مجله دنیای میکروب‌ها
سال پنجم، شماره اول و دوم (پیاپی ۱۲) تابستان ۱۳۹۱
صفحات ۵۷-۴۷

Original Article

بررسی آلودگی میکروبی انواع شیر و فرآورده‌های لبنی پاستوریزه در استان قم

محمدرضا ذوالفقاری*[۱]، ریحانه گائینی[۲]، ناصر کلهر[۲]، محدثه خلیلیان[۲]، محمد حسین رضویان[۱]، محبوبه سلیمانی ساسانی[۲]

[۱]استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، گروه میکروبیولوژی، [۲]کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، گروه میکروبیولوژی

چکیده

سابقه و هدف: شیر و فرآورده‌های آن نقش مهمی در رژیم غذایی انسان و سلامت جامعه ایفا می‌نمایند. بنابراین توجه به بهداشت آن از اهمیت زیادی برخوردار است. این پژوهش با هدف بررسی میزان آلودگی میکروبی شیر و فرآورده‌های لبنی تولید شده در واحدهای صنعتی استان قم انجام شد.

مواد و روش‌ها: در مجموع ۹۰۳ نمونه مختلف انواع شیر و فرآورده های لبنی به صورت مقطعی- توصیفی از ۱۰ کارخانه تولید لبنیات در استان قم جمع آوری گردید. تمامی نمونه‌ها به منظور شناسایی آلودگی‌های میکروبی با استفاده از روش کشت و آزمون‌های بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: از نظر کیفی ۸۰۹ مورد (۸۹/۶٪) از نمونه‌های مورد بررسی، دارای کیفیت قابل قبول و ۹۴ مورد (۱۰/۴٪) دارای کیفیت غیرقابل قبول بودند. در مجموع میکروارگانیسم‌های آلوده کننده غیرقابل قبول که بیش از حد مجاز استاندارد در نمونه‌های مورد بررسی یافت شدند به ترتیب از نظر فراوانی شامل: *انتروباکتریاسه* (۶/۳٪)، *اشریشیا کلی* (۶/۱٪)، کپک و مخمر (۴/۸٪)، کلی‌فرم (۴/۷٪)، باکتری‌های هوازی مزوفیل (۴/۲٪) و *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت (۱/۱٪) بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که بیشتر محصولات تولید شده در صنایع غذایی استان قم، دارای کیفیت مطلوب یا قابل قبول می‌باشند. با این وجود، با توجه به آلودگی میکروبی برخی از محصولات کارخانجات و نیز کیفیت غیرقابل قبول آن‌ها، باید اقدامات بهداشتی و کنترلی در راستای حذف آلودگی‌های شیر و فرآورده‌های حاصل از آن انجام گیرد.

واژگان کلیدی: آلودگی میکروبی، شیر، فرآورده‌های لبنی، پاستوریزه

دریافت مقاله: اسفند ۱۳۹۰ پذیرش برای چاپ: خرداد ۱۳۹۱

مقدمه

با افزایش روزافزون مصرف کنندگان مواد غذایی در جهان، تولید کافی و رعایت نکات بهداشتی در طول مراحل تولید و نگهداری آن از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد (۱). شیر غذای کامل و مناسبی است که بخش عمده‌ای از نیازهای غذایی انسان را در هر سن به ویژه در دوران کودکی تأمین می‌نماید. از آن‌جایی که شیر حاوی مواد آلی بسیار مغذی است، لذا می‌تواند به عنوان محیط مناسبی برای رشد انواع میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه عامل مسمویت غذایی مطرح باشد. بنابراین توجه به بهداشت آن، روش‌های کنترل و تخریب میکروارگانیسم‌ها در شیر و فرآورده‌های آن ضرورت دارد (۲). از جمله باکتری‌های

*)آدرس برای مکاتبه: قم، بلوار ۱۵ خرداد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی.
تلفن: ۰۹۱۲۴۵۱۳۷۸۳، پست الکترونیک: mreza.zolfaghary@gmail.com

