

سورة الاحقاف



مدیریت تحصیلات تکمیلی
دانشکده دامپزشکی
گروه تغذیه

پایان نامه جهت اخذ درجه دکتری حرفه‌ای در رشته دامپزشکی

**اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی دو گیاه سماق
ایرانی و زنجبیل ایرانی به صورت توأم و به تنهایی
روی باکتری باسیلوس سرئوس "ATCC 11778" در
مدل غذایی با استفاده از تکنولوژی مانع پله ای**

استاد راهنما:

دکتر مجید علیپور اسکندانی

استاد مشاور:

دکتر داریوش سعادت‌ی

تهیه و تدوین:

رضا احمدی

آذر ۱۳۹۳

تقدیم به دوست مهربان و همراه همیشگی ام پروردگار جهانیان؛

خدایی که مرادوست دارد و بهترین ها را برایم می خواهد...

حمد و سپاس خداوند متعال را که توفیق داد این پایان نامه را به سرانجام برسانم.

و سلام و صلوات خداوند بر حضرت محمد (ص) و خاندان پاک و مطهر او، آمان که و جومان و لدار و جودشان است.

از پدر و مادر عزیزم بخاطر همه تلاشهای محبت آمیزشان تشکر و قدردانی می کنم؛

آمان که در مراحل مختلف زندگی بهمراهم بوده اند و با مهربانی چگونه زیستن را به من آموخته اند.

سپاس فراوان از استاد با کالات و شایسته؛ جناب آقای دکتر علیپور که در کمال سه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از بیج لگی در

این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفتند؛

و تقدیر و تشکر شایسته از استاد صبور و باتقوا، جناب آقای دکتر سعادت‌ئی که زحمت مشاوره این پایان نامه را قبول کردند؛

و نیز از استاد فرزانه و دلسوز؛ جناب آقای دکتر بهمن که زحمت داوری این پایان نامه را متقبل شدند

کمال تشکر و قدردانی را دارم.

رضاحمدی

چکیده

امروزه با عنایت به افزایش روزافزون جمعیت انسانی تحقیقات وسیعی در خصوص بررسی روش‌های مختلف نگهداری غذا و افزایش ماندگاری آن صورت می‌پذیرد. در این راستا حفظ کیفیت ماده غذایی و بی‌ضرر بودن روش بکار رفته جزء موارد قابل توجه است. در سال‌های اخیر توجه خاصی به استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی در غذاها به جای نگهدارنده‌های شیمیایی شده‌است. این نگهدارنده‌ها در واقع افزودنی‌های گیاهی معطری می‌باشند که باعث بهبود طعم غذا نیز می‌شوند. عصاره‌های گیاهی ضمن داشتن طعم مخصوص به علت دارا بودن آثار ضد میکروبی در مواد غذایی مطرح می‌باشند.

در این مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی دو گیاه سماق ایرانی و زنجبیل ایرانی بر باکتری *باسیلوس سرئوس* (*Bacillus cereus*) که از جمله عوامل ایجاد کننده مسمومیت‌های غذایی به حساب می‌آید، در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در یک مدل غذایی بررسی گردید. باکتری *باسیلوس سرئوس* که به صورت لیوفیلیزه خریداری شده بود در محیط کشت آبگوشت مغذی بازیابی گردید. پس از آماده‌سازی سوپ جو تجاری و توزیع آن در داخل ظروف، مقادیر مشخص از عصاره‌های آبی سماق و زنجبیل با توجه به غلظت‌های مورد نظر در آزمایش به ظروف محتوی سوپ اضافه گردید، نمونه‌هایی که به این طریق آماده شده بود اتوکلاو گشت و پس از سرد شدن در شرایط استریل مقادیر مشخص از باکتری به داخل نمونه‌ها تلقیح شد. کار انکوباسیون در دمای مورد آزمایش صورت پذیرفت و پس از آن مطالعه وضعیت باکتری در زمان‌های مورد نظر از طریق *Spread Plate Count* انجام گردید. سپس با توجه به میزان لگاریتم داده‌های بدست آمده، با استفاده از نرم افزار SPSS آنالیز داده‌ها صورت پذیرفت. براساس نتایج به دست آمده عصاره آبی سماق و عصاره آبی زنجبیل به تنهایی دارای اثرات جلوگیری از رشد معنی داری ($P < 0/05$) بودند. اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های آبی سماق و زنجبیل به صورت توأم نیز بررسی گردید و با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق غلظت‌های ۰٪، ۱٪، ۳٪ و ۵٪ از عصاره آبی سماق با غلظت‌های ۰٪، ۳٪ و ۴٪ از عصاره آبی زنجبیل به صورت توأم دارای اثر ممانعت از رشد معنی داری بودند ($P < 0/05$).

