



Comparative Study of Contamination With Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Coliforms in Strawberries in Kurdistan

Mohammad Mehdi Soltan Dallal (P.h.D.)¹, Hadi Abdolmaleki (M.Sc.)², Rashid Ramezanzadeh (P.h.D.)³,
Abbas Rahimi Foroushani (P.h.D.)⁴

1. Corresponding Author: Professor, Research Center Division of Food Microbiology, Department of Pathobiology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: msoltandallal@gmail.com Tel: 02188992971

2. M.Sc. of Food Microbiology, Division of Food Microbiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3. Associated Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Kurdistan, Iran

4. Professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran.

Abstract

Introduction: Kurdistan is an important province in the production of strawberries in the country. In traditional cultivation due to hand contact and animal fertilizers, soil contamination with pathogenic bacteria such as Staphylococcus aureus and Escherichia coli and other coliforms which can be easily transferred into fruits and vegetables. The aim of this study was to evaluate the contamination rate of Staphylococcus aureus, Escherichia coli and other coliforms in strawberries in Kurdistan.

Methods: In a cross-sectional study, 150 samples of strawberries including 90 field crops (Traditional), 30 greenhouses and 30 from ready-made packaging supplied in shops in Sanandaj city were investigated. All the samples were tested according to Iranian standard instruction (No. 1194) for the presence of Staphylococcus aureus, (No. 5272) total count, (No. 9236) coliform counting, and (No. 2946) for E. coli counting.

Results: In this study sixteen samples (10.66 %) were contaminated with coagulase-positive Staphylococcus aureus, 30 (20%) with Coliforms, and 21 (14%) with E. coli respectively. The ready-made packaging samples were more contaminated with Staphylococcus aureus, while farm samples with E. coli.

Conclusion: The results showed that due to use of animal and human fertilizers along with surface water for irrigation the strawberries would be contaminated regardless of type of cultivation. Therefore, proper washing and use of disinfection before consumption are strongly recommended.

Keywords: Coliforms, E. coli, Kurdistan, Staphylococcus Aureus, Strawberry

Conflict of interest: The authors declared that there is no Conflict interest



This Paper Should be Cited as:

Mohammad Mehdi Soltan Dallal, Hadi Abdolmaleki, Rashid Ramezanzadeh, Abbas Rahimi Foroushani, Comparative Study of Contamination With Staphylococcus Aureus, Toloobehtdasht Journal.2018; 16(6):1-12 .[Persian]



بررسی مقایسه ای میزان آلودگی توت فرنگی به استافیلوکوک اورئوس، اشیشیاکلی و سایر کلی فرم ها در استان کردستان

نویسندگان: محمد مهدی سلطان دلال^۱، هادی عبدالملکی^۲، رشید رمضان زاده^۳، عباس رحیمی فروشانی^۴

۱. نویسنده مسئول: استاد مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. تلفن تماس: ۸۸۹۹۲۹۷۱-۰۲۱

Email: msoltandallal@gmail.com

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳. دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، کردستان، ایران.

۴. استاد گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، تهران، ایران.

چکیده

مقدمه: کردستان از جمله استان های مهم در زمینه تولید توت فرنگی در کشور محسوب می شود. در کشت سنتی به علت تماس دست و استفاده از کودهای حیوانی در مزارع و آلوده شدن خاک، انتقال باکتری های پاتوژنی چون استافیلوکوک اورئوس و اشیشیاکلی و سایر کلیفرم ها به آسانی توسط میوه ها و سبزیجات این مزارع صورت می گیرد. هدف از این تحقیق، بررسی میزان آلودگی به استافیلوکوک اورئوس و اشیشیاکلی و سایر کلیفرم ها در انواع توت فرنگی تولید شده در استان کردستان بوده است.

روش بررسی: در یک مطالعه توصیفی، در سال ۱۳۹۳، تعداد ۱۵۰ نمونه توت فرنگی شامل ۹۰ نمونه کشت مزرعه (سنتی)، ۳۰ نمونه گلخانه ای و ۳۰ بسته بندی سطح شهر سنندج مورد بررسی قرار گرفت. طبق دستور العمل استاندارد ایران، نمونه ها از نظر وجود استافیلوکوکوس اورئوس به شماره ۱۱۹۴، شمارش کلی به شماره ۵۲۷۲، شمارش کلی فرم به شماره ۹۲۳۶ و شناسایی اشیشیاکلی به شماره ۲۹۶۴ انجام شد. **یافته ها:** از ۱۵۰ نمونه مورد بررسی، ۱۶ نمونه (۱۰/۶۶٪) به استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت آلوده بودند. بیشترین آلودگی در توت فرنگی بسته بندی مشاهده شد. در خصوص حضور کلیفرم ها در توت فرنگی، از ۱۵۰ نمونه مورد بررسی، ۳۰ نمونه (۲۰٪) به کلیفرم ها آلوده بودند. در خصوص حضور اشیشیاکلی، از ۱۵۰ نمونه مورد بررسی، ۲۱ نمونه (۱۴٪) به اشیشیاکلی آلوده بودند.

