

مطالعه آلودگی برخی فراورده‌های دریایی به *آئروموناس هیدروفیلا* با تأکید بر گونه و فصلمهدی رئیسی<sup>۱\*</sup>، محسن پناهی<sup>۲</sup>، عباس دوستی<sup>۳</sup>

۱. گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲. دانش آموخته دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۳. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

\*نویسنده مسئول: [mreissy@yahoo.com](mailto:mreissy@yahoo.com)

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۷/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۱۵

## چکیده

یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های میکروبی که به ویژه در کودکان و سالمندان منجر به گاستروانتریت حاد می‌شود، *آئروموناس هیدروفیلا* می‌باشد. انتقال این باکتری بیشتر، از طریق آب و مواد غذایی با منشاء دامی صورت می‌گیرد. این مطالعه به منظور بررسی شیوع *آئروموناس هیدروفیلا* در ماهی، میگو و لابستر صید شده از سواحل جنوبی کشور صورت گرفت. پس از کشت میکروبی، از آزمون‌های بیوشیمیایی جهت تشخیص گونه *آئروموناس هیدروفیلا* استفاده شد. نتایج مطالعه نشان داد از مجموع ۱۸۰ نمونه شامل ۱۱۰ نمونه انواع ماهی، ۳۰ نمونه لابستر و ۴۰ نمونه میگو از تابستان ۱۳۸۹ تا بهار ۱۳۹۰، به ترتیب میزان در ماهی و میگو ۱۴ نمونه (۱۲/۷ درصد) و ۴ نمونه (۱۰ درصد) به *آئروموناس هیدروفیلا* آلوده بودند و آلودگی در نمونه‌های لابستر یافت نشد. شیوع باکتری در تابستان (۱۷/۵ درصد)، پاییز (۱۰/۱ درصد) و زمستان (۴/۹ درصد) بود. این مطالعه حاکی از وجود *آئروموناس هیدروفیلا* در ماهی و میگو در ایران است که احتمال بروز بیماری در انسان را در پی دارد.

واژگان کلیدی: *آئروموناس هیدروفیلا*، میگو، لابستر، ماهی، اصفهان.

## مقدمه

تمام اسیدهای آمینه ضروری جهت رشد می‌باشد (Dives et al., 2001). در این بین، عوامل بیماری‌زای مختلفی وجود دارند که می‌توانند از طریق محصولات دریایی به انسان منتقل شوند. یکی از مهم‌ترین آن‌ها باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* می‌باشد. این باکتری متعلق به خانواده ویبریوناسه بوده اکثر آن‌ها کاتالاز و اکسیداز مثبت، گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری، بدون اسپور و محرک می‌باشند و به‌طور وسیع در رودخانه‌ها و دریاچه‌های تمام نقاط دنیا یافت می‌شود (Joseph and Canahan, 2000). این باکتری معمولاً در شرایط استرس‌زا، متعاقب حمل و نقل یا افزایش درجه حرارت آب بروز می‌کند و عامل بیماری‌های مختلف در حیوانات دریایی، پستانداران و انسان می‌باشد (Mahon and Manuselis, 2000). از آنجا که محصولات دریایی به‌عنوان یک منبع غذایی عمده تلقی می‌شوند، می‌توانند به‌عنوان یک عامل مهم در انتقال عوامل

تغذیه از مهم‌ترین فاکتورهای ضروری برای رشد و بقا زندگی است. یکی از اقلام غذایی که می‌تواند در برگیرنده اکثر نیازهای بدن باشد، ماهی و به‌طور کلی آبزیان هستند که به‌خاطر ترکیبات خود به‌خصوص اسیدهای چرب امگا ۳ به‌عنوان غذای سلامتی معروف شده‌اند (Adams and Moss, 2000). امروز اثبات شده که مصرف ماهی می‌تواند از امراض قلبی و انسداد عروق جلوگیری کند (Mahon and Manuselis, 2000). از طرف دیگر ماهی یکی از منابع غنی از پروتئین به‌حساب می‌آید، به‌طوری که در مقایسه با انواع گوشت‌ها از نظر کمی، بیشترین درصد پروتئین را دارد و از نظر کیفی نیز بر خلاف گوشت قرمز دارای بافت پیوندی کم‌تر و فاقد الاستین است (Daskalov and Bell, 2006). میگو نیز ماده غذایی بسیار مفیدی است که در بین بسیاری از افراد محبوبیت بالایی دارد. پروتئین موجود در میگو کیفیت بالایی دارد و حاوی

