

## آلودگی و ویبریو پارهمولیتیکوس در اغذیه دریایی شهر اصفهان

محمد جلالی<sup>۱\*</sup>، منیژه مهدوی<sup>۲</sup>، عباسعلی جوادی<sup>۳</sup>، فرزین خورش<sup>۴</sup>، بهروز عطایی<sup>۴</sup>، داریوش عابدی<sup>۵</sup>

۱. میکروب شناس، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی اصفهان-دانشکده بهداشت و مرکز تحقیقات تغذیه و امنیت غذایی.
۲. کارشناس ارشد میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان-دانشکده بهداشت و مرکز تحقیقات تغذیه و امنیت غذایی.
۳. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۴. متخصص بیماریهای عفونی و گرمسیری، استادیار دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۵. متخصص بیوتکنولوژی دارویی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی اصفهان- دانشکده داروسازی

نشانی برای مکاتبه: اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده بهداشت و مرکز تحقیقات تغذیه و امنیت غذایی، تلفن: ۰۳۱۱-۷۹۲۲۷۸۱

نمبر ۰۳۱۱-۶۶۸۲۵۰۹، Jalali@mui.ac.ir

پذیرش برای چاپ: مرداد هشتاد و هشت

دریافت مقاله: دی ماه هشتاد و هفت

### چکیده

**سابقه و هدف:** ویبریو پارهمولیتیکوس در محیطهای دریایی بسیار دیده می شود و موجب گاسترواینتریت در اثر مصرف اغذیه دریایی آلوده می گردد. علائم کلینیکی عفونتهای ویبریو پارهمولیتیکوس شامل اسهال، دردهای شکمی، تهوع و استفراغ می باشد. بیشتر مسمومسیت های غذایی ویبریو پارهمولیتیکوس به دلیل مصرف اغذیه دریایی مانند ماهی، خرچنگ، میگو، صدف و نرم تنان است. با این حال فراورده های غذایی دیگر نیز ممکن است عامل انتقال آلودگی این باکتری باشند. هدف از تحقیق حاضر تعیین آلودگی انواع ماهی و میگوی مصرفی شهر اصفهان به ویبریو پارهمولیتیکوس و سایر گونه های آن می باشد.

**روش بررسی:** ۴۱۱ نمونه از انواع ماهی و میگو به صورت آسپتیک از ۱۸ ماهی فروشی شهر اصفهان در سالهای ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۴ با روشهای استاندارد میکروبیولوژی نمونه گیری شد. پس از طی مرحله غنی سازی و کشت خطی بر روی محیط کشت جامد افتراقی-انتخابی TCBS و خالص سازی، آزمایشات لازم بر روی نمونه ها به عمل آمد.

**یافته ها:** میزان آلودگی ویبریو پارهمولیتیکوس و سایر گونه های آن به ترتیب در اغذیه دریایی شهر اصفهان ۱/۵٪ و ۲/۴٪ بود.

**نتیجه گیری:** تلاش بیشتر برای کاهش آلودگی و شناسایی منشأ آلودگی اغذیه دریایی شهر اصفهان ضروری می باشد.

### واژگان کلیدی: ویبریو، ویبریو پارهمولیتیکوس، آلودگی، اغذیه دریایی، ماهی، میگو

#### مقدمه

میکروبی آبهای ساحلی و رودخانه ها را تشکیل می دهد و در طول ماههای زمستان در رسوبات جایگزین می شود ولی با گرم شدن آب فعال شده و سخت پوستان و آبزیان را مورد هجوم قرار داده و در بدن آنها تکثیر می کند (۳). در حقیقت این باکتری فلور نرمال Zooplankton ماهی، میگو و صدف می باشد (۴). در بین باکتریهای بالقوه بیماری زا که بطور طبیعی در اغذیه دریایی و ماهی وجود دارد، ویبریو پارهمولیتیکوس شایعترین نوع آن است (۵ و ۲).

