

## انتشار ویبریوکلرا در آب‌های سطحی استان گلستان

### چکیده

زمینه و هدف: جنس ویبریو شامل باکتری‌های میله‌ای گرم منفی، اکسیداز مثبت هستند که به طور وسیع در آب‌های سطحی و دریاهای تمام دنیا یافت می‌شوند. بعضی از گونه‌های این جنس در بیماری‌های گوارشی و خارج از دستگاه گوارشی نقش دارند و در هنگام وقوع بلایای طبیعی مثل سیل، بیماری‌های ناشی از آن زیاد می‌شود. ویبریوکلرا عامل بیماری وبا می‌باشد. در این مطالعه نمونه‌های آب برداشت شده از آب‌های سطحی استان گلستان از نظر وجود ویبریوکلرا بررسی شد.

روش بررسی: برای تشخیص اولیه این گونه از محیط‌های آب پیتونه قلیایی و TCBS استفاده گردید و با انجام آزمون‌های بیوشیمیایی (اکسیداز، لیزین دکربوکسیلاز، اورنیتین دکربوکسیلاز، آرژینین دی‌هیدرولاز، رشد در ۰ درصد، ۱ درصد، ۳ درصد، ۶ درصد نمک و سایر آزمون‌های بیوشیمیایی شامل ONPG، VP، سیمون سترات، بایل اسکولین، اندول، CAMP، استرینگ تست) و نیز آنتی‌سرم‌های ویبریوکلرا تشخیص نهایی انجام شد.

یافته‌ها: از مجموع ۵۴ نمونه برداشت شده، ۴۲ مورد ویبریو جدا شد که ۳۵ مورد (۸۴/۲ درصد) *V.cholerae non-01*، ۲ مورد (۲/۶۳ درصد) *V.mimicus* و ۵ مورد (۱۳/۱ درصد) *V.cholerae 01* بود.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که ویبریو کلرا در ۷۷ درصد نمونه‌های برداشت شده از آب‌های سطحی استان گلستان وجود دارد.

کلید واژه‌ها: ویبریوکلرا - آب‌های سطحی - بیوتایپ - سروتایپ

احمد هلاکو  
کارشناس ارشد میکروبی‌شناسی و عضو هیأت علمی  
دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه

دکتر نور امیرمظفوری  
دانشیار گروه میکروبی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران

هما فروهش تهرانی  
کارشناس ارشد میکروبی‌شناسی و عضو هیأت علمی گروه  
میکروبی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران

محمود خرمالی  
کارشناس میکروبی‌شناسی دانشگاه تهران

نویسنده مسؤول: احمد هلاکو  
پست الکترونیکی: [ahmadhalako@yahoo.com](mailto:ahmadhalako@yahoo.com)  
نشانی: خوزستان، ایذه، دانشگاه آزاد اسلامی  
گروه زیست‌شناسی  
تلفن: ۰۶۹۲-۵۲۲۴۰۴۰ (داخلی ۲۱۳)  
نمابر: ۵۲۳۱۰۶۸

وصول مقاله: ۸۴/۷/۱۷  
اصلاح نهایی: ۸۵/۶/۱۸  
پذیرش مقاله: ۸۵/۶/۲۸

سویه non-01 V.cholerea عامل گاستروانتریت های خود به خود محدود شونده هستند (۷).

ما هر ساله در فصل تابستان شاهد شیوع بیماری وبا در بعضی از نقاط کشورمان می باشیم. ایزدی و همکاران در سال های ۱۳۸۰ لغایت ۱۳۸۳ بیش از ۹۰ مورد بیماری وبا را در جنوب شرقی ایران گزارش کردند (۸). با توجه به این که عامل این بیماری از طریق آب های آلوده به انسان منتقل می شود، لذا تحقیق حاضر به انتشار و بیروکلرا در آب های سطحی استان گلستان می پردازد.