نتیجه گیری: نتایج ما نشان داد، این میوه به دلیل استفاده از کودهای حیوانی و انسانی و استفاده از آب های سطحی جهت آبیاری و شستن توت فرنگی با آب قبل از مصرف می تواند در کاهش آلودگی تاثیر داشته باشد.

واژه های کلیدی: توت فرنگی، استافیلوکوک اورئوس، اشیشیاکلی، کلیفرم ها، کردستان

طلوع بهداشت

دو ماهنامه علمی پژوهشی

دانشکده بهداشت یزد

سال شانزدهم

شماره: ششم

بهمن و اسفند ۱۳۹۶

شماره مسلسل: ۶۶

تاریخ وصول: ۱۳۹۶/۲/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۰۱



مقدمه

توت فرنگی گیاهی است از خانواده *osaea* که تا به حال ۳۴ گونه آن جهان شناخته شده است. توت فرنگی که به عنوان ملکه میوه ها در آسیا شناخته می شود، میوه ای سرشار از ویتامین ها، مواد مغذی بوده و خواص و فواید درمانی زیادی دارد. میزان تولید توت فرنگی جهان بیش از ۴۳۵۶۰۰۰ تن برآورد شده است. ایران مقام شانزدهم جهان را با ۴۲۱۶ هکتار سطح زیر کشت و میانگین عملکرد ۱۳/۲۱ تن در هکتار به خود اختصاص داده و استان کردستان با بیش از ۲۰۰۰ هکتار سطح زیر کشت و تولید ۲۸۰۰۰ تن، قطب تولید توت فرنگی در ایران است (۱،۲). به دلایل متعدد از جمله عدم آموزشهای لازم جهت ترغیب کشاورزان به منظور روی آوردن به کشت مکانیزه و عدم حمایتهای لازم در زمینه کاشت، داشت و برداشت از یک طرف سبب شده است که بخش عمده توت فرنگی تولید شده در این استان به روشهای سنتی برداشت و بسته بندی گردد. از طرف دیگر خشکسالی های اخیر و بحران آب در کشور، استفاده از آب های سطحی که همواره با دستکاری های انسان به عنوان منبع آلودگی محسوب می شود. ضرورت بررسی محصولات کشاورزی در این مزارع را می طلبد. لذا با توجه به خصوصیات منحصر به فرد توت فرنگی که از زمره گیاهان بوته ای بوده و میوه آن به راحتی در تماس با خاک قرار گرفته و عوامل مختلف میکروبی در خلل و فرج و پرزهای آن جای گرفته، به راحتی موجبات انتقال این عوامل میکروبی را به مصرف کنندگان فراهم می کند (۳).

در کشت سنتی به علت استفاده از کودهای حیوانی در مزارع و آلوده شدن خاک، انتقال باکتریهای پاتوژنی چون اشریشیا کلی و سایر کلیفرمها به آسانی توسط میوه ها و سبزیجات این مزارع صورت می گیرد (۴). استفاده از کودهای حیواناتی هم چون گاو که به عنوان میزبان *Ecoli O:157H7* محسوب می شوند، مواردی از حضور این باکتری در محصولات این مزارع گزارش شده است (۵). هم زمانی برداشت توت فرنگی با شروع فصل گرم سال و افزایش مسمومیت های غذایی در کنار خصوصیات ذکر شده می تواند نشان دهنده پتانسیل بالای آلودگی در مصرف کنندگان این میوه باشد. شیوع ناقلین باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (که این باکتری را در بینی خود حمل می کنند) در ایران بطور میانگین حدود ۲۴/۵٪ گزارش شده است (۶). بررسی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در توت فرنگی به دلیل تماس با دست هنگام برداشت و جداسازی و بسته بندی می تواند بسیار حائز اهمیت باشد. این باکتری به علت تولید ۸ اترتوتوکسین (A-E و G-I) مقاوم به حرارت و آنزیم های معده نقش بسیار مهمی را در ایجاد مسمومیت های غذایی ایفا می کند (۷). گاستروانتریت ناشی از اشریشیا کلی عمدتاً در اثر *Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC)*، *Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC)*، *Enteroaggregative Escherichia coli (EAEC)*، *Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC)*، *Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC)* ایجاد می شود که در گروههای *High risk* (کودکان، سالمندان، افراد دچار نقص سیستم ایمنی و زنان باردار) علائم بسیار



در ظروف مناسب جمع آوری شد و با حفظ شرایط زنجیره سرد به آزمایشگاه منتقل گردید. جهت جلوگیری از آلودگی های ثانویه نمونه ها به تعداد مشخص و متناسب با فرایند کار جمع آوری گردید و بلافاصله در آزمایشگاه فرایند آنالیز بر روی آنها آغاز شد.

