جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقاله پژوهشی

تعیین فراوانی استافیلوکوکوس ارئوس مولد آنتروتوکسین و مقاوم به متی‌سیلین در انواع مختلف شیرینی‌های خامه‌ایی عرضه شده در تعدادی از قنادی‌های شهرستان ارومیه

دکتر نیما حسینی جزنی*[1]، همایون بابازاده[2]

تاریخ دریافت: 1391/10/12 تاریخ پذیرش: 1391/12/16

چکیده

پیش زمینه و هدف: استافیلوکوکوس ارئوس یکی از شایع‌ترین عامل مسمومیت غذایی است.سویه‌های مقاوم به متی سیلین استافیلوکوکوس ارئوس اغلب نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان مقاوم‌اند. هدف مطالعه حاضر تعیین میزان شیوع استافیلوکوکوس ارئوس مولد انتروتوکسین در شیرینی‌های خامه‌ایی ارائه شده در قنادی‌های ارومیه و تعیین میزان مقاومت به متی سیلین در بین ایزوله‌های به دست آمده می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ۱۰۰ نمونه شیرینی خامه‌ایی بر روی دو محیط کشت BHI و مانیتول سالت آگارکشت داده شدند. شناسایی استافیلوکوکوس ارئوس با روش‌های استاندارد ازجمله رنگ آمیزی گرم، تست‌های کاتالاز وکواگولاز و.. انجام گرفت. جهت بررسی تولید انتروتوکسین و نوع آن از کیت SET-RPLA Toxin Detection استفاده شد. تعیین مقاومت ایزوله‌ها به اگزاسیلین با روش دیسک دیفیوژن انجام گرفت.

یافته‌ها: از ۱۵درصد نمونه‌ها استافیلوکوکوس ارئوس جداسازی شد، ارتباط معنی‌داری بین نوع شیرینی خامه‌دار و تعداد ایزوله‌ها وجود نداشت ($p>0.05$). کلیه ایزوله‌ها نسبت به اگزاسیلین حساس بودند. ۴۰ درصد (۶ عدد)ایزوله‌ها انتروتوکسیژنیک بودند، که از این تعداد۶۶،۶درصد (۴ مورد)نوع A، ۳۳،۳درصد (۲ مورد) نوع Bو۱۶،۶درصد(یک مورد) نوع D سم را تولید می‌نمود. ایزوله‌ها به ترتیب نسبت به پنی‌سیلین، ریفامپین و تیکوپلانین بیشترین میزان مقاومت و نسبت به جنتامیسین و کوتری موکسازول بیشترین حساسیت رانشان دادند. تفاوتی در مقاومت ایزوله‌های انتروتوکسیژنیک و غیر انتروتوکسی ژنیک نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها وجود نداشت.

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان دهنده آلودگی تعدادی از شیرینی‌های خامه‌دار با استافیلوکوکوس ارئوس مولد انتروتوکسین می‌باشد، بنابراین بر لزوم استفاده از مواد اولیه تازه و بهداشتی و رعایت بهداشت فردی کادر قنادی توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: استافیلوکوکوس ارئوس، انتروتوکسین، متی سیلین، شیرینی خامه‌ایی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و چهارم، شماره اول، ص ۵۱-۴۵، فروردین ۱۳۹۲

آدرس مکاتبه: ارومیه، جاده نازلو، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی، گروه میکروب‌شناسی، ایمنی شناسی و ژنتیک، تلفن: ۰۹۱۴۳۴۶۴۲۳۴
Email: n_jazani@yahoo.com

مقدمه

استافیلوکوکوس ارئوس کوکسی گرم مثبت خوشه‌ایی است که در سطح پوست و غشاء های مخاطی اشخاص سالم، آب، هوا، زمین، گرد و غبار، ظروف، شیر گاو و.... وجود دارد. این باکتری شایع‌ترین عامل مسمومیت غذایی باکتریایی است و در حدود یک سوم نژادهای استافیلوکوکوس ارئوس وقتی روی برخی مواد غذایی قرار می‌گیرند، تولید انتروتوکسین می‌نمایند که جذب آن از روده باعث بروز مسمومیت غذایی با علایم استفراغ، اسهال و ضعف فوق‌العاده شدید می‌شود. انواعی مختلفی از انتروتوکسین‌های استافیلوکوکوس ارئوس شناسایی شده‌اند که شایع‌ترین آن‌ها Staphylococcus aureus entrotoxin A, B, C, D, E می‌باشند، شیوع انتروتوکسین A در مسمومیت غذایی نسبت به سایر انواع بیشتر است(۱, ۲).

