



Food Poisoning Bacteria from Commercially Important Fish Species Collected from Markets in Mazandaran Province

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Poulin Sh.^{*1} PhD,
Azizkhani M.² PhD,
Tooryan F.² PhD

How to cite this article

Poulin Sh, Azizkhani M, Tooryan F. Food Poisoning Bacteria from Commercially Important Fish Species Collected from Markets in Mazandaran Province. Journal of Fisheries Science and Technology. 2020;8(1):1-6.

¹Clinical Sciences Department, Veterinary Medicine Faculty, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

²Food Hygiene Department, Veterinary Medicine Faculty, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

*Correspondence

Address: Amol University of Special Modern Technologies, Imam Khomeini Street, Aftab 24 Street, Amol, Iran. Postal Code: 4618649767
Phone: +98 (11) 44271057
Fax: +98 (11) 44271054
p.shohreh@ausmt.ac.ir

Article History

Received: July 25, 2018

Accepted: August 14, 2019

ePublished: March 19, 2019

ABSTRACT

Aims Considering the high importance of food poisoning bacteria in terms of public health threats and economic damages, this research aimed at evaluating food poisoning bacteria in some commercially important fish species collected from markets in Mazandaran, Iran.

Materials and Methods For this purpose, 200 frozen fish belonging to 4 species were purchased from the stores and transferred to the laboratory. Samples were tested for total counting of aerobic bacteria, *Escherichia coli* count, *Staphylococcus aureus* count, *Vibrio parahaemolyticus* and detection of Salmonella according to Iranian national standard methods.

Findings In the studied samples, Salmonella, and *Vibrio parahaemolyticus* were not observed. Comparing the results with the Iranian national standards, the total number of aerobic bacteria and *Staphylococcus aureus* in all samples was in normal range. The number of *E. coli* in 14% of samples of Rain bow trout, 20% of *Clupeonella Cultriventris*, 20% of *Hypophthalmichthys molitrix* and 10% of *Scomberomorus commerson* samples was higher than the standard range, due to the importance of pathogenicity of different strains of *E. coli* in humans, microbial control of the packed fish is very important.

Conclusion The results of microbial investigations of frozen raw fish collected from stores in different cities of Mazandaran province can be defined satisfactorily, since the majority of samples conform to reference standards.

Keywords Bacteria; Foodborne Diseases; Fish

CITATION LINKS

[1] Effects of a probiotic, protexin ... [2] Enterotoxigenic *Escherichia coli* ... [3] Enterotoxigenic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from goats' ... [4] The bacterial superantigen and superantigen-like ... [5] Microbiology of food and animal feeding stuffs-preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part ... [6] Microbiology of food and animal feeding stuffs-guideline of general requirements for ... [7] Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the ... [8] Microbiology of food and animal feeding stuffs-detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli*-most probable number ... [9] Microbiology of food and animal feeding stuffs-enumeration of coagulase-positive *Staphylococci* (*Staphylococcus aureus* and other species)-test method Part 1: Technique using baird-parker agar ... [10] Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the detection of ... [11] Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the detection of potentially Enteropathogenic vibrio spp.-Part 1: Detection of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio* ... [12] Microbial specifications of fish and ... [13] Microbiological status of fish products on retail markets in the Republic of ... [14] Surveillance of bacteria species in diseased freshwater ornamental fish from aquarium ... [15] Seafood quality analysis: Molecular identification of dominant microbiota after ice ... [16] Inhibition of microbiological activity during sole (*Solea solea* L.) chilled storage by applying ... [17] Microbiological quality of marketed fresh and frozen seafood caught off the Adriatic coast of ... [18] Bacterial flora and antimicrobial resistance in raw frozen cultured seafood imported to ... [19] Prevalence of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* contamination in foods of ... [20] Bacterial and Fungal Population Assessment in Smoked Fish during Storage ... [21] Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian ... [22] Bacteriological quality evaluation of salted fishes that are produced traditionally ... [23] Effect of sodium alginate edible coat on bacterial, chemical and sensory quality of freezing Kilka ... [24] Evaluation of hygienic quality and labelling of fish distributed in public canteens of ... [25] Isolation and identification of pathogenic bacteria associated with frozen mackerel fish (*Scomber scombrus*) in a humid tropical ... [26] Fish: A potential source of bacterial pathogens for human ...

