

بررسی میزان شیوع استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در شیر دریافتی مرکز جمع آوری شیر شهرستان گرمسار

دکتر غلامرضا جاهد خانیکی^۱ *، دکتر ابوالفضل کامکار^۲ و دکتر امیر محمد تهرانی^۳

چکیده:

مطالعه ای به منظور ارزیابی میزان شیوع استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در شیر دریافتی مرکز جمع آوری شیر شهرستان گرمسار انجام شد. برای این منظور تعداد ۹۶ نمونه (۸۴ نمونه شیر ترکیبی و ۱۲ نمونه شیر فله داخل تانکر) از شیر دریافتی مرکز جمع آوری شیر شهرستان گرمسار به صورت تصادفی نمونه برداری شد. نمونه های شیر در شرایط بهداشتی به آزمایشگاه حمل گردیدند. در آزمایشگاه پس از آماده سازی از رقت های 10^{-2} تا 10^{-6} بر روی محیط برد پارکر کشت داده شد. سپس پلیتها برای مدت دو روز (۴۸ ساعت) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شد. بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری، پرگنه های دارای مرکز سیاه و اطراف روشن مشخص شدند و از آنها با استفاده از پلاسمای سیترا ته خرگوش آزمایش کوآگولاز به عمل آمد. همچنین آزمایش کاتالاز در مورد آنها انجام شد. پرگنه های همشکل و مشابه که از نظر کوآگولاز و کاتالاز مثبت بودند به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس شمارش شدند. نتایج نشان داد که میانگین شمارش استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در شیر ترکیبی $10^5 * 5/4$ باکتری در هر میلی لیتر می باشد و دامنه تغییرات از $10^6 * 2/1 - 10^4 * 8/6$ باکتری در هر میلی لیتر و انحراف معیار $10^5 * 3/5$ باکتری در هر میلی لیتر متغیر است. در شیر فله (تانکر) نیز میانگین شمارش استافیلوکوکوس اورئوس $10^5 * 3/2$ باکتری در هر میلی لیتر بوده و دامنه تغییراتی از $10^5 * 5/5 - 10^5 * 1/4$ باکتری در هر میلی لیتر و انحراف معیار $10^5 * 1/4$ باکتری در هر میلی لیتر را داراست. این مطالعه نشان داد که شیر دریافتی حاوی تعداد زیادی استافیلوکوکوس اورئوس می باشد. با توجه به بالا بودن این میکروارگانیسم احتمال خطر بهداشتی حاصل از وجود آنروتوکسین استافیلوکوکی در فرآورده های شیر برای مصرف کننده وجود دارد. به منظور کاهش آلودگی استافیلوکوکی در شیر تولید شده، درمان و کنترل ورم پستانهای بالینی و تحت بالینی در دامدارها توصیه می شود. همچنین رعایت بهداشت در طول تولید، حمل و نقل و ذخیره سازی شیر ضروری بنظر می رسد.

واژه کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت، مرکز جمع آوری شیر، آلودگی شیر

*. عهده دار مکاتبات

۱. بخش بهداشت مواد غذایی گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران.
۲. گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
۳. دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی گرمسار

مقدمه:

