

بررسی آلودگی شیر خام از نظر اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس در ایلام

دکتر نورخدا صادقی فرد^۱، فرید عزیز جلیلیان^۱، علی صیدخانی نهال^۲

تاریخ پذیرش: ۸۵/۵/۱۲

تاریخ دریافت: ۸۴/۸/۱۰

چکیده:

مقدمه: شیر نقش عمده ای در تغذیه انسان در سنین گوناگون دارد و کنترل و نظارت بر موازین بهداشتی آن در طول تهیه، حمل، نگهداری و عرضه بسیار حیاتی است. پژوهش حاضر به منظور بررسی آلودگی میکروبی شیر خام در استان ایلام از نظر اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس، طی سالهای ۱۳۷۸ تا ۱۳۸۲ صورت گرفت. **مواد و روشها:** این مطالعه به صورت توصیفی مقطعی با استفاده از روش نمونه گیری طبقه بندی چند مرحله ای از گاو داریها، ماشینهای حمل و مراکز فروش شیر انجام گرفت. جمعاً ۷۸۰ نمونه شیر خام در ظروف استریل تهیه گردید. برای جداسازی اشریشیاکلی از محیط EMB و برای جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس از محیط چاپمن استفاده گردید. نتایج توسط آزمون T مورد تحلیل قرار گرفت.

یافته های پژوهش: از ۳۲۰ نمونه مربوط به زمان شیردوشی حدود ۶۳ نمونه (۱۹/۷٪) آلوده به اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس، در ۶۲ نمونه (۱۹/۴٪) فقط اشریشیا کلی و ۳۰ نمونه (۹/۳٪) فقط استافیلوکوکوس اورئوس بودند، در ۱۶۵ نمونه (۵۱/۶٪) آلودگی به هیچ کدام از این دو باکتری دیده نشد. در حین حمل شیر از ۲۰۰ نمونه مورد بررسی در ۹۸ نمونه (۴۹٪) اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس، در ۱۵ نمونه (۷/۵٪) فقط اشریشیاکلی و در ۳۰ نمونه (۱۵٪) فقط استافیلوکوکوس اورئوس جدا گردید، در ۵۷ مورد (۲۸/۵٪) هیچکدام از ارگانیسیم های مورد نظر جدا نشد. در مراکز فروش از ۲۶۰ نمونه تهیه شده در ۱۵۲ نمونه (۵۸/۴٪) اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس، در ۲۸ مورد (۱۰/۸٪) فقط اشریشیاکلی، در ۷۲ مورد (۲۷/۷٪) فقط استافیلوکوکوس اورئوس جدا گردید. در ۸ نمونه (۳/۱٪) هیچ یک از ارگانیسیم های مورد نظر جدا نشد.

نتیجه گیری نهایی: نتایج نشان داد که آلودگی میکروبی در هر یک از مراحل بطور معنی داری با هم متفاوت است ($P < 0.05$)، همچنین در میزان آلودگی به اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس از زمان شیر دوشی تا مرحله فروش بطور معنی داری افزایش مشاهده گردید.

واژه های کلیدی: شیر خام، اشریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس

1- گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایلام

2- گروه بیومشیمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام

مقدمه

شیر غذای نسبتاً کاملی است که در هر سنی قسمتی از جیره غذایی انسان را تشکیل می‌دهد و به دلیل مغذی بودن و ترکیب کامل پروتئین، عناصر معدنی ضروری و بعضی از ویتامین‌ها غذای منحصر به فرد برای کودکان می‌باشد. در شیر بیشتر مواد غذایی به مقدار کافی و با ترکیب مناسب برای زندگی و رشد و نمو کودک وجود دارد (۶). از طرفی شیر بعلت مغذی بودن محیط مناسبی برای رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها می‌باشد و بنابراین کنترل و نظارت بر موازین بهداشتی شیر بسیار حیاتی است. شدت آلودگی و فساد میکروبی در شیر خام بستگی به چگونگی رعایت موازین بهداشتی در طول تهیه، حمل و نگهداری آن دارد (۳).

مصرف سرانه شیر در ایران طی سالهای اخیر رو به افزایش بوده است، بطوری که میزان سرانه آن از ۸/۵ کیلوگرم در سال ۱۳۴۵ به ۷۳/۵ کیلوگرم در سال ۱۳۷۴ رسیده است (۱).

بطور کلی عوامل میکروبی آلوده کننده شیر به دو گروه تقسیم می‌شوند ۱- عوامل میکروبی که باعث فساد و غیر قابل مصرف شدن شیر می‌گردند. این گروه از باکتری‌ها که باعث تغییر رنگ، بدبو شدن و لخته شدن شیر می‌گردند شامل گونه‌های آلکالیژنس، باسیل‌های گرم مثبت اسپوردار و برخی از کلسترییدیومها می‌باشند.

