

فراوانی ژن های انتروتوکسین A و B در استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده از شیرینی و بینی کارکنان تولیدکننده ی آنها در شهرستان خرم آباد، سال ۱۳۹۱

محمد حسنون^۱، دکتر غلامرضا گودرزی^{۲*}، صیاد خانی زاده^۳

۱. کارشناس ارشد میکروب شناسی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۲. استادیار، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی و گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۳. گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

چکیده

سابقه و هدف: انتروتوکسین های A و B استافیلوکوکوس اورئوس، عوامل اصلی مسمومیت غذایی در جهان می باشند. تقریباً ۲۰ تا ۵۵ درصد از بالغین سالم، در بخش قدامی بینی خود، با استافیلوکوکوس اورئوس، کلونیزه می باشند. انتقال استافیلوکوکوس اورئوس های تولیدکننده ی انتروتوکسین به شیرینی جات، از طریق محصولات لبنی آلوده و یا بینی کارکنان تولیدکننده، می تواند خطر مسمومیت غذایی را افزایش دهد. بر همین اساس، هدف از تحقیق حاضر، تعیین فراوانی ژن های انتروتوکسین های A و B (sea و seb) در بین سویه های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از شیرینی و بینی کارکنان تولیدکننده ی آنها در شهرستان خرم آباد، در سال ۱۳۹۱ بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه ی مقطعی- توصیفی، در مجموع ۳۰۰ نمونه ی شیرینی به همراه ۹۱ نمونه سواب بینی از کارکنان تولیدکننده، به طور تصادفی جمع آوری گردید. نمونه ها بر اساس دستورالعمل های مؤسسه ی استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران و آزمون های میکروب شناسی، از نظر حضور استافیلوکوکوس اورئوس، ارزیابی گردیدند. توزیع ژن های sea و seb در بین ایزوله های مورد آزمایش، به روش PCR تعیین و به کمک آزمون Chi-square، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته ها: نتایج کشت نشان داد که ۱۱/۳٪ از شیرینی های خامه ای (n=۱۵۰) و ۲/۶٪ از شیرینی های خشک (n=۱۵۰)، به استافیلوکوکوس اورئوس، آلوده بودند ($P<0/05$). به علاوه، ۱۶/۴۸٪ از افراد مورد آزمایش، حامل باکتری در بینی خود بودند. فراوانی ژن sea در بین سویه های جدا شده از شیرینی های خامه ای، شیرینی های خشک و بینی، به ترتیب ۸۸/۲٪، ۴٪ و ۱۵٪ به دست آمد ($P<0/05$). این در حالی بود که ژن seb فقط در ۲ سویه (۱۱/۸٪) جدا شده از شیرینی های خامه ای ردیابی شد.

نتیجه گیری: مصرفی شیرینی خامه ای در مقایسه با شیرینی خشک، احتمال آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس را ۴/۶ برابر افزایش می دهد ($O.R=4/6$). پاستوریزه کردن و نگهداری مواد لبنی در یخچال، کنترل میکروبی مداوم شیرینی جات و غربالگری کارکنان تهیه کننده ی آنها، می تواند خطر مسمومیت استافیلوکوکی را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، انتروتوکسین A و B، شیرینی جات، واکنش زنجیره ای پلیمرز، مسمومیت غذایی، خرم آباد

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Hassanvand M, Goudarzi G, Khanizadeh S. The frequency of enterotoxin A and B genes among *Staphylococcus aureus* strains isolated from confectionary products and nares of its processing workers in Khorramabad city (2012).

Pejouhandeh 2014;19(5):281-286.

