

آلودگی ماهیان دودی تهیه شده به روش سنتی به لیستریا مونوسایتوژنز و گونه های سالمونلا در ایران

حمیدرضا توکلی^۱، مهدی قربانعلی زادگان^{۲*}، علی نجفی^۳، افشین آخوندزاده بستی^۴، رامین خاکسار^۵

۱. Ph.D. میکروب شناسی مواد غذایی، استادیار گروه تغذیه و بهداشت مواد غذایی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج).
۲. کارشناس ارشد میکروب شناسی، محقق مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)
۳. کارشناس ارشد بیولوژی مولکولی، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)
۴. Ph.D. میکروب شناسی مواد غذایی، دانشیار گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
۵. Ph.D. بهداشت و کنترل مواد غذایی، استادیار گروه صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی

* نشانی برای مکاتبه: تهران، میدان ونک، خ ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، صندوق پستی: ۱۹۹۴۵ / ۵۸۱
، تلفن و نمابر: ۴۲۴۲۹۵۱ - ۰۹۱۲ ، gh_mahdi52 @ yahoo.com
دریافت مقاله: فروردین هشتاد و هفت پذیرش برای چاپ: مرداد هشتاد و هفت

چکیده

سابقه و هدف: در سال های اخیر مصرف آبزیان به ویژه ماهی در ایران رو به افزایش بوده است. در بین این فرآورده ها استفاده از ماهی دودی در استان های شمال کشور بسیار متداول است. با توجه به روش تهیه این فرآورده بصورت سنتی و نحوه مصرف (پخت ناکافی) امکان آلودگی آن به برخی از عوامل بیماری زا نظیر لیستریا مونوسایتوژنز و گونه های سالمونلا وجود دارد. هدف از انجام این مطالعه تعیین باریکروبی و آلودگی ماهی دودی به دو باکتری مورد نظر بوده است.

روش کار: تعداد ۱۰۲ نمونه ماهی دودی شامل ۵۸ نمونه ماهی آزاد (*Salmon trutta*) و ۴۴ عدد ماهی کپور سرگنده (*Hypophthalmichthys nobilis*) بلافاصله پس از پایان مرحله دودی شدن به روش سنتی بطور استریل جمع آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه طبق روش های استاندارد *FDA* و *APHA* از نظر شمارش کلی باکتری ها و آلودگی به لیستریا مونوسایتوژنز و گونه های سالمونلا مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: تعداد باکتری های هوای از 2×10^2 cfu/g تا 6×10^6 cfu/g متغیر بود. لیستریا مونوسایتوژنز از ۳۵ نمونه (۳۴/۳۱٪) جدا گردید و میزان آلودگی ماهیان کپور سرگنده و آزاد به ترتیب ۶۳/۶ و ۱۲/۱۶ درصد تعیین گردید. همچنین در هیچیک از نمونه های مورد مطالعه آلودگی به سالمونلا تأیید نگردید.

نتیجه گیری: در تمامی کشورهای جهان کنترل میکروبی فرآورده های دریایی همچون سایر مواد غذایی صورت می پذیرد. نتایج مطالعات انجام شده در سایر کشورهای جهان و این مطالعه آلودگی ماهیان دودی تهیه شده به روش سنتی را تأیید می نماید. استفاده از روش های صحیح و نوین عمل آوری و استفاده از حرارت کافی در هنگام مصرف این محصولات در پیشگیری از بروز عفونت یا مسمومیت غذایی مؤثر خواهد بود.

واژگان کلیدی: ماهی دودی، لیستریا مونوسایتوژنز، سالمونلا

مقدمه

مورد ماهیان فرآوری شده نظیر ماهی دودی و ماهی شور در ایران استفاده نگردیده است و این محصولات که در شمال ایران بصورت سنتی تهیه و به وفور مصرف می گردند کمتر مورد توجه قرار گرفته اند (۲ و ۳). یکی از دلایل احتمالی این موضوع عدم آگاهی دقیق مسئولین بهداشتی از میزان آلودگی این فرآورده ها است. بنابراین انجام این قبیل مطالعات بمنظور نشان دادن کیفیت میکروبیولوژیکی ماهیان دودی تهیه شده به روش سنتی از اهمیت زیادی برخوردار است.

