بررسی کیفیت میکروبی(اشریشیا کلی و سالمونلا انتریتیدیس) بطریهای آب معدنی طبیعی در شهرتهران در سال۱۳۹٤

فاطمه یحیی زاده[۱] ، محمد دخیلی[۲]

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. Email: dr_dakhili@yahoo.com

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 می شود و حضور آن در آب نوشیدنی ها و غذا به عنوان خطری برای سلامتی مصرف کنندگان می باشد. جنس سالمونلا نیز یکی از ۲۸ جنس و به نوعی مهم ترین جنس خانواده انتروباکتریاسه محسوب می شود . تمامی سروتیپ های این باکتری بالقوه بیماری زا بوده و طیف میزبانی وسیعی را در بر می گیرد.

روش بررسی : در این پژوهش به منظور بررسی آلودگی یا عدم آلودگی آب های معدنی سطح شهر تهران از بین برندهای معتبر و پرمصرف ۱۰ برند بر اساس روش های ارایه شده در استانداردهای ملی ایران مورد بررسی قرار گرفت. از هر برند ۱۰ نمونه به صورت تصادفی با تاریخ های تولید مختلف انتخاب شد (۱۰۰ نمونه). نمونه ها در آزمایشگاه ابتدا در محیط مکانکی براث به روش تخمیر چند لوله ای mpn (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.

یافته ها : مشاهدات و نتایج این تحقیق نشان داد که ۱۰۰% نمونه‌های مورد آزمایش از نظر آلودگی میکروبی صفر بوده.

نتیجه گیری: کیفیت میکروبی در تمام نمونه های 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 می باشند.

واژه‌های کلیدی: آب آشامیدنی ، کیفیت میکروبی ، سالمونلا انتریتیدیس ، اشریشیا کلی ، تهران

مقدمه

در سالهای اخیر مصرف آب های آشامیدنی بسته بندی شده و تجارت بین المللی آن به دلایل بهبود و توسعه راههای حمل و نقل ، افزایش قابل توجهی داشته است. با توجه به عدم تکافوی ذخایر قدیمی آب آشامیدنی (شبکه های آب رسانی) ، آب های بسته بندی شده به ویژه در شرایط بحرانی ، می تواند کمک موثری در برآوردن نیاز به آب باشد. بدیهی است که آلودگی آب های بسته شده می تواند موجب بروز برخی از بیماریها به ویژه در میان کودکان ، افراد سالخورده و افرادی که سیستم ایمنی بدنشان تضعیف شده است، شود(۱). آب آشاميدني است كه در ظروف بسته بندي شده و به طور طبيعي داراي املاح بوده و يا به آن اضافه مي شود مي تواند به طور طبيعي محتوي گازكربنيك باشد يا به آن اضافه گردد. منابع تولید آب بطری شده شامل آب‌های زیرزمینی مثل چشمه، چاه و قنات و یا آب‌های سطحی مثل رودخانه‌ها و آبگیرها می‌باشد(۲). یکی از پارامترهای بسیار مهم در تولید و مصرف آب‌های بسته بندی‌شده همچون سایر آب-های آشامیدنی، کنترل کیفیت میکروبی آن‌هاست(۳). تمام انواع آب به طور ثابتي حاوي ميكروارگانيسم هاي مختلفي است كه از طريق منابع گوناگون وارد آب شده است و تخمين تعداد كل آن ميتواند اطلاعات مفيدي براي ارزيابي و نظارت بر كيفيت آب را بدست دهد. معمولا ميكروارگانيسم هايي كه تحت شرايط كشت معين قادر به رشد و تشكيل پرگنه روي محيط آگار مغذي در دماي۲۲ و ۳۶ درجه سلسيوس هستند، شمارش مي‌شود (۴). بنابراین علاوه بر استفاده از روش های مختلف بهداشتی در طول استحصال و بسته بندی آب بطری شده ، مانند نظافت تجهیزات و انبارش صحیح ترکیبات بسته بندی ، دقت ویژه ای باید در نگهداری و انتقال محصول نهایی صورت گیرد (۵). هرگونه افزایش در شمارش، زنگ خطري براي آلودگي شديد آب است و بايد سريعاً مورد بررسي و تحقيق قرار گيرد. بدین منظور پژوهشی با هدف شناسایی و جداسازی باکتری ایکولای[1] به عنوان شاخص اصلی آلودگی آب‌های معدنی صورت گرفت. چراکه حضور آن به عنوان خطری برای سلامتی مصرف کنندگان می باشد. آلودگی آب‌هاي بطري شده می‌تواند از طریق آلوده بودن اولیه آب و یا نشت از طریق موادي كه در آن نگهداري می‌شوند یا حتی در طی فرآیند صورت گیرد. اگرميكروارگانيسم هاي طبيعي (آكروموباكتر[2]، فلاووباكتريوم[3]، آلكاليژنز[4]، سودوموناس[5]) در طول پروسه تهيه و بطري كردن آب حذف نشوند، در مدت یک تا سه هفته پس از بطری کردن، ممکن است تکثیر باکتریایی اتفاق بیافتد و تعداد باكتري‌ها به 10^3 تا 10^4 برسد (٦). پاتوژن‌هایی نظیر ایکولای، سودوموناس و سالمونلا[6] تمایل بیشتري به زنده ماندن و تکثیر با قابلیت ایجاد بیماري در مصرف‌کنندگان نشان می‌دهند (۷). در میان خصوصیات کیفی آب‌هاي بطري شده ،کیفیت میکروبی اهمیت ویژه‌اي دارد چراکه مستقیماً با سلامت انسان مرتبط است. آب بطري شده می‌تواند یک محیط

