طلوع بهداشت

دو ماهنامه علمی پژوهشی
دانشکده بهداشت یزد
سال پانزدهم
شماره: ششم
بهمن و اسفند ۱۳۹۵
شماره مسلسل: ۶۰

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۲/۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۳/۵

مقاله پژوهشی

اسپور کلستریدیوم بوتولینوم و آلودگی قارچی در عسل های تولیدی ایران

نویسندگان :بهادر حاجی محمدی[۱]، علی دهقانی[۲]، مرتضی جوادزاده[۳]، نبی شریعتی فر[۴]، هنگامه زندی[۵]، حسن مظفری خسروی[۶]، گیلدا اسلامی[۷]

۱. استادیار مرکز تحقیقات سلامت و ایمنی غذا، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۲. استادیار گروه اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۳. نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی،دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد تلفن تماس:۰۹۱۵۹۳۴۸۷۱۵ Email:javadzadeh.eresk@gmail.com

۴. استادیار گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۵. استادیار گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۶. استاد گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۷. استادیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

چکیده

مقدمه: عسل ماده غذایی بسیار غنی و انرژی بخش حاصل از شهد گیاهان توسط زنبور عسل است. در عسل احتمال وجود میکروارگانیسم ها به شکل اسپور وجود دارد. یکی از این میکروارگانیسم های خطرساز باکتری کلستریدیوم بوتولینوم است که توانایی بروز بوتولیسم به ویژه در نوزادان را دارد. این مطالعه به منظور بررسی میزان شیوع آلودگی عسل های تولیدی مناطق مختلف ایران به اسپور کلستریدیوم بوتولینوم و کپک و مخمر صورت گرفت.

روش بررسی: این مطالعهٔ توصیفی مقطعی در سال ۱۳۹۲ بر روی تعداد ۱۳۰ نمونه عسل، تهیه شده از زنبورستان های کشور انجام گرفت. فراوانی اسپور کلستریدیوم بوتولینوم در عسل های ایران با استفاده از شوک حرارتی و محیط کشت گوشت پخته شده گرمخانه گذاری به مدت ۱۰ روز در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت. باکتری کلستریدیوم پرفرنژنس PTCC:1766 به عنوان نمونه ی کنترل مثبت استفاده شد. آزمون شمارش کپک و مخمر نیز طبق استاندارد ملی ایران انجام پذیرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد اسپور کلستریدیوم بوتولینوم در هیچ یک از نمونه های مورد مطالعه حضور نداشت. آلودگی به کپک و مخمر در ۳۴ نمونه (۲۶/۶۷٪) بالاتر از حد مجاز استاندارد بود. استان کردستان با ۶۶/۶٪ آلودگی بالاتر از حد مجاز، بیشترین آلودگی و مازندران با دامنه آلودگی CFU/g ۵۵-۳۳ کمترین میزان آلودگی به کپک و مخمر دارا بودند.

نتیجه گیری: عسل های ایران در مقطع زمانی مورد مطالعه از نظر اسپور کلستریدیوم بوتولینوم ایمن بوده اما آلودگی به کپک و مخمر در عسل های مناطق غرب کشور بیشتر و شمال کشور کمترین میزان را دارا می باشد.

واژه های کلیدی: عسل، کلستریدیوم بوتولینوم، قارچ، ایمنی مواد غذایی

این مقاله بر گرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی،دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد می باشد.

مقدمه

عسل ماده غذایی بسیار غنی و انرژی بخش، با خاصیت ضد میکروبی حاصل از تغلیظ شهد گیاهان توسط زنبور عسل است. قند و آب عمده ترین ترکیبات تشکیل دهنده عسل بوده که به ترتیب برابر ۸۰٪ و ۱۷ تا ۱۸٪ می باشند. قند های موجود در عسل فروکتوز (۳۸/۱۹٪)، گلوکز (۳۱/۲۸٪)، ساکارز (۱/۳٪) و مالتوز (۷/۳٪) است. سایر مواد موجود در عسل شامل اسیدها که غالبا اسید فرمیک می باشد در حدود ۰/۵۷٪، پروتئین ۰/۲۲۶، نیتروژن ۰/۰۴۳٪، آمینواسید ۰/۱٪، مواد معدنی در حدود ۰/۱۷٪ و دیگر مواد موجود در عسل، مثل رنگدانه ها، مواد آروماتیک، ترکیبات فنلی، ذرات کلوئیدی، قندهای الکلی و ویتامین ها که مجموعا در حدود ۲/۱٪ از ترکیبات کل عسل را شامل می شوند(۱).

