
شمارش تعداد کل ارگانیسم های مزوفیل به صورت گسترده ای به عنوان شاخص کیفیت میکروبی ماده غذایی مورد استفاده قرار می گیرد . (البته بجز مواد غذایی که به طور معمول در طول فرآیند آماده سازی حاوی تعداد زیادی باکتری می باشد مثل محصولات تخمیری شیری و گوشتی)

در این فصل استفاده از میکروارگانیسم ها و متابولیت های آنها به عنوان شاخص های کیفی و استفاده از کلي فرم ها و انتروکوکسی ها به عنوان شاخص های ایمنی بررسی می شود . نمونه هایی از فرآورده های غذایی و شاخص های کیفی احتمالی آنها در جدول 11 - 1 ارائه شده است .

جدول 11 – 1 برخي از ارگانیسم هایی که با کیفیت فرآورده ارتباط دارند .

فرآورده	ارگانیسم
آب سیب طبیعی تازه	گونه های استوباکتر
خمیر نان	گونه های باسیلوس
میوه های کنسرو شده	گونه های بایسوکلامیس
پنیرهای سخت	گونه های کلستریدیوم
سبزی های کنسرو شده	اسپورهای عامل فساد ترش
فاضلاب کارخانه های کنسرو میوه	گونه های ژئوتریشوم
آبجو , شراب	باکتری های اسید لاکتیک
شیر خام (سرد سازی شده)	لاکتوکوکوس لاکتیس
شکر	لوکونستوک مزنتروئیدس
آبجو	پکتیناتوس سرویزیفیلوس
کره	سودومناس پوترفاسینس
کنسانتره آب میوه	مخمرها
مایونز , سس سالاد	زیگوساکارومایسس بایلی

جدول 2-11 برخي از متابوليت هاي ميكروبي كه با كيفيت ماده غذايي ارتباط دارند .

متابوليت	فرآورده غذايي
كاداورين و پوترسين	گوشت گاو بسته بندي شده در خلاء
دي استيل	كنسانتره آب ميوه منجمد (آب پرتقال منجمد)
اتانول	آب سيب , ماهي آزاد كنسرو شده
هيستامين	كنسرو ماهي تن
اسيد لاکتيك	كنسرو سبزي ها
تري متيل آمين (TMA)	ماهي
كل بازهاي فرار (TVB) , كل نيتروژن فرار (TVN)	فرآورده هاي دريائي
اسيدهاي چرب فرار	كره , خامه

1-2- ویژگی های يك ميكروارگانيسم نشانگر

1. به آساني قابل شناسائي باشد.
2. نیازهای رشدی آن مشابه با سایر میکرب های غذا باشد.
3. تا زمانی که میکرب های پاتوژن در غذا هستند وجود داشته باشد .
4. باید در تعداد نسبتاً بالا باشد تا تعیین آن به سادگی صورت پذیرد .
5. باید الگوی زنده ماندن آن مشابه پاتوژنی باشد که این ارگانیسم به عنوان شاخص آن مورد استفاده قرار می گیرد .

2-2- برخي ارگانیسم هاي شاخص در مواد غذائي

در تاريخچه استفاده از شاخص هاي ايمني مواد غذائي فرض مي شود كه عوامل بيماريزا منشاء روده اي دارند و ناشي از آلودگي هاي مستقيم يا غير مستقيم مدفوعي مي باشند . اولين شاخص آلودگي مدفوعي , اشریشيا كلي بوده است .

میکروارگانیسم هایی که به عنوان شاخص مدفوعي مدنظر هستند عبارتند از : كلي فرم ها , انتروکوکوس ها ، بیفیدوباکتری ها و كلي فاژها .

- در آب و شیر ***E.coli*** شاخص آلودگي مدفوعي است .

- محققین به این نتیجه رسیدند که عوامل بیماریزای مختلف ممکن است پس از نابودی اشریشیا کلی در مواد غذایی که منجمد یا سرد شده اند و یا تحت تاثیر تشعشع قرار گرفته اند , زنده بمانند .
- از کلی فرم ها نمی توان به عنوان شاخص برای همه مواد غذایی به خصوص غذاهای منجمد استفاده کرد چرا که تعداد کلی فرم ها در غذاهای یخ زده به سرعت کاهش یافته و شناسایی آنها مشکل می شود . برای این منظور از انتروکوکسی ها نظیر استرپتوکوکوس فکالیس ***Str.faecalis*** که نظیر کلی فرم ها منشاء مدفوعی دارد استفاده می شود .

