

## تعیین انتروتوکسین‌های کلاسیک/استافیلوکوکوس/ورئوس جداشده از ناگت مرغ و غذاهای آماده مصرف در استان اصفهان به روش ELISA

هاجر مداحی<sup>۱</sup>، فاطمه رستمی<sup>۱</sup>، ابراهیم رحیمی<sup>۲\*</sup>، فرهاد صفر پور دهکردی<sup>۳</sup>، محمد جلالی<sup>۴</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، دانشکده کشاورزی، دانشجوی کارشناسی ارشد رشته مهندسی علوم و صنایع غذایی، شهرکرد، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، دانشکده کشاورزی، دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، شهرکرد، ایران.

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، شهرکرد، ایران.

۴- دانشیار گروه بهداشت و ایمنی غذا، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

\*نویسنده مسئول مکاتبات: ebrahimrahimi55@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۲/۷/۲۷ پذیرش نهایی: ۹۳/۴/۲)

### چکیده

این مطالعه با هدف تعیین انتروتوکسین‌های کلاسیک/استافیلوکوکوس/ورئوس‌های جدا شده از ناگت مرغ و غذاهای آماده مصرف در استان اصفهان به روش ELISA انجام شده است. در تابستان ۱۳۹۱ در مجموع ۴۲۰ نمونه از ناگت مرغ از مراکز فروش استان اصفهان به طور تصادفی جمع‌آوری و از تمامی نمونه‌ها به منظور بررسی وجود استافیلوکوکوس اورئوس کشت میکروبی تهیه شد. به منظور تشخیص انتروتوکسین‌های کلاسیک، سویه‌های جداشده/استافیلوکوکوس اورئوس به روش ELISA مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه قدرت تولید انتروتوکسین‌های کلاسیک در ۲۰ سویه از ۲۴ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌ها (۸۳/۳) درصد تعیین شد که شایع‌ترین انتروتوکسین رديابی شده در سوشهای استافیلوکوکوس اورئوس، انتروتوکسین A (۴۰ درصد)، پس از آن انتروتوکسین‌های C (۱۵ درصد) و D (۱۰ درصد) بود. همچنین سه سوش قادر به تولید هر دو انتروتوکسین A و D و سه سوش قادر به تولید انتروتوکسین A و C بودند و قابلیت تولید انتروتوکسین E در هیچ کدام از سوشهای استافیلوکوکوس اورئوس جداشده از نمونه‌ها مشاهده نشد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ناگت مرغ و غذاهای آماده مصرف می‌توانند به عنوان یکی از منابع مسمومیت غذایی استافیلوکوکی باشند و مطالعات بیشتر در زمینه وضعیت آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس در سایر مواد غذایی پیشنهاد می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** استافیلوکوکوس اورئوس، انتروتوکسین، ناگت مرغ، ELISA

.(Kluytmans and Wertheim, 2005)

در ایالات متحده بین سال‌های ۱۹۸۳ تا ۱۹۸۷ استافیلکوکوس/ورئوس (۴۷٪/۷/۷) از ۶۰۰ مورد شیوع مسمومیت‌های غذایی باکتریایی را تشکیل می‌داد. در انگلستان و ولز در طی همان دوره زمانی مسمومیت غذایی استافیلکوکوکی (۵۴٪/۱/۹) از کل ۲۸۱۵ فریو *et al.* (2004; Martin *et al.*, 2005; *al.*, 2004) گزارشات زیادی از ارزیابی میکروبی انواع غذایی آماده مصرف و آلوودگی آن‌ها به باکتری استافیلکوکوس/ورئوس و انتروتوکسین تولید شده از آن در نقاط مختلف جهان وجود دارد که از آن جمله می‌توان به مطالعات نورمانو (2005-2007)، اووه (2007) و لین (2009) اشاره کرد. استافیلکوکوس/ورئوس اغلب در شیر خام ورم پستانی و فرآورده‌های لبنی مختلف مانند پنیر و همچنین در فرآورده‌های گوشتی یافت می‌شود. لذا این فرآورده‌ها به عنوان منابع مهم توکسین‌های استافیلکوکوس/ورئوس شناخته شده‌اند. از طرف دیگر به دلیل تحمل بالای استافیلکوکوس/ورئوس به aw پایین و نمک و قدرت رشد در دامنه وسیعی از دما و pH از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زای مولد مسمومیت به شمار می‌رود (Normanno and Lasalandra, 2007). بنابراین به دلیل اهمیت این توکسین‌ها در سلامت عمومی مطالعات فراوانی در خصوص تعیین شیوع سوشهای توکسین‌زا و بررسی حضور توکسین‌های استافیلکوکوس/ورئوس در مواد غذایی در تمام نقاط مختلف دنیا انجام شده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی فراوانی انتروتوکسین‌های استافیلکوکوکی A, B, C, D در استافیلکوکوس/ورئوس جدا شده از ناگت مرغ و

