



١٥٦٤٥٠



دانشکده دامپزشکی

شماره پایان نامه: ۱-۵۴

سال تحصیلی: ۹۰-۱۳۸۹

پایان نامه:

جهت اخذ درجه دکتری تخصصی دامپزشکی در رشته بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی

عنوان:

اثر مهارى لاکتوباسیلوس کازئی و اسانس پونه کوهی بر استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیژنوز در طی تولید و نگهداری پنیر سفید ایرانی

نگارنده:

رزاق محمودی

اساتید راهنما:

- آقای دکتر علی احسانی، استاد راهنمای اول و رئیس هیأت داوران (استادیار)
- آقای دکتر حسین تاجیک، استادراهنمای دوم (دانشیار)
- آقای دکتر افشین آخوندزاده بستی، استاد مشاور (استاد)
- آقای پروفیسور اصغر خسروشاهی اصل، داور خارجی (استاد)
- آقای دکتر محمد علیزاده، داور خارجی (استادیار)
- آقای پروفیسور سید مهدی رضوی روحانی، داور داخلی (استاد)
- آقای دکتر عبدالغفار اونق، داور داخلی (استادیار)

روز اطلاعات مدرسه ملی بزرگ

۱۳۸۹/۹/۸

۱۴۶۴۲۵

بر خود لازم می دانم از زحمات و تلاش های دلسوزانه تمام اساتیدی که در  
مراحل مختلف انجام این تحقیق مرا مورد لطف خویش قرار دادند، نهایت تشکر و  
قدردانی را داشته باشم.

تقدیم به تک تک عزیزانی که در تمام مراحل زندگی مایه دلگرمی و آرامش  
خاطرم بودند.

پیشکش به دوستانرنی که...

ستاره مهر و دوستی شان در آسمان قلب و خیالم سوسو زد، درخشیدن گرفت و  
وفایشان آنچنان پایدار ماند که افول نکردند و نخواهند کرد.

فهرست مطالب

شماره صفحه	عنوان موضوع
	چکیده
۱	فصل اول- مقدمه
۲	فصل دوم- کلیات
۲	۱-۲- استافیلوکوکوس اورئوس
۲	۱-۲-۱- مشخصات و خصوصیات گونه ای استافیلوکوکوس اورئوس
۳	۱-۲-۲- فاکتورهای موثر در بقا و رشد استافیلوکوکوس اورئوس
۵	۱-۲-۳- بیماری های ناشی از مواد غذایی و اهمیت آن ها
۷	۱-۲-۴- مسمومیت غذایی استافیلوکوکی
۸	۱-۲-۵- پاتوژنز عفونت های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس
۹	۱-۲-۶- نقش انسان در انتقال استافیلوکوکوس اورئوس
۹	۱-۲-۷- استافیلوکوکوس اورئوس در محیط
۹	۱-۲-۸- انتشار استافیلوکوکوس اورئوس در مواد غذایی

- ۱۰-۹-۱-۲- اهمیت حضور استافیلوکوکوس اورئوس در غذا
- ۱۰-۱۰-۱-۲- غذاهای مرتبط با آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس
- ۱۳-۱۱-۱-۲- دستورات کنترل
- ۱۴-۲-۲- لیستریا مونوسیژنز
- ۱۴-۱-۲-۲- ارگانسیم و خصوصیات آن
- ۱۵-۲-۲-۲- بیماریزایی و جنبه های کلینیکی
- ۱۶-۳-۲-۲- ارتباط با مواد غذایی و انسان
- ۱۷-۳-۲- اسانس ها در مواد غذایی
- ۱۸-۱-۳-۲- تاریخچه استفاده از اسانس ها
- ۱۹-۲-۳-۲- کاربردهای امروزی اسانس ها
- ۱۹-۳-۳-۲- استخراج و نگهداری اسانس ها
- ۱۹-۴-۳-۲- ترکیبات اسانس ها
- ۲۰-۵-۳-۲- سنجش فعالیت ضد میکروبی در محیط آزمایشگاهی

