مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیستم / خرداد و تیر ۱۳۹۴/ ۸۴- ۷۸

فراوانی لیستریا در سبزیجات و سالاد آماده مصرف در تهران

محمد مهدی سلطان دلال[۱،۲]، **مریم شجاعی زینجناب**[۳]، **فاطمه هدایتی راد** [۴]

۱. استاد مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. (مولف مسئول)، تلفن ثابت:۸۸۹۹۲۹۷۱-۰۲۱،
msoltandallal@gmail.com

۲. استاد بخش میکروب شناسی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۴. کارشناس ارشد رشته علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: سبزیجات یکی از مواد اصلی سبد غذایی محسوب می شوند و مصرف آن ها رو به افزایش است. از طرفی بیماری ها و طغیان های ایجاد شده توسط این گروه از مواد غذایی نیز روند افزایشی پیدا کرده است. لیستریا یکی از باکتری هایی است که در طغیانهای غذایی با منشاء سبزی و سالاد گزارش شده است. هدف از این تحقیق بررسی وضعیت فراوانی لیستریا در سبزی و سالاد مصرفی شهر تهران بوده است.

روش بررسی: در یک مطالعه توصیفی طی ۶ ماه از اردیبهشت الی مهر سال ۱۳۹۲ ،۱۰۰ نمونه از انواع مختلف سالاد از رستورانها و ۱۰۰ نمونه از ۱۰ نوع سبزی مختلف از سطح شهر جمع آوری گردید. نمونه ها بر اساس روش پیشنهادی FDA مورد آزمون قرار گرفتند.

یافته ها: در مجموع ۴۸ جدایه (۴۸%) لیستریا با آزمایشات فنوتیپی شناسایی شد که از این تعداد ۱۵ جدایه (۱۵/۵%) مربوط به سالاد های رستوران ها و اغذیه فروشی هاو ۳۳ جدایه (۳۳/۵%) نیز مربوط به نمونه های سبزیجات بود.تنها ۱ سویه (۱/۰۵٪) از گونه لیستریا مونوسایتوژنز از سبزی خوردن بدست آمد و بقیه متعلق به سایر گونه های لیستریا بودند.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان می دهد که خوردن سبزیجات خام یکی از راههای واقعی انتقال لیستریا می باشد و توجه بیشتر در امر آموزش بمنظور پیشگیری از مصرف سبزیجات خام و نشسته را می طلبد.

واژه های کلیدی: لیستریا، سبزیجات، سالاد، طغیان.

وصول مقاله:۹۳/۹/۵ اصلاحیه نهایی:۹۳/۱۰/۲۱ پذیرش:۹۳/۱۱/۱۲

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-22]

[DOI: 10.22102/20.2.78]

مقدمه

بیماری های منتقله از غذا شامل طیف گسترده ای از بیماری هایی هستند که پس از خوردن غذاهای آلوده تظاهر می یابند. بیماری های منتقله از غذا محدود به کشورهای در حال توسعه و یا محدود به کودکان نیستند، هرچند اکثر مرگ های ناشی از اسهال در کشورهای در حال توسعه اتفاق می افتد (۱). طبق آخرین ارزیابی های مرکز کنترل و جلوگیری از بیماری های امریکا (CDC)، تخمین زده می شود که سالانه حدود ۴۸ میلیون مورد بیماری ناشی از غذا در آمریکا که حدود ۱۲۸۰۰۰ نفر به این دلیل بستری شده و ۳۰۰۰ مرگ رخ می دهد. در نتیجه سالانه هزینه ای بالغ بر ۷۷/۷ بیلیون دلار برای دولت آمریکا در بر دارد. ایمنی غذا و کنترل آن در دهه های اخیر به مسئله مهمی در بسیاری از کشورها تبدیل شده است. بیش از ۵۰ کشور از امضا کنندگان بیانیه پکن در مورد ایمنی غذایی هستند که موافقت خود را برای فراهم نمودن ایمنی و امنیت غذایی برای شهروندان خود، اعلام نموده اند (۴-۲).

افزایش مصرف غذاهای دستکاری شده توسط کارگران در فراوری های تجاری، خرده فروشی ها یا موسسات خدماتی مواد غذایی عامل مؤثری برای مواجهه بیشتر مصرف کنندگان با پاتوژن های غذایی است (۵).

