

## بررسی اشریشیاکلی، انتروکوکوس و شمارش کلی میکروارگانسیم ها در سبزی های تازه بسته بندی شده و غیر بسته بندی شده در تهران

دکتر محمدمهدی سلطان دلال<sup>۱</sup>، مریم شجاعی زینجناب<sup>۲</sup>، دکتر سعید واحدی<sup>۳</sup>، حمید محمودی<sup>۴</sup>، شهرود قنبرزاده<sup>۵</sup>، فاطمه هدایتی راد<sup>۵</sup>

### چکیده

زمینه و هدف: سبزی ها یکی از مواد اصلی سبد غذایی محسوب می شوند و مصرف آنها رو به افزایش است. از طرفی بیماری ها و طغیان های ایجاد شده توسط این گروه از مواد غذایی نیز روند افزایشی پیدا کرده است. این مطالعه با هدف تعیین میزان آلودگی میکروبی در سبزی های مصرفی جنوب تهران انجام گرفت.

روش بررسی: ۱۰۰ نمونه از ۱۰ نوع سبزی تازه بسته بندی شده و غیر بسته بندی شده بر اساس روش های ارائه شده در استاندارد های ملی ایران مورد آزمون قرار گرفت. شمارش انتروکوکوس با کشت پورپلیت در محیط KF آگار، شمارش کلی میکروارگانسیم ها با کشت پورپلیت در محیط پلیت کانت آگار و شناسایی اشریشیاکلی با استفاده از محیط های لوریل سولفات برات، EC برات، آب پپتونه و سپس کشت خطی در محیط مک کانکی آگار و تأیید با آزمون های اوره، حرکت، تولید  $SH_2$ ، تولید گاز و تخمیر قند انجام گرفت.

یافته ها: تمامی (۱۰۰٪) نمونه های سبزی خوردن، اسفناج، جوانه گندم و جوانه ماش و نیز به ترتیب ۴۰، ۶۰ و ۹۰٪ نمونه های پیازچه، ریحان و قارچ غیر قابل مصرف بودند.

نتیجه گیری: مصرف سبزی ها به ویژه سبزی هایی که به صورت خام مصرف می شوند، نیاز به دقت بیشتر به هنگام شستشو و استفاده از دستورالعمل های بهداشتی معاونت بهداشتی و مراکز بهداشت به هنگام خرید و مصرف دارد.

واژه های کلیدی: اشریشیاکلی، انتروکوکوس، شمارش کلی میکروارگانسیم ها، سبزی ها

دریافت مقاله: اسفند ۱۳۹۴

پذیرش مقاله: خرداد ۱۳۹۵

\*نویسنده مسئول:

مریم شجاعی زینجناب؛

دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

Email :  
Maryam\_shojaei60@yahoo.com

<sup>۱</sup> استاد بخش میکروپ شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

<sup>۲</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد میکروپ شناسی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

<sup>۳</sup> مربی هیئت علمی گروه اتاق عمل، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

<sup>۴</sup> کارشناس بهداشت محیط، معاونت بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

<sup>۵</sup> کارشناس ارشد میکروپ شناسی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

## مقدمه

بیماری های منتقله از غذا، طیف وسیعی از بیماری های هاستند که پس از خوردن غذاهای آلوده بروز می کنند (۱). طبق آخرین ارزیابی های مرکز کنترل و جلوگیری از بیماری های امریکا (CDC)، تخمین زده می شود که سالانه حدود ۴۸ میلیون مورد بیماری ناشی از غذا در آمریکا به وجود می آید که حدود ۱۲۸۰۰۰ نفر به این دلیل بستری شده و ۳۰۰۰ مورد مرگ ناشی از آن رخ می دهد (۲). این بیماری ها هزینه ی هنگفتی برای جوامع و نیز برای جهان به بار می آورند. افزون بر این بیشتر پاتوژن های غذایی می توانند عوارض مزمن نیز ایجاد کنند (۳).

محصولات تازه در سراسر جهان مورد پسند مردم هستند زیرا به عنوان منبع مهم مواد مغذی، ویتامین ها و فیبر شناخته می شوند. مصرف محصولات تازه در دو دهه اخیر به دلیل توجه بیشتر به سلامتی و تغذیه صحیح، افزایش یافته است (۴). در عین حال طغیان بیماری های منتقله از غذا نیز در نتیجه مصرف چنین محصولاتی روند افزایشی نشان می دهد (۵ و ۶). به عنوان مثال در سال ۲۰۰۶ طغیان اشریشیاکلی O157:H7 در ایالات متحده امریکا به واسطه ی مصرف اسفناج رخ داد که ۲۰۰ مورد بیماری و ۳ مورد مرگ در پی داشت (۶). از آنجا که بیشتر محصولات تازه به میزان کم فراوری می شوند و اغلب به صورت خام مصرف می گردند، آلودگی آنها به پاتوژن می تواند خطری جدی به حساب آید (۴).

