Food Hygiene, Vol. 13, No. 51, Autumn 2023

"Research article" **DOI: 10.30495/JFH.2023.1992348.1413**

Investigating the prevalence of foodborne pathogens in sandwiches Presented in Qom City and the antibiotic resistance of the isolates.

Hosseini Nesab, S.E. [1*], Vahad Dehkordi[2], N. Rahimi, E. [3]

1. Graduated in Food Hygiene, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
2. Ph.D. student in Food Hygiene, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
3. Professor, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
*Corresponding author: ebrahimrahimi55@yahoo.com
(Received: 2023/8/19 Accepted: 2023/12/9)

Abstract

Nowadays, due to the existence of different occupations, it is impossible to cook food for most of the people of a society. Therefore, most people have turned to consuming prepared foods, which, in addition to all its advantages, can be a source of microbial contamination. These foods may contain bacterial contaminations that cause the spread of gastroenteritis. In this regard, the present study aimed to investigate the prevalence of foodborne pathogens in sandwiches retailed in Qom City. Besides, the antibiotic resistance of the isolates was evaluated. A total of 120 samples, including 30 samples of samosas, salads, traditional chicken nuggets, and traditional hamburgers from the supply centers of Qom City, were randomly obtained. According to the results, *Arcobacter* (28.83%), *Pseudomonas* (16.65%), *Bacillus cereus* (23.35%) and *Campylobacter* (14.75%) were isolated. The highest level of antibiotic resistance was related to *B. cereus* with 78.56% and the lowest resistance was related to *Campylobacter* with 53.7%. It is recommended to reduce street food consumption to a minimum and reduce the use of antibiotics in case of gastroenteritis caused by food contamination.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: antibiotic resistance, gastroenteritis, sandwich, bacterial contamination, Qom

«مقاله پژوهشی»
DOI: 10.30495/JFH.2023.1992348.1413

بررسی شیوع پاتوژن‌های غذازاد در ساندویچ‌های عرضه‌شده در شهرستان قم و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها

شیوع باکتری پاتوژن در ساندویچ‌ها و مقاومت آنتی‌بیوتیکی

سیدعرفان حسینی‌نسب[۱*]، نجمه واحددهکردی[۲]، ابراهیم رحیمی[۳]

۱- دانش‌آموخته بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲- دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۳- استاد تمام گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
*نویسندهٔ مسئول: erfans1030@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۵/۱۵ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۸/۸)

چکیده

امروزه به دلیل وجود مشاغل متفاوت امکان پخت غذا برای تمام افراد یک جامعه وجود ندارد و بخش عمده‌ای از مردم به سمت استفاده غذاهای آماده روی آورده‌اند، که در کنار تمام مزایایی که دارد، در صورت عدم رعایت بهداشت می‌توانند منبع مهمی از آلودگی‌های باکتریایی باشند که سبب شیوع گاستروانتریت شوند. در همین راستا هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع پاتوژن‌های غذازاد در ساندویچ‌های عرضه شده در شهرستان قم و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها بود. تعداد ۱۲۰ نمونه شامل ۳۰ نمونه از سمبوسه، سالاد، ناگت سنتی مرغ، همبرگر سنتی از مراکز عرضه شهرستان قم به صورت تصادفی جداسازی و در کنار فلاسک یخ جهت جلوگیری از آلودگی ثانویه به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشگاه آزاد شهرکرد انتقال داده شد و توسط روش‌های استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان آلودگی در مواد غذایی به *آرکوباکتر* ۲۸/۸۳، *سودوموناس* ۱۶/۶۵، *باسیلوس سرئوس* ۲۳/۳۵ و برای *کمپیلوباکتر* ۱۴/۷۵ درصد بوده است که بیشترین و کمترین میزان آلودگی به ترتیب برای *آرکوباکتر* و *کمپیلوباکتر* بود. بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها مربوط به *باسیلوس سرئوس* با ۷۸/۵۶ درصد و کمترین مقاومت مربوط به *کمپیلوباکتر* با ۵۳/۷ درصد بود. بنابراین توصیه می‌شود مصرف مواد غذایی خیابانی به حداقل مصرف برسد و در صورت ابتلا به گاستروانتریت ناشی از آلودگی‌های غذایی، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها کاهش یابد.

واژه‌های کلیدی: مقاومت آنتی‌بیوتیکی، گاستروانتریت، ساندویچ، آلودگی باکتریایی، قم

مقدمه

شیوع بیماری‌های ناشی از غذا با عوارض قابل توجهی در سراسر جهان گزارش شده است و مخاطراتی را برای جمعیت انسانی به همراه دارد. به طور همزمان، در کشورهای در حال توسعه، بیماری‌های اسهالی دلیل اصلی مرگ و میر هستند. میزان مرگ و میر بیماری‌های ناشی از مواد غذایی در دنیا را ۳ درصد گزارش کرده‌اند (Abdul-Mutalib *et al*., 2015).

امروزه جهان علی‌رغم پیشرفت علم و تکنولوژی نحوه زندگی‌ها شاهد تفاوت آداب فرهنگ‌های بومی از جمله در زمینه تغذیه و آداب و رفتار غذائی است و در بسیاری از جوامع استفاده از فود فست‌ها رواج پیدا کرده است. غذاهای آماده مصرف به مجموعه‌ای از غذاها گفته می‌شود که به صورت خام، نیمه یا کامل پخته شده، سرد و یا گاها به صورت منجمد بوده و قبل مصرف، به صورت مجدد فرآیند آماده‌سازی و سالم‌سازی حرارتی ندارند. استفاده از این غذاهای آماده به طور چشمگیری در سراسر جهان با هدف صرفه‌جویی در وقت، راحتی و دسترسی آسان و متناسب با ذائقه اغلب کودکان و نوجوانان، به شدت در حال افزایش است (Pinu, 2016).

