

Comparison of bacterial contamination load in small and big bottled waters; 2014-2015

Ali shahryari

* Assistant Professor, Environmental Health Research Center, Department of Environmental Health Engineering, school of health, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.
(Corresponding author):
dr.shahryari@goums.ac.ir

Naghimeh Ahmadi

MSc Environmental Health engineering, Environmental Health Research Center, school of Health, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

Yousef Dadban Shahamat

Assistant Professor Department of Environmental Health Engineering, Environmental Health Research Center, school of Health, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

Rahim Aali

Assistant Professor Department of Environmental Health Engineering, Health Technology Incubator, school of Health, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.

Abdolrazagh Mokarary

B.C, Environmental Health Engineering, Galikesh Health Center, Golestan University of Medical Sciences, Galikesh, Iran.

Javad Sharifi Ghojagh

B.C, Environmental Health Engineering, Azadshahr Health Center, Golestan University of Medical Sciences, Azadshahr, Iran.

RECEIVED: 3 February 2016

ACCEPTED: 1 May 2016

ABSTRACT

Background & Objective: There is a public concern about the microbial quality of distribution water systems that it induces increasingly consumption of bottled waters in our country. In Iran, bottled waters are produced in two packaging models; small (0.5 liter) and big (1.5 liter); microbial load of which can be deteriorated before using by consumer and during storage. This study was designed to assess the bacterial contamination of bottled waters and compare the ratio of contamination in small and big bottles packaged.

Materials & Methods: In this descriptive and analytic study, 400 bottled water samples including 185 of small and 215 of big bottled waters were selected from Gorgan food markets during May 2014 to April 2015 from 10 popular brands. Microbial level of bottled waters were determined via heterotrophic plate count (hpc) on the R2A medium with spread plated method. For statistical analyses, SPSS ver.23.0 were used by one sample t test and chi-square test in a p-value of <0.05 as a considered significant.

Results: The mean hpc bacteria were 8557 and 11188 colony forming unit per milliliter (cfu/ml) in small and big bottled waters, respectively, which are much higher than microbial standard (500 cfu/ml) set by drinking water. Moreover, in 85.0 percent of all samples tested, hpc level was more than 500 cfu/ml; that 40.8 and 44.2 percent of its related to small and big bottles, respectively. The statistical analysis showed that the quantity of bottles water did not have a significant effect on the number of bacteria.

Conclusion: Small and big bottled waters had a microbial contamination based on the heterotrophic plate count. Therefore, consumption of bottled water could be hazardous for public health particularly for lowered immunity.

Keywords: Bottled Water, Water Contamination, Microbial Quality, Heterotrophic Plate Count

► **Citation:** Shahryari A, Ahmadi N, Dadban Shahamat Y, Aali R, Mokarary A, Sharifi Ghojagh J. Comparison of bacterial contamination load in small and big bottled waters; 2014-2015. *Iranian Journal of Research in Environmental Health*. Spring 2016;2 (1) : 81-89.

مقایسه بار آلودگی میکروبی آب‌های بطری شده در بسته‌های کوچک و بزرگ

شهر گرگان در سال ۹۴-۱۳۹۳

علی شهباری

* استادیار، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، گروه مهندسی بهداشت محیط دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. (نویسنده مسئول)
Dr.shahryari@goums.ac.ir

نغمه احمدی

کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.

یوسف دادبان شهامت

استادیار گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.

رحیم عالی

استادیار گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز رشد و فناوری سلامت، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران.

عبدالرزاق مکرری کر

کارشناس بهداشت محیط، مرکز بهداشت شهرستان گالیکش، گالیکش، ایران.

جواد شریفی قوجق

کارشناس بهداشت محیط، مرکز بهداشت شهرستان آزادشهر، آزادشهر، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: نگرانی‌های عمومی در خصوص کیفیت میکروبی آب شبکه توزیع شهری باعث شده است تا مصرف آب‌های بطری شده در کشور ما افزایش یابد. در ایران آب‌های بطری شده در دو نوع بسته‌بندی کوچک (۰/۵ لیتر) و بزرگ (۱/۵ لیتر) تولید می‌شوند که بار میکروبی آن می‌تواند تا قبل از مصرف و در طی زمان افزایش پیدا کند. لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین میزان آلودگی باکتریایی در آب‌های بطری شده و مقایسه میزان آلودگی در دو نوع بسته‌بندی کوچک و بزرگ انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی - تحلیلی تعداد ۴۰۰ نمونه آب بطری شده شامل ۱۸۵ بطری کوچک و ۲۱۵ بطری بزرگ مربوط به ۱۰ برند پرفروش از فروشگاه‌های مواد غذایی شهر گرگان در طی خرداد ماه ۱۳۹۳ تا اردیبهشت ۱۳۹۴ برداشت و مورد بررسی قرار گرفت. بار میکروبی نمونه‌ها از طریق شمارش باکتری‌های هتروتروف در محیط RYA و به روش کشت سطحی انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۳) و آزمون‌های T تک متغیره و آزمون Chi-square در ضریب معنی داری کمتر از ۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها: میانگین تعداد باکتری‌های هتروتروف در آب‌های بطری شده کوچک و بزرگ به ترتیب ۸۵۵۷ و ۱۱۱۸۸ کلنی در هر میلی‌لیتر نمونه بود که بسیار بیشتر از استاندارد میکروبی (۵۰۰ کلنی در هر میلی‌لیتر) آب آشامیدنی بود. همچنین در ۸۵ درصد نمونه‌ها تعداد باکتری‌های هتروتروف بیشتر از ۵۰۰ کلنی در هر میلی‌لیتر نمونه بود که سهم آب‌های کوچک و بزرگ به ترتیب ۴۰/۸ و ۴۴/۲ درصد بود. آنالیز آماری نشان داد که حجم آب بطری‌ها تأثیر معنی‌داری بر تعداد باکتری‌ها ندارد.

