

فراوانی انتشار ویبریو پاراهمولیتیکوس در سواحل جنوب شرقی دریای خزر

چکیده

زمینه و هدف: ویبریو پاراهمولیتیکوس یکی از گونه های بیماریزا جنس ویبریو می باشد. این باکتری برای رشد نیاز به نمک دارد و ساکن آب دریاها می باشد. این میکروارگانیسم باعث تهوع، استفراغ، دردهای شکمی، تب و اسهال آبکی در انسان می شود. در این مطالعه نمونه های آب برداشت شده از سواحل دریای خزر در استان گلستان از نظر ویبریو پاراهمولیتیکوس بررسی شد.

روش بررسی: برای جدا سازی اولیه این گونه از آب پیتونه قلیانی و محیط کشت TCBS استفاده شد و با تستهای بیوشیمیایی استاندارد تشخیص نهایی حاصل شد.

یافته ها: از مجموع ۷۳ نمونه برداشت شده، ۳۲ مورد *V. parahaemolyticus* جدا شد. ۱۶ مورد از منطقه بندر ترکمن، ۱۰ مورد از منطقه بندر گز و ۶ مورد از منطقه گمیشان بود.

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد که گونه ویبریو پاراهمولیتیکوس در سواحل دریای خزر به فراوانی یافت می شود.

واژه های کلیدی: انتشار، ویبریو پاراهمولیتیکوس، سواحل جنوب شرقی دریای خزر

احمد هلاکو

مربی و عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی
واحد ایذه گروه زیست شناسی

نور امیر مظفری

دانشیار گروه میکروب شناسی دانشگاه
علوم پزشکی ایران

هما فروزش

مربی و عضو هیات علمی دانشگاه علوم
پزشکی ایران

محمود خرمالی

کارشناس میکروب شناسی دانشگاه تهران

نویسنده مسئول: احمد هلاکو

تلفن: ۹۱۱۲۷۶۴۹۰۲

پست الکترونیک: ahmadhalako@yahoo.com

آدرس: خوزستان، ایذه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه، گروه
زیست شناسی

وصول مقاله: ۸۶/۲/۵

اصلاح نهایی: ۸۶/۴/۳۱

پذیرش مقاله: ۸۶/۵/۱۶

سویه ها پیلی تولید می کنند. پیلی تولید شده مسئول اتصال این ارگانسیم به بافت های روده در آزمایشگاه بوده است. ویبریوهای زنده مخاط روده را تخریب می کنند ولی موجب متراکم شدن مایعات نمی شوند، این امر نشان می دهد که *V. parahaemolyticus* بر خلاف ویبریوکلرا، انترتوکسین تولید نمی کند (۸).

این باکتری به فراوانی در صدفهای خوراکی یافت می شود (۱۰). بیماری ناشی از *V. parahaemolyticus* معمولاً با مصرف غذاهای دریایی خام یا خوب پخته نشده و یا شستشو شده با آب دریای آلوده، به وجود می آید (۹). این مطالعه به منظور تعیین فراوانی این باکتری در آب سواحل خزر در استان گلستان انجام شده است.

روش بررسی

نمونه ها از آب دریا در سواحل دریای خزر در استان گلستان گرفته شد. این محدوده شامل بخش عمده ای از خلیج گرگان و بخشی از سواحل اصلی دریای خزر می باشد و از منطقه بندر گز تا تالاب گمیشان، در نزدیکی مرز ایران و جمهوری ترکمنستان را در بر می گیرد.

در این بررسی از مناطق مختلف ساحل، به فواصل تقریباً ۵۰۰ متر نمونه برداری انجام شد. ۱۴ نمونه از منطقه بندر گز، ۲۸ نمونه از منطقه بندر ترکمن و ۳۱ نمونه از منطقه گمیشان بود و در مجموعه ۷۳ نمونه از سواحل دریای خزر در استان گلستان برداشت شد (شکل ۱).

برای گرفتن نمونه از نقاط مورد نظر، ۲-۳ متر داخل آب دریا یا آب رودخانه می رفتیم و از عمق ۳۰ سانتی متری با شیشه دهان گشاد استریل نمونه گیری می کردیم و در کوتاهترین زمان، به آزمایشگاه می فرستادیم. در شرایط استریل ۱۰ سی سی از نمونه را با پیت استریل به لوله آزمایش منتقل می کردیم. لوله آزمایش به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ می شد. محلول رویی دور ریخته می شد و سپس ۱-۲ سی سی نمونه آب در لوله آزمایش می ماند که یک سی سی از

V. parahaemolyticus برای اولین بار در سال ۱۹۵۱

در کشور ژاپن از گاستروانتریت ناشی از مصرف غذای آلوده دریایی جدا شد. خرچنگ، میگو و صدفهای خوراکی منابع انتقال دهنده این باکتری شناخته شدند. این ارگانسیم یکی از ویبریوهای دریایی است که در آب های دریایی تمام نقاط دنیا یافت می شود (۲۰۱).

