Autumn (2024) 13(50): 11-17
DOI: 10.30473/eab.2025.72666.1968
Received: 1 Nov 2024 Accepted: 25 Feb 2025

Experimental Animal Biology Open Access

ORIGINAL ARTICLE

Detection, molecular confirmation and genotypic investigation of virulence factors trh and tdh in Vibrio parahaemolyticus strains isolated from shrimp samples obtained from retail stores in Kerman

Parvin Mohseni[1], Mahboube Bagheri[2(0000000305229747)], Narges Gholamian Adimi[3]

[1]Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
[2]Department of Food Science and Technology, Bardsir Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
[3]Department of Veterinary Medicine (DVM), Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Correspondence
Mahboube Bagheri
Email: ma.bagheri@uk.ac.ir

How to cite
Mohseni, P., Bagheri, M., & Gholamian Adimi, N. (2024). Detection, molecular confirmation and genotypic investigation of virulence factors trh and tdh in Vibrio parahaemolyticus strains isolated from shrimp samples obtained from retail stores in Kerman. *Experimental Animal Biology, 13*(50), 11-17.

ABSTRACT

Vibrio parahaemolyticus is one of the significant food- and waterborne bacteria. In this study, 110 fresh shrimp samples were randomly collected from retail centers in Kerman City during the summer of 2022. In the laboratory, the samples were homogenized and cultured on TCBS agar for 18-24 hours at 37°C. After incubation, green-blue colonies on the TCBS agar were identified as potential Vibrio colonies and were further confirmed using biochemical tests. For genomic extraction of *Vibrio parahaemolyticus* strains from the shrimp samples, the boiling method was employed. The presence of the virulence genes tdh and trh was examined through PCR to confirm molecular identification and determine virulence factors. According to the present findings, among the 110 shrimp samples cultured on TCBS agar, 72 samples (65.45%) exhibited green or green-blue colonies. Of these, 23.6% were positive for the *tox* gene, serving as a marker for *Vibrio parahaemolyticus*. Regarding the virulence genes, the *tdh* gene was detected in two *Vibrio parahaemolyticus* isolates (2.7%), while no samples were positive for the *trh* gene. This study highlights that, although *Vibrio parahaemolyticus* is widespread in aquatic environments and seafood, most isolates lack the virulence genes *tdh* and *trh*.

KEYWORDS
Kerman, Shrimp, *Vibrio parahaemolyticus*, Virulence.

© 2023, by the author(s). Published by Payame Noor University, Tehran, Iran.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

سال سیزدهم، شماره دوم، پیاپی پنجاهم، پاییز ۱۴۰۳ (۱۱-۱۷)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۰۷

DOI: 10.30473/eab.2025.72666.1968

نشریه علمی

زیست‌شناسی جانوری تجربی

«مقاله پژوهشی»

ردیابی، تأیید مولکولی و بررسی ژنوتیپی فاکتورهای حدت *trh* و *tdh* در سویه‌های *ویبریو پاراهمولیتیکوس* از نمونه‌های میگوی اخذشده از سطح خرده‌فروشی‌های شهر کرمان

پروین محسنی[۱]، محبوبه باقری[۲](۰۰۰۰۰۰۰۳۰۵۲۲۹۷۴۷)، نرگس غلامیان ادیمی[۳]

[۱]گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

[۲]گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

[۳]دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

نویسنده مسئول:
محبوبه باقری
رایانامه: ma.bagheri@uk.ac.ir

چکیده

باکتری *ویبریو پاراهمولیتیکوس* از جمله باکتری‌های مهم قابل انتقال از طریق غذا و آب می‌باشد. در این مطالعه ۱۱۰ نمونه میگوی تازه به‌صورت تصادفی از مراکز خرده‌فروشی در شهر کرمان، در تابستان ۱۴۰۱ جمع‌آوری شد. در آزمایشگاه، نمونه‌ها بعد از هموژن‌شدن، در محیط TCBS آگار کشت داده شدند و به‌مدت ۱۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در گرم‌خانه قرار گرفتند. پس از اتمام زمان انکوباسیون، کلنی‌های به رنگ سبز-آبی در محیط TCBS آگار به‌عنوان کلنی‌های *ویبریو* موردبررسی قرار گرفته و درنهایت با تست‌های بیوشیمیایی تأیید شدند. در این پژوهش، جهت استخراج ژنوم سویه‌های *ویبریو پاراهمولیتیکوس* از نمونه‌های میگو، از روش جوشاندن استفاده شد. سپس با استفاده از روش PCR، حضور ژن‌های حدت *tdh* و *trh* جهت تأیید مولکولی و تعیین فاکتورهای حدت بررسی شد. با توجه به نتایج بررسی حاضر، از میان ۱۱۰ نمونه میگو کشت داده‌شده بر روی محیط TCBS آگار، ۷۲ نمونه (۶۵/۴۵ درصد) دارای کلنی‌های سبز یا سبز-آبی بودند. از میان این ۷۲ نمونه، ۲۳/۶ درصد نمونه‌ها از نظر وجود ژن *tox* به‌عنوان نشانگر *ویبریو پاراهمولیتیکوس* مثبت شناخته شدند. در مورد ژن‌های حدت، ژن *tdh* در دو جدایه *ویبریو پاراهمولیتیکوس* (۲/۷ درصد) شناسایی شد، اما هیچ نمونه‌ای از نظر ژن *trh* مثبت نبود. این مطالعه تأکید می‌کند که هرچند *ویبریو پاراهمولیتیکوس* به‌طور گسترده در محیط‌ها و غذاهای دریایی موجود است، اما بیش‌تر آن‌ها فاقد ژن‌های حدت *tdh* و *trh* می‌باشند.

