

## تعیین فراوانی استافیلوکوکوس ارئوس مولد آنترتوکسین و مقاوم به متی سیلین در انواع مختلف شیرینی‌های خامه‌ای عرضه شده در تعدادی از قنادی‌های شهرستان ارومیه

دکتر نیما حسینی جزنی\*<sup>۱</sup>، همایون بابازاده<sup>۲</sup>

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 آنترتوکسین در شیرینی‌های خامه‌ای 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 خامه‌ای بر روی دو محیط کشت BHI و مانیتول سالت آگار کشت داده شدند. شناسایی استافیلوکوکوس ارئوس با روش‌های استاندارد از جمله رنگ آمیزی گرم، تست‌های کاتالاز و کوآگولاز و... انجام گرفت. جهت بررسی تولید آنترتوکسین و نوع آن از کیت SET-RPLA Toxin Detection استفاده شد. تعیین مقاومت ایزوله‌ها به آگراسیلین با روش دیسک دیفیوژن انجام گرفت.

**یافته‌ها:** از ۱۵ درصد نمونه‌ها استافیلوکوکوس ارئوس جداسازی شد، ارتباط معنی‌داری بین نوع شیرینی خامه‌دار و تعداد ایزوله‌ها وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). کلیه ایزوله‌ها نسبت به آگراسیلین حساس بودند. ۴۰ درصد (۶ عدد) ایزوله‌ها آنترتوکسیژنیک بودند، که از این تعداد ۶۶٫۶ درصد (۴ مورد) نوع A، ۳۳٫۳ درصد (۲ مورد) نوع B و ۱۶٫۶ درصد (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 کوتتری موکسازول بیشترین حساسیت را نشان دادند. تفاوتی در مقاومت ایزوله‌های آنترتوکسیژنیک و غیر آنترتوکسیژنیک نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها وجود نداشت.

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

**کلمات کلیدی:** استافیلوکوکوس ارئوس، آنترتوکسین، متی سیلین، شیرینی خامه‌ای

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 میکروبی‌شناسی، ایمنی شناسی و ژنتیک، تلفن: ۰۹۱۴۳۴۶۴۲۳۴

Email: n\_jazani@yahoo.com

### مقدمه

باعث بروز مسمومیت غذایی با علائم استفراغ، اسهال و ضعف فوق‌العاده شدید می‌شود. انواعی مختلفی از آنترتوکسین‌های استافیلوکوکوس ارئوس شناسایی شده‌اند که شایع‌ترین آن‌ها Staphylococcus aureus enterotoxin A, B, C, D, E می‌باشند، شیوع آنترتوکسین A در مسمومیت غذایی نسبت به سایر انواع بیشتر است (۱، ۲).

استافیلوکوکوس ارئوس کوکسی گرم مثبت خوشه‌ای است که در سطح پوست و غشاء‌های 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 آنترتوکسین می‌نمایند که جذب آن از روده

<sup>۱</sup> دانشیار میکروبی‌شناسی، مرکز تحقیقات سلامت مواد غذایی و آشامیدنی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

<sup>۲</sup> گروه میکروبی‌شناسی، ایمنی شناسی و ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

وانکومایسین می‌باشند. سوبه‌های مقاوم به متی‌سیلین نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های مشابه بامتی‌سیلین از قبیل کلوگزاسیلین، دی‌کلوگزاسیلین، فلوکلوکساسیلین، نفسیلین، آگزاسیلین و سفوکسی‌تین ویا غیرمشابه بامتی‌سیلین از جمله آمینوگلیکوزیدها، کلیندامایسین، ماکرولیدها و تتراسیکلین نیز مقاومند (۸).

علاوه بر نقش استافیلوکوکوس ارئوس مولد آنتروتوکسین در آلودگی مواد غذایی و ایجاد مسمومیت‌های غذایی در شهرستان ارومیه، هیچ‌گونه اطلاعی در رابطه با میزان فراوانی استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) و میزان انتقال آن به انسان از طریق غذای آلوده وجود ندارد.