اقدام‌های بهداشتی ضعیف در کارخانه‌های فرآوری مواد غذایی، رستوران‌ها یا مواد غذایی که به صورت آماده مصرف می‌شوند، ممکن است منجر به آلودگی محصولات غذایی به عوامل بیماری‌زایی همچون *استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلای، سالمونلا، سودوموناس‌ها، شیگلا، انتروباکتر، آرکوباکتر* و *کمپیلوباکتر* در فرآورده‌ها شود که آلودگی مواد غذایی به چنین میکروارگانیسم‌هایی می‌تواند سلامت فرد و جامعه را مورد مخاطره قرار دهد (Nonato *et al*., 2016).

اعضای جنس *آرکوباکتر* بدون اسپور، آئروتولرانت، گرم‌منفی، خمیده به شکل میله‌ای، S یا مارپیچی متحرک با تاژه منفرد، قطبی، بدون‌غلاف هستند و توانایی رشد در حضور اکسیژن و دمای بین ۱۵تا۲۵ درجه سانتی‌گراد را دارد که *آرکوباکتر* را از *کمپیلوباکتر* متمایز می‌سازد. این میکروارگانیسم‌ها از نظر متابولیکی خنثی هستند و نیاز به محیط‌های غنی بلاداگار برای رشد دارد. *آرکوباکترها* به طورطبیعی دردستگاه گوارش اردک، خوک، گراز، خوک‌ماده بامشکلات تولیدمثلی، جنین-مرده‌خوک وطیف وسیعی ازحیوانات اهلی هستند. علاوه بر این مخازن طبیعی، *آرکوباکترها* از بیماران مبتلا به باکتریمی، اندوکاردیت و اسهال جداشده‌اند. به‌دلیل افزایش هشداردهنده شیوع بیماری‌ها در سال‌های اخیر در سراسر جهان عفونت‌های ناشی ازغذا اهمیت بیشتری پیداکردند (Ferreira *et al*., 2019).

سودوموناس‌ها یکی از مهم ترین جنس‌های موجود در خانواده سودوموناسه حساب می‌آیند. باکتری های موجود در این جنس همگی میله‌ای شکل، مستقیم یا کمی منحنی، گرم منفی و بدون اسپور می‌باشند. این باکتری‌ها به وسیله یک یا تعدادی فلاژل قطبی متحرک هستند اما برخی سویه‌ها واجد فلاژلهای جانبی با طول موج‌های متفاوت نیز هستند. بطور متوسط به صورت منفرد، دوتایی و زنجیره‌های کوتاه در زیر میکروسکوپ دیده می‌شوند. از لحاظ نیازمندی‌های غذایی متفاوت بوده تقریبا همگی در حضور نمک‌های آمونیم و یک منبع کربن رشد می‌نمایند. این باکتری‌ها به شدت هوازی بوده از مولکول اکسیژن به عنوان گیرنده نهایی

الکترون استفاده می‌کنند. برخی از گونه‌های موجود در جنس *سودوموناس* در حضور نیترات و یا آرژنین قادر به رشد در محیط بی‌هوازی هستند. همه گونه‌های موجود در این جنس کاتالاز مثبت بوده و واکنش‌های متیل رد، اندول و وگس در آن‌ها منفی می‌باشد (Lupo *et al.*, 2018).

یکی از میکروارگانیسم‌های ایجاد کننده مسمومیت در مواد غذایی *باسیلوس سرئوس* است، *باسیلوس سرئوس* متعلق به یک جنس از باکتری‌های گرم مثبت و آندوسپور تشکیل‌دهنده به صورت اختیاری بی‌هوازی است. مقاومت هاگ آن در برابر تعدادی از شرایط نامطلوب ایجاد شده و سبب گسترش و زنده‌ماندن میکروارگانیسم می‌گردد. از هوا، خاک و آب و همچنین مواد حیوانی و گیاهی جدا می‌گردد؛ *باسیلوس سرئوس* متعلق به گروه باسیلوس‌ها بوده و از موجودات است که دسته‌بندی آن‌ها از نظر rRNA 16S شامل گونه‌های *Bacillus mycoides*، *Bacillus pseudomycoides*، *Bacillus thuringiensis*، *Bacillus weihenstephanensis*، *Bacillus cytotoxicus* و *باسیلوس آنتراسیس* می‌باشد. همه موارد ذکر شده از نظر فنوتیپی و هم از نظر ژنوتیپی با هم مرتبط هستند (Sansinenea, 2019)؛ باکتری‌های نامبرده در صورت عدم رعایت بهداشت می‌توانند براحتی وارد مواد غذایی شده و مسبب مخاطراتی از جمله اسهال، استفراغ، تغییر در خواص ارگانولپتیکی مواد غذایی و کاهش نگهداری در آن‌ها شوند. از جمله این مواد غذایی می‌توان به غذاهای آماده مصرف RTE (Ready to Eat)، فست‌فودها و غذاهای ساندویچی اشاره کرد.

گونه های کمپیلوباکتر باکتری‌های گرم منفی، متحرک و غیر اسپورزا، با شکل مارپیچ منحصر به فرد هستند. عفونت با کمپیلوباکتر در انسان عمدتاً از طریق خوردن گوشت خام یا نیم پز آلوده به کمپیلوباکتر، شیر خام، آب لوله کشی، سالاد مرغ و غذاهای مختلف حاوی مرغ رخ می دهد. بیشتر عفونت های کمپیلوباکتر شامل یک گاستروانتریت خفیف و خود محدود شونده، با یک تا سه روز تب و استفراغ، و به دنبال آن درد شکم همراه با اسهال آبکی یا خونی به مدت سه تا هفت روز است (Hakeem and Lu, 2021).

امروزه بدلیل استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و عدم رعایت دوره پرهیز از مصرف آن‌ها، مقاومت میکروبی نگرانی جدید جهانی جهت بهداشت و سلامت دام و انسان بشمار می‌رود. به طورکلی می‌توان گفت مقاومت میکروبی انسان بازتاب مقاومت میکروبی در دام است. به این ترتیب می‌توان گفت مواد ضد میکروبی نه‌تنها بطور مستقیم از حیوان به انسان منتقل می‌شود بلکه با پخش میکروارگانیسم‌های مقاوم به دارو بین حیوانات باعث افزایش انتقال چنین میکروارگانیسم-هایی به انسان از راه مواد غذایی می‌شود (Elmanama and Albayoumi, 2016).