مشخصه های درونی عسل از قبیل فعالیت آبی پایین، فشار اسمزی بالا، pH پایین، تولید پروکسید هیدروژن و ترکیبات ضد میکروبی طبیعی باعث می شود تا در عسل طبیعی کمتر میکروارگانیسمی به صورت فعال باقی بماند (۴-۲). در عسل هیچ میکروارگانیسم زنده ای وجود ندارد ولی میکروارگانیسم ها به شکل اسپور می توانند در عسل وجود داشته باشند (۵). کلستریدیوم بوتولینوم باکتری گرم مثبت و بی هوازی است و در همه جا به صورت طبیعی وجود دارد. معمولاً در خاک و غبار و در محصولات کشاورزی بیشتر به صورت اسپور دیده می شود. این باکتری قادر به تولید اسپور بوده و می تواند با تولید سم کشنده باعث بیماری فلجی شل یا بوتولیسم شود.

تشخیص بوتولیسم با یافتن سم و یا باکتری در نمونه ی غذایی مشکوک امکان پذیر است. اگرچه به صورت دقیق دوز کشندگی توکسینها تعیین نشده است اما در مطالعات اخیر دوزکشندگی توکسین بوتولینوم تیپ A را برای یک انسان ۷۰ کیلوگرمی در صورت تزریق وریدی ۰/۹ میکروگرم و از راه دهان ۷۰ میکروگرم مشخص شده است (۶).

سم بوتولینوم به شرایط اسیدی معده مقاوم بوده و پس از جذب از روده توسط خون به سلولهای عصبی می رسد. سموم بوتولینوم بر اساس تفاوت آنتی ژنتیکی خود به انواع A, B, C, D, E, F, G تقسیم بندی می شوند که انواع A, B, E, F در انسان موجب بیماری می شوند. در حالی که انواع C و D در حیوانات موجب بیماری شده و از نوع G تا کنون بیماری خاصی گزارش نشده است. بسیاری از موارد بوتولیسم منتقله از غذا ناشی از مصرف غذای آلوده شده به نوروتوکسین کلستریدیوم بوتولینوم است (۸، ۷).

بوتولیسم غذایی با ویژگی فلجی شل، ناشی از خوردن سم کلستریدیوم بوتولینوم در مواد غذایی خوب کنسرو نشده یا مواد غذایی که شرایط بی هوازی دارند، ایجاد می شود. در نوع بوتولیسم نوزادی به علت بلع و در نتیجه فعال شدن اسپور کلستریدیوم بوتولینوم در کولون، سبب تولید سم و بروز بیماری می شود. در بوتولیسم نوزادی منبع ورود باکتری به دستگاه گوارش کاملا مشخص نیست ولی عسل به عنوان یکی از این منابع احتمالی شناخته شده است (۹).

به عنوان مثال بروز بوتولیسم ناشی از مصرف عسل در کشورهای ایران (۱۰)، پرتقال (۱۱)، ایتالیا (۱۲،۱۳) و فرانسه (۱۴) گزارش شده است. عسل به عنوان مخزن اسپور کلستریدیوم بوتولینومتیپ A و B شناخته شده است (۱۵). عسل به عنوان یکی از شایع ترین علل بروز بوتولیسم نوزادان در ژاپن و شمال آمریکا

می باشد (۱۶). خطر بروز بیماری در کشورهای شرق اروپا به دلیل مصرف عسل همراه با چای و گیاهان دارویی توسط نوزادان بدون توجه به اسپورهای احتمالی موجود در آن بیشتر است (۱۷).

