آلودگی به اشریشیا کلی O157:H7 در مواد غذایی منتخب در برخی از رستوران های شهر تهران با استفاده از محیط های کشت کروموژن

حمید رضا توکلی[۱]، میثم سرشار[۲*]، رضا رنجبر[۳]، محمد تقی صدر ممتاز[۴]، حسن رفعتی[۵]

۱. دانشیار میکروبیولوژی مواد غذایی، مرکز تحقیقات بهداشت نظامی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، تهران
۲. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، تهران
۳. دانشیار باکتری شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، تهران
۴. کارشناس ارشد علوم تغذیه نظامی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، تهران
۵. مربی مدیریت تحقیقات، مرکز تحقیقات بهداشت نظامی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، تهران

* نشانی برای مکاتبه: تهران، میدان ونک، خیابان ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... الاعظم (عج)، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی،
meysam_sarshar@yahoo.com
دریافت مقاله: مرداد نود و دو پذیرش برای چاپ: مهر نود و دو

چکیده

سابقه و هداف: *باکتری اشریشیا کلی شاخص میکروبی آلودگی آب و مواد غذایی محسوب می‌گردد و وجود آن در آب آشامیدنی و مواد غذایی نشان گر آلودگی این مواد به سایر پاتوژن های روده‌ای می باشد. برخی از سویه های آن مانند اشریشیا کلی O157:H7 عوارض خطرناکی مانند سندرم اورمی همولیتیک و کولیت هموراژیک ایجاد می کنند. هدف از این پژوهش، تعیین آلودگی به اشریشیا کلی O157:H7 در مواد غذایی منتخب در برخی از رستوران های شهر تهران با استفاده از محیط های کشت کروموژن بود.*

روش کار: *تعداد ۹۶ نمونه ماده غذایی شامل ۴۸ نمونه کباب کوبیده و ۴۸ نمونه سالاد از ۴ رستوران در سطح شهر تهران در دو نوبت به فاصله زمانی دو ماه از هر رستوران ۱۲ نمونه با استفاده از وسایل استریل شده نمونه گیری گردید. از روش های استاندارد بیوشیمیایی و باکتریولوژیکی جهت تشخیص سویه های اشریشیا کلی و از محیط های کشت کروموژن به منظور شناسایی اشریشیا کلی سروتایپ O157:H7 استفاده شد.*

یافته ها: *از مجموع ۹۶ نمونه گرفته شده، در ۲۹ نمونه (۳۰/۲٪ موارد) آلودگی به اشریشیا کلی تأئید شد، که از این میان ۱۷ نمونه متعلق به سروتایپ O157 بودند اما در هیچ یک از نمونه ها سروتایپ O157:H7 تشخیص داده نشد.*

نتیجه گیری: *کیفیت بهداشتی غذاها و سالادهای آماده مصرف در برخی از رستوران های تهران نامطلوب بوده و آلوده به باکتری اشریشیا کلی می باشند. لذا کنترل و نظارت بیشتر بر این رستوران ها و آموزش کارکنان شاغل در این اماکن ضروری می باشد.*

واژگان کلیدی: *محیط های کشت کروموژن، اشریشیا کلی O157:H7، رستوران*

مقدمه

کلی فرم ها، به ویژه اشریشیا کلی یکی از مهم ترین عوامل ایجاد کننده گاستروانتریت و شاخص میکروبی آلودگی آب و مواد غذایی محسوب می گردند(۵-۱) و وجود آنها در آب آشامیدنی و مواد غذایی نشان گر آلودگی این مواد به سایر پاتوژن های روده‌ای است(۶، ۷). سویه های اشریشیا کلی انتروهموراژیک (EHEC) مانند اشریشیا کلی O157:H7 از مهم ترین پاتوژن های روده‌ای محسوب می گردند و عوارضی مانند کولیت هموراژیک، سندرم اورمی همولیتیک و به ویژه نارسایی حاد کلیوی را ایجاد می کنند(۸، ۹). این سویه می تواند از طریق مصرف آب و مواد غذایی آلوده، و از فردی به فرد دیگر از طریق مدفوعی- دهانی منتقل شود. انتقال باکتری از حیوان به انسان از راه مستقیم، تماس با آب، خاک و فضولات نشخوارکنندگان و هم چنین مصرف موادغذایی آلوده مانند شیر، ماست، پنیر، همبرگر، سوسیس، گوشت چرخ شده، ساندویچ های گوشتی، سبزیجات و آبمیوه ها امکان پذیر است(۱، ۳، ۴). از طرفی، اشریشیا کلیO157:H7 در کنار سایر عوامل میکروبی همانند سالمونلا انتریکا و شیگلا دیسانتری از مهم ترین عوامل بیولوژیک تهدید کننده منتقله از طریق آب و مواد غذایی می باشد(۱۱-۹).

در کشورهای توسعه یافته توجه بیش تری به این باکتری شده و تصویر نسبتاً واضحی از شیوع آن وجود دارد. میزان موارد تائید شده آلودگی به اشریشیا کلی O157:H7 در سال ۲۰۰۷ در اسکاتلند، ۹ مورد و در سال ۲۰۰۸ در ویرجینیای آمریکا، ۲۵ مورد بوده است(۱۲). در سال ۲۰۰۸ در چهل همه گیری (۲۱ مورد در میشیگان و ۱۹ مورد در اوهایو) آلودگی مواد غذایی به سروتایپ O157:H7 تائید شده است(۱۳).

