

## شیوع استافیلوکوکوس اورئوس در چهار نمونه تجاری معتبر از دوغ‌های تولیدی ایران

نسرین فرج‌وند<sup>۱</sup>، محمود علی محمدی<sup>۲</sup>

دریافت: ۹۲/۰۸/۲۷

پذیرش: ۹۲/۱۱/۲۶

### چکیده:

**زمینه و هدف:** دوغ یکی از نوشیدنی‌های سنتی ایران و برخی ملل دیگر نظیر اروپای شرقی، خاورمیانه و آسیا به شمار می‌آید. در گذشته دوغ به فراورده‌ای اطلاق می‌شد که پس از رقیق‌سازی ماست پر چرب با آب و جداسازی چربی آن با استفاده از مشک بر جای می‌ماند. امروزه دوغ از ویژگی‌های مشخص و استاندارد شده فیزیکی، شیمیایی، فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی برخوردار است. پژوهش حاضر به منظور بررسی کیفیت میکروبی چهار نمونه تجاری معروف تولید شده در ایران صورت گرفت.

**روش بررسی:** این مطالعه به روش توصیفی-مقطعی انجام گرفت. به طور کلی ۱۲۶ نمونه با استفاده از روش نمونه‌گیری تصادفی از فروشگاه‌های عرضه مواد غذایی تهیه گردیدند. برای جداسازی استافیلوکوکوس اورئوس از محیط بردپارکراگار (تست شناسایی) و تست کواگولاز (تست تاییدی) استفاده گردید.

**یافته‌ها:** نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمون‌های آماری T-Test و ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل اطلاعات حاکی از آن بود که اختلاف معنی‌داری بین ماه‌های بررسی شده، بین نمونه‌های تجاری و بین نوع دوغ‌ها از نظر میزان آلودگی وجود داشت ( $p < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج این مطالعه در دوغ‌های صنعتی پتانسیل به مخاطره افکندن سلامت مصرف‌کننده وجود دارد زیرا احتمال حضور آنتروتوکسین در دوغ صنعتی وجود دارد.

**واژگان کلیدی:** دوغ، کفیر، استافیلوکوکوس اورئوس

۱- فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- نویسنده مسئول: دکتری بهداشت محیط، استادیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

## مقدمه

امروزه، شیر و فراورده‌های آن، نه تنها از نظر تحقیقات علمی بلکه در بازار تجارت جهانی رونق فراوانی یافته‌اند. مهم‌ترین عوامل مؤثر بر اقبال این محصولات، اثرات سلامت بخش، ویژگی‌های تغذیه‌ای مطلوب، خصوصیات حسی منحصر به فرد و افزایش ماندگاری آن‌ها است (۱ و ۲). دوغ یکی از نوشیدنی‌های سنتی ایران و برخی ملل دیگر در اروپای شرقی، خاورمیانه و آسیا به شمار می‌آید. در گذشته دوغ به فراورده‌ای اطلاق می‌شد که پس از رقیق‌سازی ماست پر چربی با آب و جداسازی چربی آن با استفاده از مشک بر جای می‌ماند. امروزه دوغ از ویژگی‌های مشخص و استاندارد شده فیزیکی، شیمیایی، فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی برخوردار است. طبق تعریف استاندارد ملی ایران، دوغ ساده، نوشیدنی لاکتیکی حاصل از تخمیر شیر است که ماده خشک آن از راه رقیق کردن ماست یا شیر دوغ سازی استاندارد شده است (۳ و ۴). دوغ در ایران از نقطه نظرات گوناگونی قابل تقسیم‌بندی است که به انواع گازدار و بدون گاز، گرم‌آمیده و گرم‌ماندیده، باچربی و بدون چربی، طعم‌دار و بدون طعم، پاستوریزه و استریلیزه تقسیم می‌شود. دوغ گازدار همان دوغ کربناته است که به دو دسته دوغ گازدار تخمیری (در حین فرایند تخمیر لاکتیکی، گاز دی اکسیدکربن تولید شده) و دوغ گازدار تزریقی (گاز دی اکسیدکربن جهت گازدار شدن تزریق شده) تقسیم می‌شود. دوغ بدون گاز، دوغ غیر کربناته بوده و در فرایند تولید آن فرایند تخمیر انجام نمی‌شود. از دیدگاه گرما دیدن دوغ پس از فرایند تخمیر به دو دسته دوغ گرم‌آمیده (به منظور غیر فعال کردن میکروارگانیسم‌های آغازگر و آلودگی‌های احتمالی گرمادهی پس از فرایند تخمیر انجام می‌شود) و دوغ گرم‌ماندیده (پس از فرایند تخمیر گرمادهی انجام نمی‌شود) تقسیم می‌شود. از دیدگاه مقدار چربی دوغ به دو دسته دوغ با چربی (چربی آن بیش از ۰/۵ در صد وزنی/حجمی است) و دوغ بدون چربی (چربی آن کمتر از ۰/۵ در صد وزنی/حجمی است) تقسیم می‌شود. از دیدگاه همگن شدن ماده خشک، دوغ به همگن شده (فرایند هموژنیزاسیون در مورد آن انجام می‌شود) و همگن نشده (فرایند هموژنیزاسیون در مورد آن انجام نمی‌شود) تقسیم می‌شود. دوغ یک فراورده تخمیری، تامین کننده ۱/۴ نیاز روزانه به کلسیم و حاوی ویتامین B<sub>۲</sub>، B<sub>۶</sub> و B<sub>۱۲</sub> است از این رو بر عکس نوشابه‌ها تقویت‌کننده استخوان‌ها است. علاوه

