مجله دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (پیاورد سلامت)
دوره ۱۱ شماره ٤ مهر و آبان ۱۳۹۶، ۳۹۹-۳۹۱

مقاله پژوهشی

شناسایی ملکولی کلستریدیوم پرفرینجنس در تعدادی از مواد غذایی با منشا خام دامی در شهرکرد، ۱۳۹۳

دکتر امیر شاکریان[۱]، دکتر ابراهیم رحیمی[۱]، دکتر جمال مصباح[۲]، دکتر محمد موسوی[۲]

دریافت مقاله : دی ۱۳۹۵
پذیرش مقاله : اردیبهشت ۱۳۹۶

*نویسنده مسئول :
دکتر امیر شاکریان؛
دانشکده دامپزشکی واحد شهرکرد دانشگاه آزاد اسلامی
Email :
amshakerian@iaushk.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: کلستریدیوم پرفرینجنس یکی از عوامل اصلی بروز مسمومیت‌های غذایی در انسان در سراسر جهان است. این بررسی برای تشخیص و ردیابی توکسین های باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس در تعدادی از مواد غذایی با منشا خام دامی انجام گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه، تعداد ۱۰۰ نمونه از کشک های صنعتی و سنتی و ۴۳ نمونه از گوشت های گاو و گوسفند، از مراکز فروش شهرستان شهرکرد به روش تصادفی جمع آوری شد. برای شناسایی باکتری مورد نظر در نمونه ها، از روش های کشت و واکنش زنجیره ای پلی مراز استفاده شد.

یافته ها: هیچ نمونه مثبتی در روش کشت میکروبی از نمونه ها جداسازی نشد. با این وجود فراوانی باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس در نمونه‌های کشک صنعتی و سنتی، گوشت گاو و گوسفند به ترتیب ۶،۱۰،۲۵ و۱۳ درصد با استفاده از روش PCR، گزارش گردید. فراوانی ژن‌های *cpa*، *cpb*، *cpe*، *cpi* و *etx* در فرآورده‌های کشک مذکور به ترتیب ۳۷/۵، ۲۵، ۷۵، ۱۲/۵ و ۱۲/۵ درصد و در گوشت ها به ترتیب ۷۵/۵، ۵۰، ۶۲/۵ و۳۷/۵ و۲۵ درصد تشخیص داده شد. نتایج این تحقیق نشان دهنده ی وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین میزان شیوع باکتری در نمونه‌های مختلف و توکسین‌های جداسازی شده از آنها بود($p<۰/۰۵$).

نتیجه گیری: با توجه به آلودگی این مواد غذایی به کلستریدیوم پرفرینجنس و انتقال آلودگی از مواد غذایی به انسان، کاهش آلودگی مواد غذایی به این باکتری از جنبه ی سلامت عمومی ضروری است.

واژه های کلیدی: کلستریدیوم پرفرینجنس، کشک، گوشت، واکنش زنجیره ای پلی مراز

[۱] استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

[۲] دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-31]