---

[1] *Escherichia coli*
[2] *Achromobacter*
[3] *Flavobacterim*
[4] *Alacaligenes*
[5] *Pseudomonas*
[6] *Salmonella*

اولیگوتروفیک[7] همراه با مواد مغذي کافی براي استقرار باکتري‌هاي اوتوتروف[8] رشد یافته باشد (۸). منابع متعددي نشان داده اند که آب بطري شده استریل نیست و باکتری ها از راه های گوناگون (از مبدا تا مقصد) می توانند وارد منابع آب شرب به ویژه آب های معدنی صنعتی شوند. پرداختن به آلودگی میکروبی آب ها به خصوص آلودگی باکتریایی بسیار ضروری به نظر می رسد (۱۰،۹). اشریشیا کلی تنها پروکاریوتی است که بیشترین و وسیعترین تعداد مطالعات روی آن انجام شده است (۱۱). این ارگانیسم به-عنوان قسمتي از فلور طبیعی روده چند ساعت بعد از تولد، سیستم گوارش انسان و حیوانات پستاندار را کلونیزه نموده و با این عمل نقش مهمي در فیزیولوژي سیستم گوارش ایفا مي‌نماید (۱۲). لازم به ذکر مي‌باشد که برخي از سویه هاي اشریشیا کلی با بدست آوردن عوامل ویرولانس از طریق عوامل ژنتیکي قابل انتقال مانند پلاسمیدها و ترانسپوزنها و باکتریوفاژها و لوکوس‌هاي پاتوژنیسیتي به صورت سویه هاي بیماریزا در مي‌آیند (۱۳) . این ارگانیسم از طریق اتصال به دیواره روده باعث‌بهم ریختگي ساختار در سلول گردیده و منجر به ایجاد ضایعات هیستوپاتولوژیک A&E[9] در سطح روده مي‌شود و با این عمل پدیده جذب و دفع روده مختل مي‌گردد (۱۴). سالمونلا یکی از جنس های خانواده انتروباکتریاسه[10] بعنوان یک باکتری گرم منفی و هوازی و بی هوازی اختیاری می باشد که قرابت زیادی با اشریشیا کلی دارد و بطور عمده در دستگاه گوارش انسان زندگی می کند. عوارض بیماری زایی که در این میزبان ها ایجاد می کند شناخته شده است. این باکتری بعنوان یکی از پاتوژن های مواد غذایی و همچنین گاهی بعنوان عامل اتیولوژی شیوع مسمومیت های غذایی می باشد. در طی ۲۰ سال گذشته بعنوان یکی از عوامل مهم عفونت های معدی – روده ای 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 روده‌اي مهم و آلوده کننده آب و غذا مي‌باشد، تشخیص سریع و دقیق آن در آب و مواد غذائي بسیار حائز اهمیت است. امروزه تشخیص سریع باکتري‌هاي بیماري‌زا با تکنیک‌هاي نوین در مواد غذایي از اهمیت زیادي برخوردار است (۱۶). باتوجه به توضیحات فوق درخصوص این باکتری‌های مهم، مطالعات زیادي در نقاط مختلف دنیا در زمینه بررسی میکروبی آب‌های بسته بندی شده انجام شد. به‌طور مثال در مطالعه‌اي با عنوان بررسی کیفیت باکتریایی آب‌هاي معدنی بطري شده در مجارستان که توسط دانشکده علوم کشاورزي و تغذیه انجام شد، مشخص شد که سطح کلیفرم ها و باکتري-هاي بیماریزا از حد استاندارد فراتر رفته است(۱۷) ، همچنین در مطالعه دیگري که در برزیل توسط داسیلوا و همکاران انجام شد، مشخص شد که سطح میکروبی آب شهري به مراتب بهتر از آب‌هاي بطري شده است (۱۸). در ایران ، نیز از سال ٦٤ مطالعات و استانداردهای مختلفی جهت تعیین ویژگي‌ها، نمونه برداري، روش‌هاي آزمون، شرایط تولید بهداشتي، بسته بندي و برچسب گذاري آب معدني طبیعي مشخص شده است و اینك این استاندارد به استناد بند یك ماده ۳

