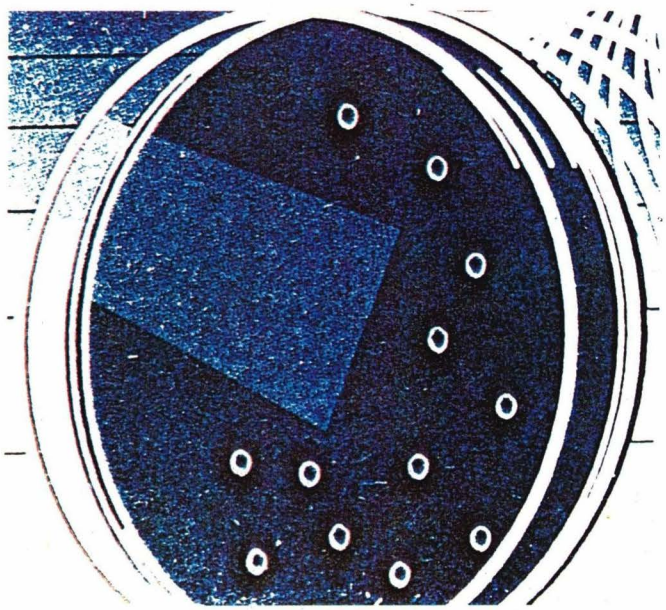
AF ۵۱۲

بررسی ماندگاری *Listeria monocytogenes* در پنیر سفید ایرانی طی مراحل تولید و رسیدن

مهندس مرتضی خمیری،
دکتر جلیل‌وند یوسفی، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقاتی و سرم‌سازی رازی



شکل ۱- کلنی‌های *L. monocytogenes* بر روی محیط PALCAM

چکیده

در این تحقیق توانایی رشد و ماندگاری (قدرت زنده ماندن) *Listeria monocytogenes* (سروتیپ 4b) در طول مراحل تهیه و رسیدن پنیر سفید ایرانی (تهیه شده در آب نمک) مورد آزمایش قرار گرفت. با استفاده از شیر پاستوریزه ۲/۵٪ و تلقیح تقریبی $۶/۹\times۱۰^{۵}$ - $۱/۴\times۱۰^{۶}$ cfu/ml *L. monocytogenes* طی ۳ آزمایش با استفاده از روش مرسوم در کارخانه شیر پاستوریزه تهران اقدام به تهیه پنیر گردید. استارتر افزوده شده به شیر از نوع Y.۷۰۹ تهیه شده از شرکت VIZBY مخلوطی از *L. bulgaricus* و *Lactobacillus delbrochii* *Str. thermophilus* بوده است که به میزان ۰/۵ (V/V)٪ پنیر تازه در آب نمک استریل ۲۲٪ قرار داده شده و به مدت ۱۸-۱۶ ساعت در دمای اتاق (۲۵°c-۲۰) نگهداری شد پس از خارج کردن پنیر از آب ۲۲٪ آن را به آب نمک ۱۰٪ حاوی ۳٪ (V/V) ماست و اسیدیته ۶۵°D-۶۰ منتقل و سپس برای گذراندن دوره رسیدن در انبار ۱۴°c-۱۲ کارخانه شیر پاستوریزه نگهداری شد. شیر، دلمه، آب پنیر، پنیر و آب نمک برای پی‌بردن به وضعیت *L. monocytogenes* و تغییرات pH مورد آزمایش قرار گرفتند. نمونه‌های دوتایی شمارش کلنی‌های *L. monocytogenes* برداشت شده و بر روی محیط‌های PALCAM و آگار خون‌دار (BA) کشت شدند. *L. monocytogenes* در طول فرایند تولید در دلمه محبوس شده و تعداد آن در دلمه به میزان ۰/۸۳ Log cfu/g *L. monocytogenes* بیشتر از میزان تلقیح شده‌اش در شیر شد. آب پنیر به طور متوسط در مرحله تولید حاوی ۸/۳۱٪ میزان تلقیح اولیه *L. monocytogenes* در شیر بوده است. در طول دوره رسیدن طی ۲ هفته اول رشد *L. monocytogenes* محسوس بوده و تعداد آن به طور متوسط نسبت به قبل از شروع رسیدن ۰/۲۲ Log cfu/g *L. monocytogenes* افزایش یافت که نسبت به شیر تلقیح شده به میزان ۰/۳۸ Log cfu/g بیشتر بوده است. حداکثر تعداد این باکتری در این حالت $۲/۲\times۱۰^{۶}$ cfu/g بوده است. اما در هفته‌های بعد با کاهش pH و توقف رشد تعداد آن کاهش یافت این باکتری بیش از ۴۵ روز (مدت رسیدن) در پنیر سفید ایرانی زنده ماند.