شرایط مناسب به آزمایشگاه مواد غذایی منتقل شدند. تمام نمونه‌ها بلافاصله پس از ارسال به آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفتند. به این منظور در شرایط آسپتیک با کمک اسکالپل، ۱۰ گرم از گوشت هر نمونه در ۹۰ سی سی آب پپتونه (Alkaline peptone water) با ۳ درصد نمک، در  $pH=8/3$  منتقل و به مدت ۲ دقیقه کاملاً مخلوط شدند و به مدت ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری شدند. محیط غنی شده (آب پپتونه) بر روی محیط استارچ آگار آمپی‌سیلین دار (هایمدیا، هند) کشت سطحی داده شد و به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای  $37^{\circ}C$  گرم‌خانه گذاری شدند (Vivekanandhan et al., 2005) پس از طی دوره گرم‌خانه گذاری، پلیت‌ها با محلول لوگول رنگ‌آمیزی و پرگنه‌های آمیلاز مثبتی که به رنگ زرد تا نارنجی بودند، جدا گردید. جهت جدا و خالص سازی گونه‌های آئروموناس، کشت در پلیت و لوله در محیط آگار مغذی انجام و به مدت ۲۴ ساعت در  $37^{\circ}C$  گرم‌خانه گذاری شدند. پرگنه‌های با ظاهر آئروموناس هیدروفیلا جهت تأیید تشخیص با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی از جمله قدرت تحرک، رنگ آمیزی گرم، تست اکسیداز، هیدرولیز آرژنین، تخمیر گلوکز، دکربوکسیلاز اورنیتین، ONPG (جهت تعیین فعالیت بتاگالاکتوزیداز) تخمیر سالیسین، تجزیه گلوکز و آرابینوز مورد مطالعه قرار گرفتند (Adams et al., 2000).

### نتایج

در این مطالعه از ۱۸۰ نمونه آبی بررسی شده به ترتیب ۴۲ نمونه (۲۳/۳ درصد) به گونه‌های آئروموناس و ۱۸ نمونه (۱۰ درصد) به گونه آئروموناس هیدروفیلا آلوده بودند. از انواع ۱۱۰ نمونه ماهیان آزمایش شده، ۳۰ درصد به گونه‌های آئروموناس و ۱۲/۷۲ درصد به آئروموناس هیدروفیلا آلوده بودند، این آلودگی در ماهیان شوریده، کفشک، زبان، حلوا سفید، حلوا سیاه، قزل‌آلای رنگین کمان به ترتیب ۱۵، ۳۳/۳، ۲۶/۶، ۶/۶۶، ۱۴/۲۸ و صفر درصد بود. از بین ۴۰ نمونه