[7] Oligotrophic
[8] Autotroph
[9] Attaching and Effacing
[10] *Enterobacteriaceae*

قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتي ایران مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ به عنوان استاندارد ملي ایران منتشر مي‌شود (۲). همچنین در مطالعه اي که توسط کرمانشاهی و همکاران انجام شد، آب‌هاي بطري شده داخلی با توجه به برچسب کارخانه طبقه بندي 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 به‌حال مطالعه هاي چشمگیری در کشور بر روي 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.

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 mpn ۹ 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[11] (MERC) ، محیط کشت راپاپورت واسیلیادیس[12] (QUELAB) ، محیط کشت SS آگار[13] (MERC) ، محیط کشت TSI[14]، محیط کشت SIM[15] ، محیط کشت MRVP[16] ، محیط کشت XLD[17] ، محیط کشت

[11] Buffered Peptone Water
[12] Rappaport Vassiliadis Broth
[13] *Salmonella Shigella* Agar
[14] Triple Suger Iron Agar
[15] Sulfide Indole Motility
[16] Methylred-Vegesproskaure Broth
[17] Xylose-Lysin-Decarboxycholate Agar

مولرهینتون[18] ، 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.

۱- 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 بیماریزا 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 ºC (۲ ± ۳۶) به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری می‌شود.

۲- غنی‌سازی انتخابی با استفاده از محیط راپاپورت واسیلیادیس با سویا (آبگوشت RVS[19]) و آبگوشت مولر-کوفمن[20] تتراتیونات-نووبیوسین[21] 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 مدت کل (۴±۴۸) ساعت در دمای ºC (۱±۴۱) گرمخانه گذاری می‌کنیم.

۳- 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 پپتونه بافره) بدین صورت که ۲۲۵ میلی لیتر آب پپتونه بافره تهیه شد و در ظروف سیگما ریخته شده و در اتوکلاو استریل گردید. پس از سرد شدن محیط کشت در محیط کاملا استریل در حضور شعله نمونه‌ها (۲۵ میلی لیتر از هر نمونه) به درون محیط کشت توسط پیپت استریل تزریق شد و و در دمای ۳۶ درجه سلسیوس به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شد.

[18] Mueller Hinton Agar
[19] Rappaport-Vassiliadis Soya
[20] Mueller Kaufman Broth
[21] Tetrathionate Novobiocin

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 مکانکی براث[۲۲]، محیط کشت لاکتوز براث[۲۳]، سرم فیزیولوژی، آب مقطر مخصوص تزریق و اتانول ۷۰% ، را آماده کرده و سپس آزمایش را انجام می‌دهیم. ابتدا روش تخمیر چند لوله‌ای را به‌کار می‌بریم که تراکم باکتری‌های کلیفرم تعیین می‌شود. این تکنیک (mpn)[۲۴] محتمل‌ترین تعداد کلیفرم‌ها در ۱۰۰ میلی‌لیتر 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 لوله-ای 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 مکانکی 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 میلی‌لیتر محیط کشت (مکانکی براث) غلیظ (باغلظت دو برابر معمولی) تهیه شد. لوله‌های ردیف دوم و سوم همه حاوی ۱۰ میلی‌لیتر 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 درمی آوریم.

---

22 MacConkey Broth
23 Lactose Broth
24 Most Probable Number

۲-به کمک یک پیپت سترون ، ۱۰ میلی‌لیتر نمونه آب معدنی از بطری در هر یک از سه لوله اول (که غلظت محیط کشت در آن‌ها دو برابر بود) ریخته شد.

۳-به کمک یک پیپت سترون ، یک میلی‌لیتر نمونه از بطری به هر یک از سه لوله دوم ریخته شد.