- ۲۲ ۶-۳-۲- آزمايش اثرات ضد باکتریائی اسانس‌ها در سيستم های غذایی
- ۲۳ ۷-۳-۲- مکانیسم اثر ضد باکتریایی
- ۲۴ ۸-۳-۲- مکانیسم اثر بعضی از اجزاء مهم در اسانس‌ها
- ۲۷ ۹-۳-۲- حساسیت باکتریهای گرم منفی و گرم مثبت به اسانس‌ها
- ۲۸ ۱۰-۳-۲- سینرژيسم و آنتاگونیسم بين اجزاء اسانس
- ۲۸ ۱۱-۳-۲- سینرژيسم و آنتاگونیسم بين اجزاء تشکیل دهنده اسانس‌ها و اجزاء مواد غذایی
- ۲۹ ۱۲-۳-۲- جنبه‌های قانونی استفاده از اسانس‌ها و اجزاء آن در مواد غذایی
- ۲۹ ۱۳-۳-۲- جنبه‌های ارگانولپتیک استفاده از اسانس‌ها
- ۳۰ ۱۴-۳-۲- دورنمای آینده
- ۳۰ ۴-۲- گیاه پونه کوهی (*Mentha Longifolia L.*)
- ۳۱ ۱-۴-۲- تاریخچه
- ۳۱ ۲-۴-۲- ترکیبات شیمیایی
- ۳۲ ۳-۴-۲- خواص درمان
-

۳۲	۵-۲- پروبیوتیک ها
۳۳	۱-۵-۲- عملکرد پروبیوتیک ها
۳۴	۲-۵-۲- مکانیسم اثر پروبیوتیک ها
۳۵	۳-۵-۲- انواع پروبیوتیک ها
۳۵	۴-۵-۲- پنیر پروبیوتیک
۳۶	۶-۲- پنیر سفید ایرانی (پنیر فتا)
۳۷	۱-۶-۲- مواد اولیه در تولید پنیر فتا
۳۸	۲-۶-۲- فن آوری پنیر فتا
۴۰	۳-۶-۲- پیشرفت های نوین در تهیه پنیر فتا
۴۱	۳-۶-۲- تغییرات فیزیکوشیمیایی در دوره رسیدن پنیر فتا
۴۲	۵-۶-۲- راندمان و ترکیب شیمیایی پنیر فتا
۴۳	۶-۶-۲- کیفیت شیمیایی پنیر فتا
۴۳	۷-۶-۲- کیفیت میکروبی پنیر فتا

---

- ۴۴ ۲-۶-۸- معایب پنیر
- ۴۶ فصل سوم- مواد و روش ها
- ۴۶ ۳-۱- مواد مورد نیاز
- ۴۶ ۳-۲- طرح آزمایش
- ۴۷ ۳-۳- تهیه گیاه، اسانس و آنالیز آن
- ۴۷ ۳-۴- ارگانسیم های مورد مطالعه
- ۴۷ ۳-۴-۱- برآورد میزان تلقیح باکتریایی جهت تلقیح در شیر پنیر
- ۴۸ ۳-۴-۲- آماده سازی و محاسبه میزان تلقیح باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی
- ۴۸ ۳-۵- آماده سازی استارتر جهت تلقیح در شیر پنیر
- ۴۸ ۳-۶- تولید پنیر سفید ایرانی
- ۵۰ ۳-۷- شمارش استافیلوکوکوس اروئوس و لیستریا مونوسیتوژنز
- ۵۰ ۳-۸- آماده سازی نمونه های پنیر جهت شمارش باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی
-



۵۱	۹-۳- بررسی خصوصیات شیمیایی
۵۱	۱۰-۳- ارزیابی حسی
۵۱	۱۱-۳- تجزیه و تحلیل آماری
۵۲	فصل چهارم- نتایج
۶۷	فصل پنجم- بحث
۷۵	فصل ششم- منابع
	خلاصه انگلیسی