مقدمه

لیستریوز بیماری مهلکی است که در چندین همه گیری اخیر در دهه ۸۰ باعث تحریک بسیاری از محققین جهت بررسی منابع علمی و استفاده از امکانات موجود برای شناسایی این باکتری در انواع مواد غذایی شده است. عامل این بیماری باکتری میله‌ای گرم مثبت، بدون اسپور، کوتاه و سرمادوستی است که با تاژک محیطی، در ۲۵°c-۲۰ قادر به حرکت بوده و علاوه بر انسانها در حیوانات نیز عامل بیماری می‌باشد (۱۳، ۱۱، ۱۶). این بیماری باعث سقط جنین در زنان باردار، آنسفالیت در کودکان و افراد مستعد و مننژیت می‌شود. (۲۲، ۹، ۱۱) این باکتری باعث بیماریهایی همچون ورم پستان و سقط جنین در حیوانات می‌شود. بیشتر این حیوانات اغلب تا سه ماه بعد علائم کلینیکی *L. monocytogenes* را ظاهر می‌سازند (۱۶، ۱۲). عامل این بیماری، *L. monocytogenes* ممکن است از طریق تماس با حیوانات آلوده یا مصرف غذاهای آلوده به انسان انتقال یابد. فرآورده‌های لبنی از غذاهایی هستند که بیشترین نقش در انتقال این آلودگی را دارا می‌باشند (۲۰، ۱۶). *L. monocytogenes* دارای مقاومت حرارتی بیشتری

شبنمی شکل، کمی برجسته و همولیزدار به قطر ۰/۵ تا ۱/۵میلی‌متر بر روی B.A شناسایی و شمارش گردید. پس از مشاهده میکروسکوپی و شناسایی آن در زیر میکروسکوپ، کلنی‌های مشکوک تحت آزمایشات بیوشیمیایی قرار گرفت. یکی از آنها واکنش کاتالاز بوده که با قرار دادن یک کلنی از آن در یک قطره هیدورژن پراکسید تشکیل یا عدم تشکیل کف (۲) را بررسی می‌شد. آزمایش بیوشیمیایی دیگر استفاده از محیط حرکت و قرار دادن یک نمونه در انکوباسیون 37^{oC} و نمونه دیگر در 25^{oC} بوده است پس از ۴۸ ساعت حرکت این باکتری، در 25^{oC} به وضوح مشخص بوده ولی در 37^{oC} حرکتی دیده نمی‌شد. نمونه‌هایی که از نظر وجود لیستریا باکشت اول منفی بوده است تحت شرایط غنی‌سازی در سرما قرار داده می‌شدند. برای این کار 25^{oC} یا ۲۵g از نمونه در ۲۲۵ml، TB ریخته و در یخچال 4^{oC} قرار داده می‌شد. در طول ۸ هفته، به طور هفته‌ای از آن نمونه گرفته و بر روی PALCAM و BA کشت و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در 37^{oC} مطابق روش شرح داده شده شناسایی و شمارش می‌گردید.

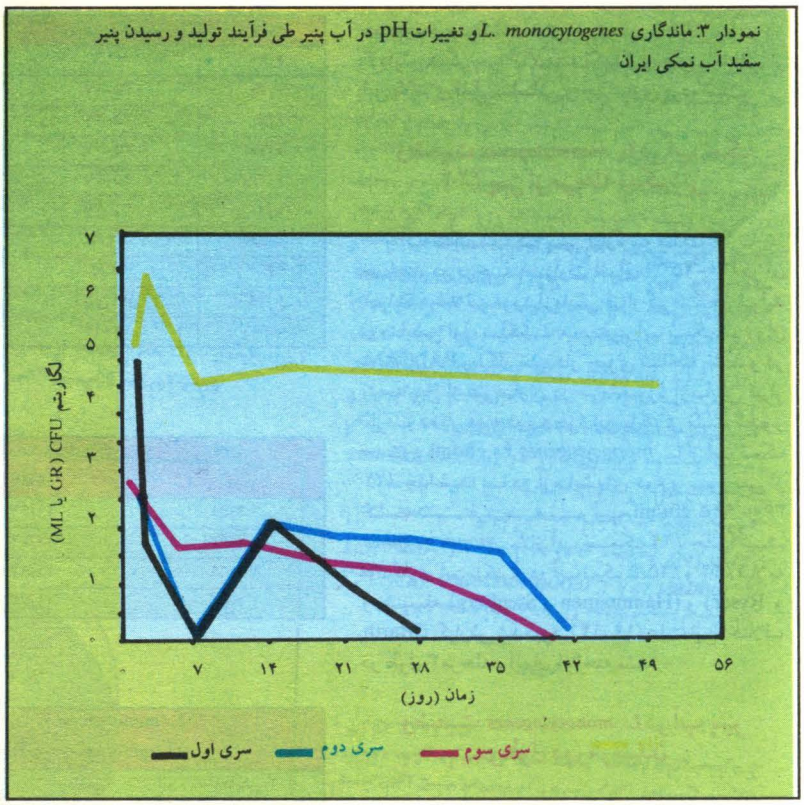
آزمایشات شیمیایی پنیر و آب پنیر

pH شیر، دلمه، آب پنیر، پنیر و آب نمک همزمان با شمارش تعداد *L. monocytogenes* به وسیله pH متر دیجیتال مدل ۲۰۰۰ Micro pH مطابق استاندارد پنیر اندازه گیری شد (۴). و همچنین این نمونه‌ها براساس شرایط استاندارد و روشهای مورد استفاده در کارخانه پاستوریزه تهران تحت آزمایشات تعیین درصد رطوبت، چربی در ماده خشک و نمک در ماده خشک قرار گرفتند (۲،۴،۳).

