانگین بار میکروبی جدایه‌های باسیلوس سرئوس ($10^3 \times 1/5$) کمتر از حد مجاز استاندارد (کمتر از 10^4 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم) تعیین شد. انحراف معیار پایین ($10^2 \times 8$) و عدم وجود هیچ نمونه‌ای با بار میکروبی بالای حد مجاز، نشان‌دهنده آن است که آلودگی باسیلوس

از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد و لدر مارکر جداسازی شده تا اندازه باندها با اندازه‌های مورد انتظار برای هر ژن مطابقت داده شد.

به منظور ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی از روش استاندارد CLSI در محیط کشت مولر هینتون، انجام شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی که شامل؛ مترونیدازول (۳۰ میکروگرم)، تتراسایکلین (۲۰ میکروگرم)، کلیندامایسین (۱۵ میکروگرم) و پنی‌سیلین (۲۰ میکروگرم) بودند، روی این محیط کشت قرار داده و پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری وضعیت حساسیت، نیم‌حساس بودن و مقاومت آن‌ها قرائت گردید (۱۴).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری کای - اسکوئر (χ^2) و تی مستقل تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج نشان داد از مجموع ۱۰۰ نمونه مواد غذایی مورد بررسی، ۲۵ نمونه (۲۵ درصد) دارای آلودگی به حداقل یکی از پاتوژن‌های باسیلوس سرئوس و کلوستریدیوم پرفرنجنس بودند. بنا به نتایج به دست آمده، بیشترین و کمترین میزان آلودگی به باسیلوس سرئوس به ترتیب مربوط به ماکارونی ۴ نمونه (۲۰ درصد)، مرغ ۲ نمونه (۱۰ درصد)، همبرگر، سوسیس و کالباس هر کدام ۱ نمونه (۵ درصد) آلودگی داشتند. همچنین در کلوستریدیوم پرفرنجنس نیز بیشترین و کمترین آلودگی به ترتیب برای همبرگر

سرئوس در ساندویچ‌های عرضه‌شده در شهرستان خرم‌آباد عمدتاً در سطح کم و فاقد خطر حاد مسمومیت‌زایی بوده است (جدول ۴).

نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدول ۴، نشان داد بیشترین مقاومت در کلاستریدیوم پرفرنجنس مربوط به تتراسایکلین (۳۲ درصد) و بیشترین حساسیت مربوط به مترونیدازول (۱۰۰ درصد) بود، همچنین نتایج برای باسیلوس سرئوس نشان داد بیشترین مقاومت مربوط به پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد) و

بیشترین حساسیت مربوط به جنتامایسین (۱۰۰ درصد) بود. در همین راستا، از مجموع ۲۵ جدایه‌ی باسیلوس سرئوس و کلاستریدیوم پرفرنجنس، ۵ جدایه (۲۰ درصد) الگوی مقاومت چند دارویی (MDR) را نشان دادند (مقاومت به حداقل سه کلاس آنتی‌بیوتیکی)، در حالی که ۱۷ جدایه (۶۸ درصد) حساسیت کامل و ۳ جدایه (۱۲ درصد) مقاومت به ۱ یا ۲ کلاس داشتند (جدول ۵).

جدول ۱: لیست توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی ژن‌های کلاستریدیوم پرفرنجنس و باسیلوس سرئوس