سلامتی غذا از گذشته تا امروز موضوع تحقیقات زیادی بوده است. با روشهای نوینی تلاش شده است تا آلودگی مواد غذایی به عوامل بیماری زا کاهش دهند. با این حال شیوع رو به افزایش مسمومیت های غذایی یکی از مهمترین مسائل در جوامع بشری به شمار می آید (۱). ماهی و اغذیه دریایی بعد از گوشت قرمز و پرندگان دومین غذای پروتئین جانوری در جهان است. در برخی از کشورها مانند ژاپن، ماهی منبع اصلی پروتئین می باشد (۲). ویبریو پارهمولیتیکوس بخشی از فلور طبیعی

سیرتات بایل سوکروز) کشت داده شد (۲۴-۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد)، سپس از محیط TCBS جهت جداسازی کلونی های تیپیک ویبریو پاراهمولیتیکوس (کلنی های با رنگ سبز تیره، قطر ۲-۴ میلی متر، مرطوب و براق) استفاده گردید. پس از اطمینان از خالص بودن کلنی های به دست آمده، آزمونهای بیوشیمیایی مورد نیاز جهت شناسایی ویبریو پاراهمولیتیکوس انجام گردید (آزمایشهای بیوشیمیایی عبارت بودند از: تست اکسیداز، تست ONPG، TSI، تستهای دکربوکسیلاز، تستهای تحمل نمک، رشد در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد، ایندول و VP)

### یافته‌ها

در این تحقیق تعداد ۴۱۱ نمونه اغذیه دریایی در طی سال ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۴ از سطح ماهی فروشیهای شهر اصفهان برای بررسی آلودگی به گونه های ویبریو تهیه گردید. در جدول ۱ انواع ماهیها و نتایج حاصل از آلودگی آنها به ویبریو پاراهمولیتیکوس و سایر گونه های ویبریو مشاهده می گردد. از کل نمونه ها ۱۶ نمونه (۳/۹٪) آلودگی به ویبریو را نشان دادند. شش نمونه آلوده به ویبریو پاراهمولیتیکوس و ۱۰ نمونه آلوده به سایر گونه های ویبریو بودند. نمونه های آلوده به ویبریو پاراهمولیتیکوس تنها به ماهیهای شوریده، صبور، سرخو، راژگو و سنگسر مربوط می شد و در ۵۵ نمونه میگو هیچگونه آلودگی ویبریو مشاهده نشد. سایر گونه های ویبریو از همه انواع نمونه ها بغیر از ماهی سرخو، هامور، شوریده و میگو جداسازی گردید. سه نمونه از شش نمونه آلوده به ویبریو پاراهمولیتیکوس در تابستان ۱۳۸۳، یک نمونه در پاییز ۱۳۸۳، یک نمونه در تابستان ۸۴ و یک نمونه در بهار ۸۴ جداسازی شد. در کل میزان آلودگی ویبریو پاراهمولیتیکوس و سایر گونه های آن به ترتیب در اغذیه دریایی شهر اصفهان ۱/۵٪ و ۲/۴٪ بود.

### جدول ۱. میزان آلودگی، تعداد و انواع نمونه اغذیه دریایی شهر اصفهان به ویبریو پاراهمولیتیکوس و سایر گونه های آن.

نوع اغذیه دریایی	تعداد نمونه	تعداد نمونه آلوده به ویبریو پاراهمولیتیکوس(٪)	تعداد نمونه آلوده به سایر گونه های ویبریو(٪)
ماهی شوریده	۴۱	۱(۲/۴)	۰
صبور	۴۰	۱(۲/۵)	۱(۲/۵)
بیاج	۳۸	۰	۱(۲/۶)
سرخو	۳۶	۲(۵/۵)	۲(۵/۵)
هامور	۴۳	۰	۰
راژگو	۴۶	۱(۲/۸)	۰
سنگسر	۳۴	۱(۲/۹)	۲(۵/۷)
حسون	۳۳	۰	۱(۳)
حلوا	۴۵	۰	۰
میگو	۵۵	۰	۰
کل	۴۱۱	۶(۱/۵)	۱۰(۲/۴)

ویبریو پاراهمولیتیکوس باسبیل گرم منفی صاف یا کمی خمیده و هالوفیل می باشد (احتیاج به یک تا ۳٪ نمک طعام دارد) و تا غلظت ۷٪ نمک طعام هم رشد می کند. در نتیجه ماهیان آبهای شور دریاها از منابع اصلی این باکتری می باشند. رشد سریع این باکتری در فصلهای بهار و تابستان می باشد و اغلب مسمومیت های غذایی ناشی از آن در فصلهای گرم گزارش می شود، یعنی زمانی که دمای آب بالاتر از ۱۵ درجه سانتیگراد می باشد. این باکتری در نقاط مختلف جهان وجود دارد و جمعیت آن بستگی به فصل، شوری آب و آلودگی مدفوعی آن محل دارد (۶). درجه حرارت مناسب برای رشد آن از ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتیگراد می باشد ولی می تواند در محدوده ۱۰ تا ۴۴ درجه سانتیگراد رشد کند. رشد باکتری در pH کمتر از ۵ و بالاتر از ۱۱ متوقف می شود. ویبریو پاراهمولیتیکوس از تعداد زیادی از مواد غذایی دریایی شامل میگو، صدف خوراکی و خرچنگ آبی جدا شده است (۱).