در نقاط مختلف جهان وقوع عفونت ها و مسمومیت های غذایی ناشی از آلودگی به اشریشیا کلی بسیار مورد توجه و مطالعه قرار گرفته است. از جمله این مطالعات می توان به گزارش Brashear و هم کاران در سال ۲۰۰۲ در آمریکا(۱۴)، Meldrum و هم کاران در سال ۲۰۰۶ در انگلستان(۱۵)، Froder و هم کاران در سال ۲۰۰۷ در برزیل(۱۶)، Bahk و هم کاران در سال ۲۰۰۷ در کره جنوبی(۱۷)، Abadias و هم کاران در سال ۲۰۰۸ در اسپانیا(۱۸)، Abougrain در سال ۲۰۱۰ در لیبی(۱۹)، Ponniahو هم کاران در سال ۲۰۱۰ در مالزی(۲۰) و Gormley و هم کاران در سال ۲۰۱۰ در انگلستان (۲۱)اشاره نمود. سالک مقدم و هم کاران برای اولین بار در سال ۱۹۹۹ در ایران با بررسی نمونه های مواد غذایی مختلف، تنها از یک نمونه سبزی موفق به جدا سازی O157:H7گردیدند(۲۲). کارگر و هم کاران نیز در سال ۱۳۸۹ طی مطالعه ای که بر روی ۵۰۴ نمونه گوشت چرخ کرده از سه کارخانه در استان فارس انجام دادند، توانستند ۱۹ نمونه آلوده به اشریشیا کلی را تشخیص دهند که از این میان، تنها ۲ نمونه با آنتی سرم O157 اگلوتینه و آلوده به سروتایپ O157:H7 بود(۲۳).

روش های معمول کشت اشریشیا کلی در آزمایشگاه بیش از ۷۲ ساعت بطول می انجامد و در بیشتر مواقع نیازمند آزمایشات افتراقی و تکمیلی جهت اثبات حضور باکتری در غذا است. اخیراً استفاده از روش های تشخیص سریع، این مشکلات تا حد زیادی مرتفع نموده، و با داشتن سرعت و دقت بسیار بالا، شناسایی میکروارگانیسم ها سریع تر گردیده است(۲۸-۲۴). یکی از روش های جدید که در دهۀ اخیر برای تشخیص نسبتاً سریع میکروارگانیسم های بیماری زا در آب و مواد غذایی مطرح گردیده محیط های رنگ آفرین (Chromogenic Medium) هستند که استفاده از آنها می‌تواند نیاز به کشت فرعی و آزمون های بیوشیمیایی اضافی را برای تعیین هویت باکتری های مورد نظر از میان بردارد. اساس این روش ایجاد مادۀ زمینه‌ای برای آنزیم های اختصاصی میکروارگانیسم ها بوده و بر مبنای نوع رنگ تولید شده براحتی می‌توان نوع میکروارگانیسم را تشخیص داد (۲۷،۳۱-۲۹). در واقع بسیاری از مواد پس از واکنش با آنزیم های میکروبی یا دیگر اجزاء آنها محصولات رنگی یا فلورسنت تولید می کنند و از این خاصیت برای تشخیص باکتری استفاده می‌شود. سوبستراهای مورد استفاده برای محیط های کروموژن عمدتاً از مشتقات فنل و ایندول هستند. این مشتقات از جمله بتا دی گلوکورونید یا بتا دی گالاکتورونید استفاده گسترده‌ای در این محیط ها جهت تشخیص سریع پاتوژن های غذایی دارند. این ترکیبات توسط آنزیم های میکروبی تجزیه کننده آنها متابولیزه شده و از متابولیسم آنها محصولات رنگی و یا محصولات فلورسنت تولید می‌گردد(۲۹، ۳۱).

در برخی از مطالعات از محیط های کشت کروموژن در تشخیص برخی از باکتری ها از جمله اشریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و ویبریو کلرا و برخی از کپک ها در آب استفاده شده است اما در مورد کاربرد آنها درشناسایی این باکتری بیماری زا در مواد غذایی گوشتی و لبنی مطالعه چندانی صورت نگرفته است(۳۱-۲۹). هدف از این مطالعه تعیین آلودگی به اشریشیا کلی O157:H7 در مواد غذایی منتخب شامل (کباب کوبیده و سالاد) در برخی از رستوران های شهر تهران با استفاده از محیط های کشت کروموژن می باشد.

روش کار

طبق استاندارد مؤسسه ملی استاندارد ایران، تعداد ۹۶ نمونه ماده غذایی (شامل ۴۸ نمونه کباب کوبیده و ۴۸ نمونه سالاد) از ۴ رستوران در سطح شهر تهران به صورت تصادفی نمونه برداری شد. بدلیل رعایت اخلاق در پژوهش و محرمانه بودن نام رستورانها، اسامی آنها در این مطالعه بصورت A، B، C و D آمده است. نمونه برداری در ۲ نوبت به فاصله زمانی ۲ ماه و در هر نوبت از هر رستوران ۱۲ نمونه شامل ۶ نمونه کباب کوبیده و ۶ نمونه سالاد با استفاده از وسایل استریل شده انجام گردید.