بحث و نتیجه گیری

ترکیبات پنیر

نتایج حاصل از آزمایشات مربوط به درصد چربی در ماده خشک (FDM)، درصد رطوبت، نمک و ماده خشک و pH پس از طی مرحله رسیدن در جدول ۲ آمده است. براساس استاندارد پنیر سفید (۴)، میزان نمک در ماده خشک پنیر باید بین ۸ و ۱۲٪ باشد و حداکثر میزان رطوبت نیز در این نوع از پنیرها نباید بیش از ۶۰٪ باشد. حداقل میزان چربی برای پنیرهای چرب ۳۰٪ و پنیرهای پرچرب ۴۰٪ می‌باشد. بر این اساس میزان نمک، درصد رطوبت و نیز درصد چربی در ماده خشک در پنیر تولیدی ما در محدوده استاندارد ایران قرار دارد. اما از نظر pH به میزان خیلی کمی با ان اختلاف دارد. زیرا از نظر استاندارد ایران نباید بالای ۴/۵ باشد، ولی پنیر تولید ما به طور متوسط ۰/۸ درجه بالاتر بوده است. لازم به یادآوری است اولاً استاندارد پنیر هنوز در کشور ما اجباری نشده و تنها رعایت ویژگیهای میکربی آن با توجه به بهداشت جامعه الزامی است نتیجتاًبالا یا پایین بودن pH آنچنان عامل الزامی نیست. ثانیاً چون شرایط تهیه پنیر همان شرایط معمول در کارخانجات شیر پاستوریزه تهران بوده است این نتایج با پنیرهای تولیدی این کارخانه دقیقاً همخوانی داشته و حتی به شرایط استاندارد ایران خیلی نزدیک بوده است.



وضعیت *L. monocytogenes* در طول فرآیند تهیه پنیر سفید ایرانی

همه شیرهای پاستوریزه در آزمایشات انجام شده تهیه پنیر از نظر وجود *L. monocytogenes* (به صورت کشت مستقیم و کشت غنی شده در سرما تا ۸ هفته) مورد آزمایش قرار گرفتند. در این بررسیها هیچگونه لیستریایی از شیرها جدا نگردید. وضعیت *L. monocytogenes* در طول فرآیند تولید پنیر سفید ایرانی در جدول ۳ و نمودار ۱ آمده است.

جمعیت *L. monocytogenes* در طول فرآیند تولید پنیر سفید ایرانی پس از بریدن دلمه به طور متوسط حدود ۰/۳۵cfu/g log بیشتر از میزان اولیه تلقیح بوده است که این میزان پس از پرس تا cfu/g ۰/۸۳log افزایش یافت که به دلیل رشد این باکتری در طول تهیه پنیر سفید ایرانی و نیز به دام افتادن آن در اثر خروج آب پنیر از دلمه می‌باشد. اما به خاطر بالا بودن میزان نمک پس از نمک‌زنی ۲۲٪ و اثر مهارکنندگان نمک (۱۹، ۱۶) این میزان به cfu/g Log ۰/۱۳ کاهش یافت.

ماندگاری (زنده ماندن) *L. monocytogenes* در طول رسیدن و پنیر سفید ایران

عمل رسیدن در دمای 14^{oC}-۱۲ در انبار رسیدن کارخانه شیر پاستوریزه تهران انجام شد. *L. monocytogenes* در طول رسیدن پنیر سفید آب نمکی ایران در ۱۴ روز اول دارای رشد بوده و تعدادش افزایش یافت مقدار افزایش نسبت به قبل از شروع رسیدن Log ۰/۲۲cfu/g بوده، که به میزان Log ۰/۳۸cfu/g *L. monocytogenes* در پنیر بیشتر از میزان آن در شیر تلقیح شده بوده است. حداکثر تعداد باکتری در این حالت $2/2\times10^{6}$cfu/g بوده است. اما از هفته سوم به بعد تعداد *L. monocytogenes* شروع به کاهش نمود که در هفته آخر رسیدن به پایین‌ترین حد خود ۲۶۵cfu/g *L. monocytogenes* رسید. علت کاهش تعداد این باکتری در مرحله رسیدن احتمالاً کاهش pH و نامساعد شدن شرایط رشد برای *L. monocytogenes* است. جدول ۴ ماندگاری این باکتری در طول دوره رسیدن ۳ آزمایش انجام شده را نشان می‌دهد.

نمودار ۲ ماندگاری *L. monocytogenes* در دوره رسیدن به ۳ آزمایش انجام شده را نشان می‌دهد و نیز تغییرات pH به طور متوسط در آن دیده می‌شود. تعداد این باکتری در دوره رسیدن تنها در دو هفته اول دارای مقدار کمی رشد است اما در هفته‌های بعد رشد آن متوقف شده و شروع به کاهش نمود. به طوری که در

جدول ۱: الگوی اصلی مراحل تولید پنیر سفید ایرانی

مراحل	زمان (ساعت)	دما(سانتیگراد)	pH
پاستوریزاسیون	۹/۰	۷۶/۰	۶/۷۰
تلقیح *L. monocytogenes*	۹/۳۰	۳۵-۳۷	۶/۷۰
افزودن استارتر کالچر	۱۰/۳۰	۳۵-۳۷	۶/۷۰
افزودن کلسیم کلراید	۱۰/۳۰	۳۵-۳۷	۶/۷۰
افزودن رنت	۱۱/۰۰	۳۵-۳۷	۶/۶۶
بریدن دلمه	۱۲/۳۰	۳۵-۳۷	۶/۱۰
آبگیری	۱۲/۴۵	۳۴/۱	۶/۰۲
پرس	۱۳/۱۵	۳۳/۵	۶/۰۱
قراردادن در آب نمک ۲۲٪ (۱۶-۱۸ ساعت)	۱۵/۰۰	دمای اتاق	۶/۱۹
نگهداری در انبار (۷ هفته)	-----	۱۲-۱۴	-----