از جمله باکتری های بیماری زای منتقله از غذا اشریشیاکلی می باشد که هم زیست دستگاه گوارش انسان و حیوانات خون گرم است. اشریشیاکلی شاخص مناسب مدفوعی به شمار می رود و وجود آن ممکن است نشانه ای از حضور باکتری های بیماری زای مدفوعی مانند سالمونلا و شیگلا باشد. انواع بیماری زای آن نیز باعث عفونت های روده ای و خارج روده ای مانند گاستروانتریت، عفونت دستگاه ادراری، مننژیت، پریتونیت و سپتی سمی می شوند (۷-۹). گزارش های متعددی مبنی بر وجود این باکتری در انواع مختلف غذاها از جمله در سبزی ها وجود دارد. مثلاً وجود آن در آب سیب، کلم، کرفس، گشنیز، جوانه شاهی، کاهو و گوجه فرنگی گزارش شده است (۱۰ و ۱۱). باکتری مهم دیگر در زمینه بهداشت مواد غذایی

انتروکوکوس است. انتروکوکوس فکالیس و انتروکوکوس فاسیوم، گونه هایی از این جنس اند که در زمینه ایجاد عفونت های بالینی مانند باکتری می، اندوکاردیت، عفونت ادراری، عفونت زخم های جراحی و به میزان کمتر عفونت های نوزادی و سیستم عصبی مرکزی و سایر عفونت ها نقش بیشتری دارند. در مواد غذایی نیز این دو، شایع ترین گونه ها می باشند. هر چند انتروکوکوس ها می توانند خواص پروبیوتیکی داشته و به دلیل ایجاد عطر و طعم و نیز تولید باکتریوسین از نظر تکنولوژیکی مفید باشند ولی از آن جا که ساکن طبیعی روده ی انسان و حیوانات هستند، شاخص مدفوعی در مواد غذایی محسوب شده و از این حیث اهمیت دارند (۱۵-۱۲). شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل، یکی از شاخص های میکروبی کیفیت مواد غذایی به حساب می آید و منعکس کننده ی قرار گرفتن محصول در معرض هر گونه آلودگی است. این پارامتر جهت نشان دادن این که تمیز کردن، ضد عفونی کردن و کنترل دما در طی فراوری صنعتی، حمل و نقل و انبارمانی به قدر کافی اعمال شده است یا نه، به کار می رود (۱۶).

با توجه به اهمیت ذکر شده و با در نظر گرفتن این که انتروکوکوس و اشریشیاکلی در استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۰۸۲ (۱۷) و در جدول حد مجاز میکروبی مورد استفاده برای کنترل مواد غذایی در ایران، جزء شاخص های میکروبی در کنترل کیفیت سبزی ذکر شده اند؛ این مطالعه با هدف تعیین میزان آلودگی میکروبی در سبزی های مصرفی جنوب تهران، از لحاظ این سه پارامتر، انجام گرفت.

## روش بررسی

این مطالعه از نوع توصیفی به مدت ۶ ماه از اردیبهشت ماه تا مهر ماه سال ۱۳۹۲ و با توجه به شیوع ۴۵٪ آلودگی در سالاد و سبزی (۱۶ و ۱۳) و با سطح اطمینان ۹۵٪ نسبت مذکور طوری برآورد شد که خطای برآورد حداکثر ۵٪ باشد، تعداد نمونه ۹۵ بدست آمد که جهت روند شدن بر روی ۱۰۰ نمونه از انواع مختلف سبزی که به صورت بسته بندی و غیر بسته بندی بود انجام گردید. سبزی ها شامل: اسفناج خرد شده، پیازچه، سبزی خوردن مخلوط آماده مصرف، سبزی ککوی خرد شده، فلفل سبز قلمی، قارچ، کلم بروکلی، جوانه گندم، جوانه ماش و نیز ریحان بود. تعداد ۱۰ نمونه ریحان از کبابی های زیر نظر دانشگاه علوم پزشکی تهران از سه منطقه ی: جنوب شهر