واژگان کلیدی: عصاره آبی، سماق، زنجبیل، *باسیلوس سرئوس*

فصل اول: مقدمه و کلیات

۲	۱-۱-۱- مقدمه.....
۲	۱-۱-۱- باسیلوس سرئوس.....
۲	۱-۱-۲- نگذارنده‌های طبیعی.....
۴	۱-۱-۳- اهداف تحقیق.....
۵	۱-۱-۴- فرضیات.....
۵	۱-۲- کلیات.....
۵	۱-۲-۱- باکتری باسیلوس سرئوس.....
۵	۱-۲-۱-۱- ویژگی‌های باکتری.....
۶	۱-۲-۱-۲- فاکتورهای حدت باسیلوس سرئوس.....
۷	۱-۲-۱-۳- گاستروآنتریت ناشی از باسیلوس سرئوس.....
۸	۱-۲-۱-۴- مکانیسم عمل توکسین مولد اسهال باسیلوس سرئوسی.....
۸	۱-۲-۱-۵- سرئولید.....
۹	۱-۲-۱-۶- مسمومیت‌های غذایی.....
۱۰	۱-۲-۱-۷- مواد غذایی در معرض آلودگی.....
۱۰	۱-۲-۱-۷-۱- فراورده‌های گوشتی.....
۱۱	۱-۲-۱-۷-۲- شیر و فراورده‌های آن.....
۱۳	۱-۲-۱-۷-۳- حبوبات.....
۱۴	۱-۲-۱-۷-۴- فراورده‌های غذایی خشک شده.....
۱۵	۱-۲-۲- سماق.....
۱۵	۱-۲-۲-۱- اسامی سماق.....
۱۵	۱-۲-۲-۲- واژه شناسی.....
۱۵	۱-۲-۲-۳- ریخت شناسی گیاه.....
۱۶	۱-۲-۲-۴- ترکیبات شیمیایی گیاه.....
۱۸	۱-۲-۲-۵- مسمومیت با سماق.....
۱۸	۱-۲-۲-۶- موارد استفاده از سماق.....
۱۹	۱-۲-۲-۷- پراکنش جغرافیایی.....
۱۹	۱-۲-۳- زنجبیل.....
۲۲	۱-۲-۳-۱- ترکیبات شیمیایی گیاه.....
۲۴	۱-۲-۳-۲- مصارف طبی زنجبیل.....
۲۴	۱-۲-۳-۲-۱- در طب قدیم.....
۲۵	۱-۲-۳-۲-۲- در فارماکوپه ها و سیستم‌های طب سنتی.....
۲۶	۱-۲-۳-۲-۳- در طب نوین.....
۲۶	۱-۲-۳-۳- موارد منع مصرف زنجبیل.....
۲۶	۱-۲-۳-۴- پراکنش جغرافیایی.....

فصل دوم: مروری بر تحقیقات انجام شده

- ۲-۱- باکتری..... ۳۰
- ۲-۲- سماق..... ۳۱
- ۲-۳- زنجبیل..... ۳۴

فصل سوم: مواد و روش‌ها

- ۳-۱- مشخصات باکتری..... ۳۸
- ۳-۲- تهیه سماق و زنجبیل..... ۳۸
- ۳-۳- آماده سازی عصاره‌های آبی سماق و زنجبیل..... ۳۸
- ۳-۴- آماده سازی مدل غذایی..... ۳۹
- ۳-۵- تهیه محیط آبگوشت BHI و آگار BHI..... ۴۰
- ۳-۶- رقیق سازی نمونه‌ها..... ۴۱
- ۳-۷- آماده سازی نمونه‌ها جهت شروع گرمخانه گذاری..... ۴۱
- ۳-۸- بررسی نمونه‌ها از نظر رشد باکتری..... ۴۴
- ۳-۹- روش تجزیه و تحلیل آماری..... ۴۶

فصل چهارم: نتایج و بحث

- ۴-۱- نتایج..... ۴۸
- ۴-۲- بحث..... ۵۴
- ۴-۳- نتیجه گیری و پیشنهادات..... ۵۹
- منابع..... ۶۰