---

افزایش بیماری‌ها و مسمومیت‌های ناشی از غذا به همراه مشکلات اقتصادی و اجتماعی حاصل از آن سبب گسترش مطالعات در زمینه تولید غذای سالم و بکارگیری ترکیبات ضد میکروبی جدید شده است. اسانس‌های حاصل از گیاهان و باکتریوسین‌های حاصل از باکتری‌های پروبیوتیک واجد اثرات ضد میکروبی شناخته شده‌ای هستند که می‌توانند در جهت کنترل و جلوگیری از رشد باکتری‌های بیماری‌زا و عامل فساد منتقله از مواد غذایی به جای نگهدارنده‌های شیمیایی و سنتتیک مورد استفاده قرار گیرند. گیاه پونه کوهی (*Mentha Longifolia L.*) از گیاهان دارویی در طب سنتی بوده و بررسی اثر ضد میکروبی آن در زمینه صنعت مواد غذایی بر علیه باکتری‌های بیماری‌زای مهمی که از عوامل مسمومیت‌های غذایی رایج هستند لازم و ضروری به نظر می‌رسد. از سوی دیگر آثار سودمند پروبیوتیک‌ها بر سلامتی مصرف‌کنندگان، از مباحث مهم تحقیقات امروزی می‌باشد. در این مطالعه اثر غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی ( $0.15 \mu\text{l ml}^{-1}$ ، صفر،  $0.15$ ،  $0.30$  و  $0.15$ )، پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی، مدت زمان رسیدن و نگهداری پنیر سفید ایرانی بر رفتار رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز در پنیر سفید ایرانی مورد مطالعه قرار گرفت. غلظت  $0.15 \mu\text{l ml}^{-1}$  اسانس پونه کوهی در ترکیب با پروبیوتیک بهترین تیمار از لحاظ خصوصیات حسی در پنیر در انتهای دوره نگهداری بود. میزان کاهش رشد این باکتری‌های بیماری‌زا در غلظت‌های بالاتر از صفر اسانس، حضور پروبیوتیک و ترکیب این دو متغیر تحت شرایط استاندارد تولید و نگهداری محصول غذایی مذکور، در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). بنابراین، در این مطالعه، میان اسانس پونه کوهی و باکتری پروبیوتیک یک رابطه سینرژیستیک مہاری بر روند رشد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز مشاهده گردید. بالاترین میزان کاهش رشد باکتری‌های پاتوژن مورد استفاده در این مطالعه در تیمار اسانس  $0.30 \mu\text{l ml}^{-1}$  درصد توأم با پروبیوتیک در پنیر حاوی آغازگر بود. این نتایج آشکار می‌سازد که اسانس پونه کوهی و لاکتوباسیلوس کازئی و آغازگر پنیر می‌توانند نقش مهمی را بعنوان نگهدارنده در این محصول غذایی ایفا نمایند. در این مطالعه نیز در پایان دوره رسیدن پنیر سفید، شمار باکتری پروبیوتیک مذکور بیش از حداقل مقدار توصیه شده لازم برای ایجاد اثرات مفید در سلامتی انسان بوده، بنابراین پنیر سفید ایرانی می‌تواند به عنوان یک مدل غذایی مناسب حامل باکتری‌های پروبیوتیک مطرح باشد.

واژگان کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، لاکتوباسیلوس کازئی، اسانس پونه

کوهی، پنیر سفید ایرانی.

# فصل اول

مقدمه

بیماریها و مسمومیتهای مرتبط با مصرف مواد غذایی همواره از مشکلات عمده جهانی بوده و گزارشهای اخیر حاکی از آن است که باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوزنز در زمره عوامل بیماریزای حائز اهمیت در صنعت فرآورده های لبنی می باشند، بقای این میکروارگانیسم ها در انواع مختلف پنیر و مسمومیتهای ناشی از مصرف آنها بخوبی به ثبت رسیده است (Jorgensen et al., 2005; Morgan et al., 2001; Luca et al., 1997; McLauchlin et al., 1990; Nunez et al., 1997; Rudolf & Scherer, 2001).

نگرانیهای پیرامون ایمنی نگهدارنده های شیمیایی و واکنش منفی مصرف کنندگان در برابر این نوع ترکیبات، موجب افزایش توجهات نسبت به نگهدارنده های طبیعی گردیده که در این میان، اسانس های روغنی گیاهان دارویی و پروبیوتیک ها از جایگاه ویژه ای برخوردار هستند (Palmer et al., 2001; Arques et al., 2005)

گیاه پونه کوهی (*Mentha Longifolia L.*) متعلق به خانواده Laminaceae، ضمن برخورداری از خواص ارزشمند درمانی، به عنوان یک افزودنی طعم دهنده در دامنه وسیعی از مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرد (Gulluce et al., 2007). باکتری های پروبیوتیک (به ویژه گونه های مختلف لاکتوباسیلوس ها و بیفیدوباکترها) واجد فعالیت ضد میکروبی شناخته شده ای هستند که می توانند در جهت کنترل و جلوگیری از رشد باکتری های پاتوژن و عامل فساد منتقله از مواد غذایی به جای نگاهدارنده های شیمیایی و سنتتیک مورد استفاده قرار گیرند (Smith et al., 2003). بکارگیری اسانس های روغنی، نظیر اسانس گیاه پونه کوهی، می تواند در راستای نگهداری مواد غذایی هدایت شود. با این وجود، جهت تثبیت قابلیت استفاده از این نگهدارنده های ضد میکروبی طبیعی و کاهش تاثیرات نامطلوب ارگانولپتیکی آن در محصولات غذایی، بایستی به تنهایی و در ترکیب با سایر عوامل نگهدارنده مورد ارزیابی قرار داده شوند تا بدین ترتیب، احتمال اثرات هم افزایی این ترکیبات و استفاده از مقادیر کمتر آنها در صورت بکارگیری توأم آشکار گردد.