ابتدا به منظور کسب مجوز برای نمونه برداری و انجام آزمایشات بر روی سالادها و غذاها با مدیران رستوران های مورد نظر هم اهنگی شد. نمونه های جمع آوری شده در ظرف مخصوص در شرایط سرد (cool box) بلافاصله به آزمایشگاه دانشکده بهداشت منتقل و برای تایید موارد مثبت از روش کشت استاندارد و آزمایشات باکتریولوژیکی عمومی و اختصاصی استفاده شد. بدین صورت که پس از انتقال نمونه های غذا و سالاد به آزمایشگاه، و یک نواخت کردن نمونه ها در کنار شعله و تحت شرایط کاملا استریل به محیط کشت های اختصاصی خود تلقیح گردید. برای جستجوی کلی فرم ابتدا نمونه ها را در محیط های آبگوشت سبز درخشان (Brilliant Green Broth) و ویولت رد بایل آگار (VRBA) (شرکت مرک، آلمان)کشت داده و پس از ۴۸-۲۴ ساعت آنها را از اتوو خارج کرده و شمارش آنها انجام گرفت.

به منظور شناسایی اشرشیا کلی، ابتدا نسبت به تهیه رقت از نمونه ها اقدام گردید. بدین صورت که ۲۵ گرم از نمونه را وزن نموده و با ۲۲۵ سی سی سرم فیزیولوژی استریل مخلوط و رقت ۰/۱ را تهیه نمودیم و به لولۀ آبگوشت سبز درخشان اضافه نمودیم. یک میلی لیتر از رقت ۱/۱۰ هم داخل آب پپتونه ریخته و آنها را در اتوکلاو ۴۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار دادیم و در صورت ایجاد گاز در آبگوشت سبز درخشان چند قطره از محلول کواکس داخل لوله یا لوله های حاوی محیط آب پپتونه ریخته و حلقه قرمز رنگی در بالای لوله تشکیل شد. سپس برای تایید تشخیص اشریشیا کلی در نمونه ها از آزمون تکمیلی IMVIC استفاده شد. از نمونه های مثبت در محیط برلینت گرین لاکتوز بایل براث (BGB)، کشت داده شد. به منظور بررسی فعالیت بتاگلوکورونیدازی، باکتری های تأیید شده به عنوان اشریشیاکلی بر روی محیط کرومو آگار اختصاصی O157 کشت و در دمای۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری گردید.

به منظور تایید نهایی باکتری های دارای واکنش بیوشیمیایی سوربیتول و بتاگلوکورونیداز منفی، از آنتی سرم اختصاصیO157 (شرکت بهارافشان، ایران) استفاده شد(۶، ۸). پس از تهیه رقت طبق روش توضیح داده شده در مرحله اول نسبت به کشت نمونه ها در محیط کروموژن به منظور شناسایی اشریشیا کلی O157:H7 آزمایشات لازم صورت پذیرفت. طبق دستورالعمل شرکت تولید کننده محیط کشت برای شناسایی باکتری در محیط کروموژن ابتدا یک پلیت حاوی محیط کشت کروموژن اختصاصی در نظر گرفته شد و ۱ میلی لیتر به داخل پلیت حاوی محیط کشت O157:H7ریخته و کشت سطحی دادیم و سپس به صورت وارونه به مدت ۲۴- ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. سپس به منظور تأئید وجود اشریشیا کلی O157:H7 از آنتی سرم اختصاصیO157:H7 (تست آگلوتیناسیون) موجود در آزمایشگاه دانشکده بهداشت دانشگاه تهران (شرکت بهار افشان، ایران) استفاده گردید(۲۳).

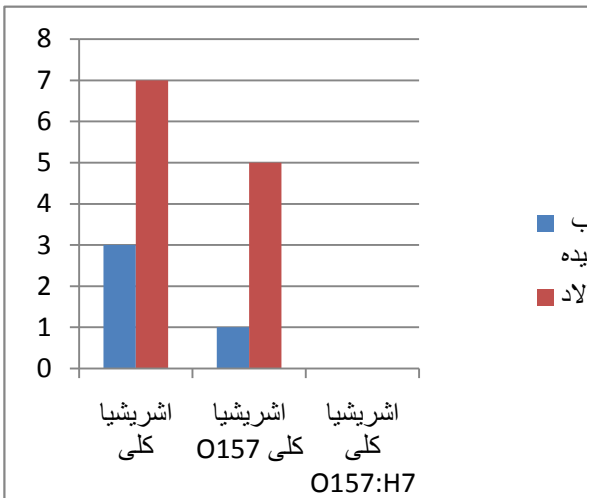
بررسی های آماری با استفاده از نرم افزار (spss Inc., Chicago, IL., USA ver 18) spss و (Microsoft office Ecell 2007 professional)آزمون های کای دو و دقیق فیشر صورت گرفت. مرز معنا دار بودن (P <۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

