



مقاله پژوهشی

بررسی وجود آلودگی شیرهای خام به باکتری اشریشیاکلی و اشریشیاکلی

در شهرستان رامهرمز، خوزستان

مصطفی مرسلی^۱، امیرشاکریان^{۲*}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد

اسلامی، شهرکرد، ایران

۲. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران



* نویسنده مسئول: Amshakerian@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۰۸

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی وجود آلودگی شیرهای خام مورد مصرف به باکتری اشریشیاکلی و اشریشیاکلی *O157:H7* در شهرستان رامهرمز انجام شد. به منظور بررسی وجود آلودگی شیرهای خام مورد مصرف به باکتری اشریشیاکلی، طی شش ماه تعداد ۵۰ نمونه شیرخام گاو از مناطق شمال، جنوب، شرق، غرب و حومه‌ی شهر رامهرمز در دو فصل سرد و گرم و هر فصل تعداد ۲۵ عدد نمونه‌گیری انجام شد. به منظور شمارش کلی باکتریایی و کلی‌فرم‌ها از روش *Total count* و *MPN* استفاده شد. به منظور آزمایش‌ها تکمیلی از محیط کشت *EMB* و مک‌کانکی سوربیتول‌دار *SMA* حاوی مکمل سفکسیم تلوریت پتاسیم کشت گردید و به منظور تشخیص افتراقی اشریشیاکلی از تست *IMVIC* استفاده شد. میزان کلی بار میکروبی در شیرهای خام در هشت نمونه (۱۶ درصد) دارای وضعیت نامطلوب اما در حد استاندارد می‌باشند. بیشترین میزان آلودگی به باکتری اشریشیاکلی در مناطق شمال و جنوب به ترتیب در فصل زمستان و تابستان ۶۰ درصد و ۸۰ درصد بودند. اختلاف آماری معنی داری در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز از نظر آلودگی به باکتری اشریشیاکلی در فصل زمستان مشاهده شد ($p < 0.05$). همچنین بیشترین میزان آلودگی به باکتری اشریشیاکلی *O157:H7* در مناطق شمال و جنوب ۲۰ درصد در فصل زمستان و در منطقه جنوب ۴۰ درصد در فصل تابستان بودند. اختلاف آماری معنی داری در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز از نظر آلودگی به باکتری اشریشیاکلی *O157:H7* در فصل زمستان مشاهده شد ($p < 0.01$). میزان آلودگی در شیر خام در فصل گرم بیشتر از فصل سرد می‌باشد، بنابراین رعایت زنجیره سرما، جلوگیری از وجود گاوهای ورم پستان و مخلوط نمودن شیر آنها با شیر گاوهای سالم، رعایت اصول صحیح در پمپ‌های انتقال شیر به مخازن سرد کن، ضد عفونی نمودن وسایل و تجهیزات شیر دوشی و سیستم تمییز کردن در محل (CIP) به منظور جلوگیری از آلودگی شیرخام ضروری است.

کلمات کلیدی: شیر خام، بار میکروبی، اشریشیاکلی، شهرستان رامهرمز



مقدمه

شیر خام مایع ترشح شده حاصل از دوشش پستان دام سالمی است که با اصول صحیح تغذیه و نگه داری شده باشد، حداقل مدت چهار روز از زایمان آن گذشته باشد و دستخوش هیچ گونه فرآوری گرمایی نیز قرار نگرفته باشد (۱). شیر در زمان ترشح از پستان دام سالم دارای میکروارگانیسم‌های اندکی است و آلوده شدن آن ممکن است در زمان دوشیدن یا طی فرآیندهای پس از دوشیدن رخ دهد. آلودگی باکتریایی شیر می‌تواند ناشی از منابع متفاوتی نظیر هوا، تجهیزات شیردوشی، غذا، خاک، مدفوع و مرتع باشد (۱ و ۲). به فاکتورهایی مانند خود حیوان، تجهیزات شیردوشی، فصل، تغذیه و شرایط نگهداری حیوان بستگی دارند. شیر غذای نسبتاً کاملی است که در هر سنی قسمتی از جیره غذایی انسان را تشکیل می‌دهد و به دلیل مغذی بودن و ترکیب کامل پروتئین، عناصر معدنی ضروری و بعضی از ویتامین‌ها غذای منحصر به فردی به ویژه برای کودکان می‌باشد. در شیر بیشتر مواد غذایی به مقدار کافی و با ترکیب مناسب برای زندگی و رشد و نمو کودک وجود دارد (۳ و ۲). شیریشیکلی قابلیت ردیابی در بسیاری از محیط‌ها را دارد، این باکتری جز دسته میکروب‌های هوازی-بی‌هوازی بوده، که به سهولت در روده جانداران و انسان قابل شناسایی می‌باشد. این میکروارگانیسم به راحتی از طریق مواد غذایی و آب قابل انتقال بوده و به عنوان شاخص آلودگی مدفوعی در نظر گرفته می‌شوند (۴ و ۵). رنگ شیر سالم سفید کدر یا سفید متمایل به زرد کم رنگ می‌باشد. اگر دام، بیمار باشد رنگ شیر تغییر می‌کند. شیر سالم فاقد بوی غیر طبیعی است، ولی ممکن است در اثر تماس با ظرف‌ها و محل‌ها کثیف، بوهای مختلفی توسط چربی شیر جذب شود و شیر بو بگیرد. همچنین شیر به علت مغذی بودن محیط مناسبی برای رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها می‌باشد و بنابراین کنترل نظارت بر موازین بهداشتی شیر بسیار حائز اهمیت می‌باشد. شدت آلودگی و فساد میکروبی در شیر خام بستگی به رعایت موازین بهداشتی در طول تهیه، حمل و نگه داری آن دارد (۶). شیر و محصولات لبنی منابع سرشار پروتئین، کلسیم، فسفر، پتاسیم و منیزیم و ویتامین هستند و استفاده از آن‌ها به عنوان بخش مهمی از یک رژیم سالم و متعادل توصیه می‌شود. مطالعات مختلف نشان داده است، که مصرف شیر از بروز بیماری‌های مهمی مانند فشارخون، دیابت نوع دو، سکت و بیماری‌های قلبی و عروقی، چاقی، سرطان، عفونت و پوکی استخوان پیشگیری می‌کند (۶-۸). در بسیاری از کشورها، شیر و فرآورده‌های آن، بخش مهمی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند. این ماده غذایی، با تأمین بیش از ۳۶ درصد سهم پروتئین دامی جامعه، به عنوان با ارزش‌ترین و بزرگترین منبع تأمین پروتئین دامی کشور محسوب می‌شود. بنابراین، اهمیت ویژه‌ای در طول سالیان؛ جهت بهبود کیفیت شیر اتخاذ شده است. استفاده از شیرهای خام با کیفیت پایین در کارخانجات، سرعت تغییر طعم فرآورده‌های نهایی را در بازار افزایش می‌دهد. برای بهبود و افزایش تولید شیر خام، بهبود کیفیت ترکیبات آن و کیفیت بهداشتی شیر و به حداقل رساندن مقدار آلاینده‌ها در آن، تلاش‌های بسیاری صورت گرفته است که در واقع، تمامی این اقدامات، در جهت دسترسی به طبیعی‌ترین و مغذی‌ترین ماده غذایی بشر بوده است (۲ و ۹). کیفیت شیر در کلیه‌ی مراحل تولید، جمع‌آوری و نگهداری تا تولید محصول تأثیر گذار بوده و عدم رعایت الزامات کیفی باعث کاهش بازده تولید و عملکرد محصولات خواهد شد. در این بین عدم آشنایی دامداران با اصول بهداشتی و شیوه‌های صحیح نگهداری آن منجر به هدر رفتن بسیاری از سرمایه‌های دامی و نیروی کار دامداران می‌شود. کیفیت اولیه شیر خام متأثر از عواملی چون تغذیه و سلامتی دام، ترکیب شیمیایی شیر و فعالیت میکروبی موجود در آن بوده که بر فرآورده‌های نهایی تأثیر گذار می‌باشد (۱۰ و ۲). عواملی چون بهداشت دام، نحوه دوشش، ادوات شیر دوشی، دمای شیر و نحوه حمل و نقل شیر می‌تواند بر بار میکروبی تأثیر داشته باشد (۶ و ۲). خانواده انتروباکتریاسه‌ها بزرگ‌ترین و نامتجانس‌ترین مجموعه باسیل‌های گرم