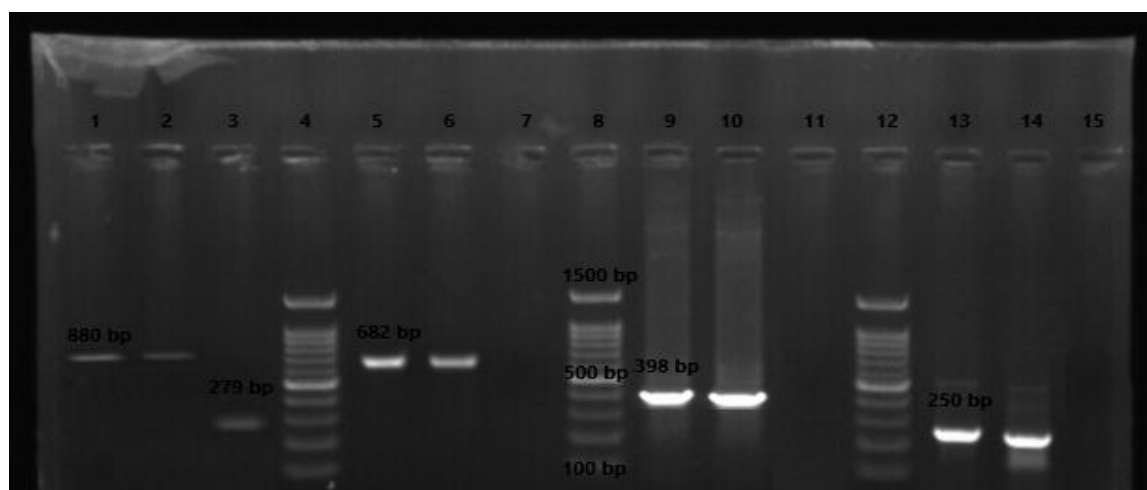
بakterی	ژن هدف	توالی پرایمر	اندازه باند (bp)	TM (درجه سانتی‌گراد)
کلاستریدیوم پرفرنجنس	16S rRNA	TACTCGCATTTTCGCTGC	۲۷۹	۶۰
کلاستریدیوم پرفرنجنس	Cpe	ATGCAGCACCTCGTGAA GGTGCAGATAGAATACCAT	۲۵۰	۵۷
باسیلوس سرئوس	16S rRNA	TCCCATTTCGTAACCTCACTA TGCTTAACACATGCAAGTCG AGAGGACGCACCTTGGA	۸۸۰	۵۹
باسیلوس سرئوس	nheA	TGAAGAAAGCACATCGAAAT CAAGGACTTATATTGCAT	۳۹۸	۵۶
باسیلوس سرئوس	hblA	ATATTTATTCTTGTTCAGTCA AATACTAATCGCAATACTATATC	۶۸۲	۶۱

جدول ۲: مقایسه میزان و فراوانی آلودگی به کلاستریدیوم پرفرنجنس و باسیلوس سرئوس بر اساس نوع ساندویچ

نوع ساندویچ	تعداد	کلاستریدیوم پرفرنجنس (درصد)	مجموع آلودگی	باسیلوس سرئوس (درصد)	مجموع آلودگی
همبرگر	۲۰	۶ (۳۰ درصد)	۱۶ نمونه	۱ (۵ درصد)	۹ نمونه
سوسیس	۲۰	۴ (۲۰ درصد)		۱ (۵ درصد)	
ماکارونی	۲۰	۲ (۱۰ درصد)		۴ (۲۰ درصد)	
کالباس	۲۰	۲ (۱۰ درصد)		۱ (۵ درصد)	
مرغ	۲۰	۲ (۱۰ درصد)		۲ (۱۰ درصد)	
آزمون آماری		$p < 0.001$ $\chi^2 = 182/25$		$p < 0.048$ $\chi^2 = 9/53$	

جدول ۳: نتایج PCR برای ژن‌های کلوستریدیوم پرفرنجنس و باسیلوس سرئوس

نتایج PCR برای ژن <i>cpe</i> در جدایه‌های کلوستریدیوم پرفرنجنس		
وضعیت ژن <i>cpe</i>	تعداد جدایه‌ها	درصد جدایه‌ها
مثبت	۶	۳۷/۵
منفی	۱۰	۶۲/۵
نتایج PCR برای ژن‌های انتروتوکسین در جدایه‌های باسیلوس سرئوس		
وضعیت توکسین‌ها	تعداد جدایه‌ها	درصد جدایه‌ها
<i>nheA</i> (NHE)	۵	۵۵/۶
<i>hblA</i> (HBL)	۳	۳۳/۳
حامل هر دو ژن (Multitoxigenic)	۲	۲۲/۲



شکل ۱: واکنش زنجیره‌ای پلیمراز. چاهک ۱ و ۲: ژن *16srRNA* باکتری باسیلوس سرئوس با اندازه ۸۸۰ جفت باز، چاهک ۳: ژن *16srRNA* باکتری کلوستریدیوم پرفرنجنس با اندازه ۲۷۹ جفت باز، چاهک ۴، ۸ و ۱۲: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک ۵ و ۶: ژن *hblA* با اندازه ۶۸۲ جفت باز، چاهک ۷: کنترل منفی، چاهک ۹ و ۱۰: ژن *nheA* با اندازه ۳۹۸ جفت باز، چاهک ۱۱: کنترل منفی، چاهک ۱۳ و ۱۴: ژن *Cpe* با اندازه ۲۵۰ جفت باز، چاهک ۱۵: کنترل منفی.

