بررسی آلودگی میکروبی سالادهای الویه سنتی و صنعتی شهرستان شهرکرد به باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی موریوم*

فروغ تاجبخش[1*]، الهه تاجبخش[2]، منوچهر مومنی[3]

۱. عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران.

۲. گروه زیست شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران.

۳. عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاداسلامی، ایران.

***نویسنده مسئول**: *f.tajbakhsh20@yahoo.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/۱/۲٦

چکیده

غذاهای آماده مصرف، به‌دلیل تنوع زیاد، در دسترس بودن، عدم نیاز به زمان پخت و قیمت‌های نسبتاً ارزان باعث افزایش تقاضا در بین مردم شده‌اند. با توجه به افزایش تقاضا برای مصرف این نوع غذاها و با توجه به این واقعیت که این غذاها فرآوری زیادی ندارند، خطرات میکروبیولوژیکی مصرف‌کنندگان از این محصولات افزایش یافته است. در این تحقیق تعداد ۵۰ نمونه سالاد الویه (۳۰ نمونه صنعتی و ۲۰ نمونه سنتی) از ساندویچ فروشی‌های شهرکرد تهیه گردید و با استفاده از آزمون‌های میکروبیولوژی و مولکولی از نظر حضور *سالمونلا تایفی موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد بررسی قرار گرفتند. آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* ۴۶٪ و ۳۴/۸٪ و آلودگی به *سالمونلا* ۱۸٪ بدست آمد. آلودگی به *استافیلوکوکوس آرئوس* در سالادهای الویه صنعتی و سنتی به‌ترتیب ۶۵/۲٪ و آلودگی به *سالمونلا* در سالادهای الویه صنعتی و سنتی به‌ترتیب ۵۵/۶ و ۴۴/۴ درصد بود. مراحل تهیه و تولید سالاد الویه در ایران به‌صورت دستی است و احتمال آلودگی از طریق دستگاه‌ها و نیروهای انسانی زیاد است. هم‌چنین اجزاء تشکیل دهنده سالاد ممکن است قبل از مخلوط شدن به‌مدت طولانی تحت شرایط نامناسب دمایی قرار گیرند.

واژگان کلیدی: آلودگی، غذاهای آماده مصرف، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا*، سالاد الویه.

مقدمه

انواع مختلفی از غذاهای آماده مصرف[1] در کشورها با توجه به زمینه‌های فرهنگی و اجتماعی متفاوت، وجود دارد. که به دلیل تنوع زیاد، در دسترس بودن، عدم نیاز به زمان پخت و قیمت‌های نسبتاً ارزان باعث افزایش تقاضا در بین مردم شده‌اند. اگرچه دارای مزایایی می‌باشند اما ممکن است یک تهدید برای سلامت عمومی به‌شمار روند (Sireliufuk and Gucukoglu, 2008). تقاضا برای موادغذایی سالم و بی‌خطر و عدم نیاز به آماده‌سازی و کارکردن با دست، منجر به افزایش تولید و مصرف غذاهای آماده مصرف شده‌است و گونه‌های آن‌ها در سال‌های اخیر به‌طور قابل توجهی گسترش یافته‌است (Hwang and Huang, 2010). غذاهای آماده مصرف برای مصرف‌کنندگان پر مشغله‌ی امروزه راحت‌تر می‌باشند، لذا خطرات میکروبیولوژیکی مصرف‌کنندگان از این محصولات افزایش یافته است. در تهیه ساندویچ‌های آماده مصرف، سالادها و گوشت‌ها، عملیات تماس دست با این محصولات (مانند برش دادن یا خرد کردن) وجود دارد که می‌تواند به‌راحتی به آلودگی این غذاها کمک کند (Hwang and Huang, 2010). روش فرآوری سنتی، دمای نگهداری نامناسب و بهداشت ضعیف شخصی که در تهیه غذا دخالت دارد، برخی از علل اصلی آلودگی غذاهای آماده مصرف هستند (Feglo and Sakgi, 2012). سالادهای بر پایه مایونز[2]، آماده

1- Ready-To-Eat(RTE)

2- Mayonnaise-Based Salads (MBS)

برای مصرف هستند و بدون آماده‌سازی اضافی یا پخت و پز توسط مصرف‌کنندگان، استفاده می‌شوند. بنابراین دارای پتانسیل خطر میکروبیولوژیکی برای مصرف‌کنندگان می‌باشند (Tayfur, et al., 2013). این سالادها مخلوطی از انواع مختلف مواد غذایی می‌باشند و این مواد تشکیل‌دهنده ممکن است مرغ، تخم‌مرغ، ماکارونی، سیب زمینی، سبزیجات و نیز ادویه‌جات، ترشی‌جات، مواد معطر و طعم‌دهنده، اسیدهای آلی و غیره باشند. ضمن این‌که بعضی از مواد تشکیل‌دهنده آن‌ها مانند گوشت و مرغ باید پخته شوند اما برخی اجزای دیگر نیاز به پخت ندارند. مواد تشکیل‌دهنده‌ای که بدون عملیات حرارتی استفاده می‌شوند می‌توانند حامل طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها در محصول باشند (Tayfur, et al., 2013). ایمنی مواد غذایی آماده مصرف به دلیل مصرف مستقیم و بدون حرارت دادن یا گرم کردن، به یک نگرانی رو به رشد تبدیل شده‌است.

