

جداسازی *Serratia marcescens* از شیرهای خام تحویلی در کارخانجات شیر پاستوریزه تهران

دکتر افشین آخوندزاده بستی*

واژه‌های کلیدی: سراتیامارسه‌سنس، فساد مواد غذایی، فرآورده‌های شیر، ورم پستان، عفونت‌های بیمارستانی

خلاصه:

با توجه به اهمیت نقش باکتری‌ها خصوصاً خانواده آنتروباکتریاسه در آلودگی و فساد مواد غذایی و متعاقب ارسال پلیت‌های کشت آگار مغذی حاوی پرگنه‌های مشکوک و قرمز رنگ از نمونه‌های شیر خام تحویلی به کارخانه شیر پاستوریزه تهران و با توجه به آنکه کارشناسان کارخانه متعاقب کشت شیرهای خام تحویلی به کارخانه مذکور در چندین نوبت در نمونه‌های کشت، پرگنه‌های قرمز رنگ مشکوک جدا نمودند، سعی بر خالص کردن پرگنه‌ها گردید و پرگنه‌های مذکور پس از خالص‌سازی مورد آزمایش کشت‌های تفریقی قرار گرفته و باکتری مجهول شناسایی و سراتیامارسه‌سنس تشخیص داده شد.

مقدمه:

گونه‌های سراتیا از سال ۱۹۵۸ جزء خانواده آنتروباکتریاسه قرار گرفتند. کوکوباسیل‌های پلی‌مورف کوچکی به اندازه ۰/۵ تا ۰/۸×۰/۹ تا ۲ میکرومتر و معمولاً متحرک و دارای تاژک‌های اطراف‌ی بوده و واجد کپسول کوچکی می‌باشند که با مرکب‌چین نشان داده می‌شود. در دمای ۱۰ تا ۳۶ درجه سانتی‌گراد و pH = ۵-۹ رشد می‌نمایند و ترکیباتی مانند KCl و MgCl₂ و CaCl₂ دارای اثر ممانعت‌کنندگی خوبی بر روی آنها می‌باشد، به طوری که در مطالعه‌ای (۱۹۷۷) که بر روی رشد باکتری‌های مؤثر در فساد مواد غذایی از جمله *S. liquefaciens* به عمل آمده، نشان داده شده است که در یک سیستم مدل، از آبگوشت که در یک محیط یون Na به

طور کامل توسط یون‌های دیگر مانند K و Ca و Mg جایگزین گردیده در شرایط مساوی از نظر pH و aw (water activity) این یون‌ها اثر ممانعت‌کنندگی قوی بر روی *S. liquefaciens*، *Brochothrix thermospacta* و *Lactobacillus plantarum* دارند. پرگنه‌های گونه‌های مختلف سراتیا دارای پیگمان سفید، صورتی یا قرمز می‌باشند، کشت آنها دارای بوی مخصوص ماهی یا ادرار است و دارای ۶ نوع آنتی‌ژنیک زیر می‌باشند (۳۰ و ۲۱، ۱۱):

- | | |
|----------------------|------------------------|
| ۱ - سراتیامارسه‌سنس | <i>S. marcescens</i> |
| ۲ - سراتیالیکوفاسینس | <i>S. liquefaciens</i> |
| ۳ - سراتیاپلی‌موتیکا | <i>S. plymutica</i> |
| ۴ - سراتیارویدی | <i>S. rubidea</i> |

* - گروه آموزشی بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

ورم پستان بالینی و تحت بالینی در گاوها می‌گردند و از نمونه‌های شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان جدا شده‌اند (۲۷).

بیماری‌زایی در انسان :

این باکتری‌ها در انسان به صورت پاتوژن فرصت‌طلب عمل می‌نمایند، در عفونت‌های بیمارستانی زیاد مشاهده شده‌اند (۳۰ و ۱۸، ۱۰، ۸، ۳). بیماری‌هایی که به این باکتری‌ها نسبت داده‌اند عبارتند از مننژیت و مننگوآنسفالیت (۱۹)، عفونتها ادراری (۲۹)، عفونت خون (۳۲ و ۲۵، ۷، ۴)، همراه با آندوکاردیت (۵)، پریکاردیت (۱۵)، پنومونی (۱)، آرتريت، چرکی شدن زخم‌ها (و ۲۴) (۳۱) و عفونت ملتحمه چشم (۱۲). انواعی که پیگمان قرمز تولید می‌نمایند، خلط، ادرار یا مدفوع را به رنگ خون در می‌آورند و سبب نگرانی و اشتباه در تشخیص می‌شوند. در مطالعات انجام شده مشخص گردید که پروتئاز این میکروب‌ها در نفوذپذیری عروق خونی از راه فعال نمودن مسیر فاکتور هگمن نقش دارند (۱۴). از دستگاه دیالیز بیماران کلیوی نیز جدا شده‌اند که موجب ایجاد بیماری در افراد دیالیزی گردید (۱۶). نشان داده شده است که از راه سرم‌های نمکی تزریقی و از راه وسایل تزریق هم انتقال یافته و موجب بیماری شده‌اند (۳۲ و ۲۳، ۲۲).

