

“Research article”

DOI: 10.30495/JFH.2023.1993402.1415

Investigating the prevalence, genetic diversity, and antibiotic resistance of *Clostridium difficile* in local and industrial chicken and turkey meat in sales centers of Chaharmahal and Bakhtiari province

Ansarian, A.¹, Shakrian, A.^{1*}, Rahimi, E.¹, Esfandiari, Z.²

1. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
2. Nutrition and Food Security Research Center, Department of Food Science and Industry, Faculty of Nutrition and Food Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

*Corresponding author: amshakerian@yahoo.com

(Received: 2023/9/2 Accepted: 2023/11/11)

Abstract

Clostridium difficile is the most important enteropathogenic species in humans and livestock. The purpose of this study was to investigate the prevalence, genetic diversity, and antibiotic resistance of *C. difficile* bacteria as a possible new foodborne pathogen in 300 domestic and industrial chicken and turkey meat samples in Chaharmahal and Bakhtiari provinces. The samples were grown in CDMN agar culture medium after an enrichment step to isolate *C. difficile*. To determine the characteristics of the toxin, *tcdA* and *tcdB* genes were identified through multiplex PCR. The antibiotic sensitivity of these isolates was monitored based on the MIC test. The results showed that the highest prevalence was related to native chicken meat (5.6%) and the lowest prevalence was related to industrial turkey meat (1%). The genes responsible for the production of *tcdB* and *tcdA* toxins were observed in all *C. difficile* isolates. Also, the highest resistance was related to erythromycin (11.85%) and the lowest resistance was found for vancomycin (97.38%). According to the isolation of two main genes causing hospital infection in clinical environments in the present study, the establishment of health systems for the storage of the studied meats is necessary.

Conflict of interest: None declared.

Key Words: *Clostridium Difficile*, Genetic Variation, Antibiotic Resistance, Poultry Meat

(مقاله پژوهشی)

DOI: 10.30495/JFH.2023.1993402.1415

بررسی شیوع، تنوع ژنتیکی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی کلستریدیوم دیفیسیل در گوشت مرغ و بوقلمون بومی و صنعتی مراکز فروش استان چهارمحال و بختیاری

اکبر انصاریان^۱، امیر شاکریان^{۱*}، ابراهیم رحیمی^۱، زهرا اسفندیاری^۲

۱- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲- مرکز تحقیقات تغذیه و امنیت غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان،

اصفهان، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: Amshakerian@Yahoo.Com

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۶/۱۱ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۸/۲۰)

چکیده

کلستریدیوم دیفیسیل باکتری بی‌هوای اجباری، اسپورساز با طول ۵-۳ میکرومتر و یکی از انتروپاتوژن‌های مهم در انسان و دام است. مصرف آنتی‌بیوتیک به‌عنوان مهم‌ترین عوامل خطر در شیوع این بیماری معرفی شده است. هدف از این مطالعه، بررسی شیوع، مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تنوع ژنتیکی باکتری کلستریدیوم دیفیسیل به‌عنوان پاتوژن غذازاد احتمالی جدید در ۳۰۰ نمونه گوشت مرغ و بوقلمون بومی و صنعتی در استان چهارمحال و بختیاری بود. نمونه‌ها جهت جداسازی کلستریدیوم دیفیسیل در محیط کشت کلستریدیوم دیفیسیل موکسالاکتام نورفلوکساسین آگار پس از یک مرحله غنی‌سازی رشد کردند. برای تعیین مشخصات توکسین، ژن‌های *tcdA* و *tcdB* از طریق *Multiplex PCR* شناسایی شدند. حساسیت آنتی‌بیوتیکی این جدایه‌ها بر اساس آزمون MIC تعیین شد. نتایج نشان داد که بیشترین شیوع مربوط به گوشت مرغ بومی (۵/۶ درصد) و کمترین شیوع، مربوط به گوشت بوقلمون صنعتی (۱ درصد) بود. ژن‌های مسئول تولید سموم *tcdA* و *tcdB* در کلیه ایزوله‌های کلستریدیوم دیفیسیل مشاهده گردید. همچنین بیشترین مقاومت مربوط به اریترومایسین (۱۱/۸۵ درصد) و کمترین مقاومت مربوط به ونکومایسین (۹۷/۳۸ درصد) بود. باتوجه به جداسازی دو ژن اصلی ایجاد کننده عفونت بیمارستانی در محیط‌های بالینی در مطالعه حاضر، استقرار سیستم‌های بهداشتی در ارتباط با نگهداری گوشت‌های مورد مطالعه ضروری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کلستریدیوم دیفیسیل، تنوع ژنتیکی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، گوشت طیور، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