- شکل ۱-۱- میوه و گل سماق ۱۶
- شکل ۱-۲- ترکیبات فعال عصاره سماق ۱۷
- شکل ۱-۳- گیاه زنجبیل و ریزوم آن ۲۱
- شکل ۱-۴- ساختارهای ترکیبات زنجبیل ۲۳
- شکل ۳-۱- مراحل تهیه عصاره سماق ۳۹
- شکل ۳-۲- آماده سازی سوپ جو تجاری و توزیع آن در ظروف شیشه ای ۴۰
- شکل ۳-۳- اضافه کردن عصاره گیاهی به نمونه ها ۴۳
- شکل ۳-۴- استریل کردن نمونه ها در اتوکلاو ۴۳
- شکل ۳-۵- قرار دادن نمونه ها در گرمخانه بعد از تلقیح باکتری ۴۴
- شکل ۳-۶- کلنی های باسیلوس سرئوس در محیط آگار ۴۵
- شکل ۳-۷- شمارش تعداد کلنی های باکتری با دستگاه کلنی کانتر ۴۵

جدول ۱-۱- ترکیبات گیاشیمیایی موجود در عصاره های زنجبیل ۲۴

جدول ۱-۲- تعیین کمی ترکیبات زیست فعال رایج عصاره های زنجبیل ۲۴

جدول ۱-۳- مکانیسم عمل ضد باکتریایی گروه های اصلی ترکیبات گیاهی..... ۲۷

جدول ۱-۴- حلال های استفاده شده برای استخراج ترکیبات فعال..... ۲۸

نمودار ۳-۱- منحنی استاندارد اسپکتروفوتومتری..... ۴۲

جدول ۴-۱- میانگین و انحراف معیار لگاریتم تعداد باکتری در روز صفر..... ۴۸

جدول ۴-۲- میانگین و انحراف معیار لگاریتم تعداد باکتری در روز اول..... ۴۹

جدول ۴-۳- میانگین و انحراف معیار لگاریتم تعداد باکتری در روز سوم..... ۵۰

جدول ۴-۴- میانگین و انحراف معیار لگاریتم تعداد باکتری در روز ششم..... ۵۱

نمودار ۴-۱- لگاریتم تعداد باکتری در نمونه هایی که فقط حاوی سماق بودند..... ۵۲

نمودار ۴-۲- لگاریتم تعداد باکتری در نمونه هایی که فقط حاوی زنجبیل بودند..... ۵۳



فصل اول: مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

۱-۱-۱- باسیلوس سرئوس^۱

باسیلوس سرئوس باکتری اسپوزا، هوازی یا بی‌هوازی اختیاری، گرم مثبت و میله‌ای شکل است. این باکتری بیش از چهل سال است که به عنوان یکی از عوامل شناخته شده‌ی بیماری‌های حاصل از مواد غذایی محسوب می‌شود. دو نوع مسمومیت یکی با علامت استفراغ و دیگری با نشانه‌ی اسهال ایجاد می‌کند که توسط دو نوع آنروتوکسین تولید شده توسط این میکروب حاصل می‌شود. فرم اسهالی مسمومیت، همانند مسمومیت غذایی حاصل از کلستریدیوم پرفرینجنس^۲ با علائم ملاتم و پس از ۲۰-۸ ساعت از مصرف غذا بروز می‌کند. فرم استفراغی که در عرض ۵-۱ ساعت پس از مصرف غذا حاصل می‌شود و تشابه زیادی با مسمومیت غذایی استافیلوکوکی دارد. علائم عمده فرم اسهالی شامل اسهال، کرامپ شکمی و زورپیچ است، در حالی که تهوع و استفراغ از علائم اصلی نوع استفراغی محسوب می‌شود. فرم استفراغی بیماری با مصرف غذایی که در آن توکسین تولید شده است حاصل می‌شود. سندرم اسهالی باسیلوس سرئوس با مصرف مواد غذایی آلوده‌ی مختلفی مثل غذاهای گوشتی، سوپ‌های مختلف، سس‌ها و پودینگ‌های گیاهی بروز می‌کند، در حالی که فرم استفراغی بیماری تقریباً همیشه با مصرف برنج همراه بوده است. مسمومیت غذایی توسط سایر گونه‌های باسیلوس کمتر از باسیلوس سرئوس شایع بوده و علائم آن‌ها خوب شناسایی نشده‌است (رضویلر، ۱۳۸۷).