- باکتریوفازها

باکتریوفازها هم می توانند مورد استفاده باشند . برای تکثیر ، فاز به میزبان نیاز دارد . پس اگر **Coliphase** زیاد باشد یعنی **Coliform** زیاد بوده و برای تشخیص فاز 24 ساعت زمان نیاز است .

بیفیدوباکتری ها

بیفیدوباکتریوم ، باکتری گرم مثبت بی هوازی ، کاتالاز منفی ، میله ای شکل و غیر متحرکند . بهترین رشد آنها در pH بین 5-8 صورت می گیرد و محصولات عمده متابولیسم کربوهیدرات در آنها اسید لاکتیک و اسید استیک است . بعضی از بیفیدوباکتری ها در تولید شیرهای تخمیری ، ماست و ... به کار می روند .

میزان بیفیدوباکتری ها در هر گرم از مدفوع انسان (10^8 - 10^9) است که نسبت به اشریشیا کلی (10^6 - 10^7) بیشتر است . این باکتری ها به عنوان شاخص های آلودگی مدفوعی در آب های تازه نواحی گرمسیری پیشنهاد شده اند .

باسیلوس کوآگولانس شاخص آلودگی در رب گوجه فرنگی است (مقاومت حرارتی نسبتاً بالایی دارد) .
شاخص کیفیت و ایمنی مواد غذایی اشعه دیده, باکتری میکروکوکوس رادیودورانس (دینوکوکوس رادیودورانس) می باشد .

برای تعیین پاستوریزاسیون صحیح شیر , باید تست فسفاتاز قلیایی منفی و تست پراکسیداز مثبت باشد .

برای تعیین پاستوریزاسیون صحیح تخم مرغ , باید تست آمیلاز منفی باشد .

شاخص کیفیت و ایمنی مواد غذایی دریایی , ویبریو پاراهمولیتیکوس می باشد .

شاخص کیفیت و ایمنی مواد غذایی منجمد شده , استرپتوکوکوس فکالیز می باشد .

مسمومیت های غذایی به دو دسته تقسیم می شوند :

1-Food Intoxication

مسمومیت غذایی

آن دسته از ناراحتی های گوارشی است که ماده غذایی به وسیله سموم مترشحه از میکرب ها (Exotoxin) آلوده شده و زنده و مرده بودن میکرب ها در غذا اهمیتی ندارد . سم حاصل از میکروارگانیسم در غذا باعث مسمومیت است مثلاً سم حاصل از استاف اورئوس در بستنی , یا سم حاصل از کلستریدیوم بوتولینم (که این توکسین توسط یاخته رویشی تولید می گردد) .

2- Food Infection (Food borne Infection)

عفونت های غذایی

غذا حاوی میکرب است , یا شرایط انتقال میکرب را فراهم می کند . یعنی غذا عاملی برای رشد و تکثیر میکروارگانیسم (یا تنها انتقال میکروارگانیسم) بوده و خود میکروارگانیسم با خوردن غذا وارد بدن می شود

عفونت هاي غذائي دو نوع هستند :

1- عفونت غذايي : ميكرب موجود در غذا، بعد از مصرف در سلول هاي مخاطي معده و روده نفوذ کرده و در آن جا شروع به تكثير مي كند . با افزايش تعداد اين ميكروارگانيسم ها ، فلور ميكربي روده ، تغيير مي كند . و در نتيجه ناراحتي گوارشي پيدا مي شود . مثل سالمونلا .

2- مسموميت عفوني : ميكرب هاي موجود در غذا ، پس از مصرف ، در روده يا پوشش مخاطي روده شروع به تكثير نموده و پس از آن توليد سم (انتروتوكسين) مي نمايند . مثل باسيلوس سرئوس و كلستریدیوم پرفرينژنس . در هر دو مورد بايد تعداد زيادي سلول زنده ميكروارگانيسم وارد بدن شود و بعد سم ميكروارگانيسم مشكل ايجاد مي كند . (نه خود ميكروارگانيسم) .

