

شیوع گونه‌های ویریو در میگوهای دریایی (*Paeneus monodon*) صید شده از سواحل جنوبی ایران

ابراهیم رحیمی^{۱*}، الهه تاجبخش^۲، فیروز فدایی فرد^۳، بهنام ایزدی^۴، محمد علیمرادی^۵،
محمد علی گودرزی^۶

- ۱- دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد.
- ۲- استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد.
- ۳- استادیار گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد.
- ۴- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد.
- ۵- دانش آموخته داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز.
- ۶- عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد.

(تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۱۰)

چکیده

ویریوها پاتوژن‌های انسانی هستند که به طور وسیعی در محیط‌های دریایی منتشر هستند. این ارگانیسم‌ها به طور فراوانی از محدوده وسیعی از مواد غذایی دریایی خام جدا شده‌اند. مصرف غذاهای دریایی خام و نیم پز آلوده به برخی از گونه‌های ویریو منجر به گاستروآنتریت حاد و علائم بالینی خواهد شد. مطالعه حاضر با هدف تعیین آنودگی میگوهای صید شده از سواحل جنوب ایران انجام شد. در مجموع ۱۲۰ نمونه میگو دریایی (*Paeneus monodon*) تازه جمع‌آوری و از نظر حضور احتمالی گونه‌های ویریو بوسیله آزمون‌های کشت و بیوشیمیابی مورد آزمایش قرار گرفتند. گونه‌های ویریو از ۲۶۷ درصد نمونه‌های آزمایش شده جداسازی شدند. از میان ویریوهای جدا شده، ویریو آئرینولیتیکوس فراوان‌ترین گونه جدا شده بود (۴۳/۶ درصد) و به دنبال آن ویریو پاراهمولیتیکوس (۳۴/۴ درصد)، ویریو وولنیفیکوس (۹ درصد)، ویریوکلرا (۶/۵ درصد) و ویریو اریتالیس (۶/۵ درصد) سایر گونه‌های جدا شده بودند. نتایج مطالعه حاضر نیاز یک بازرسی دقیق جهت تعیین حضور گونه‌های ویریو در میگوهای مصرفی جهت پیشگیری از خطرات احتمالی مرتبط با سلامت عمومی را نشان می‌دهد.

کلید واژگان: میگو، ویریو، شیوع، ایران

۱- مقدمه

بهره‌برداری از منابع دریایی و صید میگو اهمیت ویژه‌ای دارد. میگو یکی از مهمترین محصولات شیلاتی استان‌های واقع در خلیج فارس می‌باشد و بخش عمده‌ای از میگو صید شده به سایر کشورها خصوصاً کشورهای باکتری‌های جنس ویریو^۱ از جمله باکتری‌های معمول اکوسیستم‌های آبی و محیط‌های آبی محل پرورش میگو و ماهی می‌باشند. از بین گونه‌های ویریو ۲۰ گونه در بروز

دریایی عمان و خلیج فارس این آبراه، سرشار از مواهب خدادادی، با مساحتی حدود ۲۳۹۰۰ کیلومتر مربع و مراز آبی حدود ۱۸۰۰ کیلومتر، از دماغه گواتر آغاز و تا ارونده رود ادامه یافته است. این آبراه حساس اقتصادی با عمقی حدود ۷۰ تا ۹۰ متر، از دیرباز مسیر داد و ستد و مرکز تمدن و پیشرفت بشر بوده و هست. عمق سواحل آن کم است و از ۲۰ متر تجاوز نمی‌کند؛ لذا از نظر صیادی و

*مسئول مکاتبات: ebrahimrahimi55@yahoo.com

۲-۲- آزمایشات جداسازی گونه های ویریو

نمونه ها بر اساس روش استاندارد جستجو گونه های ویریو در مواد غذایی ارائه شده توسط انجمن بهداشت عمومی آمریکا^۱ مورد آزمایش قرار گرفتند [۱۴]. به این ترتیب نمونه ها در شرایط استریل هموژنیزه و ۲۵ گرم از نمونه هموژنیزه شده در ۲۲۵ میلی لیتر محیط آب پیونه قلبی (APW, Merck, Darmestat, Germany) pH منتقل و در محیط ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۶-۸ ساعت گرم خانه گذاری شدند. پس از غنی سازی اولیه از محیط کشت انتخابی تیوسولفات سیترات- بایل سالت سوکروز آگار (TCBS, Merck, Darmestate, Germany) به عنوان محیط انتخابی برای جداسازی کلتهای ویریو استفاده شد. نمونه ها پس از کشت خطی در این محیط به مدت ۲۴ ساعت در محیط ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند. پس از ۲۴ ساعت کلتهای رشد یافته بر روی محیط به منظور تفکیک و تشخیص گونه های ویریو با استفاده از آزمون های مختلف از جمله رنگ آمیزی گرم، اکسیداز، کاتالاز، کشت در میحط TSI, SIM قدرت، رشد در میحط نمک دار، تخمیر قدهای گلوکر، مانیتول، سالیسیلن، سوکروز، سلوبیوز، آرایینوز، تعیین فعالیت بتاگلاکتوزیداز، دکربوکسیلاز آرژینین، دکربوکسیلاز اورنیتین و احیاء سیترات مورد آزمایش قرار گرفتند (جدول ۱).

