

## بررسی کیفیت میکروبی (اشریشیا کلی و سالمونلا انتریتیدیس) بطریهای آب معدنی طبیعی در شهر تهران در سال ۱۳۹۴

فاطمه یحیی زاده<sup>۱</sup>، محمد دخیلی<sup>۲\*</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

۲. دانشیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۱۵)

### چکیده

**زمینه و هدف:** امروزه استفاده از آب‌های بطری شده به دلیل اطمینان عمومی به کیفیت آن‌ها، امکان حمل و نقل آسان و در دسترس بودن، در اکثر اماکن و مراکز خرید با قیمت مناسب، مقبولیت بیشتری یافته است. هدف مطالعه حاضر بررسی کیفیت میکروبی آب‌های بطری شده موجود در سطح شهر تهران بود. این پژوهش، مطالعه توصیفی می‌باشد که مراحل انجام آن به صورت انتخابی از بطری‌های آب معدنی موجود در سطح شهر تهران انجام شد. اشریشیا کلی به عنوان شاخص اصلی آلودگی آب و مواد غذایی شناخته شده است علت این امر آن است که این باکتری به تعداد فراوان در مدفوع انسان یافت می‌شود و حضور آن در آب نوشیدنی‌ها و غذا به عنوان خطری برای سلامتی مصرف کنندگان می‌باشد. جنس سالمونلا نیز یکی از ۲۸ جنس و به نوعی مهم ترین جنس خانواده انتروباکتریاسه محسوب می‌شود. تمامی سروتیپ‌های این باکتری بالقوه بیماری زا بوده و طیف میزبانی وسیعی را در بر می‌گیرد.

**روش بررسی:** در این پژوهش به منظور بررسی آلودگی یا عدم آلودگی آب‌های معدنی سطح شهر تهران از بین برندهای معتبر و پرمصرف ۱۰ برند بر اساس روش‌های ارایه شده در استانداردهای ملی ایران مورد بررسی قرار گرفت. از هر برند ۱۰ نمونه به صورت تصادفی با تاریخ‌های تولید مختلف انتخاب شد (۱۰۰ نمونه). نمونه‌ها در آزمایشگاه ابتدا در محیط مکانیکی براث به روش تخمیر چند لوله ای (۹ لوله ای) مورد آزمایش قرار گرفت. سپس در محیط لاکتوز براث و روش mpn (۹ لوله ای) و در نهایت برای بررسی وجود یا عدم وجود سالمونلا انتریتیدیس به روش سنتی (۳ مرحله ای) مورد آزمایش قرار گرفت.

**یافته‌ها:** مشاهدات و نتایج این تحقیق نشان داد که ۱۰۰٪ نمونه‌های مورد آزمایش از نظر آلودگی میکروبی صفر بوده.

**نتیجه گیری:** کیفیت میکروبی در تمام نمونه‌های مورد آزمایش سطح شهر تهران، مطابق با استاندارد ملی ایران و سازمان بهداشت جهانی بوده و از این نظر خطری سلامت عمومی را تهدید نکرده و برای مصرف مناسب می‌باشد.

### کلیدواژگان

آب آشامیدنی، اشریشیا کلی، تهران، سالمونلا انتریتیدیس، کیفیت میکروبی.



## مقدمه

خطری برای آلودگی شدید آب است و باید سریعاً مورد بررسی و تحقیق قرار گیرد. بدین منظور پژوهشی با هدف شناسایی و جداسازی باکتری ایکولای<sup>۱</sup> به عنوان شاخص اصلی آلودگی آب‌های معدنی صورت گرفت. چراکه حضور آن به عنوان خطری برای سلامتی مصرف کنندگان می باشد. آلودگی آب‌های بطری شده می‌تواند از طریق آلوده بودن اولیه آب و یا نشت از طریق موادی که در آن نگهداری می‌شوند یا حتی در طی فرآیند صورت گیرد. اگر میکروارگانیسم‌های طبیعی (اکروموباکتر<sup>۲</sup>، فلاووباکتریوم<sup>۳</sup>، آکالیژنز<sup>۴</sup>، سودوموناس<sup>۵</sup>) در طول پروسه تهیه و بطری کردن آب حذف نشوند، در مدت یک تا سه هفته پس از بطری کردن، ممکن است تکثیر باکتریایی اتفاق بیافتد و تعداد باکتری‌ها به  $10^3$  تا  $10^4$  برسد (۶). پاتوژن‌هایی نظیر ایکولای، سودوموناس و سالمونلا<sup>۶</sup> تمایل بیشتری به زنده ماندن و تکثیر با قابلیت ایجاد بیماری در مصرف کنندگان نشان می‌دهند (۷). در میان خصوصیات کیفی آب‌های بطری شده، کیفیت میکروبی اهمیت ویژه‌ای دارد چراکه مستقیماً با سلامت انسان مرتبط است. آب بطری شده می‌تواند یک محیط اولیگوتروفیک<sup>۷</sup> همراه با مواد مغذی کافی برای استقرار باکتری‌های اوتوتروف<sup>۸</sup> رشد یافته باشد (۸). منابع متعددی نشان داده‌اند که آب بطری شده استریل نیست و باکتری‌ها از راه‌های گوناگون (از مبدا تا مقصد) می‌توانند وارد منابع آب شرب به ویژه آب‌های معدنی صنعتی شوند. پرداختن به آلودگی میکروبی آب‌ها به خصوص آلودگی باکتریایی بسیار ضروری به نظر می‌رسد (۹، ۱۰).