شیر ماده غذایی بسیار با ارزشی است که با ذائقه افراد در سنین مختلف سازگاری دارد و مصرف آن برای تامین بخشی از نیازهای تغذیه ای لازم است. این ماده غذایی نقش مهمی در افزایش بهره هوشی، رشد و نمو بدن، دیر خسته شدن و دیر پیر شدن افراد جامعه دارد. هر فرد باید سالانه حداقل ۲۰۰ لیتر شیر و فرآورده های لبنی مصرف کند. در حال حاضر سرانه تولید شیر در ایران ۹۵ کیلوگرم است که لازم است این مقدار به بیش از ۱۶۲ کیلوگرم برسد (فصلنامه نظام دامپزشکی، ۱۳۸۲). در این مورد توجه به مسائل کیفی شیر بسیار مهم است. زیرا شیر محیطی مناسب برای رشد و تکثیر میکروارگانیسمی همچون استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) می باشد و رشد این میکروارگانیسم سبب به مخاطره افتادن بهداشت عمومی می گردد. خطر عمده آلودگی شیر به این میکروارگانیسم آن است که می تواند تولید آنزیم توکسین نماید و موجب گاستروانتریت حاد در انسان شود (رضویله ۱۳۷۸، کریم و فرخنده ۱۳۶۳ و James M.J. 1992). آلودگی شیر به استافیلوکوکوس اورئوس می تواند به دو روش اولیه و ثانویه صورت پذیرد. آلودگی اولیه با بیمار بودن دام به ورم پستان استافیلوکوکی وارد شیر وارد می شود و در شکل آلودگی ثانویه از طریق دست کارگران، پوست حیوان، گرد و خاک و ظروف و وسایل آلوده به شیر انتقال می یابد. به عبارت دیگر استافیلوکوکوس اورئوس می تواند از طریق آلوده شدن شیر از پستان گاو یا از طریق آلودگی پس از پاستوریزاسیون شیر از منابع انسانی یا محیطی، یا از طریق وسایل و تجهیزاتی که به اندازه کافی تمیز و بهداشتی نیستند به شیر و فرآورده های شیر وارد شود (کریم و فرخنده ۱۳۶۳، De Luca G. et al. 1997, Ashenafi M. 1990 Halpin Dohnalek M.I. and Marth E.H. 1989). فرآورده های لبنی مانند شیر پاستوریزه آلوده و شیر خام، شیر خشک بدون چربی که با روش افشان خشک

شده است، کره، دوغ کره در اشاعه مسمومیت های غذایی استافیلوکوکی حائز اهمیت می باشند. زیرا استافیلوکوک می تواند سریعاً در این گونه مواد غذایی رشد و تکثیر یابد (Halpin Dohnalek M.I. and Marth E.H. 1989). پنیرهایی که از شیر خام و غیر پاستوریزه تهیه می شوند مکرراً در اشاعه مسمومیت استافیلوکوکی دخیل می باشند (De Luca G. et al. 1997, Vernozy- Rozand C. 1998).

مقدار تولید سالیانه شیر شهرستان گرمسار بالغ بر ۴۳۸۰ تن می باشد. شرایط آب و هوای نسبتاً گرم گرمسار سبب می شود که تولید شیر با کیفیت خوب مشکل باشد. زیرا سرد کردن شیر تحویلی به مرکز جمع آوری و کارخانجات شیر امری دشوار می باشد. از سویی ممکن است اصول بهداشت در نظافت و سترون کردن وسایل و یا هنگام دوشش شیر و انتقال آن به خوبی رعایت نگردد. همچنین شیوع ورم پستان استافیلوکوکی در میان دامدارهای این شهرستان بر احتمال آلودگی شیر تحویلی ۳۰۰ دامداری صنعتی، نیمه صنعتی و سنتی به مرکز جمع آوری شیر شهرستان گرمسار به استافیلوکوکوس اورئوس می افزاید. به همین دلیل این پژوهش با هدف تعیین وضعیت بهداشتی شیر دریافتی مرکز جمع آوری شیر شهرستان گرمسار از نظر آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس و میزان بروز آن انجام گرفت تا در صورت نیاز تدابیر بهداشتی لازم برای کنترل و پیشگیری از آلودگی شیر به این باکتری و ارتقای بهبود کیفیت شیر به کار گرفته شود و از آلودگی شیر و فرآورده های آن هم چون خامه، پنیر، شیر خشک و بستنی جلوگیری شود تا سبب مسمومیت غذایی در مصرف کننده نشود.

روش کار:

جمع آوری نمونه های شیر: تعداد ۹۶ نمونه از شیر خام دریافتی مرکز جمع آوری شیر شهرستان گرمسار در ۱۲ هفته متوالی در فصل تابستان (از اول تیر ماه تا پایان شهریور ماه)

