Investigation of enterotoxins of Staphylococcus aureus in processed meat products (sausage and ham, in Isfahan Province in summer of 2015

Hadian Zarkesh M., BS[1], Rahimi E., PhD[2], Esfandiari Z., PhD[3]

1. MSc Student, Department of Food Science and Technology, Shahreza Branch, Islamic Azad University, Shahreza, Iran.
2. Department of food Hygiene and Public Health, College of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
3. Graduated in PhD of Food Science and Technology, Department of Research and Development, Department of Food and Drug, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran, (Corresponding Author), Tel:+98-31-37923411, research_esfandiary@mui.ac.ir

ABSTRACT

Background and Aim: Contamination of food with enterotoxins of Staphylococcus aureus is a risk factor for public health. Because of lack of information on the contamination of the processed meat products including sausage and hams with the enterotoxins of Staphylococcus aureus, the present study was conducted to assess the presence of these toxins in the aforementioned products in Iran.

Material and Methods: In this cross sectional study, 72 samples of sausage and ham were obtained from product storages of four active meat processing plants with different qualitative grades; including A, B, C and D in summer of 2015 in Isfahan Province, Iran. The qualitative grading of the meat processing plants was performed on the basis of the "pre requisite programs: PRPs" form approved by Food and Drug Administration of Ministry of Health in Iran. The scores of hygienic factors including "hygiene of workers", "production and processing", "washing, disinfection, cleaning" and "hazard identification and verification" of the aforementioned meat processing plants were determined according to the PRPs form. The meat processing plant with qualitative grades of A, B, C and D had the scores of 924, 825, 754 and 614, respectively. The hygienic grades of meat processing plants were "desirable", based on the PRPs form. The ELISA kite was used to detect the enterotoxins of staphylococcus aureus.

Results: The results showed lack of contamination of the processed meat products with enterotoxins of staphylococcus aureus in all sampls obtained from all of the factories with different qualitative grades.

Conclusion: The result of the current study showed that the implementation of suitable designs in relation to the hygienic principles and the continuous surveillance of food inspectors of the Department of Food and Drug of Isfahan University of medical sciences could have a positive role in prevention of contamination of sausage and hams with enterotoxins of Staphylococcus aureus.

Keywords: Enterotoxins of Staphylococcus aureus, Sausage, Ham, Meat processing plants, Isfahan, Iran.

Received: Jan 2, 2016 **Accepted:** Sep 5, 2016

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و یکم / آذر و دی ۱۳۹۵/ ۸۰-۶۹

بررسی وضعیت انتروتوکسین های تولید شده توسط باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در فراورده های گوشتی سوسیس و کالباس در استان اصفهان در تابستان سال ۱۳۹۴

مرجان هادیان زرکش[۱]، ابراهیم رحیمی[۲]، زهرا اسفندیاری[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهرضا، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرضا، ایران.

۲. استاد، گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی، واحد شهر کرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهر کرد، ایران.

۳. دکترای تخصصی علوم و صنایع غذایی، واحد تحقیق و توسعه، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران، (مولف مسئول)، تلفن ثابت: ۰۳۱-۳۷۹۲۳۴۱۱، research_esfandiary@mui.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: آلودگی ماده غذایی به انتروتوکسین*های استافیلوکوکوس اورئوس* عامل خطری برای سلامتی انسان محسوب می شود. نظر به عدم وجود اطلاعات از آلودگی فرآورده های گوشتی سوسیس و کالباس به انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* در ایران، درمطالعه حاضر وضعیت این سموم در این گروه ازمحصولات بررسی گردید.

روش بررسی: دریک مطالعه توصیفی مقطعی،۷۲ نمونه سوسیس و کالباس از انبار محصول ۴ کارخانه فعال تولید کننده فراورده گوشتی با درجات متفاوت کیفی آ، ب، ث و د در تابستان ۱۳۹۴در استان اصفهان جمع آوری گردید. درجه بندی کیفی کارخانجات مورد مطالعه براساس فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" مصوب سازمان غذا و دارو وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ایران ارزیابی شد. جهت تاثیر نقش بهداشت بر آلودگی فراورده سوسیس و کالباس به انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس*، امتیاز فاکتورهای بهداشتی شامل"بهداشت کارگران"، "تولید و فراوری"، "شست و شو، ضدعفونی و نظافت" و "شناسایی خطر و پایش" کارخانجات مورد نظر بر اساس فرم فوق الذکر نیزتعیین گردید. کارخانجات مورد بررسی دارای درجات کیفی آ، ب، ث و د به ترتیب دارای امتیازات ۹۲۴، ۸۲۵، ۷۵۴ و ۶۱۴ بودند و درجه بهداشتی کارخانجات براساس فرم"ارزیابی برنامه های پیش نیازی"، مطلوب ارزیابی گردید. آزمون تشخیص وشناسایی انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* با کیت الایزا صورت پذیرفت. نتایج حاصل با نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون آماری مربع کای مورد آنالیز و $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها: نتایج حاکی از عدم آلودگی سوسیس و کالباس به انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* در کلیه کارخانجات مورد بررسی با درجات متفاوت کیفی و مشابه بهداشتی، آ، ب، ث و د بود.

نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان می دهد علیرغم متفاوت بودن درجات کیفی کارخانجات مورد بررسی، به کارگیری تدابیر مناسب در خصوص رعایت اصول بهداشتی ونظارت مستمرکارشناسان مدیریت نظارت بر موادغذایی معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی اصفهان از عوامل موثر درکنترل آلودگی سوسیس و کالباس به انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* می تواند باشد.

واژه های کلیدی: انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس*، سوسیس، کالباس، کارخانجات فراورده گوشتی، اصفهان، ایران

