Downloaded from ijmm.ir at 14:12 +0330 on Sunday November 5th 2017

مجله میکرب شناسی پزشکی ایران
سال ۵ شماره ۷، زمستان۱۳۹۰، صفحات ۲۸- ۲۳

بررسی میزان آلودگی پنیرهای محلی لیقوان تبریز به کلیفرم ها و اشرشیاکلی در شهر مراغه

سمیرا وزیری*[۱]- نبات نقشبندی[۲]

۱) کارشناس ارشدمیکروبیولوژی, هیات علمی , دانشکده زیست شناسی,دانشگاه پیام نور مرکز مراغه.
۲) کارشناس ارشد زیست‌شناسی جانوری, هیات علمی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه پیام نورواحد اشنویه

***نویسنده مسئول مقاله:**
سمیرا وزیری,کارشناس ارشد میکروبیولوژی
دانشکده زیست شناسی
دانشگاه پیام نور,مرکز مراغه
همراه: ۰۹۱۸۶۰۲۸۶۵٤
فاکس: 04212275125
آدرس پست الکترونیکی: samiravzr@gmail.com

چکیده:

زمینه و اهداف: شیر و فراورده های آن به ویژه پنیر که قسمت وسیعی از احتیاجات غذایی انسان را تامین می کند جزو مواد غذایی هستند که نقش مهمی از نظر انتقال بیماری ها به انسان دارند.به همین منظور , در این مطالعه میزان آلودگی پنیرها محلی لیقوان به کلیفرم و اشرشیاکلی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: تعداد۱۰۰ نمونه در طول شش ماه از سطح شهرستان مراغه نمونه برداری و در شرایط استریل به آزمایشگاه مواد خوراکی ,آرایشی و بهداشتی منتقل شد. نمونه ها از نظر کلیفرم و اشرشیاکلی طبق استانداردهای ملی ایران بررسی شدند.

یافته ها: از مجموعه ۱۰۰ نمونه پنیر لیقوان , ۹۸٪ نمونه ها به کلی فرم , ۵۰٪ مواردآلوده به اشریشیاکلی تشخیص داده شد و شدت آلودگی در٤٤٪ نمونه ها به حدی بالا بود که تعداد پرگنه های موجود در پلیت ها ی مربوطه غیر قابل شمارش بود .همچنین٦٦ ٪نمونه ها دارای PH بالاتر از حد استاندارد ایران بودند.

نتیجه گیری: میزان آلودگی پنیرهای بررسی شده به کلیفرم و اشرشیاکلی زیاد و در اغلب موارد از بررسی های مشابه بیشتر است.

کلید واژه ها: کلیفرم ها ,اشرشیاکلی , پنیر سنتی, اسیدیته

Downloaded from ijmm.ir at 14:12 +0330 on Sunday November 5th 2017

مقدمه :

امروزه تامین غذای بهداشتی و سالم برای کلیه افراد جامعه یکی از پایه های اساسی توسعه اقتصادی به شمار می رود , و جامعه ای را می توان مترقی دانست که بتواند سلامتی نسل آینده خود را با تامین غذای مطلوب تضمین نماید.

عفونت ها و مسمومیت های ناشی از آلودگی های میکروبی غذا , از مسائل عمده در کشور های مختلف به شمار آمده و کشور ما نیز از این معضل بین المللی مستثنی نبوده و بیماری های ناشی از مصرف غذای آلوده درصد بالایی از مشکلات بهداشتی کشور را تشکیل می دهد.

صاحب نظران در زمینه برخورد با مشکل بیماری های ناشی از آلودگی میکروبی غذا اعتقاد دارند که با شناخت میکروارگانیسم های عامل , جایگاه, موادغذایی حامل آنها و در نهایت اعمال شیوه های کنترل و پیشگیری می توان تا حد موثری در حفظ ایمنی غذا قدم های مثبت برداشت(۱).

