

مطالعه آلودگی به سروتیب های سالمونلا در میگو، لابستر و ماهی های عرضه شده در بازار اصفهان

• مرتضی رزاقی منش (نویسنده مسئول)

دانش آموخته دکتری دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

• امیر قاسمی

دانش آموخته دکتری دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

• ابراهیم رحیمی

دانشیار گروه بهداشت و مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

• امیر شاکریان

دانشیار گروه بهداشت و مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

• محسن دادار

مدرس دانشگاه علمی کاربردی جهاد کشاورزی مرکز اصفهان

تاریخ دریافت: آذر ماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: آبان ماه ۱۳۹۱

تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۳۱۴۱۶۰۷

Email: morteza_vet@yahoo.com

چکیده

باکتری سالمونلا یکی از مهمترین پاتوژن میکروبی، به ویژه در کودکان و سالمندان منجر به گاستروانتریت حاد می شود. زیستگاه طبیعی این باکتری در دستگاه گوارش موجودات زنده می باشد. بنابراین توسط آلودگی های مدفوعی به محیط های آبی می رسند. در مجموع ۱۸۰ نمونه ماهی، میگو و لابستر به طور تصادفی از فروشگاه و خرده فروشی های سطح شهرستان اصفهان اخذ گردید و در شرایط آسپتیک به آزمایشگاه مواد غذایی منتقل شدند. پس از کشت میکروبی، سروتایپینگ نمونه ها نیز با آنتی سرم های منو والان انجام گرفت. از مجموع ۱۸۰ نمونه شامل ۱۱۰ نمونه انواع ماهی ۴۰ نمونه میگو مورد آزمایش به ترتیب ۹ نمونه (۸/۱۸ درصد) و ۲ نمونه (۵ درصد) آلوده به باکتری سالمونلا بودند، ولی آلودگی در نمونه های لابستر مشاهده نشد. شایع ترین سروتیب های جدا شده از نمونه های آلوده به باکتری، *S.typhimurium* و *S.enteritidis* می باشد. بیشترین آلودگی باکتریایی به ترتیب، تابستان (۱۷/۵ درصد) پاییز (۳/۸ درصد) و زمستان (۱/۶ درصد) بود. این مطالعه اولین گزارش جداسازی گونه های سالمونلا از گوشت ماهی، میگو و لابستر در ایران می باشد.

کلمات کلیدی: سالمونلا، میگو، لابستر، ماهی، اصفهان

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 99 pp: 15-19

Study of Salmonella serotypes contaminated in shrimp, lobster and fishes at seafood markets in Isfahan

By: Razaghi Manesh, M. Graduated Doctor of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord - Iran. (Corresponding Author; Tel: +989133141604), Ghasemi, A. Graduated Doctor of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord, Branch. Iran. Rahimi, E. Shakerian, A. Associate Professor of Food Hygiene of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch- Iran Mohsen Dadar, Institute of Scientific Applied Higher Education of Jihad - e - Agriculture, Center of Isfahan, Iran

Received: December 2011

Accepted: November 2012

Salmonella is one of the most important bacterial pathogens, especially in children and the elderly can lead to acute gastroenteritis. The natural location of this bacterium is in the digestive system, So transferring by fecal to water. A total of 180 samples of fish, shrimp and lobster was catch randomly from retail stores at Isfahan city and in aseptic conditions was transported to the food laboratory. After microbial culture and serotyping with anti-sera monovalent was performed. A total of 180 samples including, 110 fishes and 40 shrimps was tested, respectively 9 (18/8%) and 2 (5%) samples were contaminated with salmonella, But the contamination was not found in samples of lobster. The most common serotypes are *Salmonella typhimurium* and *S. enteritidis* isolated from samples contaminated with bacteria. The most bacterial contamination occurred in summer (17.5%) followed by fall (3.8%), and winter (1.6%). To our knowledge, the present study is the first report of the isolation Salmonella Serotypes of from fish, shrimp and lobster in Iran.