بیماری ناشی از این ارگانسیم معمولاً با خوردن غذاهایی

خام دریایی، بویژه صدفها اتفاق می افتد.

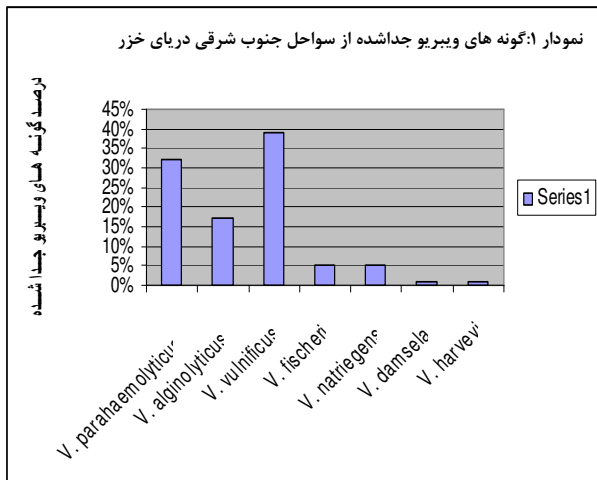
V. parahaemolyticus بر روی محیط های مایع و در PH ۸/۵ یا بالاتر فلاژل تک قطبی و هنگام رشد در محیط های حاوی آگار، فلاژل پری تریکوس تولید می کند. این گونه نیز مانند سایر گونه های جنس ویبریو نیازهای غذایی ساده ای دارد و در محیط آب پیتون قلیایی در PH ۷-۹ بهترین رشد را داراست. بر خلاف ویبریو کلرا، نمک دوست است و برای رشد حداقل به ۲٪ نمک در محیط نیاز دارد. یون سدیم برای سنتز پروتئینهایی که در تنظیم اسمزی دخالت دارند، مورد نیاز می باشد. هنگامی که شرایط برای رشد این ارگانسیم مناسب باشد، زمان تولید مثل آن (generation time) به ۹-۱۵ دقیقه می رسد که از نظر اپیدمیولوژی بیماری مهم می باشد (۴۳).

گاستروانتریت ایجاد شده با *V. parahaemolyticus* همراه با تهوع، استفراغ، دردهای شکمی و تب است (۵). اسهال آبکی نیز گاهی با خون همراه می باشد ولی این بیماری بعد از ۳-۲ روز خود به خود محدود می شود (۴۳).

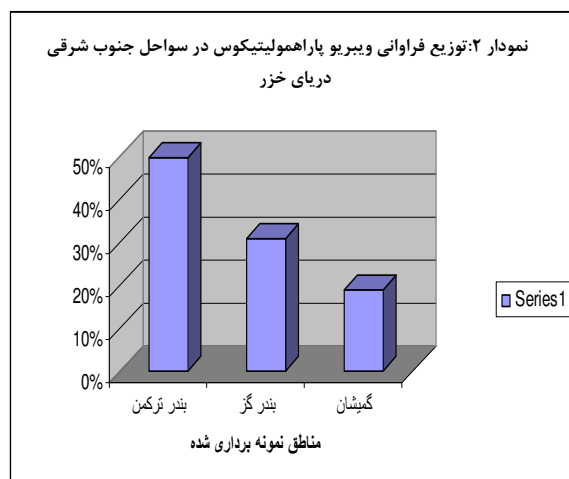
عفونتهای خارج دستگاه گوارش شامل عفونت زخم، چشم و عفونت گوش (اوتیت) از طریق تماس با آب های آلوده به وجود می آید. در آسیا، بویژه در کشور ژاپن و تایوان بیماریهای ناشی از این باکتری به طور مستمر گزارش می شود (۷۶).

در کشورهای در حال توسعه ۲۰٪ از اسهال های حاد مربوط به این باکتری می باشد. انتقال از شخص به شخص در کشورهای غربی و ژاپن گزارش نشده و همچنین هیچ پستانداری به عنوان مخزن برای این ارگانسیم شناخته نشده است (۹۸).

اخیراً مطالعاتی بر روی بعضی از سویه های بیماریزای *V. parahaemolyticus* انجام شده که نشان می دهد این



V. parahaemolyticus، ۱۶ مورد (۵۰٪) از فلور ویبریویی بندر ترکمن، ۱۰ مورد (۳۱٪) از ویبریوهای بندرگز و ۶ مورد (۱۹٪) از ویبریوهای منطقه گمیشان جدا گردید (نمودار ۲).