آلودگی غذاهای آماده مصرف سرد، ناشی از عوامل بیماری‌زایی مانند *لیستریا*، *سالمونلا* و *اشریشیا* می‌باشد که با تعداد زیادی از مسمومیت‌های غذایی در ارتباطند (Hwang and Huang, 2010). سرد نگهداشتن، عامل مهمی برای به تعویق انداختن فساد مواد غذایی و رشد بسیاری از عوامل بیماری‌زا است، اما به تنهایی برای به حداقل رساندن خطر میکروبیولوژی کافی نیست، چراکه بعضی از میکروارگانیسم‌های سرمادوست، مانند گونه‌های خاصی از باکتری *لیستریا منوسیتوژنز* یا گونه‌های خاص *کلستریدیوم بوتولینوم* می‌توانند در دمای یخچالی (۴ درجه سانتی‌گراد یا پائین‌تر) رشد - کنند. در این صورت در اثر وجود موانع اضافی، احتمال رشد و تکثیر برخی از میکروارگانیسم‌های نامطلوب در دمای یخچالی وجود دارد (Codex International). به همین منظور این مطالعه با هدف بررسی میزان آلودگی سالادهای الویه عرضه‌شده در بازار مصرف شهرستان شهرکرد به باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی موریوم* صورت گرفت.

مواد و روش کار

در این بررسی، تعداد ۵۰ نمونه سالاد الویه (۳۰ نمونه صنعتی و ۲۰ نمونه سنتی) از ساندویچ فروشی‌های عرضه‌شده در شهرستان شهرکرد در روزهای متوالی خریداری شد. ساندویچ‌های خریداری شده در مجاورت یخ و در شرایط استریل به مرکز تحقیقات مواد غذایی دانشگاه آزاد شهرکرد انتقال داده می‌شدند و در شرایط استریل در محیط‌های کشت مورد نظر آماده شده، جهت شناسایی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا* کشت داده شدند.

جهت جستجوی *استافیلوکوکوس اورئوس*، طبق استاندارد شماره ۱۱۹۴ ابتدا ۱۰ گرم نمونه را در ۹۰ میلی‌لیتر محلول استریل رینگر هموژن کرده و سپس ۱ میلی‌لیتر از آن به ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت TSB (تریپتیک سوی براث) و سیترات سدیم انتقال داده و به‌مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از مدت انکوباسیون ۱ میلی‌لیتر از آن را بر روی محیط کشت بردپارکر حاوی امولسیون زرده تخم‌مرغ (مرک- آلمان) کشت خطی داده و پلیت‌ها به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. جهت تایید کلنی‌های مشکوک، آزمون کواگولاز توسط پلاسمای خرگوش یا انسان انجام گردید (جلالی و همکاران، ۱۳۸۶). جهت جداسازی *سالمونلا* از استاندارد ملی شماره ۱۸۱۰ استفاده گردید به این صورت که ابتدا ۲۵ گرم از سالاد الویه در۲۲۵ میلی‌لیتر پپتون واتر استریل هموژن گردید و به مدت ۲۴-۲۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از محیط غنی

شده اولیه به ۱۰ میلی‌لیتر محیط سلنیت سیستئین منتقل کرده و در انکوباتور ۳۷ درجه برای مدت ۲۴-۱۸ ساعت در ۴۳ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. حداقل ۳ کلنی تیپیک از هر پلیت برداشت و بر روی TSA خالص گردید. آزمون‌های بیوشیمیایی جهت تایید *سالمونلا* شامل TSI، اوره آز، اندل، آزمون VP و آزمایش حرکت بود (جلالی و همکاران، ۱۳۸۶).