[1] دانشیار میکروب شناسی، مرکز تحقیقات سلامت مواد غذایی وآشامیدنی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)
[2] گروه میکروب شناسی، ایمنی شناسی وژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مسمومیت غذایی استافیلوککی معمولاً از طریق غذای آلوده شده توسط ناقل انسانی به انسان منتقل می‌شود. این باکتری اسپوزا نبوده و بنابراین مسمومیت غذایی ناشی از این باکتری به راحتی با حرارت دادن غذا قابل اجتناب به نظر می‌رسد. ولی با این وجود استافیلوکوکوس ارئوس شایع‌ترین عامل مسمومیت غذایی باکتریایی بوده و معمولاً در حین آماده سازی غذا را آلوده می‌کند. در حدود ۳۰-۵۰درصد افراد سالم این باکتری را در پوست، گلو و یا بینی خود حمل می‌کنند. استافیلوکوکوس ارئوس قادر است در طیف وسیعی از شرایط محیطی از قبیل دما، pHو غلظت‌های نسبتاً بالای کلرید سدیم رشد نماید. این ویژگی‌ها باعث قابلیت رشد باکتری در طیف گسترده ایی از مواد غذایی می‌شود. با توجه به نقش عمده ناقل انسانی در تهیه انواع شیرینی‌جات لذا احتمال آلودگی بالای این محصولات با استافیلوکوکوس ارئوس وجود دارد(۳).

تا به امروز حداقل ۲۱ نوع انتروتوکسین استافیلوکوکوس ارئوس شناسایی شده‌اند(۴)، ساختار این انتروتوکسین‌ها ازنظر توالی ژنومی مشابه بوده ومحصولات آن‌ها پروتئین‌های ترشحی کوتاه محلول درآب می‌باشند. این سموم نسبت به اغلب آنزیم‌های پروتئولیتیک و حرارت مقاوم بوده وبنابراین درحین پخت غذا، پاستوریزه کردن محصولات لبنی ویاپس از خورده شدن توسط آنزیم‌های گوارشی از بین نمی‌روند(۲،۳) ولی با دمای بالایی که برای استریل نمودن غذاهای کنسرو شده به کار می‌رود از بین می‌روند. بنابراین انتروتوکسین‌های استافیلوککی نسبت به شرایطی که خود باکتری را از بین می‌برد (حرارت، اسیدیته بالا و...) مقاوم‌اند.

انتروتوکسین‌های استافیلوککی سوپرانتی ژن‌های قوی، تب زا وعامل سرکوب پاسخ‌های سیستم ایمنی و تکثیر غیراختصاصی و وسیع T سل‌ها می‌باشند. همچنین با تحریک مرکز تهوع در مغز باعث ایجاد تهوع واستفراغ می‌شوند(۶، ۵، ۳).

اکثر غذاها از جمله شیر، خامه، شیرینی‌های خامه‌ایی، کره و... محیط کشت مناسبی برای استافیلوکوکوس ارئوس به شمار می‌روند. تاکنون موارد متعددی از اپیدمی‌های مسمومیت غذایی استافیلوککی گزارش شده است. البته نوع غذاهایی که به طور شایعی باعث مسمومیت غذایی می‌شوند ازکشوری به کشور دیگر متفاوت است. مثلا در سال‌های ۱۹۶۹-۹۰ درانگلستان شایع‌ترین غذاهای عامل مسمومیت غذایی استافیلوککی غذاهای گوشتی و درفرانسه در سال‌های ۱۹۹۹-۲۰۰۰ محصولات لبنی به ویژه پنیر بوده است(۷).

اکثرا ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به پنی‌سیلین، برخی مقاوم به متی سیلین، نفسیلین و به ندرت مقاوم به وانکومایسین می‌باشند. سویه‌های مقاوم به متی سیلین نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های مشابه بامتی سیلین از قبیل کلوگزاسیلین، دی کلوگزاسیلین، فلوکلوگساسیلین، نفسیلین، اگزاسیلین وسفوکسی تین ویا غیرمشابه بامتی سیلین از جمله آمینوگلیکوزیدها، کلیندامایسین، ماکرولیدها وتتراسیکلین نیز مقاومند(۸).

علاوه بر نقش استافیلوکوکوس ارئوس مولد انتروتوکسین درآلودگی مواد غذایی وایجاد مسمومیت‌های غذایی در شهرستان ارومیه، هیچ گونه اطلاعی در رابطه با میزان فراوانی استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی سیلین (MRSA) ومیزان انتقال آن به انسان از طریق غذای آلوده وجود ندارد.