با توجه به رشد و تکثیر فراوان استافیلوکوکوس در مواد غذایی با ماهیت لبنی و قندی و با توجه به آنتروتوکسی ژنیک بودن این باکتری و نیز عدم وجود هیچ‌گونه اطلاعاتی در رابطه با میزان آلودگی شیرینی‌های تر در شهرستان ارومیه با این باکتری و به ویژه با انواع آنتروتوکسیژنیک آن، لذا هدف مطالعه حاضر بررسی میزان شیوع استافیلوکوکوس ارئوس مولد آنتروتوکسین در شیرینی‌های خامه‌ای ارائه شده در سطح قنادی‌های شهرستان ارومیه و تعیین 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 خامه‌ای تهیه شد. انواع شیرینی‌های تحت مطالعه همگی شیرینی تر خامه‌دار و از نوع لطیفه‌های خامه‌ای، رولت، نان‌های خامه‌ای و شیرینی‌هایی با رویه خامه‌ای بودند. نمونه‌ها پس از نمونه‌برداری در کلد باکس قرار داده شده سریعاً به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی برای کشت منتقل شدند و بلافاصله پس از انتقال کشت داده شدند. در حدود ۳۰ گرم از هر نمونه در ۹۰ سی سی بافر فسفات سالین PBS 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 ارئوس) کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد کلنی‌های زرد به دست آمده از محیط کشت مانیتول سالت آگار انتخاب شدند. باکتری‌های جداسازی شده در پلیت حاوی محیط کشت بی‌اچ ای کشت داده شده و پس از

مسمومیت غذایی استافیلوکوککی 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 ۳۰-۵۰ درصد 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، pH و غلظت‌های نسبتاً بالای کلرید سدیم رشد نماید. این ویژگی‌ها باعث قابلیت رشد باکتری در طیف گسترده‌ای 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 آنتروتوکسین استافیلوکوکوس ارئوس شناسایی شده‌اند (۴)، ساختار این آنتروتوکسین‌ها از نظر توالی ژنومی مشابه بوده و محصولات آن‌ها پروتئین‌های ترش‌خی کوتاه محلول در آب می‌باشند. این سموم نسبت به اغلب آنزیم‌های پروتئولیتیک و حرارت مقاوم بوده و بنابراین در حین پخت غذا، پاستوریزه کردن محصولات لبنی و یا پس از خورده شدن توسط آنزیم‌های گوارشی از بین نمی‌روند (۲،۳) ولی با دمای بالای که برای استریل نمودن غذاهای کنسرو شده به کار می‌رود از بین می‌روند. بنابراین آنتروتوکسین‌های استافیلوکوککی نسبت به شرایطی که خود باکتری را از بین می‌برد (حرارت، اسیدیته بالا و...) مقاوم‌اند.

آنتروتوکسین‌های استافیلوکوککی سوپرانتی ژن‌های قوی، تب‌زا و عامل سرکوب پاسخ‌های سیستم ایمنی و تکثیر غیراختصاصی و وسیع T سل‌ها می‌باشند. همچنین با تحریک مرکز تهوع در مغز باعث ایجاد تهوع و استفراغ می‌شوند (۳، ۵، ۶).

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

اکثراً ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس مقاوم به پنی‌سیلین، برخی مقاوم به متی‌سیلین، نفسیلین و به ندرت مقاوم به

اریترومایسین (۱۵)، کلیندامایسین (۲)، جنتامیسین (۱۰)، سفتری زوکسیم (۳۰)، کلرامفنیکل (۳۰)، سفالوتین (۳)، کوتری موكسازول (۲۳.۷۵/۱.۲۵)، تتراسیکلین (۳۰)، آمپی سیلین (۱۰-Hi) (media, Mombay) براساس استاندارد CLSI استفاده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد پلیت ها مورد بررسی قرار گرفته و قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک با خط کش اندازه گیری شد. و در صورتی که قطر هاله عدم رشد بزرگ تر یا مساوی ۱۳ میلی متر بود باکتری به عنوان سویه حساس نسبت به اگزاسیلین/متی سیلین در نظر گرفته شد (۸).

