بررسی میگوهای پرورشی و دریایی سواحل جنوبی ایران از نظر آلودگی به ویبریوهای دریایی با تأکید بر ویبریوکلرا در تابستان و پاییز ۱۳۷۹

دکترهدایت حسینی [۱]، دکتر عبدالمجید چراغعلی[۲]، روزبه یلفانی[۳]، دکتر ودود رضویلر[۴]

Title: *Study of Iran south coast shrimps for contamination with Vibrio spp. with focus on Vibrio cholerae(Summer and fall – 2000).*

Authors: *Hosseini .H,(DVM); Cheraghali A,(PhD); Yalfani R,(MSc); Razavilar V,(PhD).*

Abstract: *With regard to the economic importance of shrimp export and report of cases of cholerae especially in south coasts of Iran, and because of the possibility of contamination of surface water which is used in farms with waste water, this study was conducted.*

In this study marine and farm shrimps from south coasts of Iran were evaluated for possible infection with Vibrio spp.specially Vibrio cholerae.

In three stages, 770 samples of shrimps from marine and farms in provinces of Hormozgan , Boshehr and Khozestan were collected. After early preparation in the provincial food control laboratories the samples transferred to Tehran. Each sample included 25g shrimp in a strile ice-bag. Samples were tested for Vibrio spp.by enrichment and culture on selective media and biochemical tests.

Although four spices of vibrio, which have little importance in food hygiene ,including V.parahaemolyticus, V.damsella , V.alginolyticus and V.fluvialis were isolated from the samples ,no V.cholerae was found. Although it is now very unpredictable to find any contamination of shirimps with V.cholerae in south coasts of Iran, it is recommended to prevent contamination of surface water with sewage.

Keywords: *Vibrio spp, Shrimp , Isolation , South coast of Iran.*

۱– اداره کل آزمایشگاههای کنترل غذا و دارو ، وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی

۲– دانشیار گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیقهٔ ا...

۳– کارشناس ارشد باکتریولوژی، اداره کل آزمایشگاههای کنترل غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

۴– استاد گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

www.SID.ir

چکیده:

با توجه به اهمیت اقتصادی صادرات میگو برای کشور وگزارش مواردی از بیماری وبا بویژه در استانهای جنوبی کشور و در نظر داشتن اپیدمیولوژی بیماری و احتمال آلودگی محصولات دریایی بدلیل ورود فاضلابهای شهری و روستایی این مناطق به آبهای ساحلی که در پرورش میگو مورد استفاده قرار می گیرند تحقیقی در مورد وجود آلودگی میگوهای پرورشی ودریایی سواحل جنوبی ایران به ویبریو کلرا انجام گرفت.

بر این اساس از میگوهای پرورشی و دریایی استانهای بوشهر، بندرعباس و خوزستان نمونه گیری بعمل آمد و طی سه مرحله نمونه برداری تعداد ۷۷۰ نمونه میگو جمع آوری گردید.هر نمونه حاوی ۲۵ گرم میگو بود که در کیسه استریل جمع آوری گردید و در سرما در مدت کوتاهی به آزمایشگاه منتقل گردید و پس از غنی سازی در محیط انتخابی و کشت در محیط های اختصاصی و انجام آزمونهای دقیق باکتری شناسی برروی این نمونه ها در هیچ مورد ویبریو کلرا از نمونه‌های میگوجدا نگردید .

باتوجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق ٤ گونه از ویبریوهای دریایی بنام های پاراهمولیتیکوس، دامسلا ، آلژینولیتیکوس، فلوویالیس جدا گردید که در مقایسه با ویبریو کلرا از اهمیت بسیار کمتری برخوردارند و بیشتر در ایجاد عفونتهای خارج روده‌ای نقش دارند ولی هیچ ویبریوکلرایی در نمونه های تحت بررسی یافت نشد. .

اگرچه در حال حاضر آلودگی به ویبریوکلرا در میگوهای پرورشی دریایی ایران بسیار غیر محتمل بنظر می‌رسد با این وجود توصیه به جلوگیری از ورود فاضلابها به آبهای سطحی و سواحل می شود.

گل واژگان: *ویبریو، میگو، جداسازی، سواحل جنوبی ایران.*

.

