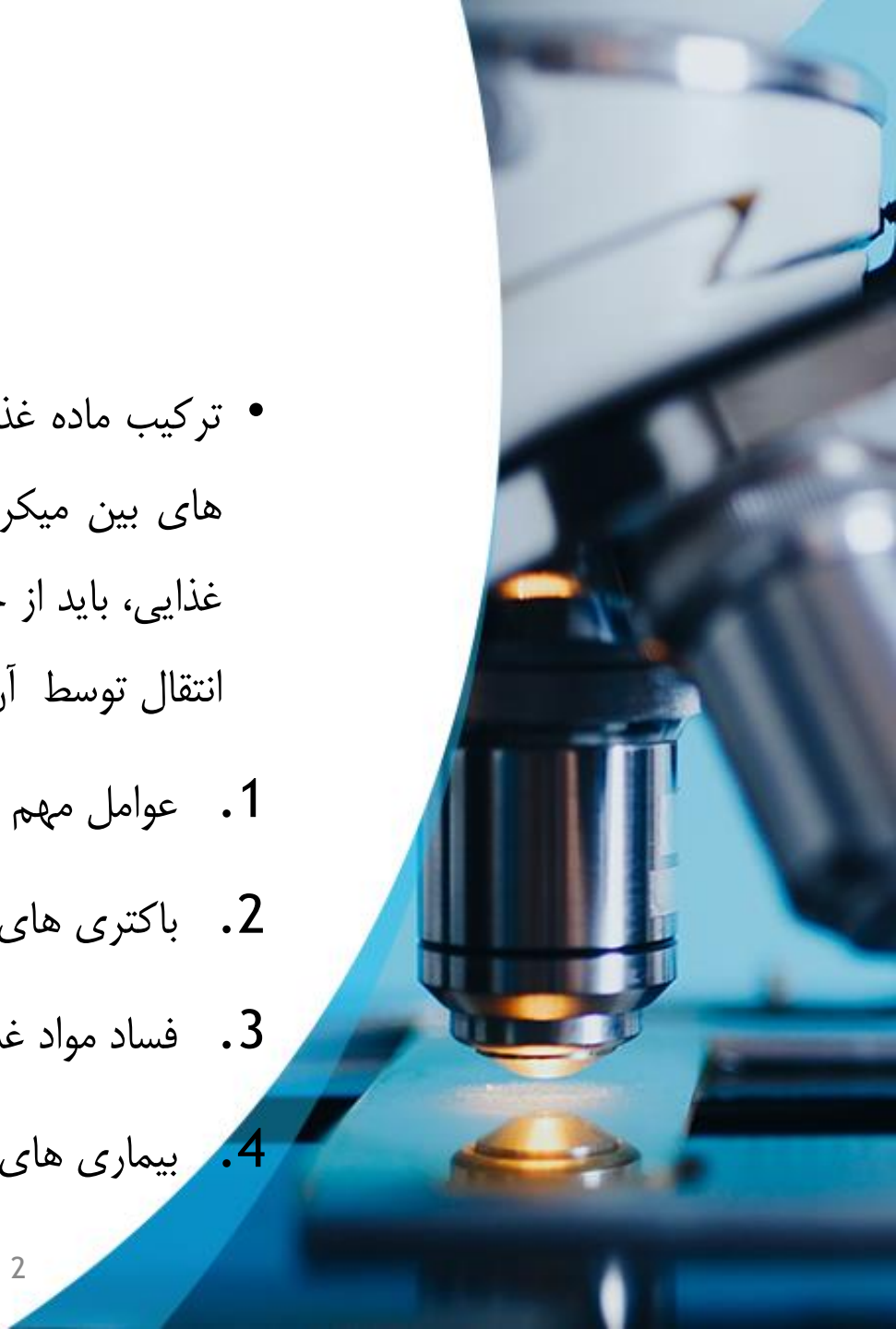
میکروبیولوژی مواد غذایی
انتروباکتریاسه

نصیرپور
کارشناس آزمایشگاه معاونت غذا و دارو

ماده غذایی و میکروارگانیسم ها

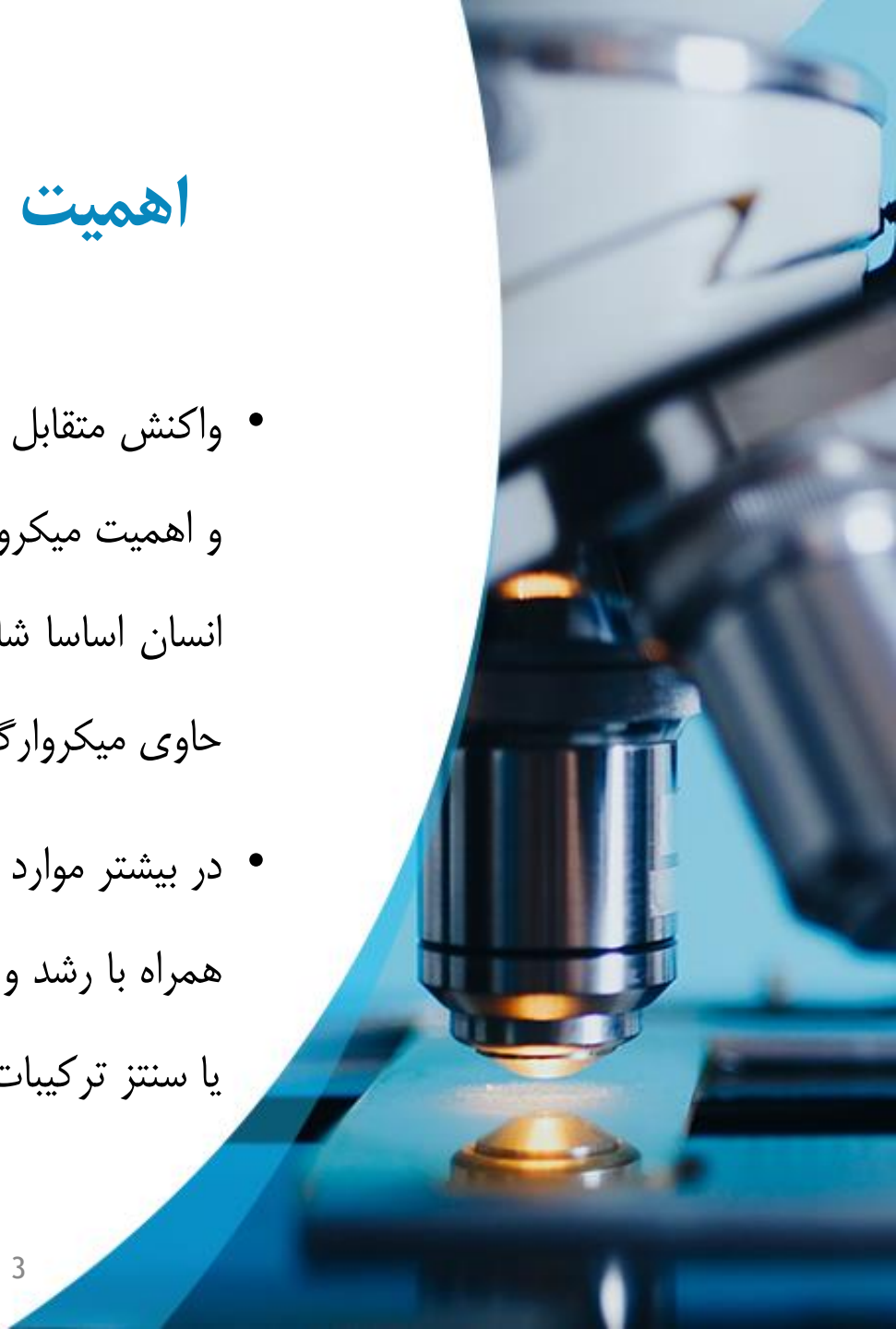
- ترکیب ماده غذایی، تعیین کننده ی فلور میکروبی آن است و صرفاً با دانستن این مطلب می توانیم واکنش های بین میکروارگانیسم ها و مادّه ی غذایی را بررسی کنیم. برای درک خصوصیات میکروبی یک ماده غذایی، باید از خصوصیات شیمیایی ماده ی غذایی و همچنین ویژگی میکروارگانیسم های قابل رشد یا قابل انتقال توسط آن ماده ی غذایی اطلاع داشته باشیم.

1. عوامل مهم موثر بر میکروبیولوژی مواد غذایی
2. باکتری های خانواده ی انتروباکتریاسه
3. فساد مواد غذایی ناشی از باکتری های انتروباکتریاسه
4. بیماری های باکتریایی خانواده ی انتروباکتریاسه ناشی از مواد غذایی



اهمیت و نقش میکروارگانیسم ها در طبیعت و مواد غذایی

- واکنش متقابل بین میکروارگانیسم ها ، گیاهان و حیوانات یک موضوع طبیعی و ثابت است.نقش اکولوژیکی و اهمیت میکروارگانیسم ها در چرخه های شیمیایی طبیعت به خوبی مشخص است.و از آنجا که منبع غذایی انسان اساسا شامل گیاهان ،حیوانات یا فرآورده های حاصل از آنهاست، کاملا بدیهی است که منابع غذایی حاوی میکروارگانیسم هایی است که با غذا در تماس هستند.
- در بیشتر موارد میکروارگانیسم ها از مواد غذایی به عنوان منبع مورد نیاز تغذیه ی خود استفاده می کنند. آنها همراه با رشد و تکثیر، استفاده از مواد مغذی، ایجاد تغییرات آنزیمی و تغییر طعم ناشی از تجزیه ی یک ماده یا سنتز ترکیبات جدید، بر روی کیفیت ماده غذایی نهایی اثرات نا مطلوب می گذارند.



غذا ماده ای مناسب برای میکروارگانیسم ها

- برای جلوگیری از رشد و فعالیت میکروارگانیسم ها در مواد غذایی باید :

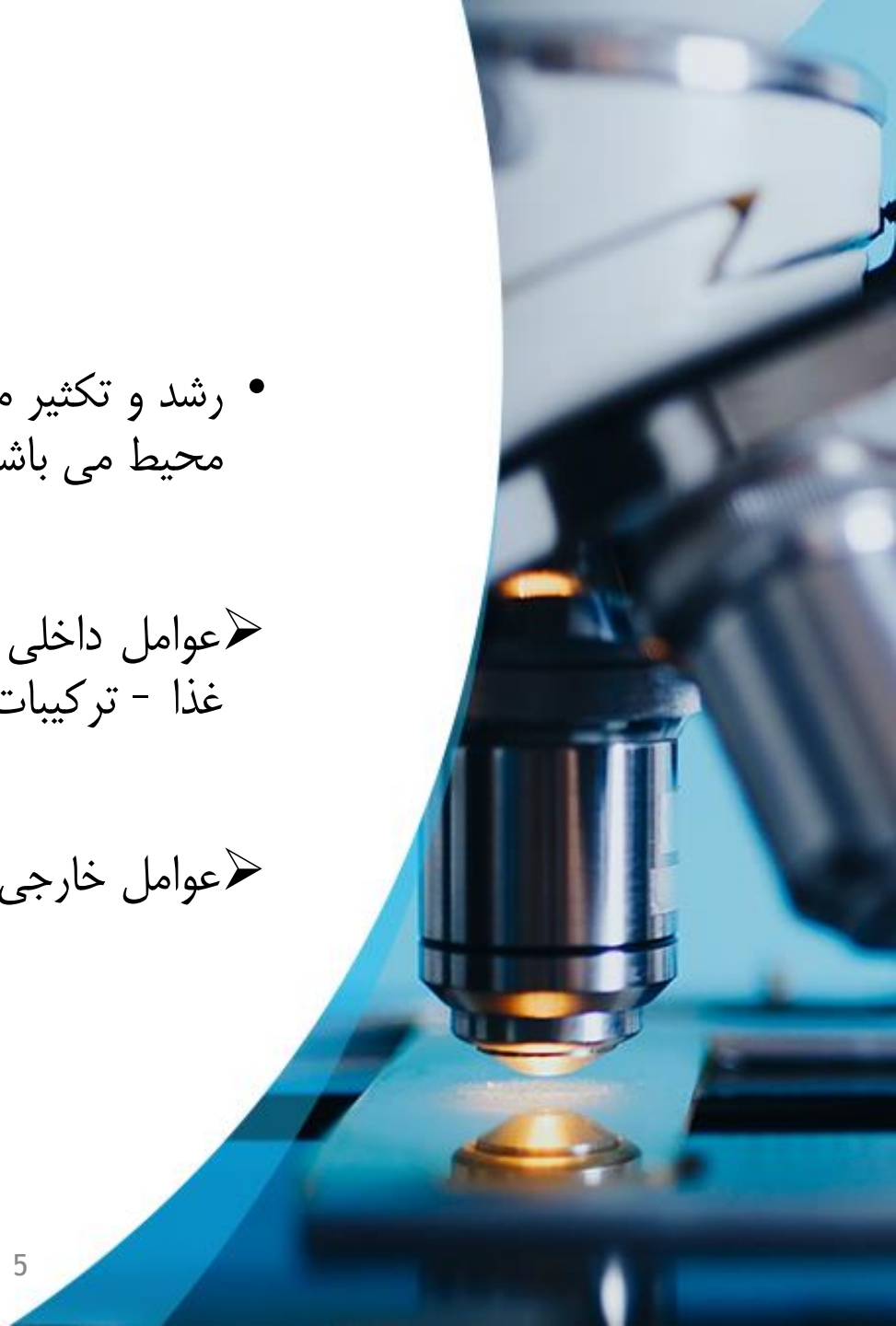
1. به حداقل رساندن تماس میکروارگانیسم ها با مواد غذایی
2. حذف کردن میکروارگانیسم ها از مواد غذایی
3. فراهم نمودن شرایط نگهداری مناسب برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم ها

عوامل موثر بر رشد میکروارگانیسم ها

- رشد و تکثیر میکروارگانیسم ها در مواد غذایی تحت تاثیر فاکتور های موجود در غذا و فاکتور های محیط می باشد:

➢عوامل داخلی : (pH غذا - درصد رطوبت غذا - پتانسیل اکسیداسیون و احیا Eh - مواد مغذی غذا - ترکیبات ضد میکروبی موجود در غذا - ساختمان بیولوژیکی)

➢عوامل خارجی : (درجه حرارت انبار - رطوبت نسبی - حضور و غلظت گازها در محیط)



عوامل داخلی

۱- pH غذا

- اسیدیته یا قلیاییت یک محیط تاثیر زیادی بر ثبات و فعالیت مولکول های بزرگی نظیر آنزیم ها دارد، از این رو رشد و متابولیسم میکروارگانیسمها بوسیله pH تحت تاثیر قرار میگیرد.حداکثر رشد میکروارگانیسمها در pH حدود ۷ (۷/۵-۶/۶) صورت میگیرد.
- اثرات منفی pH را حداقل بر دوجنبه از فعالیت سلول میکروبی می توان مشاهده کرد: ۱- فعالیت ویژه ی آنزیمی و ۲- انتقال ترکیبات مغذی در داخل سلول
- علاوه بر اثر میزان pH بر سرعت رشد میکروارگانیسم ها، میزان بقای آنها نیز در طول فرآوری و نگهداری محصول غذایی به pH وابسته است.