محصولات تازه در سراسر جهان مورد پسند مردم هستند زیرا به عنوان منبع مهم مواد مغذی، ویتامین ها و فیبر شناخته می شوند (۶). مصرف روزانه حداقل ۴۰۰ گرم میوه و سبزی برای جلوگیری از بیماری هایی مانند بیماری های قلبی - عروقی، سکته، برخی سرطان ها، دیابت نوع ۲ و نیز جهت کمک به کنترل وزن پیشنهاد شده است (۸و۷).

تولید جهانی میوه و سبزی از سال ۱۹۸۰ تا ۲۰۰۴ به میزان ۴% افزایش یافت. از سال ۱۹۹۴ تا ۲۰۰۴ واردات میوه و سبزی در ایالات متحده امریکا تا میزان ۱۲/۷ بیلیون دلار افزایش یافته و به عبارتی دو برابر شد. از نظر جهانی مصرف میوه و سبزی بین سال های ۱۹۹۰ و ۲۰۰۴ بطور متوسط سالانه ۴/۵ ٪ افزایش نشان داد. در کانادا از سال ۱۹۶۳ تا ۲۰۱۰ مصرف سالانه میوه و سبزی به ترتیب ۵۶% و ۶۶% افزایش یافت (۶). تخمین زده شده است که در امریکای شمالی، روزانه ۶ میلیون بسته از محصولات تازه بسته بندی شده به فروش می رسد (۹).

در عین حال طغیان بیماری های منتقله از غذا در نتیجه مصرف میوه ها وسبزیجات تازه افزایش یافته است. علت این افزایش ممکن است موارد زیر بوده باشد: تغییر مصرف فردی و عادات غذایی، روش های تولید و فرآوری میوه ها و سبزیجات، منابع تولید، افزایش دامداری ها در نزدیکی محل های تولید محصول، دسترسی بیشتر به محصولات در سراسر جهان (که منشا برخی از آنها کشورهایی با شیوه های بهداشتی نامشخص است)، افزایش تعداد مصرف کنندگان دارای نقص سیتم ایمنی و ظهور پاتوژن هایی که قبلا" ارتباط آنها با محصولات خام شناخته شده نبود (۱۰و۶).

از جمله باکتری های دخیل در آلودگیمواد غذایی *لیستریا منوسایتوژنز* است که به دلیل انتشار گسترده در طبیعت می تواند مواد غذایی از جمله سبزیجات را آلوده نماید (۹). تخمین زده اند که ۹۹% لیستریوزیس انسانی با مصرف مواد غذایی آلوده ایجاد می شود (۱۱). هرچند که *لیستریا منوسایتوژنز* گونه اصلی بیماری زا است ولی وجود هرنوع *لیستریا* در غذاهای آماده مصرف ممکن است نشاندهنده بهداشت ضعیف یا حضور بالقوه پاتوژن باشد (۵).

نتایج برخی محققین نشان می دهد که سبزیجات به عنوان منابع آلودگی به لیستریا می توانند در بیماری های منتقله از غذا نقش بسزایی داشته باشند. بطور مثال Prazak و همکاران در سال ۲۰۰۰ در آمریکا، ۴۲۵ کلم را مورد آزمایش *لیستریامنوسایتوژنز* قرار دادند که در ۲۰ مورد این باکتری وجود داشت (۱۱). Gombasو همکاران در سال ۲۰۰۳ در آمریکا مطالعه ای روی غذاهای آماده مصرف انجام دادند که از ۳۱۷۰۵ نمونه آزمایش شده ۵۷۷ مورد از نظر وجود *لیستریا منوسایتوژنز* مثبت بودند (۱۲). همچنین Sant'Ana و همکاران در سال ۲۰۱۲ در برزیل ۵۱۲ نمونه سبزی بسته بندی شده آماده مصرف را مورد آزمایش

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-22]

[DOI: 10.22102/20.2.78]

لیستریا منوسایتوژنز قرار داده و در ۳/۱٪ نمونه ها این باکتری را مشاهده کردند (۱۳).