داده های بدست آمده به کمک نرم افزار SPSS/16 با استفاده از آزمون مبع کای با حدود ۹۵ درصد اطمینان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

۳- نتایج

نتایج این مطالعه نشان داد از ۱۲۰ نمونه میگویی بررسی شده جهت جداسازی و تشخیص گونه های ویریو ۳۲ نمونه (۲۷٪ درصد) آلوده به گونه های ویریو بوده است. آزمون بیوشیمیابی ذکر شده جهت تفریق گونه های ویریو نشان داد تمام ویریوهای جدا شده از نمونه ها قادر به تحمل غلاظت ۱ درصد نمک، تجزیه سیترات، تولید اسید از گلوکر و مانیتول بوده اند. همچنین آزمون دکربوکسیداسیون آرژینین و تولید اسید از تجزیه آرایینوز برای همه پرگنه ها منفی بوده است.

ولنیفیکوس^۱ از اهمیت بیشتری برخوردارند [۱]. ویریوکلرا یکی از مهمترین عوامل اسهال باکتریایی است و هم چنان در برخی از کشورهای آسیایی به صورت اندمیک حضور دارد [۲، ۳ و ۴]. گزارشاتی از وقوع وبا ناشی از مصرف فرآورده های دریابی وجود دارد [۴]. ویریوپاراهمولیتیکوس یکی دیگر از عوامل گاستروآنتریت حاد و از اصلی ترین پاتوژن های غذازad در منطقه آسیا خصوصاً آسیای شرقی محسوب می شود [۵ و ۶]. در ژاپن، این پاتوژن مسئول ۵۰ تا ۷۰ درصد موارد گاستروآنتریت شناخته شده است، که معمولاً بعد از مصرف مواد غذایی دریابی خام یا نیم پز شده بوقوع می پیوندد [۷]. ویریو ولنیفیکوس معمولاً با دو بیماری سبی سیمی و غفونت های زخم همراه می شود، این پاتوژن مسئول ۱ درصد از بیماری های غذازad و بستری شدن در بیمارستان و ۱ درصد مرگ ناشی از بیماری های غذازad در آمریکا محسوب شده است [۸] و مابین سال های ۱۹۸۱ تا ۱۹۹۲، عامل اصلی مرگ و میر ناشی از غفونت های غذایی در فلوریدای آمریکا بوده است [۹]. در سال ۲۰۰۶ اطلاعاتی از سرویس پایش بیماری های غذازad^۲ وابسته به مرکز کنترل بیماری ها (CDC)^۳ در ارتباط با پاتوژن های روده ای، بیانگر وقوع بالای بیماری های روده ای ناشی از گونه های ویریو بوده است [۱۰].

مطالعات فراوانی از سایر کشورها بیانگر آلودگی فرآورده های دریابی به گونه های ویریو می باشد [۳، ۴، ۱۱-۱۳]. با توجه به اهمیت موضوع در سلامت عمومی و وجود گزارشات محدود از وضعیت شیوع آلودگی فرآورده های دریابی به گونه های ویریو در ایران مطالعه حاضر طراحی و انجام شد.

۲- مواد و روش ها

۱-۱- جمع آوری نمونه ها

در این مطالعه طی مدت ۶ ماه از مرداد ماه تا دی ماه ۱۳۸۷ در مجموع ۱۲۰ نمونه میگویی صید شده از سواحل جنوب ایران، جمع آوری و مورد بررسی قرار گرفت. نمونه ها به طور تصادفی با فواصل بین ۷-۱۰ روز جمع آوری و در مجاورت یخ (۰-۴°C) و در اسفع وقت به آزمایشگاه تخصصی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد منتقل شدند.