3-1- بوتولیسم

بوتولیسم در نتیجه مصرف نوعی اگزوتوکسین محلول بسیار سمی ایجاد می گردد که توسط ارگانیسم در حال رشد در ماده غذایی تولید می شود .

این توکسین خارج سلولی که یک نویروتوکسین Neurotoxin است, از نظر ترکیب شیمیایی یک ماده پروتئینی است . کم تر از یک میکروگرم آن برای مرگ یک انسان 70 کیلوئی کفایت می کند .

اکولوژی رشد کلستریدیوم بوتولینوم

مشخص شده که رشد در pH معادل 4/5 و یا کم تر از آن اتفاق نمی افتد پس مواد غذایی با pH کمتر از حد مذکور نیاز به فرآیند حرارتی ملایم تري دارند .

1 - از آنجا که سموم بوتولینال در بعضي از مواد غذایی خیلی اسیدی که در خانه کنسرو شده اند وجود دارند، به نظر می رسد علت تولید سم بوتولینال در این غذاها آلودگی آنها به قارچ بوده است. این غذاها اگر دچار آلودگی قارچی شوند، ممکن است pH در زیر رشته کپک افزایش یابد و مناسب برای رشد و تولید سم کلستریدیوم بوتولینوم شود .

2 - کلستریدیوم بوتولینوم در حضور مخمرها در pH معادل 4 رشد کرده و سم تولید می نماید. احتمالاً مخمرها فاکتورهای رشدی لازم برای رشد کلستریدیوم ها در pH پایین را ایجاد می کنند .

3 - اسید لاکتیک باکتری ها از يك طرف به علت کاهش پتانسیل اکسیداسیون- احیاء , به رشد کلستریدیوم

بوتولینوم کمک می کنند , اما از طرف دیگر از طریق آنتاگونیسم لاکتیکی , از رشد آن جلوگیری می کنند .

ویژگی های تیپ های مختلف کلستریدیوم بوتولینوم

- نیازهای تغذیه ای این ارگانیسم ها پیچیده بوده و پر توقع هستند.
- از نظر آنتی ژنی 7 توکسین مختلف تشخیص داده شده است . بنابراین تیپ های مختلف کلستریدیوم بوتولینوم عبارت از : A , B , E , F ,G می باشد .
- اغلب موارد بوتولیسم در انسان به وسیله انواع A , B , E , F ,G ایجاد می گردند که نوع A , B خطرناک تر از بقیه بوده و A خطرناک ترین می باشد . تیپ E منشاء دریائی دارد .
- توکسین های نوع C , D معمولا موجب ایجاد بیماری بوتولیسم در نشخوارکنندگان و پرندگان و ماکیان می گردند .

- برخي از انواع اين باكتري پروتئوليتيك Proteolytic و عده اي فاقد اين خاصيت هستند . انواع پروتئوليتيك شامل تپ A و G و بعضي تپ هاي F و B و انواع غير پروتئوليتيك شامل تپ E و بعضي تپ هاي F و B مي باشند .
- حداقل دما براي تپ هاي پروتئوليتيك 10°C و براي تپ هاي غير پروتئوليتيك $3/3^{\circ}\text{C}$ است .
- سويه هاي پروتئوليتيك بر خلاف سويه هاي غير پروتئوليتيك , كازئين را هضم كرده و H_2S توليد مي كنند و در شرايط بي هوازي پروتئين ها را تجزيه و آمين ها و تركيبات بدبوئي (مثل NH_3 و SH_2) توليد مي كنند . علائم ارگانولپتيك فساد در مواد غذايي شديد مي باشد.

- انواع غير پروتئوليتيك نسبت به انواع پروتئوليتيك تمايل بيشتري به تخمير كربوهيدرات ها دارند. غير پروتئوليتيك ها مانوز را تخمير مي نمايند در حالي كه پروتئوليتيك ها اين عمل را انجام نمي دهند .
- انواع غير پروتئوليتيك, داراي فعاليت ساكاروليتيكي هستند و قند گلوکز را با توليد گاز تخمير مي كند .
- ضمناً علائم ارگانولپتيك فساد در مواد غذائي به شدت باكتري هاي گروه پروتئوليتيك نمي باشد .