نمونه ها از نظر وجود استافیلوکوکوس اورئوس طبق دستور العمل استاندارد ایران به شماره ۱۱۹۴ مورد بررسی قرار گرفتند (۱۳). لازم به ذکر است که در کلیه مراحل جهت کنترل صحت و کیفیت کار از سوش استاندارد ATCC۲۵۹۲۳ به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

یک گرم از توت فرنگی به محیط کشت جیولیتی اضافه گردید و پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای $37^{\circ}C$ ، محیط ها را از نظر ایجاد رنگ بررسی کرده و در صورت مشاهده رنگ سیاه از آنها بر روی محیط بردپارکر انتقال داده شد. از محیط جیولیتی سیاه شده روی محیط برد پارکر آگار کشت داده شد و پلیت ها به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در $37^{\circ}C$ انکوباسیون گردید. استافیلوکوک های کوآگولاز مثبت روی این محیط بصورت کلنی های گرد سیاه رنگ (در اثر احیای تلوریت) با هاله نفتی (در اثر مصرف زرده تخم مرغ) ظاهر می شدند.

هم چنین نمونه ها طبق دستور العمل استاندارد ایران به شماره ۵۲۷۲ از نظر تعداد باکتری ها مورد بررسی قرار گرفتند (۱۴). برای این منظور در کنار شعله از نمونه مورد نظر، درون ظرف استریل ۵ گرم وزن گردید و به آن ۴۵ سی سی از محلول رینگر اضافه شد. سپس آن را مخلوط کرده و جهت معلق شدن ترکیبات و از جمله باکتریهای احتمالی سطح نمونه در محلول رینگر ۲۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. پس از سپری شدن این مدت زمان

شدیدتری را ایجاد می کند (۸). اشیشیاکلی بعنوان شایعترین پاتوژن ایجاد کننده اسهال گزارش شده است که بین سروتایپ های مختلف، سروتایپ اشیشیاکلی انتروپاتوژنیک شایع ترین گونه گزارش گردیده است (۹).

مطالعات نشان داده است که آنزیم های بتالاکتاماز-extended spectrum beta-lactamases (ESBL) مهم ترین عامل مقاومت به آنتی بیوتیکهای بتالاکتام در بین باکتریهای گرم منفی از جمله اشیشیاکلی می باشد. این امر باعث افزایش عفونت های ناشی از این باکتریها در سراسر دنیا شده است (۱۰، ۱۱). از طرفی نقش غذاهای آلوده در انتقال و افزایش مقاومت میکروبی میتواند زمینه مناسب دیگری برای این تحقیق فراهم کند تا مشخص شود (ESBL) ها چقدر در اشیشیاکلی های جدا شده از این میوه و سبزیجات، میتواند جدیت و خطر آفرین باشند (۱۲).

حال با توجه به اهمیت باکتری های ذکر شده در مسمومیت های غذایی و خصوصیت میوه توت فرنگی که در خیلی از موارد بدون شستشو و یا شستشوی مختصر با آب مصرف می شود. خلاء بررسی آلودگی باکتریایی این میوه در کشور احساس می شود که در این تحقیق به آن پرداخته خواهد شد، تا علاوه بر شناسایی باکتریهای پاتوژن ذکر شده، مشخص شود که شمارش کلی باکتری ها پس از یک پروسه شستشو با آب به چه مقدار کاهش خواهد یافت.

روش بررسی

در یک مطالعه توصیفی، طی فاصله زمانی خرداد تا مرداد ۱۳۹۳ تعداد ۱۵۰ نمونه توت فرنگی شامل ۹۰ کشت مزرعه (سنتی)، ۳۰ گلخانه ای و ۳۰ بسته بندی سطح شهر سنندج



نمونه ها از نظر وجود اشیریشیا کلی طبق دستور العمل استاندارد ایران به شماره ۲۹۴۶ مورد بررسی قرار گرفتند (۱۶). لازم به ذکر است که در کلیه مراحل جهت کنترل صحت و کیفیت کار از سوش استاندارد اشیریشیا کلی ATCC۲۵۹۲۲ به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

آنالیز آماری

نتایج توصیفی حاصل از مطالعه نتایج به صورت درصد و میانگین به کمک نرم افزار SPSS و ویرایش ۱۹ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته ها

از ۱۵۰ نمونه مورد بررسی، ۱۶ نمونه (۱۰/۶۶٪) به استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت آلوده بودند. بیشترین آلودگی در توت فرنگی بسته بندی مشاهده شد (جدول ۱). در خصوص تاثیر شستشوی توت فرنگی با آب، از ۱۵۰ نمونه مورد بررسی، به طور میانگین از ۷۰۹۸۳ CFU/g باکتری به ۲۱۴۶۷ CFU/g باکتری (۳۰/۲۴ درصد) کاهش یافت. بیشترین کاهش مربوط به توت فرنگی مزرعه بود (جدول ۲).

