مطالعه میزان آلودگی پنیرهای سنتی عرضه شده در بازار تبریز به کلی‌فرم‌ها و *اشریشیا کولای* بیماری‌زا

محمد پورعلی بهزاد[۱]، حمید میرزایی[۲*]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانش آموخته دکترای دامپزشکی، تبریز، ایران.
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی، تبریز، ایران.
*نویسنده مسؤول مکاتبات: hmirzaei@iaut.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۰/۴/۱ پذیرش نهایی: ۹۰/۸/۸)

چکیده

کلی‌فرم‌ها شاخص بهداشتی مواد غذائی و اشریشیا یکی از جنس‌های متعلق به آنها می‌باشد. *اشریشیا کولای* از نظر بیماری‌زائی مهمترین گونه اشریشیا بوده و عموماً به عنوان بخشی از فلور میکروبی طبیعی روده انسان و بسیاری از حیوانات محسوب می‌شود. *اشریشیا کولای* بیماری‌زا عامل اسهال در کشورهای در حال توسعه و مکان‌های با فقر بهداشتی می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر تعیین وضعیت آلودگی پنیرهای سفید سنتی عرضه شده در بازار تبریز به کلی‌فرم‌ها، کلی‌فرم‌های مدفوعی، *اشریشیا کولای* و *اشریشیا کولای* بیماری‌زا بود. برای این منظور تعداد۹۰ نمونه از پنیرهای سفید سنتی از سوپر مارکت‌های موجود در مناطق مختلف شهر تبریز بطور تصادفی انتخاب و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شد. برای شمارش کلی‌فرم‌ها از محیط کشت VRBA بصورت پور پلیت و برای تائید کلی‌فرم‌ها و کلی‌فرم‌های مدفوعی از محیط کشت سبز درخشان به ترتیب در دماهای ۱± ۳۷ و ۰/۵± ٤٤ درجه سلسیوس استفاده شد. برای تایید *اشریشیا کولای* بودن از تست های IMViC و برای تشخیص بیماری‌زا بودن از تست سرولوژیک و آنتی سرم‌های پلی والان استفاده گردید. نتایج حاصله نشان داد که میانگین شمارش کلی‌فرم‌ها 10^5× cfu/ml (۱/۵۱± ۲۷/۰۷) و تعداد آنها در ۸۸ (۹۸٪) نمونه بیشتر از حد مجاز تعیین شده برای پنیرهای سفید صنعتی می‌باشد. ٦۳ مورد (۷۰٪) از نمونه ها آلوده به کلی‌فرم‌های مدفوعی و ۱۱ مورد (۱۲٪) از نمونه ها آلوده به *اشریشیا کولای* بود و هیچکدام از نمونه ها آلوده به *اشریشیا کولای* بیماری زا تشخیص داده نشد. در مجموع می‌توان گفت که وضعیت بهداشتی پنیرهای سفید سنتی عرضه شده در بازار تبریز از نظر آلودگی به کلی‌فرم‌ها و *اشریشیا کولای* وضعیت مطلوب ندارند هر چند هیچکدام از نمونه ها آلوده به *اشریشیا کولای* بیماری زا تشخیص داده نشد.

واژه های کلیدی: پنیر سفید سنتی ایرانی، کلی‌فرم، *اشریشیا کولای*

مقدمه

اشریشیا کولای برای اولین بار در سال ۱۸۸۵ توسط Theodor Escherich که متخصص کودکان در آلمان بود شناسائی شد. این باکتری بطور گسترده در روده انسان و حیوانات خون گرم وجود دارد و بعنوان یک باکتری بی‌هوازی اختیاری جزو غالب از فلور میکروبی طبیعی روده می‌باشد که نقش حیاتی در سلامت میزبان دارد. اکثر سویه‌های اشریشیا کولای در حالت معمول بیماری‌زا نیستند ولی در صورت ضعیف شدن سیستم ایمنی بدن به عنوان عوامل فرصت طلب عمل نموده و باعث ایجاد بیماری می‌شوند. تعدادی از سویه‌های این باکتری نیز بیماری‌زا بوده و در صورت بلعیده شدن باعث بروز بیماری می‌شوند (Conway, 1995; Neill et al., 1994).