جدول ۴: میانگین بار میکروبی جدایه‌های کلوستریدیوم پرفرنجنس و باسیلوس سرئوس در نمونه‌های آلوده

پاتوژن	تعداد کل نمونه‌های مثبت (تعداد)	میانگین بار میکروبی $\pm$ انحراف معیار (واحد تشکیل‌دهنده کلنی در گرم)	تعداد نمونه‌های بیش از حد مجاز (کمتر از 10^4 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر گرم)
کلوستریدیوم پرفرنجنس	۱۶	$3/5 \times 10^2 \pm 1/5 \times 10^3$	۳ (۱۸/۸ درصد)
باسیلوس سرئوس	۹	$1/5 \times 10^2 \pm 8 \times 10^2$	۰

جدول ۵: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های کلاستریدیوم پرفرنجنس و باسیلوس سرئوس

باسیلوس سرئوس				کلاستریدیوم پرفرنجنس			
مقاومت	نیم‌حساس	حساس	آنتی‌بیوتیک	مقاومت	نیم‌حساس	حساس	آنتی‌بیوتیک
(درصد)	(درصد)	(درصد)		(درصد)	(درصد)	(درصد)	
۱۰۰	۰	۰	پنی‌سیلین (P)	۰	۰	۱۰۰	مترونیدازول (MTZ)
۰	۰	۱۰۰	جنتامایسین (GM)	۳۱/۲	۰	۶۸/۸	تتراسایکلین (TE)
۱۰	۰	۹۰	سیپروفلوکساسین (CIP)	۱۲/۵	۰	۸۷/۵	کلیندامایسین (CL)
۲۲/۲	۱۱/۱	۶۶/۷	اریترومایسین (E)	۰	۶/۲	۹۳/۸	پنی‌سیلین (P)

بحث

مشخص شد که از ۱۰۰ نمونه مواد غذایی، ۹ درصد به

باسیلوس سرئوس و ۱۶ درصد به کلاستریدیوم

پرفرنجنس آلوده بودند. در نتایج PCR مشخص شد

۳۷/۵ درصد جدایه‌ها حامل ژن *cpe* و ۵۵/۶ درصد

حامل توکسین *nheA* و ۳۳/۳ درصد حامل توکسین

hblA بودند. ارزیابی‌های آماری نشان داد بین آلودگی

به باسیلوس سرئوس و کلاستریدیوم پرفرنجنس

ارتباط معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$). نتایج

مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد بیشترین مقاومت در

کلاستریدیوم پرفرنجنس مربوط به تتراسایکلین (۳۲/۲

درصد) و کلیندامایسین (۱۲/۵ درصد) و در باسیلوس

سرئوس مربوط به پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد) بود.

آنتریت نکروتیک (NE)، ناشی از کلاستریدیوم

پرفرنجنس، یکی از مهم‌ترین بیماری‌ها در صنایع

طیور است. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در غلظت‌های

پایین برای پیشگیری پیشگیرانه، مؤثرترین اقدام برای

کنترل کلاستریدیوم پرفرنجنس محسوب می‌شود. با

این حال، این امر در نتیجه منجر به ظهور کلون‌های

کلاستریدیوم پرفرنجنس مقاوم به آنتی‌بیوتیک

مکانیسم اثر کلاستریدیوم پرفرنجنس به این

شیوه‌است که هنگامی که تعداد زیادی از سلول‌های

رویشی متعاقباً بلعیده می‌شوند، هاگ تشکیل می‌دهند

و *cpe* را به داخل لومن روده آزاد می‌کنند. *cpe* یک

زنجیره پلی‌پپتیدی است که به گیرنده‌های سلول‌های

اپیتلیال هدف متصل می‌شود. پژوهش‌های ژنتیکی *cpe*

نشان داده است که این ژن می‌تواند کروموزومی یا

پلاسمید - برد باشد و تنها اقلیت کوچکی از جمعیت

جهانی کلاستریدیوم پرفرنجنس با *cpe* مثبت هستند.