در خصوص حضور کلیفرم ها در توت فرنگی، از ۱۵۰ نمونه مورد بررسی، ۳۰ نمونه (۲۰٪) به کلیفرم ها آلوده بودند. این آلودگی در نمونه های کشت مزرعه ۲۷ مورد (۳۰٪)، در نمونه های بسته بندی شده ۳ مورد (۱۰٪) و در نمونه های کشت گلخانه ای موردی از آلودگی به کلیفرم مشاهده نگردید.

در خصوص حضور اشیریشیا کلی، از ۱۵۰ نمونه مورد بررسی، ۲۱ نمونه (۱۴٪) به اشیریشیا کلی آلوده بودند. بیشترین آلودگی در توت فرنگی مزرعه مشاهده شد (جدول ۳).

از نمونه مورد نظر رقت های ۱/۱۰۰، ۱/۱۰۰۰، ۱/۱۰۰۰۰ ساخته شد. ۱ سی سی از رقت های مورد نظر به صورت جداگانه با محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA) Plate Count Agar به صورت پورپلیت کشت داده شد سپس پلیتها در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه گردید. جهت انجام کنترل محیط های کشت یک سی سی از سرم فیزیولوژی استریل را با محیط کشت پلیت کانت آگار پور پلیت کرده و همانند نمونه ها انکوبه گردید. در صورت عدم رشد هیچ گونه باکتری در این محیط کشت، نشان دهنده درست بودن کار می باشد. نمونه های مورد آزمایش در مرحله اول را به صورت جداگانه به صورت غوطه ور در زیر شیر آب به مدت ۳۰ ثانیه بدون تماس دست شسته و تمام مراحل آزمایش مرحله قبل بر روی آنها انجام گردید. پس از پایان زمان نگهداری کلنی های موجود در سطح و عمق محیط را شمارش کرده و در عکس رقت ضرب گردید. نمونه ها از نظر شمارش کلیفرم ها طبق دستور العمل استاندارد ایران به شماره ۹۲۳۶ مورد بررسی قرار گرفتند (۱۵). برای این منظور در کنار شعله از نمونه مورد نظر، درون ظرف استریل ۵ گرم وزن گردید و به آن ۴۵ سی سی از محلول رینگر اضافه شد. سپس آن را مخلوط کرده و جهت معلق شدن ترکیبات و از جمله باکتریهای احتمالی سطح نمونه در محلول رینگر ۲۰ دقیقه آن را در دمای اتاق قرار داده شد. پس از سپری شدن این مدت زمان از نمونه مورد نظر رقت های ۱/۱۰۰، ۱/۱۰۰۰، ۱/۱۰۰۰۰ ساخته شد. سپس از رقت های مورد نظر به صورت جداگانه با محیط Mac پورپلیت شده و پس ۲۴ ساعت انکوبه در دمای ۲۴ درجه سانتیگراد، کلنی های لاکتوز مثبت شمارش و محاسبه گردید.



قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک های آنتی بیوگرام بر حسب واحد میلی متر محاسبه و ثبت گردید و با مراجعه به جدول CLSI سال ۲۰۱۴ نتایج بصورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش گردید (جدول ۵). بیشترین حساسیت باکتری اشریشیا کلی در بین آنتی بیوتیک های مورد بررسی، مربوط به کلرامفنیکل با ۱۴ مورد، بیشترین مقاومت نیز مربوط به تریمتوپریم سولفامتو کسازول به ۱۴ نمونه ایزوله شده شناسایی گردید.

علاوه بر آلودگی های ذکر شده، نمونه هایی دارای آلودگی همزمان به بیش از یک باکتری بودند. از ۱۵۰ نمونه مورد بررسی، ۱۷ نمونه (۱۲٪) به باکتری های مورد نظر هیچ آلودگی را نشان ندادند، ۲۹ نمونه (۱۹/۳٪) به استافیلوکوکوس اورئوس و کلیفرم ها آلودگی همزمان نشان دادند و ۲۰ نمونه (۱۳/۳٪) به استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی آلودگی همزمان داشتند (جدول ۴).

