بررسی آلودگی میکروبی در ۵۰ نمونه یخ قالبی جمع‌آوری شده از نقاط مختلف شهر تهران طی سال ۱۳۷۸

*دکتر علیرضا سالک مقدم I
هما فروهش تهرانی II
دکتر بهرام روادگر III
منیژه قاسمی IV
اعظم نورانی وطنی V
کامران پوشنگ باقری VI
مهدی میرزائی VI

چکیده

هدف از انجام این مطالعه بررسی آلودگی میکروبی در یخهای قالبی مورد مصرف می‌باشد. در این بررسی از اردیبهشت ماه لغایت مهرماه سال ۱۳۷۸، ۵۰ نمونه یخ قالبی جمع آوری شده از نقاط مختلف شهر تهران، از نظر شناسائی باکتریهای بیماریزا و شمارش باکتریهای موجود در یخ، مورد بررسی آزمایشگاهی قرار گرفتند. نتایج بدست آمده بیانگر آلودگی یخها (از نظر شمارش کلی باکترهای موجود در یخ) در ۳٤ مورد (٦٨٪) از نظر شمارش کلی باکتریهای موجود در یخ بود. از نظر وجود باکتریهای بیماریزا، ۵ مورد (۱۰٪) اشریشیاکلی، ۲۱ مورد (٤۲٪) سودوموناس آئروجنز و ۵ مورد (۱۰٪) استافیلوکک ارئوس جدا گردید. سایر باکتریهای فرصت طلب (opportunistic) که معمولاً در طبیعت وجود دارند مانند آلکالی جنز (٦٪)، اسینتوباکتر (٤٪)، دیفتروئید ها (٤٦٪)، میکروکوکوسها (١٦٪)، باسیلوسها (۲۰٪)، استافیلوککهای کوآگولازمنفی (٤۰٪) از نمونه‌های مورد بررسی جدا شدند. از اینرو شرایط بهداشتی یخ شامل بررسی میکروبیولوژیک و نظارت بر چگونگی تولید، توزیع و حمل و نقل آن می‌بایست توجه دست‌اندرکاران امور بهداشتی را به خود معطوف سازد.

کلیدواژه‌ها: ۱ – یخ قالبی ۲ – آلودگی باکتریایی

مقدمه

یخ علاوه بر آنکه جهت خنک سازی نوشیدنیها مورد مصرف قرار می‌گیرد در موارد نگهداری و بسته‌بندی مواد غذایی تازه بخصوص غذاهای دریایی نیز استفاده می‌شود. مدتهای مدیدی است که انتقال عوامل بیماریزا از طریق مصرف یخ مورد توجه قرار گرفته است. آلودگی یخ معمولاً از طریق استفاده از آب آلوده، روش نادرست توزیع، حمل و نقل و نحوه نگهداری آن به وجود می‌آید.

همه‌گیری ناشی از سالمونلا و شیگلا به دلیل استفاده از آب آلوده در تهیه یخ مکرراً گزارش شده است(۱). علاوه بر آن سایر پاتوژنهای منتقله از آب مانند لژیونلا پنومونوفیلا (Legionella pneumophilla) و گونه‌های مختلف مایکوباکتریوم مانند Mycobacterium gordonae و Mycobacterium fortuitum نیز از یخ جدا شده‌اند(۲).

این پژوهش تحت حمایت مرکز تحقیقاتی و آموزشی علوم آزمایشگاهی انجام شده است.

I) مدیر و استاد گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران (* مؤلف مسؤول)
II) مربی و مسؤول آزمایشگاه میکروبشناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران.
III) دکترای علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقاتی و آموزشی علوم آزمایشگاهی، خیابان بهشت، ضلع جنوبی پارک شهر، تهران.
IV) کاردان علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقاتی و آموزشی علوم آزمایشگاهی، خیابان بهشت، ضلع جنوبی پارک شهر، تهران.
V) کارشناس ارشد میکروبشناسی، مرکز تحقیقاتی و آموزشی علوم آزمایشگاهی، خیابان بهشت، ضلع جنوبی پارک شهر، تهران.
VI) کارشناس ارشد میکروبشناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

همچنین گزارشی از سپتی‌سمی ناشی از Xanthomonas Maltophilia که اکنون تحت عنوان Stenotrophomonas mathophilia نامیده می‌شود، به دلیل مصرف یخ آلوده با این باکتری، در بیماران مبتلا به لوسمی وجود دارد. این امر نشان دهنده آن است که بیماران نوتروپنیک بویژه در معرض خطر عفونت به دنبال مصرف آب و غذای آلوده می‌باشند(۳).