با توجه به رشد وتکثیر فراوان استافیلوکوکوس در مواد غذایی با ماهیت لبنی وقندی وبا توجه به انتروتوکسی ژنیک بودن این باکتری ونیز عدم وجود هیچگونه اطلاعاتی در رابطه با میزان آلودگی شیرینی‌های تر در شهرستان ارومیه با این باکتری وبه ویژه با انواع انتروتوکسیژنیک آن، لذا هدف مطالعه حاضر بررسی میزان شیوع استافیلوکوکوس ارئوس مولد انتروتوکسین در شیرینی‌های خامه‌ایی ارائه شده در سطح قنادی‌های شهرستان ارومی ه وتعیین میزان شیوع MRSA در بین ایزوله‌های به دست آمده بوده است.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری از ۲۵ قنادی در سطح شهرستان ارومیه در طی دوره زمانی ۳ ماهه از تیرماه تا شهریور ماه(فصل وفور آلودگی‌های میکروبی) ۱۳۸۹ انجام گرفت، از بین ۱۱۴ قنادی موجود در سطح شهر ۲۵ قنادی با در نظر گرفتن نشانی و درجه بهداشتی انتخاب شدند. از هر قنادی چهار نمونه متفاوت شیرینی خامه‌ایی تهیه شد. انواع شیرینی‌های تحت مطالعه همگی شیرینی تر خامه‌دار و از نوع لطیفه‌های خامه‌ایی، رولت، نان‌های خامه‌ایی و شیرینی‌هایی با رویه خامه‌ایی بودند. نمونه‌ها پس از نمونه‌برداری در کلد باکس قرار داده شده سریعاً به آزمایشگاه میکروب‌شناسی برای کشت منتقل شدندو بلافاصله پس از انتقال کشت داده شدند. در حدود ۳۰ گرم از هر نمونه در ۹۰ سی سی بافر فسفات سالینPBS حل شده و با استفاده از هموژنایزر هموژن شده و ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه روی دو محیط کشت یکی پلیت حاوی محیط کشت BHI (به منظور تعیین شمارش کلی باکتری‌ها) و دوم پلیت حاوی محیط کشت مانیتول سالت آگار(به منظور جداسازی استافیلوکوکوس آرئوس) کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد کلنی‌های زرد به دست آمده از محیط کشت مانیتول سالت آگارانتخاب شدند. باکتری‌های جداسازی شده در پلیت حاوی محیط کشت بی اچ ای کشت داده شده و پس از

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

انکوباسیون به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد مرفولوژی میکروارگانیسم‌ها با رنگ آمیزی گرم مورد بررسی قرارگرفت ودر صورت حضور کوکسی گرم مثبت، تست کاتالاز با استفاده از محلول آب اکسیژنه ۳درصد انجام گرفت. در صورت مثبت بودن تست کاتالاز، آزمایش کواگولاز با استفاده از پلاسمای خرگوش ابتداء با روش لامی ودر صورت منفی بودن با روش لوله ایی انجام شد. باکتری‌های با مرفولوژی کوکسی گرم مثبت وکواگولاز مثبت جهت بررسی تولید انتروتوکسین با استفاده از کیت SET-RPLA Toxin Detection Kit(Oxoid) تحت آزمایش قرار گرفتند. به این منظور کلنی‌های جداسازی شده در ۵ سی سی محیط کشت مایع تی اس بی تلقیح شده و یک شب (۱۸-۲۴ ساعت) در ۳۷ درجه سانتی‌گراد درانکوباتور شیکردار انکوبه شدند. پس از طی این زمان سانتریفوگاسیون نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در چهار درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. پس از فیلتراسیون۲۵ میکرولیتر از نمونه جهت تعیین حضور انتروتوکسین A، B، C، D، با روش اگلوتاسیون پاسیولاتکس به طریقه معکوس طبق دستورالعمل شرکت سازنده مورد بررسی قرار گرفت.