نمونه برداری شد. نمونه ها از هفت منطقه یا مسیر دامداری که شیر را به مرکز جمع آوری شیر شهرستان گرمسار می فرستند (روزانه بالغ بر ۱۲۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ لیتر شیر خام به این مرکز تحویل می دهند) تهیه گردید. از هر منطقه ۱۲ نمونه از شیر ترکیبی (Composite Milk) آن منطقه جمع آوری شد. پس از آن که شیرهای خام مناطق به داخل تانکر حمل کننده شیر منتقل گردید در زمان انتقال آن به کارخانه شیر پاستوریزه تهران از شیر فله داخل تانکر (Bulk Milk) نیز نمونه برداری صورت گرفت. نحوه عمل بدین شکل می باشد که ابتدا به کمک همزن شیر داخل ظروف حمل شیر کاملاً بهم زده شد تا یکنواخت گردد، سپس توسط پیمانه های استریل مخصوصی استریل شده در حدود ۲۰۰ میلی لیتر شیر به طور جداگانه و به صورت تصادفی (Randomly) برداشت گردید و در داخل بطریهای درب دار استریل مخصوص نمونه برداری ریخته شد. بر روی هر یک از بطری ها محل نمونه برداری، تاریخ نمونه برداری، نوع نمونه، محل تحویل شیر، نام نمونه بردار یادداشت شد. سپس نمونه ها در داخل کلمن حاوی یخ قرار داده شد و جهت انجام آزمایش به آزمایشگاه میکروبیشناسی مواد غذایی ارسال گردید.

آزمایش نمونه ها: در آزمایشگاه از نمونه های شیر در شرایط کاملاً استریل و آسپیتک در مجاورت شعله یک میلی لیتر برداشت شد و در داخل لوله حاوی رینگر استریل وارد شد. با توجه به این که پیش آزمایش انجام شده آلودگی بالای شیر خام را نشان داد. لذا سریال رقت تا رقت 10^{-6} یعنی رقت های $1/10$, $1/100$, $1/1000$, $1/10000$, $1/100000$ و $1/1000000$ تهیه گردید. سپس به میزان $0/1$ میلی لیتر از رقت های تهیه شده را بر روی پلیت حاوی محیط برد-پارکر (Baird's Parker Agar) برده و توسط پی پت پاستورال شکل استریل در سطح پلیت کاملاً پخش شد. بعد از این مرحله پلیتها به مدت ۴۸ ساعت به صورت وارونه در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت و سپس

پرگنه های با مرکز سیاه و هاله روشن مشخص شد و برای تأیید تشخیص، مورد آزمایش کوآگولاز با سرم سیترا ته خرگوش و آزمایش کاتالاز قرار گرفت. سپس پرگنه هایی که هم شکل بوده و از نظر کوآگولاز و کاتالاز نیز مثبت بودند شمارش گردیدند و در عکس رقت ضرب گردیده و تعداد آنها در هر میلی لیتر شیر گزارش گردید (کریم ۱۳۷۸).

نتایج:

میزان شیوع استافیلوکوکوس اورئوس در شیر آزمایش شده بر اساس کلنی های تشکیل شده با هاله روشن و مرکز سیاه در محیط برد-پارکر آگار و مثبت بودن از نظر آزمایش کوآگولاز صورت گرفت. تعداد استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در ۹۶ نمونه شیر آزمایش شده از $10^4 * 8/6$ باکتری تا $10^6 * 2/1$ باکتری در هر میلی لیتر شیر خام (cfu/ml) متغیر می باشد. بالاترین شمارش استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شده در شیر خام شهرستان گرمسار با میانگین $10^6 * 1/1$ باکتری استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در ارتباط با منطقه یا مسیر ششم مشخص گردید که دارای طول میدان تغییرات بین $10^6 * 2/1 - 10^5 * 5/8$ باکتری در هر میلی لیتر شیر خام می باشد (طبق جدول شماره ۱)، کمترین مقدار آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس مربوط به منطقه یک با میانگین $10^5 * 1/8$ باکتری در هر میلی لیتر شیر خام و تغییرات بین $10^5 * 4/8 - 10^4 * 8/6$ باکتری در هر میلی لیتر شیر خام می باشد. میانگین شمارش کل استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه های شیر هفت منطقه که از بشکه های شیر نمونه برداری شد $10^5 * 5/4$ باکتری در هر میلی لیتر می باشد. این میزان شیوع از $10^4 * 8/6$ تا $10^6 * 2/1$ باکتری در هر میلی لیتر متغیر بوده است. در شیر تانکر که مجموع شیر هفت منطقه می باشد، میانگین میزان بار میکروبی $10^5 * 3/2$ و انحراف معیار $10^5 * 1/4$ باکتری در هر میلی لیتر و طول میزان تغییرات (Range) $10^5 * 1/4$ تا $10^5 * 5/5$ باکتری در هر میلی لیتر می باشد.