جدول ۱: توزیع آلودگی توت فرنگی به استافیلوکوکوس اورئوس بر حسب مکان پرورش کردستان ۱۳۹۳

تعداد استافیلوکوک کواگولاز	تعداد استافیلوکوک (درصد)	تعداد نمونه	مکان پرورش مثبت (درصد)
مزرعه	۹۰	۷۶ (۸۴/۴۴٪)	۸ (۱۰/۵۲٪)
بسته بندی	۳۰	۲۹ (۹۶/۶۶٪)	۵ (۱۷/۲۴٪)
گلخانه ای	۳۰	۲۷ (۹۰٪)	۳ (۱۱/۱۱٪)
جمع	۱۵۰	۱۳۲ (۸۸٪)	۱۶ (۱۲/۱۲٪)

جدول ۲: تاثیر شستشو با آب در کاهش شمارش کلی باکتری ها کردستان ۱۳۹۳

مکان پرورش	تعداد نمونه	باکتری ها قبل از شستن (CFU/g) (میانگین)	باکتری های حذف شده پس از شستن (میانگین) (CFU/g)	باکتری های حذف شده پس از شستن (درصد)
مزرعه	۹۰	۴۶۸۵۵	۱۴۶۷۷	۳۱/۳٪
بسته بندی	۳۰	۱۶۹۵۰	۴۹۱۷	۲۹٪
گلخانه ای	۳۰	۷۱۷۸	۱۸۷۳	۲۶٪
جمع	۱۵۰	۷۰۹۸۳	۲۱۴۶۷	۳۶/۲۴٪

جدول ۳: توزیع آلودگی توت فرنگی به اشریشیا کلی بر حسب مکان پرورش کردستان ۱۳۹۳

مکان پرورش	تعداد نمونه	نمونه های مثبت (تعداد)	نمونه های مثبت (درصد)
مزرعه	۹۰	۱۹	۲۱/۱٪
بسته بندی	۳۰	۲	۶/۶۶٪
گلخانه ای	۳۰	۰	۰٪
مجموع	۱۵۰	۲۱	۱۴٪



جدول 4: توزیع فراوانی آلودگی های باکتریایی در نمونه های توت فرنگی کردستان ۱۳۹۳

مکان	تعداد بدون	تعداد	تعداد	تعداد	تعداد	تعداد
پرورش	آلودگی	استافیلوکوکوس	کلیفرم ها	اشریشیا کلی	استافیلوکوکوس و	استافیلوکوکوس و
	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	اشریشیا کلی (درصد)	اشریشیا کلی (درصد)
مزرعه	۱۴ (۱۵٪)	۷۶ (۸۴٪)	۲۷ (۳۰٪)	۱۹ (۲۱٪)	۲۶ (۲۸/۸٪)	۱۸ (۲۰٪)
بسته بندی	۱ (۳/۳٪)	۲۹ (۹۶٪)	۳ (۱۰٪)	۲ (۶/۶٪)	۳ (۱۰٪)	۲ (۶/۶٪)
گلخانه ای	۳ (۱۰٪)	۲۷ (۹۰٪)	۰	۰	۰	۰
جمع	۱۷ (۱۲٪)	۱۳۲ (۸۸٪)	۳۰ (۲۰٪)	۲۱ (۱۴٪)	۲۹ (۱۹/۳٪)	۲۰ (۱۳/۳٪)

جدول 5: توزیع فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های اشریشیا کلی از توت فرنگی کردستان ۱۳۹۳

آنتی بیوتیک	حساس	نیمه حساس	مقاوم
تری متو پریم / سولفومتا کسازول	۵ (۲۳/۸۱٪)	۲ (۹/۵۲٪)	۱۴ (۶۶/۶۷٪)
جنتامایسین	-	۱۲ (۵۷/۱۴٪)	۹ (۴۲/۸۶٪)
سیپروفلوکساسین	۱۰ (۴۷/۶۲٪)	۱ (۴/۷۶٪)	۱۰ (۴۷/۶۲٪)
ایمی پنم	۷ (۳۳/۳۳٪)	۵ (۲۳/۸۱٪)	۹ (۴۲/۸۶٪)
کلرام فنیکل	۱۴ (۶۶/۶۷٪)	۱ (۴/۷۶٪)	۶ (۲۸/۵۷٪)
سفتازیدیم	۱۳ (۶۱/۹۰٪)	-	۸ (۳۸/۱۰٪)
سفتوتا کسیم	۱۳ (۶۱/۹۰٪)	-	۸ (۳۸/۱۰٪)

بحث و نتیجه گیری

در پژوهش حاضر که برای اولین بار در ایران انجام شده است، میزان حضور استافیلوکوکوس اورئوس از ۱۵۰ نمونه توت فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. در حالی که ۹۶/۶۶٪ و ۱۷/۲۴٪ نمونه های توت فرنگی بسته بندی در مقایسه با توت فرنگی مزرعه و گلخانه ای به ترتیب به استافیلوکوکوس و استافیلوکوکوس اورئوس آلوده بودند، نشان می دهد که صرفاً استفاده از روش های بسته بندی تضمینی بر کاهش موارد آلودگی نمی باشد. بالا بودن میزان آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه های بسته بندی می تواند بیانگر این مسئله

با مصرف آب و غذا، میوه و سبزیجات آلوده، سلامت جوامع به خطر می افتد. این وضعیت تحت نام کلی بیماری های منتقله از راه غذا (foodborne disease) امروزه یکی از معضلات و مشکلات اساسی دولتها در حفظ و ارتقاء سلامت عمومی جامعه می باشد (۱۷). متأسفانه در ایران مطالعه ای در خصوص بررسی آلودگی باکتریایی توت فرنگی صورت نگرفته است، هر چند مطالعات انجام شده در خارج از کشور هم بسیار کم و فقط در خصوص یک باکتری خاص یا گزارش یک طغیان بوده است.