و پس از گرم خانه گذاری به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در  $37^{\circ}\text{C}$  در صورت وجود گاز و کدورت، چند قطره از آن به محیط آب پپتونه (Merck) منتقل شد و در بن ماری  $44^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۴-۴۸ ساعت گرم خانه گذاری گردید و نیز از محیط EC برات روی مک کانکی آگار (Merck) کشت خطی داده شد و در  $37^{\circ}\text{C}$  گرم خانه گذاری انجام شد. در صورت مشاهده حلقه قرمز با ریختن معرف کوکس (شرکت بهار افشان) در آب پپتونه و مشاهده کلنی روی مک کانکی آگار، آزمون های تشخیصی اوره (محیط پایه Merck)، تخمیر قند در محیط (Merck) Triple sugar iron agar و حرکت، تولید  $\text{SH}_2$  و تولید گاز در محیط SIM (Difco) بر روی کلنی ها انجام گرفت. بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۰۸۲ (۱۷)،  $1 \times 10^6$  کلنی تشکیل شده در هر گرم (cfu/g) برای شمارش کلی میکروارگانیسم ها،  $1 \times 10^2$  cfu/g برای شمارش انتروکوکوس، و فقدان وجود اشریشیاکلی در یک گرم نمونه، حدود قابل قبول در نظر گرفته شد.

### یافته ها

از ۱۰۰ نمونه سبزی مورد آزمون ۸۲ نمونه (۸۲٪) آلودگی بیش از حد مجاز به یک یا چند عامل داشتند که توزیع فراوانی آن در بین انواع سبزی در جدول ۱ نشان داده شده است.

تهران، شهرداری و اسلام شهر توسط معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران نمونه برداری شد و بقیه سبزی ها هر کدام به تعداد ۱۰ نمونه از فروشگاه های مختلف در سطح شهر تهران خریداری شدند. در این مطالعه سعی بر این بود که بیشتر سبزی هایی بررسی شوند که فرایند حرارتی قبل از مصرف ندارند و یا فرایند حرارتی مختصری دارند.

نمونه ها از نظر شمارش کلی میکروارگانیسم ها، شمارش انتروکوکوس و شناسایی اشریشیاکلی بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره های ۵۲۷۲، ۲۱۹۸ و ۲۹۴۶ (۲۰-۱۸) آزمایش شدند. برای شمارش کلی میکروارگانیسم ها کشت پورپلیت از رقت مورد نظر تهیه شده با سرم فیزیولوژی استریل در محیط (Scharlau) plate count agar و گرم خانه گذاری به مدت ۴۸-۷۲ ساعت در  $30^{\circ}\text{C}$  انجام شد. شمارش انتروکوکوس با کشت پورپلیت رقت مورد نظر تهیه شده با سرم فیزیولوژی استریل در محیط (Scharlau) Kenner fecal agar (KF) انجام گرفت. جهت شناسایی اشریشیاکلی ۱۰ سی سی از رقت ۰/۱ به محیط لوریل سولفات برات دوپل (Merck) حاوی لوله دورهام افزوده شده و پس از گرم خانه گذاری به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در  $37^{\circ}\text{C}$  در صورت وجود گاز و کدورت، چند قطره از آن به محیط EC برات (Merck) حاوی لوله دورهام منتقل گردید.

جدول ۱: توزیع فراوانی سبزی های غیر قابل مصرف بر حسب نوع میکروارگانیسم

نوع نمونه	*شمارش کلی میکروارگانیسم ها	شمارش انتروکوکوس	شناسایی اشریشیاکلی
اسفناج	۱۰	۱۰	۱
کلم بروکلی	۰	۳	۰
پیازچه	۱	۴	۰
جوانه گندم	۱۰	۱۰	۲
جوانه ماش	۹	۱۰	۳
ریحان	۳	۶	۰
سبزی خوردن	۱۰	۱۰	۲
سبزی کوکو	** ۱۰	** ۱۰	۳
فلفل	۶	۱۰	۰
قارچ	۸	۵	۱

\* واحد شمارش (cfu/g: Colony-Forming Units per Gram)

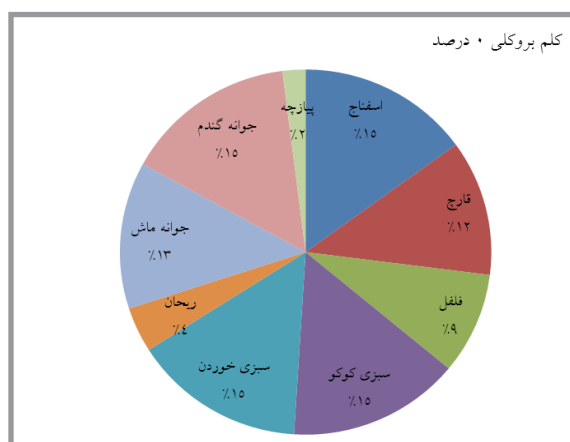
\*\* سبزی کوکو طبق جدول حد مجاز میکروبی، و استاندارد ملی ایران فاقد معیار شمارش انتروکوکوس و شمارش کلی میکروارگانیسم ها است.