مقدمه:

ویبریوها باسیلهای گرم منفی، متحرک به طول ۳-۲ میکرون و به قطر۰/۵ میکرون می باشند که در محیط کشت مایع دارای فلاژل قطبی بوده ولی در محیطهای کشت جامد می توانند فلاژلهای متعدد تولید کنند. معمولا ویبریوها را بعنوان باسیلهای خمیده معرفی میکنند ولی این شکل فقط در نمونه‌های کلینیکی که تازه از بیمار جدا شده مشاهده می گردد.

تا کنون حدود۳۰ گونه از این جنس شناخته شده است که فقط ۱۲ گونه آن‌برای‌انسان بیماریزامی‌باشد. ویبریوها ساکنین طبیعی‌آبهای سطحی، آبهای ساحلی وآبهای شور می‌باشند و اکثرعفونتهای‌ناشی ازآن دراثر تماس با آب آلوده ویا مصرف غذاهای دریایی آلوده‌مانند صدف، میگو، خرچنگ و غیره ایجاد می گردد.

ویبریوکلرا[1] بعنوان شایعترین عامل ایجاداسهال باکتریایی درجهان، بخصوص درآسیای جنوبی و شبه قاره هند، جایی که بیماریهای‌وبا وشبه وبایی بصورت آندمیک وجود دارند شناخته شده است(۱و۲).

این باکتری در آبهای شور وخلیج ها ساکن میباشد. در بین ۱۹۳گروه سرمی ویبریوکلرا، تنها گروههای سرمیO1,O139 هستندکه موجب اپیدمیهای وبا میگردند(۳). برخی تحقیقاتی‌که‌تاکنون انجام شده رابطه بین مصرف غذاهای دریایی خام وآغاز بیماری وبا را نشان داده اند (۲).

در بررسی شیوع بیماری وبا در فیلیپین در سال ۱۹۶۱ نشان داده شد که خوردن یک نوع میگوی کوچک بنام لیپون[2] باعث ابتلاء به وبا گردیده است(۲).

میگو بعنوان یکی از مهمترین فرآوردههای صادراتی غیر نفتی درسال ۱۳۷۹ درآمدی معادل ۲۷ میلیون دلار را نصیب کشورکرده است و پیش بینی میشود که در پایان برنامه سوم توسعه اقتصادی این مبلغ به ۲۰۰ میلیون دلار افزایش یابد.

حدود ۷۰٪ میگوهای صادراتی ایران از مزارع پرورش میگو بدست میاید. بدنبال گزارش ۱۶ ژولای ۱۹۹۹ سازمان جهانی بهداشت درخصوص مشاهده مواردی از بیماری وبا در ۷ استان کشور و بدلیل احتمال آلودگی محصولات دریایی ناشی از ورود

1- *Vibrio cholerae*

2- Lipon

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱– محل صید و توزیع نمونه های میگو

استان	محل جمع‌آوری نمونه	تعداد نمونه	pH آب محل	دمای آب محل	نوع میگو	تاریخ نمونه‌برداری
بوشهر	حله	۹۲	۷/۵–۷	۲۴–۲۷	پرورشی	
	دلوار	۹۶	۷/۵–۷/۸	۲۴–۲۷	پرورشی	۲۲–۲۷
	اسکله صیادی بندرگاه	۶۰	۷/۳–۷	۲۴–۲۷	دریایی	شهریور ۷۹
	اسکله صیادی جفره	۳۴	۷/۵–۷	۲۴–۲۷	دریایی	
هرمزگان	استخرهای تیاب وکلاهی	۱۴۳	۷/۵–۶	۲۸–۳۱	پرورشی	۲۲–۲۷ مهر
	اسکله بندرعباس	۷۵	۷/۵–۶	۲۸–۳۱	دریایی	۷۹
خوزستان	استخرهای آبادان	۱۶۷	۷/۳–۷	۲۵–۲۷	پرورشی	۱۵–۱۹ آبان
	اسکله صیادی چوئبده	۱۰۴	۷/۵–۷/۱	۲۵–۲۷	دریایی	۷۹

فاضلاب‌های شهری و روستایی این مناطق به آبهای ساحلی که در مزارع پرورش میگو مورد استفاده قرار میگیرند و محل زندگی گروهی ازمیگوهای دریایی نیز می باشند، بعضی از کشورهای‌عرب حاشیه خلیج فارس خریدمیگوهای صادراتی ایران را متوقف کردند.

