

بررسی توانایی محیط کروموژن در تشخیص *E.coli O157H7* در آب و مواد غذایی و مقایسه آن با روش کشت استاندارد

دکتر حمیدرضا توکلی^۱، محمدتقی صدر ممتاز^۱، ترانه پیمان‌ه عابدی محتسب^۲، دکتر حسن رفعتی^۱

۱. دانشگاه بقیه اله

۲. دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده بهداشت

نویسنده مسئول: محمدتقی صدر ممتاز mt_sadr@yahoo.com، ۰۹۱۱۱۵۷۷۶۴

چکیده:

مقدمه: اشرشیاکلی یکی از مهمترین عوامل مسمومیت های غذایی است و برخی از سویه های آن مانند *E.coli O157H7* عوارض خطرناکی مانند سندرم اورمی همولیتیک و کولیت هموراژیک ایجاد می کنند. محیط های کروموژن یکی از روشهای تشخیص نسبتاً سریع میکروارگانیسم های بیماریزا در آب و مواد غذایی هستند که در دهه اخیر مورد استفاده قرار گرفته اند. هدف از انجام این مطالعه بررسی توانایی محیط کروموژن در تشخیص *E.coli O157H7* در آب و مواد غذایی و مقایسه آن با روش کشت استاندارد می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه آزمایشگاهی در مرحله اول ۲۵ نمونه آب و چهار نوع ماده غذایی (۵ نمونه از هرکدام) بطور عمدی با سوش استاندارد *E.coli O157H7* آلوده و سپس با دو روش کروموژن و کشت استاندارد شناسایی گردید و سرعت و حساسیت دو روش در شناسایی این باکتری بررسی و مقایسه گردید. سپس نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS و فرمول آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج: سرعت تشخیص باکتری با استفاده از محیط کروموژن (۱۸ ساعت و ۲۰ دقیقه)، بیشتر از روش استاندارد (۷۲ ساعت) بوده ولی حساسیت این روش (۹۹/۶۱٪) کمتر از روش استاندارد (۱۰۰٪) تعیین گردید.

بحث و نتیجه گیری: نتایج این مطالعه و سایر مطالعات مشابه نشان می دهد محیط های کروموژن دارای سرعت و حساسیت بالایی در تشخیص *E.coli O157H7* در نمونه های آب و مواد غذایی بوده و می تواند به عنوان یک روش جایگزین در تشخیص باکتریهای بیماریزا در آزمایشگاه های مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: محیط های کروموژن، *E.coli O157 H7*، آب و مواد غذایی

مقدمه:

وجود دارد که از آن جمله می توان به مطالعات Khan و Brashear و Galyean در آمریکا (۱۹۹۵)، و همکاران در هندوستان (۲۰۰۳) Murphy و همکاران در ایرلند (۲۰۰۵) Meldrum، در انگلستان (۲۰۰۶)، Froder در برزیل (۲۰۰۷) Bahk، در کره جنوبی (۲۰۰۷) Abadias در کره (۲۰۰۸)، Abougrain در لیبی (۲۰۱۰) Ponniah در مالزی (۲۰۱۰) و Gormley در انگلستان (۲۰۱۰) اشاره نمود (۸-۱۵).

در کشور ما پژوهش های انجام شده در مورد این باکتری بیشتر محدود به نمونه های کلینیکی بوده است. اصلانی و همکاران در سال ۱۹۹۸ و ۲۰۰۳ با بررسی ۲۰۰۸ نمونه مدفوع انسان در غرب (ایلام) و شمال ایران (مازندران و گلستان) میزان شیوع اشرشیاکلی تولید کننده وروتوکسین را به ترتیب ۴/۹۰٪ و ۰/۷٪ گزارش کردند، اما هیچکدام از نمونه ها سروتیپ *EcoliO157H7* نبوده اند (۱۲). سالک مقدم و همکاران برای اولین بار در سال ۱۹۹۹ در ایران با بررسی ۲۰۰۰ نمونه ماده غذایی مختلف، فقط از یک نمونه سبزی موفق به جدا سازی *EcoliO157H7* گردیدند (۱۶).

روش های معمول کشت *E.coli* در آزمایشگاه بیش از ۷۲ ساعت بطول می انجامد و در بیشتر مواقع نیازمند آزمایشات افتراقی و تکمیلی جهت اثبات حضور باکتری در غذا هستیم.

