



بررسی فنوتیپی و شناسایی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی برخی باکتری‌های بیماریزای شاخص در سردخانه‌های مواد غذایی سه بیمارستان بزرگ در تهران

الهام سلطان زاده^۱، عباسعلی مطلبی مغانجوق^{۱*}، هدایت حسینی^۲، محمد علی برومند^۳

۱ گروه بهداشت مواد غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲ گروه صنایع غذایی دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۳ گروه آسیب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۵

چکیده

در این بررسی باکتری‌های سردخانه‌های مواد غذایی سه بیمارستان بزرگ تهران ارزیابی گردید. نمونه‌برداری از سردخانه‌های مواد غذایی از بخش‌های مختلف ۳ بیمارستان بالای ۴۰۰ تختخوابی طی ۱۰ ماه متوالی از خرداد تا اسفند ۱۳۹۸ هفته‌ای یک‌بار صورت پذیرفت. پس از تعیین هویت جدایه‌ها با آزمون‌های افتراقی، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی تعیین گردیده و با روش مولکولی PCR حضور ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های مقاوم بررسی شد. در مجموع ۲۳۶ نمونه مثبت از یخچال‌ها و ۴۲ نمونه مثبت از سردخانه‌های سه بیمارستان جدا شد. بیشترین نمونه‌های مثبت از دستگاه‌هایی با ظاهر نامناسب، دمای بالای ۸ درجه سانتی‌گراد و طبقات یخچال‌ها بدست آمدند. بیشتر ایزوله‌ها متعلق به گروه باکتریایی انتروباکتر (۶۸/۸٪)، استاف (۱۱/۹٪) و انتروکوک (۱۰/۶٪) بود. ۲ مورد *salmonella* spp و ۱ مورد *L.monocytogenes* از سردخانه‌ها جدا شد. نمونه‌های سردخانه‌ای نسبت به همه آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در این مطالعه حساس بودند. در ایزوله‌های یخچالی، بیشترین مقاومت به ترتیب مربوط به ESBL (۹/۷٪)، VRE (۵/۳٪)، MRSE (۰/۴٪) و MRSA (۰/۴٪) بود. در بررسی فراونی ژن‌های مقاومت، ژن‌های *bla*_{CTX} و *bla*_{OXA-48} و *bla*_{TEM} در ۱۰٪ از ایزوله‌های گروه انتروباکتر یافت شد. ژن *bla*_{OXA-51} در همه گونه‌های مقاوم غیر-انتروباکتر یافت شد و همچنین ژن‌های *vana* و *mecA* در ایزوله‌های مقاوم استاف و انتروکوک یافت شد. آلودگی‌های باکتریایی یخچال‌های بیمارستانی، هشدار بر احتمال انتقال آلودگی، شیوع بیماری، شکست در درمان، تشدید عوارض بیماری و خطر انتقال ژن‌های مقاوم از سویه‌های مقاوم به سویه‌های حساس می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بیماری منتقله از طریق غذا، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، یخچال‌های بیمارستانی، ایمنی مواد غذایی

* abbasalimotallebi@gmail.com

مقدمه

بهداشت و ایمنی مواد غذایی اصلی مهم برای جلوگیری از ابتلای انسان به بیماری‌های گوناگون، حفظ محیط از آلودگی و رعایت اصل «پیشگیری مقدم بر درمان» می باشد. بهداشت مواد غذایی در واقع تضمین کننده سودبخشی غذای مناسب و یک رکن اساسی در تغذیه صحیح است. طبق تعریف کمیسیون Codex alimentarius، بهداشت مواد غذایی عبارت است از «کلیه موازینی که رعایت آن‌ها در تولید، فرآیند، نگهداری و عرضه مواد غذایی ضروری است تا ماده غذایی سالم و با کیفیت بالای بهداشتی به دست مصرف کننده برسد». شیوع بیماری‌های قابل انتقال از طریق غذا نشانگر گسترش مشکلات مربوط به بهداشت عمومی به ویژه در کشورهای در حال توسعه می باشد. سازمان بهداشت جهانی به بیماری‌های ناشی از آلودگی مواد غذایی به عنوان یکی از مهم ترین مشکلات بهداشت در دنیای معاصر می نگرد (۱). اکثر موارد بیماری‌های منتقله از مواد غذایی توسط میکروارگانیسم‌ها ایجاد می گردد. طغیان این بیماری‌ها هر ساله زندگی افراد زیادی را به خطر انداخته، موجب ایجاد مشکلات اجتماعی و اقتصادی برای آن‌ها می شود که این مسأله در کشورهای در حال توسعه شایع تر است (۲). در کشورهای کمتر توسعه یافته افراد بیشتری به علت کمبود آگاهی بهداشتی، همچنین ذخیره سازی غذا تحت شرایط غیربهداشتی دچار بیماری می شوند. شیوع بیماری‌های قابل انتقال از طریق غذا در کشورهای توسعه یافته و پیشرفته نیز در حال افزایش است (۳). تخمین زده می شود که ۶۰۰ میلیون نفر، تقریباً یک نفر از هر ۱۰ نفر در جهان، سالانه به دلیل مصرف غذای آلوده بیمار شود، که بیماری‌های اسهالی

رایج ترین نوع آن‌ها است. بیمارستان به عنوان پیچیده ترین سازمان نظام سلامت، بیش از سایر سازمان‌ها با موضوع کیفیت خدمات مواجه می باشد؛ زیرا کیفیت خدمات عامل مهمی در ماندگاری و رشد یک بیمارستان بوده، به عنوان یک راهبرد مؤثر در دستور کار مدیران قرار دارد (۴). در محیط‌های درمانی و بیمارستانی، رژیم غذایی ایمن، سالم، با کیفیت و مغذی از ارکان اساسی برای درمان و بهبود بیماران است و باید در زمان‌های مختلف در دسترس باشد. (۵). تغذیه مناسب بیماران بستری در بیمارستان که گروهی آسیب پذیر به شمار می آیند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۶). تهیه و فراهم کردن غذای مناسب در بیمارستان به دلیل تنوع در نیازها و سلیقه بیماران و محدودیت‌های موجود در بیمارستان، کاری پیچیده و دشوار است (۷). تأمین سیستم خدمات غذایی که غذای بیمار و دریافت مواد مغذی را به روش مقرون به صرفه‌ای تأمین نماید، یک اقدام اساسی در بیمارستان است (۸).

شیوع بیماری‌های غذازا در بیمارستان‌ها ممکن است عواقب سنگینی داشته باشد. زمانی که منشأ آلودگی از باکتری‌های بیماری‌زا باشد مدیریت غلط در بخش تغذیه (اعم از نگهداری صحیح) ممکن است سبب گسترش آلودگی‌ها، نهایتاً باعث ایجاد بیماری در افراد مستعد یا حتی مرگ در گروه‌های حساس شوند (۸). شیوع بیماری‌های غذازا در افراد سالخورده، کودکان و افراد دچار ضعف دستگاه ایمنی (از جمله بیماران مبتلا به ایدز، سرطان خون، بیماران دیالیزی، دیابتی و ...) به شدیدترین شکل رخ می دهد. بخش تغذیه در بیمارستان‌ها با مشکلات مربوط به جابجایی مقادیر زیادی از مواد غذایی خام، تحویل غذاهای زیاد و متنوع در عرض یک روز به بیماران، تهیه و آماده سازی غذا برای رژیم‌های مختلف، سرو یا تحویل غذاها روبرو است که هر گونه آلودگی در این چرخه اثرات زیان باری به همراه خواهد

داشت (۹). به طور خلاصه عفونت‌های بیمارستانی از جنبه‌های مختلف از جمله مرگ و میر و بیماری‌زایی در بیماران، افزایش طول مدت بستری و هزینه‌های ناشی از طولانی شدن اقامت بیماران، اقدامات تشخیصی و درمانی حائز اهمیت می‌باشند. منابع عفونت ممکن است پرسنل، بیماران، ملاقات‌کنندگان یا محیط بی‌جان مانند وسایل و تجهیزات پزشکی، لباس، مواد یا وسایل آشپزخانه‌ها، انبار و سردخانه مواد غذایی باشد و میکروارگانیسم‌های این منابع می‌توانند از طریق تماس مستقیم یا غیرمستقیم به یک میزبان جدید منتقل شوند (۹). یکی از مهم‌ترین موارد انتقال عفونت، انتقال از راه مواد غذایی است. بنابراین کنترل بهداشتی اماکن تهیه، تولید مخصوصاً نگهداری مواد غذایی در بیمارستان بسیار ضروری به نظر می‌رسد. فاکتورهایی که به طور معمول در اپیدمی بیماری‌های ناشی از مواد غذایی نقش دارند شامل ذخیره سازی نامناسب مواد غذایی (دما/زمان)، آلوده شدن ابزار مورد استفاده، بهداشت شخصی ضعیف، تهیه غذا از منابع ناسالم و زمان پخت ناکافی می‌باشد (۱۰). یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های باکتری‌های شاخص آلوده‌کننده مواد غذایی، شیوع و افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها است. از زمان ورود آنتی‌بیوتیک‌ها در استفاده بالینی، باکتری‌ها با ایجاد مکانیسم‌های مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها از خود محافظت کرده‌اند. در حال حاضر، مشکلات فزاینده‌ای در سراسر جهان با باکتری‌های مقاوم به چنددارو وجود دارد. این مشکلات به ویژه در بیمارستان‌ها بسیار مشهود است، طوریکه اغلب به صورت اپیدمی‌های بیمارستانی ظاهر می‌شود. مهم‌ترین عوامل میکروبی مسئول عفونت‌های بیمارستانی باکتری‌های دارای الگوهای مقاومتی چندگانه می‌باشند. در حال حاضر، مهم‌ترین مشکلات مقاومت به چند دارو در بیمارستان در مقیاس جهانی ناشی از */ستافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین، */نتروکوک‌های* مقاوم به

ونکومایسین، */نتروباکتریاسه* با بتالاکتامازهای وسیع الطیف با پلاسمید، گونه‌های *آسیتوباکتر* و *سودوموناس* است. با وجود تفاوت در گونه‌های باکتریایی، تفاوت در مکانیسم‌های مقاومت، نیچ‌های مختلف اکولوژیکی و عفونت‌های مختلف ناشی از این عوامل بیماری‌زا، شباهت‌های قابل توجهی در متغیرهای تعیین‌کننده گسترش بیمارستانی وجود دارد (۱۱ و ۱۲). با تمام پیشرفت‌هایی که در زمینه ایمنی و سلامت به دست آمده است، محیط بیمارستان همچنان مکان مناسبی برای میکروارگانیسم‌هایی است که مدت طولانی روی سطوح باقی می‌مانند و به سادگی توسط افراد و کارکنان منتقل می‌شوند (۱۳). بنابراین اهمیت رعایت اصول بهداشت مواد غذایی برای جلوگیری از انتقال آلودگی متقاطع، از سطوح آلوده به مواد غذایی، در محیط‌هایی مانند بیمارستان‌ها دو چندان است. در سال‌های گذشته بخصوص دو دهه اخیر، احتمال آلودگی باکتریایی محل ذخیره و نگهداری مواد غذایی (خام و پخته) مانند انبارها، سردخانه‌ها و به طور خاص یخچال‌ها مورد توجه محققان سراسر دنیا قرار گرفته است. با این وجود تمرکز این گونه تحقیقات روی محیط‌های خانگی و رستوران‌ها بوده است (۱۴ و ۱۵). اکثر تحقیقات در مورد آلودگی باکتریایی در بیمارستان‌ها نیز، در زمینه محیط، وسایل و تجهیزات بیمارستانی بوده (۱۶)، کمتر به بررسی این گونه آلودگی‌ها در سطح آشپزخانه پرداخته اند که آن نیز بیشتر معطوف به سطوح، میز کار آشپزخانه، تخته خردکن، چاقو و... می‌باشد (۱۷). در مورد یخچال‌های موجود در بیمارستان‌ها، یا سردخانه‌های مواد غذایی موجود در آشپزخانه‌های بیمارستانی برخلاف سایر تجهیزات یا تحقیق کاملاً مشابهی انجام نشده، یا نتیجه‌ای منتشر نگردیده است. از آن جا که توجه و پیشگیری از انتشار عوامل آلاینده در مراکز درمانی، بویژه بخش‌هایی که بیماران خاص با سیستم ایمنی ضعیف دارند، باید مدنظر قرار گیرد؛ همچنین با توجه به

استفاده بیش از حد و خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها، ایجاد و انتشار مقاومت آنتی‌بیوتیکی، این تحقیق برای اولین بار قصد دارد به بررسی فنوتیپی، تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی و شناسایی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی برخی باکتری‌های بیماریزای غذایی شاخص در سطوح داخلی یخچال‌ها و سردخانه‌های بیمارستانی پردازد. نتایج این مطالعه، قطعاً مورد توجه مراکز درمانی جهت پیشگیری و کنترل عوامل خطر قرار خواهد گرفت.

مواد و روش کار

این بررسی در طول ده ماه و در سال ۱۳۹۸ در سه بیمارستان با بیش از ۴۰۰ تخت خواب در تهران با کد مصوب پروپزال ۹۴۳ صورت پذیرفت. نحوه نمونه برداری بصورت تصادفی از سردخانه‌های بیمارستان به تعداد ۶۰ یخچال به شرح جدول ۱ بود. لازم به ذکر است قبل از نمونه‌برداری دمای قسمت

های مختلف یخچال یا سردخانه‌ها با ترمومتر لیزری اندازه‌گیری و ثبت شد. جهت انجام نمونه‌گیری پس از بررسی ظاهری و پرکردن فرم مربوطه (میزان تمیزی، زمان تمیزکردن و ...) با استفاده از سواب استریل آغشته به آب پیتون بافر، از دیواره‌ها و طبقات هر سردخانه (تقریباً ۲ cm^{۱۰۰}) طبق استاندارد ملی شماره ۴۸۰۶ نمونه‌گیری صورت گرفت. تمامی سواب‌ها در شرایط سرد (دمای ۱±۴°C) طی یک الی دو ساعت به آزمایشگاه منتقل شده، پس از ۲۴ ساعت غنی‌سازی، در شرایط استریل، مورد بررسی و کشت طبق استاندارد ملی ۴-۸۹۰۰ قرار گرفتند. در خصوص یخچال‌ها نیز نمونه‌گیری با سواب مرطوب از دیواره‌ها، طبقات، به خصوص طبقه پایینی یخچال‌ها و گوشه‌های آن همچنین سطح داخلی درب یخچال‌ها، جا تخم مرغی و درز داخلی آن‌ها انجام شد و هر سواب به مدت ۲۴ ساعت یا بیشتر در محیط غنی‌کننده خاص خود جهت بررسی‌های بعدی قرار گرفت.