ویبریو پاراهمولیتیکوس مسئول وقوع گاستروانتریت حاد همراه با نشانه های تهوع، استفراغ و کرامپ شکمی، تب ملایم، لرز و اسهال (مدفوع آبکی و گاهی خونی) می باشد (۷ و ۸). همچنین یکی از عوامل مهم اسهال و مسئول بروز ۷۰-۵۰٪ موارد عفونت های روده ای در ژاپن می باشد (۳). عمدتاً وقوع بیماری بطور مستقیم یا غیر مستقیم به مواد غذایی دریایی مربوط است. معمولاً به علت مصرف مواد غذایی دریایی خام یا نیم پخته و یا مصرف مواد غذایی دریایی که پس از پخت آلوده شده اند بیماری بروز می کند (۹). هر چند گونه های مختلف ویبریو پاراهمولیتیکوس بسیار حساس به حرارت هستند و با پخت کافی از بین می روند، مصرف خام یا نیم پخته محصولات دریایی آلوده منجر به ابتلا به این باکتری می شود (۱۰). اغلب گزارشها ناشی از همین مسئله می باشد. شیوع بیماریهای گوارشی در ایالات متحده در اثر مصرف اغذیه دریایی که خام یا نیم پخته هستند و بایطور صحیح سردسازی نشده اند، گزارش شده است (۶). زمان دو برابر شدن باکتری خیلی کوتاه (۹ دقیقه) بوده و در عرض چند دقیقه ممکن است تعداد کثیری باکتری در غذای آلوده تولید شود. از نظر تراکم باکتری در غذا، حدود  $10^5 - 10^9$  باکتری به ازای هر گرم یا میلی لیتر قادر به ایجاد گاستروانتریت و مسمومیت غذایی لازم است (۱۱).

در این تحقیق به بررسی میزان آلودگی اغذیه دریایی شهر اصفهان به ویبریو پاراهمولیتیکوس پرداخته می شود. نتایج این پژوهش برای اجرای بهتر سیستم های کنترلی بهداشت مواد غذایی بخصوص اغذیه دریایی می تواند حائز اهمیت باشد.

### روش بررسی

نمونه گیری به صورت تصادفی و آسپتیک از سطح ۱۸ ماهی فروشی شهر اصفهان به عمل آمد و نمونه های جمع آوری شده در جعبه حاوی یخ به آزمایشگاه میکروب شناسی غذایی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انتقال داده شد. تعداد ۵۵ نمونه میگو و ۳۵۶ نمونه ماهی در سالهای ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۴ اخذ گردید. ماهیهای نمونه برداری شده شامل انواع شوریده، صبور، بیاج، سرخو، هامور، راژگو، سنگسر، حسون و حلوا بود. ویبریو پاراهمولیتیکوس طبق روش استاندارد شماره ۱-۹۶۶۷ ایران جداسازی شد. بدین منظور ابتدا ۲۵ گرم از ماده غذایی در ۲۲۵ میلی لیتر محلول نمکی ۳/۵٪ اضافه شد و محلولی هموزنیزه از نمونه ماده غذایی به دست آمد. سپس ۱۰ میلی لیتر از هر نمونه هموزن به ۱۰۰ میلی لیتر آلکالین پپتون واتر (APW) اضافه گردید و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۴ ساعت نگهداری شد. در ادامه از محیط غنی کننده سریال رقت تهیه گردید و از هر رقت بر روی محیط کشت TCBS (تیوسولفات

## بحث

مقایسه با کشورهای دیگری همچون هند، چین، پرتقال و یونان بسیار کمتر می‌باشد، تلاش بیشتر برای کاهش آلودگی و شناسایی منشأ آلودگی اغذیه دریایی شهر اصفهان ضروری به نظر می‌رسد. تحقیقات دیگر در ایران در مورد آلودگی به میگو انجام گرفته است. در حالیکه در مطالعه حاضر از ۵۵ نمونه میگو شهر اصفهان هیچگونه آلودگی به ویبریو پاراهمولیتیکوس و سایر گونه‌های آن مشاهده نگردید. طی مطالعه‌ای برای شناسایی گونه‌های غالب ویبریو پاراهمولیتیکوس در مزارع میگو، سلطانی و همکاران درصد آلودگی ویبریو پاراهمولیتیکوس را ۲۹/۲٪ گزارش دادند (۱۸). در مطالعه دیگری در ایران، رضوی و همکاران از مجموع ۷۷۰ نمونه مورد آزمایش، ۱۶ نمونه (۲/۱٪) آلوده پیدا کردند (۱۹).

