

دو فصلنامه هیستوبیولوژی دامپزشکی
دوره دهم شماره ۲ پاییز و زمستان ۱۴۰۱

بررسی شیوع آئروموناس هیدروفیلا در میگو، لابستر و ماهی های عرضه شده در بازار شهرستان اصفهان

مرتضی رزاقی منش^{۱*}، مهدی رئیسی^۲، محمدحسین ناصر بخت^۳، شقایق قناد^۳

- ۱- دانش آموخته دکتری دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
- ۲- گروه بهداشت آبزیان و مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
- ۳- دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، شوشتر، ایران

*نویسنده مسئول: Morteza_vet@yahoo.com

چکیده

یکی از مهمترین پاتوژن میکروبی به ویژه در کودکان و سالمندان منجر به گاستروانتریت حاد می شود، آئروموناس هیدروفیلا می باشد. انتقال این باکتری بیشتر از طریق آب و مواد غذایی با منشأ دامی صورت می گیرد. این مطالعه به منظور بررسی شیوع آئروموناس هیدروفیلا در ماهی، میگو، لابستر های صید شده از سواحل جنوبی کشور مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از کشت میکروبی، از آزمون های بیوشیمیایی جهت تفکیک گونه آئروموناس هیدروفیلا استفاده شد. نتایج مطالعه نشان داد از مجموع ۱۸۰ نمونه شامل ۱۱۰ نمونه انواع ماهی، ۴۰ نمونه میگو و ۳۰ نمونه لابستر (پلی هوماروس) صید شده از ۳ استان همجوار خلیج فارس، از تابستان ۱۳۸۹ تا بهار ۱۳۹۰ به ترتیب ۱۳ نمونه (۱۱/۸٪) ۴ نمونه (۱۰٪) آلوده به آئروموناس هیدروفیلا بودند. بیشترین شیوع باکتری به ترتیب، تابستان (۱۷/۵٪) پاییز (۱۰/۱٪) و زمستان (۴/۹٪) بود. این مطالعه اولین گزارش جداسازی آئروموناس هیدروفیلا از ماهی، میگو و لابستر در ایران می باشد.

واژه های کلیدی: آئروموناس هیدروفیلا، میگو، لابستر، ماهی، اصفهان

مقدمه

تغذیه از مهمترین فاکتورهای ضروری برای رشد و بقاء زندگی است. یکی از اقلام غذایی که می تواند در برگیرنده اکثر نیازهای بدن باشد، ماهی و به طور کلی آبزیان هستند که به خاطر ترکیبات خود به خصوص اسیدهای چرب ارزشمندی بنام آمگا ۳ به عنوان غذایی سلامتی معروف شده اند (Moss و Adams، ۲۰۰۰). مجله های معتبر پزشکی نیز بیان می دارند، مصرف یک یا دو بار ماهی در هفته ممکن از بسته شدن رگها و امراض قلبی جلوگیری کند (Mahon و Mahuselis، ۲۰۰۰). ماهی یکی از منابع غنی از پروتئین به حساب می آید، بطوری که در مقایسه با انواع گوشت ها از نظر کمی بیشترین درصد پروتئین را دارد و از نظر کیفی نیز بر خلاف گوشت قرمز دارای بافت پیوندی کم تر و فاقد الاستین است (Bell و Daskalov، ۲۰۰۶). میگوها نیز ماده غذایی بسیار مفیدی بوده که در بین بسیاری از افراد از محبوبیت بالایی برخوردار است. پروتئین موجود در میگو کیفیت بالایی داشته و حاوی تمام اسیدهای آمینه ضروری جهت رشد می باشد (Dives و همکاران، ۲۰۰۱).

در این بین پاتوژن های رایجی وجود دارد که باعث آلودگی و فاسد محصولات دریایی می شوند، یکی از مهمترین آن ها باکتری آئروموناس هیدروفیلا می باشد. این باکتری گرم منفی، بی هوازی اختیاری، بدون اسپور،

