

بررسی ابتلاء به ویبریوهای دریایی در یک مزرعه پرورش میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) در بندر دیلم با تأکید بر ویبریو کلرا (*Vibrio cholerae*)

*علیرضا گلچین منشادی^۱، سعید ملاحی^۲ و محمد ترحمی^۱

^۱ گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران،

^۲ دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۴/۱۷

چکیده

ویبریوهای پاتوژنهایی هستند که به طور وسیعی در محیط های دریایی منتشر هستند. این ارگانسیمها به طور فراوانی از محدوده وسیعی از مواد غذایی دریایی خام جدا شده اند. با توجه به این که برخی ویبریوها می توانند در انسان نیز ایجاد بیماری کنند مصرف غذاهای دریایی خام و نیم پز آلوده به برخی از گونه های ویبریو منجر به گاستروانتریت حاد با علائم بالینی خواهد شد. مطالعه حاضر با هدف تعیین آلودگی میگوهای سفید غربی^۱ صید شده از یکی از مزارع فعال بندر دیلم با تأکید بر ویبریو کلرا^۲ انجام شد. در مجموع ۵۰ نمونه میگوی تازه از چهار استخر مزرعه صید و به آزمایشگاه باکتری شناسی دانشگاه آزاد واحد کازرون منقل شد. جهت انجام آزمایش های باکتری شناسی از میگوی هموژن شده و اندام های آبشش و هیاتوپا نکراس با استفاده از روش تلقیح بر روی محیط کشت استفاده گردید. برای این منظور نمونه ها ابتدا بر روی محیط آگار آب دریا^۳ (SWA) کشت و به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون گردید. سپس نمونه ها به منظور بررسی به محیط کشت انتخابی باکتری ویبریو^۴ (TCBS) انتقال یافت. پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته و رشد باکتری ها، جهت تشخیص جنس و گونه ویبریو رنگ آمیزی گرم و آزمایش های بیوشیمیایی انجام شد. نتایج آزمایش های بیوشیمیایی مانند اکسیداز، کاتالاز، تحرک، سیترات، ایندول، H₂S، تخمیر مانیتول، سوکروز، آرابینوز، گلوکز، سلوبیوز، TSI^۵، رشد در نمک نشان داد ویبریو کلرا از هیچ یک از نمونه های مورد بررسی جدا سازی نگردید.

واژه های کلیدی: بندر دیلم، بوشهر، میگو، ویبریو کلرا

مقدمه

پرورش میگوهای پنائیده یکی از مهم ترین فعالیت های آبی پروری در نقاط مختلف جهان محسوب می شود. استان بوشهر با اختصاص بیش از ۵۶ درصد از اراضی زیر کشت میگو و ۶۴ درصد تولید میگوی پرورشی

کشور به خود در سال ۱۳۸۳ به عنوان پیشتاز صنعت پرورش میگو در کشور شناخته می شود. به علت بروز همه گیری بیماری ویروسی لکه سفید از سال ۱۳۸۵ به منظور احیاء مجدد پرورش میگو، گونه جدیدی به نام میگوی پاسفید غربی به صنعت پرورش میگو معرفی گردید که محل اصلی زندگی آن اکوادور، مکزیک و برزیل می باشد (Lightner و Redman، ۱۹۹۴؛ Mohny و همکاران، ۱۹۹۴). باکتری های جنس ویبریو بومی اکوسیستم های آبی دریاها و

* نویسنده مسئول: golchinalireza@yahoo.com

- 1- *Litopenaeus vannamei*
- 2- *Vibrio cholerae*
- 3- Sea water Agar
- 4- Tisulfate Thiosulfate-citrate bile salts sucrose agar
- 5- Triple Sugar Iron