## مقدمه

امروزه غذایهای آماده مصرف حتی در کشورهای در حال توسعه به دلیل تنوع غذایی در کنار سهولت مصرف و عدم نیاز به پخت طرفداران زیادی پیدا کرده و مصرف آن رو به افزایش است. با این وجود، گزارش‌های فراوانی از آلوودگی این غذایها به استافیلکوکوس/ورئوس مولد انتروتوکسین از نقاط مختلف دنیا حتی کشورهای توسعه یافته همچون آمریکا و ژاپن و بهویژه کشورهای جنوب شرقی آسیا (تایوان، Chomvarin *et al.*, 2006; Reji and Antrekker, 2004) وجود دارد. جنس استافیلکوکوس متعلق به خانواده میکروکوکاسه بوده که مهم‌ترین گونه این جنس استافیلکوکوس/ورئوس می‌باشد. استافیلکوکوس/ورئوس عامل اصلی مسمومیت غذایی استافیلکوکوکی و عفونت‌های خارج روده‌ای مانند زخم، دمل، ذات الريه، منثیت و غیره است (Redmond and Griffith, 2003). تاکنون ۱۸ انتروتوکسین تولیدی از استافیلکوکوس/ورئوس گزارش شده که انتروتوکسین‌های کلاسیک A, B, C و D مهم‌ترین عامل شیوع مسمومیت به شمار می‌روند. از نظر مقاومت به شرایط فیزیکی و شیمیایی تقریباً تمام سروتیپ‌های انتروتوکسین به جز انتروتوکسین B و C در مقابل حرارت و عوامل آنزیمی از جمله تریپسین موجود در دستگاه گوارش مقاوم‌اند (Paciorek *et al.*, 2007). انتروتوکسین‌های A و B به عنوان عوامل اصلی گاستروانتریت شناخته شده‌اند. SEA در برخی از مناطق عامل بیش از ۵۰ درصد مسمومیت‌های غذایی بوده، همچنین در بریتانیا و ایالات متحده آمریکا SEA و SEB عامل بیش از ۶۹ درصد کل مسمومیت‌های غذایی

غذاهای آماده مصرف در استان اصفهان طراحی و انجام شده است.

## شناسایی انتروتوكسین‌های کلاسیک استافیلوکوکوس اورئوس

به منظور تشخیص و شناسایی انتروتوكسین‌های کلاسیک استافیلوکوکوس اورئوس، جدایه‌ها به مدت یک شب در ۱۰ میلی لیتر محیط آبگوشت معذی (Merk Germany) در شرایط هوایی در دمای ۳۷ درجه سلسیوس کشت داده شد. به منظور شناسایی انتروتوكسین‌های SEA, SEB, SEC, SED, SEE از روش الیزا استفاده گردید. مطابق دستورالعمل ارائه شده توسط شرکت سازنده کیت، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و حداقل در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و با دور ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس لایه چربی سطح نمونه‌ها برداشته شد. فاز آبی به نسبت ۱ به ۲۰ با آب مقطر سترون رقیق و با کمک فیلترهای سرنگی فیلتر شدند.

کیت الیزا مورد استفاده در این مطالعه از شرکت RIDASCREEN® SET (A, B, C, D, E Art.No:R4101, R-Biopharm AG,Germany) تهیه گردید. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استاندارد و نمونه‌های آماده‌سازی شده به کمک سمپلر ۱۰ میکرولیتری به حفره‌های میکروپلیت اضافه و سپس به مدت ۱ ساعت به دور از نور و در درجه حرارت ۲۰-۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس مایع موجود در میکروپلیت خارج شده و با ضربه زدن ملایم به میکروپلیت و قراردادن آن به شکل وارونه بر روی کاغذهای جاذب‌الرطوبه مایع موجود در حفره‌ها به طور کامل تخلیه شد، سپس همه حفره‌ها با میکرولیتر بافر مخصوص شستشو، شسته شد (عمل شستشو دوبار تکرار گردید) و هر بار بعد از تخلیه مایع شستشو میکروپلیت به طور وارونه بر روی چند لایه

## مواد روش‌ها

### جمع‌آوری نمونه‌ها

در تابستان ۱۳۹۱ در مجموع ۴۲۰ نمونه انواع ناگت مرغ تولیدی در ۹ شرکت مختلف به طور تصادفی از مراکز فروش در استان اصفهان جمع‌آوری و در اسرع وقت در کنار یخ به آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انتقال داده شد و حداقل ۲۴ ساعت پس از نمونه‌گیری از نظر حضور استافیلوکوکوس اورئوس و انتروتوكسین‌های کلاسیک این باکتری مورد آزمایش قرار گرفتند.

### جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس

ابتدا ۱۰ گرم از هر نمونه به ۹۰ گرم از محلول استریل بافر فسفات نمکی اضافه شد و سپس به مدت چند دقیقه گردید تا به صورت همگن درآید. جهت شمارش کلنی‌های استافیلوکوکوس اورئوس از محیط برد پارکر آگار (Difco, USA) مطابق با دستورالعمل لین و همکاران (۲۰۰۹) استفاده شد. رقت‌هایی از محلول سوسپانسیون حاوی نمونه‌ها را بر روی سطح پلیت برد پارکر آگار کشت سطحی داده و پس از ۴۸-۲۴ ساعت گرم خانه‌گذاری در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، در نهایت کلنی‌ها از نظر ریخت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفتند و جهت تأیید شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس تست‌های گرم، کاتالاز، کواگولاز، تخمیر مانیتول و آزمون وگس پروسکاور (Vp) بر روی پرگنهای مشکوک انجام گرفت (Kiedrowski *et al.*, 2011).

میانگین میزان جذب (OD) برای کنترل منفی باید مساوی یا کمتر از  $0/3$  باشد.

بعد از انتقال یافته‌های بدست آمده به نرم افزار SPSS/18، این اطلاعات با استفاده از نرم افزار Excel آزمون‌های ضریب همبستگی و مربع کای در سطح ( $p<0/05$ ) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

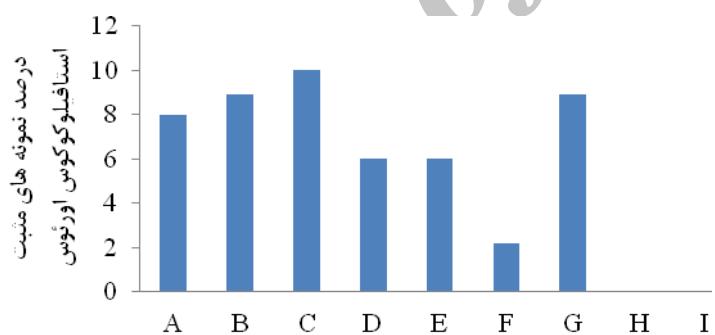
### یافته‌ها

جدول (۱) وضعیت آلدگی نمونه‌های ناگت مرغ را به استافیلوکوکوس/ورئوس نشان می‌دهد. از مجموع ۴۲۰ نمونه ناگت مرغ ۲۴ نمونه ( $5/7$  درصد) از نظر آلدگی به استافیلوکوکوس/ورئوس مثبت بودند. بیشترین آلدگی در نمونه‌های شرکت C به میزان ۱۰ درصد و کمترین آلدگی در نمونه‌های شرکت F به میزان  $2/2$  درصد مشاهده شد. در حالی که هیچ یک از ۴۵ نمونه شرکت H و ۴۰ نمونه شرکت I مورد مطالعه از نظر آلدگی به این پاتوژن مثبت نبودند (نمودار ۱). با توجه به مقادیر به دست آمده اختلاف آماری معنی‌داری بین میزان شیوع آلدگی به استافیلوکوکوس/ورئوس در بین نمونه‌های مختلف ناگت مرغ وجود ندارد ( $p<0/05$ ).

