بررسی کارایی گندزدایی کاهو بر اساس روش متداول در ایران

مریم یاراحمدی[۱]، مسعود یونسیان[۲]، ایرج موبدی[۳]، محمد رضا پورمند[۴]، عباس شاهسونی[۵]، بیژن نعمان پور[۶]، کاظم ندافی[۷]

چکیده

مقدمه: سبزیجات خام ممکن است حاوی انواع میکروارگانیسم‌ها و تخم انگل باشند و در صورتی که به شیوه مناسبی سالم‌سازی نگردند، باعث ابتلای انسان به انواع بیماری‌های انگلی و بیماری‌های عفونی روده‌ای می‌گردند. بنابراین استفاده از یک روش مؤثر در کاهش میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا دارای اهمیت زیادی است. در این تحقیق، کارایی دستورالعمل توصیه شده توسط وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ایران جهت گندزدایی سبزیجات مورد ارزیابی قرار گرفت. این دستورالعمل شامل مراحل شست‌وشوی سبزیجات با آب، انگل‌زدایی سبزیجات (سه تا پنج قطره دترجنت در هر لیتر با زمان تماس ۵ دقیقه) و گندزدایی سبزیجات (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر پرکلرین با زمان تماس ۵ دقیقه) است.

روش‌ها: بار اولیه میکروبی (کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی) با استفاده از آزمایش MPN (Most probable number) و بار انگلی موجود بر روی کاهو به روش شناورسازی تعیین گردید. نمونه کاهو بر اساس دستورالعمل توصیه شده وزارت بهداشت گندزدایی گردید و پس از هر مرحله از گندزدایی بار میکروبی و انگلی نمونه کاهو تعیین شد و در نهایت، کارایی گندزدایی بر اساس دستورالعمل پیش‌گفت مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین بار اولیه کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی موجود بر روی کاهو به ترتیب ۳/۳۶ $\log_{۱۰}$ CFU/g و ۲/۳۱ $\log_{۱۰}$ CFU/g بود. در هیچ کدام از نمونه‌های مورد آزمایش، آلودگی انگلی مشاهده نگردید. پس از گندزدایی کاهو بر اساس دستورالعمل توصیه شده وزارت بهداشت در مرحله شست‌وشو با آب، میزان حذف کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی به ترتیب ۷۸/۱ درصد ($\log_{۱۰}$ CFU/g ۰/۷۵) و ۷۹/۶ درصد ($\log_{۱۰}$ CFU/g ۰/۶۷) و در مرحله استفاده از دترجنت میزان حذف کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی به ترتیب ۹۴/۸ درصد ($\log_{۱۰}$ CFU/g ۱/۴۴)، ۹۸/۵ درصد ($\log_{۱۰}$ CFU/g ۱/۹۰) و در مرحله گندزدایی با پرکلرین کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی به ترتیب ۹۸/۳ درصد ($\log_{۱۰}$ CFU/g ۲/۱۸) و ۱۰۰ درصد ($\log_{۱۰}$ CFU/g ۲/۳۱) کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: دستورالعمل وزارت بهداشت به عنوان یک روش مؤثر در سالم‌سازی سبزیجات می‌تواند ۹۸/۳ درصد از کل کلیفرم و ۱۰۰ درصد از کلیفرم مدفوعی موجود بر روی کاهو را حذف نماید.

واژه‌های کلیدی: سبزیجات خام، گندزدایی، کل کلیفرم، کلیفرم مدفوعی، وزارت بهداشت، کاهو.

نوع مقاله: *تحقیقی*

دریافت مقاله: ۹۰/۰۸/۲۳ *پذیرش مقاله: ۹۰/۱۱/۱۵*

۱- کارشناس ارشد، گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز سلامت محیط و کار، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۲- دانشیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۳- استاد، گروه انگل شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۴- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۵- دانشجوی دکترا، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۶- دانشجوی دکترا، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۷- دانشیار گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. (نویسنده مسؤول).
Email: knadafi@tums.ac.ir

مقدمه

میوه و سبزیجات دارای ارزش غذایی فراوانی می‌باشند و به عنوان یک بخش ضروری در رژیم غذایی افراد محسوب می‌شوند (۱). میوه و سبزیجاتی که به صورت خام مصرف می‌شوند، با وجود اینکه نقش مهمی در رژیم غذایی افراد دارند، اما در صورت آلودگی، وسیله‌ای برای انتقال باکتری‌ها، انگل‌ها و ویروس‌های بیماری‌زا هستند و باعث ایجاد بیماری در انسان و نیز افزایش شیوع بیماری‌های قابل انتقال از غذا می‌گردند (۴-۲). لیستریا مونوسیتوژنز، سالمونلا (۵) و اشرشیاکلی (۶، ۴) از جمله پاتوژن‌هایی هستند که از روی سبزیجات جدا گردیده‌اند. مطالعات نشان می‌دهد که در سال‌های اخیر، وقوع بیماری‌های مرتبط با مواد غذایی به علت مصرف میوه و سبزیجات افزایش یافته است (۶، ۲). بین سال‌های ۱۹۹۵ تا ۲۰۰۶ در ایالات متحده آمریکا ۲۲ شیوع ثبت شده است که نیمی از آن به علت مصرف کاهو و اسفناج آلوده گزارش گردیده است. بر اساس مطالعات انجام گرفته گوجه، کاهو، جوانه غلات و اسفناج علت اصلی شیوع بیماری‌های مرتبط با غذا در ایالات متحده آمریکا گزارش شده است (۷).

سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) در گزارشی اعلام نمود موضوع شیوع بیماری‌های قابل انتقال از غذا، به علت مصرف سبزیجات به خصوص سبزیجات برگی شکل مانند کاهو عامل نگران کننده مهمی است (۸). سبزیجات ممکن است در مراحل کاشت، برداشت، حمل و نقل، مرحله توزیع و فروش محصول و یا هنگام آماده‌سازی مانند تهیه سالاد در منزل و یا در مراکز تهیه غذا آلوده گردند (۹). از عوامل مهم آلودگی سبزیجات می‌توان به استفاده از کودهای نارس انسانی و حیوانی و استفاده از فاضلاب و پساب آلوده در زمین کشاورزی اشاره نمود (۱۰).

بر اساس مطالعات انجام شده در سال ۲۰۰۶، تخمین زده شده است بیش از ۲۰ میلیون هکتار از زمین‌های کشاورزی در دنیا جهت آبیاری از فاضلاب خام، پساب آلوده و یا فاضلاب تصفیه شده استفاده می‌نمایند (۱۱). جلوگیری از آلوده شدن میوه و سبزیجات توسط عوامل بیماری‌زا باید هدفی مهم در مرحله تولید، حمل و نقل و تحویل به مصرف کننده باشد؛ اما بسیاری از پاتوژن‌ها به عنوان فلور طبیعی خاک محسوب می‌شوند و ممکن است هنگام برداشت محصول روی آن‌ها وجود داشته باشند (۳).

شست‌وشوی سبزیجات با آب روشی ساده و به نسبت مؤثر در سالم‌سازی سبزیجاتی است که بار آلودگی پایین دارند، اما استفاده از یک گندزدای مناسب جهت سالم‌سازی سبزیجاتی که بار آلودگی بالایی دارند، ضروری است (۱۲). شست‌وشوی سبزیجات با آب فقط ۱ $\log_{۱۰}$ CFU/g از بار میکروبی را کاهش می‌دهد (۱۳، ۴).

در مطالعه‌ای که توسط Singh و همکاران انجام شد، نتایج نشان داد که شست‌وشوی کاهو با آب دیونیزه جمعیت باکتری اشرشیاکلی O۱۵۷:H۷ تلقیح شده بر روی سطح کاهو را با چند بار شست‌وشو ۱ $\log_{۱۰}$ CFU/g و با یک بار شست‌وشو ۰/۲۲ $\log_{۱۰}$ CFU/g کاهش می‌دهد (۱۴). تا کنون تحقیقات مختلفی در خصوص تأثیر بسیاری از گندزداها جهت از بین بردن میکروارگانیسم‌های موجود بر روی سبزیجات در دنیا انجام گرفته است (۱۷-۱۵). اما در کشور ایران تا کنون هیچ گونه تحقیقی در این مورد انجام نشده است.

برخی از گندزداهای مورد استفاده هیپوکلریت کلسیم، هیپوکلریت سدیم (NaClO) و آب الکترولیز (pH: ۵-۴) می‌باشند (۱۸). در نقاط مختلف دنیا بسته به میزان آلودگی و فرایند تولید سبزیجات، از روش‌های مختلفی جهت گندزدایی و سالم‌سازی سبزیجات استفاده می‌نمایند. در برخی از کشورها آب کلرینه برای گندزدایی سبزیجات در مراحل مختلف از جمله پس از برداشت محصول، حمل و نقل و انجام پروسه بر روی آن، مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۹).

در کشور برزیل متداول‌ترین روش برای سالم‌سازی و گندزدایی سبزیجات، قرار دادن سبزیجات در محلول هیپوکلریت سدیم با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۵ دقیقه می‌باشد (۲۰). نتایج مطالعه‌ای که توسط Garcia-Gomez و همکاران در کشور مکزیک به منظور بررسی روش‌های گندزدایی متداول سبزیجات انجام گردید، نشان داد

www.mui.ac.ir

که بیش از ۳۰ درصد از جمعیت مورد مطالعه، از یک محلول گندزدا با ماده مؤثر نقره (Colloidal silver) جهت گندزدایی سبزیجات استفاده می‌نمودند، ۲۸ درصد سبزیجات را فقط با آب و ۲۵ درصد نیز از هیپوکلریت سدیم جهت گندزدایی سبزیجات استفاده می‌نمودند، مابقی جمعیت مورد مطالعه از روش‌هایی مانند استفاده از نمک، دترجنت، نمک به همراه لیمو، دترجنت به همراه محلول یددار و لیمو استفاده می‌نمودند (۲۱).

در برخی از کشورها از جمله ایالات متحده آمریکا توصیه شده است که میوه و سبزیجات را فقط با آب بشویند و استفاده از دترجنت و هر نوع گندزدای تجاری دیگر پیشنهاد نشده است (۲۲). در کشور ایران، در سال‌های اخیر شیوع بیماری‌های قابل انتقال از مواد غذایی به علت مصرف سبزیجات آلوده، باعث شیوع برخی از بیماری‌های واگیر از جمله بیماری‌های روده‌ای گردیده است. در مطالعه رهبر و همکاران در اپیدمی سال ۱۳۸۴ در ایران، مصرف سبزیجات آلوده و سبزی آبیاری شده با فاضلاب به عنوان عامل اصلی بیماری وبا اعلام گردیده است (۲۳).