بیماری های قابل انتقال بین انسان و حیوان



منفی هستند که از لحاظ بالینی اهمیت دارند (۱۱). باکتری /شریشیاکلی به عنوان شاخص بهداشتی در بسیاری از کشورهای جهان می باشد. همچنین به عنوان عامل مؤثر و اختصاصی بیماری های روده ای و خارج روده ای می باشد. /شریشیاکلی *O157:H7* جزء باکتری بیماری زای انسانی با منشأ حیوانی می باشند. این باکتری به عنوان مهمترین سروتیپ گروه /شریشیاکلی انتروهموارژیک به شمار می رود و باعث وقوع بیماری های کولیت خونریزی دهنده، پورپورا ترومبوسیتوپنی، ایدیوپاتی وسندرم اورمی همولیتیک می باشد (۱۴-۱۲). سندرم اورمی همولیتیک در دو تا هفت درصد بیماران اتفاق می افتد که در سه تا پنج درصد موارد و اغلب در کودکان و افراد مسن منجر به مرگ می شود. علائم ناشی از این بیماری شامل: درد شدید شکمی، اسهال آبکی، اسهال خونی، آنمی همولیتیک، ترومبوسایتوپنی و نارسایی حاد کلیوی می باشد (۱۵ و ۱۲). این مطالعه با هدف بررسی وجود آلودگی شیرهای خام مورد مصرف به باکتری /شریشیاکلی و /شریشیاکلی *O157:H7* در شهرستان رامهرمز انجام شد.

مواد و روش ها

طی شش ماه تعداد ۵۰ نمونه شیر خام گاو از مناطق شمال، جنوب، شرق، غرب و حومه ی شهر رامهرمز در دو فصل سرد و گرم و هر فصل تعداد ۲۵ عدد (هر منطقه پنج نمونه) نمونه گیری انجام شد. به منظور جمع آوری نمونه شیر خام، شیر موجود در بشکه ها یا بیدون توسط همزن مخلوط شد و به وسیله ی یک ظرف دسته دار مدرج از هر بیدون برداشت شد و در یک ظرف استریل منتقل گردید. سپس روی ظروف نام، شماره مرکز جمع آوری، حجم شیر، تاریخ برداشت نوشته شد و در دمای منفی دو درجه سانتی گراد در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شد.

به منظور شمارش کلی باکتریایی و کلیفرم ها از روش Total count و MPN استفاده شد. به منظور انجام آزمایش رقت های مورد نظر تهیه شد. در کنار شعله یک میلی لیتر از شیر به لوله آزمایش حاوی نه میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل اضافه و مخلوط شد. با استفاده از محیط ویولت رد بایل آگار (VRBA) (Merck, Germany) ۱۵ میلی لیتر به آن اضافه شد و به صورت 8 تکان داده شد و پس از پنج دقیقه و بسته شدن محیط کشت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری و رشد کلنی ها بررسی شد. همچنین با استفاده از محیط کشت لاکتوز براث با رقت های مورد نظر بررسی شد. سپس نمونه های شیر به لوله های آزمایش اضافه و سپس باکتری های رشد کرده در محیط کشت را، به منظور آزمون تاییدی بر محیط کشت برلیانت گرین بایل براث (BGBLB) (Merck, Germany) منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۴ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. به منظور آزمایش های تکمیلی از محیط کشت ائوزین متیلن بلو (EMB) (Merck, Germany) و مک کانکی سوربیتول دار SMA حاوی مکمل سفکسیم تلوریت پتاسیم کشت گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شد، کلنی های معمولی /شریشیاکلی بی رنگ یا خنثی/خاکستری با مرکز دودی و قطر یک تا دو میلی متر بودند. پنج کلنی معمولی انتخاب و روی لوله های شیب دار آگار مغذی کشت داده شدند و در دمای 35 ± 0.5 درجه سانتی گراد به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت برای شناسایی بیشتر توسط آگار ائوزین-متیلن بلو (Merck, Germany) انکوبه شدند که درخشش فلزی سبز مشخصی E.coli را نشان داد. به منظور تشخیص افتراقی /شریشیاکلی از تست IMVIC استفاده شد. پراگنه های سوربیتول منفی (عدم تخمیر سوربیتول) به عنوان /شریشیاکلی *O157:H7* شناسایی شد (۱۴، ۱۶ و ۱۷). در این تحقیق از نرم افزار SPSS ورژن ۲۰ به منظور تجزیه و تحلیل آماری و آزمون کای اسکور و همچنین جهت رسم شکل ها از نرم افزار اکسل استفاده شد.