یکی از مهمترین وظایف مسئولین بهداشتی در تمامی کشورها اطمینان از سلامت و ایمنی مواد غذایی مصرفی توسط مردم جامعه است. بر همین اساس از ابزارها و روش های مختلفی برای کنترل و نظارت بر تهیه و توزیع مواد غذایی استفاده می گردد که یکی از آنها نمونه برداری های تصادفی و انجام آزمون های میکروبی است (۱). متأسفانه تاکنون از این ابزار کنترلی در

همولیز، تخمیر قند (رافنوز، گزیلوز، مانیتول) مورد آزمایش قرار گرفتند و سرانجام توسط آنتی‌سرم‌های تجارتي مورد سروتاپینگ قرار گرفتند.

یافته ها

تعداد باکتری‌های هوازی در ۱۰۲ نمونه مورد آزمایش بین 2×10^2 cfu/g تا 6×10^6 cfu/g تعیین گردید. آلودگی به لیستریامونوسیتوز در ۳۵ نمونه (۳۴٪) اثبات گردید. که از این میزان ۲۸ مورد (۸۰ درصد) موارد مثبت مربوط به ماهیهای فیتوفاگ و ۷ مورد (۲۰ درصد) مربوط به ماهی های آزاد بود. در هیچیک از نمونه‌های مورد آزمایش آلودگی به سالمونلا مورد تأیید قرار نگرفت.

بحث

این مطالعه نشان داد بار میکروبی ماهیان دودی تهیه شده در شمال ایران بالا می باشد. متوسط آلودگی 3×10^4 cfu/g تعیین گردید، که این میزان آلودگی از نظر بهداشت و مواد غذایی و تهدید سلامت مصرف کنندگان دارای اهمیت می باشد. به علاوه وجود آلودگی به لیستریا مونوسیتوز در ۳۱/۳٪ از نمونه های مورد آزمایش برای مسئولین بهداشت کشور هشدار دهنده است. در این مطالعه مشخص گردید که میزان آلودگی ماهیان فیتوفاگ دودی بیش از ۵ برابر ماهیان زانون دریایی بوده است.

آلودگی بیشتر ماهیان فیتوفاگ پرورشی نسبت به ماهیان دریایی می تواند به دلیل نوع زندگی آنها در قسمت های عمقی آب و تماس بیشتر با گل و لای استخرهای پرورش ماهی باشد. در مطالعات انجام شده در ایران (۲ و ۸) نیز آلودگی ماهیان پرورشی ، شور و دودی شده به باکتری های بیماری زا نشان داده شده است.

همچنین نتایج مطالعات انجام شده در سایر کشورهای جهان آلودگی ماهیان دودی تهیه شده به روش سنتی به باکتریهای بیماری زا را تأیید می‌نماید. طبق گزارشات موجود مسمومیت های غذایی ناشی از مصرف آبزیان به ویژه ماهی در جهان به ویژه در مناطقی که فرآورده ای دریایی بصورت خام ، نیم پز و یا تخمیر شده مورد استفاده قرار میگیرند رو به افزایش می باشد (۹ و ۱۰).

کارخانه‌های دودی کردن ماهی به عنوان منبعی برای آلودگی به حساب می‌آیند که اهمیت آن بیشتر از آلودگی ماهی خام است (۱۱). در طی یک مطالعه انجام شده توسط Messis و همکارانش در ایتالیا ۱۸۳ نمونه ماهی مورد بررسی قرار گرفتند که ۴۴ مورد (۲۴٪) از آن‌ها آلودگی به لیستریا را نشان دادند که ۱۴ مورد از آن‌ها (۷/۶٪) آلوده به لیستریا مونوسیتوز بودند. در این مطالعه ماهی دودی با ۳۸٪ آلودگی آلوده‌ترین محصول غذایی دریایی شناخته شد (۳۱). در بررسی دیگری که توسط Dillon و همکاران در کانادا (۱۹۹۲) انجام گرفت، ۷۱ ماهی دودی از نظر آلودگی به لیستریا مونوسیتوز مورد بررسی قرار گرفتند که در ۱۱/۳٪ از نمونه‌ها وجود آلودگی تأیید گردید (۱۳).