شیر و فراورده های آن به ویژه پنیر که قسمت وسیعی از آحتیاجات غذایی انسان را تامین می کنند جزو مواد غذایی هستند که نقش مهمی از نظر انتقال بیماری ها به انسان را دارند.

بسیاری از بیماری های خطرناک مانند بروسلوز, تیفوئید, پاراتیفوئید, مننژیت,مننگوانسفالیت, عفونت های دوران حاملگی (مثل عفونت ناشی از لیستریا منوسیتوژنز) و مرگ ومیر کودکان ممکن است ناشی از مصرف پنیر آلوده باشند که عامل آن ممکن است باکتری هایی نظیر انواع سالمونلا,اشرشیاکلی,استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت و لیستریا منوسیتوژنزمی باشند(۲).

وجود باکتری های فاسد کننده و بیماری زا در پنیر متاثر از باکتری های شیر مصرفی است که بخشی از آنها از پستان حیوان و بخشی دیگر به صورت آلودگی ثانویه به شیر منتقل می گردد.

نظر به اینکه پنیر های محلی از شیر غیر پاستوریزه تهیه می شوندحضور باکتری های بیماری زای شیر در پنیر تولیدی نیز قابل توجه است. هر چند در طی دوره رسیدگی پنیر شرایط ویژه ای اعمال می شود که در نتیجه آن تعداد زیادی از باکتری ها از بین می روند ولی با این حال برخی از میکروارگانیسم ها به این شرایط مقاوم بوده و در پنیر آماده مصرف نیز حضور دارند.

با توجه به اهمیت مصرف پنیر در بین مردم ایران و نظر به اینکه استان آذربایجان شرقی یکی از مراکز عمده تولید پنیر محلی در کشور می باشد و پنیر محلی لیقوان در سراسر ایران از شهرت و معروفیت خاصی برخوردار است , در این تحقیق میزان آلودگی پنیرهای محلی لیقوان به مهم ترین باکتری های خانواده انتروباکتریاسه در ارتباط با پارامترهای شیمیایی مورد بررسی قرار می گیرد.

روش کار:

این بررسی میکروبی بر روی ۱۰۰ نمونه پنیر لیقوان خریداری شده از نقاط مختلف مراغه از اردیبهشت ماه ۱۳۸۸ لغایت مهر ماه سال۱۳۸۸ از نظروجود کلیفرم و اشرشیاکلی و تعیین پارامترهای شیمیایی , نمک,اسیدیته و PH مورد بررسی و آزمایش قرار گرفت.نمونه ها در بخش میکروب شناسی آزمایشگاه زیست شناسی پیام نور مراغه مورد بررسی قرار گرفتند.

جهت انجام آزمایش های میکروبی تهیه رقت های اعشاری از نمونه های مورد مطالعه ضروری می باشد.محلول رقیق کننده مناسب برای پنیر سیترات سدیم ۲٪ می باشد.جهت تهیه رقت های اعشاری یک گرم از نمونه پنیر در شرایط کاملا استریل در یک لوله آزمایش کاملا استریل دقیقا وزن شده و ۹ سی سی محلول سیترات سدیم ۲٪ استریل به تدریج به آن اضافه شده و با نمونه مخلوط می گردد. مخلوط یکنواخت بدست آمده رقت یک دهم نمونه می باشدکه به عنوان رقت پایه برای تهیه رقت های بعدی مورد استفاده قرار می گیرد(۳).

برای شمارش باکتری های کلیفرم طبق استاندارد ایران محیط کشت مناسب Violet Red Bile Agar و روش کشت صفحه ای (Pour plate) استفاده گردید . می باشد. در نهایت تعدادکلی فرم در هر گرم نمونه با توجه به ضریب رقت و پرگنه های شمارش شده محاسبه می گردد (٤). تایید بیشتر بر اساس آزمایش های IMVIC انجام گرفت (٦).