جدول ۱: بخش‌های مختلف نمونه‌برداری از بیمارستان‌ها

بخش‌های بیمارستانی	بیمارستان A	بیمارستان B	بیمارستان C
	ICU	ICU اطفال	NICU
		پیوند کلیه	ICU جنرال
	CCU	اورولوژی	پیوند مغز استخوان
		پیوند مغز استخوان	پیوند کبد
		زنان و زایمان	شیمی درمانی
	جراحی‌ها	جراحی فک و صورت	جراحی‌ها
سردخانه‌ها	سردخانه گوشت	یک سردخانه مشترک	سردخانه گوشت
	سردخانه لبنیات		سردخانه لبنیات
	سردخانه سبزیجات		سردخانه سبزیجات

آزمایش‌های تشخیص فنوتیپی و تعیین هویت

از سواب‌های مربوط به هر یخچال یا سردخانه، پس از غنی سازی ۲۴ ساعته یا بیشتر در ۳۷ درجه سانتیگراد، جهت بررسی و تهیه ایزوله‌های مورد نظر، مراحل زیر انجام شد:

از هر سواب غنی شده در محیط TSB، بر روی مکانیکی آگار MCA و بلاد آگار جهت رشد باکتری‌های گرم منفی و بر روی بردپارکر آگار BPA (مانع رشد کلی فرمها و حامی رشد/ستافیلوکوکوس) و XLD آگار جهت رشد سالمونلا‌ها کشت داده شد. تمامی پلیت‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷°C قرار داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت پلیت‌ها از لحاظ رشد باکتری بررسی شدند. در بیشتر موارد جهت جداسازی سوش خالص، ایزوله کردن با کشت چهار منطقه ای به دفعات انجام شد. روی کلنی‌های رشد کرده آزمون گرم انجام گرفت و بر اساس گرم مثبت یا منفی بودن سایر آزمون‌های بیوشیمیایی و کشت جهت شناسایی باکتری‌ها انجام شد (۱۸).

شناسایی باکتری‌های گرم مثبت و منفی

برای شناسایی باکتری‌های گرم مثبت از آزمون‌های رنگ آمیزی گرم، کاتالاز، اکسیداز، کوآگولاز، تخمیر مانیتول، همولیز و برای باکتری‌های گرم منفی از آزمون‌های اکسیداز، آزمون تریپل شوگر آیرون آگار، MR، VP، تحرک و تولید اندول، سترات، اوره، دکربوکسیلاسیون (لیزین، اورنیتین و آرژنین) استفاده شد (۱۸).

ذخیره‌سازی جدایه‌های بدست آمده

برای این کار کلنی باکتری در محیط ۵ میلی‌لیتری BHI Broth کشت داده شد و پس از رشد، در تیوب ۱/۵ از آن رسوب سلولی تهیه شد. به این صورت که در شرایط استریل ابتدا ۱/۶ میلی‌لیتر از محیط به تیوب اضافه شده، در ۹۰۰۰ rpm به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ و پس از خالی کردن محلول رویی مجدداً ۱/۶ میلی‌لیتر از محیط کشت به تیوب اضافه گردید و سانتریفیوژ شد. در مرحله‌ی بعد باقیمانده‌ی محیط هم در تیوب ریخته، سانتریفیوژ شد. پس از تهیه‌ی

رسوب سلولی، روی رسوب بدست آمده در شرایط استریل با سرنگ، محیط BHI Broth استریل دارای ۱۸٪ گلیسرول اضافه شد و به خوبی با محیط مخلوط شد.

تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی با روش دیسک آگار دیفیوژن

دیسک آگار دیفیوژن

ابتدا محیط مولر هیتون آگار طبق دستورالعمل CLSI تهیه شد (۱۹). سپس از این سوسپانسیون با سواب استریل روی محیط مولر هیتون آگار در سه جهت مختلف تلقیح شد و مدت ۳ تا ۵ دقیقه به همان حال باقی ماند تا رطوبت اضافی قبل از گذاشتن دیسک های آنتی بیوگرام توسط آگار جذب شود. سپس دیسک های مورد آزمایش توسط پنس استریل روی سطح محیط مولر هیتون آگار تلقیح شده قرار داده شدند. جهت رعایت فاصله بین دیسک ها روی محیط کشت به میزان ۲۵ میلی متر از همدیگر و ۱۵ میلی متر از جدار پلیت، دیسک روی یک پلیت ۹۰ میلی متری گذاشته شد. ظرف مدت ۱۵ دقیقه پس از دیسک گذاری، پلیت ها جمع آوری شده، در وضعیت وارونه، مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت در ۳۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند؛ بعد از این مدت برای قرائت نتیجه آزمایش از چشم غیر مسلح در حضور نور متمرکز، قطرهاله ممانعت شونده از رشد هر آنتی باکتریال بر حسب میلی متر توسط خط کش اندازه گیری شد و با مقایسه با جدول تفسیر قطر هاله براساس حساس (S)، نیمه حساس (I) و مقاوم (R) طبقه بندی شدند. نمونه های مقاوم در میکروتیوپ های حاوی TSB و گلیسرول ۲۰ درصد جهت انجام پروفایل ژنتیکی در منفی ۷۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. برای

وانکومایسین، الگوی حساسیت و مقاومت آن ابتدا با استفاده از دیسک وانکومایسین مشخص شد. قطر هاله بیشتر یا مساوی ۱۷ میلی متر به عنوان حساس، ۱۵-۱۶ میلی متر نیمه حساس و کمتر یا مساوی ≥ 14 میلی متر به عنوان مقاوم در نظر گرفته شد. سپس، روش آگار دایلوژن با استفاده از آگار BHI نیز طبق دستورالعمل های CLSI (Supplement M100؛ ۲۰۲۱) انجام شد. از سویه های *E. faecalis* ATCC 29212 (به عنوان سویه حساس) و *E. faecalis* ATCC 51299 (به عنوان سویه مقاوم) به عنوان سویه های کنترل استفاده شد. وجود بیش از ۱ کلنی نشان دهنده مقاومت احتمالی وانکومایسین بود. معیارهای تفسیری بر اساس CLSI تعریف شدند: MIC ≤ 4 حساس، ۸-۱۶ حد واسط و ≥ 32 به عنوان مقاوم.

دیسک آنتی بیوتیکی

در این مطالعه جهت ارزیابی تست آنتی بیوگرام از کیت های تجاری حاضری موجود در بازار (MAST انگلستان) استفاده گردید. به منظور بررسی مولکولی و حضور ژن های مقاومت آنتی بیوتیک اقدام به استخراج DNA از باکتری ها و بررسی کمی (دستگاه اسپکتروفتومتر مجهز به لامپ UV) و کیفی (ژل آگاروز ۱ درصد الکتروفورز) اقدام گردید (۲۰).

تکثیر ژن های مهم مقاوم به آنتی بیوتیک با استفاده

از تکنیک PCR

در این مطالعه باکتری های جدا شده در چهار گروه اصلی *Enterobacteriaceae* (EntrBac) Non-*Enterobacteriaceae* (Non-Entrbac) *Enterococcaceae* (Entro) و *Staphylococcus* (Staph) تقسیم بندی شدند و حضور و فراوانی ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی در آنها بررسی شد. بدین منظور از پرایمرهای لیست شده در جدول ۲ استفاده شد.

جدول ۲: اطلاعات مربوط به توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

Gene	Primers (5'-3')	Group of Resistance	Type of bacteria	amplified product	Ref.
<i>bla</i> _{TEM}	F:TCCGCTCATGAGACAATAACC R:TTGGTCTGACAGTTACCAATGC	ESB L	<i>Enterobacteriaceae</i>	931	)Soriano-Moreno et al. 2021(
<i>bla</i> _{CTX-M}	F: CTTCCAGAATAAGGGAATCCC R: CCGTTTCCGCTATTACAAAC			909	This study
<i>bla</i> _{SHV}	F: TGGTTATGCGTTATATTCGCC R:GGTTAGCGTTGCCAGTGCT			868	)Soriano-Moreno et al. 2021(
<i>bla</i> _{OXA-48}	F: GCGTGGTTAAGGATGAACAC R: CATCAAGTTCAACCCAACCG		<i>Enterobacteriaceae (Klebsiella)</i>	438	)Hatrongjit et al. 2018(
<i>bla</i> _{OXA-23}	F:GATCGGATTGGAGAACCAGA R:ATTTCTGACCGCATTTCAT	Carbapenemase	Non- <i>Enterobacteriaceae (A. baumannii)</i>	501	)Lowings et al. 2015(
<i>bla</i> _{OXA-24}	F:GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA R:AGTTGAGCGAAAAGGGGATT			246	)Lowings et al. 2015(
<i>bla</i> _{OXA-51}	F:TAATGCTTTGATCGGCCTTG R:TGGATTGCACTTCATCTTG			353	)Lowings et al. 2015(
<i>vanA</i>	F:GGGAAAACGACAATTGC R:GTACAATGCGGCCGTTA	VRE	<i>Enterococcus</i>	732	)Tatsing Foka and Ateba 2019(
<i>mecA</i>	F:GTAGAAATGACTGAACGTCCGATA A R:CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA	MRSA, MRSE	<i>Staphylococcus</i>	310	)Bahrami et al. 2019(

انجام PCR

در این بررسی از روش PCR برای ردیابی ژن‌های مقاومت *bla*_{TEM}، *bla*_{CTX-M}، *bla*_{SHV} (گروه ESBL) و ژن *bla*_{OXA-48} (گروه کاربپنماز) در باکتری‌های گروه EntrBac، ژن‌های مقاوم به آنتی بیوتیک *bla*_{OXA-23}، *bla*_{OXA-24} و *bla*_{OXA-51} (ژن‌های کلاس D کاربپنمازی) در باکتری‌های گروه Non-Entrbac (با تمرکز بر اسیتوباکتر)، ژن *vanA* (گروه VRE) Entrbac در باکتری‌های گروه Entro و ژن *mecA* (گروه MRSA) و MRSE در باکتری‌های گروه Staph استفاده شد. غلظت‌ها و مقادیر اجزاء فرآیند PCR برای تمامی ژن‌ها در جدول ۳

آورده شده است. برای تکثیر ژن‌های مقاومت *bla*_{TEM}، *bla*_{CTX-M}، *bla*_{SHV} و *bla*_{OXA-48} در باکتری‌های *Enterobacteriaceae* از واکنش PCR با شرایط دمایی و زمانی مطابق با جدول ۴ استفاده شد. واکنش PCR برای ژن‌های *bla*_{OXA-23}، *bla*_{OXA-24} و *bla*_{OXA-51} در باکتری‌های گروه Non-Entrbac به صورت چندگانه (Multiplex PCR) انجام شد که برنامه دمایی و زمانی آن در جدول ۵ نشان داده شده است. همچنین برای تکثیر ژن *vanA* در باکتری‌های *Enterococcaceae* و ژن *mecA* در باکتری‌های *Staphylococcus* از واکنش PCR با شرایط دمایی و زمانی مطابق با جدول ۶ استفاده شد.

جدول ۳: غلظت‌ها و مقادیر اجزاء واکنش PCR برای تمامی ژن‌ها

غلظت	مقدار	مواد مورد استفاده
10 pM	1 μl	Primers (F)
10 pM	1 μl	Primers (R)
2 X	12.5 μl	Master Mix PCR
50 ng	1 μl	DNA (Templet)
50 μl		Distilled water
25 μl		Total volume

جدول ۴: شرایط دمایی و زمانی واکنش PCR برای ژن‌های *bla*_{TEM}، *bla*_{CTX-M} و *bla*_{OXA-48}

PCR Program	<i>bla</i> _{CTX-M} ، <i>bla</i> _{TEM}			<i>bla</i> _{SHV}			<i>bla</i> _{OXA-48}		
	سیکل	دما	زمان	سیکل	دما	زمان	سیکل	دما	زمان
دنا تورا سیون اولیه	۱	۹۵ °C	۱۰'	۱	۹۵ °C	۱۵'	۱	۹۵ °C	۱۵'
دنا تورا سیون	۳۵	۹۵ °C	۳۰"	۳۲	۹۵ °C	۳۰"	۴۰	۹۵ °C	۳۰"
اتصال		۵۷ °C	۳۵"		۶۴ °C	۳۰"		۳۰ °C	۳۰"
طویل سازی		۷۲ °C	۳۵"		۷۲ °C	۳۰"		۷۲ °C	۵۰"
طویل سازی نهایی	۱	۷۲ °C	۷'	۱	۷۲ °C	۸'	۱	۷۲ °C	۵'

برای ژن‌های *bla*_{TEM} و *bla*_{CTX-M} به دلیل دمای یکسان اتصال پرایمر به DNA الگو از یک برنامه دمایی استفاده شد.