مقدمه

تتراسایکلین‌ها، سولفاسالازین، میکونازول و کلرامفنیکل نیز وجود دارد (World Health Organization, 2000). فلور گوارشی در موجودات زنده یک محافظ طبیعی و تدافعی بر علیه پاتوژن‌ها محسوب می‌شود. با مصرف آنتی‌بیوتیک و نابودی ساختار طبیعی فلور گوارشی، شرایط جهت تجمع کلستریدیوم دیفیسیل در این بخش، تبدیل اسپور به فرم رویشی و در نهایت تولید توکسین فراهم می‌گردد. در نتیجه، فرضیه‌هایی در خصوص شیوع عفونت کلستریدیوم دیفیسیل در جامعه به دلیل انتقال احتمالی به انسان از منابعی غیر از بیمارستان‌ها مطرح شده است. به طوری که این باکتری به عنوان عامل بیماری مشترک بین انسان و دام یا منتقله از غذا نیز مطرح شده است (Esfandiari et al., 2014).

گوشت طیور و پرندگان از ارزش غذایی بالایی برخوردار است و به عنوان یکی از منابع اصلی پروتئین در دنیا مطرح است. باین حال، اختلالات روده ناشی از کلستریدیوم‌ها، اثرات مخرب زیادی را بر پرورش طیور در مزارع و خطوط آماده‌سازی و تولید در کشتارگاه و مصرف‌کنندگان می‌تواند داشته باشد (Heise et al., 2021). لذا مطالعه حاضر باهدف تعیین میزان آلودگی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی و تنوع ژنتیکی باکتری کلستریدیوم دیفیسیل در گوشت مرغ و بوقلمون بومی و صنعتی انجام شده است.

مواد و روش کار

مطالعه حاضر از نوع مقطعی -توصیفی بوده و نمونه‌برداری به صورت تصادفی ساده می‌باشد. جامعه آماری آن نمونه‌های گوشت جمع‌آوری شده از مراکز فروش سنتی و صنعتی می‌باشد. در مجموع ۳۰۰ نمونه

کلستریدیوم دیفیسیل باکتری گرم مثبت، بی‌هوازی اجباری و تشکیل‌دهنده اسپور با طول ۵-۳ میکرومتر است که در حال حاضر به عنوان یک پاتوژن مهم انسانی معرفی شده است (Lawson, et al, 2016). این باکتری در ابتدا در سال ۱۹۷۸ به عنوان عامل اصلی اسهال ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک و عامل تقریباً تمامی بیماری‌های کولیت با غشای کاذب معرفی شد و نقش آن در مرگ و میر بیماران به ویژه در افراد مسن معرفی گردید (Weese, 2010). گزارشات پراکنده‌ای از "عفونت بیمارستانی کلستریدیوم دیفیسیل" در انسان به ویژه در محیط‌های درمانی در دهه ۷۰ میلادی وجود دارد؛ اما از دهه ۹۰ میلادی تا به حال، شدت شیوع این عفونت تا حدود بیش از دو برابر رو به افزایش بوده است (Waqas, et al, 2022). علاوه بر این آمار مربوط به مرگ و میر مرتبط با مصرف دارو در آمریکا نشان می‌دهد که در بین بیماری‌های مرتبط با اتیولوژی دارو، انتروکولیت کلستریدیوم دیفیسیل ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک، بیشترین درصد مرگ و میر را به خود اختصاص می‌دهد و مصرف آنتی‌بیوتیک به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل خطر در شیوع این بیماری معرفی شده است (Freeman and Wilcox, 1999). کلیندامایسین، لینکومایسین، پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، سفالوسپورین‌ها و فلوروکینولون‌ها از جمله آنتی‌بیوتیک‌هایی هستند که در بروز "عفونت بیمارستانی کلستریدیوم دیفیسیل" نقش دارند. گزارشات نادری از بروز اسهال یا کولیت ناشی از کلستریدیوم دیفیسیل با مصرف آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و سولفات متوکسازول - تری متوپریم (کوتریموکسازول)،