کپک ها > مخمر ها > باکتری ها

افزایش حساسیت به تغییر pH

محدوده pH	نوع میکروارگانیسم
۰-۱۱	کپک ها
۱/۵-۸/۵	مخمر ها
۳/۵-۱۰/۵	باکتری های اسید لاکتیک

pH	ماده غذایی
اسیدی	میوه ها
۶	سبزیجات
۶/۳-۶/۵	شیر
۵/۱-۵/۲	گوشت
۶/۶-۶/۸	ماهی

۲- درصد رطوبت

- آب مورد نیاز برای رشد میکرو ارگانیسم ها یا به اصطلاح فعالیت آبی که با aw نشان داده می شود، عبارت است از نسبت فشار بخار آب در ماده غذایی در یک دمای معین به فشار بخار آب خالص در همان دما.

$$aw = \frac{P}{P0}$$

- میزان aw برای اکثر غذاهای خام و تازه ۹۹٪ است. میزان aw با رطوبت نسبی هوای اطراف ماده غذایی در تعادل است.چنانچه رطوبت نسبی اطراف یک ماده غذایی از aw کمتر باشد، سطح ماده ی غذایی خشک می شود و در مقابل اگر رطوبت نسبی بیشتر از aw باشد ،ماده ی غذایی مقداری از آب را جذب می کند.

- $aw = \frac{ERH}{100}$

ارگانیسم	حداقل aw
اکثر باکتری های مولد فساد	۰/۹
اکثر مخمرهای مولد فساد	۰/۸۸
اکثر کپک های مولد فساد	۰/۸
کپک های خشکی دوست	۰/۶۱
مخمرهای اسموفیلیک	۰/۶

کپک ها < مخمر ها < باکتری های گرم مثبت < باکتری های گرم منفی

افزایش نیاز آبی

- برای غیر قابل دسترس نمودن آب مواد غذایی مورد نیاز میکرو ارگانیسم ها روش های مختلفی وجود دارد که مهم ترین آنها عبارتند از :

1. افزودن املاح و یون های مختلف به ماده ی غذایی که باعث جذب آب می شود. بنابراین افزایش غلظت مواد حل شونده مانند نمک ها و قند ها در خشک کردن ماده ی غذایی موثر است.
2. افزودن کلوئیدهای آب دوست یا ژل ها نیز آب را از دسترس میکروارگانیسم ها خارج می کند.
3. کریستاله نمودن یا تبخیر آب مواد غذایی یکی دیگر از روش های کاهش aw است.

اثرات کاهش aw بر روی سلول :

- طولانی شدن فاز کمون
- کاهش رشد و تکثیر سلول
- تاثیر بر نفوذپذیری غشاء سلولی در نتیجه ی کاهش انتقال مواد غذایی
- تاثیر بر متابولیسم درون سلولی

۳- پتانسیل اکسیداسیون و احیا

- فشار جزئی اکسیژن اطراف ماده ی غذایی و پتانسیل اکسیداسیون - احیا آن، تعیین کننده ی نوع میکروارگانیسمی است که می تواند در آن رشد کند و تغییراتی را در آن به وجود آورد.
- تقسیم بندی میکروارگانیسم ها بر اساس پتانسیل اکسیداسیون احیا مورد نیاز به صورت زیر است:

➢ میکروارگانیسم های بی هوازی که نیاز به Eh منفی (شرایط احیا کننده)دارند. مانند باکتری های جنس کلستریدیوم

➢ میکروارگانیسم های هوازی که نیاز به Eh مثبت (شرایط اکسنده) دارند. مانند باکتری های جنس باسیلوس

➢ میکروارگانیسم های میکروآئروفیل که در شرایط کمی احیاءشده بهتر رشد می کنند مانند لاکتوباسیلوس ها واسترپتوکوکوس ها

➢ میکروارگانیسم های بی هوازی اختیاری که در شرایط هوازی و بی هوازی قادر به رشد می باشند.

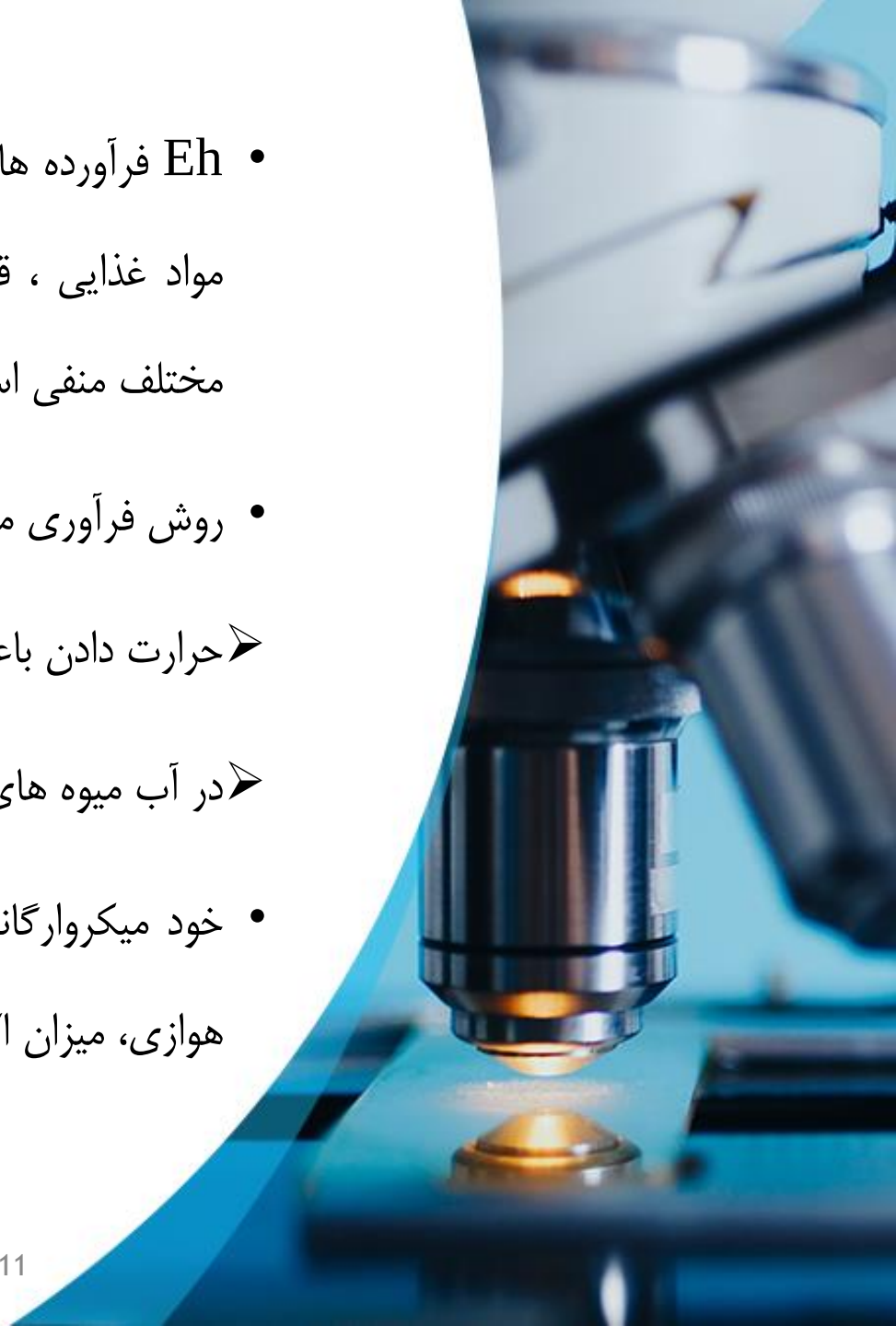
- Eh فرآورده های گیاهی به ویژه عصاره ی میوه ها و سبزی ها مثبت بوده و لذا عامل اصلی فساد این نوع مواد غذایی ، قارچ ها و باکتری های هوازی هستند، در حالی که Eh قطعات بزرگ گوشت و پنیرهای مختلف منفی است و بدیهی است که انواع بی هوازی سبب فساد آنها می شود.

- روش فرآوری مواد غذایی نیز بر روی Eh ماده ی غذایی تاثیر می گذارد به عنوان مثال:

➢حرارت دادن باعث تخریب عوامل اکسنده یا احیا کننده می شود.

➢در آب میوه های صاف شده به دلیل خارج شدن مواد احیا کننده در طول فیلتراسیون Eh تغییر می کند.

- خود میکروارگانیسم ها همانند pH بر Eh نیز تاثیر دارند. بدین شکل که همزمان با رشد میکروب های هوازی، میزان اکسیژن محیط کاهش می یابد و این پدیده باعث کاهش Eh می گردد.

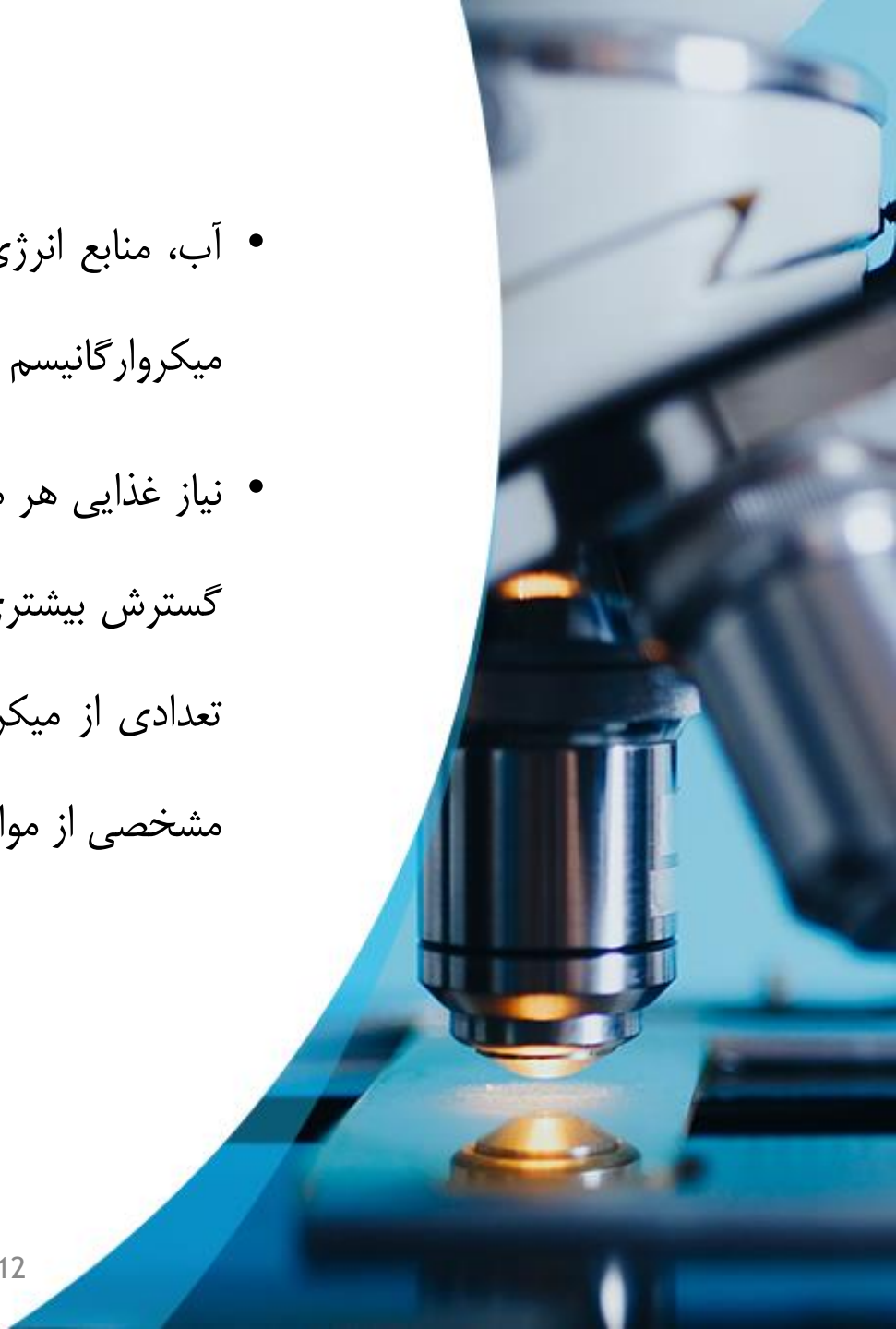


٤- میزان ترکیبات مغذی

- آب، منابع انرژی، منابع ازت، املاح، ویتامین ها و فاکتورهای تشدید کننده ی رشد از عوامل موثر بر رشد میکروارگانیسم ها هستند.
- نیاز غذایی هر میکروارگانیسم محدوده ی مشخصی دارد. برای بعضی از گونه ها مانند کلی فرم این محدوده گسترش بیشتری دارد و قادرند در مواد غذایی مختلفی رشد کنند. اما در مورد سایر میکروارگانیسم ها مانند تعدادی از میکروبهای بیماری زا این محدوده گسترش کمتری دارد و میکروارگانیسم تنها در حضور تعداد مشخصی از مواد غذایی رشد می کند.