واژه‌های کلیدی

حدت، کرمان، میگو، *ویبریو پاراهمولیتیکوس*.

استناد به این مقاله:

محسنی، پروین؛ باقری، محبوبه و غلامیان ادیمی، نرگس (۱۴۰۳). ردیابی، تأیید مولکولی و بررسی ژنوتیپی فاکتورهای حدت *trh* و *tdh* در سویه‌های ویبریو پاراهمولیتیکوس از نمونه‌های میگوی اخذشده از سطح خرده‌فروشی‌های شهر کرمان. *فصلنامه زیست‌شناسی جانوری تجربی*، ۱۳(۵۰)، ۱۱-۱۷.

مقدمه

غذاهای دریایی به‌عنوان بخشی از فهرست غذاهای مرتبط با شیوع بیماری‌های منتقله از طریق غذا قرار دارند (Lipp & Rose, 1997). لازم به ذکر است که وضعیت میکروبی غذاهای دریایی بعد از صید به‌طور مستقیم با شرایط محیطی و کیفیت میکروبیولوژیکی آب مرتبط است (Huss, 1994). در طول چند دهه گذشته، محققان مواردی از عفونت‌های ناشی از غذا در انسان را گزارش کرده‌اند که این عفونت‌ها معمولاً ناشی از مصرف میگو، صدف‌های تازه و خام و سایر غذاهای دریایی آلوده است. امروزه با توجه به افزایش مصرف فراورده‌های دریایی و به‌ویژه میگو در ایران، بهداشت و سلامت این منابع غذایی بیش از پیش باید مورد توجه قرار گیرد.

ازآنجایی‌که فلور باکتریایی طبیعی در آب‌ها ی دریاها ممکن است به‌عنوان فلور طبیعی موجود در مواد غذایی دریایی شناخته شود، بهداشت فراورده‌های دریایی از اهمیت بسیار بیش‌تری برخوردار است. پوشش لزج سطح بدن آبزیان، محیطی مناسب برای رشد باکتری‌هایی همچون انواع *ویبریو* را فراهم می‌کند. انواع بیماری‌زای *ویبریو* معمولاً از طریق مصرف آب و غذاهای دریایی منتقل می‌شوند و شامل *V. cholerae*، *Vibrio parahaemolyticus*، *V. vulnificus*، *V. tubiashi* و *V. fluvial* هستند (Huss, 1994).

ویبریو پاراهمولیتیکوس برای اولین بار در سال ۱۹۵۰ در ژاپن شناسایی شد و به‌عنوان عامل عفونت‌های ناشی از مصرف غذاهای دریایی شناخته شد، که در پی مصرف شیراسو، یک غذای محلی معروف در ژاپن، بیش از ۲۷۲ مورد بیماری و ۲۰ مورد مرگ گزارش گردید (Fujino *et al*., 1953). *ویبریو پاراهمولیتیکوس* از طریق محصولات دریایی نیمه‌پخته مانند ماهی، میگو، نرم‌تنان و همچنین از طریق آب آلوده به فاضلاب منتقل می‌شود. همچنین احتمال دریافت این باکتری از طریق زخم‌های پوستی بسیار بالاست. *ویبریو پاراهمولیتیکوس* در محیط‌های آبی در میان حیوانات دریایی می‌تواند منتقل شود. ابتلا به این باکتری معمولاً با سه عارضه گاستروانتریت، عفونت زخم و سپتی‌سمی همراه می‌باشد. ازین میان گاستروانتریت بسیار شایع است که با علایمی چون اسهال آبکی (گاهی اسهال خونی)، درد شکمی، تهوع، استفراغ، سردرد و تب همراه است (WHO, 2020).