بررسی باکتری‌های عامل مسمومیت غذایی در ماهیان باارزش تجاری عرضه‌شده در فروشگاه‌های مازندران

پوین شهره* PhD

گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین
آمل، آمل، ایران

مریم عزیزخانی PhD

گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین
آمل، آمل، ایران

فهیمه توریان PhD

گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین
آمل، آمل، ایران

چکیده

اهداف: با توجه به اهمیت نقش باکتری‌های عامل مسمومیت غذایی به لحاظ تهدید بهداشت عمومی و ایجاد خسارات اقتصادی، این پژوهش با هدف بررسی وجود باکتری‌های عامل مسمومیت غذایی در چند گونه از ماهیان باارزش تجاری جمع‌آوری‌شده از فروشگاه‌های استان مازندران صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: بدین‌منظر ۲۰۰ نمونه ماهی بسته‌بندی‌شده منجمد متعلق به گونه‌های قزل‌آلا، کپلکا، فیتوفاگ و شیرماهی (۵۰ نمونه از هر گونه ماهی) از فروشگاه‌ها خریداری و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌ها از نظر شمارش کلی باکتری‌های هوازی، شمارش *اشرشیا* کلی، شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس*، جست‌وجوی سالمونلا و شمارش ویبریو *پاراهمولیتیکوس* طبق روش‌های استاندارد ملی ایران مورد آزمایش قرار گرفتند.

یافته‌ها: در هیچ‌یک از نمونه‌های مورد بررسی، سالمونلا و ویبریو *پاراهمولیتیکوس* مشاهده نشد. مقایسه نتایج به‌دست‌آمده با حدود مجاز استاندارد ملی ایران نشان داد تعداد کلی باکتری‌های هوازی و *استافیلوکوکوس اورئوس* در تمامی نمونه‌ها در محدوده مجاز استاندارد ملی ایران بود. تعداد *اشرشیا* کلی در ۱۴٪ نمونه‌های قزل‌آلا، ۲۰٪ کپلکا، ۲۰٪ فیتوفاگ و ۱۰٪ نمونه‌های شیرماهی بیشتر از حد مجاز استاندارد بود که این مساله با توجه به اهمیت بیماری‌زایی سویه‌های گوناگون *اشرشیا* کلی در انسان، بر لزوم کنترل آلودگی‌های میکروبی ماهیان بسته‌بندی‌شده تاکید می‌نماید.

نتیجه‌گیری: نتایج بررسی‌های میکروبی ماهی‌های خام منجمد جمع‌آوری‌شده از فروشگاه‌های شهرهای مختلف استان مازندران می‌تواند رضایت‌بخش تعریف شود، زیرا اکثریت نمونه‌ها با استانداردهای مرجع مطابقت دارند.

کلیدواژه‌ها: باکتری، بیماری‌های غذازاد، ماهی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۲۳

*نویسنده مسئول: p.shohreh@ausmt.ac.ir

مقدمه

فرآورده‌های دریایی به‌ویژه ماهی به‌واسطه دارابودن مقدار زیاد پروتئین و اسیدهای چرب ضروری به‌عنوان یکی از باارزش‌ترین محصولات غذایی برای همه گروه‌های سنی محسوب شده و آمار مصرف آنها در بیشتر جوامع دنیا قابل ملاحظه است. محتوای بالای پروتئین و چربی‌های غیراشباع در ماهی آن را به یک ماده غذایی فسادپذیر تبدیل می‌سازد. ارزش غذایی، کیفیت و

ویژگی‌های حسی این گروه از منابع غذایی، طی دوره نگهداری، به‌واسطه واکنش‌های بیوشیمیایی، آنزیمی و فساد میکروبی تنزل می‌یابد. از طرفی، گزارش‌های متعددی راجع به بروز بیماری‌های ناشی از مصرف فرآورده‌های دریایی آلوده به میکروارگانیسم‌های مسمومیت‌زا و عفونت‌زا ارایه شده است. باکتری‌ها متداول‌ترین گروه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به شمار می‌روند که از طریق آب، ظروف نگهداری پس از صید، یخ مورد استفاده برای نگهداری موقت و بسته‌بندی منتقل شده و از طریق مصرف ماهی و سایر فرآورده‌های شیلاتی آلوده سبب بروز مسمومیت و عفونت در مصرف‌کنندگان می‌شوند.