در سالهای اخیر مصرف آب‌های آشامیدنی بسته بندی شده و تجارت بین‌المللی آن به دلایل بهبود و توسعه راههای حمل و نقل، افزایش قابل توجهی داشته است. با توجه به عدم تکافوی ذخایر قدیمی آب آشامیدنی (شبکه‌های آب رسانی)، آب‌های بسته بندی شده به ویژه در شرایط بحرانی، می‌تواند کمک موثری در برآوردن نیاز به آب باشد. بدیهی است که آلودگی آب‌های بسته شده می‌تواند موجب بروز برخی از بیماریها به ویژه در میان کودکان، افراد سالخورده و افرادی که سیستم ایمنی بدنشان تضعیف شده است، شود (۱). آب آشامیدنی است که در ظروف بسته بندی شده و به طور طبیعی دارای املاح بوده و یا به آن اضافه می‌شود می‌تواند به طور طبیعی محتوی گازکربنیک باشد یا به آن اضافه گردد. منابع تولید آب بطری شده شامل آب‌های زیرزمینی مثل چشمه، چاه و قنات و یا آب‌های سطحی مثل رودخانه‌ها و آبرگیرها می‌باشد (۲). یکی از پارامترهای بسیار مهم در تولید و مصرف آب‌های بسته بندی شده همچون سایر آب‌های آشامیدنی، کنترل کیفیت میکروبی آنهاست (۳). تمام انواع آب به طور ثابتی حاوی میکروارگانیسم‌های مختلفی است که از طریق منابع گوناگون وارد آب شده است و تخمین تعداد کل آن می‌تواند اطلاعات مفیدی برای ارزیابی و نظارت بر کیفیت آب را بدست دهد. معمولاً میکروارگانیسم‌هایی که تحت شرایط کشت معین قادر به رشد و تشکیل پرگنه روی محیط آگار مغذی در دمای ۲۲ و ۳۶ درجه سلسیوس هستند، شمارش می‌شود (۴). بنابراین علاوه بر استفاده از روش‌های مختلف بهداشتی در طول استحصال و بسته بندی آب بطری شده، مانند نظافت تجهیزات و انبارش صحیح ترکیبات بسته بندی، دقت ویژه‌ای باید در نگهداری و انتقال محصول نهایی صورت گیرد (۵). هرگونه افزایش در شمارش، زنگ

1. Escherichia coli
2. Achromobacter
3. Flavobacterim
4. Alacaligenes
5. Pseudomonas
6. Salmonella
7. Oligotrophic
8. Autotroph



درخصوص این باکتری‌های مهم، مطالعات زیادی در نقاط مختلف دنیا در زمینه بررسی میکروبی آب‌های بسته بندی شده انجام شد. به‌طور مثال در مطالعه‌ای با عنوان بررسی کیفیت باکتریایی آب‌های معدنی بطری شده در مجارستان که توسط دانشکده علوم کشاورزی و تغذیه انجام شد، مشخص شد که سطح کلیفرم‌ها و باکتری‌های بیماریزا از حد استاندارد فراتر رفته است (۱۷)، همچنین در مطالعه دیگری که در برزیل توسط داسیلوا و همکاران انجام شد، مشخص شد که سطح میکروبی آب شهری به مراتب بهتر از آب‌های بطری شده است (۱۸). در ایران، نیز از سال ۶۴ مطالعات و استانداردهای مختلفی جهت تعیین ویژگی‌ها، نمونه برداری، روش‌های آزمون، شرایط تولید بهداشتی، بسته بندی و برچسب گذاری آب معدنی طبیعی مشخص شده است و اینک این استاندارد به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ به‌عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود (۲). همچنین در مطالعه‌ای که توسط کرمانشاهی و همکاران انجام شد، آب‌های بطری شده داخلی با توجه به برچسب کارخانه طبقه بندی و کیفیت شیمیایی آن بررسی شد (۱۹). در سال ۱۹۹۹ پژوهشی در خصوص ارزیابی بقاء ایکولای در آب‌های بسته بندی شده انجام شد و نشان داد که این پاتوژن در آب‌های معدنی طبیعی مدت زمان بیش‌تری نسبت به سایر آب‌های بطری شده زنده می‌ماند (۲۰). با توجه به توضیحات فوق نکته قابل توجه این است که تا به حال مطالعه‌های چشمگیری در کشور بر روی کیفیت میکروبی این آب‌ها انجام نشده است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر شناسایی و جداسازی باکتری‌های اشریشیا کلی و سالمونلا انتریتیدیس از آب‌های معدنی آشامیدنی سطح شهر تهران است.