آلوده کننده شیر می‌توان به *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) اشاره نمود که با تولید انتروتوکسین‌های مقاوم در برابر فرآیند پاستوریزاسیون به عنوان عامل مهم گاستروانتریت معرفی شده است (۳). مسمومیت غذایی ناشی از سالمونلا (*Salmonella*)، در اثر ورود تعداد معینی از باکتری‌های موجود در ماده غذایی به درون لوله گوارش حاصل می‌گردد. در بیماری سالمونلوز، سلول‌های مخاط روده متلاشی شده، بافت روده‌ای توسط میکروب‌های دیگری مورد حمله قرار گرفته و عفونت در آن‌ها افزایش می‌یابد (۳). حضور کلی‌فرم‌های مدفوعی مانند *اشریشیا کلی* (*Escherichia coli*) دلالت بر آلودگی شیر با مدفوع حیوانی و یا انسانی دارد. بیماری‌های اسهالی توسط پاتوتایپ‌های مختلف *اشریشیا کلی* ایجاد می‌گردد. *اشریشیا کلی* انتروپاتوژنیک (EPEC) عامل مهم اسهال نوزادان به ویژه در کشورهای در حال توسعه می‌باشد. *اشریشیا کلی* انتروتوکسیژنیک (ETEC) باعث ایجاد بیماری گاستروانتریت و اسهال در مسافران می‌شود. *اشریشیا کلی* مهاجم روده‌ای (EIEC) با حمله به روده بزرگ موجب ایجاد بیماری شیگلوز در کشورهای توسعه یافته می‌گردد. *اشریشیا کلی* انتروهموراژیک (EHEC) عامل ایجاد کولیت خونریزی دهنده و سندرم همولیتیک اورمیک می‌باشد. *اشریشیا کلی* انترواگرگیتیو (EAEC) نیز در کشورهای در حال توسعه باعث ایجاد اسهال حاد و مزمن می‌گردد. بنابراین حضور باکتری *اشریشیا کلی* در شیر پاستوریزه نشان دهنده عدم سلامت آن برای مصرف کننده می‌باشد (٤). هدف از این پژوهش، بررسی میزان آلودگی میکروبی شیر و فرآورده‌های لبنی تولید شده در واحدهای صنعتی استان قم بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی- توصیفی، در مجموع ۹۰۳ نمونه مختلف شامل: شیر کم‌چرب و نیم‌چرب (۲۷/۲٪)، شیر طعم‌دار (۱/۸٪)، شیر UHT (۰/۹٪)، شیر خشک افشان معمولی (۰/۲٪)، شیرخشک افشان درجه یک (۰/۲٪)، خامه ۳۰٪ چربی (۱۲/۲٪)، خامه UHT (۰/۱٪)، ماست (۳۲/۹٪)، دوغ (۲۲/٦٪) و پنیر (۱/۹٪) از ۱۰ واحد تولیدی شیر و فرآورده‌های لبنی تحت پوشش اداره نظارت بر مواد غذایی استان قم جمع آوری گردید. نمونه برداری شیر و فرآورده‌های آن مطابق با استاندارد ملی شماره ۳۲٦ و روش‌های آماده سازی، تهیه سوسپانسیون اولیه و نیز رقت‌های سریالی شیر و فرآورده‌های آن برای آزمون میکروبی مطابق با استاندارد ملی شماره ۹٤۱۵ انجام پذیرفت. در ابتدا براساس نوع فرآورده، ۱۰ گرم یا ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه مورد نظر به ۹۰ میلی‌لیتر سرم رینگر استریل افزوده شد (رقت ۰/۱). سپس رقت‌های بعدی نیز با استفاده از سرم رینگر تهیه گردید (۷-۵).

به منظور شمارش مجموع باکتری‌های هوازی مزوفیل (Total bacteria count)، مطابق با استاندارد ملی شماره ٥٤٨٤، از محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA) و روش کشت آمیخته (Pour plate) استفاده گردید. نمونه‌ها پس از کشت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ± ۷۲ ساعت گرم‌خانه گذاری شدند (۸).

به منظور شناسایی باکتری *اشریشیا کلی*، مطابق با استاندارد ملی شماره ٥۲۳٤، از محیط‌های غنی کننده لوریل سولفات تریپتوز براث (LST) حاوی لوله دورهام استفاده شد. در ابتدا ۱ گرم یا ۱ میلی‌لیتر از نمونه مورد بررسی به ۱۰ میلی‌لیتر محیط لوریل سولفات با غلظت معمولی و یا ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اولیه به ۱۰ میلی‌لیتر محیط لوریل سولفات با غلظت دو برابر اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری شدند. در صورت رشد باکتری و تولید اسید و گاز در لوله دورهام، ۱ میلی‌لیتر از محتوی لوله‌ها به محیط برلیانت گرین براث (BGB) انتقال و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری گردید. وجود گاز نشان دهنده حضور کلی‌فرم‌ها می‌باشد. برای تأیید باکتری *اشریشیا کلی* از محیط انتخابی ائوزین متیلن بلو (EMB) و تست‌های افتراقی مانند MR/VP، سیمون سیترات، TSI، SIM و اوره استفاده شد (۹).

به منظور شناسایی باکتری‌های کلی‌فرم (Coliform bacteria)، مطابق با استاندارد ملی شماره ٥٤٨٦، ابتدا رقت اولیه و سپس

رقت‌های بعدی تهیه شدند. یک میلی‌لیتر از فرآورده‌های مایع و یا رقت‌های آماده شده به همراه ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت جامد انتخابی کریستال ویولت نوترال ردبایل لاکتوز آگار (VRBL) به پلیت‌ها افزوده و پورپلیت گردیدند. پس از نگهداری نمونه‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، پلیت‌هایی با بیش از ۱۰ و یا کم‌تر از ۱۵۰ کلنی انتخاب شدند. برای تأیید حضور کلی‌فرم‌ها، پنج کلنی مشکوک در هر پلیت به درون لوله حاوی محیط کشت لاکتوز بایل برلیانت گرین براث تلقیح و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری گردید. کلنی‌های تولیدکننده گاز در لوله دورهام به عنوان کلی‌فرم شناخته شدند (۱۰).

به منظور جداسازی و شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت، مطابق با استاندارد ملی شماره ۳-٦۸۰٦، ابتدا رقت اولیه و سپس رقت‌های بعدی تهیه شدند. یک میلی‌لیتر یا یک گرم از نمونه‌های مورد بررسی به ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت آبگوشت جیولیتی کانتونی براث (Giolitti cantoni broth) با غلظت معمولی و یا ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اولیه فرآورده به ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت آبگوشت جیولیتی کانتونی براث با غلظت دو برابر افزوده گردید. سپس نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ تا ٤۸ ساعت گرم‌خانه گذاری شدند. سیاه رنگ شدن محیط کشت نشان دهنده احیای تلوریت توسط این باکتری می‌باشد. در ادامه از لوله‌های حاوی رسوب سیاه بر روی محیط کشت بردپارکر (Baird parker agar) کشت خطی داده و پلیت‌ها به مدت ۲± ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری شدند. مشاهده کلنی‌های مشخص به رنگ سیاه یا خاکستری براق با هاله شفاف نشان دهنده حضور مثبت باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد. همچنین برای تأیید این باکتری از تست‌های کواگولاز، کاتالاز، DNase، مانیتول سالت آگار نیز استفاده گردید (۱۱).