۱-۱-۲- نگهدارنده‌های طبیعی

از مواد نگهدارنده‌ای که دارای خاصیت ضد میکروبی هستند برای کنترل باکتری‌ها استفاده می‌شود؛ که این‌ها شامل نگهدارنده‌های شیمیایی و طبیعی می‌باشند. در سالیان اخیر با توجه به اثرات مضر نگهدارنده‌های غذایی شیمیایی و سنتتیک، مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان مواد غذایی خواهان

^۱ - *Bacillus cereus*

^۲ - *Clostridium perfringens*

استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی نظیر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی هستند، که علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات مضر نگهدارنده‌های شیمیایی در امان باشند (مرادی و همکاران، ۱۳۹۰). از نگهدارنده‌های طبیعی می‌توان به سماق و زنجبیل اشاره کرد. سماق با نام علمی *Rhus coriaria* از تیره‌ی پسته^۱، درختچه‌ای کوچک به ارتفاع ۱ تا ۵ متر، دارای برگ‌هایی مرکب از ۹ تا ۱۵ برگچه، پوشیده شده از کرک و دنداندار است. رنگ برگ‌ها در پاییز به قرمز متمایل می‌شوند و این ویژگی از اختصاصات گیاه است. گل‌های گیاه به صورت خوشه‌های مجتمع در انتهای ساقه‌ی اصلی بوده، تبدیل به میوه‌های نسبتاً کروی و کوچک می‌شوند. میوه‌های رسیده‌ی گیاه، قرمز متمایل به قهوه‌ای هستند و میوه‌های نرسیده، سبز رنگ و سمی هستند. قسمت مورد استفاده در طب سنتی و آشپزی، پوسته‌های پیاله‌ای شکل ریز، قرمز رنگ و ترش مزه‌ی سطح میوه گیاه است (Naser Abbas and Kadir halkman, 2004).

سماق به طور وحشی در منطقه‌ی وسیعی از جزایر قناری (واقع در اقیانوس اطلس) تا سواحل مدیترانه و ایران و افغانستان می‌روید. محل رویش سماق در ایران، مناطقی در آذربایجان (تبریز)، تهران (تجربیش، دربند و کرج)، قزوین، قم و همدان است. موارد استفاده از سماق شامل موارد زیر است:

الف. استفاده دارویی: در طب سنتی از سماق به عنوان بندآورنده‌ی خون، ضداسهال، درمان چرک گوش و درمان تراخم استفاده می‌شود.

ب. استفاده به عنوان چاشنی غذایی: استفاده‌ی وسیع سماق به عنوان یک چاشنی سالم غذایی، باعث شده تا امروزه بررسی‌های زیادی بر روی ارزش غذایی و نقش احتمالی سماق به عنوان یک آنتی‌اکسیدان و نگهدارنده‌ی مواد غذایی انجام شود (Fazeli et al., 2007; Radmehr et al., 2010).

^۱-Anacardiaceae

در سال‌های اخیر بار دیگر نگاه‌های تحقیقاتی به سوی اثرات دارویی سماق معطوف شده است. تاکنون اثرات کاهنده‌ی قند خون و کاهنده‌ی اسید اوریک به طور محدود بررسی شده‌اند (Naser Abbas and Kadir halkman, 2004).

زنجبیل گیاهی چندساله و دارای ریزوم غده‌ای ناهموار و منشعبی است که از آن، ۳ یا ۴ ساقه یکساله به ارتفاع ۰/۳۰ متر تا یک متر در هر سال خارج می‌شود بطوری که مجموعاً به گیاه، ظاهری شبیه نی می‌بخشد. برگ‌های آن متناوب، دراز، نوک تیز، و دارای یک دم‌برگ اصلی مشخص، واقع در بین رگ‌برگ‌های فرعی متعدد است. پهنک برگ آن به غلاف بزرگ و شکافداری منتهی می‌گردد که قسمت زیادی از ساقه را فرامی‌گیرد. ساقه گلدار گیاه که مستقیماً از ریزوم خارج می‌شود، در انتها به گل‌های زیبائی، مجتمع به صورت سنبله ختم می‌شود که از فلس‌های نازک پوشیده می‌باشد. رنگ گل‌ها، مایل به زرد و منقوش به لکه‌هایی به رنگ قهوه‌ای است. میوه‌اش پوشینه و محتوی دانه‌های متعدد تیره‌رنگ با بوی مطبوع است. تکثیر آن از طریق کاشتن قطعات ریزوم جوانه‌دار، در زمین‌های مرطوب و اصلاح شده باید صورت گیرد. قسمت مورد استفاده این گیاه ریزوم آن است. زنجبیل بوی قوی، معطر و مطبوع دارد. طعمش گرم، نافذ و سوزاننده است. این گیاه به حالت طبیعی در نواحی شرقی هندوستان، مخصوصاً در نقاط Zingi و Gingi می‌روید. در مالابار، سیلان و چین نیز یافت می‌شود. پرورش آن در جنوب آسیا، ژاپن، آفریقای شمالی، مکزیک، جزایر آنتیل و مخصوصاً ژامائیک معمول است (زرگری، ۱۳۷۶).