خوشبختانه با کشف روش های تشخیص سریع، این مشکلات تا حد زیادی مرتفع گردیده است، زیرا این روش ها دارای سرعت و دقت بسیار بالا بوده و با کمک آنها در زمان بسیار کمتری میکروارگانیزم مورد نظر شناسایی می گردد (۱۷-۲۱).

یکی از روشهای جدید که در دهه اخیر برای تشخیص نسبتاً سریع میکروارگانیزم های بیماریزا در آب و مواد غذایی مطرح گردیده است محیطهای رنگ آفرین (*Chromogenic Media*) هستند که استفاده از آنها می تواند نیاز به کشت فرعی و آزمونهای بیوشیمیایی اضافی را برای تعیین هویت باکتریهای مورد نظر از میان بردارد. اساس این روش ایجاد ماده زمینه ای برای آنزیمهای

کلی فرمها و بویژه *E.coli* شاخص میکروبی آلودگی آب و مواد غذایی محسوب می گردند و وجود آنها در آب آشامیدنی و مواد غذایی نشانگر آلودگی این مواد به سایر پاتوژنهای روده ای است، بنابراین جداسازی این باکتری در تعیین سطح بهداشت آب و مواد غذایی بسیار حائز اهمیت است. (۱ و ۲)

این باکتری که دارای دوز عفونی کم است یکی از مهمترین عوامل مسمومیت های غذایی بوده و سویه های تیپ اشرشیاکلی انتروهموراژیک (EHEC) مانند *E.coli O157:H7* از مهمترین پاتوژنهای روده ای محسوب می گردند و عوارضی مانند کولیت هموراژیک، سندرم اورمی همولیتیک و بویژه نارسایی حاد کلیوی را ایجاد می کنند (۳).

این سویه می تواند از طریق مصرف آب و مواد غذایی آلوده، و از فردی به فرد دیگر (مدفوعی - دهانی) منتقل شود. اگرچه گاو به عنوان مخزن اصلی این باکتری شناخته شده اما حیواناتی مانند گوسفند، گوزن، بز، آهو، خوک، گربه، سگ، جوجه و غاز نیز به عنوان مخزن محسوب می گردند. تاکنون هیچگونه بیماریزایی ناشی از این باکتری در حیوانات یاد شده، گزارش نشده است اما امکان انتقال باکتری از حیوان به انسان از راه مستقیم، تماس با آب، خاک و فضولات نشخوارکنندگان و همچنین مصرف مواد غذایی آلوده مانند شیر، ماست، پنیر، همبرگر، سوسیس، گوشت چرخ شده، ساندویچ های گوشتی، سبزیجات و آبمیوه ها وجود دارد (۴ و ۵).

در کشورهای توسعه یافته توجه بیشتری به این باکتری شده و تصویر نسبتاً واضحی از شیوع آن وجود دارد. میزان موارد تأیید شده آلودگی به *EcoliO157H7* در سال ۲۰۰۷ در اسکاتلند ۹ مورد و در سال ۲۰۰۸ در ویرجینیای آمریکا ۲۵ مورد بوده است. همچنین در سال ۲۰۰۸ در ۴۰ همه گیری (۲۱ مورد در میشیگان و ۱۹ مورد در اوهایو) آلودگی مواد غذایی به باکتری *EcoliO157H7* تأیید شده است (۶ و ۷).

گزارشات زیادی از وقوع عفونت ها و مسمومیت های غذایی در اثر آلودگی به این باکتری در نقاط مختلف جهان

وظایف مسئولین بهداشتی سازمان های ذیربط در مدت زمان کم و با حساسیت بالا است و نظر به اینکه شناسایی و تشخیص سریع این عامل بیماریزای روده ای در آب و مواد غذایی مصرفی مردم موجب پیشگیری از بروز بیماری و اپیدمی می گردد،

این تحقیق که در سال های ۱۹۹۸ تا ۲۰۱۰ بر روی استفاده از محیط های کشت کروموژن در شناسایی سریع میکروارگانیسم ها بیماریزا در آب و مواد غذایی در نقاط مختلف جهان و اخیراً در ایران مورد بررسی قرار گرفته است. لذا مبنی انتخاب مطالعه توانمندی محیط های کروموژن در شناسایی میکروارگانیسم ها و نقاط ضعف و قوت این روش و همچنین سرعت و حساسیت آن در مقایسه با روشها متداول بوده است .