از مهم‌ترین این باکتری‌ها کلی‌فرم‌های مدفوعی مانند *اشرشیا* کلی (*E. coli*)، *سالمونلا* / *انتریتیدیس*، ویبریو *پاراهمولیتیکوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) است. باکتری *اشرشیا* کلی 0157:H7 باسیل گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه است که جزء فلور میکروبی طبیعی روده بزرگ جانداران خونگرم بوده و وجود این میکروارگانیسم در مواد غذایی نشانه بروز آلودگی مدفوعی به شمار می‌رود^[1]. *اشرشیا* کلی 0157:H7 شایع‌ترین عامل شیوع اسهال و اختلالات معده‌ای- روده‌ای در سراسر جهان محسوب می‌شود. مرکز کنترل بیماری و پیشگیری ایالات متحده آمریکا (CDC) تخمین می‌زند که *اشرشیا* کلی 0157:H7 علت بروز بیش از ۷۳۰۰۰ بیماری در سال بوده که ۸۵٪ آنها مربوط به مصرف مواد غذایی آلوده است و عمده این بیماری‌ها در ماه‌های گرم سال بین خرداد تا آبان رخ می‌دهد^[2]. *استافیلوکوکوس اورئوس* یک باکتری بیماری‌زای مهم برای دامنه وسیعی از عفونت‌های انسانی و حیوانی است که بیماری‌های غذایی ناشی از تولید توکسین را نیز شامل می‌شود. این باکتری یک پاتوژن مهم انسانی است که انواع مختلفی از انتروتوکسین‌ها را تولید می‌کند و در میان توکسین‌های خارج سلولی (اگزوتوکسین‌ها)، توکسین‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* بالاترین درصد احتمال ایجاد خطر را دارند. این انتروتوکسین‌ها، اگزوپروتئین‌های مقاوم به حرارت هستند که سندرم گاستروانتریت در انسان ایجاد می‌کنند^[3, 4]. سالمونلا نیز یکی از پراهمیت‌ترین علل بروز گاستروانتریت اپیدمیک و آندمیک در افراد در دنیا است. دوره کمون بیماری معمولاً ۲۴-۸ ساعت است اما گاهی اوقات بسته به جمعیت باکتری واردشده به بدن علائمی همچون تب و لرز زودتر بروز می‌نماید. اغلب موارد اسهال آبکی و گاهی خونی نیز وجود دارد، ازدست‌دادن آب بدن و به‌هم‌خوردن تعادل الکترولیت‌ها از عوارض این بیماری است. اوج شیوع عفونت/مسمومیت سالمونلوزی در فصل تابستان رخ می‌دهد. بیماری در افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف و نسبتاً ضعیف مانند شیرخواران، کودکان، زنان باردار، سالمندان، افراد دچار سوء تغذیه و افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی با شدت بیشتری بروز می‌نماید^[3, 4]. ویبریو *پاراهمولیتیکوس* (*Vibrio parahaemolyticus*) باکتری نمک‌دوست گرم منفی است که

داده و پلیت‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای 37°C گرمخانه‌گذاری شدند. به منظور تایید کلنی‌های مشکوک آزمون کوآگولاز با استفاده از پلاسماي خرگوش یا انسان انجام شد.

به منظور شناسایی و تشخیص سالمونلا از روش شماره ۱۸۱۰ استاندارد ملی ایران انجام شد (سازمان ملی استاندارد ایران؛ ۱۳۸۱). بدین‌منظور ابتدا ۲۵ گرم از نمونه مورد آزمایش در ۲۲۵ میلی‌لیتر پپتون و اتر استریل هموژنیزه و به مدت ۲۰ تا ۲۴ ساعت در دمای 37°C گرمخانه‌گذاری شد. سپس یک میلی‌لیتر از محیط غنی‌شده اولیه به ۱۰ میلی‌لیتر محیط سلنیت‌سیستین منتقل کرده و در انکوباتور با دمای 37°C برای مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت قرار داده شد. محیط غنی‌کننده ثانویه راپاپورت و اسیلیادیس حاوی سویا تهیه و به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای 43°C گرمخانه‌گذاری شد و سپس کشت در محیط گریلوز لایزین دزوکسی‌کولات‌آگار انجام و حداقل سه کلنی تیپیک سالمونلا از هر پلیت برداشت و روی تریپتوزسوی‌آگار خالص، کشت شد. آزمون‌های بیوشیمیایی به منظور تایید سالمونلا شامل TSI اوره‌آز، اندل، آزمون vp و آزمایش حرکت انجام شد.

شمارش ویبریو پاراهمولیتیکوس (طبق استاندارد ملی شماره ۱-۹۶۶۷) صورت گرفت. برای انجام آن نمونه به آبگوشت غنی‌کننده آب پپتونه قلیایی نمکی تلقیح و به مدت زمان ۶ ساعت در دمای $41/5^{\circ}\text{C}$ گرمخانه‌گذاری شد. پس از اتمام گرمخانه‌گذاری، از آبگوشت غنی‌کننده به محیط کشت جامد انتخابی تیوسولفات‌سیترات‌بایل و ساکارز آگار تلقیح و در دمای 37°C به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و در نهایت آزمون‌های بیوشیمیایی مربوط به ویبریو پاراهمولیتیکوس به منظور تایید انجام و نتایج به‌دست‌آمده با استاندارد ملی شماره ۱-۲۳۹۴ (ماهی و میگو، ویژگی‌های میکروبی) مقایسه شد [5-12].