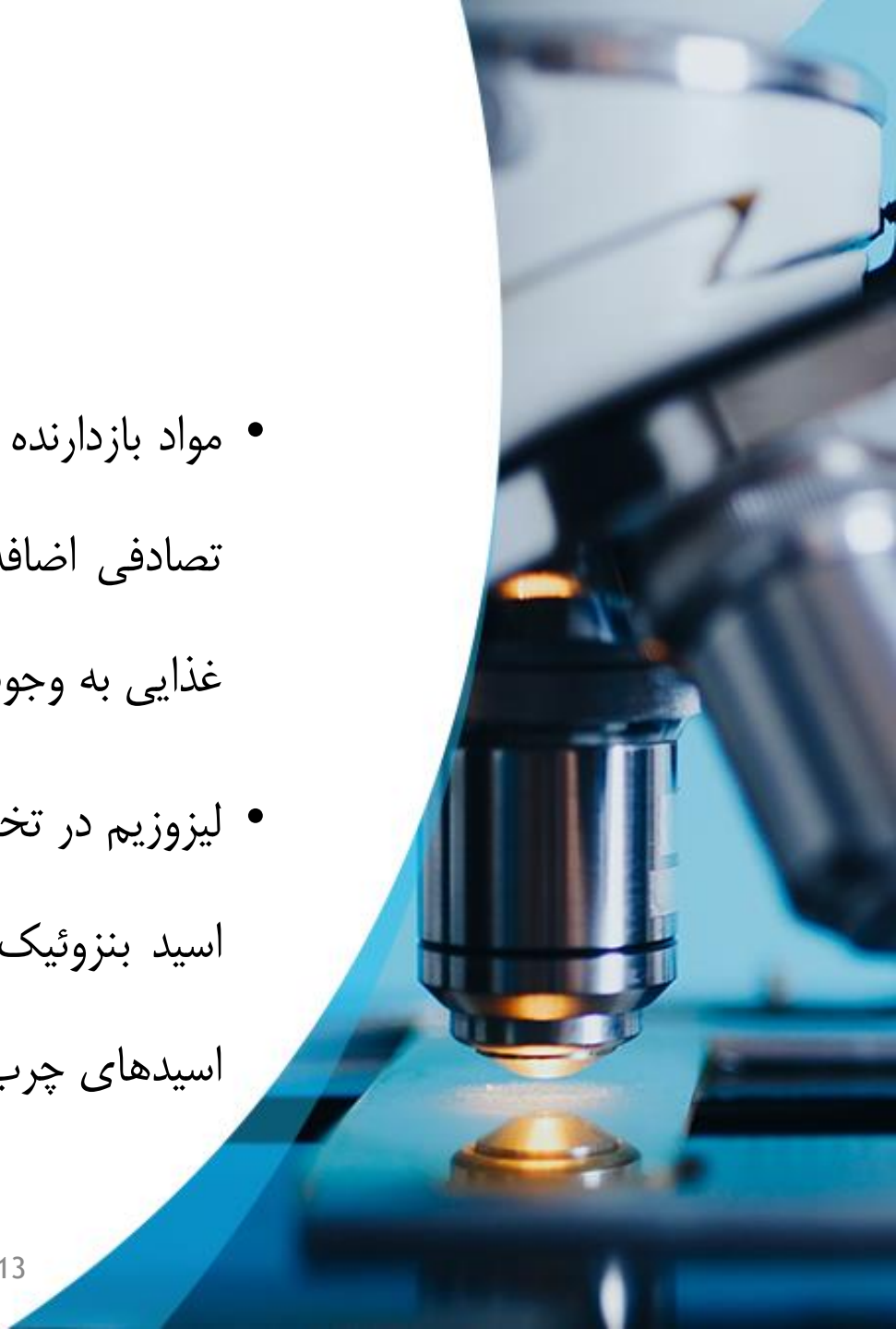
کپک ها < مخمر ها < باکتری های گرم منفی < باکتری های گرم مثبت

افزایش نیاز به ترکیبات مغذی



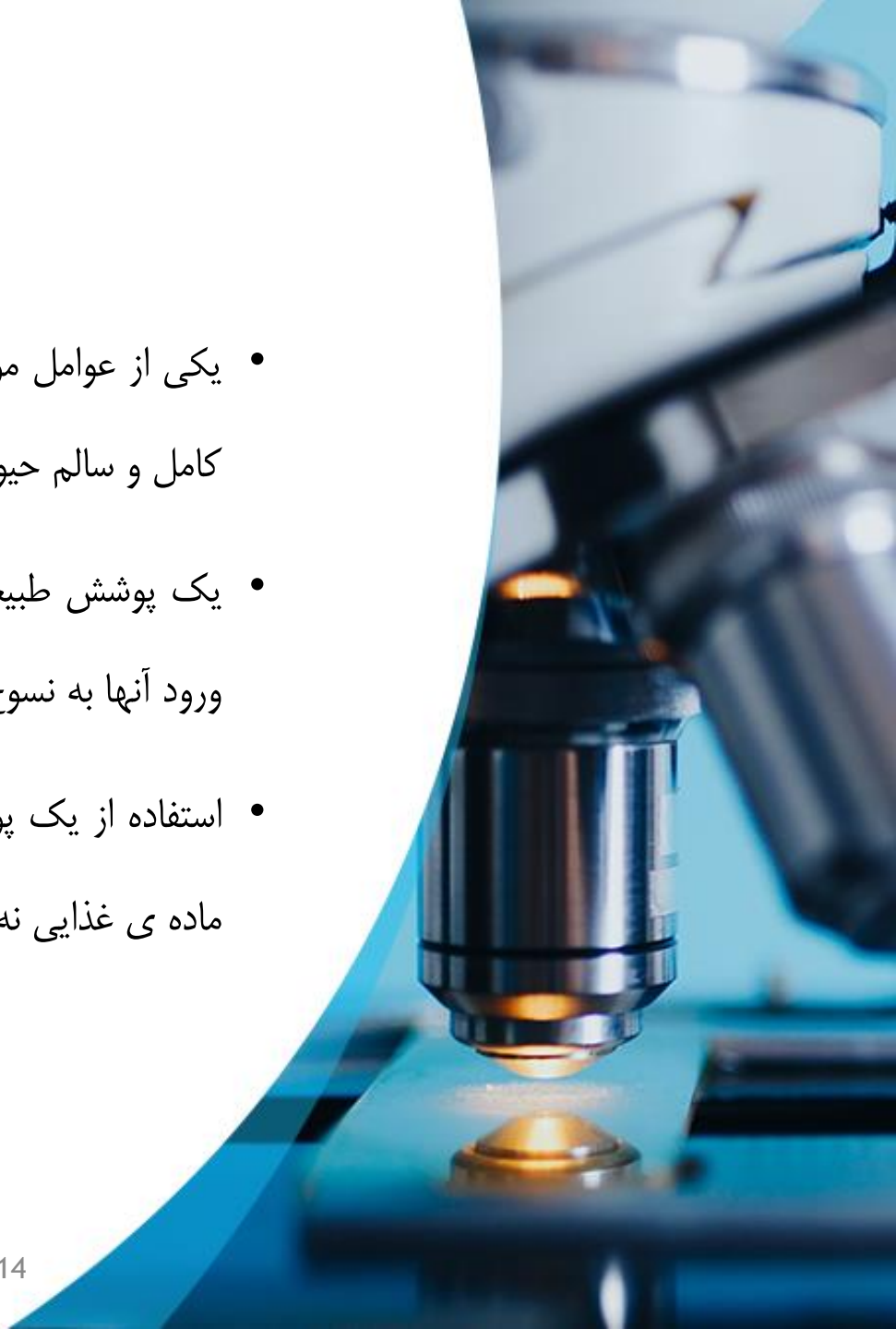
۵- میزان ترکیبات ضدمیکروبی

- مواد بازدارنده ای که در مواد غذایی مشاهده می شود، ممکن است به صورت طبیعی، عمدی و یا تصادفی اضافه شده باشند و یا اینکه در اثر رشد میکروارگانیسم ها و یا به هنگام فرآوری مواد غذایی به وجود آمده باشند.
- لیزوزیم در تخم مرغ ، آلیسین در سیر ، سینامیک آلدهید در دارچین ، آلیل ایزوتیوسیانات در خردل ، اسید بنزوئیک و سایر اسیدها در میوه جات و در نهایت لاکتوفرین ، لاکتوپراکسیداز ،کازئین و اسیدهای چرب در شیر.



٦- ساختمان بیولوژیکی

- یکی از عوامل موثر در محافظت ماده ی غذایی در برابر فساد ساختار بیولوژیکی آن است. قسمت های داخلی بافتهای کامل و سالم حیوانات و گیاهان زنده استریل بوده و یا بار میکروبی کمی دارند.
- یک پوشش طبیعی در اطراف برخی از مواد غذایی وجود دارد که محافظ خوبی در مقابل میکروارگانیسم ها بوده و از ورود آنها به نسوج و بافت های داخلی جلوگیری می کند.
- استفاده از یک پوشش مصنوعی (پلاستیک یا موم) برای پوشاندن مواد غذایی استفاده می شود. این حفاظت فیزیکی ماده ی غذایی نه تنها در نگهداری آن موثر است بلکه در تعیین نوع، شدت و میزان فساد هم دخالت دارد.



عوامل خارجی

۱- درجه حرارت انبار

- دامنه ی حرارتی مناسب برای فعالیت میکروارگانیسم ها بسیار گسترده است. میکروارگانیسم ها در رابطه با درجه حرارت به سه دسته تقسیم می شوند:

1. سایکروفیل ها یا سایکروتروف : ارگانیسم هایی که درجه حرارت کمتر از ۲۰ درجه سانتیگراد را به خوبی تحمل می کنند.
2. مزوفیل ها : میکروارگانیسم هایی که در دمای ۲۰ تا ۴۵ درجه سانتیگراد به خوبی رشد و تکثیر می نمایند.
3. ترموفیل ها: مبکروارگانیسم های ترموفیل دمای ۴۵ درجه ی سانتیگراد یا بالاتر را به خوبی تحمل می کنند.

- عموما میکروارگانیسم های عامل فساد مزوفیل یا سایکروفیل هستند.

۲- رطوبت نسبی محیط

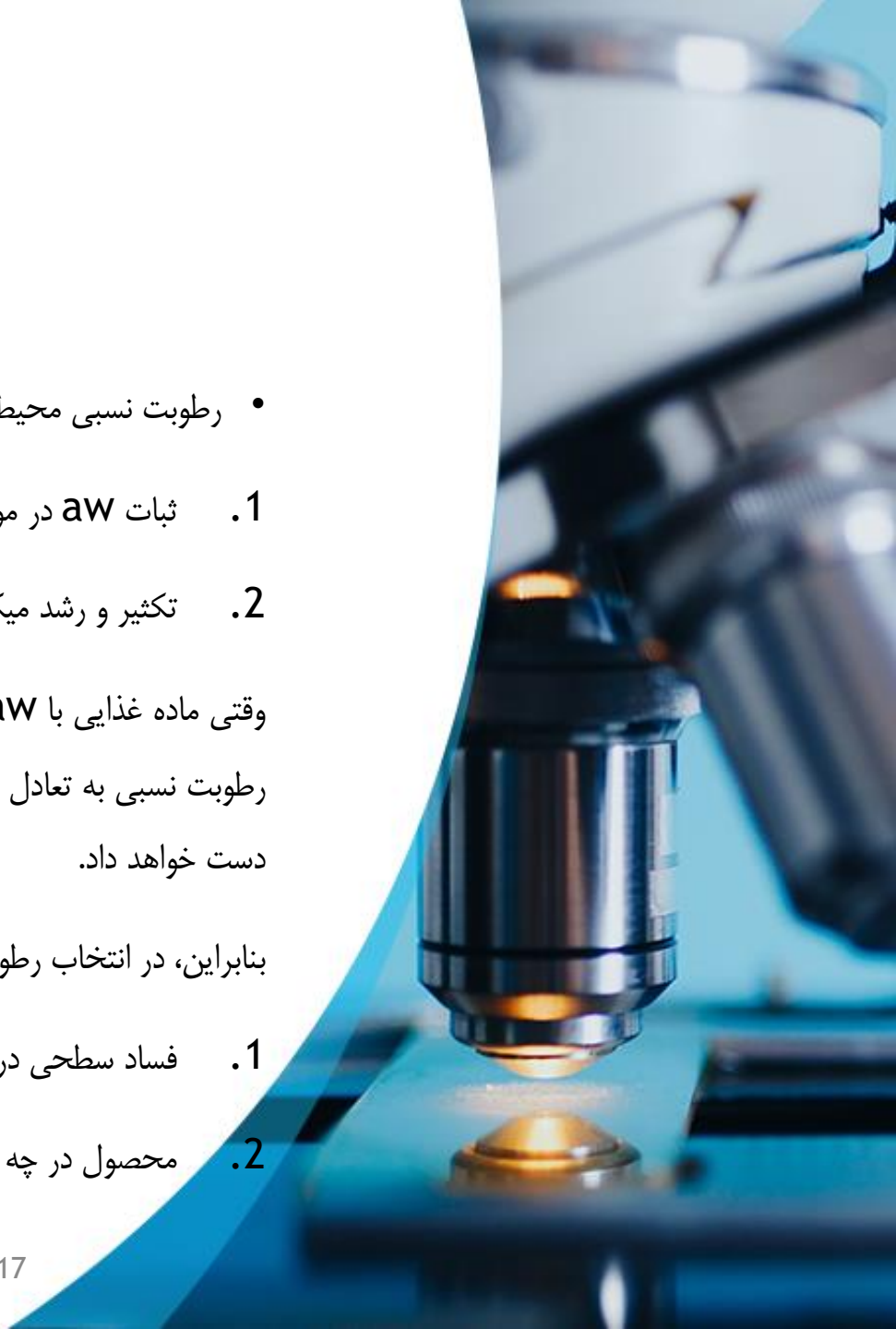
- رطوبت نسبی محیط از دو نظر حائز اهمیت است:

1. ثبات aw در مواد غذایی انبار شده
2. تکثیر و رشد میکروارگانیسم ها در سطح فرآورده های غذایی

وقتی ماده غذایی با aw پایین در اتمسفری با رطوبت نسبی بالا واقع شود، شروع به جذب رطوبت از محیط خواهد کرد و این عمل تا زمانی که رطوبت نسبی به تعادل برسد ادامه پیدا میکند. همین طور غذایی که aw بالایی دارد ، چنانچه در محیطی با رطوبت نسبی کم قرار گیرد، آب از دست خواهد داد.