در سال ۱۸۹۲، Shardinger پیشنهاد کرد که *اشریشیا کولای* به عنوان شاخص آلودگی به مدفوع مورد استفاده قرار گیرد. این پیشنهاد بر این تفکر استوار بود که این باکتری بطور فراوان در مدفوع انسان و حیوان موجود بوده و معمولاً در جاهای دیگر یافت نمی‌شود. علاوه بر آن *اشریشیا کولای* بواسطه تخمیر لاکتوز به راحتی قابل شناسائی بوده و راحت‌تر از سایر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای شناخته شده روده قابل جداسازی می‌باشد. لذا حضور *اشریشیا کولای* در مواد غذائی و آب به عنوان شاخص آلودگی به مدفوع و نیز امکان وجود سایر عوامل بیماری‌زا مورد پذیرش قرار گرفت. هر چند موضوع استفاده از *اشریشیا کولای* به عنوان یک شاخص غیر مستقیم از خطر بهداشتی بطور نظری مورد پذیرش قرار گرفت ولی این قضیه در عمل دارای مشکلات و پیچدگی‌هایی بود زیرا تعدادی دیگر از باکتری‌های روده‌ای همچون سیتروباکتر، کلبسیلا و آنتروباکتر قادر به تخمیر لاکتوز بوده و از نظر ویژگی‌های فنوتیپیک شبیه *اشریشیا کولای* می‌باشند در نتیجه تفکیک آنها به راحتی مقدور نمی‌باشد. لذا اصطلاح کلی‌فرم برای توصیف گروهی از باکتری‌های گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری و میله‌ای شکل که قادر به تخمیر لاکتوز و تولید اسید و گاز در مدت ٤٨ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس می‌باشند مطرح گردید (Brenner, 1994; Caplenas and Kanarek, 1984; Geissler et al., 2000).

هرچند کلی‌فرم‌ها به راحتی قابل تشخیص می‌باشند، ولی نمی‌توان بطور یقین مطرح کرد که حضور آنها نشان‌دهنده آلودگی به مدفوع می‌باشد زیرا تعدادی از کلی‌فرم‌ها بطور طبیعی در محیط، در آب، در خاک و در سبزیجات یافت می‌شوند. این امر منجر به مطرح شدن اصطلاح کلی‌فرم‌های مدفوعی (Fecal coliforms) به عنوان شاخص آلودگی گردید. کلی‌فرم‌های مدفوعی زیر گروهی از کلی‌فرم‌ها می‌باشند که در حضور املاح صفراوی و در دمای بالا (حدود ٤٤/٥ درجه سلسیوس) و در طول ٤٨ ساعت لاکتوز را تخمیر کرده و باعث تولید اسید و گاز می‌شوند. به همین دلیل به عنوان کلی‌فرم‌های مقاوم به گرما (Thermotolerant coliforms) نیز مشهورند. کلی‌فرم‌های مدفوعی عمدتاً شامل سویه‌های *اشریشیا*

کولای می‌باشد ولی بعضی از باکتری‌های روده‌ای همچون کلبسیلا نیز می‌تواند در این دما لاکتوز را تخمیر نماید بنابراین این دسته از میکروارگانیسم‌ها نیز جزو کلی‌فرم‌های مدفوعی تلقی می‌شوند (Grant, 1997; Rippey et al., 1987).

پنیر سفید سنتی عرضه شده در بازار تبریز عمدتاً تحت عنوان پنیر لیقوان مشهور بوده و از نوع پنیر سفید ایرانی یا پنیر رسیده نگهداری شده درآب نمک می‌باشد که بطور سنتی و معمولاً از شیر میش و گاهی از شیر بز، شیر گاو و یا ترکیبی از آنها تهیه می‌شود (Mirzaei, 2011; Karim, 2006). این پنیر دارای طعم نمکی یا شور، کمی اسیدی و دارای خصوصیات مطبوع ارگانولپتیکی بوده و از نظر خواص حسی بسیار شبیه به پنیر سفید ترکیه (Beyaz peynir) و پنیر فتا (Feta) است (Mirzaei, 2011).

در تولید سنتی این پنیر، شیر خام میش با استفاده از رنت منعقد و لخته حاصله پس از آبگیری با استفاده از تجهیزات سنتی قطعه‌بندی شده و بعد از نمک پاشی دستی در داخل حلب‌ها قرار گرفته و برروی آن آب نمک حدود ۱۱ در صد اضافه می‌گردد و پنیرهای تولید شده، در داخل حلب‌ها دوره رسیدن را در طول ٦ الی ۸ ماه طی می‌کنند (Mirzaei, 2011).