مطالعات فراوانی در مورد میزان فراوانی اسپور کلستریدیوم بوتولینوم در عسل های تولید شده در کشورهای مختلف جهان صورت گرفته است. Küplülü و همکاران ۱۲/۵٪ از عسل های ترکیه را آلوده به اسپور کلستریدیوم گزارش کردند (۱۸). Nevas و همکاران در کشورهای دانمارک، سوئد و نروژ نشان دادند که شیوع آلودگی در نمونه های عسل مربوط به دانمارک، سوئد و نروژ به ترتیب ۲۶ ٪، ۱۰٪ و۲٪ بود. بیشترین سروتیپ شناسایی شده دراین مطالعه گروه B بود (۱۹). همچنین در مطالعه ی Rall و همکاران در برزیل، ۳٪ از نمونه های عسل، آلوده به اسپورکلستریدیوم بوتولینوم بودند (۲۰). Iurlina و همکاران در بررسی خصوصیات میکروبیولوژیکی عسل های مختلف آرژانتین موفق به جداسازی هیچ یک از گونه های باکتری کلستریدیوم عسل نشدند (۲۱).

در میان آلوده کننده های عسل، آلودگی قارچی نیز از اهمیت بالایی برخوردار بوده و در استاندارد ملی ایران برای این آلودگی حدود مجازی تعریف شده است.دامنه فعالیت آبی عسل بین ۰/۶۷-۰/۵۳ می باشد، که این فعالیت آبی از رشد اکثر میکروارگانیسم ها جلوگیری می کند. فرایند تخمیر در عسل زمانی صورت می گیرد که رطوبت آن بالای ۱۷۱ یا ۲۰۰ گرم درکیلوگرم باشد. اگر رطوبت عسل بالاتر از این حد باشد مخمرهای اسموفیلیک ممکن است رشدکنند. اثر این میکروارگانیسم ها بر گلوکز و فروکتوز منجر به تولید دی اکسیدکربن و اتانول می شود و ممکن است تولید اسید استیک نماید (۲۲).

با توجه به نبود اطلاعات کافی از وضعیت فراوانی اسپور کلستریدیوم بوتولینوم در عسل های تولید ایران و میزان آلودگی آن ها به کپک و مخمر این مطالعه ی توصیفی مقطعی انجام گرفت. هدف از این تحقیق، ارزیابی فراوانی اسپور کلستریدیوم بوتولینوم و آلودگی قارچی در عسل های تولیدی ایران در سال ۱۳۹۲ بود.

روش بررسی

این مطالعه از نوع توصیفی مقطعی بوده که در سال ۱۳۹۲ بر روی تعداد ۱۳۰ نمونه عسل انجام گرفت، از این تعداد ۱۲۶ نمونه از زنبورستان های استان های مختلف کشور با توجه به ناحیه بندی هفت گانه ی ایران بر اساس تولید عسل(شمال، شمال غرب،غرب، جنوب، شرق، شمال شرق و مرکز) به صورت تصادفی انتخاب و تهیه شد و تعداد ۴ نمونه از برند های معروف عسل (مراکز فراوری و بسته بندی عسل به روش صنعتی) نمونه برداری شد.

تعداد ۱۲۶ نمونه عسل از زنبورستان های مختلف استان های کشور با توجه به ناحیه بندی هفت گانه ی ایران بر اساس تولید عسل(شمال، شمال غرب، غرب، جنوب، شرق، شمال شرق و مرکز) به صورت تصادفی انتخاب شدند. از این تعداد، ۳۰ نمونه عسل با موم، ۴۴ نمونه عسل تک گلی و تعداد ۵۲ نمونه عسل چند گلی انتخاب گردید.به منظور آماده سازی نمونه عسل جهت آزمون اسپور کلستریدیوم بوتولینوم ابتدا ۲۵ گرم عسل در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل با رقیق کننده ی رینگر حاوی یک درصد Tween 80، اضافه شده و تا هموژن شدن کامل

مخلوط شد. سپس محلول به دست آمده در حمام آب گرم ۶۵ درجه به مدت ۳۰ دقیقه گذاشته شده و در مرحله بعد، مخلوط حاصله با دور ۹۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد.