وسیعترین تعداد مطالعات روی آن انجام شده است (۱۱). این ارگانیسم به‌عنوان قسمتی از فلور طبیعی روده چند ساعت بعد از تولد، سیستم گوارش انسان و حیوانات پستاندار را کلونیزه نموده و با این عمل نقش مهمی در فیزیولوژی سیستم گوارش ایفا می‌نماید (۱۲). لازم به ذکر می‌باشد که برخی از سویه‌های اشریشیا کلی با بدست آوردن عوامل ویروالانس از طریق عوامل ژنتیکی قابل انتقال مانند پلاسمیدها و رانسپوزنها و باکتریوفاژها و لوکوس‌های پاتوژنیستی به صورت سویه‌های بیماریزا در می‌آیند (۱۳). این ارگانیسم از طریق اتصال به دیواره روده باعث بهم ریختگی ساختار در سلول گردیده و منجر به ایجاد ضایعات هیستوپاتولوژیک<sup>۱</sup> در سطح روده می‌شود و با این عمل پدیده جذب و دفع روده مختل می‌گردد (۱۴). سالمونلا یکی از جنس‌های خانواده انتروباکتریاسه<sup>۲</sup> به‌عنوان یک باکتری گرم منفی و هوازی و بی‌هوازی اختیاری می‌باشد که قرابت زیادی با اشریشیا کلی دارد و بطور عمده در دستگاه گوارش انسان زندگی می‌کند. عوارض بیماری زایی که در این میزبان‌ها ایجاد می‌کند شناخته شده است. این باکتری به‌عنوان یکی از پاتوژن‌های مواد غذایی و همچنین گاهی به‌عنوان عامل اتیولوژی شیوع مسمومیت‌های غذایی می‌باشد. در طی ۲۰ سال گذشته به‌عنوان یکی از عوامل مهم عفونت‌های معدی - روده‌ای در انسان مطرح شده است و طیف میزبانی وسیعی از انسان، پستانداران، پرندگان، خزندگان، دوزیستان، ماهی‌ها و حتی برخی بی‌مهرگان را در بر می‌گیرد (۱۵). به دلیل این که سالمونلا یک پاتوژن روده‌ای مهم و آلوده کننده آب و غذا می‌باشد، تشخیص سریع و دقیق آن در آب و مواد غذایی بسیار حائز اهمیت است. امروزه تشخیص سریع باکتری‌های بیماری‌زا با تکنیک‌های نوین در مواد غذایی از اهمیت زیادی برخوردار است (۱۶). با توجه به توضیحات فوق

1. Attaching and Effacing
2. Enterobacteriaceae



## روش بررسی

تحقیق توصیفی حاضر در مهرماه سال ۹۳ تا شهریور ماه ۹۴ در آزمایشگاه مدیا گستر آزما همکار اداره استاندارد انجام شده است. بر اساس اطلاعات اخذ شده از اداره بازرگانی استان تهران، از آنجایی که در سطح استان، واحد مشخصی متولی توزیع این آب‌ها نمی‌باشد، شناسایی انواع مختلف آب‌های معدنی ۱۰۰٪ امکان پذیر نبود. لذا نمونه‌ها طوری انتخاب شدند که همه نقاط شهری را در بر گیرد. به دلیل استفاده عموم مردم از بطری های آب معدنی ۰٫۵ لیتری، پرمصرف بودن این بطری ها و همچنین عدم انجام تحقیقات مشابه روی بطری های ۰٫۵ لیتری، این انتخاب صورت گرفت. کد شناسه حرفی S را که معرف sample است مورد استفاده قرار دادیم و ۱۰ برند آب معدنی را به ترتیب از برند ۱ تا ۱۰ با عنوان S1 تا S10 شماره گذاری نمودیم. پارامترهای میکروبی شاخص کیفیت آب آشامیدنی است که شامل کلیفرم و کلیفرم مدفوعی است. روش سنجش کلیفرم ها براساس استاندارد متد ۹ mpn لوله ای انجام شد. نمونه شاهد آلوده به اشریشیا کلی و سالمونلا انتریتیدیس برای اطمینان از شرایط مناسب آزمایش، کشت داده شد و نتیجه آن مثبت بود، که نشان دهنده انجام درست مراحل تست میباشد.