غذاهای آماده و نیمه‌آماده از جمله محصولات سوخاری، بخش عمده‌ای از این نوع مواد غذایی هستند که در بین آن‌ها ناگت به علت داشتن ۷۰ درصد گوشت، از نظر تغذیه‌ای حائز اهمیت است. ناگت مرغ به عنوان نوعی غذای سرخ شده محتوی مواد غذایی شامل چربی، پروتئین، ویتامین و مواد معدنی بوده و به دلیل بافت ترد و رنگ و طعم جذاب آن تمایل افراد به مصرف آن نه تنها در ایران بلکه در اغلب کشورها در

حال افزایش است. مصرف ناگت دارای یک بخش درونی آبدار و یک روکش خارجی ترد و طلایی رنگ است که محبوبیت زیادی در بین مصرف‌کنندگان سراسر دنیا دارد. حضور هر کدام از باکتری‌های بیماری‌زا در مواد غذایی ذکر شده می‌تواند صدمات جبران ناپذیری به سلامت انسان وارد کند. در سال های اخیر مصرف فرآورده های سرخ شده مانند ناگت ماهی، مرغ، گوشت و میگو به دلیل بافت ترد و رنگ و طعم جذاب افزایش یافته است. برخی از آن‌ها در کارخانجات مواد غذایی و برخی نیز به صورت سنتی توسط افراد غیر متخصص تهیه می‌شوند که بدون شک دارای عوامل باکتریولوژیک می‌باشد (Ishola *et al.*, 2016).

سمبوسه غذایی پیچیده شده داخل خمیر می باشد و یکی از غذاهای سبک و مورد علاقه افراد جنوب و جنوب غربی و مرکز آسیا، شبه جزیره عربستان، سرتاسر مدیترانه، هند و پاکستان است. تصور بر این است که این ماده غذایی در مرکز آسیا ابداع شده (جایی که آن را سمسا می‌نامند) که معمولا آن را به شکل مثلث پیچیده و داخل روغن یا فر، سرخ می کنند و مواد تشکیل دهنده آن عبارت است از مخلوطی از سیب زمینی پخته و پوره شده، گوشت، مرغ، ماهی، قارچ، میگو، فلفل سبز، عدس و ادویه های گوناگون است (Heidarzadi *et al.*, 2021). عمدتا در محل‌های عرضه و طبخ غذاهای ساندویچی، سالادهای مورد استفاده در ساندویچ‌ها به صورت روباز و در محدوده دید مصرف-کنندگان قرار می‌گیرد، ضمن اینکه نظارتی بر نحوه شستشوی مواد تشکیل‌دهنده سالادها وجود ندارد؛ که این امر می‌تواند به آلودگی بیشتر آن منجر شود. در همین راستا و با توجه به مخاطرات ذکر شده در خصوص تبعات خطرناک عفونت‌ها و مسمومیت‌های غذایی، هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع پاتوژن‌های غذازاد در ساندویچ‌های عرضه شده در شهرستان قم و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها می‌باشد

مواد و روش‌ها

-نمونه‌گیری

تعداد ۱۲۰ نمونه شامل ۳۰ نمونه سمبوسه، ۳۰ نمونه ناگت مرغ سنتی، ۳۰ نمونه همبرگر سنتی و ۳۰ نمونه سالاد سبزیجات از مراکز عرضه شهرستان قم به صورت تصادفی نمونه‌گیری و در شرایط سترون به آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد شهرکرد انتقال داده شد.

-روش جستجوی آرکوباکتر

نمونه‌ها به لوله‌های حاوی محیط کشت پریستون (Mirmedia, Iran) منتقل و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه شدند. پس از گذشت زمان مورد نظر در شرایط استریل به کمک لوپ استریل بر روی محیط CAMP Campylobacter غنی شده با خون گوسفند دفیبرینه شده که هر ویال مکمل حاوی آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند ونکومایسین ۲ میلی‌گرم، پلی میکسین ۰/۰۵ میلی‌گرم، تری متوپریم ۱میلی‌گرم بود، کشت خطی داده شد. سپس محیط‌های کشت در داخل انکوباتور ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۷۲-۴۸ ساعت قرار داده شد. پس از یک دوره گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها جهت شناسایی آرکوباکترها مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر روی محیط کشت پایه، کلنی باکتری به شکل محدب، صاف، شفاف، بدون رنگ تا کرم به اندازه ۲-۴ میلی‌متر مشاهده شد. تمامی

کلنی‌های مشکوک جهت شناسایی اولیه آرکوباکتر مورد آزمایشات میکروبی مانند رنگ‌آمیزی گرم، تست‌های کاتالاز، اکسیداز و تخمیر قند گلوکز قرار گرفتند. با مشاهده باسیل‌های خمیده در رنگ آمیزی گرم، متحرک بودن باکتری به روش لام مستقیم، مثبت شدن تست اکسیداز و منفی شدن تست تخمیر قند گلوکز، می‌توان تا حدود بسیار زیادی به جداسازی و شناسایی جنس آرکوباکتر مطمئن شد. در مرحله بعد با استفاده از تست‌های فنوتیپی شامل تست‌های تولید اوره آز، رشد در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و شرایط میکروآئروفیلیک و رشد در مک کانکی آگار بود و لذا گونه آرکوباکتر شناسایی شد (Nguyen *et al.*, 2021).

