

ارتقاء کیفیت میکروبی سالاد الویه صنعتی در شهر اصفهان

محمد جلالی^{۱*}، رضا سرهنگ پور^۲، کارینه قوکاسیان^۳

۱. استادیار گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۲. کارشناس ارشد صنایع غذایی آزمایشگاه کنترل مواد غذایی ابن سینا
۳. کارشناس تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

* نشانی برای مکاتبه: اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی، تلفن ۷۹۲۲۷۸۱، نمابر ۶۶۸۲۵۰۹، jalali@mui.ac.ir
دریافت مقاله بهمن هشتاد و پنج پذیرش برای چاپ: اردیبهشت هشتاد و شش

چکیده

سابقه و هدف: مصرف غذاهای سرد آماده بعلت تغییرات فرهنگی و اجتماعی در حال افزایش است. کیفیت بهداشتی اینگونه غذاها همواره مورد نظر ناظران بهداشتی بوده است. اینگونه غذاها همواره در معرض فساد بوده و باعث بروز عفونتها و مسمومیت های غذایی می شوند. فساد اینگونه غذاها معمولاً بعلت عدم رعایت موازین بهداشتی در حین تولید است. در این مطالعه کیفیت میکروبی سالاد الویه صنعتی که اخیراً به بازار عرضه شده است قبل و بعد از مداخله در تولید ارزیابی گردید.

روش کار: تعداد ۱۴۶ نمونه سالاد الویه قبل از انجام مداخله تهیه گردید و از نظر حضور سالمونلا، لیستریا و استافیلوکوکوس همچنین شمارش کلی باکتریها، کپک و مخمر و تعداد کل می فرم ها آنالیز گردید. تغییرات ساختاری در محل کارخانه انجام گردید و آموزش های بهداشتی لازم به کارکنان داده شد. پس از اجرای مبانی GMP و GHP کیفیت میکروبی محصول پس از انجام مداخلات ارزیابی گردید. و تعداد ۹۰ نمونه از نظر حضور پاتوژنها و میکروارگانیسم های نشانگر مورد آزمون گردید.

یافته ها: کلیه نمونه ها قبل از انجام مداخلات از نظر حضور سالمونلا منفی بودند اما به ترتیب از ۲۴ و ۴٪ نمونه های بهداشتی استافیلوکوکوس ارئوس و لیستریا مونوسیتوژنز جدا گردید. میانگین شمارش کلی باکتریها، کلی فرم ها و کپک و مخمر به ترتیب برابر $10^3 \times 9/8$ ، $10^2 \times 1/37$ و cfu/g بود. کلیه نمونه های بهداشتی بعد از انجام تغییرات با کاهش میزان آلودگی ($P < 0,001$) از نظر پاتوژنها منفی بودند. میانگین شمارش کلی باکتریها، کلیفرمها و کپک و مخمر بطور معنی داری ($P < 0,001$) به ترتیب $10^3 \times 3$ و cfu/g کاهش یافت.

نتیجه گیری: کیفیت میکروبی سالاد الویه بطور معنی داری پس از اعمال اصول GMP و GHP بهبود یافت. نتایج حاصل از بهسازی در فرایند تولید بطور معنی داری باعث از بین رفتن باکتریهای بیماریزای غذایی گردید. با توجه به حساسیت محصول و احتمال عدم رعایت اصول علمی نگهداری در سطح عرضه، پس از بازنگری به روش تولید، نظارت دقیق تر در سطح عرضه ضروری است. استفاده از مواد افزودنی طبیعی و یا شیمیایی مجاز، امکان تولید محصول بصورت استریل و مطالعات بیشتر جهت تعیین مدت ماندگاری محصول ضروری بنظر می رسد.

واژگان کلیدی: سالاد الویه، بهسازی، استافیلوکوکوس ارئوس، سالمونلا، لیستریا، کلی فرم

مقدمه

تامین نیازهای غذایی جوامع بشری با توجه به رشد روز افزون جمعیت از مشکلاتی است که بویژه کشورهای در حال توسعه با آن مواجه هستند. امروزه به دلیل تغییر بافت زندگی جامعه و عادات غذایی جدید، فرهنگ استفاده از غذاهای آماده رایج گردیده است. بیش از ۶۰٪ سبب خرید غذایی اروپائیان را غذاهای سرد آماده تشکیل می دهد (۱). مصرف غذاهای سرد آماده (مانند سالاد الویه، سالاد مرغ، سالاد ذرت و سالاد ماکارونی) بعنوان یک الگوی جدید مصرف در کشور ما رو به تزاید است. تغییر شرایط

اجتماعی و اقتصادی کشور مردم را برای مصرف غذاهایی که کمترین زمان را برای آماده کردن نیاز دارد تشویق می کند. براساس تعریف کمیته کدکس Codex elimentarus committee غذاهای سرد، غذاهایی هستند که مدت ماندگاری Self life آنها در حرارت یخچالی به بیش از پنج روز می رسد (۲). سرد نگهداشتن اینگونه غذاها مهمترین عامل جلوگیری از رشد میکروارگانیسم های مولد فساد و بیماری زا در آنها است.