در مطالعات دیگری که در استان‌های مرکزی و گلستان انجام شد، مشاهد گردید که شست‌وشوی نامناسب میوه و سبزیجات یکی از فاکتورهای ابتلا به بیماری وبا در این دو استان می‌باشد (۲۴). نتایج مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۷ در کرج انجام گردید نشان داد که مصرف سبزیجات آلوده مهم‌ترین عامل اپیدمی بیماری وبا در این شهر بوده است (۲۵). وزارت بهداشت ایران نیز دستورالعملی را جهت سالم‌سازی میوه و سبزیجاتی که به صورت خام مصرف می‌شوند، تدوین نموده است که شامل مراحل زیر می‌باشد: مرحله اول، شست‌وشوی سبزیجات با آب (به منظور حذف گل و لای)، مرحله بعد انگل‌زدایی سبزیجات (۳ تا ۵ قطره دترجنت به ازای هر لیتر با زمان تماس ۵ دقیقه) و در پایان گندزدایی سبزیجات با استفاده از گندزدای پرکلرین (کلر آزاد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر با زمان تماس ۵ دقیقه) و سپس شست‌وشوی مجدد سبزیجات گندزدایی شده با آب (۲۶). هدف از انجام این مطالعه بررسی کارایی گندزدایی کاهو بر اساس دستورالعمل توصیه شده وزارت بهداشت در کاهش بار آلودگی موجود بر روی موجود بر روی کاهو به منظور اطمینان عموم مردم از سالم بودن سبزیجات گندزدایی شده با استفاده از دستورالعمل پیش‌گفت می‌باشد.

روش‌ها

نمونه کاهو به صورت روزانه از بازار میوه و تره‌بار تهران تهیه و در یک نایلون استریل قرار داده شد و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۷ درجه سلسیوس نگهداری گردید، کلیه آزمایش‌ها در همان روز بر روی نمونه‌ها انجام گردید.

مراحل گندزدایی

۲۰۰ گرم نمونه کاهو جهت انجام آزمایش تهیه و به منظور تعیین بار اولیه میکروبی نمونه، ۵۰ گرم از نمونه کاهوی مورد نظر جدا و در داخل کیسه استریل حاوی۲۵۰ میلی‌لیتر پپتون واتر (۰/۱ درصد، pH ۷/۲، Merck) قرار گرفت و به مدت ۲ دقیقه به طور کاملا مخلوط و یکنواخت گردید. از محلول سریال رقت تهیه و با استفاده از آزمایش MPN (Probable Number Most) جمعیت کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی موجود بر روی آن تعیین شد (۲۸-۲۷). جهت تعیین تأثیر شست‌وشوی کاهو با آب در کاهش بار میکروبی موجود بر روی آن، ۱۵۰ گرم نمونه کاهوی باقی‌مانده با آب به طور کامل شست‌وشو و ۵۰ گرم از آن جدا گردید و در داخل کیسه استریل حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر پپتون واتر قرار گرفت و پس از تهیه سریال رقت از نمونه، با استفاده از آزمایش MPN جمعیت کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی آن تعیین گردید.

جهت تعیین تأثیر دترجنت در کاهش بار میکروبی موجود بر روی کاهو ۱۰۰ گرم نمونه باقی‌مانده از مرحله قبل، در داخل یک لیتر آب حاوی ۳ قطره دترجنت خانگی، به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت، سپس با آب شست‌وشو داده شد و ۵۰ گرم از آن جدا گردید و مانند مرحله قبل کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی موجود بر روی سطح نمونه تعیین شد.

در نهایت، ۵۰ گرم نمونه باقی‌مانده در داخل محلول گندزدای پرکلرین (هیپوکلریت کلسیم، کلر فعال ۷۰۰g/kg، Merck) با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. کلر باقی‌مانده محلول با استفاده از دستگاه

www.mui.ac.ir

اسپکتروفتومتر (مدل ۲۰۰۰) اندازه‌گیری گردید. در ادامه پس از شست‌وشوی نمونه کاهوی گندزدایی شده با آب، جمعیت کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی موجود بر روی آن مورد سنجش قرار گرفت (۳۰-۲۹، ۲۷) و نتایج به صورت CFU/g (Colony Forming Units per gram) گزارش گردید. در مرحله دوم مطالعه، راندمان گندزدایی کاهو در کاهش بار انگلی موجود بر روی کاهو بر اساس دستورالعمل سالم‌سازی سبزیجات که توسط وزارت بهداشت ایران ارایه گردیده است، مورد بررسی قرار گرفت.

در این مطالعه جهت تعیین بار انگلی موجود بر روی کاهو از روش شناورسازی (Floatation) استفاده شد. بدین منظور، کاهو بلافاصله پس از انتقال به آزمایشگاه به صورت جداگانه داخل ظروف بیکر که تا نیمه از آب پر شده بود، ریخته شد و جهت کاستن از کشش سطحی و تسریع در رها شدن تخم و لارو انگل‌ها و مواد اضافی از کاهو، ۵ قطره گلیسیرین به آن اضافه گردید. در ادامه، نمونه به طور کامل به هم زده شد و به مدت نیم ساعت در حالت سکون باقی ماند. سپس به آرامی کاهو از روی ظروف جمع‌آوری و دور ریخته شد. آب ناشی از شست‌وشو در داخل سطل جمع‌آوری و جهت حذف رسوب گل و لای، خرده کاهو و اجسام درشت، آب به دست آمده از شست‌وشو از پارچه تنظیف عبور داده شد. سپس جهت ته نشین شدن تخم انگل‌ها، کیست تک یاخته‌ها و لاروها، ظرف حاوی آب و رسوبات ناشی از شست‌وشوی سبزیجات به مدت ۲ ساعت در حالت سکون قرار گرفت و پس از طی این زمان، رسوب باقی‌مانده به بشر منتقل گردید.

به منظور رسوب‌گیری کامل این مرحله چندین مرتبه تکرار گردید. سپس۵۰ میلی‌لیتر مایع انتهایی به لوله سانتریفوژ ۵۰ میلی‌لیتری منتقل شد و عمل سانتریفوژ با دور ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳ دقیقه انجام گرفت. در نهایت از رسوب به دست آمده لام تهیه شد و در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت (۳۲-۳۱). به منظور تعیین صحت و دقت آزمایش‌ها جهت هر نمونه سه بار آزمایش تکرار گردید. کلیه مراحل آزمایش در آزمایشگاه میکروب شناسی گروه مهندسی بهداشت محیط دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت.