فنوتیپ مقاومت جدایه‌های *cpe* کروموزومی (*C-cpe*)

فراتر از مقاومت دمایی است و شامل مقاومت افزایش

یافته در برابر تنش اسمزی (از کلرید سدیم) و

نیتريت‌ها نیز می‌شود. این ماهیت طیف گسترده

فنوتیپ مقاومت *C-cpe* نشان می‌دهد که این باکتری‌ها

ممکن است از مکانیسم‌های متعددی برای ماندگاری و

رشد در مواد غذایی قبل از انتقال به انسان استفاده

کنند (۱۹). در این مطالعه که هدف، تعیین ژن‌ها و

انترتوکسین‌های باکتری‌های پاتوژن غذایی بود،

شده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کلستریدیوم پرفرنجنس موجود در گوشت مرغ در برابر تتراسایکلین و کلیندامایسین بسیار مقاوم بودند. این یافته‌ها تعجب‌آور نیستند زیرا تتراسایکلین و کلیندامایسین به طور گسترده در بسیاری از کشورها، برای پیشگیری از بیماری‌ها در حیوانات و پرندگان استفاده می‌شوند (۱۹). در حال حاضر بررسی‌های کمی در مورد شیوع کلستریدیوم پرفرنجنس در مواد غذایی و همچنین فرآورده‌های گوشتی خام در دسترس است. در همین راستا حیدرزادی و همکاران در پژوهشی با هدف تعیین آلودگی به باکتری‌های پاتوژن در ساندویچ‌های عرضه شده در شهرستان کرمانشاه گزارش دادند از مجموع ۲۱۰ نمونه ساندویچ، ۱۳/۳ درصد به کلستریدیوم پرفرنجنس آلوده بودند (۱۶). حسنی و همکاران در پژوهشی هم‌راستا با مطالعه حاضر در قزوین، ۱۳/۵۳ درصد کلستریدیوم پرفرنجنس را جداسازی کردند و بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به تتراسایکلین و کلیندامایسین گزارش شد که ۳۱/۸ درصد جدایه‌ها نیز حامل ژن *cpe* بودند (۲۰). در تحقیقی در ویتنام داک و همکاران نیز گزارش دادند ۱۶ درصد از نمونه‌های گوشت مرغ به کلستریدیوم پرفرنجنس آلوده بودند. جدایه‌ها بالاترین میزان مقاومت خود را به تتراسایکلین و کلیندامایسین نشان دادند (۲۱). مطالعه‌ای در بلژیک نتایج مشابهی را به دست آورد و گزارش داد که میزان مقاومت

کلستریدیوم پرفرنجنس از جوجه‌های گوشتی به تتراسایکلین بود (۲۲)، که بررسی‌های یاد شده هم-راستا با نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر است. در این مطالعه، میزان شیوع کلستریدیوم پرفرنجنس به طور قابل توجهی پائین‌تر از میزان گزارش شده از پژوهش‌های انجام شده به وسیله کوینک و همکاران در ترکیه روی گوشت مرغ با شیوع آلودگی ۲۶ درصد (۲۳)، آکدمیر در شاکریای ترکیه با شیوع آلودگی ۳۳/۳ درصد (۲۴)، ژانگ و همکاران در چین با میزان آلودگی ۲۳/۱ درصد (۲۵)، شالتوت و همکاران، در مصر با شیوع آلودگی ۲۴ درصدی در ساندویچ سینه‌ی مرغ و ۳۲ درصدی در ران مرغ پخته شده (۲۶) بود. این تفاوت‌ها ممکن است به دلیل تغییرات شدید در شرایط بهداشتی، جابجایی، فرآوری و توزیع محصولات باشد. با این حال، نتایج میزان شیوع کلستریدیوم پرفرنجنس در مطالعه حاضر نشان داد که با توجه به میزان شیوع پایین‌تر، هنوز هم خطر بالایی در رابطه با آلودگی با این پاتوژن در محصولات گوشتی به دلیل بهداشت ضعیف و سطح پایین شیوه‌های بهداشتی که در طول فرآوری و توزیع گوشت خام استفاده شده است، وجود دارد و این یافته بر اهمیت مدیریت زنجیره سرد و جلوگیری از رشد سلول‌های رویشی کلستریدیوم پرفرنجنس در فرآورده‌های با پروتئین بالا تأکید می‌کند.