مواد و روش کار :

این بررسی به دنبال ارسال پلیت‌های کشت آگار مغذی حاوی پرگنه‌های مشکوک و قرمز رنگ، از کارخانه شیر پاستوریزه تهران صورت گرفت، مبنی بر آن که، کارشناسان کارخانه متعاقب کشت شیرهای خام تحویلی به کارخانه مذکور در چندین نوبت در نمونه‌های کشت پرگنه‌های مشکوک قرمز رنگ جدا نمودند. بنابراین در اولین مرحله، از این پرگنه‌ها، بر روی آگار مغذی تجدید

۵ - سراتیا اودوریفرا *S. odorifera*

۶ - سراتیافیکاریا *S. ficaria*

این دسته از باکتری‌ها به وفور در طبیعت بر روی گیاهان، در آب، خاک، گوشت و شیر یافت می‌شوند و در اثر حرارت پاستوریزاسیون از بین می‌روند (۳۰ و ۱۱). این باکتری‌ها سرمادوست بوده و در فساد مواد غذایی از جمله سبزیجات (۲۶ و ۱۱)، تخم‌مرغ (۱۱)، گوشت و فرآورده‌های گوشتی (۲۸ و ۲۰، ۱۷)، شیر و فرآورده‌های آن از جمله کره مؤثر می‌باشند و با تولید پیگمان قرمز رنگ سبب قرمز شدن شیر و فرآورده‌های لبنی می‌گردند (و ۱۱) (۱۳). از اسیدهای آمینه و ترکیبات بیوژن دار ساده به عنوان منبع انرژی استفاده کرده و از این طریق باعث فساد گوشت می‌شوند، در گوشت‌های بسته‌بندی شده، در حلال و بالاتری می‌باشند جزء میکروارگانسیم‌های غالب بوده و سبب تجزیه و فساد می‌گردند (۱۱). به صورت کمانسال در روده و دهان انسان و حیوانات وجود دارند (۱۱). از حشرات نیز جدا گردیده و احتمال آن وجود دارد که در انتقال باکتری حشرات دخالت داشته باشند (۲).

بیماری‌زایی در حیوانات :

برای هیچ یک از حیوانات آزمایشگاهی بیماری‌زایی نیستند مگر آن که به مقدار زیاد به طور تجربی تزریق گردند که در این صورت تولید چرک نموده و به دنبال تزریق به داخل قرنیه و پوست خوکچه‌های هندی در اثر تولید پروتئاز توسط سراتیا سبب نفوذپذیری عروق خونی و تخریب بافتی می‌گردد (۱۴). مشخص گردیده که گونه‌های سراتیا در سقط جنین گاوها در ماه‌های اول مؤثر بوده و از ترشحات رحمی گاوهای سقط کرده (در ماه‌های اول) جدا شده‌اند (۹) و نیز نشان داده شده است که این میکروارگانسیم‌ها سبب

نتایج آزمایشات تأییدی بیوشیمیایی انجام شده در حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت

| محیط حرکت | ژلاتین | VP | MR | آب پیتونه (اندل) | سیترات | نیترات | سوکروز | رامنوز | لاکتوز |
|-----------|--------|------|------|------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| مثبت* | مثبت | مثبت | منفی | منفی | مثبت | مثبت | مثبت | منفی | منفی |

* - باکتری مورد نظر دارای حرکت بوده و سراسر محیط حرکت را فراگرفت.