در مطالعه حاضر، اثر اسانس روغنی گیاه پونه کوهی به تنهایی و در ترکیب با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی در تولید پنیر سفید ایرانی بر رشد باکتری های بیماریزای استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوزنز در طی فرایند تولید، رسیدن و نگهداری این محصول، مورد بررسی قرار داده شد، همزمان تغییرات pH نیز ارزیابی شد. همچنین ماندگاری باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی در تمامی تیمارهای پنیر و نیز ویژگیهای حسی پنیر سفید ایرانی در غلظتهای مختلف اسانس پونه کوهی و پروبیوتیک ارزیابی شد. در پایان دوره نگهداری پنیر سفید ایرانی خصوصیات شیمیایی آن (پروتئین، چربی، نمک و رطوبت) نیز مورد بررسی قرار گرفت.

فصل دوم

کلیات

## ۲-۱ استافیلوکوکوس اورئوس

۲-۱-۱- مشخصات و خصوصیات گونه ای استافیلوکوکوس اورئوس

باکتری گرم مثبت، کاتالاز مثبت، کروی با قطر ۱/۵-۰/۵ میکرومتر و دارای متابولیسم کربوهیدراتی

اکسیداتیو- فرماناتیو می باشد (Blackburn & Peter, 2002; Huiet al., 2001).

مخزن و یا منبع طبیعی برای این گونه باکتریایی پوست و نیز غشاهای مخاطی انسان و حیوان می باشد. بسیاری از گونه های استافیلوکوکی به گونه های خاصی از حیوانات سازگاری و انطباق یافته اند اما استافیلوکوکوس اورئوس در اکثر موجودات خشکی زی و دریایی وجود دارد، این باکتری در مواردی به شکل فلور نرمال و طبیعی پوست و مخاطات می باشد و در مواردی نیز می تواند ایجاد عفونت یا بیماری نماید. بیش از ۵۰ درصد افراد جامعه در واقع ناقلین استافیلوکوکوس اورئوس هستند هر چند که هیچ گونه عارضه یا علائم عفونی نیز در آن ها مشاهده نمی گردد. مکان هایی از بدن که بیشتر موارد مرکز تجمع این باکتری می باشد عمدتاً شامل بینی، حلق، مو و دست ها هستند. این ارگانیزم به راحتی از حیوانات مختلف اهلی و وحشی سالم نیز جدا می گردد. هم چنین در بیماری هایی نظیر ورم پستان، عامل بروز بیماری می باشد. در نتیجه انطباق و سازگاری بسیار زیاد این باکتری با شرایط مختلف محیطی این باکتری تا حدود نسبتاً زیادی در برابر خشکی و استرس های اسمزی مقاوم است. در واقع باکتری توانایی زنده ماندن در محیط های خارج از میزبان طبیعی خودش نظیر هوا و گرد و خاک و آب را داراست. البته این باکتری فاقد تحرک و نیز حساس به فعالیت باکتریوسین ها، باکتریوفاژها و متابولیت های باکتری های رقیب می باشد که از جمله علل ممانعت کننده یا محدود کننده بقای این باکتری هستند (Meyrand et al., 1998). این گونه باکتریایی در محدوده درجه حرارتی ۷ تا ۴۸ درجه سانتی گراد رشد می نماید که دمای اپتیمم رشد آن ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی گراد است. هم چنین قادر به رشد در pH ۴/۲ تا ۹/۳ (با اپتیمم ۷) غلظت های بالای نمک (۲۰-۱۰ درصد) می باشد. این ویژگی باکتری را قادر می سازد که در طیف وسیعی از مواد غذایی رشد کند. این مسئله به همراه رشد سریع باکتری می تواند به راحتی حضور باکتری را در مواد غذایی که احتیاج به دست کاری در حین فرایند تولید خود دارند، از جمله غذاهای تخمیری مانند پنیر را توجیه کند. تخمین خطر در مواد غذایی بستگی به جداسازی میکروب در آزمایشگاه و میزان کواگولاز مثبت ها بر روی آگار انتخابی برد- پارکر که ترکیبات آن استاندارد شده باشند، دارد (Adams & Moss, 2000). حساسیت آزمون های معمولی برای مواد غذایی جامد حدود ۱۰<sup>۲</sup> کلنی در هر گرم و برای مواد غذایی مایع حدود ۱۰ کلنی در هر میلی لیتر می باشد. در بسیاری از کشورها، آلودگی پایین به استافیلوکوکوس اورئوس در بیشتر مواد غذایی قابل تحمل بوده و عامل خطر برای سلامت جامعه مطرح نمی شود، به عنوان مثال در فرانسه تا

حدود  $10^2$  کلنی در هر گرم از پنیرهای ساخته شده از شیر خام هم قابل قبول است. استافیلوکوکوس اورئوس به خاطر ترکیبی از ویژگی ها شامل توانایی تولید توکسین، خاصیت تهاجم و مقاومت به آنتی بیوتیک یک پاتوژن مهم است (Rozand et al., 1998).