### روش بررسی

در این مطالعه توصیفی، ۵۴ نمونه از آب های سطحی دریاچه سد گلستان، رودخانه گرگان و شاخه های آن در فصل بهار و تابستان ۱۳۸۰ برداشت شد (شکل ۱).



شکل ۱: نقشه استان گلستان و مکان های نمونه برداری که به صورت نقطه سیاه مشخص شده است.

از نقاط مورد نظر برای گرفتن نمونه ۲-۳ متر داخل آب و از عمق ۳۰ سانتی متری به وسیله شیشه دهان گشاد و استریل نمونه برداشت شده سپس در کوتاه ترین زمان در آزمایشگاه در شرایط استریل ۱۰ سی سی از نمونه را با پیست استریل به لوله آزمایش منتقل کرده، لوله آزمایش به مدت ۵ دقیقه با 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 محلول زیرین لوله آزمایش را به ۹ سی سی محیط آب پیپتون قلیایی با ۱ درصد نمک منتقل و بعد از ۴-۶ ساعت روی محیط TCBS اگار کشت و محیط TCBS در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت

وکلرا عامل وبای آسیایی می باشد که قرن ها یکی از ننده ترین بیماری ها محسوب می شد. این باکتری ب های محیطی و مهم ترین راه انتقال آن به انسان آلوده است (۱-۳).

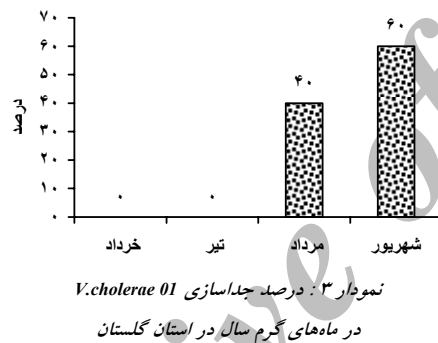
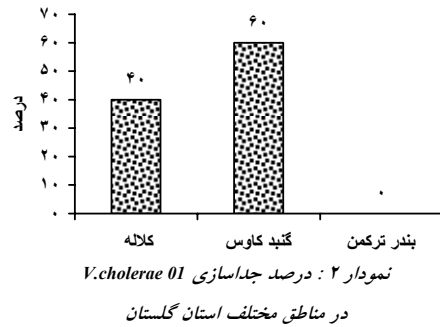
V.cholera شامل دو بیوگروپ کلاسیک و التور د. بیوگروپ کلاسیک از اپیدمی وبا در کشور ن جدا می شود (۱). همچنین بیماری وبا در بسیاری از -وستان به صورت اندمیک وجود دارد و عامل آن نیز لرا 01 بیوتیپ التور و سروتیپ او گاوا می باشد (۴). بیماری هایی که به وسیله بیوگروپ کلاسیک و ب التور ایجاد می شوند، متغیر است. حدود ۷۵ درصد بای بیوگروپ التور و حدود ۶۰ درصد از عفونت های ب کلاسیک بدون علامت هستند. بیماری ایجاد شده وگروپ کلاسیک در ۳۰ درصد موارد عفونت ملایم درصد موارد عفونت شدید گزارش گردیده است. در نه التور، ۲۳ درصد بیماری خفیف و فقط ۲ درصد شدید تولید می کند (۳).

های V.cholera 01 می توانند به یکی از این سه پ. Hikojima ogawa Inaba تقسیم بندی شوند. این پ.ها در مطالعات اپیدمیولوژی حائز اهمیت هستند. اندمی وبا در جنوب شرقی آسیا در سال ۱۹۶۱ پ. ogawa بود. عامل وبای اندمیک که از خلیج و های ایالات متحده وجود دارد سروگروپ Inaba (۱).

شورهایی که وبا به صورت اندمیک وجود دارد سم را به وسیله روش هایی مانند حرکت در زیر کوب زمین سیاه (dark field) و استرینگ تست (strig) تشخیص می دهند. در کشورهایی که بیماری باشد، از آزمون های بیوشیمیایی و سرولوژیک برای استفاده می کنند (۵و۶).

non-01 V.chol arگانسیم هایی هستند که از نظر بیات بیوشیمیایی از V.cholera غیر قابل تشخیص ما در آنتی سرم 01 اگلوتینه نمی شوند. این ارگانسیم ها سین تولید نکرده و عامل بیماری اپیدمیک نیستند (۱).

