بررسی حضور استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در پنیرهای سنتی گوسفند عرضه شده در شهرستان مرند

محسن اسلامی[۱]، محمد کاظم کوهی [۲]، الهام زاده هاشم[۳]*، بابک خدیری[۴]، حسین کشاورز[۵]

۱- استادیار بخش مامایی و بیماریهای تولید مثل دام، گروه علوم بالینی، دانشکده ی دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
۲- استادیار بخش سم شناسی ، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳- استادیار بخش سم شناسی و فارماکولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
۴- دکتر دامپزشک بخش خصوصی، آذربایجان شرقی
۵- دانشجوی PhD فاماکولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

Archive of SID

چکیده

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از پاتوژن های ایجاد کننده ی مسمومیت غذایی در انسان می باشد. با توجه به روش های تهیه ی پنیرهای سنتی از شیر خام و راه های مختلف ورود استافیلوکوکوس اورئوس به شیر، بررسی و آگاهی از وجود آلودگی پنیر به این باکتری، می تواند به کاهش مسمومیت غذایی ناشی از این میکروارگانیسم کمک می نماید. در این مطالعه ۸۰ نمونه از پنیرهای گوسفندی سنتی عرضه شده در بازارهای شهرستان مرند بصورت تصادفی و از هر کدام ۲۰۰ گرم انتخاب شده و روند جستجوی میکروارگانیسم و شمارش آن به طور جداگانه انجام گرفت. ابتدا نمونه های رقیق شده به داخل محیط کشت آبگوشت پخته انتقال داده شد و سپس پرگنه ها بر اساس شکل ظاهری به ۴ دسته تقسیم گردیده و بر روی تعدادی از هر دسته از پرگنه ها تست کاتالاز بعمل آمده و کلونی های مثبت در محیط نوترینت آگار کشت داده شده و در نهایت با انجام تست های گلوکز، مانیتول و کوآگولاز روند جستجو تکمیل شده و روند شمارش هم با شمارش پرگنه های سیاه، براق و محدب تشکیل شده در محیط بردپارکر آگار انجام شده است. ۱۰۰ ٪ نمونه های ارسالی به آزمایشگاه آلوده به این میکروارگانیسم تشخیص داده شده، بطوریکه ۶/۲۵٪ نمونه ها حاوی بیش از 10^5 باکتری در هر گرم و ۱۶/۲۵٪ هم دارای تعداد باکتری بین 10^4 تا 10^5 باکتری در هر گرم پنیر بودند. با توجه به این مطالعه بهتر است که، نظارت بهداشتی بیشتر بر واحد های سنتی تولیدی و تبدیلی محصولات لبنی انجام شود و تا حد امکان از مصرف پنیرهای غیرپاستوریزه و غیر بهداشتی خودداری نمود.

کلید واژگان: استافیلوکوکوس اورئوس، کوآگولاز مثبت، پنیر، گوسفند، مرند.