جدول ۲: ترکیبات پنیر سفید ایرانی پس از دوره رسیدن

آزمایش	رطوبت (٪)	چربی در ماده خشک (٪) FDM	نمک در ماده خشک (٪) SDM	pH
۱	۵۸/۰۲	۳۹/۷۶	۱۱/۶۲	۴/۵۱
۲	۵۸/۴۵	۳۷/۴۲	۱۱/۷۴	۴/۶۳
۳	۵۸/۱۲	۳۹/۶۵	۱۱/۸۲	۴/۵۹
متوسط	۵۸/۲۰	۳۸/۹۵	۱۱/۷۳	۴/۵۸

جدول ۳: وضعیت *L. monocytogenes* طی مراحل تولید پنیر سفید ایرانی

مراحل	مدت (ساعت)	تعداد *L. monocytogenes* (Logcfu/Ml or GR) آزمایش ۱	آزمایش۲	آزمایش ۳
پاستوریزاسیون شیر	۰/۰۰	<۱/۰۰[1]	<۱/۰۰	<۱/۰۰
تلقیح *L. monocytogenes*	۰/۵۰	۶/۱۵	۵/۸۸	۵/۸۴
دلمه قبل از برش	۲/۵۰	۶/۳۸	۶/۰۰	۶/۱۰
دلمه پس از برش	۳/۲۵	۶/۶۹	۶/۴۰	۶/۳۸
پنیر پس از پرس	۴/۷۵	۶/۹۳	۶/۸۳	۶/۶۲
پنیر پس از نمک‌زنی (۲۲٪)[2]	۲۲/۰۰	۶/۲۶	۶/۰۳	۶/۰۰

۱- *L. monocytogenes* پس از ۸ هفته نگهداری نمونه در ۴°C شناخته شد.

۲- درصد نمک در ماده خشک پنیر = ۱۶/۸۱

جدول ۴: وضعیت *L. monocytogenes* در طول دوره رسیدن پنیر سفید ایرانی

زمان (روز)	تعداد *L. monocytogenes* (Log cfu/Ml or GR) آزمایش ۱	آزمایش ۲	آزمایش ۳
۷	۶/۴۲	۶/۲۷	۶/۳۰
۱۴	۶/۴۳	۶/۲۸	۶/۳۶
۲۱	۵/۷۹	۵/۸۲	۵/۸۰
۲۸	۵/۰۰	۵/۵۰	۵/۳۰
۳۵	۴/۶۲	۵/۲۰	۵/۰۱
۴۲	۲/۱۰	۴/۸۲	۳/۵۱
۴۹	<۱/۰۰	۲/۸۴	۲/۰۴

L. monocytogenes طی ۸ هفته نگهداری نمونه در ۴°C شناسائی نشد

جدول ۵: وضعیت *L. monocytogenes* در آب پنیر طی تولید و رسیدن پنیر سفید ایرانی

زمان (روز)	تعداد *L. monocytogenes* (Log cfu/Ml or GR) آزمایش ۱	آزمایش ۲	آزمایش ۳
۱ (پس از برش	۴/۹۵	۴/۸۹	۴/۹۰
۲ (آب نمک ۲۲٪)	۱/۷۸ (۲)[1]	۲/۵۶	۲/۹۷
۷	<۱/۰۰[2]	<۱/۰۰	۱/۷۹
۱۴	۱/۹۱	۲/۰۶	۱/۸۱
۲۱	۰/۸۵	۱/۸۳	۱/۴۸
۲۸	<۱/۰۰	۱/۷۲	۱/۳۴
۳۵	<۱/۰۰	۱/۵۱	۰/۷۸
۴۲	<۱/۰۰	<۱/۰۰	<۱/۰۰
۴۹	<۱/۰۰	<۱/۰۰	<۱/۰۰

۱- ( ) شماره هفته‌ای که *L. monocytogenes* در اثر غنی‌سازی در ۴°C شناخته شد.

۲- *L. monocytogenes* طی ۸ هفته غنی‌سازی در ۴°C شناسایی نشد.

آزمایش اول تعداد آن به صفر رسید (هم در کشت مستقیم و هم کشت غنی شده در سرما). اما در دو آزمایش دیگر پس از ۷ هفته نگهداری هنوز تعدادی از این باکتری قابل شناسایی و جداسازی بوده است.

وضعیت *L. monocytogenes* در آب نمک ۲۲٪ پس از مرحله نمک زنی

آب نمک ۲۲٪ که پنیر تازه به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت در درجه حرارت اتاق (۲۵°C-۲۰) در آن خوابانده شد نیز مورد آزمایش قرار گرفت. در تولید آزمایشی اول باکشت مستقیم آب نمک بر روی PALCAM و آگار خون‌دار چیزی شناخته نشد و در نتیجه پس از غنی‌سازی در سرما مورد آزمایش قرار گرفت که در هفته دوم وجود این باکتری مثبت شده و حدود ۶۰ cfu/ml *L. monocytogenes* از آب نمک ۲۲٪ جدا شد. اما در آزمایشهای دوم و سوم پس از کشت مستقیم به ترتیب ۹۴۵ cfu/ml -۳۶۰ *L. monocytogenes* از آب نمک ۲۲٪ جدا شد. ماندگاری این باکتری در آب نمک ۲۵/۵٪ و ۲۲٪ قبلاً به وسیله (Stenberg و Hammainen) و (Ryser و Marth) گزارش شده بود. (۱۴، ۱۹) علت این اختلاف در طول ۳ مرحله برایمان شناخته نشد.