آنالیز آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 22، آزمون استیودنت تی‌تست و مربع کای مورد آنالیز قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج ارزیابی شاخص‌های میکروبی در نمونه‌های ماهی در جدول‌های ۱ الی ۳ ارائه شده است. مطابق داده‌های به‌دست‌آمده در هیچ‌یک از نمونه‌های مورد بررسی، سالمونلا و ویبریو پاراهمولیتیکوس مشاهده نشد. مقایسه نتایج به‌دست‌آمده با حدود مجاز استاندارد ملی ایران نشان داد که تعداد کلنی باکتری‌های هوازی و استافیلوکوکوس/اورئوس در تمامی نمونه‌ها در حد مجاز استاندارد ملی ایران بود (جدول ۴).

جمعیت *شرشیا* کلی در ۱۴٪ نمونه‌های قزل‌آلا، ۲۰٪ نمونه‌های ماهی کیلکا، ۲۰٪ نمونه‌های فیتوفاگ و ۱۰٪ نمونه‌های شیرماهی بیشتر از حد مجاز استاندارد بود (جدول ۴) که این مساله با توجه به اهمیت بیماری‌زایی سویه‌های گوناگون باکتری *شرشیا* کلی در انسان، بر لزوم کنترل آلودگی‌های میکروبی ماهیان بسته‌بندی‌شده تاکید می‌کند.

زیستگاه اصلی آن بیشتر در آب‌های نزدیک سواحل دریا و محل تلاقی رودخانه با دریا است. این باکتری از عوامل حاد عفونت‌های روده‌ای در اثر مصرف غذاهای دریایی نیم‌پز یا خام محسوب می‌شود. علائم عفونت ناشی از ویبریو پاراهمولیتیکوس درد شکم، تب، سردرد، تهوع، استفراغ، اسهال آبکی و اسهال همراه با خون است [3,4].

همگام با افزایش تجارت بین‌المللی آبزیان چالش‌های جدیدی ایجاد شده و احتمال خطر انتقال آلودگی‌ها را از مرزها افزایش داده است که این مساله بر نیاز برآورد مخاطرات پیش از واردات و صادرات آبزیان تاکید می‌کند. با توجه اهمیت ارزیابی میکروبی آبزیان، هدف از انجام این پژوهش بررسی وجود باکتری‌های عامل مسمومیت غذایی در چند گونه از ماهیان بالارزش تجاری بسته‌بندی‌شده و عرضه‌شده در فروشگاه‌های استان مازندران بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: از بهمن تا اسفند ۱۳۹۶ تعداد ۲۰۰ نمونه ماهی بسته‌بندی‌شده منجمد، شامل کیلکا (*Clupeonella Cultriventris*)، فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*)، قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*) و ماهی شیر (*Scomberomorus commerson*)، از هر نوع ماهی ۵۰ نمونه از فروشگاه‌های سطح استان مازندران به روش نمونه‌گیری تصادفی جمع‌آوری شد. کلیه نمونه‌ها در محفظه یخ همان روز به آزمایشگاه منتقل و پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، بررسی‌های میکروبی انجام شد.

بررسی میکروبی نمونه‌ها: آزمون شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل هوازی براساس روش استاندارد ملی شماره ۳۵۶ ایران انجام شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۷۱) به این منظور ۱۰ گرم از نمونه‌های تحت بررسی در ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل حل و هموژنیزه شد. سپس سری رقت‌های متوالی تهیه و با استفاده از روش پورپلیت‌کانت در محیط پلیت کانت‌آگار (مرک؛ آلمان) باکتری‌ها شمارش و میانگین آنها به‌صورت cfu/g گزارش شد. شمارش *شرشیا* کلی طبق استانداردهای ملی شماره ۲۹۴۶ (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۴) با استفاده از روش چندلوله‌ای انجام شد. ابتدا نمونه در محیط لوریل سولفات‌براث کشت داده شد و در صورت تولید گاز با استفاده از محیط کشت EC broth و آب پپتونه و معرف کواکس مورد تایید قرار گرفت.

شمارش باکتری *استافیلوکوکوس/اورئوس* کوآگولاز مثبت (طبق استاندارد ملی شماره ۶۸۰۶-۳ سازمان ملی استاندارد ایران؛ ۱۳۸۵) انجام شد. بدین‌منظور ابتدا ۱۰ گرم نمونه را در ۹۰ میلی‌لیتر محلول استریل رینگر هموژنیزه کرده و سپس یک میلی‌لیتر از آن به ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت تریپتوزسوی‌براث و سیترات‌سدیم انتقال و به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C گرمخانه‌گذاری شد. پس از پایان مدت گرمخانه‌گذاری یک میلی‌لیتر از آن را روی محیط کشت برد پارکر حاوی امولسیون زرده تخم‌مرغ (مرک؛ آلمان) کشت خطی

جدول ۱) نتایج شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل هوازی (cfu/g) در نمونه‌های ماهی جمع‌آوری‌شده از فروشگاه‌های استان مازندران