بر مزایای تغذیه‌ای حاوی باکتری‌های مفیدی است که اثرات زیادی بر سلامت دستگاه گوارش دارند. اگر به طور مرتب دوغ مصرف شود باکتری‌های مفید استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریس موجود در آن، در دستگاه گوارش جای می‌گیرند و اثرات مفیدی بر سلامت دستگاه گوارش خواهند داشت. دوغ ۵۰٪ ارزش غذایی ماست و ۶۰٪ ارزش غذایی شیر را دارا است (۴). کفیر نوشیدنی الکلی - لاکتیکی است که منشاء آن از قفقاز و عوامل تخمیر آن باکتری‌های خانواده لاکتیک و مخمر است. کفیر نوشابه‌ای کف‌کننده، گازدار حاوی ۱/۱٪ - ۰/۹٪ اسیدلاکتیک و ۱٪ - ۰/۵٪ الکل است و از شیر گاو، گوسفند و بز تولید می‌شود (۶-۴). این محصول منبع بسیار مهمی از ویتامین‌های گروه B خصوصاً "گروه B<sub>۱۲</sub> و B<sub>۱</sub> هستند که به سیستم گوارشی کمک می‌نماید تا سایر ویتامین‌های این گروه از قبیل اسیدفولیک، اسیدپانتونیک و ویتامین B<sub>۱۲</sub> بیشتری را جذب نماید و از این طریق کمک قابل توجهی در شادابی پوست و بالا بردن طول عمر دارد. کفیر به عنوان منبع غنی از ویتامین K، کلسیم و پتاسیم به شمار می‌رود. محصولی غنی از آنزیم بوده و حاوی میکروارگانیسم‌های مفیدی است که به تعادل اکوسیستم داخلی بدن کمک نموده و به علت داشتن مخمرهای مفید باعث کنترل و از بین رفتن مخمرهای پاتوژن در بدن می‌گردد. کفیر منبع کامل پروتئین بوده و حاوی تعداد زیادی از اسیدهای آمینه ضروری برای سلامت بدن است از جمله این اسیدهای آمینه تریپتوفان بوده که ماده مناسبی برای تقویت سیستم عصبی است و از آنجایی که این محصول موجب جذب و ذخیره کلسیم و منیزیم می‌گردد در نتیجه در تقویت سیستم عصبی مؤثر است و در افرادی که از بی خوابی و استرس رنج می‌برند می‌تواند آرام بخش و کمک‌کننده باشد. کفیر از طریق بهبود هضم لاکتوز و بالا بردن مقاومت بدن نسبت به لاکتوز خصوصاً "در افرادی که مبتلا به عدم تحمل لاکتوز هستند می‌تواند نقش ارزنده و مفیدی داشته باشد. باکتری‌ها و مخمرهای فعال در کفیر نسبت به ماست ارزش تغذیه‌ای بالاتری را فراهم می‌نماید که به عنوان تغذیه تکمیلی برای زنان باردار و شیرده توصیه می‌گردد و از آنجایی که سبزی دلمه کفیر به ماست کوچکتر بوده هضم آن راحت‌تر و برای کودکان و افراد مسن مفید و با ارزش‌تر است. این محصول به بالا بردن سیستم ایمنی بدن کمک می‌کند و

و دریافتند در مجموع کل نمونه‌ها (۷/۷٪) ۱۴ نمونه آلوده به استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت بود. در مطالعه Normanno و همکاران (۱۰) در سال ۲۰۰۷، ۶۴۱ نمونه از فراورده‌های شیری را مورد آزمایش قرار دادند. نتایج نشان داد در فراورده‌های شیری ۱۰۹ نمونه (۱۷٪) آلوده به استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت بودند. مطابق استاندارد ملی ایران (شماره ۲۴۵۳) میزان این پاتوژن می‌بایست در هر mL دوغ صفر باشد. در این مطالعه میزان میکروارگانیزم استافیلوکوکوس اورئوس در دوغ‌های گازدار، بدون گاز و کفیر مورد بررسی قرار گرفت. دوغ‌های گازدار و بدون گاز نسبت به سایر انواع دوغ در تمامی نمونه‌های تجاری وجود دارند به این دلیل از این نوع از دوغ‌ها در این مطالعه استفاده گردید.

#### مواد و روش‌ها

این مطالعه به روش توصیفی-مقطعی انجام گرفت. در این مطالعه میزان میکروارگانیزم استافیلوکوکوس اورئوس طی هفت ماه در دوغ‌های گازدار و بدون گاز نمونه‌های تجاری A, B, C, D و کفیر در نمونه تجاری A مورد بررسی قرار گرفت. بنابر دلایل اخلاقی و حقوقی نام نمونه‌های تجاری ذکر نمی‌گردد و از حروف لاتین برای کدگذاری نمونه‌های تجاری استفاده گردید. نمونه‌ها با استفاده از روش نمونه‌گیری تصادفی از بهمن ماه ۱۳۸۹ تا مرداد ۱۳۹۰ مورد بررسی قرار گرفتند. دوغ‌ها از فروشگاه‌های عرضه مواد غذایی تهیه و با حفظ زنجیره سرما به آزمایشگاه منتقل گردیدند و تا زمان آزمایش در ۴°C نگهداری شدند.