جستجوی استافیلوکوکوس ارئوس کوآگولاز مثبت طبق روش استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۹۴ (۱۷) انجام گردید. بدین منظور ابتدا ده گرم نمونه را در ۹۰ ml محلول استریل رینگر هموژنیزه کرده و سپس ۱ ml از آن به ۱۰ ml محیط کشت TSB (تریپتیک سوی برات) و سیترات سدیم انتقال داده و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷°C انکوبه گردید. پس از مدت انکوباسیون ۱ ml از آن را بر روی محیط کشت برد پارکر حاوی امولسیون زرده تخم مرغ (مرک آلمان) کشت خطی داده و پلیت ها به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در ۳۷°C انکوبه گردیدند. جهت تایید کلنی های مشکوک آزمون کوآگولاز توسط پلاسما خروگوش یا انسان انجام گردید. جهت جداسازی لیستریا مونوسیوتوزن (*Listeria monocytogenes*) از روش Us Department of Agriculture (USDA) استفاده شد (۱۸). بدین منظور ۲۵ گرم از نمونه در ۲۲۵ ml محیط کشت غنی کننده انتخابی University of Vermont Media (UVM1) (مرک - آلمان) هموژنیزه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۰°C انکوبه گردید. سپس ۱ ml از آن به محیط کشت غنی کنند ثانویه فریزر برات انتقال و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۵°C انکوبه گردید. یک لوپ کامل از فریزر برات بصورت خطی بر روی محیط کشت آکسفورد آگار حاوی ساپلیمنت اختصاصی کشت خطی داده شد. حداقل سه کلنی تیپیک لیستریا برداشت و بر روی محیط TSAYE خالص گردید. کلنی های مشکوک سپس از نظر مورفولوژی و بیوشیمیایی بررسی گردید. آزمونهای تخمیر کربوهیدراتها (زیلوز، رامنور، مانیتول، گلوکز)، کاتالاز، MR/VP، حرکت در ۲۵°C، رنگ آمیزی گرم و واکنش CAMP جهت شناسایی و تفکیک گونه های مختلف لیستریا بکار رفت. جهت جداسازی سالمونلا از روش شماره ۱۰۱۸ استاندارد ملی ایران استفاده شد (۱۹). بدین منظور ابتدا ۲۵ گرم از سالاد الویه در ۲۲۵ ml پپتون و اتراستریل هموژنیزه گردید و به مدت ۲۴-۲۰ ساعت در دمای ۳۷°C گرمخانه گذاری شد. سپس یک میلی لیتر از محیط غنی شده اولیه به ۱۰ میلی لیتر محیط سلنیت سیستین منتقل کرده و در انکوباتور ۳۷°C برای مدت ۲۴-۱۸ ساعت قرار داده شد. محیط غنی کننده ثانویه تتراتیونات دارای سبز درخشان نیز به همین صورت تهیه و به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در ۴۳°C گرمخانه گذاری شد. حداقل سه کلنی تیپیک سالمونلا از هر پلیت برداشت و بر روی TSA خالص گردید. آزمونهای بیوشیمیایی جهت تایید سالمونلا شامل TSI، اوره آزه، اندل، آزمون VP، و آزمایش حرکت بود.

مبانی GMP و GHP براساس ضوابط کمیته بین المللی کدکس (۲۰) در کارخانه تولید سالاد الویه صنعتی به اجرا در آمد. مبانی HACCP نیز با همین روش توسط Soriano - Goga - Cenci و همکاران (۱۰) و همکاران (۱۱) در کشور های دیگر به اجرا در آمده است. در مطالعه حاضر نیز همان روشها بکار گرفته شد. بطور خلاصه ابتدا جریان خط تولید در کارخانه طوری طراحی گردید تا مناطق تمیز و آلوده مشخص شود. سپس تمام مراحل تولید بخوبی مطالعه و از ورود مواد خام مورد نیاز تا خروج سالاد اولیه بسته بندی شده نقاط بحرانی (Critical Control Points) شناسایی و کنترل های بهداشتی و پیشگیرانه جهت کنترل مخاطرات فیزیکی شیمیایی و بیولوژیکی طراحی گردید. این تغییرات شامل بهسازی آب مصرفی، تغییرات در چیدمان ماشین آلات، بهسازی کف، دیوارها، زهکش ها و سیستم خروج ضایعات بود. تغییرات سخت افزاری در کارخانه جهت جلوگیری از آلودگی محصول در حین تولید انجام گردید. کنترل روش های آماده سازی مواد اولیه، حرارت کافی جهت پخت محصول و کنترل زنجیره سرد محصول نیز اجرا گردید. کارکنان و کادر فنی برای رعایت اصول بهداشتی و ضدعفونی وسایل، تجهیزات و سطوح در تماس با مواد غذایی آموزش دیدند و نظامنامه GMP و GHP تدوین گردید. نمونه گیری (۹۰ نمونه) از محصول تولیدی پس از انجام تغییرات فوق الذکر جهت اثر بخشی مداخلات انجام گردید و اطلاعات حاصله قبل و بعد از انجام مداخلات با روش های آماری آنالیز گردید.