نتیجه‌گیری: آب‌های بطری شده کوچک و بزرگ از نظر شمارش باکتری‌های هتروتروف دارای آلودگی میکروبی می‌باشند لذا مصرف آن برای آشامیدن می‌تواند برای سلامت عمومی جامعه به خصوص افراد با سطح ایمنی پایین خطر آفرین باشد.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

کلیدواژه‌ها: آب بطری شده، آلودگی آب، شمارش باکتری‌های هتروتروف، کیفیت میکروبی

◀ **استناد:** شهباری ع، احمدی ن، دادبان شهامت ی، عالی ر، مکرری کر ع، شریفی قوجق ج. مقایسه بار آلودگی میکروبی آب‌های بطری شده در بسته‌های کوچک و بزرگ شهر گرگان در سال ۹۴-۱۳۹۳. فصلنامه پژوهش در بهداشت محیط. بهار ۱۳۹۵؛ ۲(۱): ۷۷-۸۲.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۱۲

نگرانی جوامع از امکان آلودگی میکروبی آب آشامیدنی شبکه توزیع عمومی و به تبع آن ترس از شیوع بیماری‌های ناشی از آب باعث شده است تا عده زیادی از مردم دنیا ترجیح دهند از آب‌های بطری شده استفاده کنند (۱). آب‌های تولیدی در کارخانجات معمولاً از چشمه‌های طبیعی و چاه‌های عمیق تأمین و پس از تصفیه با فرآیندهای پیشرفته مانند اسمز معکوس و همچنین کاربرد سیستم‌های گندزدایی پیشرفته مانند ازن و اشعه ماوراء بنفش تولید می‌شوند (۲). بر اساس همین دیدگاه، گروه زیادی از افراد جامعه تصور می‌کنند که آب‌هایی که به صورت بطری شده در فروشگاه‌های مواد غذایی به فروش می‌رسند، در مقایسه با آب سیستم‌های شبکه توزیع شهری از نظر کیفیت میکروبیولوژیکی، سالم‌تر و بهداشتی‌تر می‌باشند (۳). در بیشتر جوامع از جمله ایران، آب‌های بطری شده معمولاً توسط گروه‌های خاصی از افراد جامعه مانند اساتید، پزشکان، مهندسان، دانشجویان، سالمندان، زنان باردار، کودکان و بیماران با سطح ایمنی پایین مصرف می‌شود (۴). حتی توصیه می‌شود تا در شرایط اضطراری از آب‌های بطری شده برای تهیه غذای نوزادان و شستشوی زخم و لنزهای چشمی استفاده کنند (۵). باید توجه شود که آب‌های بطری شده در شرایط استریل تولید نمی‌شوند، بنابراین می‌توانند همانند سایر انواع آب‌های آشامیدنی حاوی فلورهای میکروبی باشند (۶). بنابراین امکان دارد در طی فرآیندهای تصفیه، میکروارگانیسم‌های آب به‌طور کامل نابود نشده باشد و یا در طی حمل و نقل با وسایل نقلیه فاقد تجهیزات برودتی از کارخانه تا محل فروش، یا در محل فروش به دلیل نگهداری طولانی مدت در دمای محیط و مواجهه با نور خورشید، بار میکروبی آن افزایش یابد (۷). در طی سال‌های اخیر بررسی کیفیت میکروبی آب‌های بطری شده در ایران و سایر نقاط جهان مورد توجه محققان قرار گرفته است. نتایج برخی از این مطالعات نشان داده است که آب‌های بطری شده از نظر میکروبی کیفیت پایین‌تر از آب‌های شبکه توزیع شهری دارند (۸-۱۲). در حال حاضر برای تعیین کیفیت میکروبی آب آشامیدنی از