با توجه به اینکه مطالعه توصیفی است و متغیر مورد بررسی (مقدار استافیلوکوکوس) کمی است، برای تعیین حجم نمونه از فرمول  $n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} \times \sigma)^2}{d^2}$  استفاده نموده‌ایم. مقدار  $Z_{1-\alpha/2}$  طبق بررسی‌های آماری برای برابر ۱/۹۶ است که برای سهولت کار ۲ در نظر گرفته می‌شود. حداکثر خطای قابل قبول (d) ۰/۰۹ و انحراف معیار ( $\sigma$ ) ۰/۵ در نظر گرفته شده است بنابراین حجم نمونه ۱۲۶ است. در این مطالعه ۱۲۶ نمونه دوغ تهیه گردید که ۵۶ نمونه مربوط به دوغ‌های گازدار، ۵۶ نمونه مربوط به دوغ‌های بدون گاز و ۱۴ نمونه مربوط به کفیر بود. نمونه‌های گردآوری شده مربوط به صنایع لبنی استانهای

قادر است در جلوگیری و کمک به درمان بیماری‌هایی از قبیل سرماخوردگی، بیماری‌های عفونی، ایدز، سرطان و غیره موثر باشد. کفیر در متعادل کردن فشار خون تاثیر بسزایی دارد (۴). استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان مهم‌ترین علت ۱/۳ بیماری‌های مرتبط با غذا در جهان مطرح می‌شود (۷ و ۸). در طول دهه‌های گذشته استافیلوکوکوس اورئوس عامل ۲۵٪ بیماری‌های مرتبط با غذا در آمریکا بوده است (۹). استافیلوکوکوس اورئوس سم آنتروتوکسین تولید می‌کند. مسمومیت غذایی استافیلوکوکی پس از مصرف غذای حاوی ۲۰ ng تا کمتر از ۱ µg سم استافیلوکوکوس رخ می‌دهد. علائم مسمومیت پس از ۸-۰/۵ h پس از صرف غذا رخ می‌دهد که این زمان به خصوصیات فردی و مقدار سم بستگی دارد. علائم عمده مسمومیت تهوع، استفراغ، دل پیچه و ضعف هستند. بهبودی معمولاً در طی ۲۴-۴۸ h صورت می‌گیرد (۱۰ و ۱۱). غذاهایی که با مسمومیت غذایی استافیلوکوکی در ارتباط هستند شامل شیر، فراورده‌های شیری و انواع گوشت هستند (۱۲ و ۱۳). در این خصوص توجه به کیفیت محصولات لبنی بسیار حائز اهمیت است زیرا این محصولات محیط مناسبی برای رشد و تکثیر استافیلوکوکوس اورئوس هستند (۱۴).

دوغ یکی از محصولات انحصاری صنایع شیر و لبنیات ایران است. با توجه به این مطلب بررسی متون نشان داد که مطالعات بسیاری در خصوص بررسی آلودگی محصولات صنایع لبنی در سطح جهان صورت گرفته است ولیکن در خصوص دوغ مطالب علمی خیلی نادر است.

در تحقیقات Normanno و همکاران (۱۵) در سال ۲۰۰۵، ۱۱۳۸۴ نمونه از مواد غذایی عرضه شده در فروشگاه‌های ایتالیا را مورد آزمایش قرار دادند. نتایج نشان داد (۱۷/۳٪) ۱۹۷۱ نمونه آلوده به استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت بودند.

در تحقیقات Aragon-Alegro و همکاران (۱۶) در سال ۲۰۰۷ دریافتند که از مجموع ۱۷۲ نمونه غذایی شامل شیر، پنیر نرم، پنیر سخت، بستنی، ماست و غذاهای آماده مثل ساندویچ، (۱۵/۱٪) ۲۶ نمونه آلوده به استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت بودند.

در مطالعه‌ای Akineden و همکاران (۱۷) در سال ۲۰۰۸، ۱۸۱ نمونه پنیر تهیه شده از شیر بز را مورد آزمایش قرار دادند

تهران، گیلان و مازندران هستند.

نتایج با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون‌های آماری T-Test و One-Way ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. شناسایی و تشخیص استافیلوکوکوس اورئوس به صورت زیر انجام گرفت:

(۱) تست شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس: هدف از این مرحله تشخیص و شمارش استافیلوکوکوس اورئوس بود. برای این منظور از محیط کشت Agar Parker Baird استفاده گردید. ۱ mL از نمونه دوغ بر روی پلیت حاوی محیط بردپارکرایگر کشت داده شد و به مدت ۲۴ h ساعت در دمای ۳۷°C انکوباسیون گردید. در صورت وجود استافیلوکوکوس اورئوس بر روی محیط کشت کلنی‌های سیاه با هاله روشن مشاهده می‌گردید. این کلونی‌ها شمارش شدند.