-روش جستجوی کمپیلوباکتر

به منظور غنی‌سازی، ابتدا ۱ گرم از هر نمونه توزین و پس از قرار دادن در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۹ سی‌سی آب پپتونه بافری استریل (رقت ۰/۱) و ورتکس مناسب، در دمای ۴۲ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. پس از سپری شدن این مدت، رقت‌های 10^{-5} تا 10^{-7} تهیه شده و ۰/۱ میلی‌لیتر آن بر روی محیط کشت کمپیلوباکتر سلکتیو آگار حاوی مکمل آنتی بیوتیکی کمپیلوباکتر کشت سطحی داده شد. بعد از زمان مناسب گرمخانه‌گذاری پلیت‌هایی که در آن کلنی باکتری رشد کردند، پس از شمارش، جداسازی و از نظر رنگ‌آمیزی گرم و تست حرکت بررسی شدند، در صورت مشاهده باکتری باسیل خمیده، گرم منفی و متحرک، آزمونهای بیوشیمیائی از قبیل کاتالاز و اکسیداز نیز انجام شد. مثبت بودن آزمون-های فوق بر روی کلنی‌های مورد آزمایش به منزله‌ی محتمل بودن حضور کمپیلوباکتر بود. در ادامه به منظور خالص سازی، کلنی‌ها چندین بار برروی محیط کشت کمپیلوباکتر سلکتیو آگار به صورت ایزوله کشت داده شدند. پلیت‌ها در داخل جار بی‌هوازی با گازپک نوع C به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۲ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری و به منظور تأیید خلوص رنگ‌آمیزی گرم شد (Cossettini *et al.*, 2022; Ramarao *et al.*, 2020).

-روش جستجوی سودوموناس

مقدار ۱۱ میکرولیتر از هر نمونه به صورت خطی در محیط agar Citrimide کشت و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱ تا ۳ روز گرمخانه‌گذاری شد. روی جدایه‌های به دست آمده، آزمون‌های غربالگری نظیر رنگ‌آمیزی گرم، آزمون‌های کاتالاز، اکسیداز، OF، TSI و رشد در محیط کشت مک‌کانکی آگار (Germany ,Merck) انجام گرفت. جدایه‌های گرم منفی، باسیلی شکل، کاتالاز مثبت، اکسیداز مثبت، اکسیداتیو، لاکتوز منفی و گلوکز منفی و قادر به رشد در محیط کشت مک‌کانکی آگار سودوموناس بود. برای ارزیابی قابلیت تولید رنگدانه، مقدار ۲۱ میکرولیتر از کشت تازه هر جدایه سودوموناس به صورت نقطه‌ای در محیط مولر هینتون آگارکشت داده شد. گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ تا ۴۱ ساعت در در دمای محیط انجام گرفت (Zhuang *et al.*, 2021).

-روش جستجوی *باسیلوس سرئوس*

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)، (Germany, Merck) (مانیتول زرده تخم‌مرغ پلی‌میکسین فنل رد آگار) کشت داده شد. کلنی‌های

بزرگ و صورتی رنگ و هاله‌دار به عنوان باسیلوس سرئوس احتمالی شناخته و مورد شمارش قرار گرفت و برای تأیید جدایه‌ها، آزمون همولیز و رنگ آمیزی گرم انجام گرفت. با توجه به اینکه باکتری باسیلوس سرئوس یک باکتری بتاهمولیتیک بوده، نمونه های مثبت آن در اطراف کلنی لیز کامل گلبول‌های قرمز به صورت هاله‌ای شفاف بر روی آگار خون‌دار ایجاد کردند. در رنگ آمیزی گرم، باسیلوس سرئوس به صورت میله‌ای شکل با آرایش تسبیح مانندی اثبات شد و لبه‌های کروی اثبات قطعی باسیلوس سرئوس بود (Ntushelo *et al.*, 2019).

-سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی

تست‌آنتی‌بیوگرام به روش diffusion_Disk انجام گرفت. بعد از تهیه سوسپانسیون میکروبی مطابق با محلول استاندارد ۱/۵ مک‌فارلند، در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و پس از آن دیسک‌های آنتی‌بیوگرام، شامل آمپی‌سیلین (AM)، پنی‌سیلین (PEN)، جنتامایسین (GM)، سولفامتاکساوزل (SXT)، آموکسی‌کلاو(AMC)، تتراسایکلین (TE)، ونکومایسین (Va)، سفازولین (SE) و اولندامایسین (OL) روی محیط کشت قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، با تعیین قطر هاله‌های عدم رشد، میزان مقاومت جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها مشخص گردید (Heidarzadi *et al.*, 2021).

-روش آنالیز آماری

از نرم افزار آماری Spss نسخه ۲۳ و آنالیز آماری کای‌اسکوئر برای آنالیزداده‌ها استفاده شد، همچنین برای آنالیز سنجش مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها از روش نانپارامتریک فریدمن استفاده شد. سطح معنی‌داری ($p<0/05$) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

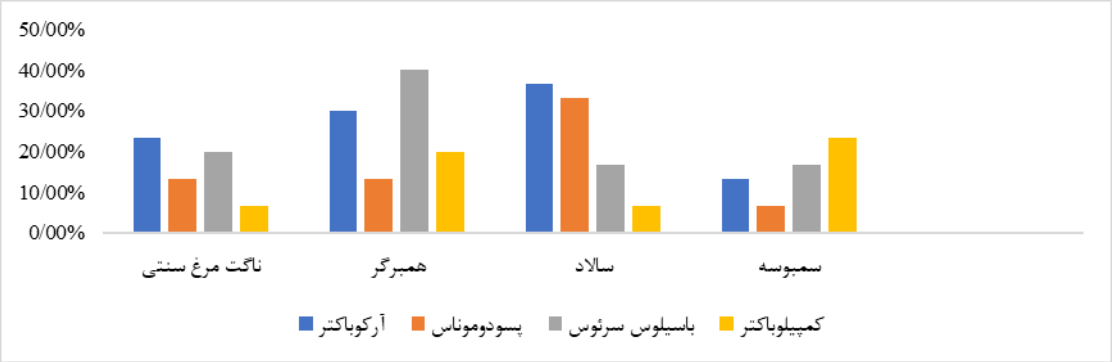
نتایج نشان داد که بیشترین میزان آلودگی در ناگت مرغ سنتی مربوط به *آرکوباکتر*، در همبرگر سنتی مربوط به *باسیلوس سرئوس*، برای سالاد بیشترین آلودگی مربوط به *آرکوباکتر* و در سمبوسه بیشترین آلودگی مربوط به *کمپیلوباکتر* بود. همچنین آنالیزهای آماری نشان داد که تفاوت بین میزان آلودگی در *سودوموناس* برای مواد غذایی از لحاظ آماری معنی‌دار است ($p<0.05$). همانگونه که در جدول (۱) مشخص شده است، در مجموع میزان آلودگی به *آرکوباکتر* ۲۸/۸۳، *سودوموناس* ۱۶/۶۵، *باسیلوس سرئوس* ۲۳/۳۵ و برای *کمپیلوباکتر* ۱۴/۷۵ درصد بوده است که بیشترین و کمترین میزان آلودگی به ترتیب برای *آرکوباکتر* و *کمپیلوباکتر* بوده است.

