

ارزیابی آلودگی بستنی سنتی به اشیریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس در شهرستان سمنان سال ۱۳۸۶-۷

وحیده افراز^۱، علی جزایری مقدس^{۲*}، غلامرضا ایراجیان^۳

۱) آزمایشگاه مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان

۲) بخش میکروبی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان

۳) گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

نویسنده رابط: علی جزایری مقدس، بخش میکروبی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان

sa_jazayery@yahoo.com

همراه: ۰۹۱۲۴۳۸۸۱۸۸

تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۱۰/۲۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۷/۱۲/۲۸

چکیده:

زمینه و اهداف: بستنی محصولی لبنی و منجمد شده است که از ترکیب و فرآیند مناسب شیر، خامه، شکر و مواد طعم دهنده به دست می آید و می تواند حاوی پایدار کننده ها و رنگ نیز باشد. این فرآورده با توجه به مواد تشکیل دهنده و PH نزدیک به خنثی و نگهداری طولانی مدت، محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم ها محسوب می گردد. هدف از این مطالعه ارزیابی کیفیت بستنی سنتی (غیر پاستوریزه) عرضه شده در شهرستان سمنان از نظر آلودگی به اشیریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس بود.

روش بررسی: تعداد ۱۳۶ نمونه در طول دو سال (۸۷-۱۳۸۶) از سطح شهرستان سمنان نمونه برداری و در شرایط استریل به آزمایشگاه مواد خوراکی، آشامیدنی، آرایشی و بهداشتی منتقل شد. نمونه ها از نظر وجود استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیاکلی طبق استاندارد های ملی ایران بررسی شدند.

یافته ها: از مجموع ۱۳۶ نمونه بستنی، ۹۶ نمونه (۷۰/۶ درصد) به اشیریشیاکلی، ۵۳ نمونه (۳۸/۹ درصد) به استافیلوکوکوس اورئوس و ۵۲ نمونه (۳۸/۲٪) نیز به هر دو باکتری آلوده بودند. ۳۹ نمونه (۲۸/۷٪) فاقد آلودگی بودند.

نتیجه گیری: میزان آلودگی بستنی های مورد بررسی به استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیاکلی زیاد و در اغلب موارد از بررسی های مشابه بیشتر است.

کلیدواژه ها: بستنی سنتی، استافیلوکوکوس اورئوس، اشیریشیاکلی، آلودگی، مسمومیت غذایی

مقدمه:

E. coli یکی از شاخص‌هایی است که برای تعیین آلودگی میکروبی بستنی مورد استفاده قرار می‌گیرد. *E. coli* شایع‌ترین باکتری فلور طبیعی می‌باشد که به عنوان عامل بیماری‌زای انسانی، از موارد عفونت‌های دستگاه ادراری، زخم، پنمونی، مننژیت و سپتی‌سمی جدا شده و همچنین سویه‌های خاصی از آن باعث گاستروانتریت می‌گردد (۸).

هدف از این مطالعه ارزیابی کیفیت بستنی غیر پاستوریزه (سنتی) عرضه شده در شهرستان سمنان از نظر آلودگی به اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس بود.

مواد و روش‌ها:

در این مطالعه توصیفی مقطعی ۱۳۶ نمونه در طول دو سال (۱۳۸۶ و ۱۳۸۷) بررسی شدند. نمونه‌ها به طور مستمر از سطح شهرستان سمنان، توسط کارشناسان مرکز بهداشت شهرستان، و بر اساس رعایت اصول بهداشتی (تحت شرایط استریل، نگهداری نمونه‌ها در جعبه یخی پس از نمونه برداری تا رساندن آنها به آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی استان، در زمان حداکثر ۵ ساعت) جمع‌آوری شدند. نمونه‌های ارسالی پس از توزین به میزان ۱۰ گرم در شیشه‌های استریل و رعایت شرایط آسپتیک با ۹۰ میلی‌لیتر محلول رینگر مخلوط می‌گردید. این مخلوط پس از ده دقیقه جهت بررسی وجود استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی مورد آزمایش قرار می‌گرفت.

برای شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس از محیط‌های کشت کوکمیت و برد پارکر استفاده شد. در این روش یک میلی‌لیتر از رقت مورد نظر به لوله در پیچ دار حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محسوط کوکمیت اضافه می‌شد، و ۲۴ تا ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه می‌شد. پس از این مدت ۰/۵ میلی‌لیتر از آن در سطح محیط برد پارکر کشت داده می‌شد، و ۳۰ تا ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه می‌گردید. ایجاد پرگنه‌های سیاه براق با لبه نازک سفید و هاله شفاف در اطراف آن مشخصه استافیلوکوکوس می‌باشد. برای آزمون‌های تاییدی از تست کوآگولاز با پلاسماي خرگوش و تخمیر هوازی ویی هوازی مانیتول در محیط Mannitol Salt Agar استفاده شد (۷).