وضعیت *L. monocytogenes* در آب پنیر در طول دوره رسیدن

پس از خارج کردن پنیر از آب نمک ۲۲٪ آن را در آب نمک ۱۰٪ استریل حاوی ۳٪ ماست (با اسیدیته D°۶۵-۶۰) ریخته و در انبار رسیدن (۱۴°C-۱۲) قرار دادیم. آب پنیر در هفته اول دارای pH خیلی پایین بوده است که این افت pH در هر ۳ مرحله تولید آزمایشی، مشاهده شد. در دو آزمایش اول و دوم که pH تا زیر ۴/۵ کاهش یافت هیچ رشدی در کشت مستقیم و غنی شده در سرما (تا ۸ هفته) مشاهده نشد. اما در آزمایش سوم به خاطر بالاتر بودن pH در کشت غنی شده در سرما پس از هفته اول ۶۱ cfu/ml *L. monocytogenes* جدا شد. در هر سه آزمایش طی هفته‌های بعد به خاطر بالارفتن pH و احتمالاً رفتن تعدادی از این باکتری از داخل پنیر به آب پنیر، وجود *L. monocytogenes* در آب پنیر مثبت بوده است. اما نهایتاً به خاطر افت pH و نامناسب شدن شرایط برای رشد این باکتری در هفته‌های آخر هیچ سلولی از این باکتری در کشت مستقیم و غنی شده در سرما در طول ۸ هفته مشاهده نشد. اگر چه در آزمایش اول در ۴ هفته آخر تعداد *L. monocytogenes* در آب پنیر به صفر رسید ولی در آزمایشهای دوم و سوم در دو هفته آخر به صفر رسید که این اختلاف نیز ناشی از افت شدیدتر pH در آزمایش اول نسبت به آزمایشهای دوم و سوم بوده است جدول ۵ و نیز نمودار ۳ ماندگاری *L. monocytogenes* در آب پنیر در طول دوره رسیدن پنیر سفید ایرانی را، نشان می‌دهند.

نتیجه گیری کلی

نتایج حاصل نشان می‌دهند که

به طرق ذیل اخذ شده و بعد از انتقال به آزمایشگاه به دو بخش تقسیم گردیدند. قسمتی از نمونه‌ها مستقیماً تحت بررسی‌های میکروبیولوژی و بیوشیمیایی قرار گرفته و قسمتی در فرآیند سرمایه گذاری وارد می‌شدند. نمونه‌هائی که در روش مستقیم (بدون سرماگذاری) جواب مثبت داشتند از گردونه فرآیند سرماگذاری حذف می گردیدند. نمونه‌های سرماگذاری شده پس از ۱۲-۶ هفته بررسی می‌شدند. نتایج مثبت انسانی به طور غیر رسمی به محل نمونه‌گیری جهت ارشاد بیمار اعلام می‌گردید.

جامعه آماری

۱- جوامع آماری دامی: عبارت از دامهائی (شامل گاو، گوسفند و بز) بوده است که در فاصله زمانی خرداد ماه ۱۳۷۴ تااسفند ماه ۱۳۷۵ گزارش سقط جنین آنها به مرکز ارسال می‌گردید. ۲- جامعه آماری انسانی : شامل موارد سقط جنینی می‌شد که در فاصله زمانی تیرماه ۱۳۷۴ تا پایان خردادماه ۱۳۷۶ در زایشگاه الزهراء قم رخ داده است . به علاوه تمام بانوانی که در طی این مدت به علت سقط جنین مکرر به آزمایشگاه تشخیص طبی پاستور قم جهت نمونه‌برداری واژینال مراجعه کرده‌اند نیز، در جامعه آماری انسانی قرار دارند. ۳- فرآورده‌های غذائی دامی : شامل تمامی انواع مواد لبنی با تاکید بر شیر خام، یخچال فروشگاههای لبنی و پروتئینی و نیز فرآورده‌های گوشتی (گوشت ، سوسیس و کالباس) تولیدی در استان در فاصله زمانی فروردین ۱۳۷۵ تا آذر ماه ۱۳۷۶ بوده است.