برسد. حدود ۷۰ درصد میگوهای صادراتی ایران از مزارع پرورش میگو به دست می‌آید. به دنبال گزارش ۱۶ ژوئای ۱۹۹۹ سازمان جهانی بهداشت در خصوص مشاهده مواردی از بیماری وبا در ۷ استان کشور و به دلیل احتمال آلودگی محصولات دریایی ناشی از ورود فاضلاب‌های شهری و روستایی این مناطق به آب‌های ساحلی که در مزارع پرورش میگو مورد استفاده قرار می‌گیرند و محل زندگی گروهی از میگوهای دریایی نیز می‌باشند، بعضی از کشورهای عرب حاشیه خلیج فارس خرید میگوی صادراتی ایران را متوقف کردند (Hoseini و همکاران، ۲۰۰۲). به منظور شناسایی آلودگی احتمالی میگوی وانامی به باکتری‌های جنس ویبریو با تأکید بر باکتری ویبریو کلرا این پژوهش در یکی از مزارع بندر دیلم انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش جهت شناسایی آلودگی میگوی پاسبید غربی به ویبریوها و در یکی از مزارع فعال پرورش میگوی بندر دیلم استان بوشهر صورت گرفت. بدین منظور در سال ۱۳۹۳ از ۴ استخر یک مزرعه تعداد ۵۰ نمونه اخذ گردید. نمونه برداری به صورت تصادفی و با حداقل استرس صورت گرفت. نمونه‌ها از سینی غذایی و یا توسط تور پرتابی تهیه و با کمک یک پنس استریل و با حفظ دمای مناسب آب (با استفاده از یخ در کنار ظرف نمونه) جهت انجام عملیات باکتری‌شناسی به صورت زنده، به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون منتقل گردید. برای شناسایی ویبریوها در بافت‌های میگو با استفاده از انجام آزمایش‌های باکتری‌شناسی از میگوی هم‌ژن شده و اندام‌های آبشش و هیپاتوپانکراس، از روش تلقیح بر روی محیط کشت استفاده گردید. بدین صورت که تمام بدن میگو

سواحلی هستند که در آن‌ها میگو به طور طبیعی حضور داشته و یا پرورش داده می‌شود. با این حال عموماً توافق بر این است که این باکتری‌ها بیماری‌زا و فرصت‌طلب بوده و در شرایط استرس بیماری ایجاد می‌کنند. حضور باکتری‌های بیماری‌زا نه تنها برای میگوها بلکه برای مصرف‌کننده آن‌ها نیز ایجاد خطر می‌نماید (Tyagi و همکاران، ۲۰۰۷؛ Vandenberghe و همکاران، ۱۹۹۹). ویبریوها باکتری‌های گرم منفی میله‌ای خمیده‌ای هستند که پرگنه‌هایی به قطر ۲-۳ میلی‌متر در آگار خوندار و پرگنه‌هایی به رنگ زرد یا سبز در محیط انتخابی TCBS ایجاد می‌کنند. این باکتری به طول ۲-۳ میکرون و به قطر ۰/۵ میکرون می‌باشند بی‌هوازی اختیاری، متحرک و اکسیداز مثبت (به استثناء ویبریو مچنیکووی^۱) عموماً به ویبریو استات ۰/۱۲۹ حساس بوده و به واسطه یون سدیم رشدشان تحریک می‌شود (Masini و همکاران، ۲۰۰۷).

ویبریو کلرا به عنوان شایع‌ترین عامل اسهال باکتریایی در جهان به خصوص در آسیای جنوب شرقی و شبه‌قاره هند، جایی که بیماری‌های وبا و شبه وبایی به صورت آندمیک وجود دارند شناخته شده است (Drasar و Forrest، ۱۹۹۶). این باکتری در آب‌های شور و خلیج‌ها ساکن می‌باشد. در بین گروه سرمی ویبریو کلرا، تنها گروه‌های سرمی ۰/۱۰۱۳۹ هستند که موجب اپیدمی‌های وبا می‌گردند (Chakraborty و همکاران، ۲۰۰۰). در بررسی شیوع بیماری وبا در فیلیپین در سال ۱۹۶۱ نشان داده شد که خوردن یک نوع میگوی کوچک بنان لیون باعث ابتلاء به وبا گردیده است (Drasar و Forrest، ۱۹۹۶). میگو به عنوان یکی از مهم‌ترین فرآورده‌های صادراتی غیرنفتی در سال ۱۳۷۹ درآمدی معادل ۲۷ میلیون دلار را نصیب کشور کرده است و پیش‌بینی می‌شود که در پایان برنامه سوم توسعه اقتصادی به ۲۰۰ میلیون دلار

1- *V. metschnikovi*

باکتری‌شناسی با استفاده از جدول‌ها مقایسه گردید (Buller, ۲۰۰۴).

