

بررسی میزان آلودگی شیر خام عرضه شده در منطقه مشهد به باکتری بروسلا و اثر آن در بهداشت عمومی

دکتر محمد محسن زاده^۱، دکتر کیارش قزوینی^۲، دکتر حسن نورانی^۳

چکیده

زمینه و هدف: سلامت شیر و فرآورده های آن به دلیل ارزش بالای غذایی آنها در تغذیه انسان از اهمیت بسزایی برخوردار می باشد. شیرخام آلوده و سایر فرآورده های لبنی تهیه شده از آن، مهمترین راه انتقال بروسلاز به انسان است. هدف از این بررسی تعیین میزان آلودگی شیر در مراکز جمع آوری و عرضه شیر خام در منطقه مشهد و حومه به باکتری بروسلا می باشد.

روش بررسی: در مجموع تعداد ۲۶۵ نمونه شیر خام طی یک دوره شش ماهه از مراکز جمع آوری و عرضه شیر خام در مناطق مختلف مشهد و حومه به طور تصادفی و خوشه ای جمع آوری و مورد آزمایشات حلقه ای شیر (MRT) و سایر آزمونهای میکروبیولوژیکی قرار گرفت.

یافته ها: از کل نمونه های اخذ شده تعداد ۶ نمونه (۲/۲۶٪) از نظر تست MRT مثبت بودند که از این تعداد، آلودگی ۲ نمونه (۰/۷۵٪) به بروسلا آبورتوس مورد تایید قرار گرفت. کلیه نمونه های مورد بررسی از لحاظ بروسلا ملی تنسیس منفی بودند.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج بدست آمده و خطر جدی انتقال باکتری بروسلا به انسان و ایجاد بیماری بروسلاز (تب مالت) عرضه شیرخام و غیر پاستوریزه جهت مصرف و یا تهیه سایر فرآورده های لبنی به عنوان یک خطر بهداشت عمومی از بابت انتقال بیماری به انسان می باشد.

واژه های کلیدی: شیرخام؛ آزمایش حلقه ای شیر؛ بروسلا آبورتوس؛ بروسلا ملی تنسیس

افق دانش: مجله دانشکده علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی گناباد (دوره ۹؛ شماره ۲؛ سال ۱۳۸۲)

۱- (نویسنده مسؤول) استادیار گروه میکروبیولوژی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۳- دامپزشک

مقدمه

شیر و فرآورده های لبنی، به دلیل ارزش غذایی بالا و دارا بودن مواد و عناصر مختلف جایگاه خاصی در تغذیه انسانها دارد. سالیانه چندین هزار نفر در سرتاسر جهان به عفونت ها و مسمومیت های غذایی که از طریق شیر و فرآورده های آن ایجاد می گردند، مبتلا می شوند. در این میان بروسلوز اهمیت ویژه ای دارد. این بیماری که از نقطه نظر بهداشتی و اقتصادی از اهمیت خاصی برخوردار می باشد در حیوانات با تظاهر سقط جنین و در انسان با تظاهرات تب مالت مشخص می گردد. راه های انتقال متعددی برای بروسلوز در انسان شناسایی گردیده است که عمده ترین راه انتقال، راه گوارشی و از طریق مصرف شیر و فرآورده های لبنی آلوده می باشد.

بروسلوز به عنوان بیماری عفونی تب دار شدید و مزمن بین انسان و دام هنوز در بسیاری از کشور های جهان معضل بهداشتی عمده ای محسوب می گردد. در ایران بیماری بروسلوز به صورت هیپراندمیک وجود دارد. از آنجا که عفونت بروسلوز در گاو اغلب بدون تظاهرات بالینی واضح می باشد و غالباً هیچ گونه تغییری در ظاهر شیر ایجاد نمی کند، ممکن است عفونت به صورت دائمی در پستان دامهای آلوده وجود داشته و باعث دفع بروسلا از شیر این حیوانات گردد که خطری جدی برای انسان و بهداشت عمومی تلقی می شود.

علی رغم برنامه های وسیع ریشه کنی و کوشش در کاهش میزان بروز بیماری، هنوز بروسلوز به عنوان مشکلی اساسی در انسان و گاو می باشد. در ایران با وجودیکه تب مالت در انسان و سقط جنین در دامها از زمانهای قبل وجود داشته، معهذاً باکتری عامل بیماری برای اولین بار در سال ۱۳۱۱ شمسی از کشت خون انسان، در سال ۱۳۲۳ از جنین سقط شده گاو، در سال ۱۳۲۹ از شیر بز و میش و در سال ۱۳۵۰ از جنین سقط شده خوک جدا گردید (۱).