بمنظور بررسی احتمال وجودآلودگی، میگوهای صیدشده دریایی و پرورشی استانهای خوزستان، بوشهر و هرمزگان درمزارع پرورش میگو مورد بررسی قرار گرفتند.

روش کار:

با توجه به آنکه هیچگونه سابقه کارقبلی دراین خصوص وجود نداشت و با توجه به اهمیت بهداشتی و اقتصادی موضوع در این مطالعه با احتساب ضریب اطمینان ۹۹٪ و P=۰/۵ (ماکزیمم) و حد اشتباه ۰/۱٪ تعداد نمونه های پرورشی در هر استان ۱۶۶ عدد و درکل سه استان ۴۹۸ نمونه میگوی پرورشی محاسبه گردید که با احتساب ۲۷۲ نمونه میگوی دریایی درکل تعداد ۷۷۰ نمونه میگو مورد مطالعه قرار گرفت. این تعداد نمونه از مزارع پرورش میگو و آبهای‌آزاداستانهای بوشهر،خوزستان وهرمزگان‌جمع‌آوری‌گردید(۴).

روش نمونه برداری به صورت نمونه برداری خوشه‌ای‌تصادفی[1] بود. با توجه به نقشه محل استقرار استخرهای پرورش میگو در هر استان و کد گذاری آنها و با استفاده از جدول اعداد تصادفی تعداد ۱۲ استخر در هراستان برای نمونه برداری انتخاب گردیدکه هر استخر بعنوان یک خوشه درنظر گرفته شد. درمورد میگوهای دریایی هر کشتی صیادی در حال تخلیه میگوی صید شده بعنوان یک خوشه درنظر گرفته شد که در هراستان از ۸ کشتی صیادی در حال تخلیه میگو نیز نمونه‌برداری بعمل آمد. درهنگام نمونه‌برداری از استخرها یاکشتی‌های صیادی، در داخل کیسه‌های پلاستیکی استریل[2] ۲۵ گرم نمونه میگو قرارداده شد که هرکیسه بعنوان یک نمونه در نظر گرفته شد ودر مجاورت یخ در مدت زمان کمتر از ۳ ساعت به نزدیکترین آزمایشگاه کنترل مواد غذایی درهراستان منتقل گردید(۵و۶). نحوه توزیع نمونه ها در جدول شماره ۱ آورده شده است .

درهنگام صید نمونه‌ها دمای‌آب بوسیله دماسنج و pH آن توسط کاغذ pH متر Universal نیز اندازه گیری گردید (۷).

درآزمایشگاه، میگوهای صید شده درهمان کیسه استریل با استفاده از دستگاه Bag Mixer هموژن ویکنواخت گردید. این ۲۵ گرم نمونه هموژن شده با ۲۲۵ میلی لیتر آب پپتونه قلیایی[3] (MERK)حاوی ۱٪ کلرید سدیم PH= ۸/۶ مخلوط و بمدت ۸–۶ ساعت دردمای۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شد. پس ازغنی سازی اولیه از محیط کشت جامد انتخابی (Thiosulphate Citrate Bile Salte Sucrose) TCBS (MERK جهت جداسازی کلنی های ویبریو استفاده گردید و پس از کشت سطحی نمونه ها روی این محیط پلیت‌ها بمدت ۲۴–۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند و این پلیت‌ها جهت انجام آزمایشات تخصصی به اداره کل آزمایشگاههای کنترل غذا و دارو وزات بهداشت(تهران) منتقل گردید(۱۰–۸).

بعنوان شاهد مثبت سه نمونه ویبریوکلرای اوگاوا، اینابا، NAG از آزمایشگاه رفرانس تشخیص طبی وزارت بهداشت و درمان تهیه گردید وهمراه با این نمونه ها برروی محیط های غنی کننده و انتخابی کشت داده شد و درکلیه مراحل آزمایش درکنار نمونه‌های صید شده میگو بعنوان شاهد مثبت قرار داده شد. پس از ۲۴–۱۸ ساعت کلنی‌های رشد کرده برروی محیط TCBS انتخاب گردید و آزمایشهای غربالی شامل تهیه گستره روی لام و رنگ آمیزی‌گرم، تست اکسیداز، تست کاتالاز، کشت در محیط SIM و TSI بر روی آنها انجام گرفت(۱۴).