* مسئول مکاتبات: Zadehashem_elham@ yahoo.com

www.SID.ir

۱- مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس جزء سلسله پروکاریوت رده فیرمی باکتریا، خانواده میکروکوکاسه و جنس استافیلوکوکوس می‌باشد. این میکروارگانیسم گرم مثبت، فاقد هاگ و قدرت حرکت می‌باشد و توان تولید آنتروتوکسین استافیلوکوکی را دارد. این سم مقاوم به حرارت بوده و یکی از مهمترین عوامل مسمومیت غذایی در انسان می‌باشد[۱]. این باکتری به طور طبیعی بر روی پوست، بینی و در مواردی ناحیه حلق افراد ممکن است مشاهده گردد. از لحاظ آزمایشگاهی این کوکسی گرم مثبت در محیط های ساده، معمولی و غیر اختصاصی قابل رشد بوده [۲] و در نوترینت آگار پرگنه‌های صاف کروی و برآمده‌ای را ایجاد می‌کند که رنگ اکثر پرگنه‌ها بدلیل تولید رنگدانه زرد، زرد طلایی می‌باشد. البته برخی از سویه‌های این باکتری فاقد پیگمان رنگی بوده و یا پیگمان ها در اثر کشتهای پیاپی از بین می‌روند [۳و۴] از لحاظ بیولوژیکی این کوکسی دارای عوامل آنتی ژنتیکی متعددی نظیر لایه پپتیدگلیکان[۵]، لایه پلی ساکاریدی[۶] ، پروتئین A [۷] و اسیدهای تیکوئیک [۸ و ۶] می‌باشد. همچنین این باکتری قادر به تولید یکسری آنزیم‌ها از جمله کوآگولاز [۹] نوکلئازهای مقاوم به حرارت [۱۰] می‌باشد. توکسین های تولید شده توسط این میکروارگانیسم شامل همولیزین‌ها [۱۱]، لوکوسیدین [۳]، توکسی اکسفولیاتیو [۳] می‌باشند. آنتروتوکسین های تولید شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس شامل آنتروتوکسین های A ، B ، C، D و E بوده که انواع B و C به میزان بیشتر و A ، D و E به میزان کمتری تولید می‌شوند [۱۲]. آنتروتوکسینهای استافیلوکوکی در دمای ۱۰ الی ۴۵ درجه سانتیگراد تولید شده و طیف PH لازم جهت تولید این سموم ۵/۲ تا ۹ می‌باشد، ولی چون در این طیف رشد باکتری کم است، تولید سم هم کم خواهد بود. عوامل دیگری که تولید آنتروتوکسین ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند شامل activity water، اکسیژن و منابع انرژی و تغذیه‌ای می‌باشد [۱۳]. مسمومیت زایی آنتروتوکسین استافیلوکوکی در اثر تاثیر مستقیم توکسینی در احشاء شکمی است، بطوریکه در اثر تاثیر بر اعصاب واگ و سمپاتیک، اثر آن به مرکز استفراغ در مغز منتقل شده و سبب استفراغ زایی می‌شوند و بنابراین می‌توان این سموم را نوروتوکسین هم نامید[۱۲]. البته لازم است میکروارگانیسم حداقل به میزان بیش از یک میلیون باکتری در گرم غذا باشد تا توکسین کافی جهت مسمویت زایی و بروز نشانه‌های مسمومیت تولید شود. حضور استافیلوکوکوس از آن جهت در مواد غذایی حائز اهمیت است که به دلیل تولید انترو توکسین می تواند سندرم مسمومیت استافیلوکوکال را ایجاد نماید[۱۴]. البته استافیلوکوکوس اورئوس‌های مقاوم به آنتی بیوتیک موجود در روده، قادر به تولید توکسین سیتوپاتیک بوده و متعاقبا موجب التهاب شدید روده کوچک و کولون می گردند. سندرم مسمومیت ناشی از این میکروارگانیسم در اثر مصرف غذای حاوی انتروتوکسین آن به وجود می آید.علائم کلاسیک این مسمومیت عبارتند از دردهای ناحیه شکمی، تهوع و استفراغ و اسهال . در بعضی بیماران سردرد نیز تظاهر می نماید [۱۵]. گزارشات مربوط به عفونتهای با منشاء غذایی رو به افزایش می باشد مسئله سلامت مواد غذایی نگرانی عمده ای را هم برای مصرف کنندگان و هم برای صنایع غذایی ایجاد کرده است [۱۶]. وقوع دو رخداد مسمومیت غذایی استافیلوکوکی با پنیر در سال ۱۹۵۸ این نگرانی را ایجاد کرد که پنیر می تواند منبع مسمومیت استافیلوکوکوسی نیز باشد[۲].

هدف این تحقیق، جستجو و شمارش تعداد استافیلوکوکوس اورئوس و تخمین احتمال وجود سم آنتروتوکسین این باکتری در پنیرهای سنتی تهیه شده از شیر گوسفندان شهرستان مرند، واقع در استان آذربایجان شرقی می باشد.

۲- مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال ۱۳۸۹ در دانشکده ی دامپزشکی دانشگاه تبریز انجام گرفت.

اخذ و ارسال نمونه: ۸۰ نمونه از پنیر های محلی تهیه شده از شیر گوسفند و عرضه شده در نقاط مختلف شهرستان مرند واقع در استان آذربایجان شرقی بطور تصادفی ساده انتخاب و از هر کدام ۲۰۰ گرم تهیه شد و نمونه ها در ظروف استریل و تحت شرایط یخچالی در طی ۲-۱ ساعت به آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز منتقل گردید.