وصول مقاله:۹۴/۱۰/۱۳ اصلاحیه نهایی:۹۵/۶/۱۴ پذیرش:۹۵/۶/۱۵

مقدمه

انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس* (Staphylococcal enterotoxins: SEs) در ماده غذایی از طریق سویه های کواگولاز مثبت جنس *استافیلوکوکوس* ترشح می شوند. از مهم ترین گونه های تولید کننده انتروتوکسین ها در این جنس، *استافیلوکوکوس اورئوس* می باشد که به عنوان یکی از عوامل اصلی ایجاد مسمومیت غذایی در کشورهای مختلف جهان شناخته شده است. این مسمومیت در نتیجه مصرف غذای آلوده با مقدار کافی از انتروتوکسین (۲۰۰-۱۰۰ نانوگرم) اتفاق می افتد (۲ و۱). پنج انتروتوکسین *استافیلوکوکوس اورئوس* با عناوین A، B، C، D و E مسئول اصلی ۹۵٪ مسمومیت های غذایی می باشند. مسمومیت در نتیجه مصرف انتروتوکسین های مقاوم به حرارت از پیش ساخته شده در ماده غذایی ایجاد می شود. در حین فراوری و تهیه ماده غذایی، سلول های باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نابود می شود ولی انتروتوکسین های باکتری در محیط حضور دارد و از بین نمی رود و بدین ترتیب مسمومیت ایجاد می شود (۳). سالیانه حدود ۱۸۵۰۰۰ نفر درآمریکا به مسمومیت غذایی ناشی از انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* مبتلا می شوند و از این تعداد ۱۷۵۰ نفر در بیمارستان بستری می شوند (۴). براساس آمار سازمان ایمنی غذا در اروپا مسمومیت ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس*، حدود ۷/۴٪ از مسمومیت ها را در اتحادیه اروپا پوشش می دهد (۵). گزارشات مختلفی از وجود انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* در غذاهای مختلف مانند فراورده های پاستا، سالاد، گوشت خام و فراورده های مختلف گوشتی مانند کباب کوبیده، کباب مخلوط مرغ و گوشت، کتلت گوشتی و ناگت مرغ، تخم مرغ و فراورده های تخم مرغ، سبزیجات، محصولات نانوایی و پنیرها در سطح بین المللی و ملی منتشر شده است (۱۲-۶ و ۴و۳). مسمومیت ناشی از انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* با علایمی مانند استفراغ، دل درد، اسهال، درد در ماهیچه، سرگیجه، تب و سردرد در فاصله زمانی ۲ تا ۸ ساعت پس از خوردن غذای آلوده همراه است (۱۳). مقدار انتروتوکسین مورد نیاز جهت ایجاد مسمومیت غذایی در بین افراد براساس حساسیت و مرحله زندگی متفاوت است (۱۵ و ۱۴). برای مثال یک میکروگرم از انتروتوکسین نوع A *استافیلوکوکوس اورئوس* ممکن است جهت ایجاد بیماری در یک فرد بالغ کافی باشد. در بررسی دیگر از شیوع گاستروانتریت ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* در کودکانی که از شیر شکلاتی آلوده به این باکتری را مصرف نمودند مشخص گردید مصرف ۱۸۴ نانوگرم از انتروتوکسین نوع A در این محصول عامل مسمومیت بوده است (۱۶). به صورت غالب وقوع اکثر مسمومیت ها به دلیل عدم رعایت اصول بهداشتی در زمان فراوری، پخت یا توزیع فراورده غذایی اتفاق می افتد. علاوه براین سرد کردن نادرست مواد غذایی نیز در رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و تولید انتروتوکسین های آن تاثیر گذار است (۱). در این میان گوشت و فراورده های گوشتی یکی از رایج ترین فراورده های غذایی هستند که مسمومیت با انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* به دلیل مناسب بودن محیط این گروه از محصولات با توجه به وجود پروتئین و ترکیبات کربوهیدراتی مانند گلیکوژن مشاهده می شود (۱۸ و ۱۷). در این میان در فرمولاسیون فراورده های گوشتی مانند سوسیس و کالباس نیز ترکیبات شیمیایی مانند نمک، شکر و نیتریت بکار می رود که باعث پایین آمدن فعالیت آبی در محصول و توقف رشد و تکثیر باکتری های رقیب می گردد و بدین ترتیب شرایط برای رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* به دلیل مقاوم بودن به چنین وضعیتی مهیا می گردد (۲۰ و ۱۹). پژوهش ها نشان می دهند ۸۰-۱۵ درصد سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* شناسایی شده در منابع مختلف قابلیت تولید انتروتوکسین را دارند. روش های مختلفی مانند آگلوتیناسیون، ژل دیفیوژن، ژل پرسیپتین و رادیوایمیونواسی جهت شناسایی

انتروتوکسین وجود دارد که از حساسیت کمی برخوردارند و نیاز به فرایندهای وقت گیر استخراج و تغلیظ دارند تا بتوان مقادیر کم از انتروتوکسین را در یک میلی لیتر از نمونه بازیابی نمود (۷). در این میان الایزا یک روش آزمایشگاهی بیوشیمیایی با حساسیت بسیار بالا است که امکان آنالیز تعداد زیادی نمونه، جهت ارزیابی مستقیم انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* به صورت همزمان از طریق آن فراهم است. (۲۲ و ۲۱).

رعایت شرایط بهداشتی جهت تولید مواد غذایی ایمن و مناسب در زنجیره مواد غذایی از مواد اولیه تا مصرف کننده نهایی، یکی از روش های جلوگیری از آلودگی میکروبی به شمار می آید. در این زنجیره، کارخانجات تولید کننده مواد غذایی یکی از مهم ترین بخش های تامین فراورده غذایی ایمن محسوب می شوند. برنامه های مختلفی به صورت جهانی جهت برقراری "روش بهداشت خوب" "Good Hygiene Procedure: GHP" تدوین شده است که می توان به پیاده سازی "برنامه های پیش نیازی" "Pre Requisite Programs: PRPs"، سیستم های مدیریتی اصول تجزیه و تحلیل خطرات و نقاط کنترل بحرانی "Hazard Analytical Critical Control Point: HACCP"، ISO22000، ISO22001، ISO22002، ISO22003، ISO22004 و ISO22005 اشاره کرد (۲۳). در همین راستا جهت برقراری سیستم مدیریت ایمنی در سازمان غذا و دارو وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی در ایران و معاونت های اجرایی زیر مجموعه آن، ارزیابی وضعیت کیفی و بهداشتی کارخانجات تولید کننده مواد غذایی از طریق فرم های "ارزیابی برنامه های پیشنیازی" به صورت سالیانه انجام می گیرد (۲۴).

با توجه به مطالب ذکر شده فراورده های گوشتی مانند سوسیس و کالباس محیط مناسبی برای رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* می باشند اما به دلیل نبود اطلاعات کافی در ایران، بررسی وضعیت این محصولات از نظر انتروتوکسین های مختلف *استافیلوکوکوس اورئوس* احساس می شود. همچنین تا بحال مطالعه ای در ارتباط با تاثیر شرایط بهداشتی براساس بندهای ذکر شده در فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" مصوب سازمان غذا و دارو وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در کشورمان صورت نگرفته است. لذا هدف از این پژوهش شناسایی انتروتوکسین های تولید شده از *استافیلوکوکوس اورئوس* در سوسیس و کالباس تولیدی در کارخانجات فراورده های گوشتی درجه بندی شده به صورت کیفی و بهداشتی براساس فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" در استان اصفهان با روش الایزا می باشد.