نتایج

نتایج حاصل از شمارش کلی باکتریایی در شیرهای خام نیز نشان داد، ۶۰ درصد شیرهای مورد مطالعه دارای وضعیت مطلوب می‌باشند، ۲۴ درصد شیرهای مورد بررسی دارای وضعیت نسبتاً مطلوب و ۱۶ درصد شیرهای خام دارای وضعیت نامطلوب ولی در حد استاندارد می‌باشند (جدول ۱).

جدول ۱. میزان کلی بار میکروبی در شیرهای خام مناطق مختلف شهرستان رامهرمز

درصد شیرهای آلوده	تعداد شیرهای آلوده	بار میکروبی در شیر خام در هر میلی لیتر
۶۰ درصد	۳۰	۲۰-۱۰۰۰۰۰
۲۴ درصد	۱۲	۱۰۰۰۰۰-۴۰۰۰۰۰
۱۶ درصد	۸	۴۰۰۰۰۰-۸۰۰۰۰۰
صفر درصد	۰	۸۰۰۰۰۰-۱۰۰۰۰۰۰

نتایج حاصل از بررسی شیرهای خام در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز در فصل زمستان نشان داد، بیشترین میزان آلودگی به باکتری *شریشیاکلی* در مناطق شمال و جنوب ۶۰ درصد و کمترین میزان آلودگی به باکتری *شریشیاکلی* در حومه شهر ۲۰ درصد بودند. اختلاف آماری معنی داری در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز از نظر آلودگی به باکتری *شریشیاکلی* در فصل زمستان مشاهده شد ($p < 0.05$) (جدول ۲، شکل ۱). نتایج نشان داد که تفاوت آلودگی مناطق مختلف با احتمال ۹۵ درصد معنی دار است ($p < 0.05$).

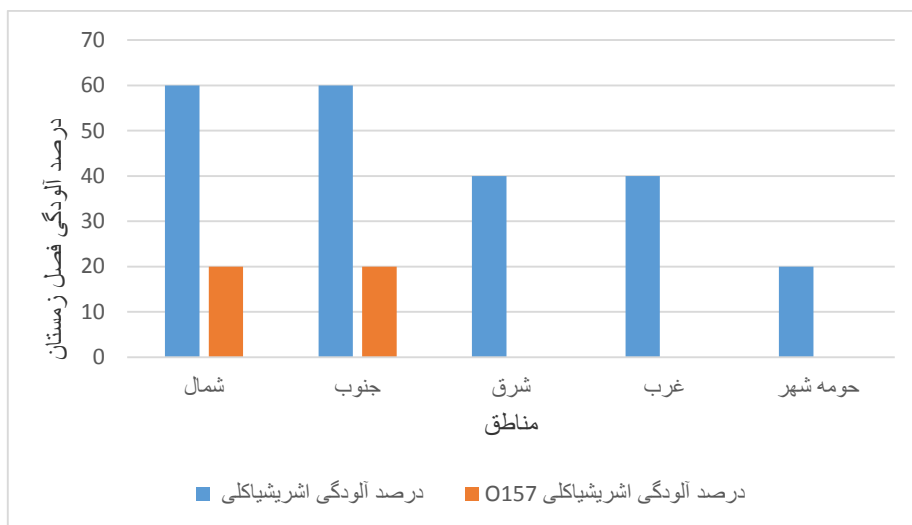
جدول ۲. درصد آلودگی شیرهای خام به باکتری *شریشیاکلی* در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز در فصل زمستان.

تفاوت آلودگی مناطق مختلف با احتمال ۹۵ درصد معنی دار است ($p < 0.05$).

آلودگی منطقه	آلوده	سالم
شمال	۳ (۶۰ درصد)	۲ (۴۰ درصد)
جنوب	۳ (۶۰ درصد)	۲ (۴۰ درصد)
شرق	۲ (۴۰ درصد)	۳ (۶۰ درصد)
غرب	۲ (۴۰ درصد)	۳ (۶۰ درصد)
حومه	۱ (۲۰ درصد)	۴ (۸۰ درصد)



بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان



شکل ۱. مقایسه درصد آلودگی مناطق به باکتری اشیریشیاکلی و اشیریشیاکلی O157:H7 در فصل زمستان

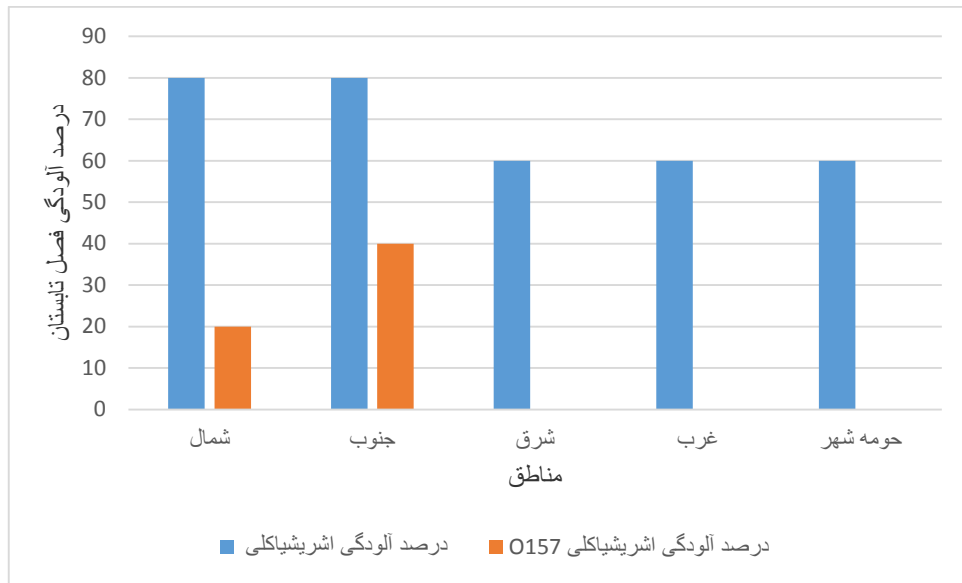
نتایج حاصل از بررسی شیرهای خام در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز در فصل تابستان نشان داد، بیشترین میزان آلودگی به باکتری اشیریشیاکلی در مناطق شمال و جنوب ۸۰ درصد و در سایر مناطق ۶۰ درصد بودند. اختلاف آماری معنی داری در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز از نظر آلودگی به باکتری اشیریشیاکلی در فصل تابستان مشاهده نشد ($p > 0.05$) (جدول ۳، شکل ۲).