بررسی های اپیدمیولوژیکی مناطق آلوده در ایران نشان می دهد که در مناطق روستایی انتقال بیماری هم از طریق مستقیم و هم بطور غیر مستقیم و با مصرف فرآورده های

لبنی آلوده صورت گرفته و در شهر ها عمدتاً بیماری بطور غیر مستقیم به انسان انتقال می یابد (۲). گزارشهای زیادی از محققان مختلف جهان وجود دارد که نشان می دهد شیر خام آلوده و فرآورده های لبنی تهیه شده از آن می تواند به عنوان یکی از منابع اصلی بروسلا ها باشد (۱، ۵، ۹، ۱۲، ۱۳ و ۱۴). با توجه به مطالب مذکور و نیز اهمیت بیماری تب مالت در انسان، بررسی علمی و دقیق موضوع فوق از طریق جستجوی باکتری بروسلا در شیر خام از بابت ارتقای بهداشت عمومی جامعه بسیار حائز اهمیت میباشد.

روش بررسی

در این مطالعه از هر یک مناطق مختلف شهر مشهد و حومه مقدار ۵۰ میلی لیتر شیر خام و در مجموع ۲۶۵ نمونه به طور تصادفی و خوشه ای از مراکز جمع آوری و عرضه آن، در ظروف استریل جمع آوری و پس از ثبت مشخصات کامل بر روی نمونه ها، بلافاصله و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال یافته و آزمایشات لازم روی آنها انجام گردید.

به منظور جستجوی باکتری بروسلا، ابتدا بر روی نمونه های شیر آزمایش حلقه ای شیر MRT انجام گرفت. بدین ترتیب ابتدا نمونه ها کاملاً یکنواخت شده و به مدت یک ساعت در یخچال نگهداری می شدند. سپس بطور استریل ۱ میلی لیتر از آن را در لوله های باریک ریخته و به آن یک قطره (۰/۰۳ میلیلیتر) از آنتی ژن تجارتي MRT رنگ آمیزی شده با همتوکسیلین و تهیه شده به وسیله مؤسسه رازی ایران اضافه می گردید. سپس شیر و آنتی ژن بخوبی مخلوط و بمدت ۱ تا ۳ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری میشدند. نمونه هایی که در آزمایش حلقه ای شیر واکنش مثبت نشان می دادند را جدا کرده و کشت داده

می شدند. بدین ترتیب ۵ میلی لیتر از نمونه های فوق را به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰-۲۵۰۰ سانتریفوژ کرده و از خامه و رسوب پروتئینی حاصله بطور جداگانه در دو لوله آبگوش

کاتالاز ، اکسیداز ، رشد در محیطهای حاوی تیونین و فوشین و آگلوتیناسیون با آنتی سرمهای اختصاصی بروسلا انجام می شد (۱) .

یافته ها

در این بررسی تعداد ۲۶۵ نمونه از هر یک از مناطق مختلف مشهد و حومه در طی یک دوره شش ماهه از مراکز جمع آوری و عرضه شیر جمع آوری گردید . از کل نمونه های اخذ شده تعداد ۶ نمونه (۲/۲۶ درصد) از نظر آزمون حلقه ای شیر (MRT) مثبت بودند که از این تعداد آلودگی ۲ نمونه (۰/۷۵ درصد) به بروسلا با روشهای کشت آزمایشگاهی مورد تایید قرار گرفت . در این مطالعه هردو نمونه مثبت تایید شده به بروسلا آبورتوس آلوده بودند و از هیچیک از نمونه ها بروسلا ملی تنسیس جدا نگردید (جدول ۱) .