مقدمه

غذایی می باشد (۲،۱). جنس استافیلوکوکوس دارای بیش از ۲۰ گونه بوده که برخی از آنها در پوست، غدد پوستی، غشاهای مخاطی جانوران وجود داشته و قادرند به فرآورده های حیوانی و منابع محیطی از جمله خاک، آب و هوا، منتقل شوند (۳). این باکتری ها در شرایط مساعد از جمله استرس، بیماری های ویروسی، آسیب های بافتی و هر عاملی که سبب تضعیف در سیستم ایمنی گردد، سبب ایجاد پنومونی، ورم پستان گاو، استئومیلیت، اندوکاردیت، عفونت های پوستی و

امروزه بیماری های ناشی از مواد غذایی به عنوان یک معضل اساسی در سلامت محسوب شده و سالیانه هزینه های اقتصادی بالایی صرف درمان آنها می شود. استافیلوکوکوس اورئوس، دومین یا گاهی سومین عامل مهم مسمومیت ناشی از مواد

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر غلامرضا گودرزی؛ گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، پردیس کمالوند دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران؛ تلفن: ۰۹۱۲۷۱۰۰۵۵۲؛ پست الکترونیک: Goudarzi.gh@gmail.com

پرسنل تولیدکننده‌ی آنها در شهرستان خرم آباد در سال ۱۳۹۱ بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها و تعیین هویت. در این مطالعه‌ی مقطعی-توصیفی، در مجموع ۳۰۰ نمونه شیرینی خامه‌ای و خشک به صورت کاملاً تصادفی، از بیش از ۵۰ قنادی واقع در سطح شهرستان خرم آباد در سال ۱۳۹۱، جمع‌آوری گردید. همچنین ۹۱ نمونه سواب بینی از پرسنل شاغل در کارگاه‌های تولیدی که از نمونه شیرینی آنها استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شد، جمع‌آوری گردید. نمونه‌های شیرینی در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری و در اولین فرصت به آزمایشگاه میکروب شناسی مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان، منتقل و مورد آزمایش قرار گرفتند.

جداسازی استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت از نمونه‌های شیرینی، بر اساس دستورالعمل‌های مؤسسه‌ی استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران انجام گرفت. به طور خلاصه، ۱۰ گرم از هر نمونه‌ی شیرینی به ۹۰ میلی‌لیتر محلول رینگر استریل اضافه گردید (رقت ۰/۱). سپس ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه‌ی رقیق شده، روی محیط انتخابی برد پارکر آگار کشت داده شد (۲۲،۲۱). همچنین، نمونه‌های بینی با استفاده از سواب‌های پنبه‌دار موجود در لوله‌های حاوی محیط کشت تریپتیک سوی براث، از بخش قدام هر دو سوراخ بینی کارکنان شیرینی‌پزی جمع‌آوری و روی محیط‌های بلاد آگار و مانیتول سالت آگار، کشت داده شدند. کلیه‌ی پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. با مشاهده‌ی رشد کلونی‌های مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس، باکتری‌ها توسط تست‌هایی چون رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز، اکسیداز، DNase، کوآگولاز و تخمیر مانیتول، تعیین هویت نهایی شدند (۲۳).

استخراج DNA. به منظور استخراج DNA، ابتدا کشت تازه‌ای از سویه‌های‌های استافیلوکوکوس اورئوس جمع‌آوری شده، در محیط لوریا برتانی براث (مرک، آلمان) تهیه گردید و سپس ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون‌های باکتریایی، با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد و پس از حذف مایع رویی، به ۲۰۰ میکرولیتر از رسوب سلولی حاصل، ۲۰ میکرولیتر محلول لیزواستفاین (۱۰۰ µg/ml، Sigma) اضافه گردید (۲۴). مخلوط حاصل، به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد و ادامه‌ی مراحل تخلیص و جمع‌آوری DNA با استفاده از کیت AccuPrep®

مسمومیت غذایی می‌شود (۴). بر اساس گزارش Bergdoll، منشأ ۹۵٪ از مسمومیت‌های غذایی، انتروتوکسین‌های باکتریایی ناشی از انتروتوکسین‌های نوع A، B، C، D و E استافیلوکوکوس اورئوس بوده و ۵٪ باقی‌مانده، مربوط به سایر انتروتوکسین‌ها می‌باشد (۵).