دستمال کاغذی قرار می‌گرفت تا کاملاً باقی‌مانده آب شستشو خارج شود به این ترتیب موادی که بعد از این مدت در واکنش شرکت نکرده‌اند خارج شدند. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول کونژوگه شده با آنزیم به حفره‌ها اضافه شد و میکروپلیت به مدت یک ساعت دیگر در گرمخانه  $20-25$  درجه سلسیوس قرار گرفت. بعد از این زمان، مایع موجود در حفره‌ها به طور کامل تخلیه شد. سپس همه حفره‌ها با ۲۵۰ میکرولیتر بافر مخصوص شستشو، شسته شد. عمل شستشو دوبار تکرار گردید و هر بار بعد از تخلیه مایع شستشو میکروپلیت به طور وارونه بر روی چند لایه دستمال کاغذی قرار می‌گرفت تا کاملاً باقی‌مانده آن خارج شود. سپس ۵۰ میکرولیتر سوبسترا و ۵۰ میکرولیتر کروموزن به هر حفره اضافه شد و میکروپلیت به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت  $20-25$  درجه سلسیوس در تاریکی گرم-خانه گذاری شد. در نهایت برای توقف واکنش، محلول قطع واکنش به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به حفره‌ها اضافه شد و میزان جذب هر نمونه با قرائت کننده الایزا (Stat Fax 2100, England) در طول موج  $450$  نانومتر قرائت و اطلاعات مربوط به میزان جذب (OD) هر حفره به تفکیک ثبت شد. به منظور کنترل کیفیت آزمون بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت میزان جذب (OD) کنترل مثبت باید برابر یا بیشتر از  $0/5$  واحد و

جدول ۱- میزان و درصد فراوانی استافیلوکوکوس/ورئوس های مولد انتروتوكسین های کلاسیک در نمونه های ناگت مرغ در استان اصفهان

نمونه	تعداد	استافیلوکوکوس اورئوس مولد SEs	فراروانی							
			SEs (%)	SEA + SEC	SEE	SED	SEC	SEB	SEA	
-	-	-	-	۱	-	۳	(٪/۱۰۰) ۴	(٪/۸) ۴	۵۰	A
۲	-	-	-	-	-	۱	(٪/۷۵) ۳	(٪/۸/۹) ۴	۴۵	B
-	۱	-	-	-	۱	۱	(٪/۶۰) ۳	(٪/۱۰) ۵	۵۰	C
-	-	-	۱	۲	-	-	(٪/۱۰۰) ۳	(٪/۶) ۳	۵۰	D
-	-	-	-	-	-	۲	(٪/۶۶/۷) ۲	(٪/۶) ۳	۵۰	E
-	-	-	-	-	-	۱	(٪/۱۰۰) ۱	(٪/۲/۲) ۱	۴۵	F
۱	۲	-	۱	-	-	-	(٪/۱۰۰) ۴	(٪/۸/۹) ۴	۴۵	G
-	-	-	-	-	-	-	(٪/۰) ۰	(٪/۰) ۰	۴۵	H
-	-	-	-	-	-	-	(٪/۰) ۰	(٪/۰) ۰	۴۰	I
۳	۳	-	۲	۳	۱	۸	(٪/۸۳/۳) ۲۰	(٪/۵/۷) ۲۴	۴۲۰	مجموع

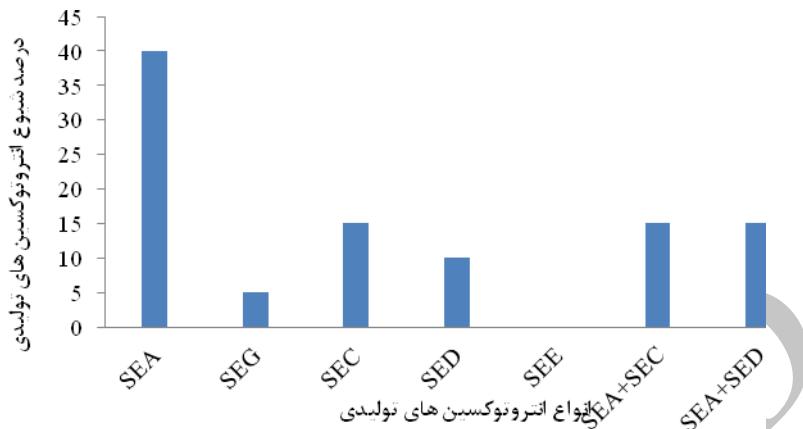


نگاه مرغ (Brand A-I)

نمودار ۱- آلدگی برندهای مختلف ناگت مرغ به/استافیلوکوکوس/ورئوس

درصد) بوده است. همچنین سه سوش (۱۵ درصد) قادر به تولید هر دو انتروتوكسین A و D و سه سوش (۱۵ درصد) قادر به تولید انتروتوكسین A و C بودند. قابلیت تولید انتروتوكسین E در هیچ کدام از سوش های استافیلوکوکوس اورئوس جدایشده از نمونه ها مشاهده نشد (نمودار ۲).

