



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان

دانشکده تغذیه و علوم غذایی

گروه علوم و صنایع غذایی

با همکاری مرکز تحقیقات امنیت غذایی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته بهداشت و ایمنی مواد غذایی

کد طرح: 392234

عنوان:

بررسی توزیع فراوانی کلاسترید یوم دیفیسایل در سالادهای آماده مصرف در شهر اصفهان

اساتید راهنما: دکتر بهرام نصر اصفهانی، دکتر مریم میرلوحی

اساتید مشاور: دکتر محمد جلالی، زهرا اسفندیاری

نگارش:

ماهیره یمودی

اردیبهشت ماه 1393

چکیده

مقدمه: کلستریدیوم دیفیسیل باکتری گرم مثبت، اسپورزا، بی هوازی، تولید کننده توکسین و میله ایی شکل می باشد که سالانه منجر به میلیونها موارد بیماری عفونی در جوامع انسانی در سرتاسر جهان میگردد. مطالعات اخیر مصرف مواد غذایی را یکی از راههای احتمالی انتقال این باکتری معرفی نموده اند.

هدف: هدف از این مطالعه، بررسی شیوع آلودگی سالادهای آماده مصرف به کلستریدیوم دیفیسیل در شهر اصفهان می باشد.

مواد و روشها: بر اساس نمونه گیری خوشه ایی ابتدا شهر اصفهان به دو قسمت تقسیم شد، سپس 35 نمونه از مرکز بهداشت شماره یک و 71 نمونه از مناطق تحت پوشش مرکز بهداشت شماره دو شهر اصفهان جمع آوری گردید. کشت باکتری طبق متد رودریگرز و همکاران انجام شد. شناسایی اولیه بر اساس روشهای بیوشیمیایی با استفاده از رنگ آمیزی گرم، مورفولوژی کلنی، واکنش ال پرولین آمینو پپتیداز و در نهایت تشخیص قطعی با روش مولکولی Multiplex PCR صورت گرفت.

یافته ها: از 106 نمونه سالاد آماده مصرف جمع آوری شده از اماکن تهیه توزیع و عرضه سالاد در شهر اصفهان، 6 نمونه (5/66 درصد) از نظر باکتری کلستریدیوم دیفیسیل مثبت بودند. از بین 6 نمونه، 5 نمونه غیر توکسین زا و یک نمونه واجد توانایی تولید توکسین با خصوصیات تولید هر دو نوع توکسین (A+B+) شناسایی شد. همچنین از 106 نمونه، 99 نمونه سالاد تهیه شده به روش سنتی و 7 نمونه با بسته بندی شرکتی و کارخانه ایی بودند. از این میزان 5 درصد سالاد های سنتی و 28 درصد سالادهای شرکتی و کارخانه ایی آلوده بودند

بحث و نتیجه گیری: از آنجایی که حضور باکتری کلستریدیوم دیفیسیل در بیماران بستری در بیمارستان در ایران مورد تایید قرار گرفته است، در نظر گرفتن منابع غذایی آلوده به کلستریدیوم دیفیسیل به عنوان یکی از راههای انتقال و ایجاد بیماری اهمیت بیشتری پیدا می کند.

کلید واژه ها: کلستریدیوم دیفیسیل، سالاد آماده مصرف، شیوع

فهرست مطالب

فصل اول: بیان مسئله، اهداف و فرضیات

1- مقدمه.....	3-
1	
2- بیان مسئله و اهمیت و ضرورت پژوهش.....	4
3- اهداف پژوهش شامل هدف کلی و اهداف ویژه.....	5
4- فرضیات و سؤالات پژوهش	
5.....	5
5- تعریف واژه ها	
5.....	5

فصل دوم: مواد و روش ها

1- نوع پژوهش	7-
6	
2- زمان و مکان پژوهش	
7.....	7
3- جامعه آماری	
7.....	7
5- حجم	
نمونه.....	7
6- نحوه نمونه گیری	
7.....	7
7- جدول متغیر	
ها.....	8

فصل سوم: آزمایشات

1- آزمایشات کشت میکروبی.....	10-
9	
2- شناسایی با روش	
بیوشیمیایی.....	10

3- استخراج	
DNA	10.....
4- شناسایی با روش مولکولار.....	12-.....
11	
فصل چهارم: نتایج.....	14-.....
13	
فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری.....	16-.....
15	
پیشنهادات.....	17.....
منابع.....	21-.....
18	
متن کامل	
مقالات.....	22.....