جدول ۵: شرایط دمایی و زمانی واکنش Multiplex PCR ژن‌های *blaOXA-23*، *blaOXA-24* و *blaOXA-51*

PCR Program	<i>blaOXA-23</i> ، <i>blaOXA-24</i> و <i>blaOXA-51</i>		
	سیکل	دما	زمان
دناتوراسیون اولیه	۱	°C۹۵	۵'
دناتوراسیون	۳۰	°C۹۴	۲۵"
اتصال		°C۵۲	۴۰"
طویل‌سازی		°C۷۲	۵۰"
طویل‌سازی نهایی	۱	°C۷۲	۶'

جدول ۶: شرایط دمایی و زمانی واکنش PCR برای ژن‌های *MecA* و *VanA*، *BlaOXA-48*

PCR Program	<i>VanA</i>			<i>MecA</i>		
	سیکل	دما	زمان	سیکل	دما	زمان
دناتوراسیون اولیه	۱	°C۹۵	۱۵'	۱	°C۹۵	۶'
دناتوراسیون	۳۵	°C۹۵	۳۰"	۳۲	°C۹۵	۴۵"
اتصال		°C۵۰	۳۰"		°C۵۰	۴۵"
طویل‌سازی		°C۷۲	۱۵"		°C۷۲	۴۵"
طویل‌سازی نهایی	۱	°C۷۲	۷'	۱	°C۷۲	۳'

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای توصیف شاخصهای کیفی از فراوانی و درصد، برای شاخصهای کمی در صورتیکه دارای توزیع نرمال باشند از میانگین و انحراف معیار ولی مواردی که دارای توزیع غیرنرمال یا چوله باشند از میانه و دامنه "میان چارکی" استفاده و برای بررسی نرمال بودن داده‌های کمی از هیستوگرام و معیارهای مرکزیت و پراکندگی ذکر شده در بالا استفاده و مقایسه متغیرهای کیفی بین گروهها، توسط آزمون "کای دو" یا در صورت نیاز آزمون دقیق فیشر انجام شد. مقایسه متغیرهای کمی بین دو گروه با استفاده از آزمون "تی نمونه‌های مستقل" و آزمون "من ویتنی" به ترتیب برای داده‌های نرمال و غیر نرمال استفاده شد. برای مقایسه متغیرهای کمی

الکتروفورز محصولات PCR

تهیه ژل الکتروفورز

برای الکتروفورز محصولات PCR از ژل ۱/۵ درصد آگارز استفاده شد. بدین صورت که مقدار مورد نیاز از آگارز در مقدار مورد نیاز از بافر TBE حل و مدت یک دقیقه حرارت داده شد تا محلول کاملاً شفاف به دست آمد. به ژل ذوب شده میزان ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر (معادل یک میکرولیتر) Safe stain اضافه گردید؛ سپس داخل سینی الکتروفورز ریخته شد و شانه قرار داده شد تا ژل به صورت جامد در آمد.

با توجه به جدول ۷ مشاهده می‌شود که از میان ۲۵۴ نمونه جمع‌آوری شده از یخچال‌های سه بیمارستان، تعداد ۲۳۶ نمونه مثبت (رشد باکتری) و ۱۸ نمونه منفی (فاقد رشد باکتری) بود که از این میان بیشترین نمونه‌هایی که مثبت بودند از یخچال‌هایی با ظاهر نامناسب (بد) جدا شدند (۴۷ مورد برابر با ۹۷/۹٪). همچنین بیشترین نمونه منفی مربوط به یخچال‌هایی با ظاهر مناسب و تمیز (خوب) بود (۱۰ مورد برابر با ۱۶/۴٪). نمودار ۱، آلودگی باکتریایی را در یخچال‌های نمونه‌برداری شده بر مبنای وضعیت ظاهری مقایسه می‌کند. همچنین براساس آزمون Chi-Square، بین دو متغیر میزان تمیزی ظاهری یخچال‌ها و میزان رشد باکتری‌ها در نمونه‌ها در سطح ۰/۰۵ رابطه معنی‌دار وجود داشت.

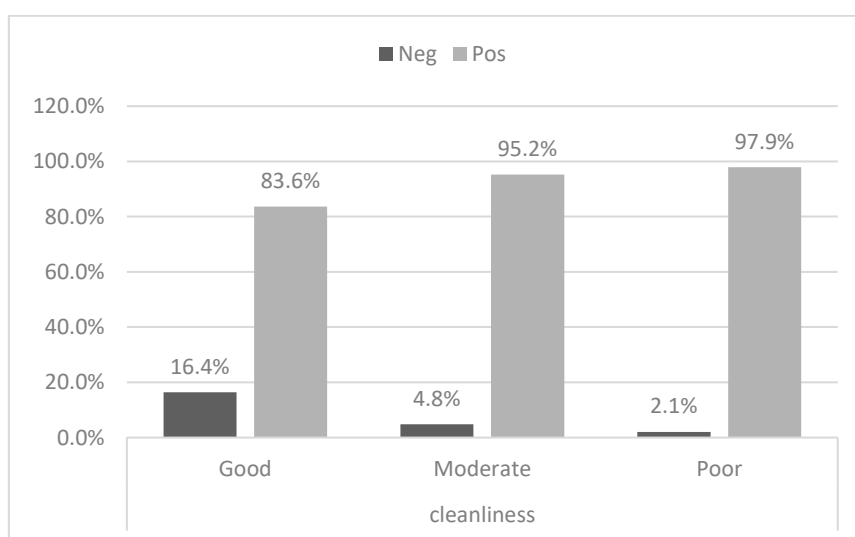
نرمال بین بیش از دو گروه از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و در صورت نیاز به انجام آزمونهای چند گانه از روش "بونفرونی" و برای مقایسه متغیرهای کمی غیر نرمال بین بیش از دو گروه از آزمون "کروسکال-والیس" استفاده شد. مقایسه‌های چند گانه نیز در صورت نیاز با مقایسه میانه رتبه‌ها انجام خواهد شد. در تمام آزمون‌ها مقدار احتمال یا $p < 0.05$ در نظر گرفته خواهد شد و همه آنها بصورت دو طرفه لحاظ خواهد شد و در نهایت جهت تحلیل آماری با نرم افزار SPSS 18 اقدام خواهد شد.

نتایج

بررسی ارتباط بین وضعیت ظاهری یخچال‌ها با آلودگی باکتریایی

جدول ۷: ارتباط وضعیت تمیزی ظاهری و آلودگی باکتریایی در یخچال‌های بیمارستانی

تعداد کل (درصد)	وضعیت تمیزی ظاهری یخچال‌ها - تعداد (درصد)		
	ضعیف	متوسط	خوب
۱۸ (٪۷/۱)	۱ (٪۲/۱)	۷ (٪۴/۸)	۱۰ (٪۱۶/۴)
۲۳۶ (٪۹۲/۹)	۴۷ (٪۹۷/۹)	۱۳۸ (٪۹۵/۲)	۵۱ (٪۸۳/۶)
۲۵۴ (٪۱۰۰)	۴۸ (٪۱۰۰)	۱۴۵ (٪۱۰۰)	۶۱ (٪۱۰۰)



نمودار ۱: مقایسه آلودگی باکتریایی در یخچال‌های با وضعیت ظاهری خوب، متوسط و بد

بررسی ارتباط بین زمان تمیزشدن یخچال‌ها با آلودگی باکتریایی

شد که تمامی نمونه‌ها (۱۰۰٪) مثبت و حاوی آلودگی باکتریایی بودند. همچنین از بین ۲۲۲ نمونه از یخچال‌هایی که به صورت مرتب و هفتگی تمیز می‌شدند، ۲۰۴ نمونه (۹۱/۹٪) مثبت بوده و آلودگی باکتریایی را نشان داد (جدول ۸).

بر اساس جدول ۸، از مجموع ۲۵۴ نمونه یخچال، ۳۲ نمونه از یخچال‌هایی که هر از چندگاهی تمیز می‌شدند، جمع‌آوری

جدول ۸: ارتباط بین زمان تمیزشدگی یخچال‌ها و آلودگی باکتریایی

تعداد کل (درصد)	زمان تمیز کردن یخچال‌ها - تعداد (درصد)	
	هفتگی	هر از گاهی
۱۸ (٪۷/۱)	۱۸ (٪۸/۱)	۰
۲۳۶ (٪۹۲/۹)	۲۰۴ (٪۹۱/۹)	۳۲ (٪۱۰۰)
۲۵۴ (٪۱۰۰)	۲۲۲ (٪۱۰۰)	۳۲ (٪۱۰۰)

بررسی ارتباط بین دمای یخچال‌ها با آلودگی باکتریایی

یخچال‌هایی با دمای بیشتر از ۸ درجه سانتی‌گراد (۹۴/۶٪) و کمترین باکتری در دمای کمتر از ۲ درجه سانتی‌گراد (۸۴/۶٪) مشاهده شد (جدول ۹).

هنگام نمونه‌گیری دمای یخچال‌ها یادداشت گردید. آنالیز داده‌ها بر اساس دمای یخچال‌ها بیشترین باکتری جدا شده، از

جدول ۹: ارتباط بین دمای یخچال‌ها و آلودگی باکتریایی

تعداد کل (درصد)	دسته‌بندی دمای یخچال‌ها - تعداد (درصد)		
	۲-۸	<۲	>۸
۱۸ (٪۷/۱)	۱۲ (٪۷/۲)	۲ (٪۱۵/۴)	۴ (٪۷/۴)
۲۳۶ (٪۹۲/۹)	۱۵۵ (٪۹۲/۸)	۱۱ (٪۸۴/۶)	۷۰ (٪۹۴/۶)
۲۵۴ (٪۱۰۰)	۱۶۷ (٪۱۰۰)	۱۳ (٪۱۰۰)	۷۴ (٪۱۰۰)

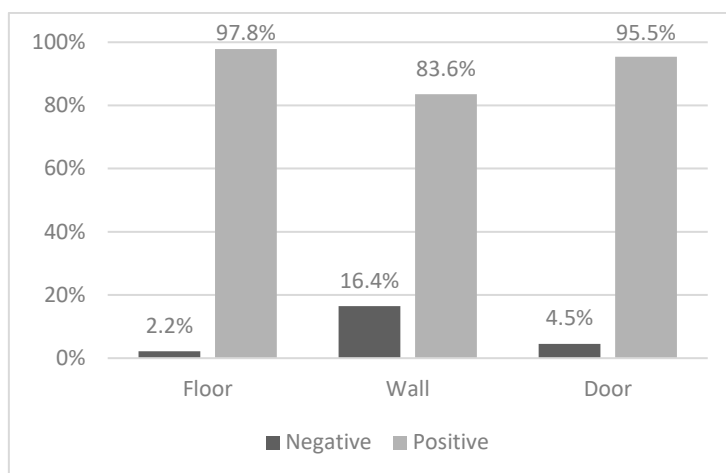
بررسی ارتباط بین محل نمونه برداری از یخچال‌ها با آلودگی باکتریایی

بر این اساس بیشترین میزان باکتری جدا شده به ترتیب مربوط به طبقات (۹۷/۸٪)، درب (۹۵/۵٪) و دیواره‌های داخلی (۸۳/۶٪) یخچال‌های بیمارستانی می‌باشد. نمودار ۲ و ۳ همین نتایج را نشان می‌دهد. این نتیجه بر اساس آزمون Chi-Square در سطح ۰/۰۵ نیز معنی‌دار بود.

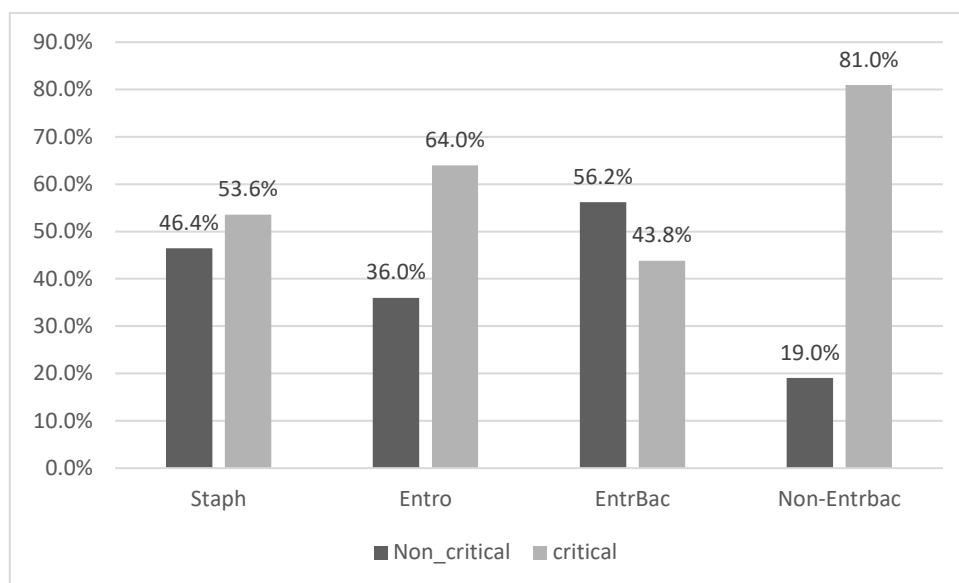
میزان آلودگی باکتریایی در قسمت‌های مختلف یخچال مورد بررسی قرار گرفت که نتایج در جدول ۱۰ قابل مشاهده است.

جدول ۱۰: میزان آلودگی باکتریایی در بخش‌های مختلف یخچال‌ها

تعداد کل (درصد)	محل نمونه‌گیری از یخچال‌ها - تعداد (درصد)		
	دره	دیوار	طبقه
۱۸ (%۷/۱)	۴ (%۲/۵)	۱۲ (%۱۶/۴)	۲ (%۲/۲)
۲۳۶ (%۹۲/۹)	۸۴ (%۹۵/۵)	۶۱ (%۸۳/۶)	۹۱ (%۹۷/۸)
۲۵۴ (%۱۰۰)	۸۸ (%۱۰۰)	۷۳ (%۱۰۰)	۹۳ (%۱۰۰)



نمودار ۲: مقایسه آلودگی باکتریایی در قسمت‌های مختلف یخچال‌های نمونه برداری شده



نمودار ۳: میزان فراوانی ۴ گروه باکتری Staph، Entro، EntrBac و Non-Entrbac جدا شده از یخچال‌های بخش‌های حساس و غیر حساس

در این مطالعه از ۲۵۴ نمونه جمع‌آوری شده از یخچال‌های مواد غذایی سه بیمارستان B، A و C، مجموعاً ۲۳۶ مورد مثبت و حاوی باکتری، ۱۸ مورد منفی و فاقد باکتری بود. تمامی

شناسایی باکتری‌ها با روش‌های بیوشیمیایی و کشت

Entrbac تقسیم‌بندی شدند که درصد فراوانی آن‌ها در جدول ۱۲ قابل مشاهده است. براین اساس بیشترین گروه باکتریایی جدا شده از یخچال‌های بیمارستان‌ها EntrBac با فراوانی ۶/۸٪ و کمترین گروه Non-Entrbac با فراوانی ۸/۹٪ بود (جدول ۱۱).