از آنجا که تاکنون در کشور مطالعه‌ای بر روی آلودگی میکروبی یخ صورت نگرفته است، این پژوهش طراحی و اجرا شد. تا با تعیین میکروارگانیسمهای آلوده کننده یخ، نقش این ماده غذایی ـ که اهمیت آن در انتقال بیماریها کمتر مورد توجه واقع می‌شود ـ توجه دست‌اندرکاران مسایل بهداشتی، تهیه‌کنندگان، توزیع کنندگان و مصرف کنندگان آن را به خود معطوف سازد.

روش بررسی

در این بررسی برای تعیین حجم نمونه از مطالعه مقدماتی (pilot study) استفاده گردید. سپس برای حدود اطمینان ۹۵٪ تعداد حجم نمونه (۵۰ قالب یخ) برآورد شد. نمونه‌های یخ قالبی از نقاط مختلف شهر تهران (شامل مناطق جنوب، مرکز، غرب و شرق) طی فاصله اردیبهشت ماه لغایت مهرماه سال ۱۳۷۸ از نظر آلودگی به باکتریهای مختلف مورد آزمایش قرار گرفت.

نمونه‌ها پس از خریداری، در کیسه‌های پلاستیکی قرار داده شدند و پس از انتقال به آزمایشگاه میکروبشناسی مواد غذایی مرکز تحقیقاتی و آموزشی علوم آزمایشگاهی ابتدا جهت زدودن آلودگی سطحی تحت شستشو با آب قرار گرفتند. پس از قرار گرفتن در ظروف استریل در درجه حرارت آزمایشگاه ذوب شدند و مورد آزمایش قرار گرفتند.

برای انجام آزمایش ۱۰۰ میلی‌لیتر از نمونه یخ ذوب شده از طریق فیلترهای استریل ۰/۴۵μm (ساخت کارخانه Shleicher & Schuell) فیلتره شدند.

سپس فیلترها بر روی سطح محیطهای آگار ۵٪ خون گوسفند، شکلات آگار، محیط مک کانکی، SS(Salmonella-Shigella Agar) و همچنین محیط Certrimide Agar (ساخت کارخانه Difco) برای جداسازی سودوموناس آئروجینوزا و TCBS(Thiosulfate citrate bile salt sucrose Agar) برای جداسازی ویبریوکلره قرار داده شدند.

از هر محیط کشت دو عدد جهت قرارگرفتن در دو دمای ۲۲°C و ۳۷°C استفاده شد. پلیتها هر روز و بمدت سه روز از نظر وجود کلنی بررسی گردیدند. برای شمارش تعداد کلی باکتریها، نمونه‌ها به میزان ۱/۱۰ رقیق شدند و به روش pourplate در محیط نوترینت آگار تلقیح و در دو دمای ۲۲°C و ۳۷°C قرار گرفتند. پس از مشاهده مورفولوژی کلنی‌ها و رنگ‌آمیزی گرم، ابتدا آزمایشهای غربالگری باکتریولوژیک شامل کاتالاز، اکسیداز و کواگولاز انجام گردید. سپس سایر آزمایشهای تشخیص افتراقی باکتریهای جدا شده براساس نوع باکتری بعمل آمد.

جهت تشخیص باسیلوس سرئوس از فعالیت لسیتیناز و عدم استفاده از قند مانیتول در محیط حاوی زرده تخم‌مرغ و مانیتول (ساخته شده در آزمایشگاه) و همچنین از ذوب ژلاتین، حرکت و احیاء نیترات برای تشخیص سایر گونه‌های باسیلوس استفاده گردید.

جهت شناسایی باسیلهای گرم منفی غیرتخمیری نیز از محیط OF(Oxidation-fermentation) حاوی گلوکز و در مورد جداسازی استافیلوکک‌های کوآگولاز منفی و میکروکوکوس از حساسیت به دیسک باسیتراسین ۰/۰۴ واحد، فورازولیدن ۱۰۰ میکروگرم و تخمیر گلوکز در محیط Of استفاده گردید.

شمارش کلی فرمها ـ آب حاصل از یخ ذوب شده به روش چند لوله‌ای (multiple tube) جهت تعیین MPN(Most Probable Number) مورد آزمایش قرار گرفت.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

نتایج

از ۵۰ نمونه یخ قالبی مورد آزمایش طیف وسیعی از میکروارگانیسمها جدا گردید(جدول شماره ۱). از نظر شمارش کلی، تعداد باکتریهای موجود در یخ از $۱۰^{۲}$ - $۱۰^{٤}$ cfu/ml متغیر بود.