(۲) تست تشخیص استافیلوکوکوس اورئوس (تست کواگولاز): هدف از این مرحله تشخیص استاف بیماری‌زا از غیر بیماری‌زا بود. در این آزمایش از پلاسماي خرگوش لئوفیلزیه محصول شرکت Merck استفاده شد و با افزودن ۳ mL سرم فیزیولوژی پلاسما را رقیق شد. ابتدا یک قطره سرم فیزیولوژی را بر روی یک لام تمیز قرار دادیم و از کلنی مورد آزمایش به داخل سرم فیزیولوژی منتقل کرده و به هم زدیم. با نوک لوپ صاف از پلاسماي رقیق شده که حرارت آن با حرارت اطاق یکسان شده، به داخل سوسپانسیون میکروبی منتقل نمودیم. در صورت مثبت بودن آزمایش دلمه شدن طی مدت ۵-۱۰ S در روی لام مشاهده گردید.

در این مطالعه pH نمونه‌ها تعیین شد. این کار به این دلیل صورت گرفت تا مشخص گردد pH نمونه در محدوده شرایط مناسب رشد برای استافیلوکوکوس هست. تعیین pH نمونه به

جدول شماره ۱: تعیین pH در انواع دوغ

نوع دوغ	pH
بدون گاز	۳/۸۳-۴/۲۳
گازدار	۳/۷-۴/۲۳
کفیر	۳/۷-۴/۱

روش زیر انجام گرفت.

از دستورالعمل سازنده pH متر پیروی شد. pH متر به نوبت، اول با بافر pH=۷ و سپس با بافر pH=۴ کالیبره گردید. ادامه کار را با سستشوی الکتروود در آب مقطر ادامه یافت و به آرامی با تکان دادن، آب اضافی خارج شد. نمونه را داخل بشر کوچکی ریخته شد و الکتروود در حدود ۲۰ mm داخل نمونه غوطه‌ور و pH اندازه‌گیری گردید. پس از خواندن pH فوراً الکتروود را از نمونه خارج نموده و با آب مقطر شستشو دادیم.

#### یافته‌ها

از لحاظ میزان شیوع استافیلوکوکوس اورئوس در ۱۲۶ نمونه دوغ، ۸۶ نمونه (۶۸٪) مثبت و ۴۰ نمونه (۳۲٪) منفی گزارش گردید. تعداد باکتری استافیلوکوکوس شمارش شده در نمونه‌ها از محدوده ۵۰-۱۰ CFU/mL در هر mL دوغ متغیر بود. جدول شماره ۱ محدوده pH را در انواع دوغ نشان می‌دهد. جدول شماره ۲ توزیع آلودگی در نمونه‌ها را به تفکیک نوع نمونه تجاری و نوع نشان می‌دهد.

میانگین آلودگی نمونه‌ها در ماه‌های مختلف بر اساس نوع نمونه تجاری و دوغ در نمودار شماره ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است.

#### بحث

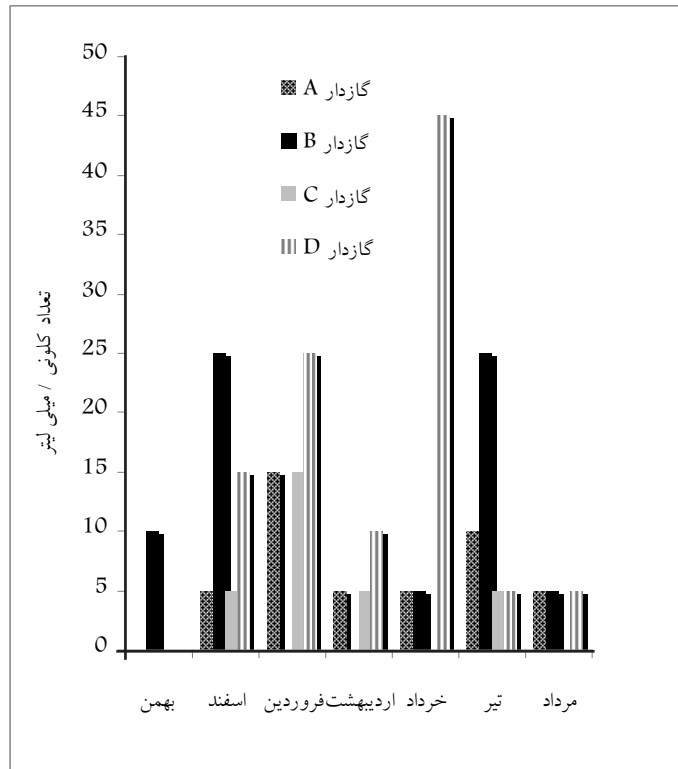
مطالعه حاضر به منظور بررسی کیفیت دوغ‌های تولیدی در ۴ نمونه تجاری معتبر در ایران از لحاظ آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس انجام گردید. محصولی مشابه دوغ‌های تولیدی در ایران در طی بررسی متون به دست نیامد.

نتایج Normanno و همکاران در سال‌های ۲۰۰۵ و ۲۰۰۷ نشان داد که در محصولات صنایع لبنی شامل شیر پاستوریزه، انواع پنیر، کشک و بستنی، آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس و سموم آن وجود داشت که با یافته‌های این مطالعه مطابقت دارد که محصولات صنایع لبنی دارای آلودگی هستند (۱۵-۱۰).