باکتری‌ها به کمک تست‌های روتین آزمایشگاهی برای باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، تعیین هویت شدند (۱۲ و ۳۱). براساس تجزیه و تحلیل نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی و کشت با استفاده از نرم‌افزار SPSS، باکتری‌های جدا شده به چهار گروه Staph، Entro، EntrBac و Non-

جدول ۱۱: باکتری‌های جدا شده از یخچال‌های سه بیمارستان A، B و C

Bacteria	Hospital									Total
	A			B			C			
	Total	Ward		Total	Ward		Total	Ward		
		Non critical	critical		Non critical	critical		Non critical	critical	
No growth	۱۱	۶	۵	۷	۰	۷	۰	۰	۰	۱۸
<i>E.coli</i>	۱۹	۱۲	۷	۱۶	۶	۱۰	۷	۲	۵	۴۲
<i>Salmonella spp</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>P.aeruginosa</i>	۰	۰	۰	۱	۰	۱	۳	۱	۲	۴
<i>K.pneumoniae</i>	۱۴	۸	۶	۸	۴	۴	۶	۵	۱	۲۸
<i>K.oxytoca</i>	۱	۱	۰	۲	۱	۱	۱	۱	۰	۴
<i>E.cloacae</i>	۱۹	۱۲	۷	۱۲	۵	۷	۷	۲	۵	۳۸
<i>E.A.B1</i>	۶	۶	۰	۹	۷	۲	۱۰	۶	۴	۲۵
<i>C.diversus</i>	۵	۴	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۵
<i>Proteus spp</i>	۲	۱	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲
<i>L.monocytogenous</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>E.faecium</i>	۱۱	۵	۶	۷	۳	۴	۵	۱	۴	۲۳
<i>S.aureus</i>	۱۴	۸	۶	۳	۱	۲	۰	۰	۰	۱۷
<i>S.epidermidis</i>	۴	۳	۱	۲	۱	۱	۴	۰	۴	۱۰
<i>Ser.marcescens</i>	۳	۲	۱	۱	۱	۰	۰	۰	۰	۴
<i>Burkholderia cepacia</i>	۱	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱
<i>A. bomanii</i>	۲	۱	۱	۶	۱	۵	۴	۰	۴	۱۲
<i>Entrobacter Spp</i>	۰	۰	۰	۵	۱	۴	۱	۰	۱	۶
<i>A loofi</i>	۰	۰	۰	۴	۱	۳	۰	۰	۰	۴
<i>E. faecalis</i>	۰	۰	۰	۲	۰	۲	۰	۰	۰	۲
<i>C. frondi</i>	۰	۰	۰	۵	۳	۲	۰	۰	۰	۵
<i>E. aerogenes</i>	۱	۰	۱	۰	۰	۰	۱	۰	۱	۲
<i>Corynebacterium spp</i>	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۱	۱
<i>S. sapro</i>	۰	۰	۰	۱	۰	۱	۰	۰	۰	۱
Total	۱۱۳	۷۰	۴۳	۹۱	۳۵	۵۶	۵۰	۱۸	۳۲	۲۵۴

به بخش‌های حساس بیمارستانی (شامل پیوند مغز استخوان، پیوند کبد، ICU اطفال) و در گروه باکتری EntrBac بیشترین جداسازی از بخش‌های غیرحساس بیمارستانی بود. بررسی میزان فراوانی گونه‌های باکتریایی شاخص نشان داد که *Acinetobacter* و *S.epidermidis*، *P.aeruginosa*، *E.coli* بیشتر از یخچال‌های بخش‌های حساس و *Klebsiella* و *S.aureus* از یخچال‌های بخش‌های غیرحساس جداسازی شد. درحالی که سایر سویه‌های *Enterobacteriaceae* به نسبت مساوی از یخچال‌های دو بخش جداسازی شد (جدول ۱۲ و نمودار ۴).

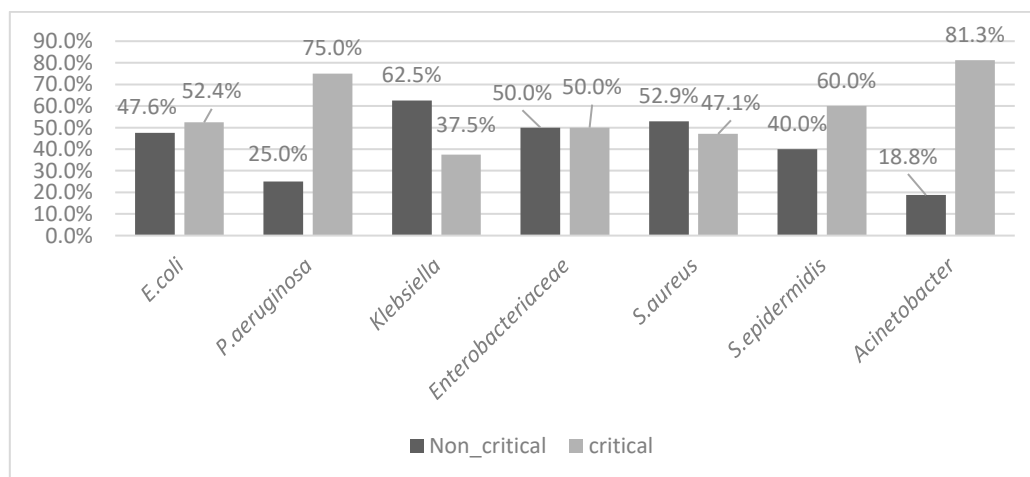
بررسی فراوانی باکتری‌های جدا شده در یخچال

بخش‌های حساس و غیرحساس

همانطوری که در جدول ۱۳ ملاحظه می‌شود، مقایسه میزان فراوانی ۴ گروه باکتریایی *Staph*، *Entro*، *EntrBac* و *Non-Entrbac* جدا شده از یخچال‌های بخش‌های حساس و غیرحساس نشان داد که بین میزان فراوانی این ۴ گروه عمده باکتریایی با متغیرهای بخش‌های حساس و غیرحساس رابطه معنی‌دار وجود دارد. بررسی آماری با آزمون Chi-Square مؤید معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ بود. در سه گروه باکتریایی *Staph*، *Entro* و *Non-Entrbac* بیشترین جداسازی‌ها مربوط

جدول ۱۲: درصد فراوانی چهارگروه باکتری *Staph*، *Entro*، *EntrBac* و *Non-Entrbac* جدا شده از یخچال‌ها

گروه‌های باکتریایی	فراوانی (درصد)
استافیلوکوکوس	۲۸ (% ۱۱/۹)
انتروکوک	۲۵ (% ۱۰/۶)
انتروباکتریاسه	۱۶۲ (% ۶۸/۶)
غیر-انتروباکتریاسه	۲۱ (% ۸/۹)
مجموع	۲۳۶ (% ۱۰۰)



نمودار ۴: میزان فراوانی باکتری‌های شاخص جدا شده از یخچال‌های بخش‌های حساس و غیرحساس

جدول ۱۳: میزان فراوانی ۴ گروه باکتریایی جدا شده از یخچال‌های بخش‌های حساس و غیر حساس بیمارستان

تعداد کل (درصد)	قرار گیری یخچال‌ها در بخش‌های مختلف – تعداد (درصد)	
	غیر حساس	حساس
۲۸ (٪۱۱/۹)	۱۵ (٪۱۲/۶)	استاف
۲۵ (٪ ۱۰/۶)	۱۶ (٪۱۳/۴)	انتروکوک
۱۶۲ (٪۶۸/۶)	۷۱ (٪۵۹/۷)	انتروباکتریاسه
۲۱ (٪ ۸/۹)	۱۷ (٪۱۴/۳)	غیر-انتروباکتریاسه
۲۳۶ (٪۱۰۰)	۱۱۹ (٪۱۰۰)	تعداد کل (درصد)

بررسی فراوانی باکتری‌های جدا شده بر اساس

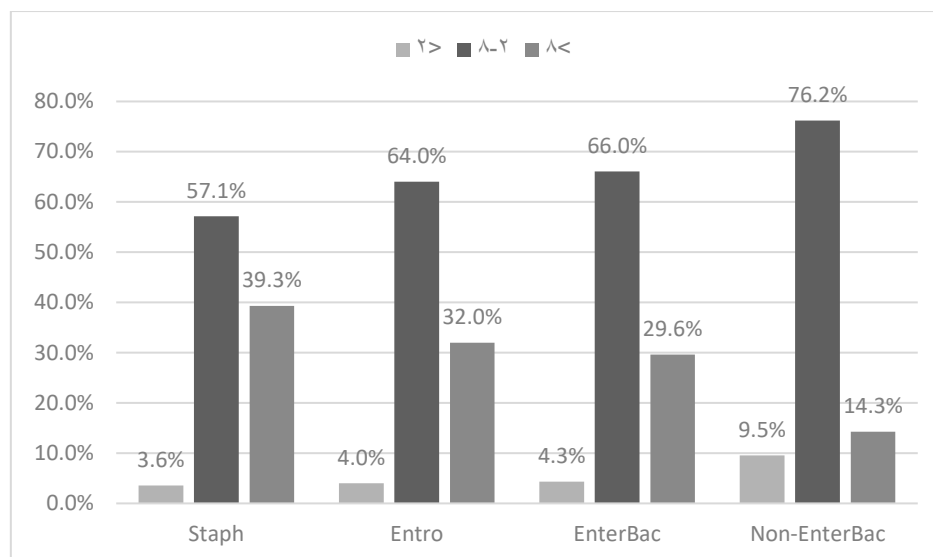
دمای یخچال‌ها

بررسی میزان فراوانی ۴ گروه باکتریایی جدا شده از یخچال‌های بیمارستانی با دماهای مختلف توسط نرم افزار SPSS (جدول ۱۴ و نمودار ۵) نشان داد در تمام محدوده‌های دمایی مورد بررسی، بیشترین فراوانی مربوط به گروه

EntrBac بود. نتایج همچنین نشان داد غیر از گروه EntrBac، در دماهای ۲-۸ و کمتر از ۲ درجه سانتی‌گراد فراوانی سایر باکتری‌های جدا شده با یکدیگر تفاوت چندانی نداشت. در دمای بالاتر از ۸ درجه سانتی‌گراد پس از گروه EntrBac بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به گروه Staph، Entro و Non-Entrbac بود.

جدول ۱۴: میزان فراوانی ۴ گروه باکتریایی جدا شده از یخچال‌های با دماهای مختلف

تعداد کل (درصد)	دسته‌بندی دمای یخچال‌ها - تعداد (درصد)			
	۲-۸	<۲	>۸	
استاف	۱۶ (%۱۰/۳)	۱ (%۹/۱)	۱۱ (%۱۵/۷)	۲۸ (%۱۱/۹)
انتروکوک	۱۶ (%۱۰/۳)	۱ (%۹/۱)	۸ (%۱۱/۴)	۲۵ (%۱۰/۶)
انتروباکتریاسه	۱۰۷ (%۶۹/۰)	۷ (%۶۳/۶)	۴۸ (%۶۸/۶)	۱۶۲ (%۶۸/۶)
غیر-انتروباکتریاسه	۱۶ (%۱۰/۳)	۲ (%۱۸/۲)	۳ (%۴/۳)	۲۱ (%۸/۹)
تعداد کل (درصد)	۱۵۵ (%۱۰۰)	۱۱ (%۱۰۰)	۷۰ (%۱۰۰)	۲۳۶ (%۱۰۰)



نمودار ۵: میزان فراوانی ۴ گروه باکتریایی Staph، Entro، EnterBac و Non-Entrbac جدا شده براساس دمای یخچال‌ها

تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جدا شده از یخچال‌ها

تمامی ۲۳۶ نمونه باکتری جداسازی شده از یخچال‌های بیمارستانی با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک روتین و روش استاندارد CLSI (۱۷) مورد ارزیابی قرار گرفتند که نتایج مربوطه در جدول ۱۵ نمایش داده شده است. براساس تجزیه و تحلیل یافته‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جدا شده جدول ۱۵، باکتری‌ها به دسته‌های MRSA (استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین)، MRSE (استافیلوکوکوس اپیدرمیس مقاوم به متی‌سیلین)، VRE (انتروکوک مقاوم به ونکومايسين)، ESBL (بتالاكتامازهای وسیع الطیف)، حساس‌ها و دسته مقاوم به دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها تقسیم‌بندی شدند (جدول ۴). نتایج نشان داد که ۱۸/۲٪ از باکتری‌های جدا شده مقاوم به آنتی‌بیوتیک و ۸۱٪/۸۱ از باکتری‌ها حساس به آنتی‌بیوتیک‌های بررسی شده بودند. براساس نتایج بدست آمده، بین باکتری‌های مقاوم، بیشترین آن مربوط به گروه ESBL (۹/۷٪) و پس از آن VRE (۵/۱٪) بود. همچنین کمترین باکتری‌های مقاوم مربوط به گروه‌های MRSE (۰/۴٪) و MRSA (۰/۴٪) بود.

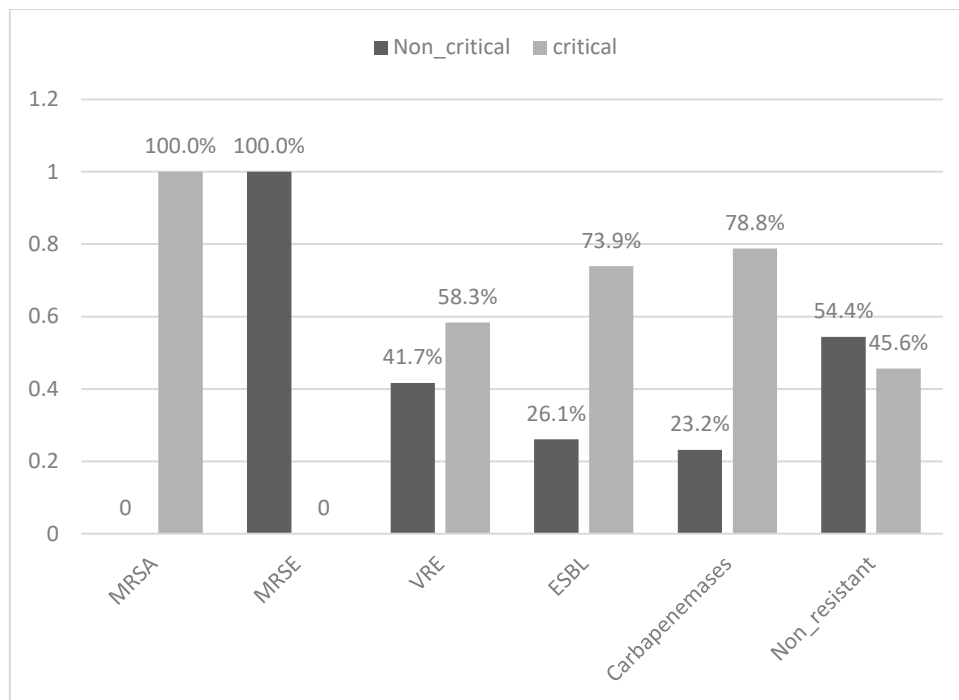
(جدول ۴). قابل ذکر است که بیشترین باکتری مقاوم (۷۰٪/۵) مربوط به گروه غیر انتروباکتریاسه و سپس انتروکوکوس بود. بررسی به روش آگار دیلوشن نشان داد که ۴۸٪ از سویه‌های انتروکوکوس دارای MIC مساوی یا بیشتر از ۳۲ بودند که بیانگر مقاوم بودن آنها بود. باکتری‌های مقاوم در ۸/۶ درصد (۱۴ از ۱۶۲) از جدایه‌های انتروباکتریاسه شناسایی شدند، در حالی که ۷/۲ درصد (۲ از ۲۸) از جدایه‌های متعلق به استافیلوکوک‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک بودند (جدول ۱۵). همچنین نتایج نشان داد که باکتری‌های گروه ESBL، VRE و MRSA بیشتر از یخچال‌های بخش‌های حساس و باکتری‌های گروه MRSE از بخش غیرحساس جداسازی شد (نمودار ۶). جدول ۱۶ آنالیز باکتری‌ها را با توجه به نوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی، همچنین بر اساس چهار گروه باکتری Staph، Entro، EnterBac و Non-Entrbac نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود بیشترین مقاومت در گروه Non-Entrbac هایی است که جزء ESBL هستند. طبق آنالیز جدول ۱۷ بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی مربوط به باکتری‌های گروه ESBL بود که در دمای ۲-۸ درجه سانتی‌گراد جدا شده بودند.