بحث

این مطالعه نشان داد که گونه های مختلف ویبریو در سواحل جنوب شرقی دریای خزر به فراوانی یافت می شوند. گونه های ویبریو پاراهمولیتیکوس، ویبریو آژینولیتیکوس، ویبریو ولنیفیکوس و ویبریو دامسلا که از این سواحل جدا شدند، برای انسان بیماریزا هستند. ویبریوپاراهمولیتیکوس یکی از گونه های بیماریزای جنس ویبریو می باشد که در ایالات متحده آمریکا و همچنین کشورهای جنوب شرقی آسیا مثل تایلند، تایوان، ژاپن،

محلول زیرین لوله آزمایش به نه سی سی محیط آب پپتونه قلیایی با ۱٪ نمک (NaCl) منتقل می شد. بعد از ۴-۶ ساعت، انکوباسیون در دمای ۳۷°C از محیط آب پپتونه قلیایی (APW) بالوپ بر روی محیط TCBS آگار کشت و محیط TCBS در انکوباتور ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. سپس تک تک کلنی های رشد کرده بر روی محیط TCBS آگار با تست اکسیداز آزمایش می شد. از این مرحله به بعد تستهای افتراقی بر روی کلنی های اکسیداز مثبت اجرا می شد. سپس تستهای لیزین دکربوکسیلاز (LDC)، اورنیتین دکربوکسیلاز (DDC)، آرژنین دی هیدرولاز (ADH)، VP، ONPG، سیمون سیترات، بایل اسکولین، اندول، رشد در ۰٪، ۱٪، ۳٪، ۶٪، ۸٪، ۱۰٪ و ۱۲٪ نمک (NaCl)، رشد در دمای ۴°C و ۴۰°C بر روی کلنی های ایزوله شده انجام داده شد.



شکل ۱: نقشه استان گلستان و مکان های نمونه برداری

یافته ها

از مجموع ۷۳ نمونه برداشت شده، از سواحل دریای خزر در استان گلستان ۱۰۰ مورد ویبریو جدا شد. ۳۲ مورد *V. parahaemolyticus*، ۳۹ مورد *V. vulnificus*، ۱۷ مورد *V. alginolyticus*، پنج مورد *V. fischeri*، پنجمورد *V. natriegens*، یک مورد *V. harveyi* یک مورد *V. damsela* بود. در سواحل مورد مطالعه هیچ گونه ویبریو کلرا و ویبریو میمیکوس جدا نگردید (نمودار ۱).

را از این سواحل جدا کردند. این یافته ها نشان داد که سواحل دریای آدریاتیک نیز به ویبریه های بیماریزا بسیار آلوده اند (۱۸).

در این مطالعه ، گونه های *V. fischeri*، *V. harveyi* و *V. natriegene* نیز جدا شدند که جزء فلور میکربی آبهای شور می باشند و دربارہ بیماریزا بودن آنها برای انسان گزارشی ارائه نشده است. فقط بیماریزایی گونه *V. harveyi* برای میگوها گزارش شده است (۱۹).

نتیجه گیری

این تحقیق نشان داد که در سواحل جنوب شرقی دریای خزر، گونه های بیماریزای ویبریو، خصوصا گونه پاراهمولیتیکوس به فراوانی یافت می شوند که این یک مساله بهداشتی مهم برای شناگران، ماهیگیران و به طور کلی سایر استفاده کنندگان از آبهای ساحلی می باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات کارکنان محترم مرکز تحقیقاتی و آموزشی علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی ایران صمیمانه سپاسگزاری می شود.

Reference:

- 1) Konemen, EW, Allen, SD, Janda, WM, Schreekenberger, P. *Color atlas and text book of diagnostic microbiology* 1997; 5 th ed. 339-352.
- 2) Vanderzant, C., Splittstoesser, D. F. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 1992; 3th ed. 451-469.
- 3) Braunwald, E., Fauci, A. S., Kasper, D. L., et al. *Harrison's principles of internal medicine*. 2001; 15th ed volum 1. 980-986.
- 4) Daniels, N. A., Ray, B., Easton, A, et al. Emergence of a new *Vibrio parahaemolyticus* serotype in new oysters. *JAMA* 2000 vol 284: 1541-1545.
- 5) Mclaughlin, J. B., Depaola, A., and Bopp, C.A . *Outbreak of Vibrio parahaemolyticus Gastroenteritis Associated with Alaskan oysters*. The New England Journal of Medicine. 2005; volume 353: 1463-1470.
- 6) Murray, P. R., Baron, E.J., Jorjensen, J.H., Pfaller, M. A., Tenover, R. H., Tenover, R. H.,. *Manual of clinical microbiology*. 2005, 8th ed: 339-352.
- 7) Qaderi, F., Shamsul Alam, M., Nishibuchi, M. *Adaptiv and Inflammatory Immune Responses in Patient infected with Strains of Vibrio parahaemolyticus*. The Journal of Infectious Diseases. 2003 volume 187 : 1085- 1096.

