



بررسی فراوانی ویبریو پاراهمولیتیکوس جدا شده از ماهی های دریای خزر و تعیین الگوی مقاومت آنتی باکتریال

الهه یزدان پناه^۱، زهرا رجبی^{۲،۳}، محمد کاظم شریفی یزدی^{۳،۴}، محمد مهدی سلطان دلال*^{۱،۲}

۱- بخش میکروبی شناسی غذایی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- مرکز تحقیقات زئونوز (بیماریهای مشترک بین و انسان و حیوان)

۴- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۸

چکیده

ویبریو پاراهمولیتیکوس یک باکتری دریایی و دهانه رودخانه است که در اثر طغیان های ناشی از غذا به صنعت آبزیان آسیب می رساند و تهدیدی بزرگ برای ایمنی مواد غذایی و همچنین سلامت انسان است. سالانه گزارشات فراوانی از وقوع مسمومیت های غذایی ناشی از مصرف غذاهای دریایی آلوده به باکتری های گونه ویبریو، منتشر می شود. مطالعه حاضر به منظور بررسی فراوانی ویبریو پاراهمولیتیکوس جدا شده از ماهی های دریای خزر و تعیین الگوی مقاومت آنتی باکتریال انجام پذیرفت. به مدت پنج ماه (تیر ۱۴۰۰ لغایت تیر ماه ۱۴۰۱)، ۲۲۰ نمونه ماهی صید شده از دریای خزر با رعایت شرایط کامل بهداشتی از اداره شیلات گیلان تهیه شد. جهت جداسازی ویبریو پاراهمولیتیکوس پس از غنی سازی در محیط پپتون واتر بافره به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد، یک لوپ در محیط تیو سولفات سترات بایل ساکارز آگار به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد کشت داده شد. روز بعد از کلنی های مشکوک زرد و سبز از تست های افتراقی استاندارد استفاده می شود. ضمناً جهت تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی مقاومت طبق دستورالعمل CLSI، از دیسک های آنتی بیوتیک شرکت MAST استفاده گردید. از مجموع ۲۲۰ نمونه ماهی صید شده از دریای خزر ۱۵۹٪/۷ از نمونه های ماهی آلوده به گونه های ویبریو بودند. فراوانی ویبریو پاراهمولیتیکوس ۱۹٪ گزارش شد که بیشتر از سایر گونه های به دست آمده بود. همچنین نتایج به دست آمده از الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی حاکی از حساسیت این سویه آنتی بیوتیکهای سیپروفلوکساسین (۹۸.۹٪)، جنتامایسین (۸۷.۸٪)، کلرامفنیکل (۹۲.۴٪) و مقاومت آنها به آنتی بیوتیکهای آموکسی سیلین (۹۶.۳٪)، دی اکسی سایکلین (۹۴.۱٪) و تتراسایکلین (۹۲.۳٪) می باشد. نتایج به دست آمده به طور قابل ملاحظه ای بیانگر آلودگی ماهیهای دریای خزر به سایر گونه های ویبریو میباشد که در این میان میزان آلودگی به ویبریو پاراهمولیتیکوس بیشتر از سایر گونه ها می باشد متعاقباً میتواند یک تهدید جدی برای سلامتی مصرف کنندگان غذاهای دریایی محسوب گردد.

واژه های کلیدی: ویبریو پاراهمولیتیکوس، ماهی، دریای خزر، مقاومت آنتی بیوتیکی

* msoltandallal@gmail.com

در ایران در مورد سایر پاتوژن‌های منتقله از غذا مطالعات و بررسی‌های پراکنده در دانشگاه‌ها انجام شده است که در بعضی از مطالعات از بررسی‌های مولکولی هم استفاده شده است. این مطالعات وضعیت بیماری‌های منتقله از غذا را در شهر یا منطقه مورد مطالعه نشان می‌دهد و پر واضح است که قابل تعمیم به کل کشور نیست. لذا شناسایی عوامل ایجادکننده و تشخیص سریع راه درمان در بیماری‌های منتقله از غذا، کاهش شیوع طغیان‌های ناشی از بیماری‌های منتقله از غذا و کمک به مدیران و برنامه ریزان به منظور برنامه ریزی در جهت پیشگیری و کنترل بیماری‌های منتقله از غذا در مرکز مدیریت بیماری‌ها از اهداف مهم مطالعات انجام شده است (۱۰-۱۲).

مواد و روش‌ها

به مدت پنج ماه (تیر ۱۴۰۰ لغایت آبان ماه ۱۴۰۰)، ۲۲۰ نمونه ماهی صید شده از دریای خزر با رعایت شرایط کامل بهداشتی از اداره شیلات گیلان تهیه شد.