محرک و از خانواده ویبریوناسه است و به طور وسیع در رودخانه ها و دریاچه های تمام نقاط دنیا یافت می شود (Joseph و Canahan، ۲۰۰۰). این باکتری معمولاً در شرایط استرس زا، متعاقب حمل و نقل یا شلوغی ناشی از افزایش درجه آب بروز می کند و عامل بیماری های مختلف در حیوانات دریایی، پستانداران و انسان می باشد (Mahon و Mahuselis، ۲۰۰۰). متداول ترین بیماری ناشی از این باکتری می توان به بیماری پوسته، نکروز ضمایم ماهیان و میگوها اشاره کرد. از آنجایی که محصولات دریایی به عنوان یک منبع غذایی عمده تلقی می شوند، می توانند به عنوان یک عامل مهم در انتقال عوامل بیماری زا از جمله باکتری آئروموناس هیدروفیلا به انسان مطرح باشند (Imani و Akhlaghi، ۲۰۰۴). در دهه گذشته، افزایش قابل توجهی در گزارش بیماری های 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 می باشد (Todd، ۱۹۷۷). هنگامی که انسان با این پاتوژن آلوده می شود بعد از یک دوره نهفتگی ۱۲ الی ۴۸ ساعته دل درد شدید به دنبال آن تهوع و استفراغ به همراه تب و سپتی سمی رخ می دهد و در ادامه کرمپ های شکمی و اسهال آبکی تا خونی دیده می شود (Koneman و همکاران، ۲۰۰۶). آنجایی که مطالعات فراوانی در خصوص این باکتری از فراورده

های غذایی خصوصاً آبزیان، نشان می دهد که آلودگی به این پاتوژن ها عمدتاً بدنبال مصرف خام و نیم پز شده فرآورده های دریایی ایجاد می شود (Imani و Akhlaghi, ۲۰۰۴). بدیهی است با مشخص کردن شیوع آئروموناس هیدروفیلا در فرآورده های دریایی که جزء رژیم اصلی انسان ها می باشند، می توان نقش فرآورده های دریایی را در پراکنده کردن باکتری آئروموناس هیدروفیلا 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 میگو، لابستر و ماهی به این پاتوژن در ایران بر آن شده ایم تا با طراحی مطالعه ای شیوع آلودگی به آئروموناس هیدروفیلا را در لابستر، میگو و ماهی های عرضه شده در بازار شهرستان اصفهان مورد بررسی قرار دهیم.

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 قزل آلائی 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 ۳۰-۲۰ روز جمع آوری و در مجاورت یخ ($+4^{\circ}\text{C}$) در شرایط آسپتیک به آزمایشگاه مواد غذایی منتقل شدند. تمام نمونه ها بلافاصله پس از ارسال به آزمایشگاه مورد آزمایش 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 ($\text{pH} = 8/3$) منتقل و به مدت ۲ دقیقه کاملاً مخلوط شدند و برای ۱۸ ساعت در 37°C درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند. در ادامه یک لوپ از محیط غنی شده (آب پپتونه) روی محیط بلاد آگار آمپی سیلین دار کشت سطحی داده و به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای 37°C گرم خانه گذاری شدند (Vivekanandhan و همکاران ۲۰۰۵). پس از طی دوره گرم خانه گذاری، پلیت ها با محلول لوگول رنگ آمیزی و پرگنه های آمیلاز مثبتی که به رنگ زرد تا نارنجی بودند، جدا گردید. جهت جدا و خالص سازی گونه های آئروموناس کشت در پلیت و لوله در محیط آگار مغذی انجام و به مدت ۲۴ ساعت در 37°C گرم خانه گذاری شدند. پرگنه های به دست آمده که ظاهری قلیایی و اسیدی پیدا کردند، مشکوک به آئروموناس هیدروفیلا می باشند. پرگنه ها با ظاهر آئروموناس هیدروفیلا جهت تأیید تشخیص با استفاده از تست های بیوشیمیایی از جمله قدرت تحرک، رنگ آمیزی گرم،

فصول تابستان و زمستان به ترتیب ۱۷/۵ درصد و ۴/۹ درصد بوده است. جدول ۲ میزان آلودگی فصلی را نشان می دهد. بعلاوه اختلاف آماری معنی داری در شیوع آلودگی بین فصول مختلف سال وجود ندارد ($P > 0.05$).