بحث :

بر اساس جدول شماره یک تعداد استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در نمونه‌های شیر داخل بشکه‌ها از دامداریهای هفت منطقه شهزستان گرمسار $10^5 * 5/4$ (cfu/ml) می‌باشد و طول میدان تغییرات تعداد استافیلوکوکوس اورئوس از $10^4 * 8/6$ تا $10^6 * 2/1$ باکتری در هر میلی لیتر متغیر است. همچنین میانگین تعداد استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در شیر فله (تانکر) $10^5 * 3/2$ (cfu/ml) و طول میدان تغییرات تعداد استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در شیر فله از $10^5 * 1/4$ تا $10^5 * 5/5$ (cfu/ml) است. با توجه به این نتایج؛ میزان آلودگی شیر خام به استافیلوکوکوس اورئوس متغیر می‌باشد و گاهی اوقات بیش از 10^4 باکتری در هر میلی لیتر وجود دارد. در گزارشی نیز مقادیر آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس از $10^3 * 3/1$ تا $10^5 * 9/8$ باکتری در هر میلی لیتر شیر خام بیان شده است (Santos E.C. and Geningeorgisc C.1981). در مطالعه ای که بر روی شیر گاوهای شیرده درترینیداد (Trinidad) صورت گرفته است، سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس از شیر ترکیبی داخل بشکه‌ها و شیر فله (تانکر ذخیره) جدا شده است. به طوریکه 100% شیر نمونه‌هایی که از شیر فله گرفته شده است به استافیلوکوکوس اورئوس و $97/6\%$ نمونه‌های شیر ترکیبی (مخلوط) داخل بشکه‌ها به استافیلوکوکوس اورئوس آلوده بوده‌اند. میانگین شمارش استافیلوکوکوس اورئوس در شیر فله از $10^3 * 5/9$ تا $10^5 * 1/2$ (cfu/ml) و در شیرهای ترکیبی از $10^4 * 2/4$ تا $10^4 * 3$ (cfu/ml) متغیر بوده است (Adesiym A.A. etal.1998). وجود $10^5 * 4/9$ تا 10^6 باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در هر میلی لیتر شیر قادر است تا به اندازه کافی آنتروتوکسین تولید کند و سبب بیماری در فردی که شیر آلوده مصرف کرده است، شود (Noletto A.L. and Bergdoll

M.S. 1980, Sharpe J.M.1989, Pawsey. R.K. 2002). برای ایجاد علائم مسمومیت استافیلوکوکی در انسان حداکثر یک میکروگرم یا کمتر از آن باید مصرف گردد که رشد استافیلوکوکوس اورئوس بالاتر از 10^6 باکتری در هر میلی لیتر می‌تواند این مقدار آنتروتوکسین را تولید کند (Noletto A.L. and Bergdoll M.S. 1980). بر اساس جدول شماره یک به طور متوسط در هر میلی لیتر از شیرهای تحویلی به مرکز جمع آوری شیر گرمسار در حدود $10^5 * 5/4$ باکتری در هر میلی لیتر شیر وجود دارد که احتمال تولید آنتروتوکسین در شیر وجود دارد. زیرا استافیلوکوکوس اورئوس می‌تواند در دمای $48-10$ درجه سانتیگراد وقتی که تعداد این باکتری به 10^6-10^5 باکتری در هر میلی لیتر برسد تولید آنتروتوکسین کند. آنتروتوکسین‌های ایجاد شده نسبت به حرارت مقاوم هستند و حتی در دمای استریلیزاسیون نیز از بین نمی‌روند (Pawsey R.K. 2002). توکسین تولید شده می‌تواند در تکنولوژی فرآوریهای بعدی مانند تولید پنیر باقی بماند و خطری جدی برای سلامت مصرف کننده به دنبال داشته باشد (European Commission 2003). در نتایج یک تحقیق آمده است که نمونه‌های شیر پاستوریزه فله یا شیر پاستوریزه در داخل تانکر ذخیره می‌تواند حاوی 10^3 تا $10^4 * 2$ استافیلوکوکوس اورئوس در هر میلی لیتر شیر باشد. در حالی که از ترکیب درجه حرارت و زمان که برای پاستوریزاسیون شیر استفاده می‌شود این انتظار می‌رود که تمام باکتریهای بیماریزای موجود در شیر خام از بین برود. در واقع پاستوریزاسیون تا حد زیادی یک روش تضمینی است تا تمام باکتریهای بیماریزا از جمله استافیلوکوکوس اورئوس موجود در شیر از بین برده شود. مشکلی که وجود دارد آن است که آنتروتوکسینهای تشکیل شده در شیر خام می‌تواند در شیر پاستوریزه باقی بماند و مساله ساز گردند (Santos E.C. et al. 1981). در تحقیقی دیگر بیان شده است که پاستوریزاسیون بر روی استافیلوکوکوها اثر منفی دارد ولی نمی‌تواند به طور کامل آنها را از بین ببرد. به طوری که