برای انجام آزمایش برای هر نمونه پنج ردیف هشت‌تایی در یک میکروپلیت در نظر گرفته شد و۲۵ میکرولیتر از حلال به کلیه چاهک‌ها افزوده شد. سپس ۲۵ میکرولیتر ازنمونه به اولین چاهک هر پنج ردیف اضافه شدورقت های متوالی با استفاده از اولین چاهک موجود در هرردیف در سایر چاهک‌های آن ردیف(به جز چاهک هشتم) تهیه شد. سپس به کلیه چاهک‌ها در هرردیف ۲۵ میکرولیتر از یکی از آنتی انتروتوکسین‌های A، B، C و یا D اضافه شد. به چاهک‌های ردیف پنجم ۲۵ میکرولیتر ازنمونه کنترل مثبت اضافه شدو به دنبال آن میکروپلیت برروی شیکر قرار گرفت وسپس به مدت ۲۰-۲۴ ساعت در دمای اطاق ودر شرایط مرطوب قرار د اده شد و پس از آن چاهک‌های پلیت از نظر حضور یا عدم حضور آگلوتیناسیون در زمینه تاریک مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج به صورت منفی تا +++یادداشت شد.

تعیین مقاومت یا حساسیت ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس نسبت به اگزاسیلین با کشت باکتری در سطح محیط کشت جامد مولر هینتون آگاروقراردادن دیسک اگزاسیلین(Hi-media) با قدرت ۱ میکروگرم در سطح محیط کشت انجام گرفت. همچنین جهت تعیین حساسیت ایزوله‌ها نسبت به پاره ایی از آنتی‌بیوتیک‌های موثر برروی استافیلوکوکوس ارئوس ازروش دیسک دیفیوژن با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین(۱۰)، تئکوپلانین(۳۰)، ریفامپین(۵)، آموکسی کلاو(۱۰/۲۰)، اریترومایسین (۱۵)، کلیندامایسین(۲)، جنتامیسین(۱۰)، سفتی زوکسیم(۳۰)، کلرامفنیکل(۳۰)، سفالوتین(۳)، کوتری موکسازول(۲۳،۷۵/۱،۲۵)، تتراسیکلین(۳۰)، آمپی‌سیلین(۱۰)(Hi-media, Mombay) براساس استاندارد CLSI استفاده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد پلیت ها مورد بررسی قرار گرفته و قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک با خط کش اندازه گیری شد. ودر صورتی که قطر هاله عدم رشد بزرگ‌تر یا مساوی ۱۳ میلی‌متر بود باکتری به عنوان سویه حساس نسبت به اگزاسیلین/ متی‌سیلین در نظر گرفته شد(۸).

یافته‌ها

مطالعات میکروب‌شناسی انجام شده با روش کشت و رنگ آمیزی گرم نشان داد که درکلیه محیط‌های کشت بی اچ ای تعداد زیادی کلنی پس از کشت ۲۴ ساعته نمونه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. درمجموع از ۱۰۰ نمونه تحت بررسی ۷۴درصد نمونه‌ها حاوی کوکسی‌های گرم مثبت، ۴۷درصد حاوی باسیل‌های گرم منفی، ۳۷درصد آلوده با باسیل‌های گرم مثبت، ۵درصد آلوده با کوکسی‌های گرم منفی و۳درصد آلوده به مخمر بودند.

در مجموع از ۱۰۰ نمونه شیرینی خامه‌دار تحت بررسی، استافیلوکوکوس ارئوس از ۱۵ نمونه (۱۵%) جداسازی شد.

در مجموع چهار نوع شیرینی خامه‌دار ازانواع لطیفه خامه‌ایی، رولت، نان خامه‌ایی وشیرینی رویه خامه‌ایی به تعداد از هر کدام ۲۵ عدد مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی چهار ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس از شیرینی‌های با رویه خامه‌ایی، چهار ایزوله از شیرینی‌های لطیفه، سه ایزوله از رولت و چهار ایزوله از نان‌های خامه‌ایی به دست آمد و بدین ترتیب هیچ‌گونه ارتباط معنی‌داری بین نوع شیرینی خامه‌دار وتعداد ایزوله‌ها وجود نداشت($p>0.05$).

درمجموع از ۱۵ جدایه استافیلوکوکوس ارئوس، کلیه جدایه ها نسبت به نسبت به اگزاسیلین حساس بودند و هیچ جدایه‌ایی از استافیلوکوکوس ارئوس که نسبت به اگزاسیلین مقاوم باشد از نمونه‌های تحت مطالعه به دست نیامد.