فهرست مقالات منتج از طرح:

- ✓ **Isolation of Toxigenic *Clostridium difficile* from Ready- to- eat Salads Salads by multiplex PCR in Isfahan, Iran**

✓ مرور نظامند مطالعات صورت گرفته از شیوع باکتری کلاسترید یوم دیفیسیل در مواد غذایی

منابع

1. McFee RB, Abdelsayed GG. Clostridium difficile. Disease A Month. 2009;55(7):439.
2. Curry S. Clostridium difficile. Clin lab med. 2010;30(1):329-42.
3. Hull MW, Beck PL. Clostridium difficile-associated colitis. Canadian family physician. 2004;50(11):1536-40.
4. Songer JG. Clostridia as agents of zoonotic disease. Veterinary Microbiology. 2010;140(3-4):399-404.
5. Sunenshine RH, McDonald LC. Clostridium difficile-associated disease: new challenges from an established pathogen. Cleveland Clinic journal of medicine. 2006;73(2):187-97.
6. Rupnik M. Is Clostridium difficile associated infection a potentially zoonotic and foodborne disease? Clinical Microbiology and Infection. 2007;13(5):457-9.
7. Chernakl E, Johnson CC, Weltman A et al. Severe Clostridium difficile-associated disease in populations previously at low risk—four states. MMWR 2005; 54: 1201–1205.
8. Geric B, Johnson S, Gerding DN, Grabnar M, Rupnik M. Frequency of binary toxin genes among Clostridium difficile strains that do not produce large clostridial toxins. Journal of clinical microbiology. 2003;41(11):5227-32.

9. McEllistrem MC, Carman RJ, Gerding DN, Genheimer C, Zheng L. A hospital outbreak of *Clostridium difficile* disease associated with isolates carrying binary toxin genes. *Clinical Infectious Diseases*. 2005;40(2):265-72.
10. Ananthkrishnan AN, Issa M, Binion DG. *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. *Medical Clinics of North America*. 2010;16(1):135.
11. Martirosian G. Recovery of *Clostridium difficile* from hospital environments. *Journal of clinical microbiology*. 2006;44(3):1202-3.
12. Simango C. Prevalence of *Clostridium difficile* in the environment in a rural community in Zimbabwe. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2006;100(12):1146-50.
13. Pasquale V, Romano VJ, Rupnik M, Dumontet S, iznár I, Aliberti F, et al. Isolation and characterization of *Clostridium difficile* from shellfish and marine environments. *Folia microbiologica*. 2011;56(5):431-7.
14. Pirs T, Ocepek M, Rupnik M. Isolation of *Clostridium difficile* from food animals in Slovenia. *Journal of medical microbiology*. 2008;57(6):790-2.
15. Rodriguez-Palacios A, Staempfli HR, Duffield T, Weese JS. *Clostridium difficile* in retail ground meat, Canada. *Emerging infectious diseases*. 2007;13(3):485.
16. Metcalf D, Avery BP, Janecko N, Matic N, Reid-Smith R, Weese JS. *Clostridium difficile* in seafood and fish. *Anaerobe*. 2011;17(2):85-6.
17. Pasquale V, Romano V, Rupnik M, Capuano F, Bove D, Aliberti F, et al. Occurrence of toxigenic *Clostridium difficile* in edible bivalve molluscs. *Food microbiology*. 2012.
18. Zidaric, V. & Rupnik, M. (2012). *Clostridium difficile* in meat products, eggs and vegetables in Slovenia. In 4th International *Clostridium difficile* Symposium, 20–22 September, 2012, Bled, Slovenia, abstract: Poster 118.
19. Metcalf D, Costa M, Dew W, Weese J. *Clostridium difficile* in vegetables, Canada. *Letters in applied microbiology*. 2010;51(5):600-2.
20. Bakri MM, Brown DJ, Butcher JP, Sutherland AD. *Clostridium difficile* in ready-to-eat salads, Scotland. *Emerging infectious diseases*. 2009;15(5):817.