باشد که ارتباط بیشتر میوه توت فرنگی با دست و سایر وسایل حین بسته بندی و شرایط انتقال باکتری از پوست و بینی انسان به عنوان مخزن باکتری به این میوه را فراهم می کند.

Yoon و همکاران مطالعه گسترده ای را روی ۶ مرکز گلخانه ای و سه مرکز بسته بندی توت فرنگی بر روی عواملی از قبیل آبهای آبیاری، خاک، برگ های توت فرنگی، توت فرنگی، دستکش کارگران، ظروف حمل محصول، میز کار و تخته نقاله جهت شمارش باکتری ها، کلیفرم ها، استافیلوکوکوس اورئوس، E.coli O157H7، سالمونلا و باسیلوس سرئوس انجام دادند (۱۸).

در مقایسه این دو تحقیق، چند تفاوت بنیادی وجود دارد. یکی اینکه در این طرح فقط بر روی کشت گلخانه ای مطالعه شده است و در نمونه های بسته بندی فقط از مکان بسته بندی نمونه برداری شده است نه خود نمونه های بسته بندی شده. دوم اینکه مطالعه بصورت شمارش باکتری بوده است نه شناسایی باکتری های مورد نظر. با وجود این مسئله، حضور باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در همه موارد بررسی به جز آب مورد استفاده جهت آبیاری، بیانگر این موضوع می باشد که این باکتری به آسانی قابل انتقال از محیط به مواد غذایی می باشد و در مطالعه ما نیز، آلودگی به این باکتری در سطح بالایی مشاهده گردید (۸۸٪).

پژوهش ما در خصوص شمارش کلی باکتری ها در توت فرنگی در سه نمونه کشت مزرعه، بسته بندی و کشت گلخانه ای حاکی از این بود که بار آلودگی در نمونه های کشت مزرعه بیشترین و در کشت گلخانه ای کمترین میزان بود. نحوه کاشت میوه توت فرنگی به صورت سنتی و بوته ای که در ارتباط مستقیم با خاک

و آب می باشد، این پتانسیل را دارد که در صورت عدم رعایت اصول استاندارد کاشت شرایط انتقال آلودگی به سادگی فراهم می گردد. در مورد نوع گلخانه ای که در فضایی بسته تر پرورش داده می شود و امکان تماس مستقیم میوه به (علت ماهیت نوع کشت) به منابع میکروبی بسیار کاهش می یابد، شاهد بار آلودگی کمتری نسبت به کشت سنتی می باشیم. اما در مورد نمونه های بسته بندی، شایان ذکر است که ارقام اصلاح شده توت فرنگی که اندازه هایی به مراتب بزرگتر دارند عمدتاً بصورت گلخانه ای قابل کشت می باشند. لذا در نوع بسته بندی اکثراً از این نوع محصول استفاده می شود. در تحقیق انجام شده نیز مشاهده می شود که آلودگی باکتری ها در آنها، به میزان آلودگی کشت گلخانه ای نزدیک تر می باشد و تفاوت آلودگی آن با نمونه های کشت گلخانه ای، به علت آلودگی های ثانویه هنگام بسته بندی ایجاد شده است.

در مطالعه Yoon و همکاران با بررسی کشت گلخانه ای توت فرنگی، شمارش باکتری های هوازی در آب، خاک، ظروف برداشت میوه، دستکش کارگران، تسمه نقاله، میز کار بسته بندی، برگ و میوه توت فرنگی آلودگی میکروبی را نشان دادند (۱۸).

در مطالعه ما در خصوص تاثیر شستن با آب در کاهش بار میکروبی توت فرنگی مشاهده شد که در مجموع سه نوع نمونه توت فرنگی در اثر شستشو، ۳۰ درصد باکتری ها کاهش یافتند. پروسه شستشویی که در این مطالعه بکار گرفته شد در واقع روش معمولی است که شاید بیشتر مردم برای شستن این میوه قبل از مصرف بکار می برند. از مهمترین ویژگی این روش عدم استفاده از مواد ضد عفونی کننده است. لذا شدت جریان آب،



صورت گرفته بر روی سبزیجات از دو جهت با توت فرنگی متفاوت هستند.