نوع نمونه	تعداد	فراوانی و درصد نمونه های مثبت به گونه های آئروموناس هیدروفیلا	فراوانی و درصد نمونه های مثبت از نظر آئروموناس هیدروفیلا
ماهی شوریده	۲۰	۷ (۳۵٪)	۳ (۱۵٪)
ماهی کفشک	۱۲	۶ (۵۰٪)	۴ (۳۳/۳٪)
ماهی زبان	۱۵	۶ (۴۰٪)	۴ (۲۶/۶٪)
ماهی حلوا سفید	۱۵	۳ (۲۰٪)	۱ (۶/۶۶٪)
ماهی حلوا سیاه	۱۴	۵ (۳۵/۷٪)	۲ (۱۴/۲۸٪)
قزل آلائی رنگین کمان	۳۴	۶ (۱۷/۶٪)	۰ (۰٪)
میگو	۴۰	۷ (۱۷/۵٪)	۴ (۱۰٪)
لابستر	۳۰	۲ (۶/۷٪)	۰ (۰٪)
مجموع	۱۸۰	۴۲ (۲۳/۳٪)	۱۸ (۱۰٪)

جدول ۱- فراوانی و درصد آلودگی در نمونه های ماهی، میگو، لابستر به گونه های آئروموناس و آئروموناس هیدروفیلا در بازار شهرستان اصفهان

تست اکسیداز، هیدرولیز آرژنین، تخمیر گلوکز، دکربوکسیلاز اورنیتین، ONPG (جهت تعیین فعالیت بتاگالاکتوزیداز) تخمیر سالیسین و تجزیه گلوکز و آرابینوز مورد مطالعه قرار گرفتند (Adams و Moss, ۲۰۰۰). در ادامه یافته های بدست آمده از مطالعه با نرم افزار SPSS و با استفاده از آزمون آماری مربع کای تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

از مجموعه ۱۸۰ نمونه آبی آزمایش شده به ترتیب ۴۲ نمونه ۲۳/۳ درصد به گونه های آئروموناس و ۱۸ نمونه ۱۰ درصد به آئروموناس هیدروفیلا آلوده بودند. از انواع ۱۱۰ نمونه ماهیان آزمایش شده ۳۰ درصد به گونه های آئروموناس و ۱۲/۷۲ درصد به آئروموناس هیدروفیلا آلوده بودند، این آلودگی در ماهیان شوریده، کفشک، زبان، حلوا سفید، حلوا سیاه، قزل آلائی رنگین کمان به ترتیب ۱۵، ۳۳/۳، ۲۶/۶، ۶/۶۶، ۱۴/۲۸ و صفر درصد می باشد. از بین ۴۰ نمونه میگو، ۱۷/۵ درصد به گونه های آئروموناس و ۱۰ درصد به آئروموناس هیدروفیلا آلوده بودند. از میان ۳۰ نمونه لابستر گونه هوماروس، ۶/۷ درصد به گونه های آئروموناس و نمونه مثبتی به آئروموناس هیدروفیلا یافت نشد. جدول ۱ آلودگی در انواع نمونه ها را نشان می دهد. میزان آلودگی فصلی به آئروموناس هیدروفیلا در نمونه های آبی مورد مطالعه نشان می دهد بیشترین و کمترین آلودگی در

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

جدول ۲- شیوع فصلی آثروموناتس هیدروفیلا در نمونه های ماهی، میگو و لابستر در بازار شهرستان اصفهان

بحث و نتیجه گیری

به طور کلی مطالعات فراوانی در خصوص جداسازی گونه های آثروموناتس از منابع مختلف از جمله نمونه های محیطی، بالینی و مواد غذایی با منشأ دامی انجام شده که اکثر این مطالعات نشان می دهد، مهمترین گونه های آثروموناتس جدا شده از نمونه های مختلف آثروموناتس هیدروفیلا و آثروموناتس ورونی بوده است (Adams و Moss، ۲۰۰۰). آثروموناتس هیدروفیلا یکی از مهمترین گونه های جنس آثروموناتس است و معمولاً مسئول ۸۰ درصد از گاستروانتریت های انسانی می باشد که عمدتاً به دنبال مصرف مواد غذایی دریایی از جمله ماهی، میگو، خرچنگ و نرم تنان دریایی ایجاد می شود. علائم حاصل از این بیماری در انسان شامل اسهال، تهوع، دل پیچه و تب می باشد. اگرچه بیماری معمولاً خود محدود شونده است، اما در افراد با ضعف سیستم ایمنی بسیار خطرناک است (Mahon و Mahuselis، ۲۰۰۰). در بررسی حاضر ۱۰ درصد از انواع ماهی، میگو