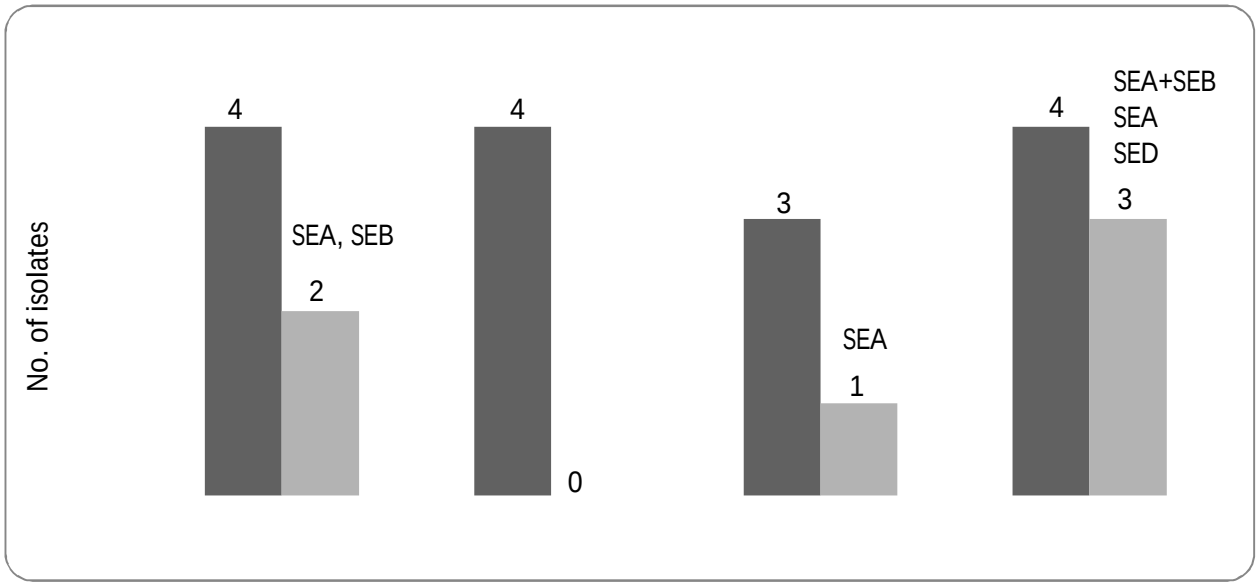
نتایج تولید انتروتوکسین‌های A,B,C,D توسط ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس:

از ۱۵ ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس تحت بررسی ۴۰درصد ایزوله‌ها (شش ایزوله) تولید کننده انتروتوکسین بودند، از ایزوله‌های مولد انترتوکسین چهار ایزوله(۶۶/۶%) انتروتوکسین نوع A، دو ایزوله (۳۳/۳%) انتروتوکسین نوع B ویک ایزوله(۱۶/۶%)

انتروتوکسین نوع D راتولید می‌نمود. هم چنین هیچ ایزوله مولد انترتوکسین نوع C شناسایی نشد. همچنین یکی از ایزوله‌ها به‌طور همزمان قادر به تولید انتروتوکسین نوع A و B بود.

میزان جداسازی ایزوله‌های مولد انتروتوکسین از انواع مختلف شیرینی‌های تر تحت بررسی:

بیشترین میزان آلودگی شیرینی‌های خامه‌دار با استافیلوکوکوس ارئوس انتروتوکسی ژنیک در مورد نان خامه‌ایی(سه ایزوله) و به دنبال آن شیرینی رویه خامه‌ایی (دو ایزوله) مشاهده شد. همچنین یکی از ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس مولد انتروتوکسین از شیرینی رولت جداسازی شد(نمودار ۱).



نمودار شماره (۱): فراوانی ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس ونیز استافیلوکوکوس ارئوس آنتروتوکسی ژنیک به تفکیک نوع شیرینی