۳-۱-۱- اهداف تحقیق

- بررسی تأثیر عصاره‌ی آبی سماق ایرانی روی باسیلوس سرئوس در مدل غذایی در دمای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد.
- بررسی تأثیر عصاره‌ی آبی زنجبیل ایرانی روی باسیلوس سرئوس در مدل غذایی در دمای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد.

- بررسی تقویت اثر عصاره‌های آبی سماق ایرانی و زنجبیل ایرانی روی باسیلوس سرئوس در مدل غذایی در دمای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد.

۴-۱-۱-۱-۱-۱-۱ فرضیات

- عصاره‌ی آبی سماق ایرانی باعث توقف رشد باسیلوس سرئوس در مدل غذایی می‌گردد.
- عصاره‌ی آبی زنجبیل ایرانی باعث توقف رشد باسیلوس سرئوس در مدل غذایی می‌گردد.
- استفاده‌ی توأم سماق ایرانی و زنجبیل ایرانی به صورت تقویت اثر، باعث توقف رشد باسیلوس سرئوس در مدل غذایی می‌گردد.

۲-۱-۱-۱-۱-۱ کلیات

۱-۲-۱-۱-۲-۱-۱ باکتری باسیلوس سرئوس

۱-۲-۱-۱-۱-۱-۱-۱: ویژگی‌های باکتری (Washington and Winn, 2006):

زیر سلسله^۱: باکتریا^۲

شاخه^۳: فیرمیکوتز^۴

رده^۵: باسیلی

راسته^۶: باسیالاس^۷

خانواده: باسیلاسه

جنس: باسیلوس

گونه: سرئوس

ATCC : 11778

^۱ Domain
^۲ Bacteria
^۳ Phylum
^۴ Firmicutes
^۵ Class
^۶ Order
^۷ Bacillales

باسیلوس سرئوس باکتری اسپوزا، هوازی یا بی‌هوازی اختیاری، گرم مثبت و میله‌ای شکل است (رضویلر، ۱۳۸۷). شبیه سایر گونه‌های باسیلوس، این باکتری نیز در آب و خاک یافت می‌شود و امکان جدا شدن آن از برنج و سبوس وجود دارد. این گونه از لحاظ فنوتیپی و ژنوتیپی شبیه سایر گونه‌های باسیلوس نظیر باسیلوس آنتراسیس، باسیلوس مایکوئیدس و باسیلوس تورانجی انسیس است. مطالعات ژنتیکی و کموتاکسونومی نشان داده است که باسیلوس سرئوس، باسیلوس تورانجی انسیس و باسیلوس آنتراسیس به یک گونه تعلق دارند. با ویژگی‌های متمایزی که به طور عملی آنها را از هم جدا می‌کنند که این ویژگی‌ها به طور اولیه توسط پلاسمید ایجاد می‌شوند و بنابراین قابل انتقال هستند (Washington and Winn, 2006) برای مثال تفاوت بین باسیلوس سرئوس و باسیلوس تورانجی انسیس حضور کدکننده‌های پلاسمید مولد سموم کشنده‌ی حشرات در باسیلوس تورانجی انسیس است.

۲-۱-۲-۱-فاکتورهای حدت باسیلوس سرئوس:

باسیلوس سرئوس چندین فاکتور حدت غیر از توکسین‌های با عوارض گوارشی را تولید می‌کند و این فاکتورها می‌توانند عفونت‌های خارج دستگاه گوارش ایجاد نمایند. این فاکتورهای حدت شامل سه همولیزین و سه فسفولیپاز هستند. همولیزین‌ها به ترتیب سرئولیزین^۱، همولیزین II و همولیزین III نامیده می‌شوند. سرئولیزین به استرپتولیزین O (Streptolysin O) (SLO) شبیه است و یک پروتئین حساس به حرارتی است که توسط تیول‌ها فعال و به وسیله‌ی کلسترول غیرفعال می‌گردد. همولیزین II یک توکسین همولیتیک است که برای موش کشنده می‌باشد. همولیزین III تجزیه اسموتیک اریتروسیت‌ها را باعث می‌شود و مکانیسم عمل به صورت ایجاد روزنه‌های غشائی است. فسفولیپازها شامل فسفاتیدیل اینوزیتول هیدرولاز (Phosphatidylinositol hydrolase) فیفاتیدیل

۱- Cereolysin

کولین هیدرولاز (Phosphatidylcholine hydrolase) و یک اسفنگومیلیناز (Sphingomyelinase) هستند.