۱-۲- آماده سازی و کشت نمونه ها: نمونه ها پس از ارسال به ازمایشگاه با استفاده از وسایل استریل به هاون های استریل چینی منتقل گردیده و سپس له شدند. سپس از دستگاه استومیکر (stomacher) جهت یکنواخت سازی نمونه‌ها تحت شرایط استریل استفاده گردید. جهت ایجاد رقتهای

Archive of SID

www.SID.ir

مختلف مقدار ۱۰ گرم از هر نمونه را به ارلن مایر حاوی ۹۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل منتقل نموده و با همزن شیشه‌ای استریل مخلوط کرده، تا رقت ۰/۱ تهیه گردد. ۱ میلی لیتر از محلول را به داخل لوله‌های آزمایش استریل حاوی ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل انتقال داده و بدین ترتیب رقت ۰/۰۱ و با تکرار این عمل رقت ۰/۰۰۱ را در مورد هر کدام از نمونه‌های اخذ شده، تهیه گردید. جهت شروع روند جستجوی استافیلوکوکوس [۱۵]، مقدار ۱ میلی لیتر از رقت ۰/۱ با حفظ شرایط استریل به داخل محیط کشت آبگوشت پخته (cooked meat broth) انتقال داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شد. بعد از اتمام دوره انکوباسیون، مقدار ۰/۵ میلی لیتر از محیط مذکور به محیط بردپارکرآگار منتقل شد و در همان شرایط (به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در گرمخانه) مجدداً نگهداری گردید. این اعمال در مورد رقتهای ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ هم تکرار شد. در این مطالعه از محیط آبگوشت پخته به عنوان محیط غنی کننده [۴] و از محیط بردپارکر آگار به عنوان محیط انتخابی استافیلوکوکوس اورئوس مورد استفاده شد.

۲-۲- شمارش میکروارگانیسم ها و تستهای تکمیلی: پس از گرمخانه گذاری و قبل از شروع شمارش، با توجه به این که علاوه بر پرگنه های استافیلوکوکوس اورئوس، یکسری پرگنه های دیگری هم در محیط ذکر شده رشد می کنند، که از لحاظ خصوصیات ظاهری تا حدی تفاوت دارند، قبل از شروع شمارش، پرگنه‌های تشکیل شده در محیط کشت بردپارکرآگار، از نظر شکل ظاهری به ۴ دسته تقسیم بندی گردید:

الف) پر گنه های براق، محدب، شفاف سیاه و دارای هاله روشن

ب) پرگنه های براق، محدب، شفاف سیاه و دارای هاله تیره

ج) پرگنه های براق، محدب، شفاف سیاه بدون هاله

د) پرگنه‌های سیاه و کوچک ، ناصاف و غیر شفاف

هر ۴ نوع پرگنه ذکر شده را بصورت جداگانه در هر رقت شمارش نموده و پس از تعیین هر یک از انواع پرگنه ها، از جذر تعداد شمارش شده از هر پرگنه در هر رقت در محیط بردپارکرآگار انتخاب شده و تست کاتالاز (جهت تفریق استافیلوکوک ها از استرپتوکوک ها،[۴] از آن ها بعمل آمد. موارد مثبت پرگنه ها از لحاظ تست کاتالاز را به محیط نوترینت آگار انتقال داده شد. محیطهای کشت نوترینت آگار به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند و پس از خارج کردن آنها از انکوباتور تستهای گلوکز (جهت تفریق استافیلوکوک ها از سایر میکروکوک ها [۱]، مانیتول (جهت تفریق استافیلوکوکوس اورئوس از سایر گونه‌های استافیلوکوکی [۴] و کوآگولاز [۱۱] در مورد آنها انجام شد. پس از انجام تست های مذکور پرگنه هایی را که از نظر تمامی موارد کاتالاز، گلوکز، مانیتول و کوآگولاز مثبت بوده و از لحاظ مورفولوژیکی بصورت پرگنه های سیاه، براق، محدب و شفاف در محیط بردبارکر آگار بودند را به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت تلقی کرده و با توجه به رقت مورد نظر، در محیط برد پارکر آگار شمارش شدند. لازم به ذکر است که پلت هایی برای شمارش در نظر گرفته شدند که بین ۲۰ تا ۳۰۰ عدد پرگنه داشتند. ولی در صورت وجود بیش از ۳۰۰ پرگنه در پلت های مربوط به رقت های پایین تر، آن پلیت ها هم برای شمارش در نظر گرفته شد [۴].