توانایی رشد باکتری های سرما دوست پاتوژنی مانند لیستریا، کلاستریدیوم و برسیلیا در سرمای کمتر از ۴°C (۴ و ۳) باعث گردیده اینگونه غذاها همواره سلامت مصرف کنندگان را تهدید نمایند. در بین سالهای ۱۹۹۶ تا ۲۰۰۱ آلودگی غذاهای سرد مانند انواع سالاد، پیترزای آماده سرد و ساندویچ های آماده باعث بروز ۳۳۷ مورد اپیدمی و مسمومیت ۲۳۱۴۲ نفر در آمریکا گردیده است (۵). از این تعداد ۹۳ اپیدمی که باعث ابتلای ۱۲۰۳۶ نفر گردید در اثر مصرف غذاهای سرد سالادی (مانند سالادهای سیب زمینی، تخم مرغ و تن) بود. گزارشهای متعدد دیگر حاکی از بروز مسمومیت های غذایی ناشی از مصرف محصولات سالادی با پایه نشاسته ای و مایونزی است (۵ و ۴). نگرانی ناشی از مشکلات فوق الذکر باعث گردیده است تا ارگانهای نظارتی و بهداشتی به فکر ارتقاء سطح کیفی و بهداشتی اینگونه محصولات باشند.

تضمین سلامت مصرف کنندگان با بکارگیری مبانی علمی GMP و GHP امکان پذیر است (۷ و ۶). براساس مبانی فوق آموزش کارکنان، اصلاح ساختار محل تولید، اصلاح فرآیند تولید و رعایت مبانی بهداشتی در افزایش کیفیت بهداشتی فرآورده غذایی بسیار مؤثر است. بکارگیری کنترل سیستمیک ورود مخاطرات بیولوژیکی، شیمیایی و فیزیکی به غذا با استفاده از رهیافت Hazard Analysis Critical Control Point HACCP (اخیراً توسط اتحادیه اروپا طی دستورالعمل شماره 93/43/EEC اجباری گشته است. روش بکارگیری سامانه HACCP در واحدهای غذایی کوچک (۸) و صنایع غذایی بزرگ (۹) تبیین شده است و سامانه HACCP توسط محققین مختلف در صنایع غذایی و مراکز عرضه غذا با موفقیت اجرا شده و باعث ارتقاء سطح بهداشتی مواد غذایی گردیده است (۱۳-۱۰).

بدیهی است عدم رعایت اصول بهداشتی در حین فراوری و توزیع غذاهای سرد باعث افزایش آلودگی آنها خواهد شد. با توجه به عرضه سالاد الویه صنعتی به بازار ایران و عدم وجود آئین نامه های فنی، بهداشتی و تکنولوژیک واحدهای تولید کننده از طرفی و احتمال آلودگی این محصول، در این مطالعه به بررسی وضعیت بهداشتی سالاد الویه صنعتی پرداخته شد. سپس با ارتقاء سطح GMP و GHP واحد تولید کننده راههای رفع یا کاهش آلودگی بررسی و اعمال گردید.

روش کار

تعداد ۲۳۶ نمونه (۱۴۶ قبل و ۹۰ بعد از انجام مداخلات) بسته های ۲۰۰ گرمی در شرایط آسپتیک و در یخدانهای آزمایشگاهی به آزمایشگاه میکروب شناسی غذایی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان منتقل شد. نمونه ها بلافاصله در شرایط استریل باز شد و آزمونهای میکروبی انجام گردید. شمارش کلی باکتریهای هوازی براساس روش استاندارد ملی شماره ۳۵۶ ایران (۱۴) انجام شد. به این منظور ده گرم از سالاد الویه در ۹۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل حل شد و با حرکت دست بخوبی هموژنیزه گردید. سپس سری رقتهای متوالی تهیه شد و با استفاده از روش پورپلیت کانت در محیط پلیت کانت آگار (مرک - آلمان) باکتریها شمارش و میانگین آنها بصورت cfu/g گزارش گردید. شمارش کپک و مخمر با استفاده از روش استاندارد ملی ایران، شماره ۹۹۷ (۱۵) به روش تهیه سری رقتهای متوالی و پورپلیت کانت در محیط کشت Yest Extract Glucose Chloramphenicol Agar (YGC) (مرک آلمان) و با انکوبه کردن پلیت ها در ۲۵°C به مدت ۳-۵ روز انجام گردید. شمارش کلی فرم ها مطابق استاندارد ملی ایران، شماره ۴۳۷ (۱۶) با تهیه سوسپانسیون اولیه و رقتهای متوالی به روش پورپلیت کانت در محیط کشت Violet Red Blood Agar (VRBA) انجام گردید. شمارش کپک و مخمر و کلی فرم ها نیز بصورت میانگین cfu/g گزارش گردید.

یافته ها

نتایج آزمونهای میکروبی نشان داد کلیه ۶۳ نمونه برداشتی قبل از انجام مداخلات از نظر سالمونلا منفی بود، اما از مجموع ۵۴ و ۵۰ نمونه سالاد الویه به ترتیب (۰/۲۴) و (۰/۴) برای استافیلوکوکوس ارئوس و لیستریا مونوسیتوزنز مثبت بودند. میانگین شمارش میکروارگانیسم ها قبل از انجام مداخلات اصلاحی در ۴۲ نمونه اخذ شده برابر با $9/8 \times 10^2$ cfu/g (۱۰^۲ × ۹ - ۱۰^۲ × ۲) بود. میانگین شمارش کلی فرم ها و کپک و مخمر در همین نمونه ها به ترتیب برابر (۱۰^۳ × ۱/۱ - ۱۰^۳ × ۱/۳) و $1/37 \times 10^2$ cfu/g بود. حداکثر و حداقل تعداد کلی فرم ها بین صفر الی $2/1 \times 10^3$ cfu/g بود.