یافته ها

از مجموع ۹۶ نمونه مورد آزمایش شامل ۴۸ نمونه کباب کوبیده و ۴۸ نمونه سالاد، ۱۰ نمونه (۱۰/۴٪) به اشریشیا کلی آلوده بودند که از این ۱۰ نمونه، ۶ مورد آن آلوده به اشریشیا کلی سروتایپ O157 بودند، اما در هیچ یک از نمونه ها آلودگی به اشریشیا کلی O157:H7 مشاهده نگردید (نمودار ۱). نمونه های سالاد نسبت به نمونه های کباب کوبیده دارای آلودگی بیشتری به اشریشیا کلی و سروتایپ O157 بودند، بطوریکه از ۱۰ مورد آلودگی به اشریشیا کلی، ۷ مورد مربوط به نمونه های سالاد و ۳ مورد مربوط به نمونه های کباب کوبیده بودند. بیش ترین موارد سروتایپ O157 در نمونه های سالاد مشاهده شد به طوریکه از ۶ مورد آلودگی به این سروتایپ، ۵ مورد (۸۸/۳٪) مربوط به نمونه های سالاد می باشد. اختلاف معنی داری بین تعداد موارد مثبت در نمونه های سالاد نسبت به کباب کوبیده در برخی از رستوران ها وجود داشت(P <۰/۰۵).

بیش ترین میزان آلودگی مربوط به رستوران B و C بود. به طوری که از مجموع ۱۰ نمونه آلوده به ترتیب ۶ و ۴ مورد مربوط به این دو رستوران بود ولی در دو رستوران A و D هیچ گونه آلودگی به اشریشیا کلی مشاهده نگردید. از ۷ نمونه سالاد آلوده به اشریشیا کلی، ۴ نمونه مربوط به رستوران B، ۳ نمونه مربوط به رستوران C و از ۳ نمونه کباب کوبیده آلوده به اشریشیا کلی، ۲ نمونه مربوط به رستوران B و ۱ نمونه مربوط به رستوران C بود. در هیچ یک از نمونه های سالاد و کباب کوبیده رستوران های A و D، آلودگی به اشریشیا کلی تایید نگردید. در رستوران B، از میان کل نمونه های گرفته شده، در ۴ نمونه آلودگی به سروتیپ O157 تایید شد که ۳ نمونه مربوط به نمونه سالاد و ۱ نمونه مربوط به کباب کوبیده بود. اما در هیچ یک از نمونه ها، آلودگی به اشریشیا کلی O157:H7 تایید نشد. در رستوران C نیز از مجموع نمونه های گرفته شده، در ۲ نمونه آلودگی به سروتایپ O157 تایید شد، که هر دو نمونه مربوط به نمونه سالاد بود. در هیچ یک از نمونه های این رستوران، آلودگی به سروتایپ O157:H7 تایید نشد. اختلاف بین تعداد موارد مثبت اشریشیا کلی در نمونه های سالاد و کباب کوبیده دو رستوران B و C در مقابل رستوران های A و D معنی دار بود(P <۰/۰۵).

نمودار ۱: میزان آلودگی نمونه های سالاد و کباب کوبیده به اشریشیا کلی (بر حسب تعداد موارد آلودگی)



بحث

از مجموع ۹۶ نمونه غذای مورد آزمایش، ۱۰ نمونه (۱۰/۴٪) به اشریشیا کلی آلوده بوده که از این ۱۰ نمونه ۶ مورد آن مربوط به اشریشیا کلی سروتایپ O157 بود و در هیچ یک از نمونه ها آلودگی به سروتایپ O157:H7 مشاهده نگردید. با توجه به اینکه اشریشیا کلی شاخص کنترل بهداشتی آب و مواد غذایی است و طبق استاندارد نباید مواد غذایی فوق به این باکتری آلوده باشند، آلودگی ۱۰/۴٪ از نمونه های غذایی مورد آزمایش به این باکتری برای مسئولین بهداشتی سازمان هشدار دهنده است و می تواند موجب بروز عفونت و مسمومیت غذایی در بین مصرف کنندگان گردد.

نمونه های سالاد نسبت به نمونه های کباب کوبیده دارای آلودگی بیش تری به این باکتری و سروتایپ O157 بودند. به طوری که از ۱۰ نمونه آلوده، ۷ مورد (۷۰٪) مربوط به نمونه های سالاد، ۳ مورد (۳۰٪) مربوط به نمونه های کباب، و از ۶ مورد آلودگی به سروتایپ O157 نیز ۵ مورد (۸۸/۳٪) مربوط به نمونه های سالاد بود. بالاتر بودن آلودگی سالاد نسبت به کباب کوبیده قابل توجیه می باشد، زیرا اولاً در تهیه سالاد برخلاف کباب کوبیده از حرارت استفاده نمی شود، ثانیاً امکان دست کاری این ماده غذایی توسط کارکنان شاغل در آشپزخانه بیش تر است و ثالثاً احتمال آلودگی وسایل و تجهیزات مورد استفاده برای تهیه سالاد بیش تر وجود دارد. در مطالعاتی که توسط توکلی و هم کاران در سال ۱۳۹۰ (۳۳)، Meldrum و هم کاران در سال ۲۰۰۹ (۳۴)، و Sagoo و هم کاران در سال ۲۰۰۳ (۳۵) انجام گرفت، آلودگی بیش تر سالاد نسبت به سایر مواد غذایی به این باکتری مورد تایید قرار گرفته است.