یافته‌ها

یافته‌های حاصل از تحقیق در مورد بار اولیه میکروبی و انگلی موجود بر روی کاهو و راندمان گندزدایی کاهو بر اساس دستورالعمل توصیه شده وزارت بهداشت در کاهش بار میکروبی و انگلی موجود بر روی کاهو به صورت جدول آورده شده است.

جدول ۱: بار اولیه کلیفرم و کلیفرم مدفوعی و تخم انگل موجود بر روی نمونه‌های کاهو.

شماره نمونه	کل کلیفرم ($log_{۱۰}$ CFU/g)	کلیفرم مدفوعی ($log_{۱۰}$ CFU/g)	تخم انگل
۱	۳/۳۴	۲/۴۰	۰
۲	۳/۴۰	۲/۸۳	۰
۳	۳/۲۰	۲/۱۴	۰
۴	۳/۳۸	۱/۸۹	۰
۵	۳/۵۰	۲/۳۰	۰
میانگین	۳/۳۶	۲/۳۱	۰

بر اساس جدول ۱ میانگین بار اولیه کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی موجود بر روی کاهو به ترتیب ۳/۳۶ $log_{۱۰}$ CFU/g و ۲/۳۱ $log_{۱۰}$ CFU/g بود. بار اولیه کل کلیفرم نسبت به کلیفرم مدفوعی بالاتر بود. ولی نمونه‌های بررسی شده فاقد هر گونه تخم انگل بودند. در جدول ۲ جمعیت کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی موجود بر روی کاهو پس از انجام مراحل گندزدایی بر اساس دستورالعمل توصیه شده وزارت بهداشت آورده شده است. پس از گندزدایی کاهو بر اساس دستورالعمل پیش‌گفت، میزان حذف کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی موجود برروی کاهو به ترتیب ۲/۱۸ $log_{۱۰}$ CFU/g و ۲/۳۱ $log_{۱۰}$ CFU/g بود.

در جدول ۳ راندمان حذف کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی در هر مرحله از گندزدایی کاهو بر اساس دستورالعمل توصیه شده وزارت بهداشت نشان داده شده است. راندمان حذف کل کلیفرم

www.mui.ac.ir

جدول ۲: میزان کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی باقی‌مانده بر روی نمونه در هر مرحله از گندزدایی کاهو بر اساس دستورالعمل توصیه شده وزارت بهداشت

مراحل گندزدایی	کل کلیفرم (CFU/g$_{۱۰}$ log)		کلیفرم مدفوعی (CFU/g$_{۱۰}$ log)		تخم انگل
	کل کلیفرم باقی‌مانده (mean ± SD)	کل کلیفرم حذف شده	کلیفرم مدفوعی باقی‌مانده (mean ± SD)	کلیفرم مدفوعی حذف شده	-
کنترل (بار اولیه)	۳/۳۶ ± ۰/۱۰	-	۲/۳۱ ± ۰/۳۴	-	۰
آب	۲/۶۱ ± ۰/۲	۰/۷۵	۱/۶۳ ± ۰/۳۴	۰/۶۷	۰
دترجنت	۱/۸۹ ± ۰/۴۷	۱/۴۴	۰/۴۱ ± ۰/۵۸	۱/۹۰	۰
پرکلرین (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر،۵ دقیقه)	۱/۸۸ ± ۰/۱۰	۲/۱۸	۰	۲/۳۱	۰

جدول ۳: راندمان حذف کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی در هر مرحله از گندزدایی کاهو بر اساس دستورالعمل توصیه شده وزارت بهداشت

مراحل گندزدایی	درصد حذف کل کلیفرم	درصد حذف کلیفرم مدفوعی
آب	۷۸/۱	٪۷۹/۶
دترجنت	۹۴/۸۵	٪۹۸/۵
پرکلرین (۲۰۰میلی‌گرم در لیتر، ۵دقیقه)	۹۸/۳	٪۱۰۰

و کلیفرم مدفوعی در مرحله شست‌وشوی کاهو با آب به ترتیب ۷۸/۱ درصد (۰/۷۵ log$_{۱۰}$ CFU/g) و ۷۹/۶ درصد (۰/۶۷ log$_{۱۰}$ CFU/g)، در مرحله استفاده از دترجنت به ترتیب ۹۴/۸ درصد (۱/۴۴ log$_{۱۰}$ CFU/g) و ۹۸/۵ درصد (۱/۹ log$_{۱۰}$ CFU/g) و در مرحله استفاده از گندزدای پرکلرین با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب ۹۸/۳ درصد (۲/۱۸ log$_{۱۰}$ CFU/g) و ۱۰۰ درصد (۲/۳۱ log$_{۱۰}$ CFU/g) بود. آزمون کروس کال والیس اختلاف معنی‌داری را بین راندمان حذف کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی در این سه مرحله از گندزدایی نشان داد (P = ۰/۰۰۷)، (P = ۰/۰۱۵) که نشان دهنده مؤثر بودن این مراحل در کاهش بار میکروبی است.

بحث

در ایران تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تعیین بار میکروبی سبزیجات مصرفی انجام نگرفته است. اما در این زمینه مطالعات مختلفی در دنیا صورت گرفته است. ذکر این نکته حایز اهمیت است که شرایط کاشت محصول، کیفیت آب مورد استفاده در کشاورزی، نوع کود مورد استفاده و نیز شرایط حمل و نقل و عرضه سبزیجات، در کشورهای مختلف با هم متفاوت است و باعث تغییر در میزان بار اولیه میکروبی در محصول می‌گردد.