فسفولیپازها سه کار عمده انجام می‌دهند: ۱- چربی دولایه متصل به پروتئین غشائی آنکور را می‌شکافند. ۲- یکپارچگی غشاء سلول را حفظ می‌کنند. ۳- قابلیت ترمیم و تکثیر را از سلول‌های آسیب دیده سلب می‌کنند (Washington and Winn, 2006).

۱-۲-۱-۳- گاستروآنتریت ناشی از باسیلوس سرئوس:

باسیلوس سرئوس می‌تواند عامل بیماری‌های ناشی از غذا باشد. علت اصلی این مسأله ترشح اگزوتوکسین‌هاست. از آنجا که بیماری‌های غذازاد (Foodborne illnesses) مربوط به این ارگانیسم قابل گزارش نیستند، چهره مشخص و صحیحی از میزان شیوع و بروز بیماری در دنیا در دسترس نیست. بین سال‌های ۱۹۷۳ تا ۱۹۸۵ درصد بیماری‌های غذازاد در ارتباط با باسیلوس سرئوس از میزان ۰/۷ درصد در انگلستان و ولز تا ۱۷/۸ درصد در فنلاند گزارش شده است. بروز بیماری در آمریکا کمتر از بقیه جاها به نظر می‌رسد و حداقل سال ۱۹۷۲ الی ۱۹۸۲ فقط حدود ۱/۳ درصد بیماری‌های ناشی از مصرف غذا به نوع بیماری باسیلوس سرئوسی مربوط می‌شود. مواد غذائی از محیط آلوده شده و همچنین اسپورهای مقاوم می‌توانند از طریق عمل پاستوریزاسیون نیز از بین نرفته و در برابر اشعه‌دهی گاما نیز مقاومت نمایند.

توانایی برخی از گونه‌های باسیلوس سرئوس برای رشد در دمای بین ۴ تا ۷ درجه به طور اخص دلالتی بر حضور این باکتری در غذاهای پاستوریزه شده و حتی مواد لبنی نگهداری شده در یخچال است. بسیاری از غذاها می‌توانند با اسپور این باکتری یا حالت رویشی آن آلوده باشند. این غذاها شامل پاستا^۱، برنج، فراورده‌های شیر، دانه‌های غلات، ادویه‌جات، سبزیجات، گوشت، جوجه کباب، مواد غذائی دریائی می‌باشند.

غذاهای آلوده، فراورده‌های لبنی و مکمل‌های دارویی و همچنین غذای کودک بالاترین میزان خطر آلودگی برای افراد بیمار و بستری شده در بیمارستان بویژه بچه‌ها و افرادی که دارای سیستم ایمنی ضعیفی هستند، و معتادان بشمار می‌آیند.

سویه‌های آنترتوکسین‌زای *باسیلوس سرئوس*، گاستروآنتریت‌های خود محدود شونده حاد در انسان ایجاد می‌کنند که معمولاً به دنبال خوردن غذاهای آلوده مطرح می‌شوند (Washington and Winn, 2006).

۴-۱-۲-۱- مکانیسم عمل توکسین مولد اسهال *باسیلوس سرئوس*:

اتصال به سطح سلول: بخشی از توکسین به یک لیپید گانگلیوزید غشائی لومن گوارشی (GM_1) باند می‌شود. پروتئینی به نام G از بخش G-alpha فسفریله می‌شود و نهایتاً به آدنیلات سیکلاز باند می‌گردد. ریبولیزسیون مولکول ADP بواسطه حضور توکسین روی آرژینین شماره ۱۸۷ اتفاق می‌افتد. از طرفی ADP ریپوز به G-alpha پروتئین وصل است. این اتصال فعالیت آنزیم GTPase را محدود می‌کند و لذا G پروتئین نمی‌تواند GTP را به GDP هیدرولیز کند. بنابراین G-alpha-GTP به طور مستقیم به آدنیلات سیکلاز باند خواهد شد. آدنیلات سیکلاز فعال از ATP، cAMP می‌سازد و افزایش cAMP بسیاری از پروتئین‌های غشاء را فعال می‌کند. این پروتئین‌ها یون‌های سدیم را جابجا می‌کنند و لذا یون‌های کلرید به بیرون کشیده می‌شود و فشار اسمزی داخل سلول کم شده و اسهال ایجاد می‌کند (Varnam and Evans, 1991; Doyle, 2002).