جهت تعیین گونه ویبریوهای جدا شده تستهای اختصاصی‌تری مطابق جدول شماره ۲ برروی آنها انجام شد(۱۱–۸).

1- Random Cluster sampling
2- Sterile bag

3- Alkaline peptone water

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲- نتایج آزمایشهای باکتریولوژی نمونه های میگو صید شده که ویبریو از آنها جدا گردید

Archive of SID

www.SID.ir

B= باسیل گرم منفی کوچک، GC= کلنی سبز در محیط TCBS، YC= کلنی زرد در محیط TCBS، Alkaline\Acid=KA در محیط TSI، Thiosulphate Citrate Bile Salte Sucrose=TCBS، TSI= محیط سه قندی Triple Sugar Iron Agar، MR=آزمون متیل رد Methyl Red VP=آزمون وگس پروسکائر Voges-Proskauer، ONPG= آزمون شناسایی آنزیم بتاگالاکتوزیداز Orto Nitro phenol beta Galactosidase
* دیسک ۱۵۰ میکرو گرمی، * دیسک ۵۰ میکرو گرمی

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- گونه‌های ویبریو جدا شده از نمونه‌های میگو

کد نمونه	گونه ویبریو جدا شده	محل نمونه برداری
C-1	ویبریوپاراهمولیتیکوس *V.parahaemolyticcus*	حله
B-6	ویبریوپاراهمولیتیکوس *V.parahaemolyticcus*	دلوار
MT-2	ویبریوپاراهمولیتیکوس *V.parahaemolyticcus*	تیاب
Z-4	ویبریوپاراهمولیتیکوس V.*parahaemolyticcus*	کلاهی
B-7	ویبریو دامسلا *V.damsela*	اسکله بوشهر(بندرگاه جفره)
B-5	ویبریو دامسلا *V.damsela*	اسکله بوشهر(بندرگاه جفره)
B-4	ویبریو دامسلا *V.damsela*	اسکله بوشهر(بندرگاه جفره)
B-3	ویبریو دامسلا *V.damsela*	اسکله بوشهر(بندرگاه جفره)
B-1	ویبریو دامسلا *V.damsela*	اسکله بوشهر(بندرگاه جفره)
G-2	ویبریو دامسلا *V.damsela*	اسکله بوشهر(بندرگاه جفره)
a-3	ویبریو دامسلا *V.damsela*	اسکله بوشهر(بندرگاه جفره)
b-7	ویبریوآلژینولیتیکوس *V.alginolyticus*	حله
B-12	ویبریوآلژینولیتیکوس *V.alginolyticus*	دلوار
B-15	ویبریوآلژینولیتیکوس *V.alginolyticus*	بندرعباس (اسکله صیادی)
A-5	ویبریوفلوویالیس *V.fluvialis*	بندرعباس (اسکله صیادی)
C-3	ویبریوفلوویالیس *V.fluvialis*	اسکله صیادی چوئبده(خوزستان)
		اسکله صیادی بوشهر

یافته ها:

طبق نتایج بدست آمده از این مطالعه هیچگونه آلودگی به ویبریوکلرا درنمونه‌های میگوصیدشده درمزارع پرورشی ومیگوهای دریایی استانهای هرمزگان، بوشهر وخوزستان مشاهده نگردید ولی در مجموع از ۱۶ نمونه گونه های دیگری از ویبریو جداسازی شد که خصوصیات بیوشیمیایی آنها درجدول شماره ۳ آورده شده‌است.

گونه های ویبریو که دراین تحقیق جداسازی شدند عبارت بودند از ویبریو پاراهمولیتیکوس[1]، ویبریوآلژینولیتیکوس[2]، ویبریو دامسلا[3]، و ویبریو فلوویالیس[4] .

ویبریوهای جدا شده همگی تست اکسیداز و کاتالاز مثبت داشتند و درمحیط سه قندی Triple sugar Iron Agar واکنش اسیدی/ قلیایی داشتند و قادر به احیاء نیترات به نیتریت بودند.