از بین ۲۴ سوش استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه های ناگت مرغ ۲۰ سوش (۸۳/۳ درصد) قادر به تولید انتروتوكسین های کلاسیک (A-E) بودند (جدول ۱). شایع ترین انتروتوكسین کلاسیک تولید شده از بین سوش های مورد مطالعه انتروتوكسین A (۴۰ درصد) و پس از آن انتروتوكسین های C (۱۵ درصد) و D (۱۰ درصد) بودند.



(Brand A-۱) نمودار ۲- درصد شیوع انتروتوكسین‌های تولیدی در ناگت مرغ

استافیلوکوکوس/ورئوس می‌باشد. در مطالعه حاضر میزان شیوع استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌های ناگت مرغ ۵/۷ درصد تعیین شد. نتایج مطالعه حاضر با نتایج بسیاری از پژوهشگران دیگر هم خوانی دارد (Lin *et al.*, 2009; Soriano *et al.*, 2002). آیسیچک و همکاران میزان آلودگی غذاهای آماده مصرف به استافیلوکوکوس اورئوس را ۹/۴ درصد و اووه و همکاران این میزان را ۸/۶ درصد گزارش کردند که این نتایج با یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر تقریباً مشابه است (Aycicek *et al.*, 2005; Oh *et al.*, 2007). نتایج بررسی حاضر درصد پائینی از آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس در ناگت مرغ را نشان داده ۵/۷ (درصد) که این نتایج با برخی از نتایج پیشین اختلاف معنی‌داری Known *et al.*, 2006; McMahon, 2003) دارد (P < ۰/۰۵). طی مطالعه‌ای که بر روی سه گروه از مواد غذایی عرضه شده به بازار انجام گرفت میزان آلودگی غذاهای گوشتی آماده مصرف بیشتر از دو محصول

## بحث و نتیجه‌گیری

باکتری استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل فرصلت طلب بیماری‌زا می‌باشد که در شرایط مساعد قادر است در انسان و حیوانات ایجاد عفونت کند. این باکتری علاوه بر آن می‌تواند موجب مسمومیت غذایی در افراد نیز شود. مسمومیت استافیلوکوکی مسمومیتی با منشا غذایی است که در اثر انتروتوكسین تولید شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس ایجاد می‌گردد و اغلب مربوط به غذاهای آماده مصرفی است که پس از فرآیند آلوده شده‌اند از جمله انواع سالادها و ساندویچ‌ها که این مسئله خطر بالقوه‌ای را برای سلامت جامعه به همراه دارد (Normanno and Lasalandra, 2007). به همین دلیل پژوهش‌های فراوانی در خصوص تعیین شیوع سوosh‌های توکسین‌زا و بررسی حضور توکسین‌های استافیلوکوکوس اورئوس در مواد غذایی در اغلب کشورها انجام شده است که نتایج به دست آمده نشان‌دهنده آلودگی ۰-۱۰۰ درصدی موادغذایی به

انتروتوكسین E در هیچ‌کدام از سوش‌های استافیلوکوکوس/اورئوس جدا شده از نمونه‌ها مشاهده نشد. نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از آن است که استافیلوکوکوس/اورئوس موجود در ناگت مرغ از نظر تولید انتروتوكسین SEA-SED فعال بوده که این نتایج با نتایج پیشین مطابقت دارد (Lim *et al.*, 2004; Omoe and Ishikawa, 2002). آیدین و همکاران قدرت تولید انتروتوكسین‌های کلاسیک استافیلوکوکوس/اورئوس جداسده از مواد غذایی را ۷۲/۱ درصد بیان کردند که بهترتب انتروتوكسین A، B و C شایع‌ترین انتروتوكسین‌های ردیابی شده گزارش شدند و این میزان شیوع انتروتوكسین با داده‌های حاضر هم خوانی دارد (Aydin and Sudagidan, 2011). در صورتی که در کره احتمال آسودگی به انتروتوكسین استافیلوکوکوس/اورئوس در گوشت خام ۷/۸ درصد عنوان شد که اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) را با مطالعه حاضر نشان می‌دهد و علت آن را می‌توان به عدم رقابت استافیلوکوکوس/اورئوس با فلور میکروبی گوشت خام دانست (Moon *et al.*, 2007). گزارش بستان حاکی از آن است که بهترتب ۴۵/۴ درصد، ۱۰/۹ درصد و ۲۱ درصد از سوش‌های استافیلوکوکوس/اورئوس قادر به تولید انتروتوكسین‌های A، B و C بوده‌اند که همانند مطالعه حاضر بالاترین میزان استافیلوکوکوس/اورئوس مولد انتروتوكسین مربوط به سوش‌های مولد Bostan and Cetin, 2006) انتروتوكسین A بوده است (2006). طی پژوهشی به منظور بررسی عوامل مسمومیت غذایی در تایوان نشان داده شد که از بین انتروتوكسین‌های عامل مسمومیت انواع A، B و C بهترتب با پراکندگی ۲۹/۲ درصد، ۱۹/۷ درصد و ۶/۷