بنابراین، در انتخاب رطوبت نسبی محیط، همواره باید دو پارامتر را با هم در نظر گرفت:

1. فساد سطحی در کدام رطوبت نسبی به وجود می آید؟
2. محصول در چه رطوبت نسبی نگهداری شود تا حداقل تغییرات کیفی در آن پدید آید؟



۳- حضور و غلظت گازها در محیط

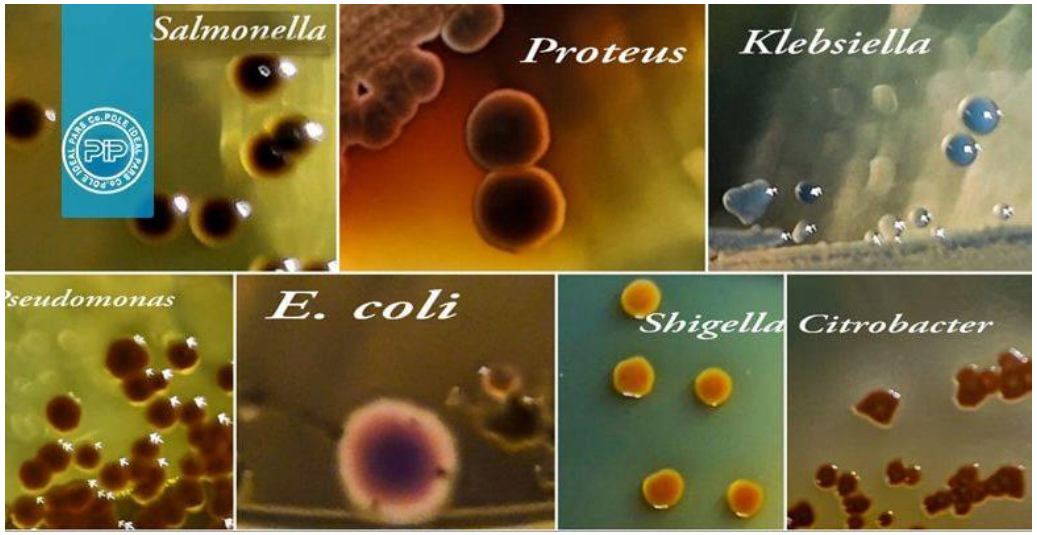
- یکی از عوامل خارجی موثر بر فعالیت میکروارگانیسم ها، حضور و غلظت گازها در محیط است.
- انبار با اتمسفر کنترل شده : انبار هایی که میزان Co2 در فضای آن بیشتر از ۱۰ درصد باشد.
- غلظت گاز Co2 در به تاخیر انداختن فساد مواد غذایی به ویژه میوه ها موثر است. معمولا اثر بازدارندگی Co2 با کاهش دما، افزایش می یابد. حساسیت باکتری های گرم منفی نسبت به گاز Co2 بیشتر از انواع گرم مثبت ها است.
- یکی دیگر از گاز هایی که برای نگهداری مواد غذایی بکار می رود گاز ازن است، ولی از آنجا که این گاز یک اکسیدان قوی می باشد، جهت نگهداری مواد غذایی پرچرب استفاده نمی شود.
- اثر متقابل میکروارگانیسم ها بر روی یکدیگر
  - ۱-Antagonstic
  - ۲- Symbiotic
  - ۳- Synergistic
  - ۴- Metabiotic
- **Hurdle concept: به کار گیری چندین روش یا فاکتورهای مختلف با هم برای کنترل فعالیت میکروارگانیسم ها**

طبقه بندی باکتری ها

- امروزه طبقه بندی مدرن باکتری ها بر اساس مولکول 16s rRNA می باشد.
- مطابق با آخرین طبقه بنی سیستماتیک منتشر شده در Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology 2001 کلیه باکتری هایی که در میکروبیولوژی مواد غذایی مطرح می شوند در ۹ رده ی آلفا پروتئوباکتریا ، بتا پروتئوباکتریا ، گاما پروتئوباکتریا ، اپسیلون پروتئوباکتریا ،هالوباکتریا، فلاوباکتریا، باسیلی،کلستریدیا و اکتینوباکتریا قرار می گیرند.
- از این ۹ رده ی باکتریها، ۱۹ راسته در میکروبیولوژی مواد غذایی اهمیت دارند.
- راسته انتروباکتریالس و خانواده انتروباکتریاسه دارای اهمیت زیادی در صنایع غذایی می باشد.

خانواده انتروباکتریاسه

- خانواده انتروباکتریاسه شامل شامل گروهی از باکتری های تولید کننده اسیدهای آلی می باشند که در بین مجموع اسید های ایجاده شده ، تولید اسید فرمیک از خصوصیات بارز این خانواده می باشد به همین دلیل این باکتری ها، اسید فرمیک باکتری ها نیز لقب گرفته اند.
- از طرف دیگر چون در حین تخمیر مواد غذایی به وسیله این باکتری ها اسید های آلی تولید می شود به باکتری های اسید های آلی نیز معروف هستند.



مشخصات کلی خانواده انتروباکتریاسه

- گرم منفی
- میله ای شکل
- بی هوازی اختیاری
- از نظر احتیاجات غذایی کم توقع
- گلوکز و تعدادی از کربوهیدرات های دیگر توسط ارگانیسم های این خانواده با ایجاد اسید و گاز تخمیر می شوند.
- قادر به تبدیل نیترات به نیتریت به غیر از اروینیا
- متحرک به جز شیگلا و کلبسیلا
- غیر کپسوله به جز کلبسیلا
- **کلی فرم ها :** کلی فرم ها به اعضای به خصوصی از این خانواده گفته می شود که قادرند لاکتوز را همراه با تولید گاز تخمیر کنند.در کتاب روشهای استاندارد آزمایش آب و فاضلاب تعریف کلی فرم ها به این صورت است: کلی فرم ها عبارتنداز باکتری های میله ای شکل، هوازی بی هوازی اختیاری ، گرم منفی بدون هاگ که لاکتوز را در حرارت ۳۵ درجه سانتیگراد در مدت ۴۸ ساعت تخمیر و تولید گاز می کنند.

Enterobacteriaceae

Lactose fermenters

Non-lactose fermenter

E. coli, Citrobacter, Klebsiella, Enterobacter

Salmonell, Shigella Proteus, Yersinia

Enterobacteriaceae

opportunistic pathogens: organisms that can only cause disease under certain condition or certain hosts.

primary pathogen: organism capable of causing disease on anyone.

E. coli, Citrobacter, Proteus, Enterobacter, Serattia , Klebsiella

Salmonell, Shigella E.coli , Yersinia, Klebsiella

انتروباکتر

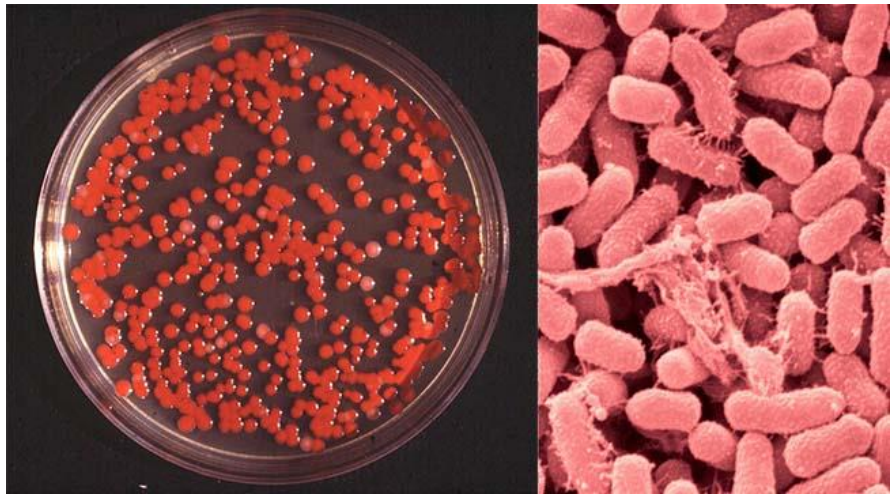
- انتروباکتر کم توقع است و به طور وسیعی در طبیعت پراکنده می باشد، با این حال بیشترین فراوانی را بر روی گیاهان ،آب و همچنین لوله ی گوارش دارد.
- این باکتری ها دامنه ی حرارتی گسترده ای را تحمل می کنند.
- در حین سوخت و ساز مواد ، بیشتر همراه با ایجاد بوی نا مطبوع ، حالت لزج و چسبنده ای در سطح مواد به وجود می آورند.
- انتروباکتر آئروجینس بر روی گیاهان و فرآورده های گیاهی زندگی می کند، اما در روده ی انسان و حیوانات هم دیده می شود.
- گلوکز و لاکتوز را با تولید اسید و گاز تخمیر می کنند و در حین تخمیر، میزان گاز Co2 تولیدی دو برابر یا بیشتر از H2 تولیدی است.
- برای شناسایی دقیق و تفکیک اشرشیاکلی و انتروباکتر از یکدیگر از مجموعه ی آزمایش ها که

تحت عنوان IMViC استفاده می شود.

اشرشیا

- اشرشیا در انتهای روده ی تمام حیوانات خونگرم وجود دارد.
- از لحاظ میزان بعد از باکتری های *باکتروئیدیس و بیفیدوباکتریوم* بالاترین میزان را دارا می باشد.
- در برابر خشکی و مواد شیمیایی گندزدا مقاوم است ولی در حرارت پاستور از بین می رود. در این جنس ۴ گونه شاخته شده است .مهم ترین گونه ای که در این جنس از هر جهت مورد توجه واقع شده است *اشرشیا کلی* است.حضور باکتری اشرشیا در مواد غذایی غیر مطلوب تشخیص داده شده است زیرا در صورت وجود در مواد خوراکی همواره خطر آلودگی آنها به میکروب های روده ای بیماری زا نیز وجود دارد. از این جهت به عنوان شاخص بهداشتی مواد غذایی به خصوص در شیر خام و آب معرفی شده است.
- برای جداسازی اشرشیاکلی از مواد غذایی آلوده و مشکوک از محیط های انتخابی که حاوی مواد رنگی و باکتریواستاتیک است استفاده می شود. این محیط ها مانع رشد برخی از میکروارگانیسم ها شده و به علاوه پرگنه های اشرشیا در روی آنها منظره ی مشخصی دارد مثلا پرگنه این باکتری در محیط EMB دارای رنگ سبز متالیک و در محیط مک کانکی قرمز رنگ می باشد.
- در این گروه ۳ گروه آنتی ژن وجود دارد:
  - آنتی ژن O: آنتی ژن پیکره یا غشا خارجی است که مقاوم به حرارت است.
  - آنتی ژن H: آنتی ژن تاژک است که در باکتری های متحرک وجود دارد.
  - آنتی ژن K: اسم دیگر آن آنتی ژن B است و آنتی ژن کپسول بوده و به حرارت حساس می باشد.

سراتیا



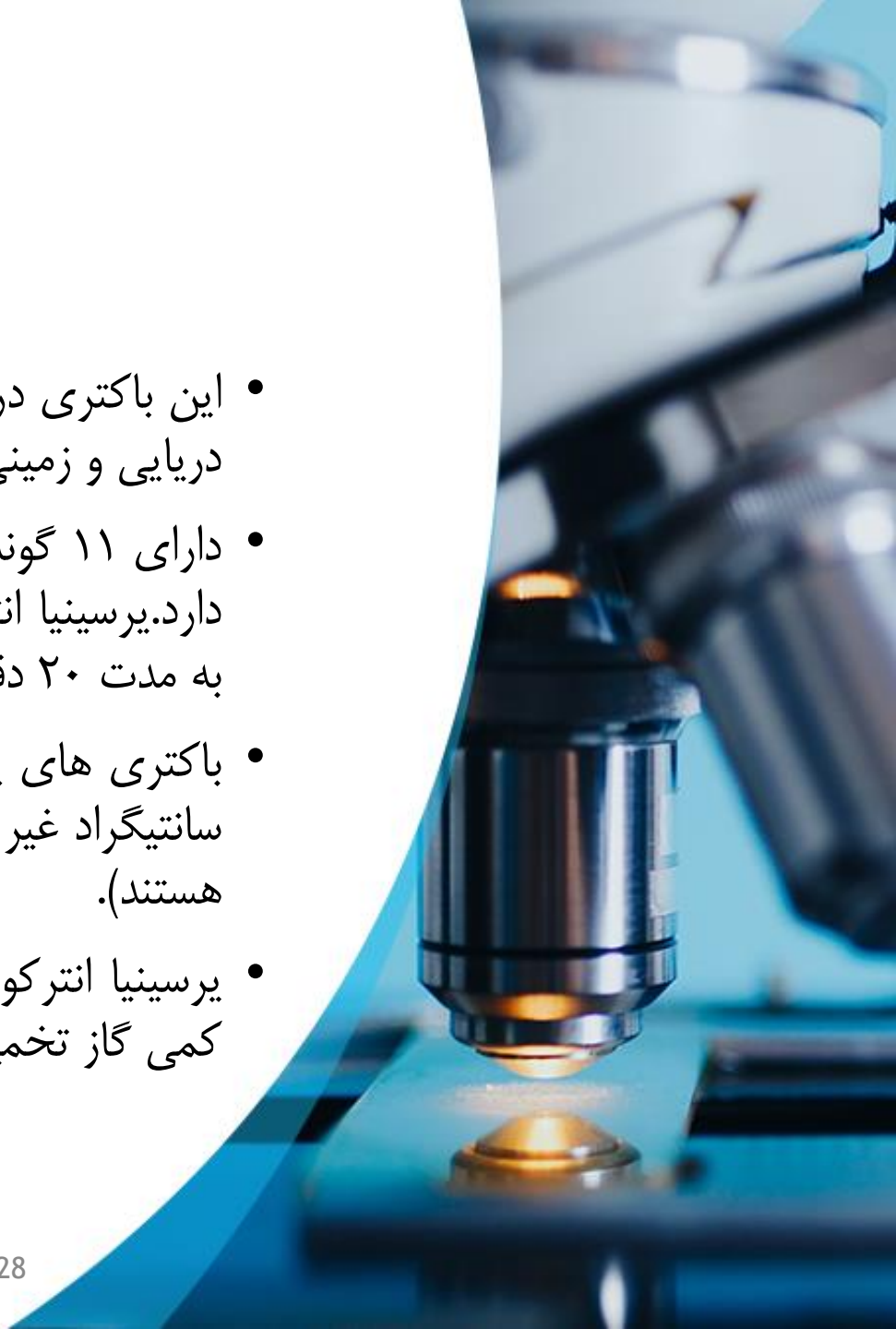
- سراتیا هوازی و پروتئولیتیک می باشد .
- منابع آن خاک ، آب ، سطوح گیاهان ، محیط ، لوله گوارش جوندگان و حشرات و در نمونه های کلینیکی انسان است .
- اهمیت آن در فساد مواد غذائی است .
- در محیط های کشت و در مواد غذایی باعث تولید رنگدانه ی پرودیگیوزین می شوند.
- در مواد غذایی که درصد مواد قندی آنها زیاد است به خوبی رشد و تکثیر نموده و ایجاد پرگنه هایی شبیه خون می شود.