مغذی بروسلا حاوی آنتی بیوتیک و مکمل انتخابی بروسلا کشت میگردید.
1) Milk Ring Test
یک لوله از خامه و رسوب تلقیح شده در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد بدون CO₂ و دیگری در همان دما و تحت شرایط ۱۰ درصد CO₂ به مدت ۵ روز نگهداری می شدند . بعد از این مدت نمونه ها بر روی محیط کشت بروسلا آگار حاوی آنتی بیوتیک و مکمل انتخابی بروسلا کشت و به مدت ۵ روز در شرایط مشابه ذکر شده نگهداری میشدند . بعد از اتمام مدت انکوباسیون محیطها از لحاظ رشد یا عدم رشد باکتری بروسلا مورد آزمایش قرار می گرفتند . پرگنه های بروسلا روی محیط کشت به صورت شفاف ، محدب ، یکنواخت با لبه های کاملاً صاف و به قطر ۱-۲ میلی متر مشخص می شدند . بررسی میکروسکوپی پرگنه ها با روش رنگ آمیزی گرم صورت میگرفت و نهایتاً تفریق گونه های مختلف با استفاده از آزمایشاتی نظیر تولید گاز H₂S ، اوره آز ،

جدول ۱: میزان آلودگی شیر خام عرضه شده در منطقه مشهد و حومه به باکتری بروسلا

آلودگی به B.melitensis		آلودگی به B.abortus		میزان کل آلودگی		نتیجه آزمایش MRT*			تعداد کل نمونه
						+++	++	+	
درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	تعداد	تعداد	تعداد	
-	-	۰/۷۵	۲	۰/۷۵	۲	۲	۱	۳	۲۶۵
-	-	۰/۷۵	۲	۰/۷۵	۲	۶ (۲/۲۶ درصد)			جمع کل

++ = لایه خامه آبی رنگ، شیر به رنگ سفید متمایل به آبی

* ++ = لایه خامه ظریف آبی رنگ، شیر به رنگ آبی روشن
+++ = لایه خامه ضخیم و کاملاً آبی رنگ، شیر به رنگ سفید

دفع شوند . از آنجا که پراکندگی بروسلا در مقایسه با عفونت های دیگر حیوانات و انسان به علت دفع بروسلا از طرق مختلف و حامل باقی ماندن حیوانات آلوده برای دوره های طولانی بسیار بیشتر است . هر عاملی که باعث انتقال بیماری گردد از اهمیت بسیاری برخوردار است ، که در این میان آلودگی شیر به بروسلا اهمیت ویژه ای دارد . لذا باید در زمینه راههای گسترش و کنترل این بیماری بررسی کاملی صورت پذیرد که تعیین میزان آلودگی شیر خام و سایر فرآورده های لبنی از اولویت برخوردار است .

بحث و نتیجه گیری

از آنجایی که مصرف شیر خام و پنیر تازه و تهیه شده از شیر غیر پاستوریزه در بین جوامع شهری و روستایی متداول بوده و روزانه توسط دهها مشتری از فروشگاههای لبنیاتی خریداری می شود، می تواند در صورت آلودگی به باکتری بروسلا در انتقال بیماری تب مالت به انسان نقش داشته باشد. تمام گونه های بروسلا که از نظر بیماری زایی در انسان حائز اهمیت هستند ، می توانند از طریق شیر حیوانات آلوده

مصرف شیر خام آلوده یا شیری که حرارت کافی پاستوریزاسیون را ندیده باشد و یا استفاده از آن در تهیه سایر فرآورده های لبنی میتواند به عنوان یک خطر جدی در انتقال بروسلا به انسان و به خطر انداختن سلامت جامعه باشد .

در مطالعه حاضر میزان آلودگی نمونه های مورد آزمایش به باکتری بروسلا در مجموع ۰/۷۵ درصد تعیین گردید که در مقایسه با بعضی از مطالعات انجام شده کمتر می باشد . از طرفی همه سویه های جدا شده از نوع بروسلا آبورتوس بود که می تواند دلیلی بر عرضه بیشتر شیر گاو نسبت به شیر گوسفند و بز بصورت خام باشد .