در تولید سنتی این پنیر از شیر خام استفاده می‌شود و این امر در مواقعی که کیفیت بهداشتی شیر مناسب نباشد موجب تشکیل منافذ و حفره‌های ناهمگن در پنیر می‌گردد که ظاهر آن را نامطلوب ساخته و از طرف دیگر خطر انتقال بیماری‌های مشترک بین انسان و دام را در پی دارد، ضمناً بسیاری از مراحل تولید این پنیر بصورت دستی و با استفاده از تجهیزات سنتی انجام می‌پذیرد لذا تمام این موارد خطر بروز آلودگی این محصول با میکروب‌های مولد فساد، بخصوص بیماری‌زا از قبیل بروسلا، سالمونلا، *اشریشیا کولای*، *استافیلوکوکوس آرئوس* کوآگولاز مثبت و یا کپک ها و مخمرها را از طریق حیوان، محیط و بخصوص کارگران ناقل افزایش می‌دهند و مجموعه این عوامل بهداشت و مدت زمان ماندگاری این محصول را کاهش می‌دهند. لذا ارزیابی شاخص‌های میکروبی پنیرهای سنتی از نظر بهداشت و سلامت و هچنین تعیین قابلیت نگهداری این قبیل پنیرها ضروری به نظر می‌رسد (Cetinkaya and Soyutemiz, 2006; Tamagnini et al., 2006; Mirzaei, 2011).

هدف از مطالعه حاضر شمارش کلی‌فرم‌ها و جستجوی کلی‌فرم‌های مدفوعی، *اشریشیاکولای* و *اشریشیاکولای* بیماری‌زا در پنیرهای سفید سنتی عرضه شده در بازار تبریز بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

تعداد ۹۰ نمونه پنیر و از هر کدام به مقدار تقریبی ۲۰۰ گرم به صورت تصادفی ساده از فروشگاه‌های عرضه فرآورده‌های شیری در سطح شهر تبریز تهیه و بلافاصله در مجاورت یخ و تحت شرایط سترون به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی انتقال داده شد.

روش رقیق‌سازی

ابتدا از هر کدام از نمونه‌ها یک رقت اولیه (۱-۱۰) تهیه گردید برای این منظور مقدار ۲۵ گرم از نمونه همگن شده را به داخل یک ارلن مایر استریل انتقال داده و مقدار ۲۲۵ میلی لیتر سیترات سدیم ۲ درصد استریل را بصورت آرام آرام به آن اضافه کرده و با استفاده از یک میلهٔ شیشه ای استریل بهم زده شد و مخلوط حاصل به مدت ۱ دقیقه با شیکر ارلن یکنواخت گردید. سپس از مخلوط حاصل ۱ میلی لیتر به داخل یک لوله آزمایش حاوی ۹ میلی لیتر محلول سیترات سدیم استریل منتقل و کاملاً یکنواخت گردید بدین ترتیب رقت ۲-۱۰ حاصل شد و در نهایت از لوله رقت ۲-۱۰ به مقدار ۱ میلی لیتر به لوله دوم انتقال داده و طبق روش فوق عمل شد و به این ترتیب رقت ۳-۱۰ به دست آمد.

شمارش کلی‌فرم‌ها

برای این منظور از روش کشت مخلوط استفاده شد. از هر رقت ۱ میلی لیتر با استفاده از پی‌پت استریل به مرکز هر پتری دیش انتقال داده شد و بلافاصله به هر کدام از آنها حدود ۱۵ میلی لیتر از محیط کشت (VRBA) با دمای ۱ ± ٤٥ درجه سلسیوس اضافه گردید و روی یک سطح صاف مخلوط گردید سپس تا جامد شدن محیط کشت پلیت‌ها در یک سطح صاف قرار داده شد. پس از بستن محیط دوباره حدود ۵ میلی لیتر از محیط (VRBA) با دمای ۱ ± ٤٥ درجه سلسیوس روی سطح لایه اوّل اضافه گردید و بعد از منعقد شدن آن پتری دیش‌ها به مدت ۲ ± ٢٤ ساعت در دمای ۱±۳۱ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شدند. در نهایت پلیت‌های دارای بیش از ۱۰ پرگنه و کمتر از ۱۵۰ پرگنه جهت شمارش انتخاب و پرگنه‌های قرمز ارغوانی با هاله مایل به قرمز شمارش شد (Karim, 2002).