ویبریو پاراهمولیتیکوس ساکن آبهای گرم و ساحلی در سراسر دنیا است در محیط TCBS بدلیل عدم تخمیر قند ساکارز ایجاد کلنی‌های سبز رنگ می نماید و تا ۸٪ نمک طعام را در محیط کشت تحمل مینماید، از ویژگی‌های اختصاصی این باکتری تولید همولیزین است که در محیط کشت حاوی گلبولهای قرمز انسان با غلظت بالای نمک طعام بنام محیط Wagatsuma-Agar باعث همولیز که درمحیط می‌شود که این پدیده بنام kanagawa موسوم است و از راههای تأیید تشخیص این باکتری است.

ویبریو دامسلا هم بدلیل عدم تخمیر قند ساکارز در محیط TCBS ایجاد کلنی‌های سبز می نماید ولی قادر به تولید اندول نبوده و حداکثر تحمل آن در برابر نمک طعام ۶٪ است وآزمون آرژنین دهیدرولاز آن مثبت است.

ویبریو آلژینولیتیکوس قادر به تخمیر قند ساکارز بوده و در محیط TCBS ایجاد کلنی زرد رنگ می نماید و بسیار نمک دوست بوده در محیط حاوی ۸٪ و ۱۰٪ نمک طعام رشد می کند و آزمون آرژنین دهیدرولاز آن منفی است ولی قادر به تولید گاز اندول می باشد.

ویبریوفلوویالیس در محیط TCBS بدلیل تخمیر قند ساکارز ایجاد کلنی‌های زرد رنگ می نماید و در محیط کشت تا ۸٪ نمک طعام توانایی رشد دارد، قادر به تولید اندول نیست ولی آرژنین دهیدرولاز آن مثبت است.

با توجه به نتایج فوق ویبریوهای دریایی نمک دوست درآبهای ساحلی و در موجودات آبزی مانند میگو وجود دارد که چهار نمونه آن در این مطالعه جدا سازی شد اما وجود ویبریو کلرا در میگوهای ایران از نظر این مطالعه منتفی است.

بحث:

آلودگی آبهای سطحی به مواد مدفوعی انسان در مناطقی که مواردی از بیماری وبا گزارش گردیده است این احتمال را مطرح میکندکه بدلیل ریخته شدن آبهای سطحی به رودخانه ها ودریاها این آلودگی به آبزیان از جمله میگوها منتقل شود.

1- V. parahaemolyticus
2- V. alginolyticus
3- V. damsela
4- V. fluvialis

www.SID.ir
Archive of SID

در ۱۹۸۰، Blake و همکاران در طی تحقیقی بر روی شیوع بیماری وبا در سواحل جنوب غربی لوئیزیانا توانستند ویبریو کلرا O1 را از میگو جدا نمایند . همچنین Shandera و همکاران در سال ۱۹۸۳ وLowry و همکاران در سال ۱۹۸۹ در لوئیزیانا آمریکا منبع شیوع بیماری وبا را میگو تشخیص دادند(۲).

تعداد ویبریوها در آبهای ساحلی با افزایش درجه حرارت آب افزایش پیدا می‌کند و در نتیجه تعداد آن در صدف‌ها وسایر آبزیان افزایش میابد. لذا از مصرف غذاهای دریایی خام دراین فصول باید اجتناب شود. برای نگهداشتن آلودگی ویبریو درحد پایین، مواد غذایی باید دریخچال و یا داخل یخ بلافاصله پس ازصید نگهداری شوند. تمام گونه های جنس ویبریو براثر حرارت دادن سریعا کشته میشوند.لذا پخت کامل واجتناب از آلودگی مجدد ، روش مطمئنی برای سالم سازی چنین فراورده هایی میباشد(۱۱).

بر اساس مطالعات انجام شده توسط Drasar و همکاران میگوهای پخته شده دخالتی درایجاد بیماری ندارند واین بامشاهده موارد متعدد بیماری دربالغین درمقایسه با بچه‌ها (که معمولاً غذای پخته به آنها داده می شد) بیشتر تأیید می گردد(۲).

درتحقیقاتی که درآمریکا صورت گرفته مشخص شده است وبا ربطی به مسافرت ندارد ومعمولا درارتباط با مصرف غذاهای‌دریایی نیم‌پز مانند خرچنگ، میگو وصدفهای جمع‌آوری شده از ساحل خلیج مکزیک میباشد(۱۲).