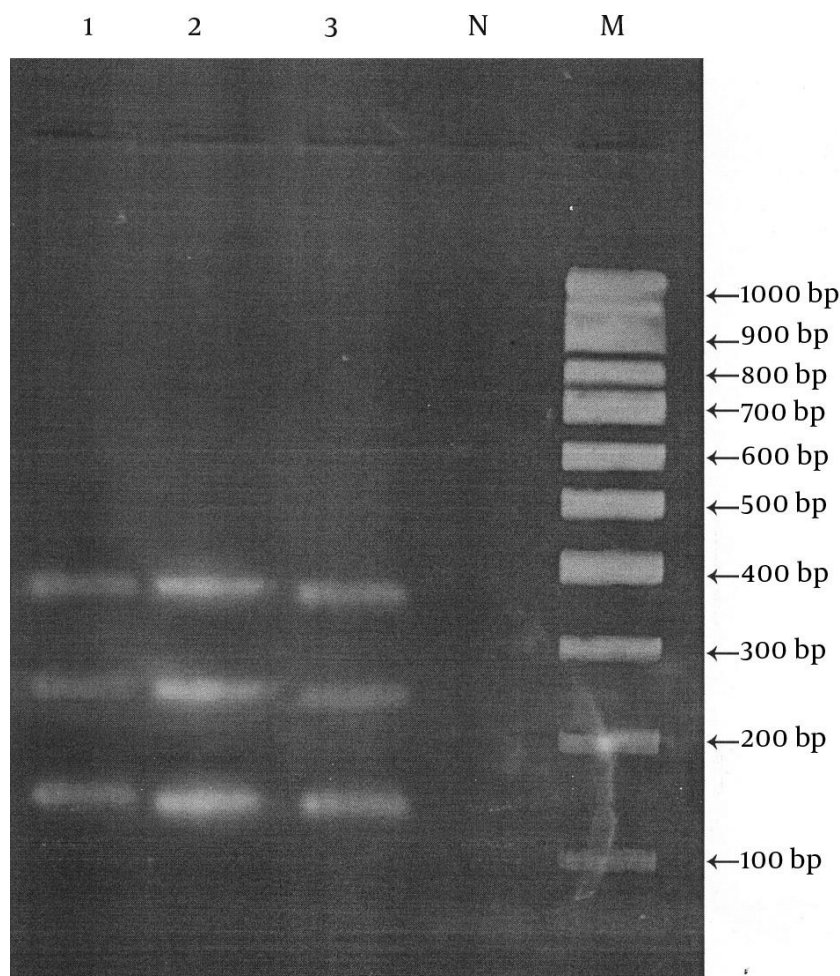
شامل انواع گوشت مرغ بومی و صنعتی (از هر کدام ۸۰ نمونه) و گوشت بوقلمون بومی و صنعتی (از هر کدام ۷۰ نمونه) از مناطق مختلف در طول چهار فصل (۱۳۹۹-۱۴۰۰) از مناطق مختلف جمع‌آوری و در کنار یخ به آزمایشگاه کنترل کیفیت دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد منتقل و مورد آزمایش قرار گرفتند. حدود ۵ گرم از هر نمونه در ۲۵ میلی لیتر محیط کشت کستریدیوم دیفیسیل موکسالاکتام نورفلوکساسین کشت داده شد. این محیط کشت شامل پروتوز پیتون ۴۰ گرم بر لیتر، فسفات هیدروژن دی سدیم ۵۰ گرم بر لیتر، سولفات منیزیم ۰/۱ گرم بر لیتر، کلرید سدیم ۲ گرم بر لیتر، فروکتوز ۶ گرم بر لیتر و توروکولات سدیم ۱ گرم بر لیتر با مکمل‌های: هیدرو کلرید سیستین ۵۰۰ میلی گرم، ۱۲ میلی گرم نورفلوکساسین و ۳۵ میلی گرم موکسالاکتام می باشد. این ترکیب برای ۵-۷ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در شرایط بی هوازی قرار گرفت. پس از آن، ۲ میلی لیتر کشت غنی شده به ۲ میلی لیتر اتانول ۹۸ درصد اضافه شد و به مدت ۲ ساعت نگهداری شد. سپس در دمای اتاق، لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ ۳۰۰۰ دور بر دقیقه قرار گرفتند. رسوب حاصل شده بر روی محیط کشت کستریدیوم دیفیسیل موکسالاکتام نورفلوکساسین آگار حاوی ۷ درصد خون گوسفند کشت شد. سپس در شرایط بی هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند. پرگنه‌های مشکوک به کستریدیوم دیفیسیل روی محیط کشت بلاد آگار کشت و انکوبه شدند که در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت در شرایط بی هوازی انجام گرفت. تشخیص بیوشیمیایی از روی شکل، بوی مدفوع اسب، رنگ