۲- عوامل میکروبی که از طریق مصرف شیر به انسان منتقل می‌شوند و در انسان مسمومیت و یا بیماری ایجاد می‌نمایند. اگرچه بهترین روش برای مقابله با آلودگی میکروبی شیر چه توسط عوامل گروه اول و چه عوامل گروه دوم روشهای حرارتی بخصوص پاستوریزاسیون است اما گاهی حرارت به دلایلی مثل آلودگی زیاد در شیر خام کارائی لازم ندارد (۷).

با توجه به شرایط جغرافیایی منطقه ایلام، گسترش دامداری‌ها و گاوداری‌ها در این منطقه و به دنبال آن افزایش تولید شیر خام، مکانیزه نبودن سیستم شیر دوشی و عدم آگاهی بیشتر کارگران گاوداری‌ها و دامداری‌ها از مسائل بهداشتی در مورد شیر دوشی، نگهداری و حمل شیر، بررسی آلودگی شیر خام از نظر میکروبی‌های شاخص در مکان تولید و توزیع اهمیت بسزایی دارد. در این مطالعه تعدادی از

میکروبی‌های شاخص و با اهمیت در آلودگی شیر خام که در انسان باعث مسمومیت و یا بیماری می‌شوند مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به روش توصیفی مقطعی انجام گردید. جامعه مورد مطالعه کلیه شیرهای تولیدی در گاوداری‌های استان ایلام بود که با استفاده از روش نمونه‌گیری طبقه‌بندی چند مرحله‌ای از اردیبهشت ۷۸ تا آذر ۸۲ مورد بررسی قرار گرفتند. از شیر کلیه گاوداری‌ها، ماشین‌های حمل شیر و مراکز فروش نمونه در شرایط استریل تهیه گردید. در این مطالعه جمعاً ۷۸۰ نمونه تهیه گردید که ۳۲۰ نمونه مربوط به زمان شیردوشی، ۲۰۰ نمونه در حین حمل شیر به مراکز فروش و ۲۶۰ نمونه در مراکز فروش تهیه گردید. وسایل مورد آزمایش قبل از هر آزمایش به مدت ۴۸ ساعت در محلول ده درصد اسید نیتریک قرار گرفته و بعد با آب مقطر شستشو داده شدند. تشخیص اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس به صورت زیر انجام گردید.

الف- اشریشیاکلی: برای تشخیص اشریشیاکلی از نمونه‌های شیر مقدار یک میلی‌لیتر بر روی پلیت حاوی محیط EMB کشت داده شد. سپس محیط‌های کشت داده شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. در صورت مشاهده کلنی‌های لاکتوز مثبت (بنفش رنگ) با یا بدون جلای فلزی تست‌های تأییدی شامل تست اندل، تست سیترات، تست متیل رد، تست VP، تولید H₂S و تست حرکت انجام می‌گرفت. همچنین برای شمارش کلی فرم‌های شیر از روش MPN سه لوله‌ای استفاده شد.

ب- استافیلوکوکوس اورئوس: برای تشخیص استافیلوکوکوس اورئوس یک میلی‌لیتر از نمونه شیر بر روی پلیت حاوی محیط چاپمن کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه می‌گردید. بعد از این مدت در صورت مشاهده کلنی‌های مانیتول مثبت، تست‌های تأییدی شامل تخمیر گلوکز در شرایط هوازی و بی‌هوازی، تخمیر مانیتول، تعیین حساسیت به دیسک لیزوستافین، تست کاتالاز و تست کواگولاز انجام گرفت. نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS

وآزمون آماری t-test مورد بررسی قرار گرفت.

یافته های پژوهش

از ۳۲۰ نمونه مربوط به شیردوشی در ۶۳ نمونه (۱۹/۷٪) اشیریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس با همدیگر، در ۶۲ نمونه (۱۹/۴٪) فقط اشیریشیاکلی و در ۳۰ نمونه (۹/۳٪) فقط استافیلوکوکوس اورئوس، جدا گردید. در ۱۶۵ نمونه (۵۱/۶٪) آلودگی به هیچکدام از دو باکتری مورد نظر مشاهده نگردید. بطور کلی در زمان شیر دوشی در ۱۲۵ نمونه اشیریشیاکلی و ۹۲ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جدا گردید در حین حمل شیر از ۲۰۰ نمونه مورد بررسی در ۹۸ نمونه (۴۹٪) اشیریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس با همدیگر، در ۱۵ نمونه (۷/۵٪) فقط اشیریشیاکلی و در ۳۰ نمونه (۱۵٪) فقط استافیلوکوکوس