نتایج

ابتدا پلیت‌ها برای رشد پرگنه‌های باکتری بررسی شد که نتیجه بررسی بیانگر رشد ۳۸ نمونه از ۵۰ نمونه بر روی محیط TCBS بود. همه پرگنه‌ها در نتیجه رشد باکتری، کلنی زرد رنگ تشکیل داده و گرم منفی بودند. آزمایش‌های اکسیداز، کاتالاز، تحرک، اندول، تولید H₂S و سیترات منفی و آزمایش‌های TSI، رشد در نمک ۵ درصد و تخمیر قندها مثبت بود که مجموع آزمایش‌ها و مقایسه آن‌ها با جدول‌های مربوط به آزمایش‌های بیوشیمیایی و بیوریها نشان داد که ویریبو کلرا و سایر گونه‌های جنس ویریبو از هیچ‌یک از نمونه‌های مورد بررسی جداسازی نگردید (جدول ۱).

در بوت‌چینی استریل توسط الکل ۷۰ درجه ضد عفونی شده، پس از یک دقیقه الکل موجود تخلیه شده و پست لاروها با نمونه‌ای از آب همان استخر که با صافی سترون میکروبیولوژی استریل شده بود، شستشو شدند تا تمامی الکل از نمونه‌ها جدا گردد. سپس، کاملاً له شده و به صورت یک ماده هموژن در آمده، به وسیله لوپ استریل نمونه آماده شده ابتدا بر روی محیط آکار آب دریا (Sea Water Media) کشت شده و پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته کلنی‌های رشد کرده بر روی محیط کشت مخصوص ویریبوها به نام TCBS با شوری تنظیم شده ۲-۱/۵ درصد تلقیح گردید و محیط‌های کشت در دمای مورد نظر و برای مدت مشخص در انکوباتور قرار گرفتند (Lightner, ۱۹۹۶a). جهت تشخیص باکتری‌ها از تست‌های بیوشیمیایی مرسوم استفاده گردید و نتایج آزمایش‌های

جدول ۱- نتایج تست‌های بیوشیمیایی تشخیص تفریقی ویریبوز

Sample	TCBS	Gram	Oxidase	Catalase	Mannitol	Sucrose	Arabinose	Cellobiose	Glucose	Motility	Indole	H ₂ S	NaCl	Citrate	TSI (Acid/Acid)
۱	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۲	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۳	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۴	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۵	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۶	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۷	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۸	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۹	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۱۰	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۱۱	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۱۲	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۱۳	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۱۴	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۱۵	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۱۶	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+

ادامه جدول ۱-

Sample	TCBS	Gram	Oxidase	Catalase	Mannitol	Sucrose	Arabinose	Cellobiose	Glucose	Motility	Indole	H ₂ S	NaCl	Citrate	TSI (Acid/Acid)
۱۷	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۱۸	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۱۹	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۲۰	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۲۱	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۲۲	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۲۳	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۲۴	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۲۵	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۲۶	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۲۷	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۲۸	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۲۹	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۳۰	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۳۱	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۳۲	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۳۳	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۳۴	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۳۵	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۳۶	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۳۷	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۳۸	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۳۹	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۴۰	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۴۱	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۴۲	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۴۳	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۴۴	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۴۵	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۴۶	N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۴۷	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۴۸	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۴۹	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
۵۰	Y	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+