به منظور جداسازی و شناسایی *انتروباکتریاسه* (*Enterobacteriaceae*)، مطابق با استاندارد ملی شماره ۲- ۲٤٦۱، از محیط کشت جامد کریستال ویولت نوترال ردبایل گلوکز آگار (VRBA) و روش پورپلیت استفاده گردید. نمونه‌ها پس از کشت به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری شدند. *انتروباکتریاسه‌ها* به صورت اکسیداز منفی و تست تخمیری مثبت گزارش شدند (۱۲ و۱۳).

به منظور شناسایی کپک و مخمر، مطابق با استاندارد ملی شماره ۱۰۱٥٤، یک میلی‌لیتر از فرآورده‌های مایع یا سوسپانسیون اولیه به محیط‌های کشت عصاره مخمر دکستروز کلرامفنیکل آگار (Yeast extract dextrose chloramphenicol agar) یا YGC آگار اضافه و پورپلیت گردید. سپس نمونه‌ها در دمای ۲٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ٥ روز گرم‌خانه گذاری شدند. در نهایت برای شمارش تعداد کلنی‌ها در هر گرم یا میلی‌لیتر از نمونه، تعداد کپک‌ها و مخمرها شمارش و در عکس رقت مورد نظر ضرب گردید (۱٤).

به منظور شناسایی *سالمونلا*، مطابق با استاندارد ملی شماره ٤٤۱۳، از روش پیش غنی سازی در مایع غیرانتخابی استفاده گردید. ۲٥ میلی‌لیتر از نمونه مورد نظر به ۲۲٥ میلی‌لیتر محیط غنی کننده پپتون واتر (Pepton water) تلقیح و به مدت ۲٤ تا ٤۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای غنی‌سازی بیشتر، ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه به ۱۰ میلی‌لیتر محیط آبگوشت راپاپورت واسیلیادیس منیزیوم کلراید سبز مالاشیت (RVS) افزوده و به مدت ۱۸ تا ۲٤ ساعت در دمای ٤۱/٥ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری گردید. در ادامه مقداری از باکتری رشد یافته بر روی محیط یاد شده، به صورت خطی بر روی محیط برلیانت گرین فنل رد آگار کشت داده شد. همچنین از محیط غنی کننده غیرانتخابی، سلنیت سیستئین براث (Fluid selenite cystine broth) نیز برای غنی سازی استفاده شد. برای این منظور ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه مورد نظر به ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت یاد شده اضافه و به مدت ۱۸ تا ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سپس باکتری‌های رشد یافته به صورت خطی بر روی محیط کشت جامد انتخابی سالمونلا شیگلا آگار (SSA) کشت داده شدند. به منظور تأیید باکتری *سالمونلا*، از آزمون‌های بیوشیمیایی شامل: TSI، اوره آگار، لیزین دکربوکسیلاز، بتاگالاکتوزیداز، MR/VP و اندول استفاده گردید (۱٥). به جز محیط کشت‌های سنتزی

جدول ۱: توزیع فراوانی انواع فرآورده‌های لبنی غیرقابل قبول بر اساس میکروارگانیسم‌های جدا شده* (بیش از حد استاندارد).

نوع فراورده	تعداد نمونه	شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل	*اشریشیا کلی*	کلی‌فرم	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*انتروباکتریاسه*	*سالمونلا*	کپک و مخمر	باکتری‌های هوازی مزوفیل در ۳۰°C	باکتری‌های هوازی مزوفیل در ۵۵°C
شیر کم چرب و نیم چرب	۲۴۶	۸ (٪۳/۱)	۱۸ (٪۷/۳)	۲۴ (٪۹/۸)	–	–	–	–	–	–
خامه ٪۳۰ چربی	۱۱۰	۷ (٪۶/۶)	۴ (٪۳/۶)	۲ (٪۱/۸)	۳ (٪۲/۸)	–	–	–	–	–
ماست	۲۹۷	–	۲۵ (٪۸/۴)	۱۰ (٪۳/۴)	۴ (٪۱/۳)	–	–	۱۶ (٪۵/۴)	–	–
دوغ	۲۰۴	–	۶ (٪۲/۹)	۳ (٪۱/۵)	۰ (٪۰/۰)	–	–	۸ (٪۳/۹)	–	–
شیر طعم‌دار	۱۶	۰ (٪۰/۰)	۱ (٪۶/۳)	–	–	۱ (٪۶/۳)	–	۰ (٪۰/۰)	–	–
پنیر	۱۷	–	۱ (٪۵/۹)	۲ (٪۱۱/۸)	۰ (٪۰/۰)	–	۰ (٪۰/۰)	۲ (٪۱۱/۸)	–	–
شیر UHT	۸	–	–	–	–	–	–	–	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)
خامه UHT	۱	–	–	–	–	–	–	–	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)
شیر خشک افشان معمولی	۲	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	–	–	–	–	–
شیر خشک افشان درجه یک	۲	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	–	–	–	–	–
جمع کل	۹۰۳	۱۵ (٪۴/۲)	۵۵ (٪۶/۱)	۴۱ (٪۴/۷)	۷ (٪۱/۱)	۱ (٪۶/۳)	۰ (٪۰/۰)	۲۶ (٪۴/۸)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)

* در این جدول تنها توزیع فراوانی انواع فرآورده‌های لبنی غیرقابل قبول بر اساس میکروارگانیسم‌های جدا شده (بیش از حد استاندارد) آورده شده است و به همین دلیل جمع کل نمونه‌ها ۹۰۳ یا٪۱۰۰ می‌باشد. همچنین، چون داده های گمشده وجود دارد و در بعضی از نمونه‌ها تمامی تست‌ها انجام نشده است، پس تعداد برابری نمی‌کند. منفی(–)، به این معنا است که تست مورد نظر انجام نگرفته است.