## تشخیص سالمونلا انتریتیدیس

برای انجام این مرحله بهتر است ابتدا مواد و محلول‌های مورد نیاز را که شامل: محیط کشت پپتون واتر بافره<sup>۱</sup> (MERC)، محیط کشت راپاپورت واسیلیادیس<sup>۲</sup> (QUELAB)، محیط کشت SS آگار<sup>۳</sup> (MERC)، محیط کشت TSI<sup>۴</sup>، محیط کشت SIM<sup>۵</sup>،

محیط کشت MRVP<sup>۶</sup>، محیط کشت XLD<sup>۷</sup>، محیط کشت مولر هینتون<sup>۸</sup>، سرم فیزیولوژی، آب مقطر مخصوص تزریق و اتانول ۷۰٪ را آماده کنیم (طبق استاندارد شماره ۸۷۸۹ و ۱۴۳۵۶ سازمان استاندارد ایران). سپس برای تشخیص وجود یا عدم وجود سالمونلا انتریتیدیس تعداد ۱۰۰ نمونه آب معدنی از ۱۰ برند مورد استفاده در نقاط مختلف شهر تهران جمع‌آوری شد. سپس ردیابی سالمونلاها در آب با روش میکروبیولوژی براساس روش پیشنهادی استاندارد ملی ایران (طبق استاندارد شماره ۸۷۸۹ (۲۱) و ۱۴۳۵۶ (۲۲) سازمان استاندارد ایران)، در مراحل مختلف زیر انجام شد.

پیش غنی سازی غیرانتخابی با استفاده از محیط پپتون واتر بافری شده.

این مرحله که به آن مرحله احیاء نیز گفته می‌شود، برای حفظ تعداد کم باکتریها و التیام باکتری‌های صدمه دیده در فرآیندهای مختلف ضروری به نظر می‌رسد و در مورد بعضی از میکروب‌های بیمارزا نظیر سالمونلا استفاده از یک پیش غنی کننده الزامی است. برای انجام این مرحله از یک محیط غیر انتخابی استفاده می‌گردد. بدین صورت که آب پپتونه بافری در دمای محیط در حجم معینی از نمونه یا رقت‌هایی از آن تلقیح می‌شود، سپس در دمای ۳۶ ± ۲ °C به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری می‌شود.

غنی‌سازی انتخابی با استفاده از محیط راپاپورت واسیلیادیس با سویا (آبگوشت<sup>۹</sup> RVS) و آبگوشت مولر-کوفمن<sup>۱۰</sup> تتراتیونات-نووبیوسین<sup>۱۱</sup> با کشت حاصل از مرحله اول تلقیح می‌شود. (استاندارد ۱۴۳۵۶). برای شناسایی زیرگونه‌های سالمونلا با رشد آهسته، آبگوشت غنی سازی را به مدت (۳ ± ۲۴) ساعت تا

6. Methylred-Vegesproskauere Broth
7. Xylose-Lysin-Decarboxychololate Agar
8. Mueller Hinton Agar
9. Rappaport-Vassiliadis Soya
10. Mueller Kaufman Broth
11. Tetrathionate Novobiocin

1. Buffered Peptone Water
2. Rappaport Vassiliadis Broth
3. Salmonella Shigella Agar
4. Triple Suger Iron Agar
5. Sulfide Indole Motility



مدت کل (4±48) ساعت در دمای °C (1±41) گرمخانه گذاری می‌کنیم.

### پلیت گذاری و تشخیص در محیط آگار انتخابی شامل سالمونلا-شیگلا آگار

شناسایی سالمونلا طبق استاندارد شماره ۸۷۸۹ به صورت سنتی براساس مراحل متوالی زیر انجام شد: پیش غنی سازی نمونه در محیط کشت غنی کننده غیرانتخابی مایع (آب پیتونه بافره) بدین صورت که ۲۲۵ میلی لیتر آب پیتونه بافره تهیه شد و در ظروف سیگما ریخته شده و در اتوکلاو استریل گردید. پس از سرد شدن محیط کشت در محیط کاملاً استریل در حضور شعله نمونه‌ها (۲۵ میلی لیتر از هر نمونه) به درون محیط کشت توسط پیپت استریل تزریق شد و در دمای ۳۶ درجه سلسیوس به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شد.