آزمون تأییدی

از پرگنه‌های مشکوک در پتری‌دیش، پنج پرگنه به لوله‌های حاوی محیط سبز درخشان (Briliant green bile broth) و لوله درهام تلقیح و به مدت ۲ ± ٢٤ ساعت در دمای ۱ ± ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شده و پرگنه‌های تولیدکننده گاز به عنوان کلی‌فرم لحاظ شدند. با استفاده از فرمول زیر تعداد کلی‌فرم‌ها در هرگرم از نمونه‌ها محاسبه گردید (Karim, 2002).

تعداد کلی‌فرم‌ها (cfu/g) = تعداد پرگنه‌های مشکوک×درصد لوله‌های گاز مثبت در کشت تأییدی×عکس رقت

روش جستجوی کلی‌فرم‌های مدفوعی و *اشریشیا کولای*

برای جستجوی *اشریشیا کولای* در نمونه‌ها بعد از آزمایش تاییدی برای هر کدام از لوله‌های مثبت یک لوله حاوی محیط کشت سبز درخشان در نظر گرفته شد و از محتویات لوله‌های مثبت در لوله‌های حاوی

محیط سبز درخشان کشت گردید و کشت‌های حاصل در دمای ۰/۵ ± ٤٤ درجه سلسیوس به مدت ٤٨-٢٤ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شد. لوله‌های حاوی محیط سبز درخشان از نظر تجمع گاز در لوله‌های دورهام مورد مشاهده قرار گرفت و موارد گاز مثبت به عنوان کلی‌فرم مدفوعی ثبت گردید. سپس نمونه-های مثبت با استفاده از تست‌های IMViC مورد ارزیابی قرار گرفته و موارد دارای نتایج --++ و -- +- بعنوان *اشریشیاکولای* لحاظ گردید (Karim, 2002).

روش تعیین بیماری‌زا بودن *اشریشیا کولای*

برای این منظور از کیت‌های *E.coli* (بهارافشان، ایران) به روش آگلوتیناسیون استفاده گردید. طبق دستور العمل تعریف شده توسط شرکت سازنده، پرگنه‌هائی که با هر کدام از ویال‌های چهارگانه کیت پاسخ بصورت آگلوتیناسیون مثبت نشان می داد بعنوان *اشریشیا کولای* بیماری‌زا و در غیر این صورت بعنوان *اشریشیا کولای* غیربیماری‌زا لحاظ می‌شد.

روش تجزیه و تحلیل آماری

با عنایت به توصیفی بودن تحقیق با استفاده از SPSS ویرایش ۱۹ برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌های کمی شاخص های مرکزی و پراکندگی و برای داده‌های با مقیاس سنجش اسمی میزان معتبر بصورت در صد محاسبه گردید.

یافته‌ها

نتایج مربوط به شمارش تعداد کلی‌فرم‌ها در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول (۱): شاخص‌های مرکزی و پراکندگی تعداد کلی‌فرم‌های نمونه‌های آزمایش شده (cfu/g)

شاخص آماری	نتیجه
تعداد نمونه	۹۰
میانگین	۲۷/۰۷× ۱۰^{۵}
خطای استاندارد	۱۵/۱۲× ۱۰^{۵}
میانه	٦/۹× ۱۰^{۵}
انحراف معیار	۱۰٦/۹۳× ۱۰^{۵}
واریانس	۱۱/٤۳× ۱۰^{۱۳}
دامنه	۷٦۰× ۱۰^{۵}
حداقل	۰
حداکثر	۷٦۰× ۱۰^{۵}

نتایج مربوط به مقایسه تعداد کلی‌فرم‌های موجود در نمونه‌های آزمایش شده با حد مجاز تعیین شده برای پنیر سفید صنعتی ایرانی (۱۰۰ cfu/g) (ISIRI, 2406, 1995)، جستجوی کلی‌فرم‌های مدفوعی و *اشریشیا کولای* در جدول (۲) نشان داده شده است.

جدول ۲: فراوانی و در صد نمونه های آلوده به *اشریشیا کولای*، کلی فرم های مدفوعی و دارای کلی فرم بیش از حد مجاز تعیین شده برای پنیر سفید صنعتی ایرانی

شاخص	تعداد نمونه	تعداد موارد آلوده	درصد موارد آلوده
اشریشیا کولای	۹۰	۸۸	٪۸۸
کلی فرم مدفوعی	۹۰	٦۳	٪۷۰
تعداد کلی فرم بیش از ۱۰۰ cfu/g	۹۰	۱۱	٪۱۲

در ضمن بر اساس نتایج آزمون آگلوتیناسیون، هیچکدام از *اشریشیا کولای*های جدا شده از نمونه-ها به عنوان *اشریشیا کولای* بیماری زا تشخیص داده نشد.

