بررسی و شناسایی آلودگی ماهی و میگوهای پرورشی به ویبریو در استان خوزستان

رضا سلطانی[1]، زهرا متقی[1*]، حسین خدابنده شهرکی[2]

۱. دانشجوی دکتری بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲. مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، دانشگاه آزاداسلامی،واحد شهرکرد، شهرکرد،ایران

*نویسنده مسئول: zmotaghi1372@gmail.com

چکیده

بیماری ویبریوزیس یکی از بیماری‌های مهم مشترک بین ماهیان پرورشی و انسان در صنعت آبزی پروری است . این باکتری از خانواده ویبریوناسه بوده و شامل باسیل‌های خمیده ، متحرک ، بی هوازی اختیاری شیمیوارگانوتروف ، کاتالاز و اکسیداز مثبت است. هدف از تحقیق حاضر بررسی حضور احتمالی باکتری ویبریو در ماهیان قزل آلا، کپور و میگوی پرورشی است. برای این منظور ۱۲۰ عدد ماهی قزل آلا، کپور و میگو از مزارع پرورشی استان خوزستان صید و در مجاورت یخ به آزمایشگاه مرکز تحقیقات موادغذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد منتقل گردید، سپس از قسمت کبد و محوطه بطنی نمونه‌های ذکر شده به شکل جداگانه نمونه برداری و پس از هموژنیزاسیون در محیط Trypticase Soy Broth (TSB)۲۴ ساعت در ۳۰ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند. بعد از آن بر روی محیط تیوسولفات سیترات بایل ساکارز آگار(TCBS) کشت داده شدند، محیط‌ها به مدت ۴۸ الی ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد و سپس بر اساس وجود یا عدم وجود پرگنه های رشد کرده ، ۳۰/۸۴ درصد از گوشت نمونه‌های مطالعه شده (۳۷ قطعه) آلوده به ویبریو بودند که بسیار شایان توجه بود. با توجه به بررسی‌های عمل آمده قبلی و نتایج حاصل از این مطالعه ، نظارت و کنترل زنجیره تولید و تشخیص به موقع این ارگانیسم در طول این زنجیره می‌تواند در کاهش آلودگی فراورده‌های دریایی از جمله ماهی‌ها نقش به سزایی داشته باشد. این امر در نهایت باعث به حداقل رسیدن ابتلا به این بیماری در افراد جامعه می‌شود .

واژگان کلیدی: قزل آلای رنگین کمان ، کپور ، میگو ، ویبریو ، بیماری مشترک

مقدمه

توسعه آبزی پروری نقش عمده‌ای را در تأمین غذای بشر و اقتصاد کشورهای جهان به عهده دارد .در مزارع پرورش ماهی‌ها به واسطه‌ی تراکم ، بروز و شیوع بیماری‌ها با سرعت بیشتری صورت می‌گیرد . از آنجا که محیط آبی مورد استفاده سایر موجودات آبزی ، جانوران اهلی ، وحشی و حتی انسان قرار می‌گیرد ، لذا شناخت شیوع و گسترش بیماری‌ها در محیط آبی از اهمیت برخوردار است.(۳-۱)

ویبریوها پاتوژن های 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 ویبریو منجر به گاستروآنتریت حاد و علائم بالینی خواهد شد . گونه‌های ویبریو، ارگانیسم‌هایی مقاوم به نمک بوده که به صورت طبیعی در آب‌های شور در مناطق گرمسیری و معتدل یافت می‌شوند ، اما برخی گونه‌ها ممکن است در آب شیرین هم دیده شوند . جنس‌های ویبریو باکتری‌های گرم منفی

و بی هوازی اختیاری هستند و با تاژه قطبی دارای حرکت می‌باشند. این باکتری‌ها یک بیماری زئونوز بوده و به عنوان عامل بیماری زای دستگاه گوارش انسان به خوبی شناخته شده‌اند . این ارگانیسم‌ها در ماهی‌ها ،حلزون‌ها ، برخی سخت پوستان ، پلانکتون‌ها و همچنین رسوبات نیز یافت می‌شوند. از سال ۱۹۸۰ ، جنس ویبریو مورد بازبینی دقیق قرار گرفته است و در حال حاضر در این جنس ۴۴ گونه وجود دارد که تعدادی از آنها برای ماهی‌ها ،میگوها ، صدف‌های پرورشی و سایر آبزیان بیماری زا می‌باشد. (۱۰-۴)