روش کار:

۲۵ نمونه آب و چهارنوع ماده غذایی (۵ نمونه از هرکدام) بطور عمدی با سوش استاندارد *E.coli O157 H7* آلوده و سپس با دو روش کروموژن و کشت استاندارد سرعت و حساسیت دو روش در شناسایی باکتری به ترتیب زیر مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت .

۱- تهیه سوش استاندارد: برای انجام این مطالعه ابتدا سوش استاندارد *E.coli O157:H7* از بخش میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه گردید .

۲- نمونه برداری : برای نمونه برداری از مواد غذایی جامد مانند پنیر ، گوشت قرمز و گوشت مرغ طبق استاندارد ملی ایران شماره های ۸۹۲۳ ، ۶۸۰۶ و ۱۸۱۰ عمل شد بدین صورت که در مورد پنیر نمونه های نیم کیلو گرمی پاستوریزه انتخاب و به آزمایشگاه منتقل گردید و در مورد نمونه های گوشت قرمز و گوشت مرغ از لوله مخصوص نمونه گیری استفاده گردید بدین صورت که ابتدا این لوله را سترون نموده شده و از سطح و عمق مرغ و گوشت نمونه برداشته شد و نمونه ها در ظروف استریل به آزمایشگاه منتقل گردید. در مورد مواد غذایی مایع مانند شیر پاستوریزه و آب شهری نیز طبق استاندارد نمونه برداری انجام پذیرفت و سپس نمونه ها به آزمایشگاه ارسال شد.

اختصاصی میکروارگانیسم ها بوده و بر مبنای نوع رنگ تولید شده براحتی می توان نوع میکروارگانیسم را تشخیص داد (۲۲-۲۳).

در واقع بسیاری از مواد پس از واکنش با آنزیم های میکروبی یا دیگر اجزاء آنها محصولات رنگی یا فلورسنت تولید می کنند و از این خاصیت برای تشخیص باکتری استفاده می شود. سویستراهای مورد استفاده برای محیط های کروموژن عمدتاً از مشتقات فنل و ایندول هستند. این مشتقات مانند (بتا دی گلوکوروئید یا بتا دی گالاکتوروئید) استفاده گسترده ای در این محیط ها جهت تشخیص سریع پاتوژن های غذایی دارند. این ترکیبات توسط آنزیم های میکروبی تجزیه کننده آنها متابولیزه شده و از متابولیسم آنها محصولات رنگی و یا محصولات فلورسنت تولید می گردد (۲۴).

در برخی از مطالعات از محیط های کروموژن در تشخیص برخی از باکتریها از جمله *E.coli* و *S.aureus* و *V.chlora* و برخی از کپک ها در آب استفاده شده است اما در مورد کاربرد آنها در شناسایی این باکتری بیماریزا در مواد غذایی گوشتی و لبنی مطالعه چندانی صورت نگرفته است (۲۲ و ۲۴). در داخل کشور تنها یک مطالعه در مورد استفاده از محیط های کروموژن در تشخیص استافیلوکوکوس آرنوس توسط دکتر رهبر انجام گرفته (۲۵) اما در سطح کشور بویژه در سطح نیروهای مسلح برای تشخیص *E.coli O157 H7* در آب و مواد غذایی با استفاده از محیط های کروموژن مطالعه ای صورت نپذیرفته و این مطالعه اولین مطالعه محسوب می گردد. تشخیص سریعتر باکتریهای بیماریزا در آب و مواد غذایی همواره یکی از مهمترین اولویت های مراکز مختلف بهداشتی بوده و این مشکل مرتفع می گردد . به نظر میرسد مقایسه این قبیل روشهای جدید با روش کشت باکتریایی متداول در تشخیص *E.coli* در آب و مواد غذایی بتواند یکی از مشکلات جدی در حوزه بهداشت و میکروبیولوژی مواد غذایی (تشخیص سریعتر عوامل بیماریزا در آب و مواد غذایی) بویژه در شرایط بحران را مرتفع نماید. از سوی دیگر اطمینان از سلامت آب و مواد غذایی مصرفی در شرایط عادی و بحران یکی از مهمترین

به ازای هر رقت یک محیط کشت MCA و یک محیط کشت BGB حاوی لوله دورهام انتخاب گردید و پس از کشت نمونه ها به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد.

در محیط MCA کلنی های به رنگ قرمز یا قرمز مایل به بنفش و در لوله های BGB حاوی لوله دورهام گاز تولید می شود که نشان دهنده وجود کلی فرم می باشد.