باکتری‌های کلیفرم مدفوعی و اشرشیاکلی به عنوان باکتری‌های شاخص میکروبی استفاده می‌شود (۱۳). استفاده از باکتری‌های هتروتروف به عنوان یک روش استاندارد برای ارزیابی کلی کیفیت آب توسط خیلی از مجامع بین المللی و کشورهای پیشرفته دنیا پذیرفته شده است (۱۴). باکتری‌های هتروتروف شامل مجموعه‌ای از باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی اختیاری هستند که برخی از اعضای این گروه شامل سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیاکلی، کلبسیلا (عامل پنومونی) و فلاوو باکتریوم (موجب بیماری مننژیت اطفال) از جمله پاتوژن‌های فرصت طلب می‌باشند که در نمونه‌های آب آشامیدنی شناسایی شدند (۱۵). تعداد باکتری‌های هتروتروف در آب‌های آشامیدنی می‌تواند با توجه به دمای آب، میزان مواد آلی قابل جذب و وجود کلر باقی‌مانده در مقادیر کمتر از ۱ تا بیش از 10^4 و در آب‌های بطری شده تا بیشتر از 5×10^4 کلنی در هر میلی‌لیتر متغیر باشند (۱۶). برخی کشورهای اروپایی مانند انگلیس، ایتالیا، یونان و نروژ حداکثر مقدار مجاز تعداد باکتری‌های هتروتروف در آب‌های بطری شده را 100 کلنی در هر میلی‌لیتر تعیین کردند (۱۷). سازمان ملی استاندارد ایران (۱۸)، سازمان جهانی بهداشت (۱۹) و سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا (۲۰) نیز حداکثر مقدار مجاز تعداد باکتری‌های هتروتروف در آب‌های بطری شده را 500 کلنی در هر میلی‌لیتر پیشنهاد کرده‌اند.

افزایش جمعیت، افزایش سطح آگاهی بهداشت عمومی جامعه و حمایت دولت از صنایع تولید و بسته‌بندی آب‌های بطری شده برای تأمین بخشی از نیاز جامعه باعث شده است تا در طی سال‌های اخیر مصرف آب‌های بطری شده در ایران افزایش یابد. در کشور ما آب‌های بطری شده فقط در دو نوع بسته‌بندی کوچک (حجم 0.5 لیتر) و بسته‌بندی بزرگ (1.5 لیتر) تولید می‌شوند که بطری‌های کوچک معمولاً توسط بچه‌های کوچک، سالمندان و بیماران و بطری‌های بزرگ بیشتر در اماکن پذیرایی عمومی و خصوصی مصرف می‌شود. بررسی کیفیت میکروبی آب‌های بطری شده در تمام نقاط دنیا از جمله ایران برای مقایسه

آزمایشات به صورت دوسری انجام گرفت. برای این کار، به طور همزمان مقدار ۰/۵ میلی لیتر نمونه آب از یک بطری واحد در روی دو پلیت حاوی محیط R2A به روش سطحی کشت داده و به مدت ۵ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد انکوبه شد. پس از پایان زمان انکوباسیون، تمام نمونه های واحد به صورت مجزا با دستگاه شمارش گر کلنی شمارش و میانگین دو پلیت به صورت نتیجه یک نمونه واحد در هر ۱ میلی لیتر گزارش شد (۱۳). تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۲۳) انجام شد. جهت مقایسه میانگین شمارش باکتری های هتروتروف در نمونه های این مطالعه با استاندارد میکروبی شمارش باکتری های هتروتروف از آزمون T تک متغیره و جهت مقایسه نسبت آلودگی در دو نوع بسته بندی آب بطری شده با برندهای مختلف از آزمون Chi-square در ضریب معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد.

یافته ها

نتایج کلی شمارش باکتری های هتروتروف در دو نوع آب بسته بندی شامل بطری های کوچک و بزرگ در جدول ۱ ارائه شده است. مقایسه تعداد باکتری های هتروتروف در دو نوع بسته بندی نشان داد که میانگین تعداد باکتری های هتروتروف در بطری های شهر گرگان برابر ۹۹۷۴/۴۰ کلنی در هر میلی لیتر بود که میانگین تعداد باکتری های هتروتروف در بطری های کوچک از میانگین تعداد باکتری های هتروتروف کل نمونه ها و میانگین بطری های بزرگ کمتر بود، ولی از نظر آماری تفاوت معنی داری بین آنها مشاهده نشد ($p=0/493$). بر اساس نتایج آزمون آماری T تک متغیره برای مقایسه میانگین تعداد باکتری های هتروتروف در آب های بطری شده با استانداردهای میکروبیولوژیکی، میانگین تعداد باکتری های هتروتروف در هر دو نوع بطری کوچک و بزرگ به طور معنی داری از ۱۰۰ (استاندارد اروپا) و ۵۰۰ (استاندارد ملی ایران) کلنی در هر میلی لیتر بیشتر بود ($p<0/01$).

درصد نمونه های با مقادیر بالاتر از ۱۰۰ و ۵۰۰ کلنی در هر میلی لیتر نمونه آب به تفکیک حجم بطری در جدول ۲ نشان

با استاندارد میکروبی آب آشامیدنی و همچنین مقایسه با کیفیت آب شبکه توزیع شهری انجام می شود که هدف اصلی آنها ارزیابی کلی کیفیت میکروبی است و میزان حجم بطری مورد توجه قرار نگرفته بود. از آنجایی که تاکنون هیچ پژوهشی به طور اختصاصی و همزمان در دو نوع بسته بندی با حجم های متفاوت انجام نشده است تا تفاوت احتمالی آلودگی و نقش حجم آب را بررسی و مورد مطالعه قرار دهد، لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین بار آلودگی میکروبی انواع آب های بطری شده با بسته های کوچک و بزرگ و مقایسه آن با استاندارد میکروبی در آب آشامیدنی انجام شد.