رشد بر روی محیط Y=

عدم رشد بر روی محیط N=

بحث

آلودگی آب‌های سطحی به فاضلاب انسانی در مناطقی که مواردی از بیماری وبا گزارش گردیده است این احتمال را مطرح می‌کند که به دلیل ریخته شدن آب‌های سطحی به رودخانه‌ها و دریاها این آلودگی به آبزیان از جمله میگوها منتقل شود (Hoseini و همکاران، ۲۰۰۲). Blake و همکاران (۱۹۸۰) در طی یک بررسی بر روی شیوع بیماری وبا در سواحل جنوب غربی لوئیزیانا آمریکا توانستند ویبریو کلرا را از میگو جدا نمایند. همچنین در مطالعه دیگری در لوئیزیانا آمریکا منبع شیوع آلودگی میگو تشخیص داده شد (Shandera و همکاران، ۱۹۸۳). تعداد ویبریوها در آب‌های ساحلی با افزایش دمای آب افزایش می‌یابد و در نتیجه تعداد آن در صدف‌ها و سایر آبزیان نیز بیش‌تر می‌شود بنابراین از مصرف غذاهای دریایی خام در این فصول باید اجتناب شود. برای نگهداشتن آلودگی ویبریو در سطح پایین، مواد غذایی باید در یخچال و یا در داخل یخ بلافاصله پس از صید نگهداری شوند. تمام گونه‌های جنس ویبریو بر اثر حرارت سریعاً از بین می‌روند بنابراین پخت کامل و اجتناب از آلودگی مجدد، روش مطمئنی برای سالم‌سازی چنین فرآورده‌هایی می‌باشد (Hoseini و همکاران، ۲۰۰۲). این موضوع در مطالعه‌ای نیز تأیید گردید به طوری که میگوهای پخته‌شده دخالتی در ایجاد بیماری نداشتند و این مسأله با مشاهده موارد متعدد بیماری در بزرگسالان در مقایسه با بچه‌ها (که معمولاً غذای پخته‌شده به آن‌ها داده می‌شد) مشخص شد (Drasar و Forrest، ۱۹۹۶). در پژوهش‌هایی که در آمریکا صورت گرفته مشخص شده است و با ارتباط مستقیمی با مصرف غذاهای دریایی نیم‌پز مانند خرچنگ، میگو و صدف‌های جمع‌آوری شده از ساحل دارد (Blake، ۱۹۹۳). البته عوامل ویبریو می‌توانند برای میگوها نیز بیماری‌زا باشند. جنس‌هایی از باکتری‌ها از جمله جنس ویبریو به‌عنوان بخشی از

میکروفلور طبیعی آب و میگو شناخته شده‌اند که به دلایل مختلفی، از جمله عدم سلامت میگوها باعث بیماری ویبریوزیس می‌شوند (Main و Fulks، ۱۹۹۲). این باکتری‌ها معمولاً به‌عنوان باکتری‌های فرصت‌طلب شناخته می‌شوند و حتی از همولف میگوهای به ظاهر سالم، جدا شده‌اند. بنابراین جداسازی آن‌ها برای تفسیر بیماری کار مشکلی است (Gomez-Gil و همکاران، ۱۹۹۸). گونه‌های آلجینولیتیکوس، پاراهمولیتیکوس^۱، ولنیفیکوس^۲، هاروئی^۳ و دمسل^۴ به‌عنوان پاتوژن‌های اصلی جنس ویبریو هستند که تحت شرایط مساعد (شرایط استرس‌زا در میگو) می‌توانند میگوهای خانواده پنائیده را تحت تأثیر قرار دهند (Lightner، ۱۹۹۶b). Gomez-Gil و همکاران (۱۹۹۸) گونه آلجینولیتیکوس را از هپاتوپانکراس میگوهای وانامی^۵ سالم جدا کردند. همچنین ویبریو آلجینولیتیکوس همراه با دو گونه دیگر (ویبریو پاراهمولیتیکوس و ویبریو میمیکوس^۶) از مراحل لاروی و پست لاروی وانامی‌های سالم جدا شده، که گونه ویبریو آلجینولیتیکوس بیش‌ترین شیوع را داشت (Vandenberghe و همکاران، ۱۹۹۹). Issarasak و همکاران (۱۹۹۳) از هپاتوپانکراس میگوی مونودون^۷ سه گونه ویبریو آلجینولیتیکوس، ویبریو پاراهمولیتیکوس و ویبریو کلرا را شناسایی کردند. Sung و همکاران (۲۰۰۱) در ابتدای دوره پرورش میگوی مونودون تغییرات گونه‌ای ویبریوی بسیار کمی را مشاهده کردند، ولی با افزایش دوره پرورش تعداد و تنوع ویبریوها به‌خصوص ویبریو آلجینولیتیکوس افزایش یافته بود. به دلیل وضعیت خاص موجود در هپاتوپانکراس، باکتری‌ها به‌طور معمول نباید در هپاتوپانکراس وجود داشته باشند