بیشترین باکتریهای جدا شده متعلق به جنسهای باسیلوس، استافیلوککهای کوآگولاز منفی، دیفتروئید سودوموناس آئروجنز بودند. نتایج شمارش کلی باکتریها در دمای ۲۲°C و ۳۷°C در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱- میکروارگانیسمهای جدا شده از یخهای مورد بررسی در آزمایشگاه میکروبشناسی موادغذایی طی اردیبهشت ماه لغایت مهرماه سال ۱۳۷۸

میکروارگانیسم	تعداد موارد جدا شده	درصد فراوانی
Acinetobacter spp	۲	٤
Alcaligenes spp	۳	٦
Bacillus cereus	۱۰	۲۰
Bacillus spp	۱۵	۳۰
Coagulase negative staphylococcus	۲۰	٤۰
Diphtheroides	۲۳	٤٦
E.coli	۵	۱۰
Enterobacter cloacae	۲	٤
Klebsiella oxytoca	۱	۲
Micrococcus spp	۸	۱٦
Pseudomonas aeruginosa	۲۱	٤۲
Pseudomonas spp	۲	٤
Staphylococcus aureus	۵	۱۰
Yeast	۲	٤

باکتریهای مذکور از تمامی نمونه‌های یخ قالبی جدا شدند، در نتیجه هیچ یک از نمونه‌ها عاری از باکتری نبودند. اشریشیاکولی از ۵ نمونه (۱۰٪) یخ قالبی و با میزان MPN(Most Probable Number) ۲۲۰، ۱۸۰۰(۳ مورد) و ٤۹، ۷۹(۲ مورد) جدا گردید. ۳ مورد (٦٪) نیز باکتریهای گروه Coliform با MPN (۲۲۰، ٤۹، ۷۹) بدست آمد. اعداد بدست آمده حاصل روش آزمایش چندلوله‌ای جهت آزمایش آب است که در آن عدد ۱۸۰۰ رشد باکتری در کلیه محیطها و عدد ۲۲۰ رشد در ۱۱ محیط از ۱۵ محیط مایع به کار رفته و اعداد ٤۹ و ۷۹ به ترتیب آلودگی در ۷ و ۸ محیط از ۱۵ محیط را نشان می‌دهد.

بحث

میزان قابل قبول برای شمارش باکتریهای موجود در یخ در دمای ۲۲°C کمتر از ۱۰۰۰cfu/ml و در دمای ۳۷°C کمتر از ۵۰۰cfu/ml می‌باشد(٤). از ۵۰ نمونه یخ قالبی مورد آزمایش ۳٤ مورد (٦۸٪) بعلت وجود تعداد باکتری بیش از میزان قابل قبول در دمای ۲۲°C غیرقابل مصرف بود. در مطالعه انجام شده توسط Wilson و همکاران بر روی نمونه‌های یخ، ۷۵٪ نمونه‌ها در دمای ۲۲°C حاوی کمتر از ۵۰۰cfu/ml بودند و فقط ۲۵٪ موارد آلودگی در حد بالا را نشان دادند(٤). هر چند باکتریهایی که در دمای ۲۲°C رشد می‌نمایند اکثراً باکتریهای محیطی می‌باشند ولی باید توجه داشت که سودوموناس آئروجنز با وجود آنکه باکتری با منشاء محیطی می‌باشد، ولی قادر به ایجاد طیف وسیعی از بیماریها در انسان می‌باشد.

این باکتری باعث کولیت نکروزان کشنده (fatal necrotizing colitis) در بیماران نوتروپنیک

جدول شماره ۲- تعداد باکتریهای جدا شده از یخ در آزمایشگاه میکروبشناسی مواد غذایی طی اردیبهشت ماه لغایت مهرماه سال ۱۳۷۸

شمارش نهایی باکتری در درجه حرارت‌های ۲۲°c و ۳۷°c	شمارش نهائی Cfu/ml(%)			
	≥۱۰۰	≥۵۰۰	≥۱۰۰۰	=۱۰۰۰۰
۲۲°c	۷(٪۱٤)	۹(٪۱۸)	۱٦(٪۳۲)	۱۸(٪۳٦)
۳۷°c	۸(٪۱٦)	۱۲(٪۲٤)	۱٤(٪۲۸)	۱٦(٪۳۲)

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

وهمچنین آنتریت مشابه تیفوئید,(thyphoid-like enteritis Shanghai fever) می‌گردد(۵).