جدول ۳. درصد آلودگی شیرهای خام به باکتری اشیریشیاکلی در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز در فصل تابستان

سال	آلوده	آلودگی منطقه
۱ (۲۰ درصد)	۴ (۸۰ درصد)	شمال
۱ (۲۰ درصد)	۴ (۸۰ درصد)	جنوب
۲ (۴۰ درصد)	۳ (۶۰ درصد)	شرق
۲ (۴۰ درصد)	۳ (۶۰ درصد)	غرب
۲ (۴۰ درصد)	۳ (۶۰ درصد)	حومه

سطح معنی داری: 0.35^{ns}

ns: تفاوت آلودگی مناطق مختلف معنی دار نیست.



شکل ۲. مقایسه درصد آلودگی مناطق به باکتری اشریشیاکلی و اشریشیاکلی O157:H7 در فصل تابستان

نتایج حاصل از بررسی شیرهای خام در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز در فصل زمستان نشان داد، بیشترین میزان آلودگی به باکتری اشریشیاکلی O157:H7، در مناطق شمال و جنوب ۲۰ درصد بودند و در سایر مناطق هیچ گونه آلودگی به باکتری اشریشیاکلی O157:H7 مشاهده نشد. اختلاف آماری معنی داری در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز از نظر آلودگی به باکتری اشریشیاکلی O157:H7 در فصل زمستان مشاهده شد ($p < 0/01$) (جدول ۴، شکل ۳).

جدول ۴. درصد آلودگی شیرهای خام به باکتری اشریشیاکلی O157:H7 در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز در فصل

زمستان		
سال	آلوده	آلودگی منطقه
۴ (۸۰ درصد)	۱ (۲۰ درصد)	شمال
۴ (۸۰ درصد)	۱ (۲۰ درصد)	جنوب
۵ (۱۰۰ درصد)	۰ (صفر درصد)	شرق
۵ (۱۰۰ درصد)	۰ (صفر درصد)	غرب
۵ (۱۰۰ درصد)	۰ (صفر درصد)	حومه
$0/01^{**}$		سطح معنی داری

**تفاوت آلودگی مناطق مختلف با احتمال ۹۹ درصد معنی دار است ($p < 0/01$)



بیماری های قابل انتقال بین انسان و حیوان



نتایج حاصل از بررسی شیر خام در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز در فصل تابستان نشان داد، بیشترین میزان آلودگی به اشریشیاکلی *O157:H7* در منطقه ی جنوب ۴۰ درصد بودند و در مناطق شرق، غرب و حومه ی شهر هیچ گونه آلودگی به باکتری اشریشیاکلی *O157:H7* مشاهده نشد. اختلاف آماری معنی داری در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز از نظر آلودگی به باکتری اشریشیاکلی *O157:H7* در فصل تابستان مشاهده شد ($p < 0/01$) (جدول ۵، شکل ۲).

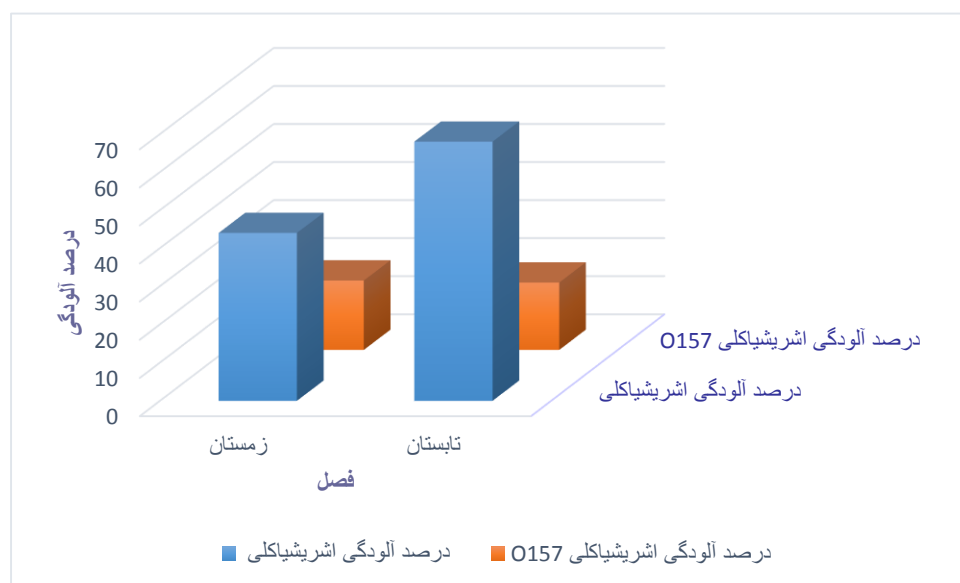
جدول ۵. درصد آلودگی شیرهای خام به باکتری اشریشیاکلی *O157:H7* در مناطق مختلف شهرستان رامهرمز در فصل

سال	آلوده	تابستان	آلودگی منطقه
۴ (۸۰ درصد)	۱ (۲۰ درصد)		شمال
۳ (۶۰ درصد)	۲ (۴۰ درصد)		جنوب
۵ (۱۰۰ درصد)	۰ (صفر درصد)		شرق
۵ (۱۰۰ درصد)	۰ (صفر درصد)		غرب
۵ (۱۰۰ درصد)	۰ (صفر درصد)		حومه

سطح معنی داری $0/001^{**}$

****:** تفاوت آلودگی مناطق مختلف با احتمال ۹۹ درصد معنی دار است ($p < 0/01$)

نتایج کلی حاصل از میزان آلودگی به باکتری اشریشیاکلی در دوفصل زمستان و تابستان نشان داد، میزان آلودگی به باکتری اشریشیاکلی و اشریشیاکلی *O157:H7* در فصل زمستان به ترتیب ۴۴ درصد و ۱۸/۱۸ درصد و در فصل تابستان میزان آلودگی به باکتری اشریشیاکلی و اشریشیاکلی *O157:H7* به ترتیب ۶۸ درصد و ۱۷/۶۴ درصد بودند (شکل ۳).