نوع ماهی	میانگین شمارش	حداقل تعداد باکتری شمارش‌شده	حداکثر تعداد باکتری شمارش‌شده
کیلکا	$2/8 \times 10^3$ ^a	2×10^0	5×10^2
قزل‌آلا	3×10^3 ^a	1×10^0	5×10^2
شیرماهی	$1/9 \times 10^3$ ^a	1×10^0	5×10^2
فیتوفاگ	$4/9 \times 10^3$ ^b	1×10^0	2×10^3

جدول ۲) نتایج شمارش باکتری *اشرشیا کلی* (cfu/g) در نمونه‌های ماهی جمع‌آوری‌شده از فروشگاه‌های استان مازندران

نوع ماهی	میانگین شمارش	حداقل تعداد باکتری شمارش‌شده	حداکثر تعداد باکتری شمارش‌شده
کیلکا	$0/0 \times 10^a$	$0/3 \times 10^0$	3×10^0
قزل‌آلا	$1/3 \times 10^b$	$0/3 \times 10^0$	$2/0 \times 10^+$
شیرماهی	$0/4 \times 10^a$	$0/3 \times 10^0$	2×10^0
فیتوفاگ	$0/7 \times 10^a$	$0/3 \times 10^0$	$1 \times 10^+$

جدول ۳) نتایج شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (cfu/g) در نمونه‌های ماهی جمع‌آوری‌شده از فروشگاه‌های استان مازندران

نوع ماهی	میانگین شمارش	حداقل تعداد باکتری شمارش‌شده	حداکثر تعداد باکتری شمارش‌شده
کیلکا	$<0/3 \times 10^a$	$<0/3 \times 10^0$	$<0/3 \times 10^0$
قزل‌آلا	$1/4 \times 10^b$	$0/3 \times 10^0$	$3 \times 10^+$
شیرماهی	$<0/3 \times 10^a$	$<0/3 \times 10^0$	1×10^0
فیتوفاگ	$<0/3 \times 10^a$	$<0/3 \times 10^0$	$<0/3 \times 10^0$

جدول ۴) نتایج کلی وضعیت میکروبی نمونه‌های ماهی جمع‌آوری‌شده از فروشگاه‌های استان مازندران

شاخص میکروبی	حد مجاز در استاندارد ملی ایران	کیلکا	قزل‌آلا	شیرماهی	فیتوفاگ
شمارش کلی مزوفیل هوازی	1×10^1	۰	۰	۰	۰
<i>اشرشیا کلی</i>	$0/4 \times 10^0$	۱	۷	۵	۱۰
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	$1 \times 10^+$	۰	۰	۰	۰
<i>سالمونلا</i>	۰	۰	۰	۰	۰
<i>ویبریو پاراهمولیتیکوس</i>	$1 \times 10^+$	۰	۰	۰	۰

با وجود اهمیت نقش باکتری‌های عامل مسمومیت غذایی در آرزین به لحاظ تهدید بهداشت و سلامت عمومی و ایجاد خسارات اقتصادی در بخش بهداشت و درمان، دانش ما در خصوص آنها کم است. یکی از مهم‌ترین وظایف مسئولین بهداشتی در هر کشور اطمینان از سلامت مواد غذایی مصرفی توسط مردم جامعه است و متداول‌ترین شیوه آن کنترل کیفیت مواد غذایی است که با نمونه‌گیری تصادفی و انجام آزمایشات شیمیایی و باکتریایی

استاندارد صورت می‌پذیرد. در سال‌های اخیر در ایران و جهان مطالعاتی در این زمینه صورت گرفته است.

ماهی گروهی از مواد غذایی است که دارای عمر انبارمانی کوتاهی بوده و کیفیت آن تحت تاثیر عوامل متعددی همچون محل صید، روش‌های خنک نگهداری، شرایط فرآیند و ذخیره‌سازی قرار می‌گیرد^[13]. در مراحل عمل‌آوری ماهی باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* از مهم‌ترین عوامل خطرزا محسوب می‌شوند. احتمال وجود این دو باکتری در ماهیان تازه صیدشده بسیار اندک است اما طی حمل و نگهداری و عمل‌آوری از طریق بروز آلودگی‌های ثانویه موجب آلودگی محصول می‌شوند و حتی طی انجماد نیز باقی می‌مانند. گزارش شده است که در برخی کشورها آلودگی ماهیان به سویه توکسین‌زای *اشرشیا کلی* موجب بروز بیماری شده است^[14]. کمپسیون بین‌المللی ویژگی‌های میکروبیولوژیکی مواد غذایی حداکثر حد مجاز تعداد کل میکروارگانیسم‌های هوازی را در ماهی تازه و یخ‌زده معادل 10^6 cfu/g تعیین نموده است. مطابق نتایج یک مطالعه بار میکروبی 10^4 - 10^7 cfu/g موجب بروز علایم فساد از طریق تغییر در ویژگی‌های حسی محصول می‌شود^[15]. در این مطالعه، هیچ‌یک از نمونه‌های ماهی دارای تعداد غیرمجاز باکتری مزوفیل هوازی نبودند. تعداد باکتری‌های گروه انتروباکتریاسه به‌عنوان شاخص کیفیت ماهی در نظر گرفته می‌شود زیرا تعداد این باکتری‌ها در محصول به‌طور مستقیم به شرایط نگهداری در یخ، شست‌وشو، شرایط انجماد و حمل و نقل ارتباط دارد^[16]. در این تحقیق آلودگی به *اشرشیا کلی* در ۱۴٪ نمونه‌های قزل‌آلا، ۲۰٪ نمونه‌های ماهی کیلکا، ۲۰٪ نمونه‌های فیتوفاگ و ۱۰٪ نمونه‌های شیرماهی بیشتر از حد مجاز استاندارد بود و جمعیت آن در مقایسه با حد مجاز 10^6 cfu/g که در یک مطالعه برای ماهی تازه و منجمد تعیین شده بود، غیرقابل قبول بود^[17].

