





دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین

## عنوان:

بررسی آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در نمونه های خامه ی سنتی عرضه شده در شهر قزوین طی فصول مختلف در سال ۱۳۹۶-۱۳۹۷

## استاد مشاور:

دکتر پیمان قجریگی

## استاد راهنما:

دکتر رزاق محمودی

## مشاور آماری:

آقای سعید شهبواری

## دانشجو:

خانم نسیم بیگلی خوشمیرام  
دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی  
شهریور ۹۸



## بیان مسئله و مقدمه

- ✓ شیر و فرآورده های آن یکی از اصلی ترین گروه های غذایی برای تأمین بسیاری از مواد مغذی مانند کلسیم و ویتامین ها به شمار می روند.
- ✓ طبق تعریف استاندارد، خامه قسمتی از شیر است که از نظر مقدار چربی شیر نسبتاً غنی بوده و با عمل خامه گیری از شیر جدا می شود و به حالت امولسیون چربی در شیر بدون چربی می باشد که بسته به نوع مصرف، میزان چربی در آن قابل تنظیم می باشد.
- ✓ خامه یک فرآورده ی لبنی مغذی است و به دلیل **ارزش غذایی بالا**، **pH نزدیک به خنثی** و **قابلیت نگهداری محدود**، محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم ها محسوب می شود.



## بیان مسئله و مقدمه

مسمومیت غذایی استافیلوکوکی یکی از شایعترین بیماری های منتقله از طریق غذا می باشد که از طریق مصرف مواد غذایی حاوی توکسین باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در بدن ایجاد می شود.

**علائم عمده مسمومیت:** تهوع، استفراغ، دل پیچه و ضعف - ۳۰ دقیقه تا ۸ ساعت پس از صرف غذا

**بهبودی:** طی ۲۴ تا ۴۸ ساعت

**منابع استافیلوکوکوس اورئوس:** آب، هوا، گرد و خاک، شیر و سایر مواد غذایی

**محل زندگی:** بیشتر در پوست، بینی و دستگاه تنفسی انسان و حیوانات

**رشد و تولید انتروتوکسین:**  $10^5$  باکتری در هر گرم ماده غذایی



## اهداف پژوهش

هدف کلی:

تعیین آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در نمونه های خامه ی سنتی عرضه شده در شهر قزوین طی فصول مختلف در سال ۱۳۹۶-۱۳۹۷



## اهداف اختصاصی :

۱. تعیین آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در خامه‌های سنتی تولید شده و عرضه شده در شهر قزوین در **فصول سرد**
۲. تعیین آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در خامه‌های سنتی تولید شده و عرضه شده در شهر قزوین در **فصول گرم**
۳. مقایسه آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس بین **مناطق** سه گانه ی شهر قزوین
۴. مقایسه آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس در **فصول** بهار - تابستان - پاییز و زمستان



## اهداف پژوهش

### هدف کاربردی:

وضعیت آلودگی موجود در خامه های سنتی عرضه شده در مناطق سه گانه شهر قزوین مشخص شد و مستندات و نتایج به ارگان های نظارتی مانند سازمان غذا و دارو ، وزارت بهداشت و سازمان دامپزشکی به منظور کاربرد راهکارهای مفید جهت اصلاح فرایندهای تولید ، فراوری و نگهداری و عرضه ی خامه های سنتی ارائه شد.



## سوالات پژوهشی

۱. آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در نمونه های خامه ی سنتی عرضه شده در شهر قزوین در **فصول سرد** چه میزان می باشد؟

۲. آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در نمونه های خامه ی سنتی عرضه شده در شهر قزوین در **فصول گرم** چه میزان می باشد؟

۳. آیا میزان آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در خامه ی سنتی عرضه شده در شهر قزوین در **مناطق سه گانه ی شهر قزوین** متفاوت است؟

۴. آیا میزان آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در خامه ی سنتی عرضه شده در شهر قزوین در **فصول بهار - تابستان - پاییز و زمستان** متفاوت است؟





مقدمه

سابقه تحقیق

مواد و روش ها

نتایج و بحث

نتیجه گیری

پیشنهادات



## مروری بر مطالعات و متون گذشته

محققین و سال	موضوع	نتیجه
حمزه پور و همکاران (۱۳۹۷)	بررسی میزان آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از پنیرهای سنتی عرضه شده در شهرستان مهاباد	از ۱۰۰ نمونه، <b>۴۵ مورد</b> آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس
نجفی و همکاران (۱۳۹۴)	بررسی آلودگی میکروبی شیر و فرآورده های آن در استان یزد	از ۲۴ نمونه خامه، <b>۷ مورد (۲۹/۲ درصد)</b> آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس
مشفق فرو همکاران (۱۳۹۳)	بررسی وضعیت میکروبی و شیمیایی محصولات لبنی سنتی منطقه شمال غرب کشور	آلودگی در <b>۹۶ درصد</b> محصولات سنتی (شیر - ماست - سرشیر و پنیر)