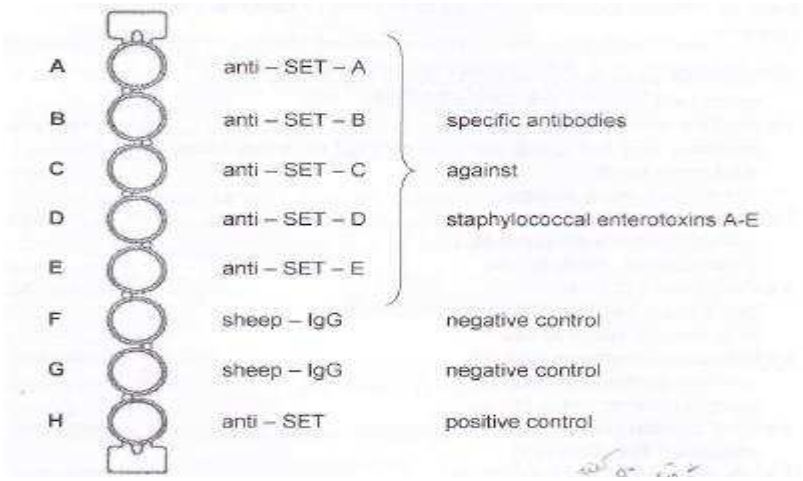
روش بررسی

این مطالعه از نوع توصیفی – تحلیلی(مقطعی) طی سه ماه نمونه برداری از سوسیس و کالباس کارخانجات تولید کننده فراورده گوشتی با درجات مختلف کیفی در تابستان ۱۳۹۴ صورت پذیرفت. در ابتدا جهت ارزیابی وضعیت کیفی کارخانجات تولید کننده فراورده گوشتی، تکمیل فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" مصوب سازمان غذا و دارو وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی برای ۱۳ کارخانه فعال تولید کننده فراورده گوشتی (سوسیس و کالباس) در استان اصفهان انجام شد. لازم به ذکر است امتیازات درجه کیفی آ، ب، ث و د به ترتیب۱۰۰۰-۹۰۰ ، ۸۹۹-۸۰۰، ۷۹۹-۶۵۰ و ۶۴۹-۵۰۰ براساس فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" می باشد. پس از تکمیل فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" مشخص گردید که تعداد کارخانجات تولید کننده فراورده گوشتی با درجه کیفی آ، ب، ث و د در استان اصفهان به ترتیب ۲، ۵، ۳ و ۳ عدد می باشد. سپس به صورت تصادفی چهار کارخانه با درجات کیفی آ، ب، ث و د جهت نمونه برداری انواع مختلف

سوسیس و کالباس انتخاب گردید. ارزیابی وضعیت بهداشتی در فرم مذکور براساس چهار فاکتور "بهداشت کارگران"، "تولید و فراوری"، "شست و شو، ضدعفونی و نظافت" و "شناسایی خطر و پایش " نیز برای کارخانجات فراورده گوشتی مورد نظر تعریف گردید. امتیازات مربوط به وضعیت "کاملا مطلوب"، "مطلوب"، "متوسط" و "نامطلوب" فاکتورهای بهداشتی در فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی"، به ترتیب ۲۰۹-۱۸۸، ۱۸۷-۱۶۷، ۱۶۶-۱۲۵ و ۱۲۴-۱۰۵ می باشد (۲۴ و ۲۳). امتیازات کیفی مربوط به فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" کارخانجات مورد بررسی و مجموع امتیازات چهار فاکتور بهداشتی "بهداشت کارگران"، "تولید و فراوری"، "شست شو، ضدعفونی و نظافت" و "شناسایی خطر و پایش" در مطالعه حاضر در جدول ۱ نشان داده شده است. تعداد ۲۱ نمونه از هریک از کارخانجات فراورده گوشتی با درجه کیفی آ و ب و ۱۵ نمونه از هر یک از کارخانجات فراورده گوشتی با درجه کیفی ث و د بررسی گردید. نمونه های مورد بررسی در شرایط واقعی تولید در طی بیست بازدید از انبار محصول کارخانجات فراورده گوشتی، به صورت تصادفی با درصد های مختلف گوشت ذکر شده در استاندارد ملی ایران شامل ۵۰-۴۰، ۶۰-۵۱، ۸۰-۶۱ و ۹۰-۸۱ درصد انتخاب گردید (تعداد نمونه سوسیس و کالباس به ترتیب ۲۷ و ۴۵ نمونه) و در شرایط سرد و در کنار یخ در روز نمونه برداری به آزمایشگاه کنترل کیفیت مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر کرد انتقال داده شد و حداکثر تا ۲۴ ساعت پس از نمونه گیری از نظر حضور انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* با کیت الایزا مورد آزمایش قرار گرفت (۲۵). به دلیل رعایت اخلاق در پژوهش از ذکر کارخانجات فراورده گوشتی مورد بررسی در پژوهش حاضر خودداری می گردد.

کیت کمی الایزای مورد استفاده در مطالعه حاضر از نوع الایزای مستقیم جهت ارزیابی ایمونولوژیکی همزمان انتروتوکسین های A، B، C، D و E *استافیلوکوکوس اورئوس* از شرکت ریداسکرین کشور آلمان تهیه گردید. کیت از هشت چاهک (A-H) مطابق شکل ۱ تشکیل شده است. چاهک های A، B، C، D و E دارای آنتی بادی های خاص واکنش دهنده با پنج نوع انتروتوکسین *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب A، B، C، D و E می باشند. چاهک F و G (کنترل منفی) حاوی ایمونوگلوبین G گوسفند و چاهک H به عنوان کنترل مثبت، حاوی آنتی بادی های انتروتوکسین *استافیلوکوکسی* می باشد. در کیت مورد نظر مقدار ۲-۱ نانوگرم بر میلی لیتر از هر انتروتوکسین *استافیلوکوکوس اورئوس* قابل شناسایی است. به صورت خلاصه، در ابتدا حدود ۲۵-۱۰ گرم از نمونه پس از توزین با ۱/۵ میلی لیتر محلول بافر فسفات (Phosphate Buffer Solution: PBS) (pH =۷/۴) مخلوط و در هاون جهت ایجاد یک ترکیب یکنواخت کوبیده شد. حدود ۵ گرم از نمونه با ترازو وزن و با ۷/۵ میلی لیتر محلول بافر فسفات، مخلوط و در ورتکس به مدت ۱۵ دقیقه همگن شد. نمونه یکنواخت شده در لوله های مخصوص سانتریفیوژ (3500*g) ریخته شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس چربی با سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر از لایه رویی جداسازی گردید. نمونه های سانتریفیوژ شده در لوله های اپندرف ۱/۵ سی سی ریخته و ۱۰۰ میکرولیتر از آنها به چاهک های کیت الایزا (A-E) انتقال یافت. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از کنترل مثبت و منفی در چاهک های F، G و H اضافه شد و به صورت دستی با ضربه زدن به دیواره کیت، ترکیب یکنواخت گردید. سپس کیت در داخل کاور قرار گرفته و به مدت یکساعت در دمای ۳۷-۳۵ درجه سلسیوس انکوبه شد. چاهک ها با ۳۰۰ میکرولیتر محلول واشینگ بافر آماده به تعداد ۳ الی ۴ بار شستشو شد. مرحله بعد اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر از محلول کونژوگه ۱ (آنتی بادی های نشاندار با ترکیب بیوتین جهت واکنش با توکسین) به کلیه چاهک ها بود. کیت در