۲-۱-۲- فاکتورهای موثر در بقا و رشد استافیلوکوکوس اورئوس در غذا و تولید و پایداری انترتوکسین های آن  
درجه حرارت:

استافیلوکوکوس اورئوس یک باکتری مزوفیل شاخص می باشد. دامنه حرارت رشد و تولید انترتوکسین در استافیلوکوکوس اورئوس به شرح زیر می باشد:

**I: رشد و تکثیر:**  $7-47/8^{\circ}\text{C}$  دمای اپتیمم  $37^{\circ}\text{C}$  می باشد.

**II: تولید انترتوکسین:** در  $10-46^{\circ}\text{C}$  و دمای اپتیمم  $40-45^{\circ}\text{C}$  می باشد.

در هر غذا درجه حرارت مطلوب جهت تولید انترتوکسین چند درجه بیشتر از درجه حرارت مطلوب برای رشد است. تغییر درجه حرارت تولید انترتوکسین را بیشتر از رشد تحت تاثیر قرار می دهد. سلولهای استافیلوکوکوس اورئوس در درجه حرارتی که معمولا در فرآیند غذاها استفاده می شود، نابود می گردند. استافیلوکوکوس اورئوس می تواند به مدت طولانی زیر درجه حرارت رشد زنده بماند، حتی انجماد در pH معمولی هم تاثیر چندانی در بقای آن ندارد. ولی گزارش شده است که نگهداری گوشت در زیر دمای انجماد به مدت طولانی موجب کاهش این باکتری شده است (Varnam & Evans, 1991).

**میزان pH:**

رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در pH بین  $4-9/8$  اتفاق می افتد ولی pH مطلوب برابر  $6-7$  می باشد. pH به تنهایی عامل موثر بر رشد و تولید انترتوکسین نمی باشد. مانند سایر پارامترهای رشد، pH کمینه جهت رشد بستگی به میزان مطلوب بودن سایر عوامل دارد. نشان داده شده است که در شرایط هوایی رشد و تولید انترتوکسین در  $\text{pH} = 4$  نیز صورت می گیرد، در صورتیکه در شرایط بی هوایی این محدوده به  $4/6$  در مورد رشد و  $5/3$  در مورد تولید توکسین تغییر می یابد (Varnam & Evans, 1991; Jay, 2005).

**فعالیت آبی:**

استافیلوکوکوس ها نسبت به سایر باکتریهای غیر نمک دوست قادر به رشد در مقادیر پائین تری از  $a_w$  می باشند. رشد استافیلوکوکوس اورئوس در دامنه ای از  $a_w$  برابر با  $0/83$  تا  $0/99$  اتفاق می افتد اگرچه در

شرایط معمول ۰/۸۶ به عنوان  $a_w$  حداقل برای رشد در نظر گرفته شده است (Varnam & Evans, 1991; Jay, 2005).

#### پرتودهی:

گزارش‌ها نشان می‌دهد که دامنه وسیعی از حساسیت استافیلوکوکوس اورئوس به اشعه یونیزه وجود دارد که میزان آن بین  $< 0.05 \text{ Kgy}$  تا  $1-2 \text{ Kgy}$  می‌باشد و به طور متوسط میزان آن را  $0.3-0.5 \text{ Kgy}$  در نظر می‌گیرند. ولی انتروتوکسین‌ها در میزان‌های قابل قبول برای غذا غیرفعال نمی‌شوند. از طرف دیگر در اثر پرتودهی و در غیاب میکروفلور فاسد کننده غذا، با توجه به پتانسیل رشد سریع استافیلوکوکوس اورئوس، یک خطر بالقوه در استفاده از این روش پاستوریزاسیون محسوب می‌شود (Varnam & Evans, 1991).

#### ترکیب اتمسفر رشد:

به طور کلی استافیلوکوکوس اورئوس در شرایط بی‌هوازی بسیار کندتر از شرایط هوازی رشد می‌کند و تولید انتروتوکسین هم در شرایط هوازی بهتر خواهد بود (Varnam & Evans, 1991).

#### ترکیبات عمل آورنده

#### نمک:

استافیلوکوکوس اورئوس یک ارگانسیم مقاوم به نمک<sup>۱</sup> می‌باشد و دامنه رشد آن در محیط آزمایشگاهی حاوی صفر تا ۲۰-۱۰ درصد نمک می‌باشد. دامنه قابل تحمل غلظت نمک جهت تولید انتروتوکسین محدودتر از دامنه قابل تحمل رشد باکتری می‌باشد. افزودن نمک تا حدی که در اغلب غذاها مورد استفاده قرار می‌گیرد به بقای باکتری کمک می‌نماید، ولی افزایش تا ۷-۵ درصد، کاهش اندکی در رشد باکتری ایجاد می‌کند. حداکثر غلظت نمک برای رشد، بستگی به پارامترهای دیگری نظیر دما،  $pH$ ،  $a_w$  و  $Eh$  دارد (Varnam & Evans, 1991; Jay, 2005).