جدول (۱)- مقایسه درصد آلودگی باکتری‌های مختلف در خوراک‌های مختلف

باکتری / خوراک	آرکوباکتر	سودوموناس	باسیلوس سرئوس	کمپیلوباکتر
ناگت مرغ سنتی	۲۳/۳ درصد	۱۳/۳ درصد	۲۰ درصد	۶/۷ درصد
همبرگر	۳۰ درصد	۱۳/۳ درصد	۴۰ درصد	۲۰ درصد
سالاد	۳۶/۷ درصد	۳۳/۳ درصد	۱۶/۷ درصد	۶/۷ درصد

سمبوسه	۱۳/۳ درصد	۶/۷ درصد	۱۶/۷ درصد	۲۳/۳ درصد
مجموع	۲۸/۳ درصد	۱۶/۶۵ درصد	۲۳/۳۵ درصد	۱۴/۷۵ درصد
سطح معنی‌داری	۰/۲^{ns}	۰/۰۳۴*	۰/۰۹۶^{ns}	۰/۱۲۸^{ns}

ns: تفاوت بین آلودگی خوراک‌های مختلف معنی‌دار نیست. *: تفاوت بین آلودگی خوراک‌های مختلف معنی دار است ($p<0.05$).

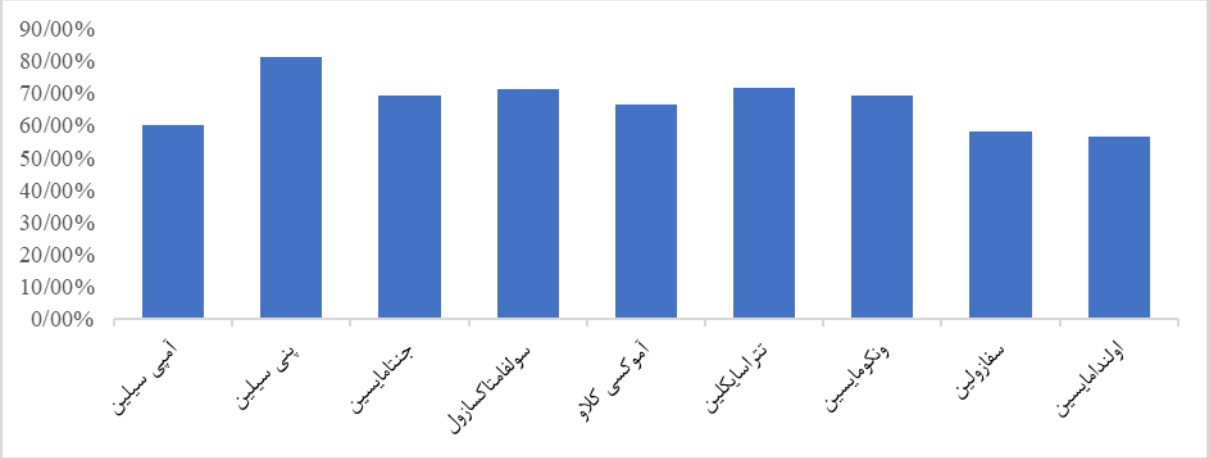


نمودار (۱)- شیوع آلودگی باکتری‌ها در مواد غذایی مختلف

همانگونه که در جدول (۲) مشخص شده است بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها مربوط به باسیلوس سرئوس با ۷۸/۵۶ درصد و کمترین مقاومت مربوط به کمپیلوباکتر با ۵۳/۷ درصد بود. آنالیزهای آماری نشان داد که پنی‌سیلین بیشترین (۸۱/۷۵) و اولندمایسین ۵۷ درصد کمترین میزان مقاومت را داشت.

جدول (۲)- درصد مقاومت آنتی‌بیوتیک جدایه‌ها

	آرکوباکتر	سودوموناس	باسیلوس سرئوس	کمپیلوباکتر	مجموع
آمپی‌سیلین (AM)	۶۰ درصد	۴۴ درصد	۸۰ درصد	۵۹ درصد	۶۰/۷۵ درصد
پنی‌سیلین (PEN)	۹۷ درصد	۹۱ درصد	۸۸ درصد	۵۱ درصد	۸۱/۷۵ درصد
جنتامایسین (GM)	۶۴ درصد	۸۳ درصد	۷۱ درصد	۶۱ درصد	۶۹/۷۵ درصد
سولفامتاکساوزل (SXT)	۸۳ درصد	۵۹ درصد	۹۷ درصد	۴۹ درصد	۷۲ درصد
آموکسی‌کلاو(AMC)	۵۹ درصد	۸۱ درصد	۸۹ درصد	۳۹ درصد	۶۷ درصد
تتراسایکلین (TE)	۸۲ درصد	۸۰ درصد	۷۹ درصد	۴۸ درصد	۷۲/۲۵ درصد
ونکومایسین (Va)	۷۹ درصد	۶۹ درصد	۶۹ درصد	۶۲ درصد	۶۹/۷۵ درصد
سفازولین (SE)	۴۶ درصد	۵۱ درصد	۷۴ درصد	۶۴ درصد	۵۸/۷۵ درصد
اولندامایسین (OL)	۶۱ درصد	۵۶ درصد	۶۰ درصد	۵۱ درصد	۵۷ درصد
مجموع	۷۰/۱ درصد	۶۸/۲۲ درصد	۷۸/۵۶ درصد	۵۳/۷۷	-



نمودار (۲)- میزان مقاومت آنتی‌بیوتیک جدایه‌ها

بحث و نتیجه‌گیری

آنتی‌بیوتیک‌ها مبتنی بر اهداف درمانی انسانی، حیوانی و بهبود رشد درکشاورزی، تولید و به صورت وسیع مورد استفاده قرار می‌گیرند .علی‌رغم تاثیرات مثبت، مقاومت آنتی‌بیوتیکی به یکی از چالش‌های مهم قرن حاضر تبدیل شده است. به عنوان مثال تتراسایکلین و سایر آنتی‌بیوتیک‌های هم‌خانواده آن که به طور گسترده از سال ۱۹۵۰ در درمان عفونت‌های باکتریایی مورد استفاده قرار گرفت از جمله آنتی بیوتیک‌های کاربردی در رژیم درمانی خط دوم در درمان گاستروانتریت ناشی از باکتری‌های گرم منفی می‌باشند، اما مداومت در مصرف گسترده آن‌ها و همچنین در دسترس بودن، از جمله علل افزایش مقاومت باکتری-های گرم‌منفی به تتراسایکلین و خانواده این آنتی‌بیوتیک شده است (Ghotaslou *et al.*, 2015).