نظر به اینکه ویبریوها بومی محیط‌های آبی و دریا هستند در آبزیان حضور داشته و به عنوان عامل آلودگی آبزیان خام یا نیم پز بیان شده‌اند . (۱۱)

در بین اعضای جنس ویبریو ۱۲ گونه بیماری زای انسان هستند که هشت مورد از آنها ممکن است عامل گاستروآنتریت باشند (۱۲) وجود گونه‌های ویبریو در نواحی ساحلی و خور معمول است و تعداد آن بستگی به عمق آب و حدود جذر و مد دارد . ویبریوها خصوصاً در آب‌های گرم نواحی گرمسیری فراوان بوده و در فصل تابستان نیز درنواحی معتدل یافت می‌شوند . گونه‌های ویبریو همچنین آلوده کننده طبیعی آب‌های شور نواحی گرمسیری بوده و می‌توانند در ماهی‌های پرورشی در این گونه مناطق حضور داشته باشند. (۱۳) برای کنترل آلودگی ویبریو لازم است که آبزیان از آب‌های سالم صید شوند . خطرات حاصله از گونه‌های ویبریو در آبزیان را می‌توان با پختن (حرارت بالاتر از ۶۵ درجه سلسیوس) و جلوگیری از آلودگی ثانویه محصولات پخته مانع شد به طور کلی موارد شیوع ویبریوز مربوط به مصرف محصول نیم پز ، یا محصولی است که بعد از فرآیند حرارتی آلوده شده باشد. (۱۴)

ماهی منبع تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌ها بوده و (Endogenus)بعضی از میکروارگانیسم‌ها بومی در ماهی وجود دارند و بقیه در مراحل مختلف از زمان صید تا رسیدن بدست مصرف کننده، ماهی را آلوده می‌کنند . غالب این میکروارگانیسم‌ها غیر بیماری زا هستند و فقط ماهی را فاسد می‌کنند، در حالی که بعضی بیماری زا بوده و باعث مسمومیت غذائی می‌شوند. باکتری‌های بیماری زای بومی شامل گونه‌های ویبریو و آئروموناس و باکتری‌های غیر بومی شامل گونه‌های لیستریا، استافیلوکوکوس، سالمونلا، اشریشیا، شیگلا و مانند آن می‌باشد. (۱۵،۱۶)

مواد و روش کار

جمع آوری نمونه‌ها و جداسازی ویبریو

برای انجام بررسی حاضر در کل ۱۲۰ نمونه فراورده‌های پرورشی از مزارع استان خوزستان شامل ۴۰ نمونه ماهی قزل آلای رنگین کمان ، ۴۰ نمونه ماهی کپور و ۴۰ نمونه میگو، با رعایت شرایط کامل بهداشتی درپاییز ۱۴۰۲ صید شد. نمونه‌ها پس از جمع آوری در عرض۱۶- ۱۲ساعت در دمای۴ درجه سانتی گراد به مرکز تحقیقات مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، انتقال داده شدند.

تمام نمونه‌ها بلافاصله پس از ارسال به آزمایشگاه و آماده سازی، مورد آزمایش میکروبی قرار گرفتند. به این منظور در شرایط آسپتیک با کمک اسکالپل سترون، ۲۵ گرم ازقسمت کبد و محوطه بطنی نمونه‌های ماهی قزل آلا، کپور و میگو به شکل جداگانه جداسازی و پس از هموژنیزاسیون در محیط Trypticase Soy Broth (TSB) حاوی ۳٪ نمک (pH=۸/۳) (مرک، آلمان)، برای ۲۴ ساعت در ۳۰ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری شدند .در ادامه یک لوپ از محلول گرم خانه گذاری شده به شکل سطحی روی محیط تیوسولفات سیترات بایل سوکروز آگار(مرک، آلمان)کشت و برای ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری شدند .پس از طی شدن دوره گرم خانه گذاری، پرگنه های رشد یافته در محیط TCBSA از نظر پرگنه های ویبریو مورد بررسی قرار گرفتند .پر گنه‌های ویبریو در سطح این محیط به رنگ زرد خاکستری با تلألؤ آبی رنگ، نمایان می‌شوند. *ویبریوپاراهمولیتیکوس* به صورت پرگنه های سبز یا آبی