## مروری بر مطالعات و متون گذشته

محققین و سال	عنوان مطالعه	یافته ها
ملا عباس زاده و همکاران (۱۳۹۳)	بررسی آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس در پنیرهای سنتی در بخش قطور شهرستان خوی	از ۸۰ نمونه پنیر، ۴۳ مورد (۵۳/۷۵ درصد) آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس
Haran و همکاران (۲۰۱۲)	بررسی شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در مزارع مینه سوتای آمریکا	از ۱۵۰ مخزن شیر، ۲ مورد آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین
Ertas و همکاران (۲۰۱۱)	تشخیص استافیلوکوکوس اورئوس و انتروتوکسین های آن در پنیر گوسفند و دسرهای لبنی با روش PCR در ترکیه	از ۱۵۰ نمونه، ۸۶ مورد (۵۷/۳ درصد) آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت

## جمع بندی و نتیجه گیری بیان مسئله

به علت **ناقل بودن** افراد از نظر آلودگی به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و **دخالته مستقیم** افراد در تولیدخامه ی سنتی و از انجایی که اکثر مردم **تمایل به استفاده از مواد غذایی سنتی** دارند و با توجه به اینکه در تولید خامه، **حرارت بالا اعمال نمی شود** و همچنین با توجه به **مصرف زیاد خامه** در وعده ی صبحانه، اهمیت موضوع آلودگی خامه ی سنتی به **استافیلوکوکوس اورئوس**، مشخص شده و می تواند راه گشای برنامه ریزی و مداخله های مناسب در سطح تولید و عرضه خامه ی سنتی باشد.

## مواد و روش کار

❖ نوع مطالعه: توصیفی – تحلیلی

❖ جامعه پژوهش: خامه های سنتی شهر قزوین

❖ مکان پژوهش: مناطق ۱، ۲ و ۳ شهر قزوین

❖ روش نمونه گیری: تصادفی سیستماتیک

❖ فرمول نمونه گیری:

$$n = \frac{z^2 P(1-P)}{d^2}$$

با توجه به تحقیقات انجام شده در زمینه های مشابه ( آلودگی مواد لبنی به باکتری ) با احتساب شیوع ۲۸

درصد حجم نمونه به تعداد ۷۸ مورد محاسبه شد که برای افزایش دقت تعداد ۱۰۰ نمونه ( در هر فصل ۲۵

نمونه) تعیین گردید.



## مواد و روش کار

نمونه برداری از خامه های سنتی عرضه شده  
در شهر قزوین  
(طبق استاندارد شماره ۱۹۱)

انتقال به آزمایشگاه

آماده سازی اولیه  
(طبق استاندارد شماره ۳۵۶)

بررسی کلنی های رشد کرده روی محیط  
کشت

تایید گونه با روش ملکولی PCR

فرآیند انجام کار:



## مواد و روش کار

رقت سازی

انتخاب محیط کشت بردپارکر

شناسایی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس  
(بر اساس استاندارد ملی ایران ۶۸۰۶)

انجام تست های تکمیلی  
(کانالاز - کواگولاز - تخمیر مانیتول)

شناسایی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس  
کواگولاز مثبت

مراحل کشت نمونه:

## مواد و روش کار

نحوه کشت باکتری استافیلوکوکوس اورئوس:

۱ گرم خامه ی سنتی + ۹ سی سی آب مقطر

رقت سازی (تهیه ی ۴ رقت)

کشت ۱۰۰ سی سی از هر رقت در محیط برد پارکر آگار



## مواد و روش کار

### (تأیید باکتری استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت)

✓ تست تکمیلی **کاتالاز**:

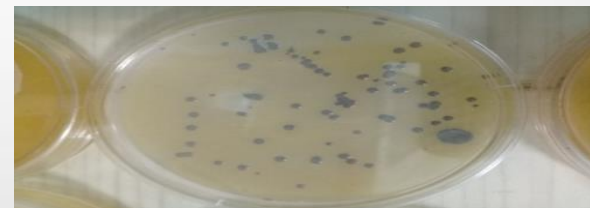
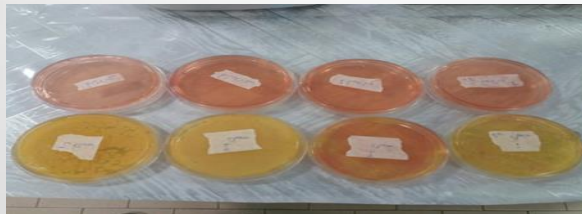
کلی های سیاه رنگ محیط برد پار کر آگار دارای هاله ی شفاف + یک قطره آب اکسیژنه روی لام = تشکیل حباب