دیگر و در حدود ۳۶ درصد گزارش شد (Moon *et al.*, 2007). تاکنون در ایران نیز مطالعاتی در این راستا Eshraghi and Salehipur, 2009; Tavakoli and Riazipour, 2008 نشان داده ای گوشتی خام و پخته انجام شد میزان آسودگی به استافیلوکوکوس/اورئوس ۳/۵ درصد گزارش گردید (Eshraghi and Salehipur, 2009). توکلی و ریاضی پور نمونه‌های غذایی ۶ مرکز بهداشتی درمانی در تهران را از نظر میکروبیولوژیک مورد بررسی قرار دادند و آسودگی ۵۵/۶ درصد به استافیلوکوکوس/اورئوس مورد تایید قرار گرفت که بیش از نتایج بررسی ما بود (Tavakoli and Riazipour, 2008). همچنین طی مطالعه‌ای در ایران بر روی گوشت طیور نشان داده شد که ۶۵ درصد نمونه‌های گوشت طیور از نظر حضور استافیلوکوکوس/اورئوس مثبت بودند (Javadi and Safarmashaei, 2011). در صورتی که نتایج حاصل از پژوهش فیضی و همکاران این مقدار را ۸۱/۷۵ درصد گزارش کردند (Feizi *et al.*, 2012).

در این مطالعه ۲۰ سویه از ۲۴ سویه استافیلوکوکوس/اورئوس جداسده از نمونه‌های ناگت مرغ (۸۳/۳ درصد) قدرت تولید انتروتوكسین‌های کلاسیک را داشتند که شایع‌ترین انتروتوكسین انتروتوكسین A سوش‌های استافیلوکوکوس/اورئوس انتروتوكسین C (۴۰ درصد)، پس از آن انتروتوكسین‌های D (۱۰ درصد) بود. همچنین سه سوش قادر به تولید هر دو انتروتوكسین A و D و سه سوش قادر به تولید انتروتوكسین A و C بودند و قابلیت تولید

سنگاپور گزارش کردند که این داده با داده‌های حاصل از مطالعه حاضر (SEA) هم خوانی ندارد (Ng and Tay, 1993). در ایران نیز با بررسی ۹۱۳ نمونه غذایی، شایع‌ترین انتروتوکسین تولیدی در فرآورده‌های لبنی، انتروتوکسین D (۲۰٪) و C (۱۶٪) و در فرآورده‌های گوشتی، انتروتوکسین D (۶٪) و E (۳٪) عنوان شد (Soltan Dallal *et al.*, 2010).

بازرسی نادرست گوشت طیور، نگهداری گوشت در شرایط نامناسب محیطی، عدم رعایت شرایط بهداشتی در کشتارگاهها و در حین فرآیند تولید می‌تواند از دلایل اصلی شیوع استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت و فرآورده‌های آن از جمله نمونه‌های ناگت طیور باشد. همچنین آلدگی بالای ماده اولیه یا حرارت‌دهی ناقص به بقای این پاتوژن در فرآورده کمک می‌کند. از طرفی احتمال آلدگی نمونه‌ها پس فرآیند تولید در حین بسته‌بندی و آسیب‌دیدگی بسته نیز وجود دارد. لذا با آموزش افراد در زمینه کنترل مسائل بهداشتی و اجرای سیستم‌های GAPs، GMPs و HACCP در تمام مراحل تولید، انتقال، نگهداری و فروش می‌توان شیوع مسمومیت استافیلوکوکی را به حداقل رساند.

### سپاسگزاری

نویسنده‌گان از کارکنان مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و مرکز کنترل کیفی بهداشت مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، کمال تشکر و قدردانی را دارد.