ازآنجایی‌که سیستم تغذیه‌ای صافی‌خواری در میگو وجود ندارد، حضور باکتری *ویبریو پاراهمولیتیکوس* در بافت میگو نسبت به نرم‌تنان که از این نوع تغذیه بهره‌مند هستند، کم‌تر است. با این‌حال، گزارش‌ها نشان می‌دهند که نرخ آلودگی میگو به *ویبریو پاراهمولیتیکوس* در حال افزایش است، و این باکتری به‌ویژه در شرایط خاص محیطی (مانند استرس یا ضعف سیستم ایمنی) می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور خطرناک برای میگو مطرح باشد و بیماری‌های مرتبط با ویبریو را ایجاد کند. طبق دستورالعمل‌های سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا، تعداد باکتری‌های *ویبریو* در هر گرم از مواد غذایی دریایی باید کم‌تر از 10^4 CFU و یا حداکثر 10^3 CFU باشد (WHO, 2020).

بیماری‌زایی باکتری با قابلیت همولیز آن ارتباط نزدیکی دارد. اغلب سویه‌های *ویبریو پاراهمولیتیکوس* که از محیط یا غذا جدا شده‌اند، قدرت بیماری‌زایی ندارند، در حالی که سویه‌های بیماری‌زا عموماً دارای فاکتورهای حدتی همچون thermostable direct hemolysin (همولیزین مستقیم مقاوم به حرارت؛ TDH) و thermostable direct hemolysin-related hemolysin (همولیزین وابسته به همولیزین مستقیم مقاوم به حرارت؛ TRH) هستند. هر دو همولیزین که به ترتیب توسط ژن‌های *tdh* و *trh* کدگذاری می‌شوند، ویژگی‌های مهمی از نظر حدت را برای باکتری فراهم می‌کنند که می‌توان به فعالیت‌های همولیتیک (تخریب گلبول‌های قرمز)، انتروتوکسیک (سم‌زایی در روده) و سیتوتوکسیک (سم‌زایی سلولی) در میزبان اشاره کرد (WHO, 2020). برای تأیید مولکولی سویه‌های *ویبریو پاراهمولیتیکوس*، معمولاً از ردیابی قطعه‌های ژنی r72h و یا tox-R استفاده می‌شود (WHO, 2020).

علاوه بر این، سویه‌های *ویبریو پاراهمولیتیکوس* trh مثبت تقریباً همیشه اوره آز تولید می‌کنند که نقش مهمی در کلونیزاسیون باکتری روی سلول‌های اپیتلیال روده و همچنین در فعال‌سازی سایتوکاین‌های التهابی ایفا می‌کند. با این‌حال، سویه‌های *ویبریو پاراهمولیتیکوسی* که هیچ همولیزینی تولید نمی‌کنند، ممکن است دارای سایر فاکتورهای حدت مهم در عفونت‌های گوارشی باشند. به‌طور کلی، شیوع گونه های *ویبریو* در آبزی پروری تأثیر مستقیمی بر اقتصاد یک کشور دارد و همچنین به‌عنوان تهدیدی برای سلامت عمومی محسوب می‌شود (Ceccarelli *et al*., 2013).

هدف از انجام این مطالعه، ردیابی، تأیید مولکولی و بررسی ژنوتیپی فاکتورهای حدت شامل trh و tdh در جدایه‌های *ویبریو پاراهمولیتیکوس* از نمونه‌های میگوی اخذشده از سطح خرده‌فروشی‌های شهر کرمان می‌باشد. اطلاعات حاصل از این مطالعه می‌تواند در زمینه‌ی مدیریت بهداشتی و برنامه‌ریزی توسط دستگاه‌های متولی و سیاست‌گذار بهداشت جامعه جهت پیشگیری از شیوع بیماری‌های غذا–زاد مورد استفاده قرار گیرد.