نکته‌ای که باید به آن توجه نمود بیماری خود میگوها توسط ویبریوهاست. ویبریوهایی مانند آلژینولیتیکوس آنگویی لاروم، هاروه‌یی و پاراهمولیتیکوس گونه‌های عمده ایجاد ویبریوز در میگوها میباشند(۱۳).

بنابراین احتمال جداسازی این ویبریوها در چنین تحقیقاتی وجود دارد در این مطالعه نیز گونه‌هایی مانند پاراهمولیتیکوس و آلژینولیتیکوس بدست آمد.

باتوجه به نتایج حاصل ازاین تحقیق آلودگی میگوهای‌پرورشی ودریایی ایران به ویبریوکلرا در زمان مطالعه بسیار غیرمحتمل بود. علاوه بر آن میگو درکارگاههای فرآوری و بسته بندی در تماس با آب حاوی ppm ۷-۲ کلر قرار میگیرد که احتمال هرگونه آلودگی میکروبی را منتفی میسازد. درعین حال میگوها در طی فرآوری در دمای ۴۰- درجه سانتیگراد منجمد می‌شوند که سبب غیرفعال شدن باکتری میگردد(۱۱). پیشنهاد می شود بارعایت بهداشت وجلوگیری از ورود فاضلاب ها و مواد مدفوعی به آبهای سطحی از آلودگی احتمالی محصولات دریایی پیشگیری نمود. درعین حال فرآوری‌وحمل ونقل بهداشتی وبسته‌بندی وانجماد سریع میگوهای صید شده نیز در عرضه بهداشتی این محصول نقش بسزایی دارد.

تشکر و قدردانی :

این تحقیق با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فن‌آوری وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی و همکاری کل آزمایشگاههای کنترل غـذا و داروی وزات بهداشـت و مـدیریتهای غـذا و داروی دانشگاههای علوم پزشکی اهواز، بوشهر و بنـدر عبـاس بـه اجـرا درآمد.

References: منابع

1- Chattopadhyay DJ, Sarkar BL, Ansari MQ, et al. New phage typing scheme for *Vibrio cholerae* O1 biotype Eltor strains. J Clin Microbiol 1993; **31**: 1579–85.

2-Drasar BS, Forrest BD. Cholerae and the Ecology of *Vibrio cholerae*. 1st ed: New York; Chapman& Hall 1996: .232-43.

3- Chakraborty S, Mukhopadhyay AK, Bhadra RK, et al. Virulence genes in environmental strains of *Vibrio cholerae.* Applied Environ Microbiol 2000; **66**: 4022– 8.

۴ـمحمد ، کاظم . ملک افضلی ، حسین . روشهای آماری وشاخصهای بهداشتی ،انتشارات سلمان ،سال ۱۳۷۸

5- Islam MS, Hasan MK, Miah MA, et al. Isolation of *Vibrio cholerae* O139 synonym Bengal from the aquatic environment in Bangladesh: implications for disease transmission. Applied Environ Microbiol 1994; **60**: 1684-6.

6- Venkateswaran K, Kiijukia C, Takaki M, et al. Characterization of toxigenic Vibrios isolated from the freshwater environment of Hiroshima, Japan. Applied Environ Microbiol 1989; **55**: 2613-8.

7-.Brayton PR,.Tamplin ML,. Huq A, et al. Enumeration of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh waters by fluorescent – antibody direct viable count. Applied Environ Microbiol 1987; **53**: 2862-5.

۸ـ یلفانی، روزبه. بررسی خصوصیات ویبریوهای توکسیژنیک جدا شده از منابع آبی شمال ایران . پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس ، سال ۱۳۷۸ .

9- Dalsgaard A, Echeverria P, Laren L, et al. Application of ribotyping for differentiating *Vibrio cholerae* non-O1 isolated from shrimp farms in Thailand. Applied Environ Microbiol 1995; **61**: 245-51.

10- McCarthy SA, Khambaty FM. International dissemination of epidemic *Vibrio cholerae* by cargo ship ballast and other nonportable waters. Applied Environ Microbiol 1994; **60**: 2597-2601.

۱۱ـ رضویلر، ودود. باکتریهای بیماریزای مواد غذائی، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، سال ۱۳۷۸.