SEA=Staphylococcus Entrotoxin A

SEB= Staphylococcus Entrotoxin B

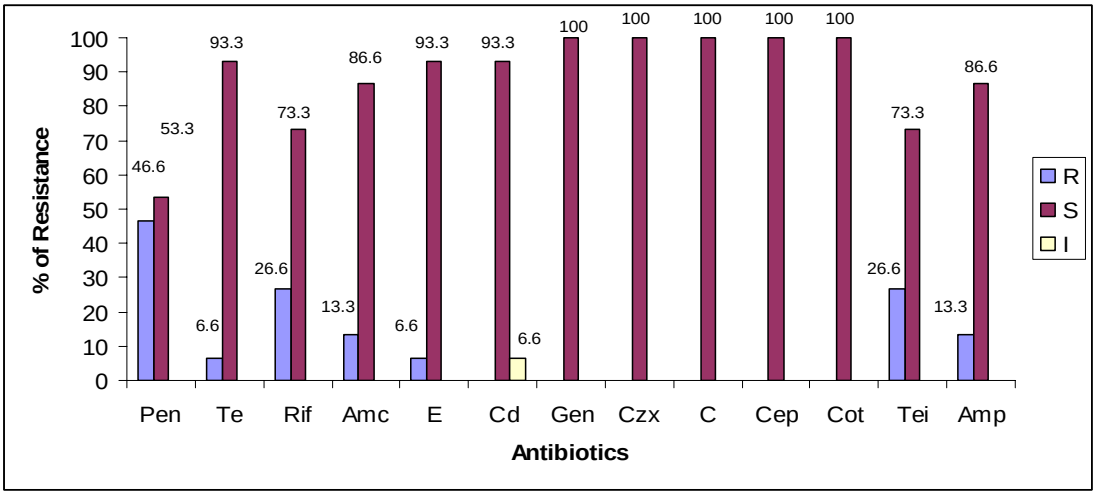
SEC= Staphylococcus Entrotoxin C

SED= Staphylococcus Entrotoxin D

هم چنانکه مشاهده می‌شود ازنمونه شیرینی رویه خامه‌ایی در مجموع چهار ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس جدا شدندکه ۵۰درصد ایزوله‌های به دست آمده انتروتوکسی ژنیک بوده و ایزوله اول انتروتوکسین SEA و ایزوله دوم SEB راتولید می‌نمود. از نمونه‌های شیرینی تر لطیفه اگرچه چهار ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس جداشد ولی ایزوله‌های انتروتوکسی ژنیک به دست نیامد. ازنمونه شیرینی رولت در مجموع سه ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس جدا شدندکه ۳۳/۳ درصد ایزوله‌های به دست آمده انتروتوکسی ژنیک بوده و این ایزوله انتروتوکسین SEA راتولید می‌نمود. ازنمونه شیرینی نان خامه‌ایی در مجموع چهار ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس جدا شدندکه ۷۵درصد ایزوله‌های به دست آمده انتروتوکسی ژنیک بوده و ایزوله اول انتروتوکسین SEA+SEB، ایزوله دوم SEA و ایزوله سوم SED را تولید می‌نمود(نمودار ۱).

نتایج آنتی بیوگرام ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس:

نتایج مربوط به آنتی بیوگرام ایزوله‌های مختلف استافیلوکوکوس ارئوس در نمودار۲ نشان داده شده است. هم چنانکه مشاهده می‌شود، این ایزوله‌ها به ترتیب نسبت به پنی‌سیلین(۴۶/۶%، هفت ایزوله مقاوم)، ریفامپین(۲۶/۶%، چهار ایزوله مقاوم) و تیکوپلانین(۲۶/۶%، چهار ایزوله مقاوم) بیشترین میزان مقاومت رانشان می‌دهند. از طرفی حداکثر حساسیت ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامیسین، کوتری موکسازول، سفتی زوکسیم، کلرامفنیکل و سفالوتین مشاهده شد. در مجموع کلیه ایزوله‌ها نسبت به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه حساسیت قابل توجهی رانشان دادند. همچنین هیچگونه تفاوتی در میزان مقاومت ایزوله‌های انتروتوکسی ژنیک و غیر انتروتوکسی ژنیک نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده دراین مطالعه وجود نداشت.



نمودار شماره (۲): نتایج مربوط به آنتی بیوگرام ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس به دست آمده از نمونه‌های شیرینی تحت بررسی Pen(پنی‌سیلین)، Te(تتراسیکلین)، Rif(ریفامپیسین)، Amc(آموکسی کلاو)، E(اریترومایسین)، Cd(کلیندامایسین)، Gen(جنتامیسین)، Czx(سفتی زوکسیم)، C(کلرامفنیکل)، Cep(سفالوتین)، Cot(کوتری موکسازول)، Tei(تئکوپلانین)، Amp(آمپی‌سیلین).