داخل کاور آلومینیومی قرار داده شد و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷-۳۵ درجه سلسیوس انکوبه گردید. مایع داخل چاهک ها خالی و با ۳۰۰ میکرولیتر واشینگ بافر، ۳ الی ۴ بار شست و شو داده شد. در مرحله بعد ۱۰۰ میکرولیتر محلول کونژوگه ۲ (آنزیم پراکسیداز جهت ایجاد پیوند با توکسین) به همه چاهک ها اضافه و تکان داده شد و مانند مرحله قبل، شست و شو با واشینگ بافر تکرار گردید. در پایان ۱۰۰ میکرولیتر از ترکیب سوبسترا-کروموژن به هر چاهک اضافه و تکان داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷-۳۵ درجه سلسیوس انکوبه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده به همه چاهک ها اضافه و با ملایمت مخلوط گردید. در نهایت جذب در طول موج های ۴۵۰ و ۶۳۰ نانومتر در دستگاه الایزا ریدر (شرکت Biotek، آمریکا) قرائت و اطلاعات میزان جذب هر چاهک به صورت جداگانه ثبت گردید. جهت تفسیر نتایج، میانگین جذب قرائت شده در چاهک F و G (کنترل منفی) برای هر نمونه به صورت جداگانه محاسبه گردید. سپس مقدار عددی ۰/۱۵ براساس اطلاعات ثبت شده در کاتالوگ کیت به آن اضافه شد. عدد بدست آمده "مقدار آستانه" نام دارد. جهت تفسیر نتایج برای نمونه های اصلی، نمونه هایی به عنوان انتروتوکسین مثبت در نظر گرفته شد که میزان جذب آن ها در طول موج های ۴۵۰ و ۶۳۰ نانومتر در چاهک های A تا E، مساوی یا بیش از "مقدار آستانه" آزمون باشد. همچنین نمونه ای از نظر انتروتوکسین *استافیلوکوکوس اورئوس* منفی است که میزان جذب آن در چاهک های A تا E در طول موج های ۴۵۰ و ۶۳۰ نانومتر کمتر از حد آستانه باشد (۲۷ و ۲۶ و ۲۱ و ۱۲). نتایج حاصل از شناسایی انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* و درجه بندی کیفی و بهداشتی کارخانجات تولید کننده فرآورده گوشتی در دو سطح آمار توصیفی شامل فراوانی و آمار تحلیلی شامل آزمون مربع کای با سطح معنی داری $P<۰/۰۵$ در نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ تجزیه و تحلیل شد.



شکل ۱: چاهک های کیت الایزا مورد استفاده در پژوهش

یافته ها

مقادیر جذب نمونه های تزریق شده به کیت الایزا در طول موج ۴۵۰ نانومتر جهت بررسی انتروتوکسین A در فاصله ۰/۰۴۴-۰/۰۴۱ ، انتروتوکسین B در فاصله ۰/۰۴۳-۰/۰۴۰، انتروتوکسین C در فاصله ۰/۰۴۳-۰/۰۳۹، انتروتوکسین D در فاصله ۰/۰۵۶-۰/۰۳۹و انتروتوکسین E در فاصله ۰/۰۵۲-۰/۰۴۱ بود (جدول ۲). به صورت متناظر مقادیر جذب نمونه های تزریق شده فراورده گوشتی سوسیس و کالباس به کیت الایزا در طول موج ۶۳۰ نانومتر برای بررسی انتروتوکسین

های A، B، C، D و E معادل ۰/۰۵۱-۰/۰۴۰، ۰/۰۵۱-۰/۰۳۹، ۰/۰۴۷-۰/۰۳۹، ۰/۰۵۶-۰/۰۴۰ و ۰/۰۶۷-۰/۰۴۱ بود (جدول ۳). حد آستانه در دوازده نمونه مورد بررسی در هر کیت در طول موج های ۴۵۰ و ۶۳۰ نانومتر به ترتیب در فاصله ۰/۲۱۳-۰/۱۹ و ۰/۳۰۴-۰/۱۹۱ می باشد (جدول ۴). براساس نتایج ارائه شده در جداول ۲ و ۳ مشاهده می شود که میزان جذب هر نمونه در چاهک مورد نظر کمتر از مقادیر حد آستانه ذکر شده در جدول ۴ است. بنابراین نمونه های سوسیس و کالباس از نظر وجود انتروتوکسین های A، B، C، D و E *استافیلوکوکوس اورئوس* منفی بودند. اختلاف معنی داری نیز در نتایج حاصل براساس درجات متفاوت کیفی و مشابه بهداشتی کارخانجات تولید کننده فراوده گوشتی مشاهده نشد ($p<0/05$).

جدول ۱: امتیازات درجه بندی کیفی و بهداشتی فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" در کارخانه های فراورده گوشتی با درجات مختلف کیفی

بهداشت کارگران[1]	تولید و فراوری[2]	شست شو، ضدعفونی و نظافت[3]	شناسایی خطر و پایش[4]	امتیاز بهداشتی[5]	امتیاز کیفی[6]
کارخانه فراورده گوشتی با درجه کیفی آ					
۳۹	۷۳	۲۷	۴۴	۱۸۳	۹۲۴
کارخانه فراورده گوشتی با درجه کیفی ب					
۴۱	۷۷	۳۰	۳۸	۱۸۶	۸۲۵
کارخانه فراورده گوشتی با درجه کیفی ث					
۴۱	۸۲	۲۴	۳۵	۱۸۲	۷۵۴
کارخانه فراورده گوشتی با درجه کیفی د					
۳۴	۶۸	۲۵	۴۱	۱۶۸	۶۱۴

[1] حداکثر امتیاز شاخص بهداشتی "بهداشت کارگران" براساس فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" معادل ۴۵

[2] حداکثر امتیاز شاخص بهداشتی "تولید و فراوری" براساس فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" معادل ۸۴

[3] حداکثر امتیاز شاخص بهداشتی "شست و شو، ضدعفونی و نظافت" براساس فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" معادل ۳۳

[4] حداکثر امتیاز شاخص بهداشتی "شناسایی خطر و پایش" براساس فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" معادل ۴۷

[5] امتیاز ۲۰۹-۱۸۸ بیانگر وضعیت (کاملا مطلوب)، امتیاز ۱۸۷-۱۶۷ وضعیت (مطلوب)، امتیاز ۱۶۶-۱۲۵ وضعیت (متوسط) و امتیاز ۱۲۴-۱۰۵ وضعیت (نامطلوب)

[6] حداکثر امتیاز کیفی در فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" معادل ۱۰۰۰ ، درجات آ، ب، ث و د به ترتیب دارای امتیازات ۱۰۰۰-۹۰۰، ۸۹۹-۸۰۰، ۷۹۹-۶۵۰ و ۶۴۹-۵۰۰