تمامی محیط‌های مورد استفاده مربوط به شرکت مرک کشور آلمان بودند. پس از شمارش، تعداد کلنی‌های باکتریایی برحسب CFU/ml یا CFU/g ثبت گردید. نمونه‌هایی که تمام شاخص‌های بالا، در حد مجاز استاندارد را دارا بودند به عنوان قابل قبول و نمونه‌هایی که حتی یک شاخص، بیش از حد مجاز استاندارد داشتند، به عنوان غیرقابل قبول در نظر گرفته شدند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نسخه ۱۱ نرم افزار *SPSS* و بررسی آماری تک و چند متغیره مانند فراوانی، نسبت گیری و آزمون مربع کای انجام گرفت. مرز معنی داری روی $p < ۰/۰۵$ قرار داده شد.

یافته‌ها

از مجموع ۹۰۳ نمونه شیر و فرآورده‌های لبنی مورد بررسی، ۸۰۹ نمونه (۸۹/٦٪) قابل قبول و ۹٤ نمونه (۱۰/٤٪) غیرقابل قبول بودند (جدول ۱). در این مطالعه هیچ‌گونه آلودگی میکروبی به شاخص‌های آلودگی مورد بررسی در نمونه‌های شیر و خامه UHT، شیرخشک افشان معمولی و درجه یک مشاهده نگردید. همچنین باکتری *سالمونلا* در هیچ یک از فرآورده‌های لبنی جداسازی نشد.

سطح پذیرش قابل قبول شیر در باکتری‌های هوازی مزوفیل ۹٦/۹٪ (۲۳۸ نمونه)، *اشریشیا کلی* ۹۲/۷٪ (۲۲۸ نمونه) و کلی‌فرم ۹۰/۲٪ (۲۲۲ نمونه) بود. سطح پذیرش قابل قبول خامه در باکتری‌های هوازی مزوفیل ۹۳/٤٪ (۹۹ نمونه)، *اشریشیا کلی* ۹٦/٤٪ (۱۰٦ نمونه)، کلی‌فرم ۹۸/۲٪ (۱۰۷ نمونه) و *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت ۹۷/۲٪ (۱۰۳ نمونه) مشاهده گردید. سطح پذیرش قابل قبول ماست برای *اشریشیا کلی* ۹۱/٦٪ (۲۷۲ نمونه)، کلی‌فرم ۹٦/٦٪ (۲۸۷ نمونه)، *استافیلوکوکوس اورئوس* ۹۸/۷٪ (۲۹۳ نمونه)، کپک و مخمر ۹٤/٦٪ (۲۸۱ نمونه) بود. سطح پذیرش قابل قبول دوغ در باکتری *اشریشیا کلی* ۹۷/۱٪ (۱۹۸نمونه)، کلی‌فرم ۹۸/۵٪ (۲۰۱ نمونه)، *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱۰۰٪ (۲۰۲ نمونه)، کپک و مخمر ۹٦/۱٪ (۱۹۵ نمونه) مشاهده شد. سطح پذیرش قابل قبول شیر طعم‌دار به باکتری‌های هوازی مزوفیل ۱۰۰٪ (۱٦ نمونه)، *اشریشیا کلی* ۹۳/۷٪ (۱۵ نمونه)، *انتروباکتریاسه* ۹۳/۷٪ (۱۵ نمونه)، کپک و مخمر ۱۰۰٪ (۱٦ نمونه) بود. سطح پذیرش قابل قبول پنیر برای باکتری *اشریشیا کلی* ۹٤/۱٪ (۱٦ نمونه)، کلی‌فرم ۸۸/۲٪ (۱۵ نمونه)، *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱۰۰٪ (۱۷ نمونه)، *سالمونلا* ۱۰۰٪ (۱۷ نمونه)، کپک و مخمر ۸۸/۲٪ (۱۵نمونه) مشاهده گردید. در این بررسی شیر و خامه UHT، شیرخشک افشان معمولی و درجه یک دارای سطح پذیرش ۱۰۰٪ قابل قبول بودند. در مجموع سطح پذیرش قابل قبول فرآورده‌های لبنی به باکتری‌های هوازی مزوفیل ۹۸/۳۳٪ (۳۵۷ نمونه)، *اشریشیا کلی* ۹۳/۹٪ (۸٤۱ نمونه)، کلی‌فرم ۹۵/۳٪ (۸۳۸ نمونه)، *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت ۹۸/۹٪ (٦۲۳ نمونه)، *انتروباکتریاسه* ۹۲/۳٪ (۱۲ نمونه)، *سالمونلا* ۱۰۰٪ (۱۹ نمونه)، کپک و مخمر ۹۵/۲٪ (۵۱۳ نمونه) بود. در این مطالعه نوع میکروب‌های جداسازی شده و نیز سطح پذیرش قابل قبول و غیرقابل قبول محصولات در هر یک از ۱۰ کارخانه فرآورده‌های لبنی به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت. این اطلاعات در جداول ۲ و ۳ خلاصه شده است. در مجموع میکروب‌های آلوده کننده غیرقابل قبول که بیش از حد مجاز استاندارد در نمونه‌های مورد بررسی یافت شدند به ترتیب از نظر فراوانی شامل: *انتروباکتریاسه* (۷/۷٪)، *اشریشیا کلی* (٦/۱٪)، کپک و مخمر (٤/۸٪)، کلی‌فرم (٤/۷٪)، باکتری‌های هوازی مزوفیل (۱/٦۷٪) و *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت (۱/۱٪) بودند.