در بررسی انجام شده توسط Mclauchli و همکاران در مورد آلودگی مواد غذایی دریایی به لیستریا در انگلستان و ولز، از مجموع ۴۴۳۵ نمونه مورد بررسی ۳٪ از نمونه ها به لیستریا مونوسیتوز آلوده بودند و ارتباط معنی داری بین حضور لیستریا و بالا بودن تعداد کلی باکتری‌ها تأیید گردید. همچنین در این مطالعه ۷٪ ماهیان دودی به لیستریا مونوسیتوز آلوده بودند در حالیکه متوسط آلودگی سایر فرآورده‌های دریایی ۲٪ تعیین گردید (۱۴).

لیستریا مونوسیتوز از طیف وسیعی از مواد غذایی مانند گوشت و فرآورده‌های گوشتی، شیر و فرآورده‌های لبنی، سالاد و سبزیجات و فرآورده‌های دریایی جدا شده است و مصرف غذاهای آلوده به این باکتری بویژه در افراد دارای نقص ایمنی موجب بروز بیماری می‌گردد (۴). از سوی دیگر بدلیل راه‌یابی فاضلاب‌ها به آب دریاها و محیط پرورش ماهیان و استفاده از کود حیوانی در استخرهای پرورش ماهی احتمال آلودگی به این باکتری و سایر باکتری‌های بیماری‌زا از جمله سالمونلا وجود دارد (۵ و ۶). گزارشات پراکنده‌ای از بروز عفونت و مسمومیت‌های غذایی در اثر مصرف غذاهای دریایی بویژه صدف و ماهی آلوده به سالمونلا وجود دارد. در بین محصولات دریایی، ماهی دودی از مواد غذایی آماده مصرف می‌باشد که در مناطق شمالی ایران (بویژه استان گیلان) بصورت سنتی و بدون هیچگونه کنترل بهداشتی از نظر حرارت و زمان دود دادن، به روش دود سرد (۳۵-۲۵ درجه سانتیگراد) تهیه شده و اغلب بصورت نیم‌پز مورد مصرف قرار می‌گیرد (۲). به همین دلیل مصرف این فرآورده به عنوان یک عامل خطر برای بروز مسمومیت و عوارض ناشی از آن بویژه در افراد دارای نقص ایمنی، افراد مسن، کودکان و زنان باردار محسوب می‌گردد. هدف از انجام این مطالعه تعیین آلودگی ماهیان دودی تهیه شده به روش سنتی به لیستریا مونوسیتوز و گونه‌های سالمونلا در ایران می باشد

روش کار

تعداد ۱۰۲ نمونه ماهی دودی شامل ۵۸ نمونه ماهی آزاد (Salmo trutta caspius) و ۴۴ عدد ماهی کپور سرگنده با نام محلی فیتوفاگ (H. nobilis) بلافاصله پس از پایان مرحله دودی شدن به روش سنتی بطور استریل جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه طبق روش‌های استاندارد باکتریولوژی از نظر شمارش کلی باکتری‌ها و آلودگی به لیستریا مونوسیتوز و گونه‌های سالمونلا مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌ها بلافاصله پس از عملیات دودی کردن در داخل کیسه‌های پلاستیک استریل تحت شرایط سرما به آزمایشگاه مواد غذایی منتقل گردیدند و سپس طبق روش‌های استاندارد ارائه شده توسط انجمن بهداشت عمومی امریکا (APHA) و اداره غذا و دارو (FDA) از نظر شمارش کلی باکتری‌های هوازی و وجود باکتری‌های لیستریا مونوسیتوز و سالمونلا مورد بررسی قرار گرفتند (۷).

ابتدا ۲۵ گرم از هر نمونه ماهی توسط ۲۲۵ میلی‌لیتر محلول رقیق کننده (آب پیتونه) در داخل مخلوط کن استریل یکنواخت و سپس رقت‌های متوالی تا رقت 10^{-8} تهیه گردید سپس برای شمارش کلی باکتری‌ها از هر کدام از رقت‌های تهیه شده بر روی محیط کشت BHI کشت سطحی داده شده و در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد بمدت ۴۸ ساعت نگهداری گردیدند و سپس پرگنه‌های رشد کرده طبق روش استاندارد، مورد شمارش قرار گرفتند.