✓ تست تکمیلی **کواگولاز**:

باکتری مشکوک + یک قطره از سرم خرگوش روی لام = ایجاد لخته

✓ تست تکمیلی **تخمیر قند مانیتول**:

کشت باکتری در محیط مانیتول سالت آگار = تغییر رنگ محیط از صورتی به رنگ زرد







## مواد و روش کار

### روش تجزیه و تحلیل داده ها:

تحلیل نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۲۳ انجام شد. در این مطالعه جهت بررسی متغیرهای مورد نظر از آزمون دقیق فیشر استفاده شد.

### ملاحظات اخلاقی:

- ✓ اطلاعات فروشندگان در تمام مدت مطالعه محرمانه ماند.
- ✓ اجازه آگاهانه از افراد یا مکانهایی که در این مطالعه شرکت داشته اند گرفته شد.

### محدودیت ها:

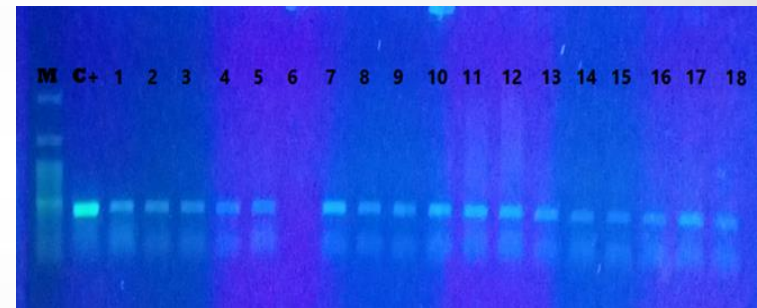
- ✓ تأمین امکانات مالی مورد نیاز برای افزایش تعداد نمونه ها
- ✓ محدودیت زمانی

## یافته ها (نتایج کلی)

بر اساس نتایج این مطالعه میزان آلودگی به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در فصول مختلف در خامه ی سنتی با استفاده از روش کشت ۱۰ درصد بود که گونه ی تمامی باکتری ها با استفاده از روش مولکولی PCR تأیید شد.

جدول ۱: تعداد موارد آلودگی استافیلوکوکوس اورئوس در خامه ی سنتی طی فصول مختلف

فصل	تعداد نمونه	موارد آلودگی
بهار	۲۵	۳
تابستان	۲۵	۲
پاییز	۲۵	۲
زمستان	۲۵	۳
کل	۱۰۰	۱۰