انتروتوکسین‌های نوع A و B به عنوان مهمترین انتروتوکسین‌های استافیلوکوکوس اورئوس، عامل اصلی مسمومیت غذایی در سراسر جهان محسوب شده و بیشترین مطالعات را به خود اختصاص داده‌اند (۶،۳). افزایش بزاق، تهوع، استفراغ، دل‌پیچه و اسهال، از مهمترین علائم مسمومیت با انتروتوکسین استافیلوکوکی می‌باشد (۷). حضور انتروتوکسین‌ها در محصولات لبنی مانند شیر و پنیر، گوشت، سبزی‌ها و شیرینی‌ها می‌تواند باعث مسمومیت غذایی گردد. به دلیل مقاوم بودن انتروتوکسین‌های استافیلوکوکی در برابر حرارت، در طی فرآیند پاستوریزاسیون، فعالیت بیولوژیکی خود را حفظ کرده و می‌توانند عامل مهمی در ایجاد مسمومیت ناشی از مواد غذایی به شمار آیند (۹،۸).

برای شناسایی این سموم، روش‌های مختلفی از جمله آگلوتیناسیون لاتکس (۱۰)، الایزا (۱۲،۱۱)، ایمونوکروماتوگرافی (۱۳) و مگنتیک ایمونواسی (۱۴) وجود دارد. به دلیل شباهت‌های آنتی‌ژنیک (واکنش متقاطع) در بین سروتاپ‌های مختلف انتروتوکسین‌ها، روش‌های ایمونولوژیک فوق در بسیاری از موارد، از ویژگی بالایی برخوردار نیستند (۱۵). در مقابل، روش‌های تشخیصی مبتنی بر اسید نوکلئیک مانند PCR و Real time-PCR، با تشخیص ژن‌های کدکننده‌ی انتروتوکسین‌ها حتی می‌توانند سویه‌هایی را که میزان تولید سموم آنها پایین بوده و روش‌های ایمونولوژیک قادر به ردیابی آنها نمی‌باشند را تشخیص داده و به همین دلیل از حساسیت و ویژگی بالایی برخوردارند و می‌توانند در کنار سایر روش‌ها در تشخیص و پیشگیری از مسمومیت‌ها مؤثر باشند (۱۶-۱۹).

اگرچه استافیلوکوکوس اورئوس می‌تواند در نواحی مختلف پوست و مخاط کلونیزه شود، اما بخش قدامی بینی، محل اصلی کلونیزاسیون این باکتری می‌باشد (۲۰). لذا افراد حامل این باکتری، به ویژه تهیه‌کنندگان مواد غذایی، می‌توانند به عنوان مخزن بالقوه‌ای در آلودگی مواد غذایی محسوب شوند. بر این اساس و با توجه به اهمیت انتروتوکسین‌ها در بهداشت و سلامت جامعه، هدف از انجام این مطالعه، بررسی فراوانی ژن‌های کدکننده‌ی انتروتوکسین A و B (sea و seb) در بین استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از شیرینی‌جات و بینی

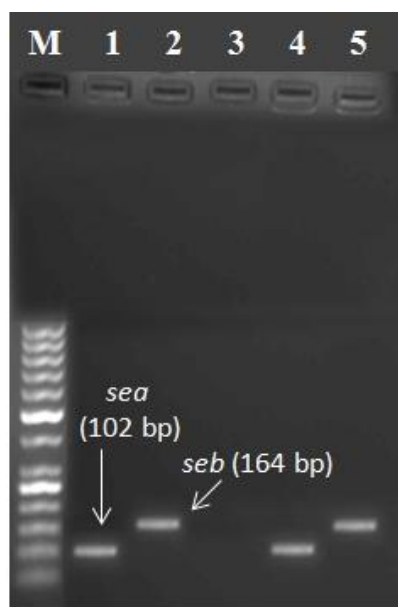
پرایمرها (Annealing) در دمای ۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، طولیل شدن رشته‌ها (Extension) در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و طولیل شدن نهایی (Final extension) در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه. در نهایت، ۵ میکرولیتر از محصولات PCR با ۱ میکرولیتر بافر نمونه، مخلوط و روی ژل آگارز (۱/۵ درصد وزنی/حجمی در بافر TAE) به همراه مارکر ۵۰ جفت بازی (Fermentas, Lithuania) الکتروفورز و با ژل رد (شرکت طیف آرا) رنگ‌آمیزی گردید. در پایان، محصولات الکتروفورز شده پس از رویت در طول موج ۲۶۰ nm، توسط دستگاه ژل‌داک، عکس برداری شدند. همچنین، DNA دو سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس حاوی ژن‌های انتروتوکسین A یا B (اهدایی آقای دکتر جلیل فلاح، دانشگاه مالک اشتر، تهران)، به عنوان کنترل مثبت به همراه نمونه‌های مورد آزمایش، استفاده گردید.