یکی اینکه در سبزیجات شاهد سطح مقطع بیشتری هستیم، لذا سبب افزایش بار میکروبی در آنها می شود و از طرف دیگر هنگام شستشوی سبزیجات از مواد ضد عفونی کننده ای استفاده می شود که قاعدتا توان میکروب زدایی بیشتری از آب را خواهند داشت. در مطالعه ای که Gurtler و همکاران در ایالات متحده آمریکا در خصوص اثر میکروب زدایی انواع مواد ضد عفونی کننده بر روی توت فرنگی هایی که به میزان مشخصی به باکتری های سالمونلا و *E. coli* O₁₅₇H₇ آغشته شده بودن این نتیجه حاصل شد که از ۷/۱ سیکل لگاریتمی اولیه، به ۳ تا ۱/۴۵ سیکل لگاریتمی کاهش یافته بود. کاهش قابل توجه باکتری های مورد بررسی در این مطالعه نسبت به مطالعه ما به دلیل این مسئله می باشد که در این مطالعه از مواد ضد عفونی استفاده شده بود (۲۱).

در این پژوهش، مقاومت سویه های اشریشیا کلی جدا شده از نمونه ها توت فرنگی نسبت به آنتی بیوتیک های مورد نظر به این گونه بود که بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی به تری متو پریم سولفامتو کسازول بود (۶۶/۷٪) و کمترین مقاومت آنتی بیوتیکی به کلرام فنیکل بود (۲۸/۶٪). در حالیکه در مطالعه Kundu & Islam اریترومايسين مقاوم ترین آنتی بیوتیک با ۸۶/۷٪ و کمترین مقاومت کلرام فنیکل با ۶/۷٪ بود (۱۱).

اگرچه عدم مطالعات مشابه در خصوص الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های پاتوژن ها از توت فرنگی زمینه مقایسه و بحث را کاهش داده، ولیکن وجود مقاومت های آنتی بیوتیکی

در معرض قرار گرفتن باکتری، توانایی معلق شدن باکتری در آب، مدت زمان شستن و تا حدودی میزان کلراید موجود در آب شرب از عواملی هستند که در کاهش بار میکروبی توت فرنگی می توانند نقش داشته باشند. در این مرحله مشاهده می شود اختلاف کاهش باکتری پس از انجام مرحله شستن، در سه نمونه مورد بررسی زیاد نیست.

با وجود این مسئله، نتایج حاکی از آن است که در نمونه هایی که بار میکروبی بیشتری دارند بیشتر شاهد کاهش بار میکروبی توسط آب هستیم. به احتمال زیاد باکتری های سطح این نمونه ها به علت تعداد بالاتر، بیشتر در معرض شستشوی آب قرار گرفته اند. شاید این نکته بیانگر این مسئله باشد که شستن بیشتر نمونه ها بار میکروبی آنها را کاهش می دهد اما هیچ گاه آنها را به صفر نخواهد رساند.

Han و همکاران در مطالعه ای نشان دادند که پروتکل ایده آل برای بازیابی و شمارش *E. coli* O157: H7 و *monocytogenes* از توت فرنگی شامل تکان دادن نمونه ها و شستشو با ۱۰۰ میلی لیتر PBS برای ۱۵ دقیقه در ۲۲ درجه سانتیگراد می باشد (۱۹).

در مطالعه Reed Tanprasert بر روی توت فرنگی، ۲۲ نمونه از ۷۲ توت فرنگی آلودگی باکتریایی داشتند. بیشترین آلودگی در این پژوهش ناشی از گونه های سودوموناس بود و باکتری های استافیلوکوک، اشریشیا کلی و کلیفرم بر خلاف نتایج ما جدا نگردید (۲۰).

متأسفانه پژوهش های مشابه زیادی در داخل و خارج از کشور صورت نگرفته است که نتایج را مقایسه و بررسی نمود. مطالعات



تضاد منافع

نویسندگان این مقاله این مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافی وجود ندارد.

تقدیر و تشکر

این مقاله نتیجه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۲۵۳۶۶ می باشد. بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که از نظر مالی حامی این طرح تحقیقاتی بوده‌اند، کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

در باکتری های جدا شده از منابع غذایی دیگر، بیانگر ارتباط گسترده باکتری ها در محیط های مختلف می باشد، که در اثر مصرف مواد غذایی دامی و سبزیجات، این مقاومت ها را به راحتی به انسان منتقل می کنند و به عنوان یک مسئله مهم در انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی باید مورد توجه قرار بگیرند (۱۲-۱۰). نتایج ما نشان داد علیرغم هر نوع کاشت توت فرنگی، این میوه به دلیل استفاده از کودهای حیوانی و انسانی و استفاده از آب های سطحی جهت آبیاری، به انواع باکتری آلوده بوده و شستن توت فرنگی با آب قبل از مصرف می تواند در کاهش نسبی میزان الودگی تاثیر داشته باشد.