اورئوس جدا گردید. در ۵۷ نمونه (۲۸/۵٪) هیچکدام از ارگانیزم های مورد نظر جدا نشد. بطور کلی در این مرحله در ۱۱۳ نمونه اشیریشیاکلی و در ۱۲۸ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جدا گردید. در مراکز فروش از ۲۶۰ نمونه تهیه شده، در ۱۵۲ مورد (۵۸/۴٪) اشیریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس، در ۲۸ مورد (۱۰/۸٪) فقط اشیریشیاکلی، در ۷۲ مورد (۲۷/۷٪) فقط استافیلوکوکوس اورئوس جدا گردید. در ۸ نمونه (۳/۱٪) هیچ یک از ارگانیزم های مورد نظر جدا نشد.

بطور کلی در مرحله سوم در ۱۸۰ نمونه اشیریشیاکلی و در ۲۲۴ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس جدا گردید. در جدول های شماره ۱ و ۲ توزیع فراوانی آلودگی شیر خام از نظر باکتریهای مورد نظر نشان داده شده است.

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی اشیریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از شیر خام در زمان شیر دوشی در استان ایلام

جمع		موارد منفی		موارد مثبت		نتیجه آزمایشگاهی	
						نوع باکتری	
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد		
۱۰۰	۳۲۰	۶۱	۱۹۵	۳۹	۱۲۵	اشیریشیاکلی	
۱۰۰	۳۲۰	۷۱	۲۲۷	۲۹	۹۳	استافیلوکوکوس اورئوس	

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی آلودگی شیر خام از نظر استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی
برحسب محل نمونه برداری در استان ایلام

جمع		در مراکز فروش				حین حمل شیر به مراکز فروش				زمان شیردوشی				محل نمونه برداری و نتیجه آزمایشگاهی نوع باکتری
		موارد مثبت		موارد منفی		موارد مثبت		موارد منفی		موارد مثبت		موارد منفی		
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	نوع باکتری
۶۶/۳	۳۱۲	۷۳/۷	۱۱۴	۳۰/۸	۳۰	۶۹/۲	۱۷۰	۴۳/۵	۸۷	۵۶/۵	۱۱۲	۶۱	۱۹۵	اشریشیا کلی
۴۳	۳۳۵	۵۵	۴۳۳	۱۴	۳۱	۶۷	۳۱۱	۳۶	۷۸	۳۶	۱۲۱	۱۸	۳۲۷	استافیلوکوکوس اورئوس
۵۹/۹	۱۶۳	۱/۳	۳۱۳	۱/۱۳	۷۰۱	۳/۷۵	۱۵۱	۱۵	۲۰۱	۵۳	۷۵	۳۵۷	۱۹/۱	استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی با همدیگر

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر به منظور بررسی کیفیت شیر خام استان ایلام از لحاظ آلودگی به اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس از اردیبهشت ماه ۱۳۷۸ تا آذر ماه ۱۳۸۲ انجام گردید. جمعاً در این مطالعه ۷۸۰ نمونه شیر خام مورد بررسی قرار گرفت، که ۳۲۰ نمونه در زمان شیر دوشی، ۲۰۰ نمونه در حین حمل شیر و ۲۶۰ نمونه در مراکز فروش تهیه گردید.

در مرحله شیر دوشی از ۳۲۰ نمونه جمع آوری شده در ۱۲۵ نمونه (۳۹٪) اشریشیاکلی جدا گردید، همچنین در مرحله حمل شیر از ۲۰۰ نمونه در ۱۱۲ نمونه (۵۶/۵٪) و در مراکز توزیع شیر از ۲۶۰ نمونه در ۱۸۰ نمونه (۶۹/۲٪) اشریشیاکلی جدا گردید.

نتایج جدول شماره ۱ نشان می دهد که فاصله اطمینان ۹۵ درصدی برای برآورد میزان آلودگی به اشریشیا کلی ۳۳/۴ در صد تا ۴۴/۳ درصد می باشد. فاصله اطمینان ۹۵ درصدی برای آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس عبارتست از ۲۴ درصد تا ۳۴ درصد. مقایسه دو فاصله اطمینان نشان می دهد که میزان آلودگی نمونه های شیر به دو باکتری به طور معنی داری با هم تفاوت

دارند ($P < 0.05$). ولی در سطح $a = 1\%$ بین آلودگی به باکتری های اشریشیاکلی و

استافیلوکوکوس اورئوس تفاوت معنی داری وجود نداشت.

همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که آلودگی به اشریشیاکلی از زمان شیر دوشی تا رسیدن به دست مصرف کننده بطور معنی داری افزایش می یابد ($P < 0.05$) با توجه به اینکه وجود اشریشیاکلی در نمونه های شیر دال بر آلودگی مدفوعی است، بنابراین احتمالاً پاتوژنهای روده ای انسانی و حیوانی مثل سالمونلا نیز در شیر وجود دارد و شناخت منبع آلودگی می تواند اهمیت زیادی داشته باشد (۴). در این مطالعه آلودگی به اشریشیاکلی در مراکز فروش به حداکثر رسیده است و این نشان دهنده عدم رعایت موازین بهداشتی در این مراکز می باشد. مهمترین عاملی که در افزایش شمارش باکتریایی در شیر اثر می گذارد حمل و نقل نامطلوب شیر خام است (۵).

آلودگی شیر به اشریشیا کلی می تواند به دلایل متعددی باشد که از آن جمله می توان به عدم استفاده از ماشینهای یخچال دار جهت حمل شیر به مراکز فروش، عدم شستشو و ضد عفونی کردن مناسب سطح پستان گاو با محلولهای مناسب (به علت آلوده بودن پستان گاو با مدفوع خود گاو در هنگام شیر دوشی)، عدم رعایت بهداشت فردی کارگران گاوداری و متعاقب آن انتقال اشریشیاکلی از طریق دست کارگران به شیر یا پستان گاو و عدم

گاوداری مهمترین دلیل آلودگی شیر خام به استافیلوکوکوس اورئوس باشد. در تحقیقات آذر و شیدفر که به ترتیب بر روی شیرهای مناطق کرمانشاه و تبریز انجام شده است گزارش گردید که در کرمانشاه ۶۲/۵ درصد شیر های خام، آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس هستند ولی در تبریز در شیر پاستوریزه هیچگونه آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده نگردید (۱).

به دنبال آلودگی شیر خام به استافیلوکوکوس اورئوس، باکتری می تواند در شیر خام انتروتوکسین مقاوم به حرارت ترشح نماید. این انتروتوکسین مسمومیت غذایی ایجاد می نماید و حتی با جوشاندن شیر خام آلوده انتروتوکسین باکتری غیر فعال نمی شود. بنابراین شیرهای خام بررسی شده در مطالعه حاضر اگر آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس تولید کننده انتروتوکسین باشند، حتی اگر جوشیده شوند باز هم خطر مسمومیت غذایی از بین نخواهد رفت.

در مقایسه آلودگی همزمان به اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس در هر ۳ مرحله نمونه گیری مشاهده گردید، که در زمان شیر دوشی از ۳۲۰ نمونه در ۶۳ نمونه (۱۹/۷٪)، در حین حمل شیر از ۲۰۰ نمونه در ۹۸ نمونه (۴۹٪) و در مراکز فروش از ۲۶۰ نمونه در ۱۵۲ نمونه (۵۸/۴٪) آلودگی همزمان به هر دو باکتری مشاهده شد. این آلودگی توأم از محل شیر دوشی تا مراکز توزیع شیر افزایش نشان داد و این افزایش از لحاظ آماری معنی دار بود ($P < 0.05$).

تشکر و قدردانی:

از مسئولین محترم دانشگاه علوم پزشکی ایلام، مسئولین محترم جهاد سازندگی و مدیران محترم گاوداریهای استان که در تمام مراحل این تحقیق از هیچ کمکی دریغ نمودند صمیمانه سپاسگزاری میشود.

استفاده از آب پاکیزه برای شستشوی ظروف حمل شیر یا ظروف نگهداری شیر در مراکز فروش اشاره نمود.

طبق گزارش تحقیق آذر و شیدفر که به ترتیب بر روی شیرهای مناطق کرمانشاه و تبریز انجام شد آلودگی به اشریشیاکلی در ۱۰۰٪ نمونه های شیر خام استان کرمانشاه و در ۵۰٪ نمونه های شیر پاستوریزه تبریز وجود داشت. در مورد اول ضرورت بسته بندی یکبار مصرف و انجام آزمایشات کنترل کیفی شیر در محل دامداریها پیشنهاد گردید. در تبریز عدم کفایت سیستم حرارتی برای نابودی اشریشیا کلی علت عمده آلودگی ذکر گردید (۱).