بیماری‌زا از جمله باکتری آئروموناس هیدروفیلا به انسان مطرح باشند (Imani and Akhlaghi, 2004). در دهه گذشته، افزایش قابل توجهی در گزارش بیماری‌های ناشی از غذاهای آلوده وجود داشته است که این مسئله در کشورهای در حال توسعه و در میان افرادی که به ضعف سیستم ایمنی و یا سوء تغذیه مبتلا هستند در حال افزایش است (Ottaviani et al., 2006). هنگامی که انسان با این باکتری آلوده می‌شود بعد از یک دوره نهفتگی ۱۲ الی ۴۸ ساعته دل درد شدید به دنبال آن تهوع و استفراغ به همراه تب و سستی سمی رخ می‌دهد و در ادامه کرمپ‌های شکمی و اسهال آبکی تا خونی دیده می‌شود (Konema et al., 2006). مطالعات فراوان درخصوص این باکتری از فرآورده‌های غذایی خصوصاً آبزیان، نشان می‌دهد که آلودگی به این باکتری عمدتاً به دنبال مصرف خام و نیم‌پز شده فرآورده‌های دریایی ایجاد می‌شود (Imani and Akhlaghi, 2004). بدیهی است با مطالعه وقوع آئروموناس هیدروفیلا در فرآورده‌های دریایی، می‌توان نقش فرآورده‌های دریایی را در انتقال این باکتری مشخص کرد و هم‌چنین راه‌های پیشگیری، کنترل و درمان را بررسی کرد. که این مهم نیازمند داشتن اطلاعات اپیدمیولوژیکی از بیماری مذکور می‌باشد. با توجه به اهمیت موضوع در سلامت عمومی، این مطالعه با هدف مطالعه آلودگی انواع ماهی، لابستر و میگو به آئروموناس هیدروفیلا انجام شد.

### مواد و روش کار

در این مطالعه طی مدت ۹ 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 قزل‌آلای رنگین کمان) ۳۰ نمونه لابستر گونه هوماروس (*Panulirus homarus*) و ۴۰ نمونه میگو به طور تصادفی از فروشگاه و خرده فروشی‌های سطح شهرستان اصفهان با فواصل بین ۳۰-۲۰ روز جمع‌آوری و در مجاورت یخ ( $4^{\circ}C$ ) و در

در انواع نمونه‌ها نشان داده شده است. میزان آلودگی فصلی به *آئروموناس هیدروفیلا* در نمونه‌های آبی مورد مطالعه نشان داد که بیشترین و کمترین آلودگی در فصول تابستان و زمستان به ترتیب به میزان ۱۷/۵ درصد و ۴/۹ درصد بوده است.

میگو، ۱۷/۵ درصد به گونه‌های *آئروموناس* و ۱۰ درصد به *آئروموناس هیدروفیلا* آلوده بودند. از میان ۳۰ نمونه لایستر گونه هوماروس، ۶/۷ درصد به گونه‌های *آئروموناس* آلوده بودند و نمونه مثبت *آئروموناس هیدروفیلا* یافت نشد. جدول ۱ میزان آلودگی در فصلول مختلف را نشان می‌دهد و در جدول ۲ آلودگی

جدول ۱- شیوع فصلی *آئروموناس هیدروفیلا* در نمونه‌های ماهی، میگو و لایستر در بازار شهرستان اصفهان

فصل سال	تعداد نمونه	تعداد و درصد نمونه‌های مثبت
تابستان	۴۰	۷ (۱۷/۵ درصد)
پاییز	۷۹	۸ (۱۰/۱ درصد)
زمستان	۶۱	۳ (۴/۹ درصد)

جدول ۲- فراوانی و درصد آلودگی در نمونه‌های ماهی، میگو، لایستر به گونه‌های *آئروموناس* و *آئروموناس هیدروفیلا* در بازار شهرستان اصفهان

نوع نمونه	تعداد	فراوانی و درصد <i>آئروموناس</i>	فراوانی و درصد <i>آئروموناس هیدروفیلا</i>
ماهی شوریده	۲۰	۷ (۳۵٪)	۳ (۱۵٪)
ماهی کفشک	۱۲	۶ (۵۰٪)	۴ (۳۳٪)
ماهی زبان	۱۵	۶ (۴۰٪)	۴ (۲۶٪)
ماهی حلوا سفید	۱۵	۳ (۲۰٪)	۱ (۶٪)
ماهی حلوا سیاه	۱۴	۵ (۳۵٪)	۲ (۱۴٪)
قرل آلی رنگین کمان	۳۴	۶ (۱۷٪)	۰ (۰٪)
میگو	۴۰	۷ (۱۷٪)	۴ (۱۰٪)
لایستر	۳۰	۲ (۶٪)	۰ (۰٪)
مجموع	۱۸۰	۴۲ (۲۳٪)	۱۸ (۱۰٪)