Genomic DNA Extraction (شرکت Bioneer, Korea) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده و با کمی اصلاحات ادامه یافت.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR). توالی اولیگونوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده، در جدول ۱ نشان داده شده است (۲۶،۲۵). واکنش Multiplex PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۳۰۰ نانوگرم DNA الگو، ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase، ۰/۲ میکرومولار از هر پرایمر، ۰/۴ میلی‌مولار مخلوط dNTP، ۲ میلی‌مولار $MgCl_2$ و ۲/۵ میکرولیتر بافر (X10) انجام پذیرفت. تکثیر همزمان ژن‌های مورد نظر در دستگاه گرادیانت ترمال سایکلر (BioRad, USA) تحت شرایط ذیل بهینه گردید: باز شدن اولیه دو رشته در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ چرخه با باز شدن دو رشته (Denaturation) در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال

جدول ۱. مشخصات اولیگونوکلئوتیدهای مورد استفاده جهت تکثیر همزمان ژن‌های انتروتوکسین A و B (*sea*, *seb*)

اندازه قطعه (bp)	توالی (۵' → ۳')	ژن
۱۰۲	GGT TAT CAA TGT GCG GGT GG	F
	CGC CAC TTT TTT CTC TTC GG	R
۱۶۴	GGTGGTGTAACTGAGCGTA	F
	CCAAATAGTGACGAGTTAGG	R



شکل ۱. الکتروفورز محصولات PCR حاصل از تکثیر ژن‌های انتروتوکسین A و B. M. مارکر ۵۰bp؛ ستون ۱، محصول PCR نمونه‌ی حاوی ژن انتروتوکسین A (*sea*)؛ ستون ۲، محصول PCR نمونه‌ی حاوی ژن انتروتوکسین B (*seb*)؛ ستون ۳، استافیلوکوکوس اورئوس فاقد ژن‌های انتروتوکسین؛ ستون‌های ۴ و ۵ به ترتیب محصولات PCR سویه‌های کنترل مثبت حاوی ژن‌های *sea* و *seb*.

آنالیز آماری. شیوع ژن‌های انتروتوکسین A و B در بین سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، به صورت درصد فراوانی گزارش گردید. همچنین، مقایسه‌ی فراوانی ژن‌های *sea* و *seb* در بین استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از شیرینی‌های خامه‌ای و خشک، به کمک نرم‌افزار SPSS ۱۶ و با استفاده از آزمون Chi-squared، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در تمامی موارد، P-value کمتر از ۰/۰۵، معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه، مجموعاً ۳۰۰ نمونه‌ی شیرینی (خامه‌ای و خشک) و همچنین ۹۱ نمونه سواب بینی از نظر آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس و حضور ژن‌های انتروتوکسین A و B توسط روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۱). نتایج کشت نشان داد که ۲۱ نمونه شیرینی (۷٪) به استافیلوکوکوس اورئوس، آلوده بودند. همان‌طور که در جدول ۲ به تفکیک مشخص شده است، از ۱۵۰ نمونه شیرینی خامه‌ای، ۱۷ نمونه به استافیلوکوکوس اورئوس آلوده بودند، که از این تعداد، ۱۵ نمونه حاوی ژن انتروتوکسین A و ۲ نمونه

محاسبات آماری، اختلاف بین شیرینی‌های خامه‌ای و خشک از نظر میزان آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس و حضور ژن انتروتوکسین A، معنی‌دار بود ($P < 0.05$). به طور کلی، شیوع آلودگی در بین شیرینی‌های خامه‌ای، ۱۱/۳٪ و در شیرینی‌های خشک، ۲/۷٪ بود که این اختلاف از نظر آماری، معنی‌دار بود ($P < 0.005$). به طور قابل توجهی، نتایج آزمون آماری نشان می‌دهد که مصرف شیرینی‌های خامه‌ای، نسبت به شیرینی‌های خشک، شانس آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس را به میزان ۴/۶ برابر افزایش می‌دهد ($O.R = 4/6$).