Key words: Salmonella, Lobster, Fish, Shrimp, Isfahan

مقدمه

سالمونلا ها از باکتری های مهم خانواده انتروباکتریاسه هستند که در طبیعت انتشار وسیعی دارند (۱). زیستگاه طبیعی این باکتری ها در دستگاه گوارش پستانداران می باشد (۱۳). راه یابی فاضلاب ها به آب ها و استفاده از کودهای حیوانی در مراکز پرورش آبزیان، احتمال آلودگی به این باکتری را افزایش می دهد (۹). عفونت های سالمونلایی یکی از بیماری های مشترک بین انسان و حیوان است و سه نوع بیماری رایج در انسان ایجاد می نماید که شامل بیماری تب روده ای، التهاب روده و عفونت خارج روده ای می باشد (۴). هرچند امروزه مرگ و میر ناشی از سالمونلوزیس کاهش یافته است. با این وجود ایجاد حالات مقاوم و حامل در افراد مبتلا وجود دارد، بعلاوه این باکتری بر خلاف سایر باکتری ها در برابر بسیاری از آنتی بیوتیک ها مقاومت نشان می دهد (۷). بدیهی است با مشخص کردن شیوع سالمونلا در فرآورده های دریایی که جزء رژیم اصلی انسان ها می باشند، می توان نقش فرآورده های دریایی را در پراکنده کردن این پاتوژن مشخص کرد و همچنین راه های پیشگیری، کنترل و درمان را بررسی کرد، که این مهم نیازمند داشتن اطلاعات باکتریولوژیکی و اپیدمیولوژیکی از منطقه جغرافیایی می باشد. با توجه به اهمیت موضوع در سلامت عمومی و عدم وجود گزارشات ثبت شده ای از شیوع آلودگی به این پاتوژن در ایران بر آن شده ایم تا با طراحی مطالعه ای شیوع آلودگی به سالمونلا را در لابستر، میگو و ماهی های عرضه شده در بازار شهرستان اصفهان مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش کار

این مطالعه به روش توصیفی تحلیلی و از نوع مقطعی بوده است.

طی مدت ۳ ماه از تابستان ۱۳۸۹ تا بهار ۱۳۹۰ در مجموع ۱۸۰ نمونه ماهی، میگو و لابستر شامل ۱۱۰ نمونه انواع ماهی (شوریده، کفشک، زبان، حلوا سفید، حلوا سیاه و قزل آلی رنگین کمان) ۳۰ نمونه لابستر گونه هوماروس (*Panulirus homarus*) و ۴۰ نمونه میگو به طور تصادفی از فروشگاه و خرده فروشی های سطح شهرستان اصفهان با فواصل بین ۷-۱۵ روز جمع آوری و در مجاورت یخ (۴ درجه سانتی گراد) در شرایط آسپتیک به آزمایشگاه تخصصی مواد غذایی دانشگاه آزاد واحد شهرکرد منتقل شدند. به این منظور در شرایط آسپتیک با کمک اسکالپل ۱۰ گرم از گوشت هر نمونه در ۹۰ میلی لیتر آب پپتونه (Alkaline peptone - water) با ۳ درصد نمک و در (pH=۳/۸) منتقل و به مدت ۲ دقیقه کاملاً مخلوط شدند و برای ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند.

در ادامه یک لوپ از محیط غنی شده روی محیط آبگوشت سلنیت سیستمین کشت داده و به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند، در ادامه ۰/۱ میلی لیتر از نمونه بر محیط های سالمونلا - شینگلا آگار و برلینت گرین آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند. جهت تمایز اولیه سالمونلا از محیط های TSI و اوره استفاده شد. جهت بررسی کامل تر، ادامه بررسی در محیط های افتراقی سیمون سترات آگار، لایزین آبیرون آگار، متیل رد و مالونات برات انجام گردید، سپس سروتایپینگ نمونه ها نیز با آنتی سرم های منووالان ساخت بیومریو فرانسه (Diagnostic Pasteur ۷۲۲۲۰۰ Lyon France) انجام شد (۱۷).

یافته های بدست آمده از مطالعه با نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون آماری مربع کای تجزیه و تحلیل شدند.