12- Blake PA. Epidemiology of cholera in the Americas. Gastroenterology. [clin North Am] 1993; **22**: 639-60.

13- Goarant C, Merien F, Berthe F, et al. Arbitrarily primed PCR to type *Vibrio spp*. Pathogenic for shrimp. Applied Environ Microbiol 1999, **65**: 1145-51.

14-Speck ML.Compendium of methods for the microbiology examination of foods. American public Health Association; 1976, 358-69.

Archive of SID
www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۲
نتایج آزمایشهای باکتریولوژی نمونه های میگو صید شده که ویبریو از انها جدا گردید

عنوان آزمایش	کد 1-C	کد 6-B	کد mt2	کد z4	کد B7	کد B3	کد B4	کد B5	کد B1	کد G2	کد 3a	کد 7b	کد B12	کد B15	کد A5	کد c3
مرفولوژی	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
رشددرTCBS	GC	GC	GC	GC	GC	GC	GC	GC	GC	GC	yC	yC	yC	yC	yC	yC
اکسیداز	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
کاتالاز	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
STRING TEST	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
تولید اندول	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	–	–
حرکت	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
TSI	KA	KA	KA	KA	KA	KA	KA	KA	KA	KA	KA	KA	KA	KA	KA	KA
تست تحمل نمک۰٪	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
تست تحمل نمک ۳٪	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
تست تحمل نمک۶٪	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
تست تحمل نمک۸٪	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
تست تحمل نمک۱۰٪	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	–	–
ذوب ژلاتین	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
تولید اسیداز گلوکز	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ایجاد گاز از گلوکز	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
سیترات	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+
اورنیتین دکربوکسیلاز	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	+	–	–	+	–	–
آرژنین دهیدرولاز	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	+	+
لیزین دکربوکسیلاز	+	+	+	+	+	–	+	+	–	–	+	+	+	+	–	–
MR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–
تولید اسیدازآرابینوز	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+
تولید اسید از مانیتول	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
تولید اسید از لاکتوز	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
تولید اسید از مانوز	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
احیاء نیترات	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ONPG	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
حساسیت به O129* برحسب mm	۲۰	۲۱	۲۴	۲۲	۹۱	۹۳	۹۰	۹۴	۸۸	۹۱	۱۸	۲۱	۱۹	۲۰	۳۱	۳۳
حساسیت به پلی میکسین ×× برحسبmm	۵۴	۵۵	۵۶	۵۴	۸۳	۸۸	۸۵	۸۴	۸۶	۸۵	۶۲	۶۵	۶۱	۶۳	۱۰۱	۱۰۳
پدیده کاناگاوا	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Archive of SID

www.SID.ir

توضيح علائم اختصاري جدول شماره ۲ :