دارای ژن انتروتوکسین نوع B بودند. از طرفی، در بین ۱۵۰ نمونه شیرینی خشک، ۴ مورد آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شد که همگی آنها دارای ژن انتروتوکسین A بودند. همچنین، از کشت ۹۱ نمونه‌ی سواب اخذ شده از بینی کارکنان شیرینی‌پزی، ۱۵ سویه استافیلوکوکوس اورئوس به‌دست آمد که همه‌ی آنها حامل ژن انتروتوکسین A بودند. این درحالی بود که هیچ ژن انتروتوکسین B ردیابی نگردید. هیچ یک از ۳۶ سویه‌ی استافیلوکوکوس اورئوس به‌دست آمده، همزمان حامل هر دو ژن انتروتوکسین A و B نبودند. طبق

جدول ۲. فراوانی ژن‌های انتروتوکسین A و B (sea, sea) استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌های شیرینی و بینی.

نمونه	تعداد	تعداد نمونه آلوده (%)	sea (%)	seb (%)
شیرینی خامه‌ای	۱۵۰	۱۷ (۱۱/۳)	۱۵ (۸۸/۲)	۲ (۱۱/۷)
شیرینی خشک	۱۵۰	۴ (۲/۶)	۴ (۱۰۰)	۰ (۰)
سواب بینی	۹۱	۱۵ (۱۶/۴۸)	۱۵ (۱۰۰)	۰ (۰)

بحث

مطالعات مختلفی که در ارتباط با حضور استافیلوکوکوس اورئوس در بینی افراد سالم انجام گرفته، حاکی از آن است که انتقال این باکتری از بینی افراد کلونیزه، سبب افزایش عفونت‌های استافیلوکوکی می‌گردد. میزان حاملین بینی استافیلوکوکوس اورئوس در بالغین بین ۲۰ تا ۵۵ درصد تخمین زده می‌شود که از این بین، حدود ۱۰ تا ۳۵ درصد از افراد، ناقل همیشگی استافیلوکوکوس اورئوس در بینی و ۲۰ تا ۷۵ درصد به طور متناوب، حامل آن می‌باشند (۲۷).

در مطالعه‌ی حاضر، از ۹۱ نمونه سواب بینی، ۱۵ نمونه (۱۶/۴۸٪) حامل استافیلوکوکوس اورئوس بود که در مقایسه با سایر مطالعات (۲۸، ۲۶)، میزان کمتری از افراد حامل این باکتری بودند. در مطالعه‌ی نوروزی و همکاران، میزان افراد حامل، ۲۶/۷٪ گزارش شد (۲۶). همچنین Rall و همکاران در برزیل، با بررسی سواب‌های بینی ۶۸ نفر از تهیه‌کنندگان مواد غذایی، میزان حاملین استافیلوکوکوس اورئوس را ۲۲/۱٪ گزارش کردند (۲۸). تفاوت در حجم نمونه، موقعیت جغرافیایی، سطح بهداشتی و همچنین ژنتیک افراد (نژاد) در استعداد به کلونیزاسیون، از جمله عواملی هستند که می‌توانند فراوانی ناقلین بینی را تحت تأثیر قرار دهند.