در مطالعه‌ای که توسط Nascimento و همکاران در کشور برزیل انجام شد، بار اولیه کل کلیفرم و اشرشیاکلی موجود بر روی ۱۰ نمونه کاهو مورد بررسی قرار گرفت و نتایج این مطالعه نشان داد که میانگین بار اولیه کل کلیفرم و اشرشیاکلی در نمونه‌های بررسی شده به ترتیب CFU/g ۳/۲۵ log$_{۱۰}$ و CFU/g ۱/۶۴ log$_{۱۰}$ بود (۲۰). میزان کل کلیفرم در مطالعه Zhao و همکاران با نتایج حاصل از این مطالعه هم‌خوانی دارد، اما میزان اشرشیاکلی در مطالعه ایشان پایین‌تر از میزان کلیفرم مدفوعی این مطالعه بود، زیرا علاوه بر اشرشیاکلی برخی از باکتری‌ها از جمله انتروباکتر و کلبسیلا منجر به نتایج مثبت در آزمایش کلیفرم مدفوعی می‌شوند (۳۳).

نتایج مطالعه‌ای که توسط Aycicek و همکاران در کشور ترکیه انجام گرفت، نشان داد بار اولیه کل کلیفرم و اشرشیاکلی موجود برروی کاهو، شوید، هویج و جعفری به ترتیب CFU/g ۷/۴ log۱۰ و CFU/g ۳/۸ log۱۰ و کل باکتری‌های بی‌هوازی CFU/g ۱/۶۴ log۱۰ بوده است (۳۴). مطالعات نشان می‌دهد که جمعیت میکروارگانیسم‌های موجود بر روی سبزیجات می‌تواند وسیع و متنوع باشد (۳۵).

www.mui.ac.ir

بار میکروبی موجود بر روی سبزیجات همیشه نشان دهنده آلودگی توسط فاضلاب یا کودهای نارس نیست و ممکن است برخی از باکتری‌ها جزء فلور طبیعی خاک باشند و از طریق خاک یا دیگر منابع طبیعی به سبزیجات منتقل شوند و هنگام برداشت محصولات بر روی آن وجود داشته باشند، همچنین وجود کلیفرم مدفوعی بر روی سبزیجات همیشه نشانه آلودگی سبزیجات با آلودگی‌های مدفوعی نیست. چون کلیفرم مدفوعی به عنوان بخشی از فلور طبیعی گیاهان محسوب می‌گردد (۳۸-۳۶)؛ ولی اشرشیاکلی را نمی‌توان به عنوان فلور طبیعی قلمداد نمود و حضور آن بر روی سبزیجات به علت آبیاری سبزیجات با فاضلاب، استفاده از کودهای نارس، مدفوع حیوانات، دست کشاورزان و یا در پروسه حمل و نقل و عرضه محصول می‌باشد (۳۹).

در هیچ کدام از نمونه‌های مورد آزمایش تخم انگل مشاهده نشد که این امر نشان می‌دهد که کاهو با فاضلاب خام آبیاری نشده است. در بررسی همایونی و خلجی بر روی سبزیجات شهر تهران، بعد از بررسی ۲۷۰ نمونه از سبزیجات خام ۴۱/۳ درصد آلودگی به انگل‌های مختلف گزارش شد (۴۰). در بررسی دیگری که دوامی و همکاران بر روی سبزیجات خام شهر اراک انجام دادند، بعد از بررسی ۱۲۰ نمونه از سبزیجات خام ۶۸/۳ درصد آلودگی به انگل‌های مختلف گزارش شد (۴۱). نتایج مطالعه‌ای که صاحبانی و همکاران برروی سبزیجات خام شهر بوشهر انجام دادند، نشان داد که ۱۲/۵ درصد از سبزیجات خام به انگل‌های مختلف آلوده بوده‌اند (۴۲). با مقایسه نتایج این تحقیق و مطالعات دیگر می‌توان گفت که نتایج این تحقیق با سایر بررسی‌های انجام شده هم‌خوانی ندارد که پایین بودن تعداد نمونه در مقایسه با سایر مطالعات، روش بررسی نمونه و همچنین روند رو به رشد کشاورزی از شکل سنتی به مکانیزه می‌تواند از دلایل حصول این نتایج باشد.

در این مطالعه در مرحله شست‌وشوی کاهو با آب کل کلیفرم ۰/۷۵ $\log_{۱۰}$. CFU/g و ۰/۶۷ $\log_{۱۰}$. CFU/g کاهش یافت.

در مطالعه‌ای که توسط Nascimento و همکاران انجام شد نشان داد که شست‌وشوی کاهو با آب می‌تواند باکتری‌های هوازی را ۷۸ درصد، مخمر و قارچ را ۸۷ درصد و کل کلیفرم را ۸۲ درصد کاهش دهد (۲۰). مطالعه Frank و Takeushi نشان داد که آب می‌تواند بار میکروبی روی سبزیجات را ۱ $\log_{۱۰}$. CFU/g کاهش دهد (۴۳).

نتایج مطالعه Keskinen و Annous در آمریکا نشان داد که پس از تلقیح سالمونلا انتریکا بر روی طالبی و سپس شست‌وشوی طالبی با آب، جمعیت سالمونلا $\log_{۱۰}$. CFU/g ۱ کاهش می‌یابد. میزان حذف کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی در مرحله استفاده از دترجنت به ترتیب ۱/۴۴ $\log_{۱۰}$. CFU/g و ۱/۹ $\log_{۱۰}$. CFU/g بود. آن‌ها اذعان نمودند استفاده از دترجنت، جمعیت سالمونلا انتریکای تلقیح شده بر روی طالبی را ۱ $\log_{۱۰}$. CFU/g کاهش می‌دهد. دترجنت علاوه بر اینکه باعث جداسازی تخم انگل‌های موجود بر روی سبزیجات می‌گردد، خاصیت آب‌گریزی پوست سبزیجات و همچنین سبزیجات برگی شکل را کاهش می‌دهد و در نتیجه باعث افزایش تماس بین سلول‌های پاتوژن و ماده گندزدا می‌گردد و کارایی ماده گندزدا را افزایش می‌دهد (۴۴).