مقدمه

کلستریدیوم پرفرینجنس باسیلی‌گرم مثبت، غیرمتحرک، هاگ زا و بی هوازی بوده که چهار نوع توکسین اصلی شامل آلفا، بتا، اپسیلون و یوتا تولید می کند و برهمین اساس به تیپ‌های A، B، C، D وE تقسیم می‌شود(۲و۱). کلستریدیوم پرفرینجنس در محدوده‌ای از اسیدیته در حدود ۵/۵ تا ۷ و در محدوده‌ای از حرارت در حدود ۲۰ تا۵۰ درجه سلسیوس رشد می‌کند. این باکتری معمولاً در دمای ۳۷ درجه سلسیوس رشد می‌کند اما درجه حرارت ۴۵ درجه سلسیوس دمای مناسب برای بسیاری از سوش‌ها بوده و مدت زمان تکثیر آن را به حدود۱۰ دقیقه کاهش می‌دهد(۴و۳و۱). انواع جنس‌های کلستریدیوم پرفرینجنس به عنوان یک عامل بیماری زا در روده ی انسان، حیوانات اهلی و وحشی شناخته می‌شود و هم چنین به طور معمول در مواد محیطی مثل خاک و آب وجود دارد(۵و۳). بررسی ها نشان داده اند که در دهه اخیر کمپیلوباکتر و سالمونلا بیشترین علت ایجاد مسمومیت های غذایی در انسان بودند و در مرتبه بعدی کلستریدیوم پرفرینجنس قرار دارد لذا به عنوان سومین عامل مسمومیت غذایی در آمریکا و انگلیس گزارش شده است و در ژاپن پنجمین یا ششمین بیماری زای منتقله از مواد غذایی محسوب می شود(۶و۵). این باکتری باعث ایجاد بیماری های مهمی مانند اسهال با منشا آنتی بیوتیکی، مسمومیت غذایی، اسهال تک گیر، قانقاریا و انتریت نکروتیک در انسان می شود. در میان تیپ های مختلف باکتری، تیپ A وC عامل ایجاد مسمومیت و عفونت های غذایی در انسان است. مسمومیت غذایی ایجاد شده توسط کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A اغلب خود بهبود شونده است ولی مسمومیت غذایی ناشی از کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ C سبب ایجاد انتریت نکروتیک در انسان می شود(۸و۷و۵). در مطالعه ای برای اولین بار Aras & Hadimli در ترکیه، حضور کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ E را در گوشت بوقلمون و تیپ C را در گوشت مرغ گزارش کردند(۲). در مطالعه ای دیگر توسط پورسلطانی و همکاران از تعداد ۱۸۰ نمونه بال، کتف و سنگدان مرغ ها تنها شش نمونه کلستریدیوم پرفرینجنس شناسایی شد(۸) و هم چنین آنها نشان دادند که ۱۰۰ درصد باکتری های جداشده حاوی ژن های *cpa* و*cpb* بودند(۱). در تحقیق Tudor و همکاران بر روی پنیر و کشک‌های رومانی مشخص گردید میزان ۱/۸۶درصد از نمونه‌ها آلوده به کلستریدیوم پرفرینجنس بودند(۹). برای تشخیص تیپ های مختلف باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس روش های متفاوتی وجود دارد که اکثراً دشوار، زمان بر و پرهزینه هستند و از حساسیت و اختصاصیت پایینی نیز برخوردار هستند. یکی از این روش ها، آزمایش خنثی سازی توکسین در موش و خوکچه هندی است. این روش بسیار مشکل، وقت گیر و پرهزینه است، از طرفی انجام آن روی حیوانات آزمایشگاهی از نظر اخلاقی غیر قابل قبول است(۱۱و۱۰). در روش شناسایی پادتن های پلی کلونال به روش الایزا نیز برای تشخیص توکسین های کلستریدیوم پرفرینجنس مشکلاتی مانند ایجاد واکنش متقاطع بین پادتن ها و عدم شناسایی توکسین β2 وجود دارد، لذا یکی از روش های جدید و سریع در شناسایی باکتری مذکور استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلی مراز است(۱۲و۱۱). هم چنین شناسایی سریع عوامل بیماری زا اساس کنترل بیماری هاست و تعیین ژنوتیپ این عوامل برای بررسی کامل و برنامه کنترلی مورد نیاز می باشد(۱۵-۱۳). از آنجایی که مصرف شیر و فراورده های آن و هم چنین گوشت و فراورده‌های گوشتی یکی از مهم‌ترین راه های تامین پروتئین روزانه جمعیت ایران می‌باشند و نکته حایز اهمیت این است که درصد بالایی از مصرف کنندگان شیر معمولاً کودکان، زنان باردار و افراد مسن هستند که نسبت به افراد عادی حساسیت بیشتری در ابتلا به بیماری دارند(۱۶و۹)، و از طرفی با افزایش مصرف گوشت و فراوردهای آن، اهمیت کنترل بهداشتی این فراورده های پروتئینی را بیشتر مشخص می‌کند(۱۳). از این سو فراهم کردن غذای کافی همراه با رعایت مسایل بهداشتی آن همواره مدنظر پژوهشگران و تولید کنندگان بخش ذیربط بوده است، لذا این پژوهش باهدف شناسایی ملکولی کلستریدیوم پرفرینجنس در تعدادی از مواد غذایی با منشا خام دامی در شهرکرد در سال ۱۳۹۳ صورت پذیرفت.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی مقطعی، در بهار و تابستان سال ۱۳۹۳، تعداد ۱۰۰ نمونه کشک صنعتی و سنتی(شامل۵۰ نمونه صنعتی، ۵۰ نمونه سنتی) و هم چنین ۴۳ نمونه گوشت(شامل ۲۰ نمونه عضله ران گاو و ۲۳ نمونه عضله ران گوسفند) از مراکز فروش واقع در شهرستان شهرکرد جمع آوری شد. نمونه‌ها در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژیک سترون قرار گرفتند و بلافاصله پس از نمونه گیری در کنار یخ به آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد منتقل شدند. نمونه‌ها در محیط کشت

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-31]