پروتئوس

- این ارگانیسم ها متحرک هستند(دارای تعداد زیادی تاژک پریتریش). پروتئوس ها قادر به تخمیر لاکتوز نیستند و به علت توانایی حرکت و تولید گاز از تخمیر قند ها، به سالمونلا شباهت دارند ولی بر خلاف سالمونلا قادر به تجزیه اوره می باشند.
- ارگانیسم ها بصورت تکی ، جفت یا زنجیره کوتاه دیده می شوند . در آگار مرطوب تمایل به ایجاد کلنی پخش دارند. این پخش شدن کلنی در ۲۰ درجه سانتیگراد در مقایسه با ۳۷ درجه سانتیگراد بیشتر دیده می شود و در ۳۷ درجه سانتیگراد حرکت ممکن است ضعیف بوده یا وجود نداشته باشد .
- بعضی مواد شیمیایی مانند نمک های صفراوی و سدیم ازاید و ..... مانع پخش شدن کلنی می شوند . این پخش شدن کلنی ، جداسازی کلنی تک را برای مطالعات بیشتر دچار مشکل می سازد .
- پروتئوس ها بطور وسیعی در طبیعت پخش شده اند ، محل معمولی آنها لوله گوارش انسان و دام بوده و در فاضلاب و خاک یافت شده و پروتئین های حیوانی را تجزیه می کنند .
- اهمیت پروتئوس در مواد غذائی به دلیل بیماری زایی و فساد مواد غذایی می باشد.

یرسینیا

- این باکتری در آب های ساحلی ، سطحی و رودخانه ها یافت می شود که از این طریق به حیوانات دریایی و زمینی منتقل می شوند.
- دارای ۱۱ گونه می باشند که در این میان، یرسینیا انترکولیتیکا بیشترین اهمیت را در صنایع غذایی دارد.یرسینیا انترکولیتیکا قادر به تولید توکسین مقاوم به حرارت (تحمل دمای ۱۰۰درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه)
- باکتری های یرسینیا در دامنه ی حرارتی زیر ۳۰ درجه سانتیگراد متحرک اما در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد غیر محرک است(به جز گونه های یرسینیا روکری و یرسینیا پستیس که همیشه متحرک هستند).
- یرسینیا انترکولیتیکا اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت ،اوره آز مثبت هستند و گلوکز را با تولید اسید و کمی گاز تخمیر می کنند.



شیگلا

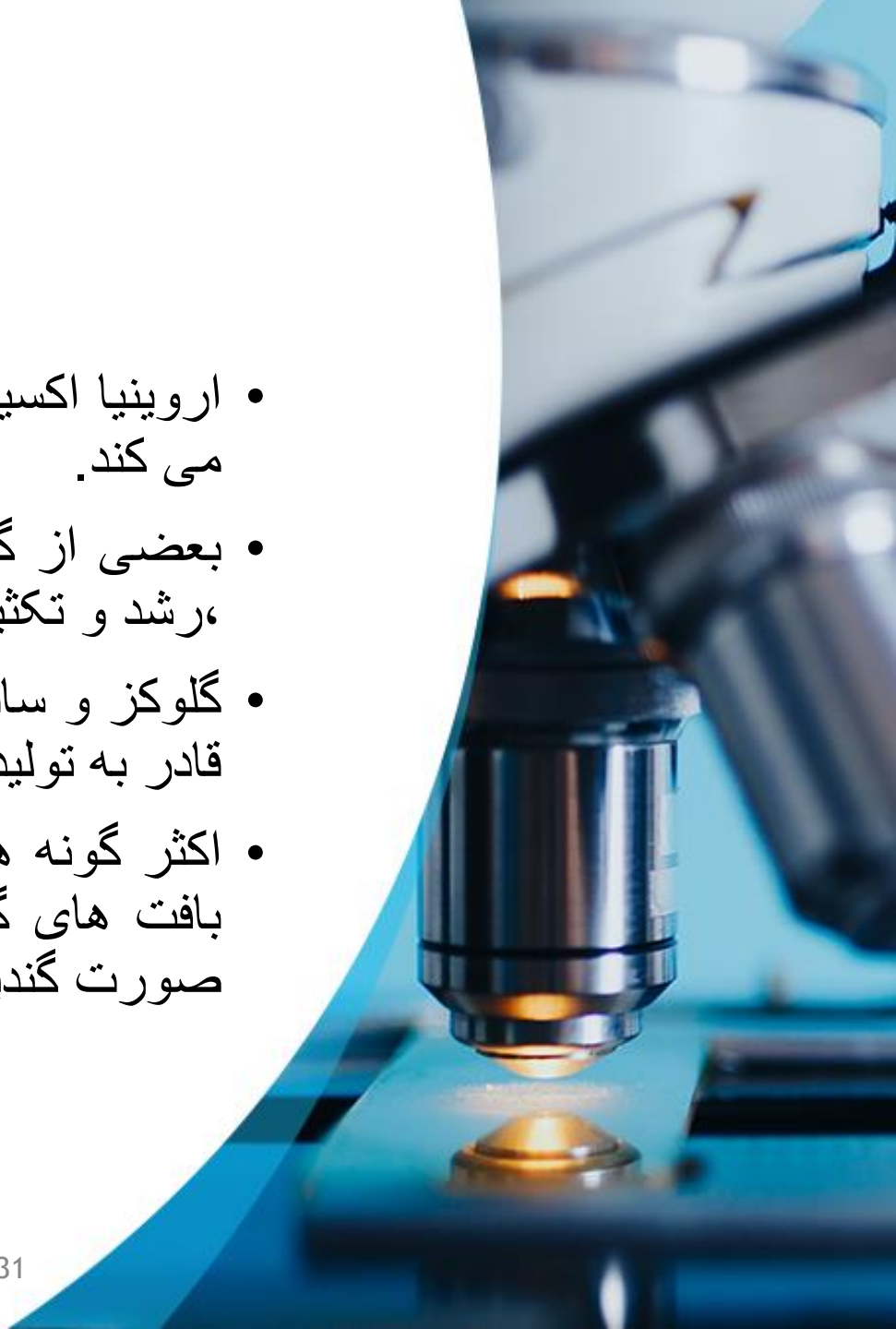
- این جنس غیر متحرک بوده و غلظت نمک را تا حد پنج تا شش درصد تحمل می کند.
- به حرارت نسبتا مقاوم است. *شیگلا سونی* در دمای ۴۵/۵ درجه سانتیگراد رشد می کند.
- با تولید اندوتوکسین لیپوپلی ساکاریدی بر روی روده اثر می گذارد.
- *شیگلا سونی،شیگلا فلکسنری،شیگلا دیسانتری و شیگلا بویدی* گونه های بیماری زا این باکتری هستند.
- قندهای گلوکز، گالاکتوز و فروکتوز را بدون تولید گاز تخمیر می کنند.قادر به تخمیر قند لاکتوز و همچنین تولید SH2 نیستند.

سالمونلا

- کلیه اعضای این جنس روده ای گرم منفی پاتوژن انسان محسوب می شود . ارگانیسم های این جنس کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی و دارای متابولیسم تنفسی و تخمیری می باشند .گلوکز و مانوز را تخمیر کرده و اسید و گاز تولید می کنند.
- غالب سروتیپ ها متحرک هستند (تاژک های پریتریش). لاکتوز را تخمیر نمی کنند و در محیط ساده حاوی گلوکز و ازت غیرآلی و نمک های معدنی رشد می کنند . تعدادی از سوشها قادر به سنتز بعضی ویتامین ها و اسید های آمینه نیستند . اکثر سالمونلاها در محیط تولید SH_2 می کنند و عده ی زیادی از آنها می توانند از سیترات به عنوان منبع انرژی استفاده کنند.
- مقاوم ترین واریته ی سالمونلا جدا شده در مواد غذایی سالمونلا تایفی موریوم می باشد. و مقاوم ترین آنها نسبت به حرارت سالمونلا سفتنبرگ است . از نظر تخریب حرارتی،کلیه سالمونلا ها در دمای پاستوریزاسیون شیر کاملا از بین می روند.در رابطه با کفایت پاستوریزاسیون تخم مرغ مایع آلفا آمیلاز به عنوان شاخص پاستوریزاسیون به کار می رود. زیرا اگر در فرآیند حرارتی پاستوریزاسیون آلفا آمیلاز از بین رفته باشد، تمام سالمونلا ها و خصوصا مقاوم ترین آنها نیز نابوده شده اند.
- به طور کلی سالمونلا ها دارای سه گروه مختلف آنتی ژن هستند:آنتی ژن O ، آنتی ژن H و آنتی ژن Vi(k)

اروینیا

- اروینیا اکسیداز منفی و کاتالاز مثبت است. به وسیله ی تاژک های پریتریش حرکت می کند.
- بعضی از گونه ها در درجه حرارت های پایین که مختص گروه سایکروفیل است رشد و تکثیر می نمایند،
- گلوکز و سایر کربوهیدرات هارا با تولید اسید تخمیر می کنند و بیشتر گونه های آن قادر به تولید گاز نیستند.
- اکثر گونه های این باکتری پاتوژن گیاهی هستند که با تولید آنزیم پکتولیتیک وارد بافت های گیاهی می شوند و باعث فساد این فرآورده ها می گردند. این فساد به صورت گندیدگی ، خشک شدن یا پژمردگی نمایان می شود.



VRBD (Violet Red Bile Dextrose) Agar

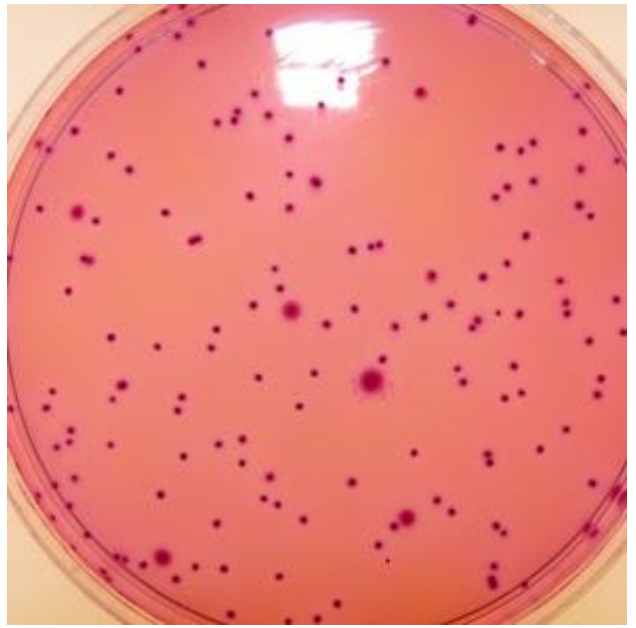
- همه انتروباکتریاسه ها در این محیط شناسایی می شوند زیرا همگی گلوکز را به اسید تجزیه می کنند. با این حال، محیط کشت برای این موجودات کاملاً اختصاصی نیست زیرا برخی از باکتری‌های همراه دیگر (مانند آئروموناس) نیز این واکنش‌ها را نشان می‌دهند.

Appearance of Colonies	Microorganisms
Red, surrounded by reddish precipitation zones	Enterobacteriaceae and others
Colourless	No Enterobacteriaceae present

VRB Agar (Violet Red Bile Agar)

- محیط انتخابی برای شناسایی و شمارش باکتری های کلیفرم در مواد غذایی کاربرد دارد. این محیط دارای کریستال ویوله و نمک های صفراوی است که از رشد باکتری های گرم مثبت جلوگیری می کند.

Appearance of Colonies	Microorganisms
Red, surrounded by reddish precipitation zones, diameter 1-2 mm	Lactose-positive Enterobacte-riaceae: coliform bacteria, E. coli
Pink pin-point colonies	Enterococci, possibly Klebsiella
Colourless	Lactose-negative Enterobacte-riaceae



MacCONKEY Agar

- مک کانکی آگار یک محیط اختصاصی برای جداسازی گونه های مختلف انتروباکتریاسه از مواد غذایی است.
- لاکتوز و اندیکاتور pH نوترال رد موجود در محیط برای شناسایی تجزیه ی لاکتوز بکار برده شده است.

Appearance of Colonies	Microorganisms
Appearance of Colonies	Microorganisms
Colourless, translucent	Salmonella, Shigella and others
Large, red, surrounded by turbid zone	Escherichia coli
Large, pink, mucoid	Enterobacter, Klebsiella
Very small, opaque, isolated colonies	Enterococci, Staphylococci and others

LACTOSE FERMENTOR COLONIES / NON-LACTOSE FERMENTOR COLONIES

SIM Medium

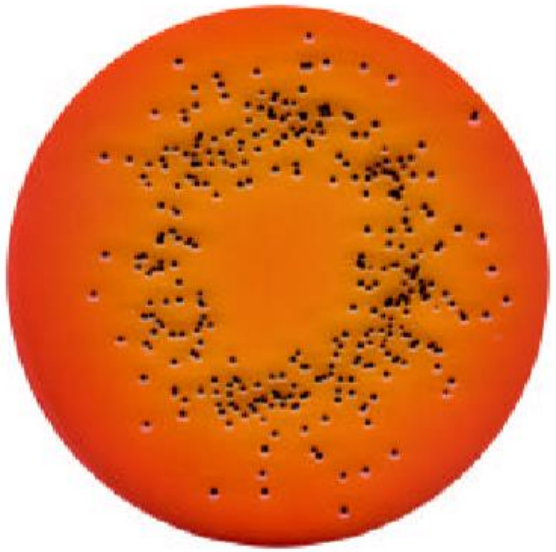
Microorganisms	H_2S	Indole	Motility
Escherichia	-	+	+ / -
Enterobacter	-	-	+
Citrobacter	+	-	+
Klebsiella	-	-	-
Salmonella	+	-	+
Shigella	-	+ / -	-
Prot. vulgaris	+	+	+
Prot. mirabilis	+	-	+
Morganella	-	+	+
Rettgerella	-	+	+
Arizona	+	-	+
Hafnia	-	-	+
Serratia	-	-	+
Providencia	-	+	+
Edwardsiella	+	+	+
Yers. enterocolitica	-	- (+)	-

- محیط کشت SIM برای بررسی تولید SH2، تولید اندول و همچنین بررسی قابلیت حرکت به منظور تفکیک باکتری های خانواده ی انتروباکتریاسه استفاده می شود.