در مطالعه‌ای بر روی جداسازی آرکوباکتر در مواد غذایی آماده (RTE)، دریافتند که آرکوباکتر با استفاده از روش‌های شناسایی بیومولکولی در ۴۴/۱۶۰ نمونه (۲۷/۵ درصد) از نمونه‌ها شناسایی شد که از این تعداد ۴۴/۴۴ (۹۰/۹ درصد) جدایه مربوط به A. butzleri و ۴۴/۴ (۹/۱ درصد) به A. cryaerophilus بود (Mottola *et al.*, 2016)، در مطالعه حاضر شیوع آرکوباکتر ۲۳/۳ درصد بود که تاحدودی همسویی دارند. مطالعه‌ای بر روی آلودگی مواد غذایی آماده (RTE) به میکروارگانیسم‌های پاتوژن نشان دادند که برای این منظور ۵۰ بسته از محصولات خوراکی مرغ به عنوان مواد مطالعه استفاده شد. تمامی نمونه‌های مورد آزمایش به کمپیلوباکتر، سالمونلا و آرکوباکتر منفی بودند. گونه لیستریا از ۱۲ نمونه (۲۴ درصد) از نمونه‌های مورد بررسی جداسازی شد. از بین گونه های لیستریا جدا شده، ۹ گونه به عنوان L. monocytogenes، ۲ گونه L. innocua و یک گونه L.welimeri شناسایی شدند. تمام ایزوله‌ها به آنتی بیوتیک‌های آزمایش شده حساس بودند (Abay *et al.*, 2017). در مطالعه حاضر میزان آلودگی به کمپیلوباکتر ۱۴/۷۵ درصد بود که بسیار بیشتر از مطالعه نامبرده می‌باشد.

در تحقیقی بر روی شیوع آرکوباکتر در موادغذایی، در مجموع ۹۱ فرآورده غذایی با منشاء حیوانی (۴۱ گوشت، ۱۷ شیر تازه، ۱۸ صدف) و ۱۵ نمونه سبزیجات تازه به روش کشت مورد بررسی قرار گرفتند و با روش‌های آنالیز بیوشیمیایی و PCR مورد ارزیابی قرار گرفتند. در ۱۳ نمونه (۱۴/۳درصد) از ۹۱ نمونه به آرکوباکتر مثبت بودند. بیشترین میزان شیوع در گوشت مرغ (۸/۸ درصد) و پس از آن صدف (۳/۳ درصد) مشاهده شد. نتایج منفی برای نمونه‌های شیر خام و سبزیجات به دست آمد (Di Noto *et al*., 2018). در مطالعه حاضر ۲۸/۳ درصد از مواد غذایی آزمایش شده به آرکوباکتر آلوده بودند که متفاوت از نتایج نامبرده می‌باشد.

در تحقیقی که بر روی آلودگی غذاهای RTE به باسیلوس سرئوس انجام شد نتایج نشان داد که از مجموع ۸۶۰ نمونه ۳۰۲ نمونه (۳۵ درصد) به باسیلوس سرئوس آلوده بودند (Yu *et al*., 2020). در مطالعه حاضر ۲۳/۳۵ درصد به باسیلوس سرئوس آلودگی وجود داشت که اختلاف بالایی بین مطالعات وجود دارد. نتایج مطالعه‌ای با هدف بررسی شیوع ژن توکسین سویه های *B. cereus* جدا شده از غذاهای RTE نشان داد که ۷۰ مورد از ۱۴۵ (۴۸ درصد) نمونه از مواد غذایی نمونه‌گیری شده به باسیلوس سرئوس آلوده بودند (Chon *et al*., 2015). ۲۳/۳۵ درصد باسیلوس سرئوس در مطالعه حاضر از مواد غذایی جداشد که بالاتر از مطالعه Chon می‌باشد.

در تحقیقی بر روی جداسازی باسیلوس سرئوس در مواد غذایی RTE دریافتند که در مجموع ۳۴۷ سویه B. Cereus از ۶۸۷ نمونه (۵۰/۵ درصد) غذای RTE جدا و شناسایی شد. در این مطالعه نشان داده شد که همه جدایه‌ها دارای یک یا چند ژن انتروتوکسین بودند و نیمی از سویه‌ها دارای هر ۳ ژن انتروتوکسین (hbl، nhe و cytK) بودند که در مسمومیت غذایی در انسان نقش دارند (Hwang and Park, 2015)، در این تحقیق بیشترین آلودگی باسیلوس سرئوس مربوط به سالادهای سرو شده در ساندویچی‌ها بود که شیوع آن ۳۳/۳ درصد بود. در مطالعه‌ای بر روی شیوع آلودگی به غذاهای خیابانی در مجموع ۱۴۸ نمونه غذای خیابانی دریافتند که ۶۵ درصد آلودگی به باسیلوس سرئوس وجود داشت. نتایج آزمایش نشان داد که ۵۹/۶ درصد از جدایه های B. Cereus دارای انتروتوکسیژنیک بودند. (Murindamombe *et al*., 2005) که متفاوت‌تر از مطالعه حاضر است. در این تحقیق شیوع آلودگی به باسیلوس سرئوس در مواد غذایی ۲۳/۳۵ درصد می‌باشد.

