

بررسی وجود باکتری های مولد مسمومیت استافیلوکوکال در مواد غذایی (بخش اول)

یکی از شایع ترین مسمومیت های غذایی، مسمومیت ناشی از مصرف غذای آلوده به سم باکتری "استافیلوکوکوس اورئوس" است که به نام مسمومیت استافیلوکوکال معروف است.

Staph.aureus یک کوکسی گرم مثبت، مزوفیل، بی هوازی اختیاری و نوتروفیل است که با تولید اینترتوکسین (نوعی اگزوتوکسین) در مواد غذایی سبب آلودگی محصول و بروز مسمومیت استافیلوکوکال در مصرف کننده می گردد.

این باکتری به دلیل خاصیت پروتئولیتیک قوی که دارد معمولاً در مواد غذایی پروتئینی نظیر گوشت و فرآورده های گوشتی، همبرگر، پنیر و خامه و دیگر فرآورده های لبنی فعالیت کرده و تولید سم می نمایند.

مسمومیت استافیلوکوکال پس از مصرف غذای آلوده و با گذشت زمان ۲-۴ ساعت و حداکثر ۸-۱۰ ساعت عوارضی همچون ریزش بزاق، تهوع، استفراغ، دردهای شکمی و اسهال به همراه سر درد و کوفتگی عضلانی را به همراه دارد که معمولاً تا خروج کامل سم از بدن آثار مسمومیت باقی مانده ولی پس از چند روز بهبودی حاصل می شود.

جهت شناسایی و ایزولاسیون عامل مسمومیت استافیلوکوکال از مواد غذایی لازم است مراحل زیر طی شود:

- ۱- هموژنیزاسیون کامل ماده غذایی و انتقال حداقل ۱۰ گرم از آن به ۹۰ میلی لیتر محلول سیلین (محلول ایزوتونیک ۰/۹٪ نمک طعام در آب مقطر) در شرایط استریل
- ۲- همزدن محلول حاوی ماده غذایی و انتقال آن به اینکوباتور 37°C به مدت حداقل ۳۰ دقیقه و حداکثر ۲۴ ساعت.
- ۳- پس از گذشت مدت زمان لازم می توان اطمینان داشت که باکتری های احتمالی Staph.aureus از ماده غذایی به سمت محلول کشیده شده و به طور مناسبی پراکنده شده اند.

در مرحله بعد به منظور شناسایی و بررسی خواص بیوشیمیایی استافیلوکوکوس اورئوس لازم است تا باکتری های موجود در محلول سیلین را در یک محیط کشت اختصاصی برای استافیلوکوک ها به خصوص انواع بیماریزای آن، کشت دهیم. یکی از مناسب ترین محیط های کشت برای استافیلوکوک ها، محیط کشت مانیتول سالت آگار (M.S.A) است که با دارا بودن قند مانیتول و غلظت بالای نمک محیط را برای رشد دیگر میکروارگانیسم ها نامناسب می سازد.

جهت کشت در محیط M.S.A کافی است که ۰/۱ میلی لیتر از محلول سیلین حاوی میکروارگانیسم را به مرکز پلیت منتقل کرده و توسط آنس حلقوی استریل یا سوآب استریل کشت خطی ساده انجام گیرد. پس از اینکوباتور گذاری به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای 37°C چندین ویژگی این باکتری ها را می توان پیگیری نمود.

محیط کشت M.S.A دارای ترکیبات زیر است:

- | | |
|------------------|---------------|
| ✓ پیتون آنزیمی | ✓ عصاره گوشت |
| ✓ نمک کلرید سدیم | ✓ قند مانیتول |
| ✓ آگار | ✓ معرف فنل رد |

سه ویژگی مهم باکتری های استافیلوکوک ها را می توان از طریق محیط M.S.A مشخص نمود:

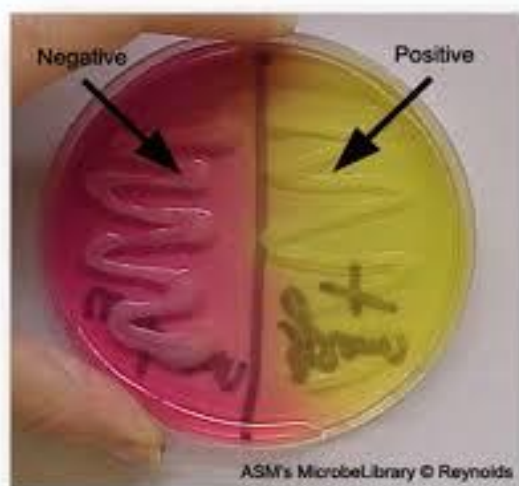
۱- شکل و رنگ پرگنه:

حضور پرگنه های کاملاً کروی، صاف ، برجسته با رنگ های زرد تا نارنجی با مرکز تیره رنگ به اندازه ۶-۲ میلی متر از خصوصیات استافیلوکوک های بیماریزا (*Staph.aureus*) است. پرگنه های ریزسفید رنگ با حالتی مات میتواند معرف استافیلوکوک های غیر بیماریزا باشد.



در بین استافیلوکوک ها تنها گونه های بیماریزا مانند Staph.aureus قابلیت تخمیر مانیتول و تبدیل آن به اسید لاکتیک و انرژی را دارند. بنابراین در اولین مرحله رشد، با مصرف مانیتول و تولید اسید pH محیط را کاهش می دهند که در حضور معرف فنل رد، رنگ M.S.A از نارنجی تیره اولیه به نارنجی روشن تا زرد می گراید. بنابراین مشاهده پرگنه های زرد تا نارنجی یا تغییر رنگ محیط به زرد یکی از نشانه های رشد و حضور Staph.aureus محسوب می شود.

اما چنانچه پرگنه های رشد یافته مربوط به استاف های غیربیماریزا باشد، به دلیل عدم تخمیر مانیتول، به دلیل خاصیت پروتئولیتیکی بالای خود برای تأمین انرژی سراغ منابع پروتئینی رفته و با مصرف آنها ترکیبات ازته به خصوص آمونیاک آزاد می کنند که سبب افزایش pH و قرمز شدن رنگ محیط M.S.A می شود.



❖ نکته: حضور ۷/۵٪ نمک طعام در محیط M.S.A شرایط را برای رشد باکتری های تحمل کننده غلظت نمک مانند استافیلوکوک ها مساعد و از فعالیت دیگر باکتری های مزاحم و حساس به نمک جلوگیری می کند.

تجزیه آب اکسیژنه و تولید اکسیژن یگانه

یکی از دیگر ویژگی های باکتری های استافیلوکوکی به ویژه Staph.aureus تجزیه آب اکسیژنه توسط آنزیم کاتالاز و تبدیل آن به آب و اکسیژن یگانه است.

برای بررسی این خاصیت به صورت زیر عمل می شود:

انتخاب یک لام تمیز و استریل و انتقال یک قطره محلول آب اکسیژنه ۳٪ به سطح آن

انتقال یکی از پرگنه های استافیلوکوکی از محیط M.S.A توسط آنس حلقوی استریل به سطح لام و مخلوط نمودن پرگنه با آب اکسیژنه

مشاهده حباب های ریز اکسیژن یگانه تولید شده (چنانچه لام را در مقابل چشمان خود قرار دهید)



برای تأیید بیشتر کاتالاز مثبت بودن باکتری رشد یافته می توان از محلول پرمنگنات پتاسیم ۰/۱ نرمال نیز استفاده کرد. به این ترتیب که یک قطره از محلول فوق را به مخلوط پرگنه و آب اکسیژنه افزوده و ۵/۰-۳ دقیقه صبر می کنیم. بیرنگ شدن پرمنگنات بنفش رنگ و ایجاد رسوب قهوه ای رنگ نشانه اکسیداسیون پرمنگنات با اکسیژن تولیدی حاصل از عملیات آنزیم کاتالاز بوده و آزمون از نظر تجزیه آب اکسیژنه مثبت است.