پیش غنی کننده آب پپتونه قلیایی(مرک آلمان)، منتقل و به مدت ۲۴ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در شرایط بی هوازی گرم خانه گذاری شدند، آنگاه از محیط مذکور بر روی محیط اختصاصی سولفیت پلی میکسین-سولفادیازین(مرک آلمان) کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در شرایط بی هوازی گرم خانه گذاری شدند(۱۵). از پرگنه های رشد کرده در محیط مورد نظر برای انجام آزمون های تکمیلی شامل رنگ آمیزی گرم، آزمون لسیتین، آزمون تخمیر در محیط شیرتورنسل، همولیز در محیط آگار خون دار، تخمیر گلوکز، لاکتوز، ساکارز و ژلاتیناز استفاده شد(۱۵و۱). برای استخراج DNA، باکتری‌های رشد کرده در طول یک شب در محیط آب پپتونه که در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری شده بودند، به وسیله ی کیت استخراج DNA شرکت سیناژن ایران و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده استخراج و تا زمان انجام PCR در فریزر۲۰- درجه سلسیوس نگه داری شد. سپس برای انجام واکنش PCR از جفت پرایمرهای طراحی‌شده براساس ردیف نوکلئوتیدی ژن 16SrRNA باکتریکلستریدیوم پرفرینجنس، استفاده شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس و توکسین‌های باکتریایی در نمونه‌های کشک و گوشت

ژن هدف	توالی پرایمر('3-'5)	اندازه محصول(bp)	منابع
16S rRNA	AAAGATGGCATCATCATTCAAC TACCGTCATTATCTTCCCCAAA	۲۷۹	(۱۶)
cpa	AGTCTACGCTTGGGATGGAA TTTCCTGGGTTGTCCATTTC	۹۰۰	(۱۷)
cpb	TCCTTTCTTGAGGGAGGATAAA TGAACCTCCTATTTTGTATCCCA	۶۱۱	(۱۷)
cpe	ACTGCAACTACTACTCATACTGTG CTGGTGCCTTAATAGAAAGACTCC	۵۴۱	(۱۷)
cpi	AAACGCATTAAAGCTCACACC CTGCATAACCTGCAATGGCT	۲۹۳	(۱۷)
etx	GCGGTGATATCCATCTATTC CCACTTACTTGTCCTACTAAC	۶۵۵	(۱)

برای انجام آزمایش PCR برای تشخیص ژن 16S rRNA، از دستگاه Master cycler gradient (Eppendorf Germany Co.) استفاده شد. حجم کلی واکنش PCR، ۳۰ میکرولیتر و شامل ۹۰ نانوگرم پرایمر، ۰/۲ میلی مول dNTP، ۱۰ میلی مول تریس HCl، ۱/۵ میلی مول $MgCl_2$، ۵۰ میلی مول KCl و ۱ واحد آنزیم DNA Taq Polymerase بود. برنامه‌ی حرارتی مورد استفاده شامل: یک سیکل ۹۵ درجه سلسیوس ۳ دقیقه، ۳۵ سیکل دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۵۳ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه و در نهایت یک سیکل ۷۲ درجه سلسیوس ۸ دقیقه بود. سپس تمام نمونه‌هایی که از نظر حضور ژن 16S rRNA مثبت بودند، با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلی مراز چندتایی (Multiplex PCR) برای ردیابی توکسین های باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس که در جدول ۱ آمده اند، ارزیابی شد(۱۶). واکنش PCR چندتایی جهت ردیابی توکسین‌ها در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر بافر PCR buffer 10X، ۱/۵ میلی مول $MgCl_2$، ۲۰۰ میکرومول dNTP، ۱ میکرومول از زوج پرایمرهای F و R، ۵ میکرولیتر از هر نمونه DNA و ۱/۲۵ واحد آنزیم DNA Taq Polymerase، انجام پذیرفت. برنامه‌ی حرارتی مورد استفاده شامل: یک سیکل ۹۵ درجه سلسیوس ۲ دقیقه، ۳۵ سیکل دمایی به ترتیب ۹۵ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۶۰ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه و۲۰ ثانیه و نهایتاً یک سیکل ۷۲ درجه سلسیوس ۱۰ دقیقه بود(۱۷). به منظور ردیابی ژن *etx* باکتری حجم نهایی واکنش ۲۵ میکرولیتر بود که شامل: ۲۰ نانوگرم DNA الگو، ۲ میلی مول $MgCl_2$، ۲۵ پیکومول از هر پرایمر، ۱ واحد آنزیم DNA Taq Polymerase و ۲۰۰ میکرومول dNTP بود. برنامه‌ای حرارتی مورد استفاده شامل: یک سیکل ۹۵ درجه سلسیوس ۵ دقیقه، سپس ۳۵ سیکل دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۵۰ درجه سلسیوس ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس ۱ دقیقه و یک سیکل نهایی ۷۲ درجه سلسیوس ۵ دقیقه بود(۱). تأیید وجود قطعه ی تکثیر یافته از ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد. برای این منظور ۱ گرم از پودر آگارز در ۱۰۰ میلی لیتر بافر TBE حل و بعد از ذوب شدن مقدار ۲ میکرولیتر اتیدیوم بروماید به آن اضافه و در سینی مخصوص الکتروفروز ریخته شد. سپس ۱۵ میکرولیتر از

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-31]

محصول PCR همراه با ۱ میکرولیتر لودینگ بافر مخلوط و روی ژل ۱ درصد آگارز در حضور مارکر ۱۰۰ جفت بازی DNA(Fermentas) در ولتاژ ثابت ۹۰ ولت الکتروفروز گردید. داده‌های حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS(نسخه ۱۶) و آزمون‌های آماری مربع کای و فیشر تجزیه و تحلیل گردیدند.