جدول ۱۵: تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های جدا شده از یخچال با روش دیسک آگار دیفیوژن

Antibiotic	No. (%) of antibiotic resistance isolates											
	<i>Enterobacteriaceae</i> (n=162)			<i>Non-Enterobacteriaceae</i> (n=21)			<i>Staphylococci</i> (n=28)			<i>Enterococcus</i> (n=25)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Amikacin	۱۶۲ (۱۰۰)	۰	۰	۲۱ (۱۰۰)	۰	۰	-	-	-	-	-	-
Ampicillin	۷۹ (۴۸/۸)	۸۳ (۵۱/۲)	۰	۱۷ (۸۰/۹)	۴ (۱۹/۱)	۰	-	-	-	-	-	-
Aztreonam	۱۵۹ (۹۸/۲)	۱ (۰/۶)	۲ (۱/۲)	۱۶ (۷۶/۲)	۰	۵ (۲۳/۹)	-	-	-	-	-	-
Ciprofloxacin	۱۵۹ (۹۸/۲)	۲ (۱/۲)	۱ (۰/۶)	۱۶ (۷۶/۲)	۰	۵ (۲۳/۹)	-	-	-	-	-	-
Ceftriaxone	۱۶۱ (۹۹/۴)	۰	۱ (۰/۶)	۲۰ (۹۵/۲)	۰	۱ (۴/۸)	-	-	-	-	-	-
Ceftazidime	۱۵۶ (۹۶/۳)	۰	۶ (۳/۷)	۱۵ (۷۱/۴)	۰	۶ (۲۸/۶)	-	-	-	-	-	-
Imipenem	۱۵۷ (۹۶/۹)	۰	۵ (۳/۱)	۱۵ (۷۱/۴)	۰	۶ (۲۸/۶)	-	-	-	-	-	-
Meropenem	۱۵۸ (۹۷/۵)	۰	۴ (۲/۵)	۱۵ (۷۱/۴)	۰	۶ (۲۸/۶)	-	-	-	-	-	-
Tetracycline	۱۶۲ (۱۰۰)	۰	۰	۱۷ (۸۰/۹)	۰	۴ (۱۹/۱)	۲۸ (۱۰۰)	۰	۰	۲۵ (۱۰۰)	۰	۰
Gentamicin 10	۱۶۲ (۱۰۰)	۰	۰	۱۷ (۸۰/۹)	۰	۴ (۱۹/۱)	۲۸ (۱۰۰)	۰	۰	۲۵ (۱۰۰)	۰	۰
Gentamicin 120	۱۶۲ (۱۰۰)	۰	۰	-	-	-	-	-	-	۲۵ (۱۰۰)	۰	۰
Linezolid	۱۶۲ (۱۰۰)	۰	۰	-	-	-	-	-	-	۲۴ (۹۶)	۰	۱ (۴)
Vancomycin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*۱۳ (۵۲)	۰	۱۲** (۴۸)
Cefoxitin	-	-	-	-	-	-	۲۶ (۹۲/۸)	۰	۲ (۲/۷)	-	-	-

S: حساس، I: حد وسط، R: مقاوم

نتایج مربوط به ونکومایسین بر مبنای نتایج MIC: MIC ≤ 4 * سویه حساس؛ MIC ≥ 32 ** سویه مقاوم



نمودار ۶: ارتباط بین مقاومت گروه های آنتی بیوتیکی با بخش جداسازی باکتری ها

جدول ۱۶: آنالیز ۴ گروه باکتری جدا شده از یخچال ها با توجه به نوع مقاومت آنتی بیوتیکی با نرم افزار SPSS

گروه مقاومت آنتی بیوتیکی	مجموع فراوانی (%)	گروه های باکتریایی - تعداد (درصد)			
		انتروباکتر	غیر-انتروباکتر	استاف	انتروکوک
MRSA	۱ (%.۰/۴۲)	۰	۰	۱ (%.۳/۵۷)	۰
MRSE	۱ (%.۰/۴۲)	۰	۰	۱ (%.۳/۵۷)	۰
VRE	۱۲ (%.۵/۱۰)	۰	۰	۰	*۱۲ (%.۴۸)
ESBL	۱۰ (%.۴/۲۳)	۱۰ (%.۶/۱۸)	۰	۰	۰
Carbapenemases	۱۳ (%.۵/۵۲)		۱۳ (%.۶۱/۹۰)	۰	۰
Non-resistance	۱۹۳ (%.۸۱/۷۷)	۱۴۸ (%.۹۱/۳۶)	۶ (%.۲۸/۵۸)	۲۶ (%.۹۲/۸۵)	۱۳ (%.۵۲)
سایر گروه های مقاوم	۶ (%.۲/۵۴)	۴ (%.۲/۴۶)	۲ (%.۹/۵۲)	۰	۰
مجموع	۲۳۶ (%.۱۰۰)	۱۶۲ (%.۱۰۰)	۲۱ (%.۱۰۰)	۲۸ (%.۱۰۰)	۲۵ (%.۱۰۰)

* MIC $\geq$ 32 سویه مقاوم

جدول ۱۷: آنالیز مقاومت باکتری‌ها بر اساس دمای یخچال‌های بیمارستانی با نرم‌افزار SPSS

Gene Group	دسته‌بندی دمای یخچال‌ها - تعداد (درصد)			تعداد کل (درصد)
	۲-۸	<۲	>۸	
MRSE	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۱ (۱/۴)	۱ (۰/۴)
MRSA	۱ (۰/۶)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۱ (۰/۴)
VRE	۱۱ (۷/۱)	۰ (۰/۰)	۱ (۱/۴)	۱۲ (۵/۱)
ESBL/Carbapenemases	۱۷ (۱۱/۰)	۳ (۲۷/۳)	۳ (۴/۳)	۲۳ (۹/۷)
Non-Resistance	۱۲۱ (۷۸/۱)	۷ (۶۳/۶)	۶۵ (۹۲/۹)	۱۹۳ (۸۱/۸)
Resistance to other antibiotic	۵ (۳/۲)	۱ (۹/۱)	۰ (۰/۰)	۶ (۲/۵)
تعداد کل (درصد)	۱۵۵ (۱۰۰)	۱۱ (۱۰۰)	۷۰ (۱۰۰)	۲۳۶ (۱۰۰)

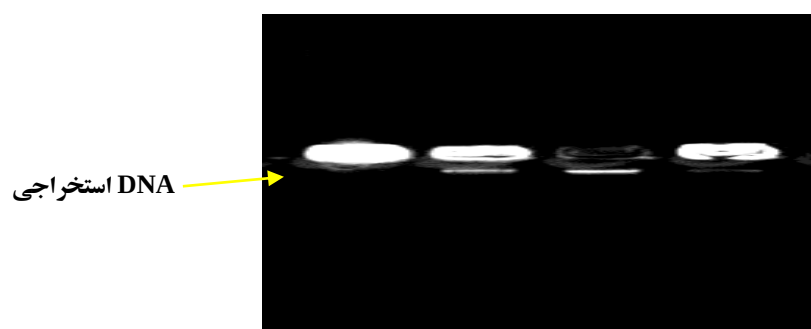
بررسی کمی DNA استخراجی ایزوله‌های جدا شده از یخچال

غلظت DNA استخراجی ایزوله‌های جدا شده، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر برای بررسی میزان کمی DNA خوانده شد. به منظور ارزیابی کمیت و کیفیت DNA و آگاهی از میزان

غلظت و خلوص آن می‌توان از روش اسپکتروفتومتری استفاده کرد. در این روش ساده و دقیق، میزان جذب اشعه UV توسط بازهای DNA اندازه گرفته می‌شود (شکل ۴-۱۴). غلظت DNA استخراجی ایزوله‌های منتخب در محدوده ۱۰۰ تا ۷۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر بود.

بررسی کیفی DNA استخراجی باکتری‌های جدا شده از یخچال

در مرحله بعد جهت بررسی کیفی DNA استخراجی، نمونه‌ها روی ژل آگاروز ۱٪، الکتروفورز شدند. نگاره ۱، کیفیت مناسب DNA استخراجی ایزوله‌های منتخب را نشان می‌دهد.



نگاره ۱: کیفیت ژنوم استخراج شده به روش Boilling

بررسی مولکولی حضور ژن‌های مقاومت در

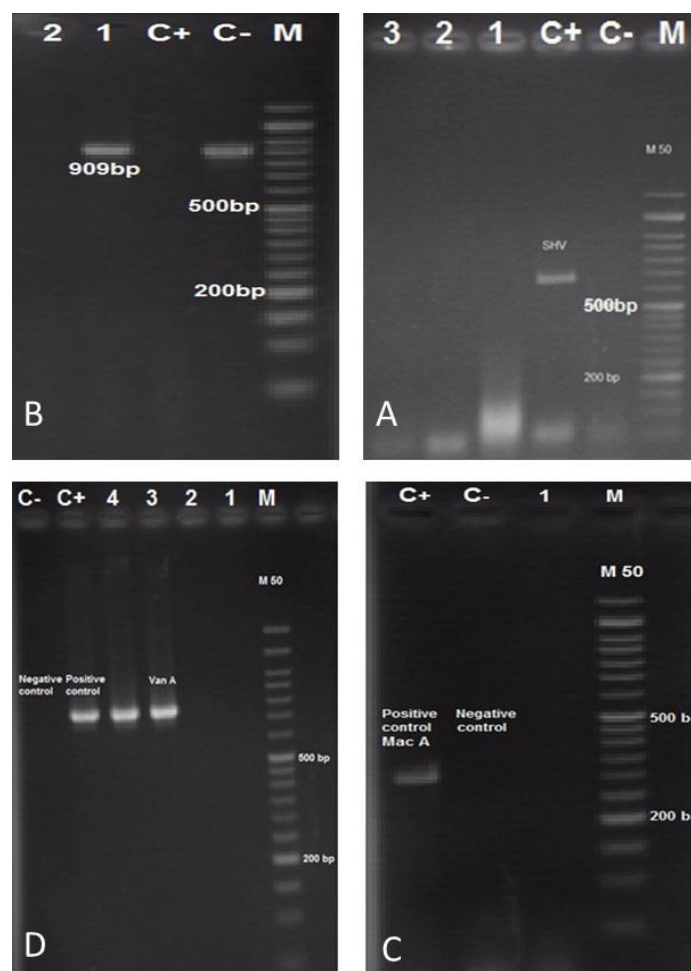
باکتری‌های جداشده

حضور ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها با الکتروفورز محصول واکنش PCR مشخص شد. نگاره 2 نشان‌دهنده تصاویر مربوط به الکتروفورز ژل آگارز ژن‌های مقاومت در مقایسه با نمونه کنترل مثبت و منفی می‌باشد. باکتری‌های کنترل مثبت برای ژن‌های ESBL و *vanA* به ترتیب *E. faecalis* ATCC و *E. coli* ATCC 35218 و 51299 بودند. برای *bla_{OXA-48}* یک باکتری کلبسیلا، برای کاربائنازهای کلاس D یک سویه اسیتوباکتر و برای *mecA* یک سویه *استافیلوکوکوس اورئوس* که همگی قبلاً در آزمایشگاه ما توالی یابی مشخص شده بودند به عنوان کنترل مثبت عمل کردند. نتایج مربوط به آنالیز فراوانی ژن‌ها در

گروه‌های باکتریایی با استفاده از نرم افزار SPSS در جدول 4 قرار داده شد. نتایج نشان داد در گروه EntrBac، از مجموع 10 باکتری مقاوم، یک ایزوله حاوی سه ژن *bla_{CTX-}*، *bla_{TEM}* و *bla_{OXA-48}* بود درحالیکه ژن *bla_{SHV}* در هیچ یک از 10 M و ایزوله متعلق به این گروه یافت نشد. در گروه Non-Entrbac، در بین 13 باکتری مقاوم، ژن *bla_{OXA-24}* در هیچ ایزوله‌ای یافت نشد درحالیکه همگی حاوی ژن *bla_{OXA-51}* بودند. جداسازی ژن *bla_{OXA-51}* جهت تایید گونه‌های اسیتوباکتر می‌باشد. دو ایزوله بالینی علاوه بر ژن *bla_{OXA-51}* واجد ژن *bla_{OXA-23}* نیز بودند. همچنین نتایج نشان داد که یک ایزوله از گروه Staph (از مجموع 2 مورد) حاوی ژن *MecA* و 4 ایزوله بالینی از گروه Entro (از مجموع 12 مورد) حاوی ژن *vanA* بود (جدول 18).