میزان حذف کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی در مرحله استفاده ازگندزدای پرکلرین به ترتیب ۲/۱۸ $\log_{۱۰}$. CFU/g و ۲/۳۱ $\log_{۱۰}$. CFU/g بود. نتایج به دست آمده توسط Zhang و Farber نشان داد گندزدایی کاهو و کلم با گندزدای پرکلرین با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث کاهش جمعیت سالمونلای تلقیح شده برروی کاهو ۱/۳-۱/۷ $\log_{۱۰}$. CFU/g و برروی کلم ۰/۹-۱/۲ $\log_{۱۰}$. CFU/g می‌گردد (۴۵).

استفاده از گندزدای پرکلرین با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، جمعیت سالمونلا را ۱ $\log_{۱۰}$. CFU/g کاهش داد. به طور کلی، استفاده از دستورالعمل توصیه شده وزات جهت گندزدایی کاهو میزان کل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی را به ترتیب ۹۸/۳ درصد ۲/۱۸ $\log_{۱۰}$. CFU/g و کلیفرم مدفوعی ۱۰۰ درصد ۲/۳۱ $\log_{۱۰}$. CFU/g کاهش می‌دهد. نتایج مطالعه Barak و همکاران نشان داد که استفاده از آب، دترجنت و گندزدای پرکلرین با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر

www.mui.ac.ir

به صورت متوالی می‌تواند جمعیت سالمونلا انتریکای تلقیح شده بر روی طالبی را $log_{۱۰}$ CFU/g ۳ کاهش دهد (۴۶).

نتایج مطالعه‌ای که در برزیل انجام گردید، نشان داد روش متداول در این کشور برای گندزدایی میوه و سبزیجات (گندزدایی سبزیجات با پرکلرین ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۵ دقیقه) می‌تواند کل باکتری‌های هوازی را $log_{۱۰}$ CFU/g ۲/۶۳، مخمر و قارچ را $log_{۱۰}$ CFU/g ۲/۷۸ و کل کلیفرم را $log_{۱۰}$ CFU/g ۱/۹۶ کاهش دهد (۲۰). نتایج پژوهشی در مکزیک نشان داد که ماده گندزدا با ماده مؤثر نقره، که به طور متداول جهت گندزدایی سبزیجات در این کشور استفاده می‌شد، کل باکتری‌های هوازی و کلیفرم مدفوعی را به ترتیب در کاهو ۵۲ و ۹۹/۴ درصد و در گشنیز به ترتیب ۲۸/۶ و ۹۸/۶ درصد کاهش می‌دهد. اما استفاده از این گندزدا باعث حذف سالمونلا تیفی موجود بر روی سبزیجات نگردید. در این مطالعه، توصیه شده است که از آب کلرینه به جای استفاده از محلول‌های تجاری با ماده مؤثر نقره استفاده گردد، چون علاوه بر کارایی مقرون به صرفه است (۲۱).

کارایی گندزدایی در کاهش بار میکروبی میوه و سبزیجات به نوع محصول، نوع سطح میوه و سبزیجات و نیز نوع میکروارگانیسم بستگی دارد و باعث حصول نتایج متفاوت می‌گردد (۱۴). بر اساس یافته‌های حاصل از این مطالعه، می‌توان نتیجه گرفت که اگر چه دستورالعمل توصیه شده وزارت بهداشت در ایران جهت گندزدایی سبزیجات به عنوان یک روش مؤثر قسمت اعظمی از میکروارگانیسم‌های موجود بر روی سبزیجات را حذف می‌نماید، اما پرکلرین می‌تواند با مواد آلی موجود در میوه و سبزیجات ترکیب گردد و مواد سمی از قبیل کلرامین و تری‌هالومتان را تولید نماید (۴۸-۴۷، ۱۳) که برای سلامتی انسان مضر است.

به جای استفاده از مواد شیمیایی در گندزدایی سبزیجات، اعمال روش‌های بهداشتی خوب در طی فرایند تولید، حمل و نقل و فرآوری به همراه سیستم کنترل نقطه بحرانی و آنالیز خطر (Hazard Analysis And Critical Control Points یا HACCP) به طور حتم آلودگی میوه‌جات و سبزیجات را کاهش می‌دهد و خطر بیماری‌های وابسته به این گروه از مواد غذایی را کمتر می‌نماید. برای رسیدن به این هدف، لازم است کشاورزان و تمام افرادی که در فرایند حمل و نقل و عرضه مشارکت دارند، آموزش‌های لازم را در زمینه جلوگیری از آلودگی میوه و سبزیجات فرا گیرند. در پایان ذکر این نکته حایز اهمیت است که جهت تعیین میزان تأثیر روش‌های مختلف گندزدایی سبزیجات خام مطالعات بیشتری مورد نیاز است.

References

1. Dimitri C, Tegene A, Kaufman PR. U.S. Fresh Produce Markets: Marketing Channels, Trade Practices, and Retail Pricing Behavior, Agricultural Economic Report No. (AER-825). [Online]. 2003 [cited 2003 Sep]; Available from: URL: http://www.ers.usda.gov/Publications/AER825/
2. Allende A, Mcevoy JL, Tao Y, Luo Y. Antimicrobial effect of acidified sodium chlorite, sodium chlorite, sodium hypochlorite, and citric acid on Escherichia coli O157:H7 and natural microflora of fresh-cut cilantro. Food Control 2008; 20: 230-4.
3. Beuchat LR, Ryu JH. Produce handling and processing practices. Emerg Infect Dis 1997; 3(4): 459-65.
4. Nguyen-the C, Carlin F. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. Crit Rev Food Sci Nutr 1994; 34(4): 371-401.
5. Johannessen GS, Loncarevic S, Kruse H. Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. Int J Food Microbiol 2002; 77(3): 199-204.
6. Abadias M, Usall J, Anguera M, Solsona C, Vinas I. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. Int J Food Microbiol 2008; 123(1-2): 121-9.
7. Elano RR, Kitagawa T, Bari ML, Kawasaki S, Kawamoto S, Inatsu Y. Comparison of the effectiveness of acidified sodium chlorite and sodium hypochlorite in reducing Escherichia coli. Foodborne Pathog Dis 2010; 7(12): 1481-9.
8. The FDA: fresh leafy greens grown in the United States are safe. FDA Consum 2006; 40(6): 11.
9. Beuchat LR. Surface disinfection of raw produce. Dairy, Food Environ. Sanitation 1991; 12(1): 6-9.