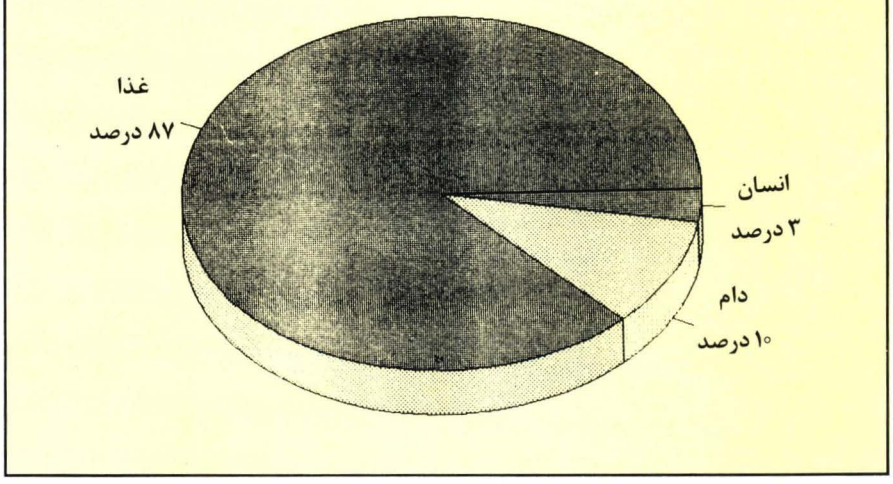
نمونه برداری

براساس مطالعات و تجربیات، برای هریک از جوامع آماری روش خاص نمونه‌گیری استفاده شد. ۱- نمونه‌دامی: سوآپ واژینال از دام (مادر) سقط کرده تهیه شده و همچنین در صورت وجود جنین (تازه) از جفت آن در شرایط سترون قطعه برداری شده و نمونه‌ها به محیط غذایی مایع حاوی ۱٪ گلوکز وارد می‌شدند. ۲- نمونه انسانی : از مادران سقط کرده سوآپ واژینال تهیه شده و از جفت جنین‌ها قطعه‌برداری می‌شد. نمونه‌ها به محیط غذایی مایع حاوی ۱٪ گلوکز منتقل می‌شدند. ۳- نمونه فرآوردهای غذایی دامی: قطعات گوشت و پنیر در لوله مایع غذایی حاوی ۱ ٪ گلوکز منتقل می‌شدند. شیر، ماست ، کره و کشک در لوله خالی جمع‌آوری می‌گردیدند. پساب و سوآپ تهیه شده از یخچال‌های مواد غذایی در محیط ترانسپورت منتقل می‌گردیدند.

روش سرماگذاری

L.monocytogenes دارای قدرت رشد در حرارت یخچال ۴ درجه سانتیگراد می‌باشد. از این ویژگی برای جداسازی این باکتری از محیط طبیعی استفاده می‌گردد. نمونه‌ها در محیط مایع وارد شده و لوله‌ها به مدت ۱۲-۶ هفته در یخچال ۴ درجه سانتیگراد قرار می‌گیرند. پس از این مدت محتویات لوله سانتریفوژ شده و از رسوب بدست آمده کشت داده می‌شود.

نمودار شماره ۱- وضعیت انتشار *L. monocytogenes* در سه جامعه آماری.



بررسی میکروبیولوژیک

۱- لام مستقیم: از نمونه ارسالی به آزمایشگاه و رسوب حاصله از لوله سرماگذاری شده لام میکروسکوپی گرم تهیه می‌شد. ۲-کشت: نمونه‌ها در محیط آگار انتخابی لیستریا و آگار خون‌دار کشت داده می‌شدند. ۳-لام میکروسکوپی: از کلنی‌های رشد کرده در محیط‌های فوق الذکر لام میکروسکوپی گرم تهیه می‌شد. ۴- آزمونهای بیوشیمیایی: نمونه‌هائی که از لحاظ کشت، ریخت‌شناسی کلنی و همچنین لام میکروسکوپی با خصوصیات لیستریا هماهنگی داشتند، با آزمونهای بیوشیمیایی زیر بررسی می‌گردیدند. CAMP، همولیز، کاتالاز، حرکت تخمیر گلوکز، لاکتوز، رامنوز، مانیتول و گزیلوز، MR، VP، نیترات، اکسیداز، اوره‌آز، سیترات، H_2S اندول، ژلاتیناز حساسیت به نئومایسین و مقاومت به کلرامفنیکل. ۵- آزمایشات در مورد نمونه‌های مثبت مجدداً تکرار می‌شد.

نتایج

مجموع نتایج حاصل از پژوهش بر روی ۸۸۲ نمونه اخذ شده بطور تفکیکی در جداول آمده است. جدول ۱ شامل مقدار کل نمونه‌های اخذ شده، تعدادکل گونه‌های لیستریا در جامعه آماری و نیز شیوع گونه‌های لیستریا در هر یک از این جوامع می‌باشد.جدول ۲ وضعیت آلودگی جامعه دامی را به تفکیک سه نوع دام بدست می‌دهد و مشخص می‌نماید که هر گروه دامی از نظر آلودگی با سه گونه لیستریایی در چه و ضعیتی قرار دارند. جدول ۳ نمونه‌های موادغذایی را به تفکیک نشان می‌دهد. هیچگونه آلودگی در گوشت و فرآورده‌های گوشتی مشاهده نشده است، لیکن نمونه‌های شیرخام آلودگی نسبتاًبالائی (۱۴/۲٪) رانشان می‌دهد و تمام موارد آلودگی از نوع *L.monocytogenes* است. وجود ۱۰٪ آلودگی با *L.monocytogenes* در یخچال‌های فروشگاه‌های مواد غذایی که عموماً از محل تخلیه آب شستشوی یخچال بدست آمده است جلب توجه می‌کند. محاسبات نشان می‌دهد که درصد پراکنش لیستریا در سه جامعه آماری دامی، فرآورده‌های غذایی دامی و انسانی به ترتیب ۱۴/۱۱، ۸/۴۲ و ۵/۱۵ می‌باشد. جدول شماره ۴ وضعیت انتشار گونه‌های سه گانه لیستریادر سه جامعه آماری رابه تفکیک نشان می‌دهد بطوری که مشخص می‌گردد هر یک از سه گونه چه مقدار در آلودگی جوامع سه گانه مورد بررسی شرکت داشته‌اند. بر اساس جدول شماره ۴ نمودارهای شماره ۱ و ۲ تهیه شده است. جدول شماره ۵ مشخص می‌کندکه هر یک ازسه گونه لیستریایی چند درصد در آلوده کردن جوامع آماری مختلف نقش دارند. براساس جدول نمودارهای شماره ۳ و ۴ ارائه شده است.