مواد و روش ها

در این مطالعه توصیفی - تحلیلی تعداد ۴۰۰ نمونه آب بطری شده شامل ۱۸۵ بطری کوچک و ۲۱۵ بطری بزرگ مربوط به ۱۰ برند پرفروش (از هر برند ۴۰ نمونه) از فروشگاه های مواد غذایی شهر گرگان در طی خرداد ماه ۱۳۹۳ تا اردیبهشت ۱۳۹۴ مورد بررسی قرار گرفت. حجم نمونه بر اساس مطالعه مؤذنی و همکاران (۲۰۱۳) در اصفهان و با استفاده از رابطه اندازه نمونه در مطالعات توصیفی با برآورد میانگین کمی ۳۹۰ نمونه برآورد گردید که در این مطالعه ۴۰۰ نمونه برداشت شد. در این رابطه Z ضریب اطمینان ۹۵٪ برابر ۱/۹۶، S برآوردی از انحراف معیار (برابر ۲۵۶۰۳) و d میزان دقت (برابر ۰/۱۵) در نظر گرفته شد (۲۱). تمام نمونه ها از داخل یخچال فروشگاه های مواد غذایی که آماده فروش به مشتریان بودند انتخاب و پس از ثبت تمام اطلاعات نمونه شامل نام تولیدکننده، آدرس تولیدکننده، تاریخ تولید، تاریخ انقضاء، مصرف و شماره سریال محصول، با رعایت زنجیره سرما (دمای کمتر از ۴ درجه سانتی گراد) به آزمایشگاه میکروبیولوژی آب و فاضلاب دانشکده بهداشت گرگان انتقال و در فاصله زمانی کمتر از ۲ ساعت کشت داده شدند. بار آلودگی میکروبی نمونه های آب از طریق شمارش باکتری های هتروتروف انجام شد. برای افزایش امکان رشد باکتری های هتروتروف، تمام

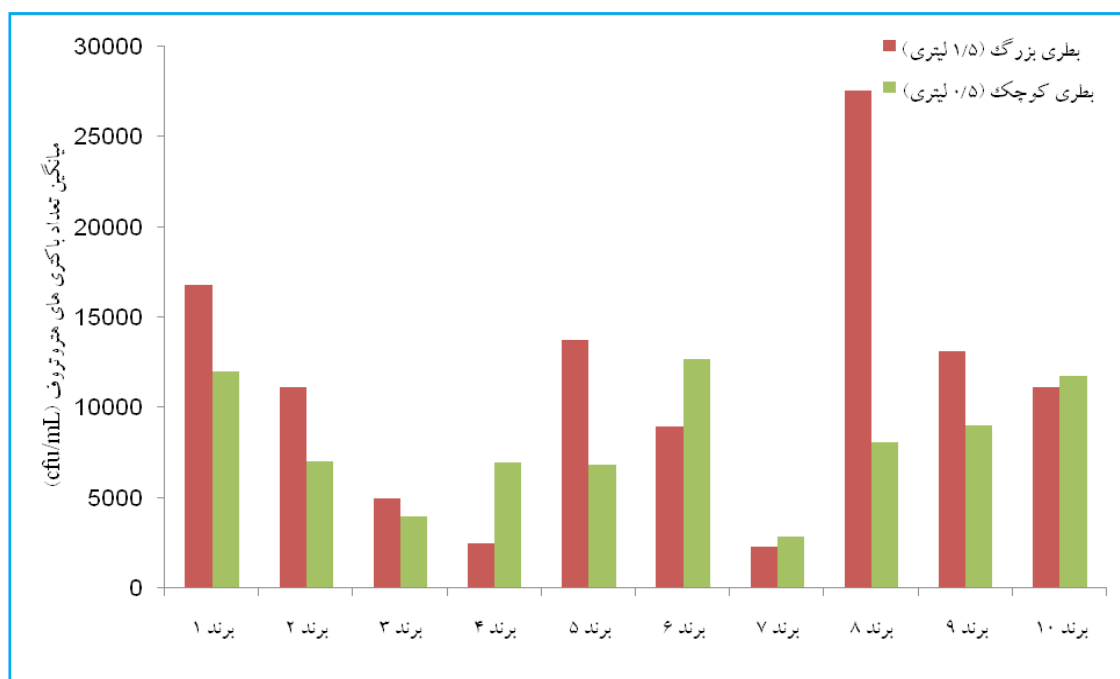
جدول ۱. نتایج شمارش باکتری‌های هتروتروف (CFU/ml) در آب‌های بطری شده شهر گرگان

حجم بطری (لیتری)	تعداد نمونه	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
بطری کوچک (۰/۵)	۱۸۵	۸۵۵۷/۰۱	۱۷۹۹۰/۲۶	۱۰۰	$\times 105$ ۱/۵۵
بطری بزرگ (۱/۵)	۲۱۵	۱۱۱۸۸/۳۹	۲۷۹۰۳/۸۴	۶۲	$1/7 \times 105$
کل نمونه‌ها	۴۰۰	۹۹۷۴/۴۰	۲۳۸۵۵/۲۰	۶۲	$1/7 \times 105$