جدول ۲: مقادیر جذب نمونه های تزریق شده به کیت الایزا در طول موج ۴۵۰ نانومتر

مشخصات چاهک	مقادیر جذب نمونه ها در کیت الایزا											
A	۰/۰۴۱	۰/۰۴۳	۰/۰۴۴	۰/۰۴۳	۰/۰۴۲	۰/۰۴۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۲	۰/۰۴۲	۰/۰۴۱
B	۰/۰۴۰	۰/۰۴۲	۰/۰۴۰	۰/۰۴۳	۰/۰۴۱	۰/۰۴۳	۰/۰۴۰	۰/۰۴۰	۰/۰۴۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۲	۰/۰۴۱
C	۰/۰۳۹	۰/۰۴۰	۰/۰۴۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۳	۰/۰۴۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۰	۰/۰۴۱	۰/۰۴۱
D	۰/۰۴۱	۰/۰۴۰	۰/۰۴۰	۰/۰۴۲	۰/۰۴۴	۰/۰۴۰	۰/۰۳۹	۰/۰۴۰	۰/۰۵۶	۰/۰۴۱	۰/۰۴۲	۰/۰۴۱
E	۰/۰۴۲	۰/۰۴۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۶	۰/۰۴۷	۰/۰۴۴	۰/۰۴۴	۰/۰۴۲	۰/۰۵۱	۰/۰۴۲	۰/۰۴۴	۰/۰۵۲
F	۰/۰۴۰	۰/۰۴۵	۰/۰۴۵	۰/۰۵۲	۰/۰۴۶	۰/۰۴۶	۰/۰۴۴	۰/۰۴۱	۰/۰۴۰	۰/۰۴۷	۰/۰۴۶	۰/۰۴۳
G	۰/۰۴۰	۰/۰۴۲	۰/۰۴۶	۰/۰۷۴	۰/۰۴۶	۰/۰۴۶	۰/۰۴۳	۰/۰۴۳	۰/۰۴۲	۰/۰۴۳	۰/۰۴۳	۰/۰۴۳
H	۱/۶۰۹	۱/۶۲۵	۱/۵۸۹	۱/۵۸۲	۱/۵۷۵	۱/۵۷۲	۱/۵۶۴	۱/۵۴۰	۱/۵۳۶	۱/۵۷۶	۱/۵۴۱	۱/۵۲۵

جدول ۳: مقادیر جذب نمونه های تزریق شده به کیت الایزا در طول موج ۶۳۰ نانومتر

مشخصات چاهک	مقادیر جذب نمونه ها در کیت الایزا											
A	۰/۰۴۴	۰/۰۴۹	۰/۰۵۱	۰/۰۴۷	۰/۰۴۴	۰/۰۴۳	۰/۰۴۳	۰/۰۴۰	۰/۰۴۰	۰/۰۴۱	۰/۰۴۳	۰/۰۴۰
B	۰/۰۴۰	۰/۰۴۱	۰/۰۴۱	۰/۰۵۱	۰/۰۴۳	۰/۰۵۰	۰/۰۴۰	۰/۰۳۹	۰/۰۴۱	۰/۰۴۰	۰/۰۴۵	۰/۰۴۰
C	۰/۰۳۹	۰/۰۳۹	۰/۰۴۲	۰/۰۴۴	۰/۰۴۷	۰/۰۴۱	۰/۰۴۱	۰/۰۴۰	۰/۰۴۰	۰/۰۳۹	۰/۰۴۱	۰/۰۴۰
D	۰/۰۴۳	۰/۰۴۰	۰/۰۴۳	۰/۰۵۲	۰/۰۵۰	۰/۰۴۰	۰/۰۴۰	۰/۰۴۱	۰/۰۵۶	۰/۰۴۱	۰/۰۴۵	۰/۰۴۱
E	۰/۰۴۷	۰/۰۴۱	۰/۰۴۳	۰/۰۶۳	۰/۰۶۷	۰/۰۵۶	۰/۰۵۳	۰/۰۴۳	۰/۰۵۳	۰/۰۴۲	۰/۰۵۴	۰/۰۵۷
F	۰/۰۴۰	۰/۰۴۳	۰/۰۵۷	۰/۰۸۷	۰/۰۶۹	۰/۰۶۴	۰/۰۴۵	۰/۰۴۱	۰/۰۴۰	۰/۰۷۱	۰/۰۶۱	۰/۰۴۰
G	۰/۰۴۲	۰/۰۴۲	۰/۰۶۹	۰/۲۲۲	۰/۰۶۴	۰/۰۷۰	۰/۰۴۹	۰/۰۴۶	۰/۰۴۷	۰/۰۴۸	۰/۰۴۸	۰/۰۴۹
H	۲/۹۹۷	۲/۸۱۵	۲/۸۲۳	۲/۹۹۷	۲/۹۸۳	۲/۹۷۹	۲/۹۶۰	۲/۸۱۵	۲/۷۷۷	۲/۹۰۰	۲/۸۲۳	۲/۷۵۱

جدول ۴: حد آستانه محاسبه شده در کیت الایزا در طول موج های ۴۵۰ و ۶۳۰ نانومتر

طول موج ۴۵۰ نانومتر												
میانگین مقادیر جذب در چاهک های F و G	۰/۰۴۰	۰/۰۴۳۵	۰/۰۴۵۵	۰/۰۶۳	۰/۰۴۶	۰/۰۴۶	۰/۰۴۳۵	۰/۰۴۲	۰/۰۴۱	۰/۰۴۵	۰/۰۴۴۵	۰/۰۴۳
حد آستانه	۰/۱۹	۰/۱۹۳	۰/۱۹۵	۰/۲۱۳	۰/۱۹۶	۰/۱۹۶	۰/۱۹۳	۰/۱۹۲	۰/۱۹۱	۰/۱۹۵	۰/۱۹۴	۰/۱۹۳
طول موج ۶۳۰ نانومتر												
میانگین مقادیر جذب در چاهک های F و G	۰/۰۴۱	۰/۰۴۲	۰/۰۶۳	۰/۱۵۴	۰/۰۶۶	۰/۰۶۷	۰/۰۴۷	۰/۰۴۳	۰/۰۴۳	۰/۰۵۹	۰/۰۵۴	۰/۰۴۴
حد آستانه	۰/۱۹۱	۰/۱۹۲	۰/۲۱۳	۰/۳۰۴	۰/۲۱۶	۰/۲۱۷	۰/۱۹۷	۰/۱۹۳	۰/۱۹۳	۰/۲۰۹	۰/۲۰۴	۰/۱۹۴

بحث

استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یکی از عوامل مهم مسمومیت در مواد غذایی است که قادر به ایجاد مشکل در انسان می باشد. انتروتوکسین مترشحه از این باکتری به عنوان چهارمین عامل ایجاد بیماری های ناشی از غذا شناخته شده است (۲۰). معمولا غذاهایی باعث شیوع مسمومیت غذایی *استافیلوکوکی* می شوند که طی دوره فرآیند و یا ذخیره سازی در دماهای نامطلوب قرار گرفته اند. هم چنین در غذاهایی خطر تولید سم *استافیلوکوکی* وجود دارد که یا در تماس با دست هستند یا در آن ها سایر فلور میکروبی نابود شده و یا به وسیله پختن و یا نمک زدن، امکان رشد سایر میکروارگانیسم ها مهیا نمی باشد (۶). با توجه به مطالب ذکر شده در بین مواد غذایی، گوشت و فراورده های گوشتی به عنوان شایع ترین علل بروز مسمومیت غذایی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* شناخته شده اند (۱۷ و ۴). در پژوهش حاضر که به بررسی پنج انتروتوکسین اصلی *استافیلوکوکوس اورئوس* در ۷۲ نمونه فراورده سوسیس و کالباس نمونه برداری شده از انبار محصول چهار کارخانه فعال تولید کننده فراورده گوشتی با درجات مختلف کیفی و مشابه بهداشتی در استان اصفهان با روش الایزا پرداخته شد انتروتوکسین های A، B، C، D و E *استافیلوکوکوس اورئوس* شناسایی نشد.