ایجاد مسمومیت

برای بروز بوتولیسم ، اسپورها یا سلول های رویشی باید در محیط بوده و وارد غذا شوند . سلول و اسپور زنده آن، بعد از فرآیند ماده غذایی، زنده بماند و غذا دارای محیطی باشد که مساعد برای جوانه زدن اسپور و رشد فرم های رویشی , شده و بدین ترتیب سم تولید شود . سپس غذا به صورت خام یا با حرارت ناکافی مصرف شود .

برای جوانه زدن, اسپورهای کلستریدیوم بوتولینوم احتیاج به شرایط بی هوازی مطلق دارند . سم کلستریدیوم بوتولینوم توسط سلول رویشی ایجاد می شود (مانند سم ناشی از باسیلوس سرئوس) .

- سم خورده شده به همراه مواد غذايي, طي فرآيند گوارش دست نخورده باقي مانده, در قسمت فوقاني روده كوچك جذب شده و وارد جريان خون مي شود . اين سم در محل اتصال عصب – عضله به انتهاي عصب متصل شده و آزاد شدن استيل كولين كه عامل انتقال تحريك عصبي مي باشد را مختل مي نمايد .
- سموم بوتولينال بر خلاف انتروتوكسين هاي استافيلوكوكسي , حساس به حرارت مي باشند و بنابراين يكي از راه هاي مهم جلوگیری از اين مسموميت، حرارت دادن ماده غذائي بالاخص مواد غذائي كنسرو شده قبل از مصرف است .
- غالباً مواد غذائي كه مي توانند محيط مناسبی برای رشد اين باكتري باشند، كنسروهاي خانگي و فرآورده هاي ماهي هستند .

علائم مسمومیت عبارتند از :

حالت تهوع - فلج بینائی شامل اشکال در تطابق (فلج عضلات داخلی چشم) و دو بینی (فلج عضلات خارجی چشم) خشک شدن دهان در نتیجه عدم ترشح بزاق (فلج اعصاب پارا سمپاتیک) - اشکال در بلع و صحبت کردن کردن و لکنت زبان - یبوست شدید، غالباً بند آمدن ادرار، دردهای شکمی و فلج عضلات شکم - خستگی و ضعف شدید، دمای بدن پایین تر از حد طبیعی است . و بالاخره فلج عضلات تنفسی و خفگی.

Infant Botolism اطفال بوتولیسم

بوتولیسم اطفال در اثر خوردن اسپور کلستریدیوم تولید می شود . درعسل و شیر و شربت ذرت ممکن است اسپور این باکتری وجود داشته باشد . و در شرایط pH معده بچه ها که هنوز اسیدی نیست رشد و تولید سم می کند .

بوتولیسم کودکان نسبت به سندرم کلاسیک متفاوت است . زیرا در بوتولیسم کودکان ایجاد بیماری در نتیجه تشکیل کلنی توسط کلستریدیوم بوتولینوم در روده کودکان و تولید سم به صورت insitu (در بدن موجود زنده) است .

3-2- مسمومیت غذائی ناشی از کلستریدیوم پرفرینژنس

گونه های این ارگانیسم بر اساس تولید چهار نوع اگزوتوکسین عمده آلفا، بتا، اپسیلون و لوتا و هشت نوع فرعی، در پنج گروه تقسیم بندی می شوند که آنها را از A تا E نامگذاری می نمایند .

سویه های عامل مسمومیت غذایی همانند سویه های ایجاد کننده قانقاریای گازی به نوع A تعلق دارند.

شرایط ایجاد مسمومیت غذایی کلستریدیوم پرفرینجنز :

1- غذای گوشتی حاوی اسپوره‌های کلستریدیوم پرفرینجنز پخته شود به نحوی که اسپورها طی پخت زنده مانده و خود را در یک محیط مناسب ، که در آن اغلب فلور رقابتی حذف شده است تنها یابند . و در ضمن این حرارت پخت کمک به جوانه زنی اسپورها می کند .