برای بررسی وجود اشریشیاکلی از محیط‌های LST (Lauryl Sulfate Tryptose Broth) با غلظت دو برابر

شیر و فرآورده‌های آن یکی از گروه‌های غذایی اصلی برای تامین بسیاری از مواد مغذی ضروری مانند کلسیم و ویتامین B2 محسوب می‌شود. ارزش غذایی بستنی به اجزاء تشکیل دهنده آن و همچنین به ارزش مواد اولیه‌ای بستگی دارد که در ساخت بستنی مصرف می‌شود (۱). بستنی تقریباً حاوی ۱۲ درصد چربی، ۱۱ درصد شیر بدون چربی، ۱۵ درصد شکر و یا شیرین کننده‌های دیگر و ۳ درصد امولسیفایر و قوام دهنده می‌باشد، که به صورت سنتی و صنعتی تهیه می‌گردد (۲).

این فرآورده با توجه به مواد متشکله و PH نزدیک به خنثی و نگهداری طولانی مدت، محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌ها است. از طرفی نحوه تولید بستنی‌های سنتی با استفاده از شیر غیر پاستوریزه و آلودگی در حین تولید، این ماده غذایی را از جمله عوامل مهم بروز مسمومیت‌های غذایی قرار داده است (۳). آلودگی بستنی در مراحل مختلف تولید رخ می‌دهد. در تولید صنعتی، بستنی در مراحل پاستوریزاسیون، فریز کردن و سخت شدن (Hardening) به میکروارگانیسم‌ها آلوده می‌گردد. اما در تولید سنتی احتمال آلودگی بیشتر است (۴).

در ایران تولید بستنی‌های غیر پاستوریزه تحت عنوان بستنی سنتی که به روش دستی تهیه می‌شود بسیار رایج بوده و مصرف آن در ماه‌های گرم سال زیاد می‌شود. آلودگی این محصول به میکروارگانیسم‌های پاتوژن سبب مسمومیت‌ها و عفونت‌های غذایی شده، سلامت افراد را به خطر انداخته، و موجب زیان‌های اقتصادی و اجتماعی قابل توجه می‌گردد (۵).

مسمومیت غذایی، بیماری حاد ناشی از عدم رعایت بهداشت مواد غذایی است که عوامل باکتریایی یکی از علل مهم به‌وجود آورنده آن می‌باشند (۶). استافیلوکوکوس اورئوس در آب، هوا، گرد و خاک، شیر و سایر مواد غذایی و فاضلاب یافت می‌شود. محل زندگی آن بیشتر در پوست، بینی و دستگاه تنفسی (قسمت فوقانی) انسان و حیوانات است. این باکتری بعد از اشریشیاکلی مهم‌ترین منشاء آلودگی غذاهای انسان می‌باشد (۴). بیشتر سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس در تراکم‌های نسبتاً بالا از کلرور سدیم (۷/۵٪ الی ۱۰٪) رشد کرده و قادر به تخمیر مانیتول هستند (مانیتول مثبت). این صفت در بازشناسی استافیلوکوکوس اورئوس از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس که مانیتول منفی است به کار می‌رود. استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس از نظر شکل مانند استافیلوکوکوس اورئوس است ولی کوآگولاز منفی می‌باشد (۷).

تست‌ها شامل کشت در محیط افتراقی TSI، اندول، متیل رد، وی پی و سیمون سیترات (IMVIC) بود. نتایج برای اشریشیا کلی به صورت زیر است: TSI؛ اسید/اسید، H₂S منفی، گاز+. IMVIC: اندول و متیل رد مثبت، وی پی و سیترات منفی (۹).

یافته‌ها:

با توجه به آزمون‌های انجام شده از مجموع ۱۳۶ نمونه بستنی، ۹۶ نمونه (۷۰/۶ درصد) آلوده به اشریشیاکلی بودند. همچنین ۵۳ نمونه (۳۸/۹ درصد) از نظر استافیلوکوکوس اورئوس مثبت بودند. ۵۲ نمونه (۳۸/۲ درصد) نیز به هر دو باکتری مورد بررسی آلوده بود و ۳۹ نمونه (۲۸/۷ درصد) فاقد آلودگی بودند. توزیع فراوانی نمونه‌های مورد آزمایش و موارد مثبت در فصول سال در جدول ۱ ارائه شده است.