۵-۱-۲-۱- سرئولید (توکسین استفراغ آور):

اگزوتوکسین مقاوم به حرارت *باسیلوس سرئوس* یک دودکادپسی پپتید حلقوی است و سرئولید نامیده می‌شود که وزن مولکولی آن حدود ۱/۲ کیلو دالتون است. این مولکول در حضور اسیدها، قلیاها، پروتئازها و حرارت مقاوم بوده و غیرآنتی‌ژنیک است که برای شناسایی آن از طریق بیواسی و یا طیف نگار جرمی استفاده می‌شود (Washington and Winn, 2006).

سرئولید در طی فاز سکون مرحله رشد تولید می‌شود و مربوط به سروتیپ H-1 (تایپینگ با آنتی‌ژن فلاژلی) می‌باشد. سرئولید باعث تورم میتوکندری شده و مانع عملکرد صحیح فسفوریلاسیون اکسیداتیو می‌شود. غذاهای در مظان اتهام با تظاهر استفراغ در اثر این توکسین شامل برنج سرخ شده، خامه و سایر محصولات لبنی، پاستا و غذای بازسازی شده کودک هستند (Washington and Winn, 2006).

۱-۲-۱-۶- مسمومیت‌های غذائی:

مسمومیت‌های غذائی ناشی از *باسیلیوس سرئوس* غالباً به دو فرم اسهال و استفراغ بروز می‌نماید. علائم به دنبال ۸ الی ۱۶ ساعت بعد از بلع غذا پدیدار می‌شوند و به طور غالب با ظهور افزایش اسهال آبکی و خواب‌آلودگی و زورپیچ و تا حدی دردهای شکمی همراه هستند. علائم معمولاً بعد از ۱۲ الی ۳۶ ساعت فروکش می‌نمایند. توسط چهار نوع آنروتوکسین حساس به حرارت این نشانه‌های کلینیکی تظاهر خواهند یافت. این آنروتوکسین‌ها شامل ترکیبات پروتئین همولیزین BL و آنروتوکسین غیر همولیزدهنده (NHE) و دو پروتئین آنروتوکسیک (آنروتوکسین T و سایتوتوکسین K) هستند. HBL و NHE هرکدام از سه پروتئین تشکیل شده‌اند. موقعیت ژن کدکننده برای این دو در اپران‌های مختلف و با فاصله از یکدیگر است. HBL یک آنروتوکسین است که توانایی همولیز دارد و از سه پروتئین تشکیل شده که یکی از آنها به وزن مولکولی ۳۵ کیلو دالتون (ترکیب باند شونده) (B) و دو پروتئین دیگر یکی (L₁) که ۳۶ کیلو دالتون بوده و دیگری (L₂) ۴۵ کیلو دالتون وزن مولکولی دارد. دو پروتئین اخیر دارای خواص تجزیه سلول و نکروز پوستی هستند و قدرت نفوذپذیری غشاء را تغییر می‌دهند (Varnam and Evans, 1991; Doyle, 2002).

سایر رخدادها از دیگر آنروتوکسین‌های تولید شده از سویه‌های مختلف *باسیلیوس سرئوس* گزارش شده است. اما HBL و NHE جهت علت ایجاد اسهال حاصل از *باسیلیوس سرئوس* ناشی از مسمومیت غذائی مربوط به آن در نظر گرفته شده است. غذاهای مرتبط با این نوع بیماری شامل گوشت و

سبزیجات، کیک‌ها، سوپ‌ها و محصولات لبنی است. برخی از سویه‌های باسیلوس سرئوس که از مواد غذایی جدا شده‌اند می‌توانند مخلوطی از توکسین استفراغ‌زا و آنتروتوکسین را تولید نمایند. مسمومیت با باسیلوس سرئوس و سموم آن می‌تواند با پخت کامل و حرارت دادن کافی به غذا جلوگیری گردد. بویژه این مسأله در مورد گوشت و سرد کردن کامل و کافی غذاها در ارتباط خواهد بود. باسیلوس تورنجی انسیس در شیوع‌های گاستروانتریتی مطرح بوده و همچنین دارای فعالیت سیتوتوکسیسیته مشابه آنچه که توسط باسیلوس سرئوس آنتروتوکسین‌زا رخ می‌دهد می‌باشد. تهوع و استفراغ از علائم اصلی نوع مسمومیت استفراغی محسوب می‌شوند. بهبود در سندرم اسهالی باسیلوس سرئوس با غذاهائی از قبیل غذاهای گوشتی، سوپ‌های مختلف سس‌ها و پودینگ‌های گیاهی بروز می‌کند و فرم استفراغی غالباً با مصرف برنج همراه بوده است (Jay, 2000).