از ۹۰ نمونه آنالیز شده بعد از انجام مداخلات، پاتوژنهای سالمونلا، استافیلوکوکوس ارئوس و لیستریا مونوسیتوزنز جدا نگردید و تعداد موارد مثبت بطور معنی داری ($P < 0.0001$) کاهش یافت. میانگین شمارش کلی میکروارگانیسم در ۲۸ نمونه آنالیز شده پس از انجام مداخلات با بیش Log_{10} cfu/g بطور معنی داری ($P < 0.0001$) کاهش و به حدود 3×10^2 cfu/g رسید. شمارش کلی فرم ها در ۳۰ نمونه سالاد الویه پس از انجام مداخلات با حدود Log_{10} cfu/g $1/26$ بطور معنی داری ($P < 0.0001$) کاهش و به $3/3$ cfu/g رسید. شمارش مخمرها و کپک ها در بیش از ۹۰ نمونه اخذ شده پس از انجام مداخلات به صفر تقلیل پیدا کرد (جدول ۲و).

جدول ۱: میزان شیوع باکتری های سالمونلا، استافیلوکوکوس ارئوس و لیستریا مونوسیتوزنز در سالاد الویه قبل و بعد از انجام مداخلات اصلاحی GMP و GHP

ارگانیسم	تعداد نمونه (درصد موارد مثبت)	
	قبل از مداخله	بعد از مداخله
سالمونلا	۰ (۰)	۰ (۰)
استافیلوکوکوس اورئوس*	۱۳ (۳۴)	۰ (۰)
لیستریا مونوسیتوزنز**	۲ (۴)	۰ (۰)
جمع	۱۵ (۱۵)	۰ (۰)

* آزمون آماری نسبتها (proportion test) نشان می دهد اختلاف معنی دار آماری بین نسبت موارد مثبت قبل و بعد از انجام مداخلات وجود دارد ($p < 0.001$).

** آزمون آماری نسبتها نشان می دهد اختلاف معنی دار آماری بین نسبت موارد مثبت قبل و بعد از انجام مداخلات وجود دارد ($p < 0.03$).

جدول ۲: شمارش کلی میکروارگانیسم ها، کلیفرمها و کپک و مخمر در سالاد الویه قبل و بعد از انجام مداخلات اصلاحی GMP و GHP

ارگانیسم های شاخص	تعداد نمونه و میانگین cfu در گرم آنها	
	قبل از مداخله	بعد از مداخله
شمارش کلی *	$9/8 \times 10^2$ (۴۲)	3×10^2 (۲۸)
تعداد کلی فرم **	$1/37 \times 10^2$ (۴۲)	$3/3$ (۳۰)
تعداد کپک و مخمر	10^2 (۴۲)	۰ (۹۰)
جمع	۱۴۶	۱۴۸

* آزمون t-test برای شمارش کلی باکتریها log_{10} cfu/g قبل و بعد از مداخلات اختلاف معنی دار ($p < 0.001$) را نشان مید هد .

** آزمون t-test برای شمارش کلیفرمها log_{10} cfu/g قبل و بعد از مداخلات اختلاف معنی داری ($p < 0.001$) را نشان مید هد .

بحث

بیماریهای ناشی از مواد غذایی آلوده باعث خسارتهای اقتصادی و اجتماعی فراوانی می شوند (۲۲ و ۲۱). از جمله مسمومیت های غذایی ناشی از محصولات با پایه نشاسته ای و مایونزی در گزارشات مختلف ثبت شده است (۲۳). اغلب اینگونه غذاها و از جمله سالادهای سرد آماده مصرف در حرارتهای یخچالی نگهداری می شوند. رعایت زنجیره سرد در طول تولید تا توزیع تنها راه جلوگیری از فساد و رشد میکروارگانیسم های بیماری زا در اینگونه غذاها است. میکروارگانیسم های سرما دوست بیماری زا در حرارت یخچالی می توانند رشد کنند (۴). باکتریهای از قبیل لیستریا مونوسیتوزنز قادرند از تعداد ۱۰۰ باکتری در هر گرم (کمترین دوز قابل قبول برای ابتلای افراد بالغ سالم) (۲۵) و (۲۴) به بیش از ۱۰۰۰۰۰ باکتری در گرم مواد غذایی در عرض ۳-۴ هفته برسند (۲۶). بنابر این غذاهای سرد آماده مصرف که به مدت ۱۵-۱۰ روز در حرارت های یخچالی نگهداری می شوند، می توانند به عنوان منشاء اپیدمیهای مسمومیت ها و عفونتهای غذایی مطرح باشند. اهمیت این غذاها در بروز مسمومیت های غذایی وقتی بیشتر می شوند که بدانیم آنها معمولاً بصورت سرد و بدون هیچگونه عملیات حرارتی مصرف می شوند. خطر مصرف غذاهای سرد آماده با عدم نگهداری در شرایط مطلوب بهداشتی از جمله در دمای بالاتر از دمای یخچال افزایش می یابد. مراحل تهیه و تولید سالاد الویه در ایران بصورت دستی است و احتمال آلودگی از طریق دستگاهها و نیروی انسانی زیاد است. همچنین اجزاء تشکیل دهنده سالاد ممکن است قبل از مخلوط شدن به مدت طولانی تحت شرایط نامناسب دمایی قرار گیرند. در این شرایط تولید بهداشتی از ابتدایی ترین مرحله تا بلافاصله قبل از مصرف تنها راه حفظ جان مصرف کنندگان اینگونه محصولات است. اعمال روش های تضمین سلامت غذا از جمله بکارگیری GMP و GHP و HACCP بارها در غذاهای مختلف باعث ارتقاء کیفیت میکروبی غذا شده است (۱۳-۱۰).