SS Agar(Salmonella Shigella Agar)

- این محیط برای شناسایی و جداسازی سالمونلا و شیگلا از مواد غذایی بکار می رود. برلیانت گرین ،نمک های صفراوی و تیوسولفات و سیترات تا حدود زیادی از رشد فلور میکروبی همراه جلوگیری می کند. تولید سولفید با استفاده از یونهای تیوسلفات و آهن موجود در محیط ،باعث تشکیل کلنی سیاه رنگ می شود.

Appearance of Colonies	Microorganisms
Colourless, translucent	Shigella and some Salmonella species
Translucent with a black centre	Proteus and most Salmonella species
Pink to red	Escherichia coli
Colonies are larger than those of E. coli, pink to whitish or cream-coloured, opaque, mucoid	Enterobacter aerogenes



Salmonella enteritidis
NCTC 5188

فساد مواد غذایی

- حیوانات و گیاهان، منابع اصلی غذای انسان را تشکیل می دهند. لذا درک اصول بیولوژیکی فلور میکروبی مربوط به گیاهان و حیوانات به منظور کنترل میکروارگانیسم ها بسیار حائز اهمیت است.
- فساد : از بین رفتن محصولات یا خصوصیات کیفی موثر آنهابه طوریکه غیر قابل مصرف گردند.
- فاکتورهایی که بر روی رشد میکروارگانیسم ها در یک ماده ی غذایی تاثیر گذار هستند عبارتنداز:

➢ ارتباط متقابل بین میکروارگانیسم ها

➢ اثر شرایط محیطی

➢ حالت فیزیکی و ساختار ماده ی غذایی

➢ خصوصیات شیمیایی ماده غذایی

➢ دما

فساد باکتریایی در سبزیجات و میوه جات

- در سبزیجات به دلیل پتانسیل اکسیداسیون احیا بالا انواع باکتری های هوازی و بی هوازی اختیاری باعث فساد در محصول می شوند.

1. فساد نرم باکتریایی در سبزیجات توسط باکتری اروینیا، سودوموناس ، کلستریدیوم و باسیلوس ها رخ می دهد که مهم ترین نقش در این فساد را باکتری اروینیا دارا می باشد. این باکتری پکتین ها را توسط آنزیم پروتوپکتیناز می شکند و باعث نرم شدن گیاه و ایجاد قوام قارچی شده و بوی بد و ظاهری مرطوب را ایجاد می کند. بوی بدی که در این فساد استشمام می شود احتمالا ناشی از ترکیبات فرار نظیر NH_3 و اسیدهای فرار می باشد.
2. *S.liquefaciens* گونه ای است که بیشتر در مواد غذائی یافت می شود و باعث فساد سبزیجات یخچالی می شود .
3. در میوه جات به دلیل pH پایین ، فساد اغلب توسط قارچ ها صورت می گیرد. با این حال در گلابی به دلیل اینکه سطح آن pH بالاتری دارد، باکتری اروینیا رشد کرده و باعث فساد می شود.

فساد گوشت

- گوشت به دلیل اینکه حاوی مقادیر زیادی از مواد نیتروژنی ،کربوهیدرات قابل تخمیر (گلیکوژن)، مواد معدنی و فاکتور های کمکی رشد مورد نیاز برای باکتری ها، مخمرها و کپک ها می باشد؛ از فسادپذیرترین مواد غذایی است.

1. سراتیا مارسنس عامل ایجاد رنگدانه ی قرمز در سطح گوشت است.
2. در مورد فساد ماهی؛ جنس های اشرشیا، سراتیا و پروتئوس به عنوان عامل فساد گزارش شده است. در ماهیان نمک سود شده باکتری های مقاوم به نمک یا نمک دوست مانند سراتیا باعث ایجاد فساد شده اند که غالبا تغییر رنگ به قرمز را ایجاد می کنند.
3. در گوشت های طیور بسته بندی شده در خلاء عامل فساد توسط انتروباکترها گزارش شده است.

فساد تخم مرغ

- قسمت داخلی تخم مرغ های تازه استریل است، اما مواد مدفوعی مرغ، قفس و لانه ی مرغ، آب شست و شوی تخم مرغ ها ،جا به جایی تخم مرغ ها و احتمالا مواد بسته بندی، پوسته ی آنها را آلوده می کند. در صورتی که آلودگی وارد تخم مرغ شود با ترکیبات ضد میکروبی تخم مرغ (لیزوزیم، کونالبومین ،آویدین ،اووفلاوپروتئین، اوموکوئید و مواد نیتروژنی) مواجه می شود.همچنین pH بالا و aw پایین سفیده ی تخم مرغ نیز به عنوان یک عامل ضد میکروبی عمل می کند.

1. فساد بی رنگ: باکتری های کلی فرم ، اسینتوباکتر، آلکالیژنس و سودوموناس در دمای پایین بتعث فساد بی رنگ در تخم مرع می شوند.
2. فساد سیاه: باکتری پروتئوس عامل اصلی فساد سیاه در تخم مرغ می باشد.
3. فساد قرمز: توسط گونه های مختلف سراتیا به ویژه مارسنس رخ می دهد.
4. فساد قرمز و آجری: توسط دو گونه ی پروتئوس ولگاریس و پروتئوس انترمدیوم ایجاد می شود.
5. بوی علف: باکتری انتروباکتر کلوآکه در تخم مرغ باعث ایجاد بوی علف می شود.
6. بوی ماهی: در تخم مرغ در اثر رشد باکتری اشرشیا به وجود می آید.

فساد لبنیات

- شیر در حین دوشش می تواند توسط خود حیوان ، گرد و غبار هوا ، ظلوف شیردوشی و یا سطوحی که شیر پس از دوشیدین و یا در حین شیردوشی با آن ها تماس دارند آلوده می شود.

1. ترش شدن (Souring) : ترش شدن یا اسیدی شدن شیر به طور عمده در اثر تولید اسید لاکتیک در شیر می باشد. کلی فرم ها یک یاز عوامل اصلی در ترش شدن شیر هستند که به دلیل تولید اسیدفرمیک ، اسید استیک ، اسیدبوتریک و ... طعم تند و زننده را در محصول ایجاد می کنند.
2. تلخ شدن (Bitter flavours) تلخی شیر اکثرا در نتیجه ی پروتئولیز می باشد. کلی فرم ها، مخمر ها و اکتینومیست ها از عامل های تلخی شیر هستند.طعم تلخی در خامه در اثر فعالیت پروتئولیز باکتری پروتئوس ایجاد می شود.
3. شیر قرمز رنگ : توسط گونه ها ی سراتیا به خصوص سراتیا مارسنس

4. چسبندگی شیر (Ropiness milk) : لزجی باکتریایی معمولا در اثر لزجی مواد کپسولی سلول اتفاق می افتد. *انتروباکتر کلوآکه و انتروباکتر آئروژنز، کلبسیلا اکسی توکا* و به ندرت *اشرشیاکلی* عامل لزجی در تمام شیر می شوند.

5. تولید گاز : در شیر خام کلی فرم ها، اصلی ترین گروه تولید گاز هستند.

6. ایجاد طعم مشابه شلغم : توسط گونه *های اشرشیاکلی و سودوموناس فلورسنس* ایجاد می شود.

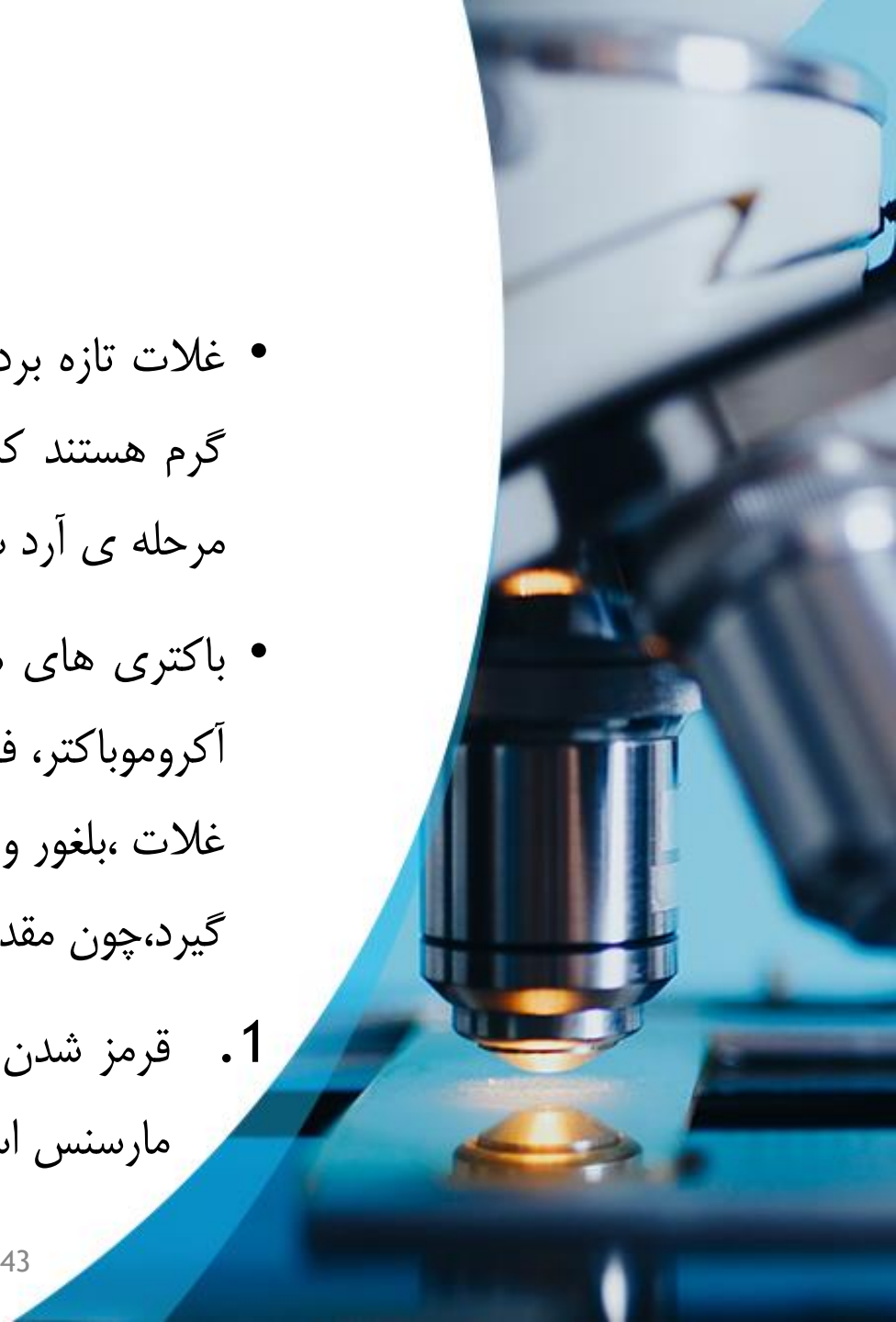
7. بادکردگی زود رس در پنیر (Early blowing) : این فساد ناشی از رشد کلی فرم ها و مخمرهای تخمیر کننده ی لاکتوز می باشد.

8. طعم طویله: در خامه یا شیر مورد استفاده برای تهیه ی خامه، گونه های انتروباکتر باعث ایجاد طعم طویله ای می شوند.

فساد غلات

- غلات تازه برداشت شده حاوی هزاران تا میلیونها باکتری و صفر تا چندصد هزار کپک در هر صد گرم هستند که این فلور در مرحله ی تمیز کردن، شست و شو تا حدودی حذف می شوند و در مرحله ی آرد سازی همراه با قسمت های خارجی دانه حذف می شوند.
- باکتری های موجود در آرد گندم، شامل اسپور باسیلوس ها ،کلی فرم ها و بعضی از جنس های آکروموباکتر، فلاوباکتریوم،سارسینا ،میکروکوکوس ، آلکالیجنس و سراتیا هستند. با این حال چنانچه غلات ،بلغور و آرد حاصل از آنها به طور مناسب تهیه و انبار شود در معرض فساد میکروبی قرار نمی گیرد،چون مقدار رطوبت پایین است.

1. قرمز شدن نان: ایجاد رنگ قرمز در سطح نان نتیجه ی رشد باکتری های پیگمان زای سراتیا مارسنس است.



بیماری های باکتریایی ناشی از مصرف مواد غذایی

- باکتری ها به دو صورت ایجاد بیماری می کنند:

۱- عفونت غذایی باکتریایی Food borne bacterial infection :در عفونت غذایی میکروب وارد بدن شده و پس از جایگزینی شروع به رشد و تکثیر می کند.

۲- مسمومیت غذایی باکتریایی Food borne bacterial intoxication : در مسمومیت سم باکتری باعث ایجاد بیماری در بدن فرد می گردد.

۲-۱- مسمومیت غذایی که در اثر مصرف سم از پیش ساخته شده در غذا به وجود می آید.

۲-۲- مسمومیت غذایی که در اثر ساخته شدن سم در روده به وجود می آید.