با توجه به مطالب فوق، هدف از این تحقیق تعیین میزان آلودگی سالاد و سبزیجات به لیستریا بوده است.

روش بررسی

این مطالعه از نوع توصیفی طی ۷ ماه نمونه گیری از اردیبهشت ماه تا مهر ماه سال ۱۳۹۲ انجام گرفت. با توجه به شیوع۴۵٪لیستریا در سالاد و سبزیجات (۱۵و۱۴) و با سطح اطمینان ۹۵% نسبت مذکور طوری برآورد شد که خطای برآورد حداکثر ۰/۰۵ باشد، که بر این اساس ۱۰۰ نمونه سبزی و ۱۰۰ نمونه سالاد تهیه گردید. ۱۰۰ نمونه از انواع مختلف سالاد از سالاد رستوران ها و اغذیه فروشی ها شامل کاهو و خیار، کاهو و گوجه فرنگی، کاهو و هویج، کلم و گوجه فرنگی، کاهو و کلم، کلم سفید و قرمز، کلم سفید، کاهو، گوجه فرنگی ورقه شده و نیز سالاد مخلوط سبزیجات و همچنین ۱۰۰ نمونه سبزی از ۱۰ نوع مختلف سبزی تهیه گردید. سبزی ها شامل اسفناج خرد شده، پیازچه، سبزی خوردن آماده مصرف، سبزی کوکوی خرد شده، فلفل سبز قلمی، قارچ، کلم بروکلی، جوانه گندم، جوانه ماش و نیز ریحان بود. نمونه ها بلافاصله به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران منتقل و از نظر وجود لیستریا مورد بررسی قرار گرفتند.

شناسایی *لیستریا منوسایتوژنز*

از آنجا که روش Food and Drug Administration (FDA) یک روش مرجع و بین المللی در شناسائی لیستریا منوسایتوژنز می باشد (۱۶)، این روش با اندکی تغییر بنا بر شرایط موجود، برای مطالعه مورد نظر انتخاب گردید.

غنی سازی

listeria enrichment broth (Difco) که محیط غنی کننده این باکتری می باشد، بر حسب دستورالعمل ساخت آن تهیه گردید. ۲۵ گرم نمونه به ۲۲۵ میلی لیتر محیط listeria enrichment broth در شرایط استریل افزوده شده و در 30^{oC} به مدت ۴۸ ساعت گرم خانه گذاری گردید.

کشت و جداسازی

محیط آگار انتخابی مورد استفاده جهت جداسازی لیستریامونوسایتوژنز از مواد غذایی PolymyxinAcriflavin Lithium chloride CeftazidimeAesculin Mannitol agar (PALCAM) است.

افتراق ارگانیسمها برروی محیط PALCAM Agar براساس هیدرولیزاسکولینوتخمیرمانیتول بود. گونه های لیستریا اسکولین را هیدرولیز نموده که به صورت تغییررنگ محیط به رنگ سیاه مشاهده گردید.

آزمون های تائیدی *لیستریا منوسایتوژنز*

آزمون همولیز، CAMP و تخمیر قندهای مانیتول، رامنوز، گزیلوز و اسکولین برای تایید گونه *منوسایتوژنز* به کار برده شد.

آنالیزآماری

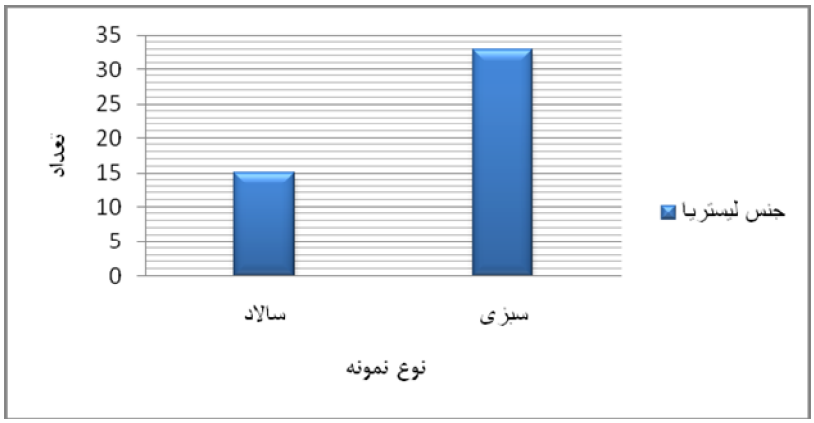
نتایج حاصل از مطالعه به کمک نرم افزار SPSS ویرایش 19مورد (SPSS Inc، Chicago ،Il ،USA) تجزیه و تحلیل گردید.