پاتوژن‌هایی مانند سالمونلا می‌توانند از آب به ماهی و محصولات دریایی منتقل شوند^[18]، در مطالعه حاضر و نیز سایر مطالعات انجام‌شده در ایران هیچ آلودگی سالمونلایی مشاهده نشد، با این حال در ایتالیا طی یک بررسی دو ساله میزان شیوع سالمونلا در غذاهای دریایی ۵/۰٪ گزارش شد^[19].

در مطالعه سیکروسکی و همکاران آلودگی ماهیان شور و دودی به باکتری‌های بیماری‌زا مورد بررسی قرار گرفت و از ویبریو *پاراهمولیتیکوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیژن* و *کلوستریدیوم بوتولینوم* به‌عنوان عوامل خطر نام برده شد^[20]. همچنین، در مطالعه *آخوندزاده* و همکاران تعداد 10^7 نمونه ماهی تازه و 10^7 نمونه ماهی شور و دودی‌شده از نظر آلودگی به باکتری‌های بیماری‌زا مانند ویبریو *پاراهمولیتیکوس*، *لیستریا مونوسیژن*، *اشرشیا کلی* و سالمونلا مورد بررسی قرار گرفتند. در ۲۱/۴٪ ماهی تازه و ۷/۱٪ دودی‌شده و ۵۰٪ ماهیان شور و دودی‌شده آلودگی به ویبریو *پاراهمولیتیکوس* مورد تایید قرار گرفت^[21].

گزارشات از منابع متعدد نشان می‌دهند که از مهم‌ترین عوامل تاثیرگذار بر بار آلودگی ماهیان صیدشده روش صید است و روش‌هایی که در آنها ماهی طی صید مدت‌زمان طولانی با رسوبات کف دریا در تماس قرار می‌گیرد موجب افزایش بار میکروبی محصول می‌شود. از سایر عوامل موثر در این زمینه می‌توان به کیفیت آب و میزان آلودگی آن، شرایط تغذیه ماهی، چگونگی صید و روش‌های نگهداری و حمل اشاره نمود [26].

نتیجه‌گیری

عدم استفاده از روش‌های مناسب نگهداری ماهیان و محصولات دریایی منجر به تغییرات سریع در ویژگی‌های میکروبیولوژیکی و حسی محصول شده و فساد محصول را در بر دارد. نتایج بررسی‌های میکروبی ماهی‌های خام منجمد جمع‌آوری‌شده از فروشگاه‌های شهرهای مختلف استان مازندران می‌تواند رضایت‌بخش تعریف شود، زیرا اکثریت نمونه‌ها با استانداردهای مرجع مطابقت دارند. به هر حال نتایج نامطلوب در خصوص شمارش *اشرشیا کلی* نشان‌دهنده وجود آلودگی مدفوعی ناشی از عدم کفایت روش‌های بهداشتی یا بروز آلودگی ثانویه است. نتایج این بررسی می‌تواند اطلاعات ارزشمندی برای طراحی برنامه‌های نظارت برای کنترل کیفیت غذاهای دریایی و ماهی فراهم نماید.

تشکر و قدردانی: این طرح تحقیقاتی با استفاده از اعتبارات ویژه پژوهشی (گرت شماره ۸/۵۷۶ پ) دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل انجام شده است.

تاییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان بیان نشده است.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان بیان نشده است.

سهم نویسندگان: پولین شهره (نویسنده اول)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی (۴۰٪)؛ مریم عزیزخانی (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر کمکی/نگارنده بحث (۴۰٪)؛ فهیمه توریان (نویسنده سوم)، تحلیلگر آماری (۲۰٪)

منابع مالی: این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی با استفاده از اعتبارات ویژه پژوهشی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل بوده است.