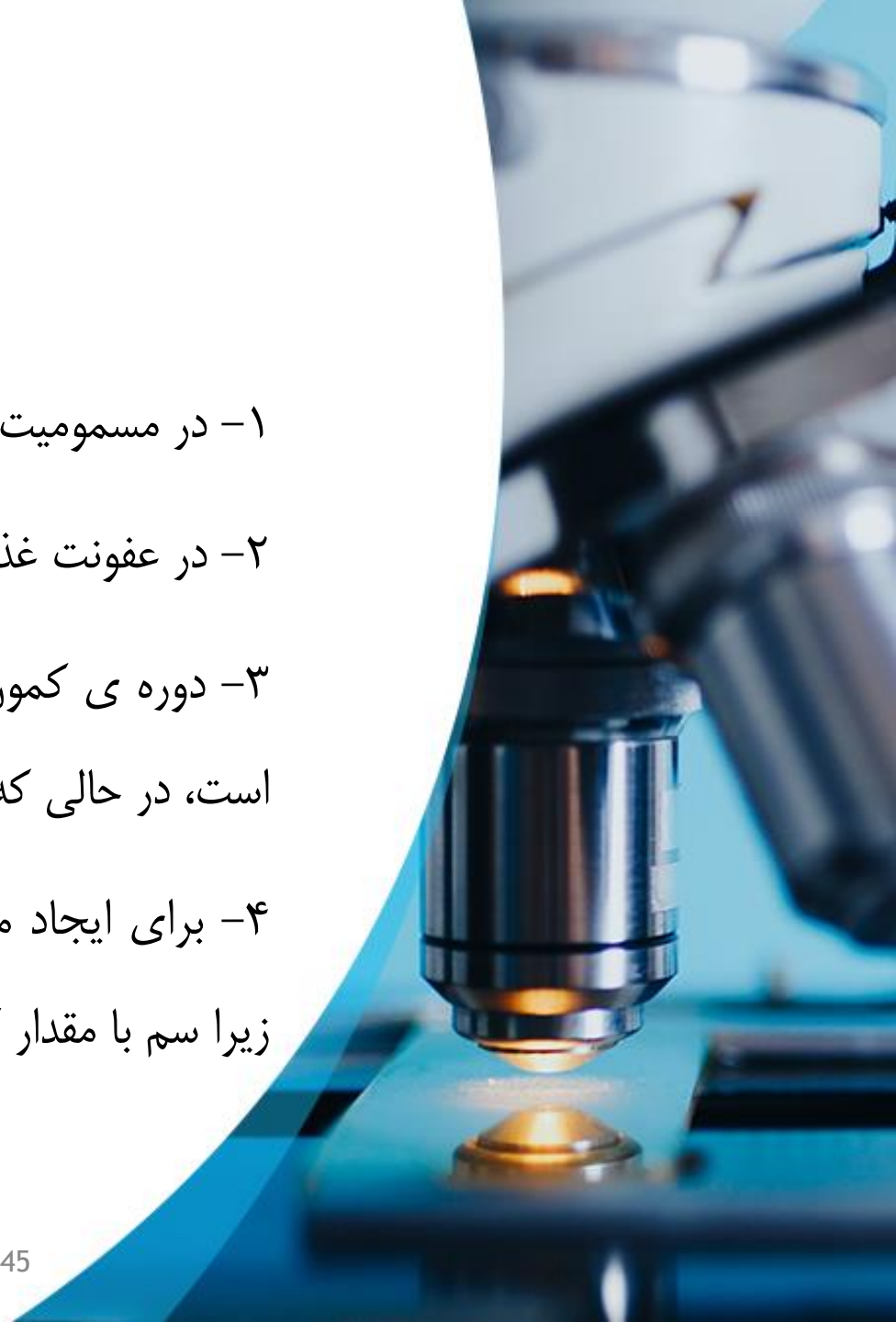
تفاوت مسمومیت غذایی با عفونت غذایی

۱- در مسمومیت غذایی وجود و حضور میکروب در غذا ضروری نیست.

۲- در عفونت غذایی ، تب وجود دارد ولی در مسمومیت غذایی تبی وجود ندارد.

۳- دوره ی کمون بیماری و مدت ظهور علائم آن در مسمومیت غذایی کوتاه تر (حدود ۲-۴ ساعت) است، در حالی که در عفونت غذایی طولانی تر (حدود ۱۰-۱۲ ساعت) می باشد.

۴- برای ایجاد مسمومیت غذایی، تعداد میکروارگانیسم کمتری نسبت به عفونت غذایی لازم است ، زیرا سم با مقدار کم می تواند خود را ظاهر کند.



سموم باکتریایی

سموم باکتریایی به دو دسته تقسیم بندی می شوند:

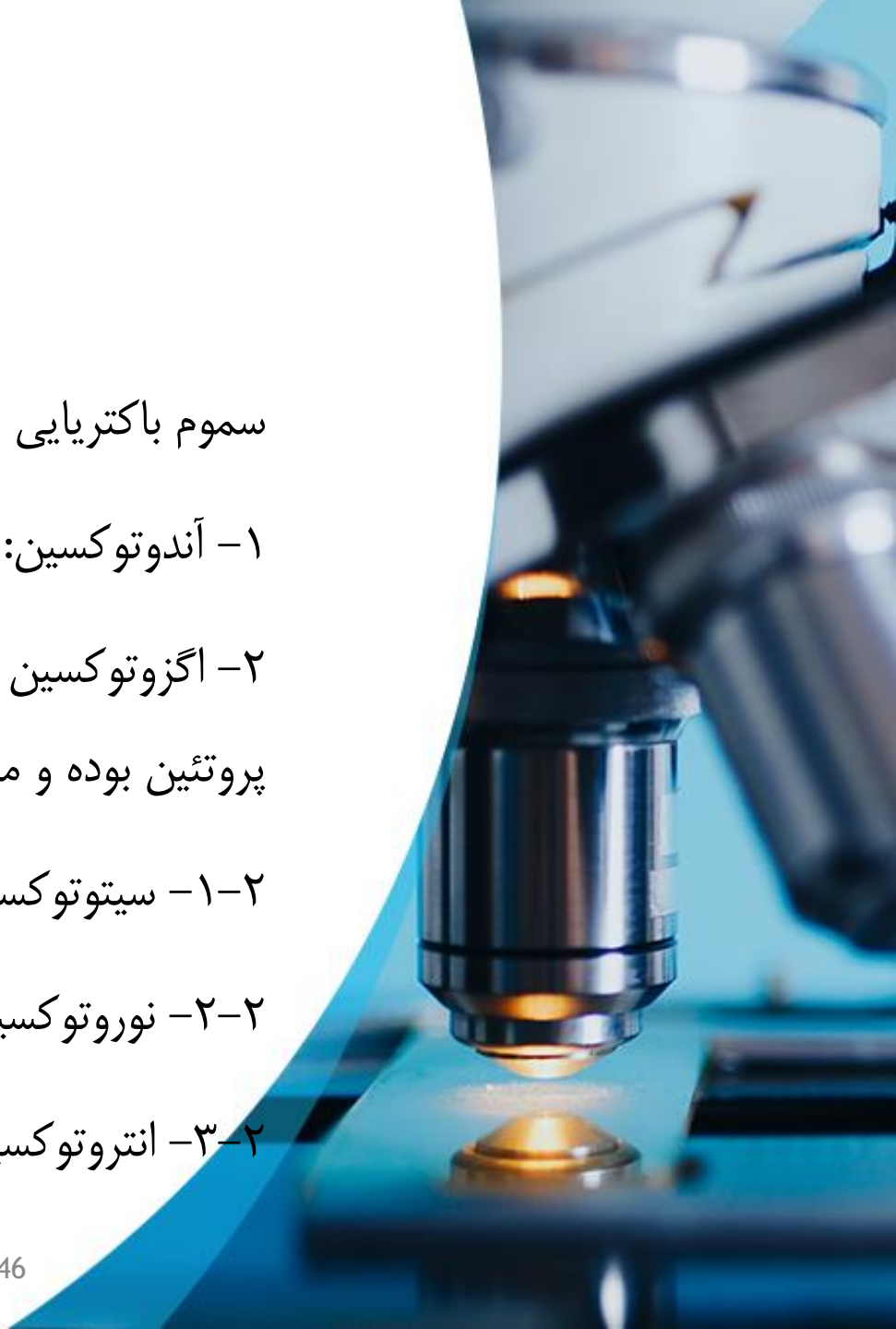
۱- آندوتوکسین: قسمتی از غشاء خارجی سلول باکتری بوده و نسبت به حرارت بسیار مقاوم است.

۲- اگزوتوکسین : سم هایی که از داخل سلول باکتری به بیرون ترشح می شوند. این سم ها از جنس پروتئین بوده و معمولا به حرارت حساس می باشد.

۲-۱- سیتوتوکسین: سلول میزبان را با حملات آنزیمی خود از بین می برند.

۲-۲- نوروتوکسین : در انتقال طبیعی پیام ها یعصبی اختلال ایجاد می کنند.

۲-۳- انتروتوکسین : بر روی سیستم گوارش اثر می کنند.



بیماری های ناشی از اشرشیاکلی

- باکتری های E.coli، یکی از مهم ترین باکتریهای عفونت زا و مسمومیت زا می باشند و به طور کلی، آن دسته از سوش های E.coli را که مسمومیت غذایی ایجاد میکند به گروه های زیر تقسیم می کنند:

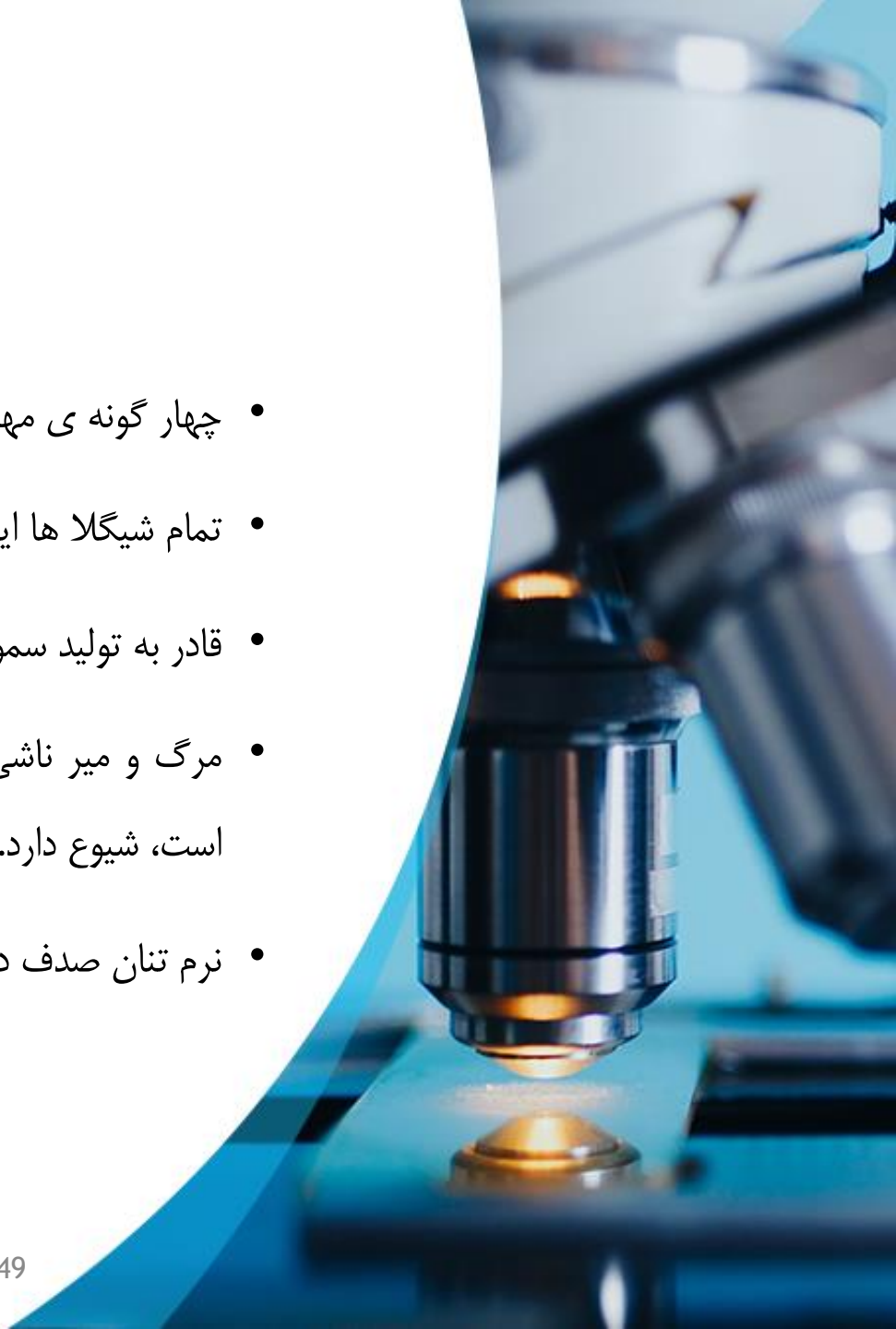
1. انتروتوکسیژنیک اشریشیا کلی (ETEC):ایجاد دو نوع انتروتوکسین (Labile toxin) LT یا ST (Stable toxin) می کند. این تیپ شایعترین عامل اسهال مسافرتی در جهان است و ایجاد بیماری شبه وبا می کند.
2. انتروپاتوژنیک اشریشیا کلی (EPEC) : ایجاد انتروتوکسین نمی کند. این تیپ عامل اسهال اطفال بوده و افراد بزرگسال نسبت به آن مقاوم هستند.
3. انتروهموراژیک اشریشیا کلی (EHEC): این باکتری با ایجاد یک سیتوتوکسین به نام وروتوکسین در روده عامل ایجاد اسهال خونی است.
4. انترواینویسیو اشریشیاکلی (EIEC): قادر به تولید انتروتوکسین نمی باشد و همانند شیگلا بطور مستقیم با تهاجم بافتی به سلول‌های روده آسیب می‌رساند.

بیماری های ناشی از باکتری سالمونلا

1. گاستروانتریت : مهم ترین باکتری های عامل گاستروانتریت، سالمونلا تایفی موریوم ، سالمونلا انترتیدیس و سالمونلا کلراسوئیس است. این گونه ها سموم آندوتوکسین ، انتروتوکسین و سیتوتوکسین را تولید می کنند.
2. حصبه یا تیفوئید: شدید ترین بیماری سالمونلا است . آب آلوده به فاضلاب و شیر خام عامل این بیماری است. عامل آن سالمونلا تایفی است.
3. شبه حصبه یا پاراتیفوئید: بیماری خفیف تری نسبت به حصبه است و عامل آن باکتری سالمونلا پارا تایفی می باشد.
4. عفونت خونی: سالمونلا از طریق غددد لنفاوی وارد خون شده و از آنجا وارد سایر قسمت های بدن می شود. معمولا توسط تمام گونه های سالمونلا رخ می دهد.
5. عفونت بدون علامت : سالمونلا در کیسه صفرای فرد ناقل وجود دارد و این افراد بدون هیچ علامتی تا بیش از یک سال سالمونلا را درون خود حمل می کنند. این عفونت بیشتر در مورد سالمونلا تایفی صورت می گیرد.