### یافته‌ها

مطالعات میکروبی شناسی انجام شده با روش کشت و رنگ آمیزی گرم نشان داد که در کلیه محیط‌های کشت بی ای تعداد زیادی کلنی پس از کشت ۲۴ ساعته نمونه در ۳۷ درجه سانتی گراد مشاهده شد. در مجموع از ۱۰۰ نمونه تحت بررسی ۷۴ درصد نمونه‌ها حاوی کوکسی‌های گرم مثبت، ۴۷ درصد حاوی باسیل‌های گرم منفی، ۳۷ درصد آلوده با باسیل‌های گرم مثبت، ۵ درصد آلوده با کوکسی‌های گرم منفی و ۳ درصد 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 از انواع لطیفه خامه‌ایی، رولت، نان خامه‌ایی و شیرینی 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 معنی داری بین نوع شیرینی خامه‌دار و تعداد ایزوله‌ها وجود نداشت ( $p > 0.05$ ).

در مجموع از ۱۵ جدایه استافیلوکوکوس ارئوس، کلیه جدایه‌ها 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 ۴۰ درصد ایزوله‌ها (شش ایزوله) تولید کننده انتروتوکسین بودند، از ایزوله‌های مولد انتروتوکسین چهار ایزوله (۶۶/۶٪) انتروتوکسین نوع A، دو ایزوله (۳۳/۳٪) انتروتوکسین نوع B و یک ایزوله (۱۶/۶٪)

انکوباسیون به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد مرفولوژی میکروارگانیزم‌ها با رنگ آمیزی گرم مورد بررسی قرار گرفت و در صورت حضور کوکسی گرم مثبت، تست کاتالاز با استفاده از محلول آب اکسیژنه ۳ درصد انجام گرفت. در صورت مثبت بودن تست کاتالاز، آزمایش کوآگولاز با استفاده از پلاسماي خرگوش ابتداء با روش لامي و در صورت منفي بودن با روش لوله ابي انجام شد. باکتری‌های با مرفولوژی کوکسی گرم مثبت و کوآگولاز 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 سانتی گراد در انکوباتور شیکردار انکوبه شدند. پس از طی این زمان سانتریفوگاسیون نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در چهار درجه سانتی گراد انجام گرفت. پس از فیلتراسیون ۲۵ میکرولیتر از نمونه جهت تعیین حضور انتروتوکسین A, B, C, D، با روش اگلوتاسیون پاسیولتکس به طریقه معکوس طبق دستورالعمل شرکت سازنده مورد بررسی قرار گرفت.

برای انجام آزمایش برای هر نمونه پنج ردیف هشت تایی در یک میکروپلیت در نظر گرفته شد و ۲۵ میکرولیتر از حلال به کلیه چاهک‌ها افزوده شد. سپس ۲۵ میکرولیتر از نمونه به اولین چاهک هر پنج ردیف اضافه شد و در وقت‌های متوالی با استفاده از اولین چاهک موجود در هر ردیف در سایر چاهک‌های آن ردیف (به جز چاهک هشتم) تهیه شد. سپس به کلیه چاهک‌ها در هر ردیف ۲۵ میکرولیتر از یکی از آنتی انتروتوکسین‌های A, B, C و یا D اضافه شد. به چاهک‌های ردیف پنجم ۲۵ میکرولیتر از نمونه کنترل مثبت اضافه شد و به دنبال آن میکروپلیت بر روی شیکر قرار گرفت و سپس به مدت ۲۰-۲۴ ساعت در دمای اطاق و در شرایط مرطوب قرار داده 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.