تشخیص مولکولی *استافیلوکوکوس اورئوس* و سروتیپ *سالمونلا تایفی موریوم*

به‌منظور تشخیص قطعی جدایه‌های *سالمونلا*، با استفاده از توالی *16srRNA* مورد بررسی قرار گرفتند. مشاهده باند ۵۷۱ جفت بازی نشان‌دهنده مثبت بودن تست بود (Smith et al., 2015). در مرحله بعد سروتیپ *سالمونلا تایفی موریوم* تمامی ایزوله‌های تایید شده به‌روش کشت و PCR، با استفاده از پرایمرهای *ST11* و *ST15* مورد بررسی قرار گرفتند (Soumet, et al., 1999) که برای این منظور DNA نمونه‌های مورد بررسی با استفاده از کیت استخراج DNA ساخت شرکت سیناژن طبق دستورالعمل کیت استخراج گردید. توالی‌های پرایمر مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده‌است. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر متشکل از ۱ میکرولیتر DNA استخراج شده، ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer 1x، ۵/. میکرولیتر ۱۰dNTP میلی‌مولار، ۷۵/. میکرولیتر Mgcl2 ۵۰ میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر پرایمرهای F و R، ۳/. میکرولیتر آنزیم SmarTaq DNA Polymerase و ۱۸/۵ میکرولیتر آب مقطر با برنامه حرارتی ۹۴ درجه به‌مدت ۱ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹۴ درجه ۶۰ ثانیه، ۵۶ درجه ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه ۱ دقیقه و در نهایت ۷۲ درجه ۱۰ دقیقه انجام شد. مشاهده باند ۴۲۹ جفت بازی نشان دهنده مثبت بودن آزمون PCR می‌باشد (Soumet, et al., 1999).

به‌منظور تشخیص قطعی *استافیلوکوکوس اورئوس* با استفاده از زوج پرایمرهای مربوط به ژن *aroA* که در جدول ۱ نشان داده شده است، استفاده شد. (Farahmand et al., 2013).

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت تشخیص قطعی *استافیلوکوکوس اورئوس* و سروتیپ *سالمونلا تایفی موریوم*

نام ژن	توالی پرایمر	اندازه (جفت باز)
16S rRNA	5'-TGT TGT GGT TAA TAA CCG CA -3' 5'-CAC AAA TCC ATC TCT GGA -3'	۵۷۱
ST11F *ST11R*	GCCAACCATTGCTAAATTGGCGCA 3' GGTAGAAATTCCCAGCGGGTACTGG 3'	۴۲۹
aroA	FA1AGGGCGAAATAGAAGTGCCGGGC RA2 CACAAGCAACTGCAAGCAT	۳۵۰

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر متشکل از ۱ میکرولیتر DNA استخراج شده، ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer 1x، ۵/. میکرولیتر ۱۰dNTP میلی‌مولار، ۷۵/. میکرولیتر Mgcl2 ۵۰ میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر پرایمرهای F و R، ۳/. میکرولیتر آنزیم SmarTaq DNA Polymerase و ۱۸/۵ میکرولیتر آب مقطر با برنامه حرارتی ۹۵ درجه به‌مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹۴ درجه ۶۰ ثانیه، ۵۸ درجه ۶۰ ثانیه و ۷۲ درجه ۶۰ ثانیه و در نهایت ۷۲ درجه ۱۰ دقیقه انجام شد. مشاهده باند ۱۱۵۳ جفت بازی نشان‌دهنده مثبت بودن آزمون PCR می‌باشد. جهت ردیابی محصول مورد نظر، ۲۰ میکرولیتر از محصول PCR روی ژل ۱/۵درصد آگارز واجد اتیدیوم بروماید در ولتاژ ثابت ۸۰ ولت الکتروفورز و ژل حاصله با

دستگاه تصویر بردار ژل (Uvitech U.K) قرائت گردید. مشاهده باند ۴۲۹ جفت بازی نشان دهنده وجود ژن *ST* می‌باشد.

نتایج

از ۵۰ نمونه سالاد الویه مورد بررسی، آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در ۲۳ نمونه (۴۶ درصد) و آلودگی به *سالمونلا* در ۹ نمونه (۱۸ درصد) گزارش گردید. آلودگی سالادهای الویه صنعتی در ۱۵ نمونه (۶۵/۲ درصد) و آلودگی به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در سالادهای الویه سنتی در ۸ نمونه (۳۴/۸ درصد) گزارش گردید. آلودگی به *سالمونلا*در سالادهای الویه صنعتی و سنتی به‌ترتیب در ۵ نمونه (۵۵/۶ درصد) و ۴ نمونه (۴۴/۴ درصد) بدست آمد. نتایج در جدول‌های شماره ۲ و ۳ به‌طور خلاصه نشان داده شده است. در تجزیه و تحلیل آماری با آزمون کای اسکوئر بین نوع نمونه و آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی موریوم* اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید.