بحث و نتیجه گیری

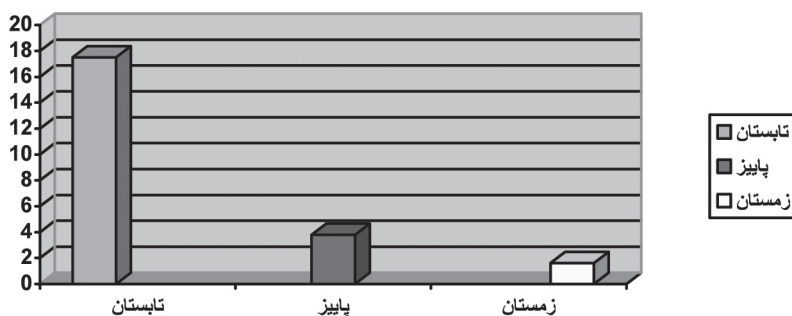
جایگاه اصلی گونه های سالمونلا در دستگاه گوارش پستانداران، پرندگان و خزندگان است (۱۳). لذا آلودگی محیط و مواد غذایی عمدتاً ناشی از آلودگی با مدفوع می باشد. به طور کلی مطالعات فراوانی در خصوص جداسازی گونه های سالمونلا از منابع مختلف از جمله نمونه های محیطی، بالینی و مواد غذایی با منشأ دامی انجام شده که اکثر این مطالعات نشان می دهد، مهم ترین گونه های سالمونلا جدا شده از نمونه های مختلف *S. enterica* سروتیپ تایفی موریوم و *S. enterica* سروتیپ انتریتیدیس بوده است (۱۲، ۱۶، ۱۸). سازمان خواروبار جهانی میزان شیوع آلودگی فرآورده های دریایی در یک مطالعه ۹ ساله از سال ۱۹۹۰ تا ۱۹۹۸ بین ۱/۳ تا ۷/۲ درصد نشان می دهد (۹). همچنین مطالعات فراوانی نشان می دهد سالمونلا در محیط های پرورش آبزیان به وفور یافت می شود (۲، ۶). در مطالعات Saheki و همکاران (۱۹۸۹) از ژاپن نشان می دهد ۲۱ درصد از نمونه آب استخرهای پرورش ماهی در این کشور آلوده به گونه های مختلف سالمونلا بوده است (۱۵). در مطالعه مشابهی در آمریکا میزان آلودگی آب استخرهای پرورش ماهی ۵ درصد بوده است (۱۹). در مطالعه حاضر ۶/۱ درصد از مجموع نمونه های ماهی و میگو به گونه های سالمونلا آلوده بودند و شایع ترین آلودگی مربوط به نمونه های ماهی خصوصاً ماهی قزل آلی رنگین کمان پرورشی بوده است. اگرچه مطالعه ای از Iyer و همکاران (۱۹۸۹) میزان آلودگی

نتایج

از مجموع ۱۸۰ نمونه آبی آزمایش شده ۱۱ نمونه (۶/۱ درصد) از نظر آلودگی به سالمونلا مثبت بودند. از ۱۱۰ نمونه ماهیان آزمایش شده ۹ نمونه (۸/۱۸ درصد) حامل این پاتوژن بوده است. بیشترین آلودگی مربوط به قزل آلی رنگین کمان با درصد آلودگی ۱۷/۶ درصد و به دنبال آن ماهی کفشک ۸/۳ درصد بود. در حالی که هیچ یک از نمونه های حلوا سفید و زبان به گونه های سالمونلا آلودگی نشان ندادند. از ۴۰ نمونه میگو جمع آوری شده از مراکز توزیع فرآورده های آبی در شهرستان اصفهان ۲ نمونه (۵ درصد) از نظر آلودگی به سالمونلا مثبت تشخیص داده شد و هیچ یک از ۳۰ نمونه لابستر آزمایش شده به سالمونلا آلوده نبود. شایع ترین گونه های جداسازی شده از نمونه های مورد مطالعه، به طور مشترک *S. enterica* سروتیپ تایفی موریوم و *S. enterica* سروتیپ انتریتیدیس هر کدام ۵ نمونه (۲/۷ درصد) می باشد. از بین ۱۱ گونه سالمونلای جداسازی شده یک گونه غیرقابل تفکیک و شناسایی بود. میزان آلودگی فصلی به گونه های سالمونلا نیز در بخش دیگری از مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این بخش از مطالعه نشان داد، بیشترین و کمترین آلودگی در فصول تابستان و زمستان به ترتیب ۱۷/۵ درصد و ۱/۶ درصد بوده است. در ضمن اختلاف آماری معنی داری در شیوع آلودگی بین فصول مختلف سال وجود ندارد ($P > 0/05$).