(دوبل)، E.C براث و پپتون واتر استفاده شد. در ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از رقت تهیه شده به ۱۰ میلی‌لیتر LST دوبل حاوی لوله دور هام اضافه می‌شد، و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷°C قرار می‌گرفت. در صورت ایجاد گاز یک تادو قطره از محلول فوق به ۱۰ میلی‌لیتر محیط E.C براث با غلظت معمولی و حاوی لوله دور هام افزوده می‌شد. این لوله آزمایش به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در بن ماری ۴۵-۴۴°C قرار می‌گرفت. در صورت عدم تشکیل گاز، E.coli منفی گزارش می‌شد. در صورت تشکیل گاز یک تا دو قطره از آن به آب پیتونه بدون اندول افزوده می‌شد و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در بن ماری ۴۵-۴۴°C انکوبه می‌گردید. سپس نیم میلی‌لیتر معرف کواکس به لوله افزوده می‌شد. پس از یک دقیقه ایجاد رنگ قرمز در سطح محیط کشت موید واکنش اندول مثبت بود. از محیط E.C broth بر روی محیط کشت Mac Conkey Agar کشت می‌شد تا کلنی‌های ارغوانی لاکتوز مثبت مشاهده شوند. سپس از کلنی‌های فوق بر روی نوترینت آگار کشت داده می‌شد تا از کلنی‌های ایزوله برای انجام تست‌های تاییدی استفاده شود. این

جدول ۱: توزیع فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی در نمونه‌های بستنی

تعداد نمونه (درصد)	آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس	آلوده به اشریشیاکلی	آلوده به هر دو باکتری	غیر آلوده	
۳۷ (۲۷/۲)	۸	۲۳	۷	۱۳	بهار
۹۰ (۶۶/۲)	۴۳	۶۸	۴۳	۲۲	تابستان
۵ (۳/۶)	۱	۳	۱	۲	پاییز
۴ (۳)	۱	۲	۱	۲	زمستان
۱۳۶ (۱۰۰)	۵۳ (۳۸/۹)	۹۶ (۷۰/۶)	۵۲ (۳۸/۲)	۳۹ (۲۸/۷)	جمع

بحث:

۳۸/۹ درصد نمونه‌ها آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس داشتند. این نتیجه با بررسی انجام شده در تهران (۴۳/۱ درصد) (۱۵) مطابقت داشته و از بررسی‌های انجام شده در یاسوج (۲۸/۶ درصد) (۱۴)، کامبوج (۱۲/۲ درصد) (۱۲)، پاکستان (۲۶ درصد) (۱۱)، کردستان (۱/۷ درصد) (۴) بیشتر و از بررسی انجام شده در قزوین (۶۲ درصد) (۱۰) کمتر است.

در دنیا همه ساله حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد از مواد غذایی تولید شده به علت عدم استفاده از روش‌های مناسب تولید، نگهداری و عرضه دستخوش آلودگی و فساد می‌شود. از این طریق خسارات مالی، جانی و بهداشتی زیادی حاصل می‌گردد (۱۴). یکی از مهم‌ترین

میزان آلودگی نمونه‌های بستنی به اشریشیاکلی تقریباً دو برابر استافیلوکوکوس اورئوس است. این در حالی است که بیش از یک سوم نمونه‌ها به هر دو باکتری آلوده هستند و کمتر از یک سوم فاقد آلودگی می‌باشند.

در این بررسی ۷۰/۶ درصد نمونه‌ها آلوده به اشریشیاکلی بودند. این میزان در مقایسه با بررسی انجام شده توسط احمد آفاقی در قزوین (۶۰ درصد) (۱۰)، پاکستان (۴۶ درصد) (۱۱)، کامبوج (۳۰ درصد) (۱۲)، مطالعه نورامیر مظفری (۱۶/۵ درصد) (۱۳)، یاسوج (۱۷ درصد) (۱۴)، زاهدان (۳/۶۵ درصد) (۵) بیشتر است و به بررسی انجام شده در کردستان (۶۹/۹ درصد) (۴) نزدیک می‌باشد.

اشریشیاکلی در اغلب موارد از بررسی‌های مشابه بیشتر است. این آلودگی ممکن است ناشی از عدم پاستوریزاسیون شیر و مخلوط بستنی و همچنین ناشی از افرادی باشد که مستقیماً در تهیه آن نقش دارند. آلودگی اولیه ممکن است حین حمل و نقل و انبار نمودن هم پیش آمده باشد. مصرف بستنی در گروه‌های سنی مختلف به‌ویژه در کودکان بسیار رایج بوده و در ماه‌های گرم سال زیاد می‌شود. آلودگی به میکروارگانیسم‌های پاتوژن سلامت افراد را به خطر می‌اندازد. لذا، پاستوریزاسیون شیر و مخلوط بستنی، رعایت بهداشت توسط افرادی که مستقیماً در تهیه آن سروکار دارند، همچنین نظارت بر فرآیند تولید و توزیع بستنی‌های سنتی، و سرانجام ایجاد زمینه مناسب برای تبدیل وضعیت تهیه و توزیع بستنی از سنتی به صنعتی الزامی است.