همچنین غنی سازی در محیط کشت غنی کننده انتخابی مایع (آبگوشت راپاپورت-واسیلیادیس) بدین صورت که محیط کشت راپاپورت-واسیلیادیس تهیه شد و مقدار ۹ میلی لیتر از آن درون لوله آزمایش ریخته شد و در دستگاه اتوکلاو استریل شد. پس از سرد شدن مقدار ۱ میلی لیتر از نمونه آب معدنی توسط پیپت های استریل به این محیط کشت تزریق شد و سپس در دمای ۴۱/۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور گرمخانه گذاری شد.

با استفاده از حلقه کشت سترون از نمونه مربوط به مرحله شماره دو برداشت گردید و در محیط ss agar بصورت خطی کشت داده شد و پلیت‌ها بصورت وارونه در دمای ۳۶ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری گردید.

### تشخیص اشریشیا کلی

در این مرحله نیز ابتدا لازم است محلولهای مورد

نیاز را که شامل: محیط کشت مک‌کانکی براث<sup>۱</sup>، محیط کشت لاکتوز براث<sup>۲</sup>، سرم فیزیولوژی، آب مقطر مخصوص تزریق و اتانول ۷۰٪، را آماده کرده و سپس آزمایش را انجام می‌دهیم. ابتدا روش تخمیر چند لوله‌ای را به کار می‌بریم که تراکم باکتری‌های کلیفرم تعیین می‌شود. این تکنیک (mpn)<sup>۳</sup> محتمل‌ترین تعداد کلیفرم‌ها در ۱۰۰ میلی لیتر از آب را ارائه نموده و یک روش غیرمستقیم بر اساس احتمالات آماری و مشاهده گاز در لوله‌های کشت شده می‌باشد.

در این آزمایش می‌توان از چهار روش پنج لوله‌ای، نه لوله‌ای، ۱۰ لوله‌ای و ۱۵ لوله‌ای استفاده نمود. (طبق استاندارد ۱۹۸۴۹-۱) (۲۳) که در این تحقیق از روش ۹ لوله‌ای استفاده شده است.

محیط کشت لاکتوز براث و مک‌کانکی براث مطابق دستورالعمل کارخانه سازنده تهیه (استاندارد ۱۹۸۴۹) و در لوله‌های آزمایش تقسیم شد به این صورت که سه ردیف سه تایی لوله آزمایش را در یک جا لوله‌ای آماده کرده سه لوله ردیف اول حاوی ۱۰ میلی لیتر محیط کشت (مکانکی براث) غلیظ (باغلظت دو برابر معمولی) تهیه شد. لوله‌های ردیف دوم و سوم همه حاوی ۱۰ میلی لیتر از محیط کشت با غلظت معمولی (غلظت یک برابر) ریخته شد. لوله‌ها و محیط کشت‌های آماده شده در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه و دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد استریل شد. سپس جهت اضافه نمودن نمونه به محیط کشت به روش زیر عمل شد: (طبق استاندارد ۱۹۸۴۹)

۱. ظروف حاوی نمونه‌ها و محلول‌های رقیق شده را با تکان دادن بصورت یکنواخت درمی‌آوریم.
۲. به کمک یک پیپت سترون، ۱۰ میلی لیتر نمونه آب معدنی از بطری در هر یک از سه لوله اول (که غلظت محیط کشت در آن‌ها دو برابر بود) ریخته شد.

1. MacConkey Broth
2. Lactose Broth
3. Most Probable Number



## بحث

بررسی انجام شده نشان داد که هیچیک از نمونه ها آلودگی میکروبی نداشت. در تحقیق انجام شده توسط فروزان و همکاران در سال ۱۳۸۶ در آذربایجان غربی که بر روی دو برند آب معدنی انجام شد نمونه ها از نظر آلودگی به کلیفرم های مدفوعی منفی بود که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (۲۴). در آزمایش توصیفی مقطعی که در سال ۱۳۸۷ در شهر یاسوج توسط رضایی و همکاران انجام شد از میان ۶۴ نمونه آب معدنی، تعداد کلی فرم ها در محدوده استاندارد بوده و فقط مقادیر شیمیایی غیراستاندارد بوده است (۲۵). در تحقیقی توصیفی که توسط لولویی و ذوالعلی بر روی ۱۳ نوع آب معدنی در شهر کرمان در سال ۱۳۸۸ انجام شد هیچگونه آلودگی میکروبی مشاهده نشد. ۵ برند از آب های بطری شده در این تحقیق با برند های استفاده شده در تحقیق حاضر یکسان می باشد (۲۶). در یک مطالعه توصیفی-مقطعی در شهر ایلام که توسط گودینی و همکاران در سال ۱۳۸۸ انجام شد نیز نمونه ها از نظر آلودگی میکروبی صفر بوده اند (۲۷). همچنین میران زاده و همکاران مطالعه ای در سال ۸۸ در شهرهای ایران بر روی بطری های آب معدنی و در ۴ فصل مختلف انجام دادند که از حدود ۶۰ نمونه آب معدنی بسته بندی شده هیچکدام آلودگی کلیفرم و کلیفرم مدفوعی نشان نداد (۱۹). همچنین در جدیدترین تحقیق که در سال ۱۳۹۳ توسط قربانعلی نژاد و همکاران وی بر روی نمونه برندهای مختلف آب های معدنی ایران انجام شد، نتایج تحقیق نشان داد که باکتری های هتروتروفیک در ۷۰٪ نمونه ها وجود داشت اما گروه کلی فرم و کلی فرم مدفوعی در هیچ یک از نمونه ها وجود نداشته است (۲۸). همچنین مطالعاتی در سایر کشورها درباره آب بطری شده انجام شده است. در مطالعه ای مشابه که به وسیله کوکیناکیس و همکاران در سال ۲۰۰۷ در یونان انجام شد، نیز آلودگی با شاخص های میکروبی مشاهده نشد (۷).