شکل ۳. مقایسه درصد آلودگی به باکتری *شریشیاگی* و *شریشیاگی O157:H7* در فصل زمستان و تابستان

بحث

شریشیاگی انتروهموراژیک (*EHEC*) مانند *شریشیاگی O157:H7* از مهم‌ترین پاتوژن‌های روده‌ای محسوب می‌شوند و عوارضی مانند کولیت هموراژیک، سندرم اورمی همولیتیک و به ویژه نارسایی حاد کلیوی را ایجاد می‌کنند. این سویه می‌تواند از طریق مصرف آب و مواد غذایی آلوده، و از فردی به فرد دیگر از طریق مدفوعی دهانی منتقل شود (۵). آلودگی مواد غذایی مختلف از جمله گوشت، شیر خام و غیرپاستوریزه، سبزی‌ها از جمله اسفناج، سبزی و دیگر مواد غذایی با این سویه‌های پاتوژن سالانه خسارات بهداشتی قابل ملاحظه‌ای را به بار می‌آورد. در این بین شیر خام به عنوان یک ماده‌ی حیاتی و پرمصرف از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. شیر به عنوان اولین ماده غذایی که توسط پستانداران و از جمله انسان مصرف می‌شود، در انتقال این عوامل میکروبی نقش بسزایی را می‌تواند ایفا کند (۱۸). یکی از مواد غذایی که در انتقال این گونه عفونت‌ها نقش اساسی دارد، شیر و محصولات لبنی است. از آنجایی که گاو به عنوان یک مخزن برای *شریشیاگی* انتروهموراژیک مطرح است و باتوجه به اینکه این باکتری در گاوهای بالغ مشکلی ایجاد نمی‌کند و فقط ممکن است در گوساله‌ها ایجاد اسهال خفیف نماید، همواره خطر آلودگی شیر و انتقال این عوامل عفونی از شیر به مصرف‌کنندگان وجود دارد (۱۹ و ۲۰).

در مطالعه یار احمدی و همکاران (۲۰۰۷)، به منظور بررسی آلودگی بار میکروبی کل، کلی‌فرم و *شریشیاگی* شیر خام از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه در استان لرستان انجام شد. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد؛ میانگین بار میکروبی در کلیه فصول سال $CFU/ml \ 6/0 \pm 43/37$ بود. کمترین بار میکروبی در دی ماه با $CFU/ml \ 6/31 \pm 0/38$ و بیشترین بار میکروبی در مرداد ماه به میزان $CFU/ml \ 6/0 \pm 57/31$ بود. کاهش بار میکروبی از شهریور ماه شروع شد و در دی و بهمن به کمترین میزان رسید. همچنین بیشترین میزان باکتری‌های کلی‌فرم و *شریشیاگی* در شهریور ماه بود و کمترین میزان کلی‌فرم در شیر خام در دی و بهمن و *شریشیاگی* در بهمن و اسفند بودند. ارتباط معنی‌داری بین بار میکروبی با کلی‌فرم و *شریشیاگی* در شیر خام وجود داشت (۲۱). در مطالعه‌ی صادقی فرد و همکاران (۲۰۰۵)، به منظور بررسی آلودگی شیر خام از نظر *شریشیاگی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در ایلام انجام شد. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد، از ۳۲۰ نمونه مربوط به زمان شیردوشی حدود ۶۳ نمونه (۱۹/۷ درصد) آلوده به *شریشیاگی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. ۶۲ نمونه (۱۹/۴ درصد) آلوده به *شریشیاگی* و ۳۰ نمونه (۹/۳ درصد) آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. همچنین در زمان حمل شیر از ۲۰۰ نمونه، ۹۸ نمونه (۴۹ درصد) آلوده به *شریشیاگی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۱۵ نمونه (۷/۵ درصد) فقط آلوده به *شریشیاگی* و ۳۰ نمونه (۱۵ درصد) فقط آلوده *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. در مراکز فروش از مجموع ۲۶۰ نمونه، ۱۵۲ نمونه (۵۸/۴ درصد) آلوده به *شریشیاگی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. تعداد ۲۸ نمونه (۱۰/۸ درصد) فقط آلوده به *شریشیاگی* و ۷۲ نمونه (۲۷/۷ درصد) فقط آلوده به *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند. میزان آلودگی به *شریشیاگی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* از زمان شیردوشی تا مرحله‌ی فروش به طور معنی‌داری افزایش یافت (۲۲). نتایج حاصل از این تحقیق در مقایسه با مطالعه‌ی حاضر میزان کمتری از آلودگی به باکتری *شریشیاگی* را نشان می‌دهد. در مطالعه‌ی آلمیدا در ۷۰ نمونه از فرآورده‌های شیر خام نشان داد که ۲۲ نمونه رضایت بخش، ۳۷ نمونه قابل اعتراض و ۱۱ نمونه غیر قابل مصرف بودند زیرا آلوده به باکتری‌های *شریشیاگی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند (۲۳). در مطالعه‌ی محمودی و همکاران (۲۰۱۵)، به منظور بررسی آلودگی بار میکروبی کل، کلی‌فرم و *شریشیاگی*