عدم جداسازی انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* در مطالعه حاضر قابل مقایسه با دیگر پژوهش های انجام

گرفته است. برای مثال در مطالعه انجام شده توسط Holeckova و همکاران در سال ۲۰۰۲ در شرق اسلواکی در نمونه های سوسیس مورد مطالعه، انتروتوکسین *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی نگردید که باعدم وجود این سم در ۲۷ نمونه سوسیس مطالعه حاضر مشابهت دارد (۲۸). در مطالعه انجام شده توسط Tang و همکاران در سال ۲۰۱۵ برروی ۳۱ نمونه فراورده گوشتی پخته در کشور چین، انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* شناسایی نشد. در حالی که از ۲۲ نمونه گوشت خام به ترتیب ۶ و ۲ نمونه دارای انتروتوکسین های نوع A و D بودند (۱۱).

نتایج پژوهش ما در ارتباط با درصد آلودگی با انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با برخی از نتایج مطالعات قبلی برروی نمونه های گوشت یا محصولات گوشتی کشور ایران و دیگر کشورهای جهان کمتر است و دارای اختلاف می باشد. بررسی sokari و همکاران در سال ۱۹۹۰ برروی غذاهای آماده مصرف در نیجریه نشان دادکه از بین ۵۵۲ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* مثبت، ۴۸٪ قابلیت تولید انتروتوکسین را داشتند (۲۹). مطالعه Pereira و همکاران در سال ۲۰۰۹ در کشور پرتغال برروی غذاهای آماده مصرف نشان داد که ۶۹٪ از *استافیلوکوکوس اورئوس* جداشده قابلیت تولید انتروتوکسین را داشتند و بیشترین میزان آلودگی انتروتوکسین در بین مواد غذایی مختلف مربوط به گوشت بوده است (۳۰). توکلی و همکاران در سال ۱۳۹۱ میزان آلودگی به انتروتوکسین *استافیلوکوکوس اورئوس* را در چهار نوع غذای گوشتی پرمصرف (کباب کوبیده، کوبیده مخلوط، کوفته گوشتی و کتلت گوشت) مورد بررسی در یکی از مراکز نظامی شهرتهران، ۹/۵۷٪ گزارش نمودند (۹) که می تواند ناشی از نگهداری نامناسب مواد اولیه و در نتیجه رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و تولید توکسین های این باکتری گردد (۳۱). در تحقیقی که توسط moon و همکاران در سال ۲۰۰۷ برروی سه گروه از مواد غذای عرضه شده به بازار (شیر، گوشت خام و سبزیجات) انجام گرفت میزان آلودگی غذاهای گوشتی بیشتر از دو گروه دیگر و میزان آن ۳۶ درصد گزارش گردید (۳۲). Oh و همکاران در سال ۲۰۰۷ در کشور کره طی مطالعه ای در خصوص بررسی آلودگی غذاهای آماده مصرف به *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان دادند که از ۳۳۳۲ نمونه غذای آماده، ۸/۶ درصد آن ها حامل *استافیلوکوکوس اورئوس* می باشد (۳۳). در بررسی انجام شده در سال ۲۰۰۷ در کشور ایتالیا توسط Normanno و همکاران برروی ۹۹۳ فراورده گوشتی (گوشت جوجه، خوک، گوسفند و سوسیس خوک)، ۵۰ ایزوله مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* تولید کننده انتروتوکسین شناسایی گردید (۴). Huong و همکاران در سال ۲۰۱۰ در ویتنام، در ۲۹ و ۳۲ نمونه گوشت تخمیری و خوک گریل شده، به ترتیب ۴ (۱۳/۸٪) و ۷ (۲۱/۸٪) نمونه آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* را شناسایی نمودند. از ایزوله های مثبت این باکتری، به ترتیب ۱ (۲۵٪) و ۲ (۲۸/۶٪) قابلیت تولید انتروتوکسین های نوع B و C را داشتند (۸).

Madahi و همکاران در سال ۲۰۱۴ میزان آلودگی انتروتوکسین A *استافیلوکوکوس اورئوس* در ۴۲۰ نمونه ناگت مرغ در استان اصفهان و چهارمحال و بختیاری، ۳۳/۳۳ درصد گزارش نمودند (۳۴). در مطالعه ای دیگر توسط مداحی و همکاران در سال ۲۰۱۴ در ایران برروی ۴۲۰ فراورده گوشتی ناگت مرغ میزان شیوع انتروتوکسین *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۶/۴۲٪ گزارش گردید (۱۲). مغایرت مشاهده شده در نتایج مطالعه حاضر با دیگر بررسی ها، می تواند مربوط به مکان نمونه برداری باشد که در سطح عرضه یا رستوران و به صورت کلی در خارج از محیط تولید فراورده های گوشتی صورت گرفته است (۱۲و۹-۸و۴). شرایط حمل و نقل، فعالیت پرسنل شاغل در محیط خارج از کارخانجات فراورده گوشتی و وضعیت سطح

عرضه از نظر شرایط نگهداری در فروشگاه ها و سوپرمارکت ها از جمله مواردی است که باید به آن توجه خاصی در راستای کنترل آلودگی میکروبی نمود. در حالیکه در مطالعه حاضر نمونه برداری از انبار محصول کارخانجات تولید کننده فراورده گوشتی صورت گرفته است (۳۵).

