فرشید فرهادیان، ۱۴۰۵

بررسی توکسین های باسیلوس سرئوس در شیر خشک نوزادان شهرستان سبزوار با استفاده از pcr

چکیده پایان‌نامه: (شامل خلاصه، اهداف، روش‌های اجرا و نتایج به دست آمده)زمینه و هدف: باسیلوس سرئوس (Bacillus cereus) باکتری اسپورزایی است که با تولید توکسین‌های اسهالی و استفراغی موجب مسمومیت غذایی می‌شود. آلودگی شیر خشک نوزادان به این باکتری و ژن‌های توکسین‌زای آن، با توجه به نابالغ بودن دستگاه ایمنی نوزادان، اهمیت ویژه‌ای دارد. پژوهش حاضر با هدف تعیین فراوانی آلودگی به باسیلوس سرئوس و ژن‌های توکسین‌زای آن در شیر خشک نوزادان عرضه‌شده در شهرستان سبزوار با روش‌های کشت و PCR انجام شد.مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی توصیفی-مقطعی که در سال ???? انجام شد، ?? نمونه شیر خشک از سه برند (هر برند ?? نمونه) بررسی شد. نمونه‌ها روی محیط MYP آگار کشت داده شدند و کلنی‌های مشکوک با رنگ‌آمیزی گرم و آزمون‌های بیوشیمیایی بررسی شدند. فارغ از نتیجه‌ی کشت، DNA از سوسپانسیون اولیه‌ی هر ?? نمونه استخراج و PCR برای ژن 16S rRNA (پرایمر عمومی؛ نشان‌دهنده‌ی حضور DNA باکتریایی) و ژن‌های توکسین‌زای cytK، hblA، nheA و ces روی آن انجام شد. از آن‌جا که پرایمر 16S rRNA عمومی است، «PCR مثبت» در این پژوهش به معنای مثبت بودن PCR این ژن است و به‌تنهایی گونه را تأیید نمی‌کند. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ?? و آزمون‌های کای‌دو، فیشر دقیق و مک‌نمار تحلیل شدند.یافته‌ها: میزان آلودگی بر اساس کشت ????? (?? نمونه) و بر اساس PCR (ژن 16S rRNA) ??? (?? نمونه) بود. بین سه برند از نظر میزان آلودگی تفاوت معناداری وجود نداشت (p>????). بین نتایج کشت و PCR نیز تفاوت معناداری مشاهده نشد، اما توافق کلی دو روش ????? (کاپا ????)، درصد توافق مثبت ??? و درصد توافق منفی ????? بود؛ از آن‌جا که پرایمر 16S rRNA عمومی است، PCR به‌عنوان مقایسه‌گر و نه استاندارد مرجع در نظر گرفته شد. در کل ?? نمونه، ژن nhe با ????? (? نمونه) بیشترین و ژن ces با ???? (? نمونه) کمترین فراوانی را داشت؛ فراوانی ژن‌های hbl و cytK به‌ترتیب ???? و ???? بود و ? نمونه (???) دست‌کم یکی از چهار ژن را داشتند (? نمونه از آن‌ها کشت‌مثبت و ? نمونه کشت‌منفی بود). در برند ? یک نمونه حامل هم‌زمان هر چهار ژن توکسین‌زا بود.نتیجه‌گیری: باسیلوس سرئوس (احتمالی) و ژن‌های توکسین‌زای آن در بخشی از شیر خشک‌های نوزادان عرضه‌شده در سبزوار وجود دارد. با توجه به ناهمخوانی ? نمونه بین دو روش، استفاده‌ی هم‌زمان از کشت میکروبی و PCR اطلاعات تکمیلی فراهم می‌کند. حضور ژن به‌تنهایی به معنای تولید توکسین نیست و پایش مستمر شیر خشک نوزادان توصیه می‌شود.

کلیدواژه‌ها: واژگان کلیدی: باسیلوس سرئوس، شیر خشک نوزادان، PCR، ژن‌های توکسین‌زا، سبزوار

شماره‌ی پایان‌نامه: ۱۲۷۸۲۹۲۰۷۹۱۱۹۱۷۳۷۳۰۴۹۱۶۳۵۳۶۹۴۷
تاریخ دفاع: ۱۴۰۵/۰۷/۲۹
رشته‌ی تحصیلی:
دانشکده:
استاد راهنما: دکتر علی‌اکبر جنت‌آبادی

Thesis:

Title : Investigation of Bacillus cereus toxins in infant formula in Sabzevar city using PCR

Abstract(include summary,goals,executive ways and results):
Background and Objective: Bacillus cereus is a spore-forming bacterium that causes food poisoning by producing diarrheal and emetic toxins. Contamination of infant formula with this bacterium and its toxigenic genes is of particular importance because of the immaturity of the infant immune system. The present study aimed to determine the frequency of contamination with B. cereus and its toxigenic genes in infant formula marketed in Sabzevar County using culture and PCR methods.
Materials and Methods: In this descriptive cross-sectional study conducted in 20252026 (1404 SH), 75 infant formula samples from three brands (25 samples per brand) were examined. Samples were cultured on MYP agar, and suspected colonies were examined by Gram staining and biochemical tests. Independently of the culture result, DNA was extracted from the initial suspension of each of the 75 samples, and PCR was performed on it for the 16S rRNA gene (universal primer; indicating bacterial DNA) and the toxigenic genes nheA, hblA, cytK and ces. Because the 16S rRNA primer is universal, a positive result does not by itself confirm the species; "PCR-positive" here means a positive 16S rRNA PCR. Data were analyzed using SPSS version 26 with the chi-square, Fisher's exact and McNemar tests.
Results: The contamination rate was 17.3% (13 samples) by culture and 16% (12 samples) by PCR (16S rRNA). There was no significant difference among the three brands ($p > 0.05$). No significant difference was observed between culture and PCR results, but overall agreement was 90.7% (kappa 0.66), with positive and negative percent agreement of 75% and 93.7%, respectively; because the 16S rRNA primer is universal, PCR was treated as a comparator rather than a reference standard. Among all 75 samples, nhe had the highest frequency (10.7%, 8 samples) and ces the lowest (1.3%, 1 sample); the frequencies of hbl and cytK were 5.3% and 4.0%, respectively, and 9 samples (12%) carried at least one of the four genes (7 culture-positive and 2 culture-negative). In brand 3, one sample carried all four toxigenic genes simultaneously.
Conclusion: Presumptive B. cereus and its toxigenic genes are present in a portion of the infant formulas marketed in Sabzevar. Given the discordance in 7 samples between the two methods, using culture and PCR together provides complementary information. Gene presence alone does not imply toxin production, and continuous monitoring of infant

formula is recommended.