مطالعات انجام شده بر روی بیماران مبتلا به تب مالت نیز انتقال بیماری را از طریق مصرف مواد لبنی آلوده تایید می نماید . Bryan (1983) در یک بررسی اپیدمیولوژیکی طی سالهای ۱۹۷۱ تا ۱۹۷۸ در آمریکا نشان داد که از مجموع ۱۹۳۶ نفر مبتلا به تب مالت، ۲۰۸ نفر (۱۰/۷ درصد) به علت مصرف لبنیات آلوده به ویژه پنیر به این بیماری مبتلا شدند (۶) . Samar و همکاران (۱۹۹۶) نیز طی مطالعه ای که بر روی ۶۵ نفر با علائم بالینی بروسلاز در ایران انجام دادند ، ابتلاء ۶۰ نفر را از طریق آزمایشگاهی تایید نمودند . در این مطالعه مصرف فرآورده های شیری غیر پاستوریزه و تماس با حیوانات آلوده از راههای عمده انتقال بروسلا به انسان گزارش گردید (۱۴) . با توجه به نتایج بدست آمده گرچه میزان آلودگی شیر به باکتری بروسلا در منطقه مشهد پایین می باشد ولی با توجه به اهمیت بیماری حتی در این وضعیت نیز باید حداکثر تلاش جهت پیشگیری به عمل آید . در کشور های مختلف تلاشهای زیادی جهت ریشه کنی بیماری در حال انجام می باشد . براساس سیاستهای بسیاری از کشور ها بایستی اقدامات واکسیناسیون توام با آزمایش و خارج کردن دامهای آلوده از گله تا زمانی که بیماری به سطح پایینی (حدود ۰/۲٪) برسد ادامه یابد . در این راستا در منطقه مشهد به خصوص با توجه به اینکه در برخی مناطق ، شیر تولیدی به صورت خرده فروشی عرضه می گردد ضروری

طبق مطالعات انجام شده توسط محققان مختلف ، تقریباً از تمامی فرآورده های شیری تهیه شده از شیر پاستوریزه نشده باکتری بروسلا جدا شده است (۵،۹، ۱۲ و ۱۳) . در بررسی انجام شده توسط Hadad و همکاران (۱۹۹۷) در کشور عراق ، ۸۵ نمونه پنیر تازه مورد آزمایش قرار گرفت که از ۸ نمونه باکتری بروسلا آبورتوس جدا شد (۹) . صباغیان و ندیم (۱۹۷۴) طی یک مطالعه در شهر اصفهان و حومه از تعداد ۶۷۷ نمونه پنیر تازه مورد آزمایش ، ۵۶ نمونه (۸/۳٪) واز ۱۶۰ نمونه خامه تنها یک نمونه (۰/۶ درصد) را به بروسلا آلوده گزارش کردند (۱۳) . در بررسی انجام شده به وسیله Sancak و همکاران (۱۹۹۳) در کشور ترکیه از تعداد ۴۰ نمونه پنیر وان هربی (Van Herby) مورد آزمایش تعداد ۷ نمونه به باکتری بروسلا آلوده بودند (۱۵) . Garin-Bastuji و Verger (1994) در یک مطالعه تجربی نشان دادند که *Brucella abortus* میتواند حتی تا یک ماه در بستنی زنده باقی بماند (۸) . Ilhan و همکاران (۱۹۹۹) طی مطالعه ای بر روی ۵۰ نمونه شیر خام گاو نشان دادند که تعداد ۴ نمونه (۸٪) به باکتری بروسلا آبورتوس آلوده بودند (۱۰) . مطالعات انجام شده بوسیله Akbulut و Kavvas (1993) نیز انتقال بروسلا از طریق شیر خام و فرآورده های آن در فصل تابستان را نسبت به سایر فصول بیشتر نشان داد (۳) . در مطالعه دیگری که Mert (1984) روی ۱۵۰ نمونه پنیر سفید ترکی تهیه شده از شیر خام در آنکارا انجام داد ، نشان داد که ۱۹/۳ درصد نمونه ها به انواع باکتری بروسلا آلوده بودند که در ۹۰ درصد موارد *B.melitensis* و در ۱۰ درصد موارد *B.abortus* جدا گردید (۱۱) .

بالا بودن نسبی میزان آلودگی مواد لبنی در مناطق مورد مطالعه دلالت بر شیوع نسبتاً بالای این باکتری در جمعیت دامی آن مناطق دارد . در کشورها و مناطقی که مصرف شیر و فرآورده های لبنی به صورت خام و غیر پاستوریزه متداول است، همه ساله درصد قابل توجهی از مردم به علت مصرف این قبیل مواد غذایی به تب مالت دچار میشوند . بنابراین

است در کلیه مراکز جمع آوری و یا عرضه شیر، به طور مرتب نمونه برداری انجام و آزمایش حلقه ای شیر از نظر بروسلاز انجام گردد و در صورت مثبت بودن نتیجه دامهای مربوطه بیشتر مورد بررسی قرار گیرند. بنابراین بایستی آموزش لازم به دامداران در رابطه با رعایت اصول بهداشتی و واکسیناسیون تمامی دامهای واجد شرایط و مصرف کنندگان در خصوص مصرف فرآورده های لبنی پاستوریزه داده شود. لذا پیشنهاد میشود که به منظور حفظ سلامت مردم و کنترل بیماری در سطح جامعه انسانی، علاوه بر افزایش سطح آگاهی مردم و استفاده از شیر پاستوریزه شده مناسب در تهیه فرآورده های لبنی بایستی استانداردهای بهداشتی نیز به طور دقیق رعایت گردد.