بحث

در ۸۸۲ نمونه اخذ شده ۷۶ نمونه مثبت لیستریایی شامل ۷/۷٪ *L.monocytogenes*، ۶۸٪ *L. murrayi* و ۲۲٪ *L. grayi* بدست آمده که در مجموع ۸/۶٪ آلودگی با این جنس از میکروارگانیسم را نشان می‌دهد. آلودگی در جامعه انسانی ۵٪ بوده است که ۲٪ آلودگی از نوع *L.monocytogenes* و ۳٪ *L. murrayi* می‌باشد و آلودگی از نوع *L. grayi* دیده نمی‌شود. جامعه دامی ۱۴٪ آلودگی لیستریایی رانشان می‌دهد که ۸/۱۲٪ آن *L.monocytogenes*، ۳/۵٪ *L. murrayi* و ۲/۳۸٪ *L. grayi* می‌باشد. در میان فرآورده‌های غذائی دامی ۸/۵٪ آلودگی مشاهده شد که تمام آلودگی را *L.monocytogenes* تشکیل می‌دهد. در جامعه انسانی مورد مطالعه، میانگین تعداد سقط جنین لیستریائی برابر ۲/۱ می‌باشد. میانگین سطح زندگی در جامعه انسانی در سطح متوسط می‌باشد. در حالیکه تمام مادران با سقط جنین لیستریائی سطح زندگی ضعیف دارند. ارتباط با دام در میان مادرانی که سقط جنین لیستریائی داشته‌اند در سطح بالا ۸۰٪ می‌باشد، لیکن در کل جامعه انسانی ارتباط با دام تقریباً ۵۰٪ است در حالیکه میانگین سن درکل جامعه آماری انسانی ۲۹/۳ سال می‌باشد. میانگین سن بانوان با سقط جنین لیستریائی ۲۱ سال است. احتمالاً سطح زندگی و بهداشت و نیز ارتباط تنگاتنگ با دام، علت اصلی آلودگی لیستریائی در اینگونه بانوان تشخیص داده شده است.

مقدمه

بـه مـنظور ایجادآمار و اطلاعات کـافی پـیرامـون وضـعیت بـهداشـتی جـوامـع دامـی و احـاطه بـر مـیزان گسترش انواع زئونوزها که سلامت جامعه انسانی را دچار مشکـل مـی‌نماید و پس از مشـاوره بـا دامـپزشکان و پزشکان متخصص زنان و زایمان تصمیم بـر آن شـد کـه میزان آلودگی لیستریایی در سطح شهرستان قم و حومه بررسی گردد تا آنکه نتایج حاصله بتواند قسمتی از خلاء اطلاعاتی موجود پیرامون علت سقط جنین‌های دامی و انسـانی را تأمـین نـماید. در ایـن ارتـباط پس از انجام مطالعات تکمیلی پیرامون اپیدمیولوژی میکروارگانیسم لیستریا، گسترش آلودگی لیسـتریایی در جـمعیت‌های انسانی و دامی فرآورده‌های غذائی دامـی مـورد بـررسی قرار گرفت. یکی از نکاتی کـه مسأله گسـترش لیسـتریا را دچـار پـیچیدگی بـیشتری مـی‌نماید تـحمل حـرارتـی و بـــرودتی ایـــن مـــیکروارگـانیسم بـه ویـژه گـونه *L. monocytogenes* می‌باشد. امروزه حذف این پـاتوژن از مواد غذایی دچار مشکلات متعددی گردیده است، بـه طوری که علی‌رغم پیشرفت روش‌های تولید و نگهداری انواع فرآورده‌های غذائی دامی، تحقیقات نشانگر حـضور قابل توجه لیستریا در اینگونه مواد می‌باشد.از طرفی نظر به ارتباط تنگاتنگ انسان با دام و فـرآورده‌هـای دامـی و شـدت انـواع لسـیتریوز بـه خـصوص در مـورد سـقط جـنین‌های انسـانی و اثـرات سـؤ بـهداشـتی - روانـی ایجادشده برای مادران مبتلا، به خوبی درجه اهمیت این نوع از زئونوز مشخص شده و لزوم بررسی شدت آلودگی و راههای ارتباطی مشخص مـی گـردد. سـه سـندرم مـهم توسط لیستریا ممکن است ایجاد شود در زنان باردار این بیماری مـمکن است بـدون عـلائم ویـا همـراه بـاعلائمی شبیه آنفلوانزا باشد که تشخیص آن تنها بـراسـاس کشت خون مثبت می‌باشد این بیماری می‌تواند منجر به مرگ جنین، زایمان زودرس و یا بیماری نـاشی از لیسـتریا در نوزدان گردد که خود به دو صورت دیده می‌شود. در نـوع اول سپتی‌سمی بـا شـروع زودرس کـه در فـاصله زمـانی کمتر از ۵ روز اتفاق می‌افـتد و نـاشی از عـبور عـفونت از طریق جفت می‌باشد. نوع دوم منـنژیت با شروع دیررس که در فاصله زمانی بیشتر از ۵ روز اتفاق و دلیل ابتلاء به عـــفونت بـــعد از تـــولد مـــی‌باشد. سـومین سـندرم Postneonatal Listeriosis مـی‌باشد کـه غـالباً بـه صورت منـنژیت ۸۰٪ و سپتی سمی بروز می‌کند بـیشتر افـراد دارای نـقص ایـمنی مـانند افـراد پـیر، بـیماران سرطانی، الکلیسم، دیابت همولیز مزمن (بـامیزان آهـن بالا) و افرادی که عضو پیوندی دارنـد، بـه عـفونت مـبتلاً مـــی‌گردند. مـــواردی از Pustular listeriosis در دامپزشکان دیده می‌شود. لیستریوزیس قبلاً بـا نـامهای لیسـتریوزیس[1] بـیماری درهٔ بـبر[2] بـیماری چـرخش[3] بـیماری سـیلو[4] و نـیز Votheys Veiki شـناخته شـده است. لیستریوز بـرای اولیـن بـار در سـال ۱۹۶۲ تـوسط Murray و هـــمکارانش از سـپتی‌سمی اپـی زئـوتیک خرگوش و خوکچه هندی در بریج به ثبت رسید. Perie بیماری شبه طاعون را در سال ۱۹۲۷ در بـین ژربـیل‌ها (نـوعی جـونده صحرائی) از مـنطقه درهٔ بـبر در آفـریقا گـزارش کـرد کـه بـعدها مسـلم شـد عـامل آن لیسـتریا می‌باشد. اولین مورد لیستریوز انسـانی تـوسط Nyfledt در ســال ۱۹۲۹ گــزارش شـد. در سـال ۱۹۶۶، ۲۷۹ موردآلودگی انسانی در آلمان گزارش شد که متعاقب آن ۳۰۰ گـاو مـورد آزمـایش قـرار گـرفتند و فـقط ۲ مـورد آلودگـی لیسـتریائی در آنـها مشـاهده شـد. در بـوستون آمریکا در سال ۱۹۷۹، ۲۳ مورد آلودگی سالمندان و ۲۰ مورد آلودگی در میانسالان مشاهده شد که ۱۰ نفر از آنها نقص ایمنی داشتند. در سال ۱۹۸۱ در کـانادا ۴۱ نـوزاد گزارش شد که ۲ سالمند و ۱۶ نوزاد در اثر بیماری جـان سپردند. در سال ۱۹۸۳ مجدداً در بـوستون آمـریکا ۴۹ مورد آلودگی وجود داشت که ۱۴ مورد آن منجر به مرگ گشـته و مـنشاء ۲۰ مـورد آلودگـی‌ها گـاوهای آلوده یک مزرعه بوده است. در سال ۱۹۸۸ یک مورد آلودگی ناشی از گـوشت جـوجه و یک آلودگـی گـوشت بـوقلمون بـا *L.monocytogenes* گـــزارش شـــده است. در سـال ۱۹۹۰ در ایلی نویز اپیدمی در میان میشها مشاهده شد. در ایران نـیز تـاکـنون تـحقیقاتی پـیرامـون شـیوع انـواع لیستریا انـجام گـرفته است کـه از آن جـمله مـی‌توان بـه موارد ذیل اشاره کرد. اولین مورد لیستریوز توسط نظری (۱۳۳۸) گـزارش شـده است. سـعادت زاده و هـمکاران (۱۳۵۰-۱۳۴۴) مطالعاتی در این زمینه انجام داده و از ۴۱۰ بیمار با یک یا چند بار سقط جنین ۳۴ مورد ثـبت گزارش کرده‌انـد، در سـال ۱۳۵۳ لشگـری و هـمکاران ۳ مورد *L.monocytogenes* از مادر و نـوزاد جـدا کـردند (۲). جلیل وندیوسفی و همکاران در سال ۱۳۶۶ ارتباط غذایی دام با لیستریوز را در بـز و گـوسفند نشـان دادنـد. گـروه مـذکور در سـال ۱۳۶۸ آلودگـی شـیرهای خـام و پاستوریزه را بررسی کردند (۳).