۲- شناسایی *Ecoli*: سپس به منظور شناسایی اشرشیا کلی، هر نمونه مثبت کلی فرم را در ۲ لوله (یک لوله حاوی محیط کشت سبز درخشان و یک لوله حاوی آب پیتونه) کشت داده و در دمای ۴۳ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری کردیم. با توجه به تولید گاز در محیط BGB و همچنین تشکیل حلقه قرمز پس از ریختن چند قطره معرف کوکس در محیط PW، وجود *Ecoli* تایید گردید.

۳- تأیید *Ecoli*: سپس برای تایید تشخیص *Ecoli* در نمونه ها از محیط کشت IMVIC استفاده شد و از نمونه های مثبت دو محیط BGB و PW در این محیط کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری کردیم. با توجه به رشد باکتری در این محیط وجود *Ecoli* در نمونه ها تایید شد.

۴- تأیید *Ecoli*O157H7: به منظور تأیید نهایی کلنی های سوربیتول منفی و بتاگلوکوزونیداز منفی، از تست آگلوتیناسیون با آنتی سرم اختصاصی O157H7 (بهار افشان) استفاده گردید

سپس اطلاعات مربوط به هر نمونه از نظر زمان رشد باکتری در هر مرحله در جدول مربوطه ثبت و سرعت تشخیص باکتری با روش کروموژن مقایسه گردید. برای تعیین حساسیت روش کروموژن تعداد نمونه ها در هر پلیت شمارش و در جدول مربوطه ثبت گردید و سپس با استفاده از فرمول مربوطه حساسیت روش تعیین و با حساسیت روش استاندارد مقایسه گردید.

برای شناسایی باکتری در محیط کروموژن: پس از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه به روش زیر عمل شد.

۱- ابتدا به منظور رشد باکتری *E.coli* O157H7 آن را در محیط مولر هیتون آگار کشت داده و به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری نمودیم.

۲- بعد از رشد باکتری از آن سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه کردیم (هدف از این کار داشتن سوسپانسیونی با بار میکروبی 10^8 باکتری در هر میلی لیتر می باشد).

۳- تهیه رقت از نمونه ها: برای این منظور ۲۵ گرم از نمونه را با ۲۲۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی و ۵ میلی لیتر از سوسپانسیون فوق مخلوط و از آن رقت 10^{-1} تهیه و سپس رقت های بعدی (تا رقت 10^{-5}) تهیه شد.

۴- برای کشت در محیط کروموژن برای هر رقت یک پلیت حاوی محیط کشت کروموژن اختصاصی در نظر گرفته شد و از هر رقت، ۱ میلی لیتر به داخل پلیت حاوی محیط کشت O157H7 ریخته و کشت سطحی دادیم و سپس به صورت وارونه به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد.

۵- به منظور تعیین زمان رشد باکتری و تشخیص آن در محیط کروموژن با توجه به دستورالعمل کارخانه تهیه کننده محیط کشت (مرک آلمان) مبنی بر رشد باکتری طی ۲۴ ساعت از ساعت پانزدهم به بعد بطور منظم و با فواصل ۳۰ دقیق نمونه ها از نظر رشد باکتری کنترل گردید و اطلاعات مربوط به هر نمونه در جدول مربوطه ثبت گردید. همچنین برای تعیین حساسیت روش تعداد باکتری های رشد کرده در پلیت های مربوط به هر رقت شمارش و در جدول ثبت گردید.

شناسایی باکتری در محیط کشت استاندارد: برای

این منظور مراحل مختلفی انجام گرفت که عبارتند از:

۱- شناسایی و تأیید کلی فرم: در آزمایشگاه مواد غذایی برای شناسایی و تأیید کلی فرم از محیط کشت های مکانکی (MCA) و سبز درخشان (BGB) استفاده گردید. بدین صورت که از رقت های تهیه شده فوق در این دو محیط کشت داده شد.

نتایج:

همانطور که در جدول شماره ۱ مشاهده می گردد مدت زمان تشخیص و شناسایی E.coli O157H7 در محیط کروموژن بطور متوسط ۱۸ ساعت و ۲۰ دقیقه بوده درحالی که مدت زمان تشخیص این باکتری در محیط کشت استاندارد بطور متوسط ۷۲ ساعت و ۲۰ دقیقه تعیین گردید . بنابراین می توان ادعا نمود که سرعت تشخیص E.coli 157H7 در محیط کروموژن به مراتب بیش از محیط کشت استاندارد است.