#### نیتريت و سایر نگهدارنده‌ها:

استافیلوکوکوس اورئوس به طور کلی نسبت به نیتريت مقاوم است. در شرایط بی‌هوازی و  $pH=7.3$ ، میزان  $100 \text{ mg/lit}$  نیتريت حساسیت اندکی ایجاد می‌کند. ولی در  $pH=6$  اثر ممانعت در رشد قابل ملاحظه‌ای دارد. احتمالاً اثر ممانعت‌کننده از رشد به علت تولید اسیدنیتروز<sup>۲</sup> می‌باشد. نشان داده شده این میکروب به بسیاری از نگهدارنده‌ها مانند سوربات پتاسیم مقاوم است. البته سوربات و به ویژه بنزوات در

<sup>1</sup> Halotolerant

<sup>2</sup> Nitrous acid



حرارت بالای ۲۵ درجه سانتیگراد و  $\text{pH} < 6$  اثرات نگهدارندگی بیشتری روی این باکتری خواهند داشت. استافیلوکوکوس اورئوس تحمل زیادی نسبت به ترکیباتی نظیر تلوریت<sup>۱</sup>، کلرید جیوه<sup>۲</sup>، نئومایسین<sup>۳</sup>، پلی میکسین<sup>۴</sup> و سدیم آزید<sup>۵</sup> دارد، از این رو تمامی این ترکیبات به عنوان فاکتورهای اختصاصی در محیط کشت این ارگانیزم استفاده می‌شوند. استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به سایر گونه‌های استافیلوکوکوس مقاومت بیشتری نسبت به آکری فلاوین نشان می‌دهد و از این خاصیت می‌توان به عنوان یک عامل تشخیصی استفاده نمود (Jay, 2005; Thomas et al, 1993; Martinez et al., 1986)

#### نوع غذا:

نوع غذا در رشد میکروب و تولید انتروتوکسین موثر شناخته شده است. به عنوان مثال رشد در انواع نخود بسیار خوب است ولی میزان تولید انتروتوکسین کم می‌باشد، ولی همین مقدار رشد باکتری روی گوشت منجر به تولید مقدار زیادی انتروتوکسین می‌شود (Varnam & Evans, 1991).

#### سایر ارگانیزم‌ها:

استافیلوکوکوس اورئوس از نظر رقابت با سایر میکروارگانیزم‌ها، یک ارگانیزم ضعیف محسوب می‌شود. بنابراین در صورت حضور میکروفلور فاسد کننده، به ندرت به رشد مناسب و تولید انتروتوکسین در حد لازم می‌رسد (Varnam & Evans, 1991).

#### ۲-۱-۳- بیماری‌های ناشی از مواد غذایی و اهمیت آن‌ها

غذا می‌تواند به عنوان یک حامل، بسیاری از اجرام عفونی و غیر عفونی را در خود حمل کند و در بعضی شرایط رشد جرم عفونی را حمایت کرده و به عنوان ناقل فعال عمل نموده و در بعضی اوقات هم تنها نقش ناقل غیر فعال را ایفا نماید که در این صورت عامل عفونت در غذا رشد نموده و تنها به وسیله غذا به انسان منتقل می‌شود (Jay, 2005). تا کنون بیش از ۲۵۰ بیماری غذایی توصیف شده است و از دیدگاه بهداشت عمومی، مسمومیت‌های غذایی یکی از عمده بیماری‌های جوامع بشری به شمار می‌رود. بر طبق مطالعات انجام شده همه ساله بیش از هزار میلیون مورد اسهال حاد در بین بچه‌های کشورهای جهان سوم رخ می‌دهد که به مرگ بیش از ۵ میلیون منجر می‌شود. در کشورهای صنعتی مشکل کمتر از این‌هاست ولی به طور معنی داری هنوز از اهمیت خاصی برخوردار است. مسمومیت‌های غذایی به دو طریق مستقیم و غیر مستقیم در اقتصاد کلی تاثیر گذار هستند. تاثیر مستقیم شامل معالجات پزشکی و پرداخت خسارت