در یک تحقیق بر روی آلودگی غذاهای خیابانی در برزیل مشخص شد که ۳۵ درصد نمونه‌ها دارای آلودگی به *باسیلوس سرئوس* بودند (Hanashiro *et al*., 2005). در تحقیقی در تایلند بر روی میزان شیوع باکتری‌های پاتوژن در مواد غذایی خیابانی دریافتند که از مجموع ۲۰۰ نمونه یک نمونه آلودگی به سالمونلا، ۳۱ نمونه (۱۵/۵ درصد) کمپیلوباکتر و ۴۲ نمونه (۲۱ درصد) به آرکوباکتر آلودگی مثبت وجود داشت (Vindigni *et al*., 2007)، در این مطالعه میزان آلودگی به کمپیلوباکتر ۱۴/۷۵ درصد بود که ارتباط معنی‌داری بین آن‌ها وجود دارد، اما شیوع آرکوباکتر در این مطالعه ۲۸/۳ بود که تا حدودی از لحاظ درصد آلودگی مطابقت وجود دارد.

در مطالعه‌ای بر روی آلودگی باکتریایی سالادهای عرضه شده در رستوران‌ها و مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها، نشان داد که باسیلوس سرئوس ۵/۱ درصد، سودوموناس ۵/۱ درصد و پروتئوس ولگاریس ۲/۷ درصد آلودگی داشتند. همچنین دریافتند که تمام ایزوله ها کاملاً (۱۰۰ درصد) به آمپی‌سیلین و اگزاسیلین، جنتامایسین مقاومت داشتند. علاوه بر این سیپروفلوکساسین (۶۹/۲ درصد)، سفوتاکسیم (۵۱/۳ درصد)، تتراسایکلین (۴۳/۶ درصد) مقاوم بودند، در حالی که ایزوله‌ها کمترین فراوانی را نسبت به سفتازیدیم (۴۱ درصد) داشتند (Odewale *et al.*, 2023)، در مطالعه حاضر شیوع باسیلوس سرئوس و سودوموناس‌ها سالادها به ترتیب برابر با ۳۳/۳ و ۱۶/۷ درصد بود که بیشتر از مطالعه نامبرده می‌باشد. در خصوص مقاومت آنتی‌بیوتیکی، به ترتیب آمپی‌سیلین و جنتامایسین ۶۰/۷۵ درصد و ۶۵/۷۵ درصد تتراسایکلین ۷۵/۲۵ درصد مقاومت داشت که بالاتر می‌باشد. تحقیق Jain و Aras بر روی شیوع آلودگی در مواد غذایی خیابانی (۲۰۰۷) نشان دادند که ۱۳ درصد به سودوموناس آلودگی وجود داشته (Jain and Aras, 2007) که با تحقیق حاضر تا حدودی مطابق است. در این مطالعه میزان آلودگی به سودوموناس در غذاهای عرضه شده در خیابان ۱۶/۶۵ درصد بود.

مطالعه‌ای بر روی آلودگی غذاهای خیابانی به میکروارگانیسم‌های مختلف (۲۰۱۳) نشان داد که میزان آلودگی برای باسیلوس سرئوس ۳۵ و سودوموناس ۱۰ درصد بود (Tabashsum *et al.*, 2013) که متفاوت‌تر از مطالعه حاضر می‌باشد. نتایج تحقیقی بر روی سمبوسه‌های سیستان و بلوچستان نشان داد که بیشترین میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به آمپی‌سیلین و تتراسایکلین بود (Heidarzadi *et al.*, 2021)، که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر متفاوت می‌باشد.

میکروارگانیسم‌های پاتوژن براحتی می‌توانند توسط مواد غذایی عرضه شده در خیابان‌ها به مواد غذایی راه یافته و در صورت عدم طبخ مناسب در مواد غذایی زنده بمانند و مخاطراتی را برای مصرف‌کنندگان به همراه داشته باشند. وجود آلودگی بالای مواد غذایی خیابانی می‌تواند به یکی از منابع بالقوه و از مخازن باکتری‌هایی همچون آرکوباکتر شناخته شود؛ در این زمینه مطالعات انجام شده در ایران بر روی آلودگی مواد غذایی طبخ شده به باکتری همچون آرکوباکتر بسیار محدود است، لذا توصیه می‌شود مصرف‌کنندگان چنین غذاهایی از منابع مطمعن، نسبت به تهیه غذای خود اقدام کنند. همچنین امروزه بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها کارائی خود را از دست داده‌اند چرا که میکروارگانیسم-ها با اکتساب و یا ایجاد ژن‌های مقاوم در برابر آنتی-بیوتیک‌ها، مقاومت را از نسلی به نسل دیگر یا از یک گونه میکروبی به گونه دیگر انتقال می‌دهند. با توجه به موارد ذکر شده افزایش ورود و تجمع آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط باعث جایگزینی باکتری مقاوم با میکروفلور طبیعی در محیط شده است. تماس انسانی با منابع باکتریایی سبب انتقال مقاومت به میکروفلور طبیعی بدن انسان‌ها شده است و افزایش سریع مقاومت نسبت به این باکتری‌ها به دغدغه جدی جهانی تبدیل شده است. مطابق نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر، شیوع بالای مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌تواند نشان‌دهنده‌ی عدم کفایت این آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان موارد ابتلاء به این باکتری‌ها باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از کلیه همکاران گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که نهایت همکاری را در انجام این پروژه را داشتند تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع

نویسندگان تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Abay, S., Irkin, R., Aydin, F., Müştak, H.K., Diker, K.S. (2017). The prevalence of major foodborne pathogens in ready-to-eat chicken meat samples sold in retail markets in Turkey and the molecular characterization of the recovered isolates. LWT-Food Science and Technology, 81(2): 202-209.
- Abdul-Mutalib, N., Syafinaz, A., Sakai, K., Shirai, Y. (2015). An overview of foodborne illness and food safety in Malaysia. International Food Research Journal, 22 (3): 896-901.
- Chon, J.-W., Yim, J.-H., Kim, H.-S., Kim, D.-H., Kim, H, et al., (2015). Quantitative prevalence and toxin gene profile of Bacillus cereus from ready-to-eat vegetables in South Korea. Foodborne Pathogens and Disease, 12 (1): 795-799.
- Cossettini, A., Vidic, J., Maifreni, M., Marino, M., Pinamonti, D., Manzano, M. (2022). Rapid detection of Listeria monocytogenes, Salmonella, Campylobacter spp., and Escherichia coli in food using biosensors. Food Control, 137 (4): 108962.
- Di Noto, A.M., Sciortino, S., Cardamone, C., Ciravolo, C., Napoli, C., Alio ,V., *et al.*, (2018). Detection of Arcobacter spp. in food products collected from Sicilia region: A preliminary study. Italian Journal of Food Safety, 7 (3): 72-75
- Elmanama, A.A., Albayoumi, M.A. (2016). High prevalence of antibiotic residues among broiler chickens in gaza strip. Food and Public Health, 6(4): 93-98.
- Ferreira, S., Oleastro, M., Domingues, F. (2019). Current insights on Arcobacter butzleri in food chain. Current Opinion in Food Science, 26 (1): 9-17.
- Ghotaslou, R., Leylabadlo, H.E., Asl, Y.M. (2015). Prevalence of antibiotic resistance in Helicobacter pylori: A recent literature review. World Journal of Methodology, 5 (4): 164- 171.
- Hakeem, M.J., Lu, X. (2021). Survival and control of Campylobacter in poultry production environment. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 10(5): 615-449.
- Hanashiro, A., Morita, M., Matté, G.R., Matté, M.H., Torres, E.A. (2005). Microbiological quality of selected street foods from a restricted area of Sao Paulo city, Brazil. Food control, 16(7): 439-444.
- Heidarzadi, M., Rahnama, M., Alipoureskandani, M., Saadati, D., Afsharimoghadam, A. (2021). Salmonella and Escherichia coli contamination in samosas presented in Sistan and Baluchestan province and antibiotic resistance of isolates. Food Hygiene, 11(2): 81-90.[In Persian]
- Hwang, J-.Y., Park, J.-H. (2015). Characteristics of enterotoxin distribution, hemolysis, lecithinase, and starch hydrolysis of Bacillus cereus isolated from infant formulas and ready-to-eat foods. Journal of Dairy Science, 98(3): 1652-1660.
- Ishola, O., Mosugu, J., Adesokan, H. (2016). Prevalence and antibiotic susceptibility profiles of Listeria monocytogenes contamination of chicken flocks and meat in Oyo State, south-western Nigeria: Public health implications. Journal of Preventive Medicine and Hygiene, 57(2): 157-163
- Jain, R., Aras, R. (2007). Depression in geriatric population in urban slums of Mumbai. Indian Journal of Public Health, 51(4): 112-113.

- Lupo, A., Haenni, M., Madec, J.-Y. (2018). Antimicrobial resistance in Acinetobacter spp. and Pseudomonas spp. Microbiology Spectrum, 6(3): 63- 73.
- Mottola, A., Bonerba, E., Bozzo, G., Marchetti, P., Celano, G.V., Colao, *et al.*, (2016). Occurrence of emerging food-borne pathogenic Arcobacter spp. isolated from pre-cut (ready-to-eat) vegetables. International Journal of Food Microbiology, 236(2): 33-37.
- Murindamombe, G.Y., Collison, E.K., Mpuchane, S.F., Gashe, B.A. (2005). Presence of Bacillus cereus in street foods in Gaborone, Botswana. Journal of Food Protection, 68(5): 342-346.
- Nguyen, P.T., Juarez, O., Restaino, L. (2021). A new method for detection of Arcobacter butzleri, Arcobacter cryaerophilus, and Arcobacter skirrowii using a novel chromogenic agar. Journal of Food Protection, 84(3): 160-168.
- Nonato, I.L., Minussi, L.d.A., Pascoal, G.B ,.De-Souza, D.A. (2016). Nutritional issues concerning street foods. Journal of Clinical Nutrition Diet, 2(1): 1-7.
- Ntushelo, K., Ledwaba, L.K., Rauwane, M.E., Adebo, O.A., Njobeh, P.B. (2019). The mode of action of Bacillus species against Fusarium graminearum, tools for investigation, and future prospects. Toxins, 11(5): 606-614.
- Odewale, G., Jibola-Shittu, M.Y., Omosule, N.S., Esan, T.B. (2023). Multidrug resistant bacteria associated with a fresh fruit and vegetables sold in Lokoja market, Kogi State, Nigeria. Microbes and Infectious Diseases, 12(3): 115-125.
- Pinu, F.R. (2016). Early detection of food pathogens and food spoilage microorganisms: Application of metabolomics. Trends in Food Science & Technology, 54(5): 213-215.
- Ramarao, N., Tran, S.-L., Marin, M., Vidic, J. (2020). Advanced methods for detection of Bacillus cereus and its pathogenic factors. Sensors, 20(9): 1-23.
- Sansinenea, E. (2019). Bacillus spp.: As plant growth-promoting bacteria. Secondary metabolites of plant growth promoting rhizomicroorganisms: Discovery and Applications, 225-237.
- Tabashsum, Z., Khalil, I., Nazimuddin, M., Mollah, A., Inatsu, Y., Bari, M.L. (2013). Prevalence of foodborne pathogens and spoilage microorganisms and their drug resistant status in different street foods of Dhaka city. Agriculture Food and Analytical Bacteriology, 3(4): 281-292.
- Vindigni, S.M., Srijan, A., Wongstitwilairoong, B., Marcus, R., Meek, J., Riley, P.L., *et al*., (2007). Prevalence of foodborne microorganisms in retail foods in Thailand. Foodborne Pathogens and Disease, 4(5): 208-215.
- Yu, S., Yu, P., Wang, J ,.Li, C., Guo, H., Liu, *et al*., (2020). A study on prevalence and characterization of Bacillus cereus in ready-to-eat foods in China. Frontiers in Microbiology, 10(1): 1-23.
- Zhuang, L., Li, Y., Wang, Z., Yu, Y., Zhang, N., Yang, C., *et al.*, (2021). Synthetic community with six Pseudomonas strains screened from garlic rhizosphere microbiome promotes plant growth. Microbial Biotechnology, 14(2): 488-502.