جدول ۱- فراوانی و درصد آلودگی نمونه های ماهی، میگو و لابستر به گونه های سالمونلا

| گونه های سالمونلا | | | تعداد | تعداد نمونه های آلوده به سالمونلا (درصد) | نمونه |
|-------------------|-----------------------|-----------------------|-------|------------------------------------------|----------------|
| ناشناخته | <i>S. enteritidis</i> | <i>S. typhimurium</i> | | | |
| ۰ | ۱ | ۰ | ۲۰ | ۱ (۵/۵) | شوریده |
| ۰ | ۱ | ۰ | ۱۲ | ۱ (۸/۳) | ماهی کفشک |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۱۵ | ۰ (۰/۰) | ماهی زبان |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۱۵ | ۰ (۰/۰) | حلوا سفید |
| ۱ | ۰ | ۰ | ۱۴ | ۱ (۷/۱) | حلوا سیاه |
| ۰ | ۲ | ۴ | ۳۴ | ۶ (۱۷/۶) | قزل آلی پرورشی |
| ۰ | ۱ | ۱ | ۴۰ | ۲ (۵/۵) | میگو |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۳۰ | ۰ (۰/۰) | لابستر |
| ۱ | ۵ | ۵ | ۱۸۰ | ۱۱ (۶/۱) | مجموع |



نمودار ۱- درصد آلودگی فصلی به سالمونلا در ماهی و میگو

شده که علت این موضوع را می‌توان به افزایش درجه حرارت و رسیدن به شرایط مناسب رشد سالمونلا در مواد غذایی از جمله فرآورده های دریایی و افزایش فعالیت حشرات و انتقال آلودگی مربوط دانست.

همچنین اختلافات موجود در بین نتایج بدست آمده از مطالعات مختلف را می‌توان به عوامل زیادی از جمله موقعیت جغرافیایی، زمان و فصل مطالعه، نوع و گونه نمونه های آبی مورد مطالعه، روش های مختلف آزمایش مانند کشت، PCR و تعداد نمونه های مورد مطالعه نسبت داد. با این وجود نتایج مطالعات نشان می‌دهد میزان شیوع آلودگی ماهی و فرآورده های دریایی در قیاس با سایر فرآورده های پروتئینی از جمله گوشت مرغ و تخم مرغ پایین تر بوده است (۳، ۶، ۸، ۱۲، ۱۴). لذا مطالعات مدون تر و تکمیلی تر در خصوص بررسی وضعیت آلودگی فرآورده های آبی به گونه های سالمونلا توصیه می‌شود.

به دلیل اینکه باکتری سالمونلا به عنوان یک پاتوژن بالقوه در فرآورده های دریایی حضور دارد و به صورت ثانویه وارد فرآورده های دریایی می‌شود از این روی زمان رعایت بهداشت از زمان صید تا مصرف الزامی می‌باشد و می‌بایستی اقدامات بهداشتی در این زمینه لحاظ گردد. مثلاً هنگام صید سریعاً این فرآورده ها به محیط های خنک و عاری از میکروب انتقال شوند همچنین ضد عفونی کردن مداوم خودروهایی که این فرآورده ها را جنوب و شمال کشور حمل می‌کنند الزامی است. جلوگیری از تماس افراد متفرقه با فرآورده های دریایی و سازماندهی، تدارکات و حمل و نقل شیلات کشور از ارکان مهم رعایت بهداشت فرآورده های دریایی می‌باشد. همچنین گرفتن آزمایش های بهداشتی و تست سلامت پرسنل شیلات به صورت مداوم و روتین یکی از عوامل کاهش آلودگی فرآورده های دریایی به باکتری سالمونلا می‌باشد.