و لابستر آلوده به آثروموناتس هیدروفیلا می باشند. بررسی مطالعات مختلف میزان این آلودگی را در ماهی بسیار متنوع و از صفر تا ۱۰۰ درصد گزارش نموده اند (Wang و Sliva، ۱۹۹۹). نتایج مطالعه حاضر در خصوص شیوع آلودگی به آثروموناتس هیدروفیلا در انواع ماهی با مطالعات مختلفی از Vivekanadhan و همکاران، Hatha و همکاران، Castro و همکاران همخوانی دارد (Vivekanandhan و همکاران ۲۰۰۵؛ Hatha و همکاران ۲۰۰۰؛ Castro و همکاران ۲۰۰۳). Radu و همکاران از مالزی آلودگی به گونه های آثروموناتس در ۸۷ نمونه از انواع ماهی، ۶۰ نمونه (۶۹٪) گزارش نمودند و از ۶۰ نمونه جدا شده بیشترین مربوط به آثروموناتس ورونی (۸۰٪) و بعد از آن آثروموناتس هیدروفیلا (۱۶٪) گزارش نمودند (Radu و همکاران ۲۰۰۳). در مطالعه ای از Vivekanandhan و همکاران در خصوص شیوع آثروموناتس هیدروفیلا در ماهی و میگوهای عرضه شده در بازار مصرف شهر Coimbatore هند حاکی از آن است که از ۲۸۷ نمونه ماهی و میگو آزمایش شده ۳۳/۶ درصد از نمونه های ماهی و ۱۷/۶ درصد از نمونه میگو به گونه آثروموناتس هیدروفیلا آلوده بوده است (Vivekanandhan و همکاران ۲۰۰۵). همچنین Castro و همکاران از ۲۵۰ نمونه ماهی یخ زده در سوپر مارکت های شهر مکزیک ۸۲ نمونه (۳۲٪/۸) آلودگی به گونه های آثروموناتس مشاهده

نمودند که بررسی های مولکولی ۲/۶ درصد آلوده به آئروموناس هیدروفیلا بوده است (Castro و همکاران ۲۰۰۳). با این وجود آلودگی نمونه های ماهی به آئروموناس هیدروفیلا در مطالعات Illanchezian و همکاران بیش از ۴۰ درصد بوده است (Illabcheizan و همکاران ۲۰۱۰). در مطالعه حاضر میزان شیوع آلودگی در نمونه های ماهی بیشتر از نمونه های میگو و لابستر بود که با مطالعات مشابهی از Vivekanadhan و همکاران و Radu و همکاران مشابه است (Vivekanandhan و همکاران ۲۰۰۵; Radu و همکاران ۲۰۰۳). شاید به علت رطوبت بالای سطح بدن ماهی نسبت داد همچنین پوشش کتینی میگو و لابستر مانعی برای نفوذ این پاتوژن محسوب می شود.

Daskalov و همکاران طی مطالعه در فصول بررسی شیوع باکتری در مواد غذایی نشان دادند بالاترین میزان شیوع آلودگی در فصل تابستان بوده است که با نتایج مطالعات هم خوانی دارد (Daskalov و Bell, ۲۰۰۶).

مروری بر سابقه متون نشان می دهد، گونه های آئروموناس در محیط های دریایی و خشکی سراسر دنیا یافت می شوند و بیماری را آن ها به طور طبیعی در محیط های دریایی اتفاق می افتد. لذا آلوده کننده های

طبیعی، آب ها و غذاهای دریایی هستند و پیشگیری از این آلودگی ها در چنین غیر ممکن است و مهمترین روش کنترل و پیشگیری از عفونت های حاصل از این پاتوژن ها رعایت اصول بهداشتی در طول پروسه صید، نگهداری، توزیع و فرآوری می باشد. هم چنین این باکتری در دمای یخچال (زیر ۱۰°C) در محیط های بدون هوا زنده می ماند و قادر به رشد و تکثیر می باشند. تمام گونه های آئروموناس نسبت به خشک کردن با دی اکسید کربن، آنزیم های پروپوتیک و غیره حساس اند. یکی دیگر از نکات حائز اهمیت عدم انباشتگی فراورده های دریایی در طول مرحله نگهداری می باشد. نتایج مطالعه حاضر و مطالعات مشابه نشان می دهد که مصرف فراورده های دریایی از جمله میگو، لابستر و ماهی خام و نیم پز شده می توان سلامت مصرف را به مخاطره اندازد، لذا شستشوی آبزیان با آب شرب به همراه کلر (۷-۲ میلیون) و پخت کامل مواد غذایی بهترین روش قبل از مصرف پیشنهاد می شود.