۴-به کمک یک پیپت سترون، ۰/۱ میلی‌لیتر نمونه از بطری در هر یک از سه لوله سوم ریخته شد.

کلیه این عملیات در شرایط آسپتیک[۲۵] انجام شد که از آلودگی‌های ثانویه مبرا باشد. لوله‌ها را به آرامی تکان داده تا نمونه و محیط مخلوط شود. (در لوله‌های دورهام[۲۶] نباید هیچ‌گونه گاز یا حبابی از هوا وجود داشته باشد) سپس محیطها در انکوباتور ۳۵±۰/۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت در صورتی‌که در لوله‌ی دورهام گاز H_2S[۲۷] و یا رشد اسیدی دیده شده باشد، آن را مثبت تلقی می‌کنیم و اگر لوله‌ای فاقد گاز بود آن را برای مدت ۲۴ ساعت دیگر درانکوباتور قرار می‌دهیم. پس از ۲۴ ساعت مجددا لوله‌ها را بازدید کرده (مشاهده چشمی) و موارد مثبت یا منفی را یادداشت می‌نمائیم. 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 هیچیک از نمونه‌ها گازی مشاهده نشد آزمایش احتمالی منفی است (جدول ۱-۱). محدود نمودن زمان به ٤٨ ساعت براي نتيجه گيري قطعي از مشاهدات، باعث مي‌شود كه برخي گونه‌هاي نادر كليفرم‌ها كه رشدشان بسيار كند است، از نظر دور نمانند.

یافته ها

نتایج نشان دادند که هیچیک از نمونه‌ها آلودگی میکروبی نداشت و پس از پایان مدت گرمخانه گذاری پلیت‌ها بررسی گردید و در

هیچ یک از نمونه‌ها نشانی از عامل باکتریایی مشاهده نشد.

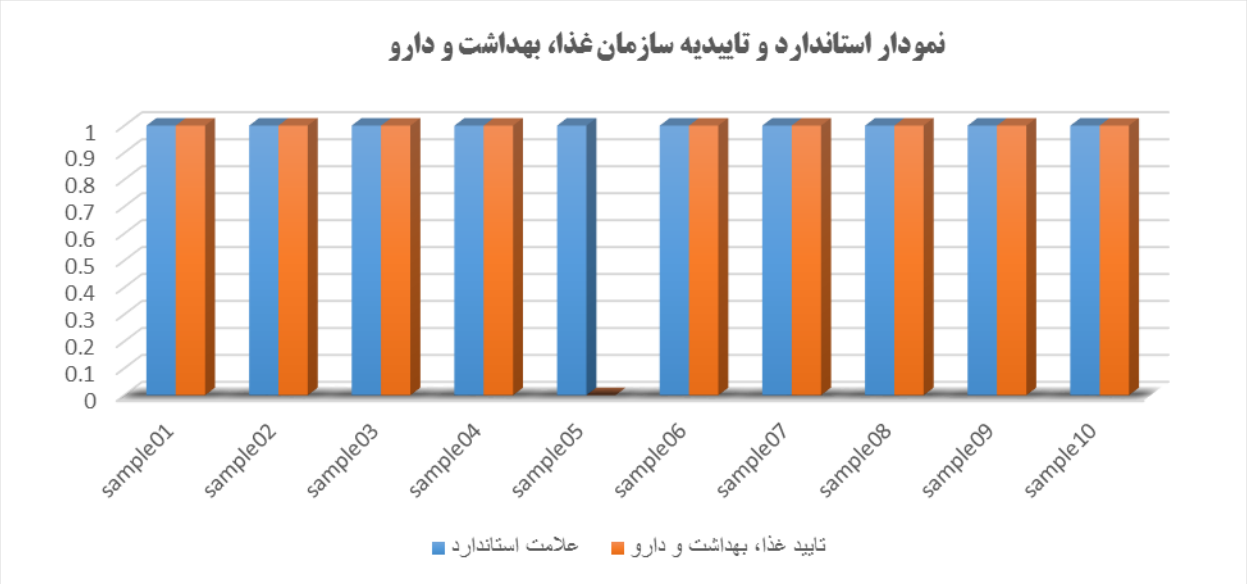
جدول ۱ : شاخص های بهداشتی وسلامت آبهای آشامیدنی معدنی سطح شهر تهران