آمیزی گرم بر روی پرگنه‌های مثبت انجام شد. آماده سازی DNA برای آزمایش PCR با داشتن پرگنه تازه و انتقال آن به ۱ میلی لیتر آب دیونیزه استریل در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه انجام شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۱۰۰ سانتریفیوژ شد. حجم ۱۰ میکرولیتر سوپرناتانت برای آزمایش‌های PCR به کار گرفته شد. در این مطالعه، ژن ایزومر از تری فسفات برای تایید باکتری کستریدیوم دیفیسیل و دو ژن *tcdA* و *tcdB* به علت اینکه عامل عفونت کستریدیوم دیفیسیل هستند با واکنش پلیمرز چند تایی بررسی شد. همه مواد مورد استفاده برای واکنش PCR از شرکت سیناژن تامین شد. واکنش PCR با حجم ۲۵ میکرولیتر که شامل ترکیبی از: ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰ X PCR-، ۳ میکرولیتر کلرید منیزیم ۵۰ میلی مولار، ۲ میکرولیتر دی اکسی نوکلئوتید تری فسفات ۱۰ میلی مولار، ۰/۵ واحد آنزیم تک DNA پلی‌مراز، ۱ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای *tcdA* و *tcdB*، ۰/۵ میکرو لیتر از آغازگر ایزومر تری فسفات و ۵ میکرو لیتر DNA الگو انجام شد. (شکل ۱). چرخه حرارتی مورد استفاده به ترتیب واسرشتگی به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد دناتوره شد. تقویت در طول ۳۰ ثانیه در طی ۱۱ مرحله از دمای ۵۵ به ۶۵ درجه سانتی‌گراد صورت پذیرفت. سپس در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و ۴۰ بار تقویت در دستگاه ترموسایکلر هلند (T-cY) صورت گرفت. برای تشخیص ژن‌های *tcdA* و *tcdB* با روش واکنش PCR با تکنیک چندگانه در آزمایشگاه مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد بر اساس روش لمی و همکاران (Lemee L, et al 2004) انجام گرفت شدت

وضوح باندها، تحت اثر اشعه فرابنفش و با استفاده از دستگاه ترانسلومیناتور بررسی شد. آغازگرهای مورد استفاده برای باکتری کلستریدیوم دیفیسیل از شرکت متابیون تهیه و در جدول شماره ۱ نشان داده شده است (Muratoglu *et al.*, 2020).

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

منبع	اندازه محصول بر حسب جفت بازی	سکانس آغازگر	ژن هدف
Lemee L, et al 2004	۳۶۹	F [5'-AGATTCCTATATTTACATGACAATAT-3'] R [5'-GTATCAGGCATAAAAGTAATATACTTT-3']	<i>tcdA</i>
Lemee L, et al 2004	۱۶۰	F [5'-GGAAAAGAGAATGGTTTTATTAA-3'] R [5'-TCTTTAGTTATAAAGTTGACATCTTT-3']	<i>tcdB</i>