۳-۲- تخمین سم آنتروتوکسین در هر یک از نمونه ها: با توجه به این مطلب که ۹۳ تا ۱۰۰ ٪ ارتباط بین استافیلوکوکوس اورئوس در تولید آنزیم کوآگولاز و تولید آنتروتوکسینها وجود دارد، اثبات وجود استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در بخش جستجو و شمارش آن، می تواند تا حد زیادی میزان میکروارگانیسم های آنتروتوکسن زا را در نمونه های مورد نظر مشخص نماید. با در نظر گرفتن میزان دوز توکسیک این میکروارگانیسم که برابر 10^5 CFU در هر گرم از پنیرها می باشد، می توان وضعیت پنیرهای محلی عرضه شده در منطقه را از نظر ایجاد مسمومیت غذایی مشخص نمود [۱۷].

۳- نتایج

نتایج روند جستجوی استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در نمونه های از پنیرهای محلی عرضه شده در نقاط مختلف شهرستان مرند، نشان داد که این میکروارگانیسم در تمامی نمونه های پنیر مورد آزمایش، وجود دارد.

در تعیین میزان آلودگی نمونه های پنیر به استا فیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت مشخص شد که ۱۳/۷٪ نمونه ها به میزان کمتر از ۱۰۰ عدد از این میکروارگانیسم را در هر گرم دارا بوده، ۲۳/۷۵٪ نمونه ها آلودگی بین 10^2 تا 10^3 باکتری، ۴۰٪ نمونه ها آلودگی بین 10^3 تا 10^4 باکتری، ۱۶/۲۵٪ نمونه

Archive of SID
www.SID.ir

ها آلودگی بین 10^4 تا 10^5 باکتری و ۶/۲۵٪ نمونه ها آلودگی بیش از 10^5 باکتری در هر گرم دارا بودند.

با توجه به این مطلب که نمونه های پنیری که بیش از 10^5 عدد از استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت را در هر گرم داشته باشند، می توانند دارای میزان توکسیک سم آنتروتوکسین باشند، بنابراین تنها ۶/۲۵٪ نمونه پنیرهای مورد آزمایش می توانند دارای میزان توکسیک سم آنتروتوکسن استافیلوکوکی باشند.

با توجه به ۴ نوع پرگنه توصیف شده در محیط بردپارکرآگار، درصد هریک از انواع پرگنه های تشکیل شده در مورد کل نمونه های پنیر مورد آزمایش را می توان به صورت زیر نشان داد(جدول ۱).

با توجه به انواع پرگنه های تشکیل شده در روند شمارش استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت، میزان تطابق این پرگنه‌ها با تست های آزمایشگاهی تایید کننده ی استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت را می توان به صورت زیر نشان داد (جدول ۲).

در روند جستجو و شمارش پرگنه ها مشاهده شد که تمامی انواع پرگنه های تشکیل شده در هر دو روند در محیط بردپارکر آگار از نظر مورفولوژی با هم تطابق داشته و فقط در دو مورد در نمونه های شماره ۷۵ و ۸۰ پرگنه های شفاف، سیاه، محدب و براق بدون هاله تشکیل شده در روند جستجو به هیچ وجه در محیطهای برد پارکر مربوط به روند شمارش تشکیل نشده اند که با انجام تستهای کاتالاز، گلوکوز، مانیتول و کوآگولاز پرگنه های بدون هاله مربوط به شماره ۷۵ متعلق به استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت بوده ولی پرگنه ای بدون هالهء مربوط به نمونه شماره ۸۰ به علت گلوکز منفی بودن به جنس استافیلوکوکوس اورئوس تعلق نداشته است.

۴- بحث و نتیجه گیری

اهداف مورد نظر از انجام این مطالعه عبارتند از: ۱) جستجوی استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در پنیرهای سنتی ۲) شمارش کلو نی های استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت ۳) در نهایت با توجه به تعداد باکتری، مشخص نمودن نمونه های حاوی دوز توکسیک آنتروتوکسینها، در ۸۰ نمونه از پنیرهای سنتی تهیه شده از شیر گوسفند و عرضه شده در نقاط مختلف شهرستان مرند.

نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر آلودگی ۱۰۰٪ پنیرهای تهیه شده به روش سنتی با استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت می باشد. این امر خود دلیلی بر عدم رعایت مسایل بهداشتی در تولید پنیرهای محلی عرضه شده در این منطقه می‌باشد. با عنایت به این مطلب که نمونه پنیرهایی که بیش از 10^5 عدد از این میکروارگانیسم را در هر گرم داشته باشد، دارای میزان توکسیک سم آنتروتوکسین بوده و از لحاظ مسمومیت غذایی حائز اهمیت می باشند، لذا تعداد نمونه هایی که در این محدوده قرار گیرند، بیش از سایر نمونه ها مورد توجه قرار می گیرد. با توجه به نتایج، ۶/۲۵٪ از نمونه‌های پنیر محلی دارای بیش از 10^5 عدد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در هر گرم می‌باشند که البته همین تعداد نمونه می‌تواند دارای میزان توکسیک آنتروتوکسین استافیلوکوکی (SE) باشد. اما با توجه به این که ۱۶/۲۵ ٪ از نمونه ها بین 10^4 تا 10^5 عدد از این میکروارگانیسم را در هر گرم دارا می باشند ممکن است به مرور زمان و با تکثیر این باکتری در پنیر بدون نگهدارنده، به میزان توکسیک برسند.