استافیلوکوکهای موجود در شیر خام پس از پاستوریزاسیون به میزان ۹۹/۹۶٪ کاهش می یابند (Juneia F. and Pal R.N. 1975). این مساله می تواند در کارخانه هایی که عملیات بهداشتی ضعیفی دارند سبب آلودگی شیر پاستوریزه به استافیلوکوکوس اورئوس پس از فرآوری شده و مسمومیت غذایی ایجاد کند. در این باره در سال ۲۰۰۰ در ژاپن بیش از ۱۲۰۰۰ نفر به علت مصرف شیر پاستوریزه آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس دچار مسمومیت غذایی شدند. علت آلودگی و مسمومیت تمیز نبودن لوله ها و تجمع استافیلوکوکوس اورئوس در لوله های کارخانه فرآوری شیر گزارش شده است که بدنبال آن استافیلوکوکوس اورئوس در محصول رشد کرده است (Anon 2000).

در برخی از کشورها مانند برزیل میزان بار میکروبی شیر (شمارش کلی میکروبی) باید کمتر از 10^6 باکتری در هر میلی لیتر و شمارش استافیلوکوکها نیز باید از ۱۰۰ عدد در مورد شیرهای با درجه ۲ باشد. در مورد شیر خامی که به منظور پنیر سازی استفاده می شود و باید در هر میلی لیتر 10^4 باکتری تلقیح نمود؛ استاندارد وجود ندارد (Santos E.C. et al. 1981). در ایران تاکنون استاندارد در باره میزان استافیلوکوکوس اورئوس در شیر خام مورد استفاده برای تولید فرآورده های شیر تدوین نشده است. اما با توجه به بکارگیری روزافزون سیستمهای کیفی و بهداشتی در افزایش بهبود کیفیت و بهداشت شیر تدوین چنین استاندارد در ارتقای کیفی شیر می تواند مفید باشد. در مورد میزان استافیلوکوکوس اورئوس در شیر خام برخی از سازمانهای بین المللی از جمله کمیسیون اروپا اعلام می دارد شیر خامی که می خواهد مورد فرآوری قرار گیرد باید حداکثر 10^3 cfu/ml استافیلوکوکوس اورئوس داشته باشد (European Commission 2003) در تحقیقاتی که بر روی استافیلوکوکوس اورئوس در برزیل انجام گرفته نشان می دهد که به علت فقدان سردخانه در سیستمهای جمع آوری شیر و از طرفی شیوع ورم پستان در میان گاوهای شیری، رشد استافیلوکوکوس اورئوس در شیر غیر پاستوریزه غیر معمول نمی باشد. مقادیر زیادی از استافیلوکوکوس