بیماری های قابل انتقال بین انسان و حیوان



شیرخام در استان خراسان رضوی انجام شد. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد، میانگین بار میکروبی در کلیه فصول سال $6/43 \pm 0/37$ CFU/ml بود. اثر ماه های مختلف سال، مراحل مختلف نمونه گیری از شیر و ظرفیت مراکز جمع آوری بر روی بار میکروبی کل، کلی فرم و *اشریشیاکلی* کاملاً معنی دار بود. نتایج نشان داد کمترین بار میکروبی در بهمن ماه با $31/6 \pm 0/38$ CFU/ml و بیشترین بار میکروبی در تیر ماه با میزان $6/43 \pm 0/37$ CFU/ml بود. نتایج نشان داد کاهش بار میکروبی از شهریور ماه شروع و در دی و بهمن به کمترین میزان می رسید. نتایج همچنین نشان داد بیشترین میزان باکتری های کلی فرم و *اشریشیاکلی* در شهریور ماه بوده و کمترین میزان کلی فرم در شیر خام در دی و بهمن و *اشریشیاکلی* در بهمن و اسفند ماه بودند (۱۰). در مطالعه ی کرامپ بر ۲۱۶ نمونه شیر خام انجام شد. نتایج حاصل نشان داد، ۲۸ نمونه (۱۳ درصد) آلوده به *اشریشیاکلی* بودند که علت آن آلودگی دام ها و محیط بود (۱۴). نتایج حاصل از این تحقیق در مقایسه با مطالعه ی حاضر میزان کمتری از آلودگی به باکتری *اشریشیاکلی* را نشان می دهد. در مطالعه ی فدایی و همکاران (۲۰۰۷)، به منظور مقایسه میزان آلودگی باکتریولوژیکی شیر خام در شهرکرد انجام شد. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد، ۲۰۸ نمونه (۷۰ درصد) نمونه های شیر خام آلوده به *اشریشیاکلی* و ۲۴۲ نمونه (۸۰/۵ درصد) آلوده به کلی فرم بودند. بیشترین میزان آلودگی نیز در منطقه جنوب غربی ۸۸ درصد و کمترین میزان در منطقه شمال شرقی ۵۸/۳ درصد بودند. میزان کلی فرم و *اشریشیاکلی* در شیر خام در تابستان بیشتر از زمستان بود. با توجه به میزان آلودگی شیر خام به *اشریشیاکلی* و کلی فرم ها بخصوص در فصول گرم سال در منطقه جنوب غربی شهرکرد رعایت اصول و موازین بهداشتی همچنین نظارت در مرحله تهیه، حمل و نقل، نگهداری و عرضه به ویژه در ماه های گرم سال و منطقه جنوب غربی ضروری است (۲۴). نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج مطالعه ی حاضر در بررسی میزان آلودگی *اشریشیاکلی* فصلی همسو می باشد. در مطالعه ی ساهاریا و همکاران در کشور هندوستان به منظور تأثیر موقعیت گاوداری ها بر تعداد کلی فرم در فصول مختلف سال بررسی شد. در این مطالعه ۲۶۳ نمونه شیر از گاوداری ها جمع آوری گردید. نتایج حاصل نشان داد، میانگین تعداد کل کلی فرم ها $13/9 \pm 0/78$ CFU/ml بود. براساس نتایج موقعیت گاوداری تأثیری بر تعداد کلی فرم نداشت اما نمونه های جمع آوری شده در فصول بهار و تابستان تعداد کلی فرم زیادی نسبت به فصول زمستان و پاییز داشتند (۸). در مطالعه ی احسانی و همکاران (۲۰۱۵)، به منظور بررسی آلودگی میکروبی شیر خام به کلی فرم و *اشریشیاکلی* و شمارش کلی باکتریایی از دامداری تا تحویل به کارخانه در استان آذربایجان غربی انجام شد. در مجموع نتیجه آزمون برای ۴۳۰ نمونه مورد آزمایش از جهت میانگین و انحراف معیار بار میکروبی کل در مراکز با ظرفیت کم $0/46 \pm$ CFU/ml، در مراکز با ظرفیت متوسط $37/5 \pm 0/44$ CFU/ml و در مراکز با ظرفیت بالا $43/5 \pm 0/42$ CFU/ml اندازه گیری شد. افزایش در میزان آلودگی شیر خام از جهت میزان باکتری کلی فرم و *اشریشیاکلی* در مراکز با ظرفیت بالا نسبت به مراکز با ظرفیت متوسط و کم دیده شد. به طوریکه میزان میانگین و انحراف معیار آلودگی به باکتری *اشریشیاکلی* در مراکز با ظرفیت کم $12/3 \pm 0/68$ CFU/ml و در مراکز با ظرفیت بالا $3/52 \pm 0/68$ CFU/ml اندازه گیری شد. همچنین افزایشی در میزان این پارامترها از جهت بار میکروبی کل در شیر تحویلی نسبت به شیر تازه دوشیده شده دیده شد به طوریکه این میزان از $28/2 \pm 0/44$ CFU/ml در مرحله دوشش به $83/5 \pm 0/89$ CFU/ml در مرحله تحویل شیر افزایش یافت. در مجموع مشکل مهم جمع آوری شیر در استان آذربایجان غربی، فاصله برخی مراکز جمع آوری شیر و مدت زمان طولانی انتقال شیر از این مراکز تا کارخانه شیر بوده، که این موضوع از علل مهم افزایش بار میکروبی کل از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه می باشد (۲۵). در مطالعه ی سلطان دلال و همکاران (۲۰۱۹)، نتایج حاصل از تحقیق نشان داد از مجموع ۳۱ ایزوله *اشریشیاکلی* جدا شده تعداد شش ایزوله (۱۹/۴ درصد) به عنوان سوربیتول منفی جداسازی شد. از مجموع ۶ ایزوله، تعداد پنج ایزوله (۱۶/۱ درصد) بر روی