منابع

- 1- Doyle, MP. Escherichia coli O157:H7 and its significance in foods. Int J Food Microbiol. 1991;12(4): 289-301.
- 2- Center for Disease Control and Prevention (CDC). Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) [Internet]. Atlanta: CDC; 2014 [cited 2014 Dec 1]. Available from: <https://www.cdc.gov/ecoli/etec.html>.
- 3- Akineden O, Hassan AA, Schneider E, Usleber E. Enterotoxigenic properties of Staphylococcus aureus isolated from goats' milk cheese. Int J Food Microbiol. 2008;124(2):211-6.
- 4- Fraser JD, Proft T. The bacterial superantigen and superantigen-like proteins. Immunol Rev. 2008;225(1):226-43.

در مطالعه توکلی و همکاران دو گونه کفال طلایی (*Mugil auratus* و ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*) از نظر شمارش کلی باکتری‌های هوازی، شمارش کلی‌فرم، و آلودگی به *اشرشیا کلی* و ویبریو *پاراهمولیتیکوس* مورد آزمایش باکتریولوژیکی قرار گرفتند. میانگین تعداد کل باکتری‌های هوازی در گونه کفال طلایی $2/3 \times 10^6$ cfu/g و در گونه ماهی سفید $4/0 \times 10^6$ cfu/g تعیین شد. در ۱۱/۱٪ از نمونه‌ها آلودگی به کلی‌فرم با میانگین $2/0 \times 10^6$ cfu/g مورد تایید قرار گرفت اما آلودگی به *اشرشیا کلی* مشاهده نشد. همچنین در ۵۷ نمونه (۷۹/۱۶٪) آلودگی به ویبریو *پاراهمولیتیکوس* تایید شد بدین‌صورت که آلودگی در ۲۶ نمونه (۴۵/۶٪) از نمونه ماهیان کفال و ۳۱ نمونه (۵۴/۳٪) از ماهیان سفید مشاهده شد [22]. در مطالعه سیف‌زاده و مطلبی شمارش کلی باکتری‌ها و باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه‌های ماهی پوشش‌دار در مقایسه با نمونه‌های شاهد (فاقد پوشش) تفاوت معنی‌داری نشان نداد. همچنین، آلودگی به باکتری‌های کلی‌فرم، *اشرشیا کلی* و سودوموناس در نمونه‌ها مشاهده نشد [23].

در مطالعه *ارمانی* و همکاران آلودگی ۱۳۵ نمونه شامل ماهی خام، ماهی پخته، فرآورده‌های ماهی خام و پخته تعیین شد و همچنین ۱۳۵ سواب محیطی به‌عنوان مثال از چاقو و ابزارآلات فرآوری، وسایل پخت، سطوح فرآوری، دستگیره و دیواره فریزر دسته شیر آب بابت تعیین اثر رعایت بهداشت گرفته شد. مطابق نتایج، آلودگی به باکتری‌های *اشرشیا کلی* و سالمونلا در نمونه‌ها مشاهده نشد. ۳/۸٪ نمونه‌های ماهی خام از نظر *لیستریا مونوسیتوژنز* مثبت بودند. نتایج سواب‌کشی و بررسی وضعیت بهداشت نشان داد امکان آلودگی فرآورده‌های غذایی با منشا آبزیان به باکتری‌های بیماری‌زا طی مراحل مختلف عمل‌آوری از طریق ابزارآلات عمل‌آوری و غیره وجود دارد و کنترل آلودگی‌های میکروبی در تمامی مراحل بسیار حائز اهمیت است [24].

نوع و جمعیت باکتریایی در ماهیان صیدشده به عوامل متعددی مانند منبع آبی صید ماهی (رودخانه، خلیج یا دریا)، آلودگی ابزار و وسایل صیادی، آلودگی دست‌های کارگران و افرادی که عمل‌آوری را انجام می‌دهند و نیز دمای نگهداری محصول بستگی دارد. به‌طور مثال، در عمده موارد گزارش‌شده که *استافیلوکوکوس اورئوس* از کارگران آلوده به ماهی منتقل شده است [25].

در قوانین و استانداردهای مربوط به مواد غذایی بسیاری از کشورها باکتری *اشرشیا کلی* به‌عنوان شاخص آلودگی مدفوعی جست‌وجو و شمارش می‌شود و بالابودن تعداد آن در محصول مورد نظر نشان‌دهنده وضعیت نامناسب بهداشتی است. وجود باکتری *اشرشیا کلی* در نمونه‌های ماهی منجمد بیان‌کننده بروز آلودگی مدفوعی پس از صید و طی مراحل حمل، نگهداری و فرآوری به‌علت دستکاری زیاد است. طبق گزارشی آلودگی ماهیان به *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* در ماهیان دریایی موجب بروز مسمومیت در مصرف‌کنندگان شده است [25].