۳. به کمک یک پیپت سترون، یک میلی لیتر نمونه از بطری به هر یک از سه لوله دوم ریخته شد.  
 ۴. به کمک یک پیپت سترون، ۰/۱ میلی لیتر نمونه از بطری در هر یک از سه لوله سوم ریخته شد.  
 کلیه این عملیات در شرایط آسپتیک<sup>۱</sup> انجام شد که از آلودگی های ثانویه مبرا باشد. لوله ها را به آرامی تکان داده تا نمونه و محیط مخلوط شود. (در لوله های دورهام<sup>۲</sup> نباید هیچگونه گاز یا حبابی از هوا وجود داشته باشد) سپس محیطها در انکوباتور  $35 \pm 0.5$  درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت در صورتی که در لوله های دورهام گاز  $H_2S$  و یا رشد اسیدی دیده شده باشد، آن را مثبت تلقی می کنیم و اگر لوله ای فاقد گاز بود آن را برای مدت ۲۴ ساعت دیگر در انکوباتور قرار می دهیم. پس از ۲۴ ساعت مجدداً لوله ها را بازدید کرده (مشاهده چشمی) و موارد مثبت یا منفی را یادداشت می نمائیم. وجود گاز پس از ۴۸ ساعت دلیل بر مثبت بودن آزمایش است و وجود باکتری در نمونه است و باید برای آزمایش های تکمیلی بررسی شود، اگر در هیچ یک از نمونه ها گازی مشاهده نشد آزمایش احتمالی منفی است (جدول ۱-۱). محدود نمودن زمان به ۴۸ ساعت برای نتیجه گیری قطعی از مشاهدات، باعث می شود که برخی گونه های نادر کلیفرمها که رشدشان بسیار کند است، از نظر دور نمانند.

## یافته ها

نتایج نشان دادند که هیچیک از نمونه ها آلودگی میکروبی نداشت و پس از پایان مدت گرمخانه گذاری پلیت ها بررسی گردید و در هیچ یک از نمونه ها نشانی از عامل باکتریایی مشاهده نشد.