غیر قابل مصرف بودند. در مورد پیازچه، ریحان و قارچ، به ترتیب ۴۰، ۶۰ و ۹۰٪ آن ها، از نظر وجود حداقل یکی از

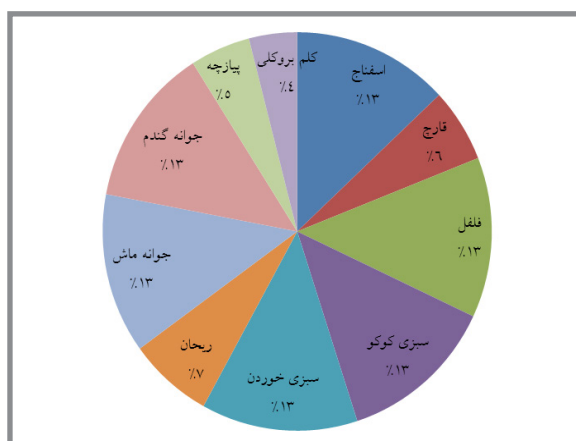
همان طور که در جدول ۱ مشاهده می شود، تمامی نمونه های سبزی خوردن، اسفناج، جوانه گندم و جوانه ماش

نمونه های سبزی کوکو و ۳۰٪ نمونه های بروکلی نیز آلودگی بیش از حدود ذکر شده داشتند.

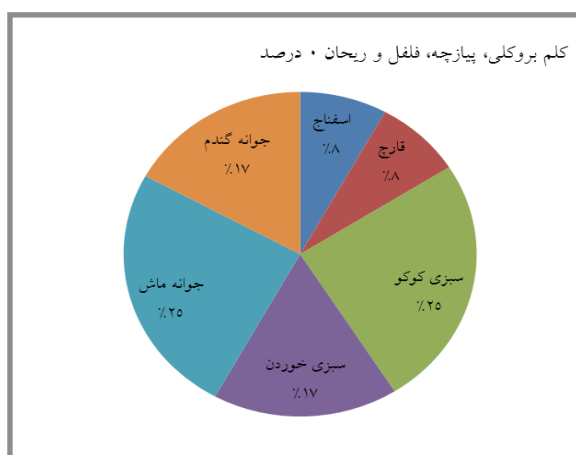
پارامترها، با حدود قابل قبول مغایرت نشان داده و در نتیجه غیر قابل مصرف بودند. ۱۰۰٪ نمونه های فلفل، ۱۰۰٪



نمودار ۱: توزیع فراوانی مغایرت سبزی ها با حد مجاز شمارش کلی میکروارگانيسم ها در معیار ۱۰۰ باکتری



نمودار ۲: توزیع فراوانی مغایرت سبزی ها با حد مجاز انتروکوکوس



نمودار ۳: توزیع فراوانی مغایرت سبزی ها با حد مجاز اشريشياکلی

هوازی (APC) را  $7/6$  تا  $8/9$   $\log \text{cfu/g}$  به دست آوردند که این میزان با مقادیر به دست آمده در مطالعه ی ما مطابقت دارد یعنی بیش از  $10^6$   $\text{cfu/g}$  می باشد (۲۱). در اسپانیا نیز شمارش میکروارگانیزم های هوازی مزوفیل در جوانه ها به طور متوسط  $7/3$   $\log \text{cfu/g}$  به دست آمد و اشریشیاکلی در ۴۰٪ آنها وجود داشت (۶). این نتایج مشابه مطالعه حاضر است. رطوبت دائمی، مواد مغذی خارج شده از دانه های در حال جوانه زدن و دمای بالا، عامل رشد باکتری های پاتوژن مانند اشریشیاکلی O157:H7 در تولید جوانه است (۲۲). در بررسی Mukherjee و همکاران در مینه سوتا که قبل از برداشت محصول انجام گرفت، فراوانی اشریشیاکلی در بروکلی و فلفل سبز کاشت شده به طور معمولی (غیر ارگانیک)، ۰٪ به دست آمد که در هر دو مورد با مطالعه ی ما مطابقت دارد (۲۳). Falomir و همکاران در بررسی خود در اسپانیا، در ۵۰٪ سبزی های مورد مطالعه آلودگی مشاهده نمودند، که در مقایسه با نتایج ما (۸۲٪) از آلودگی کمتری برخوردار بودند (۲۴). در مطالعه دیگری در امریکا بر روی سبزی ها، از مزرعه تا بسته بندی، توسط Johnston و همکاران شمارش میکروارگانیزم های هوازی در گشنیز  $6/1$   $\log \text{cfu/g}$  و میزان انتروکوکوس آن  $1/9$   $\log \text{cfu/g}$  آمد. همین مقادیر در شوید به ترتیب  $5/4$  و  $3/6$   $\log \text{cfu/g}$  در جعفری  $5/6$  و  $2/5$  و در اسفناج  $5/8$  و  $2/1$  بود که نشان دهنده ی کیفیت بسیار بالاتر این محصولات در مقایسه با سبزی خوردن و اسفناج در مطالعه ی ماست؛ علی رغم این که تمامی نمونه های سبزی خوردن و ۸۰٪ نمونه های اسفناج در مطالعه ی ما بسته بندی شده آماده ی مصرف بودند (۲۵). شمارش کلی میکروارگانیزم ها در بررسی Valentin Bon و همکاران بر روی اسفناج بسته بندی شده، به طور متوسط  $7/7$   $\log \text{cfu/g}$  در نوع معمولی و  $7/2$   $\log \text{cfu/g}$  در نوع ارگانیک بود که نشان دهنده ی میزان بالای آن است و با مطالعه ما نیز هم خوانی دارد (۲۶). در نوع ارگانیک و معمولی اسفناج، در مطالعه Bohaycuk و همکاران در کانادا نیز به ترتیب ۳/۸٪ و ۲/۱٪ اشریشیاکلی وجود داشت و در پیازچه نیز این مقادیر به ترتیب  $1/3$  و  $1/1$  بود که در مورد اسفناج کمتر و در مورد پیازچه کمی بیش از مطالعه ی ما می باشد (۲۷).