در مطالعه حاضر نیز تاثیر بکارگیری مبانی GMP و GHP بررسی گردید. تعداد ۱۶۷ نمونه جهت جهت حضور سه باکتری بیماری زای غذایی سالمونلا، لیستریا مونوسیتوزنز و استافیلوکوکوس ارئوس آنالیز گردید. هر چند تمام نمونه از نظر حضور سالمونلا منفی بودند (جدول ۱) اما حضور دو باکتری دیگر به اثبات رسید. میزان آلودگی به استافیلوکوکوس ارئوس نمونه های الویه قبل از انجام مداخلات ۲۴٪ بود (جدول ۱). آلودگی استافیلوکوکوسی سالادهای با پایه مایونز بسیار شایع است و گزارشات متعددی حاکی از بروز اپیدمیهای مسمومیت غذایی ناشی از مصرف سالاد الویه و سالادهای مختلف گوشتی آلوده به این باکتری تاکنون ثبت شده است (۲۸ و ۲۷).

در یکی از بزرگترین اپیدمیهای مسمومیت ناشی از استافیلوکوکوس ارئوس تعداد ۶۰۰ دانش آموز دختر دبیرستانی در اثر خوردن ساندویچ سالاد الویه مسموم شدند (۲۸). لیستریا مونوسیتوزنز نیز از سالادهای گوناگون سرد و آماده مصرف جدا شده است. آلودگی لیستریایی سالاد الویه در مطالعات دیگر نیز گزارش گردیده است (۲۸-۲۹). سالادهای دیگر از جمله سالاد گوشت خوک (۳۱)، سالاد مرغ (۳۰)، سالاد مخلوط سبزیجات (۲۷)، سالاد ماکارونی (۳۵) و سالاد کلم (۳۵) نیز آلودگی لیستریایی داشتند. در مطالعه حاضر نیز ۴٪ از نمونه ها قبل از انجام مداخلات به لیستریا مونوسیتوزنز آلوده بودند. بر خلاف این مطالعه Bornemeier و همکاران (۲۰۰۳) تعداد ۵۴ نمونه سالاد با پایه مایونز (سالاد الویه، ماکارونی و خرچنگ) را بررسی نمودند و نتوانستند لیستریا را از آن جدا نمایند (۲۷). آلودگی اینگونه سالادها به باکتری های پاتوژن می تواند ناشی از دستکاری کارکنان در حین تهیه سالاد باشد. از طرفی مواد اولیه اینگونه سالادها ممکن است به مدت طولانی در درجه حرارت نا مساعد نگهداری شوند و پاتوژنها فرصت رشد پیدا کنند (۳۹).

ها، مخمرها و گونه های متعددی از انتروباکتریاسه ها معمولاً جزء فلور طبیعی اغلب مواد غذایی هستند. معمولاً در حین فراوری و آماده سازی مواد اولیه، بکارگیری فرآیندهای حرارتی (حرارت های بالا مثلاً فرآیندهای پاستوریزاسیون و یا استفاده از سرما) استفاده از نگهدارنده ها و دیگر روش ها تلاش در کاهش اینگونه میکروارگانیسم می شود.

در مطالعه حاضر پس بررسی وضعیت کارخانه تولید سالاد الویه عدم انطباق با الزامات GMP و GHP جمع بندی گردید و سپس براساس الویت شروع به بهسازی گردید. کنترل آب مصرفی ، تغییر در چیدمان ماشین آلات، بهسازی انبارهای مواد اولیه، نظارت بر تهیه و آماده سازی مواد اولیه به حد مطلوبی استاندارد گردید. رعایت دقیق حرارت و زمان پخت مواد اولیه، نظارت بر زمان ماندگاری مواد اولیه آماده شده و محصول پس از فورمولاسیون باعث جلوگیری از رشد میکروارگانیسم ها گردید. آموزش کارکنان جهت رعایت موازین بهداشتی، جلوگیری از خوردن، آشامیدن و سیگار کشیدن در حین کار و شستوشوی دستها با مواد شوینده و ضدعفونی کننده به همراه استفاده از دستکش، ماسک و کلاه یک بار مصرف باعث ارتقاء سطح بهداشتی محصول گردید.