درصد جداسازی *V. cholerae* O1 در ماه‌های گرم سال در این استان در نمودار ۳ نشان داده شده است. بیشترین درصد جداسازی در فصل شهریور به میزان ۶۰ درصد بوده است.



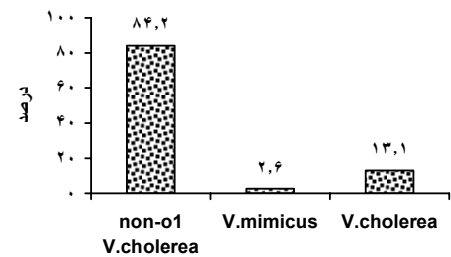
### بحث

جنس ویبریو شامل ۳۶ گونه است که ۱۲ گونه آن برای انسان بیماری‌زاست. گونه‌های بیماری‌زا این جنس بیشتر در کشورهایی مانند ایالات متحده و ژاپن که فرآورده‌های غذایی دریایی زیاد مصرف می‌کنند، گزارش شده است (۳). در خصوص فراوانی گونه‌های جنس ویبریو و بیماری‌زایی آنها در ایران، مطالعه گسترده‌ای صورت نگرفته است. فقط در مورد گونه ویبریو گلستان مطالعه‌ای انجام شده است که در فصل گرما (تابستان) انتشار آن زیاد می‌شود (۸).

اکثر ویبریوها نمک‌دوست بوده و فقط گونه‌های *V. cholerae*، *V. mimicus* و *V. cholerae* non-O1 قادر به رشد در آب‌های شیرین هستند (۳ و ۱). به همین دلیل در هنگام کشت بعضی از نمونه‌های آب برداشت شده از آب‌های سطحی استان گلستان روی محیط TCBS هیچ نوع کلنی ایجاد نمی‌کردند.

شد. کلنی‌های زرد یا سبز رشد کرده در محیط را روی محیط کلینگرایرون آگار (KIA) کشت‌هایی که روی محیط KIA، واکنش اسید/قلیا، به وسیله آزمون اکسیداز آزمایش می‌شد. از بعد آزمون‌های افتراقی روی کلنی‌های اکسیداز می‌شد. سپس آزمون‌های لیزین دکربوکسیلاز، تیتین دکربوکسیلاز (ODC) و ارژنین دی‌اندول، رشد در غلظت ۰ درصد، ادرصد، درصد نمک، رشد در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتی‌گراد، آزمون CAMP، آزمون استرینگ (۱) و آزمون آگلوتیناسیون با آنتی‌سرم پلی‌والانت *V. cholerae* و آزمون آگلوتیناسیون با آنتی‌سرم‌های Ina انجام شد.

ع ۵۴ نمونه برداشت شده از آب‌های سطحی استان وارد ویبریو جدا شد. رد ویبریو جدا شده، ۳۵ مورد (۸۴/۲ درصد) *V. cholerae* non-O1، ۲ مورد (۲/۶۳ درصد) *V. cholerae* و ۱۱ درصد *V. cholerae* جدا شد (نمودار ۱).



نمودار ۱: درصد جداسازی گونه‌های ویبریو گلستان از آب‌های سطحی استان گلستان

*V. cholerae* با آنتی‌سرم‌های *ogawa* و *Inaba* به نانه تست شدند. هر ۵ سویه جدا شده *V. cholerae* سرگروپ *ogawa* بود. از ویبریو گلستان جدا شده مربوط به شهرستان، ۲ مورد آن از شهرستان کلاله بود (نمودار ۲).

همچنین انتشار ویبریوکلرا در فصل تابستان و بعد از بارندگی بیشتر می‌شود، این باکتری در دمای بالا به سرعت رشد می‌کند (۸).