رسوبات حاصله با نیم میلی لیتر سرم فیزیولوژی مخلوط گردید و به ۹ میلی لیتر از محیط گوشت پخته (آلمان، مرک، CMM) در لوله های ۱۵ میلی لیتری اضافه شد. سپس به وسیله روغن پارافین استریل روی محیط کشت پوشیده شده تا شرایط بی هوازی برای باکتری فراهم شود.محیط های کشت به مدت ۱۰ روز در دمای ۳۵ درجه گرمخانه گذاری شدند. بعد از گذشت این زمان، لوله های محیط کشت از نظر کدورت و تولید گاز مورد بررسی قرار گرفتند (۲۳).

از باکتری کلستریدیوم پرفرنژنس PTCC:1766 تهیه شده از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. باکتری پس از رشد در گوشت پخته شده (Cooked Meat) به محیط زرده تخم (Egg Yolk) مرغ تلقیح شد و پرگنه های حاصله را در یک میلی لیتر رقیق کننده رینگر حاوی یک درصد Tween 80 حل کرده و تحت شوک حرارتی ۶۵ درجه به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند.

در شرایط استریل یک میلی لیتر از محلول حاوی باکتریهای اسپوردار را به ۲۵ گرم نمونه عسل اضافه شدند وهمراه نمونه های آزمایش پس از سانتریفیوژ رسوبات به دست آمده کشت داده شدند.

نمونه کنترل مثبت پس از گذشت ۱۰ روز کدورت ایجاد کرده و به منظور انجام آزمون تاییدی، لوله های آزمایش به ۲۵ گروه ۵ تایی تقسیم شدند و از هر گروه رنگ آمیزی گرام صورت گرفت. تعداد سه لوله ی حاوی محیط کشت گوشت پخته پس از استریل کردن همراه دیگر نمونه ها گرمخانه گذاری شدند. نمونه های کنترل منفی پس از گذشت ۱۰ روز رشدی در آنها صورت نگرفت.

به منظورآزمون کپک و مخمر مقدار ۵ گرم عسل وزن شد، پس از رقیق سازی با محلول رینگر استریل حاوی ۰/۰۵ درصد Tween 80 از رقت ۰/۰۱ به صورت کشت سطحی در محیط عصاره مخمر- دکستروز – کلرامفنیکول (YGC) کشت داده شد و به مدت ۳ تا ۵ روز در دمای ۲۵ درجه قرار گرفت (۲۴). طبق استاندارد ملی ایران شماره ۹۲ حد مجاز کپک و مخمر کمتر از ۱۰۰ عدد در هر گرم عسل می باشد (۲۵).

کلیه ملاحظات اخلاقی مربوط به این مقاله طبق بیانه هلسینکی رعایت گردیده است.

یافته ها

در هیچ یک از نمونه های عسل باکتری کلستریدیوم بوتولینوم جداسازی نشد. ولی در گروه کنترل باکتری کلستریدیوم پرفرنژنس رشد کرده و ایجاد کدورت نمود. نتایج حاصل از کشت و شمارش کپک و مخمر در روز سوم نشان داد که از نظر آلودگی به اسپور کپک ومخمر به ترتیب کردستان ۶۶/۶۷٪ آلودگی، کرمانشاه ۵۵/۵۶٪، قم ۵۰٪، اردبیل، مرکزی، یزد و همدان ۳۳/۳۳٪، خراسان و بندرعباس ۲۵٪، زنجان و اصفهان ۱۶/۶۷٪، شیراز ۱۱/۱۱٪، بیشترین میزان آلودگی بالاتر از حد مجاز را داشته اند. در حالی که نمونه های گرگان، مازندران و تبریز از نظرآلودگی به کپک ومخمر در حدود مجاز استاندارد ملی ایران بوده اند (جدول۱).