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج مندرج در جدول (۱) و (۲) میانگین تعداد کلی‌فرم‌ها در پنیرهای آزمایش شد ۱۰۵cfu/g × (۱۵/۱۲ ± ۲۷/۰۷) و تعداد آنها در ۸۸ نمونه (۹۸٪) بیشتر از حد مجاز تعریف شده برای پنیر سفید صنعتی ایرانی (۱۰۰cfu/g) (ISIRI, 2406, 1995) می‌باشد و بر اساس نتایج مندرج در جدول (۲) از مجموع ۹۰ نمونه آزمایش شده، ٦٣ نمونه (۷۰٪) به کلی‌فرم‌های مدفوعی و ۱۱ نمونه (۱۲٪) به *اشریشیا کولای* آلوده بوده‌اند و هیچ کدام از *اشریشیا کولای* ها بعنوان *اشریشیاکولای* بیماری-زا تشخیص داده نشدند.

Turkoglu و همکاران (۲۰۰۳) طی تحقیقی ۸٦/۲٪ از نمونه‌های پنیر سنتی Orgu ترکیه را آلوده به *اشریشیا کولای* گزارش نموده و تعداد کلی‌فرم-های آنها را در حدود ۱۰۳CFU/gr×(۰/۰٦ ± ۷/۳) برآورد نمودند.

در تحقیق دیگری که توسط Miriam و Rosalia (۲۰۰٤) بر روی پنیر سنتی Port Salut آرژانتین صورت گرفت نمونه‌های نگهداری شده در دماهای ٤ و ۲۰ درجه سلسیوس آلوده به *اشریشیا کولای* تشخیص داده شده و تعداد کلی‌فرم‌های موجود در نمونه‌ها کمتر از 10^3 CFU/gr برآورد گردید.

در جمهوری قبرس در فاصله بین سال‌های ۱۹۹۱ تا ۲۰۰۰ میزان آلودگی مواد غذایی به میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از جمله سالمونلا، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *با سیلوس سرئوس* و کلی-فرم‌ها مورد مطالعه قرار گرفته و میزان شیوع آلودگی به کلی‌فرم‌ها ٦ درصد گزارش گردید و پنیرهای محلی قبرس به عنوان آلوده‌ترین نمونه‌ها معرفی شدند (Varnava–Tello et al., 2002).

در اسکاتلند ۲٤۲۸ نمونه غذایی شامل ۱۱۹۰ نمونه گوشت خام، ۵۰۰ نمونه شیر خام و ۷۳۹ نمونه پنیر تهیه شده از شیر خام از سطح بازار و خرده‌فروشی‌ها جمع‌آوری و از نظر آلودگی به کلی‌فرم، *اشریشیاکولای* و نیز *اشریشیاکولای H7: O157* مورد مطالعه قرار گرفت. گزارش گردید که *اشریشیاکولای O157: H7* فقط از ۲ نمونه گوشت جدا شد. در ٤۷۹ مورد از نمونه‌های شیر خام میزان بار آلودگی به کلی‌فرم‌ها بیشتر از 10^2cfu/ml و در ۷۲۵ مورد از نمونه‌های پنیر بار آلودگی کلی-فرم‌ها بیشتر از 10^4cfu/g بود. مطالعه مشابهی در کشور هلند روی ۱۰۱۱ نمونه نیز انجام گرفت و گزارش شد که هیچ کدام از نمونه‌ها آلوده به *اشریشیاکولای O157 : H7* نبودند. (Coia et al., 2001).

در ترکیه ۱۰۰ نمونه از شیر خام گاوی و ۵۰ نمونه پنیر که از شیرخام تهیه شده بود مورد

آزمایش قرار گرفت و نتایج نشان داد که ۱ درصد از نمونه‌های شیرهای خام و ٤ در صد از نمونه‌های پنیرهای محلی آلوده به *اشریشیا کولای* بودند و دلیل اصلی میزان آلودگی بالا در پنیرهای محلی عدم استفاده از استارترهای لاکتیک در تولید آنها بیان شد (Oksuz et al., 2004).

طبق گزارش‌های ارائه شده تعداد کلی‌فرم‌های موجود در پنیر سنتی Sikma ترکیه CFU/gr ۹×۱۰۵ و در سطح و داخل پنیر سنتی Penamellera به ترتیب ۱۰٦× ۸ و CFU/gr ۱۰۵× ۷ برآورد شده است (Estepar et al., 1999; Ceylen et al., 2003).