از دیگر دلایل عدم مشاهده اختلاف معنی دار در عدم وجود انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه های سوسیس و کالباس جمع آوری شده در کارخانجات فراورده های گوشتی با درجات مشابه بهداشتی علیرغم درجات متفاوت کیفی در مطالعه حاضر، می تواند رعایت اصول بهداشتی و توجه به اصول ذکر شده در فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" در مراحل مختلف تولید از ماده خام ورودی به کارخانجات فراورده گوشتی تا محصول نهایی مانند بازرسی و نگهداری ماده خام، دیفراست کردن، قصابی، چرخ کردن، عمل آوری، کاتریزاسیون، پخت، سرد کردن مناسب و ذخیره سازی در سردخانه جهت نگهداری محصول دانست (۲۴). همچنین حذف خمیر مرغ از شهریور ۱۳۹۳ تاکنون در تولید فراورده های گوشتی سوسیس و کالباس عامل مهم و تاثیرگذار دیگر در کنترل آلاینده میکروبی در این گروه از محصولات می باشد. خمیر مرغ می تواند منبع باکتری های بیماریزا مانند سالمونلا و *استافیلوکوکوس اورئوس* باشد. در مطالعه انجام شده توسط Karimi و همکاران (۲۰۱۰) از ۵۰ نمونه خمیر مرغ نمونه برداری شده از بیست کارخانه تولید کننده سوسیس و کالباس، ۳۸٪ نمونه ها آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* و بیش از حد مجاز استاندارد بوده است (۳۷ و ۳۶). در تحقیق انجام شده توسط رحیمی و همکاران (۱۳۸۲) برروی صد نمونه خمیر مرغ منجمد، آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* به میزان ۶۸٪ گزارش گردید. بخش عمده این آلودگی مربوط به لاشه مرغ در مراحل مختلف کشتار در کشتارگاه ها بوده است (۳۸). در دهه های اخیر توجه ویژه ای به توسعه سیستم های مختلف مدیریت ایمنی مواد غذایی در راستای دستیابی جامعه به فراورده های غذایی ایمن و باکیفیت می شود. پیاده سازی برنامه های پیش نیازی و طراحی فرایند و محصول براساس اصول تجزیه و تحلیل خطرات و نقاط کنترل بحرانی از اقداماتی است که می تواند در دستیابی به غذای ایمن تاثیر گذار باشد که در فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" در قسمت "شناسایی خطر و پایش" به آن توجه می شود (۴۰ و ۳۹). گزارشی مبنی بر کاهش شیوع *استافیلوکوکوس اورئوس* در غذاهای آماده مصرف گوشتی در یک رستوران در والنسیا اسپانیا توسط Soriano و همکاران (۲۰۰۲) پس از پیاده سازی اصول تجزیه و تحلیل خطرات و نقاط کنترل بحرانی به میزان ۲۱٪ منتشر شده است که این موضوع با نتایج مطالعه ما که حاکی از رعایت فاکتورهای بهداشتی فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" توسط کارخانجات تولید کننده فراورده های گوشتی مورد بررسی در عدم وجود انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* است همخوانی دارد (۴۱). براساس نتایج مطالعه حاضر می توان گفت بازرسی مداوم سازمان های نظارتی در راستای تکمیل فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" به صورت سالیانه و حمایت های تشویقی نظیر اعطای "نشان ایمنی و سلامت"، تایید "گواهی سیستم های مدیریت ایمنی" و تسهیل نمودن صادرات محصولات تولیدی از سوی سازمان غذا و دارو وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی به کارخانجات تولید کننده از جمله عوامل موثر در ارتقای وضعیت کیفی و بهداشتی کارخانجات تولید کننده فراورده های گوشتی و کنترل آلودگی میکروبی در فراورده گوشتی سوسیس و کالباس به شمار می رود. درپایان لازم به ذکر است براساس گزارش سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۱۵، مصرف سوسیس و کالباس یا فراورده های گوشتی فرایند شده به عنوان فراورده هایی با تاثیرات منفی بر سلامت مصرف کنندگان گزارش شده است و تاکید بر کاهش مصرف این محصول می باشد (۴۲). اما نظر به گرایش جامعه به مصرف غذاهای فست فود،

نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده ایمن بودن فراورده های گوشتی سوسیس و کالباس به انتروتوکسین *استافیلوکوکوس اورئوس* می باشد (۴۳). یافته های مطالعه حاضر بایستی با در نظر داشتن برخی محدودیت ها تفسیر شود. از جمله محدودیت های مطالعه حاضر می توان به نداشتن اطلاعات در خصوص انتروتوکسین های *استافیلوکوکوس اورئوس* در سوسیس و کالباس در دیگر استان های ایران و همچنین در سطح بین المللی برروی محصول کالباس و حجم کم نمونه ها دانست. انجام مطالعات گسترده در خصوص بررسی وضعیت *استافیلوکوکوس اورئوس و* انتروتوکسین های آن در فراورده های مختلف گوشتی در مراحل مختلف تولید، سطح عرضه و منازل جهت بررسی های جامع اپیدمیولوژی پیشنهاد می شود.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه عدم وجود انتروتوکسین های A،B،C،D و E *استافیلوکوکوس اورئوس* در سوسیس و کالباس نمونه برداری شده از کارخانجات مختلف تولید کننده فراورده گوشتی در استان اصفهان با درجات مختلف کیفی براساس فرم "ارزیابی برنامه های پیش نیازی" را نشان داد. کارخانجات مورد بررسی از نظر شاخص های بهداشتی دارای شرایط مشابهی بودند. با توجه به نتایج حاصله می توان گفت بکارگیری تدابیر مناسب بهداشتی، بازرسی و کنترل مستمر کارشناسان معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی اصفهان توانسته تاثیر مثبتی بر کنترل تولید انتروتوکسین *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر و سپاس خود را از مسئولین محترم آزمایشگاه کنترل کیفیت مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر کرد ابراز می نمایند.

References

1. Zeleny R, Emteborg H, Charoud-Got J, Schimmel H, Nia Y, Mutel I, et al. Development of a reference material for Statphylococcus aureus enterotoxin A in cheese: Feasibility study, processing, homogeneity and stability assessment. Food Chem 2015; 168:241-246.
2. Rodriguez A, Gordillo R, Andrade MJ, Cordoba JJ, Rodriguez M. Development of an efficient real-time PCR assay to quantify enterotoxin-producing staphylococci in meat products. Food Control 2016; 60:302-308.
3. Juneja VK, Sofos JN. Pathogens and toxins in foods. USA: ASM Press, 2010.p.121-7.
4. Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Correcnte M, Parisi A, et al. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolated from meat and dairy products. Int J Food Microbiol 2007; 115: 290- 296.
5. EFSA (European Food Safety Authority), ECDC (EuropeanCentre for Disease Prevention and Control). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. EFSA J 2015; 13: 3991.
6. Eshraghi S, Salehipour Z, Pourmand MR, Rahimi Forushani A, Zahraei Salehi MT, Agha Amiri S, et al. Prevalence of tst, entC, entA and entA/C genes in staphylococcus aureus strains isolated from different foods. TUMJ 2009; 67:470-476. [In Persian]
7. Imani-Fooladi AA, Riazipour M, Sattari M. Molecular and serological detection of enterotoxigenic Staphylococcus aureus from traditionally dairy products. J Shahrekord Uni Med Sci 2010; 11: 19-26. [In Persian]
8. Huong BTM, Mahmud ZH, Neogi SB, Kassu A, Nhien NV, Mohammad A, et al. Toxigenicity and genetic diversity of Staphylococcus aureus isolated from Vietnamese reade-to-eat foods. Food Control 2010; 21: 166-171.