یافته ها

در آزمایشات انجام یافته بر روی ۲۰۰ نمونه سبزی و سالاد، به طور کل ۴۸ جدایه (۲۴%) *لیستریا* با آزمایشات فنوتیپی شناسایی شد که از این تعداد ۱۵ جدایه (۵%) مربوط به سالادهای رستوران ها و اغذیه فروشی ها و ۳۳ جدایه (۶/۵%) نیز مربوط به نمونه های سبزیجات بود (نمودار۱).

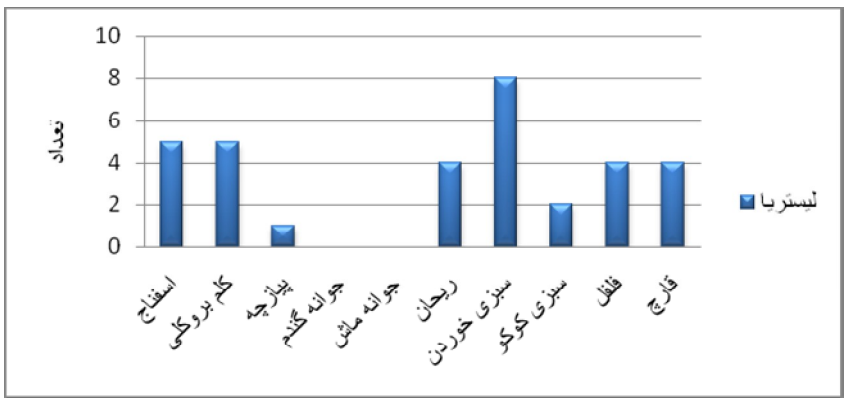
[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-22]

[DOI: 10.22102/20.2.78]



نمودار۱: توزیع فراوانی لیستریا در سبزیجات و سالادها

در بین سبزیجات، بالاترین آلودگی به *لیستریا*، مربوط به سبزی خوردن بوده و اسفناج و بروکلی در رده دوم قرار داشتند. تنها گونه لیستریا مونوسایتوژنز از سبزی خوردن بدست آمد و بقیه متعلق به سایر گونه های لیستریا بودند. توزیع فراوانی آلودگی در ۱۰۰ نمونه انواع سبزی در نمودار ۲ مشاهده می شود.



نمودار۲ : توزیع فراوانی لیستریا در نمونه های سبزیجات

بحث

در مطالعه حاضر که به بررسی *لیستریا* و *لیستریا منوسایتوژنز* در انواع سبزی و سالاد سبزیجات، توسط روش های کشت میکروبی پرداخته شد، به طور کل ۴% *لیستریا* توسط روش های بیوشیمیایی تشخیص داده شد که ۷/۵٪ آن مربوط به سالادهای رستوران ها و اغذیه فروشی ها و ۱۶/۵٪ آن مربوط به ۱۰ نوع سبزی بود. سبزی هایی با بالاترین شیوع آلودگی به *لیستریا* در این مطالعه، در درجه اول سبزی خوردن بسته بندی شده آماده مصرف بوده و اسفناج و کلم بروکلی در رده دوم قرار داشتند. شیوع این باکتری در جوانه گندم و جوانه ماش صفر درصد بود. ۱ جدایه که از سبزی خوردن بسته بندی شده آماده مصرف بدست آمده بود، *لیستریا منوسایتوژنز* تشخیص داده شد.

در مطالعه ای در اسپانیا، در میوه ها و سبزیجات تازه با فرآوری کم و جوانه ها، بطور کل ۷/۵% *لیستریا منوسایتوژنز*

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-22]

[DOI: 10.22102/20.2.78]

وجود داشت که با ۵/% *لیستریا منوسایتوژنز* بدست آمده در ۲۰۰ نمونه مطالعه ما مشابهت دارد. در مطالعه فوق نیز همانند مطالعه ما، جوانه ها فاقد این باکتری بودند (۱۷). در یک بررسی دیگر در پرتغال، در ۱ نمونه اسفناج (۶۶/%) لیستریا منوسایتوژنزبدست آمد که مشابه بررسی ما می باشد (۱۸).