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

25 Aseptic
26 Durham's Tube
27 Hydrogen Sulfide

مقدار	ml ۵۰۰	ml ۵۰۰	ml ۵۰۰	ml ۵۰۰	ml ۵۰۰	ml ۵۰۰	ml ۵۰۰	ml ۵۰۰	۵۰۰ ml	۵۰۰ ml	ml ۵۰۰
علامت استاندارد	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
شماره STA	۶۶۱۹۹ ۳۸۸۸۱	۶۳۰۹۱ ۰۱۸۴۱	۸۵۴۳۸ ۰۰۹۳۱	۶۶۳۲۹ ۹۴۹۱۱	–	–	–	۸۵۱۵۰۳ ۰۸۷۱	۹۰۲۲۷ ۲۵۸۹۱	۶۰۱۱۲ ۵۱۸۵۱
تایید سازمان غذا وبهداشت دارو	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+
سری ساخت	۱۳۶۸۲ ۳۴/	371/B/ S/A/P	۱۴۲۲۷ ۴۹/	۱۱۸۸۲ ۲۲/	–	–	–	/۱۱۰۲۸ ۴۹	۱۰۶۲۳ ۵۶/	۱۰۳۴۷ ۲۱/
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 ۱: وضعیت دارا بودن استاندارد و تاییدیه سازمان غذا و دارو آبهای آشامیدنی معدنی سطح شهر تهران

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 برروی 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 برروی 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). دریک 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 برروی 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 برروی نمونه برندهای مختلف آب های معدنی ایران انجام شد ، نتایج تحقیق نشان داد که باکتری‌های هتروتروفیک در ۷۰% نمونه ها وجود داشت اما گروه کلی‌فرم و کلی‌فرم مدفوعی در هیچ یک از نمونه‌ها 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).

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 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

ازهمکاری آزمایشگاه مدیاگستر آزما همکار اداره استاندارد تشکر و قدردانی می نماید.

منابع :

1. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [Water- Microbiological Specifications of Packaged Drinking water]. ISIRI. Standard No.6267, 1st Re; 2002.

2. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [Water-Packaged (bottled) drinking waters – Specifications]. ISIRI. Standard No.6694, 1st Re; 2003.

3. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [Drinking Water-Physical and chemical specifications]. ISIRI. Standard No.1053, 5th Re; 2009.

4. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [Water-enumeration of culturable microorganisms]. ISIRI. Standard No.5271, 1st 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 andEnvironment, 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 (5th 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 anitimicrobial peptide killing, Berlin, Humboldt Universitatzu 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. doe: 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, 1st Ed;2014.

21. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. [water quality – detection of salmonella spp.] ISIRI. Standard No.14356, 1st 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, 1st 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. Loloei. 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.

Evaluation of Microbial (*Escherichia coli* and *Salmonella enteritidis*) Quality of Bottled water in Tehran during 2015-2016

Yahyazadeh Fatemeh [1] - Dakhili Mohammad [2] (Ph.D.)

1. M. SC Student of Microbiology, Islamic Azad University of Qom Branch, Qom, Iran.

2. Assistant Professor, Medical Laboratory Department, School of Medicine, Islamic Azad University, Qom, Iran.

Abstract

Background and Aim: Today the use of bottled water is more acceptable because of the public confidence to the quality of them, easy transport and availability, in most places and shopping centers at an affordable price. The aim of this study is to evaluate the microbiological quality of bottled water in the city of Tehran. This is a descriptive study that the process of doing was selectively brands of mineral water in the city of Tehran. *E. coli* as the indicator of pollution of water and food. The reason for this is that the bacteria can be found in the feces in large numbers and their presence in drinking water and food is a risk to consumer's health. genus *Salmonella* is one of 28 genus and most important genus of *Enterobacteriaceae* family. All serotypes of the bacteria are potentially pathogenic and the host range is wide.

Materials and Methods: In this study to evaluate the infection or the lack of infection of bottled water in Tehran, between 10 valid and high consumption brands, 10 brands selected based on the proposed methods in national standards of Iran. 10 samples selected at random with different production dates (100 samples). At first the Samples was tested with MacConkey broth multiple tube fermentation technique (mpn 9 tubes). Then was tested in lactose broth and mpn method (9 tubes). Finally, was tested to the presence or absence of *Salmonella enteritidis* with traditional method (three-stage).

Results: Observations and the results of this study showed none of the samples proved to carry microbial problems as *E. coli* and *Salmonella enteritidis* and were on the standars ranges.

Conclusion: According to the results, bacterial quality in all tested samples in Tehran, is in accordance with national standards and World Health Organization and not threatening consumer's health and is healthful enough to be used for drinking.

Key words: Drinking Water, microbial quality, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, Tehran