اورئوس در فرآورده های شیر و شیر پاستوریزه ای که برای ساخت پنیر استفاده شده، نیز دیده شده است (Santos E.C. and Genigeorgis C. 1981) همچنین استافیلوکوکوس اورئوس در لخته و آب پنیر نیز می تواند زنده باقی بماند (Ibrahim G.F. et al. 1981). در صورتی که تعداد استافیلوکوکها بیش از 10^6 عدد در هر گرم پنیر باشد باعث تولید زهرابه و ایجاد مسمومیت می شود. زمان بقای استافیلوکوکوس اورئوس در پنیرهای سخت و پنیر سفیدی که در آب نمک نگهداری می شود، بسته به غلظت نمک از ۲۴ تا ۵۰ روز است (کریم و فرخنده ۱۳۶۳). مطالعات نشان می دهند که بروز مسمومیت غذایی استافیلوکوکی حاصله از شیر عموماً با مصرف شیر خام گاوی که دچار ورم پستان می باشد و یا شیر خامی که در طول جمع آوری به علت عدم رعایت بهداشت در دامداری یا در طول حمل و نقل آلوده شود و یا پس از پاستوریزاسیون و یا به طور اتفاقی توسط مصرف کننده آلودگی ایجاد گردد (Sharpe M.E. et al. 1965). موارد زیادی از شیوع ورم پستان بالینی و تحت بالینی در گاوهای شیروار و در شیر خام گزارش شده است. به طوری که تعداد موارد عفونتهای ورم پستانی استافیلوکوکی بیش از ۲۰ درصد و گاهی بالاتر از ۶۷٪ به صورت بالینی و تحت بالینی مشاهده شده اند. گفته می شود این مساله غیر عادی نبوده و بطور معمول در گاوداریها وجود دارد (Dodd F.H. et al. 1977). با توجه به جدول شماره یک؛ علت وجود تعداد بالایی از استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در نمونه های شیر، احتمالاً آلودگی غدد پستانی گاوهای شیرده به این باکتری باشد. با توجه به این که در دامداریهای گرمسار ورم پستانهای بالینی و تحت بالینی استافیلوکوکی وجود دارد، در نتیجه شیر تولیدی توسط دامداریها نیز به این باکتری آلوده خواهند بود. از طرفی دیگر شیر حمل شده به مرکز جمع آوری شیر تحت شرایط بهداشتی مناسب صورت نمی پذیرد. به گونه ای که ظروف حمل شیر آلوده بوده و داخل بشکه های پلاستیکی به اندازه کافی تمیز و بهداشتی نمی شوند. همچنین شیر در شرایط سرما و توسط ماشینهای یخچال دار از مسافتهای طولانی به مرکز جمع آوری حمل نمی شود. در نتیجه پس از ۳-۵ ساعت استافیلوکوکهای موجود در شیر (در طول حمل و نقل) شروع به رشد و تکثیر

نموده و نهایتاً منجر به بالا رفتن تعداد آنها در نمونه‌های شیر خواهد شد. از سویی فقدان شرایط و عملیات بهداشتی مناسب در دامداریها به بالا رفتن بار میکروبی شیر نیز کمک نماید.

نتیجه گیری:

اشاعه استافیلوکوکوس اورئوس در شیر خام در مقادیر بیش از 10^6 باکتری در هر میلی لیتر شیر دارای اهمیت بهداشتی است و این اهمیت زمانی نمود بیشتری پیدا می‌کند که این شیر به مصرف پنی‌ساز برسد. تهیه پنی‌های سنتی از شیر خام آلوده که حرارت پاستوریزاسیون نمی‌بیند، سلامت جامعه را به خطر می‌اندازد. با توجه به آلودگی بالای شیر دریافتی مرکز جمع آوری شیر به استافیلوکوکوس اورئوس باید آن را به عنوان یک زنگ خطر تلقی نمود و این احتمال را داد که ممکن است آنتروتوکسین نیز در شیر خام تولید شده باشد. از آنجایی که حرارت پاستوریزاسیون قادر نمی‌باشد، آنتروتوکسین این باکتری را از بین ببرد، در نتیجه شیر آلوده ای که به منظور مصرف و یا خصوصاً برای ساخت پنی‌ر استفاده می‌شود سلامت مصرف کننده را در معرض خطر قرار می‌دهد.

روشهای متعددی می‌توانند در کاهش دادن میزان شیوع و بروز استافیلوکوکوس اورئوس در شیر مؤثر باشند. یکی از این روشها کنترل ورم پستان استافیلوکوکی است. استفاده از آزمایش ورم پستان کالیفرنیا (California Mastitis Test (CMT و آزمایشهای سنتجشی و غیر باکتریایی مشابه می‌توانند به طور معمول در دامداریهای صنعتی و سنتی رایج گردند. این امر به تشخیص و شناسایی گاوهای دچار ورم پستان تحت بالینی و فاقد علائم بالینی کمک نموده و سبب کنترل بیماری و نهایتاً کنترل آلودگی اولیه شیر می‌شود. از سویی لازم است شرایط بهداشتی در دوشش و جمع آوری شیر بهبود بخشیده شود. همچنین حمل و نقل شیر توسط کامیونهای یخچال دار سریع صورت گیرد و شیر در درجه حرارت پایین (۴ درجه سانتیگراد) ذخیره سازی شود. در صورتی که بازرسی و کنترل بهداشتی شیر با تکیه بر جنبه های بهداشتی گاو‌داریها، سیستمهای جمع آوری شیر و حمل و نقل آن، کنترل کیفی فرآورده های خام و نهایی انجام شود و معیارهای کیفی برای پرداخت بهای شیر به کار رود کیفیت در سطوح تولید شیر و فرآورده های آن افزایش خواهد یافت.