<sup>1</sup> Tellurite

<sup>2</sup> Mercuric chloride

<sup>3</sup> Neomycin

<sup>4</sup> Polymyxin

<sup>5</sup> Sodium azide

است و تاثیر غير مستقيم مسموميت هاي غذايي در اقتصاد ملي مي تواند مواردی مثل ضررهای مالی در کاهش صادرات مواد غذايي و هزینه های تحقیقاتی جهت پیشگیری از مسمومیت های غذايي باشد. ۷۷ درصد مسمومیت های غذايي از سرویس های عمومی و رستوران ها، ۲۰ درصد از منبع منازل و تنها ۳ درصد از مواد غذايي تجارتي (کارخانه ها) ناشی می گردد. باکتری ها مهم ترین عامل میکروبی بیماری های ناشی از مواد غذايي می باشند. دو تیپ باکتری مولد بیماری در مواد غذايي وجود دارد. تیپ اول باکتری های عامل مسمومیت مواد غذايي هستند که از طریق مصرف مواد غذايي حاوی سم باکتری منتج از رشد باکتری در داخل غذا حاصل می شود. تیپ دوم باکتری های عامل عفونت مواد غذايي هستند که از طریق مصرف غذای حاوی باکتری های زنده باعث ایجاد بیماری می گردند و باکتری با تکثیر خود و یا تولید متابولیت های خاص خود عوارضی را در بدن میزبان ایجاد می کند. از علایم مهم و اصلی بیماری های باکتریای ناشی از مواد غذايي، علایم گوارشی مانند اسهال و استفراغ می باشد که بسته به قدرت بیماری زایی و حساسیت و یا میزان سلامتی میزبان، بیماری ممکن است حاد و یا خود محدود شونده بوده و یا باعث بیماری مزمن و تهدید کننده حیات شخص باشد. بیماری های حاد خارج روده ای ناشی از باکتری های بیماری زای مواد غذايي می تواند شامل بیماری های کلیوی، ریوی، سیستم اعصاب مرکزی، جنینی و پوست و نسوج نرم باشد (Jay, 2005; Adams & Moss, 2000). در برخی از کشورها هیچ گونه سیستمی جهت جمع آوری و گزارش اطلاعات مربوط به عفونت های روده ای - معده ای وجود ندارد و در جاهایی که این سیستم وجود دارد، اطلاعات گزارش شده تنها بخشی از تعداد واقعی مواد بیماری را نشان می دهند. با مطالعات انجام گرفته پیشنهاد شده است که نسبت تکرار حقیقی موارد بیماری به تعداد گزارش شده می تواند بین ۱/۲۵ تا ۱/۱۰۰ باشد. شیوع مسمومیت غذايي در برگیرنده تعدادی از مردم و یک منبع معمول است و بر اساس برآورد انجام گرفته از نظر عواقب به وجود آمده شدیدتر از موارد پراکنده بیماری است. در اروپا و آمریکا مواد غذايي که بیشترین نقش را در ایجاد بیماری های ناشی از غذا دارند آن هایی هستند که منشا حیوانی دارند مثل گوشت، طیور، شیر، تخم مرغ و محصولات حاصل از آن ها که دو عامل عمده در ایجاد بیماری توسط این مواد غذايي درجه حرارت نگه داری و دیگری زمان تهیه تا مصرف غذا می باشد. در میان مسمومیت ها غذايي، برخی از آن ها به خصوص از نظر میزان وقوع و یا سختی بیماری ایجاد شده مهم هستند. باکتری های مختلف از جمله گرم مثبت ها و گرم منفی ها می توانند سبب مسمومیت غذايي شوند. برخی از باکتری های گرم مثبت ایجاد کننده مسمومیت غذايي عبارتند از: استافیلوکوکوس اورئوس، کلستریدیوم بوتولینیوم، باسیلوس سرئوس و کلستریدیوم پرفرنجس (Pauli, 2001).

## ۲-۱-۴- مسمومیت غذایی استافیلوکوکی<sup>۱</sup>

مسمومیت غذایی استافیلوکوکی اولین بار توسط Denys در سال ۱۸۹۴ میلادی مورد مطالعه قرار گرفت و پس از آن در سال ۱۹۱۴، Barber با مصرف شیر آلوده به یک کشت استافیلوکوکوس اورئوس علائم و نشانه‌های بیماری را در خود ایجاد نمود. بالاخره در سال ۱۹۳۰، Dack و همکارانش به طور قطعی ثابت نمودند که برخی از سوش‌های استافیلوکوکوس اورئوس قادر به ایجاد مسمومیت غذایی در انسان می‌باشند (Jay, 2005).

### اهمیت

مسمومیت غذایی استافیلوکوکی از مهمترین مسمومیت‌های غذایی به شمار می‌آید بطوریکه از مجموع حدود ۲۴ میلیون مورد کل مسمومیت‌های غذایی گزارش شده در کشور ایالات متحده امریکا ۸/۹ میلیون مورد آن مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس بوده که بیش از یک سوم موارد کل مسمومیت‌های غذایی در این کشور است (Jay, 2005).