جدول ۱: میانگین، انحراف معیار، دامنه آلودگی (CFU/gr) و درصد نمونه های بالاتر از حد مجاز آلودگی به کپک و مخمر در نمونه عسل های مناطق مختلف ایران

منطقه جغرافیایی		تعداد نمونه	٪ نمونه های بالاتر از حد مجاز استاندارد	دامنه	میانگین±انحراف معیار
	تبریز	۱۰	۰	<۳۰-۶۵	۳۶/۵±۲۷/۸۶
غرب و شمال	اردبیل	۱۲	۳۳/۳۳	<۳۰-۶۵	۳۵/۳۳±۲۷/۳۸
غرب	کردستان	۹	۶۶/۶۷	۷۰-۳۴۰	۱۰۴/۴۳±۱۷۸/۳۳
	کرمانشاه	۹	۵۵/۵۶	۶۵-۲۴۰	۶۳/۱۵±۱۳۸/۳۳
مرکز	زنجان	۹	۱۶/۶۷	۴۵-۱۲۰	۶۸/۲۴±۷۰
	همدان	۹	۳۳/۳۳	۴۳-۱۶۲	۴۱/۲۶±۹۰/۳۳
	شیراز	۹	۱۱/۱۱	<۳۰-۶۵	۶۶/۵±۱۹/۴۳
	قم	۹	۵۰	۳۵-۳۰۰	۱۵۰/۶۷±۱۰۴/۰۸
	یزد	۹	۳۳/۳۳	۳۹-۱۱۰	۷۵/۶۷±۲۴/۱۸
	اصفهان	۹	۱۶/۶۷	۴۰-۱۱۰	۲۴//۷۹±۶۸/۸۳
	مرکزی	۹	۳۳/۳۳	۴۲-۱۱۰	۲۲/۷۵±۷۷/۵
شمال	مازندران	۹	۰	<۳۰-۶۵	۱۵/۸۳±۲۳/۸۲
شمال شرق	گرگان	۹	۰	<۳۰-۶۵	۲۹/۲۸±۲۷/۸۳
جنوب	بندر عباس	۸	۲۵	۴۲-۱۶۲	۸۳/۹۱±۳۳/۹۸
شرق	خراسان	۱۶	۲۵	۳۸-۱۲۰	۷۵/۶۸±۲۶/۲۷
	جمع	۱۳۰	٪۲۶/۶۷ (۳۴)	<۳۰ -۳۰۰	۷۹/۴±۴۵/۸

بحث و نتیجه گیری

در۳۴ نمونه (٪۲۶/۶۷) آلودگی به کپک و مخمر مشاهده شد. استان کردستان با۶۶/۶ ٪ آلودگی بالاتر از حد مجاز، بیشترین آلودگی و مازندران با دامنه آلودگی CFU/g ۵۵-۳۰ کمترین میزان آلودگی به کپک و مخمر دارا بودند.

Kuplulu و همکاران، مطالعه ای (۲۰۰۶) به منظور بررسی حضور اسپور کلستریدیوم بوتولینوم در نمونه های عسل کشور ترکیه انجام دادند و مشخص نمودند که ۱۲/۵٪ از عسل های خرده فروشی در ترکیه و آنکارا آلوده به اسپور کلستریدیوم بوتولینوم بوده است (۱۸). Nevas و همکاران در سال ۲۰۰۵ طی تحقیقی به بررسی شیوع تیپ های A, B, E و F کلستریدیوم بوتولینوم درعسل های تولید شده در کشورهای شمالی اروپا به روش PCR پرداختند.

شیوع آلودگی در نمونه های عسل مربوط به دانمارک، سوئد و نروژ به ترتیب ۲۶٪، ۱۰٪ و ۲٪ بود. بیشترین سروتیپی که دراین مطالعه شناسایی شد گروه B بود (۱۹).