از آنجاییکه در ایران طی دهه اخیر صنعت آبی پروری از رشد چشمگیری برخوردار بوده است و با توجه به ضرورت ترویج فرهنگ مصرف غذاهای دریایی ضروری است به موازات اینگونه اقدامات، به جنبه‌های بهداشتی محصولات حاصله برای مصرف انسانی نیز توجه کرد. بنابراین با عنایت به سطح غیر قابل قبول عرضه بهداشتی ماهی و میگوی تازه در بازارهای ماهی‌فروشی، احتمال بروز مسمومیتها و عفونتها ناشی از مصرف ماهی و میگو غیر بهداشتی وجود دارد. از طرفی بخصوص مزارع و کارگاه‌های فراوری میگوی ایران که یک منبع درآمد بین‌المللی محسوب می‌شود، طبق قوانین اتحادیه اروپایی باید دارای استانداردهای میکروبی و HACCP certificate باشند. شناخت مخاطرات میکروبی Microbial hazard افزایش یافته‌های اپیدمیولوژیکی از مراحل راهبردی جهت اجرای سیستم HACCP در ایران است. در این راستا تحقیق حاضر به منظور مطالعه درصد آلودگی این فرآورده‌ها به عوامل پاتوژن بویژه ویبریوها (مانند ویبریو پاراهمولیتیکوس) در ماهی فروشیهای شهر اصفهان انجام گردید و سه نمونه از شش نمونه آلوده به ویبریو پاراهمولیتیکوس در تابستان ۱۳۸۳، یک نمونه در پاییز ۱۳۸۳، یک نمونه در تابستان ۸۴ و یک نمونه در بهار ۸۴ جداسازی شد.

ویبریو پاراهمولیتیکوس یکی از عوامل اصلی ایجاد بیماریهای ناشی از اغذیه دریایی در کشورهای آسیایی می‌باشد (۱۲). مطابق با دستورالعملهای FDA، تعداد باکتریهای ویبریو پاراهمولیتیکوس در هر گرم اغذیه دریایی باید از ۱۰<sup>۴</sup> سلول کمتر باشد. Raghuntan و همکاران آلودگی به ویبریو پاراهمولیتیکوس اغذیه دریایی جزایر جنوب غربی هندوستان را ۷۵/۹٪ گزارش کردند (۱۳). همچنین Quan yang و همکاران در شهرهای شانگهای و جانگسوی چین از ۱۲۹۳ نمونه اغذیه دریایی، ۲۵۰ نمونه (۱۹/۳٪) آلوده به ویبریو پاراهمولیتیکوس را گزارش کردند (۱۴). شواهد حاکی از آن است که گاستروانتریت ناشی از ویبریو از متداول ترین مسمومیتهای غذایی در ژاپن است. باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس مسئول بروز ۷۰٪ مسمومیتهای غذایی در سال ۱۹۸۲ در ژاپن بوده است (۱۵) و طبق گزارش CDC در ژاپن درصد آلودگی ماهیها به ویبریو پاراهمولیتیکوس در سال ۱۹۷۶، ۲۴٪ گزارش شده است (۵). در سالهای اخیر این ارگانیسم مسئول تعداد زیادی اپیدمی های مسمومیتهای غذایی در ایالات متحده شناخته شده است. بخصوص در سالهای ۱۹۹۷ و ۱۹۹۸ که به عنوان یک عامل پاتوژن مهم و یک خطر جدی در زمینه بهداشت عمومی معرفی شد (۱۶). در سال ۲۰۰۱ شیوع ویبریو پاراهمولیتیکوس در ماهی در کشور پرتقال، ۳۵٪ در یونان، ۱۴٪ بوده است، ولی نمونه مثبت در انگلستان و فرانسه دیده نشد (۱۷).