در مطالعه‌ی حاضر، میزان آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس در شیرینی‌های خامه‌ای و خشک نیز مقایسه و گزارش گردید. به‌طوری‌که نتایج کشت نشان داد که ۷٪ از نمونه‌های شیرینی، به این باکتری آلوده هستند، که به طور

قابل توجهی، بیشترین میزان آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس، مربوط به شیرینی‌های خامه‌ای (۱۱/۳٪) بود (جدول ۲). آلودگی شیرینی‌های خامه‌ای در سایر مطالعات نیز بررسی شده است. به عنوان مثال، نتایج مطالعه‌ی سلطان دلال و همکاران در تهران (۱۲٪) و همچنین حسینی جزنی و همکاران در ارومیه (۱۵٪)، تقریباً مشابه مطالعه‌ی حاضر بود (۳۰، ۲۹). اما در مطالعه‌ی نیک نیاز و همکاران در تبریز، آلودگی شیرینی‌های خامه‌ای به استافیلوکوکوس اورئوس، تقریباً ۳ برابر (۳۱/۲٪) مطالعه‌ی حاضر بود (۳۱).

نتایج آزمون PCR نشان داد که تمامی ۲۱ ایزوله‌ی استافیلوکوکوس اورئوس به‌دست آمده از شیرینی، حاوی یکی از ژن‌های انتروتوکسین مورد آزمایش بودند (۱۰۰٪). در بررسی آلودگی مواد لبنی به استافیلوکوکوس اورئوس، ایمانی و همکاران، بیشترین میزان آلودگی را در خامه گزارش کردند (۱۸٪). اما بر خلاف مطالعه‌ی حاضر، فقط ۳۱/۱٪ سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده، قابلیت تولید انتروتوکسین A، B و یا هر دو را داشتند که از این بین، ۱۵/۶٪، ۹/۳٪ و ۶/۲٪ به ترتیب حامل ژن‌های sea، seb و sea+seb بودند (۱۶). از طرفی، نتایج PCR مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تمامی ۱۵ سویه (۱۰۰٪) جدا شده از بینی، حاوی ژن انتروتوکسین A می‌باشند. به طور مشابهی، مطالعه‌ی Peck و همکاران در کره نشان داد که از بین ۹۵ سویه استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از بینی، ۷۸ نمونه (۸۲/۱٪) دارای حداقل یک ژن انتروتوکسین می‌باشند که در این بین، انتروتوکسین‌های I (۷۰/۵٪)، G (۶۱/۱٪) و A (۴۷/۴٪)،

ارزیابی الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جدا شده، اشاره کرد. اگر چه حذف آلودگی در عمل، کار چندان ساده‌ای نیست، اما با شناسایی ناقلین سالم و کانون‌های آلودگی در مراکز تهیه‌ی مواد غذایی و در مواردی درمان مؤثر با آنتی‌بیوتیک، می‌توان بروز مسمومیت‌های غذایی استافیلوکوک را به طور چشمگیری کاهش داد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که با توجه به آلودگی نسبتاً بالای شیرینی‌ها و به خصوص کلونیزاسیون بینی پرسنل تولیدکننده‌ی آنها به استافیلوکوکوس‌های انتروتوکسیژنیک، صنعتی کردن تولید محصولات قنادی، پاستوریزاسیون و نگهداری محصولات اولیه در یخچال، کشت و کنترل مداوم میکروبی، غربالگری، فرهنگ‌سازی و آموزش بهداشتی افراد تهیه‌کننده، می‌تواند بار آلودگی میکروبی را کاهش و خطر مسمومیت‌های غذایی را به حداقل برساند.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در آزمایشگاه میکروب شناسی مولکولی مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی انجام پذیرفت. بدین وسیله، نویسندگان مقاله، مراتب سپاس و تشکر خود را از کلیه‌ی همکاران محترم این مرکز اعلام می‌دارند.

بیشترین فراوانی را داشتند. نتایج تحقیق مذکور، از نظر عدم وجود انتروتوکسین B، با مطالعه‌ی ما همخوانی داشت (۳۲). همچنین، نوروزی و همکاران در بررسی ۳۰ نمونه سواب بینی در تهران، ۸ سویه استافیلوکوکوس اورئوس به‌دست آوردند که در بین آنها، ۲ سویه دارای ژن *sea* و ۳ سویه حاوی ژن *seb* بود (۲۶).