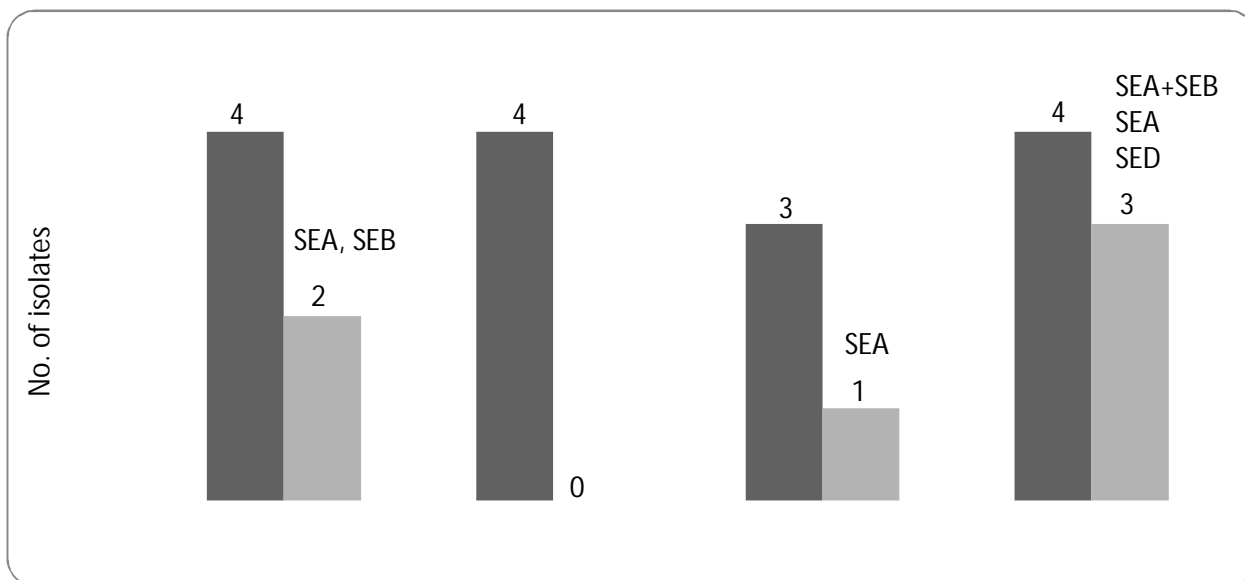
تعیین مقاومت یا حساسیت ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس نسبت به اگزاسیلین با کشت باکتری در سطح محیط کشت جامد مولر هینتون آگار و قراردادن دیسک اگزاسیلین (Hi-media) با قدرت ۱ میکروگرم در سطح محیط کشت انجام گرفت. همچنین جهت تعیین حساسیت ایزوله‌ها نسبت به پاره‌ایی از آنتی‌بیوتیک‌های موثر بر روی استافیلوکوکوس ارئوس از روش دیسک دیفیوژن با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰)، تنکوپالین (۳۰)، ریفامپین (۵)، آموکسی کلاو (۱۰/۲۰)،

استافیلوکوکوس ارئوس آنتروتوکسی ژنیک در مورد نان خامه‌ای (سه ایزوله) و به دنبال آن شیرینی رویه خامه‌ای (دو ایزوله) مشاهده شد. همچنین یکی از ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس مولد آنتروتوکسین از شیرینی رولت جداسازی شد (نمودار ۱).