- 1 Aseptic
2. Durham's Tube
3. Hydrogen Sulfide



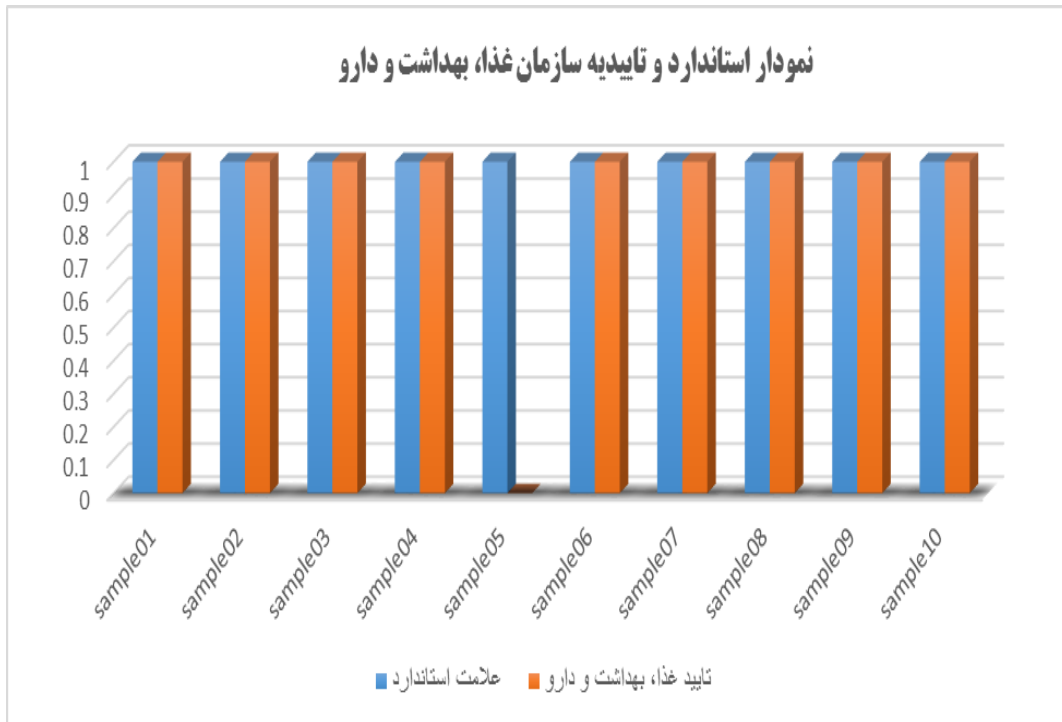


جدول ۱- شاخص های بهداشتی و سلامت آبهای آشامیدنی معدنی سطح شهر تهران

نمونه	۱-۱۰	۱۱-۲۰	۲۱-۳۰	۳۱-۴۰	۴۱-۵۰	۵۱-۶۰	۶۱-۷۰	۷۱-۸۰	۸۱-۹۰	۹۱-۱۰۰
نام اختصاری	sample 1	sample 2	sample 3	sample 4	sample 5	sample 6	sample 7	sample 8	sample 9	sample 10
مقدار	۵۰۰ ml	۵۰۰ ml	۵۰۰ ml	۵۰۰ ml	۵۰۰ ml	۵۰۰ ml	۵۰۰ ml	۵۰۰ ml	۵۰۰ ml	۵۰۰ ml
علامت استاندارد	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
شماره STA	۶۶۱۹۹۳۸۸۸۱	۶۳۰۹۱۰۱۸۴۱	۸۵۴۳۸۰۰۹۳۱	۶۶۳۲۹۹۴۹۱۱	-	-	-	۶۰۱۱۲۵۱۸۵۱	۹۰۲۲۷۲۵۸۹۱۸۵۱۵۰۳۰۸۷۱	۶۰۱۱۲۵۱۸۵۱
تایید سازمان غذا و بهداشت دارو	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
سری ساخت	۳۴/۱۳۶۸۲	371/B/S/A/P	۴۹/۱۴۲۲۷	۲۲/۱۱۸۸۲	-	-	-	۴۹/۱۱۰۲۸	۵۶/۱۰۶۲۳	۲۱/۱۰۳۴۷
نتیجه تست E.coli	MPN=0	MPN=0	MPN=0	MPN=0	MPN=0	MPN=0	MPN=0	MPN=0	MPN=0	MPN=0
نتیجه تست Salmonella	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

نکته: mpn به معنای بیشترین تعداد احتمالی است.

نمودار استاندارد و تاییدیه سازمان غذا، بهداشت و دارو



شکل ۱- وضعیت دارا بودن استاندارد و تاییدیه سازمان غذا و دارو آبهای آشامیدنی معدنی سطح شهر تهران



فلزات سنگین خارج از محدوده استاندارد بوده و نیازمند نظارت و دقت در تولید اینگونه آب های خوراکی می باشد. همچنین در اکثر موارد مغایرت برچسب با محتوی آب بسته بندی مشاهده شده است.

### تشکر و قدردانی

از همکاری آزمایشگاه مדיاگستر آزما همکار اداره استاندارد تشکر و قدردانی می نماید.

### نتیجه گیری

براساس مطالعات انجام شده که از سال ۱۳۸۵ تا ۱۳۹۴ در ایران بر روی آب های بسته بندی شده صورت گرفته است ، نتیجه گرفته می شود که در اکثر موارد آب های بسته بندی از نظر آلودگی میکروبی در حد سلامت و استاندارد می باشد و لیکن از نظر استاندارد مقادیر شیمیایی و فیزیکی و ذرات معلق و