2- بعد از پخت، محصول در معرض دما و زمان نامناسب، نظیر سردکردن آهسته یا نگه داری طولانی در دمای اتاق قرار می گیرد. این مسئله به اسپورها اجازه جوانه زنی و تقسیم سریع را می دهد و موجب ایجاد جمعیت بالایی از سلول های رویشی می شود .

3- محصول به صورت سرد یا پس از حرارت دهی مجددی که جهت نابودی سلول های رویشی ناکافی است مصرف می شود . تعدادی از سلول های خورده شده در معده زنده مانده و وارد روده کوچک می شود و در آن جا اسپور ایجاد کرده و انتروتوکسین تولید می نمایند. انتروتوکسین هم زمان با اسپوزائی (تبدیل فرم رویشی به اسپور، تولید اسپور) سلول ها تولید می شود. و زمان تولید آن، مراحل انتهائی اسپوزائی می باشد .

- سمیت وقتی ظاهر می شود که انتروتوکسین کلستریدیوم پرفرینجنس به يك یا چند گیرنده پروتئینی سلول های بافت پوششی دستگاه گوارش متصل گردد .
- این سم برای سلول های بافت پوششی دستگاه گوارش مضر بوده و به نوك پرزهای سلول بافت پوششی آسیب می رساند . و موجب معکوس شدن جریان Na^+ , Cl^- و آب در طول اپی تلیوم از حالت جذب به دفع می شود . (این سم شبیه توکسین کلرا عمل می نماید)

ارتباط با مواد غذائي

- غالباً مواد گوشتي در کشتارگاه ها به دليل عدم رعايت اصول بهداشتي مستقيماً با مدفوع تماس حاصل نموده و يا اين که به وسيله کارگران در حين عمليات و آماده سازي لاشه و يا بوسيله گرد و غبار به اين ميكرب آلوده مي شوند.
- مواد غذائي آلوده به کلستریدیوم پرفرینجنس اغلب محصولات گوشتي نظير خورش ها، قطعات گوشت سرخ شده و . . . هستند که يك روز پس از تهيه مصرف مي شوند . اين بيماري اغلب در کافه ها مشاهده مي شود . علت آلودگي اغلب خوراك هاي گوشتي، تا حدي به دليل سرعت کمتر سرد شدن اين دسته از مواد غذائي و هم چنين وجود تعداد زياد تري از سويه هاي مسموميت زا در گوشت مي باشد . حرارت آماده سازي اين دسته از مواد غذائي براي تخريب حرارتي اندوسپورها کافي نيست (البته فرم رويشي از بين مي رود) .

برای پیش گیری ، درجه حرارت پخت باید به حدی باشد که دمای بخش داخلی گوشت حداقل به 75°C و ترجیحاً به بیش از آن برسد . تمام اجزاء ، اعم از تکه های ریز گوشت معلق در شیرابه تا بزرگ ترین قطعات گوشت و خود شیرابه ، باید بلافاصله قبل از مصرف تحت فرآیند حرارتی با دمای 75°C یا بیش تر قرار گیرند . تا هم رویشی ها از بین بروند و هم اگر انتروتوکسینی تولید شده است از بین برود .

عامل بیماری مرگ ناگهانی کودکان SID : Sudden Infant death syndrome انتروتوکسین کلستریدیوم پرفرینژنس معرفی شده است .

علائم مسمومیت

انتروتوکسین باعث ترشح مقادیر زیادی چربی، سدیم و کلر در روده می گردد و در نتیجه اسهال بوجود می آید .

علائم عبارتند از : دردهای شدید شکمی و اسهال شدید . علایم بیماری پس از 8 – 12 ساعت بعد از مصرف غذای آلوده ظاهر می شوند . این بیماری به جز در افراد مسن و ضعیف دوره کوتاهی معادل یک روز و یا کمتر دارد . مسمومیت غذایی کلستریدیوم پرفرینجنز معمولاً یک بیماری خود بهبود یابنده و غیر تب زا است .

تشخیص مسمومیت غذایی کلستریدیوم پرفرینجنز

– علائم بیماری

– تعداد بالای اسپورهای کلستریدیوم پرفرینجنز در مدفوع بیماران (بیشتر از 10^6 در هر