نمونه های پنیر شماره ۱ تا ۳۰ در ماههای مرداد و شهریور تهیه شده است، از بین ۵ نمونه دارای میزان استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت بالاتر از 10^5 کلونی در هر گرم، ۴ نمونه مربوط به نمونه های تهیه شده در این ماه ها می باشد. این امر نشان دهنده ی این است که فصل گرما و بالا بودن دمای هوا می تواند به عنوان فاکتور مناسبی جهت رشد این میکروارگانیسم مطرح باشد. ماده غذایی می تواند نقش موثری در رشد میکروارگانیسم هایی داشته باشد که در آن حضور دارند، ولی باید در مورد استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت به این مسئله واقف بود که نامساعد کردن شرایط رشد این میکروارگانیسم در داخل غذا نمی تواند همیشه از میزان مسمومیت های غذایی استافیلوکوکی بکاهد. چون آنتروتوکسین استافیلوکوکی که عامل مسمومیت های غذایی می باشد نسبت به اکثر فاکتورهای از بین برنده میکروارگانیسم مقاوم بوده و از بین نمی رود، بطوریکه در یک مسمومیت غذایی استافیلوکوکی گزارش شده، مشخص شده است که عامل مسمومیت، مصرف شیر خشک بدون چربی بوده، در حالیکه در بررسی های اپیدمیولوژیکی هیچ استافیلوکوک زنده و فعال جدا نشد [۱۸].

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۱ درصد نمونه های پنیر که دارای هر یک از انواع پرگنه های توصیف شده در محیط بردپارکرآگار می باشند.

درصد نمونه های پنیر دارای پرگنه‌های سیاه، شفاف، بر آمده و دارای هاله روشن	۶۸/۷۵
درصد نمونه های پنیر دارای پرگنه‌های سیاه، شفاف، بر آمده و دارای هاله تیره	۵۵
درصد نمونه های پنیر دارای پرگنه‌های بدون هاله	۶۱/۲۵
درصد نمونه های پنیر دارای پرگنه‌های غیر متشابه	۷۱/۲۵

جدول۲ درصد تطابق انواع پرگنه ها با تست های آزمایشگاهی

درصد تطابق پرگنه‌های سیاه، شفاف، بر آمده و دارای هاله روشن	۹۸/۱۸
درصد تطابق پرگنه‌های سیاه، شفاف، بر آمده و دارای هاله تیره	۵۲/۲۷
درصد تطابق پرگنه‌های بدون هاله	۴۴/۸۹
درصد تطابق پرگنه‌های غیر متشابه	۱۵/۷۸

Ikeda و همکاران در سال ۲۰۰۶ با مطالعه ای که بر روی پنیرهای کارخانجات شهر هوکایدو ژاپن انجام دادند، مشاهده کردند که ۳/۶ تا۹/۲ درصد کل نمونه های پنیر و ۲۰-۱۳ درصد نمونه های موزارلا به استافیلوکوکوس اورئوس آلوده بودند. بیشترین تعداد این باکتری CFU/g ۲۰۰۰۰ گزارش گردید، با این حال در نمونه های آلوده هیچ انتروتوکسینی یافت نشد [۱۹]. لازم به ذکر است که با گذشت زمان و افزایش مدت ماندگاری پنیر تعداد استافیلوکوکوس کاهش می یابد [۲۰]. از جمله دلایل کاهش شمارش میکروبی ، افت PH و تولید عوامل ضد میکروبی توسط برخی باکتریهای لاکتیکی بخصوص باکتریوسین ها می باشد (۲۱). طبق مطالعات انجام شده توسط وزارت بهداشت برزیل وجود g/۱۰۰۰سلول استافیلوکوکوس اورئوس در پنیر خطرناک بوده و می تواند منجر به بروز مسمومیت غذایی شود. بر همین اساس در مطالعه ای روی پنیر فرسکال ۵۰ درصد نمونه ها حاوی بیش ازg /۱۰۰۰۰۰۰ استافیلوکوکوس بوده که می تواند منجر به تولید انتروتوکسین کافی جهت ایجاد بیماری شود [۲۲].