پژوهشی به وسیله آزمی و همکاران شیوع آلودگی به باسیلوس سرئوس را در مواد غذایی خیابانی تعیین کردند و گزارش دادند از مجموع ۱۵۵

نمونه مواد غذایی خیابانی ۲۱ درصد به *باسیلیوس سرئوس* آلوده بودند. ارزیابی حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که جدایه‌های *باسیلیوس سرئوس* در این مطالعه به پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد) مقاوم بودند (۲۷). مطالعه‌ای در تونس به وسیله گدورا و همکاران روی آلودگی مواد غذایی خیابانی گزارش دادند از مجموع ۶۸۷ نمونه، ۱۹۱ نمونه غذایی (۲۷/۸ درصد) مثبت تشخیص داده شدند (۲۸). کونگ و همکاران در مطالعه‌ای هم‌راستا با پژوهش حاضر، گزارش دادند از مجموع ۶۰۳ نمونه مواد غذایی عرضه‌شده در بازار، ۲۶/۳۷ درصد نمونه‌ها به *باسیلیوس سرئوس* آلوده بودند، در حالی که بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی حاصل از جدایه‌ها مربوط به پنی‌سیلین بود (۲۹). در پژوهشی متا‌آنالیز که به وسیله رهنما و همکاران انجام شد، گزارش دادند بین سال‌های ۱۹۹۰ تا ۲۰۲۰، شیوع کلی *باسیلیوس سرئوس* به دست آمده در مواد غذایی ۲۳/۷۶ درصد بود؛ با این حال، شیوع *باسیلیوس سرئوس* بر اساس نوع غذا، روش شناسایی و قاره‌ها متفاوت بود. یافته‌های این پژوهشگران نشان داد که بیشترین شیوع *باسیلیوس سرئوس* در بین هشت گروه از غذاها متعلق به غلات و حبوبات بود که به ترتیب ۴۱/۷۸ درصد و ۴۴/۹ درصد بودند. شیوع آن در سبزیجات (۳۷/۲۷ درصد) و محصولات لبنی (۳۶/۳۸ درصد) نیز بالا بود. آن‌ها گزارش دادند شیوع *باسیلیوس سرئوس* نیز در قاره آمریکا بالاترین و در استرالیا کمترین بود. پژوهش یادشده نشان داد که اگرچه شیوع *باسیلیوس سرئوس* به طور کلی بالا

است، اما بسته به نوع غذا، روش تشخیص باکتری و همچنین از نظر جغرافیایی، شیوع آن می‌تواند کاملاً متفاوت باشد (۳۰). شیوع بالای *باسیلیوس سرئوس* در انواع مختلف مواد غذایی را می‌توان به منشأ *باسیلیوس سرئوس*، خاک و عدم رعایت پروتکل‌های بهداشتی از مزرعه تا سفره نسبت داد. مهم‌ترین دلایل نیز بهداشت ضعیف محیط، زیرساخت‌های ناکافی و جابجایی نامناسب غذا، که به عنوان عوامل خطر اصلی مرتبط با غذاهای خیابانی ذکر شده‌اند، از مهم‌ترین دلایل عدم مطابقت با یافته‌های حاضر است.

این پژوهش با وجود داده‌های ارزشمند، در خصوص آلودگی غذاهای ساندوچی به باکتری‌های *کلوستریدیوم پرفرنجنس* و *باسیلیوس سرئوس* دارای محدودیت‌هایی است. تعداد ۱۰۰ نمونه، در یک محدوده جغرافیایی مشخص تعمیم‌پذیری نتایج به سایر مناطق و جمعیت‌ها را محدود می‌کند. در این مطالعه دو عامل بیماری‌زا مورد بررسی قرار گرفتند و سایر عوامل بالقوه ارزیابی نشد. همچنین عدم بررسی عوامل مؤثر بر آلودگی مانند شرایط نگهداری، دمای محیط، مدت زمان نگهداری وضعیت بهداشتی افراد شاغل در آن محیط و منبع مواد اولیه امکان تحلیل دقیق‌تر عوامل خطر را محدود کرد، بنابراین پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های آینده، با تعداد نمونه بالاتر، پوشش جغرافیایی گسترده‌تر و بررسی هم‌زمان چندین پاتوژن غذایی و عوامل خطر آفرین محیطی انجام گردد.