حضور و تعداد میکروارگانیزم ها، بسته به نوع محصول، فعالیت های کشاورزی، منطقه جغرافیایی و شرایط آب و هوایی قبل از برداشت، متغیر است. اکوسیستم های میکروبی مختص انواع مختلف محصولات پس از برداشت به میزان زیادی از

شکل های ۱ تا ۳، توزیع فراوانی مغایرت با حد مجاز را در انواع نمونه های سبزی بر حسب نوع آلودگی نشان می دهند. همان طور که در شکل ها مشاهده می گردد بیشترین میزان مغایرت با حد مجاز از نظر شمارش کلی میکروارگانیزم ها، مربوط به اسفناج، جوانه گندم و سبزی خوردن و سبزی کوکو و بیشترین میزان مغایرت با حد مجاز از نظر شمارش انتروکوکوس نیز مربوط به اسفناج، جوانه گندم، جوانه ماش، سبزی خوردن، سبزی کوکو و فلفل بود. در همه این موارد، ۱۰۰٪ نمونه ها آلودگی بیش از حد مجاز داشتند. بالاترین میزان آلودگی به اشریشیاکلی نیز مربوط به جوانه ماش و سبزی کوکو بود.

## بحث

در میان مواد غذایی، سبزی ها، فراورده هایی هستند که به دلیل بی توجهی و عدم رعایت کامل اصول بهداشت فردی کارکنان و عدم شستشوی صحیح و همچنین مصرف خام آنها، در اکثر موارد می توانند منبع آلودگی به باکتری ها و کلیفرم های روده ای باشند.

از ۱۰۰ نمونه سبزی مورد آزمون ۸۲ نمونه (۸۲٪) آلودگی بیش از حد مجاز داشتند. بیشترین میزان مغایرت با حد مجاز از نظر شمارش کلی میکروارگانیزم ها، مربوط به اسفناج، جوانه گندم، سبزی خوردن و سبزی کوکو و بیشترین میزان مغایرت با حد مجاز از نظر شمارش انتروکوکوس مربوط به اسفناج، جوانه گندم، جوانه ماش، سبزی خوردن، سبزی کوکو و فلفل بود. در همه این موارد، ۱۰۰٪ نمونه ها آلودگی بیش از حد مجاز داشتند. بالاترین میزان آلودگی به اشریشیاکلی نیز مربوط به جوانه ماش و سبزی کوکو بود. در بین سبزی ها، کمترین آلودگی از نظر سه پارامتر نامبرده مربوط به کلم بروکلی و پس از آن پیازچه بود. کلم بروکلی با وجود فله بودن و عدم شستشو و بسته بندی کارخانه ای، با ۳ نمونه ی آلوده، کمترین میزان آلودگی را داشت. ریجان نسبت به سایر سبزی های برگی شکل آماده ی مصرف بسته بندی شده، آلودگی کمتری داشت. این مسئله ممکن است به دلیل استفاده نکردن و یا عدم استفاده بهینه از مواد ضد عفونی کننده در صنعت، دستکاری های فراوان، بار آلودگی بالای مواد اولیه و یا شرایط بهداشتی نامناسب در تولید باشد.