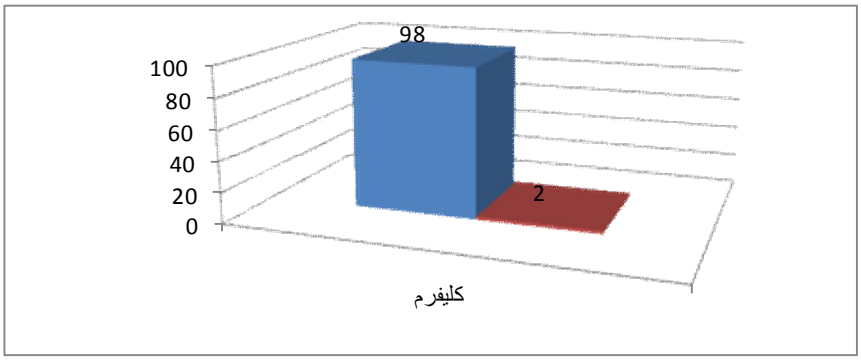
Downloaded from ijmm.ir at 14:12 +0330 on Sunday November 5th 2017

برای شناسایی اشرشیاکلی از محیط کشت Lauryl Sulphate Broth (LSB) و روش MPN استفاده گردید .اشرشیاکلی در اثر تخمیر لاکتوز موجود در محیط تولید گاز می کند که در لوله درهام درون لوله آزمایش جمع می شود. بنابراین وجود گاز در لوله درهام دلیل وجود اشرشیاکلی می باشد(۵) .

در آزمون های شیمیایی مقادیر نمک,اسیدیته و PHنمونه های پنیر طبق استانداردهای ملی ایران شماره مورد سنجش قرار گرفت(۹,۸,۷).

نتایج :

آزمایشات باکتری شناسی بر روی ۱۰۰ نمونه پنیر تازه لیقوان مشخص نمود که از ۱۰۰ نمونه پنیر لیقوان ۹۸٪ حداقل به یک نوع از کلی فرم ها آلوده بودند و تنها ۲٪ از نظر کلیفرم منفی بودند(نمودار شماره۱).میزان آلودگی نمونه به اشرشیاکلی۵۰٪,پروتئوس ۱۵٪ ,سامونلا۱۲٪, سیتروباکتر۹٪, کلبسیلا ٦٪ و انتروباکتر۱٪ بدست آمد (جدول شماره۱).



نمودار ۱- توزیع فراوانی نسبی نمونه های پنیر لیقوان بر حسب حضور کلیفرم

جدول ۱- درصد آلودگی پنیرهای سنتی لیقوان به باکتری های خانواده انتروباکتریاسه

درصد در نمونه پنیر / نوع باکتری	نمونه های مثبت	نمونه های منفی	جمع
کلی فرم	۹۸	۲	۱۰۰
اشرشیاکلی	۵۰	۵۰	۱۰۰
پروتئوس	۱۵	۸۵	۱۰۰
سالمونلا	۱۲	۸۸	۱۰۰
سیتروباکتر	۹	۹۱	۱۰۰
کلبسیلا	٦	۹٤	۱۰۰
انتروباکتر	۱	۹۹	۱۰۰

Downloaded from ijmm.ir at 14:12 +0330 on Sunday November 5th 2017

میانگین و انحراف معیار PH در نمونه ها بالاتر از حد استاندارد ایران بود و ٦٦٪ نمونه ها دارایPH بالاتر از حد استاندارد ایران بودند. میانگین و انحراف معیاراسیدیته نمونه ها در محدوده استاندارد بود. همچنین میانگین و انحراف معیار در صد نمک در نمونه ها کمتر از حد استاندارد و نمونه ها کلا درصد نمک کمتر از حد استاندارد داشتند.

ارتباط آماری معنی داری بین شدت آلودگی کلی فرم و حضور اشرشیاکلی ($P<0/0001$) بدست آمد.