منابع مورد استفاده

- ۱- ناظم، م.، نادری نسب، م. (۱۳۶۸) باکتری شناسی پزشکی، چاپ سوم، انتشارات آستان قدس رضوی، صفحه ۷۶.
- ۲- رکنی، ن. (۱۳۸۱) اصول بهداشت مواد غذایی، چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۱۵-۵.

3- Abouzeed, Y. M., Hariharan, H., Poppe, C., Kibenge, F. S. B. (2000) Characterization of Salmonella isolates from beef

نمونه های آبی را به طور معنی داری بالاتر از نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر نشان می‌دهد، در مطالعه بالا میزان آلودگی نمونه های میگو در محدوده ای از ۱۴-۱۰ درصد، نمونه های لابستر ۱۷ درصد و نمونه های ماهی ۲۵-۱۴ درصد گزارش شده است (۵، ۱۱).

در مطالعه‌ی Lukinmaa و همکاران (۲۰۰۶) از هند میزان آلودگی فرآورده های دریایی عرضه شده در هند به دو روش کشت و PCR مورد ارزیابی قرار گرفته است، در این مطالعه ۶ نمونه از ۲۰ نمونه ماهی (۳۰ درصد)، ۴ نمونه از ۲۰ نمونه کلم (۲۰ درصد) و ۱ نمونه از ۲۰ نمونه میگو (۵ درصد) حامل گونه های سالمونلا بوده است، که وضعیت آلودگی نمونه های میگو به سالمونلا با مطالعه حاضر مشابه است. بنابراین درصد آلودگی سایر نمونه ها بیشتر از آلودگی نمونه ها در مطالعه حاضر بوده است. در بخش دیگری از این مطالعه تمام نمونه های مثبت در روش کشت از نظر ملکولی (RCR) هم مثبت است. اما میزان آلودگی نمونه در روش RCR بیشتر از روش کشت گزارش شده است (۱۰).

زیان های اقتصادی سالمونلوز بسیار زیاد است همچنانکه هزینه درمان بیماران در سال ۱۹۸۵ در کانادا معادل ۲۸/۳۱ میلیون دلار بوده است (۲). میزان آلودگی فرآورده های دریایی در سال ۲۰۰۱ در استرالیا به سالمونلا ۶ درصد گزارش شده است (۱۴). در تحقیقی توسط Varma میزان آلودگی فرآورده های دریایی یخ زده حدود ۵ درصد اعلام گردیده است (۱۸). در شهر واشنگتن شیوع سالمونلوز در سال ۲۰۰۱ در فرآورده های دریایی حدود ۷ درصد گزارش شده است (۲۰). این گزارشات همگی حاکی از آن است که وضعیت آلودگی فرآورده های آبی به سالمونلا به عنوان یک مشکل بلاقوه در سلامت جامعه مطرح است. از ۱۱ گونه سالمونلای جداسازی شد در مطالعه حاضر تنها دو سروتیپ *S. enterica*، سروتیپ تایفی موریوم و انتریتیدیس ردیابی شد و سایر مطالعات انجام شده بر روی مواد غذایی هم شایع ترین سروتیپ های سالمونلای جداسازی و گزارش شده این دوسروتیپ بوده است که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۱). مطالعات نشان می‌دهد این دو سروتیپ شایع ترین عوامل سالمونلوزیس نیز می‌باشند به طوری که به ترتیب ۴۱ و ۲۸ درصد از موارد سالمونلوزیس در انسان در ایرلند و آمریکا مربوط به *S. typhimurium* و *S. enteritidis* بوده است (۱۶).

بالاترین شیوع آلودگی در نمونه ها در ابتدای فصل تابستان مشاهده