جدول 18: نتایج مربوط به آنالیز ژن‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS

	گروه های باکتریایی							MRSA MRSE	استاف
	ESBL			Carbapenemases					
	انتروباکتریاسه			کلبسیلا	غیر-انتروباکتریاسه			انتروکوک	
	<i>bla</i> _{SHV}	<i>bla</i> _{TEM}	<i>bla</i> _{CTX-M}	<i>bla</i> _{OXA-48}	<i>bla</i> _{OXA-23}	<i>bla</i> _{OXA-24}	<i>bla</i> _{OXA-51}	<i>vanA</i>	<i>mecA</i>
مثبت	۰	۱	۱	۱	۲	۰	۱۳	۴	۱
منفی	۱۰	۹	۹	۹	۱۱	۱۳	۰	۸	۱
مجموع ایزوله مقاوم			۱۰			۱۳		۱۲	۲



تکانه ۲: A: الکتروفورز محصول PCR ژن *blaSHV* روی ژل آگارز ستون M مارکر 50 bp، ستون ۱ الی ۳ ایزوله‌های فاقد ژن، ستون C- کنترل منفی، ستون C+ کنترل مثبت (ایزوله واجد ژن *blaSHV* در این مطالعه یافت نشد)

B: الکتروفورز محصول PCR ژن *blaCTX* روی ژل آگارز ستون M مارکر 50 bp، ستون ۱ ایزوله واجد ژن، ستون ۲ ایزوله فاقد ژن، ستون C- کنترل منفی، ستون C+ کنترل مثبت

C: الکتروفورز محصول PCR ژن *mecA* روی ژل آگارز ستون M مارکر 50 bp، ستون ۱ ایزوله فاقد ژن، ستون C- کنترل منفی، ستون C+ کنترل مثبت

D: الکتروفورز محصول PCR ژن *vanA* روی ژل آگارز ستون M مارکر 50 bp، ستون ۱ و ۲ ایزوله فاقد ژن، ستون ۳ و ۴ ایزوله واجد ژن، ستون C- کنترل منفی، ستون C+ کنترل مثبت

مطالعه حساس بودند و مقاومتی در هیچ سویه‌ای مشاهده نشد. به همین دلیل مرحله مولکولی PCR جهت شناسایی ژن‌های مقاومت برای این ایزوله‌ها انجام نگردید.

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی با روش دیسک آگار دیفیوژن (سردخانه‌ها)

باکتری‌های جداسازی شده از سردخانه‌های بیمارستانی با استفاده از ۱۴ دیسک آنتی‌بیوتیک روتین و روش استاندارد CLSI (۱۹) مورد سنجش قرار گرفتند. تمامی ۴۲ باکتری جدا شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در این

بحث

بین مؤسسات بهداشتی درمانی، بیمارستان یکی از مهم ترین نهادهای سازمان یافته‌ای است که با فراهم آوردن محیطی سالم، بهداشتی و ایمن جهت ارائه خدمات بهداشتی - درمانی مورد نیاز مردم، در نتیجه، ارتقای سطح سلامت جامعه گام برمی‌دارد. هدف نهایی بیمارستان‌ها تأمین نیازهای بهداشتی و درمانی جامعه به‌طور اثربخش و کارآمد است. برخورداری از خدمات بهداشتی درمانی با هدف حفظ، ارتقا و تأمین سلامت افراد، یکی از ارکان مهم پیشرفت جوامع به حساب می‌آید. در نگاهی گذرا محیط بیمارستان پاکیزه و ایمن به نظر می‌رسد؛ اما ماهیت و تنوع فعالیت‌های بیمارستانی و انواع خطراتی که بیماران، همراهان آن‌ها و کارکنان را تهدید می‌کند ضرورت توجه دقیق‌تر به موازین بهداشتی به خصوص در حیطه بهداشت محیط بیمارستان را نمایان می‌سازد. ارتباط بین خطرات محیطی و بیماری گاهی پیچیده و بحث‌انگیز می‌شود. از عمده مسائلی که همواره به عنوان چالش در مسیر فرایند حفظ و بازگرداندن سلامت به ویژه در بیمارستان‌ها مطرح است، محیط غیربهداشتی و عفونت‌های بیمارستانی است. عفونت‌های بیمارستانی به عنوان یک مشکل عمده جهانی مطرح هستند. این عفونت‌ها به عنوان عفونت کسب شده در بیمارستان یا عفونت‌های مرتبط با بیمارستان نیز مطرح بوده که بیمار پس از ۴۸ ساعت بستری در بیمارستان یا تا ۷۲ ساعت پس از ترخیص از بیمارستان به آن مبتلا می‌شود و زمان پذیرش بیمار وجود نداشته، در حالت نهفتگی هم نبوده است. علائم این عفونت، طی روزهای بستری یا پس از ترخیص بیمار رخ می‌دهد (۲۰). عوامل متعددی در عفونت‌های بیمارستانی مؤثر هستند که مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از: سن کمتر از ۱ سال و بالای ۶۵ سال، سوء تغذیه، پذیرش اورژانسی در بخش مراقبت‌های ویژه، مدت اقامت بالای ۷ روز در بیمارستان، کاتتر ادراری،

کاتتر وریدی، کاتتر شریانی، ساکشن، لوله تراشه، انجام عمل جراحی، سابقه عمل جراحی، مصرف داروهای سرکوب‌کننده ایمنی و وضعیت کما. دستگاه ادراری و پس از آن دستگاه‌های تنفسی و گردش خون شایع‌ترین اعضای درگیر عفونت‌های بیمارستانی هستند (۲۱). عفونت‌های بیمارستانی موجب افزایش مدت اقامت بیمار در بیمارستان، تأخیر در بهبود و کاهش کیفیت زندگی بیمار می‌شود و می‌تواند پیامدهای ناگوار، حتی مرگباری برای بیمار داشته باشد. همچنین، عفونت‌های بیمارستانی موجب کاهش کارایی بیمارستان‌ها و افزایش هزینه برای سازمان‌های بیمه سلامت می‌شود. سال ۲۰۱۱ میلادی مطالعه‌ای در آمریکا تعداد ۷۲۲ هزار مورد عفونت بیمارستانی و حدود ۷۵ هزار مرگ مرتبط با عفونت بیمارستانی را گزارش کرد (۱۰). مصرف غذای سالم یک نیاز ضروری برای دفع خطرات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی تلقی می‌شود. اهمیت این موضوع در مکان‌هایی مثل بیمارستان که افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف تحت درمان هستند، بیشتر به چشم می‌خورد. یکی از وظایف اصلی بیمارستان، ارائه غذای سالم و ایمن به بیماران است. در واقع، چندین مطالعه گزارش می‌دهند که عملکرد نامناسب در طول مراحل تهیه مواد غذایی منجر به بیماری‌های منتقله از طریق غذا می‌شود. خطر مرگ و میر مربوط به شیوع عفونت‌های بیمارستانی منتقله از راه غذا به طور قابل توجهی بیشتر از شیوع این نوع بیماری‌ها و عفونت‌ها در جامعه است (۲۲). آلودگی حین فرآیند تولید به عوامل متعددی از جمله منابع غذایی ناایمن، پخت ناکافی، دمای نگهداری نامناسب، تجهیزات آلوده، سطوح کار ناپاک و بهداشت شخصی ضعیف مرتبط است. برخی از پاتوژن‌های موجود در مواد غذایی توانایی تشکیل بیوفیلم روی سطوح را دارند که این ویژگی می‌تواند در صورت عدم توجه کافی به مسائل بهداشتی خطری بالقوه برای بیمارستان و به دنبال آن

بیمار باشد (۲۳). یخچال و سردخانه‌ها از مهم‌ترین مکان‌هایی هستند که جهت ایمنی غذا توصیه می‌شوند ولی می‌توانند منشأ آلودگی باشند. یخچال وسیله‌ای با دمای پایین است و بهینه دمای آن حدود ۴-۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. در یخچال و سردخانه‌ها برای نگهداری مواد غذایی از واکنش تبرید استفاده می‌گردد که یکی از متداول‌ترین روش‌های کنترل رشد میکروب‌ها روی محصولات فاسدشدنی است. همچنین از تبرید برای کنترل سرعت برخی واکنش‌های شیمیایی و آنزیمی در مواد غذایی استفاده می‌شود. با کند شدن حرکت مولکولی، فساد مواد غذایی نیز کند شده، این مسأله موجب کند شدن رشد باکتری‌ها در مواد غذایی فاسدشدنی می‌گردد. گرچه دمای پایین فساد را به تأخیر می‌اندازد، اما حتی دمای زیر انجماد از تکثیر همه میکروارگانیسم‌ها جلوگیری نمی‌کند، بنابراین غذاهای یخچالی همچنان در معرض فساد قارچ‌ها، مخمرها و باکتری‌ها قرار دارند. سطح داخلی یخچال‌ها معمولاً محیط نامساعدی برای بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زاست، با این حال برخی میکروارگانیسم‌ها می‌توانند در دمای پایین و سرد رشد کرده، زنده بمانند. در صورتی که یخچال‌ها به درستی نگهداری و تمیز نشوند، می‌توانند محل رشد چنین باکتری‌هایی باشند. نوع ظرف، بسته‌بندی یا نوع مواد غذایی که در یخچال نگهداری می‌شوند، همچنین مدت زمان نگهداری مواد غذایی، از عوامل مهمی هستند که بر نوع رشد میکروبی، سمیت و فساد مواد غذایی طی نگهداری در یخچال تأثیر می‌گذارند (۱۵). بسیاری از بیماری‌ها توسط میکروارگانیسم‌هایی مانند باکتری‌ها، ویروس‌ها و هجوم‌های انگلی ناشی از مواد غذایی فاسد شده به دلیل نگهداری طولانی مدت مواد غذایی فاسدشدنی و نیمه فاسدشدنی ایجاد می‌شوند. به عنوان مثال باکتری *استافیلوکوکوس* از محصول جانبی رشد و تکثیر خود سم تولید می‌کند و باعث مسمومیت

غذایی می‌شود. علاوه بر این، باکتری‌هایی مانند *اشریشیا کلی*، *سالمونلا*، *شیگلا*، *ویبریو*، *کلبسیلا*، *یرسینیا ائروکولیتیکا* و انگل‌هایی مانند *کریپتوسپوریدیوم پارووم* و *ژیاردیالامبلیا* در بیماری‌های ناشی از آب و غذا نقش دارند. برآورد جهانی بیماری‌های ناشی از غذا دشوار است، اما گزارش شده است که تنها در سال ۲۰۰۵، ۱/۸ میلیون نفر بر اثر بیماری‌های اسهالی جان خود را از دست داده‌اند (۲۴). احتمال آلودگی باکتریایی یخچال‌های خانگی در دو دهه اخیر مورد توجه محققان قرار گرفته است اما در مورد یخچال و سردخانه‌های موجود در بیمارستان‌ها تحقیق جامعی انجام نشده یا گزارش جامعی موجود نیست. تجهیزات بیمارستانی ممکن است با عوامل بیماری‌زایی آلوده باشند که قادرند هفته‌ها زنده بمانند و مستقیم یا غیرمستقیم به بیماران منتقل شوند. بدون شک یکی از مهم‌ترین مکان‌ها در هر مرکز درمانی محلی است که غذای بیماران و کارکنان در آن طبخ، توزیع و نگهداری می‌گردد. از آنجا که امکان وجود انواع مواد غذایی آماده مصرف در یخچال بیماران میسر است در این تحقیق، شناخت و جداسازی میکروارگانیسم‌های شایع مورد بررسی قرار گرفت. رعایت اصول بهداشتی در آشپزخانه، سردخانه و یخچال‌های بیمارستانی بسیار حائز اهمیت است. با توجه به اهمیت پیشگیری از بیماری‌های غذازاد، همچنین پیشگیری از عفونت‌های بیمارستانی، این تحقیق برای اولین بار در ایران به بررسی فنوتیپی و شناسایی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی برخی باکتری‌های شاخص در سطوح داخلی یخچال‌ها و سردخانه‌های سه بیمارستان بزرگ بالای ۴۰۰ تخت‌خوابی در تهران پرداخته است. در بخش اول این مطالعه ما به بررسی ظاهری و چشمی یخچال‌های بخش‌های مختلف بیمارستان و سردخانه‌های مواد غذایی بیمارستان‌ها پرداختیم. طبق نتایج بدست آمده از میان ۲۵۴ نمونه جمع‌آوری شده از یخچال‌های سه بیمارستان، تعداد

۲۳۶ نمونه مثبت (حاوی رشد باکتری) و ۱۸ نمونه منفی (فاقد رشد باکتری) بود که از این میان بیشترین نمونه‌های مثبت از یخچال‌هایی با ظاهر نامناسب (بد) جدا شد (۴۷ مورد برابر با ۹۷/۹٪). کمترین نمونه مثبت نیز مربوط به یخچال‌هایی با ظاهر مناسب و تمیز (خوب) بود (۱۰ مورد برابر با ۱۶/۴٪). نتایج بدست آمده در این بخش از لحاظ آماری در سطح ۰/۰۵ کاملاً معنی‌دار بود. همین نتایج در مورد سردخانه‌های بیمارستانی نیز صدق می‌کند. به این ترتیب که از ۴۲ نمونه مثبت، ۱۶ مورد برابر با ۳۸/۱٪ از سردخانه‌هایی با ظاهر نامناسب و ۱۱ مورد برابر با ۲۶/۲٪ از سردخانه‌هایی با ظاهر خوب جدا شد. هرچند به دلیل تفاوت مکانی و نیافتن مطالعه‌ای کاملاً مشابه در مورد یخچال و سردخانه‌های بیمارستانی، نمی‌توان نتایج حاصل از این مطالعه را به صورت کامل با مطالعات مشابه که اغلب در مورد یخچال‌های خانگی انجام گرفته‌اند، مورد مقایسه قرار داد اما نباید نقش آنها را در انتقال و شیوع بیماری‌های غذازاد یا عفونتهای بیمارستانی، نادیده گرفت. در مطالعه *Sultana* که سال ۲۰۱۸ روی قسمت‌های مختلف یخچال‌های دو رستوران در بنگلادش انجام شد؛ از ۸ نمونه جمع‌آوری شده ۴۱ جدایه مثبت گزارش شد (۱۴٪). همچنین در مطالعه *Hasan* (۲۰۱۸) ۸ نمونه از یخچال‌های خانگی جمع‌آوری شد که ۳۷ جدایه مثبت بود (۲۵٪). *IB Otu-Bassey* و همکاران نیز سال ۲۰۱۷ در نیجریه از یخچال‌های خانگی نمونه‌گیری کردند که ۱۰۰٪ آن‌ها آلوده به باکتری بود (۳۵٪). مطالعه *طاهری* و همکاران سال ۱۳۹۲ روی تجهیزات پزشکی و محیط بیمارستان انجام شد و نشان داد که از ۲۱۰ نمونه گرفته شده ۲۴۰ ایزوله باکتری جداگردید (۱۶٪). همچنین در مطالعه رحیمی و همکاران (۲۰۱۹) که به بررسی میزان آلودگی باکتریایی و قارچی آشپزخانه‌های دانشگاه علوم پزشکی بیرجند پرداختند، ۹۷٪ از نمونه‌ها حاوی آلودگی باکتریایی بودند (۱۷٪). طبق نتایج بدست آمده در این