شکل ۱- ژل حاصل از الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

خط M، نشانگر ۱۰۰-۱۰۰۰ جفت باز. خط N، کنترل منفی؛ خط ۱ و ۳، قطعات *tcdA* و *tcdB* از *C. difficile* جدا شده در نمونه‌ها

(حداقل غلظت مهارکنندگی) مطابق روش ارائه شده توسط CLSI توسط Harvey و همکاران در سال

تفسیر نتایج تست سنجش حساسیت آنتی‌بیوتیکی براساس *Minimum inhibitory concentration: MIC*

یافته‌ها

با بررسی مرفولوژیکی پرگنه بدست آمده که دارای رنگ سفید یا خاکستری، کدر، گرد و کمی برآمده بود، ۴۰ نمونه مثبت (۱۳/۳ درصد) گزارش شد. گوشت مرغ بومی ۱۷ (۵/۶ درصد)، گوشت مرغ صنعتی ۱۳ (۴/۳ درصد)، گوشت بوقلمون بومی ۷ (۲/۳ درصد) و گوشت بوقلمون صنعتی ۳ (۱ درصد) نمونه آلوده به کلستریدیوم دیفیسیل بودند. جهت تشخیص قطعی با استفاده از تست بر پایه واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و با ارزیابی نمونه‌های مثبت با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز چندگانه، ۵ و ۶ نمونه بترتیب دارای ژن‌های *tcdA* و *tcdB* بودند (جدول ۱). بر اساس نتایج آنتی بیوگرام بدست آمده در مجموع بیشترین مقاومت مربوط به اریترومایسین (۱۱/۸۵ درصد) و کمترین مقاومت مربوط به ونکومایسین (۹۷/۳۸ درصد) بود (جدول ۲).

۲۰۱۱ انجام شده است. دیسک‌های آنتی‌بیوگرامی از شرکت پادتن طب جهت مطالعه تهیه گردید. قطر هاله عدم رشد پس از ۴۸ ساعت گرم‌خانه گذاری و ۳۷ درجه سلسیوس قرائت و تفسیر شد. دامنه (حداقل غلظت مهارکنندگی بر اساس میلی‌گرم) برای هر یک از آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت حساس و مقاوم بیان شد. (Hussain et al., 2016). در تست مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این مطالعه زمانی که غلظت آنتی‌بیوتیک تا بیش از ۷۰ درصد رشد کلستریدیوم دیفیسیل را مهار کند را حساس و زمانی که غلظت آنتی‌بیوتیک کمتر از ۳۰ درصد رشد کلستریدیوم دیفیسیل را مهار می‌کند مقاوم تعریف می‌شود.

جدول (۱): بررسی آلودگی و تنوع ژنتیکی سویه‌های کلستریدیوم دیفیسیل در گوشت مرغ و بوقلمون بومی و صنعتی

تعداد ایزوله‌های توکسیژنیک	تعداد (درصد) آلودگی بر اساس واکنش زنجیره‌ای پلیمرز	تعداد (درصد) آلودگی		تعداد نمونه	نوع نمونه
		بر اساس تشخیص فنوتیپی	بر اساس تشخیص		
<i>tcdB</i>	<i>tcdA</i>				
۲+	۲+	۱۷ (۵/۶)	۱۷ (۵/۶)	۸۰	مرغ بومی
۲+	۱+	۱۳ (۴/۳)	۱۳ (۴/۳)	۸۰	مرغ صنعتی
۱+	۱+	۷ (۲/۳)	۷ (۲/۳)	۷۰	بوقلمون بومی
۱+	۱+	۳ (۱٪)	۳ (۱٪)	۷۰	بوقلمون صنعتی
۶	۵	۴۰	۴۰ (۱۳/۳)	۳۰۰	مجموع

جدول (۲): میزان مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های سویه‌های کلستریدیوم دیفیسیل در گوشت مرغ و بوقلمون بومی و صنعتی