جدول ۲. درصد توزیع باکتری‌های هتروتروف (CFU/ml) در آب‌های بطری شده شهر گرگان

حجم بطری (لیتری)	کمتر از ۱۰۰	۱۰۰-۵۰۰	بالاتر از ۵۰۰
بطری کوچک (۰/۵)	۰/۸	۴/۲	۴۰/۸
بطری بزرگ (۱/۵)	۱/۲	۸/۸	۴۴/۲
کل نمونه‌ها	۲	۱۳	۸۵

داده شده است. بر اساس نتایج این مطالعه، بیش از ۹۸ درصد از نمونه‌ها دارای شمارش باکتریایی بیش از ۱۰۰ کلنی در هر میلی‌لیتر نمونه بودند که سهم آب‌های بطری شده با حجم کوچک ۴۵ درصد و سهم آب‌های بطری شده با حجم بزرگ ۵۳ درصد بود. علاوه بر این در ۸۵ درصد از نمونه‌ها تعداد باکتری‌های هتروتروف از ۵۰۰ کلنی در هر میلی‌لیتر نمونه آب که توسط سازمان جهانی بهداشت توصیه شد نیز بیشتر بود که سهم آب‌های بطری شده کوچک و بزرگ به ترتیب ۴۰/۸ و ۴۴/۲ درصد بود. بر اساس آزمون آزمون Chi-square، بین میانگین تعداد باکتری‌های هتروتروف و نوع بسته‌بندی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p=0/534$). مقایسه نتایج میانگین تعداد باکتری‌های هتروتروف در انواع برندهای آب‌های بطری شهر گرگان و حجم بطری در نمودار ۱ نشان داده شده است.



نمودار ۱. مقایسه میانگین تعداد باکتری‌های هتروتروف در انواع برندهای آب‌های بطری شده شهر گرگان

ضروری است (۲۲). اگرچه صنایع خصوصی در بخش تولید آب بطری شده سعی می‌کنند تا کیفیت آب‌های تولیدی آنها به مراتب بالاتر از کیفیت شبکه توزیع آب شهری باشد، ولی

بحث

نوشیدن آب با کیفیت میکروبی مورد قبول از نظر شاخص‌های میکروبیولوژیکی برای پیشگیری از بیماری‌های ناشی از آب

نتایج این مطالعه نشان داد که آب‌های بطری شده شهر گرگان با میانگین تعداد باکتری‌های هتروتروف $9974/40$ کلنی در هر میلی‌لیتر نمونه، بسیار بیشتر از حداکثر مقدار پیشنهادی توسط کشورهای اروپایی، سازمان ملی استاندارد و سازمان جهانی بهداشت برای آشامیدن بود. مطالعه حاضر نشان داد احتمال اینکه یک بطری کوچک دارای شمارش باکتری هتروتروف کمتر از 100 و 500 باشد، به ترتیب $0/8$ و $4/2$ درصد است. بر اساس همین نتایج احتمال اینکه یک بطری بزرگ دارای شمارش باکتری هتروتروف کمتر از 100 و 500 باشد، به ترتیب $1/2$ و $8/8$ درصد است (جدول ۲). مطالعات در خصوص کیفیت آب‌های بطری شده در ایران در دو بخش استفاده از باکتری‌های شاخص مدفوعی کلیفرم مدفوعی و اشرشیاکلی و همچنین با استفاده از شمارش باکتری‌های هتروتروف انجام شده است که نتایج متفاوتی داشته‌اند. به عنوان مثال در مطالعه موذنی و همکاران (۲۰۱۳) میانگین تعداد باکتری‌های هتروتروف در آب‌های بطری شده فروشگاه‌های مواد غذایی شهر اصفهان برابر $16855/24$ کلنی در هر میلی‌لیتر آب بطری شده بود، در حالی که در هیچ یک از ۲۱ برند، آلودگی به کلیفرم کل و کلیفرمی مدفوعی مشاهده نشد (۲۱). علاوه بر این در مطالعه جاهد و همکاران (۲۰۱۰) میانگین تعداد باکتری‌های هتروتروف آب‌های بطری شده موجود در فروشگاه‌های مواد غذایی شهر تهران برابر 3140 کلنی در هر میلی‌لیتر آب بطری شده بود (۲۳). در مقابل در مطالعه حسینی و همکاران (۲۰۱۱) که در خصوص کیفیت میکروبی آب‌های معدنی و بطری شده عرضه شده در استان سیستان و بلوچستان با روش تخمیر ۹ لوله‌ای انجام شد، تنها در یک نمونه از ۲۱۰ نمونه مورد مطالعه، آلودگی به کلیفرم مدفوعی وجود داشت که در مقایسه با نتایج این مطالعه کیفیت میکروبی آب‌های عرضه شده در استان سیستان و بلوچستان کاملاً بهداشتی و سالم بود (۱۱). مقایسه نتایج مطالعات در مورد شمارش باکتری‌های هتروتروف با باکتری‌های شاخص مدفوعی نشان می‌دهد که کیفیت میکروبی آب‌های بطری شده در ایران از نظر باکتری‌های هتروتروف مورد قبول

