Archive of SID

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

حمیدرضا توکلی[۱]، مهدی قربانعلی زادگان[۲*]، علی نجفی[۳] ، افشین آخوندزاده‌بستی[۴]، رامین خاکسار[۵]

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

* **نشانی برای مکاتبه:** : تهران، میدان ونک، خ ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، صندوق پستی: ۵۸۱ / ۱۹۹۴۵ ، 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 سال‌های اخیر مصرف آبزیان به ویژه ماهی در ایران رو به افزایش بوده است. در بین این فرآورده‌ها استفاده از ماهی دودی در استان‌های 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 بیماری‌زا نظیر لیستریا مونوسایتوژنز و گونه‌های سالمونلا وجود دارد. هدف از انجام این مطالعه تعیین بارمیکروبی و آلودگی ماهی دودی به دو باکتری موردنظر 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 جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه طبق روش‌های استاندارد FDA و APHA از نظر شمارش کلی باکتری‌ها و آلودگی به لیستریا مونوسایتوژنز و گونه‌های سالمونلا مورد بررسی قرار گرفتند.*

یافته ها: *تعداد باکتری‌های هوازی از ۲×۱۰^{۲} cfu/g تا ۶×۱۰^{۶} 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 نمونه‌های مورد مطالعه آلودگی به سالمونلا تأیید نگردید.*

نتیجه گیری: *در تمامی کشورهای جهان کنترل میکروبی فرآورده‌های دریایی همچون سایر مواد غذایی صورت می‌پذیرد. نتایج مطالعات انجام شده در سایر کشورهای جهان و این مطالعه آلودگی ماهیان دودی تهیه شده به روش سنتی را تأیید می‌نماید. استفاده از روش‌های صحیح و نوین عمل‌آوری و استفاده از حرارت کافی در هنگام مصرف این محصولات در پیشگیری از بروز عفونت یا مسمومیت‌غذایی مؤثر خواهد بود.*

واژگان کلیدی: ***ماهی دودی، لیستریا مونوسایتوژنز، سالمونلا***

مقدمه

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 روش‌های مختلفی برای کنترل و نظارت بر تهیه و توزیع مواد غذایی استفاده می‌گردد که یکی از آن‌ها نمونه برداری‌های تصادفی و انجام آزمون‌های میکروبی است(۱). متأسفانه تاکنون از این ابزار کنترلی در 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 می‌گردند کمتر مورد توجه قرار گرفته‌اند(۲ و۳). یکی از دلایل احتمالی این موضوع عدم آگاهی دقیق مسئولین بهداشتی از میزان آلودگی این فرآورده‌ها است. بنابراین انجام این قبیل مطالعات بمنظور نشان دادن کیفیت میکروبیولوژیکی ماهیان دودی تهیه شده به روش سنتی از اهمیت زیادی برخوردار است.

www.SID.ir

Archive of SID

لیستریا مونوسایتوژنز 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 پروش ماهیان و استفاده از کود حیوانی در استخرهای پرورش ماهی احتمال آلودگی به این باکتری و سایر باکتری‌های بیماری‌زا از جمله سالمونلا وجود دارد(۵و 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 مونوسایتوژنز 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 فتیوفاگ(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 مونوسایتوژنز 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 مونوسایتوژنز و سالمونلا مورد بررسی قرار گرفتند(۷).

ابتدا ۲۵ گرم از هر نمونه ماهی توسط ۲۲۵ میلی‌لیتر محلول رقیق کننده (آب پپتونه) 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 مونوسایتوژنز ۱ میلی‌لیتر از نمونه یکنواخت شده به لوله‌های حاوی آبگوشت غنی کننده لیستریا (LEB) که حاوی ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نالیدیسکیک 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 مونوسایتوژنز (پرگنه‌های کوچک سبز) از نظر رنگ‌آمیزی گرم، آزمایش حرکت در دو دمای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتیگراد، تست کاتالاز، همولیز، تخمیر قند (رافنوز، گزیلوز، مانیتول) مورد آزمایش قرار گرفتند و سرانجام توسط آنتی‌سرم‌های تجارتی مورد سروتایپینگ 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 لیستریامونوستیوژنز در ۳۵ نمونه (۳۴،۳۱٪) 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 آلودکی 3×10^{4} cfu/g تعیین گردید، که این میزان آلودگی از نظر بهداشت ومواد غذائی و تهدید سلامت مصرف کنندگان دارای اهمیت می باشد. به علاوه وجود آلودگی به لیستریا مونوسیتوژنز 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 دریائی 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 (۲و۸) 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 غذائی ناشی از مصرف آبزیان به ویژه ماهی در جهان به ویژه در مناطقی که فراورده ای دریائی بصورت خام ، نیم پز و یا تخمیر شده مورد استفاده قرار میگیرند رو به افزایش می باشد(۹و 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 Messi 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 مونوسایتوژنز 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 مونوسایتوژنز 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 مونوسایتوژنز 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 مونوسایتوژنز آلوده بودند در حالیکه متوسط آلودگی سایر فرآورده‌های دریایی ۲٪ تعیین گردید(۱۴).