به طور کلی، یافته‌های این مطالعه نشان داد که مصرف شیرینی‌های خامه‌ای، احتمال انتقال استافیلوکوکوس‌های انتروتوکسیژنیک را نسبت به شیرینی‌های خشک افزایش می‌دهند. خامه، به دلیل ایجاد شرایط مغذی و رطوبت مناسب، محیط مناسبی برای رشد بسیاری از باکتری‌ها و قارچ‌ها به‌خصوص در فصول گرم سال است (۲۹). منشأ آلودگی شیرینی‌ها، به ویژه شیرینی خامه‌ای، می‌تواند به دلیل آلودگی اولیه‌ی شیر، استفاده از خامه‌های محلی و غیر پاستوریزه، عدم رعایت چرخه‌ی سرما در حین نگهداری، آلودگی وسایل و در نهایت، انتقال باکتری از دست و بینی پرسنل، در حین فرآوری و حمل و نقل باشد. این مطالعه برای نخستین بار نشان داد که در لرستان، میزان آلودگی محصولات شیرینی به استافیلوکوکوس اورئوس قابل توجه بوده و بسیاری از کارکنان شیرینی‌پزی، حامل این باکتری می‌باشند.

از جمله محدودیت‌های این مطالعه باید به حجم محدود نمونه‌ها، تنوع کم مواد غذایی ارزیابی شده، عدم بررسی سایر ژن‌های انتروتوکسین استافیلوکوک (C، D و غیره) و عدم

REFERENCES

1. Peles F, Wagner M, Varga L, Hein I, Rieck P, Gutser K, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. *Int J Food Microbiol* 2007; 118(2): 186-93.
2. Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol* 2000; 61(1): 1-10.
3. Loir YL, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res* 2003; 2(1): 63-76.
4. Dinges MM, Dinges P, Orwin M. Exotoxin of *staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13(1): 16-34.
5. Bergdoll MS. Enterotoxins. In: Easton CSF, Adlam C, editors. *Staphylococci and staphylococcal infections*. London: Academic Press; 1983. p. 559-98.
6. Barati B, Saadati M, Bahmani MK. Isolation and detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* type A by multiplex PCR. *Military Med J* 2006; 8(2): 119-28. (Full Text in Persian)
7. Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. *Int J Food Microbiol* 2000; 61(1): 1-10.
8. Ertas N, Gonulalan Z, Yildirim Y, Kum E. Detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxins in sheep cheese and dairy desserts by multiplex PCR technique. *Int J Food Microbiol* 2010; 142(1-2): 74-7.
9. Akineden O, Hassan AA, Schneider E, Usleber E. Enterotoxigenic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from goats' milk cheese. *Int J Food Microbiol* 2008; 124(2): 211-6.
10. Medina MB. Development of a fluorescent latex micro particle immunoassay for the detection of staphylococcal enterotoxin B (SEB). *Agric Food Chem J* 2006; 54(14): 4937-42.
11. Wieneke A, Gilbert R. The use of a sandwich Elisa for the detection of staphylococcal enterotoxin A in foods from outbreaks of food poisoning. *Lond Hygiene* 1985; 95(1): 131-8.
12. Bennett RW. Staphylococcal enterotoxin and its rapid identification in foods by and its rapid identification in foods by enzyme-linked immunosorbent assay-based methodology. *Food Protect J* 2005; 68(6): 1264-7.