آنالیز میکروبی ۱۴۸ نمونه برای شمارش کلی فرم ها، باکتریهای مزوفیل و کپک ها و مخمرها نشان داد (جدول ۲) با اعمال روش های اصلاحی بطور معنی داری از تعداد آنها کاسته شده است. میانگین شمارش مزوفیل پس از اقدامات اصلاحی با بیش از 10^5 cfu/g \log ۲/۵ کاهش به 10^3 و میانگین تعداد کلیفرمها با حدود 10^5 cfu/g \log ۱/۲۶ کاهش به 10^3 رسید. تعداد کپکها و مخمرها نیز در ۹۰ نمونه آنالیز شده بعد از مداخلات به صفر تقلیل پیدا نمود. در مطالعه مشابه ای در ایتالیا Cenci- Goga و همکاران (2005) اثر بخشی کاربرد HACCP و GMP و آموزش کارکنان را بر کیفیت میکروبی غذاهای آماده شده در رستوران را بررسی نمودند (۱۰). پس از اجرای اقدامات اصلاحی شمارش باکتریهای هوازی در غذاهای گرم حدود 10^5 cfu/g \log ۱ کاهش پیدا نمود (۱۰). این کاهش در غذاهای سرد به حدود 10^5 cfu/g \log ۲ بود (۱۰). در همین مطالعه قبل از اجرای HACCP باکتری *E. coli* در ۱۷٪ غذاهای سرد آماده مصرف بدست آمد و بعد از اجرای طرح با کاهش هفت درصدی، میزان آلودگی به ۱۰٪ تقلیل پیدا نمود. کاهش شمارش کلی فرم ها در مطالعه Cenci- Goga و همکاران (2005) با حدود 10^5 cfu/g \log ۱ کاهش از 10^5 cfu/g \log ۴/۴۸ به 10^3 cfu/g \log ۲/۴۸ تقلیل پیدا نمود (۱۰). این یافته موافق یافته های مطالعه حاضر است. در مطالعات متعدد دیگری نیز اثر بخشی کاربرد HACCP در افزایش کیفیت میکروبی مواد غذایی بخوبی اثبات شده است (۴۵ و ۴۴ و ۱۳ و ۱۲).

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر در موافقت با اغلب مطالعات قبلی نشان داد در صورت اجرای مبانی بهداشتی در تولید مواد غذایی و بکارگیری استانداردهای جامع بین المللی نظیر کمیته کد کس می توان سطح بهداشتی مواد غذایی را بالا برد. با شناسایی و کنترل نقاط بحرانی در تولید و آموزش کارکنان می توان از آلودگی ثانویه محصول حساسی مانند سالاد الویه جلوگیری نمود. تدوین استانداردهای تولید و توزیع محصولات سرد آماده مصرف در ایران یک ضرورت جدی است و نظارت مسئولین بهداشتی بر رعایت این قوانین نیز می تواند در محافظت از مصرف کنندگان مفید واقع شود. اجرای سیستم تضمین سلامت HACCP بعنوان سیستمی که با مشارکت کلیه عوامل تولید امکان پذیر است، ضمیمه کنترل صنایع غذایی بوسیله خود را فراهم می آورد. به علاوه کاربرد رهیافت HACCP از نظر اقتصادی برای تولید کنندگان و عوامل دولتی مقرون به صرفه بود فاقد محدودیت های سیستمهای سنتی کنترل سلامت مواد غذایی است.

هر دو باکتری لیستریا و استافیلوکوکوس بطور وسیعی در محیط اطراف پراکنده هستند. استافیلوکوکوس ارئوس بر روی غشاء موکوسی پوست انسان یافت می شود و در اثر عدم رعایت بهداشت فردی و میانی GHP می تواند به سالاد منتقل شود (۳۰). منبع آلودگی لیستریا نیز می تواند گرد و عیار، آب، فاضلاب یا انسان باشد. غذاهای گوشتی (سفید و قرمز) شیر و لبنیات، سبزیجات از این طریق آلوده می شوند و در صورت استفاده بعنوان مواد اولیه تهیه سالادهای سرد آماده مصرف می توانند آلودگی را به آنها منتقل کنند (۴۰ و ۳). بدیهی است همانطور که Zottola و همکاران (۱۹۹۰) اشاره کرده اند در چنین مواردی عدم رعایت اصول بهداشتی در حین آخرین مرحله تهیه غذا عامل اصلی بروز اپیدمیهای مسمومیت های غذایی است (۴۱). آلودگی سالاد الویه به گونه پاتوژن لیستریا مونوسیتوژن بسیار خطرناک است. تعداد زیادی از اپیدمی های مسمومیت غذایی ناشی از لیستریا مونوسیتوژن تا کنون در جهان گزارش شده است (۴۰). اپیدمی ناشی از مصرف سالاد سبزیجات نیز در اثر لیستریا مونوسیتوژن توسط Donnelly و همکاران گزارش گردیده است (۴۲). بیماری ناشی از لیستریا مونوسیتوژن (لیستریوزیس) هر چند اغلب بصورت خفیف و با علائم شبیه سرماخوردگی بروز می کند اما می تواند منجر به عوارض خطرناکی مانند سقط جنین در خانم های حامله، سپتی سمی و مننژیت شود (۴۰). لیستریوزیس از بعد دیگری نیز خطرناک است و آن میزان بالای مرگ و میر در بروز اپیدمی های ناشی از مصرف غذای آلوده است. این میزان می تواند به حدود ۳۰-۴۰ درصد برسد (۴۳). متأسفانه هنوز در ایران جداسازی این باکتری از مواد غذایی جزء استانداردهای لازم نمی باشد اما اغلب کشورهای غربی تکیه فراوانی به عاری بودن مواد غذایی از این باکتری خطرناک می کنند.