Sano و همکاران از آب‌های دریایی از اکا در ژاپن، ویبریوکلرا جدا کردند که همه آنها بیوتیپ التور و سروتیپ اوگاوا بودند (۱۱).

در پاییز ۱۳۸۳ ایزدی و همکاران ۶۱ مورد ویبریوکلرا از آب‌های سطحی و رودخانه‌ها جدا کردند که همه آنها بیوتیپ التور و سروتیپ اوگاوا بودند (۸).

مطالعه‌ای که توسط junudson و همکارانش در مناطق اندمیک V.cholerae انجام شد، نشان داد که میزان مبتلایان به وبا و همچنین میزان جداسازی این باکتری از محیط‌های آبی (ماه‌های آگوست و سپتامبر) بیشتر از ماه‌های دیگر است. یعنی جداسازی این ارگانیزم با درجه حرارت رابطه مستقیمی دارد. همچنین این ارگانیزم بعد از بارندگی در فصل تابستان بیشتر جدا می‌شود (۱۲).

با توجه به مطالعه محققان کشورهای هند و مالزی جداسازی این ارگانیزم در ماه‌هایی که درجه حرارت هوای آن بالای ۳۰ درجه سانتی‌گراد است و بعد از بارندگی افزایش می‌یابد. چون این نمونه‌ها نیز بعد از بارندگی و سیل در استان گلستان برداشت شده بودند و همچنین درجه حرارت استان گلستان در فصل تابستان بالای ۳۰ درجه سانتی‌گراد است، بنابراین عواملی که ذکر شد در جداسازی این ارگانیزم تاثیر مثبت دارند.

معمولاً بعد از بارندگی و سیل، لاشه‌های حیوانات مختلف در دریاچه سد گلستان و رودخانه گرگان دیده می‌شوند و با توجه به این که دانشمندان اروپایی از حیوانات اهلی این باکتری را جدا کردند پس این عامل نیز در انتشار V.cholerae در آب‌های سطحی استان گلستان تاثیر داشته است.

### نتیجه‌گیری

از نمونه‌های برداشت شده در خرداد و تیرماه ویبریوکلرا جدا نشد. تمامی ویبریوکلراهای جدا شده مربوط به مرداد و شهریور ماه بودند. از ۵ مورد ویبریوکلرا جدا شده، ۲ مورد مرداد و ۳ مورد در شهریور ماه جدا شدند (نمودار ۳). در کل

non-01 V.cholerae سویه‌هایی هستند که از نظر بی‌شبهه به V.cholerae بود ولی قادر نیستند آنتی‌سرم گوئینه کنند. اسهال، خون، زخم و عفونت گوش ی شده است (۲).

الات متحده Kape و همکاران این ارگانیزم را از سوبات و حیوانات دریایی، همچنین از گیاه‌خواران لرادو خصوصاً گاوها و خوک‌ها جدا کردند (۲).

طالعه‌ای که در کشور هلند روی حیوانات اهلی انجام ارگانیزم از بز، گاو و گوسفند جدا گردید (۶).

Thon و همکاران در سال ۱۹۹۸ نمونه‌های آب از با، فاضلاب‌ها و آب‌های آشامیدنی شهر Vellore در هند را مورد مطالعه قرار دادند که از ۱۰۰ درصد ب گرفته شده از دریاچه‌ها و از ۸۷ درصد نمونه‌های ب‌ها و از ۴۱ درصد نمونه‌های آب آشامیدنی non-01 V.ch جدا شد (۹).

الات متحده موارد زیادی از بیماری گاستروانتریت non-01 V.cl در اواخر تابستان و قبل از این که درجه هوا کم شود، گزارش شده است که در این زمان (استان) سویه‌های non-01 V.cholerae در محیط‌های یش می‌بندد و رابطه مستقیمی بین درجه حرارت آب (تراکم) این ارگانیزم وجود دارد. مطالعه مشابهی نیز ر دانمارک نشان می‌دهد که درجه حرارت آب یکی مهم در جداسازی این ارگانیزم است (۷).