در مطالعه مشابهی توسط Pablo Schocken و همکاران (۱۹۹۹) میزان آلودگی عسل های برزیل به اسپور کلستریدیوم

بوتولینوم ۷/۰۶٪ بوده که مشتمل بر انواع سروتیپ های A, B و D بود (۲۴). براساس پژوهش انجام گرفته توسط Rall و همکاران (۲۰۰۳) در برزیل، ۳٪ از نمونه های عسل آلوده به اسپور کلستریدیوم بوتولینوم بودند. در ۶۴٪ نمونه ها اسپور کپک و مخمر نیز شناسایی شد (۲۰).

در مطالعه ای Nevas و همکاران (۲۰۰۲) در آلمان به بررسی حضور اسپور کلستریدیوم بوتولینومدر عسل به روش غنی سازی از طریق فیلتراسیون مواد مایع سطحی (SF) و سپس PCR پرداختند. از نظر کمی دامنه تعداد اسپور های باکتری در هر کیلوگرم عسل ۱۴۰-۱۸ عدد بود.

تیپ A در ۱۷ نمونه، تیپ B در ۱۲ نمونه شناسایی شد. در ۹ نمونه نیز تیپ A و B باکتری به طور توام وجود داشت (۲۶) Iurlina و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی مشخصه های میکروبی نمونه عسل های مختلف آرژانتین، نشان دادند که باکتری های کلستریدیوم احیا کننده سولفیت در نمونه ها وجود ندارد (۲۱). Vidon و همکاران (۱۹۹۴) فراوانی اسپور کلستریدیوم بوتولینوم را در ۹۰ نمونه از عسل های منطقه شرق فرانسه مورد بررسی قرار دادند که از این میان تعداد ۸ نمونه آلوده به اسپور کلستریدیوم بوتولینوم بود (۹). لذا علیرغم عدم حضور اسپور کلستریدیوم بوتولینوم در نمونه های عسل بررسی شده ازخطر مصرف عسل در نوزادان زیر دو سال کاسته نمی شود زیرا اکثر مطالعات انجام شده بصورت مقطعی می باشند. بنابر این آلودگی به اسپور کلستریدیوم بوتولینوم متاثر از شرایط محیطی است که در بازه ای دیگر از زمان این شرایط می توانند متفاوت باشد.از آنجا که عسل نسبت به اشعه مقاوم است می توان برای رفع این مشکل قبل از استفاده، عسل را با اشعه گاما پرتودرمانی کرد تا اسپورهای احتمالی از بین بروند (۲۷). میزان آلودگی عسل به کپک و مخمر ها رابطه مستقیمی با شرایط آب و هوایی دارد. همانطور که از نتایج مطالعه حاضر مشخص است، آلودگی در مناطق مرطوب کشور، در کمترین سطح خود می باشد. وجودکپک و مخمردر عسل اجتناب نا پذیر است، چرا که زنبور هنگام جمع آوری شهد آنها را با خود به کندو می آورد. پاستوریزاسیون باعث کنترل رشد این میکروارگانیسم ها می شود. بعضی از اثرات منفی حرارت باعث تغییر رنگ عسل، وکاهش آنزیم اینورتاز و سایر آنزیم ها می شود (۲۲).

نتایج حاصل از پژوهش حاضر حاکی از ایمن بودن عسل های تولید شده در مناطق مختلف ایران در مقطعی از زمان از نظر کلستریدیوم بوتولینوم می باشد. با توجه به شرایط محیطی، به ویژه شرایط زمانی ممکن است در بازه ای دیگر از زمان حضور اسپور افزایش پیدا کند، لذا به منظور کاهش خطر بروز بوتولیسم در نوزادان توصیه می شود که حتی الامکان به کودکان زیر ۲ سال عسل خورانده نشود. در جوامعی که مصرف عسل در این گروه سنی رایج شده است پیشنهاد می شود برای جلوگیری از بروز بیماری عسل ها ی مصرفی را قبل از استفاده با اشعه ی گاما پرتودهی نمایند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل از پایان نامه کارشناسی ارشد آقای مرتضی جوادزاده در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد بوده که به صورت طرح مشترک و با همکاری مرکز تحقیقات طب سنتی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است. بدینوسیله از تمامی کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری نموده اند تشکر و قدردانی می نماییم.