روش‌شناسی پژوهش

نمونه‌گیری و آماده‌سازی نمونه‌ها

در مجموع، ۱۱۰ نمونه میگـوی تـازه بـه‌صـورت تصـادفی از مراکـز مختلف خرده‌فروشی در شهر کرمان، واقع در جنـوب‌شـرق ایـران، در تابستان ۱۴۰۱ جمع‌آوری شد. گونه‌های موردبررسـی در ایـن مطالعـه شامل *Penaeus vannamei* (میگوی سفید غربی) و *میگوی سـفید هندی* (*Penaeus indicus*) بودند. ایـن گونـه‌هـا بـه‌دلیـل اهمیـت اقتصـادی و مصـرف گسـترده در بازارهـای محلـی انتخـاب شـدند. میگوهای موردبررسی با میانگین وزنی ۱۵–۲۰ گرم و طـول کـل ۱۰–۱۲ سانتی‌متر انتخاب شدند. انتخـاب ایـن انـدازه‌هـا بـر اسـاس میانگین وزن و طول میگوهای موجود در بازار خرده‌فروشی انجام شد. نمونه‌های میگو در کیسه‌های پلی‌اتیلن، در مجاورت یـخ نگهـداری و بلافاصله به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشـگاه شـهید بـاهنر کرمـان منتقل گردید. پس از انتقال به آزمایشگاه، نمونه‌های میگو بـا اسـتفاده از دستگاه هموژنایزر، هموژن شده و سپس ۲۵ گرم از هر نمونه میگـو در ۲۲۵ میلی‌لیتر محلول نمکی فیزیولـوژیکی بـا غلظـت ۳ الـی ۳/۵ درصد اضافه شـد. سـپس، نمونـه‌هـا بـه محـیط آب پپتـون قلیـایی (Alkaline Peptone Water) اضـافه و در دمـای ۳۷ درجـه سانتی‌گراد در گرم‌خانه قرار گرفتند. پـس از آن، نمونـه‌هـا در محـیط Thiosulfate-Citrate-Bile Salts-Sucrose Agar (TCBS) کشت داده شدند و برای مـدت ۱۸–۲۴ سـاعت در دمـای ۳۷ درجـه سانتی‌گراد در گرم‌خانه قرار گرفتند.

پس از اتمام زمان انکوباسیون، کلنی‌های رشد یافته در محیط TCBS به‌عنوان کلنـی‌هـای *ویبریـو* موردبررسـی قـرار گرفتنـد. کلنی‌های *ویبریو* در سطح این محیط به رنگ زرد–خاکسـتری بـا تلالو آبی نمایان مـی‌شـوند. *ویبریـو پـاراهمولیتیکوس* بـه‌صـورت کلنی‌های سبز یا آبی با ضخامت ۲–۳ میلی‌متـر ظـاهر مـی‌شـود. سپس کلنی‌های سبز–آبی برای آزمایش‌های بیوشیمیایی از جملـه رنگ‌آمیـزی گـرم، آزمـایش‌هـای اکسـیداز و کاتـالاز، کشـت در محـیط‌هـای Sulfide-Indole-Motility (SIM) و Triple Sugar Iron (TSI) و سایر آزمایش‌های بیوشیمیایی توصیف‌شده توسط Hosseini *et al*. (2004) مورد استفاده قرار گرفتند.

استخراج DNA و PCR

ژنـوم سـویه‌هـای *ویبریـو پـاراهمولیتیکوس* بـا اسـتفاده از روش جوشاندن استخراج شد. یک کلنی از هر نمونه در ۴۰۰ میکرولیتـر آب مقطر استریل تعلیق شد و در دمای ۹۸–۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در بلوک حرارتی (اپندورف، آلمان) به‌مدت ۱۰–۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس، لیزات‌های به‌دست‌آمده سـانتریفیوژ شـدند (۱۳۰۰۰ × گرم، ۲ دقیقه) و سوپرناتانت آن‌ها به یک میکروتیوب جدید منتقل گردیدند و در دمای ۲۰– درجه سـانتی‌گـراد بـه‌عنـوان الگوهـای DNA برای مراحل بعدی ذخیره شدند.

برای تأیید مولکولی و تعیین فاکتورهای حدت *ویبریـو* جداسـازی شده از میگو از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) اسـتفاده شـد. در واکنش PCR برای تأیید گونه *ویبریو پاراهمولیتیکوس*، به ردیـابی *toxR* پرداخته شد (Kim *et al*., 1999). هر واکـنش PCR شـامل ۱۲/۵ میکرولیتـر 2X Taq PCR Master Mix (پـارس تـوس، ایران)، ۰/۴ میکرومولار از هر پرایمـر فـوروارد و معکـوس (Kim *et al*., 1999; Bej *et al*., 1999) و ۲/۵ میکرولیتـر DNA بـاکتری بود و برای به حجم رساندن حجم کل واکـنش بـه ۲۵ میکرولیتـر، ۸ میکرولیتر آب استریل اضافه شد.

برنامه حرارتی برای PCR شامل مراحلی چون واسرشت اولیه (۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه)، ۳۵ چرخه حرارتی شامل واسرشت (۹۵ درجه سانتی‌گـراد بـه‌مـدت ۳۰ ثانیـه)، اتصـال (۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه)، تکثیر (۷۲ درجـه سـانتی‌گـراد به‌مدت ۱ دقیقه) و در نهایت، یک مرحله تکثیـر نهـایی در دمـای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه بود. برای کنترل مثبت، ژنوم سویه *ویبریو* ATCC17802 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران خریـداری شـده و اسـتخراج گردیـد. همچنـین، آب مقطـر به‌عنوان کنترل منفی در روش PCR استفاده شد.