برجسته) و با توجه به شکل باکتری‌ها در گسترش رنگ‌آمیزی شده که کوکوباسیل پلی‌مورف و گرم منفی بودند و با توجه به خصوصیات باکتری در TSI و آزمایشات بیوشیمیایی تأییدی، باکتری مورد نظر سراتیامارسه سنس تشخیص داده شد و همانگونه که ذکر گردید این باکتری از خانواده آنترباکتریاسه به فور در طبیعت بر روی گیاهان، آب، خاک، گوشت و شیر یافت می‌شود و سبب ایجاد فساد مواد غذایی گشته و با تولید پیگمان قرمز موجب تغییر رنگ در شیر و فرآورده‌های آن شده و در ایجاد تندی و فساد در فرآورده‌های لبنی از جمله کره مؤثر می‌باشد. ولی در اثر حرارت پاستوریزاسیون مناسب از بین می‌رود و نیز همانگونه که بیان گردید به صورت پاتوژن فرصت‌طلب عمل می‌نماید و یکی از عوامل مهم در عفونت‌های بیمارستانی می‌باشد. با توجه به مطلب گفته شده چنین برمی‌آید، که با رعایت اصول صحیح بهداشتی می‌توان از مشکلات و مصائب حاصل از این باکتری تا حدود زیادی جلوگیری به عمل آورد (۳۰ و ۱۳، ۱۱).

تشکر و قدردانی :

در اینجا جا دارد، از اساتید فرازنامه جناب آقای دکتر رضوی‌لر و سرکارخانم دکتر کریم که همیشه افتخار شاگردیشان را داشته و در کلیه مراحل این بررسی این جانب را راهنمایی نموده، کمال تشکر و سپاسگزاری را نمایم.

کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد که در نتیجه پرگنه‌های قرمز رنگ خالص به قطر تقریبی ۱-۲ میلی‌متر، صاف و گرد و کمی برجسته به دست آمد، که در گسترش به عمق آمده بر روی لام و رنگ‌آمیزی گرم، باکتری‌های کوکوباسیل پلی‌مورف، گرم منفی مشاهده گردید.

سپس از این پرگنه‌های قرمز رنگ، بر روی TSI برده شد و مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید که بعد از این مدت، در اثر تخمیر ساکارز، سراسر لوله زرد رنگ و در قسمت سطح TSI که در مجاورت هوا بوده به علت تولید پیگمان قرمز رنگ توسط باکتری، قرمز رنگ گردید که در صورت عدم توجه ممکن است افراد آزمایشگاه این رنگ قرمز را با واکنش قلیایی قرمز رنگ در بالای TSI اشتباه بگیرند :

سپس از TSI جهت آزمایشات تأییدی بیوشیمیایی به ترتیب بر روی قند لاکتوز، رامنوز و سوکروز، نیترات، سیترات، ژلاتین، آب پیتونه (اندل)، MR، VP و محیط حرکت برده و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد که نتایج در جدول بالا آورده شده است.

بحث و نتیجه‌گیری :

با توجه به شکل پرگنه‌ها بر روی آگار مغذی (پرگنه‌های قرمز ۱-۲ میلی‌متری صاف، گرد، کمی

- 21 - Nielsen, H.J.S. and Zeuthen, P. 1984: Microbiology effects of partial or total replacement of sodium in sodium chloride with other cations - model system. International journal of food microbiology 4: 13-24.
- 22 - Oie, S. and Kamiya, A. 1993: Microbial contamination of enteral feeding solution and its pervention. American journal infection diseases control. 21/1: 34-8.
- 23 - Oie, S. and Kamiya, A. 1992: Microbial contamination of enteral feeding solution and its prevention. American journal infection diseases control. 20/4: 202-5.
- 24 - Pegues, D.A. 1991: Serratia marcescens surgical wound infection following breast roconstruction. American journal medicine. 91/36: 1735-1785.
- 25 - Roberts, F.U. 1988: Serratia bacteremia. Diagnosis microbial infection diseases. 2: 127-9.
- 26 - Roberts, T.A. 1981: Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity. International union of microbiological societies. committee on food microbiology and hygiene.
- 27 - Ruegg, P.L. 1992: Microbiologic investigation of an epizootic of mastitis caused by serratia marcescens in dairy herd. Journal American Veterinary medicine association. 200/2: 184-9.
- 28 - Schillinger, U. 1990: Lactic acid bacteria as protective cultures in meat products. Abstract english fleischwirtschaft. 70/11: 11296-1299.
- 29 - Sokalski, S.J. and Jewell, M.A. 1992: An outbreak serratia marcescens in 14 adult cardiac surgical patient associated with 12-lead electrocardiogram bulbs. Arch-internal medicine. 152/4: 841-4.
- 30 - Varnam, A.H. and Evans, M.G. 1991: Food borne pathogens. Wolfe publication.
- 31 - Walderman. F. 1987: Fistulous pyoderma by serratia liguefaciens. Hautarzt. 38/1: 36-39.
- 32 - Wood Field, D.G. 1991: Transfusion acuires settatia liguefaciens septicemia. N.Z.Med.J. 104/909: 141.