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

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

بیشترین میزان آلودگی شیرینی‌های خامه‌دار با



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

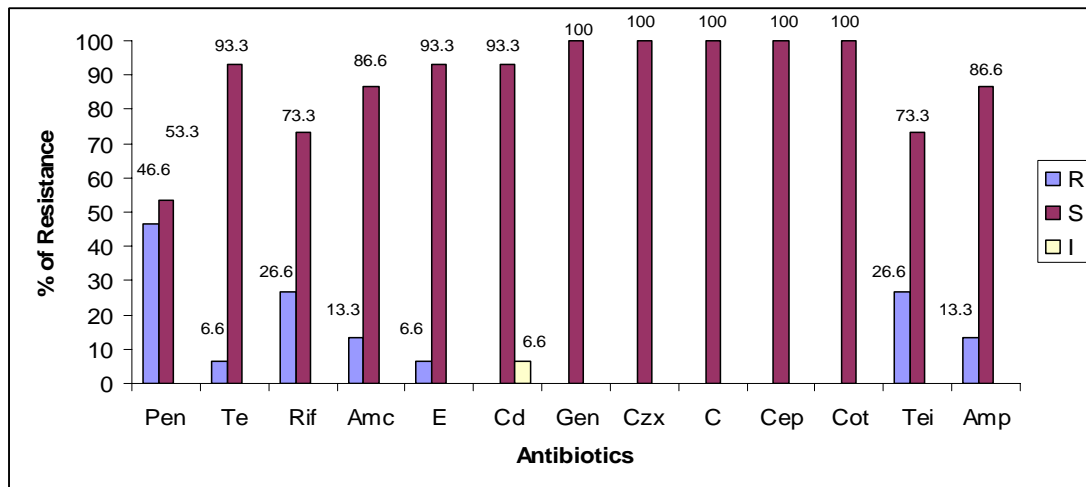
آمده آنتروتوکسی ژنیک بوده و ایزوله اول آنتروتوکسین SEA+SEB، ایزوله دوم SEA و ایزوله سوم SED را تولید می‌نمود (نمودار ۱).

**نتایج آنتی بیوگرام ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس:**

نتایج مربوط به آنتی بیوگرام ایزوله‌های مختلف استافیلوکوکوس ارئوس در نمودار ۲ 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 تیکوپلانی (۲۶/۶٪، چهار ایزوله مقاوم) بیشترین میزان مقاومت را نشان می‌دهند. از طرفی حداکثر حساسیت ایزوله‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامیسین، کوتری موکسازول، سفتری زوکسیم، کلرامفنیکل و سفالوتین مشاهده شد. در مجموع کلیه ایزوله‌ها نسبت به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه حساسیت قابل توجهی را نشان دادند. همچنین هیچگونه تفاوتی در میزان مقاومت ایزوله‌های آنتروتوکسی ژنیک و غیر آنتروتوکسی ژنیک نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در این مطالعه وجود نداشت.

SEA=Staphylococcus Entrotoxin A  
SEB= Staphylococcus Entrotoxin B  
SEC= Staphylococcus Entrotoxin C  
SED= Staphylococcus Entrotoxin D

هم چنانکه مشاهده می‌شود از نمونه شیرینی رویه خامه‌ای در مجموع چهار ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس جدا شدند که ۵۰ درصد ایزوله‌های به دست آمده آنتروتوکسی ژنیک بوده و ایزوله اول آنتروتوکسین SEA و ایزوله دوم SEB راتولید می‌نمود. از نمونه‌های شیرینی تر لطیفه اگرچه چهار ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس جدا شد ولی ایزوله‌های آنتروتوکسی ژنیک به دست نیامد. از نمونه شیرینی رولت در مجموع سه ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس جدا شدند که ۳۳/۳ درصد ایزوله‌های به دست آمده آنتروتوکسی ژنیک بوده و این ایزوله آنتروتوکسین SEA راتولید می‌نمود. از نمونه شیرینی نان خامه‌ای در مجموع چهار ایزوله استافیلوکوکوس ارئوس جدا شدند که ۷۵ درصد ایزوله‌های به دست



**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 (آموکسی‌کلاو)، E (اریترومایسین)، Cd (کلیندامایسین)، Gen (جنتامیسین)، Czx (سفتی‌زوکسیم)، C (کلرامفنیکل)، Cep (سفالوتین)، Cot (کوتری‌موکسازول)، Tei (تئوکوپلانتین)، Amp (آمپی‌سیلین).