نتیجه‌گیری

ظهور مقاومت ضد میکروبی در پاتوژن‌های منتقل شونده از مواد غذایی به یک مشکل جهانی تبدیل شده است. مطالعه حاضر اولین گزارش در مورد شیوع و مشخصات مقاومت آنتی‌بیوتیکی کلستریدیوم پرفرنجنس و باسیلوس سرئوس جدا شده از مواد غذایی عرضه شده در خیابان در شهرستان خرم‌آباد است. نتایج نشان داد که ساندویچ‌ها به کلستریدیوم پرفرنجنس و باسیلوس سرئوس آلودگی دارند. کلستریدیوم پرفرنجنس‌های جدا شده در این مطالعه با میزان شیوع ۱۶ درصد، بالاترین مقاومت خود را به تتراسایکلین و برای باسیلوس سرئوس با میزان شیوع ۹ درصد بالاترین مقاومت خود را به پنی‌سیلین نشان دادند. در کشورهای در حال توسعه، عوامل کلیدی شناسایی شده برای مقاومت آنتی‌بیوتیکی شامل عدم نظارت بر توسعه مقاومت، کنترل کیفی ضعیف آنتی‌بیوتیک‌های موجود، سوء مصرف بالینی و سهولت دسترسی را ذکر کردند. علی‌رغم وجود مقررات در ایران که الزامات مربوط به فروشندگان غذاهای خیابانی را تعیین می‌کند، سطح کیفیت میکروبیولوژیکی شناسایی شده در نمونه‌های غذایی مورد بررسی در این مطالعه، نیاز به بهبود سیستم‌های ایمنی غذایی اجرا شده به وسیله اپراتورهای کسب و کار مواد غذایی را برجسته می‌کند. برنامه‌هایی برای ایجاد انگیزه و افزایش آگاهی، در مورد اهمیت رعایت قوانین بهداشت

شخصی خوب، شیوه‌های تولید خوب و این که چگونگی جا به جایی نادرست (آلودگی متقاطع) می‌تواند بر ایمنی و کیفیت محصولات نهایی و در نتیجه سلامت مصرف کننده تأثیر بگذارد و همچنین تعیین ماندگاری کافی برای غذاهای خیابانی آماده، باید تشویق شود. داده‌های به دست آمده، بینشی در مورد نیاز به نظارت میکروبیولوژیکی دوره‌ای/منظم به وسیله‌ای نهادهای نظارتی، بر روی غذاهای آماده مصرف و سطوح در تماس با غذاها و در ارزیابی شرایط بهداشتی و ساختاری محل در این واحدهای خاص در شهرستان خرم‌آباد که غذاهای خیابانی در آن فروخته یا سرو می‌شود، ارائه می‌دهد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله نویسندگان این مقاله از کلیه شرکت‌کنندگان در این مطالعه که همکاری صمیمانه را داشته، تقدیر و تشکر فراوان داریم.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافی در نگارش این پژوهش ندارند.

حمایت مالی

پژوهشگران از هیچ سازمانی حمایت مالی دریافت نکرده‌اند.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته بهداشت مواد غذایی با کد اخلاق IR.IAU.SHK.REC.1404.316 از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

فاطمه قاسمی، جمع‌آوری داده‌ها، انجام آزمایش‌ها و شرکت در نگارش مقاله؛ نجمه واحد دهکردی: نگارش و ویرایش مقاله، آنالیزهای آماری و نظارت بر آزمایش‌ها؛ ابراهیم رحیمی: مشارکت در نگارش مقاله.