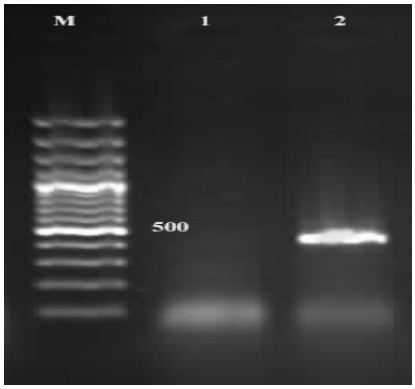
جدول ۲- نتایج مربوط به آلودگی سالادهای الویه سنتی و صنعتی به *استافیلوکوکوس اورئوس*

سالاد الویه	*استافیلوکوکوس اورئوس* مثبت		p-value
	فراوانی	درصد	
سنتی	۸	۳۴/۸	۰/۴۸۷
صنعتی	۱۵	۶۵/۲	
مجموع	۲۳	۱۰۰	

جدول ۳- نتایج مربوط به آلودگی سالادهای الویه سنتی و صنعتی به *سالمونلا*

سالاد الویه	سالمونلا مثبت		p-value
	فراوانی	درصد	
سنتی	۴	۴۴/۴	۱/۰۰
صنعتی	۵	۵۵/۶	
مجموع	۹	۱۰۰	

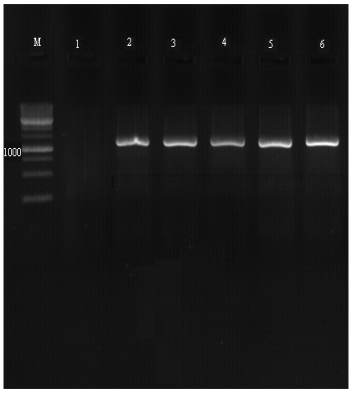
به‌منظور تشخیص سروتیپ *سالمونلا تایفی موریوم* در نمونه‌هایی که در بررسی‌های میکروبیولوژی از نظر *سالمونلا* مثبت تشخیص داده شده بودند، از پرایمرهای *ST* استفاده گردید که از ۹ جدایه ۱ نمونه (۱۱/۱۱ درصد) بر پایه آزمون‌های مولکولی *سالمونلا تایفی موریوم* تشخیص و تائید شد، نتایج در شکل (۱) نشان داده شده است.



تصویر ۱- ژل حاصل از آزمون PCR در نمونه‌های مورد بررسی.

ستون M : مارکر 100 bpساخت شرکت فرمنتاز، ستون ۱ کنترل منفی، ستون ۲ نمونه مثبت دارای باند 429bp

پس از انجام آزمون PCR به‌منظور تشخیص قطعی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و حضور توالی ژن *aroA*، تمامی نمونه‌ها با داشتن باند ۱۱۵۳ جفت بازی مثبت تشخیص داده شدند. نتایج در شکل (۲) نشان داده شده‌است.



تصویر ۲- الکتروفورز محصول PCR ژن *aroA* *استافیلوکوکوس آرئوس*.

ستون M: مارکر ۱۰۰۰ جفت بازی فرمنتاز، ستون ۱ کنترل منفی، ستون ۲: کنترل مثبت، ستون های ۳، ۴، ۵ و ۶ نمونه‌های مثبت واجد باند ۱۱۵۳ جفت بازی.

بحث

سالاد از پرمصرف‌ترین و محبوب‌ترین موادغذایی است که به‌عنوان غذای اصلی یا کمکی مورد استفاد قرار می‌گیرد. سرشار بودن از مواد مغذی باعث شده تا در لیست غذای رستوران‌ها، فست فودها و هتل‌ها قرار گیرد. از آنجا که سالاد به صورت خام مصرف می‌شود، آلودگی آن به انواع میکروب‌های بیماری‌زا باعث ایجاد عفونت یا مسمومیت در مصرف‌کنندگان می‌گردد (شریفی سلطانی و همکاران، ۱۳۹۱).

برای پیشگیری و کنترل بیماری‌های منتقله از راه غذا باید عوامل ایجادکننده آن‌ها، وضعیت آلودگی مواد غذایی، روش‌های جداسازی و شناسایی آن‌ها و نیز راه‌های آلوده‌سازی موادغذایی شناخته شوند (رحیمی و شاکریان، ۱۳۹۳). براساس گزارش مرکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها[۳]، حدود ۷۷ درصد عفونت‌ها و مسمومیت‌های غذایی در رستوران‌ها، ۲۰ درصد در منازل و ۳ درصد در اثر غذاهای تجارتی رخ می‌دهند که عامل بسیاری از این بیماری‌ها، عدم رعایت موازین بهداشتی و ایجاد آلودگی ثانویه است (CDC, 1996). طبق استاندارد آزمایشات میکروبی که روی موادغذایی آماده مصرف انجام می‌گیرد برحسب نوع ماده غذایی متفاوت بوده، ولی عمدتاً شامل شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش کلی فرم، شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس*، شمارش کپک و مخمر و جستجوی برخی از باکتری-های بیماری‌زا مانند *سالمونلا*، *اشریشیا کلی* و *لیستریا منوسیوژنز* است (توکلی و همکاران، ۱۳۹۰).