مطالعه، از ۲۵۴ نمونه یخچالی جمع‌آوری شده، تمامی ۳۲ نمونه از یخچال‌هایی که هر از چندگاهی تمیز می‌شدند (۱۰۰٪) مثبت و حاوی آلودگی باکتریایی بودند. بر همین منوال ۲۲۲ نمونه از یخچال‌هایی که مرتب و هفتگی تمیز می‌شدند، جمع‌آوری شد که ۲۰۴ نمونه (۹۱/۹٪) مثبت بودند. بنابراین یکی از نتایجی که می‌توان از این مطالعه استنباط شود این است که اگر تمیز کردن یخچال‌ها به طور مرتب و هفتگی با مواد شوینده و ضدعفونی‌کننده مناسب انجام گیرد، در کاهش آلودگی باکتریایی یخچال‌ها مؤثر است. کنترل دما در مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا در غذاها مهم است. WHO دمای نگهداری غذاها را حداکثر ۵ درجه سانتی‌گراد در یخچال توصیه کرده است. نگهداری مواد غذایی در دمای مناسب یکی از بهترین راه‌ها برای کاهش رشد باکتری‌های خطرناک است. در مورد دمای یخچال این نکته حائز اهمیت است که دمای داخلی یخچال‌ها به میزان حجم موادی که در آن ذخیره می‌شود، همچنین فضای کافی برای گردش هوا در آن بستگی دارد. بنابراین جدا از تنظیم بودن دمای یخچال توسط سنسورها، در صورتی که بیش از اندازه از فضای داخلی یخچال‌ها استفاده گردد دمای یخچال نیز بالاتر از حد مطلوب خواهد رفت که این مسأله می‌تواند بر آلودگی میکروبی یخچال‌ها و کاهش طول عمر مفید دستگاه نیز اثر بگذارد (۲۲ و ۲۶). همانطور که گفته شد، قبل از نمونه‌گیری دمای قسمت‌های مورد نظر، توسط دماسنج لیزری رویت و یادداشت گردید؛ با توجه به دامنه بسیار متغیر دما در یخچال‌ها، آنالیز داده‌ها بر اساس دما، در سه گروه دمایی مورد مشاهده، قرار گرفت که میزان مثبت شدن نمونه‌ها بالای ۸۴ درصد بود (در دمای کمتر از ۲ درجه سانتی‌گراد ۸۴/۶٪، دمای ۲-۸ درجه سانتی‌گراد ۹۲/۸٪ و دمای بالاتر از ۸ درجه سانتی‌گراد ۹۴/۶٪)؛ این میزان، از یک سو آلودگی بالای یخچال‌ها و از سوی دیگر توانایی رشد

باکتری‌ها در محدوده دمایی مختلف را بخوبی نشان می‌دهد. با این حال بیشترین باکتری جدا شده، در دمای بالاتر از ۸ درجه سانتی‌گراد (۹۴/۶٪) و کمترین باکتری در دمای کمتر از ۲ درجه سانتی‌گراد (۸۴/۶٪) بودند. در مورد سردخانه‌های بیمارستانی آنچه از مشاهدات ما حاصل شد تفاوت دمایی آن‌چنانی وجود نداشت و سردخانه‌ها عمدتاً در محدوده دمایی ۴-۸ درجه سانتی‌گراد قرار داشتند. مطابق با نتایج، بیشترین گروه باکتریایی که در این محدوده دمایی از سردخانه‌های مواد غذایی بیمارستانی جدا شد EntrBac (۸۸/۰۹٪) و کمترین گروه Staph (۲/۳۸٪) بود. در بخش دیگر آنالیز داده‌های بدست آمده، بیشترین میزان باکتری جدا شده از یخچال‌های بیمارستانی به ترتیب مربوط به طبقات (۹۷/۸٪)، درب (۹۵/۵٪) و دیواره‌های داخلی (۸۳/۶٪) یخچال‌های بیمارستانی بود. این نتیجه بر اساس آزمون Chi-Square در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار بود. نتایج، آلودگی طبقات، سپس داخل درب یخچال‌ها را بخوبی نشان داد. در مورد سردخانه‌ها نیز بیشترین آلودگی مربوط به طبقات (۶۴/۳٪) و کمترین آلودگی مربوط به دیواره‌های (۳۵/۷٪) سردخانه‌ها بود. در مطالعه Andritsos (۲۰۲۱) طبقات یخچال بخصوص طبقه پایینی دارای بالاترین آلودگی باکتریایی بودند (۴). در چند مطالعه دیگر نیز به طور مداوم، طبقات یخچال بخصوص طبقه پایینی، به عنوان آلوده‌ترین نقاط یخچال‌های خانگی گزارش شد (۱۶، ۲۸ و ۲۹). با توجه به اینکه نمونه‌گیری از طبقه پایینی در تمام موارد این مطالعه بسیار مورد توجه محقق بود، دستاورد ما در این مورد مشابه سایر نتایج است. این مساله اهمیت تمرکز، دقت و آموزش کارگران را در چگونگی نظافت قسمت‌های مختلف یخچال به خصوص طبقه پایینی و جلوگیری از انتقال آلودگی به سایر قسمت‌ها را دوجندان می‌کند. در مطالعه دیگری که توسط رحیمی و همکاران (۱۳۹۸) انجام گرفته، آلودگی بالای دستگاه‌هایی مانند

یخچال و فریزر بخصوص درب یخچال‌ها گزارش شده است (۱۷). نتایج این مطالعات نیز با نتایج ما در این مطالعه و آلودگی درب یخچال‌ها با درصد بالا (۹۵/۵٪) به عنوان دومین مکان آلودگی، تا حدودی مشابه است. در مطالعه ما تنوع آلودگی سردخانه‌ها نسبت به یخچال‌های بیمارستانی کمتر بود؛ از دلایل این موضوع علاوه بر کمتر بودن تعداد نمونه‌ها، می‌تواند نوع کاربری و میزان ارتباط افراد باشد چرا که یخچال‌های بخش‌های بیمارستانی در ارتباط و استفاده افراد بیشتری (کارکنان، بیماران و همراهان بیمار) قرار دارد تا سردخانه‌های مواد غذایی بیمارستان و حضور افراد با سطح متفاوت از آگاهی و عدم رعایت مسائل بهداشتی می‌تواند از علل مهم آلودگی بیشتر یخچال‌ها نسبت به سردخانه‌ها باشد. با این حال بیشترین سطح آلودگی هم در یخچال‌ها، هم در سردخانه‌ها مربوط به طبقات است. طبقات و درب یخچال‌ها از مکان‌هایی هستند که در معرض استفاده مستقیم و مکرر افراد مختلف قرار دارند. این موضوع برای بخش‌های خاص که محل بستری بیماران با سطح ایمنی پایین است، اهمیت دارد چراکه مواد غذایی آماده مصرف در یخچال بیماران وجود دارد که با آلودگی تقاطعی یا روش‌های دیگر می‌تواند مشکل بیمار را مضاعف سازد. غفلت در حذف موثر باکتری‌ها از سطوح می‌تواند سبب عفونت یا انتشار پاتوژن‌ها، حتی وسیله انتقال ژن‌های مقاومت دارویی در محیط بیمارستان گردد. وقتی سطح، آلوده رها شود، محیط مرطوب یخچال یا سردخانه می‌تواند به تشکیل بیوفیلم باکتریایی که به مواد شوینده و ضدعفونی‌کننده مقاومند، کمک نماید. از جمله دلایل عمده آلودگی طبقات یخچال و سردخانه، قرار گرفتن مواد خام، میوه‌جات و سبزیجات نشسته در طبقات، بخصوص طبقه پایینی به عنوان اولین مکان جهت قراردادن مواد غذایی، عدم رعایت بهداشت فردی، نشستن دست‌ها، شستن ناقص مواد غذایی مانند گوشت و تمیز نکردن مناسب

استافیلوکوکوس اورئوس، گونه‌های باسیلوس و کلبسیلا پنومونیه بودند (۳۰). در مطالعه Mori (۲۰۲۰) سالمونلا، لیستریا مونوسیترنر و یرسینیا انتروکولیتیکا در هیچ یک از یخچال‌ها یافت نشد، اما کلیفرم و اشریشیا کلی در بیش از یک خانواده شناسایی شدند و استافیلوکوکوس اورئوس شایع‌ترین پاتوژن جدا شده بود (۳۳). در مطالعه Andritsos (۲۰۲۱) سالمونلا و لیستریا در یخچال شناسایی نشد (۴). در مطالعه TQ Chi N (۲۰۲۰) در آشپزخانه بیمارستان ویتنامی باکتری‌های کلیفرم و اشریشیا کلی به طور قابل توجهی بیشتر از آشپزخانه بیمارستان ژاپنی گزارش گردید (۱۲). نتایج این مطالعات مشابه نتایج مطالعه ما می‌باشد. مطالعه اسفرجانی (۲۰۱۶) از یخچال‌های خانگی شهر تهران نشان داد باکتری *L. monocytogenes* ۴۶/۶٪، *S. aureus* ۵/۵٪، *Salmonella spp* ۴/۶٪ بوده و *E. coli* O157:H7 نیز یافت نشد (۱۳). در مطالعه Zainab alag Hasan و همکاران (۲۰۱۹) به ترتیب بیشترین شیوع مربوط به باکتری *Citrobacterfreundi* با فراوانی ۳۱/۵۷٪، *L. monocytogenous* و *Pseudomonas spp* با فراوانی ۱۷/۵۵٪، *salmonella spp* با فراوانی ۱۴/۰۳٪ و *E. coli* با فراوانی ۱۰/۶۳٪ گزارش شد (۱۵). در مطالعه Ewaoche Sunday Itodo (۲۰۱۷) در نیجریه، شیوع دو باکتری *aureus* و *E. coli* در یخچال‌های مورد بررسی به ترتیب ۲۷/۳٪ و ۲۰/۲٪ گزارش گردید. همچنین فراوانی *S. typhi* ۵/۹٪ بود (۳۵)؛ نتایج این قسمت با مطالعه ما متفاوت می‌باشد که اصلی‌ترین علت آن مربوط به مکان نمونه‌گیری یعنی نوع یخچال است چراکه مقدار و تنوع مواد غذایی در یخچال‌های خانگی نسبت به یخچال‌های بیمارستان‌ها متفاوت و بیشتر است.

یخچال‌ها و سردخانه‌ها در فواصل زمانی کوتاه می‌باشد. همچنین قرارگیری مواد غذایی خام و پخته در کنار یکدیگر، عدم بسته‌بندی مناسب و مؤثر (گوشت، تخم مرغ، شیر و ...)، نشت مواد و شیرابه مواد غذایی و در نهایت کارایی و فرکانس نگهداری از یخچال نیز جزء علل مهم آلودگی طبقات یخچال و سردخانه است (۳۱). در قسمت بعدی این مطالعه شناسایی تمامی ایزوله‌ها با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی و کشت‌های اختصاصی انجام شد. بر این اساس بیشترین گروه باکتری جدا شده از یخچال‌های بیمارستان‌ها به ترتیب برابر بود با EntrBac با فراوانی ۶۸/۶٪، Staph با فراوانی ۱۱/۹٪، Entro با فراوانی ۱۰/۶٪ و کمترین گروه Non-Entrbac با فراوانی ۸/۹٪ بود. از میان گروه انتروباکترها بیشترین باکتری جدا شده *E. coli* و بیشترین Staph نیز *S. aureus* بود. در مورد سردخانه‌ها بیشترین گروه باکتری جدا شده EntrBac با فراوانی ۸۸/۰۱٪ و کمترین گروه Staph با فراوانی ۲/۰۴٪ بود. بیشترین باکتری هم *Klebsiella salmonella* بود (۳۹). در این مطالعه موردی از باکتری‌های *L. monocytogenous spp* و *L. monocytogenous* از یخچال‌ها یافت نشد که با توجه به نوع مواد غذایی و بسته‌بندی آنها توجیه پذیر است؛ اما ۲ مورد *salmonella spp* و ۱ مورد *L. monocytogenous* از سردخانه‌های بیمارستانی جدا شد که می‌تواند مربوط به ورود مواد خام گوشتی و سبزیجات باشد. همچنین مقایسه گروه‌های باکتریایی جدا شده از یخچال‌های بخش‌های مختلف بیمارستانی نشان داد که در سه گروه باکتریایی Staph، Entro و Non-Entrbac بیشترین جداسازی‌ها مربوط به بخش‌های حساس بیمارستانی و در گروه باکتریایی EntrBac بیشترین جداسازی‌ها از بخش‌های غیرحساس بیمارستانی بود. در مطالعه مجلسی نصر که سال ۲۰۱۴ روی ادوات طبخ بیمارستانی در شهر تهران انجام داد، مهم‌ترین باکتری‌های جدا شده مربوط به گونه‌های *انتروباکتریاسه* و