با توجه به اینکه خیلی از سرگروپ های اشریشیا کلی، پاتوژنهای دستگاه گوارش انسان هستند و باعث بروز اسهال آبکی تا اسهال خونی و در مواردی کولیت همورائیک و سندرم اورمی همولیتیک می شوند، بنابراین تکثیر اشریشیاکلی در شیر عامل مهمی در بروز اسهال و حتی مرگ و میر در کودکان زیر ۲ سال می گردد. با توجه به موارد بالای آلودگی شیر خام به اشریشیا کلی، شرایط بهداشتی مناسب در هنگام شیر دوشی و آگاهی کامل کارگران گاوداری از ضوابط بهداشتی ضروری به نظر می رسد.

در این مطالعه در مرحله شیر دوشی از ۳۲۰ نمونه جمع آوری شده در ۹۳ نمونه (۲۹٪)، در مرحله حمل شیر از ۲۰۰ نمونه در ۱۲۸ نمونه (۶۴٪) و در مراکز فروش از ۲۶۰ نمونه در ۲۲۴ نمونه (۸۶٪) استافیلوکوکوس اورئوس جدا گردید. نتایج نشان داد که آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس از زمان شیر دوشی تا رسیدن به دست مصرف کننده بطور معنی داری افزایش یافته بود ($P < 0.05$). با توجه به اینکه منبع اصلی استافیلوکوکوس اورئوس در انسان حفره های بینی، دمل های پوستی، جوش های پوستی و در مواردی پوست سالم می باشد، بنابراین به نظر می رسد دست یا ترشحات بینی کارگران

منابع

- ۱ - شیدفر، فرزاد. بررسی فلور باکتریایی شیر پاستوریزه تبریز. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم تغذیه و بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ۷۵ - ۱۳۷۴.
- ۲ - فرخنده، عباس. روشهای آزمایش شیر و فرآورده های آن. جلد اول، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ص ۴۰ - ۵، ۱۳۷۰.

۳- رکنی ، نوردهر . بهداشت مواد غذایی ، انتشارات دانشگاه تهران . تهران ، ص ۳۰-۵۰ ، ۱۳۷۰ .

۴ - کریم ، گیتی . آزمونهای میکروبی مواد غذایی ، انتشارات دانشگاه تهران . تهران ، ص ۷۰-۵۷ ، ۱۳۷۰ .

۵ -ملکی، محمد. میکروب شناسی مواد غذایی، انتشارات مراکز نشر دانشگاهی.تهران ، ص ۲۹، ۱۳۶۹- ۳۵

6-Garrow JS . James WPT.Ralph A.et al ; Human nutrition & Dietetics ; 10th ed, Churchill livingstone,New york , 375-380,2000.

7- Jay J ; Modern Food microbiology ; 4th ed , Chapman and Hallco , New york, 335-341,1992.

A study on Contamination of E.coli and S.aureus in raw milk in Ilam during 1999- 2003.

Dr., Sadeghifard N¹., Azizi Jalilian F²., Seidkhani A²., Rostamzad A³.

Abstract

Introduction: Milk is an important part of human nutrition in different ages. Thus, hygiene and control of the milk during processing, transportation, saving and marketing is of vital significance..

Methods: This cross-sectional study was performed to consider any to microbial contaminations in raw milk during 1999-2003. Totally, 780 samples were selected from the farms and market using a multi- stage categorical sampling. For primary isolation of E.coli and S.aureus , EMB agar and Chapman medium were used respectively. The data was saved in SPSS software and analyzed by t.test .

Findings: 63 samples (19.7%), of all the 320 samples taken during milking, were contaminated with both E.coli and S.aureus, 62 samples (19.3%) and 30 samples (9.3%) were contaminated with only E.coli, and S.aureus, respectively. Also, 165 samples (51.6%) were not contaminated by the two mentioned organisms. During transportation, 200 samples were collected of which 98 samples (49%) were infected with both E.coli and S.aureus were isolated, also in 15 samples (7.5%) and 30 samples (15%), E.coli and S.aureus seen, respectively. In transportation phase, 57 samples (28.5%) were not contaminated with these organisms. In marketing center, 260 samples were taken of which 152 samples (58.4%) were contaminated with both E.coli and S.aureus, and 28 samples (10.8%) and 72 samples (27%) were contaminated with only E.coli and S.aureus respectively. So, in this phase in 8 samples (3.1%) no contamination with the organisms was proved.

Conclusion: According to the results in each stage, microbial contaminations were significantly different ($P < 0.05$). The contamination rate by E.coli and S.aureus increased significantly during the time between the milking stage and market distributions.

Key Words: Raw milk, Staphylococcus aureus , Escherichia coli

¹. Faculty members, Microbiology Dep, Ilam Medical University

². Faculty member, Biochemistry Dep., Ilam Medical University

³. Faculty member, Ilam University