با ضخامت ۳-۲ میلی متر ظاهر می‌شود .سپس کل پرگنه های رشد یافته توسط تست‌های بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفتند .به این منظور ۳-۱ کلنی رشد یافته بر محیط اختصاصی جهت خالص سازی روی محیط آگار مغذی به آب گوشت قلب و مغز منتقل شد و برای ۶-۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری شد تا کدورتی بیشتر یا برابر ۰/۵= OD در ۶۲۰ نانومتر به دست آید .سپس نمونه‌ها با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی از جمله تست سیترات، مقاومت به نمک، اوره آز، تست VP ، تخمیر قندهای سلوبیوز، سالیسین، گلوکز، ساکارز، آرابینوز، مانیتول، اورنیتین، آرژینین و تست ONPG ، مورد بررسی قرار گرفتند.(۱۷)

استخراج DNA و واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

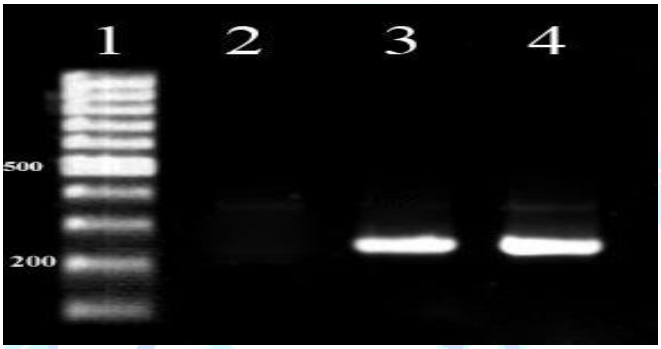
DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت فرمنتاز لیتوانی و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده، از پرگنه های تیپیک رشد کرده که به مدت یک شب در محیط کشت آب پپتونه قلیایی(مرک، آلمان) در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری شده بودند، استخراج شد .تمامی نمونه‌های DNA تا زمان انجام آزمون PCR ، در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگه داری شدند .در این بررسی هر یک از نمونه‌های DNA استخراج شده از نظر حضور گونه‌های *ویبریو آلجینولیتیکوس و ویبریو پاراهمولیتیکوس* با استفاده ازتست PCR مورد ارزیابی قرار گرفتند. جفت پرایمر 5’-AAGACCTCAACTGGCGGTA-3’ و 5’-GAAGTGTTAGTGATCGCCAGAGT-3’ (۲۴۸ جفت باز) (اختصاصی ژن *flaE ویبریو پاراهمولیتیکوس*) و جفت پرایمر 5’-GAGAACCCGACAGAAGCGAAG-3’ و 5’-CCTAGTGCGGTGATCAGTGTTG-3’ (۳۳۷ جفت باز) (اختصاصی ژن gyrB *ویبریو آلجینولیتیکوس*) در واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور انجام تمام واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز از دستگاه مسترسایکلر گرادیانت ساخت شرکت اپندورف آلمان در قالب برنامه‌های PCR استفاده شد.(۱۸،۱۹)

جدول ۱: حجم و فرایندهای دمایی مورد استفاده در واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز

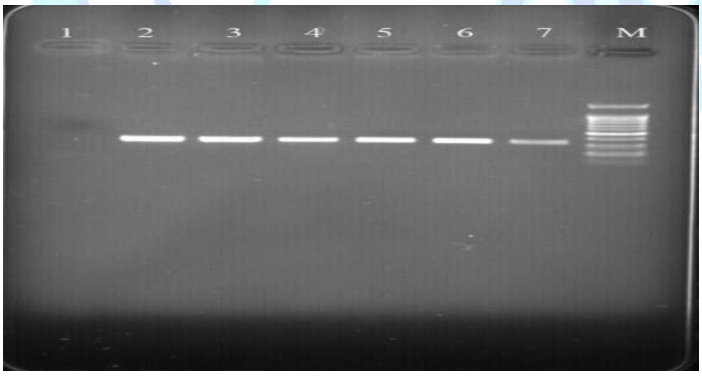
ژن هدف	مقادیر PCR	حجم واکنش (۵۰ میکرولیتر)
ویبریو پاراهمولیتیکوس	1 cycle: 15 min. ---------- 0C95 35 cycle: 40 s ---------- 0C94 60 s ---------- 0C57 90 s ---------- 0C72 1 cycle: 8 min ---------- 0C72	5 µL PCR buffer 10X 2 mM Mgcl2 200 µM dNTP (Fermentas) 1 µM of each primers F & R 1 U Taq DNA polymerase (Fermentas) 2.5 µL DNA template
ویبریو آلجینولیتیکوس	1 cycle: 15 min. ---------- 0C95 35 cycle: 60 s ---------- 0C94 60 s ---------- 0C62 60 s ---------- 0C72 1 cycle: 8 min ---------- 0C72	5 µL PCR buffer 10X 2 mM Mgcl2 200 µM dNTP (Fermentas) 1 µM of each primers F & R 1 U Taq DNA polymerase (Fermentas) 2.5 µL DNA template