در مطالعه ای که توسط محمدی ثانی[۲۳] در شهرستان مشهد بر روی ۴۴۴ نمونه پنیر انجام شد، میزان آلودگی با استافیلوکوکوس اورئوس ۹/۴٪ گزارش شد و میزان این میکروارگانیسم در پنیر سنتی بطور معناداری بیشتر از پنیر هایی بود که به روش صنعتی تولید می شدند، همچنین بین تعداد باکتری های نمونه های جمع آوری شده در فصل بهار و تابستان اختلافی مشاهده نشد که از این نظر با نتایج مطالعه ی حاضر متفاوت است[۲۳]. مرحمتی زاده و همکاران [۲۴] ضمن بررسی آلودگی ۵۰ نمونه پنیر سنتی در شهرستان کازرون مشاهده کردند که ۲۳ تا از نمونه ها (۴۶٪) به استافیلوکوکوس آلودگی داشته و ۱۳ مورد آلوده به نوع کواگولاز مثبت بودند [۲۴]. در مطالعه ای دیگر شادان و همکاران[۲۵] با مطالعه بر روی ۱۲۰ نمونه پنیر در شهرستان زاهدان گزارش نمودند که ۲۵٪ نمونه ها بیش از حد استاندارد ایران به استافیلوکوکوس آلوده اند. نتایج حاصل از مطالعه ی حاضر با نتایج گزارشات انجام شده در کازرون [۲۴] و زاهدان [۲۵] و مشهد [۲۳] در مورد حضور این میکرو ارگانیسم قابل مقایسه نبوده و در مطالعه حاضر بیشتر می باشد. محققی دیگر در یک بررسی مشاهده نمود که ۴۵٪ از پنیرهای کانادایی تهیه شده از شیر خام و ۱۳٪ از پنیرهای تهیه شده از شیر پاستوریزه، آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت بودند (۲۶). اگرچه وجود این باکتری در شیر خام، تعجب آور نیست ولیکن جداسازی آن از پنیر، بیشتر به دلیل تهیه پنیرها از شیر های غیر پاستوریزه و یا عدم رعایت بهداشت حین فرآیند تولید می باشد [۲۷]. همچنین اخیراً برخی محققین از اسانس برخی گیاهان همچون آویشن، زیره، نعناع ، ترخون [۲۸] و مخلوط نمک طعام/ کلرید پتاسیم [۲۹] و افزودن مایع ماست یا استارتر کالچر [۲۵] که PH پنیر را کاهش می دهد بمنظور کاهش تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در پنیر استفاده کرده اند و پیشنهاد استفاده از این ترکیبات را بعنوان نگهدارنده ی پنیر مطرح نموده اند.

به نظر می رسد که مهمترین عاملی که تعداد استافیلوکوکوس اورئوس را در پنیر تعیین میکند، تعداد استافیلوکوکوس اورئوس شیری است که پنیر از آن تهیه می شود[۳۰]. در کل به دلیل نوع نگهداری گوسفندان در ایران که به روش کوچ رو

www.SID.ir

و عشایری است و هنوز واحدهای صنعتی که همچون گاوداری بتوان بر آن روش های دوشش و نگهداری شیر را بصورت بهداشتی اعمال کرد، وجود ندارد و همچنین در عمل، شیر گوسفندان به کارخانه های شیر انتقال داده نمی شود ، لذا بایستی اتخاذ هر گونه تصمیمی در جهت کاهش آلودگی پنیر گوسفندی با تکیه بر این بخش باشد، زیرا آلودگی پنیر در درجه نخست از آلودگی شیر منشاء می گیرد.