کنترل بهداشتی موادغذایی در رستوران ها و مراکز عرضه غذا بطور دوره ای برای اطمینان از سلامت غذاهای مصرفی لازم و ضروری است و این موضوع در تمامی کشورها انجام می پذیرد. با توجه به اینکه غذاهای تهیه شده از گوشت چرخ کرده مانند کباب کوبیده و سالاد ها از غذا های پر خطر محسوب می گردد، گزارشات زیادی از آلودگی این موادغذایی به باکتری های بیماری زا به ویژه اشریشیا کلی وجود دارد. در مطالعه ای که توسط Meldrum و هم کاران در انگلستان در سال ۲۰۰۹ بر روی ۱۲۱۳ نمونه سالاد سبزی جات انجام گرفت در ۴/۷ درصد از نمونه ها وجود اشریشیا کلی تایید شد و یک نمونه به سالمونلا آلوده بود(۱۵). در حالی که در مطالعه ما در ۷ نمونه (۱۴/۶٪) آلودگی به اشریشیا کلی تایید گردید، که در مقایسه با مطالعه فوق میزان آلودگی بیش تر بوده است. در مطالعه Sagoo و هم کاران نیز ۳ درصد از نمونه های کباب کوبیده مورد بررسی در یک رستوران از کیفیت بهداشتی مناسبی برخوردار نبودند و آلودگی به اشریشیا کلی در آنها تایید شد(۳۳)، در حالی که درمطالعه ما ۶/۲ درصد از نمونه ها به این باکتری آلوده بودند.

نتایج بدست آمده از مطالعه ما با نتایج سایر مطالعات انجام شده در داخل کشور نیز مطابقت دارد. در مطالعه ای که توسط سالک در سال ۱۳۷۸ بر روی بار میکروبی ۱۰۰ نمونه از غذاهای گوشتی (شامل کباب کوبیده، مرغ، جوجه کباب، و همبرگر) مصرفی مراکز درمانی وابسته به دانشگاه شهید بهشتی صورت گرفت، نمونه‌ها از نظر آلودگی به کلی فرم ها به ویژه اشریشیا کلی مورد آزمایش قرار گرفتند و نشان داده شد که نمونه های کباب کوبیده با ۶٪ آلودگی، دارای بیش ترین آلودگی به این باکتری هستند(۲۳). در مطالعه توکلی در سال ۲۰۰۸ نیز که بر روی تعداد ۷۲ نمونه از ۴ نوع غذای مصرفی (کباب کوبیده، مرغ، جوجه کباب و ماهی) در ۶ مرکز درمانی و آموزشی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) از نظر آلودگی باکتریایی مورد آزمایش صورت گرفت، کباب کوبیده به عنوان آلوده ترین غذا شناخته شد، به طوری که میانگین تعداد کلی باکتری ها و کلی فرم در کباب کوبیده $۱/۱۴ \times ۱۰^{۵}$ و $۱/۹۸ \times ۱۰^{۲}$ در هر گرم تعیین گردید و از ۱۸ نمونه مورد آزمایش ۷ نمونه (۳۸/۹٪) به اشرشیا کلی آلوده بودند(۳۶).

در بین چهار رستوران مورد بررسی بیش ترین آلودگی در نمونه های سالاد و کباب کوبیده به ترتیب مربوط به رستوران های B و C بود که نشان دهنده عدم توجه کافی به موازین بهداشتی در این دو رستوران می باشد. در مطالعه توکلی و فرهنگ در سال ۱۳۸۸ نیز که بر روی بررسی کیفیت باکتریولوژیکی غذاها و سالاد های عرضه شده در این چهار رستوران صورت گرفت، آلودگی بیش تر غذاها و سالاد های عرضه شده در این دو رستوران مورد تأیید قرار گرفته است. به طوری که میانگین تعداد کلی فرم در نمونه های سالاد و کباب کوبیده این دو رستوران به ترتیب $۱/۴۱ \times ۱۰^{۴}$ و $۱۰^{۳}\times$ ۲/۶۲ در هر گرم تعیین گردید که در مورد هر دو نوع غذا، آلودگی بیش از حد استاندارد، یعنی ($۱۰^{۲}$ در هر گرم) بوده است و از ۳ مورد آلودگی به اشریشیا کلی، هرسه مربوط به رستوران B بوده که دو مورد مربوط به سالاد و یک مورد مربوط به کباب کوبیده گزارش شد(۳۴).

در مورد کلی فرم ها که شاخص کنترل میکروبی در مواد غذایی محسوب می‌گردند وجودشان در سالاد ها و مواد غذایی گوشتی مانند کباب کوبیده تقریباً اجتناب ناپذیر است و به همین دلیل تا $۱۰^{۲}$ عدد در هر گرم مجاز دانسته شده است، ولی در مورد اشریشیا کلی بویژه سروتایپ O157:H7 موضوع کاملاً متفاوت بوده و نبایستی در سالاد و مواد گوشتی پخته آماده مصرف وجود داشته باشد، زیرا این سروتایپ بسیار خطرناک بوده و گزارشات زیادی از بروز بیماری توسط مصرف مواد غذایی آلوده به آن وجود دارد(۱۵، ۳۳). Signorini و هم کاران در سال ۲۰۰۹، طی مطالعه ای در آرژانتین با استفاده از مدل پیش گو احتمال ابتلاء به سندرم اورمی همولیتیک در اثر مصرف همبرگر تهیه شده از گوشت چرخ شده آلوده به اشریشیا کلی در بالغین و کودکان را به ترتیب بلع تعداد $۱۰^{۸} \times ۴/۶$ و $۱۰^{۸} \times ۱/۸$ و احتمال مرگ را تعداد $۱۰^{۹} \times ۵/۹$ و $۱۰^{۱۰} \times ۶/۳$ باکتری در هر وعده غذایی گزارش نمودند. در این مطالعه هم چنین نشان داده شد که احتمال خطر عفونت و بروز سندروم فوق با نوع نگه داری گوشت چرخ شده ارتباط نزدیکی دارد(۳۷).