Turantas و همکاران (۱۹۸۹) گزارش کردند که میزان آلودگی به کلی‌فرم و *اشریشیا کولای* در پنیرهای سفید ترکیه بسیار بالا می‌باشد ولی هیچ ارتباطی بین رشد کلی‌فرم‌های مدفوعی با کلی‌فرم-های غیرمدفوعی و انتروکوکسی‌ها وجود ندارد و نمی‌توان با شمارش یا جستجوی انتروکوکسی‌ها به وجود یا عدم وجود کلی‌فرم‌های مد فوعی پی برد.

در فرانسه مطالعه‌ای بر روی بیماری‌های عفونی ناشی از شیر و فرآورده‌های شیر صورت گرفت و چهار باکتری سالمونلا، *استافیلوکوکوس آرئوس*، *لیستریا مونویستوژنز* و *اشریشیا کولای* مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۵-۱ در صد بیماری‌های شیوع یافته در ۷ کشور منطقه ناشی از مصرف شیر و فرآورده‌های شیری بوده و در این میان ۳۹/۱ در صد از شیر، ۵۳/۱ در صد از پنیر و ۷/۸ در صد از سایر فرآورده‌های شیری بود و *اشریشیا کولای* به عنوان عامل اصلی بروز ۱۱ شیوع بیماری از بین ٦۰ وقوع گزارش گردید (Laure de byser et al., 2001).

طی تحقیق دیگری که توسط Caridi و همکاران (۲۰۰۳) بر روی پنیر سنتی Pecarinodel poro تولید شده از شیر میش انجام گرفته مطرح گردید که تعداد کلی‌فرم‌ها و *اشریشیا کولای* در دوره رسیدن به شدت کاهش می‌یابد.

در گزارش مشابهی Cetinkay و Soyutemis (۲۰۰٦) ضمن تحقیق بر روی پنیر Kashar تهیه شده از شیر خام اعلام کردند که کلی‌فرم‌ها (۱۰٦CFU/ml) و *اشریشیا کولای* موجود در شیر خام در مرحله تولید پنیر کاهش یافته و در مرحله رسیدن به طور کامل از بین می‌روند (Soyutemis, Cetinkay and 2006).

در سال ۲۰۰٤ در آرژانتین کیفیت میکروبی پنیر Port salut Argentino که در ۲ دمای متفاوت ٤ و ۲۰ درجه سلسیوس نگه‌داری شده بودند مورد ارزیابی قرار گرفت و در نهایت نتایج حاکی از آن بود که از هر دو نمونه *اشریشیا کولای* جدا گردید و بار آلودگی حدود cfu/g ۱۰ بود (Iurlina and Fritz, 2004).

در آمریکا میزان بقا *سالمونلاتیفی موریوم* و *اشریشیا کولای O157:H7* در پنیرهای سفید نگه-داری شده در آب نمک مورد مطالعه قرار گرفته و

نتایج نشان داد که این میکروارگانیسم‌ها قادر به تحمل محیط آب نمک بوده و در ضمن مقاومت *اشریشیا کولای* بیشتر از *سالمونلاتیفی موریوم* می‌باشد (Su et al., 2000).

Gouamis و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که *اشریشیا کولای O157:H7* در آب پنیرهای Manouri، Anthotyros و Myzithra در دمای ۱۲ درجه سلسیوس قادر به رشد بوده و در دمای ۲ درجه سلسیوس بقاء داشت.

در مطالعه‌ای در آمریکا تاثیر اسید کاپریلیک و مونوکاپریلین در جلوگیری از فعال شدن *اشریشیا کولای O157:H7* و *لیستریا مونوسیتوژنز* در شیر صورت گرفت در این مطالعه ۵ سویه مختلف *اشریشیا کولای* و یک سویه *لیستریامونوسیتوژنز* مورد مطالعه قرار گرفت و در نهایت مشخص شد که اضافه کردن این مواد به شیر و نگهداری آن به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۸ درجه سلسیوس باعث کاهش بار میکروبی حاصل از دو باکتری یاد شده می‌شود (Manojkumar et al., 2004).

در آمریکا نتایج یک مطالعه نشان داد که با اضافه کردن بنزوات سدیم ۰/۳٪ به پنیر با pH=٦/٦ و یا اضافه کردن سوربات پتاسیم ۰/۳٪ به پنیر با pH = ٦ و یا رساندن pH پنیر به ۵/۹ با استفاده از اسیدپروپیونیک می‌توان رشد عوامل پاتوژن ازجمله *اشریشیا کولای* را به تأخیر انداخت (Gill et al., 1996).