ویبریو پاراهمولیتیکوس در بیشتر مناطق دریایی وجود دارد و معمولاً همراه با مصرف اغذیه دریایی، عامل گاستروانتریت در افراد می‌باشد. بعضی از مطالعات نشان می‌دهد که سطح آلودگی ویبریو پاراهمولیتیکوس در اغذیه دریایی با دمای آب مرتبط است. زیرا احتمال جداسازی آن از اغذیه دریایی در تابستان بیشتر از زمستان است (۱۶). نتایج این تحقیق آلودگی ۱/۵ درصدی اغذیه دریایی شهر اصفهان شامل انواع ماهی را به ویبریو پاراهمولیتیکوس در فصلهای گرم سال (بیشتر بهار و تابستان ۱۳۸۳ و ۸۴) را نشان می‌دهد. هرچند که میزان آلودگی اغذیه دریایی شهر اصفهان در

## REFERENCES

۱. فریزر، وستاف. ترجمه: قاسمیان صفایی حاجیه. میکروبی شناسی مواد غذایی. چاپ اول. اصفهان انتشارات مانی ۱۳۷۸.
2. Roberts, T. A, Pitt, J. I., Farkas, J. and Grav, F. H. Microorganism in foods. International Commission on Microbiological Specification for Foods: ICMSF 1998.
۳. رضوی، وود. میکروبیهای بیماریزا در مواد غذایی. چاپ اول تهران. انتشارات دانشگاه تهران ۱۳۷۸.
4. Colwell, R. R. Vibrios in the environment. (1998) Wiley, New York.
5. Farid, Ahmed. Sea food safety. National academy press Washington, D. C. 1991; 40.
6. NFPA Fact sheet on Vibrio parahaemolyticus. July 1998. The national food processors Association. www. NFPA-food. Org.
7. Thornton V.; Wayne, H. and Greg, S. Acute gastroenteritis associated with seafood privately imported food pacific Islands. NZ Med J. 2002 May 24; 115: 234-6.

8. Lowry P. W., McFarland, L. M., Peltier, B. H., Roberts, N. C., Bradford, H. B., Herndon, J. L., Stroup, D. F., Mathison, J. B., Blake, P. A. and Gunn, R. A. *Vibrio gastroenteritis in Louisiana: A prospective study among attendees of a scientific congress in New Orleans.* J. Infect Dis. 1989; 160: 978-48.
  9. Hady, W. G., Klontz, K. C. *The epidemiology of vibrio infections in Florida 1981-1993.* J. Infect Dis. 1996; 173: 1179-83.
  10. Bake, F. *Epidemiology of vibrio in the Americas. North America.* Clin. Gastroenterology. 1993; 22: 639-660.
  11. Buckle, K. A. *Food borne microorganisms of public significance. 4<sup>th</sup> edition.* Australian Institute of food science & technology. 1998: 153-163.
  12. Hin-chung Wong., Shu-Hui, Liu.; Chien-Shun, Chiou., Mitsuaki, Nishibuchi., Bok-Kwon, Lee., Orasa, Suthienkul.; Nair, G. B.; Charles, A. K. and Hatsumi, T. *Pulsed-field gel electrophoresis typing scheme for Vibrio parahaemolyticus isolates from fifteen countries.* Int. J. Food Microbiol. 114 (2007) 280-287.
  13. Pendru, R., Sadananda, A., Amarabhadur, B., Iddya, K. and Indrani, K. *Detection and molecular characterization of Vibrio parahaemolyticus isolated from seafood harvested along the southwest coast of India.* Food Microbiol 25 (2008) 824- 830.
  14. Yang, Z. Q., Jiao, X. A., Zhou, X. H., Cao, G. X., Fang, W. M. and Gu, R. X. *Isolation and molecular characterization of Vibrio parahaemolyticus from fresh, low-temperature preserved, dried, and salted seafood products in two coastal areas of eastern China.* Int. J. Food Microbiol. 125 (2008) 279-285.
  15. Joseph, S. W., Colwell, R. R. and Kaper, J. B. *Vibrio parahaemolyticus & related halophilic vibrios.* Crit. Rev. Microbiol. 1982; 10: 77-124.
  16. *Draft risk assessment on the public health impact of vibrio parahaemolyticus in raw shellfish.* Food & drug administration: U. S. Department of health & human services. December , 2000.
  17. Davies, A. R., Capell, C., Jehanno, D. *Incidence of food borne pathogens on European fish.* Food control. 2001; (12): 67-71.
۱۸. سلطانی مهدی، کاکولکی شاپور، آوخ کیسمی مهران. *جداسازی و شناسایی گونه های غالب ویبریو در میگوهای پرورشی تعدادی از کارگاههای پرورشی میگوی حله بوشهر.* مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۷۹: (۲) ۵۵-۳۲.
19. Razavilar, V., Hosseini, H., Cheraghali, A. M. and Yalfani, R. *Incidence of Vibrio spp. in shrimp caught off the South coast of Iran.* Food control. 2003; 15(3): 187-190.