یافته ها

نتایج بررسی حاضر نشان داد که هیچ یک از نمونه‌های کشک صنعتی و سنتی و هم چنین نمونه های گوشت ران گوسفند و گاو مورد بررسی از نظر حضور زنده باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس در روش کشت مثبت نبودند. در روش PCR، حضور باند اختصاصی به اندازه ی ۲۷۹ جفت باز در الکتروفورز محصولات PCR در شکل ۱ قابل مشاهده است. نتایج نشان داد که به ترتیب ۸ درصد و ۱۸/۶درصد از نمونه های کشک و گوشت آلوده به کلستریدیوم پرفرینجنس بودند. فراوانی باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس در کشک های صنعتی و سنتی و گوشت گاو و گوسفند در جدول ۲ قابل مشاهده است. فراوانی حضور توکسین‌های باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس در نمونه های کشک و گوشت در جدول ۳ قابل مشاهده است. درمورد حضور انواع ژن ها در نمونه های گوشتی، نتایج نشان داد که ژن *cpe* بیشترین فراوانی(۷۵٪) و ژن *etx* کمترین فراوانی(۲۵٪) را داشتند. بررسی‌های آماری نشان‌دهنده ی اختلاف معنی‌دار آماری برای میزان شیوع انتروتوکسین‌ها در نمونه‌ها بود(P=۰/۰۳۱). فراوانی انتروتوکسین‌های باکتری بین نمونه‌های گوشت گوسفند و گاو نیز اختلاف معنی‌دار آماری نشان دادند(P=۰/۰۲۷). در شکل های ۲ و ۳ نیز، به ترتیب الکتروفورز ژل آگارز توکسین ها و ژن *etx* کلستریدیوم پرفرینجنس در نمونه های کشک و گوشت قابل مشاهده می باشد.

جدول ۲: فراوانی حضور باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس در نمونه‌های کشک و گوشت جمع‌آوری شده در شهرکرد

نوع نمونه	تعداد نمونه اخذ شده	تعداد نمونه مثبت در کشت(٪)	تعداد نمونه مثبت در PCR(٪)
کشک صنعتی	۵۰	-	۳ (٪۶)
کشک سنتی	۵۰	-	۵ (٪۱۰)
گوشت گاو	۲۰	-	۵ (٪۲۵)
گوشت گوسفند	۲۳	-	۳ (٪۱۳)
کل	۱۴۳	-	۱۶ (٪۱۱/۱۹)

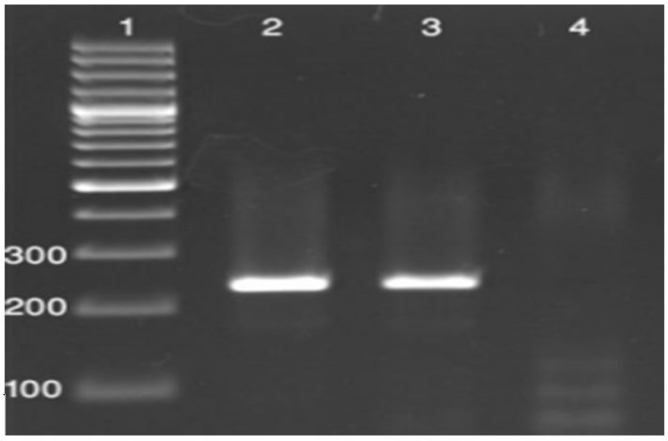
با توجه به نتایج جدول ۲، بیشترین فراوانی حضور کلستریدیوم پرفرینجنس در فراورده های کشک مربوط به نمونه‌های کشک سنتی و کمترین فراوانی مربوط به نمونه‌های کشک صنعتی بوده است(P=۰/۰۳۳). هم چنین بیشترین فراوانی حضور کلستریدیوم پرفرینجنس در گوشت ها مربوط به نمونه‌های گاو و کمترین فراوانی مربوط به نمونه‌های گوسفند بوده است(P=۰/۰۴۴).