در تحقیق حاضر براساس آزمون‌های میکروبیولوژی و مولکولی آلودگی سالادهای الویه عرضه شده به بازار مصرف شهرکرد به باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا* به‌ترتیب ۴۶ درصد و ۱۸ درصد گزارش گردید، که با یافته‌های بعضی از محققین مطابقت داشته و با بعضی دیگر مطابقت ندارد. آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های سالاد الویه صنعتی و سنتی به‌ترتیب در ۱۵ نمونه (۶۵/۲ درصد) و ۸ نمونه (۳۴/۸ درصد) و آلودگی به *سالمونلا* در سالادهای الویه صنعتی و سنتی به‌ترتیب در ۵ نمونه

1- Centers for Disease Control and Prevention (CDC)

(۵۵/۶ درصد) و ۴ نمونه (۴۴/۴ درصد) گزارش گردید، از ۹ جدایه، ۱ جدایه که در بررسی‌های میکروبیولوژی *سالمونلا* تشخیص داده شدند، در ۱ نمونه (۱۱/۱۱ درصد) بر پایه آزمون‌های مولکولی سروتیپ *تایفی موریوم* تشخیص و تائید شد در تجزیه و تحلیل آماری با آزمون کای دو، بین نوع نمونه و آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا* ارتباط معنی‌دار مشاهده نگردید (p-value> 0/05).

آلودگی بالا در سالادهای صنعتی می‌تواند به این دلیل باشد که بخش عمده‌ای از مراحل تهیه و تولید سالاد الویه در ایران به‌صورت دستی است و احتمالا آلودگی از طریق دستگاه‌ها و نیروی انسانی زیاد است، هم‌چنین اجزای تشکیل‌دهنده سالاد ممکن است قبل از مخلوط شدن به‌مدت طولانی تحت شرایط دمایی نامناسب قرار گیرند (جلالی و همکاران، ۱۳۸۶).

در مطالعه‌ای که توسط Wogu and Iwezeua (2013) بر روی نمونه‌های سالاد آماده مصرف جمع‌آوری شده از ۳ مرکز فست فود صورت گرفت، ۶۰ درصد از آلودگی مربوط به باکتری‌های گرم منفی *اشریشیا کلی* و *سالمونلا* و ۴۰ درصد مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* گزارش شد، که بررسی مطالعه حاضر از نظر وجود *استافیلوکوکوس اورئوس* در سالادهای سنتی همخوانی دارد اما با درصد وجود *سالمونلا* تفاوت زیادی داشته به‌طوری‌که آلودگی به *سالمونلا* در تحقیق حاضر بسیار کمتر از ۶۰ درصد گزارش شده است. شیوع آلودگی باکتریایی سالادهای آماده مصرف در مطالعه Wogu and Iwezeua (2013) ممکن است تا حدودی به دستکاری[۴] غذا و پختن در این مراکز نسبت داد که ممکن است الزامات بهداشت اولیه را برای پردازش محصولاتی که قبل از مصرف به پیش گرم کردن نیاز دارند رعایت نمی‌کنند.

دلیل دیگر ممکن است در دسترس نبودن آب کافی و کیفیت شستشوی سبزیجات تازه، میوه‌ها و تولید زیاد سالادها در مراکز فست فود بزرگ باشد. گونه‌های *سالمونلای* جداشده در این مطالعه ممکن است به آلودگی سبزیجات توسط فضولات حیوانی که به عنوان کود استفاده می‌شده، پیش بینی گردد (Wogu and Iwezeua, 2013).

از سال ۱۹۷۰ آلودگی به *سالمونلا* در گوشت گاو در ایران مورد توجه محققان قرار گرفت. که فراوانی آلودگی با *سالمونلا* در گوشت گاو حدود ۲/۶ درصد بود. در آن سال مرکز کنترل بیماری‌ها باکتری *سالمونلا تیفی موریوم* را به عنوان یکی از عوامل بیماری‌های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده در گوشت گاو گزارش کرد (رستگار و همکاران، ۱۳۸۷).