- 1- *Vibrio parahaemolyticus*
- 2- *Vibrio vulnificus*
- 3- *Vibrio harveyi*
- 4- *Vibrio damsela*
- 5- *Litopenaeus vannamei*
- 6- *Vibrio mimicus*
- 7- *Penaeus monodon*

پرورشی به ظاهر سالم شمارش کردند. پژوهش‌ها نشان داد که حضور باکتری در هپاتوپانکراس لزوماً نشان‌دهنده بیماری نیست و تشخیص باید بر اساس یافتن تعداد زیادی از ویبریوها در این بافت باشد (Gomez-Gil و همکاران، ۱۹۹۸). بالا بودن تعداد ویبریو در میگوی هموزن می‌تواند به علت حضور باکتری‌های دستگاه گوارش باشد. همچنین بالاتر بودن این تعداد در آبشش نسبت به هپاتوپانکراس می‌تواند ناشی از تماس مستقیم اندام آبشش با آب استخر باشد زیرا آب به علت وجود باقی‌مانده‌های غذا و یا تلفات خود میگوها دارای فلور بالای میکروبی است (Vanderzant و همکاران، ۱۹۷۱). در مطالعه حاضر علاوه بر این‌که علائم بالینی خاصی مشاهده نگردید، باکتری ویبریو کلرا که از نظر بهداشت انسانی دارای اهمیت ویژه‌ای است از هموزن سالم جدا نگردید که با مطالعه Hoseini و همکاران (۱۳۸۱) مطابقت دارد. علاوه بر این میگوها در کارگاه‌های فرآوری و بسته‌بندی در تماس با آب حاوی ۲-۷ ppm کلر قرار می‌گیرند که احتمال آلودگی میکروبی را منتفی می‌سازد. در عین حال میگوها در طی فرآوری در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد منجمد می‌شوند که سبب غیرفعال شدن باکتری می‌گردد (Razavilar, ۱۹۹۹). پیشنهاد می‌گردد با رعایت بهداشت و جلوگیری از ورود فاضلاب‌ها و مواد مدفوعی به آب‌های سطحی از آلودگی احتمالی محصولات دریایی پیشگیری نمود. در عین حال فرآوری و حمل و نقل بهداشتی و بسته‌بندی و انجماد سریع میگوهای صیدشده در عرصه بهداشتی این محصول نقش به‌سزایی دارد.

(Hopkin و Nott, ۱۹۸۰). حدس زده می‌شود که این صافی به همراه آنزیم‌های گوارشی از استقرار باکتری‌ها جلوگیری می‌کند. بنابراین وجود باکتری‌ها در هپاتوپانکراس ممکن است به علت اختلال در عملکرد این مکانیزم باشد (Alday-Sanz, ۱۹۹۴). Gomez-Gil و همکاران (۱۹۹۸) بیان کردند که ممکن است باکتری از طرق دیگر نیز وارد هپاتوپانکراس گردد. به‌طور مثال در میگوهای وانامی پرورشی ممکن است به علت تغذیه با پلیت تخریب و آسیب به صافی مذکور ایجاد شود که در نهایت باعث ورود باکتری به این اندام گردد. بنابراین لازم است که رابطه بین رژیم غذایی و تعداد باکتری موجود در این اندام بررسی گردد. بر اساس این یافته‌ها حضور باکتری‌ها لزوماً نشان‌دهنده بیماری نیست و تشخیص باید بر اساس یافتن تراکم و حجم بالایی از باکتری باشد. Karunasagar و همکاران (۱۹۹۴) و Robertson و همکاران (۱۹۹۸) عامل ایجاد مرگ و میر در هچری‌های میگوی وانامی را، ویبریو هاروئی و ویبریو پاراهمولیتیکوس معرفی کردند. همچنین Yongcan و همکاران (۲۰۰۳) دو گونه ویبریو پاراهمولیتیکوس و ویبریولنیفیکوس را از هپاتوپانکراس و عضله میگوی وانامی مبتلا به بیماری بدن قرمز^۱ نیز جدا کردند. باکتری‌های جنس ویبریو در تعداد زیاد و شرایط مساعد، تکثیر و سبب نکروز اندام‌های داخلی، به‌خصوص هپاتوپانکراس شده و می‌توانند تلفات شدیدی را در لاروها ایجاد کنند (Palanisamy, ۱۹۹۸). Gomez-Gil و همکاران (۱۹۹۸) تعداد $1/11 \times 10^2$ تا $2/67 \times 10^5$ پرگنه از جنس ویبریو در یک گرم بافت هپاتوپانکراس میگوهای به ظاهر سالم را گزارش کرده، بیان نمودند که این تعداد به‌طور معنی‌داری کمتر از روده بوده است. Karekar و همکاران (۲۰۰۴) نیز تعداد $0/03 \times 10^4$ تا 76×10^4 ویبریو در یک گرم از بافت هپاتوپانکراس وانامی‌های