جدول ۳: فراوانی ژن های مولد انتروتوکسین‌های باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس ردیابی شده در نمونه‌های کشک و گوشت جمع‌آوری شده در شهرکرد

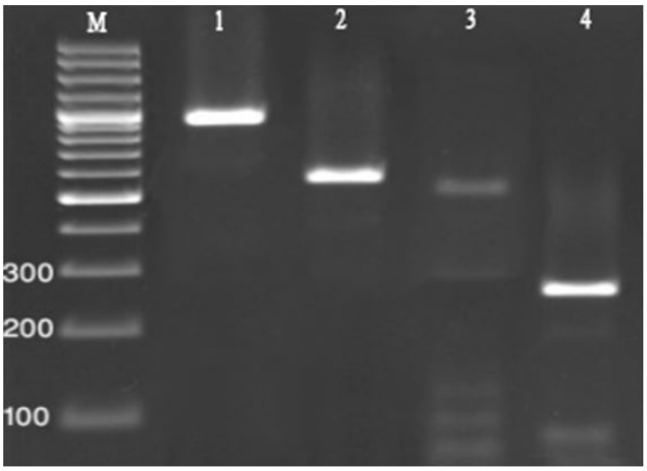
نوع نمونه	تعداد نمونه مثبت در روش PCR	فراوانی انتروتوکسین‌ها (٪)				
		cpa	*Cpb*	*Cpe*	*cpi*	*etx*
کشک صنعتی	۳	۲ (٪۶۶/۶)	۱ (٪۳۳/۳۳)	۲ (٪۶۶/۶)	۱ (٪۳۳/۳۳)	۱ (٪۳۳/۳۳)
کشک سنتی	۵	۱ (٪۲۰)	۱ (۲۰)	۴ (٪۸۰)	-	-
گوشت گوسفند	۳	۲ (٪۶۶/۶)	۱ (٪۳۳/۳۳)	۲ (٪۶۶/۶)	۱ (۳۳/۳۳)	۱ (٪۳۳/۳۳)
گوشت گاو	۵	۳ (٪۶۰)	۳ (٪۶۰)	۴ (٪۸۰)	۲ (٪۴۰)	۱ (٪۲۰)
کل	۱۶	۸ (٪۵۰)	۴ (٪۲۵)	۶ (٪۳۷/۵)	۳ (٪۱۸/۷۵)	۲ (٪۱۲/۵)

نتایج جدول ۳، نشان دهنده ی حضور نسبتاً بالای ژن های مولد انتروتوکسین‌های باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس در نمونه‌های مورد بررسی بودند. نتایج نشان داد که ژن *cpe* بیشترین فراوانی(۷۵٪) و ژن‌های *cpi* و *etx* کمترین فراوانی(۱۲/۵٪) را در نمونه های کشک داشتند. بررسی‌های آماری نشان دهنده ی اختلاف معنی دار آماری برای میزان شیوع انتروتوکسین‌ها در نمونه‌ها بود(P=۰/۰۲۳). فراوانی انتروتوکسین‌های باکتری بین نمونه‌های کشک صنعتی و سنتی نیز اختلاف معنی دار آماری نشان دادند(P=۰/۰۱۹).

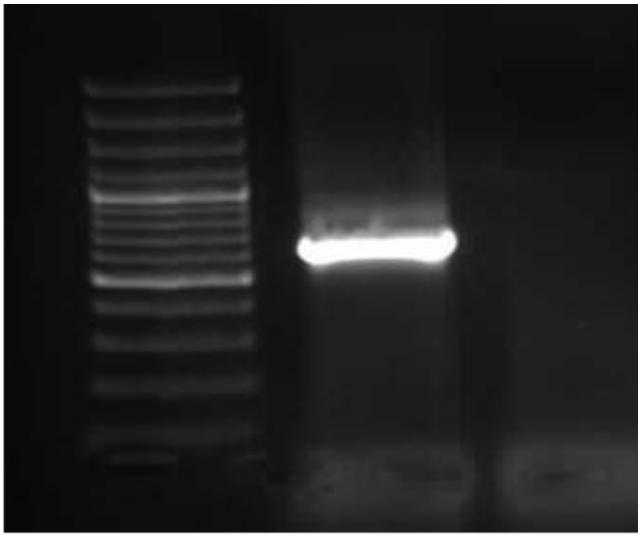
[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-31]



تصویر ۱: الکتروفورز ژل آگارز کلستریدیوم پرفرینجنس در نمونه های کشک و گوشت در شهرکرد. خط ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، خط ۲: نمونه مثبت برای ژن 16S rRNA، خط ۳: کنترل مثبت و خط ۴ کنترل منفی می باشد



تصویر ۲: الکتروفورز ژل آگارز توکسین های کلستریدیوم پرفرینجنس در نمونه های کشک و گوشت در شهرکرد.
M: مارکر۱۰۰ جفت بازی و خطوط ۱ تا ۴: نمونه‌های مثبت می باشند



تصویر ۳: الکتروفورز ژل آگارز ژن *etx* کلستریدیوم پرفرینجنس در نمونه های کشک و گوشت در شهرکرد. باند روشن معرف حضور ژن حدت در باکتری است(اندازه باند ۶۵۵ جفت باز)