در مطالعه دیگری در شیلی، بر روی سالاد سبزیجات خام یا پخته، شیوع *لیستریا منوسایتوژنز* در سالادهای تهیه شده به صورت دستی در سه فروشگاه، ۱۳/۹، ۵/۶ و ۱۱/۱٪ و در سالادهای کارخانه ای، % بود. این ارقام نشاندهنده شیوع بسیار بالای *منوسایتوژنز* در سالادهای تهیه شده به صورت دستی در این کشور است که نسبت به مطالعه ما بسیار بالاتر می باشد. در مطالعه ما به دلیل شیوع بسیار پایین *منوسایتوژنز* و عدم وجود آن در اکثر نمونه های مشابه بررسی انجام شده در برزیل نیز فقط ۱ نمونه (۶/%)*لیستریا منوسایتوژنز* در سالاد سبزیجات شناسایی گردید که مشابه شیوع این پاتوژن در مطالعه ما بود (۱۹).

در سالادهای تهیه شده در رستوران ها، نمی توان نظر قطعی در مورد تأثیر صنعت بر حذف این باکتری ارائه داد. سالادهای بسته بندی شده کارخانه ای آلودگی بالاتر از سالادهای تهیه شده به صورت دستی در رستوران ها داشتند که نشان دهنده عدم کفایت فرآوری های کارخانه ای در کاهش بار آلودگی می باشد. این مسئله شاید به دلیل استفاده نکردن و یا عدم استفاده بهینه از مواد ضدعفونی کننده در صنعت باشد که باید مورد بررسی قرار گیرد.

البته با توجه به این که شیوع جنس *لیستریا* در بررسی ما بالا بود، با وجود شیوع ۰/۵ درصدی *منوسایتوژنز*، نمی توان گفت که وضعیت بهداشتی سبزیجات مورد آزمون از حیث وجود پاتوژن نام برده، مناسب است زیرا وجود هرنوع *لیستریا* در غذاهای آماده مصرف ممکن است نشانگر بهداشت ضعیف یا حضور بالقوه پاتوژن باشد (۵).

میکروارگانیسم های موجود در سبزیجات بازتاب مستقیمی از کیفیت بهداشتی آب مورد استفاده برای کشت، مرحله برداشت، حمل و نقل، ذخیره سازی و فرآوری محصول است. آب شستشو نیز می تواند باعث انتقال آلودگی بین محصولات گردد (۲۰). جلوگیری از آلودگی سبزیجات با میکروارگانیسم ها، به عهده تمام افراد دخیل در فعالیت های قبل از برداشت، حین برداشت و پس از برداشت محصول است و در این زمینه آموزش افراد به ویژه آموزش کشاورزان در استفاده از آب و کود مناسب ضروری است (۲۱).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه سطح بالای آلودگی و غیر قابل مصرف بودن درصد زیادی از نمونه های سبزیجات و سالادها را مشخص نمود. وجود *لیستریا و لیستریا منوسایتوژنز* نیز که جزء پارامترهای مورد آزمون جهت کنترل کیفی این محصولات در ایران نیست، به ترتیب در ۲% و ۰/۵٪ از نمونه ها تشخیص داده شد. البته دقت پایین درنظرگرفته شده درفرمول حجم نمونه می بایدبه عنوان یک محدودیت مطالعه ذکر شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۲۱۹۴۲ می باشد. بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که از نظر مالی حامی این طرح تحقیقاتی بوده‌اند، کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

همچنین از جناب آقای مهندس حمید محمودی (مدیر گروه سابق تخصصی سلامت محیط کار معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران)، جناب آقای مهندس شهرود قنبرزاده (کارشناس بهداشت محیط معاونت بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران) و همکارانشان در شبکه های بهداشتی وابسته، که در امر جمع آوری نمونه صمیمانه ما را مساعدت نمودند، تشکر و قدردانی می نماییم.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-22]