الکتروفورز محصولاتPCR

در نهایت محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد رنگ آمیزی شده با اتیدیوم بروماید، الکتروفورز شدند .برای این منظور، 15 میکرولیتر از محصول PCR را با 2 میکرولیتر رنگ نشانگر Loading buffer مخلوط و به داخل چاهک ژل منتقل گردید .الکتروفورز نمونه‌ها در ولتاژ ثابت ۹۰ ولت به مدت ۳۰دقیقه انجام گرفت و در نهایت محصول الکتروفورز توسط دستگاه قرائت کننده ژل مورد بررسی قرار گرفت.(تصویر شماره۱و۲)



تصویر شماره۱: چاهک شماره ۱ مربوط به مارکر ۱۰۰bp، چاهک شماره ۲ کنترل منفی، چاهک ۳و ۴ نمونه‌های مثبت *ویبریو پاراهمولیتیکوس*



تصویر شماره۲: چاهک M مربوط به مارکر ۱۰۰bp، چاهک شماره ۱ کنترل منفی، چاهک‌های ۲ تا ۷ نمونه‌های مثبت *ویبریو آلجینولیتیکوس*

جدول ۲: نتایج درصد آلودگی نمونه ها به گونه های ویبریو

نمونه	*ویبریو آلجینولیتیکوس*	*ویبریو پاراهمولیتیکوس*	نمونه‌های منفی	تعداد کل نمونه
ماهی قزل آلای رنگین کمان	۶ (٪۱۵)	-	۳۴ (٪۸۵)	۴۰
ماهی کپور	۱۵ (٪۳۷/۵)	-	۲۵ (٪۶۲/۵)	۴۰
میگو	۱۴ (٪۳۵)	۲(٪۵)	۲۴ (٪۶۰)	۴۰
جمع	۳۵ (٪۲۹/۱۷)	۲ (٪۱/۶۷)	۸۳ (٪۶۹/۱۶)	۱۲۰

بحث

نتایج به دست آمده از این تحقیق بیان گر این بود که ۳۰/۸۴ درصد از گوشت نمونه‌های مطاله شده (۳۷ قطعه) آلوده به گونه‌های ویبریو بودند که بسیار شایان توجه بود. برخی گونه‌های ویبریو برای انسان بیماری زا هستند و ممکن است برای ماهی نیز بیماری زا باشند. به طور کلی دز عفونی در بیماری‌های روده‌ای و خطر محتمل از خردن ماهی نیز بالا است. بیماری ویبریوزیس وابسته به مصرف ماهی‌های خام و یا فرآورده‌های ماهی است و در برخی مزارع پرورش ماهی گزارش شده است.(۲،۶)

میزان شیوع *ویبریو پاراهمولیتیکوس* در نمونه‌های ماهی صید شده از پرتقال و یونان به ترتیب ۳۵ ٪ و ۱۴ ٪ گزارش شد. اما هیچ گونه نمونه مثبتی از نظر حضور *ویبریو پاراهمولیتیکوس* در نمونه‌های ماهی صید شده از انگلیس و فرانسه یافت نشد. نتایج بررسی‌های ذکر شده در انگلیس، پرتقال، فرانسه و یونان نشان می‌دهد که هر گونه ویبریو در یک منطقه خاص فراوانی بیشتری دارد. میزان شیوع *ویبریو پاراهمولیتیکوس* در مطالعات انجام پذیرفته در ایران شامل بررسی‌های Shirazi و همکاران(تهران) (۲۰) و Jalali jafari و همکاران (اصفهان)(۲۱) به ترتیب ۱۰-۵ درصد و ۳/۹ درصد گزارش شده است که از نتایج بررسی حاضر به مراتب کمتر است. بررسی انجام پذیرفته در کشور ایتالیا (۲۳) میزان شیوع بسیار بالاتری را برای گونه‌های ویبریو و خصوصاً *ویبریو پاراهمولیتیکوس*، گزارش کرده است. (۳۲/۶ درصد). احتمالاً شیوع فصلی این باکتری و نوع نمونه‌های مورد بررسی دلیل اصلی این اختلاف در میزان شیوع در ایران و ایتالیا بوده‌اند.