تمام نمونه‌هایی که از نظر بـاکتری *ویبریـو پـاراهمولیتیکوس* مثبت بودند، با استفاده از برنامه PCR برای حضور ژن‌های حدت *tdh* و *trh* موردبررسی قرار گرفتنـد (Hosseini *et al*., 2004). توالی پرایمرهای ژن‌های حدت *ویبریو پاراهمولیتیکوس* در جـدول (۱) آورده شده است. فرایند PCR جهت ردیـابی ژن‌هـای حـدت *ویبریو پاراهمولیتیکوس* در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتـر شـامل ۱۰ میکرولیتر حـاوی X Taq PCR Master Mix۲ (پـارس‌تـوس، ایران)، ۰/۵ میکرومولار از هر پرایمر فوروارد و معکـوس (جـدول ۱)، ۲/۵ میکرولیتر DNA باکتری و برای به حجم رساندن حجـم کل واکنش از ۱۱/۵ میکرولیتر آب استریل استفاده شده است.

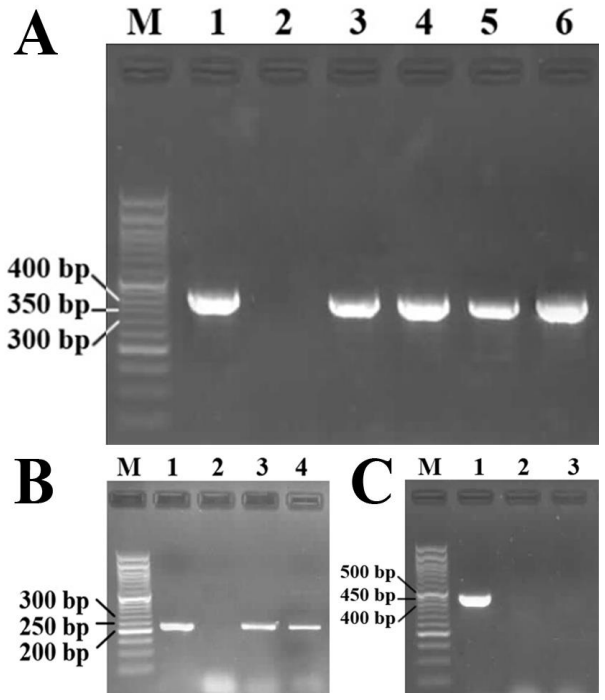
برنامه حرارتی برای تکثیر ژن‌هـای مـورد نظـر عبـارت بودنـد از: ۱۲۰ ثانیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ ثانیه در ۹۵ درجه سـانتی‌گـراد، ۲۰ ثانیه در ۵۶ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیـه در ۷۲ درجـه سـانتی‌گـراد (تکرار ۳۵ سیکل دمایی) و یک مرحله نهایی به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد. سپس محصـولات PCR در ژل آگـارز ۱/۳ درصـد به‌مدت ۶۰ دقیقه در ولتاژ ۸۰ ولت الکتروفورز شدند.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورداستفاده در مطالعه

ژن	نام پرایمر	توالی پرایمر	اندازه محصول	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد)
trh	TRH -F	TTGGCTTCGATATTTTCAGTATCT	۴۸۶	۵۶
	TRH -R	CATAACAAACATATGCCCATTTCC		درجه سانتی‌گراد
tdh	TDH-L	GTAAAGGTCTCTGACTTTTGGAC	۲۷۰	۵۶
	TDH-R	TGGAATAGAACCTTCATCTTCACC		درجه سانتی‌گراد
toxR	toxR-F	ATACGAGTGGTTGCTGTCATG	۳۶۸	۶۰
	toxR-r	GTCTTCTGACGCAATCGTTG		درجه سانتی‌گراد

یافته‌های پژوهش

نتایج نشان می‌دهد که از کل ۱۱۰ نمونه میگو کشت داده شده بر روی محیط TCBS آگار، تعداد ۷۲ نمونه (۶۵/۴۵ درصد) دارای کلنی های سبز یا سبز-آبی بودند. فراوانی *ژن tox* در میگو به منظور تأیید تشخیص *ویبریو پاراهمولیتیکوس* نشان داد که از ۷۲ نمونه، تعداد ۱۷ نمونه (۲۳/۶ درصد) از نظر وجود گونه *ویبریو پاراهمولیتیکوس* مثبت شدند. نتایج نشان داد که ژن حدت *tdh* در دو مورد (۲/۷ درصد) از جدایه‌های *ویبریو پاراهمولیتیکوس* مثبت بود و برای ژن *trh* هیچ نمونه‌ای، مثبت ارزیابی نشد.