References :

- 1 - Ageev, A.K. 1981: Pathological anatomy and some problems of pathogenesis of acute pneumonias of different etiology. ARCH - pathology. 43/9: 3-10.
- 2 - Benoit, T.G. and Wilson, G.R. 1990: Isolation and pathogenicity of serratia marcescens from adult house flies infected with entophora musca, journal of invertebral pathology. 55/1: 142-144.
- 3 - Bingen, E.H., Marian, Kurkdjian, P. 1992: Ribotyping provides differentiation of nosocomial serratia marcescens isolates in a pediatric hospital. Journal of clinical micorbiology. 30/8: 2088-91.
- 4 - Bouza, E. 1988: Serratia Bacteremia. Diagnosis of microbial infection disease. 9/3: 193.
- 5 - Cooper, R. and Mills, J. 1980: Serratia endocarditis. A follow up report. ARCH - International - medicine. 140/2: 199-202.
- 6 - Cortes, J.L. 1988: Sequential epidemic outbreaks of septicemias by serratia and klebsialla species on a medical intensive care unit. intensive care medicine. 14/2: 136-140.
- 7 - Cetre, J.C. 1988: Nosocomial septicemia and psuedobacteremia caused by serratia marcescens. presse-medicine. 18: 17/24: 1255-8.
- 8 - Cortia, Jimenez, V.R. 1991: Partial characterization of serratia marcescens nosocomial strains. ARCH - Invest - Med - Mex. 22/3-4: 273-8.
- 9 - Das, A.M., Paranjape, V.L. 1988: Serratia marcescens infection associated with early abortion in cows and buffaloes. Epidemiology of infection diseases. 101/1: 143-149.
- 10 - Flores and Calderon, J. 1988: Serratia marcescens epidemic outbreak in a neonatology Service. Bol - Med - Hosp - Infant - Mex. 45/8: 512-6.
- 11 - James, M. Jay 1991: Modern food microbiology. Fourth edition van anostrand Reinhold.
- 12 - Johnson, D.H. 1992: Postoperative serratia marcescens endophthalmitis. Heartiung. 21/3: 300-302.
- 13 - Jonickesson, J. and Anthony, J. 1974: Microbiology of foods and food processing. Elsevier.
- 14 - Kamata, R. 1985: A serratial protease causes, vascular perneability quinea pigs. Infect-Immun. 48/3: 747-753.
- 15 - Khan, M.Y. 1983: Subacute constrictive pericarditis from serratia marcescens bacteremia. Human pathology. 14/12: 1089-1091.
- 16 - Krishnan, P.U. 1991: Epidemiological study of an outbreak of serratia marcescens in a haemodialysis unit. Jounarl of hispital infection. 18/1: 57-61.
- 17 - Maxcy, R.B. 1972: Study of control of some public health pathogens in meat. Isotopes and Radiaiton technology. 9/3: 292-294.
- 18 - McAllister, I.A. and Lucas, C.E. 1989: Serratia marcescens outbreak in a paediatric oncology unit traced to contaminated chlorhexidine. Scott - Medical - Journal. 34/5: 325-328.
- 19 - Nakamura, Y. and Nohara, M. 1984: Meningoencephalitis due to serratia marcescens infection in neonates. Humman pathology. 15/7: 651-656.
- 20 - Nielsen, H.J.S. 1986: Growth studies of spoilage and pathogenic bacteria in vacuum packed bologha type sausage produced with NaCl or mixed NaCl and Kcl. Food rnicrobiology. 3/2: 151-155.

Isolation of *Serratia marcescens* from raw milk in Tehran milk pasteurization plant

Akhoondzadeh Basti, A.*

Key words: *Serratia marcescens*, food spoilage, dairy products, mastitis, hospital infections

Summary :

Several nutrient agar plates with red colonies were dispatched to the laboratory from Tehran milk pasteurization plant which were cultured from milk samples. To determine the microbe, the colonies were streaked on the nutrient agar and incubated at 30°C for 24 hrs. The red round and smooth colonies with 1-2 mm in diameter developed on the agar surface which were transferred on TSI tubes and incubated at 30°C for 24 hrs. The result was yellowish (acid) reaction through the TSI tube with red pigment producing on the top of the tube. The smears were prepared and gram stained and polymorph gram negative bacteria observed which were analyzed by biochemical test such as lactose, Rhamnose, Sucrose, Citrate, Nitrate, Pepton water, MR-VP, Gelatine and Motility.

The bacterium was identified *Serratia marcescens* which has an important role in the spoilage of the food e.g. milk and milk products and produces red pigments on the butter and other long life dairy products.

* - Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.