بحث و نتیجه‌گیری

در حدود ۱۵-۸۰درصد استافیلوکوکوس ارئوس‌هایی که از مواد غذایی جداسازی می‌شوند، قادر به تولید انتروتوکسین هستند. روش‌های مختلف فنوتیپی و ژنتیکی برای شناسایی ایزوله‌های مولد انتروتوکسین استافیلوکوکوس ارئوس در مواد غذایی طراحی شده است . از جمله روش‌های فنوتیپی روش اگلوتیناسیون سینگل رادیال ایمنودیفیوژن و روش اگلوتیناسیون لاتکس می‌باشد. روش اگلوتیناسیون به دلیل شباهت آنتی‌ژنیک سروتیپ‌های انتروتوکسین‌های استافیلوککی قابل اعتماد نمی‌باشد(۹). از طرفی روش اگلوتیناسیون لاتکس برای شناسایی انواع شایع انتروتوکسین‌های استافیلوککی(انواع A تا E) کاملاً قابل کاربرد می‌باشد(۱۰). همچنین روش‌های مولکولی از قبیل PCR و-RT PCR نیز برای تعیین حضور ژن‌های مولد انتروتوکسین‌های استافیلوککی توصیه می‌شوند، البته اشکال روش‌های ژنوتیپی این است که در همه موارد حضور یک ژن دال بربیان آن نمی‌باشد و بنابراین علاوه بر حضور ژن بیان آن نیز باید تحت بررسی قرار بگیرد(۱۰). مواد غذایی مختلف به ویژه شیرینی‌های خامه‌دار یک منبع مهم آلودگی با استافیلوکوکوس ارئوس محسوب می‌گردند.

با توجه به نکات ذکر شده در این مطالعه جهت تعیین میزان آلودگی شیرینی‌های خامه‌دار با استافیلوکوکوس های مولد انواع شایع انتروتوکسین از روش اگلوتیناسیون لاتکس استفاده شد.

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان دادکه شایع‌ترین میکروارگانیسم‌های حاضر در نمونه‌های تحت بررسی کوکسی‌های گرم مثبت وبه دنبال آن باسیل‌های گرم منفی بودند. البته در مطالعه مشابهی که در سال ۲۰۱۱ در تبریز توسط نیک نیاز و همکاران برروی میزان آلودگی شیرینی‌های خامه‌دار با میکروارگانیسم‌های مختلف درتبریز انجام شد، بیشترین میزان آلودگی مربوط به باسیل‌های گرم منفی و به دنبال آن کوکسی‌های گرم مثبت بود. همچنین در مطالعه حاضر درصد کمی از شیرینی‌های خامه‌دار با مخمر آلوده بودند، در حالی که در مطالعه نیک نیاز و همکاران آلودگی با مخمر در نمونه‌های تحت بررسی به‌طور قابل توجهی بالاتر بود(۱۱). در مطالعه نیک نیاز و همکاران از ۳۱/۲درصد از نمونه‌های تحت بررسی استافیلوکوکوس ارئوس به دست آمد، در حالی که درمطالعه پیش روی تنها ۱۵درصد نمونه‌های تحت بررسی با این باکتری آلوده بودند، در سال ۲۰۰۷ Oh و همکاران در کشور کره در طی یک مطالعه فراوانی استافیلوکوکوس ارئوس مولدانتروتوکسین را در۳۱/۶درصد از کیک‌های خامه‌ایی گزارش نمودند(۴)، از طرفی در سال ۲۰۰۶ Shimamura و همکاران نشان دادندکه که ۱۹/۴درصد از دسرهای سنتی ژاپنی تحت بررسی با استافیلوکوکوس ارئوس آلوده‌اند(۸)، در مطالعه‌ایمانی فولادی و همکاران که در سال ۲۰۱۰ برروی نمونه‌های موادلبنی انجام گرفت، فراوانی ایزوله‌های مولد انتروتوکسین استافیلوکوکوس ارئوس در نمونه‌های خامه تحت

بررسی ۱۸درصد تعیین شد(۹). به هرحال این تفاوت در میزان آلودگی ممکن است مربوط به اختلاف در زمان نمونه برداری، دمای هوا، فصل ویا فاصله زمانی بین نمونه برداری وکشت مربوط باشد. در مطالعه پیش روی مشاهده شدکه هیچ یک از ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس به دست آمده از نمونه‌ها نسبت به اگزاسیلین مقاوم نبودند، بنابراین نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر با مطالعه Shimamura و همکاران مطابقت داردکه این افراد نیز نشان دادند که از ۹۴ ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس به دست آمده از نمونه‌های تحت بررسی هیچ یک نسبت به متی سیلین مقاوم نبودند(۸).