نتایج حاصله از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که شدت و میزان آلودگی پنیرهای محلی عرضه شده در بازار تبریز که تهیه آنها با روش سنتی می‌باشد به کلی‌فرم‌ها، کلی‌فرم‌های مدفوعی و *اشریشیا کولای* بالاتر از حد استاندارد می‌باشد. هر چند کلیه سویه‌های *اشریشیا کولای* جدا شده از این پنیرها غیر بیماری‌زا می‌باشد. و علت آلودگی بالا به این میکروارگانیسم‌ها را می‌توان به استفاده از شیر خام، انجام دادن تمامی مراحل تولید با دست و روش‌های سنتی و عدم استفاده از مایه‌های کشت لاکتیکی در مراحل تولید و احیاناً نگهداری پنیرهای سنتی بخصوص در مرحله توزیع و فروش در دمای محیط نسبت داد.

منابع

- Brenner, K.P., Rankin, C.C., Sivaganesan, M. and Scarpino, P.V. (1996). Comparison of the recoveries of *Escherichia coli* and total coliforms from drinking water by the MI agar method and the U.S. Environmental protection agency-approved membrane filter method. Applied Enviromentaln Microbiology, 62: 203-208.

- Caplenas, N.R. and Kanarek, M.S. (1984). Thermotolerant non-fecal source Klebsiella pneumoniae: validity of the fecal coliform test in recreational waters. American Journal of Public Health, 74: 1273-1275.
- Caridi, A., Micari, P., Caparra, P., Cufari, A. and Sarullo, V. (2003). Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physico-chemical properties of the ewes' cheese Pecorino del Poro. International Dairy Journal, 13: 191-200.
- Cetinkaya, F. and Soyutemiz, G.E. (2006). Microbiological and Chemical changes throughout the manufacture and ripening of Kashar: a traditioral Turkis cheese. Turkish Journal Veterinary and Animal Scince, 30: 397-404.
- Ceylen, Z., Turkoglu, G. and Dayisoylu, K.S. (2003). The microbiological and chemical quality of Sikma cheese produced in Turkey. pakistan Journal of Nutrition, 2: 95-97.
- Coia, J.E., Johnston, Y., Steers, N.J. and Hanson, M.F. (2001). A survey of the prevalence of *Escherchia coli* O_{157} in raw meats, raw cow's milk and raw- milk cheeses in south-east Scatland. International Journal of food microbiology, 66: 63-69.
- Conway, P.L. (1995). Microbial ecology of the human large intestine. In: G.R. Gibson and G.T. Macfarlane, eds. p.1-24. Human colonic bacteria: role in nutrition, physiology, and pathology. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Estepar, J., Mar Sanchez, M.M., Alonso, L. and Mayo, B. (1999). Biochemical and microbiological characterization of artisanal penamellera cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. International Dairy Journal, 9: 737-746.
- Geissler, K., Manafi, M., Amoros, I. and Alonso, J.L. (2000). Quantitative determination of total coliforms and *Escherichia coli* in marine waters with chromogenic and fluorogenic media. Journal of Applied Microbiology, 88: 280-285.
- Gill, C.O., McGennis, J.C. and Badoni, M. (1996). Use of total or *Escherichia coli* counts to assess the hygienic characteristics of a beef carcass dressing process. Internatial Journal of Food Microbiology, 31: 181-196.
- Gouamis, A., Koidis, P. and Papathedorous, K. (2001). The fate of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 in Myzithra, Anthotyros, and manouriwhey cheese during stage at 2 and 12 $^{\circ}$C, 18: 565-570.
- Grant, M.A. (1997). A new membrane filtration medium for simultaneous detection and enumeration of *Escherichia coli* and total coliforms. Applied Enviromentaln Microbiology, 63: 3526-4530.
- Iurlina, M.O. and Fritz, R. (2004). Microbiological quality of Port Salut Argentino cheese stored at two temperature treatment. International Journal of food microbiology, 9: 91-99.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1994). Microbiological specification for milk products. 2nd Edition, ISIRI Number: 2406.
- Karim, G. (2002). Microbiological examination of foods, Tehran University Press, pp. 88-111.
- Laure de byser, M., Dufour, B. and Maire, M. and Lafarge, V. (2001). Implication of milk and milk product in food-borne disease in france and in different industrialized conntries. International Journal of food microbiology, 67: 1-16.
- Manojkumar, M.K.M., Vasudevan, P., Hoagland, T.H., Venkitanara yanan, K. (2004). Inactivation of *Escherichia coli* O_{157}:H_7 and *listeria monocytogenes* in milk by caprylic acid and mono caprylin. International Journal of food microbiology, 21: 611-616.
- Miriam. O.I. and Rosalia. F. (2004). Microbiological quality of Port Salut Argentino cheese stored at two temprature treatments, Lebensmittel-Wissenchaft und-Technologie, 37: 739-748.