### گونه‌های مهم در مواد غذایی

تاکنون ۳۲ گونه استافیلوکوکوس شناسایی شده است. از گونه‌هایی که از نظر مواد غذایی اهمیت دارند، تنها شش مورد کوآگولاز مثبت بوده و به طور معمول نوکلئاز مقاوم به حرارت نیز تولید می‌نمایند. از میان گونه‌های کوآگولاز منفی، ۱۰ مورد قادر به تولید انتروتوکسین می‌باشند، این گونه‌ها نوکلئاز تولید نمی‌کنند و یا در صورت تولید نوکلئاز، شکل حساس به حرارت آن را تولید می‌نمایند. تولید همولیزین‌ها و تخمیر قند مانیتول در سوش‌های کوآگولاز منفی مولد انتروتوکسین، صفات ثابتی نمی‌باشند. تأکید در بازرسی مواد غذایی از نظر وجود استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت (به عنوان سوش‌های مهم از نظر تولید توکسین) بدون شک، باعث شده است که انتشار سایر سوش‌های مولد انتروتوکسین مورد توجه قرار نگیرد و در نتیجه میزان انتشار تولیدکنندگان انتروتوکسین کمتر از مقدار واقعی برآورد شود (Hui, 2005 & Jay, 2005).

### علائم مسمومیت

علائم معمولاً ۲-۴ ساعت پس از مصرف غذای آلوده بروز می‌کند و دوره کمون آن بین ۳۰ دقیقه تا ۸ ساعت گزارش شده است، علائم شامل تهوع، کرامپ شکمی که بلافاصله با استفراغ ادامه می‌یابد، می‌باشد. اسهال به همراه استفراغ شروع شده و چندین ساعت ادامه می‌یابد و به ندرت خون در آن دیده می‌شود. اسهال بدون استفراغ بروز نمی‌کند و درجه حرارت بدن معمولاً کمتر از حد نرمال است. علائم بیش از ۲۴

<sup>۱</sup>Staphylococcal food poisoning

ساعت دوام ندارد و خودبه‌خود برطرف می‌گردد. در موارد شدید، از دست دادن آب منجر به شوک، نبض ضعیف و تنفس کم عمق می‌گردد (Adams& Moss, 2000; Varnam& Evans, 1991).

### افراد در معرض خطر

میزان حساسیت:

بیشترین حساسیت در کودکان و افراد مسن و کهنسال بروز می‌کند. اگر چه افراد بیمار حساسیت بیشتری دارند ولی شرایط خاص زمینه ساز مسمومیت استافیلوکوکی وجود ندارد (Varnam& Evans, 2000).

میزان در معرض قرار گرفتن:

ارتباط خاصی بین یک عادت غذایی ویژه و مسمومیت استافیلوکوکی وجود ندارد. گاهی از آن به عنوان بیماری تابستان نام برده می‌شود، ولی این مساله در تمام موارد مصداق ندارد (Varnam& Evans, 2000).

### درمان

در اغلب موارد مسمومیت غذایی استافیلوکوکی درمان لازم نیست و بعد از رفع علائم، بهبودی حاصل می‌گردد. در موارد حاد، تجویز مایعات و درمان شوک ضروری است و ممکن است نیاز به بستری کردن بیمار باشد (Adams& Moss, 2000; Varnam& Evans, 1991).

### ۲-۱-۵- پاتوژنز عفونت های ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس

استافیلوکوکوس اورئوس سبب ایجاد عفونت های مختلف چرکی و سمی در انسان می شود که آسیب های سطحی پوست مانند تاول، گل مژه، کورک و عفونت های جدی تری مثل پنومونی، ورم پستان، التهاب وریدها، مننژیت و عفونت های مجاری ادراری و عفونت های عمقی تری مانند استئومیلیت و آندوکاردیت می شود. این باکتری عامل اصلی عفونت های بیمارستانی در زخم های ناشی از جراحی و عفونت های ناشی از ناکارآمد بودن وسایل پزشکی می باشد و میتواند سبب مسمومیت غذایی هم بشود که از طریق آزاد سازی انترتوکسین ها در مواد غذایی می باشد. سندروم شوک توکسیک نیز افزایش سوپر آنتی ژن ها در داخل عروق خونی است (Bergdol, 1991). استافیلوکوکوس اورئوس پتانسیل بسیاری از فاکتورهای حدت و بیماری زا را داراست، از جمله :

۱. پروتئین های سطحی که سبب کلونیزه شدن باکتری در بافت میزبان می شود.
۲. خاصیت تهاجم که سبب گسترش باکتری در بافت می شود مانند لوکوسیدین، کینازها و هیالورونیداز.