شکل ۱. ژل الکتروفورز محصولات PCR. A) M: نشانگر (۵۰ جفت باز)، ۱: کنترل مثبت برای ژن *tox* (۳۶۸ جفت باز)، ۲: کنترل منفی. ۳،۴،۵ و ۶: نمونه‌های مثبت. B) M: نشانگر (۵۰ جفت باز)، ۱: کنترل مثبت، ۲: کنترل منفی برای ژن *tdh* (۲۷۰ جفت باز). ۳و ۴: نمونه مثبت. C) M: نشانگر (۵۰ جفت باز)، ۱: کنترل مثبت، ۲: کنترل منفی برای ژن *trh* (۴۸۶جفت باز)، ۳: نمونه منفی.

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش، آلودگی نمونه‌های میگوی چندین فروشگاه عرضه‌کننده، به *ویبریو پاراهمولیتیکوس* موردبررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که شیوع این گونه کم‌تر از ۲۵ درصد بود. مطالعه‌ای انجام‌شده توسط Raghunath *et al*. (2008)، میزان آلودگی به این باکتری را در غذاهای دریایی جزایر جنوب‌غربی هندوستان حدود ۷۵ درصد گزارش کرد. همچنین، نتایج بررسی کولاکوگلو و همکاران نشان می‌دهد که از بین ۳۰ نمونه میگویی که از سواحل ترکیه صید شده بودند، ۴۶/۷ درصد نمونه‌ها به *ویبریو پاراهمولیتیکوس* آلوده بودند (Colakoglu *et al*., 2006). دلایل اختلاف در شیوع این گونه می‌تواند به عواملی مانند روش پرورش (پرورشی یا آزاد)، نحوه نمونه‌برداری، تعداد نمونه‌ها، روش‌های آزمایش، مکان مطالعه و فصل سال بستگی داشته باشد.

میزان شیوع کل *ویبریو پاراهمولیتیکوس* که در این مطالعه مشاهده شده است، از آنچه به‌تازگی در نمونه‌های میگو از مالزی توسط Sujeewa *et al*. (2009) گزارش شده است، بیش‌تر است؛ با این‌حال، کم‌تر از نتایج گزارش‌شده از تایلند (۷۵/۸ درصد) (Wong *et al*., 1999)، تایوان (۷۰/۲ درصد) (Wong *et al*., 1999) و چین (۳۹/۴ درصد) (Yang ZhenQuan *et al*., 2008) می‌باشد. نتایج ما از نتایج گزارش‌شده از ترکیه (۰/۸ درصد) (Colakoglu *et al*., 2006) و برخی مطالعات در ایران (۲/۱ درصد) (Hosseini *et al*., 2004) بالاتر است.

ویبریو پاراهمولیتیکوس به‌طور شایعی از میگو جداسازی می‌شود، و احتمالاً داده می‌شود که شکاف‌ها و زائده‌های موجود در آناتومی میگو ممکن است به‌عنوان مخازن این باکتری عمل کنند (Amin & Salem, 2012). شیوع گونه‌های *ویبریو* برای بررسی دستورالعمل‌ها در تجزیه و تحلیل مخاطرات بهداشتی در بازارهای خرده‌فروشی و همچنین برای ارزیابی خطر احتمالی برای مصرف‌کنندگان بسیار مهم است (Tanveer *et al*., 2024). علاوه

بر این، توزیع فصلی برای گونه‌های ویبریو نیز گزارش شده است که ماه‌های تابستان بالاترین احتمال جداسازی را دارند دمای بالاتر از ۴ درجه سانتی‌گراد یا عدم نگهداری مناسب و عوامل محیطی مانند رطوبت، شوری، و بهداشت ضعیف در محیط خرده‌فروشی نیز می‌توانند به افزایش بار باکتریایی کمک کنند (Lamon *et al*., 2019). گزارش شده است که بیماری‌زایی *ویبریو* به ترکیبی از عوامل مختلف بستگی دارد؛ وجود سموم، همولیزین‌ها، کپسول، پروتئازها و غیره (Bhunia & Bhunia, 2018). اگرچه *ویبریو پاراهمولیتیکوس* یکی از علل اصلی بیماری‌های ناشی از غذا است، سویه‌های محیطی بیماری‌زا به ندرت جدا می‌شوند.