بررسی دیگری در تایلند(۲۴) نشان داد که میزان شیوع گونه‌های *ویبریو کلرا* و *ویبریو پاراهمولیتیکوس* در غذاهای دریایی به ترتیب ۱۰۰ درصد و ۸۰ درصد بوده است که به مراتب از نتایج بررسی ما بیشتر است. مطالعه پیشین در حیدرآباد (۲۵) نشان داد که از کل ۳۵ نمونه ماهی، ۳۵ نمونه خرچنگ و ۳۵ نمونه میگو جمع آوری شده، میزان شیوع *ویبریو کلرا* ۴۵/۷۱ درصد، ۵۷/۱۴ درصد و ۱۷/۱۴ درصد بوده است که بسیار قابل توجه است.

Mahmud و همکاران(۲۲) ۶۰۰۰ سویه *ویبریو پاراهمولیتیکوس* را از آب دریا و جلبک‌های دریایی جدا کردند که ۱۸ نمونه از آن‌ها حامل ژن سمی یا توکسیژنیک بودند. Ottaviani و همکاران (۲۳) مطالعه‌ای را بر روی غذاهای دریایی صید شده از دریای آدریاتیک، انجام دادند. نتایج بررسی آن‌ها نشان می‌دهد که از ۱۴۴ گونه *ویبریو پاراهمولیتیکوس*، ۳۵ سویه (۲۴/۳۰ درصد) پاراهمولیتیکوس پروتئاز مثبت بودند. آن‌ها وجود ژن‌های tdh و trh را در این نمونه‌ها ثابت کردند و نشان دادند که این ژن‌ها باعث همولیز شدن گلبول قرمز شده و سیستم ایمنی را تضعیف می‌کند. بر طبق این گزارش *ویبریو پاراهمولیتیکوس* به دلیل داشتن ژن‌های حدت، دارای قدرت بیماری زایی بیشتری در اثر خوردن فرآورده‌های خام و نپخته آلوده، می‌باشد (۲۳). بنابراین حضور این ژن‌های حدت در باکتری *ویبریو پاراهمولیتیکوس* نقش به سزایی در بیماری زایی باکتری دارد.

مقایسه نتایج بررسی‌های مختلف نشان دهنده اختلاف فاحشی در فراوانی آلودگی به گونه‌های مختلف ویبریو در فرآورده‌های دریایی است که این مسأله را می‌توان به نوع نمونه‌ها، فصل نمونه گیری، شرایط اکولوژیک، آلودگی محیطی، تفاوت گونه‌ای و هم چنین تفاوت چشمگیر در کیفیت شرایط بهداشتی از زمان صید تا عرضه نسبت داد.

با توجه به بررسی‌های به عمل آمده قبلی و نتایج حاصل از این مطالعه که شیوع این عامل بیماری زا را در بین ماهیان و مواد غذایی دریایی در حدود ۵ الی ۱۰ درصد نشان می‌دهد، نظارت و کنترل زنجیره تولید و تشخیص

به موقع این ارگانیسم در طول این زنجیره می‌تواند در کاهش آلودگی فرآرده های دریایی از جمله ماهی‌ها نقش به سزایی داشته باشد. این امر در نهایت باعث به حداقل رسیدن ابتلا به این بیماری در افراد جامعه می‌شود. (۴-۱۰)