REFERENCES

1. Hashemi M, Erfani A, Touranlou FA, Doustinouri M, Shahraki A, Afshari A. Identification of salmonella enteritidis, salmonella typhimurium, bacillus cereus, bacillus subtilis, and clostridium perfringens in hospital food. *Revista Argentina de Microbiología* 2025; 57(1): 14-23.
2. Gu W, Vieira A, Hoekstra R, Griffin P, Cole D. Use of random forest to estimate population attributable fractions from a case-control study of Salmonella enterica serotype Enteritidis infections. *Epidemiology & Infection* 2015; 143(13): 2786-94.
3. Andrade AA, Paiva AD, Machado ABF. Microbiology of street food: understanding risks to improve safety. *Journal of Applied Microbiology* 2023; 134(8): 1xad167.
4. Kheiri F, Faghani M, Berenjegan MM, Gouran ST, Domakani MR. Polymorphism of the Gonadotropin-Releasing Hormone Receptor Gene and Its Association With Production Traits in Isfahani Native Hens. *Veterinary medicine and science* 2026;12(4):e70969.
5. López-Gómez A, Fernández P, Palop A, Periago P, Martínez-López A, Marin-Iniesta F, et al. Food safety engineering: an emergent perspective. *Food Engineering Reviews* 2009;1:84-104.
6. Gharib A, El-Hamid M, El-Aziz N, Yonan E, Allam M. Bacillus cereus: Pathogenicity, viability and adaptation. *Adv Anim Vet Sci* 2020; 8(s1): 34-40.
7. Lou X, Zhou Q, Jiang Q, Lin L, Zhu W, Mei X, et al. Inhibitory effect and mechanism of violacein on planktonic growth, spore germination, biofilm formation and toxin production of Bacillus cereus and its application in grass carp preservation. *International Journal of Food Microbiology* 2025; 426: 110917.
8. Hailegebreal G. A review on clostridium perfringens food poisoning. *Global Research Journal of Public Health and Epidemiology* 2017; 4(3): 104-9.
9. Gouran ST, Doosti A and Jami MS. Expression of Brucella abortus Omp25 protein in Lactococcus lactis probiotic bacteria. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2023; 32 (217): 16-31 (Persian).
10. Revitt-Mills SA, Rood JI, Adams V. Clostridium perfringens extracellular toxins and enzymes: 20 and counting. *Microbiology Australia* 2015; 36(3): 114-7.
11. Grass JE, Gould LH, Mahon BE. Epidemiology of foodborne disease outbreaks caused by Clostridium perfringens, United States, 1998–2010. *Foodborne Pathogens and Disease* 2013; 10(2): 131-6.
12. Ghoneim N, Hamza D. Epidemiological studies on clostridium perfringens food poisoning in retail foods. *Rev Sci Tech* 2017; 36(3): 1025-32.
13. Khalifeh S, Goura ST, Asadi S, Asadi E, Maleki A, Khodagholi F, et al. Paternal Aggression in Early-life Impairs the Spatial Memory and Passive Avoidance Learning in Adulthood of Male Rats: The Possible Role of DRD2. *Basic and Clinical Neuroscience* 2023; 14(3), 431-9.
14. Aslam B, Wang W, Arshad MI, Khurshid M, Muzammil S, Rasool MH, et al. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infection and Drug Resistance* 2018; 59(1):1645-58.
15. Chokshi A, Sifri Z, Cennimo D, Horng H. Global contributors to antibiotic resistance. *Journal of Global Infectious Diseases* 2019; 11(1): 36-42.
16. Heidarzadi M, Ayazi N, Vahed Dehkordi N, Karami M, Ahmadi S, Hoseini Nasab S. Prevalence of contamination of sandwiches with pathogenic microorganisms and antibiotic resistance of isolates in Kermanshah city, Iran. *Food Hygiene* 2023; 13(51): 53-66.
17. Heidarzadi MA, Ayazi N, Vahed Dehkordi N, Karami M, Ahmadi SK, Hoseini Nasab SE. Prevalence of contamination of sandwiches with pathogenic microorganisms and antibiotic resistance of isolates in Kermanshah city, Iran. *Food Hygiene* 2023; 13(51): 53-66.
18. Shrestha A, Uzal FA, McClane BA. Enterotoxigenic clostridia: Clostridium perfringens enteric diseases. *Microbiology Spectrum* 2018; 6(5):10-1128.
19. Fathima S, Hakeem WGA, Shanmugasundaram R, Selvaraj RK. Necrotic enteritis in broiler chickens: a review on the pathogen, pathogenesis, and prevention. *Microorganisms* 2022; 10(10): 1958.
20. Hassani S, Pakbin B, Brück WM, Mahmoudi R, Mousavi S. Prevalence, antibiotic resistance, toxin-typing and genotyping of Clostridium perfringens in raw beef meats obtained from Qazvin city, Iran. *Antibiotics* 2022; 11(3): 340.
21. Duc HM, Hoa TTK, Ha CTT, Van Hung L, Van Thang N, Minh Son H, et al. Prevalence and antibiotic resistance profile of Clostridium perfringens isolated from pork and chicken meat in Vietnam. *Pathogens* 2024; 13(5): 400.