B = باسيل گرم منفي كوچك

GC =كلني سبز در محيط TCBS

YC =كلني زرد در محيط TCBS

Alkaline/Acid = KA در محيط TSI

Thiosulphate Citrate Bile Salte Sucrose= TCBS

TSI = محيط سه قندي Tripel Sugar Iron Agar

MR = آزمون متيل رد Methyl Red

VP = آزمون وگس پروسكائر Voges - Proskauer

ONPG= آزمون شناسايي آنزيم بتاگالاكتوزيداز Orto Nitro Phenol beta Galactosidase

* ديسک ۱۵۰ ميكرو گرمی

×× ديسک ۵۰ ميكرو گرمی

جدول شماره ۳ –گونه های ويبريو جدا شده از نمونه های ميگو

كد نمونه	گونه ويبريو جدا شده	محل نمونه برداری
C-1	ويبريو پاراهموليتيكوس V. Parahaemolyticus	حله
B-6	ويبريو پاراهموليتيكوس V. Parahaemolyticus	دلوار
MT-2	ويبريو پاراهموليتيكوس V. Parahaemolyticus	تياب
Z-4	ويبريو پاراهموليتيكوس V. Parahaemolyticus	كلاهي
B-7	ويبريو دامسلا V. damsela	اسكله بوشهر (بندرگاه جفره)
B-5	ويبريو دامسلا V. damsela	اسكله بوشهر (بندرگاه جفره)
B-4	ويبريو دامسلا V. damsela	اسكله بوشهر (بندرگاه جفره)
B-3	ويبريو دامسلا V. damsela	اسكله بوشهر (بندر گاه جفره)
B-1	ويبريو دامسلا V. damsela	اسكله بوشهر (بندرگاه جفره)
G-2	ويبريو دامسلا V. damsela	اسكله بوشهر (بندرگاه جفره)
a-3	ويبريو آلژينوليتيكوس V. Alginolyticus	حله
b-7	ويبريو آلژينوليتيكوس V. Alginolyticus	دلوار
B-12	ويبريو آلژينوليتيكوس V. Alginolyticus	بندر عباس (اسكله صيادي)
B-15	ويبريو آلژينوليتيكوس V. Alginolyticus	بندر عباس (اسكله صيادي)
A-5	ويبريو فلوويواليس V Fluvialis.	اسكله صيادي چوئبده(خوزستان)
C-3	ويبريو فلوويواليس V Fluvialis	اسكله صيادي بوشهر

Archive of SID

www.SID.ir

1- Chattopadhyay D.J. , Sarkar B.L. ,Ansari M.Q. and Pal S.C. New phage typing scheme for Vibrio cholerae O1 biotype Eltor strains. Journal of Clinical Microbiology
1993 , 31: 1579 – 1585.

2-Drasar B.S. , and Forrest B.D. , . cholerae and the ecology of Vibrio cholerae. First edition , Chapman& Hall Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo 1996, .pp.232-243.

3- Chakraborty S. , Mukhopadhyay A.K. , Bhadra R.K. , Colwell R.R. ,& Nair G.B.
Virulence genes in environmental strains of Vibrio cholerae . Applied and Environmental Microbiology. 2000 , 66:4022 – 4028.

۴ـمحمد ، کاظم . ملک افضلی ، حسین . روشهای آماری وشاخصهای بهداشتی ،انتشارات سلمان ،سال ۱۳۷۸

5-Islam M.S., Hasan M.K., Miah M.A., Yunus M. , Zaman K. , Albert M.J., Isolation of Vibrio cholerae O139 synonym Bengal from the aquatic environment in Bangladesh : implications for disease transmission . Applied Environmental Microbiology , 1994 ,60: 1684-1686.

6-Venkateswaran K., Kiijukia C. , Takaki M. , Nakano H. ,Matsuida H. ,
Hashimoto H. .Characterization of toxigenic vibrios isolated from the freshwater environment of Hiroshima , Japan . Applied Environmental Microbiology , 1989 , 55 : 2613-2618.

7-.Brayton P.R,.Tamplin M.L ,. Huq A, and Colwell . R.R. ,. Enumeration of Vibrio cholerae O1 in Bangladesh waters by fluorescent –antibody direct viable count . Applied.Environmental.Microbiology. 1987 , 53: 2862-2865.

۸ـ یلفانی ، روزبه . بررسی خصوصیات ویبریوهای توکسیژنیک جدا شده از منابع آبی شمال ایران . پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس ، سال ۱۳۷۸

9-Dalsgaard A., Echeverria P., Laren L.,.Siebeling R., Serichantalergs O., and Huss H.H.. Application of ribotyping for differentiating Vibrio cholerae non-O1 isolated from shrimp farms in Thailand . Applied Environmental .Microbiology. 1995 , 61 : 245-251.

10-McCarthy S.A. and Khambaty F.M. International dissemination of epidemic Vibrio cholerae by cargo ship ballast and other nonportable waters. Applied Environmental Microbiology , 1994 , 60 : 2597-2601.

۱۱ـ رضویلر ، ودود باکتریهای بیماریزای مواد غذائی ، چاپ اول ، انتشارات دانشگاه تهران ، سال ۱۳۷۸

12- .Blake. P.A . Epidemiology of cholera in the Americas.Gastroenterology . clinical North American 1993 , 22: 639-660
13-Goarant C., Merien F. , Berthe F., Mermoud I. and Perolat P.,Arbitrarily primed PCR to type vibrio spp. Pathogenic for shrimp . Applied Environmental Microbiology 1999 , 65 : 1145-01151
14-Speck M.L.,Compendium of methods for the microbiology examination of foods . American public Health Association , 1976 , pp.358-369.

Archive of SID

www.SID.ir