هدف از انجام این مطالعه تعیین توانایی محیط کروموژن در تشخیص باکتری E.coli O157H7 در آب و مواد غذایی بوده است که در جداول شماره ۳ و ۴ و نمودار شماره ۱ نشان داده شده است . نتایج نشان داد محیط های کروموژن دارای توانایی تشخیص باکتری E.coli 157H7 در نمونه های آب و مواد غذایی گوشتی و لبنی می باشد بطوری که تمام نمونه هایی (۱۰۰ درصد) که به طور عمدی به این باکتری آلوده شده بودند با استفاده از این روش تشخیص داده شدند.

جدول ۱- مقایسه سرعت تشخیص EcoliO157H7 در نمونه های آب و مواد غذایی

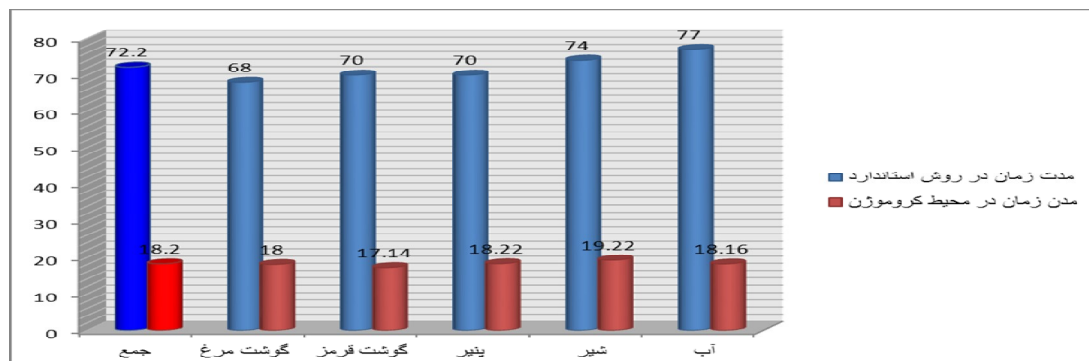
در دو روش محیط کروموژن و محیط کشت استاندارد

ردیف	نوع نمونه	تعداد نمونه	میانگین مدت زمان لازم برای تشخیص با روش کشت کروموژن (ساعت)	میانگین مدت زمان لازم برای تشخیص با روش کشت استاندارد (ساعت)
۱	آب	۵	۱۸.۱۶	۷۷
۲	شیر	۵	۱۹.۲۲	۷۴
۳	پنیر	۵	۱۸.۲۲	۷۰
۴	گوشت قرمز خام	۵	۱۷.۱۴	۷۰
۵	گوشت مرغ خام	۵	۱۸	۶۸
	جمع (میانگین)	۲۵	۱۸.۲۰	۷۲.۲۰

نمودار ۱- مقایسه سرعت تشخیص E Coli 157 H7 در نمونه های

آب و مواد غذایی تلقیح شده در دو روش محیط کروموژن و محیط کشت استاندارد

(بر حسب ساعت)



همانطور که در جدول شماره ۲ مشاهده می گردد میزان حساسیت روش کروموژن در تشخیص و شناسایی *E.coli 157H7* بطور متوسط ۹۹/۶۱ درصد تعیین گردید که در مقایسه با حساسیت روش کشت استاندارد (۱۰۰درصد) کمتر می باشد با این وجود می توان ادعا نمود که حساسیت این روش بسیار بالا می باشد .

جدول ۲- حساسیت *E Coli 157 H7* در نمونه های آب و مواد غذایی تلقیح شده

در دو روش محیط کروموژن و محیط کشت استاندارد

ردیف	نوع نمونه	تعداد نمونه	حساسیت با روش کشت کروموژن (درصد)	حساسیت با روش کشت استاندارد (درصد)
۱	آب	۵	۹۹/۳۱٪	۱۰۰
۲	شیر	۵	۹۹/۴۴٪	۱۰۰
۳	پنیر	۵	۹۹/۷۴٪	۱۰۰
۴	گوشت قرمز خام	۵	۹۹/۴۵٪	۱۰۰
۵	گوشت مرغ خام	۵	۹۹/۵۰٪	۱۰۰
	جمع (میانگین کل)	۲۵	۹۹/۶۱٪	۱۰۰

بحث:

که نتایج آنها همچون مطالعه ما نشان دهنده توانایی و کارایی این روش در شناسایی این باکتری می باشد. نتایج حاصل از مطالعات ما در خصوص سرعت تشخیص این باکتری با روش کروموژن نشان داد که مدت زمان لازم برای تشخیص و شناسایی *E.coli 157H7* در محیط کروموژن بطور متوسط ۱۸ ساعت و ۲۰ دقیقه می باشد، در حالی که مدت زمان تشخیص این باکتری در محیط کشت استاندارد بطور متوسط ۷۲ ساعت و ۲۰ دقیقه تعیین گردید (جدول و نمودر شماره ۱). بنابراین می توان ادعا نمود که سرعت تشخیص *E.coli 157H7* در محیط کروموژن به مراتب بیش از محیط کشت استاندارد است. همچنین نتایج حاصل از مطالعه حاضر در خصوص تعیین حساسیت این روش در تشخیص باکتری نشان داد که میزان حساسیت روش کروموژن در تشخیص و شناسایی *E.coli 157H7* بطور متوسط ۹۹/۶۱ درصد می باشد (جدول شماره ۲) که در مقایسه با حساسیت روش کشت استاندارد (۱۰۰درصد) کمتر است ، با این وجود می توان ادعا نمود که حساسیت روش کروموژن بسیار بالا است و اگرچه میزان حساسیت این روش کمی پایین تر از روش

دستیابی به روش های تشخیص سریع میکروارگانیسم های بیماریزا در مواد غذایی، یکی از الویت های مهم تحقیقاتی در حوزه بهداشت مواد غذایی محسوب می گردد نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که محیط کروموژن دارای توانایی بالایی در تشخیص باکتری *EcoliO157H7* در نمونه های آب و مواد غذایی می باشد، بطوری که تمام نمونه هایی (۱۰۰٪) که بصورت عمدی با این باکتری آلوده شده بودند را شناسایی نمود . مطالعات زیادی در کشورهای مختلف جهان بر روی شناسایی این باکتری در نمونه های آب و مواد غذایی با روش فوق انجام شده است که نتایج آنها مطالعه ما را تأیید می نماید. مطالعات Afnor و همکاران (۲۰۰۴)، Pitkanen و همکاران (۲۰۰۷)، Ten و همکاران (۲۰۰۴)، Keener و همکاران (۲۰۰۱)، Wutor و همکاران (۲۰۰۷)، Beauchamp و همکاران (۲۰۰۶) اشاره نمود (۳۷ و ۳۴ و ۳۵ و ۳۶ و ۳۷).

و *C.albicans* را به ترتیب ۹۵/۵٪، ۱۰۰٪، ۹۹٪، ۱۰۰٪، ۹۹٪ و ۱۰۰٪ گزارش نموده اند (۴۰ و ۴۱ و ۴۲ و ۴۳). به عنوان مثال *Stoakes* و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه خود بر روی شناسایی باکتری استفیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین با روش کروموژن نشان دادند که این روش دارای حساسیت و سرعت بیشتری نسبت به روش های متداول می باشد (۴۴). در ایران نیز *Rahbar* و همکاران (۲۰۰۸) برای تشخیص استفیلوکوکوس ارئوس مقاوم به متی سیلین از چهار روش مختلف از جمله محیط کروموژن استفاده نمودند که نتایج آن نشان داد محیط کروموژن مورد استفاده در مقایسه با سایر روش ها از سرعت بیشتر و حساسیت بالاتری برخوردار است، بطوریکه حساسیت این روش به میزان ۱۰۰٪ تأیید گردید که از حساسیت به دست آمده در مطالعه ما بیشتر است (۲۷). بنا به گزارش مرکز کنترل بیماری ها (CDC) یکی از کاربردهای بسیار مفید این قبیل روش ها شناسایی سریع آلودگی آب می باشد و استفاده از این تکنیک در پیشگیری از بیماریهای قابل انتقال از طریق آب - *(Water Borne Diseases)* بسیار حائز اهمیت است (۹). تمامی مطالعات مورد اشاره نشان می دهند محیط های کروموژن دارای توانایی و حساسیت بالایی در شناسایی باکتری های بیماری زا در آب و مواد غذایی هستند و نتایج آنها با نتایج حاصل از مطالعه ما همخوانی و مطابقت دارد.