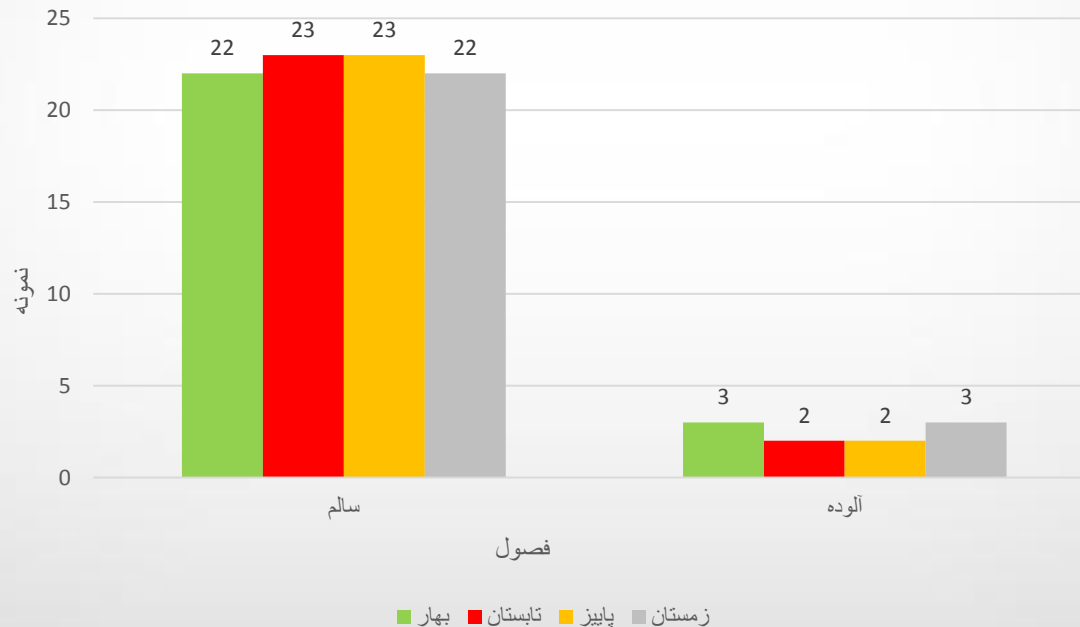


گوده M سایز مارکر ، گوده C<sub>+</sub> نمونه مثبت ، سایر گوده ها نمونه ها

## نتایج مربوط به ارتباط فصل و آلودگی خامه به باکتری

با توجه به آزمون دقیق فیشر، رابطه ی معناداری بین فصل و آلودگی به باکتری مشاهده نشد. بیشترین آلودگی در فصل **بهار و زمستان** مشاهده شد.

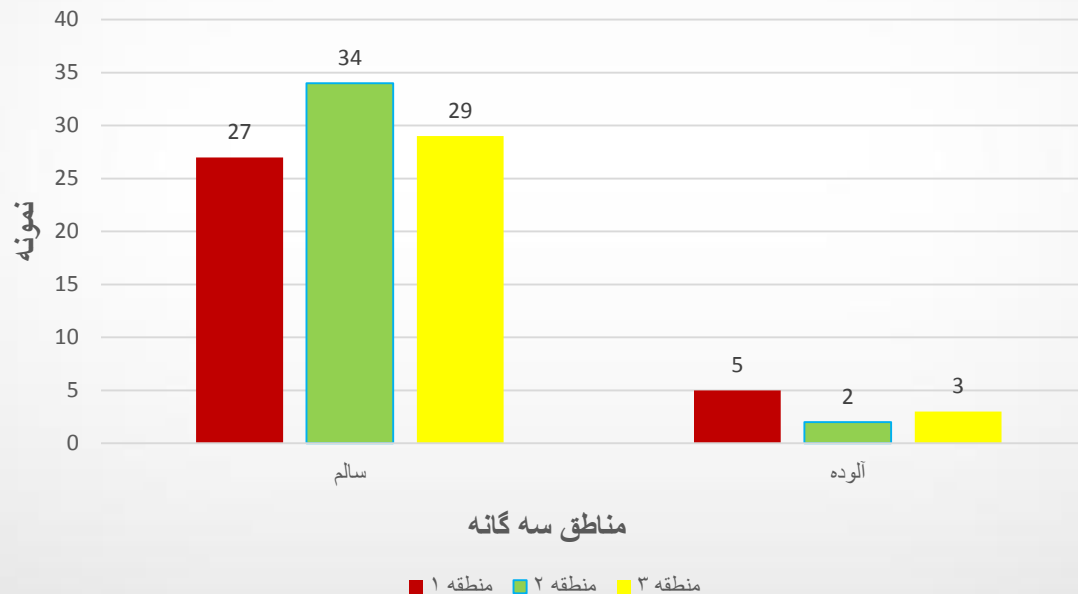
نمودار ۱: فراوانی نمونه های سالم و آلوده به تفکیک فصل



## نتایج مربوط به ارتباط مناطق شهری آلودگی خامه به باکتری

با توجه به ازمون دقیق فیشر، بین مناطق شهری قزوین و آلودگی خامه به باکتری ارتباط معناداری **مشاهده نشد**. با توجه به نمودار ۲ آلودگی در **منطقه ۱** (۵ مورد) بیشتر از مناطق ۲ و ۳ مشاهده شد.

**نمودار ۲: فراوانی نمونه خامه های سالم و آلوده به تفکیک مناطق شهری**





# بحث

محققین و سال	مکان مطالعه	ماده غذایی	درصد آلودگی
دستمالچی و همکاران (۱۳۸۷)	آذربایجان غربی و شرقی	شیر	۱۶ درصد
ملا عباس زاده و همکاران (۱۳۹۳)	بخش قطور شهرستان خوی	پنیر سنتی	۵۳ درصد
نجفی و همکاران (۱۳۹۴)	استان یزد	خامه سنتی	۲۹/۲ درصد
حمزه پور و همکاران (۱۳۹۷)	مهاباد	پنیر سنتی	۴۵ درصد
بیگلری و همکاران (۱۳۹۶-۱۳۹۷)	قزوین	خامه سنتی	۱۰ درصد