10. Beuchat LR. Pathogenic Microorganisms Associated with Fresh produce. J Food Prot 1996; 59(2): 204-16.
11. Hamilton AJ, Stagnitti F, Premier R, Boland AM, Hale G. Quantitative microbial risk assessment models for consumption of raw vegetables irrigated with reclaimed water. Appl Environ Microbiol 2006; 72(5): 3284-90.
12. Adams HR, Hartley AD, Cox LJ. Factors Affecting the Efficiency of Washing Procedures Used in Production of Prepared Salads. Food Microbiol 1989; 6: 69-77.
13. Singh N, Singh RK, Bhunia AK, Stroshine RL. Efficacy of Chlorine Dioxide, Ozone & Thyme Essential Oil or a Sequential Washing in Killing E. coli O157:H7 on Lettuce and Baby Carrots. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 2002; 35(8): 720-9.
14. Beuchat LR. Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review. Geneva: World Health Organisation; 1998.
15. Baert L, Vandekinderen I, Devlieghere F, Van CE, Debevere J, Uyttendaele M. Efficacy of sodium hypochlorite and peroxyacetic acid to reduce murine norovirus 1, B40-8, Listeria monocytogenes, and Escherichia coli O157:H7 on shredded iceberg lettuce and in residual wash water. J Food Prot 2009; 72(5): 1047-54.
16. Lopez-Galvez F, Allende A, Selma MV, Gil MI. Prevention of Escherichia coli cross-contamination by different commercial sanitizers during washing of fresh-cut lettuce. Int J Food Microbiol 2009; 133(1-2): 167-71.
17. Lopez-Galvez F, Gil MI, Truchado P, Selma MV, Allende A. Cross-contamination of fresh-cut lettuce after a short-term exposure during pre-washing cannot be controlled after subsequent washing with chlorine dioxide or sodium hypochlorite. Food Microbiol 2010; 27(2): 199-204.
18. Hricova D, Stephan R, Zweifel C. Electrolyzed water and its application in the food industry. J Food Prot 2008; 71(9): 1934-47.
19. Weissinger WR, Chantarapanont W, Beuchat LR. Survival and growth of Salmonella baildon in shredded lettuce and diced tomatoes, and effectiveness of chlorinated water as a sanitizer. Int J Food Microbiol 2000; 62(1-2): 123-31.
20. Nascimento MS, Silva N, Catanozi MP, Silva KC. Effects of different disinfection treatments on the natural microbiota of lettuce. J Food Prot 2003; 66(9): 1697-700.
21. Garcia-Gomez R, Chavez-Espinosa J, Mejia-Chavez A, Durande-Bazua C. Microbiological determinations of some vegetables from the Xochimilco zone in Mexico City, Mexico. Rev Latinoam Microbiol 2002; 44(1): 24-30.
22. Food and Drug Administration.(FDA). Safe Handling of Raw Produce and Fresh-Squeezed Fruit and Vegetable Juices [Online]. 2009 [cited 2011 Aug 28]; www.cfsan.fda.gov/
23. Rahbar M, Sabourian R, Saremi M, Abbasi M, Masoomi A, Soroush M. Epidemiological and Drug Resistant Pattern of Summer of 2005 Outbrak In Iran. JAUMS 2007; 7(1): 41-5.
24. Khodabakhshi B, Heidari M, Fazeli MR, Ghaemi E, Karimi MS. Epidemiological Study of Clinical and Paraclinical Manifestation of Cholera Patients and Report of Uncommon Manifestation of During the Epidemic Episode in Ggorgan. Journal of Ggorgan University of Medical Sciences 2001; 3(8): 43-6.
25. Barati HA, Golmohammadi A, Momeni I, Moradi G. A Cholera Outbreak Investigation in Karaj District in 2008. Iranian Journal of Epidemiology 2010; 6(3): 28-34.
26. Ministry of Health and medical education of Iran. Guideline to disinfection vegetable [Online]. 2010; Available from: URL: www. behdasht .gov. ir/
27. Eaton AD, Franson MA. Standard methods for the examination of water & wastewater. 21st ed. Washington, DC: American Public Health Association; 2005.
28. Jay JM. Modern food microbiology. 6th ed. New York: Aspen Publishers; 2000.
29. Roberts D, Greenwood M. Practical food microbiology. New York: John Wiley & Sons; 2003.
30. Ray B, Bhunia AK. Fundamental food microbiology. New York: CRC Press; 2008.
31. Cook N, Paton CA, Wilkinson N, Nichols RA, Barker K, Smith HV. Towards standard methods for the detection of Cryptosporidium parvum on lettuce and raspberries. Part 1: development and optimization of methods. Int J Food Microbiol 2006; 109(3): 215-21.
32. Robertson LJ, Gjerde B. Isolation and enumeration of Giardia cysts, cryptosporidium oocysts, and Ascaris eggs from fruits and vegetables. J Food Prot 2000; 63(6): 775-8.
33. Zhao T, Clavero MR, Doyle MP, Beuchat LR. Health Relevance of the Presence of Fecal Coliforms in Iced Tea and Leaf Tea. Journal of Food Protection 1997; 60(3): 215-8.
34. 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(2): 197-201.