جهت جستجوی لیستریا مونوسیتوز ۱ میلی‌لیتر از نمونه یکنواخت شده به لوله‌های حاوی آبگوشت غنی کننده لیستریا (LEB) که حاوی ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نالیدیکسکیک اسید و ۳۷ گرم در لیتر تیوسیانات پتاسیم بود منتقل گردید و کلیه لوله‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد بمدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری گردیدند. سپس پرگنه‌ها مشکوک به لیستریا مونوسیتوز (پرگنه‌های کوچک سبز) از نظر رنگ‌آمیزی گرم، آزمایش حرکت در دو دمای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتیگراد، تست کاتالاز،

در پنج منطقه روستایی حومه لایبیک رخ داد که طی آن ۱۱ نفر دچار مسمومیت گردیدند. این مطالعه احتمال انتقال سالمونلا از طریق مصرف ماهی دودی را نشان می دهد که می تواند بصورت اولیه و به دلیل باقی ماندن میکروارگانیسم در حین پروسه دود دادن ماهی (دود سرد) و یا در اثر آلودگی ثانویه رخ دهد (۱۷). در مطالعه Dominguez و همکاران در اسپانیا میزان شیوع آلودگی به لیستریامونوسیتوز در ۱۷۰ نمونه ماهی دودی جمع آوری شده از مراکز فروش ۹ استان مورد بررسی قرار گرفت که در ۳۸ مورد (۲۲/۳٪) آلودگی به لیستریامونوسیتوز مشخص گردید (۱۸).

نتیجه گیری

نتایج عمومی مطالعات فوق و مطالعه ما نشان می دهد که امکان آلودگی اولیه یا ثانویه فرآورده های دریایی از جمله ماهیان دودی شده به باکتریهای بیماری زا نظیر لیستریامونوسیتوز، استافیلوکوکوک آرنوس و سالمونلا وجود دارد و این آلودگیها بویژه در نقاطی مانند شمال ایران که ماهی به روش سنتی و سرد (۳۰-۲۵ درجه سانتیگراد) دودی می شوند بیشتر مشاهده می گردد. با توجه به مصرف ماهی دودی در این مناطق بصورت خام یا نیم پز امکان بروز عفونت و مسمومیت غذایی پس از مصرف این فرآورده ها وجود دارد. بنابراین استفاده از روشهای صحیح و نوین عمل آوری و استفاده از حرارت کافی به هنگام مصرف این محصولات و کنترل و نظارت بهداشتی مداوم این فرآورده ها اقداماتی هستند که در پیشگیری از بروز بیماری بسیار موثر خواهند بود.

در مطالعه Lyns و همکارانش در فنلاند کیفیت میکروبیولوژیکی ۲۰۰ نمونه از ماهیان دودی شده به روش سرد و گرم، ماهیان و کیوم شده و فرآورده های به نام Gravad مورد بررسی قرار گرفت. تعداد کلی باکتری هوازی در ماهیان دودی شده به روش سرد و گرم به ترتیب ۱۵ و ۲ درصد گزارش گردید (۱۵). متوسط آلودگی به لیستریا مونوسیتوز در این مطالعه کمتر از مطالعه ما بوده است در حالیکه از نظر شمارش کلی باکتریها، میانگین آلودگی نمونه ها بیش از مطالعه ما بوده است. در مطالعه Sindayigaya و همکاران ۸۸ ماهی خشک و ۷۷ نمونه ماهی دودی در ناحیه دریاچه Tanyanika بلژیک مورد بررسی قرار گرفتند. میزان شمارش کلی باکتریهای هوازی بطور میانگین حدود 10^9 cfu/g گزارش گردیده که میزان آلودگی بیش از آلودگی نمونه های مورد آزمایش در مطالعه ما بوده است، دلیل احتمالی این موضوع کهنه بودن ماهیان مورد آزمایش در مطالعه فوق بوده است زیرا میزان ازت تمام فرار (TVN) نیز در نمونه های فوق بالا بوده است. در این مطالعه آلودگی به انتروباکتریاسه ها متغیر بوده و گونه غالب پروتئوس گزارش گردیده ولی همچون مطالعه ما در هیچ نمونه ای آلودگی به سالمونلا تأیید نگردید (۱۶). در مطالعه Heintz و همکاران آلودگی به لیستریا، سالمونلا و کلسترییدیوم بوتولینوم در ۱۰۸۰ نمونه ماهی دودی و صدف های دودی در طی ۵ سال مورد مطالعه قرار گرفت. لیستریا مونوسیتوز از ۱۴٪ و ۳٪ نمونه های ماهی و صدف مورد آزمایش و جداسدند اما هیچگونه آلودگی به کلسترییدیوم بوتولینوم تأیید نگردید (۶). میزان آلودگی به لیستریا در این مطالعه کمتر از مطالعه ما بوده است. طبق گزارش Khon در سال ۱۹۹۱ در اثر مصرف ماهی دودی هالیبوت یک اپیدمی ناشی از سالمونلا پاراتیپی