جدول ۱- میزان بروز استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در شیر دریافتی مرکز جمع آوری شیر بر مبنای (cfu/ml).

مناطق جمع آوری شیر	تعداد نمونه	میانگین شمارش کل	انحراف معیار	طول میدان تغییرات (Range)
یک	۱۲	$1/8 \times 10^5$	$3/2 \times 10^5$	$1/6 \times 10^4 - 4/8 \times 10^5$
دو	۱۲	$2/8 \times 10^5$	$1/6 \times 10^5$	$9/7 \times 10^4 - 6/1 \times 10^5$
سه	۱۲	$4/1 \times 10^5$	$3/5 \times 10^5$	$1/1 \times 10^5 - 1/1 \times 10^6$
چهار	۱۲	$5/9 \times 10^5$	$2/6 \times 10^5$	$1/6 \times 10^5 - 1/1 \times 10^6$
پنج	۱۲	$4/1 \times 10^5$	$3/1 \times 10^5$	$1/1 \times 10^5 - 6/6 \times 10^5$
شش	۱۲	$1/1 \times 10^6$	$4/1 \times 10^5$	$5/8 \times 10^5 - 2/1 \times 10^6$
هفت	۱۲	$8/1 \times 10^5$	$6/6 \times 10^5$	$6/1 \times 10^5 - 1/6 \times 10^6$
مجموع هفت نمونه شیر ترکیبی	۸۴	$5/4 \times 10^5$	$3/5 \times 10^5$	$8/6 - 10^4 - 2/1 \times 10^6$
تانکر (شیر فله)	۱۲	$3/2 \times 10^5$	$1/4 \times 10^5$	$1/4 \times 10^5 - 5/5 \times 10^5$

- enterotoxin –A production in cheddar cheese produced with induced starter failure. *Journal of Food Protection*. **44**(3): 189-193.
- James M.J. (1992) *Modern Food Microbiology*. Publishing by Van Nostrand Reinhold, USA. 97- 115.
- Juneia F. and Pal R.N. (1975) Incidence of Staphylococci in the raw market milk and laboratory pasteurized milk. Haryana – Agricultural University. *Journal of Research*. **4**: 30-4-308.
- Noletto A.L. and Bergdoll M.S. (1980) Staphylococcal enterotoxin production in the presence of non-enterotoxigenic staphylococci. *Applied Environmental Microbiology*. **39**: 1167.
- Pawsey R.K. (2002) Case studies in food microbiology for food safety and quality. Royal Society of Chemistry (RS.C).
- Santos E.C., Genigeorgis C. and Faver T.B. (1981) Prevalence of Staphylococcus aureus in raw and pasteurized milk used for commercial manufacturing of Brazilian Minas cheese. *Journal of Food Protection*, **44**(3): 172-176.
- Santos. E.C. and Genigeorgis C. (1981) Survival and growth of staphylococcus aureus in commercially manufactured Brazilian cheese. *Journal of Food Protection*. **44**(3): 177-184.
- Santos E.C. and Genigeorgis C. (1981). Potential for presence and growth of staphylococcus aureus in Brazilian Minas cheese whey. *Journal of Food Protection*, **44**(3): 185-188.
- Sharpe J.M.(1989). Milk borne infection. *Journal of Medical Microbiology*. **29**:239-242.
- Sharpe M.E., Ewoings R.C., Reiter B. and Cuthbert W.A. (1965) A survey of the incidence of coagulative – positive staphylococci in market milk and cheese in England and Wales. *Journal of Dairy Research*, **32**:187-192.
- Vernozy- Rozand C. (1998) Behavior and enterotoxin production by staphylococcus aureus during the manufacture and ripening of raw goat,s milk lactic cheeses. *Journal of Dairy Research*. **66**: 273-281.
- منابع :**
- رضویلی، ودود (۱۳۷۸). میکروبهای بیماریزا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت های غذایی. انتشارات دانشگاه تهران
- فصلنامه نظام دامپزشکی. (۱۳۸۲) بخش آینه مطبوعات. سال چهارم. شماره ۱.
- کریم، گیتی. (۱۳۷۸) آزمون های میکروبی مواد غذایی، انتشارات دانشگاه تهران. چاپ سوم.
- کریم، گیتی و فرخنده، عباس. (۱۳۶۳) شیر و بهداشت همگانی. مرکز نشر دانشگاهی، تهران.
- Adesiyun A.A., Webb L.A. and Romain H.T. (1998) Prevalence and characteristics of staphylococcus aureus strains isolated from bulk and composite milk and cattle handlers. *Journal of Food Protection*. **61**(5): 629-632.
- Anon (2000) Bad milk leaves 12000 sick in Japan. Associated Press/ Reuters Press release.
- Ashenafi M. (1990) Microbiological quality of Ayib, a traditional Ethiopian cottage cheese. *International Journal of Food Microbiology*. **10**: 263-268.
- De Luca G., Zanetti F. and Stampi S. (1997) Staphylococcus aureus in dairy products in the Bologna area. *International Journal of Food Microbiology*. **35**: 267-270.
- Dodd F.H., Westgarth D.R. and Griffin T.K.(1977). Strategy of mastitis control. *Journal of American Veterinary Medicine Association*. **170**: 1127-1128.
- European Commission (2003). Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on staphylococcal enterotoxin in milk products, particularly cheeses. European Commission – Health and consumer Protection Directive General.
- Halpin Dohnalek M.I. and Marth E.H. (1989) Growth and production of enterotoxin A by Staphylococcus aureus in cream. *Journal of Dairy Science*. **72**: 2266-2275.
- Ibrahim G.F., Radford D.R., Baldock A.K. and Ireland L.B. (1981) Inhibition of growth staphylococcus aureus and