بحث

شیر به دلیل مغذی بودن، محیط مناسبی جهت رشد و تکثیر میکروب‌ها به شمار می‌آید. این پژوهش با هدف تعیین میزان آلودگی میکروبی شیر و فرآورده‌های لبنی حاصل از آن مطابق با استاندارد ملی ۲٤۰٦ انجام پذیرفت (۱٦). در این مطالعه، بیشترین آلودگی فرآورده‌های لبنی به باکتری‌های هوازی مزوفیل با ٦/٦٪ در خامه مشاهده گردید. همچنین بیشترین میزان آلودگی به باکتری‌های کلی فرم، کپک و مخمر با ۱۱/۸٪ در پنیر بود. از میان فرآورده‌های لبنی خامه با ۲/۸٪ و ماست با

جدول ۲: توزیع فراوانی محصولات لبنی مورد پژوهش بر حسب سطح پذیرش قابل قبول (حد مجاز استاندارد).

نوع فرآورده های کارخانه	تعداد نمونه	باکتری‌های هوازی مزوفیل	*اشریشیا کلی*	کلی‌فرم	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*انتروباکتریاسه*	*سالمونلا*	کپک و مخمر	باکتری‌های هوازی مزوفیل در ۳۰°C	باکتری‌های هوازی مزوفیل در ۵۵°C
شیر، خامه، ماست، دوغ، شیرطعم‌دار	۱۸٤	۹۵ (٪۱۰۰)	۱۷۳ (٪۹٤)	۱٦٦ (٪۹٤/٦)	۱۰۹ (٪۹۹/۱)	۷ (٪۱۰۰)	۲ (٪۱۰۰)	۹٤ (٪۹٤/۹)	–	–
شیر، خامه، ماست، دوغ، شیر طعم‌دار، پنیر، شیر UHT	۱٦٦	۹٤ (٪۹۸/۵)	۱۵۲ (٪۹٤/٦)	۱۵۲ (٪۹٦/۸)	۱۱۳ (٪۹۹/۱)	۱ (٪۱۰۰)	۷ (٪۱۰۰)	۹۵ (٪۱۰۰)	۷ (٪۱۰۰)	۷ (٪۱۰۰)
پنیر	۱۳	–	۱۰ (٪۱۰۰)	۸ (٪۸۰)	۹ (٪۱۰۰)	–	۱۰ (٪۱۰۰)	۸ (٪۸۰)	–	–
شیر، خامه، ماست، دوغ	٦۹	۳۵ (٪۹۷/۲)	٦۵ (٪۹٤/۲)	٦۷ (٪۹۷/۱)	۵٤ (٪۹۸/۲)	–	–	۳۱ (٪۹۳/۹)	–	–
شیر، خامه، ماست، دوغ، شیر طعم‌دار، شیر UHT	۱٤۱	۵۰ (٪۱۰۰)	۱۳۷ (٪۹۷/۲)	۱۳۸ (٪۹۸/٦)	۱۰۹ (٪۹۹/۱)	۲ (٪۱۰۰)	–	۹۲ (٪۱۰۰)	۱ (٪۱۰۰)	۱ (٪۱۰۰)
شیرخشک افشان (معمولی و درجه یک)	٤	٤ (٪۱۰۰)	٤ (٪۱۰۰)	٤ (٪۱۰۰)	٤ (٪۱۰۰)	–	–	–	–	–
شیر، خامه، ماست، دوغ، شیر طعم‌دار	۹۳	٤۲ (٪۱۰۰)	۸٦ (٪۹۲/۵)	۸۳ (٪۹۳/۳)	۵٦ (٪۹٦/٤)	۲ (٪٦٦/۷)	۱ (٪۱۰۰)	۵۲ (٪۹۵/۵)	–	–
شیر، ماست، دوغ	۹۳	۳۷ (٪۹٦/۷)	۸٦ (٪۹۲/۵)	۸٤ (٪۹۰/۳)	۵۳ (٪۱۰۰)	–	–	۵۳ (٪۱۰۰)	–	–
شیر، خامه، ماست، دوغ	٤۷	۱۱ (٪۱۰۰)	٤٦ (٪۹۷/۹)	٤۷ (٪۱۰۰)	۳۸ (٪۱۰۰)	–	–	۳٦ (٪۱۰۰)	–	–
شیر، خامه، ماست، دوغ	۹۳	۲۵ (٪۹٦/۷)	۸۱ (٪۸۷/۱)	۸۵ (٪۹۱/٤)	۷۵ (٪۹۸/۷)	–	–	۵۰ (٪۷٦/۹)	–	–

منفی(–)، به این معنا است که تست مورد نظر انجام نگرفته است.

جدول ۳: توزیع فراوانی محصولات لبنی مورد مطالعه بر حسب سطح پذیرش غیرقابل قبول (بیش از حد مجاز استاندارد).