References

1-Jaganathan SK, Mandal M. Antiproliferative effects of honey and of its polyphenols: a review. BioMed Research International 2009.

2-Allen KL, Molan PC, Reid GM. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. Journal of pharmacy and pharmacology 1991; 43(12): 817-22.

3-Lusby PE, Coombes AL, Wilkinson JM. Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. Archives of medical research 2005; 36(5): 464-67.

4-Ceyhan N, Ugur A. Investigation of in vitro antimicrobial activity of honey. Rivista di biologia 2000; 94(2): 363-71.

5-Hajar R. Honey and Medicine. Encyclopaedia of the History of Science, Technology, and Medicine in Non-Western Cultures: Springer 2008. p. 1074-9.

6-Arnon SS, Schechter R, Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, et al. Botulinum toxin as a biological weapon: medical and public health management. Jama 2001; 285(8): 1059-70.

7-Hatheway CL. Toxigenic clostridia. Clinical microbiology reviews 1990; 3(1): 66-98.

8-Turton K, Chaddock JA, Acharya KR. Botulinum and tetanus neurotoxins: structure, function and therapeutic utility. Trends in biochemical sciences 2002; 27(11): 552-58.

9-Delmas C, Vidon DM, Sebald M. Survey of honey forClostridium botulinumspores in eastern France. Food microbiology 1994; 11(6): 515-18.

10-Vahdani P, Abbasi F, Mojarad MRA, Velayati AA, Boloorsaz MR, Musavipour F, et al. A six month-old girl with botulism due to honey ingestion. Indian Journal of Pathology and Microbiology 2009; 52(4): 592.

11-Saraiva M, Campos Cunha I, Costa Bonito C, Pena C, Toscano MM, Teixeira Lopes T, et al. First case of infant botulism in Portugal. Food Control 2012; 26(1): 79-80.

12-Fenicia L, Anniballi F, Pulitanò S, Genovese O, Polidori G, Aureli P. A severe case of infant botulism caused by Clostridium botulinumtype A with concomitant intestinal viral infections. European journal of pediatrics 2004; 163(8): 501-02.

13-Fenicia L, Ferrini AM, Aureli P, Pocecco M. A case of infant botulism associated with honey feeding in Italy. European journal of epidemiology 1993; 9(6): 671-73.

14-Hoarau G, Pelloux I, Gayot A, Wroblewski I, Popoff MR, Mazuet C, et al. Two cases of type A infant botulism in Grenoble, France: no honey for infants. European journal of pediatrics 2012; 171(3): 589-91.

15-Centorbi HJ, Aliendro OE, Demo NO, Dutto R, Fernandez R, Puig de Centorbi ON. First case of infant botulism associated with honey feeding in Argentina. Anaerobe 1999; 5(3):181-83.

16-Sakaguchi G, Sakaguchi S, Kamata Y, Tabita K, Asao T, Kozaki S. Distinct characters of Clostridium botulinum type A strains and their toxin associated with infant botulism in Japan. International journal of food microbiology 1990;11(3-4): 231-41.

17-Wolters B. First case of infant botulism in the Netherlandshtt. EuroSurveillance, 4(49)://wwweurosurveillanceorg/ViewArticleaspx?ArticleId¼1478Acces sed140610 2000.

18-KüplülüÖ, Göncüoğlu M, Özdemir H, Koluman A. Incidence of Clostridium botulinum spores in honey in Turkey. Food control 2006; 17(3): 222-24.

19-Nevas M, Lindström M, Hautamäki K, Puoskari S, Korkeala H. Prevalence and diversity of Clostridium botulinum types A, B, E and F in honey produced in the Nordic countries. International journal of food microbiology 2005; 105(2): 145-51.

20-Rall VLMAJ, Bombo AJ, Lopes TF, Carvalho LR, Silva MGD. Honey consumption in the state of São Paulo: a risk to human health? Anaerobe 2003; 9(6): 299-303.