محیط کروم آگار از نظر فعالیت بتاگالاکتوزیدازی منفی بودند. هر پنج ایزوله در تست سرولوژیک با آنتی‌سرم *O157:H7* تأیید گردید و در بررسی مولکولی صورت گرفته دارای ژن *eaeA* بودند. شیوع ۱۶/۱ درصد *شریشیاگی* *شریشیاگی* انتروهموراژیک در شیر خام به عنوان یکی از عوامل ایجاد اسهال در جامعه می‌تواند از اهمیت زیادی برخوردار باشد. بنابراین طغیان‌های ناشی از مصرف این ماده غذایی در مناطقی از کشور که از نظر سنتی هنوز مصرف شیر خام را در سبد غذایی قرار می‌دهند، می‌تواند نتایج با ارزشی در جهت پیشگیری از موارد بیماری‌های اسهالی به دست آورد (۲۶). نتایج حاصل از این تحقیق نسبت به مطالعه‌ی حاضر میزان کمتری از آلودگی به باکتری *شریشیاگی* *شریشیاگی* را نشان می‌دهد. در مطالعه‌ی ویرپاری و همکاران در هند با بررسی ۲۵۰ نمونه شیر و محصولات فرآورده‌های آن میزان آلودگی *شریشیاگی* *شریشیاگی* را ۳۲ درصد گزارش نمودند. میزان آلودگی به صورت مجزا ۵۲ درصد و ایزوله‌های هر دو ژن *Stx1* و *Stx2* ۶/۲۵ درصد بودند (۲۷). نتایج حاصل از این تحقیق در مقایسه با مطالعه‌ی حاضر میزان کمتری از آلودگی به باکتری *شریشیاگی* *شریشیاگی* را نشان می‌دهد. در مطالعه‌ی آسماهان و همکاران با بررسی ۱۰۰ نمونه شیر خام در مناطق مختلف خارطوم میزان آلودگی *شریشیاگی* *شریشیاگی* را ۶۳ درصد گزارش نمودند که بیشتر آلودگی مربوط به مناطق شمال خارطوم بود (۲۸). نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج مطالعه‌ی حاضر در یک راستا است. در مطالعه‌ی سومرو و همکاران در پاکستان با بررسی ۱۰۰ نمونه شیر خام و ۶۰ نمونه محصولات شیر، نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که ۵۷ درصد نمونه‌های شیر خام و ۵۱/۶۶ درصد نمونه‌های تولید شده از محصولات شیر، نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که ۵۷ درصد نمونه‌های شیر خام و ۵۱/۶۶ درصد نمونه‌ها تولید شده از محصولات شیر آلوده به *شریشیاگی* *شریشیاگی* بودند (۱۶). نتایج حاصل از این تحقیق در مقایسه با مطالعه‌ی حاضر میزان کمتری از آلودگی به باکتری *شریشیاگی* *شریشیاگی* را نشان می‌دهد. در مطالعه‌ی بنیادیان و همکاران بر روی ۲۰۰ نمونه شیر خام تولیدی در چهار محال و بختیاری به منظور تعیین میزان آلودگی به باکتری *شریشیاگی* *O157:H7* با استفاده از محیط غنی کننده و محیط کشت اختصاصی و روش سرولوژی پرداختند. در مجموع از ۲۰۰ نمونه شیر خام مورد بررسی ۸۳ مورد مشکوک به سروتپ *O157:H7* شناسایی شد که پس از تأیید نهایی نه مورد *شریشیاگی* *O157:H7* جدا گردید که هیچ کدام *H7* نبودند (۱۷). نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج مطالعه‌ی حاضر همسو می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادها

نتایج حاصل از این تحقیق نسبت به مطالعه‌ی حاضر میزان بیشتری از آلودگی به باکتری *شریشیاگی* *شریشیاگی* و *شریشیاگی* *O157:H7* در نمونه‌های شیر خام را نشان می‌دهد. رعایت زنجیره سرما، جلوگیری از وجود گاوهای ورم‌پستان و مخلوط نمودن شیر آنها با شیر گاوهای سالم، رعایت اصول صحیح در پمپ‌های انتقال شیر به مخازن سردکن، ضدعفونی نمودن وسایل و تجهیزات شیردوشی و سیستم تمیز کردن در محل (CIP) به منظور جلوگیری از آلودگی شیر خام ضروری است.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از کلیه همکاران گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که نهایت همکاری را در انجام این پروژه را داشتند تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تضاد منافی بین نویسندگان وجود ندارد و این مقاله با اطلاع و هماهنگی آنها ارسال شده است.



فهرست منابع

- [1]. Karim, G., Mohammadi, Kh., Khandaghi, J., Dareh Abhi, H., Tests of milk and its products, Tehran University Publications, second edition, 2012, pages 42-13. [In Persian].
- [2]. Karim, G., Milk health and technology, Tehran University Press, 4th edition, 2015, pages 63-1. [In Persian]
- [3]. Holm C, Mathiasen T, Jespersen L. A flow cytometric technique for quantification and differentiation of bacteria in bulk tank milk. J Appl Microbiol. 2004; 97(5): 935-941. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02346.x>. [In Persian]
- [4]. Rahimi A., Mumtaz H., Dosti A., Jazayeri A., Mahmoudi R. (2008), Determining the contamination of turkey meat with *Escherichia coli O157:H7* and *Listeria monocytogenes* by two methods of culture and PCR in Isfahan, Iran Veterinary Journal (University Shahid Chehran Ahvaz), Volume 5, Number 4, Page 20-26. [In Persian]
- [5]. Wang L, Zhang S, Zheng D, Fujihara S, Wakabayashi A, Okahata K, et al. Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in foods and fecal specimens obtained from cattle, pigs, chickens, asymptomatic carriers, and patients in Osaka and Hyogo, Japan. Japanese Journal of Infectious Diseases 2017; 70(4): 464-9. <https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2016.486>.
- [6]. Ombui JN. Quality of raw milk collected and marketed by dairy cooperative societies in kiambu district Kenya. Bulletin of Animal Health and production in Africa. 1995; 43(4): 277-284.
- [7]. Sadeghi Fard N.K., Azizi Jalilian F., Mirkhani Nahal A. Investigation of contamination of raw milk and *Staphylococcus aureus* in Ilam, scientific journal of Ilam University of Medical Sciences, 2005, 14(1):44-49. [In Persian].
- [8]. Saharia J, Saikia S, Bordoloi JP. Influence of housing on coliform count of cows milk in different seasons. Indian Vet J. 1997; 74: 452-3.
- [9]. Sischo WM. Quality of milk and tests for antibiotic residues. J. Dairy Sci. 1996; 76: 1065-1066. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76460-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76460-3).
- [10]. Mahmoudi, F., Ebadi, Fatehabad, A., Shokraei, S. Investigation of total microbial load, coliform and *Escherichia coli* contamination of raw milk in Khorasan Razavi province, the second national conference on milk health from production to consumption and its nutritional importance, 2015, 1-6. [In Persian].
- [11]. Robinson RA, Carl A. Encyclopedia of food microbiology. Sandiego: Academic Press; 2000. p: 240-350.
- [12]. Razweiler, Pathogenic microbes in food and epidemiology of food poisoning, Tehran University Press, 2019, edition 5, 24-31.
- [13]. Feng P, Weagant S. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Bacteriological Analytical Manual, 2007. 20, 1-25.
- [14]. Crump JA, Sulka AC, Langer AJ, Schaben C, Crielly AS, Gage R, et al. An outbreak of *Escherichia coli O157:H7* infections among visitors to a dairy farm. N Engl J Med. 2002; 347(8): 555-60. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa020524>.
- [15]. Black RE., Brown KH., Becker S., Alim ARMA., Merson MH. Contamination of weaning foods and transmission of enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea in children in rural Bangladesh. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 1982; 76 (2): 259- 64. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(82\)90292-9](https://doi.org/10.1016/0035-9203(82)90292-9)
- [16]. Soomro A.H, M.A. Arain, M. Khaskheli and B. Bhutto. Isolation of *Escherichia Coli* from Raw Milk and Milk Products in Relation to Public Health Sold under Market Conditions at Tandojam, Pakistan Journal of Nutrition, 2002. 1(3): 151-152. <https://doi.org/10.3923/pjn.2002.151.152>.
- [17]. Bonyadian M, Moshtaghi H & Akhavan Taheri M. Molecular characterization and antibiotic resistance of enterotoxigenic and entero-aggregative *Escherichia coli* isolated from raw milk and unpasteurized cheeses. Veterinary Research Forum 2014; 5(1): 29-34.
- [18]. Zaim, A., Tajalipour, F., Tairani Kamel, M.R. Investigating the level of *Brucella* and *Escherichia coli* contamination of local (raw) milk in Neishabur city, the first national conference on snacks, 2015, 1-4. [In Persian].
- [19]. Batani, J. and Samadzadeh, R. Investigating the level of contamination of traditional milk and cheese being sold with *Brucella* and *Escherichia coli* in Zanzan city, scientific journal of Zanzan University of Medical Sciences and Health Services, 2008, 35, page 58.
- [20]. Ansari, S. and Yavormanesh, M. Evaluation of the correlation between the presence of Shiga toxin producing genes in *Escherichia coli O157:H7* with microbial and chemical parameters in raw milk, Journal of Food Science and Industry, 2018, 14, 70:283-290. [In Persian].
- [21]. Yarahmadi, B., Mahdavi, A., Moidinejad, A. Investigation of total microbial load contamination of *Wahserchia coli* in Shirkham, scientific research quarterly of Lorestan University of Medical Sciences, 2007, 10(7): pp. 68-78. [In Persian].