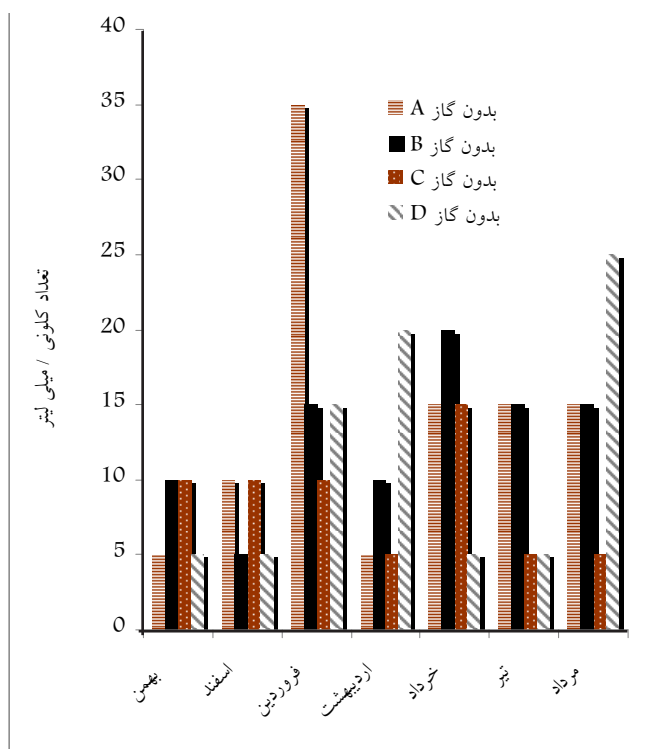
نتایج Akineden و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان داد که در پنیرهای تهیه شده از شیر پاستوریزه آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس و سموم آن وجود داشت که با یافته‌های این مطالعه مطابقت دارد (۱۷).

جدول شماره ۲: توزیع آلودگی در نمونه‌ها به تفکیک نوع نمونه تجاری و دوغ

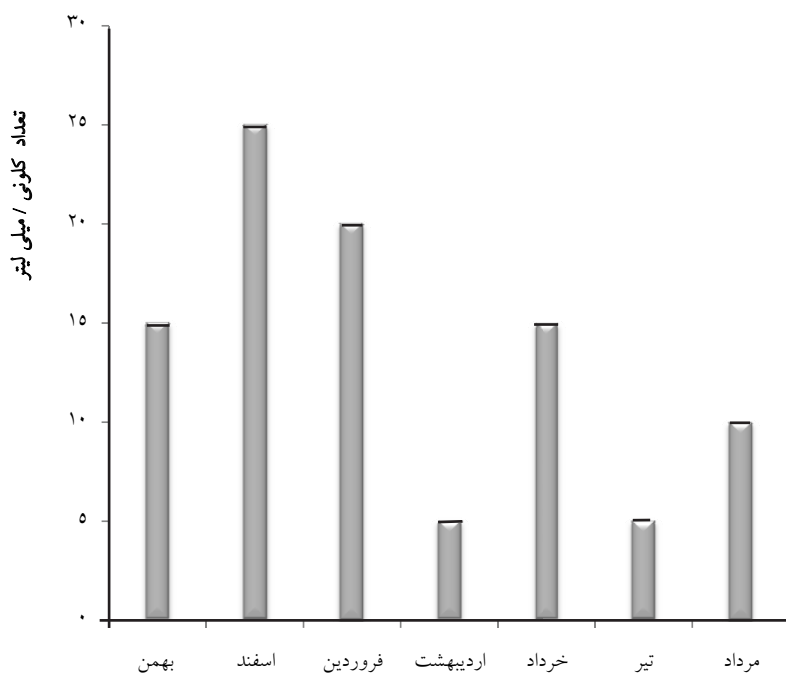
کفیر		دوغ بدون گاز		دوغ گازدار		نوع دوغ و نتایج آزمایشگاهی
تعداد موارد مثبت	تعداد نمونه	تعداد موارد مثبت	تعداد نمونه	تعداد موارد مثبت	تعداد نمونه	
۱۲	(۸۵/۶۸)٪	۱۴	(۲۱/۴۱)٪	۸	(۱۴/۲۶)٪	A
۰	۰	۱۳	(۲۳/۲)٪	۷	(۱۲/۴۸)٪	B
۰	۰	۵	(۸/۹۱)٪	۱۰	(۱۷/۸۳)٪	C
۰	۰	۹	(۱۶/۰۵)٪	۱۰	(۱۷/۸۳)٪	D
۱۲	(۸۵/۶۸)٪	۱۴	(۶۹/۵۷)٪	۳۵	(۶۲/۴)٪	مجموع



نمودار شماره ۱: میانگین تعداد استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های دوغ گازدار به تفکیک ماه و نمونه تجاری



نمودار شماره ۲: میانگین تعداد استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های دوغ بدون گاز به تفکیک ماه و نمونه تجاری



نمودار شماره ۳: میانگین تعداد استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه‌های دوغ کفیر در نمونه تجاری