## بحث

تب می‌باشد. اگرچه بیماری معمولاً خود محدود شونده است، اما در افراد با ضعف سیستم ایمنی بسیار خطرناک است (Janda, 1991). در بررسی حاضر ۱۰ درصد از انواع ماهی، میگو و لایستر آلوده به *آئروموناس هیدروفیلا* می‌باشند. بررسی مطالعات مختلف میزان این آلودگی را در ماهی بسیار متنوع و از صفر تا ۱۰۰ درصد گزارش نموده‌اند (Wang and Sliva, 1999). نتایج مطالعه حاضر در خصوص شیوع آلودگی به *آئروموناس هیدروفیلا* در انواع ماهی با مطالعات مختلفی از Vivekanadhan و همکاران، Hatha و همکاران، Castro و همکاران همخوانی دارد (Vivekanandhan et al., 2005; Hatha et al., 2000; Castro et al., 2003). در یکی از مطالعات

به‌طور کلی مطالعات فراوانی در خصوص جداسازی گونه‌های *آئروموناس* از منابع مختلف از جمله نمونه‌های محیطی، بالینی و مواد غذایی با منشأ دامی انجام شده که اکثر این مطالعات نشان می‌دهد، مهم‌ترین گونه‌های *آئروموناس* جدا شده از نمونه‌های مختلف *آئروموناس هیدروفیلا* و *آئروموناس ورونی* بوده است (Adams and Moss, 2000; Andrews et al., 2000). *آئروموناس هیدروفیلا* یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس *آئروموناس* است و معمولاً مسئول ۸۰ درصد از گاستروانتریت‌های انسانی می‌باشد که عمدتاً به دنبال مصرف مواد غذایی دریایی از جمله ماهی، میگو، خرچنگ و نرم‌تنان دریایی ایجاد می‌شود. علائم حاصل از این بیماری در انسان شامل اسهال، تهوع، دل پیچه و

نگهداری، توزیع و فرآوری می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که فراورده‌های دریایی خلیج فارس از جمله میگو و ماهی می‌تواند به باکتری‌های بیماری‌زای انسانی از جمله *آئروموناس* آلوده باشد و در این خصوص پخت کامل مواد غذایی به‌عنوان بهترین روش قبل از مصرف پیشنهاد می‌شود.

#### منابع

1. Adams, M.R., and Moss, M.O. 2000. Food Microbiology 2nd edition. Cambridge. Royal Society of Chemistry. 420-426.
2. Andrews, L.S., Park, D. and Chen, Y.P. 2000. Low temperature pasteurization to reduce the risk of Vibrio Infections from raw shellstock oysters. Food Control. 17: 787-791.
3. Castro, G., Fegueras, M.J., Aguilera, G., Soler, L., Fernandez, E. and Aparicio, G.O. 2003. Characterization of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. Int J Food Microbiol. 84: 41-49.
4. Daskalov, H. and Bell, R.G. 2006. The importance of *Aeromonas hydrophila* in Food safety. Food Control. 17: 474-483.
5. Dives, A.R., Cappel, Ch. Jahanno, D., Nychas, G.J.E. and Kirby, R.M. 2001. Incidence of Foodborne pathogens on European fish. Food Control. 21: 67-71.
6. Hatha, A. A.M., Kuruvilla, S. and Cheriyan, S. 2000. Bacterial flora associated with the intestines of farm raised fresh water fishes *Catalacatla*, *Labeo rhita* and *Ctenopharyngodon idella*. Fish Technol. 37: 59-62.
7. Illancheizan, S., Jayaraman, S., Manoharan, S.M. and Valsalam, S. 2010. Virulence and Cytotoxicity of seafood borne *Aeromonas hydrophila*. Brazil J Microbiol. 41: 978-983.