13. Khreich N, Lamourette P, Boutal H, Devilliers K, Creminon C, Volland H. Detection of Staphylococcus enterotoxin B using fluorescent immunoliposomes as label for immunochromatographic testing. *Analytical Biochem J* 2008; 377(2): 182-8.
14. Alefantis T, Grewal P, Ashton J, Khan AS, Valdes JJ, Delvecchio VG. A rapid and sensitive magnetic bead-based immunoassay for the detection of staphylococcal enterotoxin B for high-through put screening. *Mol Cell Biol* 2004; 18(6): 379-82.
15. Edwin C, Tatini SR, Maheswaran SK. Specificity and cross-reactivity of staphylococcal enterotoxin A monoclonal antibodies with enterotoxins B, C1, D, and E. *Appl Environ Microbiol* 1986; 52(6): 1253-7.
16. Imani-Fooladi AA, Riazipour M, Sattari M. Molecular and serological detection of Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* from traditionally dairy products. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2010; 11(4): 19-27. (Full Text in Persian)
17. Cremonesi P, Luzzana M, Brasca M, Morandi S, Lodi R, Vimercati C, *et al.* Development of a multiplex PCR assay for the identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains isolated from milk and dairy products: *Mol Cell Probes* 2005; 19(5): 299-305.
18. Najera-Sanchez G, Maldonado-Rodriguez R, Ruiz Olvera P, Garza LM. Development of two multiplex polymerase chain reactions for the detection of enterotoxigenic strains of *Staphylococcus aureus* isolated from foods: *J Food Prot* 2003; 66(6): 1055-62.
19. Anvari SH, Sattari M, Forozandeh Moghadam M, Najarpeerayeh SH, Fouladi I. Detection of *staphylococcus aureus* entrotoxin A to E from Clinical sample by PCR. *Res J Biological Sci* 2008; 3: 826-9.
20. Khorvash F, Abdi F, Ataei B, Fattahi Neisiani H, Hasanzadeh Kashani H, Narimani T. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: Frequency and antibiotic resistance in healthy adults. *J Res Med Sci* 2012; 17(Spec 2): S229-S232.
21. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Enumeration of coagulase-Positive staphylococci (*staphylococcus aureus* and other species). Test method Part 1: Technique using Baird-parker agar medium. 1st ed. No: 6806-1; 2007.
22. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiological of pastry and confectionary products: Specifications and test method. 1st Revision, No: 2395; 2005.
23. Monson Linda S. Staphylococci. In: Mahon Connie R, Lehman Donald C, Manuselis G, editors. Textbook of diagnostic microbiology. 4th ed, Saunders Company; 2011. p. 322-6.
24. Yadegar A, Sattari M, Amir Mozafari N, Goudarzi GR. Prevalence of the genes encoding aminoglycoside-modifying enzymes and methicillin resistance among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in Tehran, Iran. *Microb Drug Resis* 2009; 15(2): 109-113.
25. Chapaval L, Moon DH, Gomes JV, Duarte FR, Tsai SM. Use of PCR to detect classical enterotoxins genes and toxic shock syndrome toxin-1 gene (tst) in *Staphylococcus aureus* isolated from crude milk and determination of toxin productivities of *S. aureus*. *Arq Inst Biol São Paulo* 2006; 73(2):165-69.
26. Nowroozi J, Goudarzi G, Pakzad P, Razavipour R. Isolation and detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxins A-E and TSSst-1 genes from different sources by PCR method. *Qom Univ Med Sci J* 2012; 6(3): 7-14. (Full Text in Persian)
27. Vandenberg MFQ, Verbrugh HA. Carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and clinical relevance. *J Lab Clin Med* 1999; 133: 525-34.
28. Rall VLM, Sforcin JM, Augustini VCM, Watanabe MT, Fernandes JrA, Rall R, *et al.* Detection of enterotoxin genes of *Staphylococcus* sp isolated from nasal cavities and hands of food handlers. *Braz J Microbiol* 2010; 41(1):59-65.
29. Soltan Dallal MM, Fazelifard P, Tabatabaei Bafroei A, Rashidi S, Zarrin M. Determination the rate of microbial contamination of cream pastry from confectionaries in south of Tehran. *J Microbial Biotech* 2010; 2(6): 7-11. (Full Text in Persian)
30. Hosseini Jazani N, Zartosht M. Determination of the Rate of methicillin resistant and enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in different kinds of creamy pastries sold in pastry shops in Urmia. Proceedings of the 13th Iranian and 2nd International Congress of Microbiology; 2012 July 14-16; Ardabil, Iran.
31. Nikniaz Z, Mahdavi R, Jalilzadeh H, Vahed Jabbari M. Evaluation of microbial contamination in cream filled pastries distributed in Tabriz confectionaries. *Food Technol Nutr* 2011; 8(1): 66-71. (Full Text in Persian)
32. Peck KR, Baek JY, Song JH, Ko KS. Comparison of genotypes and enterotoxin genes between *Staphylococcus aureus* isolates from blood and nasal colonizers in a Korean hospital. *J Korean Med Sci* 2009; 24: 585-91.