آنتی‌بیوتیک	دامنه (حداقل غلظت مهارکنندگی بر اساس میلی گرم)	غلظت آنتی‌بیوتیک (میلی گرم)	مقاومت (میلی گرم)	درصد حساسیت (میلی گرم)
آموکسی سیلین	۱-۱۰	۷	نیمه مقاوم	۱۵/۲
اریترومایسین	۵-۲۵	۵	مقاوم	۱۱/۸۵
لینکومایسین	۶-۶۴	۵۸	نیمه مقاوم	۲۶/۱
کلیندامایسین	۱-۱۶	۲	مقاوم	۱۴/۲۵
لینوزولید	۱-۱۰	۷	نیمه مقاوم	۴۴/۶
مروپنم	۵-۲۵	۲۰	نیمه مقاوم	۶۵/۸
مترونیدازول	۸۰-۱۲۵	۱۱۰	حساس	۴۹/۹۸
موکسی فلوکساسین	۱-۱۰	۵	نیمه مقاوم	۳۴/۲
پنی سیلین	۱-۱۰	۶	نیمه مقاوم	۷۱/۸
پیراسیلین	۱-۲۵	۱۳	نیمه مقاوم	۵۵/۹
تتراسیکلین	۵-۳۰	۲۲	نیمه مقاوم	۲۷/۲۵
ونکومایسین	۰-۴/۲۵	۴	حساس	۹۷/۳۸

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه انجام گرفته در سال ۲۰۲۰ در زیمباوه بر روی گوشت جوجه‌های بومی و مدفوع مشخص گردید که گوشت مرغ و مدفوع این حیوان آلوده به کلستریدیوم دیفیسیل بودند (Simang, 2006). مطالعات دیگری نشان می‌دهد که در گوشت آلوده به کلستریدیوم دیفیسیل در مرغ، کمترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به مترونیدازول و تتراسیکلین و بیشترین مقاومت به سفکسیم می‌باشد. (Bingol et al., 2020). همچنین دام‌هایی که در تماس مستقیم با انسان بودند و به روش سنتی نگهداری می‌شدند سویه‌های جداسازی شده کلستریدیوم دیفیسیل در گوشت، دارای کمترین حساسیت به مترونیدازول و ونکومایسین و بالاترین مقاومت به آمپی‌سیلین را نشان می‌دهد. (Bakri, 2018). بنابراین در رابطه با مطالعه حاضر می‌توان استنباط کرد که شیوع کلستریدیوم دیفیسیل در

مطالعه حاضر به بررسی شیوع، تنوع ژنتیکی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های کلستریدیوم دیفیسیل در گوشت مرغ و بوقلمون بومی و صنعتی منطقه چهار محال و بختیاری در کشور ایران پرداخته است. در این مطالعه، بیشترین و کمترین فراوانی کلستریدیوم دیفیسیل به ترتیب به گوشت مرغ بومی و بوقلمون صنعتی اختصاص داشت. در کل نتایج مطالعه حاضر، نشان‌دهنده بیشتر بودن آلودگی در گوشت‌های از نوع بومی در مقایسه با صنعتی می‌باشد (جدول ۱). مطالعات مختلفی در مورد شیوع عفونت کلستریدیوم دیفیسیل در طیور در ایران و سایر کشورها انجام شده است. برای مثال، در عربستان سعودی بر روی نمونه گوشت مرغ درصد نسبتاً بالایی دارای آلودگی کلستریدیوم دیفیسیل بودند (Attia, 2021). همچنین در

هستند و این داده‌ها سایر مشاهدات قبلی را تأیید می‌کنند (Weese, 2010., Sholeh *et al.*, 2020, Dupuy, Govind, 2008).