همبستگی مستقیم و معنی داری میان تعداد کلیفرم ها و PH نمونه ها ($P<0/0001$) بدست آمد همچنین همبستگی معکوس و معنی داری میان تعداد کلیفرم ها و اسیدیته نمونه ها و تعداد کلیفرم ها و درصد نمک نمونه ها یافت شد.

بحث :

از چندی قبل با توجه به ارزش تغذیه ای بالای پنیر ,مطالعات گسترده ای برای بهبود خواص کمی و کیفی این محصول انجام شده است تا جایی که برای ارتقای سطح کیفی این فراورده و تولید محصولات بازار پسند تر, توجه ویژه ای روی پنیرهای سنتی و محلی موجود در سراسر دنیا شده است. در ایران نیز عمده ترین و مشهورترین پنیر سنتی , پنیر لیقوان تبریز است که به خاطر عطر و طعم مطلوب خود ,بازار پسندی بالایی را در کشور دارا است. مدت زمان تولید این پنیر از زمان شروع شیر دوشی گوسفندها(یعنی اوایل بهار) الی اواخر شهریور می باشد. این پنیر جزء پنیرهای نیمه نرم است که دوره رسانیدن آن در محلول آب نمک ۱۱ الی۱۲ درصدبه مدت ۳ ماه صورت می گیرد و برای تهیه آن از شیر خام گوسفند استفاده می شود(۱۰). باکتریهای خانواده انتروباکتریاسه به طور طبیعی در روده انسان و سایر حیوانات زندگی می کنندو مواد غذایی مختلف به ویژه فراورده های لبنی به طور معمول توسط این باکتری ها آلوده می شوند(۱۱). وضعیت آلودگی پنیر های محلی لیقوان به باکتری های خانواده انتروباکتریاسه در جدول شماره۱ نشان داده شده است . با توجه به اینکه استاندارد برای پنیر محلی ایران تدوین نشده است اگر استاندارد پنیر سفید را مبنا قرار دهیم(۹,٤) و با توجه به جدول شماره ۱ چنین استنباط می شود که۹۸ درصد از نمونه های مورد بررسی به کلی فرم آلوده بودندو تنها ۲٪ فاقد آلودگی کلیفرمی می باشند.نتایج به دست آمده در مورد کلیفرم ها موافق با یافته های Albezio, (۲۰۰٦) , Papageorgious (۲۰۰۷),یوسفی مشعوف(۱۳۸٦) , کاظمی وند(۱۳۸۳) و شادان (۱۳۷۳) , (۱٤,۱۳,۱۲,۱۱,۲) می باشد. مقایسه نتایج به دست آمده با نتایج فوق نشان می دهد که آلودگی پنیر های محلی لیقوان تبریزاز پنیر های تهیه شده از شیر خام در کشور های خارجی بیشتر و مشابه با وضعیت آلودگی پنیرهای محلی ایران می باشد.کلی فرم ها جزء مهمترین باکتری های بیماری زای آلوده کننده پنیر بوده و ضمن تسریع تخمیر لاکتیکی و تولید co_2باعث تولید و طعم نامطبوع در پنیر شده و با ایجاد حفره هایی در پنیر باعث بادکردگی آن می شوند. وجود کلی فرم ها در پنیر نشان دهنده این است که حرارت لازم به شیر مورد استفاده در پنیر داده نشده است زیرا کلی فرم ها در حرارت 50^0 Cنابود می شوند (١٤).