## منابع و مأخذ

1. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [Water- Microbiological Specifications of Packaged Drinking water]. ISIRI. Standard No.6267, 1<sup>st</sup> Re; 2002.
2. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [Water-Packaged (bottled) drinking waters – Specifications]. ISIRI. Standard No.6694, 1<sup>st</sup> Re; 2003.
3. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [Drinking Water-Physical and chemical specifications]. ISIRI. Standard No.1053, 5<sup>th</sup> Re; 2009.
4. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [Water-enumeration of culturable microorganisms]. ISIRI. Standard No.5271, 1<sup>st</sup> Re; 2009.
5. Alimohamadi M, Aghaee ME, Nabizadeh R, Jahed GR, Rezaee S, Goldasteh A, Nazmara S, et al. (2012). "Survey of antimony and cobalt leaching into bottled waters packaged." Iranian Journal of Health and Environment, 5(2), 225-234. Zemberlan da Silva, M.E, et al. Comparison of the bacteriological quality of tap water and bottled mineral water. Brazil: International Journal of Hygiene and Environmental Health; 2008. p. 211(5): 504-509.
6. Kokkinakis EN, Fragkiadakis GA, Kokkinaki AN. Monitoring microbiological quality of bottled water as suggested by HACCP methodology. Greece: Food control; 2007. p. 19(10):957-61.
7. Amira, M. (2008). Microbiological profile of bottled water in Egyptian market. Egypt: *Master of science*; 2007. P .159-162.
8. Azoulay A, Garzon P, Eisenberg MJ. Comparison of the mineral content of tap and bottled waters. J Gen Intern Med; 2001. p.16(3): 168-75.
9. Massa S, Caruso M, Trovatelli F, Tosques M. Comparison of plate count agar and R2A medium for enumeration of heterotrophic bacteria in natural mineral water. World Journal of Microbiology and Biotechnology; 1998. P.14(5):727-30.
10. Bacteria. Microbiology online. Retrieved 27 February 2014.
11. Singleton P (1999). Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine (5<sup>th</sup> ed.). Wiley. p. 444-454.
12. Ahmadi. A, Ghorbanali Zadegan. M, Najafi. A, Tavakoli H.R, Mirnejad. R. Molecular detection of Salmonella typhi in food samples by PCR using invA gene. Iran: Scientific journal of ilam university of medical sciences; 2013. P.20(1).
13. Varga L. Bacteriological quality of bottled natural mineral waters commercialized in Hungary. Food Control: 2011; p.22(3):591-5
14. Chen, H-C. Identification and characterization of a novel Salmonella gene product, STM0029, which contributes to the resistance to host antimicrobial peptide killing, Berlin, Humboldt Universitat zu Berlin, Diss., 2012.
15. Ahmadi. A, Ghorbanali Zadegan. M, Najafi. A, Tavakoli H.R, Mirnejad. R. Molecular detection of Salmonella typhi in food samples by PCR using invA gene. Iran: Scientific journal of Ilam university of medical sciences; 20(1)
16. Varga L. Bacteriological quality of bottled natural mineral waters commercialized in Hungary. Food Control, 2011;22(3):591-5
17. Martins CHG. Microbiological monitoring of mineral water commercialized in Brazil. Braz J Microbial. 2011; 42:554–559. doi: 10.1590/S1517-83822011000200020.
18. Miranzadeh M.B, Hassani A.H, Iranshahi L, Ehsanifar M, Heidari M. (2011) Study of microbial quality and heavy metal determination in 15 brands of Iranian bottled drinking water during 2009-2010. Ardabil University of Medical Sciences, (1) 40-48.



19. Gavthier, J. Lerudulier, D. (1990) survival in seawater of Escherichiacoli cells grown in marine sediments containing glycine betaine, applied and environmental microbiology, 56, 2915-2918.
20. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [water quality – Detection of salmonella species]. ISIRI. Standard No.8789, 1<sup>st</sup> Ed; 2014.
21. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [water quality – detection of salmonella spp.] ISIRI. Standard No.14356, 1<sup>st</sup> Ed; 2011.
22. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [water quality – detection and enumeration of intestinal enterococci – part 1: miniaturized method (mpn) for surface and waste water]. ISIRI. Standard No.19849-1, 1<sup>st</sup> Ed; 2014.
23. Banihabib. I, Forouzan. Sh., Mohammadi. D, Motamedian. N, Rahimi R.A, Yeganeh. S. Study of heavy metals, nitrite, nitrate and microbial properties of mineral waters in markets of West Azerbaijan. (2006) Food and hygienic control laboratory of west Azerbaijan. (18)
24. Fararoei. M, Jamshidi, Raygan Sh.Ar, Rezaei. S, Sadat. Am. (2008) Evaluation of the chemical and microbial quality of bottled waters distributed in Yasouj. Armaghane danesh, (3), 291-299.
25. Loloie. M, Zolala. F. (2011). Survey on the quality of mineral bottled waters in kerman city in 2009. Kerman university of medical sciences, (3) 183-192.
26. Alavi. S, Alyan. G, Godini. K, Rostami. R, Sayehmiri. K. (2012). Investigation of microbial and chemical quality of bottled waters distributed in Ilam. Scientific journal of Ilam university of medical sciences, (2) 33-37.
27. Ghorbanalinezhad. E, Khnjani. D, Saeedi. Gh. (2014). Survey on Heterotrophic Bacterial Contamination in Bottled Mineral Water by Culture Method. Iranian Journal of Medical Microbiology, 8(4): 59-68.