[DOI: 10.22102/20.2.78]

Reference

1.Hanson LA, Zahn EA, Wild SR, D?pfer D, Scott J, Stein C. Estimating global mortality from potentially foodborne diseases: an analysis using vital registration data. Population health metrics 2012; 10: 1-7.
2. Schlundt J. New directions in foodborne disease prevention. Int J Food Microbiol 2002; 78: 3-17.
3. Petroczi A, Taylor G, Nepusz T, Naughton D. Gate keepers of EU food safety:Four states lead on notification patterns and effectiveness.Food and Chemical Toxicology 2010;48: 1957-1964.
4. Scharff RL. Economic burden from health losses due to foodborne illness in the United States. J Food Prot 2012;75:123-31.
5. Lianou A, Sofos JN. A review of the incidence and transmission of Listeria monocytogenes in ready-to-eat products in retail and food service environments. J Food Protec 2007;70: 2172-2198.
6. Olaimat AN, Holley RA. Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. Food Microbiology 2012; 32: 1-19.
7. Harris PR, Brearley I, Sheeran P, Barker M, Klein WM, Creswell JD, et al. Combining self-affirmation with implementation intentions to promote fruit and vegetable consumption.Health Psychol. 2014;33:729-36.
8. Hartman H, Wadsworth DP, Penny S, van Assema P, Page R. Psychosocial determinants of fruit and vegetable consumption among students in a New Zealand university. Results of focus group interviews. Appetite 2013;65: 35-42.
9. Warriner K, Huber A, Namvar A, Fan W, Dunfield K. Recent advances in the microbial safety of fresh fruits and vegetables. Advances in food and nutrition research 2009; 57: 155-208.
10. Beuchat LR. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. Microbes Infect 2002;4: 413-423.
11. Prazak AM, Murano EA, Mercado I, Acuff GR. Prevalence of Listeria monocytogenes during production and postharvest processing of cabbage. J Food Microbiol 2002; 65: 1728-1734.
12. Gombas DE, Chen Y, Clavero RS, Scott VN. Survey of listeria monocytogenes in ready-to-eat foods. J Food Protect 2003; 66: 559-569.
13. Sant'Ana AS, Igarashi MC, Landgraf M, Destro MT, Franco BD. Prevalencepopulations and pheno-and genotypiccharacteristics of listeria monocytogenesisolated from ready-to-eat vegetables marketed in S?o Paulo, Brazil. Int J Food Microbiol 2012; 155: 1-9.
14. Cordano AM, Jacquet C. Listeria monocytogenes isolated from vegetable salads sold at supermarkets in Santiago, Chile: Prevalence and strain characterization. Int J Food Microbiol 2009; 132: 176–179.
15. Pingulkar K, Kamat A, Bongirwar D. Microbiological quality of fresh leafy vegetables, salad components and ready-to-eat salads: an evidence of inhibition of Listeria monocytogenes in tomatoes. Int J Food Sci Nutr 2001; 52: 15-23.
16. Anthony D, Hitchins KJ. Detection and Enumeration of Listeria monocytogenes in Foods 2011; Available from URL:http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm071400.Htm
17. Abadias M, Usall J, Anguera M, Solsona C, Vi?as I, Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. Int J Food Microbiol 2008;123: 121-129.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-22]

[DOI: 10.22102/20.2.78]

18. Santos M, Cavaco A, Gouveia J, Novais M, Nogueira P, Pedroso L, et al. Evaluation of minimally processed salads commercialized in Portugal. Food Control 2012; 23: 275-281
19. Fr?der H, Martins CG, de Souza KLO, Landgraf M, Franco BD, Destro MT. Minimally processed vegetable salads: microbial quality evaluation. J Food Protect 2007; 70: 1277-1280.
20. Eni AO, Oluwawemitan IA, Oranusi S.Microbial quality of fruits and vegetables sold in Sango Ota, Nigeria. Afr J Food Sci 2010; 4: 291-296.
21. Aycicek H, Oguz U, Karci K. Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey. Int J Hyg Environ Health 2006; 209: 197-201.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-22]

[DOI: 10.22102/20.2.78]