THE PREVALENCE OF COAGULATIVE – POSITIVE STAPHYLOCOCCUS AUREUS IN MILK BY RECEIVED IN TO THE MILK COLLECTING CENTER OF GARMSAR CITY

Jahed Khaniki Gh.R.^{*4}, Ph.D; Kamkar A.⁵, Ph.D; Tehrani M.A.⁶, DVM.

A study was carried out to estimate the prevalence of Coagulase – Positive Staphylococcus aureus in milk collected in the milk collecting center in Garmsar city. Ninety-six raw milk samples (84 composite samples and 12 bulk samples) were collected from Garmsar milk collecting center. Raw milk samples were transferred to laboratory in safe conditions. After serial dilution, the appropriate concentrations (10^{-2} to 10^{-6}) were cultured on Baird- Parker agar medium. The plates were incubated at 37 oC for 2 days (48h). After 48 hours' incubation, the colonies with black centers and light areas were used for staphylococcal assay. The coagulase test was done with rabbit plasma and coagulate- positive colonies were then counted. The results showed that mean counts of coagulate-positive Staphylococcus aureus in composite and bulk milk were 5.4×10^5 cfu/ml and 3.2×10^5 cfu/ml, respectively. The counts ranged from 8.6×10^4 to 2.1×10^6 cfu/ml and 1.4×10^5 to 5.5×10^5 cfu/ml. The standard deviations were 3.5×10^5 cfu/ml and 1.4×10^5 cfu/ml respectively. It is clear that the milk collected at this facility was rather heavily contaminated with S. aureus. Therefore, it may constitute a health hazard because of the possible production of enterotoxin in the milk consumed by the people. In order to reduce staphylococcal contamination in milk, it is recommended to treat cases of clinical and subclinical staphylococcal mastitis in livestock. Also, it is necessary to use hygienic procedures during the production process as well as transportation and storage.

Key words: *Coagulative-Positive Staphylococcus aureus, Milk Collecting Center, Milk Contamination.*

*. Author to whom all correspondence should be addressed.

⁴. Department of Environmental health Engineering, Public Health school, Tehran University of Medical Sciences

⁵. Department of Food Hygiene, faculty of veterinary medicine, Tehran University.

⁶. Faculty of Veterinary Medicine, Graduate of Islamic Azad University, Garmsar.