منابع:

- ۱- ذوقی، اسماعیل. میکروبیولوژی بروسلاها. چاپ اول، تهران: رودکی، ۱۳۶۹: ۱۷.
- ۲- ذوقی، اسماعیل. تحقیقاتی در باره بروسلاز. چاپ اول، تهران: رودکی، ۱۳۶۹: ۱۱.
- 3- Akbulut N.,Kavas G. Izmir ilinde satılan sokak sutlerinin mikrobiyolojik ozellikleri uzerinde bir arastirma. Ege universitesi Zikaat Fakultesi Dergisi, 1993; 30(1-2):89-96.
- 4- Altekruze S.F., Timbo B.B., Mowbray J.C. Cheese associated outbreaks of human illness in the United States, 1973 to 1992. J Food Protec. 1998; 61(10): 1405 - 7.
- 5- Anonymous. Public health fact sheet - Brucellosis. 2002b; Available at <http://www.state.ma.us/dph/cdc/factsheets/brucellosis.htm>.
- 6- Bryan, F.L. Epidemiology of milkborne disease. J Food Protec. 1983; 46(7): 642.
- 7- FAO/WHO. Joint expert committee on milk hygiene, 3rd ed., 29 june-7 july, 1970; Geneva, Switzerland.
- 8- Garin-Bastugi B. and Verger J.M. Brucella abortus and Brucella melitensis. The significance of pathogenic microorganism in fresh milk. International Dairy Federation, 1994,(9405).
- 9- Hadad J.J., Hamed D.A., Alaboudi A.R. Isolation of Brucella strains from dairy products in Ninevah Province, Iraq. Iraqi J. of Vet. Sci., 1997; 10(1): 39-44.
- 10- Ilhan N., Keskin O., Sareyyupoglu B. Bir sigircilik isletmesinde Brucella salgini. Ankara universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 1999; 46(2-3): 257-262.
- 11- Mert A. Ankara yoresinde pazarlanan taze beyaz peynirlerde rucella Larin varligi uzerinde arastirmalar. Doktora tezi, Ankara Universitesi. Saglik Bilimleri Enstitusu, 1984.
- 12- Sabbaghian H. Fresh white cheese as a source of Brucella infection. Public Health London, 1975; 89:115.
- 13- Sabbaghian H, Nadim A. Epidemiology of human brucellosis in Isfahan, Iran. J. of Hygiene, 1974; 73(2): 221-228.
- 14- Samar G., Vahdani P., Aminian N. A survey on human brucellosis in Iran. Arch. Razi Inst., 1996; 46/47: 17-26.
- 15- Sancak Y.C., Boynukara B, Yardimeci H. The occurrence and survival of Brucella spp in Van Herby cheese. Veterinarium, 1993; 4(1): 1-3.

The Incidence of Brucella spp. in Raw Milk Used in Mashhad and Suberbs and Their Public Health Implication

Mohsenzadeh M., Ghazvini k., Nurani H.,

Abstract

Background and Aim : Health of the milk and dairy products are highly important for the consumers. Raw contaminated milk and dairy products are one of the most important means of transmission of brucellosis to consumers. The purpose of this study was to evaluate the intensity of contamination of the raw milk to the Brucella spp. in the raw milk collection centers and distributed area in Mashhad and suberbs.

Materials and Methods: Totally 265 raw milk samples were collected in a six month period from these centers and examined by Milk Ring Test (MRT) and other microbiological tests.

Results: six samples (2.26%) were positive by MRT. From two of these (0.75%) Brucella abortus were isolated and confirmed by microbiological culture and biochemical tests. No Brucella melitenosis were isolated from the samples.

Conclusion: Results of the experiment show the seriousness of the Brucellosis transmission to human consumers with raw milk and dairy products.

Key Words : Rawmilk , MRT , Brucella abortus , Brucella Melitenosis.