نوع فرآورده های کارخانه	تعداد نمونه	باکتری‌های هوازی مزوفیل	*اشریشیا کلی*	کلی‌فرم	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*انتروباکتریاسه*	*سالمونلا*	کپک و مخمر	باکتری‌های هوازی مزوفیل در ۳۰°C	باکتری‌های هوازی مزوفیل در ۵۵°C
شیر، خامه، ماست، دوغ، شیر طعم‌دار	۱۸٤	۰ (٪۰/۰)	۱۱ (٪٦)	۹ (٪۵/٤)	۱ (٪۰/۹)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۵ (٪۵/۱)	–	–
شیر، خامه، ماست، دوغ، شیر طعم‌دار، پنیر، شیر **UHT**	۱٦٦	۱ (٪۱/۵)	۹ (٪۵/٤)	۵ (٪۳/۲)	۱ (٪۰/۹)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)
پنیر	۱۳	–	۰ (٪۰/۰)	۲ (٪۲۰)	۰ (٪۰/۰)	–	۰ (٪۰/۰)	۲ (٪۲۰)	–	–
شیر، خامه، ماست، دوغ	٦۹	۱ (٪۲/۸)	٤ (٪۵/۸)	۲ (٪۲/۹)	۱ (٪۱/۸)	–	–	۲ (٪٦/۱)	–	–
شیر، خامه، ماست، دوغ، شیر طعم‌دار، شیر **UHT**	۱٤۱	۰ (٪۰/۰)	۳ (٪۲/۸)	۲ (٪۱/٤)	۱ (٪۰/۹)	۰ (٪۰/۰)	–	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)
شیر خشک اقشان (معمولی و درجه یک)	٤	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	–	–	–	–	–
شیر، خامه، ماست، دوغ، شیر طعم‌دار	۹۳	۰ (٪۰/۰)	۷ (٪۷/۵)	٦ (٪٦/۷)	۲ (٪۳/٦)	۱ (٪۳۳/۳)	۰ (٪۰/۰)	۳ (٪٤/۵)	–	–
شیر، ماست، دوغ	۹۳	۳ (٪۳/۳)	۷ (٪۷/۵)	۹ (٪۹/۷)	۰ (٪۰/۰)	–	–	۰ (٪۰/۰)	–	–
شیر، خامه، ماست، دوغ	٤۷	۰ (٪۰/۰)	۱ (٪۲/۱)	۰ (٪۰/۰)	۰ (٪۰/۰)	–	–	۰ (٪۰/۰)	–	–
شیر، خامه، ماست، دوغ	۹۳	۳ (٪۳/۳)	۱۲ (٪۱۲/۹)	۸ (٪۸/٦)	۱ (٪۱/۳)	–	–	۱۵ (٪۲۳/۱)	–	–

منفی (–)، به این معنا است که تست مورد نظر انجام نگرفته است.

۸/٤٪ به ترتیب بیشترین آلودگی را به باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت و *اشریشیا کلی* داشتند. در مطالعه‌ای که در برزیل بر روی ۷۵ نمونه شیر پاستوریزه انجام گردید، ۲۵ نمونه دارای آلودگی کلی‌فرمی بیش از حد مجاز بودند (۱۷). در بررسی که در سال ۱۹۹٤ توسط امبویی (Ombui) و همکاران بر روی ۲٤٦ نمونه شیر پاستوریزه انجام گردید، کلی‌فرم‌ها در ۲٦٪ از نمونه‌ها شناسایی شدند. در ایتالیا ۸۰ نمونه شیرخام و پاستوریزه از نظر آلودگی میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی نمونه‌ها آلوده به باکتری *اشریشیا کلی* بودند، اما در شیر پاستوریزه این آلودگی در حد مجاز گزارش گردید (۱۸). کرامپ (Crump) و همکاران در سال ۲۰۰۲ ، مطالعه‌ای بر روی ۲۱٦ نمونه شیر انجام دادند. از میان نمونه‌های مورد بررسی، باکتری *اشریشیا کلی* در ۲۸ مورد (۱۳٪) جداسازی گردید (۱۹). در سال ۲۰۰٤ در آلبانی، ۱۷٦ نمونه پنیر از نظر آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت مورد بررسی قرار گرفتند که در نهایت این باکتری در ۷۲ نمونه شناسایی شد (۲۰). این یافته با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر، مبنی بر عدم شناسایی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت در پنیرهای مورد بررسی، متفاوت است. تورکار (Torkar) و همکاران در سال ۲۰۰٦، ٤۰ نمونه مختلف پنیر را از نظر آلودگی به میکروب‌های بیماری‌زا، مخمر و کپک مورد ارزیابی قرار دادند. میکروارگانیسم‌های شناسایی شده به ترتیب از نظر فراوانی شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* کوآگولاز مثبت (۲۰٪)، کپک *ژئوتریکوم* (*Geotrichum*) (۱۹/۹٪)، *اشریشیا کلی* (۱۷/۵٪)، کپک *مونیلیا* (*Monilia*) (۵/٤٪) و کپک *آسپرژیلوس* (*Aspergillus*) (۲/۷٪) بودند. همچنین در هیچ کدام از نمونه‌های پنیر، آلودگی به باکتری‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* (*Listeria monocytogenes*) و *سالمونلا* مشاهده نگردید که با نتایج به دست آمده در مطالعه ما از نظر عدم جداسازی *سالمونلا* در نمونه‌های پنیر هم‌خوانی دارد (۲۱). نتایج به دست آمده از مطالعه شیدفر (Shidfar) و همکاران در تبریز نشان داد که ۱۰۰٪ نمونه‌های شیر خام و ۵۰٪ نمونه‌های شیر پاستوریزه مورد بررسی، به باکتری *اشریشیا کلی* آلوده بودند. آن‌ها دلیل این امر را عدم کفایت سیستم حرارتی مناسب برای نابودی این باکتری گزارش کردند (۲۲). در مطالعه‌ای که بهزادیان نژاد و همکاران در سال ۱۳۷۸ بر روی ۲۲۰ نمونه شیر و فرآورده‌های لبنی عرضه شده در استان قم انجام دادند، ۱۰/٦٪ از تمامی نمونه‌ها به باکتری کلی‌فرم آلوده بودند. اما *اشریشیا کلی* در هیچ یک از نمونه‌های مورد بررسی مشاهده نگردید (۲۳). در پژوهش حاضر باکتری‌های کلی‌فرم و *اشریشیا کلی* به ترتیب در ٤/۷٪ و ٦/۱٪ از فرآورده‌های لبنی مورد بررسی در استان قم جداسازی شدند. طی مطالعه‌ای که در مورد مقایسه میزان آلودگی باکتریولوژیکی شیر خام و پاستوریزه در شهرکرد در سال ۱۳۸۵ بر روی ۳۰۰ نمونه شیر خام و ۱۲۰ نمونه شیر پاستوریزه انجام شد، به این نتیجه رسیدند که ۷۰٪ (۲۰۸ مورد) از نمونه‌های شیر خام به *اشریشیا کلی* و ۸۰/۵٪ (۲٤۲ مورد) به کلی‌فرم آلوده بودند. بیشترین میزان آلودگی به کلی‌فرم و *اشریشیا کلی* در شیر خام در فصل تابستان گزارش گردید. همچنین، میزان حضور کلی‌فرم ها در شیر پاستوریزه اگرچه در حد استاندارد (کم‌تر از ۱۰ عدد در یک سی سی) ، اما تعداد آن‌ها در فصل تابستان بیشتر از زمستان گزارش شد (۲٤). ذوالفقاری و همکاران در سال ۱۳۸۷ در شهرستان شاهرود در مجموع ۱۰۰ نمونه شیرخام و ۱۰۰ نمونه شیر پاستوریزه را از نظر کیفیت باکتریولوژیکی مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که ۳۱٪ نمونه‌های شیرخام دارای کیفیت خیلی خوب، ٤٤٪ نمونه‌ها دارای کیفیت خوب و بقیه موارد دارای کیفیتی نامناسب بودند (۲۵). سالاری و همکاران در سال ۱۳۸٤ به منظور ارزیابی آلودگی میکروبی، ۱۹۸ نمونه شیر و فرآورده‌های آن را در استان یزد مورد بررسی قرار دادند. یافته‌های آن‌ها نشان داد که ٦۸/۷٪ نمونه‌ها مطلوب، ۲٤/۲٪ قابل قبول و ۷/۱٪ غیرقابل قبول بودند. همچنین میکروب‌های آلوده کننده نمونه‌های غیرقابل قبول شامل کلی‌فرم‌ها (۱/۷٪)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱/٦٪) و مخمر (۱/٦٪) بودند. بیشترین سطح پذیرش مطلوب نمونه‌ها در شیر (۸۱/۳٪) و حداقل سطح پذیرش در پنیر (۳٦/۱٪) گزارش گردید (۲٦). در حالی‌که در مطالعه حاضر از مجموع ۹۰۳ نمونه مختلف شیر و فرآورده‌های لبنی پاستوریزه در استان قم، ۸۰۹