همچنین با توجه به جدول(٥-٤) بین شدت آلودگی کلیفرمی و آلودگی نمونه ها ارتباط آماری معنی دار و مستقیمی وجود دارد ($P<0.0001$)یعنی هرچه شدت آلودگی کلی فرم در نمونه بیشتر باشد به همان اندازه احتمال آلودگی نمونه ها به اشرشیاکلی نیز زیادتر می شود. مطابق جدول (٤-١)٥٠درصد از نمونه های پنیر مورد مطالعه به اشرشیاکلی آلوده می باشند و با توجه به اینکه طبق استاندارد ایران اشرشیاکلی باید در یک گرم از نمونه پنیر منفی می باشد می توان گفت که نیمی از پنیرهای محلی مورد بررسی از نظر وجود اشرشیاکلی غیر قابل مصرف می باشند(٥).نتایج به دست آمده در این تحقیق موافق با, نتایج شادان (۱۳۷۳), Albezio(۲۰۰٦) , Papageorgious (۲۰۰۷),سالک مقدم(۱۳۷۹) و مرتضوی (۱۳۷٦) می باشد (١٦,١٥,١٢,١١,٢).

حضور اشرشیاکلی در نمونه ها می تواند احتمال وجود آلودگی سایر پاتوژن های روده ای را نیز افزایش دهد به طور کلی لازم است در تهیه پنیر محلی از حرارت بالای 50^0 C برای گرم کردن شیر استفاده کرد تا رشد و تکثیر باکتری متوقف شود.

Downloaded from ijmm.ir at 14:12 +0330 on Sunday November 5th 2017

همچنین رعایت دقیق زمان رسیدگی و جلوگیری از ارائه زودتر از موعد مقرر پنیر به بازار فروش می تواند تا حدود زیادی موثر واقع شود(۱۵).

به طور طبیعی فعالیت کلی فرم ها در PH<5.2متوقف می شود و لذا فعالیت این باکتری ها در مراحل آغازی تخمیر و قبل از اسیدی شدن محیط امکان پذیر است و کاهش PH و افزایش نمک از عوامل موثر در کاهش تعداد این باکتری ها می باشد با این حال اشرشیاکلی که جزء مقاوم ترین گونه های کلی فرم می باشد می تواند در شرایط فوق زنده بماند (۱۸,۱۷) .

حضور اشرشیاکلی در نمونه های مورد بررسی در تحقیق حاضر می تواند ناشی از درصد کم نمک در نمونه ها باشد. علاوه بر آن PH بالای نمونه ها می تواند به تشدید آلودگی نمونه های مورد بررسی کمک نماید . عدم معنی دار بودن ارتباط میان حضور اشرشیاکلی وPH را می توان ناشی از مقاومت اشرشیاکلی به شرایط اسیدی پنیر دانست.

نتیجه گیری : با توجه به نتایج به دست آمده می توان گفت که استفاده از حرارت پاستوریزاسیون و یا حداقل حرارت 50^0 C برای شیر مورد استفاده در تهیه پنیر محلی , استفاده مناسب از مایه لاکتیکی , به کار بردن نسبت مناسب نمک در تهیه آب نمک, رعایت زمان دقیق رسیدگی پنیر و رعایت ضوابط بهداشتی در کارگاههای تهیه پنیر می تواند تا حدود زیادی از آلودگی پنیر های محلی به باکتری های خانواده انتروباکتریاسه بکاهد.

فهرست مراجع:

۱. آذر , م, و امین پور: ایمنی غذا , میکروارگانیسم های مولد,بیماری های ناشی از غذا. چهارمین کنگره تغذیه ایران ,۱۳۸۵;دانشگاه تهران,ص ۱.

۲. شادان, م . ر.جستجوی آلودگی سالونلا, اشرشیاکلی , لیستریا منوسیتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در پنیر های سنتی خرده فروشی های شهر زاهدان. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته علوم و صنایع غذایی, دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی, دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی; ۱۳۷۳.

۳. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران روش آماده سازی آزمایه , سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری برای آزمون های میکروبیولوژی ۱۳۸٦. استاندارد ملی ایران,ش۹٤۱۵.

٤. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران شیر و فراورده های آن-روش جداسازی , شناسایی و شمارش کلی فرم ها. استاندارد ملی ایران۱۳۸٦, ش۲و۱ -٥٤۸٦.