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-31]

بحث

مطالعات اندکی در مورد آلودگی فراورده های شیر و گوشتی به باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس در ایران مشاهده می شود. بررسی حاضر نشان داد که فراورده‌های شیر تولیدی شامل کشک ها به عنوان عاملی برای انتقال باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس به انسان مطرح هستند. هم چنین گوشت گاوها و گوسفندها به صورت خام، پتانسیل انتقال آلودگی به انسان را دارند. به هر حال هیچ کدام از نمونه ها آلودگی به کلستریدیوم پرفرینجنس با روش کشت میکروبی را نشان ندادند. با این وجود روش مولکولی استفاده شده در این بررسی نشان از حضور ژنوم باکتری در نمونه ها بود(جدول ۲). در نمونه های کشک صنعتی و سنتی بیشترین آلودگی مربوط به کشک های سنتی بود. احتمالاً دلیل اصلی بالا بودن میزان شیوع مولکولی کلستریدیوم پرفرینجنس در نمونه‌های کشک سنتی، به دلیل عدم رعایت موارد بهداشتی در این فراورده‌ها یا وجود هاگ های آن در شیر خام و عدم رعایت موارد بهداشت شیردوشی در گاوداری‌ها می‌باشد(۱۸). در بررسی در هند توسط Gurmu و همکاران، آلودگی شیر خام و فراورده های شیر را به کلستریدیوم پرفرینجنس به ترتیب ۱۰ درصد و صفر درصد گزارش کردند(۱۸). با توجه به اینکه تاکنون مطالعات بسیار اندکی در مورد حضور کلستریدیوم پرفرینجنس در فراورده های شیر در ایران و سایر کشورها وجود دارد، احتمالاً این بررسی اولین گزارش از حضور این باکتری در کشک های سنتی و صنعتی می باشد. بر اساس نتایج، آلودگی این فراورده ۸ درصد گزارش شد. در بررسی Grass و همکاران از سال ۱۹۹۸ تا ۲۰۱۰ در ایالات متحده آمریکا، میزان شیوع این باکتری در فراورده‌های گوشتی را ۳۵ درصد گزارش نمودند. میزان وقوع مسمومیت غذایی ناشی از باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس را ۲۸۹ نفر اعلام کردند. این بررسی نشان داد که غذاهای تهیه شده در رستوران ها، خانه‌ها و زندان‌ها به ترتیب عامل بروز مسمومیت در ۴۳،۱۶ و ۱۱ درصد از افراد بوده است. بنابراین دستکاری‌هایی که توسط افراد آلوده و احتمالاً حامل باکتری روی غذاها انجام می‌پذیرد، می‌تواند یکی از اصلی‌ترین دلایل مسمومیت‌های غذایی ناشی از کلستریدیوم پرفرینجنس در جوامع بشری باشد(۱۹).