مورد (۸۹/٦٪) در حد مجاز استاندارد و قابل قبول و ۹٤ مورد (۱۰/٤٪) بیش از حد مجاز استاندارد و غیرقابل قبول تشخیص داده شدند.

نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان می‌دهد که کیفیت بیشتر محصولات تولید شده در صنایع غذایی استان قم مطلوب یا قابل قبول می‌باشند. با این وجود، با توجه به آلودگی میکروبی برخی از محصولات کارخانجات و نیز کیفیت غیرقابل قبول آن‌ها، باید اقدامات لازم در راستای حذف آلودگی‌های شیر و فرآورده‌های حاصل از آن انجام گیرد. با کنترل دقیق عمل پاستوریزاسیون، استفاده از مواد ضدعفونی کننده جهت تمیز کردن و شستشوی دقیق دستگاه‌ها و تجهیزات و نیز استفاده از ماسک برای کارگران می‌توان تعداد باکتری‌های بیماری‌زا را کاهش و مسمومیت غذایی را در انسان به حداقل رساند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از جناب آقای دکتر غلامرضا نجفی معاون محترم پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم و مدیریت محترم آزمایشگاه آریا آزما، سرکار خانم مهندس سمیه دهقانی سانیچ به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Farajzadeh D. food hygiene. Pub first. Tehran. Knowledge light. [In Persian]
2. Razivilor V. Pathogen Bacteria of foods and epidemiology foods poisoning. 2nd ed. Tehran. Tehran University. 2000. [In persion]
3. Hajjarttabar M. Food poisoning in man. 1st ed. Tehran. Conservation school and work hygiene. 2002; 21-34, 98-112. [In Persian].
4. Geof B, Boltel JC, Mores A. Jawetz Medical microbiology. 1st ed. Tehran. Tomorrow generation. 2004; 332-334. [In Persian].
5. Hasanpoor MH, khaknejad Z, Dabirian SH, Hashemy S, Shahsavary moghadam S, Rashidy L, Rafeey N, Institute of standard and industrial research of Iran, Nation standard to number 326. 2008; 1-52. http://www.isiri.org.
6. Navabpoor TH, Ebrahimyeman GH, Rahimyfard N, Babaee P, Ghandehy A, Fayyazy A, et al. Institute of standard and industrial research of Iran, Nation standard to number 9415. 2007; 1-24. http://www.isiri.org.
7. Karim G. Microbiologyical examination of foods. 5th ed. Tehran. Tehran University 2005; 401-422.
8. Ajoodony H, Jafroody KH, poortaherian F, Karim G, Dabirian SH, Mokhtary F, maroncy N. Institute of standard and industrial research of Iran, Nation standard to number5484. 2002; 1-9. http://www.isiri.org.
9. Soltandallal MM, Jafroody KH, Haghshenas F, Khatamy moghadam A, Dabirian SH, Zanganeh MH, et al. Institute of standard and industrial research of Iran, Nation standard to number 5234. 2000; 1-10. http://www.isiri.org
10. Karim G, poortaherian F, Jafroody KH, Hamidian H, Khosravy D, Dabirian SH, Farbood A, Navabpoor TH. Institute of standard and industrial research of Iran, Nation standard to number 5486 (1-2). 2000; 1-10. http://www.isiri.org.
11. Rahimyfard N, Ebrahimy GH, Adrisy SH, Behnazp, Vakily F, Fayazy A, Mortazevian A, Noory Z, Mehrpoor R. Institute of standard and industrial research of Iran, Nation standard to number 6806-3. 2007; 1-27. http://www.isiri.org.
12. Rahimyfard N, Fayyazy A, Azmodeh M, Sakhypoor N, sharafy G, sharafy N, et al. Institute of standard and industrial research of Iran, Nation standard to number 2461(1-2). 2009; 1-14. http://www.isiri.org.