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که برای جلوگیری از اپیدمی‌های اسهالی مرتبط با کلستریدیوم دیفیسیل، باید اقداماتی در برابر انتشار سویه‌های بدخیم و سمی انجام شود. علاوه بر این، جداسازی مکرر آن همپوشانی قابل توجهی را ایجاد می‌کند و گوشت طیور را به منبع بالقوه عفونت کلستریدیوم دیفیسیل در انسان تبدیل می‌کند (Abu Faddan Aly, 2016). از این داده‌ها می‌توان استنباط کرد که مصرف جوجه‌های گوشتی و گوشت مرغ آلوده می‌تواند منبع بیماری‌های انسانی باشد. با توجه به نتایج مقایسه مطالعه حاضر در ارتباط با شیوع کلستریدیوم دیفیسیل در گوشت طیور و پرندگان مشخص گردید که آلودگی به این باکتری در مرغ و بوقلمون بومی بیشتر از مرغ و بوقلمون صنعتی می‌باشد. لذا این منبع غذایی می‌تواند منبع انتقال باکتری باشد. آنجایی که مصرف مرغ و بوقلمون بومی در ایران متداول است و این گروه از پرندگان بومی در تماس مستقیم با انسان‌ها در محل نگهداری‌شان می‌باشند لذا بنظر می‌رسد اقدامات پیشگیرانه و اصول بهداشتی در خصوص کنترل انتقال باکتری ضرورت دارد. همچنین آموزش‌های لازم در خصوص نحوه پخت صحیح گوشت پرندگان بومی از نظر دمایی و زمان مطلوب نیز می‌تواند در غیرفعال سازی باکتری کمک کننده باشد.

تعارض منافع

نویسندگان تعارض منافی برای اعلام ندارند.

نمونه‌های گوشتی حیوانات در ایران می‌تواند از نظر اصول بهداشتی مورد توجه باشد. از آنجایی که این باکتری قادر به تشکیل اسپور بسیار مقاوم است که می‌تواند برای مدت طولانی در محیط باقی بماند لذا انتقال باکتری به غذا تسهیل می‌شود. یکی از دلایل اصلی انتقال کلستریدیوم دیفیسیل در پرندگان خانگی و مرغداری‌های صنعتی، مربوط به حضور و پراکندگی گسترده این باکتری در محیط می‌باشد. بنابراین، این منبع غذایی نقش مهمی به عنوان منبع احتمالی انتقال باکتری به انسان ایفا کند. چنانچه در مطالعات نیز ارتباط بین گونه‌های کلستریدیوم دیفیسیل جدا شده از پرندگان و مواد غذایی را با ایزوله‌هایی که در انسان شناسایی شده است گزارش شده است (Crobach *et al.*, 2018). در مطالعه حاضر، توکسین‌های *tcdA* و *tcdB* در مرغ و بوقلمون بومی و صنعتی مورد مطالعه قرار گرفتند، زیرا این توکسین‌ها شایع‌ترین توکسین‌های سمیت کلستریدیوم دیفیسیل معرفی شده‌اند (Weese, 2010). در مطالعه‌ای که در ایران از نظر آلودگی گوشت مرغ به کلستریدیوم دیفیسیل انجام شده نشان داده که این آلودگی بالاتر از کشور های آلمان و عربستان می‌باشد و همچنین ۷۰ درصد ایزوله مثبت از توکسین‌های *tcdA* و *tcdB* جداسازی شده است (Razmyar *et al.*, 2017). در کشور های دیگری نظیر کشور آلمان در نمونه‌های گوشت مرغ و بوقلمون، درصد بالایی از ایزوله‌ها دارای ژن‌های *tcdA* و *tcdB* بودند. در این مطالعه، آلودگی نسبتاً بالا در گوشت مرغ مشاهده شد. همچنین مقاومت نسبتاً بالایی به آنتی‌بیوتیک‌های اریتر و مایسین کلیندامایسین گزارش گردید (Heise, *et al.*, 2021). نتایج نشان می‌دهد که پرندگان حامل این ریبوتیپ‌ها