- [22].Sadeghi Fard N.K., Azizi Jalilian F., Mirkhani Nahal A. Investigation of contamination of raw milk and Staphylococcus aureus in Ilam, scientific journal of Ilam University of Medical Sciences, 2005, 14(1):44-49. [In Persian].
- [23].Almeida G, Figueiredo A, Rola M, Barros RM, Gibbs P, Hogg T, et al. Microbiological characterization of randomly selected portuguese raw milk cheeses with reference to food safety. J Food Prot. 2007 Jul; 70(7): 1710-16. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.7.1710>.
- [24].Fadaei A.M., Jamshidi, A., Khairi, S. Comparison of bacteriological contamination of raw and pasteurized milk in Shahrekord in 1385, Journal of University of Medical Sciences, 2007, 10(2):37-40. [In Persian]
- [25].Ehsani, A., Langroudi, A., Valizadeh, S., Ebadi Fathabadi, A. Investigation of microbial contamination of raw milk in total form and Escherichia coli and total bacterial count from animal husbandry to delivery to the factory in West Azarbaijan province, the second national conference on milk health from production to consumption and its nutritional importance, 2015, 7-1. [In Persian].
- [26].Sultan Dalal, M.M., Zandieh Moradi, R., Mazaheri Nejadfard, R., Rajabi, Z. Identification and diagnosis of enterohemorrhagic Escherichia coli in the milk of cows in Borujard city by molecular method, Journal of Paramedical Faculty of Tehran University of Medical Sciences, 2019, 13,5:411-418.
- [27].Virpari PK, Nayak JB, Brahmabhatt MN & Thaker HC. Study on isolation, molecular detection of virulence gene and antibiotic sensitivity pattern of Escherichia coli isolated from milk and milk products. Veterinary World 2013; 6(8): 541-5. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2013.541-545>.
- [28].Asmahan AA & Warda SA. Incidence of Escherichia coli in raw cow's milk in Khartoum state. British Journal of Dairy Sciences 2011; 2(1): 23-6.



"This journal is following of Committee on Publication Ethics (COPE) and complies with the highest ethical standards in accordance with ethical laws". This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited Copyright © 2023 Zoonosis.



Research Article



Investigating the contamination of raw milk with *Escherichia coli* and *Escherichia coli* O157 in Ramhormoz City, Khuzestan

Mustafa Mursali¹, Amir Shakerian^{2*}

1. MSc student in Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
2. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran



*Corresponding author: Amshakerian@yahoo.com

Received: 2023/07/30

Accepted: 2023/09/06

Abstract

This study was conducted to investigate the contamination of raw milk with *Escherichia coli* and *Escherichia coli* O157 bacteria in Ramhormoz City, Iran. To examine the contamination levels, 50 samples of raw cow's milk were collected from various locations in Ramhormoz City, including the north, south, east, west, and suburbs, during both cold and warm seasons, with 25 samples collected in each season. The total count and MPN methods were utilized to enumerate bacteria and coliforms. Additional tests involved culturing samples on EMB and McConkey agar, as well as sorbitol-containing SMA with cefixime potassium tellurite for further analysis. The IMVIC test was employed for the differential diagnosis of *E. coli*. In 8 samples (16%), the total microbial load in raw milk was found to be unfavorable, although still within the standard range. The northern and southern regions exhibited the highest levels of *E. coli* contamination, with rates of 60% and 80% during the winter and summer seasons, respectively. A statistically significant difference was observed among various regions of Ramhormoz City regarding *E. coli* infection during the winter season ($p < 0.05$). Moreover, the prevalence of *E. coli* O157 contamination reached 20% in the northern and southern regions during the winter season and increased to 40% in the southern region during the summer season. A statistically significant difference was also noted among different regions of Ramhormoz City concerning *E. coli* O157 contamination during the winter season ($p < 0.01$). Contamination levels in raw milk tend to be higher during the hot season compared to the cold season. Therefore, it is imperative to uphold the cold chain, prevent mastitis in cows, and avoid mixing their milk with that of healthy cows. Additionally, adherence to proper principles during milk transfer, including the use of appropriate pumps and cooling tanks, as well as regular disinfection of milking equipment and implementation of Cleaning in Place (CIP) systems, is essential to mitigate the risk of raw milk contamination.

Keywords: Raw milk, Microbial load, *Escherichia coli*, Ramhormoz City

How to cite this article: Mursali M, Shakerian A.. Investigating the contamination of raw milk with *Escherichia coli* and *Escherichia coli* O157 in Ramhormoz City, Khuzestan. *Journal of Zoonosis*. 2023; 3 (2): 57-69.