Saraj و همکاران در هند، چند نوع جوانه از جمله جوانه ماش را بررسی کرده و شمارش کلی میکروارگانیزم های

بازار یکی از نقص های این کار محسوب می شود و ممکن است با گسترش واحدهای تولید کننده ی سبزی های بسته بندی شده و بر حسب کیفیت تولید آنها، این نتایج نیز تغییر یابند. همچنین استانداردهای ملی ایران که برای کنترل کیفیت سبزی ها تدوین شده نقص هایی دارد و بازنگری آنها ضروری به نظر می رسد. از جمله استاندارد ویژگی های جوانه گندم، جوانه ماش، قارچ، اسفناج و پیازچه به شماره های ۱۱۲۴۴، ۱۱۲۴۵، ۱۶۲۷، ۳۸۷ و ۷۹۳۲، که ویژگی های میکروبی در آنها تعریف نشده است (۳۳-۲۹).

### نتیجه گیری

میکروارگانیسم های موجود در سبزی ها، بازتاب مستقیمی از کیفیت بهداشتی آب مورد استفاده برای کشت، مرحله برداشت، حمل و نقل، ذخیره سازی و فراوری محصول است. نتایج ما نشان می دهد که آلودگی ۸۲٪ سبزی های خام به ویژه مصرف سبزی هایی که به صورت خام مصرف می شوند (سبزی خوردن، جوانه گندم، جوانه ماش) نیاز به دقت بیشتر به هنگام شستشو و استفاده از دستورالعمل های بهداشتی به هنگام خرید و مصرف دارد.

لذا پیشنهاد می گردد که ارزیابی میکروبی منابع آبی و کود مورد استفاده در تولید محصولات کشاورزی از جمله سبزی ها، ارائه آموزش های لازم برای کشاورزان در زمینه استفاده از منابع آبی و کود مناسب و آموزش افراد دخیل در امر تولید این محصولات جهت کاهش دستکاری ها انجام شود. همچنین نظارت بیشتر از جانب معاونت های بهداشتی، معاونت های غذا و دارو و نیز سازمان استاندارد ایران، بر تولید چنین محصولاتی ضرورت دارد.

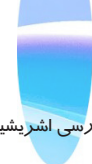
### تشکر و قدردانی

این مقاله، نتیجه ی بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۲۱۹۴۲ می باشد. بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که از نظر مالی حامی این طرح تحقیقاتی بوده اند، تشکر و سپاسگزاری می شود. همچنین مراتب تقدیر و تشکر خود را از مساعدت های صمیمانه مسئولان و کارکنان محترم معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران ابراز می نماید.

دستکاری ها و شرایط ذخیره سازی، فراوری، بسته بندی، توزیع و فروش تأثیر می پذیرد. منابع بالقوه آلوده کننده پیش از برداشت محصولات می تواند خاک، مدفوع، آب آبیاری، آب به کار برده شده جهت استفاده از قارچ کش ها و حشره کش ها، گرد و خاک، حشرات، کود کمپوست نشده، حیوانات اهلی و وحشی و دستکاری های انسان باشد. منابع آلودگی پس از برداشت نیز شامل مدفوع، دستکاری ها، تجهیزات برداشت محصول، وسایل و ظروف حمل و نقل، حیوانات اهلی و وحشی، حشرات، گرد و غبار، آب شستشو، یخ و وسایل فراوری است (۵). در بسیاری از کشورها، فاضلاب های شهری برای آبیاری مزارع کشاورزی استفاده می شود که پاتوژن های روده ای موجود در آنها، در خاک و محصولات باقی مانده و مشکلات بهداشتی برای انسان ایجاد می کنند (۲۲). کود یکی دیگر از عوامل آلوده کننده ی مزارع به باکتری هایی از قبیل اشریشیاکلی است که می تواند هفته ها و ماه ها در خاک باقی مانده و باعث آلودگی محصول گردد (۲۸). هر چند شستن پس از برداشت محصول تازه، روش مهمی برای کاهش پاتوژن ها می باشد ولی برخی عوامل از جمله وجود پاتوژن در داخل بافت گیاه، تشکیل بیوفیلم توسط باکتری و نیز آبریزی سطح گیاه اثربخشی آن را محدود می کنند (۴). جلوگیری از آلودگی سبزی ها با میکروارگانیسم ها، به عهده ی تمام افراد دخیل در فعالیت های قبل از برداشت، حین برداشت و پس از برداشت محصول است و در این زمینه آموزش افراد به ویژه آموزش کشاورزان در استفاده از آب و کود مناسب ضروری است (۱۶). احتمالاً تمامی این موارد در مغایر بودن نتایج این مطالعه با برخی مطالعات یاد شده دخیل بوده اند.