13. Rahimyfard N, Fayyazy A, Azmodeh M, Sakhpoor N, Sharafy G, Sharafy N, et al. Institute of standard and industrial research of Iran, Nation standard to number 1527. 2009; 1-16. http:// www.isiri.org.
14. Rahimyfard N, Joodaky M, Ahmady F, Ahmady M, Akbary N, Khalily F, Saadaty SH, Vakily F, Shakiiry P, Salehy A, Lac GH, Vaziry S. Institute of standard and industrial research of Iran, Nation standard to number 10154. 2008; 1-18. http://www.isiri.org.
15. Nazarynia A, Poorfalah F, Javadzadeh F, Zanganeh MH, Fathy MR, et al. Institute of standard and industrial research of Iran, Nation standard to number 4413. 2010; 1-32. http:// www.isiri.org.
16. Shareaty M, Sharify A, Moheby SH, Noory Z. Institute of standard and industrial research of Iran, Nation standard to number 2406. 2002; 1-9. http://www.isiri.org.
17. Abidul-Rauf UM, Ammar MS, Beuehat LR. Isolation of *Escherichia coli* O_{157}: H_7 From Some Egyption food. Int J Food Microbiol. 1996; 29(2-3): 423-426.
18. Ombui JN, Kaburia HF, Macharia JK, Nduhiu G. Coliform counts and *Escherichia coli* in raw commerieal milk dairy farmers in kimbu district. East Afr Med J. 1994; 11(10): 635-639.
19. Crump JA, Sulka AC, Langer AJ, Schaben C, Cruelly AS, Gage R, et al. An outbreak of *Escherichia coli* O_{157}: H_7 infections among visitors to a dairy farm. N Engal J Med. 2002; 347(8): 555-560.
20. Hasalliv R, Beli E, Terpollaria J. The influence of storage temperature of cheese on the incidence of *Staphylococcus aureus* in some markets in Albania. Journal of agricultural science. 2009; 41(2): 270-273.
21. Torkar Godic K, Teger CS. The presence of some pathogen microorganisms, yeast and moulds in cheese samples produced at small dairy processing plants. Acta Agriculture Sovenica. 2006; 1: 37-51.
22. Shidfar F. Evaluation of floor bacterial pasteurization milk. Thesis of Master of Science nutrition. Tabriz University. 1996; 10-15. [In Persian].
23. Behazadiannejad GH. Segregated *Bacillus cereus* of dairy products and survey poison 20 selective lineage. Journal of Hakim. 2000; 2: 1-15. [In Persian].
24. Fadaee A, Khairy S. Comparison contamination bacterial raw milk and pasteurization milk in Kord urben in year 2006. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences. 2008; 10(2): 37-44. [In Persian].
25. Zolfaghary S, Amery M, Nazarian A, Noorian S. Study contamination bacteriology raw milk and Pasteurization in urben Shahrood in year 2008. Shahidbeheshty University of Medical Science . 2009; 2833-2841. [In Persian].
26. Salary MH, Sharify MR, Golzary M, Sadrabady A. Study of bacterial contamination of milk and milk products in Yazd province. Scientific Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research. 2006; 4(1): 37-43. [In Persian].

Journal of Microbial World
Volume 5, No. 1&2, June 2012

Original Article

Determination of microbial contamination of the milk and pasteurized dairy products produce in the Qom province

Mohammad Reza Zolfaghari[1], Reihaneh Gaeini[2], Naser Kalhor[2], Mohaddeseh Khalilian[2], Mohammad Hossein Razavian[1], Mahbobeh Soleimani Sasani[2]

[1]Assistant Professor, Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.
[2]M.Sc, Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

Abstract

Background and Objectives: Since milk and its products play important role in human diet and society health, it is important to pay attention to its health. The aim of this research is the study of microbial contamination of milk and dairy products produced by the industrial plants in Qom province.

Material and Methods: In this cross-sectional descriptive study, a total of 903 different samples of milk and dairy products were collected from 10 dairy plants in Qom province. All samples were studied for detection of microbial contamination by using culture and biochemical tests.

Results: Overall, 809 (89.6%) of the samples were acceptable and 94 (10/4%) were unacceptable in terms of microbial contamination. The most isolated bacteria from the contaminated products were *Enterobacteriaceae* (6.3%), *Escherichia coli* (6.1%), mold and yeast (4.8%), coliform (4.7%), aerobic mesophilic bacteria (4.2%) and *Staphylococcus aureus* coagulase positive (1.1%).

Conclusion: The results of this study indicated that most of the dairy products produced of the food industries in Qom province had acceptable quality. However, with a view to microbial contamination of some plants products and also their unacceptable quality, hygiene and control actions must carry out in order to eliminate the contaminations of milk and its products.

Keywords: Microbial Contamination, Milk, Dairy Products, Pasteurization.

Correspondance to: Mohammad Reza Zolfaghari
Tel: +989124513783
E-mail: mreza.zolfaghary@gmail.com
Journal of Microbial World 2012, 5(1&2): 47-57.