پیشنهادات:

- با توجه به اینکه نتایج این مطالعه و مطالعات مشابه نشان داده است که محیط کروموژن، روشی نسبتاً سریع، دقیق و با حساسیت بالا برای شناسایی و تشخیص باکتری های بیماری زا قابل انتقال از طریق آب مواد غذایی است، می تواند به عنوان جایگزینی مناسب برای روشهای سنتی و متداول مورد استفاده قرار گیرد. زیرا استفاده از این روش نیاز به تهیه کشت های فرعی و آزمونهای بیوشیمیایی اضافی برای تشخیص عوامل بیماریزا از میان برود و در مدت زمان بسیار کمتری، عوامل بیماریزا تشخیص داده می شوند. این موضوع بویژه برای شرایط نظامی و بحرانها به منظور پیشگیری از بروز بیماریهای با منشأ آب و مواد غذایی از اهمیت بیشتری برخوردار است.

استاندارد است اما با توجه به سرعت بسیار بالاتر آن در تشخیص باکتری، می تواند به عنوان یک روش نسبتاً سریع و قابل اعتماد در آزمایشگاه های مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعاتی که در سایر کشورها نیز انجام شده نشان داده شده که این روش دارای سرعت و حساسیت بالایی در تشخیص باکتریهای مختلف از جمله *E.coli* و بویژه *E.coli 157H7* در آب و مواد غذایی است. *Banadonna* و همکاران در مطالعه خود (۲۰۰۵) بر روی تشخیص *E.coli* در نمونه های آب قابل شرب نشان دادند که محیط کروموژن دارای سرعت تشخیص بیشتری نسبت به روش های متداول در آزمایشگاه و حساسیت بالایی می باشد (۳۰). در مطالعه ای که *Manafi* و همکاران (۲۰۰۴) بر روی ۱۲۴۶ نمونه آب آلوده به سویه های مختلف اشرشیاکلی انجام دادند، ۱۲۴۰ سویه (۹۹٪ موارد) با استفاده از محیطهای کروموژن شناسایی شدند و فقط تعداد اندکی از باکتریهای غیرکلیفرمی مانند سویه هایی از سراتیا، هافنیا، ویبریو و آئروموناس شناسایی نشدند. وی معتقد است استفاده از این محیط ها در مقایسه با روشهای استاندارد، در طی ۲۴ ساعت کلیفرم ها و اشرشیاکلی را شناسایی می کند (۳). همچنین نتایج به دست آمده از مطالعه دیگر *Manafi* و همکاران (۲۰۰۵) بر روی ۱۰۴ نمونه آب آشامیدنی در اتریش نشان داد که ۹۷٪ از سویه های مثبت اشرشیا کلی در مدت ۲۴ ساعت با استفاده از محیط کروموژن شناسایی گردیدند (۳۹). اگرچه این افراد نیز از محیط کروموژن استفاده نموده اند اما مقایسه نتایج حاصل از مطالعه ما با مطالعه فوق نشان می دهد که سرعت (۱۸ ساعت و ۲۰ دقیقه) و حساسیت روش ما (۹۹/۶۱٪) بالاتر و بیشتر از روش مورد استفاده توسط این محققین می باشد. این امر نشان می دهد که محیط های کروموژن مختلف می توانند دارای سرعت تشخیص و حساسیت های مختلفی باشند. سایر محققین نیز در مطالعات خود نشان دادند که محیط های کروموژن دارای سرعت تشخیص و حساسیت بالایی در شناسایی باکتری های مختلف هستند، بطوری که حساسیت و قدرت افتراق این روش برای شناسایی باکتری های *S.aureus*، *L.monocytogenes*، *V.cholerae*، *Salmonella*،

تهران، دانشکده بهداشت و آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه بقیه الله (عج)، دانشکده بهداشت به دلیل حمایت های اجرایی و همکاری در اجرای این پژوهش اعلام می دارند.

تشکر و قدردانی :

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی خود را از پرسنل آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه

فهرست منابع :