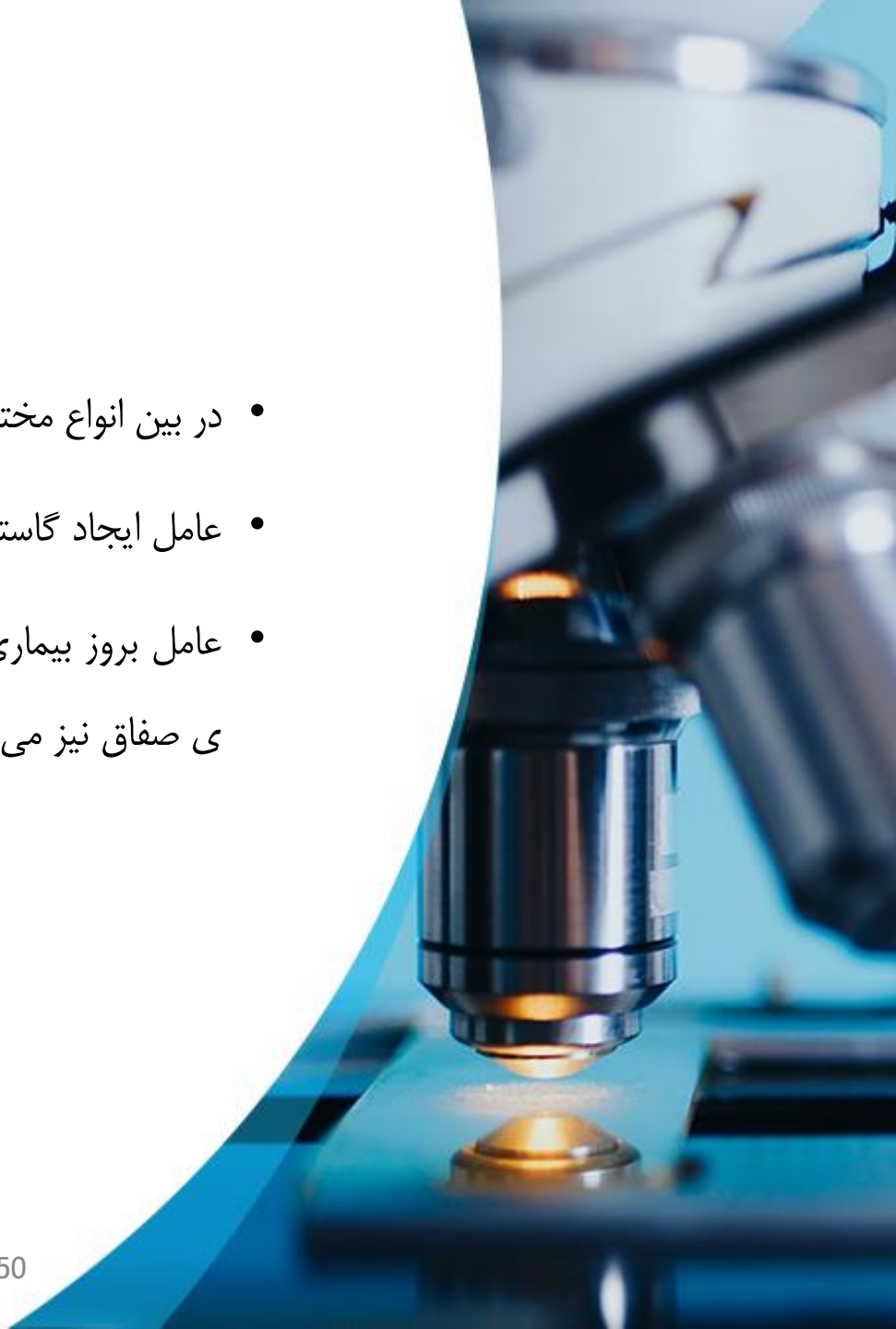
بیماری ناشی از شیگلا

- چهار گونه ی مهم شیگلا عبارتند از : شیگلا فلکسنری ، شیگلا دیسانتری ، شیگلا سونئی و شیگلا بویدی
- تمام شیگلا ها ایجاد اسهال خونی می کنند.
- قادر به تولید سموم Shigatoxin,Adherence protein, Invasiveprotein می باشند.
- مرگ و میر ناشی از شیگلا به مراتب بیشتر از سالمونلا است و بیشتر در جاهایی که از لحاظ بهداشتی خیلی ضعیف است، شیوع دارد.
- نرم تنان صدف دار، میوه ها ، سبزی ها و طیور عمده ترین مواد غذایی هستند که این بیماری را منتقل می کنند.



بیماری ناشی از یرسینیا

- در بین انواع مختلف یرسینیا، یرسینیا انترکولیتیکا از بیشترین اهمیت در مواد غذایی برخوردار است.
- عامل ایجاد گاستروانتریت با نشانه های دل درد شدید ، اسهال ، استفراغ ، سر درد و تب خفیف می باشد.
- عامل بروز بیماری های فارنژیت ، آپاندیسیت کاذب ، التهاب گره های لنفاوی ، التهاب پوست ، آرتریت و التهاب پرده ی صفاق نیز می باشد.



BIOCHEMICAL TEST	CITROBACTER										
	C. koseri	*C. werk-manii*	*C. sedlakii*	*C. roden-tium*	*C. gillenii*	*C. amalo-naticus*	*C. farmeri*	*C. braakii*	*C. freundii*	*C. murliniae*	*C. youngae*
Adonitol	+[b]	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Malonate	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
Ornithine	+	−	+	+	−	+	+	+	−	−	−
Melibiose	−	−	+	−	V (67)	−	+	V (78)	+	V (33)	−
Sucrose	V (44)	−	−	−	V (33)	(V (13)	+	−	+	V (33)	V (19)
Indole	+	−	+	−	−	+	+	V (33)	V (38)	+	V (14)
Dulcitol	V (38)	−	+	−	−	−	−	V (33)	V (13)	+	V (86)
H_2S	−	+	−	−	V (67)	V (13)	−	V (60)	V (75)	V (67)	V (67)

[a] *Data obtained from Brenner DJ, et al.*[51]

+, 90% or more strains positive; −, 90% or more strains negative; V, 11–89% of strains positive; numbers in parentheses are percentages of strains giving a positive reaction.

TEST	*E. AEROGENES*	*E. AMNIGENUS* BIOGROUP 1	*E. AMINGENUS* BIOGROUP 2	*E. ASBURIAE*	*E. CANCEROGENUS*	*E. CLOACAE*	*E. COWANII*	*E. GERGOVIAE*	*E. HORMAECHEI*	*E. INTERMEDIUS*	*E. KOBEI*	*E. SAKAZAKII*
Methyl red	−	−	V (65)	+	−	−	NA	−	V (57)	+	−	−
Voges-Proskauer	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+
Lysine	+	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−
Arginine	−	−	V (35)	V (21)	+	+	−	−	V (78)	−	+	+
Ornithine	+	V (55)	+	+	+	+	−	+	V (91)	V (89)	+	+
Urease	−	−	−	V (60)	−	V (65)	−	+	V (87)	−	−	−
Motility	+	+	+	−	+	+	+	+	V (52)	V (89)	+	+
Fermentation of:												
Lactose	+	V(70)	V (35)	V (75)	−	+	+	V (55)	−	+	+	+
Sucrose	+	+	−	+	−	+	+	+	+	V (65)	V (25)	+
Adonitol	+	−	−	−	−	V (25)	−	−	−	−	−	−
Sorbitol	+	−	+	+	−	+	+	−	−	+	+	−
Raffinose	+	+	−	V (70)	−	+	+	+	−	+	+	+
Rhamnose	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+
Melibiose	+	+	+	−	−	+	+	+	−	+	+	+
Yellow pigment	−	−	−	−	−	−	V (66)	−	−	−	−	+

+, 90% or more strains positive; −, 90% or more strains negative; V, 11–89% of strains positive; NA, not available.

[a] Table includes only Enterobacter species that have been isolated from human clinical specimens. Isolates that are triple decarboxylase negative may by Pantoea species, and isolates that are both lactose- and sucrose-negative but are lysine-positive may be Hafnia alvei (see Table 6–16).

BIOCHEMICAL TEST	*S. MARCESCENS*	*S. LIQUEFACIENS*	*S. RUBIDAEA*	*S. PLYMUTHICA*	*S. FICARIA*	*S. FONTICOLA*	*S. ODORIFERA* BIOGROUP 1	*S. ODORIFERA* BIOGROUP 2
DNase (25°C)	+	V (85)	+	+	+	−	+	+
Lipase (corn oil)	+	V (85)	+	V (70)	V (77)	−	V (35)	V (65)
Gelatinase (22°C)	+	+	+	V (60)	+	−	+	+
Lysine (Moeller's)	+	+	V (55)	−	−	+	+	+
Ornithine (Moeller's)	+	+	−	−	−	+	+	−
Odor of potatoes	−	−	V	−	+	−	+	+
Red, pink, or orange pigment	V	−	V	V	−	−	−	−
Fermentation of:								
L-Arabinose	−	+	+	+	+	+	+	+
D-Arabitol	−	−	V (85)	−	+	+	−	−
D-Sorbitol	+	+	−	V (65)	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	V (21)	+	−
Raffinose	−	V (85)	+	+	V (70)	+	+	−
Malonate utilization	−	−	+	−	−	+	−	−

+, 90% or more strains positive; −, 90% or more strains negative; V, 11–89% of strains positive.

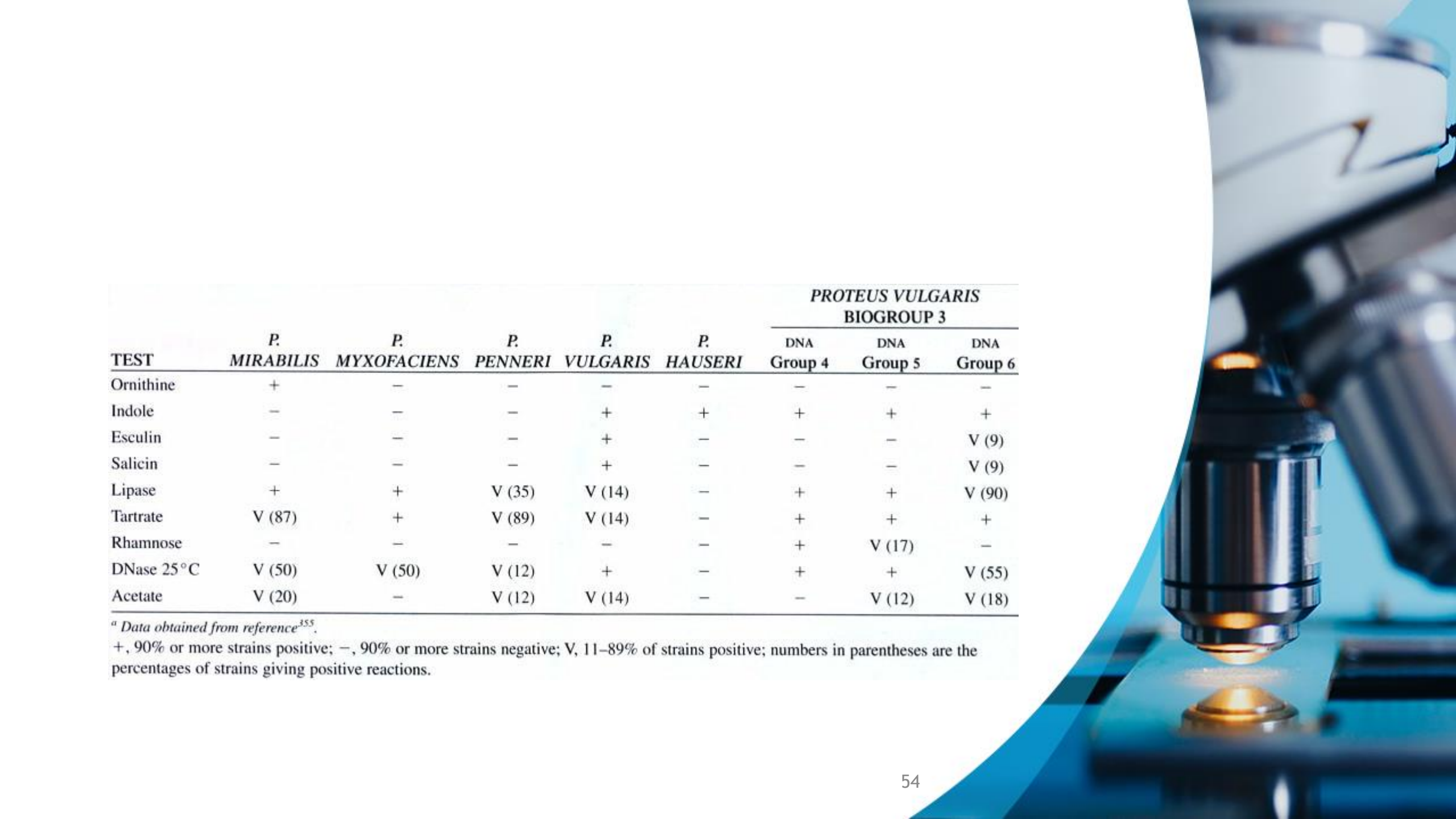
[a] *Data obtained from reference 193 and other sources.*

Table includes only those Serratia species that have been isolated from human clinical specimens.

TEST	*P. MIRABILIS*	*P. MYXOFACIENS*	*P. PENNERI*	*P. VULGARIS*	*P. HAUSERI*	*PROTEUS VULGARIS* BIOGROUP 3 DNA Group 4	DNA Group 5	DNA Group 6
Ornithine	+	−	−	−	−	−	−	−
Indole	−	−	−	+	+	+	+	+
Esculin	−	−	−	+	−	−	−	V (9)
Salicin	−	−	−	+	−	−	−	V (9)
Lipase	+	+	V (35)	V (14)	−	+	+	V (90)
Tartrate	V (87)	+	V (89)	V (14)	−	+	+	+
Rhamnose	−	−	−	−	−	+	V (17)	−
DNase 25°C	V (50)	V (50)	V (12)	+	−	+	+	V (55)
Acetate	V (20)	−	V (12)	V (14)	−	−	V (12)	V (18)

[a] *Data obtained from reference*[355].

+, 90% or more strains positive; −, 90% or more strains negative; V, 11–89% of strains positive; numbers in parentheses are the percentages of strains giving positive reactions.



منابع:

- میکروبیولوژی مواد غذایی– تالیف ویلیام فریزیر ، دنیس وستهوف ترجمه دکتر سید علی مرتضوی ، دکتر مهدی کاشانی نژاد
- اطلس میکروبیولوژی مواد غذایی - تالیف سید علی مرتضوی، الهام خانی پور ، سید هاشم پرور
- آزمون های میکروبی مواد غذایی - تالیف دکتر گیتی کریم
- میکروب های بیماریزا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت های غذایی - تالیف دکتر ودود رضویلر