نمی‌باشد، ولی از نظر باکتری‌های کلیفرم مدفوعی و اشرشیاکلی در وضعیت بسیار خوب هستند. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که افزایش تعداد باکتری‌های هتروتروف به مقدار بالاتر از 1000 کلنی در هر میلی‌لیتر نمونه می‌تواند بر نتایج آزمایشات شناسایی کلیفرم‌ها به عنوان باکتری شاخص سلامت آب آشامیدنی تأثیر منفی بگذارد، به عبارت دیگر باعث می‌شود تا این باکتری‌های شاخص در پایش‌های کنترل کیفیت میکروبی آب‌های بطری شده شناسایی نشوند. نتایج آزمایش‌های کنترل کیفیت میکروبی آب نشان داد که استفاده از روش تخمیر ۹ لوله‌ای برای شناسایی آلودگی کلیفرم مدفوعی ناشی از فاضلاب مناسب است (۲۲). بر همین اساس ادعا می‌شود که روش شمارش باکتری‌های هتروتروف به عنوان یک شاخص می‌تواند قضاوت دقیق‌تری در خصوص کیفیت میکروبی، عملکرد صحیح فرآیندهای تأمین، تصفیه، راندمان و همچنین مقبولیت زیباشناختی آب بطری شده داشته باشد (۱۵). در مطالعه حاضر تعداد باکتری‌های هتروتروف در بیش از ۷۵ درصد نمونه‌ها از 1000 کلنی در هر میلی‌لیتر بیشتر بود (اطلاعات در جدول نشان داده نشد)، لذا این امکان وجود دارد برخی مصرف‌کنندگان آب‌های بطری شده به‌ویژه افراد آسیب‌پذیر مانند بیماران دیالیزی که برای پیشگیری از عفونت‌های میکروبی مصرف آب‌های بطری شده را به آب شبکه توزیع شهری ترجیح می‌دهند، در خطر ابتلاء به عوامل میکروبی باشند. زیرا در مطالعه مسافری و همکاران (۲۰۱۱) میانگین تعداد باکتری‌های هتروتروف در آب آشامیدنی شبکه توزیع شهر تبریز برابر 315 ± 154 بود (۲۴). اگرچه مطالعه اپیدمیویکی و یا گزارش مستندی مبنی بر وجود ارتباط بین تعداد باکتری‌های هتروتروف و شیوع بیماری‌های ناشی از آب وجود ندارد (۹)، ولی نتایج مطالعه پاولو و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد که بین تعداد باکتری‌های هتروتروف و شیوع بیماری گوارشی (گاستروآنتریت) ناشی از پاتوژن‌های فرصت‌طلب در آب ارتباط معنی‌داری وجود دارد (۲۵). در مطالعه زینات و همکاران (۲۰۰۹) در خصوص کیفیت میکروبی آب‌های بطری شده در فیجی گونه‌های باسیلوس، کورینه باکتریوم، میکروکوکوس،

۱). در مطالعه الی اوترهولت (۲۰۱۱) و نسانز (۱۹۹۹) نیز تفاوت در کیفیت میکروبی و انواع باکتری‌های شناسایی شده گزارش شد (۲۷، ۲۹). در این مطالعه نیز کمترین بار آلودگی میکروبی در هر دو نوع بسته‌بندی (بطری‌های کوچک و بزرگ) در برند شماره ۷ مشاهده شد. در مقابل بالاترین میزان بار آلودگی میکروبی در بطری‌های بزرگ مربوط به برند شماره ۸ و در بطری‌های کوچک مربوط به برند شماره ۶ بود. اختلاف در تعداد بار میکروبی آب‌های بطری شده کارخانجات متفاوت می‌تواند مربوط به سیستم‌های تصفیه و گندزدایی واحدهای تولید آب باشد. در مقایسه میزان آلودگی میکروبی بطری‌های کوچک و بزرگ با برندهای یکسان نیز به غیر از برند شماره ۸، در سایر برندها اختلاف آماری معنی‌داری بین نوع بسته‌بندی یک واحد تولیدی وجود نداشت.

در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که آب‌های بطری شده مراکز فروش مواد غذایی شهر گرگان در هر دو نوع این بسته‌بندی دارای بار میکروبی بالایی می‌باشند. بنابراین به نظر می‌رسد افزایش نیاز جامعه به آب‌های بطری شده به دلیل نگرانی‌های ناشی از آلودگی میکروبی آب شبکه توزیع دور از واقعیت می‌باشد. اگرچه می‌توان پیش‌بینی کرد که وضعیت نامناسب حمل‌ونقل آب‌های بطری شده از محل تولید تا مراکز فروش، نگهداری طولانی مدت در محل‌های نامناسب و عدم رعایت زنجیره سرما می‌تواند باعث افزایش بار آلودگی آب‌های بطری شده شود، ولی چون هیچ نمونه‌ای از محل تولید در کارخانجات در این مطالعه مورد بررسی قرار نگرفت، لذا نمی‌توان با قاطعیت قضاوت نمود که دلایل آلودگی این آب‌ها منحصراً مربوط به خارج از محل تولید است. برای اینکه فاکتورهای دیگری مانند نوع منبع تأمین آب، عملکرد صحیح واحدهای تصفیه و گندزدایی واحدهای تولید آب‌های بطری شده در محل کارخانجات نیز در افزایش امکان آلودگی میکروبی تأثیرگذار هستند، بنابراین ضروری است انجمن آب‌های معدنی و آشامیدنی ایران با همکاری و نظارت مستقیم وزارت بهداشت و سازمان ملی استاندارد ایران، برنامه

سودوموناس و استافیلوکوکوس از باکتری‌های هتروتروف موجود در آب شناسایی شدند (۷).