در صد نقش مؤثر داشتند (Chiang *et al.*, 2008). در مطالعه انجام شده توسط نورمانو و همکاران بر روی نمونه غذای آماده مصرف در ایتالیا ۴۵/۲ درصد ۵۳۶۹ از سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده، حاوی ژن‌های تولید کننده انتروتوکسین بودند که در این میان سویه‌های جدا شده تولیدی شامل SEA (۳۰/۳ درصد)، SEA+SED (۳۰/۳ درصد)، SED (۶/۱ درصد)، SEB (۷/۶ درصد)، SEC (۵۱/۵ درصد)، SEA+SEB (۱/۵ درصد)، (Normanno *et al.*, 2005) ۳درصد) گزارش گردید. در مطالعه دیگری بیش‌ترین انتروتوکسین جدا شده از سویه‌های استافیلوکوکی در کل نمونه‌های گوشت و شیر SEA با مقدار ۳۳/۶ درصد بود. شیوع SEC و SED موجود در این نمونه‌ها به ترتیب ۱۵/۲، ۱۸/۴ و ۶/۴ درصد گزارش شد در صورتی که در نمونه‌های ناگت مرغ بیش‌ترین انتروتوکسین جدا شده استافیلوکوکی SEA با مقدار ۴۰ درصد و پس از آن به ترتیب SEC (۱۵ درصد) و SED (۱۰ درصد) گزارش گردید (Normanno and Lasalandra, 2007). مطالعات نشان داده شایع‌ترین انتروتوکسین استافیلوکوکوس اورئوس عامل مسمومیت‌های غذایی استافیلوکوکی انتروتوکسین A و به دنبال آن انتروتوکسین D می‌باشد (Normanno *et al.*, 2005). اگرچه انتروتوکسین C نیز به عنوان یکی از مهم‌ترین انتروتوکسین‌های عامل مسمومیت غذایی معروفی شده است (Normanno and Lasalandra, 2007). طی مطالعه‌ای SEB را به عنوان شایع‌ترین انتروتوکسین در غذاهای آماده مصرف و نوشابه‌ها در کشورهای جنوب شرقی آسیا مانند مالزی و

## منابع

- اشراقی، سعید؛ صالحی‌پور، زهره؛ پورمند، محمدرضا؛ رحیمی فروشانی، عباس؛ زهراوی صالحی، محمدتقی؛ آقا امیری، سولماز؛ بختیاری، روناک و همکاران (۱۳۹۲). بررسی توزیع فراوانی ژن‌های *tst* با ژن‌های *entA/C* و *entC* در ایزوله‌های استافیلوکوکوس/ورئوس‌های جدا شده از مواد غذایی مختلف. مجله علوم پزشکی تهران، دوره ۶۷، شماره ۷، صفحات: ۴۷۰-۴۷۶.

- Aycicek, H., Cakiroglu, S. and Stevenson, T.H. (2005). Incidence of *S.aureus* in ready-to-eat meals from military cafeterias in Ankara, Turkey. Food Control, 16: 531-534.
- Aydin, A. and Sudagidan, M. (2011). Prevalence of staphylococcal enterotoxins, toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated in the Marmara Region of Turkey. International Journal of Food Microbiology, 148: 99- 106.
- Bostan, K. and Cetin, O. (2006). The presence of *Staphylococcus aureus* and taphylococcal enterotoxins in ready-to-cook meatballs and white pickled cheese. Journal of Faculty Veterinary Medical Istanbul University, 32: 31-39.
- Chiang, Y.C., Liao, W.W., Fan, C.M., Pai, W.Y., Chiou, C.S. and Tsen, H.Y. (2008). PCR detection of Staphylococcal enterotoxins (SEs) N, O, P, Q, R, U, and survey of SE types in *Staphylococcus aureus* isolates from food-poisoning cases in Taiwan. International Journal of Food Microbiology, 15: 66-73.
- Chomvarin, C., Chantarasuk, Y., Srivilubutr, S., Charoensudjai, S. and Haicumpar, K. (2006). Enteropathogenic bacteria and enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* isolated from ready-to-eat foods in Khon Kaen, Thailand. Southeast Asian Journal of Tropic Medical Public Health, 37: 983-990.
- Feizi, A., Nazeri, M. and Pilevar, A. (2012). Isolation of *Staphylococcus* spp. genera from broiler breeder flocks in East Azerbaijan Province of Iran: Prevalence and antimicrobial susceptibility. African Journal of Microbiology Research, 6: 5819-5823.
- Fueyo, J.M., Mendoza, M.C. and Martin, M.C. (2005). Enterotoxins and toxic shock syndrometoxin in *Staphylococcus aureus* recovered from human nasal carriers and manually handled foods: epidemiological and genetic findings. Microbes and Infection, 7: 187-194.
- Javadi, A. and Safarmashaei, S. (2011). Microbial profile of marketed broiler meat. Middle East Journal of Science Research, 9: 652-656.
- Kiedrowski, M.R., Kavanaugh, J.S., Malone, C.L., Mootz, J.M., Voyich, J.M., Smeltzer, M.S., Bayles, K.W. and Horswil, A.R. (2011). Nuclease Modulates Biofilm Formation in Community Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Plose One, 6(11): 1-16.
- Kluytmans, J.A. and Wertheim, H.F. (2005). Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and prevention of nosocomial infections, 33(1): 3-8.
- Kwon, N.H., Park, K.T., Jung, W.K., Youn, H.Y., Lee, Y., Kim, S.H., et al. (2006). Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat and hospitalized dogs in Korea and their epidemiological relatedness. Veterinary Microbiology, 117: 304–312.
- Lim, S., Joo, Y., Moon, J., Lee, A., Nam, H., Wee, S., et al. (2004). Molecular typing of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Korea. Journal of Veterinary Medical Science, 66: 581-584.
- Lin, J., Yeh, K.S., Liu, H.T. and Lin, J.H. (2009). *Staphylococcus aureus* isolated from pork and chicken carcasses in Taiwan: prevalence and antimicrobial susceptibility. Journal of Food Protection, 72: 608-611.
- Martin, M.C., Fueyo, J.M., Gonzalez-Hevia, M.A. and Mendoza, M.C. (2004). Genetic procedures for identification of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus* from three food poisoning outbreaks. International Journal of Food Microbiology, 94: 279-286.