اجرای مبانی GMP و GHP که منجر به تغییرات سخت افزاری در نحوه تولید از تحویل گیری و فراوری مواد اولیه تا بسته بندی نهایی گردید، باعث کاهش معنی داری ($P < 0.001$) در شیوع آلودگی پاتوژنهای سالمونلا و لیستریا گردید. کنترل نقاط بحرانی (CCP) در طول انجام پروژه و آموزش رعایت شرایط بهداشتی تولید به کارکنان باعث گردید تا پس از انجام مداخلات از ۱۸۰ نمونه آنالیز شده هیچکدام از باکتریهای بیماری زای غذایی سالمونلا، لیستریا مونوسیتوژن و استافیلوکوکوس ارئوس جدا نشود (جدول ۱). در مطالعه Cenci- Goga و همکاران (۲۰۰۵) در ایتالیا پس بکارگیری مبانی GMP و HACCP آنها نیز قادر بودند از میزان شیوع استافیلوکوکوس ارئوس، اشریشیا کلی و باسیلوس سرئوس در غذاها رستوران دانشگاه بطور معنی داری بکاهند (۱۰). در این مطالعه آنها در هیچکدام از نمونه ها نتوانستند سالمونلا یا لیستریا مونوسیتوژن را جدا کنند. در مطالعه دیگری Soriano و همکاران (۲۰۰۲) در اسپانیا با بکارگیری همین مبانی در درصد آلودگی مواد غذایی به استافیلوکوکوس ارئوس و اشریشیا کلی بطور معنی داری کاهش ایجاد نمودند. آنها توانستند به ترتیب در حدود ۲۰٪ و ۲۱٪ از میزان شیوع اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس ارئوس در یک نوع غذا بکاهند (۱۱).

شمارش کلی باکتریهای مزوفیل و کپک ها و مخمرها می تواند بیان کننده کیفیت میکروبی مواد غذایی باشند (۴ و ۳). شمارش میکروارگانیسم های شاخص یا نشانگر از جمله شمارش انتروباکتریاسه ها، *E. coli* و یا کلی فرم ها و بویژه کلی فرم های مدفوعی نیز بعنوان نشانگر کیفیت بهداشتی مواد غذایی مطرح هستند و لذا اغلب پارامترهای فوق الذکر در استانداردهای غذایی بکار می روند (۳ و ۴). در مطالعه حاضر نیز از سه پارامتر شمارش کلی باکتریهای مزوفیل، شمارش کلی فرم ها و شمارش کپک و مخمر جهت سنجش میزان اثر بخشی مداخلات GMP و GHP استفاده گردیده همانطور که در جدول شماره ۲ مشاهده می شود میانگین شمارش کلی باکتریهای مزوفیل، شمارش کلی فرم ها و شمارش کپک مخمر قبل انجام مداخلات به ترتیب برابر 10^5 × ۹/۸، 10^5 × ۱/۳۷ و 10^5 cfu/g در سالاد الویه بود. باکتریهای مزوفیل، کپک

REFERENCES

1. Meffert. HF, Economic development pertinent to chilled foods. Chilled foods – The state of art. Elsevier Science publishers 1990.
2. Codex International code of Practice – Code of hygienic practice for refrigerated packaged foods with extended shelf life – CAC/RCP 46-1999.
3. Jay. JM, Modern Food Microbiology. Van Nostrand Reinhold Co., New York 1990.
4. Mossel. DAA, Corry. JEL, Struijk CB, et al. Essential of the microbiology of food. Johnwiley & sons Ltd., chichester, UK. 1990.
5. Center for Science in the public interest. Outbreak Alert, Calosing the gap in our federal Food Safety Net. 2001; P 1-48.
6. Tebbutt. GM, & Southwell. M. Complince with recent food hygiene legislation and microbiological monitoring in cooked meat product plants. International Journal of Enuironmental Health Research 1990; 7, 335- 344.
7. Worsfold. D, & Griffith. CA, A generic model for evaluating consumer food safety behaviour. Food Cotrol, 1995; 6, 357-363.
۸. دانالد. ج . مک دانلد، داگمر، م. اینگل. راهنمای کاربرد HACCP برای واحدهای کوچک، ترجمه جلالی، م. عابدی، د. چاپ اول . انتشارات جهاد دانشگاهی اصفهان و انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ، اصفهان ، ۱۳۸۲.
۹. خانقاهی، ح. آ. جلالی، م. اکبریان، م. راهنمای جامع اجرای سامانه HACCP در صنایع غذایی. چاپ دوم انتشارات جهاد دانشگاهی اصفهان و انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ۱۳۸۴.
10. Cenci-Goga BT, Ortenzi R, Bartocci E, Codega A, Clementi F, Vizzani. Effect of the implementation of HACCP on the microbiological quality of meat at a university restaurant. Foodborne Pathogens and Disease. 2005; 2: 138-145.
11. Soriano. JM, Rico. H, Molto. JC, Mares, J. Effect of introduction of HACCP on the microbiological quality of some restaurant meals. Food Control. 2002; 13, 253-261.
12. Martinez – Tome. M, Vera. AM, and Antonia. M, Murcia. Improving the control of food produvtn in catering establishments with paticular reference to the safety of salads. Food Control 2000; 11, 437-445.
13. Manes. J, and Soriano. JM, 1999. programa de control de qualitat dels serveis de restauracio de la Universitat de Valencia. University of Valencia, Spain.
۱۴. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی کشور. روش آماده کردن نمونه های مواد غذایی و شمارش میکروارگانیسم های مختلف. استاندارد ملی ایران شماره ۳۵۶. سال ۱۳۷۱
۱۵. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی کشور. روش شناسایی آلودگیهای قارچی کپکها و مخمرها در مواد غذایی. استاندارد ملی ایران شماره ۹۹۷. سال ۱۳۷۳
۱۶. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی کشور . روش جداسازی، شناسایی و شمارش کلیفرمها. استاندارد ملی ایران شماره ۴۳۷. سال ۱۳۷۴