1. *V. vulnificus*

2. Food Net

4. Center of Disease Control

در وضعیت آلدگی فرآورده‌های دریابی به گونه‌های ویریو می‌باشد، در مطالعه حاضر اکثر نمونه‌های آلدگی مربوط به نمونه‌های اخذ شده در فصل تابستان بوده است. نتایج این بخش از مطالعه با مطالعات مشابه همراستاست [۱۱] در مطالعه حاضر ویریو آژینولیتیکوس با ۴۳/۶ درصد فراوانی عمده‌ترین گونه جدا شده و به دنبال آن ویریوپاراهمولیتیکوس (۳۴/۴ درصد)، ویریو ولنیفیکوس (۹ درصد)، ویریوکلرا (۷/۵ درصد) و ویریوپوریتالیس (۶/۵ درصد) سایر گونه‌های جداسازی شده بودند. مطالعات زیادی نشان می‌دهد که گونه‌های جدا شده در مطالعه حاضر تماماً از محیط‌های دریابی و میگو جداسازی شده است (۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۶، ۱۳ و ۱۷). در این راستا مطالعه‌ای از آخوندزاده و همکاران (۱۳۸۶) در خصوص بررسی گونه‌های ویریو در میگوهای پرورشی و دریابی صید شده از استان بوشهر نشان می‌دهد به ترتیب ۷۸/۵ درصد و ۱۲/۷ درصد از نمونه میگوهای پرورشی و ۸۳/۳ درصد و ۳۵/۷ درصد از نمونه میگوهای دریابی جمع‌آوری شده از سطح بازار فروش به ترتیب آلدگی به ویریو آژینولیتیکوس و ویریو پاراهمولیتیکوس بوده است [۱۷].

مطالعه‌ای توسط Colakoglu و همکاران (۲۰۰۶) در خصوص بررسی وقوع گونه‌های ویریو و آتروموناس در فرآورده‌های دریابی صید شده از سواحل ترکیه نشان می‌دهد از ۳۰ نمونه میگو بررسی شده ۱۴ نمونه (۴۶/۷ درصد) آلدگی به گونه‌های ویریو آژینولیتیکوس، ویریو ولنیفیکوس و ویریوپاراهمولیتیکوس بوده است [۱۲] که در حد زیادی با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد.

در مطالعه حاضر، از ۱۲۰ نمونه بررسی شده ۲ نمونه آلدگی به ویریو کلرا بود. این آلدگی را می‌توان احتمالاً به آلدگی آب شستشوی میگو صید شده یا آلدگی یخهای استفاده شده در نگهداری میگو پس از صید مرتبط دانست. نتایج این بخش از مطالعه با مطالعات (1993) Blake (1995) Dalsgaard

نتایج سایر آزمون‌های بیوشیمیابی متفاوت و در جدول ۱ خلاصه شده است.

نتایج آزمون‌های بیوشیمیابی نشان داد از ۳۲ گونه ویریو جداسازی شده، به ترتیب ویریو آژینولیتیکوس^۱، ویریو پاراهمولیتیکوس، ویریو ولنیفیکوس، ویریو کلرا و ویریو اوریتالیس^۲، به ترتیب با ۱۴ (۴۳/۶ درصد)، ۱۱ (۳۴/۴ درصد)، ۳ (۳/۹ درصد)، ۲ (۶/۵ درصد) و ۲ (۶/۵ درصد) مورد گونه‌های جداسازی بودند (جدول ۱)

۴- بحث

مطالعات فراوانی در خصوص وضعیت آلدگی فرآورده‌های شیلاتی از جمله میگو به گونه‌های ویریو در نقاط مختلف دنیا انجام شده است و نتایج این مطالعات حاکی از آلدگی ۲ تا ۹۰ درصدی نمونه‌های میگو می‌باشد [۱۲]. با این وجود با توجه به اهمیت ویریوپاراهمولیتیکوس به عنوان یکی از مهمترین گونه‌های بیماری‌زا برای انسان اکثر مطالعات به این گونه محدود شده است [۱۵ و ۱۶].

نتایج این مطالعه نشان داد ۳۲ درصد از نمونه‌های بررسی شده به یکی از گونه‌های ویریو آلدگی هستند. که در مقایسه با نتایج مطالعه حسینی و همکاران در سال ۲۰۰۴ تفاوت معناداری را نشان می‌دهد. حسینی و همکاران در مطالعه مشابهی در خصوص بررسی وقوع گونه‌های ویریو در میگوهای صید شده از سواحل جنوبی ایران میزان آلدگی نمونه میگوهای بررسی شده را ۲/۱ درصد و گونه‌های جداسازی شده را به ترتیب فلوروپالیس^۳ و ویریو آژینولیتیکوس، ویریو دامسلا^۴، ویریو از مهم‌ترین دلایل تفاوت نتایج این در مطالعه را می‌توان به نوع نمونه‌های بررسی شده مربوط دانست. در مطالعه حسینی و همکاران نمونه‌ها عمدها میگوهای پرورشی بوده است در حالی که در مطالعه ما تمام نمونه‌های بررسی شده میگوهای دریابی بوده‌اند. علاوه بر آن فصل نمونه‌گیری نیز یکی از عوامل موثر