سه نوع دوغ مورد بررسی با یکدیگر وجود داشت ( $p < 0.05$ ). میانگین آلودگی بین انواع دوغ نشان داد که میانگین آلودگی به ترتیب در دوغ‌های بدون گاز و گازدار و کفیر ۱۱/۶، ۹/۱ و ۱۳/۶ باکتری در هر mL دوغ بود. این نتایج بیانگر این است که دوغ‌های بدون گاز و کفیر دارای آلودگی بیشتری نسبت به دوغ‌های گازدار بودند (نمودار ۱، ۲، ۳). مقایسه pH دوغ‌ها تفاوت بارزی را نشان نداد (جدول شماره ۱). این محدوده از pH مطابق با حداقل pH رشد ۴ برای استافیلوکوکوس اورئوس است (۲۳ و ۲۴) لیکن نتایج این مطالعه بیانگر این مطلب است که گازدار نمودن دوغ می‌تواند سبب کاهش استافیلوکوکوس در محصول شود. بیشترین میزان آلودگی در کفیر مشاهده گردید. ماده اصلی تشکیل‌دهنده کفیر شیر است و محیط مناسبی برای رشد و تکثیر استافیلوکوکوس است. میزان بالای آلودگی در کفیر بیان‌کننده این مسئله است فرایند پاستوریزاسیون شیر دارای نقص است و قادر نیست تا آلودگی میکروبی را از بین ببرد.

بررسی داده‌ها نشان داد که بین ماه‌های بررسی شده اختلاف معناداری از لحاظ میانگین آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس وجود داشت ( $p < 0.05$ ). در ماه‌های اسفند، فروردین، خرداد، تیر و مرداد نسبت به ماه‌های بهمن و اردیبهشت بیشترین میزان آلودگی وجود داشت. دامنه حرارتی رشد برای استافیلوکوکوس اورئوس  $4^{\circ}\text{C}$ – $48^{\circ}\text{C}$  است (۲۳ و ۲۴). دوغ‌های صنعتی زمانی که تولید می‌شوند اگر زنجیره حمل و نقل در شرایط سرمایی مناسبی نیست و در محل‌های عرضه، در یخچال نگهداری نگردد شرایط محیطی مناسبی برای رشد و تکثیر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سم آن آماده است. مطالعات اثر دمای ذکر شده بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس و سم آن را به اثبات رسانده‌اند (۲۵ و ۲۶). مشاهدات در طی این مطالعه نشان داد که به ندرت در حمل و نقل محصولات لبنی زنجیره سرما رعایت می‌گردد. متأسفانه مشاهده گردید که در اکثریت خرده‌فروشی‌ها و بنکداری‌ها دوغ‌ها در خارج از یخچال نگهداری می‌گردیدند. این مساله به ویژه در فصل گرما باعث می‌شود که هم گاز زیادی در دوغ تولید شود و هم مزه آن بیش از حد ترش شود و حتی به تلخی بزند. یعنی آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین فعال شده و در نهایت مزه نامناسبی ایجاد کنند و تاریخ

مطابق استاندارد ملی ایران (شماره ۲۴۵۳) میزان این پاتوژن می‌بایست در هر mL دوغ صفر باشد (۱۸). نتایج این بررسی بیانگر آن است که دوغ به عنوان یکی از محصولات صنایع لبنی دارای آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس است. رشد استافیلوکوکوس اورئوس در مواد غذایی موجب به مخاطره افتادن بهداشت عمومی می‌گردد زیرا بسیاری از سویه‌های این میکروارگانیسم سم آنتروتوکسین ترشح می‌کنند که در صورت بلع موجب مسمومیت غذایی می‌گردد (۱۹–۱۱). برای ایجاد علائم مسمومیت استافیلوکوکوسی در انسان حداکثر  $1 \mu\text{g}$  یا کمتر از آن باید مصرف گردد که رشد استافیلوکوکوس اورئوس بالاتر از  $10^6$  باکتری در هر mL می‌تواند این مقدار آنتروتوکسین را تولید کند (۲۰). تعداد استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در ۱۲۶ نمونه آزمایش شده  $50$ – $10$  CFU/mL در هر mL دوغ متغیر بود. این تعداد باکتری در ظاهر اهمیت بهداشتی برای ایجاد مسمومیت باکتریایی در انسان ندارند و لیکن آنتروتوکسین‌های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ممکن است در محصول باشند که در این بررسی قابل اندازه‌گیری نبود و تنها تعداد باکتری در دوغ بررسی گردید.

آنتروتوکسین‌های ایجاد شده در شیر نسبت به حرارت مقاوم هستند و حتی در دمای استریلیزاسیون نیز از بین نمی‌روند (۲۱).

توکسین تولید شده می‌تواند در تکنولوژی فراوری‌های بعدی مانند تولید پنیر باقی بماند و خطر جدی برای سلامت مصرف‌کننده ایجاد کند (۲۲). با توجه به مطالعاتی که ذکر گردید تعداد کم باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در دوغ‌های مورد بررسی و کفیر نمی‌تواند دلیلی برای کاهش خطر مسمومیت باکتریایی باشد زیرا ماده اصلی تشکیل‌دهنده آنها شیر است که می‌تواند حاوی سموم باکتری باشد و در پروسه تولید محصولات لبنی سموم باکتری باقی بمانند.