۱۷. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی کشور. روش شناسایی و شمارش استافیلوکوکوس آرنوس کواگولاز + در مواد غذایی. استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۹۴. سال ۱۳۷۴

18. McClain. D, and Lee WH, Development of USDA- FSIS method for isolation of *Listeria monocytogenes* from raw meat and poultry. *Journal of the Association of Analytical chemists*. 1988; 71, 660-664.

۱۹. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی کشور. روش جستجو و شناسایی سالمونلا در گوشت و فراورده های آن – روش مرجع. استاندارد ملی ایران شماره ۱۸۱۰. سال ۱۳۷۴

20. Codex International code of practice – General Principal of Food Hygiene . CAC/ RCP. 1-1969, Rev, 3-1997. (CAC/ PCP/ 46).

21. Sockett. PN, Social and econmic aspects of food – brone disease. *Food Policy*. 1993; 18: 110-119.

22. Socket. PN, Roberts. JA, The social and econmic impact of Salmonellosis: a report of a national survey in England and Wales of laboratory confirmed Salmonella infection. *Epidemiol. Infect.* 1991; 107: 335 –347.

23. Bean. NH, and Griffin. PM, Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: pathogens, vehcles and trends. *Journal of Food Protection*. 1990; 53: 804-817.

24. Buchanan. RL, Smith. JI, Long. w, Microbial risk assessment: dose – response relation and risk characterization. *International Journal of Food Microbiology*. 2000; 58, 159-172.

25. Huss. HH, Jorgensen. LV, Ogel BF, Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. *International Journal of Food Microbiology*. 2000; 62, 267-274.

26. Miettinen. MK, Bjorkroth. K, Korkeala. HJ, Charaaterization of *Listeria monocytogenes* from ice cream plant by serotyping and pulsed field gel electrophoresis. *International Journal of Food Microbiology*. 1999; 46, 187 –192.

27. Bornemeier. VL, Albrecht. JA, Sumner. S, Survey of mayonnaise – based salads for microbial safety and quality. *Food Protection Trends*, 2003 ; 5: 387 – 392.

28. Bergdoll. MS, Foodborne Diseases: Staphylococcal Food Poisoning. P. 96. In Cliver, D.O. (ed.) *Foodborne Disease*. Academic Press, New York. 1990.

29. Anonymous. Potato salad under class I recall due to *Listeria*. *Food Chem. News*. 1994a; 36 (01-31): 53(07-5): 33.

30. Anonymous. Suspect bacterial contamination causes several food recalls. *Food Chem. News*. 1994b; 36(06-6): 59-60.

31. Anonymous. L. monocytogenes causes cheese, potato salad, bakery recalls, *Food Chem. News*. 1994c; 36(10-31):21.

32. Anonymous. Ice cream, potato salad, cereal contamination “preventable.” *Food Chem. News*. 1994d; 36(11-7):26.

33. Anonymous. L. monocytogenes contamination sparks potato salad recalls. *Food Chem. News*. 1995a; 37(02-6): 14-15.

34. Anonymous, L. monocytogenes detected in potato salad spurs FDA warning. *Food Chem. News*. 1995b ; 37(03-6):28.

35. Anonymous. L. monocytogenes in prepared aslads prompts recalls. Food Chem. News. 1995c; 37(04-3): 16-17.
36. Anonymous. Listeria monocytogenes leads to seafood spread recall. Food Chem. News. 1995d; 37(05-1):33.
37. Anonymous. Comtamination causes duck, potato salad, hot dog recalls, Food Chem. News. 1995e; 37(05-29):27.
38. Anonymous. Potato salad recalled due to L. monocytogenes contamination. Food Chem. News. 1995f; 37(05-17):41.
39. Albrecht. JA, Hamouz. FL, Sumner. SS, and Melch. V, Microbial evaluation of vegetable ingredients in salad bars. Journal of Food Protection. 1995; 58, 683-685.
40. Farber. JM, Peterkin. PL, Listeria monocytogenes, a food – borne pathogen. Microbiol. Rev. 1991; 55, 476 – 511.
41. Zottola. AZ, and Smitgh. LB, The microbiology of foodborne disease outbreaks: an update. Journal of Food Safety 1990; 11: 13-29.
42. Donnelly. CW, Listeria – an emerging foodborne pathogen. Nutr. Today. 1990; 68: 7-11.
43. Wing. EJ, and Gregory. SH, An updated model of cell – mediated immunity – listeriosis: clinical and research aspects. Allergy Asthma proc. 2000; 21, 209 – 214.
44. Bryan. FL, Hazard analysis critical control point (HACCP) System for retail food and restaurant operations. Journal of Food protetion. 1990; 53, 978-983.
45. Lambiri. M, Mavridou. A, Papadakis. AJ, The application of hazard analysis critical control point (HACCP) in a flight catering establishment improved the bacteriological quality of meals. J. R. Soc. Health. 1995; 115, 26-30.