www.SID.ir

Archive of SID

در مطالعه Lyns و همکارانش در فنلاند کیفیت میکروبیولوژیکی ۲۰۰ نمونه از ماهیان دودی شده به روش سرد و گرم، ماهیان وکیوم شده و فرآورده‌ای 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 مونوسایتوژنز در این مطالعه کمتر از مطالعه ما بوده است در حالیکه از نظر شمارش کلی باکتری‌ها، میانگین آلودگی نمونه‌ها بیش از مطالعه ما بوده است.
در مطالعهSindayigaya 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 نمونه‌های 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 نمونه‌های فوق بالا بوده است. در این مطالعه آلودگی به انترباکتریاسه‌ها متغیر بوده و گونه غالب پروتئوس گزارش گردیده ولی همچون مطالعه ما در هیچ نمونه‌ای آلودگی به سالمونلا تأیید نگردید(۱۶).
در مطالعه Heintz و همکاران آلودگی به لیستریا، سالمونلا و کلستریدیوم بوتولینوم در ۱۰۸۰ نمونه ماهی دودی و صدف های دودی در طی ۵ سال مورد مطالعه قرار گرفت. لیستریا مونوسایتوژنز از ۱۴٪ و ۳٪ نمونه‌ها ی ماهی و صدف مورد آزمایش و جداشدند اما هیچگونه آلودگی به کلستریدیوم 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 پاراتیفی در پنج منطقه روستایی حومه لایپزیک رخ داد که طی آن ۱۱ نفر دچار مسمومیت گردیدند. این مطالعه احتمال انتقال سالمونلا از طریق مصرف ماهی دودی را نشان می‌دهد که می‌تواند 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 لیستریامونوسیتوژنز 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 لیستریامونوسیتوژنز مشخص گردید (۱۸).

نتیجه گیری

نتایج عمومی مطالعات فوق و مطالعه ما نشان میدهد که امکان آلودگی اولیه یا ثانویه فرآورده‌های دریایی از جمله ماهیان دودی شده به باکتریهای بیماری زا نظیر لیستریامونوسیتوژنز، استافیلوکوکوک آرنوس وسالمونلا وجود دارد و این آلودگیها بویژه در نقاطی مانند شمال ایران که ماهی به روش سنتی و سرد (۳۰-۲۵ درجه سانتیگراد) دودی می‌شوند بیشتر مشاهده می‌گردد. با توجه به مصرف ماهی دودی در این مناطق بصورت خام یا نیم پر امکان بروز عفونت و مسمویت غذایی پس از مصرف این فرآورده‌ها وجود دارد. بنابراین استفاده از روشهای صحیح و نوین عمل‌آوری و استفاده از حرارت کافی به هنگام مصرف این محصولات و کنترل و نظارت بهداشتی مداوم این فرآورده‌ها اقداماتی هستند که در پیشگیری از بروز بیماری بسیار موثر خواهند بود.

REFERENCES

1. 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 بوتولیسم در بخش عفونی مرکز پزشکی لقمان حکیم تهران طی سالهای ۷۶ـ۱۳۷۵، ششمین کنگره بیماریهای عفونی و گرمسیری ایران، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، سال ۱۳۷۶ ، بانک اطلاعات رایانه ای کنگره ها، ویرایش ششم، سال ۱۳۸۰: صفحات ۸۲۳ـ۲۴.

3. Akhondzade A, Msaghi A, Kamkar A. Bacterial pathogens in fresh, salted and smoked Iranian fish. Food Control; 2006 17; 183- 188.

4. Varnam AH, Evans MG. Food borne pathegens. worf, Loudon; 2001; 327-53.

5. Kuhn H. Outbreak of Salmonella paratyphi Binfections in Connection with Consumption of smoked fish. J. Ge sundheitswesex; 1994 56(4); 211-14.

6. Heinitz 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.

www.SID.ir

Archive of SID

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. Roruik 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 Lesteria 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. Wonchenscher; 1993 100(7); 255-65.

18. Dominguez C, Gomez I, Zumalacavvegui I. (2001). Prevalence and contamination Levels of L.monocytogenes in smonked fish and pate sold in spain. T Food Prot; 2001 64 (12); 2075-77.

www.SID.ir