پیشین، آلودگی به گونه‌های *آئروموناس* در ۸۷ نمونه از انواع ماهی، ۶۰ نمونه (۶۹٪) گزارش شده است که بیشترین تعداد مربوط به *آئروموناس ورونی* (۸۰٪) و بعد از آن *آئروموناس هیدروفیلا* (۱۶٪) است (Radu et al., 2003). در مطالعه دیگری در خصوص شیوع *آئروموناس هیدروفیلا* در ماهی و میگوهای عرضه شده در بازار مصرف هند مشخص شد که از ۲۸۷ نمونه ماهی و میگو آزمایش شده ۳۳/۶ درصد از نمونه‌های ماهی و ۱۷/۶ درصد از نمونه میگو به گونه *آئروموناس هیدروفیلا* آلوده بوده‌اند (Vivekanandhan et al., 2005). همچنین از ۲۵۰ نمونه ماهی یخ زده عرضه شده در سوپر مارکت در مکزیک ۸۲ نمونه (۳۲/۸٪) آلوده به گونه‌های *آئروموناس* گزارش شده است که بررسی‌های مولکولی حاکی از ۲/۶ درصد آلودگی با *آئروموناس هیدروفیلا* بوده است (Castro et al., 2003). در مطالعه دیگری نیز آلودگی نمونه‌های ماهی به *آئروموناس هیدروفیلا* بیش از ۴۰ درصد بوده است (Illabcheizan et al., 2010). در مطالعه حاضر میزان آلودگی در نمونه‌های ماهی بیشتر از نمونه‌های میگو و لابستر بود که با مطالعات قبلی مشابه است (Vivekanandhan et al., 2005; Radu et al., 2003). این امر را می‌توان به رطوبت بالای سطح بدن ماهی نسبت داد هم‌چنین پوشش کیتینی میگو و لابستر مانعی برای نفوذ این پاتوژن محسوب می‌شود. آلودگی بیشتر با این باکتری در فصل تابستان در مطالعات قبلی گزارش شده است که با نتایج مطالعات هم‌خوانی دارد (Daskalov and Bell, 2006).

گونه‌های *آئروموناس* در محیط‌های دریایی و خشکی سراسر دنیا یافت می‌شوند و بیماری‌زایی آن‌ها به‌طور طبیعی در محیط‌های دریایی اتفاق می‌افتد. لذا پیشگیری از این آلودگی‌ها در چنین محیط‌هایی غیر ممکن است و مهم‌ترین روش کنترل و پیشگیری از این پاتوژن‌ها رعایت اصول بهداشتی در طول مراحل صید،

8. Imani, P. and Akhlaghi, M. 2004. Immunogenicity of hemolysin Protease and Lipopolysaccharide extracted from *Aeromonas hydrophila* in common carp (*Cyprinus carpio*). Arch Razi Ins. 57: 55-56.
9. Janda, J.M. 1991. Recent advance in the study of the taxonomy pathogenicity and Infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas* spp. Clin Microbiol Rev. 4: 2048-2055.
10. Joseph, S.W., Canahan, A.M. 2000. Update on the genus *Aeromonas* spp. Appl Environm Microbiol. 66: 218-223.
11. Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Winn, W., Procop, G., Schreekenberger, P., Wood, G. 2006. Atlas and Text book of diagnostics Microbiology 6th. Lippincott. Philadelphia. 417.
12. Mahon, C. R. and Manuselis, G. 2000. Textbook of diagnostic Microbiology. W. B. Saunders. Philadelphia. 524.
13. Ottaviani, D., Santarelli, S., Bacchiocchi, S., Masini, L., Ghittino, C. and Bacchiocchi, I. 2006. Occurrence and characterization of *Aeromonas* spp. in mussels from the Adriatic Sea. J Food Microbiol. 23: 418-422.
14. Radu, S., Ahmad, N., Ling, F. H. and Reezal, A. 2003. Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malaysia. Int J Food Microbiol. 81: 261-266.
15. Vivekanandhan, G., Hatha, A.A.M. and Lakshmanaperumalasamy, P. 2005. Prevalence of *Aeromonas hydrophila* in fish and prawns from the sea Food market Coimbatore. Food Microbiol. 22: 133-137.
16. Wang, C. and Sliva, J.L. 1999. Prevalence and characterization of *Aeromonas* species isolated from processed channel catfish. J Food Prot. 62: 30-34.