جایی که بیش از نیمی از نمونه‌های برداشت شده از سد گلستان می‌باشد و این دریاچه بعد از سیل، مملو از لاشه‌های حیوانات اهلی مانند گاو، گوسفند و بود، طبیعتاً انتشار فراوان non-01 V.cholerae در این موثر خواهد بود. همچنین زمان نمونه‌برداری تابستان این زمان با توجه به مطالعات دانشمندان آمریکایی non-01 V.cholerae در محیط‌های آبی افزایش

Vi و همکارانش V.cholerae را از حیوانات اهلی مثل و گاومیش که مبتلا به اسهال بودند، جدا کردند. از آب‌های سطحی نزدیک طویله حیوانات اهلی نیز نیسم جدا شد (۱۰).

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری کارکنان مرکز تحقیقاتی و آموزشی علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ایران صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

گونه‌های آب برداشت شده، آلوده به جنس ویبریو ن میزان ۰/۰۹ درصد *V.cholerae* 01 می‌باشد. سرگروپ 01 *V.cholerae* جدا شده التور و

### References

- 1) Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC. Curved Gram-Negative Bacilli and Oxidase-Positive Fermenters: Campylobacteraceae and Vibrionaceae. In: Color atlas and text book of diagnostic microbiology. 5th Ed. Philadelphia. Lippincott. 1997; pp:339-352.
- 2) Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson L. Harrison's principles of internal medicine. 15th Ed. Vol 1. New York: McGraw- Hill. 2001; pp:980-986.
- 3) Murray PR, Baron EJ, Jorjensen JH, Pfaller MA, Tenenbaum RH. Manual of clinical microbiology. 8th Ed. Washington DC: ASM Prss. 2005; pp: 706-714.
- 4) Sabeena F, Thirivikramji G, Radhakutty G, Indu P, Singh DV. *In vitro* susceptibility of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strains associated with an outbreak of cholera in Kerala, Southern India. J Antimicrob Chemother. 2001;47(3):361-2.
- 5) Zwadyk P. Vibrionaceae. Joklik WK, Amos DB, Wilfert CM, eds. In: Zinsser microbiology. 19th Ed. Norwalk, CT: Appleton and Lange. 1991; pp: 566-575.
- 6) Nato F, Boutonnier A, Rajerison M, Grosjean P, Dartevelle S, Guenole A, et al. One-step immunochromatographic dipstick tests for rapid detection of *Vibrio cholerae* O1 and O139 in stool samples (note). Clin Diagn Lab Immunol. 2003;10(3):476-8
- 7) Dalsgaard A, Forslund A, Hesselbjerg A, Bruur *manifestations and characterization of extra-intes cholerae non-O1, non-O139 infections in Denmark. C Infect.* 2000; 6(11):625-7.
- 8) Izadi S, Shakeri H, Roham P, Sheikhzadeh K. *Choi in southeast of iran: routes of transmission in the situ primary health care services and poor individv practices.* Jpn J Infect Dis. 2006;59(3):174-8.
- 9) Thomson CJ, Jesudason MV, Balaji V, Malathi I U, Amyes SG. *The prevalence of Vibrio spp. in drinki environmental samples in Vellore South India.* Epid 1998;121(1):67-76.
- 10) Visser IJ, Vellema P, van Dokkum H, Shimada T *Vibrio cholerae from diseased farm animals and surj The Netherlands.* Vet Rec. 1999;144(16):451-2.
- 11) Miyagi K, Nakano T, Yagi T, Hanafusa M, Imura et al. *Survey of Vibrio cholerae O1 and its survival ov in marine water of Port of Osaka.* Epidemiol I 131(1):613-9.
- 12) Jesudason MV, Balaji V, Mukundan U, T *Ecological study of Vibrio cholerae in Vellore.* Epid 2000; 24(2):201-6.