21-Iurlina MO, Fritz R. Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources. International journal of food microbiology 2005; 105(3): 197-304.

22-Tosi EA, Ré E, Lucero H, Bulacio L. Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. LWT-Food Science and Technology 2004; 37(6): 669-78.

23-Food D, Administration D. Bacteriological analytical manual. AOAC International 1995; 6(3): 129-213.

24-ISIRI. Microbioligy of food and animal feeding stuffs - enumeration of Yeast and mould-Colony count techni in products with water activity Less than or equal. Iranian National Standardization Organization 2013;10899(3).[Persian]

25-ISIRI. Honey- Specification and test methods. Iranian National Standardization Organization 2013; 92(7). [Persian]

26-Nevas M, Hielm S, Lindström M, Horn H, Koivulehto K, Korkeala H. High prevalence of Clostridium botulinum types A and B in honey samples detected by polymerase chain reaction. International Journal of Food Microbiology 2002; 72(1): 45-52.

27-Vardi A, Barzilay Z, Linder N, Cohen HA, Paret G, Barzilai A. Local application of honey for treatment of neonatal postoperative wound infection. Acta Paediatrica 1998; 87(4): 429-32.

ORIGINAL ARTICLE

Received:2014/4/22 *Accepted:2014/5/26*

Clostridium Botulinum Spores and Fungal Contamination in Honeys of Iran

Bahador Hajimohammadi (Ph.D)[1], Ali Dehghani (Ph.D)[2], Morteza Javadzadeh (M.Sc)[3], Nabi Shariatifar (Ph.D)[4] Hengameh Zandi (Ph.D)[5], Hassan Mozaffari-khosravi (Ph.D)[6], Gilda Eslami (Ph.D)[7]

1. Assistant Professor Department Food Hygiene and Safety, Research Center for Food Hygiene and Safety, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
2.Assistant Professor, Department of Epidemiology School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
3.Corresponding Author: M.Sc student in Food Hygiene and Safety,School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
4. Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, Traditional medicine research center, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5.Asistant Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
6.Professor, Department of Nutrition, School of Public Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
7.Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Abstract

Introduction: Microorganisms may be present in the form of spores, in honey. One of these dangerous organisms is the bacterium Clostridium botulinium spores which are capable induced botulism particularly in infants. The aim of this study was to determine the prevalence of Cl. botulinum spores in honey produced in different regions of Iran.

Method: This cross-sectional study was performed in 2013. A total of 130 honey samples were collected and analyzed for Cl. botulinium spore. Samples were chosen randomly from the apiary of Iran. The samples were examined according to Iranian standard. In laboratory, honey samples were investigated using thermal shock and they located in cooked meat medium and incubated for 10 days at 35°C. The bacterium spores of Clostridium perfringens (PTCC: 1766) was used as a positive control sample.

Results: The Results showed that Cl. botulinum spore was not detected in any of examined samples. Thirty four samples (26.67%) had mold and yeast contamination higher than the Iranian standard limit. Samples from Kurdestan province had high contamination (66.6%) and it was higher than other regions. Honey samples from Mazanderan province had the lowest prevalence of mold and yeast with ranged from 30 to 55 CFU/g.

Conclusion: Overall, the contamination of honey with Cl. botulinum spores in examined samples was zero and so they are safe, but some samples had mold and yeasts contamination that honey samples collected from west and north regions had the high and low contamination, respectively.

Keywords: Honey, Cl. botulinum, Mold, Yeast, Food safety

This Paper Should be Cited as:
Bahador Hajimohammadi (Ph.D), Ali Dehghani (Ph.D), Morteza Javadzadeh (M.Sc), Nabi Shariatifar (Ph.D), Hengameh Zandi (Ph.D), Hassan Mozaffari-khosravi (Ph.D), Gilda Eslami (Ph.D).Clostridium Botulinum Spores and Fungal Contamination in Honeys of Iran. Journal Tolooebehdasht Sci