مسائل بهداشتی کشورهای در حال توسعه آلودگی مواد غذایی می‌باشد که منجر به بیماری‌های عفونی قابل انتقال از غذا می‌گردد. کنترل این بیماری تنها در پی شناخت و جدا سازی عوامل آلوده کننده و حذف روش‌هایی میسر می‌گردد که از آن طریق مواد غذایی آلوده می‌گردند (۱۳). انتقال پاتوژن‌ها از غذا و به‌خصوص فرآورده‌های شیر به انسان به گونه پاتوژن و عوامل محیطی بستگی دارد. بستنی یکی از مهم‌ترین عوامل بروز مسمومیت‌های غذایی به ویژه در کودکان است (۱۲) که یکی از مهم‌ترین شاخص‌های بهداشتی در آن آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی می‌باشد (۱۶).

نتیجه گیری:

آلودگی بستنی‌های مورد بررسی به استافیلوکوکوس اورئوس و

فهرست مراجع:

1. Anuranjini C, Geethu S, Dhanashree B. Bacteriological analysis of ice creams from Mangalore, south India. *Indian J Med Res* 2008; **127**(1):91-2.
2. Alvarez VB, Wolters CL, Vodovotz Y, Ji T. Physical properties of ice cream containing milk protein concentrates. *J Dairy Sci* 2005; **88**(3):862-71.
3. Maifreni M, Civilini M, Domenis C, Manzano M, Di Prima R, Comi G. Microbiological quality of artisanal ice cream. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 1993; **194**(5-6):553-70.
4. Hazhir MS, Rashidi K, Senobar Tahaei SN, Reshad Manesh N, Mofareh N. Assessment of the types and rate of contamination in traditional ice-cream in Kurdistan province and its relationship to environmental and personal health care. *Scientific J Kurdistan University Med Sciences* 2005; **37**(10): 60-53.
5. Shadan MR, Khoushabi F, Safari F. The evaluation of physicochemical and microbial status of traditional ice creams in Zahedan. *TABIB-E-SHARGH* 2003; **4**(4):221-215.persian.
6. Salek Moghadam A, Forouhesh Tehrani H, Mozafari NA, Ansari H. Prevalence of virulence factors among E.coli isolated from food materials from Iran University of Medical Sciences' food microbial laboratory. *FEYZ* 2000; **15**(4): 40-32.persian.
7. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Protocol number 1194
8. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and practice of infectious disease*. 6th ed. Philadelphia; Elsevier. 2005.pp2567-86.
9. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Protocol number 2946.
10. Afaghi A. Bacteriological analysis of creamy foodstuffs. *Irn J Public Health* 1990; **4-1**(19): 19-15.persian.
11. Masud T. Microbiological quality and public health significance of ice-cream. *J Pak Med Assoc*. 1989 ; **39**(4):102-4.
12. Kruy SL, Soares JL, Ping S, Sainte-Marie FF. Microbiological quality of "ice, ice cream. Sorbet" sold on the streets of Phnom Penh; April 1996-April 1997. *Bull Soc Pathol Exot*. 2001; **94**(5):411-4. French.
13. Mozafari NA, Forohesh Tehrani H, Salek Moghadam AR, Ansari H, Mojtahedi A. A comprehensive survey of the Enterobacteriaceae strains isolated from contaminated food stuffs in the Iran University center for the control of food, cosmetic and hygienic products. *Scientific Med J Ahwaz University Med Sciences* 2002; **32**: 50-45.persian.
14. Pour Mahmoodi A, Mohammadi J, Mirzaei A, Momeni Nejad M, Afshar R. Epidemiological study of traditional ice cream in Yasuj. *ARMAGHANE-DANESH* 2003; **29**(8): 65-59. persian.
15. Soltandallal MM, Saberpoor F, Norozbabaee H, Fakharian F, Aghaamiri S, Fazelifard PS, et al. Determination of Coagulase positive

Staphylococcus in food products in Tehran. 9th Iranian Congress of Microbiology. Kerman, Iran, 2008.

16. Daniels NA, MacKinnon L, Rowe SM, Bean NH, Griffin PM, Mead PS. Foodborne disease outbreaks in United States schools. *J Pediatr Infect Dis* 2002; **21**(7):623-8.