در مطالعه ی دیگری توسط Atwa & El-Roos میزان شیوع باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس را در نمونه‌های بیف برگر، گوشت گاو، گوشت چرخ کرده، سوسیس، کباب لقمه ای، بیستورما، کنسروگوشت و ژامبون به ترتیب ۲۸،۱۶،۳۶،۶۸،۲۸،۵۲،۶۰ و ۶ درصد گزارش کردند(۲۰). در بررسی حاضر که همسو با مطالعات قبلی است، میزان آلودگی گوشت های خام ۱۸/۶ درصد گزارش شد. همان طور که دیده می‌شود، بررسی‌های مختلف، میزان‌های شیوع متفاوتی را برای باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس بیان می‌کنند. از جمله دلایل اصلی این تفاوت‌ها در میزان شیوع این باکتری می‌توان به نوع نمونه ها، روش نمونه گیری، روش تولید مواد غذایی، نگهداری و حمل و نقل مواد غذایی، روش انجام آزمایش، فصل، منطقه جغرافیایی وآداب و رسوم مردم اشاره کرد. بررسی در ژاپن توسط Kaneko و همکاران نشان داد که ۷۰ درصد از اغذیه گوشتی آماده مصرف در این کشور آلوده به باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس بود و از این بین تنها ۴ درصد حامل ژن *cpe*، بودند اما فراوانی ژن *cpa*، ۷۴ درصد بود(۷). در مطالعه ی Wen & McClane در سال ۲۰۰۴ نیز میزان شیوع باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس در امریکا برای مواد غذایی مانند گوشت بوقلمون، مرغ، خوک، گوشت آماده مصرف خوک، گوشت آماده مصرف گوساله، ماهی، میگو، گوشت گوسفند و سوسیس را به ترتیب ۲۸،۳۸،۲۷،۶۱،۲۳،۳۰،۱۷،۳۸ و ۲۴ درصد گزارش نمودند. در بین نمونه‌های مثبت از نظر باکتری، فراوانی تیپ‌های A،A-β2 و ژن *cpe* به ترتیب ۱۴درصد، ۳ درصد و۳ درصد گزارش گردید(۲۱). جباری و همکاران در سال ۲۰۱۲ میزان شیوع توکسین *cpb2* را در تیپ‌های A، B، C و D کلستریدیوم پرفرینجنس جداسازی شده از منابع حیوانی و دامی به ترتیب ۵۴/۵ درصد، ۶۲ درصد، ۴۲/۸ درصد و ۶۹/۲۵ درصد گزارش کردند. در بررسی آنها ۵۶/۷ درصد از جدایه‌های کلستریدیوم پرفرینجنس دارای ژن *cpb* بودند(۲۲). در بررسی Cooper و همکاران، آلودگی ۶۹/۶ درصدی کبد مرغ های عرضه شده در توسکان آمریکا به کلستریدیوم پرفرینجنس تیپ A نشان داده شد و همگی آنها فاقد ژن *cpe* بودند(۴). در مطالعه حاضر در مورد حضور انواع ژن ها در نمونه های گوشتی، نتایج نشان داد که ژن *cpe* بیشترین فراوانی(۷۵٪) را داشته ولی در گوشت گاو، ژن *cpb* برابر ۶۰٪ و در گوشت گوسفند ۳۳/۳٪ بود. به نظر می‌رسد ژن‌های تشخیص داده شده در بررسی حاضر عوامل حدت اصلی باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس بوده و حضور آنها موید بروز بیماری در انسان و حیوانات می‌باشد. با وجود این که در بررسی حاضر هیچ گونه پرگنه مشخص کلستریدیوم پرفرینجنس با استفاده از روش کشت جداسازی نشد، اما فراوانی توکسین‌های مختلف کلستریدیوم پرفرینجنس بسیار قابل توجه بود. از محدودیت های انجام پژوهش حاضر می توان به مواردی هم چون فراوانی بالای نمونه های فراورده های گوشتی و نمونه های کشک صنعتی و سنتی در فروشگاه ها، لذا امکان نمونه برداری به تعداد خیلی زیاد وجود نداشت.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-31]

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده به نظرمی رسد نیاز به انجام مطالعات اپیدمیولوژیک کامل تری در مناطق گسترده تری در ایران برای شناسایی آلودگی ها به کلستریدیوم پرفرینجنس در مواد غذایی مختلف لازم است. هم چنین در تمام مراحل زنجیره ی تولید فراورده های شیر و گوشتی نیز، به بررسی نقاط خطر پرداخته شود. پیشنهاد می شود که اصول تعیین نقاط کنترل بحرانی و ارزیابی مخاطرات در فرایند خط کشتار در کشتارگاه های دام و هم چنین در فرایند تولید فراورده های شیر به طور کامل و دقیق انجام گردد. هم چنین فراورده های سنتی شیر به طور بهداشتی تولید شده و بسته بندی گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل یک فعالیت پژوهشی مستقل می باشد، بدین وسیله از همکاران مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد تقدیر و تشکر می شود.

منابع

1. Poursoltani M, Mohsenzadeh M, Razmyar J & Peighambari MS. Toxinotyping of clostridium perfringens strains isolated from packed chicken portions. Iranian Journal of Medical Microbiology 2014; 8(1): 9-17[Article in Persian].

2. Aras Z & Hadimli HH. Detection and molecular typing of clostridium perfringens isolates from beef, chicken and Turkey meats. Anaerobe 2015; 32(1): 15-7.

3. Gizachew H. A review on clostridium perfringens food poisoning. Global Research Journal of Public Health and Epidemiology 2017; 4(3): 104-9.

4. Cooper KK, Bueschel DM & Songer JG. Presence of clostridium perfringens in retail chicken livers. Anaerobe 2013; 21(1): 67-8.

5. Komatsu H, Inui A, Sogo T & Fujisawa T. Clostridium perfringens. Nihon Rinsho Japanese Journal of Clinical Medicine 2012; 70(8): 1357-61.

6. Addis M & Sisay D. A review on major food borne bacterial illnesses. Journal of Tropical Diseases & Public Health 2015; 3(1): 176.

7. Kaneko I, Miyamoto K, Mimura K, Yumine N, Utsunomiya H, Akimoto S, et al. Detection of enterotoxigenic clostridium perfringens in meat samples by using molecular methods. Applied and Environmental Microbiology 2011; 77(21): 7526-32.

8. Poursoltani MRJ, Mohsenzadeh M & Peighambari M. Isolation and antibiotic susceptibility testing of clostridium perfringens isolated from packaged wing, neck, liver and gizzard of broilers in retail stores of Northeastern of Iran. Iranian Journal of Medical Microbiology 2013; 7(1): 35-9[Article in Persian].