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه و گزارش چند مورد مسمومیت غذایی ناشی از این میکروارگانیسم بواسطه مصرف پنیر آلوده [۳۲-۳۱] و اهمیت این موضوع در بهداشت عمومی موارد زیر توصیه می گردد که نظارت بهداشتی بیشتر بر واحد های سنتی تولیدی و تبدیلی محصولات لبنی انجام شود، تا حد امکان از مصرف پنیرهای غیرپاستوریزه و محلی که در روند تهیه آن از پاستوریزاسیون و دیگر اقدامات بهداشتی استفاده نمی شود خودداری نمود و در صورت ناگزیر شدن به مصرف این پنیرها، آنها را بمدت ۶۰ روز در آب نمک با غلظت مناسب و دمای ۱-۷ درجه سانتی گراد نگهداری و سپس مصرف نمود [۲۵]. کنترل حرارت مهمترین وسیله مناسب و موثر برای جلوگیری از مسمومیت های استافیلوکوکی است. بطور کلی می توان گفت که سرد کردن و استفاده از یخچال بهترین وسیله کنترل این مسمومیت محسوب می شود [۲]، بنابراین سرد کردن شیر بلافاصله پس از دوشش می تواند اقدامی مفید در جهت کنترل این باکتری باشد.

۵- منابع

[1]Defigueiredo M P, Splittsser DF. 1976. Food Microbiology:Public Health and Spoilage Aspects. The AVI Pubilshing Co., Westport, Connecticut.

[2]Jay JM. Microbiological food safety. 1992. CRC-Critical Review in food Science and Nutrition; 31: 177-190.

[3]Shimi A. 1376. Veterinary Bactriology and Bacterial diseases. Institution of Jahad Publications, 85-94.

[4]Doyle M.P. 1992. A new generation of food borne pathogens. Dairy Food Environ Sanit; 12: 490-493.

[5]Simeao D CL, Dias R, Souza L. 2002. Heneine LG.Food poisoning due to enterotoxigenic strains of Staphylococcus present in Minas cheese and raw milk in Brazil. Food Mic;19: 9–14.

[6]Jørgensen H J, Mørk T, Caugant DA, Kearns A, Rørvik LM. 2005. Genetic variation among Staphylococcus aureus strains from Norwegian bulk milk. App Environ Mic; 71: 8352–8361.

[7]Ren K, Bannan JD, Pancholi CAL, Robbins JC, Fischetti AV, Zabriskie JB. 1994. haracterizationand biological Propertiey of a new Staphylococci exotoxin. Genbank Accession;702.

[8]Johson HM, Russell JK, Pontzer CH. 1991. Staphylococcal enterotoxin Superantigens, minireview. Microb. Superantigens, Proc Soc. Exp Boil And Med; 198: 765-771.

[9]Shirvan S, Kelar SS. 1985. Compartire Study of markers of pathogenic Staphylococci. Indian J Med Res; 82: 194.

[10]Gudeling R. 1983. Differentiation of Staphylococci on the basis of nuclease properties. J Clin. Mic; 18: 1098.s

[11]Youmans GP, Palerson PY, Sommers HM. 1980. The Biologic and Clinical Basis of Infectious Diseases 2en ed. WP Saunders Co, Philadelphia,; P: 639-648.

[12]Razviler V. 1378. Pathogenic microbs in food products and epidemiology of food poisoning. Tehran University Publications,; 127-135.persian.

[13]Hui YH, Merle D, Pierson J, Richard G. 2001. Food borne disease hand book, Marcel Dekker; P: 343-372.

[14]Academishe D, Verlag U, Sustalt G, Vernozy R, Mazvey C. 1996. Entrotoxin production by coagulase negative staphylococci isolatedfrom goats, milk and chees . Inter J Food Mic;30: 271-280.

[15]Betley M.j, Harris TO. 1994. Staphylococcal enterotoxins: genetic characterization and relationship between structure and emethic activity. Food Mic; 11, 109-121.

[16] Mahon CR, Manuselis G. 1995. Diagnostic Microbiology. W. B. Saunders. Company, London,; P:58-96.

[17]Weers PG, Moolhuijzen CEM, Bongaearts GPA. 1987. Comparison of seren Coagulase tests for identification of Staphylococcus aureus. Europ J Clin Mic; 6(5): 589.

[18]Asperger H, Zanger P. 2003. Staphylococcus aureus. In:Encyclopedia of Dairy Sciences, vol. 4, edited by Roginski H., Fuquay J.W., Fox P.F., Academic Press and Elsevier Science,; 2563-2569.