٥. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران: شیر و فراورده های آن-روش جستجوو شمارش بیشترین تعداد احتمالی اشرشیاکلی. استاندارد ملی ایران ۱۳۷۹, ش٥۲۳٤.

٦. وزیری, ب: اصول آزمایش های بیوشیمیایی در میکروب شناسی تشخیصی, موسسه انتشارات امیرکبیر, تهران۱۳۸۲, ص: ۲۷-۱۷۲.

۷. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران : تعیین مقدار کلرور پنیر. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران۱۳٥٦, کرج,ش۱۸۰۹.

۸. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران: روش تعیین اسیدیته کل و PHیا تراکم یون های H درشیر و فراورده های آن. استاندارد ملی ایران ۱۳۸٥,ش ۲۸٥۲.

۹. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران: ویژگی های عمومی پنیر. استاندارد ملی ایران ۱۳۸٦,ش۲۳٤٤.

۱۰. نوید قاسمی زاد, سحر.شناسایی باکتری لاکتیک در پنیر سنتی لیقوان. پایان نامه کارشناسی ارشد,دانشکده کشاورزی,دانشگاه تبریز۱۳۸۳.

11. Albezio M, Corbo MR,Rehman SU.Microbiological and biochemical of Canestrato cheese Made from raw milk. Int J Food Microbial 200٦; 67 (1-2):688-92.

12. Papageorgious DK, Abrahim A,Bori M.Chemical and bacteriological characteristics of Pichtogalo chanion

کارشناسی ارشد رشته علوم تغذیه, دانشکده بهداشت وتغذیه, دانشگاه علوم پزشکی تبریز۱۳۷٦.

۱۷. سالک مقدم,ع., فروهش تهرانی,ه ., انصاری,ح., روادگر,ب. بررسی آلودگی میکروبی در نمونه های پنیر غیر پاستوریزه در مقایسه با پنیرهای پاستوریزه و تاثیر مقادیر نمک اضافه شده به پنیر بر روی باکتری های بیماری زای آلوده کننده,مجله علوم پزشکی ایران۱۳۸٤: سال هشتم; ۲۵: ۱۸۱-۱۷۵

18. Gardini, F., Martuscelli, M., Carmela Caruso, F., Crudele, M.A., Favati, F., Guerzoni,M.E.and Suzzi, G.Effects of PH and NaCl concentration on the growth kinetic,proteolytic activity and biogenic amine production of Enterococcus faecalis.International Journal of food Microbiology2001 ;64:105-117.

cheese and mesophilic starter cultures for its production. J Food prot 2007;61(6):688-92.

۱۳. یوسفی مشعوف,ر:بررسی آلودگی پنیر محلی(تازه) به بروسلا و کلی فرم در شهر همدان,مجله پژوهش در علوم پزشکی (دانشکده پزشکی شهید بهشتی)۱۳۸٦; ٤: ۳٤۹.

۱٤. کاظمی وند,ا, بررسی میزان آلودگی پنیرهای محلی تبریز به باکتری های خانواده انتروباکتریاسه. پایان نامه کارشناسی ارشد (علوم تغذیه) , دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی تبریز دانشکده بهداشت و تغذیه۱۳۸۷.

۱۵. سالک مقدم,ع.,فروهش تهرانی,ه.,انصاری,ح. بررسی عوامل بیماریزایی در اشرشیاکلی جدا شده از مواد غذایی, آرایشی و بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی ایران, طی سالهای۷۸-۱۳۷۷. مجله فیض۱۳۷۹; ۱۵ : ٤۰-۳۲.

۱٦. مرتضوی, ز.بررسی تاثیر زمان های مختلف رسیدگی بر فلور باکتریایی پنیر پاستوریزه تبریز. پایان نامه دوره

Downloaded from ijmm.ir at 14:12 +0330 on Sunday November 5th 2017