نتایج جدول شماره ۲ نشان می‌دهد که از ۵۶ نمونه دوغ گازدار جمع‌آوری شده در ۳۵ نمونه (۶۲/۴٪)، از ۵۶ نمونه دوغ بدون گاز جمع‌آوری شده در ۳۹ نمونه (۶۹/۵۷٪) و از ۱۴ نمونه کفیر جمع‌آوری شده در ۱۲ نمونه (۸۵/۶۸٪) استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت جدا گردید. آنالیزهای آماری بیانگر این مطلب است که اختلاف معناداری از لحاظ سطح آلودگی در

دارد. نتایج این مطالعه بیانگر این مطلب است که برای بهداشت، ایمنی و ارتقا کیفیت محصول و به ویژه سلامت مصرف کننده باید مطالعاتی در مورد حضور سم استافیلوکوکوس در محصولات لبنی خصوصاً "دوغ" انجام گیرد. توجه به استانداردهای بهداشتی، انجام تست‌های سریع و دقیق در مراحل مختلف تولید حائز اهمیت است. رعایت دقیق زنجیره سرما در مرحله توزیع و نگهداری در خرده فروشی‌ها و بنکداری‌ها ضروری است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران اجرا شده است.

انقضا سریع‌تر از آنچه روی بطری نوشته شده است، فرابرسد؛ زیرا تاریخ انقضای درج شده را به شرط نگهداری دوغ در یخچال تخمین زده‌اند (۲۴). بنابراین یکی از دلایل آلودگی بالا در فصول گرم شرایط نگهداری نامناسب است که در حین جمع‌آوری نمونه‌ها مشاهده گردید. میزان آلودگی کمتر در ماه بهمن را می‌توان اینگونه استدلال نمود به دلیل نگهداری در محیط و برودت هوا در این ماه شرایط دمایی مناسبی برای رشد استافیلوکوکوس فراهم نیست. در توجیه میزان آلودگی کمتر در ماه اردیبهشت باید گفت میزان تقاضا مصرف برای ماست و دوغ در این ماه نسبت به ماه‌های قبل بیشتر و همچنین میزان محصولات مرجوعی (ماست و دوغ) کمتر است. بنابراین توجه به کیفیت محصول می‌تواند دلیل آلودگی کمتر در این ماه باشد. در بیماری‌های اسهالی به بیماران توصیه می‌شود که برای جبران کم آبی بدن شیر، ماست و دوغ مصرف کنند (۲۷). با توجه به نتایج این بررسی جای تأمل وجود دارد که آلودگی دوغ به استافیلوکوکوس و سم آن می‌تواند روند درمان را طولانی‌تر نموده و سبب مشکلات بیشتری برای بیمار گردد.

اختلاف آماری معنی‌داری بین نمونه‌های تجاری از لحاظ میانگین آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس وجود داشت ( $p < 0/05$ ). نمونه‌های تجاری A، B و D سطح آلودگی بیشتری نسبت به نمونه تجاری C داشتند. سطح آلودگی پایین نمونه تجاری C می‌تواند به این دلیل باشد که تولیدکنندگان این نمونه تجاری نسبت به نمونه‌های تجاری دیگر توجه بیشتری به کیفیت محصول‌شان دارند. نمونه‌های تجاری مذکور از بهترین نمونه‌های تجاری صنایع لبنی هستند و دارای استانداردهای بین‌المللی، تجهیزات و تکنولوژی‌های مدرن هستند. وجود آلودگی در این نمونه‌های تجاری جای تأمل دارد چرا که این موضوع مطرح می‌شود که در نمونه‌های تجاری که در عرصه تجارت مقبولیت کمتری دارند، دارای آلودگی بیشتری در محصولات خود هستند.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه اظهار می‌دارد که یک پتانسیل در دوغ‌های صنعتی برای به مخاطره افکندن سلامت مصرف‌کننده وجود دارد زیرا احتمال حضور آنروتوکسین در دوغ صنعتی وجود

منابع:

- 1) Chandan R. Enhancing market value of milk by adding cultures. *Journal of Dairy Science*. 1999;82(10):2245-56.
- 2) Salminen S, Ouwehand A, Isolauri E. Clinical applications of probiotic bacteria. *International Dairy Journal*. 1998;8(5-6):563-72.
- 3) Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Probiotic doogh-Specifications and test methods, ISIRI No. 11324. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2009 (in Persian).
- 4) Alvandi H, Jamehbozorg T. Status report of the country producing doogh. Tehran: Ministry of Industry, Mine and Trade; 2008 (in Persian).
- 5) Mukai T, Watanabe N, Toba T, Itoh T, Adachi S. Gel-forming characteristics and rheological properties of Kefiran. *Journal of Food Science*. 1991;56(4):1017-18.
- 6) Webb B. H, Whittier EO. *By Products from Milk*. Connecticut: Avi Publishing; 1970.
- 7) Zhang S, Iandolo JJ, Stewart GC. The enterotoxin D plasmid of *Staphylococcus aureus* encodes a second enterotoxin determinant (sej). *FEMS Microbiology Letters*. 1998;168(2):227-33.
- 8) Boerema J, Clemens R, Brightwell G. Evaluation of molecular methods to determine enterotoxigenic status and molecular genotype of bovine, ovine, human and food isolates of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology*. 2006;107(2):192-201.
- 9) Tamarapu S, McKillip JL, Drake M. Development of a multiplex polymerase chain reaction assay for detection and differentiation of *Staphylococcus aureus* in dairy products. *Journal of Food Protection*. 2001;64(5):664-68.
- 10) Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Corrente M, Parisi A, et al. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *International Journal Food Microbiol*. 2007;115(3):290-96.
- 11) Holeckova B, Holoda E, Fotta M, Kalinacova V, Gondol J, Grolmus J. Occurrence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2002;9:179-82
- 12) De Buyser M-L, Dufour B, Maire M, Lafarge V. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *International journal of food microbiology*. 2001;67(1):1-17.
- 13) Pu S, Han F, Ge B. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from Louisiana retail meats. *Applied and Environmental Microbiology*. 2009;75(1):265-67.
- 14) Jahed Khaniki GR, Kamkar A, Tehrani MA. the prevalence of coagulase – positive *Staphylococcus aureus* in milk by received in to the milk collecting center of Garmsar City. *Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research*. 2005;3(3):67-74 (in Persian).
- 15) Normanno G, Firinu A, Virgilio S, Mula G, Dambrosio A, Poggiu A, et al. Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *International Journal of Food Microbiology*. 2005;98(1):73-79.
- 16) Aragon-Alegro LC, Konta EM, Suzuki K, Silva MG, Júnior AF, Rall R, et al. Occurrence of coagulase-positive *Staphylococcus* in various food products commercialized in Botucatu, SP, Brazil and detection of toxins from food and isolated strains. *Food Control*. 2007;18(6):630-34.
- 17) Akineden O, Ahmed Hassan A, Schneider E, Usleber E. Enterotoxigenic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from goats milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*. 2008;124(2):211-16.
- 18) Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Specification for Doogh, ISIRI No. 2453. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 1995 (in Persian).
- 19) Karim G. *Index Microorganisms-Pathogens-Poisons Microbial: Microbiological Examination of Foods*. 2nd ed. Tehran: Tehran University Press; 2008 (in Persian).
- 20) Noleto AL, Bergdoll MS. *Staphylococcal enterotoxin production in the presence of non-enterotoxigenic staphylococci*. *Applied and Environmental Microbiology*. 1980;39(6):1167-71.
- 21) Pawsey RK. *Case Studies in Food Microbiology for Food Safety and Quality*. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2002.
- 22) European Commission. opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on staphylococcal enterotoxins in milk products, particularly cheeses. Brussels, Belgium: European Commission; 2003.
- 23) Mortezaei SA, Zia-al-Hagh HR. *Modern Food Microbiology*. 2nd ed. Mashhad: Ferdowsi University of Mashhad Press; 2002 (in Persian).
- 24) Frazier WC, Westhoff DC. *Food Microbiology*. 3rd ed. New Delhi: Tata McGraw-Hill; 1978.
- 25) Schmitt M, Schuler-Schmid U, Schmidt-Lorenz W. Temperature limits of growth, TNase and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. *International Journal of Food Microbiology*. 1990;11(1):1-19.
- 26) Lanciotti R, Sinigaglia M, Gardini F, Vannini L, Guerzoni ME. Growth/no growth interfaces of *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis* in model systems based on water activity, pH, temperature and ethanol concentration. *Food Microbiology*. 2001;18(6): 659-68.
- 27) Pashapour N, Lou S. Evaluation of yogurt effect on acute diarrhea on 6-24 months old hospitalized infants. *Turkish Journal of Pediatrics*. 2006;48(2):115.

## **Prevalence of Staphylococcus aureus in Four Famous Brand of Doogh Produced in Iran**

<sup>1</sup>Nasrin Farajvand, <sup>2\*</sup>Mahmood Alimohammadi

<sup>1</sup> MSc Food Hygiene and Safety of School of Public Health, Department of Environmental Health, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Environmental Health, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

19 November 2013

15 February 2014

### **ABSTRACT**

**Background and Objectives:** Doogh is considered as one of the traditional drink in Iran and other nations like Eastern Europe, Middle East and Asia. In the past the “doogh” was applied to a product which remained after dilution of full fat yoghurt with water and fat separation using the musk. Nowadays Doogh has have physical, chemical, physico-chemical, microbial and sensory characteristics and standards. In this study the microbial quality of four famous brands produced in Iran was assessed.

**Materials and Methods:** This is a cross-sectional study. Totally, 126 samples were selected from the foodstuff suppliers using random sampling .In order to determine Staphylococcus aureus, Baird Parker Agar (recognition test) and coagulase test (confirmation test) were used.

**Results:** The results were analyzed using SPSS, and T-Test and one way ANOVA were performed. The results showed that in view of contamination there is Significant differences between the months, the brands and the types of doogh ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** According to the results and due to probable presence of Entrotoxin, the analyzed brands can be potent risk to consumer’s health.

**Key words:** Doogh, Keffir, Staphylococcus aureus

---

\*Corresponding Author: [m\\_alimohammadi@tums.ac.ir](mailto:m_alimohammadi@tums.ac.ir)  
Tel:+ 9821 889 51582