## بحث

با بررسی نتایج مطالعه حاضر و مقایسه با نتایج پژوهش‌های مشابه در مجموع می‌توان گفت که میزان شیوع استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در خامه‌ی سنتی قزوین (۱۰ درصد) کمتر از سایر مطالعات بود. این تفاوت ممکن است به علت دلایل زیر باشد:

- ❖ تولید خامه در یک مکانی به غیر از **مغازه‌های لبنیاتی** شهر قزوین و توزیع در سطح شهر قزوین
- ❖ نظارت بیشتر **سازمان‌های نظارتی** مانند بخش بهداشت محیط در شهر قزوین
- ❖ تفاوت **ماده‌ی غذایی** بررسی شده در مطالعه‌ی حاضر و سایر مطالعات بررسی شده مانند پنیر سنتی و شیر



## نتیجه گیری کلی

طبق استاندارد، میزان باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در خامه باید **منفی** باشد. استفاده از محصولات لبنی پاستوریزه و نظارت بهداشتی بر مراکز تهیه محصولات لبنی سنتی می‌تواند در کاهش شیوع باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در مواد غذایی نقش مهمی داشته باشد.



## پیشنهادات

- ❖ افزایش تعداد نمونه ها
- ❖ بررسی سایر باکتری ها از جمله اشرشیا کلی در خامه ی سنتی
- ❖ بررسی بیشتری جهت پی بردن به تغییر الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در فواصل زمانی معین
- ❖ در نظر گرفتن آلودگی به باکتری های مختلف در مواد غذایی طی فصول مختلف
- ❖ بررسی سایر پارامترها مانند pH در مواد غذایی و تأثیر آن بر آلودگی میکروبی مواد غذایی
- ❖ بررسی سطح سواد افراد دخیل در تولید و عرضه ی مواد غذایی





## منابع

1. Zafarzadeh A, Mahfoozi A. A Study on *Staphylococcus aureus* and *Bacillus Cereus* Contamination in Pastry Products in Gorgan. J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(126): 145-49. (In Persian).
2. Khorram rooz S, Khosravani A, Farhang Fallah M, Mahmoudi Pourraz Y, Sharifi A. Determination of microbial contamination in creamy sweets, traditional ice cream and alcoholic beverages in Yasuj, 2014. Bringing Knowledge 2015;20(6):526-37. (In Persian).
3. Abdimoghadam Z , Shamloo E , Mortazavian AM , Atefi M. Frequency of *Listeria* Species in Raw Milk and Traditional Dairy Products in Isfahan, Iran. Iranian J Nutrition Scie & Food Tech 2015;10(3):101-7. (In Persian).
4. Vitale M, Scatassa ML, Cardamone C, Oliveri G, Piraino C, Alduina R, et al. Staphylococcal food poisoning case and molecular analysis of toxin genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from food in Sicily, Italy. J Foodborne pathogens and disease 2015;12(1):21-3.
5. Teymori R, Ghazanfarirad N ,Dehghan K, Kheyri A, Hajjigholizadeh G, Kazemi-Ghoshchi B, et al. Monitoring microbial quality of commercial dairy products in West Azerbaijan province, northwest of Iran. Asian Pacific J Tropical Disease 2014;4:.824-29. (In Persian).
6. Haran K, Godden S, Boxrud D, Jawahir S, Bender J, Sreevatsan S. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, isolated from bulk tank milk from Minnesota dairy farms. J Clinical Microbiology 2012;50(3):688-95.
7. Mathews S, Ngoma L, Gashe B, S Mpuchane. Assessment of Pathogenic Bacteria from Ice Cream and Ice Pop Sold in Gaborone, Botswana 2013; 7(3): 195-203.



## تشکر و قدردانی

شکر شایان نثار ایزد منان که توفیق را رفیق راهم ساخت تا این پایان نامه را به آخر برسانم.

با تقدیر و تشکر شایسته از استاد فرهیخته جناب **آقای دکتر رزاق محمودی** و همچنین قدردانی و تقدیر از استاد بزرگوارم، جناب **آقای دکتر پیمان فجریگی** که با هدایت و حمایت‌های بی دریغشان یاریم نمودند.

از سایر اساتید بزرگوارم و همچنین جناب **آقای سعید شهبواری** مشاور محترم آماری و سرکار **خانم شقایق موسوی** مسئول محترم آزمایشگاه و همهی عزیزانی که در نگارش این رساله مرا یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نمایم.

پروردگارا حسن عاقبت، سلامت و سعادت را برای آنان مقدر نما



# باتشکر از توجه و همراهی شما