- 13- Stratev D, Vashin I, Daskalov H. Microbiological status of fish products on retail markets in the Republic of Bulgaria. *Int Food Res J*. 2015;22(1):64-9.
- 14- Musa N, Wei LS, Shaharom F, Wee W. Surveillance of bacteria species in diseased freshwater ornamental fish from aquarium shop. *World Appl Sci J*. 2008;3(6):903-5.
- 15- Broekaert K, Heyndrickx M, Herman L, Devlieghere F, Vlaemynck G. Seafood quality analysis: Molecular identification of dominant microbiota after ice storage on several general growth media. *Food Microbiol*. 2011;28(6):1162-9.
- 16- Zambuchini B, Fiorini D, Verdenelli MC, Orpianesi C, Ballini R. Inhibition of microbiological activity during sole (*Solea solea* L.) chilled storage by applying ellagic and ascorbic acids. *LWT Food Sci Technol*. 2008;41(9):1733-8.
- 17- Topic Popovic N, Benussi Skukan A, Dzidara P, Coz Rakovac R, Strunjak-Perovic I, Kozacinski L, et al. Microbiological quality of marketed fresh and frozen seafood caught off the Adriatic coast of Croatia. *Vet Med Czech*. 2010;55(5):233-41.
- 18- Noor Uddin GM, Larsen MH, Guardabassi L, Dalsgaard A. Bacterial flora and antimicrobial resistance in raw frozen cultured seafood imported to Denmark. *J Food Protect*. 2013;76(3):490-9.
- 19- Busani L, Cigliano A, Taioli E, Caligiuri V, Chiavacci L, Di Bella C, et al. Prevalence of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* contamination in foods of animal origin in Italy. *J Food Protect*. 2005;68(8):1729-33.
- 20- Dutta M, Majumdar PR, Rakeb-UI-Islam MD, Saha D. Bacterial and Fungal Population Assessment in Smoked Fish during Storage Period. *J Food Microbiol Saf Hyg*. 2018;3:1-7.
- 21- Akhondzadeh Basti A, Misaqhi A, Zahraei Salehi T, Kamkar A. Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. *Food Control*. 2006;17(3):183-8.
- 22- Tavakoli HR, Hosseini H, Khaksar R. Bacteriological quality evaluation of salted fishes that are produced traditionally in the North of Iran. *J food Sci Tech*. 2009;6(3):105-11. [Persian]
- 23- Seifzadeh M, Motallebi AA. Effect of sodium alginate edible coat on bacterial, chemical and sensory quality of freezing Kilka coated. *J food Sci Tech*. 2012;9(35):1-15. [Persian]
- 24- Armani M, Civettini M, Conedera G, Favretti M, Lombardo D, Lucchini R, et al. Evaluation of hygienic quality and labelling of fish distributed in public canteens of northeast Italy. *Ital J Food Saf*. 2016;5(4):5723.
- 25- Eze EI, Echezona BC, Uzodinma EC. Isolation and identification of pathogenic bacteria associated with frozen mackerel fish (*Scomber scombrus*) in a humid tropical environment. *Afr J Agric Res*. 2011;6(7):1918-22.
- 26- Novotny L, Dvorska L, Lorencova A, Beran V, Pavlik I. Fish: A potential source of bacterial pathogens for human beings. *Vet Med Czech*. 2004;49(9):343-58.
- 5- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding stuffs-preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Part 1: General rules for the preparation of initial suspension and decimal dilutions [Internet]. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2007 [cited 2018 Aug 28]. Available from: <http://www.isiri.gov.ir/portal/files/std/8923-1.pdf>. [Persian]
- 6- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding stuffs-guideline of general requirements for examination [Internet]. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2015 [cited 2017 Mar 15]. Available from: https://tw.w.tppww.ir/abfa_content/media/image/2012/07/20258_orig.pdf. [Persian]
- 7- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the detection and enumeration of coliforms-most probable number technique [Internet]. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2008 [cited Day? Month? Year?]. Available from: Link Not Found. [Persian]
- 8- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding stuffs-detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli*-most probable number technique [Internet]. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2005 [cited 2008 Dec 31]. Available from: <http://www.isiri.gov.ir/portal/files/std/2946.pdf>. [Persian]
- 9- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding stuffs-enumeration of coagulase-positive *Staphylococci* (*Staphylococcus aureus* and other species)-test method Part 1: Technique using baird-parker agar medium [Internet]. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2005 [cited 2009 Sep 19]. Available from: Link Not Found. [Persian]
- 10- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. [Internet]. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2014 [cited 2014 Mar 10]. Available from: Link Not Found. [Persian]
- 11- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the detection of potentially Enteropathogenic vibrio spp.-Part 1: Detection of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* [Internet]. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2007 [cited 2007 Mar 10]. Available from: Link Not Found. [Persian]
- 12- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbial specifications of fish and shrimp [Internet]. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2000 [cited 2000 Feb 10]. Available from: Link Not Found. [Persian]