منابع

1. 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. pp: 787-791.
- 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. *International Journal of Food Microbiology*. 84. Pp: 41-49.
- Daskalov, H. and Bell, R.G. (2006). The importance of *Aeromonas hydrophila* in Food safety. *Food Conterol*. 17. Pp: 474-483.
- 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. Pp: 67-71.
- Illancheizan, S., Jayaraman, S., Manoharan, S.M. and Valsalam, S. (2010). Virulence and Cytotoxicity of seafood borne *Aeromonas hydrophila*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 41. Pp: 978-983.
- 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 Technology*. 37(1). Pp: 59-62.
- Imani, P. and Akhlaghi, M. (2004). Immunogenicity of hemolysin Protease and Lipopolysaccharide extracted from *Aeromonas hydrophilia* in common Carp *Cyprinus carpiol*. *Archive Razi Institute*. 57. pp: 55-56.
- Janda, J.M. (1991). Recent advance in the study of the taxonomy pathogenicity and Infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas* spp. *Clinical Microbiology Review*. 4(4). pp: 2048-2055.
- Joseph, S.W. and Canahan, A.M. 2000. Update on the genus *Aeromonas* spp. *Applied and Environmental Microbiology*. 66. Pp: 218-223.
- Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Winn, W., Procop, G., Schreekenberger, P. and Wood, G. (2006). *Atlas and Text book of diagnostics Microbiology*, 6th. Lippincott. Philadelphia. Pp: 417.
- Mahon, C. R. and Manuselis, G. 2000. *Textbook of diagnostic Microbiology*. W.B. Sanders Company. Philadelphia. Pp: 524.
- Ottaviani, D., Santarelli, S., Bacchiocchi, S., Masini, L., Ghittino, C. and Bacchiocchi, I. (2006). *Journal Food Microbiology*. 23. pp: 418-422.
- Radu, S., Ahmad, N., Ling, F. H. and Reezal, A. (2003). Prevalence and resistance to antibiotics for *Aeromonas* species from retail fish in Malasia. *International Journal of Food Microbiology*. 81.pp: 261-266.
- Todd, E.C. (1997). *Epidemiology of Food born disease*. The Worldwide review, World Heath. 50. Pp: 30-50.
- 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 microbiology*. 22. Pp: 133-137.
- Wang, C. and Sliva, J.L. (1999). Prevalence and characterization of *Aeromonas* species isolated from processed channel catfish. *Journal of Food protection*. 62(1). Pp: 30-34.

Prevalence *Aeromonas hydrophila* in Shrimp, Lobster and Fishes at Seafood markets in Isfahan city

Morteza Razaghi Manesh^{1*}, Mehdi Reisi², Mohammad Hossein NaserBakht³, Shaghayegh Ganad³

1. Graduated from Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahre-kord- Iran
2. Department of Aquatic and Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran
3. Doctor of Veterinary Medicine Student, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Shushtar, Iran

*Corresponding author: Morteza_vet@yahoo.com

Abstract

Aeromonas hydrophila is one of the most frequent pathogens of acute bacterial gastroenteritis particularly in young children and elderly which is transmitted mostly via water and food originating from animals. This study was conducted to determine the prevalence rate of *A. hydrophila* in fish, shrimp and lobster caught off the south coast of Iran. A total of 180 samples including, 110 fish, 40 freshly caught shrimp, and 30 freshly caught lobsters (*Panulirus homarus*) were collected in 3 provinces along Persian Gulf in the south coast of Iran. A biochemical protocol was applied for identification of the isolates. Samples were collected at the end of each month from summer 2010 to spring 2011. In this study, 18 of 180 samples (10.0%) including 13 of 110 fish samples (11.8%), and 4 of 40 shrimp samples (10%) were contaminated with *A. hydrophila*. The highest prevalence of *A. hydrophila* occurred in summer (17.5%) followed by fall (10.1%), and winter (4.9%). To our knowledge, the present study is the first report of the isolation of *A. hydrophila* from fish, shrimp and lobster in Iran.

Keywords: *A. hydrophila*, lobster, fish, shrimp, Isfahan