دستورالعمل های کاری تجزیه و تحلیل خطر نقاط کنترل بحرانی و مدیریت جامع کیفیت (HACCP-TQM)، ویژگی های میکروبی مواد غذایی خام را وضع کرده است. شمارش میکروبی های هوازی در مواد غذایی با  $CFU/g > 10^4$ ،  $5 \times 10^6 - 5 \times 10^7$ ،  $5 \times 10^7 <$ ،  $5 \times 10^7$  به ترتیب، درجه خوب، متوسط، ضعیف و فاسد در نظر گرفته می شوند (۱۶). از آن جا که حد مجاز آلودگی در مطالعه ما  $1 \times 10^6$  بود و با توجه به نتایج بیان شده و نیز با در نظر گرفتن این که بسیاری از نمونه های مورد بررسی در این مطالعه، آماده ی مصرف بودند، کیفیت پایین سبزی های تازه بسته بندی شده و غیر بسته بندی شده ی عرضه شده در جنوب تهران مشهود است که باید بررسی شود. البته محدود بودن برندهای موجود در

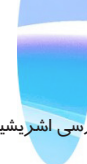
1. Hanson LA, Zahn EA, Wild SR, Döpfer D, Scott J & Stein C. Estimating global mortality from potentially foodborne diseases: an analysis using vital registration data. *Population Health Metrics* 2012; 10(1): 5.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Estimates of foodborne illness in the United States. 2011. Available at: <http://www.cdc.gov/foodborneburden>. 2014.
3. Buzby JC & Roberts T. The economics of enteric infections: human foodborne disease costs. *Gastroenterology* 2009; 136(6): 1851-62.
4. Olaimat AN & Holley RA. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. *Food Microbio* 2012; 32(1): 1-19.
5. Beuchat LR. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and Infection* 2002; 4(4): 413-23.
6. Abadias M, Usall J, Anguera M, Solsona C & Viñas I. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology* 2008; 123(1-2): 121-9.
7. Tadesse DA, Zhao S, Tong E, Ayers S, Singh A, Bartholomew MJ, et al. Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950-2002. *Emerging Infectious Diseases* 2012; 18(5): 741-9.
8. Ishii S, Ksoll WB, Hicks RE & Sadowsky MJ. Presence and growth of naturalized *Escherichia coli* in temperate soils from Lake Superior watersheds. *Applied and Environmental Microbiology* 2006; 72(1): 612-21.
9. Weintraub A. Enteroaggregative *Escherichia coli*: epidemiology, virulence and detection. *Journal of Medical Microbiology* 2007; 56(1): 4-8.
10. Buck JW, Walcott RR & Beuchat LR. Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. *Plant Health Progress* 2003; 10(1): 1094.
11. Enabulele SA & Uraih N. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* 0157: H7 prevalence in meat and vegetables sold in Benin City, Nigeria. *African Journal of Microbiology Research* 2009; 3(5): 276-9.
12. Abriouel H, Omar NB, Molinos AC, Lopez RL, Grande MJ, Viedma PM, et al. Comparative analysis of genetic diversity and incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococcal populations from raw fruit and vegetable foods, water and soil, and clinical samples. *International Journal of Food Microbiology* 2008; 123(1-2): 38-49.
13. Gomes BC, Esteves CT, Palazzo ICV, Darini ALC, Felis GE, Sechi LA, et al. Prevalence and characterization of *Enterococcus* spp. Isolated from Brazilian foods. *Food Microbiology* 2008; 25(5): 668-75.
14. Fisher K & Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* 2009; 155(6): 1749-57.
15. Franz CM, Holzapfel WH & Stiles ME. Enterococci at the crossroads of food safety? *International Journal of Food Microbiology* 1999; 47(1-2): 1-24.
16. Aycicek H, Oguz U & Karci K. Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2006; 209(2): 197-201.



17. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Packed fresh vegetable to ready for use - specifications and test methods. 2007. Available at: <http://www.isiri.gov.ir/portal/files/std/10082>. PDF. 2015.
18. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding stuffs- horizontal method for the enumeration of microorganisms- colony count technique at 30°C. 2007. Available at: <http://www.isiri.gov.ir/portal/files/std/5272.pdf>. 2015.
19. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of foods and food stuffs – detection and enumeration of Enterococcus in food. 2008. Available at: <http://www.isiri.gov.ir/portal/files/std/2198.pdf>. 2015.
20. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding stuffs- detection and enumeration of presumptive Escherichia coli -most probable number technique. 2005. Available at: <http://www.isiri.gov.ir/portal/files/std/2946.pdf>. 2015.
21. Saroj SD, Shashidhar R, Dhokane V, Hajare S, Sharma A & Bandekar JR. Microbiological evaluation of sprouts marketed in Mumbai, India, and its suburbs. *Journal of Food Protection* 2006; 69(10): 2515-8.
22. Ibenyassine K, Mhand RA, Kranoko Y, Anajjar B, Chouibani MM & Ennaji M. Bacterial pathogens recovered from vegetables irrigated by wastewater in Morocco. *Journal of Environmental Health* 2007; 69(10): 47-51.
23. Mukherjee A, Speh D, Dyck E & Diez-Gonzalez F. Preharvest evaluation of coliforms, Escherichia coli, Salmonella, and Escherichia coli O157: H7 in organic and conventional produce grown by Minnesota farmers. *Journal of Food Protection* 2004; 67(5): 894-900.
24. Falomir MP, Rico H & Gozalbo D. Enterobacter and klebsiella species isolated from fresh vegetables marketed in Valencia (Spain) and their clinically relevant resistances to chemotherapeutic agents. *Foodborne Pathogens and Disease* 2013; 10(12): 1002-7.
25. Johnston LM, Jaykus LA, Moll D, Martinez MC, Anciso J, Mora B, et al. A field study of the microbiological quality of fresh produce. *Journal of Food Protection* 2005; 68(9): 1840-7.
26. Valentin-Bon I, Jacobson A, Monday SR & Feng PCH. Microbiological quality of bagged cut spinach and lettuce mixes. *Applied and Environmental Microbiology* 2008; 74(4): 1240-2.
27. Bohaychuk VM, Bradbury RW, Dimock R, Fehr M, Gensler GE, King RK, et al. A microbiological survey of selected Alberta-grown fresh produce from farmers' markets in Alberta, Canada. *Journal of Food Protection* 2009; 72(2): 415-20.
28. Ceuppens S, Hessel CT, de Quadros Rodrigues R, Bartz S, Tondo EC & Uyttendaele M. Microbiological quality and safety assessment of lettuce production in Brazil. *International Journal of Food Microbiology* 2014; 181(1): 67-76.
29. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Sprout of wheat -specifications. 2008. Available at: <http://www.isiri.gov.ir/portal/files/std/11244.pdf>. 2015.
30. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Sprout of vetch - specifications. 2008. Available at: <http://www.isiri.gov.ir/portal/files/std/11245.pdf>. 2015.
31. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Edible mushrooms – specifications. 2007. Available at: <http://www.isiri.gov.ir/portal/files/std/1627.pdf>. 2015.



32. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Fresh spinach-specifications and test methods. 2010. Available at: <http://isiri.org/portal/file/?28824/387.pdf>. 2015.
33. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Chives – specification and test method. 2004. Available at: <http://www.isiri.gov.ir/portal/files/std/7932.doc>. 2015.



# A Survey of Escherichia Coli, Enterococcus and Total Microbial Count of Packaged and Non-Packaged Fresh Vegetables in Tehran

Soltan Dallal Mohammad Mehdi<sup>1</sup> (Ph.D.) - Shojaei Zinjanab Maryam<sup>2</sup> (B.S.) - Vahedi Saeid<sup>3</sup> (Pharm.D.) - Mahmoudi Hamid<sup>4</sup> (B.S.) - Ghanbarzadeh Shahroud<sup>4</sup> (B.S.) - Hedayati Rad Fatemeh<sup>5</sup> (M.S.)

1 Professor, Microbiology Section, Pathobiology Department, School of Public Health, Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2 Master of Sciences Student in Food Microbiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3 Academic Instructor, Operating Room Department, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4 Bachelor of Science in Environmental Health, Health Deputy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5 Master of Science in Food Microbiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

## Abstract

Received: Mar 2016

Accepted: Jun 2016

**Background and Aim:** Vegetables are one of the major components of food basket and consumption of them is on the rise. On the other hand, diseases and outbreaks caused by this group of foodstuffs have increasing trend. This study was performed to investigate the microbial contamination of vegetables used in south of Tehran.

**Materials and Methods:** Hundred fresh packaged and non packaged vegetable samples composed of 10 kinds, were examined based on the methods presented in Iran national standards. For each sample, enumeration of enterococcus and total microbial count was carried out by the pour plate technique in KF agar and plate count agar, respectively. Escherichia coli detection was also performed using lauryl sulfate broth, EC broth, peptone water and Mac Conkey agar mediums. Biochemical tests namely urea hydrolysis, motility, sulfide hydrogen (SH<sub>2</sub>) production, gas production and sugar fermentation were conducted as conformational tests of Escherichia coli.

**Results:** All (100%) of mixed leafy vegetables, spinaches, peppers, kuku (Persian food) vegetables, wheat sprouts and mung been sprouts had contamination higher than acceptable limits. In the case of green onions, basils, kuku vegetables, mushrooms and broccolis, respectively 40, 60, 30, 90 and 30% of the samples were in contravention with acceptable limits, in terms of at least one parameter.

**Conclusion:** Our results show that consumption of vegetables specially those used as raw, need more attention at washing point and need to use hygienic rules of health department and health care centers, at shopping and consumption steps.

**Key words:** Escherichia Coli, Enterococcus, Total Microbial Count, Vegetables

\* Corresponding Author:

Shojaei Zinjanab M;

Email:

Maryam\_shojaei60@yahoo.com