9. Tavakkoli HR, Jodaei AA, Imani-Fooladi A, Sarshar M, Rafati H, Asadi B. Contamination of meat food to enterotoxigenic Staphylococcus aureus and their common strains. Iranian J Infect Dis 2013; 17:9-15. [In Persian]
10. Song M, Bai Y, Xu J, Carter MQ, Shi C, Shi X. Genetic diversity and virulence potential of Staphylococcus aureus isolates from raw and processed food commodities in Shanghai. Int J Food Microbiol 2015; 195: 1-8.
11. Tang J, Zhang R, Chen J, Zhao Y, Tang C, Yue H, et al. Incidence and characterization of Staphylococcus aureus strains isolated from food markets. Ann Microbiol 2015; 65: 279-286.
12. Madahi H, Rostami F, Rahimi E, Safarpoor Dehkordi F. Prevalence of Enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolated from chicken nugget in Iran. Jundishapur J Microbiol 2014;7: e 10237.
13. Hennekinne JA, de Buyser ML, Dragacci S. Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS Microbiol Rev 2012; 26: 815-836.
14. Schelin J, Wallin-Carlquist N, Thorup Cohn M, Lindqvist R, Barker GC, Radstrom P. The formation of Staphylococcus aureus enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. Virulence 2011; 2:580-592.
15. FSANZ (Food Standards Austria New Zealand). Imported food risk statement for uncooked ready-to-eat spreadable sausages and staphylococcal enterotoxin. 2014; Available from URL: http://www.foodstandards.gov.au/about/safefoodsystem/Pages/default.aspx. Access time: 4/09/2014.
16. Wu X, Su YC. Growth of Staphylococcus aureus and enterotoxin production in pre-cooked tuna meat. Food Control 2014; 42:63-70.
17. Pillsbury A, Chiew M, Bates J, Sheppeard V. An outbreak of Staphylococcal food poisoning in a commercially catered buffet. Commun Dis Intell 2013; 37: 144- 148.
18. Naidoo K, Lindsay D. Survival of Listeria monocytogenes, and enterotoxin-producing Staphylococcus aureus and Staphylococcus pasteuri, during two types of biltong-manufacturing processes. Food Control 2010; 21: 1042-1050.
19. Peacock SJ. Staphylococus. Topley and Wilsons's microbiology and microbial infections. 10th ed. London: ASM Press, 2005.p.771-7.
20. Rahimi E, Nonahal F, Salehi E. Detection of classical enterotoxins of Staphylococcus aureus strains isolated from raw meat in Esfahan, Iran. Heal Scope 2013; 2: 95-98.
21. Rahimi E. Detection of classical enterotoxins of Staphylococcus aureus in raw sheep, goat, camel , and water buffalo milk by ELISA method. Comp Clin Pathol 2013; 22:181-184.
22. Robinson RK, Batt CA, Patel PD. Encylopedia of Food Microbiology. USA: Academic Press, 2000.p. 2066-84.
23. Esfandiari Z, Badiey M, Maracy MR, Sarhangpour R, Yazdani E, Mahomodian P. Examination of Natamycin content in Iranian yoghurt drink (Doogh) produced in dairy processing plants in Isfahan, Iran. J HSR 2013; 1585-1594. [In Persian]
24. FDO (Food and Drug Organization, Ministry of Health of Islamic Republic of Iran). Implementation of Pre Requisite Programs "PRPs" in food stuff processing plants. Act 5988. 2010. [In Persian].
25. ISIRI (Institute of Standards and Industrial Research of Iran). Sausages specifications and test methods. 2006. No. 2303. Available from URL: http://www.isiri.org, Access time:25/2/2006.
26. Rahimi E, Ghasemian safai H. Detection of classical enterotoxins of Staphylococcus aureus strains isolated from bovine subclinical mastitis in Isfahan, Iran. Vet Microbiol 2010; 141: 393-394.
27. Rahimi E, Alian F. Presence of enterotoxigenic Staphylococcus aureus in cow, camel, sheep, goat, and buffalo tank milk. Veterinarski Achive 2013; 83: 23-30.
28. Holechova B, Holoda E, Fotta M, Kalinacova V, Gondol J, Grolmus J. Occurrence of enterotoxigenic staphylococcus aureus in food. Ann Agri Environ Med 2002; 9: 179-182.
29. Sokari TG, Tokubiye G, Anozie Saul O. Occurrence of enterotoxin producing strains of Staphylococcus aureus in meat and related samples from traditional markets in Nigeria. J Food Prot 1990; 53: 1069-1078.

30. Pereira V, Lopes C, Castro A, Silva J, Gibbs P, Teixeira P. Characterization for enterotixn production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus isolates from various foods in Portugal. Food Micrbiol 2009; 26: 278-282.
31. Kerry J, Ledwar D. Meat processing. USA: CRC Press, 2002.p. 56-8.
32. Moon JS, Lee AR, Jaw SH, Kang HM, Joo YS, Park YH, et al. Comparision of antibiogram, staphylococcal enterotoxin productivity, and coagulase genotypes among Staphylococcus aureus isolated from animal and vegetable sources in Korea. J Food Prot 2007; 70: 2541-2548.
33. 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; 70:1153-1158.
34. Madahi H, Rostami F, Rahimi E, Safarpoor Dehkordi F, Jalali M. Determination of Enterotoxigenic Staphylococcus aureus in chicken nugget and ready to eat food in Isfahan province by ELISA. Food Hyg 2013; 3: 1-10. [In Persian]
35. Castro A, Santos C, Meireles H, Silva J, Teixeira P. Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of Staphylococcus aureus in the community. J Infect Pub Health 2015; 9: 153-160.
36. ISIRI (Institute of Standards and Industrial Research of Iran). Microbiology mechanically deboned chicken meat-specification and test methods. 1993. No. 9529. Available from URL: http://www.isiri.org Access time:24/10/2007.
37. Karimi M, Mehrabian S, Rahiei Tabatabaei R, Samiai B. A study on microbial properties of mechanically deboned chicken meat in meat plan of Tehran. Food Tech Nut 2010; 7:52-58. [In Persian]
38. Rahimi F, Yousefi R, Aghaei S. Chemical properties and microbial contaminations of mechanically deboned chicken meat used in sausage, ham, and hamburger. 6th Iranian national congress of microbiology 2004.
39. Wallace C, Williams T. Pre requisites: a help or a hindrance to HACCP? Food Control 2001; 12(4):235-240.
40. Domenech E, Amoros JA, Perez-Gonzalvo M, Escriche I. Implementation and effectiveness of the HACCP and pre-requisites in food establishments. Food Control 2011; 22:1419-1423.
41. Soriano JM, Rico H, Molto JC, Manes J. Effect of introduction of HACCP on the microbiological quality of some restaurant meals. Food Control 2002; 13:253-261.
42. WHO. World Health Organization. Q&A on the carcinogenicity of the consumption of red meat and processed meat. 2015. Available from: http://www.who.int/features/qa/cancer-red-meat/en/. Access time: 30 Dec 2015.
43. Alimoradi F, Barikani A, Javadi M, Zamani N, Nori E, Abdolmaleki S. Factors affecting on adolescents' tendency to fast foods (Ready to eat food) consumption. J HSR 2015; 12: 64-69. [In Persian].