نتیجه‌گیری

حذف کامل پاتوژن‌های غذایی غیرممکن است. با این حال، گسترش، رشد و بقای آن‌ها را می‌توان با شیوه‌های صحیح نگهداری و آماده‌سازی مواد غذایی، تمیز کردن و ضدعفونی منظم یخچال‌ها که محلی برای نگهداری یا تماس مواد غذایی هستند، کنترل کرد. یافته‌های این مطالعه نشان داد علیرغم ادعای نظارت و کنترل بهداشتی در سه مرکز درمانی مورد بررسی، امکان حضور هم باکتری‌های شاخص بهداشتی، هم سایر انواع در یخچال‌ها وجود دارد و از آنجا که یخچال به عنوان وسیله‌ای ایمن برای نگهداری مواد غذایی است، بسیار مهم است که افراد آگاه باشند یخچال‌ها می‌توانند جایگاه مهمی برای تداوم و انتشار پاتوژن‌های غذایی بخصوص در مکان مهمی نظیر بیمارستان باشد (۳۴-۳۶). اهمیت کنترل دما، چگونگی و دفعات تمیز کردن یخچال‌ها، تعداد و زمان باز و بسته کردن درب یخچال، تنظیم موتور و درز درب یخچال‌ها به صورت صحیح باید به اطلاع افراد و کارکنان مراکز بهداشتی برسد تا مدیریت و نظافت آن‌ها باعث شود یخچال‌ها منبعی قابل اطمینان جهت ذخیره‌سازی مواد غذایی در زنجیره غذایی سرد باشند و کمتر به عنوان منابع مهم بیماری‌های ناشی از غذای انسان عمل کنند. حضور میکروارگانیسم‌ها در یخچال‌های بخش‌های حساس و غیرحساس بیمارستانی، نشان‌دهنده عدم رعایت اصول اولیه بهداشت و سطح اطلاعات پایین افراد (اعم از کارکنان، بیماران و ملاقات کنندگان) نسبت به نکات بهداشتی مواد غذایی (جداسازی، بسته‌بندی مناسب، شستن مواد غذایی خام و پخته، ...) بخصوص در چنین مکانی است. این یافته به

خصوص در بخش‌های حساس بیمارستانی بسیار بسیار حائز پیگیری و اهمیت است (۳۷)؛ چراکه احتمال شکست درمان یا افزایش دوره درمان را به علت ضعف سیستم ایمنی بیماران فراهم می‌نماید. افزایش آگاهی افراد و مسوولین مرتبط در این زمینه می‌تواند از جابه‌جایی و انتقال تقاطعی میکروارگانیسم‌ها به بخش‌های مختلف بیمارستانی و کسب مقاومت از سایر سویه‌های مقاوم جلوگیری کند. با آنکه مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های بدست آمده در مطالعه ما نسبت به سایر یافته‌ها کمتر بود، با این حال وجود تنها چند سویه مقاوم با توانایی بالقوه در کسب مقاومت‌های دیگر و از همه مهم‌تر انتقال این ژن‌ها بین گونه‌های مختلف و درون یک گونه، از طریق پلاسمید، انتقال افقی، باکتریوفاژها و ... با اهمیت و باعث نگرانی روز افزون است. از طرف دیگر مصرف انواع آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف توسط بیماران بستری در بیمارستان می‌تواند از عوامل مؤثر در افزایش باکتری‌های مقاوم در محیط بیمارستان باشد. استفاده ناصحیح و بیش‌ازحد آنتی‌بیوتیک‌ها توسط پزشکان و بیماران و فروش بدون نسخه آنتی‌بیوتیک، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در غذای دام، استفاده خانگی از آنتی‌بیوتیک‌ها در صابون‌ها و سایر محصولات و اعمال نادرست در صنایع داروسازی موجب گسترش سویه‌های مقاوم شده است (۳۸). لذا، توصیه می‌شود با رعایت اصول استاندارد مثل تجویز به موقع و مناسب آنتی‌بیوتیک‌ها، شستشوی مرتب دست‌ها، استفاده از دستکش و ماسک، شستشو و ضدعفونی دستمال‌هایی که جهت نظافت سطوح استفاده می‌شوند، از ظهور و انتشار سویه‌های مقاوم جلوگیری گردد.

منابع

1. Aghalari Z, Dahms H, Jafarian S, Jafarian S, Gholinia Ahangar H. Evaluation of Anxiety during Coronavirus Pandemic Among Healthcare Workers in Babol in 2020: A Short Report. JRUMS 2021; 20 (8) :933-942.
2. Odeyemi, O. A. and N. A. Sani .Antibiotic resistance and burden of foodborne diseases in developing countries, Future Science. 2: FSO139. analysis." American journal of infection control.2016; 45(12): e149-e156.
3. Abbot, J. M., C. Byrd-Bredbenner, D. Schaffner, C. Bruhn and L. Blalock. Comparison of food safety cognitions and self-reported food-handling behaviors with observed food safety behaviors of young adults. European journal of clinical nutrition.2009;63(4)5722-579.
4. Sangeeta, S., D. Banwet and S. Karunes. "An integrated framework for quality in education: application of quality function deployment, interpretive structural modeling and path analysis." The TQM Journal .2008; 20(5): 502-519.
5. Lahou, E., L. Jacxsens, E. Verbunt and M. Uyttendaele . "Evaluation of the food safety management system in a hospital food service operation toward Listeria monocytogenes." Food control.2015; 49: 75-84.
6. Bou-Mitri, C., D. Mahmoud, N. El Gerges and M. Abou Jaoude . "Food safety knowledge ,attitudes and practices of food handlers in lebanese hospitals: A cross-sectional study. Food control 2018;94: 78-84.
7. Alqurashi, N. A., A. Priyadarshini and A. K. Jaiswal .Evaluating food safety knowledge and practices among foodservice staff in Al Madinah Hospitals, Saudi Arabia.2019 Safety; 5(1): 9.
8. Sani Amudhan, S., U. Sekar, K. Arunagiri and B. Sekar . "OXA beta-lactamase-mediated carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii." Indian journal of medical microbiology.2011; 29(3):269-274.
9. Sun, Y.-M. and H. Ockerman ."A review of the needs and current applications of hazard analysis and critical control point (HACCP) system in foodservice areas." Food control .2005;16(4): 325-332.
10. Cataño, J., L. Echeverri and C. Szela . "Bacterial contamination of clothes and environmental items in a third-level hospital in Colombia." Interdisciplinary perspectives on infectious diseases. 2012.
11. Chelab, R. L. Rapid and Inexpensive DNA Extraction Protocol from Gram Negative and Gram Positive Bacteria." SCOPUS IJPHRD CITATION SCORE.2019; 10(6): 634.
12. Wallinga, D., G. Rayner and T. Lang "Antimicrobial resistance and biological governance: explanations for policy failure." Public health.2019; 129(10): 1314-1325.
13. Sserwadda, I., M. Lukenge, B. Mwambi, G. Mboowa, A. Walusimbi and F. Segujja. "Microbial contaminants isolated from items and work surfaces in the post-operative ward at Kawolo general hospital, Uganda." BMC infectious diseases.2018; 18(1): 1-6.
14. Sultana, R. Determination of prevalence and antibiotic susceptibility pattern of the bacterial isolates collected from different parts of restaurant refrigerators of Mohakhali, Dhaka, Bangladesh, BRAC University.2018.
15. Otu-Bassey, I. B., I. S. Ewaoche, B. F. Okon and U. A. Ibor ."Microbial contamination of house hold refrigerators in Calabar Metropolis-Nigeria." American Journal of Epidemiology and Infectious Disease.2017; 5(1): 1-7.
16. Taheri, N., H. Abtahi, A. Amozande-Nobaveh, N. Zarinfar and E. Ghaznavi-Rad

- . "The antibiotic resistant determinant of pathogenic bacteria isolated from medical equipment and hospital environment in Valiasr Hospital, Arak, 2013." *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*.2014; 24(114): 60-73.
17. Rahimi, S. M., M. Ebrahimi, B. Barikbin and T. Zeinali . "Evaluation of bacterial and fungal contamination of kitchens of Birjand University of Medical Sciences." *BMC research notes*.2019; 12(1): 1-6.
18. Murray, P. R., K. S. Rosenthal and M. A. Pfaller . *Medical microbiology* E-book, Elsevier Health Sciences.2020.
19. Humphries, R., A. M. Bobenchik, J. A. Hindler and A. N. Schuetz . "Overview of Changes to the Clinical and Laboratory Standards Institute Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100." *Journal of Clinical Microbiology*.2023; JCM. 00213-00221.
20. Mosadeghrad, A. M. "Patient choice of a hospital: implications for health policy and management." *International journal of health care quality assurance*.2014.
21. Kampmann, Y., S. Bruckner, S. Kohn, K. Kloft And J. Kreyenschmidt . Investigation Of Microbiological Contamination In Domestic Refrigerators And An Analysis Of Appropriate Methods For Reduction Of Contamination In Private Households. The International Conference Of Refrigeration Iif.2008.
22. Lalitha, C. "Contamination of refrigerator is a threat for infections" 2019.
23. Baghapour, M. A., Mazloomi, S. M., Azizi, K., Sefidkar, R. Microbiological Quality of Food Contact Surfaces in A Hospital Kitchen in Shiraz, Iran, 2014. *Journal of Health Sciences & Surveillance System*, 2015; 3(4): 128-132.
24. Behraves, C. B., I. T. Williams and R. V. Tauxe . Emerging foodborne pathogens and problems: expanding prevention efforts before slaughter or harvest. Improving food safety through a one health approach: workshop summary, National Academies Press (US).2012Chelab, R. L. Rapid and Inexpensive DNA Extraction Protocol from Gram Negative and Gram Positive Bacteria." *SCOPUS IJPHRD CITATION SCORE*.2019; 10(6): 634.
25. Hasan, F. R. Determination of prevalence and antibiotic susceptibility pattern of the bacterial isolates collected from different parts of domestic refrigerators, BRAC University.2018.
26. Belman-Flores, J. M., D. Pardo-Cely, M. A. Gómez-Martínez, I. Hernández-Pérez, D. A. Rodríguez-Valderrama and Y. Heredia-Aricapa . "Thermal and energy evaluation of a domestic refrigerator under the influence of the thermal load." *Energies*. 2019; 12(3): 400.
27. Andritsos ND, Stasinou V, Tserolas D, Giaouris E. Temperature distribution and hygienic status of domestic refrigerators in Lemnos island, Greece. *Food Control*. 2021; 127:108-121.
28. Catellani, P., R. M. Scapin, L. Alberghini, I. Radu and V. Giaccone . "Levels of microbial contamination of domestic refrigerators in Italy." *Food Control* 2014;42: 257-262.
29. Mori, M., Y. Sakagami, M. Tanaka, R. Inoue and T. Jojima . "Analysis of the Relationship of Microbial Contamination with Temperature and Cleaning Frequency and Method of Domestic Refrigerators in Japan." *Journal of Food Protection*.2020; 83:1234-1240.
30. Chi, N. T .Q., N. T. H. Lan, K. Toyama and Y. Mukai . "Microbial inspection of a Vietnamese hospital kitchen with reference to a Japanese hospital kitchen." *Journal of Food Safety*.2020; 40(5): e12827.
31. Kumar, M. R., B. Rishu and J. Osborne . "Isolation of various bacterial pathogens from domestic refrigerators." *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*.2012; 5(3): 151-153.
32. Majlesi Nasr, M., M. Alebouyeh, P. Torabi, M. Balvayeh and M. R. Zali (2014). "Risk assessment of cooking utensils role of the

- bacterial contamination in the hospital kitchen." ISMJ.2014; 17(3): 336-344.
33. Frieri, M., K. Kumar and A. Boutin. "Antibiotic resistance." Journal of infection and public health.2017; 10(4): 369-378.
 34. Esfarjani, F., R. Khaksar, F. M. Nasrabadi, R. Roustae, H. Alikhanian, N. Khalaji, A. M. Khaneghah and H. Hosseini . "A preventative approach to promote food safety: Bacterial contamination of domestic refrigerators." British Food Journal.2016.
 35. Hassan, Z. A., R. R. Hateet and A. A. Al-Mussawi . "Isolation and Identification of Pathogenic Bacterial Species from Refrigerators in Basrah City, South of Iraq." Indian Journal of Public Health.2019; 10.
 36. Tavakkoli, H., A. Zabihi, S. A. Khatibi, T. Nasiri, L. Kaviani and N. Dopeykar . "Status of prerequisite programs for the implementation of HACCP system in chain restaurants in Iran." British Food Journal.2015.
 37. Maki, A. A. "A Study Of Bacterial Contamination In Different Places In House Kitchens".2019.
 38. Rodríguez-Acelas, A. L., M. de Abreu Almeida, B. Engelman and W. Cañon-Montañez . "Risk factors for health care-associated infection in hospitalized adults: systematic review and meta-analysis." American journal of infection control .2017;45(12): e149-e156.
 39. Lee, H. K., H. Abdul Halim, K. L. Thong and L. C. Chai" . Assessment of food safety knowledge, attitude, self-reported practices, and microbiological hand hygiene of food handlers." International Journal of Environmental Research and Public Health.2017; 14(1): 55.

Phenotypic analysis and identification of antibiotic resistance genes of some index pathogenic bacteria in food cold stores of three major hospitals in Tehran

Elham Soltanzadeh¹, **Abbasali Motallebi^{1*}**, Hedayat Hosseini², Mohammadali Boroumand³

1. Department of hygiene, science and research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Food Industry, Faculty of Food Science and Food Industry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3. Department of Pathology, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

In this study, the bacteria of the food cold storages of three big hospitals in Tehran were evaluated. Sampling of food refrigerators from different departments of 3 hospitals with more than 400 beds was done once a week during 10 consecutive months from June to March 2018. After determining the identity of the isolates with differential tests, the pattern of antibiotic resistance was determined and the presence of antibiotic resistance genes of resistant strains was checked by molecular PCR method. A total of 236 positive samples were isolated from refrigerators and 42 positive samples from cold rooms of three hospitals. The most positive samples were obtained from devices with inappropriate appearance, temperature above 8°C, and the floors of refrigerators. Most of the isolates belonged to the bacterial group Enterobacter (68.8%), Staph (11.9%) and Enterococcus (10.6%). 2 cases of *salmonella spp* and 1 case of *L. monocytogenes* were isolated from cold storages. Refrigerated samples were sensitive to all antibiotics used in this study. In refrigerator isolates, the highest resistance was related to ESBL (9.7%), VRE (5.3%), MRSE (0.4%) and MRSA (0.4%), respectively. In the extensive investigation of resistance genes, blaOXA-48, blaCTX and blaTEM genes were found in 10% of Enterobacter group isolates. blaOXA-51 gene was found in all non-Enterobacter resistant strains and mecA and vanA genes were found in staph and enterococcus resistant isolates. Bacterial contamination of hospital refrigerators is a warning about the possibility of transmission of contamination, outbreak of disease, failure in treatment, exacerbation of disease complications and risk of transfer of resistant genes from resistant strains to sensitive strains.

Keywords: Food-borne Diseases, Antibiotic Resistance, Hospital refrigerators, Food safety.

* abbasalimotallebi@gmail.com