22. Gholamiandehkordi A, Eeckhaut V, Lanckriet A, Timbermont L, Bjerrum L, Ducatelle R, et al. Antimicrobial resistance in *Clostridium perfringens* isolates from broilers in Belgium. *Veterinary Research Communications* 2009; 33(8): 1031-7.
23. Kevenk TO, Uyanık T, Kanat S, Çadırcı Ö, Gücükoğlu A. Detection of *Clostridium perfringens* and determination of enterotoxin genes (cpa and cpe) in traditional turkish chicken doner kebab. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2022; 69(2): 117-22.
24. Akdemir SC, Ersöz Ş. Incidence and contamination level of *Clostridium perfringens* in meat and meat products sold in Sakarya province of Turkey. *Food and Health* 2021; 7(3): 172-8.
25. Zhang T, Zhang W, Ai D, Zhang R, Lu Q, Luo Q, et al. Prevalence and characterization of *Clostridium perfringens* in broiler chickens and retail chicken meat in central China. *Anaerobe* 2018; 54: 100-3.
26. Shaltout F, Zakaria I, Nabil M. Detection and typing of *Clostridium perfringens* in some retail chicken meat products. *Benha Veterinary Medical Journal* 2017; 33(2): 283-91.
27. Azmi NA, Aminah SS, Ahmad AM, Sani NM, Roha AS, Sapee F. Contamination of *Bacillus cereus* in foods sold at Ramadan bazaar in Kuching, Sarawak. *Borneo Journal of Resource Science and Technology* 2023; 13(1): 54-61.
28. Gdoura-Ben Amor M, Siala M, Zayani M, Grosset N, Smaoui S, Messadi-Akrout F, et al. Isolation, identification, prevalence, and genetic diversity of *Bacillus cereus* group bacteria from different foodstuffs in Tunisia. *Frontiers in Microbiology* 2018; 9: 447.
29. Kong L, Yu S, Yuan X, Li C, Yu P, Wang J, et al. An investigation on the occurrence and molecular characterization of *Bacillus cereus* in meat and meat products in China. *Foodborne Pathogens and Disease* 2021; 18(5): 306-14.
30. Rahnama H, Azari R, Yousefi MH, Berizi E, Mazloomi SM, Hosseinzadeh S, et al. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of *Bacillus cereus* in foods. *Food Control* 2023; 143: 109250.

Investigating the Prevalence of *Clostridium Perfringens* and *Bacillus Cereus* Contamination in Sandwiches Sold in Khorramabad City and Determining the Antibiotic Resistance of the Isolates

Ghasemi F¹, Vahed Dehkordi N^{1*}, Hashemi SM²

¹Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. ²Nutrition and Organic Products Research Center, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Received Date: 16 Dec 2025 Accepted Date: 05 Apr 2026

Abstract

Background & aim: *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* are spore-forming bacteria that cause food spoilage and vomiting and diarrhea syndromes in humans. The aim of the present study was to investigate the prevalence of contamination with *Clostridium perfringens* and *Bacillus cereus* in sandwiches sold in Khorramabad city and the antibiotic resistance of the isolates.

Methods: In the present study, the microbiological contamination and prevalence of specific bacterial pathogens in ready-to-eat sandwiches were investigated. The present descriptive cross-sectional study was conducted in 2025. One hundred ready-to-eat sandwich samples were randomly collected from the market in Khorramabad, Iran, and transferred to the laboratory. Positive samples were identified, and the presence of the *cpe* gene in *Clostridium perfringens*, as well as the *nheA* and *hblA* genes in *Bacillus cereus*, was determined. Subsequently, the antibiotic resistance of the isolates was evaluated following the CLSI guidelines. The collected data were analyzed using the Chi-square test.

Results: The results indicated that out of 100 food samples, 9% were contaminated with *Bacillus cereus* and 16% with *Clostridium perfringens*. PCR results revealed that 37.5% of the isolates carried the *cpe* gene, 55.6% with the *nheA* gene, and 33.3% with the *hblA* gene. Statistical evaluations indicated that there was no significant relationship between contamination with *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* ($p>0.05$). Antibiotic resistance results indicated that the highest resistance in *Clostridium perfringens* was related to tetracycline (32.2%) and in *Bacillus cereus* to penicillin (100%).

Conclusion: The results indicated that street foods had a high potential for contamination with *Clostridium perfringens* and *Bacillus cereus*, which requires the competent authorities to enact strict laws. Moreover, in case of poisoning with the aforementioned bacteria, the arbitrary use of antibiotics should be avoided.

Keywords: Food safety, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, Khorramabad

***Corresponding author:** Vahed Dehkordi N, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Email: najmeh.vaheddehkordi@iaui.ir

Please cite this article as follows: Ghasemi F, Vahed Dehkordi N, Hashemi SM. Investigating the Prevalence of *Clostridium Perfringens* and *Bacillus Cereus* Contamination in Sandwiches Sold in Khorramabad City and Determining the Antibiotic Resistance of the Isolates. armaghane-danesh 2026; 31(2): 241-255.

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