منابع

- Alday-Sanz, V., 1994. Studies on the Pathogenesis of *Vibrio* spp. infection in *Penaeus monodon* Fabricius. PhD thesis. University of Stirling, Scotland. 224p.
- Blake, P.A., Allegra, D.T., Snyder, J.D., Barrett, T.J., McFarland, L., Caraway, C.T., Feeley, J.C., Craig, J.P., Lee, J.V., Pühr, N.D., and Feldman, R.A., 1980. Cholera – a possible endemic focus in the United States. *New England J. Med.* 302 (2), 305-309.
- Blake, P.A., 1993. Epidemiology of cholera in the Americas. *Gastroenterol Clin North Am.* Sep. 22 (3), 639-660.
- Buller, N.B., 2004. *Bacteria From Fish and Other Aquatic Animals . a practical identification manual.* CABI publishing, London, UK. pp. 222-228.
- Chakraborty, S., Mukhopadhyay, A.K., Bhadra, R.K., Ghosh, A.N., Mitra, R., Shimada, T., Yamasaki, S., Faruque, S.M., Takeda, Y., and Colwell, R.R., 2000. NairGB Virulence genes in environmental strains of *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 4022-4028.
- Drasar, B.S., and Forrest, D., 1996. *Cholerae and ecology of Vibrio cholerae.* First edition, Chapman and Hall Amsterdam-Oxford-Newyork-Tokyo. pp. 232-243.
- Fulks, W., and Main, K.L., 1992. *Diseases of Cultured Penaeid Shrimp in Asia and the United States.* Proceedings of a workshop in Hawaii, Pub, The Oceanic Institute. 381p.
- Gomez-Gil, B., Tronmayen, L., Rogue, A., Turnbull, J.F., Inglis, V., and Guerraflones, A.L., 1998. Species of vibrio isolated from hepatopancreas, haemolymph and digestive tract of a population of healthy juvenile *Penaeus vannamei*. *Aquaculture.* 163 (3), 1-9.
- Hopkin, S.P., and Nott, J.A., 1980. Studies on the digestive cycle of the shore crab *Carcinus maenas* (L). with special reference to the B cells in the hepatopancreas. *J. Mar. Biol. Assoc. Unit. Kingdom.* 60 (2), 891-907.
- Hoseini, H., Cheraghali, A., Yalfani, R., and Razavilar, V., 2002. Survey on rearing and marine shrimp of the southern coast of Iran in terms of infected to marine vibrio with emphasis on *Vibrio cholerae* in summer and autumn of 2000. *Hakim Res. J.* 5 (2), 113-124.
- Issarasak, N., Tangtrongpirons, J., Koeypuksa, W., and Ponpornpisit, A., 1993. Bacterial flora in normal *P. monodon* brood stock. *Veterinary Medical Aquatic Animal Research Center*, Faculty of Veterinary Science Chulalongkorn University, Bang Kok 10330, Thailand. Unpublished. pp. 39-50.
- Karekar, S., Sujajayan, P., Kulkarni, S., Sreepada, R.A., Loka, B.P.A., and Chandramorha, D., 2004. Temporal abundance and diversity of vibrios in brakish water aquaculture ponds growing *Penaeus monodon*. *Conference on microbiology of the tropical seas.*, National Institute of Oceanography, Dona Paula, Goa India. 403p.
- Karunasagar, I., Pai, R., and Malathi, G.R., 1994. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant vibrio harveyi infection. *Aquaculture.* 128 (7), 203-209.
- Li, Y., Vandenberghe, J., Ji, W., Sorgeloos, P., Swings, J., and Xu, H., 2000. Comparison of vibrios isolated from shrimp in different countries. *J. Fish. Sci.* 7 (4), 52-55.
- Lightner, D.V. 1996a. *A Hand Book of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedure for Disease of Cultured Shrimp.* World Aquaculture Society. Baton Regue, Louisiana, USA. pp. 112-123.
- Lightner, D.V. 1996b. *Disease of Culture Penaeid Shrimp.* In *Handbook of Mariculture: Crustacean Aquaculture* (J.P. McVey, Ed.), 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 393-486.
- Lightner, D.V., and Redman, R.M., 1994. An epizootic necrotizing hepatopancreatitis in cultured penaeid shrimp (Crustacea: Decapoda) in northwestern Peru. *Aquaculture.* 122 (4), 9-18.
- Masini, L., De Grandis, G., Principi, F., Mengarelli, C., and Ottaviani, D., 2007. Research and characterization of pathogenic vibrios from bathing water along The Conero Riviera (Central Italy). *Water research.* 41 (4), 4031-4040.
- Mohney, L.L., Lightner, D.V., and Bell, T.A., 1994. An epizootic of vibriosis in Ecuadorian pond-reared *Penaeus vannamei* boone (Crustacea: Decapoda). *J. World Aquacul. Soc.* 25, 116-125.
- Palanisamy, V., 1998. Preliminary studies on bacterial disease associated with penaeid larvicultures. *Fisheris Bulletin Department of Fisheris (malaysia).* 84 (1), 15-23.