هنک کنک و... باعث بیماریهای گوارشی شدید مانند اسهال و استفراغ می شود (۱۱، ۱۲ و ۱۳). این میکروارگانیسم با مصرف فراوردهای دریایی از قبیل صدف، میگو، خرچنگ و ماهی به انسان منتقل می شود (۱۳).

در مطالعات محققین دیگر مشخص شده است که ویبریو پاراهمولیتیکوس، در شناگرانی که در دریاها و دریاچه های آلوده شنا می کنند باعث عفونت زخم و سپتی سمی می شود (۱۳).

در مطالعات مشابهی که در ایران انجام شده است، محققین کشورمان گونه پاراهمولیتیکوس را از نمونه های آب دریا، ماهیها، میگوها و پلانکتون های سواحل خلیج فارس جدا کردند (۱۴، ۱۶، ۱۵ و ۱۷). در این تحقیق، از سواحل جنوب شرقی دریای خزر هیچ گونه ویبریو کلرا و گونه کلرا non O1 جدا نشد.

Barbieri و همکارانش در سال ۱۹۹۹، انتشار، گوناگونی و بیماریزایی گونه های ویبریو را در سواحل دریای آدریاتیک ایتالیا مورد مطالعه قرار دادند و گونه های ویبریو پاراهمولیتیکوس، ویبریو آلترنولیتیکوس، ویبریو ولنیفیکوسو ویبریو کلرا non O1

- 8) Joklik., Willett, Amos and wilfert. *Zinsser microbiology*. 1991; 19th ed. 566-575
- 9) Mandell, G. L., Bennett, J. E., Dolin, R. *Principles and practice of infectious diseases*. 2000; 5th edition, : 2272-2276.
- 10) Depaola, A., Kaysner, C.A., Bower, J and Cook, D.W. *Environmental Investigation of Vibrio parahaemolyticus in oysters after outbreaks in Washington, Texas and Newyork (1997 and 1998)*. Applied and Environmental Microbiology. 2000; 66(11): 4649-4654.
- 11) Vuddhakul, V., Chowdhury, A., Laohaprerththisan, V., et al. *Isolation of a pandemic O3:k6 clone of a Vibrio parahaemolyticus strain from environmental and clinical sources in Thailand*. Applied and Environmental Microbiology. 2000; 66: 2685-5689.
- 12) Chiou, C -A., Hsu, S - Y., Chiu, S- I., Wang, T- K., and Chao, C -H. *Vibrio parahaemolyticus* serovar O3: K6 as cause of unusually high incidence of food- borne disease outbreaks in Taiwan from 1996 to 1999. *Journal Clinical Microbiology*. 2000; 38 (12): 4621- 4625.
- 13) Chan SWW., Ng K S., Cheung WL., Rainer TH. *Vibrio parahaemolyticus : a leading cause of infectious diarrhea in Hong Kong*. *Hong Kong Journal of Emergency Medicine*. 2002; Vol. 9(1): 23-29.

14) Haghghi, L ., Waleh, NS. *Isolation of Vibrio parahaemolyticus from Persian Golf* . Journal of Tropical Medicine and H ygiene. 1978 ; 81(2): 255-257.

15) Hosseini H., Cheraghali A,M., Yalfari R and Razavilar V. *Incidence of Vibrio Spp in shrimp caught off the South coast of Iran*. Food Control ; 2004: 187- 190.

۱۶) سلطانی، م . کاکولکی، ش. آوخ کیسمی، م. جداسازی شناسایی گونه های غالب ویبریو در میگوهای پرورشی تعدادی از کارگاه های پرورش میگوی حله بوشهر. مجله دانشکده دامپزشکی. سال ۱۳۷۹: ۵۵ (۲):

صفحات ۲۹ تا ۳۲

۱۷) اخلاقی، م. . پراکندگی ویبریو پاراهمولیتیکوس در سواحل خلیج فارس (بوشهر) طب جنوب زمستان ۱۳۸۰ : ۴ (ویژه نامه کنگره سراسری طب ودریا): ۲۱

18) Barbieri E, Falzano L, Fiorentini C, Planetti A, Baffone W, Fabbri A , et al. *Occurrence, Diversity, and Pathogenicity of Halophilic Vibrio Spp. and non- o1 Vibrio cholerae from estuarine waters along the Italian Adriatic Coast*. Applied and Environmental Microbiology. 1999, P; 2748-2753.

19) Harris L, Owens L, Smith S. A *selective and differential medium for Vibrio harveyi*. Applied and Environmental Microbiology. 1996. 62, PP; 3546- 355.