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که شایع‌ترین میکروارگانیزم‌های حاضر در نمونه‌های تحت بررسی کوکسی‌های گرم مثبت و به دنبال آن باسیل‌های گرم منفی بودند. البته در مطالعه مشابهی که در سال ۲۰۱۱ در تبریز توسط نیک نیاز و همکاران بر روی میزان آلودگی شیرینی‌های خامه‌دار با میکروارگانیزم‌های مختلف در تبریز 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 ۳۱/۲ درصد از نمونه‌های تحت بررسی استافیلوکوکوس ارئوس به دست آمد، در حالی که در مطالعه پیش روی تنها ۱۵ درصد 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 در ۳۱/۶ درصد از کیک‌های خامه‌ای گزارش نمودند (۴). از طرفی در سال ۲۰۰۶ Shimamura و همکاران نشان دادند که ۱۹/۴ درصد از دسرهای سنتی ژاپنی تحت بررسی با استافیلوکوکوس ارئوس آلوده‌اند (۸)، در مطالعه ایمانی فولادی و همکاران که در سال ۲۰۱۰ بر روی نمونه‌های مواد لبنی انجام گرفت، فراوانی ایزوله‌های مولد انتروتوکسین استافیلوکوکوس ارئوس در نمونه‌های خامه تحت

## بحث و نتیجه‌گیری

در حدود ۱۵-۸۰ درصد 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 استافیلوکوکوس قابل اعتماد نمی‌باشد (۹). از طرفی روش اگلوتیناسیون لاتکس برای شناسایی انواع شایع انتروتوکسین‌های استافیلوکوکوس (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 استافیلوکوکوس توصیه می‌شوند، البته اشکال روش‌های ژنوتیپی این است که در همه موارد حضور یک ژن دال بر بیان 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 استافیلوکوکوس‌های مولد انواع شایع انتروتوکسین از روش اگلوتیناسیون لاتکس استفاده شد.

۲۶/۶ درصد، ۱۳/۳ درصد و ۶/۶ درصد ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس مولد آنروتوکسین A، B و آنروتوکسین A و B به طور همزمان بودند. همچنین یک ایزوله (۶/۶٪) آنروتوکسین نوع D را تولید می‌نمود. از طرفی هیچ یک از ایزوله‌ها مولد آنروتوکسین نوع C نبودند.

آنتی‌بیوگرام ایزوله‌های استافیلوکوکوس ارئوس به دست آمده از نمونه‌های شیرینی خامه‌دار در این مطالعه نشان داد که این ایزوله‌ها نسبت به پنی‌سیلین، ریفامپین و تیکوپلانتین 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 آن که کلیه ایزوله‌های به دست آمده نسبت به آنتی‌بیوتیک آگراسیلین حساس بودند، لذا حساسیت بالای این ایزوله‌ها نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نیز قابل تصور می‌باشد (۹).

به هر حال یافته‌های این پژوهش نشان دهنده آلودگی میکروبی تعدادی از شیرینی‌های خامه‌دار با میکروارگانیسم‌های مختلف به ویژه استافیلوکوکوس ارئوس مولد آنروتوکسین 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.

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

در مطالعه ایمانی فولادی و همکاران شایع‌ترین نوع آنروتوکسین در نمونه‌ها نوع A (۹) و در مطالعه Shimamura و همکاران شایع‌ترین نوع آنروتوکسین نوع B گزارش شد (۸). نتایج به دست آمده در مطالعه پیش روی نیز در این راستا مطالعه ایمانی فولادی و همکاران را تأیید می‌کند. در مطالعه ایمانی فولادی و همکاران فراوانی حضور ژن مولد آنروتوکسین A ۱۵/۶ درصد و آنروتوکسین B ۹/۳ درصد و فراوانی حضور هر دو ژن به صورت همزمان در ایزوله‌ها ۶/۲ درصد با کاربرد روش PCR نشان داده شد که البته کاربرد روش فنوتیپی به دنبال آن نشان داد که ژن آنروتوکسین A در ۸۰ درصد موارد و ژن مولد آنروتوکسین B تنها در ۳۳ درصد موارد بیان شده است (۹). مطالعه حاضر به ترتیب

## References:

- Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Staphylococcal enterotoxins. Toxins (Basel) 2010; 2(8): 2177-97.
- 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.
- Le Loir Y, Baron F, Gautier M. Staphylococcus aureus and food poisoning. Genet Mol Res 2003; 2(1): 63-76.
- 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.
- 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.
- 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.
- Wieneke AA, Roberts D, Gilbert RJ. Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969-90. Epidemiol Infect 1993; 110(3): 519-31.
- 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.
- 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)