21. Gould LH, Limbago B. Clostridium difficile in food and domestic animals: a new foodborne pathogen? *Clinical Infectious Diseases*. 2010;51(5):577-82.
22. Rupnik M, Songer JG. Clostridium difficile: its potential as a source of foodborne disease. *Advances in Food and Nutrition Research*. 2010;60:53-66.
23. Bahreini M, Habibi Najafi M, Bassami M, Abbaszadegan M, Bahrami A, Ejtehadi H. Microbial Load Evaluation of Fresh-Cut Vegetables During Processing Steps in A Vegetable Processing Plant Using Minimally Processing Approach. *Iranian food science and technology research journal* 2011;7: 242-235
24. Delaquis P, Bach S, Dinu L-D. Behavior of Escherichia coli O157: H7 in leafy vegetables. *Journal of Food Protection*®. 2007;70(8):1966-74.
25. Meldrum R, Little C, Sagoo S, Mithani V, McLauchlin J, De Pinna E. Assessment of the microbiological safety of salad vegetables and sauces from kebab take-away restaurants in the United Kingdom. *Food Microbiology*. 2009;26(6):573-7.
26. Sagoo S, Little C, Ward L, Gillespie I, Mitchell R. Microbiological study of ready-to-eat salad vegetables from retail establishments uncovers a national outbreak of salmonellosis. *Journal of Food Protection*®. 2003;66(3):403-9.
27. Pingulkar AK, Dilip Bongirwar, Kiran. Microbiological quality of fresh leafy vegetables, salad components and ready-to-eat salads: an evidence of inhibition of Listeria monocytogenes in tomatoes. *International journal of food sciences and nutrition*. 2001;52(1):15-23.
28. Sagoo S, Little C, Mitchell R. The microbiological examination of ready-to-eat organic vegetables from retail establishments in the United Kingdom. *Letters in Applied Microbiology*. 2001;33(6):434-9.
29. Rodriguez-Palacios A, Staempfli HR, Duffield T, Weese JS. Clostridium difficile in retail ground meat, Canada. *Emerging infectious diseases*. 2007;13(3):485.
30. Fedorko DP, Williams EC. Use of cycloserine-cefoxitin-fructose agar and L-proline-aminopeptidase (PRO Discs) in the rapid identification of Clostridium difficile. *Journal of clinical microbiology*. 1997;35(5):1258-9.
31. Lemee L, Dhalluin A, Testelin S, Mattrat MA, Maillard K, Lemeland JF, et al. Multiplex PCR targeting tpi (triose phosphate isomerase), tcdA (toxin A), and tcdB (toxin B) genes for toxigenic culture of Clostridium difficile. *Journal of clinical microbiology*. 2004;42(12):5710-4.

The study of distribution of *clostridium difficile* in ready to eat salads in Isfahan city

Abstract:

Background: *clostridium difficile* is an anaerobic, spore-forming, toxigenic, rod shape , gram positive bacteria. Annually, a huge numbers of human infections are associated with *Clostridium difficile* in different parts of the world. Recent study was introduced possibility of food consumption as one of the transition procedure of bacteria to human.

objective: The objective of this study was to determine prevalence of *Clostridium difficile* in ready to eat salads in Isfahan.

Materials and Methods: cluster-sampling was divided Isfahan city into two parts. We selected 35 samples from the first health center and 71 samples from the second health center. culture method was performed according to the method of Rodriguez et al. Early identification based on biochemical methods by using Gram staining, colony morphology, reaction of L-proline amino peptidases and it was confirmed by Multiplex PCR.

Results: The prevalence rate of *C. difficle* among the 106 samples were about 6% and toxigenic strains were founded among the isolates. Of which, one strain was positive for A and B toxins(A + B +) and the others showed no toxin producing. 5% of 99 traditional samples and 14% of 7 factorial samples were contaminated.

Conclusion: presence of *C. difficile* in hospitalized patients of Iran has been approved, Considering contaminated food as one of the *C. difficile* transmission procedure become more important.

Key words: *Clostridium difficile*, ready to eat salad, prevalence



Isfahan university medical science
School of nutrition and food science
Department of food science and technology
Food security research center

Research code: 392234

Degree:
Food Safety and Hygiene Master of Science

title:

**The study of distribution of *clostridium difficile* in ready to eat salads
in Isfahan city**

Supervisors: **Bahram nasr isfahani ph.D, Maryam mirlohi ph.D**

Advisor: **Mohammad jalali ph.D, Zarhra esfandiari**

By:

Mahire yamoudy

May 2014