1. *V. alginolyticus*

2. *V. orientalis*

3. *V. domsela*

4. *V. floialis*

جدول ۱ خصوصیات بیوشیمیابی گونه های ویریو جدا شده از نمونه میگوهای صید شده از سواحل خلیج فارس

آزمایش	آژینولیتیکوس	کلرا	اریتالیس	پاراهمولیتیکوس	ولنیفیکوس	ویریو	ویریو	ویریو	ویریو	ویریو	ویریو
وزیروسکار	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-
رشد در محیط ۱٪ نمک	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ارنیتین دکریبوکسیلاز	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
آرژین دکریبوکسیلاز	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تخمیر آرابینوز	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تخمیر مانیتول	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تخمیر گلوکز	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تخمیر سلوبیوز	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
تخمیر سوکروز	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
سیمون سیترات	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
رشد در آبگشت ۸٪ نمک	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

۶- منابع

- [1] Gopal, S., Otta, S.K., Kumar, S., Karunasagar, I., Nishibuchi, M. and Karunasagar, I. 2005. The occurrence of *Vibrio* species in tropical shrimp culture environments; implication for food safety. International Journal of Food Microbiology 102: 151-159.
- [2] Drasar, B.S. and Forrest, B.D. 1996. *Cholera and the ecology of Vibrio cholerae*. 1st edition, Chapman & Hall, pp. 232-243.
- [3] Chattopadhyay, D.J., Sarkar, B.L., Ansari, M.Q. and Pal, S.C. 1993. New phage typing scheme for *Vibrio cholerae* O₁ biotype eltor strains. Journal of Clinical Microbiology 31: 1575-1585.
- [4] Hosseini, H., Cheraghali, A.M., Yalfani, R. and Razavilar, V. 2004. Incidence of *Vibrio* spp. in shrimp caught off south coast of Iran. Food Control 15: 187- 190.
- [5] Chiou, A., Chen, L. H. and Chen, S.K. 1991. Food-born illness in Taiwan 1981-1989. Food Australia 43: 70-71.
- [6] Lee, W.C., Lee, M.J., Kim, J.S., and Park, S.Y. 2001. Food-borne illness outbreaks in Korea and Japan studied retrospectively. Journal of Food protection 64: 899-902.
- [7] Farmer, J.J., Janda, M. and Birkhead, K. 2003. *Vibrio*. In: Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Pfaffer, M.A. and Yolken, R.H. (Eds). Manual of Clinical

و (1997) Huss هم خوانی دارد. در این مطالعات ویریو کلرا از میگوهای مطالعه شده جدا شده است [۲۰، ۱۸ و ۱۹]. وبای آسیایی هنوز برای کشورهای آسیایی به صورت آندمیک است. ویریو پاراهمولیتیکوس به علت مشابهت فیزیولوژیکی آن با سایر ویریوها در محیط دریایی در سراسر جهان یافت می شود ولی در بعضی موارد نیز از آب های شیرین و یا ماهیان غیردریایی و میگوهای پرورشی جدا گردیده است. تمام ویریوهای بیماری زا به طور طبیعی در محیط های دریایی اتفاق می افتد لذا آلدوده کننده های طبیعی غذایی دریایی هستند و پیش گیری این آلدودگی ها را در چنین فرآورده هایی غیرممکن می سازد. مهم ترین معیارهای کنترل جهت پیش گیری غفونت های این باکتری رعایت نکات بهداشتی می باشد. شستشوی مناسب میگو با آب شرب، استفاده از یخ های تهیه شده با آب شرب، استفاده از کلر در حد ۲-۷ قسمت در میلیون در آب شستشو و آب مورد استفاده در تهیه یخ در نگهداری کوتاه مدت میگو توصیه می شود. در صورت نگهداری طولانی مدت لزوم انجاماد و نگهداری در شرایط انجاماد لازم است. گونه های ویریو نسبت به حرارت بسیار حساس هستند و به راحتی در دمای پخت از بین می روند. لذا پخت کامل فرآورده های دریایی جهت از بین بردن آلدودگی های احتمالی توصیه می شود.