- Neill, M.A., Tarr, P.I., Taylor, D.N. and Trofa, A.F. (1994). *Escherichia coli*. In Foodborne Disease Handbook. Marcel Decker, Inc. New York, pp. 169-213.
- Oksuz, O., Arici, M., Kurultay, S. and Gumus, T. (2004). Incidence of *Escherichia coli* O_{157} in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in turkey. Food Fontrol, 15: 453-456.
- Rippey, S.R., Adams, W.N. and Watkins, W.D. (1987). Enumeration of fecal coliforms and *E. coli* in marine and estuarine waters: an alternative to the APHA-MPN approach. Water Pollution Control Federation. 59: 795-798.
- Tamagnini, L.M, and Sousa, G.B., Gonzalez, R.D. and Bude, C.E. (2006). Microbiological characteristics of Crottin goat cheese made in different seasons. Small Ruminant Research, 66: 175-180.
- Su, Y., Ingham, S.C. and Spangenberg, D.S. (2000). Short communication survival of *salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* O_{157}:H_7 in cheese brines. International Journal of food microbiology, 61: 73-79.
- Turantas, F., Unluturk, A. and Gokran, D. (1989). Microbiological and compositional status of Turkish white cheese. Internated Journal of food microbiology, 8:19-24.
- Turkoglu, H., Ceylen, Z.G. and Daysoylu, K.S. (2003). The microbiological and chemical quality of Orgu cheese produced in Turkey. Pakistan Journal of Nutrition, 2: 92-94.
- Varnava-Tello, A., Eleftheriaclou, M., Meta-Loizidou, M., Akkelidou, D. and Nikolaou, A.S. (2002). The microbiological profile at foods in the republic of Cyprus: 13: 110-116.

Study on the contamination rate of traditional white cheese presented in Tabriz Markets to coliforms and pathogenic *Escherichia coli*

Pourali-Behzad, M.[1], Mirzaei, H.[2*],

1- Graduated of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
2- Department of Food Hygiene, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
Corresponding author email: hmirzaei@iaut.ac.ir
(Received: 2011/10/30 Accepted: 2011/6/22)

Abstract

Coliforms are considered as hygienic indicator organisms in foodstuffs and Escherichia is one of its genera. *Escherichia coli* is the most important species of the genus Escherichia and generally is considered as part of natural bacterial flora of human and most animals intestine. Pathogenic *Escherichia coli* is causative agent of diarrhea in developing countries and areas with poor hygienic condition. The purpose of this study was to investigate the contaminated status of traditional white cheese in Tabriz retails in terms of coliforms, faecal coliforms, *Escherichia coli*, and pathogenic *Escherichia coli*. Ninety samples of white cheese were randomly collected from retails of different part of Tabriz. The samples were transferred to the laboratory under refrigerated conditions. Coliforms were counted by means of VRBA with pour plate method at 37±1°C. For Faecal Coliforms Briliant Green Bile broth at 44±0.5 °C were used. For confirming *Escherichia coli* among coliform bacteria, IMViC tests were applied. Pathogenic *Escherichia coli* was distinguish by polyvalent antiserums. The results of the study indicated that, the mean of coliforms were estimated at (27.07±1.51) $\times 10^5$ cfu/ml. The number of coliforms in 88 (98%) samples was more than the limit allowed by the national standard for Iranian industrial white ripened cheese. Moreover, Sixty-three (70%) of the samples were contaminated to faecal coliforms. Although, 11 (12%) of the samples were contaminated to *Escherichia coli*, any sample was contaminated to pathogenic *Escherichia coli*. It can be concluded that, hygienic status of traditional white cheese offered in Tabriz markets was not satisfactory in terms of contamination to coliforms and *Escherichia coli* is. However, no samples was found positive as pathogenic *Escherichia coli*.

Key Words: Iranian Traditional White Cheese, Coliforms, *Escherichia coli*