بیماری‌زایی باکتری *ویبریو پاراهمولیتیکوس* به‌طورعمده به ژن‌های *tdh* و *trh* نسبت داده می‌شود (Bhunia & Bhunia, 2018). با این‌حال، در این مطالعه، ژن *trh* شناسایی نشد. گزارش شده است که سویه‌های *ویبریو پاراهمولیتیکوس* که این ژن‌ها را ندارند، هنوز بیماری‌زا در نظر گرفته می‌شوند (Bhunia & Bhunia, 2018). این مطالعه نشان می‌دهد، که درصد کمی از جدایه‌های *ویبریو پاراهمولیتیکوس* حاوی ژن *tdh* (۲/۷ درصد) بودند که این نتیجه با مطالعات دیگر تا حدودی مطابقت داشت (Hara-Kudo *et al*., 2003). Ottaviani *et al*. (2005) با بررسی غذاهای دریایی نشان دادند که از ۱۴۴ سویه *ویبریو پاراهمولیتیکوس*، ۳۵ سویه (۲۴/۳ درصد) دارای حداقل یکی از دو ژن مذکور بودند. بسیاری از مطالعات اشاره دارند که بیش از ۹۰ درصد از سویه‌های *ویبریو پاراهمولیتیکوس* دارای *tdh* هستند (Gutierrez West *et al*., 2013).

وجود *ویبریو پاراهمولیتیکوس* ناقل ژن‌های حدت در غذاهای دریایی به‌عنوان یک خطر برای سلامت عمومی در نظر گرفته می‌شود (Zarei *et al*., 2012). بسیاری از غذاهای دریایی در مناطق گرمسیری، به‌ویژه آسیای جنوب‌شرقی، دارای خطر بالای حضور *ویبریو پاراهمولیتیکوس* با درصدهایی بین ۲۰ تا ۷۰ درصد هستند (Chakraborty *et al*., 2008). آب‌های دریایی در مناطق گرمسیر یک عامل مهم در بروز درصد بالای *ویبریو پاراهمولیتیکوس* در نمونه‌های غذاهای دریایی است. برخی از پژوهش‌گران گزارش کرده‌اند که پتانسیل بیماری‌زابودن یک غذای آلوده به *ویبریو پاراهمولیتیکوس* فقط از فاکتور تعداد سلول باکتریایی در ماده غذایی پیروی نمی‌کند، زیرا برخی مطالعات باکتری *ویبریو پاراهمولیتیکوس* بیماری‌زا را در غذاهایی شناسایی کردند که حاوی این باکتری با تعدادی کم‌تر از حد خطرناک آن یعنی 10^4 عدد باکتری در گرم بود (Chakraborty *et al*., 2008). این نشان می‌دهد که غذاهای دریایی با تعداد *ویبریو پاراهمولیتیکوس* کل کم‌تر از حد خطرناک نیز کاملاً ایمن نیستند و تعداد کل باکتری، شاخص قابل اعتمادی برای بیماری‌زابودن یا نبودن ماده غذایی نیست.

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

ویبریو پاراهمولیتیکوس، یک باکتری رایج در محیط‌ها و غذاهای دریایی است که اگرچه برای اکثر افراد بیماری‌زا نیست، اما باعث عفونت‌های گاستروانتریتی می‌شود و می‌تواند عوارض جدی برای افراد با سیستم ایمنی ضعیف داشته باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که آلودگی به *ویبریو پاراهمولیتیکوس* در میگوهای عرضه‌شده در خرده‌فروشی‌های شهر کرمان در سطح ۲۳ درصد می‌تواند نگرانی‌هایی را برای سلامت مصرف‌کنندگان به‌ویژه در افراد با سیستم ایمنی ضعیف به‌همراه داشته باشد.

مصرف‌کنندگان باید به اهمیت کامل پخته‌شدن غذاهای دریایی توجه کنند تا از خطر عفونت با *ویبریو پاراهمولیتیکوس* جلوگیری شود. استفاده از روش‌های میکروبیولوژیکی برای بررسی کیفیت میکروبی محصولات دریایی می‌تواند بهداشت عمومی و اطمینان مصرف‌کنندگان را افزایش دهد. توسعه استانداردهای سخت‌گیرانه برای تست *ویبریو پاراهمولیتیکوس* و سایر میکروب‌ها در محصولات دریایی می‌تواند بهبود ایمنی و بهداشت غذایی را تضمین کند. به‌طور کلی، این مطالعه به اهمیت کنترل بهداشتی و میکروبیولوژیکی در محصولات دریایی و افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان از خطرات مرتبط با مصرف آن‌ها تأکید می‌کند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان وجود ندارد.

References

Amin, R. A., & Salem, A. M. (2012). Specific detection of pathogenic Vibrio species in shellfish by using multiplex polymerase chain reaction. *Global Veterinaria*, *8*(5), 525-531.

Bhunia, A. K., & Bhunia, A. K. (2018). Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, and Vibrio vulnificus. *Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis*, 315-329.

Ceccarelli, D., Hasan, N. A., Huq, A., & Colwell, R. R. (2013). Distribution and dynamics of epidemic and pandemic Vibrio parahaemolyticus virulence factors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *3*, 97.

Chakraborty, R. D., Surendran, P. K., & Joseph, T. C. (2008). Isolation and characterization of Vibrio parahaemolyticus from seafoods along the southwest coast of India. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *24*(10), 2045-2054.