منابع

- Attia, A.E.T. (2021). Retail chicken meats as potential sources of *Clostridioides difficile* in Al-Jouf, Saudi Arabia. *Journal of Infection in Developing Countries*, 15(7): 972-978.
- Bingol, E.B., Hampikyan, H. and Muratoglu, K. (2020). Characterization and antibiotic susceptibility profile of *Clostridioides (Clostridium) difficile* isolated from chicken carcasses. *Journal of Veterinary Research*, 64(3), p. 407.
- Dupuy, B., Govind, R., Antunes, A. and Matamouros, S. (2008). *Clostridium difficile* toxin synthesis is negatively regulated by TcdC. *Journal of Medical Microbiology*, 57(6): 685–689.
- Esfandiari, Z., Jalali, M. and Ezzatpanah, H. (2014). Occurrence of *Clostridium difficile* in seasoned hamburgers and seven processing plants in Iran. *BMC Microbiology*, 14(1): 1-7.
- Esfandiari, Z., Shoaee, P., Vakiki, B., Farajzadegan, Z., Tarrahi, M., and Emami, Z. (2016). Prevalence and Antibiotic Resistance of *Clostridioides (Clostridium Difficile)* in Meat and Meat Products: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 42(1): 36.
- Harvey, R.B., Norman, K. N., Andrews, K., Norby, B., Hume, M. E., Scanlan, C. M., *et al.* (2011). *Clostridium difficile* in retail meat and processing plants in Texas. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(4): 807-811.
- Hussain, P., Borah, R., and Sharma, K. (2016). Molecular characteristics of *Clostridium difficile* isolates from human and animals in the North Eastern region of India. *Molecular and Cellular Probes*, 30(5): 306–311.
- Heise, J., Witt, P., Maneck, C., Wichmann-Schauer, H., and Maurischat, S. (2021). Prevalence and phylogenetic relationship of *Clostridioides difficile* strains in fresh poultry meat samples processed in different cutting plants. *International Journal of Food Microbiology*, 339: 109032.
- Weese, J. (2010). *Clostridium difficile* in food --innocent bystander or serious threat? *Clinical Microbiology Infection*, 16(1): 3–10.
- Weese, J.S., Reid-Smith, R.J., Avery, B.P., and Rousseau, J. (2010). Detection and characterization of *Clostridium difficile* in retail chicken. *Letters in Applied Microbiology*, 50(4): 362–365.
- Bakri, M. (2018). Prevalence of *Clostridium difficile* in raw cow, sheep, and goat meat in Jazan, Saudi Arabia,” *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(4): 783–785.
- Crobach, M.J.T., Vernon, J.J., and Loo V.G. (2018). Understanding *Clostridium difficile* colonization, *Clinical Microbiology Reviews*, 31(2): e00021.
- Muratoglu, K., Akkaya, E., Hampikyan, H., *et al.* (2020). Detection, Characterization and Antibiotic Susceptibility of *Clostridioides (Clostridium) difficile* in Meat Products. *Food Science of Animal Resources*, 40(4): 578.
- Abu Faddan, N.H., Aly, S.A., and Abou Faddan, H.H. (2016). Nosocomial *Clostridium difficile*-associated diarrhoea in Assiut University Children's Hospital, Egypt,” *Paediatrics and International Child Health*, 36(1): 39–44.
- Razmyar, J., Jamshidi, A., Khanzadi, S., *et al.* (2017). Toxigenic *Clostridium difficile* in retail packed chicken meat and broiler flocks in northeastern Iran. *Iranian J Vet Res*, 18(4): 271.
- Parisa, S., Hasan, K., Farzin, S., *et al.* (2019). Molecular epidemiology of *Clostridium difficile* infection in Iranian hospitals,” *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 8(12): 1–7.
- Lemee, L., Dhalluin, A., Testelin, S., Mattrat, M.A., Maillard, K., Lemeland, J.F., *et al.* (2004). Multiplex PCR targeting *tpi* (triose phosphate isomerase), *tcdA* (toxin A), and *tcdB* (toxin B) genes for toxigenic culture of *Clostridium difficile*. *Journal of Clinical Microbiology*; 42 (12): 5710-5714.
- Sholeh, M., Krutova, M., Forouzesh, M., *et al.* (2020). Antimicrobial resistance in *Clostridioides (Clostridium) difficile* derived from humans: a systematic review and meta-analysis,” *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 9(1): 1–11.

-
- Simang, C. (2006). Prevalence of *Clostridium difficile* in the environment in a rural community in Zimbabwe. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 100(12): 1146-1150.
 - Waqas, M., Mohib, K., Saleem, A., *et al.* (2022). Rifaximin therapy for patients with metronidazole-unresponsive *Clostridium difficile* infection. *Infection. Cureus*, 14(4): e24140.
 - World Health Organization. (2000). World Health Organization report on infectious diseases. Overcoming antimicrobial resistance (<https://www.who.int/teams/integrated-health-services/clinical-services-and-systems/surgical-care/infectious-diseases>).