نتیجه گیری

ویبریو خاص آب‌های شور است ، حال با توجه به جداسازی آن از ماهی قزل آلا احتمال این وجود دارد که از غذای آلوده به ماهی سرایت کرده ولی چون در محیط آب شیرین چندان دوامی ندارد مشکل خاصی نیز ایجاد نمی‌کند ، زیرا در منابع نیز تاکید شده که این باکتری را می‌توان از آزاد ماهیان پرورش داده شده در قفس‌های دریایی جدا کرد . بنابراین لزوم توجه نتایج این تحقیق نشان داد که از تعداد ۱۲۰ نمونه مورد بررسی، تعداد ۳۷ عدد نمونه (۳۰/۸۴ درصد) آلوده به ویبریو بودند که برای تعیین گونه‌ها احتیاج به آزمایش‌های تکمیلی می‌باشد. که این باکتری و روش‌های کنترلی و مبارزه با آن‌ها باید مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بررسی حاضر از مسئول محترم مرکز تحقیقات تغذیه و غذاهای ارگانیک و کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد جناب آقای دکتر منوچهر مؤمنی شهرکی، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تعارض منافع:

بین نویسندگان هیچ تعارضی وجود ندارد.

منابع

۱.آخوندزاده بستی از ابراهیم زاده موسوی، ح. میثاقی، ع سلطانی .م. اسماعیلی، ح. (۱۳۸۶). بررسی گونه‌های ویبریو در میگوهای پرورشی Paeneus indicus و دریایی semisulcatus Paeneus صید شده در استان بوشهر مجله تحقیقات دامپزشکی ۶۲ (۵) :۳۱۰-۳۰۷

۲.رضویلر، و (۱۳۸۷) میکروب‌های بیماری را در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت‌های غذایی انتشارات دانشگاه تهران، ۱۱۵-۱۱۱

Occurrence of Vibrio species in tropical shrimp culture environment, implication for food safety.
International Journal of Food Microbiology, 102: 151-159.

12.Oliver, J.D. and Japer, J.B. (1997).Vibrio species. In: Doyle MP, Beuchat L.R and Montville T.J.
(Eds.), Food Microbiology – Fundamentals and Frontiers. Washington DC: ASM Press, pp. 228-264.

13.Baffone, W., Pianetti, A., Bruscolini, F., Barbieri, E. and Citterio, B. (2000).
Occurrence and
expression of virulence-related properties of Vibrio species isolated from widely
consumed sea food
products. International Journal of Food Microbiology, 54: 9-18.

14.Codex Alimentarius (2009). Code of practice for fish and fishery products, First edition, FAO and
WHO, Rome.

15. Kvenberg, E.J. (1991). Non-indigenous Bacterial Pathogens, In: Microbiology of Marine Food
Products. (Eds.), Donn RW, Cameron H Van Nostrand Reinhold, New York, pp. 263-291.

16. Rodricks, E.G. (1991). Indigenous Pathogen: Vibrionaceae In: Microbiology of Marine Food
Products. (eds) Donn, R. W. and Cameron, H. Van Nostrand Reinhold, New York, pp. 285-295.

17. Tarr CL, Patel JS, Puhr ND, Sowers EG, Bopp CA, Strockbine NA.(2007).

۳.سلطانی، م. کاکولکی، ش. آوخ کیسمی، م. (۱۳۷۹). جداسازی و شناسایی گونه‌های غالب ویبریو در میگوهای پرورشی تعدادی از کارگاههای پرورش میگوی بوشهر مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. ۵۵ (۲): ۳۲- ۲۹

۴.اخلاقی، م ،حقیقی ز منصوری، ه. (۱۳۹۱). مطالعه ایمنوسیتوشیمی ،کبد، طحال و روده ماهی قزل آلای رنگین کمان ایمن شده با آنتی ژن *ویبریو آنگوئیلاروم* مجله تحقیقات دامپزشکی. ۶۷ (۲): ۱۹۷- ۱۹۱

5. Ansari M, Raissy M (2010). In vitro susceptibility of commonly used antibiotics against isolated from Lobster (Panulirushomarus). Af. J. Microb. Res., pp. 629-631. Vibrio

6. Austin B; Austin DA. (2007) Bacterial fish pathogens, disease of farmed and wild fish, 4rd ed. Springer, Praxis Publishing, UK.

7. Chrisolite B, Thiyagarajan S, Alavandi SV, Abhilash EC, Kalaimani N, Vijayan KK, Santiago TC (2008). Distribution of luminescent *Vibrio harveyi* and their bacteriophages in a commercial shrimp hatchery in South India. Aquaculture, 275: 13-19.

8. Di Pinto A, Ciccarese G, Tantillo G, Catalano D, Fortel VT (2005). A Collagenase- Targeted Multiplex PCR Assay for Identification of *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio cholera* and *Vibrio parahaemolyticus*. J. Food. Prot., 68: 150-153.