9. Tudor L, Ilie LI, Mitranescu E, Ciocarlie N & Logoe I. The assessment of microbiological quality of some traditional Romanian cheese. Lucrari Tinifice Medicina Veterinaria 2009; 8(2): 315-20.

10. Guerra MMM, Almeida AM & Willingham AL. An overview of food safety and bacterial foodborne zoonoses in food production animals in the caribbean region. Tropical Animal Health and Production 2016; 48(1): 1095-108.

11. Ahsani MR, Mohammadabadi MR & Shamsaddini MB. Clostridium perfringens isolate typing by multiplex pcr. Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases 2010; 16(4): 573-8.

12. Baums CG, Schotte U, Amtsberg G & Goethe R. Diagnostic multiplex pcr for toxin genotyping of clostridium perfringens isolates. Veterinary Microbiology 2004; 100(1-2): 11-6.

13. Ahsani M & Shamsaddini B. Compare of two methods of direct pcr and pcr with dna extraction in clostridium perfringens typing. Iranian Veterinary Journal 2013; 8(4): 5-12[Article in Persian].

14. Michaud V, Gil P, Kwiatek O, Prome S, Dixon L, Romero L, et al. Long-term storage at tropical temperature of dried-blood filter papers for detection and genotyping of rna and dna viruses by direct pcr. Journal of Virological Methods 2007; 146(1-2): 257-65.

15. Irikura D, Monma C, Suzuki Y, Nakama A, Kai A & Fukui-Miyazaki A. Identification and characterization of a new enterotoxin produced by clostridium perfringens isolated from food poisoning outbreaks. PloS One 2015; 10(11): 138-183.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-31]

16. Wu J, Zhang W, Xie B, Wu M, Tong X, Kalpoe J, et al. Detection and toxin typing of clostridium perfringens in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue samples by pcr. Journal of Clinical Microbiology 2009; 47(3): 807-10.

17. Gad W, Hauck R, Krüger M & Hafez H. Prevalence of clostridium perfringens in commercial Turkey and layer flocks. Archiv Für Geflüge Lkunde 2011; 75(1): 74-9.

18. Gurmu EB, Hazarika RA, Borah P & Barua AG. Prevalence of enterotoxigenic clostridium perfringens in foods of animal origin, Guwahati, India. Journal of Environmental and Occupational Science 2013; 2(1): 45-50.

19. 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.

20. Atwa EI & EI-Roos NAA. SIncidence of clostridium perfringens in meat products at some Egyptian governorates. International Journal of Microbiology Research 2011; 2(3): 96-203.

21. Wen Q & McClane BA. Detection of enterotoxigenic clostridium perfringens type A isolates in American retail foods. Applied and Environmental Microbiology 2004; 70(5): 2685-91.

22. Jabbari A, Tekyei F, Esmaeilizad M & Pilehchian Langroudi R. Occurrence of beta2 toxigenic clostridium perfringens isolates with different toxin types in Iran. Archives of Razi 2012; 67(2): 133-7[Article in Persian].

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-31]

Molecular Detection of Clostridium Perfringens in Some Raw Animal Food Origin Products in Shahrekord, 2014

Shakerian Amir[1] (Ph.D.) - Rahimi Ebrahim[1] (Ph.D) - Mesbah Jamal[2] (D.V.M) - Mousavi Mohammad[2] (D.V.M)

1 Professor, Food Hygiene Department, School of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

2 Ph.D. in Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Abstract

Received: Dec 2016
Accepted: Apr 2017

Background and Aim: Clostridium perfringens is one of the major agents of food poisoning in humans around the world. This study was accomplished to identify and track the toxins of Clostridium perfringens bacterium in some raw animal food origin products in Shahrekord.

Materials and Methods: In this study, 100 samples of traditional and commercial curd and 43 samples of beef and lamb meats were randomly collected from Shahrekord's shopping center in 2014. Then to identify the bacteria in samples cultivation and polymerase chain reaction (PCR) method were used.

Results: In culture method no positive samples were isolated. However, frequency of Clostridium perfringens bacterium in traditional and commercial curd samples and beef and lambs samples have been reported as 6, 10, 25 and 13 percent using PCR method, respectively. Frequency of *cpa*, *cpb*, *cpe*, *cpi* and *etx* genes were detected in curd samples were 37.5, 25, 75, 12.5 and 12.5 percent respectively and in meat samples 62, 50, 75.5, 37.5 and 25 percent respectively. Statistically significant differences were observed between the prevalence of the bacterium in various samples and their isolated toxins ($p < 0.05$).

Conclusion: With attention to infection of above food samples to Clostridium perfringens and also its transfer by foodstuffs to human, it is necessary to reduce food pollution of this organism for of public health.

Keywords: Clostridium Perfringens, Curd, Meat, PCR

*** Corresponding Author:**
Shakerian A;
Email:
amshakerian@iaushk.ac.ir

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-05-31]