- 
- McMahon, W.A., Aleo, V.A., Schultz, A.M., Horter, B.L. and Lindberg, K.G. (2003). 3 M Petrifilm Staph Express Count plate method for the enumeration of *Staphylococcus aureus* in selected types of meat, seafood, and poultry: collaborative study. Journal of AOAC International, 86: 947-953.
  - Moon, J.S., Lee, A.R., Jaw, S.H., Kang, H.M., Joo, Y.S. and Park, Y.H. (2007). Comparison of antibiogram, staphylococcal enterotoxin productivity, and coagulase genotypes among *Staphylococcus aureus* isolated from animal and vegetable sources in Korea. Journal of Food Protection, 70: 2541-2548.
  - Ng, D.L.K. and Tay, L. (1993). Enterotoxigenic strains of coagulase-positive *Staphylococcus aureus* in drinks and ready-to-eat foods. Food Microbiology, 10: 317-320.
  - Normanno, G., Firinu, A., Virgilio, S., Mula, G., Dambrosio, A. and Poggiu, A. (2005). Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. International Journal of Food Microbiology, 98: 73-79.
  - Normanno, T.G. and La Salandra, G. (2007). Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. International Journal of Food Microbiology, 115: 290-296.
  - Oh, S.K., Lee, N., Cho, Y.S., Shin, D.B., Choi, S.Y. and Koo, M. (2007). Occurrence of toxicogenic *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat food in Korea. Journal of Food Protection, 70: 1153-1158.
  - Omoe, K. and Ishikawa, M. (2002). Detection of seg, she and sei genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of enterotoxins productivities of *S. aureus* isolates harboring seg, she or sei genes. Journal of Clinical Microbiology, 40: 857-862.
  - Paciorek, M.L., Kochman, M., Piekarska, K., Grochowska, A. and Windyg, B. (2007). The distribution of enterotoxin and enterotoxin-like genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from nasal carriers and food samples. International Journal of Food Microbiology, 117(3): 319-323.
  - Redmond, E.C. and Griffith, C.J. (2003). Consumer food handling in the home: a review of food safety studies. Journal of Food Protection, 66: 130-161.
  - Reji, M.W. and Den Aantrekker, E.D. (2004). Recontamination as a source of pathogens in processed foods. International Journal of Food Microbiology, 91: 1-11.
  - Soltan-Dallal, M.M., Salehipour, Z. and Mehrabadi, Z.F. (2010). Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* in food samples based on the protein A gene polymorphic region DNA sequence. Canadian Journal of Microbiology, 56(1): 18-21.
  - Soriano, J.M., Rico, H., Molto, J.C. and Mares, J. (2002). Effect of introduction of HACCP on the microbiological quality of some restaurant meals. Food Control, 13: 253-261.
  - Tavakoli, H.R. and Riazi, M. (2008). Microbial quality of cooked meat foods in Tehran University's restaurants. Pakistan Journal of Medical Science, 24: 595-599.