در مطالعه‌ایمانی فولادی و همکاران شایع‌ترین نوع انترتوکسین در نمونه‌ها نوع A (۹) و در مطالعه Shimamura و همکاران شایع‌ترین نوع انتروتوکسین نوع B گزارش شد(۸)، نتایج به دست آمده در مطالعه پیش روی نیز در این راستا مطالعه ایمانی فولادی و همکاران را تائید می‌کند. در مطالعه ایمانی فولادی و همکاران فراوانی حضور ژن مولد انتروتوکسین A ۱۵/۶درصد وانتروتوکسین B ۹/۳درصد و فراوانی حضور هر دو ژن به صورت همزمان در ایزوله‌ها ۶/۲درصد با کاربرد روش PCR نشان داده شد که البته کاربرد روش فنوتیپی به دنبال آن نشان دادکه ژن انتروتوکسین A در ۸۰درصد موارد و ژن مولد انتروتوکسین B تنها در ۳۳درصد موارد بیان شده است(۹). مطالعه حاضر به ترتیب ۲۶/۶درصد، ۱۳/۳درصد و ۶/۶ درصد ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس مولد انتروتوکسین A، B و انتروتوکسین A و B به طور همزمان بودند. همچنین یک ایزوله (۶/۶%) انتروتوکسین نوع D راتولید می‌نمود. از طرفی هیچ یک از ایزوله‌ها مولد انترتوکسین نوع C نبودند.

آنتی‌بیوگرام ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس به دست آمده از نمونه‌های شیرینی خامه‌دار در این مطالعه نشان دادکه این ایزوله‌ها نسبت به پنی‌سیلین، ریفامپین وتیکوپلانین از مقاومت بیشتری در مقایسه با سایر آنتی‌بیوتیک‌های تحت بررسی برخوردارند ولی حساسیت بالایی نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نشان می‌دهند. در مجموع با در نظر گرفتن ان که کلیه ایزوله‌های به دست آمده نسبت به آنتی بیوتیک اگزاسیلین حساس بودند، لذا حساسیت بالای این ایزوله‌ها نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز قابل تصور می‌باشد(۹).

به هرحال یافته‌های این پژوهش نشان دهنده آلودگی میکروبی تعدادی از شیرینی‌های خامه‌دار با میکروارگانیسم‌های مختلف به ویژه استافیلوکوکوس ارئوس مولد انتروتوکسین که شایع‌ترین عامل مسمومیت غذایی است می‌باشد، بنابراین نتایج به دست آمده بار دیگر بر لزوم استفاده از مواد اولیه تازه و بهداشتی و نیز رعایت بهداشت فردی کادر قنادی در هنگام تهیه و توزیع شیرینی تاکید می‌نماید.

References:

1. Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Staphylococcal enterotoxins. Toxins (Basel) 2010; 2(8): 2177-97.
2. Murphy BP, O'Mahony E, Buckley JF, O'Brien S, Fanning S. Characterization of staphylococcus aureus isolated from dairy animals in Ireland. Zoonoses Public Health 2010; 57(4): 249-57.
3. Le Loir Y, Baron F, Gautier M. Staphylococcus aureus and food poisoning. Genet Mol Res 2003; 2(1): 63-76.
4. Schelin J, Wallin-Carlquist N, Thorup Cohn M, Lindqvist R, Barker G, Rådström P. The formation of Staphylococcus aureus enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. Virulence 2011; 2(6): 580-92.
5. Oh SK, Lee N, Cho YS, Shin DB, Choi SY, Koo M. Occurrence of toxigenic Staphylococcus aureus in ready-to-eat food in Korea. J Food Prot 2007;70(5): 1153-8.
6. Shuiep ES, Kanbar T, Eissa N, Alber J, Lammler C, Zschock M, et al. Phenotypic and genotypic characterization of Staphylococcus aureus isolated from raw camel milk samples. Res Vet Sci 2009; 86(2): 211-5.
7. Wieneke AA, Roberts D, Gilbert RJ. Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969-90. Epidemiol Infect 1993; 110(3): 519-31.
8. Shimamura Y, Kidokoro S, Murata M. Survey and properties of Staphylococcus aureus isolated from Japanese-style desserts. Biosci Biotechnol Biochem 2006; 70(7): 1571-7.
9. ImaniFooladi AA, Tavakoli HR, Naderi A. Detection of enterotoxigenic Staphylococcus

aureus isolates in domestic dairy products. Iran J Microbiol 2010; 2(3): 135-40.

10. Van Belkum A, Molecular diagnostics in medical microbiology: Yesterday, today and tomorrow. Curr Opin Pharmacol 2003; 3: 497-501.

11. Nikniaz Z, Mahdavi R, Jalilzadeh H,Vahed Jabbari M. Evaluation Of microbial contamination In cream filled pastries distributed in Tabriz confectionaries. J Food Technol Nutr 2011; 8(1 (29): 66-71.(Persian)