اختلاف در نتایج ارائه شده می‌تواند به‌دلیل نوع روش جداسازی باشد. به علت حضور گونه *سالمونلا* در فضولات دامی، صنایع دامداری که گوشت و یا شیر تولید می‌کنند یک عامل تداوم حضور این پاتوژن انسانی در زنجیره غذایی می‌باشند. بنابراین می‌توان این گونه محصولات دامی را یک عامل بالقوه انتقال این بیماری درنظر گرفت. در تحقیق انجام شده توسط نصرتی و همکاران در سال ۱۳۹۱ به‌منظور بررسی شیوع سروتیپ‌های *سالمونلا تیفی موریوم*، *تیفی* و *اینتریتیدیس* در مواد غذایی در مرکز درمانی بیمارستان مفید، آلودگی گوشت گاو به *سالمونلا* ۸/۸ درصد برآورد گردید. در این تحقیق از گوشت مرغ باکتری *سالمونلا* جدا نگردید (نصرتی و همکاران، ۱۳۹۱). تفاوت در میزان آلودگی به *سالمونلا* در مطالعات انجام شده توسط محققین مختلف می‌تواند به‌علت تفاوت در روش نمونه‌گیری باشد.

در تحقیق انجام شده توسط فرامرزی و همکاران در سال۱۳۹۱ که به‌منظور آلودگی باکتریایی مواد غذایی

1-handling

در سطح عرضه مناطق غرب تهران صورت گرفت، آلودگی سالمونلایی محصولات لبنی (۲۵۴ نمونه)، محصولات پروتیئنی (۱۷۳) نمونه، شیرینی جات و آب میوه‌ها به ترتیب ۱/۸ درصد، ۰/۸۵ درصد و صفر درصد گزارش گردید (فرامرزی و همکاران، ۱۳۹۱).

حال آن‌که در پژوهش انجام شده توسط سلطان دلال و همکاران در سال ۲۰۰۹، ۴۷/۸ درصد از نمونه‌های مرغ و ۲۸/۸ درصد از گوشت قرمز به *سالمونلا* آلوده بودند. در این بررسی سروتیپ غالب مربوط به *S.thompson* (۵۴/۹ درصد) و *S.enteritidis* (۹/۸ درصد) بوده است (SoltanDalal. *et al*., 2009). شیوع مسمومیت غذایی *استافیلوکوکوس اورئوس* در ایالات متحده امریکا در سال ۱۹۷۷ توسط Robert پس از خوردن گوشت پخته ران خوک با محتوای نمک بالا گزارش شد (Robert, 1982). Jones و همکاران (۲۰۰۲) گزارش دادند مسمومیت غذایی *استافیلوکوکی* در آمریکا پس از مصرف باربیکیوی گوشت خوک و سالاد کلم خریداری شده از یک مغازه اغذیه فروشی و دیگر باکتری‌های جداسازی شده در همین مطالعه ۴۰ درصد *سالمونلا* و ۲۵ درصد *استافیلوکوکوس اورئوس* بود (Jones, et al., 2002).

Doyle و همکاران (۱۹۸۲) بر روی سالادهای گوشت آماده شده با نسبت‌های متفاوت از مایونز مطالعه‌ای انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که وجود سس مایونز در سالادهای گوشت، رشد پاتوژن‌های بیماری-زای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی موریوم* را به تعویق می‌اندازد (Doyle. et al., 1982).

غلظت اسید استیک و pH در بیشتر فرمولاسیون‌های MBS برای مهار رشد اکثر ارگانیسم‌ها کافی است و برای بسیاری از آن‌ها کشنده است (Georg and Levett, 1990). اما توصیه شده که حضور سس مایونز نباید به‌عنوان یک جایگزین برای تبرید در نظر گرفته شود. چراکه بافت‌های گیاهی مانند هویج یا کلم در سس مایونز روی از بین بردن سمیت مایونز به وسیله جذب اسید استیک اثر دارند (Radford and Board, 1993).

علاوه بر این هویج یا کلم توسط بافت‌های گیاهی اسید استیک را جذب می‌کنند و در نتیجه موجب کاهش غلظت استیک اسید شده و از این رو به دنبال آن، pH افزایش می‌یابد. توانایی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا برای بقا و رشد در درجه حرارت‌های پایین ممکن است در عفونت‌های غذا زاد مهم باشد. به‌خصوص وقتی‌که غذاها برای مدت طولانی در قفسه‌های یخچال نگهداری شده باشند (Georg and Levett, 1990). که این ناشی از احتباس اسیداستیک به وسیله بافت‌های گیاهی است. زوال خواص فیزیکی سس مایونز قبل از فساد میکروبی رخ می‌دهد و به‌دلیل تعامل آب و روغن بین سبزی و فاز مایونز افزایش می یابد.