۱-۲-۱-۷- مواد غذایی در معرض آلودگی:

۱-۲-۱-۷-۱- فراورده‌های گوشتی:

باسیلوس سرئوس و گونه‌های دیگر آن ممکن است که از گوشت تازه جدا شوند. در یک مطالعه و بررسی که توسط سلطان و همکارانش در سال ۱۹۸۷ در انگلستان انجام شد، آشکار گردید که ۶/۹ درصد از گوشت جوجه‌ی نپخته حاوی مقادیری باسیلوس سرئوس قابل جدا شدن بوده است. هرچند این مسأله مورد بررسی قرار گرفته است که این ارگانسیم ممکن است بواسطه رقابت موجود بین ارگانسیم‌ها، کمتر بازبایی و جدا شود (Sooltan et al., 1987). میزان بروز در فراورده‌های گوشتی نظیر سوسیس و کالباس‌ها اغلب بیشتر است که در واقع نشان دهنده شرکت مواد افزودنی نظیر ادویه‌ها در این محصولات است (Varioli and Berti, 1976). اندوسپورهای باسیلوس در طی فرآوری مواد غذایی و پروسه پخت مواد غذایی، زنده خواهند ماند، اما مقادیر قابل ملاحظه اندوسپورها تنها در جایی مشاهده می‌شوند که دما به اندازه کافی پس از پختن کنترل نمی‌گردد.

مقادیر بالایی از اندوسپورها اغلب در فراورده‌هایی نظیر تاس کباب، پیراشکی‌های گوشتی، سوپ-ها، و گوشت کبابی و بریانی، مشاهده می‌شوند و بنابراین این‌ها فراورده‌های گوشتی هستند که معمولاً با مسمومیت غذایی ناشی از باسیلوس سرئوس و سایر باسیلوس‌ها، در ارتباطاند (Varioli and Berti, 1976).

۲-۷-۱-۲-۱-شیر و فراورده‌های آن:

باسیلوس سرئوس برای مدت‌های زیادی با فساد شیر تازه در ارتباط بوده است. فساد کلاسیک خامه به صورت تکه تکه شدن و فساد شیر به صورت دلمه شیرین و نرم شیر می‌باشد (Belling and Cuthbert, 1958; Overcast and Atamaram, 1974).

در سال‌های اخیر میزان بروز فساد باسیلوس سرئوسی در شیر و فراورده‌های آن، تا حدی به دلیل نگهداری فراورده‌های شیری پاستوریزه شده در یخچال تنزل یافته است. از طرف دیگر میزان آلودگی شیر خام به باسیلوس سرئوس کاهش یافته است. امروزه بهداشت مزارع افزایش یافته و بهبود پیدا کرده است و از طرف دیگر به دلیل تغییراتی که در دستگاه تهیه‌ی خامه و کره ایجاد شده میزان ورود باکتری به شیر خام کاهش یافته است (Baranyi *et al.*, 1999).

علی‌رغم موارد ذکر شد، باسیلوس سرئوس ممکن است به آسانی از شیر پاستوریزه و فراورده‌های وابسته به آن مانند خامه جدا گردد (Christiansson *et al.*, 1989). حتی سلول‌های رویشی باسیلوس سرئوس از شیری که با حرارت بالا فرایند شده نیز جدا شده است. براساس تحقیقاتی که توسط راجکووسکی و میکولاجکی انجام شده مشخص گردید که سویه‌های مقاوم به حرارت باسیلوس سرئوس در طی فرایند استرایلیزاسیون شیر ممکن است زنده بمانند و این موضوع در صورتی رخ می‌دهد که باسیلوس سرئوس به تعداد کافی در شیر خام موجود باشد. هر چند که هیچ موردی مبنی بر مسمومیت غذایی باسیلوس سرئوس بواسطه مصرف شیرهای UHT تاکنون گزارش نشده است. توسعه و گسترش پروسه UHT در مورد سوپ‌های گوشت و مانند آن به لحاظ دخیل بودن در