Colakoglu, F. A., Sarmasik, A., & Koseoglu, B. (2006). Occurrence of Vibrio spp. and Aeromonas spp. in shellfish harvested off Dardanelles cost of Turkey. *Food Control*, *17*(8), 648-652.

Fujino, T., Okuno, Y., Nakada, D., Aoyama, A., Fukai, K., Mukai, T., & Ueho, T. (1953). On the bacteriological examination of shirasu-food poisoning. *Medical Journal of Osaka University*, *4*(2/3), 299-304.

Hara-Kudo, Y., Sugiyama, K., Nishibuchi, M., Chowdhury, A., Yatsuyanagi, J., Ohtomo, Y., Saito, A., Nagano, H., Nishina, T., & Nakagawa, H. (2003). Prevalence of pandemic thermostable direct hemolysin-producing Vibrio parahaemolyticus O3: K6 in seafood and the coastal environment in Japan. *Applied and Environmental Microbiology*, *69*(7), 3883-3891.

Hosseini, H., Cheraghali, A. M., Yalfani, R., & Razavilar, V. (2004). Incidence of Vibrio spp. in shrimp caught off the south coast of Iran. *Food Control*, *15*(3), 187-190.

Huss, H. H. (1994). *Assurance of seafood quality* (Issue 334). Food & Agriculture Org.

Gutierrez West, C. K., Klein, S. L., & Lovell, C. R. (2013). High frequency of virulence factor genes tdh, trh, and tlh in Vibrio parahaemolyticus strains isolated from a pristine estuary. *Applied and environmental microbiology*, *79*(7), 2247-2252.

Kim, Y. B., Okuda, J. U. N., Matsumoto, C., Takahashi, N., Hashimoto, S., & Nishibuchi, M. (1999). Identification of Vibrio parahaemolyticus strains at the species level by PCR targeted to the toxR gene. *Journal of Clinical Microbiology*, *37*(4), 1173-1177.

Lamon, S., Consolati, S. G., Fois, F., Cambula, M. G., Pes, M., Porcheddu, G., Agus, V., Esposito, G., Mureddu, A., & Meloni, D. (2019). Occurrence, seasonal distribution, and molecular characterization of Vibrio vulnificus, Vibrio cholerae, and Vibrio parahaemolyticus in shellfish (Mytilus galloprovincialis and Ruditapes decussatus) collected in Sardinia (Italy). *Journal of Food Protection*, *82*(11), 1851-1856.

Lipp, E. K., & Rose, J. B. (1997). The role of seafood in foodborne diseases in the United States of America. *Revue Scientifique et Technique-Office International Des Epizooties*, *16*(2), 620-640.

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 Microbiology*, *22*(6), 585-590.

Raghunath, P., Acharya, S., Bhanumathi, A., Karunasagar, I., & Karunasagar, I. (2008). Detection and molecular characterization of Vibrio parahaemolyticus isolated from seafood harvested along the southwest coast of India. *Food Microbiology*, *25*(6), 824-830. https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.04.002

Sujeewa, A. K. W., Norrakiah, A. S., & Laina, M. (2009). Prevalence of toxic genes of Vibrio parahaemolyticus in shrimps (Penaeus monodon) and culture environment. *International Food Research Journal*, *16*(1).

Tanveer, M., Ntakiyisumba, E., & Won, G. (2024). Prevalence and risk factors of seafood-borne Vibrio vulnificus in Asia: a systematic review with meta-analysis and meta-regression. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1363560.

WHO. (2020). *Risk assessment tools for Vibrio parahaemolyticus and Vibrio vulnificus associated with seafood*. World Health Organization.

Wong, H.-C., Chen, M.-C., Liu, S.-H., & Liu, D.-P. (1999). Incidence of highly genetically diversified Vibrio parahaemolyticus in seafood imported from Asian countries. *International Journal of Food Microbiology*, *52*(3), 181-188.

Wong, H., Ting, S., & Shieh, W. (1992). Incidence of toxigenic vibrios in foods available in Taiwan. *Journal of Applied Microbiology*, *73*(3), 197–202.

Yang ZhenQuan, Y. Z., Jiao XinAn, J. X., Zhou XiaoHui, Z. X., Cao GuoXiang, C. G., Fang WeiMing, F. W., & Gu RuiXia, G. R. (2008). *Isolation and molecular characterization of Vibrio parahaemolyticus from fresh, low-temperature preserved, dried, and salted seafood products in two coastal areas of eastern China.*

Zarei, M., Borujeni, M. P., Jamnejad, A., & Khezrzadeh, M. (2012). Seasonal prevalence of Vibrio species in retail shrimps with an emphasis on Vibrio parahaemolyticus. *Food Control*, *25*(1), 107-109.