در مطالعه حاضر بیش ترین آلودگی در رستوران هایی B و C مشاهده شد که فاصله بین عمل آوری، طبخ و صرف غذا بیش تر از سایر رستوران ها بوده است که شاید علت احتمالی آن مشتریان بیش تر و طولانی تر شدن فاصله بین تهیه و مصرف غذا باشد، زیرا به علت داشتن مشتری زیاد مواد اولیه مورد نیاز برای تهیه کباب کوبیده و هم چنین انواع سالادها از ساعت ها پیش تهیه می گردند و احتمال آلودگی آنها افزایش می یابد. یکی از علل مهم آلودگی ثانویه مواد غذایی، عدم رعایت بهداشت فردی و آلودگی محیط آشپزخانه است. Kassa و همکاران در سال ۲۰۰۱ نمونه های مختلفی از دست کارکنان، سطوح شسته شده ای که با غذا در تماس است، و وسایل و ظروف ۷۰ رستوران را جمع آوری کردند و وجود انواع باکتری های بیماری زا به ویژه باکتری های روده ای که نشان گر آلودگی با مدفوع است را در نمونه های مورد آزمایش نشان دادند(۳۸). Gorman و هم کاران در سال ۲۰۰۲ نیز از ۱۲ مکان مختلف آشپزخانه ۲۵ رستوران در ایرلند نمونه برداری کردند و آلودگی به انواع باکتری های بیماری زا را ثابت کردند(۳۹). در مطالعه‌ای که توسط Soriano و هم کاران در سال ۲۰۰۰ بر روی ۳۷۰ نمونه از دو نوع غذای متداول تهیه شده از گوشت قرمز چرخ شده و مرغ در ۱۹ رستوران دانشگاهی در والنسیا انجام گرفت، میزان آلودگی متوسط این دو نوع غذا به اشریشیا کلی به ترتیب ۱/۷ و ۸/۸ درصد تعیین گردید که میزان آلودگی غذای تهیه شده از گوشت قرمز چرخ شده در مطالعه این گروه، کم تر از میزان آلودگی کباب کوبیده در مطالعه ما (۶/۲٪) بوده است(۴۰).

یکی از مهم ترین مسائل کنترل آلودگی میکروبی در مود غذایی، اجرای سیستم HACCP (تجزیه و تحلیل خطر و کنترل نقاط بحران) در ارتقاء وضعیت بهداشتی رستوران ها می باشد، به طوری که در بسیاری از مطالعات صورت گرفته، کنترل و نظارت منظم و اجرای این سیستم در آموزش کارکنان شاغل در رستوران ها به ویژه رستوران ها و سرویس های غذایی مراکز زندگی گروهی مانند مدارس و دانشگاه ها تاکید نموده اند(۴۴-۴۱). Goga Cenci و هم کاران در سال ۲۰۰۵ تعداد ۸۹۴ نمونه غذایی را از نظر شمارش کلی باکتری ها، کلی فرم، استافیلوکوک، اشرشیا کلی، باسیلوس سرئوس، سالمونلا و لیستریا مونوسیتوژنز بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که بکارگیری سیستم HACCP همراه با آموزش کارکنان و مدیریت صحیح بطور معنی داری باعث کاهش آلودگی باکتریایی گردید و این امر می تواند منجر به سلامت و تضمین سلامت مصرف کنندگان گردد(۴۴). لذا بدون تردید یکی از مهم ترین راه کارها برای بهبود کیفیت بهداشتی در رستوران ها به ویژه رستوران های بزرگ که مشتریان زیادی دارند اجرای سیستم HACCP می باشد که با بهره گیری از نظرات متخصصین صنایع غذایی، کنترل کیفیت و بهداشت مواد غذایی قابل انجام است.

نتیجه گیری

با توجه به اینکه در این مطالعه تنها غذاها و سالادهای آماده مصرف مورد ارزیابی میکروبی قرار گرفتند و نظر به اینکه آلودگی مواد غذایی مصرفی با آلودگی کارکنان شاغل، محیط رستوران و آشپزخانه، ظروف مورد استفاده و برخی موارد دیگر ارتباط مستقیم دارد، لذا انجام مطالعات بیش تر و تعیین وضعیت بهداشتی آنها در رستوران های مورد بررسی به منظور تعیین منشاء آلودگی و کنترل آنها کاملاً لازم و ضروری است. در مجموع مطالعات انجام شده در کشور نشان می دهند کیفیت باکتریولوژیکی غذاهای آماده مصرف در رستوران ها مطلوب نیست و موازین بهداشتی به ویژه بهداشت فردی و محیط در آشپزخانه ها و کارکنان رستوران ها چندان رعایت نمی گردد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از انجام یک طرح تحقیقاتی می باشد و بدین وسیله نویسندگان این مقاله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) برای تصویب و حمایت مالی از این طرح تحقیقاتی تشکر سپاس گزاری می نماید.