References

- 1-Ghaderzadeh H. Economic study of strawberry production and marketing in Kurdistan province, M.Sc.Shiraz University.1997.[Persian]
- 2-Ranjbar A,Rabiei V,Karami F. Evaluation and selection of suitable strawberry cultivar for open field planting in Kurdistan province in Iran. Seed and Plant Production Journal.2014, 30(3): 351-5.
- 3-SarSeifi M.Strawberry culture. Kurdistan Agriculture Research Center Publications. 1999. [Persian]
- 4-Castro-Rosas J, Cerna-Cortés JF, Méndez-Reyes E, Lopez-Hernandez D, Gómez-Aldapa CA, Estrada-Garcia T. Presence of faecal coliforms, Escherichia coli and diarrheagenic E.coli pathotypes in ready-to-eat salads, from an area where crops are irrigated with untreated sewage water. Int J Food Microbiol.2012; 156(2):176-80.
- 5-Slayton RB, Turabelidze G, Bennett SD, Schwensohn CA, Yaffee AQ, Khan F et al. Outbreak of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) associated with romaine lettuce consumption2011. PLoS One.2013; 8(2):297-310.
- 6-Sedighi I, Moez HJ, Alikhani MY. Nasal carriage of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and their antibiotic susceptibility pattern in children attending day-care centers. Acta MicrobiImmuno Hung.2011;58(3):227-34.



- 7-Sabike II, Fujikawa H, Sakha MZ, Edris AM. Production of Staphylococcus aureus enterotoxin an in raw milk at high temperatures. J Food Prot. 2014;77(9):1612-6.
- 8-Zali MR, Moezardalan K, Parcham Azad K, Nik-kholgh B. Etiologies of acute diarrheal diseases in Iran. J Res Med Sciences (JRMS). 2003;7(4):346-56.
- 9-Sharifi Yazdi MK, Akbari A. Soltan Dallal MM. Multiplex polymerase chain reaction (PCR) assay for simultaneous detection of shiga-like toxin (stx1 and stx2), intimin (eae) and invasive plasmid antigen H (ipaH) genes in diarrheagenic Escherichia coli. African J Biotech. 2011;10(9): 1522-6.
- 10-Rashed N, Aftab U, Azizul H, Saurab K M, Mrityunjoy A, Majibur R. Microbiological study of vendor and packed fruit juices locally available in Dhaka city, Bangladesh. Inter Food Res J. 2013;20(2): 1011-15.
- 11-Kundu SK, Islam T. Prevalence of pathogenic bacteria isolated from two selected salad vegetables and antibiogram profile of Klebsiella spp. The Agriculturists. 2015;13(1): 9-17.
- 12-Gbonjubola O, Andesine, Samuel D. Jib O, Victor E. Ag U. Antibacterial susceptibility pattern of pathogenic bacteria isolates from vegetable salad sold in restaurants in Zaria, Nigeria. J Microbiol Res. 2012;2(2):5-11.
- 13-ISIRI. Staphylococcus aureus Identification Procedure. Standard numbers 1194. Tehran: Institute of Standard and Industrial Research of Iran 1998. [Persian]
- 14-ISIRI. Enumeration of microorganisms –Colony count technique at 30°C. Standard number 5272. Tehran: Institute of Standard and Industrial Research of Iran; 1998. [Persian]
- 15-ISIRI. Coliform Identification Procedure. Standard numbers 1116 and 9236. Tehran: Institute of Standard and Industrial Research of Iran; 1998. [Persian]
- 16-ISIRI. Ecoli Identification Procedure. Standard number 2946. Tehran: Institute of Standard and Industrial Research of Iran; 1998. [Persian]
- 17-Jung Y, Jang H, Matthews KR. Effect of the food production chain from farm practices to vegetable processing on outbreak incidence. Microb Biotechnol. 2014;7(6):517-27.
- 18-Yoon Y, Kim K, Nam M, Shim WB, Ryu JG, Kim DH, et al. Microbiological assessment in strawberry production and recommendations to establish a good agricultural practice system. Foodborne Pathos Dis. 2010;7(12):1511-9.



- 19-Han Y, Linton RH, Nelson PE. Effects of recovery, plating, and inoculation methods on quantification of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* from strawberries. *J Food Prot.* 2004;67(11):2436-42.
- 20-Tanprasert P, Reed BM. Detection and identification of bacterial contamination from strawberry runner explants. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant.* 1997; 33:221-6.
- 21-Gurtler JB, Bailey RB, Jin TZ, Fan X. Reduction of an *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* composite on fresh strawberries by varying antimicrobial washes and vacuum perfusion. *Int J Food Microbiol.* 2014;189:113-8.