در این بررسی ۲۱ مورد سودوموناس آئروجنز جدا گردید. هر چند که ۲ مورد از سایر گونه‌های سودوموناس نیز جدا گردیدند ولی بیماریزایی آنها بستگی به وضع سیستم ایمنی میزبان دارد. در ۵ مورد نیز E.coli جدا گردید.

با توجه به اینکه این باکتری با مکانیسمهای متفاوتی در ایجاد اسهال دخالت دارد و از طرفی به عنوان یک باکتری اندیکاتور (نشانگر) به عنوان شاخص آلودگی مدفوعی آب و موادغذایی در آزمایشهای مواد غذایی مطرح می‌باشد، جداسازی آن نشانه آلودگی یخ به مواد دفعی انسان و یا حیوانات از طریق استفاده از آب آلوده و همچنین نحوه نامناسب توزیع و نگهداری آن می‌باشد(٦). علاوه بر آن خطر وجود E.coli O157:H7 نیز نباید نادیده گرفته شود(۷). همچنین در ۱۰ مورد باسیلوس سرئوس جدا گردید.

این باکتری در طبیعت گستردگی زیادی دارد و یکی از عوامل ایجاد گاستروآنتریت منتقله از غذا محسوب می‌گردد. باسیلوس سرئوس دو نوع انتروتوکسین تولید می‌نماید که از نظر تظاهرات بالینی متفاوت می‌باشند. نوع اول که با دوره کمون ٤ ساعته و به همراه استفراغ و تهوع شدید مشخص می‌گردد، اغلب مشابه مسمومیت غذایی استافیلوککی می‌باشد. نوع دوم دوره کمون طولانیتری (۱۷ ساعت) دارد و با دردهای شکمی و اسهال همراه است. این باکتری هنگامی که به تعداد 10^{5} cfu/ml در ماده غذایی وجود داشته باشد ایجاد مسمومیت غذایی می‌نماید(۸).

در یک مورد از نمونه‌های یخ بیشتر از 10^{5} باسیلوس سرئوس در هر میلی‌لیتر یخ وجود داشت. جداسازی سایر گونه‌های باسیلوس که به میزان زیادی در طبیعت پراکنده می‌باشند نشاندهنده آلودگی محیطی است.

در ۵ مورد نیز استافیلوکک ارئوس جدا گردید. از آنجا که این باکتری می‌تواند قسمتی از میکروفلور انسان باشد، منبع آلودگی ناقلینی هستند که این باکتری را در قسمتهای مختلف بدن خود دارا می‌باشند.

این باکتری با تولید انتروتوکسین قادر به ایجاد مسمومیت غذایی می‌باشد. هنگامیکه تعداد استافیلوکک ارئوس به تعداد 10^{6} cfu/ml ماده غذایی باشد انتروتوکسین استافیلوککی قابل تشخیص خواهد بود(۹).

در هیچ یک از نمونه‌های یخ مورد آزمایش تعداد استافیلوکک ارئوس بیشتر از 10^{4} cfu/ml نبود. جداسازی ۲۰ مورد استافیلوکک کوآگولاز منفی نشاندهنده آلودگی محیطی و همچنین آلودگی از طریق توزیع و نگهداری آن است زیرا استافیلوکک‌های کوآگولازمنفی اکثراً فلورنرمال پوست می‌باشند(۱۰).

جداسازی سایر باکتریهایی که معمولاً در طبیعت وجود دارند، مانند باسیلهای گرم منفی غیر تخمیری شامل آلکالی‌جنز، استنیتوباکتر، باسیلهای گرم مثبت مانند دیفتروئیدها و کوکسی‌های گرم مثبت مانند گونه‌های میکروکوکوس، نشانگر آلودگی محیطی می‌باشد(۱۱).

در این مطالعه سالمونلا و شیگلا از نمونه‌های یخ مورد بررسی جدا نگردید که با میزان جداسازی کم E.coli (۵ مورد) همخوانی دارد (همانطور که ذکر شد E.coli بعنوان شاخص آلودگی مدفوعی محسوب می‌گردد).

عدم جداسازی ویبریوکلره نیز بدلیل عدم وجود اپیدمی وبا در زمان انجام بررسی بود. به هرحال جداسازی باکتریهای عامل مسمومیت غذایی از یخ، نشاندهنده این واقعیت است که این ماده که اغلب اهمیت آن نادیده گرفته می‌شود می‌تواند عامل مهمی برای انتقال بیماریهای عفونی محسوب گردد و از این رو مراکز تولید کننده یخ می‌بایست به مسایل بهداشتی و رعایت استانداردهای میکروبیولوژیک توجه کافی مبذول دارند و همچنین بر چگونگی توزیع و نگهداری آن، نظارت کافی اعمال گردد.