مواد و روشها

در ایـن پـژوهش پس از تـعیین جـامعه آمـاری و آموزش نمونه‌برداران برای هر یک از این جوامع، نمونه‌ها

جدول شماره ۱- تعداد نمونه و شیوع آلودگی لیستریایی در سه جامعه آماری مورد مطالعه

جامعه	نمونه اخذ شده	آلودگی‌لیستریایی	*L. monocytogenes*	*L. murrayi*	*L.grayi*
دامی	۸۵	۱۲	۷	۳	۲
انسانی	۹۷	۵	۲	۳	-
فرآورده‌های دامی	۷۰۰	۵۹	۵۹	-	-
جمع	۸۸۲	۷۶	۶۸	۶	۲

جدول شماره ۲- وضعیت آلودگی لیستریائی در جامعه دامی به تفکیک نوع دام وگونه میکروبی

نوع دام	تعدادنمونه	کل‌آلودگی‌لیستریایی	*L. monocytogenes*	*L. murrayi*	*L.grayi*
گوسفند	۶۳	۹	۵	۱	۳
گاو	۳	۱	۱	-	-
بز	۱۹	۲	۱	۱	-
جمع	۸۵	۱۲	۷	۲	۳

جدول شماره ۳- وضعیت آلودگی لیستریایی در جامعه فرآورده‌های غذای دامی به تفکیک نوع ماده غذایی

نوع نمونه	تعداد	مثبت
انواع شیر	۳۷۸	۵۴
پنیر	۷۶	-
کره	۶۶	-
کشک	۴۰	-
گوشت	۵۰	-
یخچال فروشگاههای مواد غذایی	۵۰	۵
کالباس	۲۰	-
سوسیس	۲۰	-
جمع	۷۰۰	۵۹

چون تمام موارد آلودگی از نوع *L. monocytogenes* بوده است، جدول از لحاظ میکروبی تفکیک نشده است.

جدول شماره ۴- وضعیت انتشار گونه‌های لیستریا در سه جامعه آماری (درصد)

جامعه گونه	*L. monocytogenes*	*L. murrayi*	*L.grayi*
انسانی	۳	۵۰	۰
دامی	۱۰	۵۰	۱۰۰
غذایی	۸۷	۰	۰
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

جدول شماره ۵- درصد پراکنش گونه‌های لیستریا در هر یک از جوامع آماری

لیستریا	دامی	انسانی	فرآورده‌های غذایی
مونوسیتوژنس	۵۸	۴۰	۱۰۰
موراثی	۲۵	۶۰	۰
گرائی	۱۷	۰	۰
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