- Razavilar, V., 1999. Pathogenic bacteria in food, First Edition, Tehran University publishing. 76p.
- Robertson, P.A.W., Calderon, J., Carrera, L., Stark, J.R., Zherdmant, M., and Austin, B., 1998. Experimental vibrio harveyi infections in penaeus vannamei larvae. Disease Aquaculture Organism. 32 (3), 151-155.
- Shandera, W.X., Hafkin, B., Martin, D.L., Taylor, J.P., Maserang, N., Wells, J.G., Kelly, M., Ghandi, K., Kaper, J.B., Lee, J.V., and Blake, P.A., 1983. Persistence of cholera in the United States. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 32 (5), 812-817.
- Sung, H.H., Hsu, S.F., Chen, C.K., Thng, Y.Y., and Chao, W., 2001. Relationships between disease outbreak in cultured tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and the composition of vibrio communities in pond water and shrimp hepatopancreas during cultivation. Aquaculture. 192 (8), 101-110.
- Tyagi, A., Khushiramani, R., and Karunasagar, I., 2007. Antivibrio activity of recombinant lysozyme expressed from black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. Aquaculture. 272 (6), 246-253.
- Vandenbergh, J., Verdonck, L., Robles-Arozarena, R., Gabriel, R., Bolland, A., and Balladares, M., 1999. Vibrios associated with *Litopenaeus vannamei* larvae, postlarvae, broodstock and hatchery probionts. applied and environmental microbiology. pp. 2592-2597.
- Vanderzant, C., Nickelson, R., and Judkins, P.W., 1971. Microbial flora of pond-reared brown shrimp (*Penaeus aztecus*). Applied Microbiology. 21 (5), 916-921.
- Yongcan, Z., Ben, Z., Xuefen, C., and Jiaying, Q., 2003. Priliminary studies of the red body disease in *P. vannamei*. Marine sciences, Haiyang Kexue [Mar.Sci. Haiyang Kexue]. 27 (5), 61-65.