منابع

1- Anonymous: Shigella sonnei outbreak associated with contaminated drinking water-Island park, J-Am Med Assoc. 1996, 275-1071.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

2- Stout JE., Yavl Muracap. Isolation of legionella pneumophila from the cold water of hospital ice machines, infect control 1985, 6: 141-146.

3- Spencer RC., The emergence of epidemic, multiple-antibiotic resistant stenotrophomonas maltophilia and burkholderia cepacia. J.Hosp infect, 1995, 30(Suppl): 453-464.

4- Wilson Q., Hogg G.M and Bar JG., Microbiological quality of ice in hospital and community. J. Hosp infect. 1997, 36, 171-180.

5- Porco fv., visconte EB., Pseudomonas aeroginosa as a cause of infectious diarrhea successfully treated with oral ciprofloxacin, Ann pharmacother. 1995, 29-1122-1123.

6- Holmes B., The Enterobacteriaceae in: Parker Tom M. Collier leslie H. Toply and Wilson's principle of bacteriology, virology, Immunity Tent ed, Edward arnold. London. 2000, PP: 920-938.

7- Lopezel Prado-Jrmenezv. Shigella and shiga toxin-producing Escherichia coli causing bloody diarrhea. Infect dis. Clin north am, mar, 14(1) 2000 PP: 4-65.

8- Tauxe Robert V, Swerdlow David L, Food borne disease. In: Mandell Gerald. Bennett. E. John. Principles and practice of infectious diseases. Fifth edition, Churchill Livingstone ed. USA, 2000. PP: 1150-1161.

9- Forbes betty A., Sahm Daniel F., weiss feld Alices. Bailey and sott's Diagnostic Microbiology. Tenth ed., Boston. Mosby. 1998, PP: 606-618.

10- Koneman elmer W., A color Atlas and text book of diagnostic microbiology. Fifth ed., Philadelphia. Lippincott 1997, PP: 122-130.

11- Committee on microbiological safety of blood and tissues for transplantation. Guidance on the microbiological safety of human tissuses and organs used in transplantation. London: NHS Executive 1996, PP: 1-16.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]

A SURVEY ON MICROBIAL CONTAMINATION ON FIFTY ICE SAMPLES FROM DIFFERENT AREAS OF TEHRAN IN 1999

*A. Salek Moghaddam, MD, Ph.D[I] H. Forouhesh Tehrani, MSPH, MPH[II] B. Ravadgar, MLT[III]
M. Ghassemi[IV] A. Nourani Vatani, MS[V] K. Poushang Bagheri, MS[VI] M. Mirzaie, MS[VI]

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the extend of bacterial contaminatim of ice blocks being used on daily basis in the community. In this study fifty samples of ice blocks from April to September 1999 were collected from different areas in the city of Tehran. Experiments were carrid out for the determination of total count of bacteria and the identification of pathogenic organisms. The results indicated that from the total of 50 samples, 34(68%) were contaminated. The isolated pathogenic bacteria were 5 cases E.coli (10%), 21 cases pseudomonas aeroginosa (42%) and 5 cases staphylococcus aureus (10%). Other opportunistic bacteria present in the environment such as alkaligenes (%6), $Acinetobacter_{spp}$ (%4), $Diphtheroids_{spp}$ (%46), $Micrococcus_{spp}$ (%16), $Bascillus_{spp}$ (%20) and coagulase negative staphylococcus(%40) were isolated from all the 50 samples. These results suggest that necessary precautions should be taken in production, transportation and distribution of the ice blocks to reduce the rate of bacterial contaminations.

Key Words: 1) Ice cubes 2) Bacterial infections

This research is conducted under financial support of Laboratory research & educational center.

I) *Professor and Head of department of Immunology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.(*Corresponding author)*
II) *Instructor, Microbiology Lab. Iran University of Medical Sciences and Health services, Tehran, Iran.*
III) *MLT, Laboratory research & educational center, Behesht St., South corner of Park-e shahr, Tehran, Iran.*
IV) *Technologist of food microbiology lab. Iran University of Medical Sciences and Health services, Tehran, Iran.*
V) *MS in microbiology, Laboratory research & educational center, Behesht St., South corner of Park-e shahr, Tehran, Iran.*
VI) *MS in microbiology, Iran University of Medical Sciences and Health services, Tehran, Iran.*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-09]