[19]Ikeda T, Morimoto YO, Makino SI, Yamaguchi K. 2006. Surveillance of

Archive of SID

www.SID.ir

Staphylococcus aureus in cheese produced in hokkaido. J Food Protec;69 (3): 516-519.
[20]Masatcioglu TM, Avsar YK. 2005. Effects of flavourings, storage condition and storage time on survival of Staphylococcus aureus in Surk Cheese. J Food Protec 68(7):1487-1491.
[21]Rodriguez E, Calzada J, Arquez J L, Rodriguez JM, Nunez M, Medina M. 2005. Antimicrobial activity of pediocin-producing Lactococcus lactis on Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus and Escherichia coli O157:H7 in cheese. Inter Dairy J; 15 (1): 51-57.
[22]Almeido FE, Nader FA. 2000. Occurrence of Staphylococcus aureus in frescal type cheese. Rev Saude Publica; 34(6): 578-580.
[23]Mohammadi Sani A. 1388. the survey of the distributed cheeses to listeria monocytogen, staphylococcus aureus and Ecoli pathogens in Mashhad and Ghochan. Twelfth national Congress of Iran Environmental Health, Shahid Beheshti Medical Sciences University,; 522-533.
[24]Marhamatizadeh MH, Karim G, Nikafroz R, Peykar G. 1386. The study of the contamination of cottage cheese to coagulase positive staphylococcus aureus in Kazeron. Food Sci Nut; 4 (2): 33-40.
[25]Shadan M, Khoshabi F. 1381. study of the microbial contamination of Zahedan cottage cheeses. Tabibe shargh; 4 (6): 33-42.
[26]Thatcher FS, Simon W, Walter C. 1956. Extraneous Matter and Bacteria of Public Health Significance in Cheese. Canadi Pub Health; 47: 234.
[27]Normanno G, La Salandra G, Dambrosio NC, Quaglia NC, Corrente M, Parisi A, Santagada G, Firinu A, Crisetti E, Celano GV. Occurrence, 2007. characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolated from meat and dairy products. Inter J Food Mic; 115: 290-296.
[28]Bonyadian M, Moshtaghi H. 2007. The Effects of Some Herb's Essential oils on S. aureus in Feta Cheese. J Medicinal Plants; 6(1): 19-26.
[29]Koenig S, Marth EH. 1982. Behavior of Staphylococcus aureus in Cheddar cheese made with sodium chloride or a mixture of sodium chloride and potassium chloride. J Food Protec; 45**:** 996–1002.
[30]Takahashi I, Johns CK. 1954. Staphylococcus Aureus in Cheddar Cheese. J Dairy Sci; 42 (6):1032-1037.
[31]Douea C C, Sylvester G. 1954. 1953 Summary of Disease Outbreaks. Public Health Rept; 69: 538.
[32]Douea CC, Sylvester G. 1955. 1954 Summary of Disease Outbreaks. Public Health Rept; 70: 536.
[33] Dover C C, Davis DJ. 1959. 1958 Sumnlary of Disease Outbreaks. Public Health Rept; 74: 715.

Archive of SID

www.SID.ir

Survey the presence of coagulase positive staphylococcus aureus in cottage cheeses produced from sheep milk and sold in Marand county

Eslami, M. [1], Koohi, M. K. [2], Zadehashem, E. [3*], Khadiri, B. [4], Keshavarz, H.[5]

1. Assistant Professor of Theriogenology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University , Urmia, Iran.
2. Assistant Professor of Toxicology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
3. Assistant Professor of Toxicology and Pharmacology Division, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University , Urmia, Iran.
4. Private Veterinarian, West Azerbayjan.
5. PhD Student of Pharmacology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

Staphylococcus aureus is one of the pathogens that causing food poisoning in humans. According to the methods of preparing the traditional raw milk cheeses and various ways of enterance of S.aureus to milk, survey of contamination of cheeses by this bacterium, may help to decrease of food poisoning caused by this microorganism. In this study 80 cheese samples (200g) produced from sheep milk randomly chosen from Marand County and detection of this microorganism was done. Diluted samples cultured in the broth agar, and then colonies in the basis of conformation divided into four groups. Coagulase test was performed on the some colonies of each group and catalase positive colonies cultured in nutrient agar. Complementary test like glucose, manitol and coagulase reveal the coagulase positive organism. Finally the black, shining and convex colonies in Baird parker agar were counted. We found that all samples (80 cottage cheeses samples) were contaminated by this organism. 6.25% of samples contain more than 10^5 bacteria in each gram and 16.25% have $10^4 – 10^5$ bacteria in each gram. In according to this study control and monitoring of dairy producer should be more and do not use non-pasteurized dairy product especially cottage cheeses.

Keywords: Staphylococcus aureus, Positive coagulase, Cheese, Sheep, Marand.

Archive of SID

*Corresponding Author E-Mail Address: Zadehashem_elham@ yahoo.com

www.SID.ir