در این مطالعه نیز کمترین و بالاترین تعداد شمارش باکتری‌های هتروتروف به ترتیب در مهر ماه و اردیبهشت ماه مشاهده شد. به نظر می‌رسد دمای هوا و نگهداری طولانی مدت آب‌های بطری شده در دمای محیط بر افزایش تعداد باکتری‌های هتروتروف تأثیرگذار باشد. نتایج مطالعه مولایی و همکاران (۲۰۱۱)، لکلرس و موریو (۲۰۰۲) و نسانز و همکاران (۱۹۹۹) نشان داد که بیشترین و کمترین تعداد رشد و تکثیر میکروب‌ها به ترتیب در دمای ۲۵ و ۴ درجه سانتی‌گراد رخ می‌دهد (۱۲، ۲۶-۲۷). مطالعه فالکون و فیلهو (۲۰۱۳) نیز نشان داد که بیشترین تغییرات در تعداد باکتری‌های هتروتروف در آب‌های بسته‌بندی شده در حجم‌های ۰/۵، ۱/۵ و ۲۰ لیتری در طی ذخیره کردن این آب‌ها در دمای محیط رخ می‌دهد (۸). در کشور ما معمولاً آب‌های بطری شده بدون رعایت زنجیره سرما و با وسایل نقلیه فاقد تجهیزات برودتی حمل‌ونقل می‌شوند. علاوه بر این در محل‌های فروش نیز در فضای باز و در معرض مستقیم تابش نورخورشید نگهداری می‌شوند و فقط مدت کوتاهی قبل از فروش، آن را در یخچال نگهداری می‌کنند تا به اندازه کافی خنک و مورد رضایت مصرف‌کننده باشد، در حالی که بر اساس تعریف سازمان غذا و داروی آمریکا، آب‌های بطری شده به عنوان یک ماده غذایی باید با رعایت زنجیره سرما حمل‌ونقل شوند (۲۸). بنابراین نگهداری آب‌های بطری شده در داخل یخچال از زمان تولید تا فروش برای جلوگیری از آلودگی میکروبی آن ضروری است.

در مطالعه حاضر بررسی میزان آلودگی از نظر نوع برندهای مورد مطالعه نشان داد که تعداد باکتری‌های هتروتروف در تمام ۱۰ برند مورد مطالعه از استاندارد میکروبی آب آشامیدنی بالاتر بود. در مقایسه میانگین تعداد باکتری‌های هتروتروف در انواع برندهای مورد مطالعه، میزان آلودگی در آنها مشابه نبود، ولی تفاوت آماری معنی‌داری بین انواع برندها مشاهده نشد (نمودار

لذا مصرف آن برای آشامیدن می‌تواند برای سلامت عمومی جامعه به خصوص افراد با سطح ایمنی پایین خطرآفرین باشد.

تشکر و قدرانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی با شماره کد ۶۶۷۸۸ است که با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی گلستان اجرا شد. بدین وسیله از معاون محترم تحقیقات و فناوری و مدیر پژوهشی دانشگاه و همچنین از تمام کارشناسان محترم، تشکر و قدردانی می‌شود.

جامع و مدون مطابق سیستم‌های استاندارد بین‌المللی استاندارد آنالیز خطر و کنترل نقاط بحرانی (HACCP) و برنامه ایمنی آب (WSP) از محل تولید تا محل فروش تدوین نماید تا ضمن شناسایی دلایل احتمالی مؤثر در آلودگی، برای ارتقاء کیفیت آب‌های بطری شده اقدام مؤثر به‌عمل آورند.

نتیجه‌گیری

آب‌های بطری شده کوچک و بزرگ از نظر شمارش باکتری‌های هتروتروف دارای آلودگی میکروبی می‌باشند و حجم آب موجود در بطری‌ها تأثیر معنی‌داری بر تعداد باکتری‌ها ندارد،

ReferenCes:

1. Ferrier C. Bottled water: understanding a social phenomenon. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*. 2001;30(2):118-9.
2. Dufour AS, M.; Koster, W.; Bartram, J.; Ronchi, E.; Fewtrell, L. . *Assessing Microbial Safety of Drinking Water. Improving Approaches and Methods*; . London, UK.: World Health Organization and the Organisation for Economic Co-operation and Development, IWA Publishing Alliance House:2003 Available online: https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/9241546301full.pdf (accessed on 1 December 2010). . Report No.: 1843390361.
3. Doria MF. Bottled water versus tap water: understanding consumers' preferences. *Journal of water and health*. 2006;4(2):271-6.
4. Ranaei A, Mazlum M. Increasing consumption of mineral water (and bottled), based on surveys conducted in the city of Mashad, Iran. 14th National Congress on Environmental Health, 2012 October Yazd. Iran: Yazd University of Medical sciences. Yazd. Iran.; 2011. p. 210-22 (in persian).
5. Malwina D, Žaneta P, Jacek N. The role of heterotrophic plate count bacteria in bottled water quality assessment. *Food Control*. 2016;61:188-95.
6. Rosenberg FA. The microbiology of bottled water. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2003;25(6):41-4.
7. Zeenat A, Hatha A, Viola L, Vipra K. Bacteriological quality and risk assessment of the imported and domestic bottled mineral water sold in Fiji. *Journal of water and health*. 2009;7(4):642-9.
8. Falcone-Dias M, Farache-Filho A. Quantitative variations in heterotrophic plate count and in the presence of indicator microorganisms in bottled mineral water. *Food Control*. 2013.
9. Falcone-Dias MF, Vaz-Moreira I, Manaia CM. Bottled mineral water as a potential source of antibiotic resistant bacteria. *Water research*. 2012;46(11):3612-22.
10. El-Salam A, Al-Ghitany E, Kassem M. Quality of Bottled Water Brands in Egypt Part II: Biological Water Examination. *J Egypt Public Health Assoc*. 2008;83:468-86.
11. Hoseiny A, Bazrafshan E, Moin H, Saravani R, Metanat T, Miri N, et al. Investigation of microbial and chemical quality in mineral and botteled drinking water during 2010-2011 in Sistan and Baluchitan province, Iran 14th National Congress on Environmental Health, 2012 October Yazd. Iran: Yazd University of Medical sciences. Yazd. Iran.; 2011. p. 273-81 (in persian).
12. Molaei Aghaei E, Alimohammadi M, Jahed GRG, A, Abedi T. Investigation of the growth and survival of pedomonas Aeromonas in bottled water at the various situation. 14th National Congress on Environmental Health, 2012 October Yazd. Iran: Yazd University of Medical sciences. Yazd. Iran.; 2011. p. 253-8 (in persian).
13. APHA., AWWA., WEF. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 22 ed. Washington.D.C: American public health association; 2012.
14. Allen MJ, Edberg SC, Reasoner DJ. Heterotrophic plate count bacteria—what is their significance in drinking water? *International Journal of Food Microbiology*. 2004;92(3):265-74.
15. Bartram J, Cotruvo J, Exner M, Fricker C, Glasmacher A. Heterotrophic plate count measurement in drinking water safety management: Report of an Expert Meeting Geneva, 24–25 April 2002. *International Journal of Food Microbiology*. 2004;92(3):241-7.
16. Chowdhury S. Heterotrophic bacteria in drinking water distribution system: a review. *Environmental monitoring and assessment*. 2012;184(10):6087-137.

17. Venieri D, Vantarakis, A., Komninou, G., Papapetropoulou, M. Microbiological evaluation of bottled non-carbonated ("still") water from domestic brands in Greece. *International journal of food microbiology*. 2006;107(1):68-72.
18. ISIRI IoSalRol. Drinking water - Microbiological specifications Iran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2007.
19. WHO. Guidelines for Drinking-water Quality: First Addendum to Third Edition, Volume 1, Recommendations: World Health Organization; 2006.
20. Stine SW, Pepper IL, Gerba CP. Contribution of drinking water to the weekly intake of heterotrophic bacteria from diet in the United States. *Water Research*. 2005;39(1):257-63.
21. Moazeni M, Atefi, M., Ebrahimi, A., Razmjoo, P., Vahid Dastjerdi, M. Evaluation of Chemical and Microbiological Quality in 21 Brands of Iranian Bottled Drinking Waters in 2012: A Comparison Study on Label and Real Contents. *Journal of environmental and public health*. 2013;2013.
22. Gerba CP. Indicator microorganisms. *Environmental microbiology*. 2000:491-503.
23. Jahed Khaniki GR, Zarei, A., Kamkar, A., Fazlzadeh, Davil, M., Ghderpouri, M., Zarei, A. Bacteriological evaluation of bottled water from domestic brands in Tehran markets, Iran. *World Applied Sciences Journal*. 2010.
24. Mosaferi M, shakerkhatibi M, Mehri Badloo A. Heterotrophic bacteria in drinking water in Tabriz, Iran. *Journal of School of Public Health And Institute of Public Health Researches* 2011;. 2011;8(4):83-92 (in persian).
25. Pavlov D, De Wet C, Grabow W, Ehlers M. Potentially pathogenic features of heterotrophic plate count bacteria isolated from treated and untreated drinking water. *International Journal of Food Microbiology*. 2004;92(3):275-87.
26. Leclerc H, Moreau A. Microbiological safety of natural mineral water. *FEMS Microbiology Reviews*. 2002;26(2):207-22.
27. Nsanze H, Babarinde, Z., Al Kohaly, H. Microbiological quality of bottled drinking water in the UAE and the effect of storage at different temperatures. *Environment international*. 1999;25(1):53-7.
28. Posnick LM, Kim H. Bottled water regulation and the FDA. *Food Safety Magazine*. 2002.
29. Otterholt E, Charnock C. Microbial quality and nutritional aspects of Norwegian brand waters. *International journal of food microbiology*. 2011;144(3):455-63.