35. Brackett RE, Splittstoesser DF. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. In: Downes FP, Ito K, Editors. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington, DC: Am. Public Health Assoc; 2001. p. 515-20.
36. Karapinar M, Gonul SA. Removal of Yersinia enterocolitica from fresh parsley by washing with acetic acid or vinegar. Int J Food Microbiol 1992; 16(3): 261-4.
37. Riser EC, Grabowski J, Glenn EP. Microbiology of hydroponically-grown lettuce. Journal of Food Protection 1984; 47(10): 765-9.
38. Splittstoesser DF. Predominant Microrganisms on Raw Plant Foods. J Milk Food Technol 1970; 33: 500-10.
39. Bordner RH. Fecal Contamination of Fruits and Vegetables during Cultivation and Processing for Market. A Review. J Milk Food Technol 1971; 34: 184-95.
40. Homayouni M, Khalagi N. Parasitic Infection of Consumed Vegetable in Tehran. Journal of Army University of Medical Sciences of the I R Iran 2007; 4(4): 1053-63.
41. Davami M, Mosayyebi M, Mahdavipour A. Prevalence of Parasitic Infections in Consumed Vegetables in Ardabil City. J RAD 2000; 3(2): 18-22.
42. Sahebani N, Fouladvand M, Dalimi A, Rahbar AR, Ghafarian HR. Parasitic Infections of Consumed Vegetables in Boushehr City. Iranian South Medical Journal 1999; 2(1): 59-63.
43. Frank JF, Takeushi K. Direct Observation of E. Coli O157:H7 Inactivation on Lettuce Leaf Using Confocal Scanning Laser Microscopy. In: Elmadfa I, Konig, J, Editor. Proceedings of the 17th International Conference of the International Committee of Food Microbiology and Hygiene; 1999 Sep 13-17; Vienna, Austria; 1999. p. 795-7.
44. Keskinen LA, Annous BA. Efficacy of adding detergents to sanitizer solutions for inactivation of Escherichia coli O157:H7 on Romaine lettuce. Int J Food Microbiol 2011; 147(3): 157-61.
45. Zhang S, Farber JM. The Effects of Various Disinfectants against Listeria monocytogenes on Fresh-cut vegetables. Food Microbiol 1996; 13(4): 311-21.
46. Barak JD, Chue B, Mills DC. Recovery of surface bacteria from and surface sanitization of cantaloupes. J Food Prot 2003; 66(10): 1805-10.
47. Food and Drug Administration (FDA). Method to Reduce Pathogens from Fresh and Cut Produce.Center for Safety and appied nutrition [Online]. 2001; Available from: URL: http:/ www cfsan fda gov/comm /ift3-5html/
48. Rodgers SL, Cash JN, Siddiq M, Ryser ET. A comparison of different chemical sanitizers for inactivating Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes in solution and on apples, lettuce, strawberries, and cantaloupe. J Food Prot 2004; 67(4): 721-31.

Evaluating the Efficiency of the Common Method of Lettuce Disinfection in Iran

Maryam Yarahmadi[1], Masoud Yunesian[2], Iraj Mubedi[3], Mohamad Reza Purmand[4], Abbas Shahsavani[5], Bijan Nomanpour[6], Kazem Nadafi[7]

Abstract

Background: Raw vegetables are particularly susceptible to microbial growth and, therefore, use of an effective sanitizer on these food items is of great importance. The objective of this study was to evaluate the efficacy of the vegetable disinfection protocol set forth by Iranian Ministry of Health in reducing populations of total coliform, fecal coliform, and parasites present on lettuce.

Methods: In the present study, we determined the load of total coliform, fecal coliform, and parasites of lettuce obtained from market in Tehran, Iran. The lettuce was sanitized by the protocol of Iranian Ministry of Health. The protocol consists of 3 levels to disinfection of fruits and vegetables. Firstly, all fruits and vegetables should be completely washed in water. Secondly, all parasites should be removed from vegetables by 3 to 5 drops of detergent per liter for approximately 5 minutes. Finally, disinfectants (200 ml/L), especially chlorine, should be applied on vegetables for approximately 5 minutes.

Findings: The average initial levels of total coliform and fecal coliform in the samples were 3.36 $\log_{10}$ cfu/g and 2.31 $\log_{10}$ cfu/g, respectively. Parasites were not detected in any of the samples tested. After washing, the efficiency of total coliform and fecal coliform removal were 78.1% (0.75 $\log_{10}$ cfu/g) and 79.6% (0.67 $\log_{10}$ cfu/g), respectively. The rates increased to 94.8% (1.44 $\log_{10}$ cfu/g) and 98.5% (1.90 $\log_{10}$ cfu/g) after the use of detergents. Chlorine disinfection rose these amounts up to 98.3% (2.18 $\log_{10}$ cfu/g) and 100% (2.31 $\log_{10}$ cfu/g), respectively. By applying the protocol set by the Iranian Ministry of Health, which has been developed for disinfection of vegetables, large parts of microorganisms existing on lettuce had indeed been removed. However, additional studies need to be conducted to determine the effectiveness of chemical treatments in the sanitation of raw vegetable.

Conclusion: Instructions of the Ministry of Health can be used as an effective method to disinfect in vegetables since it removes 98.3% of total coliforms and 100% of fecal coliforms on lettuce.

Keywords: Raw Vegetable, Disinfection, Fecal Coliform, Total Coliform.

1- MSc, Department of Environmental Health Engineering, Center for Environmental Health and Work, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2- Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Professor, Department of Parasitology, School of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4- Associate Professor, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
5- PhD Candidate, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
6- PhD Candidate, Department of Microbiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
7- Associate Professor, Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (Corresponding Author)
Email: knadafi@tums.ac.ir