- 1-Tavakoli HR , Bayat ,M.and Kosha M. Application of Chromogenic media for rapid detection water and food- borne pathogens , American-Eurasian Journal .(2008), 4(6):693 – 99.
- 2- Hill, W.E, (2004). The use of PCR technique for detection of Food-borne J. of Food Mic., 18:1191-99.
- 3-Manafi, M., Romans, H. , Geissler, K.M. (2004).Quantative Determination of total Coliforms and E.coli in marine waters with chromogenic and flourogenic media. J. Appl. Bacteriol, 98: 280-285
- 4-Afnor,S. , Alonso, B.(2004). Detection of E.coli O157H7 in water samples by chromogenic media, J. Appl. and Environ. Mic., 69: 6103-6110.
5. Li F, Zhao C, Zhang W, Cui S, Meng J, Wu J, et al. Use of Ramification Amplification Assay for Detection of Escherichia coli O157:H7 and Other Escherichia coli Shiga Toxin- Producing Strains. J Clin Microbiol; 2005; 43; 6086 - 6090.
- 6- CDC. Multistate Outbraek of E. coli O157 Infection Michigan and Ohio. MMWR; 2008; Available from : <http://www.cdc.gov/>
- 7- Dontorou C , Papado P , Filioussis G, Isolation of Escherichia coli O157:H7 from foods in Greece . International Journal of Food Microbiology . 2008 June;82: 7578-7580
8. Brashears M , Galyean M . E.coliO157:H7 in live cattle by 50 percent . 2002 April;24:3-6
- 9- Meldrum RJ, Smith RM, Ellis P, Garside J, Microbiological quality of randomly selected ready-to-eat foods sampled between 2003 and 2005 in Wales, UK , International Journal of Food Microbiology , 2006 , 108, (3) : 397-400
- 10-Froder H , et al. Minimally processed vegetable salads: Microbial quality evaluation,J. of food protection ,2007, 70, (5) :1277-1280.
- 11-Bahk Gyung-Jin, Todd E, Chong-Hae H , Deog-Hwan O, and Sang-Do H, Exposure assessment for Bacillus cereus in ready-to-eat Kimbab selling at stores , Food Control , 2007, 18, (6) : 682-688 .
- 12-Abadias M, Usall J, Anguera M, Solsona C, Vi?as I, Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments, 2008 ,123(1-2):121-29.
- 13-Abougrain AK, Nahaisi M, Nuri SM, Mohamed M , and Ghenghesh K , Parasitological contamination in salad vegetables in Tripoli-Libya , Food control ,2010(21) : 760-762.
- 14-Ponniah J, et al. Listeria monocytogenes in raw salad vegetables sold at retail level in Malaysia , Food Control , 2010 , 21, (5) :774-778 .
- 15- Gormley FJ , Little CL , Grant KA, Pinna E, McLauchlin B ,The microbiological safety of ready-to-eat specialty meats from markets and specialty food shops: A UK wide study with a focus on Salmonella and Listeria monocytogenes. Food Microbiology , 2010 ,27(4): 243-249.
- 16- Salek moghaddam A ,Frouhesh Tehrani M ,Davoodian P. Survey of the bacterial contaminants of Iranian foods in searches of E.coliO157:H7 in medical laboratory sciences researches center .Iranian J of Inf Dis and Trop Medicine . 2003 ; 18(21):5 – 8.
- 17- Vonderzant,C.,Splittstoesser, D.F, (2004). Compendium of methods for microbiological Examination of foods (APHA) 36: 605-609.
- 18-Archer G.L. *Staphylococcus aureus: A well-armed pathogen.* Clin. Infect.Dis.1998; 26: 1179-1181.

- 19-Gaillot O, Kuhn H, Wonde B. *Evaluation of Rambach agar detection of Salmonella subspecies.* J. Appl. Environ. Microbiol. 2005;60: 749-751.
- 20-Gaillot O, Wetsch M, Fortineau N, Berche P. *Evaluation of CHROMagar Staph. aureus, a new chromogenic medium, for isolation and presumptive identification of Staphylococcus aureus from human clinical specimens.* J Clin Microbiol. 2000;38(4):1587-91.
- 21-Voss A. and Doebbelinf B.N. *The worldwide prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus.* Int. J. Antimicrob. Agents. 1995; 5:101-106.
- 22-Rahbar M ,et al(2008). *Evaluation of a new CHROMagar medium for detection of Methicillin –Resistant Staphylococcus aureus.* Pakistan .J. of Biological Sciences 11(3):496-498.
- 23- Gaillot,O. et al, (2002). *Value of examination of water for streptococci and staphylococcus aureus with a view to its recent contaminations,* J. Clin. Microbiol, 38: 1587-91
- ۲۴- توکلی حمیدرضا ، میکروبیولوژی مواد غذایی و کنترل بهداشتی مراکز تهیه و توزیع غذا انتشارات مرز دانش، ۱۳۸۷.
- 25- Vanderzant C, and Splittstoesser DF , *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (APHA). U.S.A. 2005.