REFERENCES

1- Li F, Zhao C, Zhang W, Cui S, Meng J, Wu J, Zhang DY. Use of ramification amplification assay for detection of Escherichia coli O157:H7 and other E. coli Shiga toxin-producing strains. J Clin Microbiol. 2005;43(12):6086-90.

2- Farshad S, Anvarinejad M, Tavana AM, Ranjbar R, Japoni A, Zadegan RM, et al. Molecular epidemiology of Escherichia coli strains isolated from children with community acquired urinary tract infections . African Journal of Microbiology Research. 2011; 5(26): 4476-4483.

3- Jonaidi Jafari N, Ranjbar R, Haghi-Ashtiani MT, Abedini M, Izadi M. The study of prevalence and antimicrobial susceptibility of tracheal bacterial strains isolated from pediatric patients. Pak J Biol Sci. 2009; 12(5): 455-8.

4- Ranjbar R, Haghi-Ashtiani MT, Jafari NJ, Abedini M. The prevalence and antimicrobial susceptibility of bacterial uropathogens isolated from pediatric patients. Iranian Journal of Public Health. 2009; 38(2): 134-138.

5- Ranjbar R, Salimkhani E, Sadeghifard N, Yazdi JZ, Morovvati S, Jonaidi N, et al. An outbreak of gastroenteritis of unknown origin in Tehran, July 2003. Pak J Biol Sci. 2007; 10(7): 1138-40.

6- Li F, Zhao C, Zhang W, Cui S, Meng J, Wu J, Zhang DY. Use of ramification amplification assay for detection of Escherichia coli O157:H7 and other E. coli Shiga toxin-producing strains. J Clin Microbiol. 2005; 43(12): 6086-90.

7- Osek J. Development of a multiplex PCR approach for the identification of Shiga toxin-producing Escherichia coli strains and their major virulence factor genes. J Appl Microbiol. 2003; 95(6): 1217-25.

8- Kargar M, Daneshvar M, Homayoon M. Prevalence of Shiga Toxins, Intimin and Hemolysin Genes of Escherichia coli O157:H7 Strains from Industrial Ground Meat in Shiraz. Journal of Shaheed Sadoughi University of Medical Sciences. 2011; 18(6): 512-520.

9- Ranjbar R, Sarshar M. The study of genetic diversity among clinical strains of Salmonella enterica serovar Typhimurium. Iranian Journal of Military Medicine. 2012; 14(2): 143-147.

10- Ranjbar R, Sarshar M, Sadeghifard N. Characterization of Genetic Diversity among Clinical Strains of Salmonella enterica Serovar Infantis by Ribotyping Method. Journal of Zanjan Medical School. 2012; 20(81): 75-84.

11- Ranjbar R, Sarshar M, Morovvati S. A study of ribotype patterns of Salmonella enterica serovar Enteritidis starains isolated in Tehran. Journal of Isfahan Medical School. 2012; 30(180): 1-10.

12- CDC. Multistate Outbraek of E. coli O157 Infection Michigan and Ohio. MMWR; 2008; Available from: http://www.cdc.gov/

13- Dontorou C, Papadopoulou C, Filioussis G, Economou V, Apostolou I, Zakkas G, Salamoura A, Kansouzidou A, Levidiotou S. Isolation of Escherichia coli O157:H7 from foods in Greece. Int J Food Microbiol. 2003; 82(3): 273-9

.

14- Brashears M, Galyean M. E. coli O157:H7 in live cattle by 50 percent. 2002; 24: 3-6.

15- Meldrum RJ, Smith RM, Ellis P, Garside J; Welsh Food Microbiological Forum. Microbiological quality of randomly selected ready-to-eat foods sampled between 2003 and 2005 in Wales, UK. Int J Food Microbiol. 2006; 108(3): 397-400.

16- Fröder H, Martins CG, De Souza KL, Landgraf M, Franco BD, Destro MT. Minimally processed vegetable salads: microbial quality evaluation. J Food Prot. 2007; 70(5): 1277-80.

17- Bahk GJ, Hong CH, Oh DH, Ha SD, Park KH, Todd EC. Modeling the level of contamination of Staphylococcus aureus in ready-to-eat kimbab in Korea. J Food Prot. 2006; 69(6): 1340-6.

18- Abadias M, Usall J, Anguera M, Solsona C, Viñas I. Microbiological quality of fresh minimally-processed fruit and vegetables and sprouts from retail establishments. Int J Food Microbiol. 2008; 123(1-2): 121-9.

19-Abougrain AK, Nahaisi M, Nuri SM, Mohamed M and Ghenghesh K. Parasitological contamination in salad vegetables in Tripoli-Libya. Food control. 2010; (21): 760-762.

20- Ponniah J, Robin T, Paie M S, Radu S, Ghazali FM, Kqueen CY, et al. Listeria monocytogenes in raw salad vegetables sold at retail level in Malaysia. Food Control. 2010: 21(5): 774-778.