9. Garrity GM; Holt JG.(2001) The road map to the manual. In; Brgey's manual of systematic bacteriology. 2nd ed, Vol. 1 (edsD. R Boone and R. W Castenbolz). Springer, New York.

10. Hosseini H, Cheraghali MA, Yalfani R, Razavilar V (2004). Incidence of Vibrio spp. in shrimp caught off the south coast of Iran. Food Control., 15: 187-190.

11.Gopal, S., Otta, S.K., Kumar, S., Karunasagar, I., Nishibuchi, M. and Karunasagar, I. (2005).

Identification of Vibrio isolates by a multiplex PCR assay and rpoB sequence determination. J Clin Microbiol.;45(1):134-40.

18. Bej AK, Patterson DP, Brasher CW, Vickery MCL, Jones DD, Kaysner CA. (1999). Detection of total and hemolysin producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of tlh, tdh and trh. J Microbiol Method. 1999;36(3):215–225.

19. Zhou, S., Hou, Z., Li, N and Qin, Q. (2007) Development of a SYBR Green I real-time PCR for quantitative detection of *Vibrio alginolyticus* in seawater and seafood, J Appl Microbiol. 103:1897-1906. PMID: 17953599.

20.Shirazi MH, Ranjbar R, Salari MH, Bagheri Tirtash Y, Najafi A, Sadeghifard, N.(2007) Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from fish in Tehran and their antimicrobial resistance. Iranian J Infect Diss Trop Med.;11(35):65-68.

21.Jalali jafari B, Barzegar dolatabadi M. (2009). Shrimp health management. 2nd ed. Tehran: Noorbakhsh Publications.

22.Mahmud Z, Kassu A, Mohammad A, Yamato M, Bhuiyan NA, Balakrish Nair G, et al..(2006). Isolation and molecular characterization of toxigenic *Vibrio parahaemolyticus* from the kii Channel, Japon. Microbiol Res 161(1):25-37.

23.Ottaviani D, Santarelli S, Bacchiocchi S, Masini L, Ghittino C, Bacchiocchi I.(2005). Presence of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* strains in mussels from the Adriatic Sea, Italy. Food Microbiol. 22(6):585-590.

24.Senachai P, Chomvarin C, Namwat W, Wongboot W, Wongwajana S, Tangkanakul W.(2013). Application of tetraplex PCR for detection of *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* and *V. mimicus* in cockle. Southeast Asian J Trop Med Publ Health. 44(2):249-58.

25.Maheshwari M, Krishnaiah N, Ramana V.(2011). Evaluation of Polymerase Chain Reaction for the detection of *Vibrio cholerae* in Contaminants. Ann Biol Res 2(4):212-217.

Investigating and identifying Vibrio contamination of farmed fish and shrimps in Khuzestan province

Reza Soltani [1], Zahra Mottaghi [1*], Hossein Khodabandeh Shahraki[2]

1. Ph.D. student of food hygiene, faculty of veterinary medicine, Islamic Azad University, Shahrekord branch, Shahrekord, Iran

2. Nutrition and Organic Products Research Center, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.

* Corresponding author Email: zmotaghi1372@gmail.com

Abstract

Vibriosis is one of the important common diseases between farmed fish and humans in the aquaculture industry. This bacterium belongs to the Vibrionaceae family and includes curved, motile, facultatively anaerobic chemoorganotroph, catalase and oxidase positive bacilli. The purpose of this research is to investigate the possible presence of Vibrio bacteria in farmed salmon, carp and shrimp. For this purpose, 60 pieces of salmon, carp and shrimp were caught from the breeding farms of Khuzestan province and transported to the laboratory of the food research center of Azad University, Shahrekord branch, next to the ice. Then, the liver and ventricular area were cultured on thiosulfate citrate bile sucrose agar (TCBS), the environments were kept in a greenhouse for 48 to 72 hours at 25°C, and then based on the presence or absence of grown colonies, 30/84% of the meat of the studied samples (37 pieces) were infected with vibrio, which was very noteworthy. According to the previous investigations and the results of this study, the monitoring and control of the production chain and the timely diagnosis of this organism during this chain can play a significant role in reducing the contamination of marine products, including fish. This will ultimately reduce the incidence of this disease in the community.

Key words: rainbow trout, carp, shrimp, vibrio, joint disease