REFERENCES

- Jay IM. Modern food microbiology(6th edition). Chapman and Hall publication, New york; 2002; 157-59.
۲. وحدانی پرویز. بررسی کلی بیماران بستری شده با تشخیص بوتولسم در بخش عفونی مرکز پزشکی لقمان حکیم تهران طی سالهای ۷۶-۱۳۷۵. ششمین کنگره بیماریهای عفونی و گرمسیری ایران، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، سال ۱۳۷۶، بانک اطلاعات رایانه ای کنگره ها، ویرایش ششم، سال ۱۳۸۰: صفحات ۸۲۳-۲۴.
- Akhondzade A, Msaghi A, Kamkar A. Bacterial pathogens in fresh, salted and smoked Iranian fish. Food Control; 2006 17; 183- 188.
- Varnam AH, Evans MG. Food borne pathgens. worf, Loudon; 2001; 327-53.
- Kuhn H. Outbreak of Salmonella paratyphi B infections in Connection with Consumption of smoked fish. J. Ge sundheitswesex; 1994 56(4); 211-14.
- Heintz ML, Tonson JM. The incidence of Lospp., Salmonella spp. And C. botulinum in smoked fish and shellfish. J. Food prot; 1998 61(3); 318-323.
7. APHA. Compendium of methods for the microbiological examination.Forth ed. Washington: American public Health Association; 2001; PP.105-119,325-367 , 371-415, and 637-658.

- ۶۰
8. Tavakoli HR, Behrozi S, Samadi M. The Study of Foodborne Pathogens (*S. aureus* , *L. monocytogenes* , and *E. Coli*) in Cultured Fishes in Iran , world Aquaculture Congerress. 2006: Italy.
 9. Feldhusen F. The role of seafood in bacterial food borne diseases. *Microbe infection*; 2004 2;1651-1660.
 - 10- Hobbs Bety C, Roberts Diane. Food poisoning and food hygiene. Sixth Edition. Arnold Publications. 2005.
 11. Rorui LM, Aase B, Alvested T, Caugant D. Epidemiological survey of *L.mono Cytogenes* in sea food - processing plants. *Appi Environ Microbial*; 2000 66(11);4779-84
 12. Messi P, Casolor C, Fabio G, Gibertoni C, Menziani G, Quaglio P. Occurrence of *Listeria* food matrices. *Industries Alimentri*; 1999 38; 151-157.
 13. Dillon RM, Pata TR, RaTTam S. Prevalence of *Listeria* in Smoked fish. *J. Food prot*; 1992 55 (11); 866-870.
 14. MC lauchlin J, Nichols Gl. (1994). *Listeria* and sea food. *PHLS microbiology digest*; 1994 11(3); 151-54.
 15. Lyns u, Hattaka M, Maki petays N, Hyttia E, Korkeala H. Microbiological quality of Finnish vacuum packaged fishery products at retail level. *J. Lebensmittel hygiene*; 1998 49; 146-150.
 16. Sindayiga E, Debevere Tm. Microbiological quality of dried and smoked fish from lake tanganika. *Sciences Aliments*; 1989 9(3); 507-16.
 17. Kuhn H. Occurrence of *Salmonella enteritidis* in humans. *DTW, Tierarzt. Wonchensch*; 1993 100(7); 255-65.
 18. Dominguez C, Gomez I, Zumalacavvegui I. (2001). Prevalence and contamination Levels of *L.monocytogenes* in smoked fish and pate sold in spain. *T Food Prot*; 2001 64 (12); 2075-77.