- [14] American Public Health Association, 1997. Compendium of methods for the Microbiological Examination, 3rd Ed. M.L. Speak. American Public Health Association, Washington.
- [15] Sakazki, R. 2002. *Vibrio*. In: Cliver, D. O. and Riemann, H. P. (Eds.), Food-born diseases. London: Academic Prees, pp. 127-136.
- [16] Su, Y.-C. and Liu, C. 2007. *Vibrio parahaemolyticus*: A concern of sea food safety. Food Microbiology 24: 549-558.
- [17] Akhondzadeh Basti, A., Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Misaghi, M., Soltani, M. and Esmaeili, H. 2007. The study of *Vibrio* spp. in cultivated (*Paeneus indicus*) a Marine (*Paeneus semisulcatus*) shrimp obtained from boushehr a southern province of Iran. Journal of Veterinary Research 62 (5): 307-310.
- [18] Blake, P. A. 1993. Epidemiology of cholera in the Americas. North American Clinical Gasterenology 22: 639-660.
- [19] Dalsgaard, A., Echeverria, P., Laren, L., Siebeling, R., Serichantalergs, O. and Huss, H.H. 1995. Application of ribotyping for differentiating *Vibrio cholera* non-O₁ isolated from shrimp farms in Thailand. Applied Environmental Microbiology 61: 245-251.
- [20] Huss, H. H. 1997. Control of indigenous pathogenic bacteria in seafood. Food Control 8: 91-98.
- Microbiology, 8th edition. ASM press, Washington, D.C., pp. 706-718.
- [8] Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., Mcraig, L.F., Bresee, J.S., Shapiro, C., Griffin, P.M. and Tauxe , R.V. 1999. Food- related illness and death in the United States. Emerging Infectious Diseases 5 (5): 607-625.
- [9] Hlady, W.G., Mullen, R.C. and Hopkin, R.S. 1993. *Vibrio vulnificus* from raw oysters. Leading cause of reported deaths from food-borne illness in Florida. The Journal of the Florida Medical Association 80 (8): 536-538.
- [10] Centers for Disease Control and Prevention. 2007. Preliminary Food Net Data on the Incidence of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food-10 States. Morbidity and Mortality Weekly Report 56: 336-339.
- [11] Lhafi, S. K. and Kuhne, M. 2007. Occurrence of *Vibrio* spp. in blue mussels (*Mytilus edulis*) from the German Wadden Sea. Internationl Journal of Food Microbiology 116: 297-300.
- [12] Colakoglu, F.A., Sarmasik, A. and Koseoglu, B. 2006. Occurrence of *Vibrio* spp. in shellfish harvested off Dardanelles cost of Turkey. Food Control 17: 648-652.
- [13] Lee, G.K., Jung, D.W., Eom, S.Y., Oh, S.W., Kim, Y., Kwak, H. S. and Kim, Y. H. 2008. Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters from Korean retail outlets. Food Control 19: 990-994.

Prevalence of *Vibrio* spp. in marine shrimp (*Paeneus monodon*) caught off the Persian Gulf coast of Iran

Rahimi E.^{1*}, Tajbakhsh, E.², Fadaeifard F.³, Izadi, B.⁴, Alimoradi, M.⁵, Goudarzi M.A.⁶

1- Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Aquatic Health and Disease, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

4- Graduated of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

5- Graduated of Pharmacy, College of Pharmacy, Jondishapoor University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

6- Young Researchers Club, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

(Received:89/2/19 Accepted:89/7/10)

Vibrios are human pathogens that are widely distributed in the marine environments. Those organisms are frequently isolated from a variety of raw seafood's. Consumption of raw or undercooked sea food contaminated with some of *Vibrio* species, may lead to development of acute gastroenteritis and clinical specimens. The present study aimed at determining the contamination of shrimps caught off the south coast of Iran. A total 120 samples of fresh shrimp collected from marine shrimps (*Paeneus monodon*) were tested for possible presence of *Vibrio* species by cultural and biochemical analysis. *Vibrio* spp. was detected in 26.7% of the samples analyzed in this study. Among *Vibrio* isolates, *Vibrio alginolyticus* was the species most frequently detected (43.6%), followed by *Vibrio parahaemolyticus* (34.4%), *Vibrio vulnificus* (9%), *Vibrio cholera* and *Vibrio orientalis* (6.5%). The results confirmed the need for a specific shrimp inspection plan to detect the presence of *Vibrio* species in order to eliminate public health risks associated with shrimp consumption.

Key words: shrimp, *Vibrio* spp., Persian Gulf, Iran.

* Corresponding Author E-mail address: ebrahimrahimi55@yahoo.com