نتیجه گیری

غذاهای سرد آماده مصرف که به مدت ۱۵-۱۰ روز در حرارت‌های یخچالی نگهداری می‌شوند می‌توانند به عنوان منشاء اپیدمی‌های مسمومیت‌ها و عفونت‌های غذایی مطرح باشند. اهمیت این غذاها در بروز مسمومیت‌های غذایی وقتی بیشتر می‌شود که بدانیم آن‌ها معمولاً به‌صورت سرد و بدون هیچ‌گونه عملیات حرارتی مصرف می‌شوند. خطر مصرف غذاهای سرد آماده با عدم نگهداری در شرایط مطلوب بهداشتی از جمله در دمای بالاتر از دمای یخچال افزایش می‌یابد. مراحل تهیه و تولید سالاد الویه در ایران به صورت دستی است و احتمال آلودگی از طریق دستگاه‌ها و نیروهای انسانی زیاد است. هم‌چنین اجزاء تشکیل دهنده سالاد ممکن است قبل از مخلوط شدن به مدت طولانی تحت شرایط نامناسب دمایی قرار گیرند. در این

شرایط تولید بهداشتی از ابتدایی‌ترین مرحله تا بلافاصله قبل از مصرف تنها راه حفظ جان مصرف‌کنندگان این گونه محصولات است. (جلالی و همکاران، ۱۳۸۶).

ممکن است فرض شود که هر باکتری بیماری‌زایی ممکن است در گوشت خام وجود داشته باشد اما هنگام پختن و حرارت دیدن نابود شود. در هر صورت چه زمانی که گوشت و سیب زمینی به‌طور جداگانه آب‌پز و پخته می‌شوند و چه زمانی که با هم مخلوط می‌شوند باید آن‌ها را از آلودگی مجدد با باکتری‌ها حفظ کنیم (Beckers, et al., 1985).

منابع

۱- توکلی، حمیدرضا.، فرهنگ، کاظم.، کریمی زارچی، علی اکبر و حیدری، اسماعیل. (۱۳۹۰). کیفیت باکتریولوژیک اغذیه آماده مصرف در چهار رستوران وابسته به یک مرکز نظامی. مجله طب نظامی. ۱۳(۴): ۲۱۲-۲۰۷.

۲- رستگار، حسین.، قهرمانی، محمد حسین.، حلاج نیشابوری، شیما.، جلالی، مریم.، انجرانی، صغری. و خسروخاور، رویا. (۱۳۸۷). ارزیابی، جداسازی و تشخیص *سالمونلا تیفی موریوم* در شیر با روش‌های متداول کشت و PCR. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران. ۳ (۳) ۵۲-۴۵.

۳- شریفی سلطانی، مهدی.، برامی، احمد و محمدیان سورکوهی، اسرین. (۱۳۹۱). بررسی میزان آلودگی های سالادهای عرضه شده در فست فودها، رستوران‌ها و هتل‌های شهر چالوس به گونه‌های *سالمونلا*. دومین سمینار ملی امنیت غذایی، سوادکوه.

۴- فرامرزی، طاهره.، جنیدی جعفری، احمد.، دهقانی، سمیه.، میرزابیگی، مریم.، ناصح، منیره و رهبر آراسته، حمیرا. (۱۳۹۱). مجله دانشکده علوم پزشکی فسا، ۲(۱): ۱۱-۱۸.

۵- جلالی، محمد.، سرهنگپور، رضا و کارینه، قوکاسیان. (۱۳۸۶). ارتقاء کیفیت میکروبی سالاد الویه صنعتی در شهر اصفهان. فصلنامه بیماری‌های عفونی و گرمسیری وابسته به انجمن متخصصین بیماری‌های عفونی و گرمسیری. سال دوازدهم، شماره۳۷، صص ۵۹-۵۳.

۶- نصرتی، شیما.، سبکبار، آذر.، دزفولیان، مهروز.، تبرایی، بهمن و فلاح، فاطمه. (۱۳۹۱). بررسی شیوع *سالمونلا تیفی موریوم*، *تیفی* و *انتریتیدیس* در مواد غذایی در مرکز درمانی بیمارستان مفید. پژوهش در پزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی. ۳۶(۱): ۴۳-۴۸.

۷- رحیمی، ابراهیم. و شاکریان، امیر. (۱۳۹۳). شیوع گونه های *لیستریا* در غذاهای آماده مصرف سرد در رستوران های شهرکرد. مجله علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، دوره ۸، شماره ۲، صفحه ۸۳-۸۷.

8- Hwang, A., and Huang, L. 2010. Ready to eat foods, Microbial Concerns and Control Measures, CRC Press, 271 pages.

9- Sireliufuk, T., and Gucuglu, A. 2008. Prevalence and Antibiotic Resistance of*Listeria*. Isolated from Ready-to-Eat Foods in Ankara. Turk J Vet Anim Sci. 32: 131-135.

10- Tayfur, M., Cakır, M., Orkun, T., Ercan, A, and Yabancı, N. (2013). Microbial quality of retail mayonnaise-base salads.Afr J Microbiol Res. 7: 2269-2273.