21- Gormley FJ, Little CL, Grant KA, Pinna E, McLauchlin B. The microbiological safety of ready-to-eat specialty meats from markets and specialty food shops: A UK wide study with a focus on Salmonella and Listeria monocytogenes. Food Microbiology. 2010; 27(4): 243-249.

22- Aslani MM, Bouzari S. An epidemiological study on Verotoxin-producing Escherichia coli (VTEC) infection among population of northern region of Iran (Mazandaran and Golestan provinces). Eur J Epidemiol. 2003; 18(4): 345-9.

23- Salek Moghaddam A, Forouhesh Tehrani M, Davoodian P. Survey of the bacterial contaminants of Iranian foods in searches of E.coliO157:H7 in medical laboratory sciences researches center. Iranian J of Inf Dis and Trop Medicine. 2003; 18(21): 5-8.
24- Vonderzant C, Splittstoesser DF. Compendium of methods for microbiological Examination of foods (APHA). 2004; 36: 605-609.
25- Archer GL. Staphylococcus aureus: a well-armed pathogen. Clin Infect Dis. 1998; 26(5): 1179-81.

26- Kühn H, Wonde B, Rabsch W, Reissbrodt R. Evaluation of Rambach agar for detection of Salmonella subspecies I to VI. Appl Environ Microbiol. 1994; 60(2): 749-51.

27- Gaillot O, Wetsch M, Fortineau N, Berche P. Evaluation of CHROMagar Staph. aureus, a new chromogenic medium, for isolation and presumptive identification of Staphylococcus aureus from human clinical specimens. J Clin Microbiol. 2000; 38(4): 1587-91.

28- Voss A, Doebbeling BN. The worldwide prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Int J Antimicrob Agents. 1995; 5(2): 101-6.

29- Rahbar M, Islami P, Saremi M. Evaluation of a new CHROMagar medium for detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Pak J Biol Sci. 2008; 11(3): 496-8.

30- Tavakoli HR, Bayat, and Kosha M. Application of Chromogenic media for rapid detection water and foodborne pathogens. American-Eurasian J Agric Environ Sci. 2008; 4(6): 693-99..

31- Tavakoli H, Manafi M, Bayat M, Mehrabi-Tavana A. Rapid identification of the most important food and water agent by use of Chromogenic Media. Medical Laboratory Journal. 2009; 2(2): 58-67.

32- Messer, J. W., Midura, T. F., & Peeler, J. T. (1992). Sampling plans, sample collection, shipment and preparation for analysis. In American Public Health Association (Ed.), Compendium of methods for microbiological examination of foods (3rd ed; 25–49). Washington: APHA.

33- Sagoo SK, Little CL, Mitchell RT. Microbiological quality of open ready-to-eat salad vegetables: effectiveness of food hygiene training of management. J Food Prot. 2003; 66(9):1581-6.

34- Tavakoli H, Farhang K, Karimi Zarchi A A, Heidari E. Bacteriological quality of ready to eat food in four military restaurants. Ir J Military Medicine, 2012; 13(4): 207-212.

35- Meldrum RJ, Little CL, Sagoo S, Mithani V, McLauchlin J, de Pinna E. Assessment of the microbiological safety of salad vegetables and sauces from kebab take-away restaurants in the United Kingdom. Food Microbiol. 2009; 26(6): 573-7.

36- Tavakoli HR, Riazipour M. Microbial quality of cooked meat foods in Tehran University's Restaurants. Pak J Med Sci. 2008; 24(4): 595-599 .

37- Signorini M, Tarabla H. Quantitative risk assessment for verocytotoxigenic Escherichia coli in ground beef hamburgers in Argentina. Int J Food Microbiol. 2009; 132(2-3): 153-61.

38- Kassa H, Harrington B, Bisesi M, Khuder S. Comparisons of microbiological evaluations of selected kitchen areas with visual inspections for preventing potential risk of foodborne outbreaks in food service operations. J Food Prot. 2001; 64(4): 509-13.

39- Gorman R, Bloomfield S, Adley CC. A study of cross-contamination of food-borne pathogens in the domestic kitchen in the Republic of Ireland. Int J Food Microbiol. 2002; 76(1-2): 143-50.

40- Bochet E and García-Fayos P. Factors Controlling Vegetation Establishment and Water Erosion on Motorway Slopes in Valencia, Spain. Restoration Ecology. 2000; 12(2): 166-174.

41- Lupien JR. Prevention and control of food safety risks: the role of governments, food producers, marketers, and academia. Asia Pac J Clin Nutr. 2007; 16(1): 74-9.

42- Yoon Y, Kim SR, Kang DH, Shim WB, Seo E, Chung DH. Microbial assessment in school foodservices and recommendations for food safety improvement. J Food Sci. 2008; 73(6): 304-13.

43- Patil SR, Cates S, Morales R. Consumer food safety knowledge, practices, and demographic differences: findings from a meta-analysis. J Food Prot. 2005; 68(9): 1884-94.

44- Cenci-Goga BT, Ortenzi R, Bartocci E, Codega de Oliveira A, Clementi F, Vizzani A. Effect of the implementation of HACCP on the microbiological quality of meals at a university restaurant. Foodborne Pathog Dis. 2005; 2(2): 138-45.