11- Feglo, P., and Sakyi, K. 2012. Bacterial contamination of street vending food in Kumasi, Ghana. J Biomed Sci. 1: 1-8.

12- Wogu, M. D., and Iwezeua, I. 2013. Microbial Quality of Ready-to-Eat Salad Sold in Benin City, Southern Nigeria. Int J Sci Tech. 2: 26-38.

13- CDC. 1996. Food safety management by retailers: A global inventory of stored food safety requirements. CIES global food safety initiative working paper. 1235 pages.

14- Robert, D. 1982. Factors contributing to outbreaks of food poisoning in England and wales 1970-1979. J App Microbiol. 89: 491-498.

15- Jones, T.F., Kellum, E., Porter, S.S., Bell, M., and Schaffner, W. 2002. An outbreak of community-acquired foodborne illness caused by methicillin resistant *Staphylococcus aureus.* Emerg Inf Dis. 8: 82-84.

16- Beckers, H.J., Daniels-Bosman, M.S.M., Ament, A., Daenene. J., Hanekamp, A.W.J., Knipschild, P., Schuurmann, A.H.H., and Bijerk, H. 1985.ow outbreaks of salmonellosis coused by *Salmonella* Indiana.asourvey of the European summit outbreak and its consequences. Int J Food Mic. 2: 185-190.

17- Doyel, M.P., Bains, N.J, Schoeni, J.L., and Foster, E.M. 1982. Fate of *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in meat salads prepred with mayonnaise. J Food Prot. 45: 152-156.

18- Radford, S.A., and Board, R.G. 1993. Review: fate of pathogens in homemade mayonnaise and related products. Food Microbiol. 10: 269-278.

19- Georg, A.E., and Levett, P.N. 1990. Effect of temperature and pH on survival of listeria Monocytogenes in coleslaw. Int J Food Microbiol. 11: 345-350.

20- Soumet, C., Ermel, G., Rose, V., Rose, N., Drouin, P., Salvat, G., and Colin, P. 1999. Identification by a multiplex PCR based assay of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis*strains from environmental swabs of poultry houses. Lett Appl Microbiol. 29: 1-6.

21- Farahmand, A., Ahmadi, S., DastmalchiSaei, M., and Anassori, H. 2013. Identification of toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) gene in *Staphylococcus aureus*isolated from bovine mastitis milk. Arch Razi Inst. 68: 17-22.

22- Soltan Dalal, M.M., Taremi, M., Latif Gachkar, L., Modarressi, S.h., Sanaei, M., Bakhtiari, R., Sharifi Yazdi, M.K., and Zali, M.R. 2009. Characterization of antibiotic resistant patterns of *Salmonella* serotypes isolated from beef and chicken samples in Tehran. Jundishapur J Microbiol. 2: 124-131.

23- Codex International code of Practice–Code of hygienic practice for refrigerated packaged foods with extended shelf life – CAC/RCP 46-1999.

24- Smith, SH., Fowora, MA., Atiba, A., Anejo-Okopi, J., Fingesi, T., Adamu, ME., Omonigbehin, EA., Ugo-Ijeh, M., Bamidele, M., and Odeigah, P. 2015. Molecular detection of some virulence genes in *salmonella* spp. isolated from food samples in Lagos, Nigeria Anim Vet Sci. 3: 22-27.

Detection of *staphylococcus aureus* and *Salmonella typimurium* in traditional and industrial Olivier salads in shahrekord city

Tajbakhsh F[1*], Tajbakhsh E[2], Momeni M[3]

1. Young Researchers and Elite Club, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
3. Young Researchers and Elite Club, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. Shahrekord, Iran.

[*]**Corresponding author**: *f.tajbakhsh20@yahoo.com*

Received: 9 February 2015 Accepted: 15 April 2015

Abstract

Ready to eat foods, food products are moved through some kind of process and can be eaten without heat treatment. In this study, 50 samples of Olivier salad (30 industrial and 20 traditional) in Shahrekord, were tested for detection of *Salmonella typimurium* and *Staphylococcus aureus* by microbiological and molecular methods. Contamination of *S.* aureus and *S. typhimurium* was found in 46% and 34.8% of the industrial and traditional samples, respectively. Contamination of *S. aureus* in industrial Olivier salad was found to be 65.2% and in traditional Olivier salad was 34.8%. Contamination of *Salmonella typhimurium* was 55.6 and 44.4% in industrial and traditional olivier salad. Olivier salad's production process is manually and it is possible to be contaminated by machine and human. The ingredients may be kept under inappropriate temperature conditions for a long time.

Keywords: Contamination, *Salmonella typimurium*, *Staphylococcus aureus*, Olivier salad.