معیارهای ورود به مطالعه شامل:

۱. نمونه‌های ماهی که شامل گونه‌های مورد نظر برای مطالعه باشد. (سفید، کفال، کپور، سوف)
 ۲. نمونه‌هایی که برای ارسال آنها به آزمایشگاه دمای ۳-۴ درجه سانتیگراد رعایت شده باشد.
- در غیر اینصورت نمونه‌ها وارد مطالعه نمی‌گردید.

محاسبه حجم نمونه و تعداد آن:

با توجه به شیوع متوسط ۲۲ درصد ویبریو پاراهمولیتیکوس در ماهی بر اساس مقاله ۲۰۱۴، صفرپوردی‌کردی (۳) و با سطح اطمینان ۹۵ درصد نسبت مذکور طوری برآورد شد که خطای برآورد حداکثر ۵ درصد باشد. بنابر این تعداد نمونه لازم از فرمول زیر بدست آمد:

مقدمه

ویبریو پاراهمولیتیکوس از خانواده ویبریوناسه یک باکتری گرم منفی میله‌ای و دارای تاژک قطبی و هالوفیل است که می‌تواند حاوی ژن‌های تولیدکننده توکسین باشد. این باکتری در آب‌های ساحلی سراسر جهان وجود دارد. به همین دلیل ماهیان آبهای شور، میگو، صدف از منابع اصلی این باکتری هستند که در صورت مصرف غذاهای دریایی به شکل خام یا نیم‌پز موجب اسهال و گاستروانتریت به خصوص در کشورهای آسیایی و آسیای شرقی می‌شوند (۱،۲). امروزه در ایران به علت افزایش مراکز تهیه و توزیع مواد غذایی نظیر رستوران‌ها و مراکزی که به‌طور عمدی در عرضه مواد غذایی دخالت دارند و عدم پخت کافی مواد غذایی از جمله غذاهای دریایی باعث زیاد شدن آمار مبتلایان به این قبیل بیماری‌ها شده است به‌عنوان یک چالش جهانی مطرح بوده و کشورها در تلاش‌اند تا با بررسی‌های آگاهانه در جهت شناخت عوامل و کنترل و پیشگیری آنها برآیند (۳-۵).

ویبریو پاراهمولیتیکوس یکی از علل شایع گاستروانتریت در انسان می‌باشد که به‌ویژه در کشورهای آسیایی و آسیای شرقی به دلیل بالا بودن میزان مصرف غذاهای دریایی دیده می‌شود. علائم این بیماری شامل اسهال آبکی یا خونی همراه با کرامپ‌های شکمی، تهوع، استفراغ، سر درد و تب با درجه حرارت پایین است (۶-۸).

در ایران اطلاعات روشن و ارزشمندی در مورد بار آلودگی میکروبی در ماهی و فرآورده‌های آن، میگو و خرچنگ صید شده از خلیج فارس بدست آمده است. که نشان می‌دهد مصرف این فرآورده‌ها به شکل خام و نیم‌پز می‌تواند موجب بروز مشکلات گوارشی مانند اسهال و گاستروانتریت به خصوص در افراد ریسک بالا شود (۳،۹).

$$n = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 \times p \times (1-p)}{d^2}$$

$$P=0.22$$

$$\alpha = 0.05$$

$$d=0.25p = 0.25 \times 0.22 = 0.055$$

$$1.96^2 \times 0.22 \times (1-0.22)$$

220 ~

$$0.00302$$

کلنی های خالص باکتری که به عنوان ویبریو پاراهمولیتیکوس تایید شده بودند روی محیط نوترینت آگار کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند. کلنی های خالص از کشت تازه به محلول سرم فیزیولوژی ۰/۹٪ اضافه شد تا کدورت معادل نیم مک فارلند ایجاد شود. از سوسپانسیون میکروبی با کدورت نیم مک فارلند با سواب استریل بر روی محیط مولر هینتون آگار در ۳ جهت کشت داده شد. توسط پنس استریل آنتی بیوتیک های مورد نظر با فاصله ۲۵ میلی متر از یکدیگر و ۲۰ میلی متر از لبه پلیت بر روی محیط مولر هینتون قرار گرفت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. سپس پلیت ها از نظر حساسیت و مقاومت طبق دستورالعمل CLSI بررسی شدند (۱۰).
به منظور کنترل کیفی از سویه *P.aeruginase* ATCC 27853 استفاده شد.

نتایج:

از تعداد ۲۲۰ نمونه ماهی مورد بررسی، ۴۲ (۱۹٪) نمونه از نظر *V.parahaemolyticus* به صورت فوتوتیپی و با استفاده از تست های بیوشیمیایی شناسایی و تایید شدند که بیشترین

کشت نمونه های ماهی:

تکه های ۵ گرمی برش خورده از ناحیه شکمی ماهی در ۴۵cc محیط کشت پتون واتر بافره به منظور غنی سازی میکروبی مخلوط گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. روز بعد به اندازه یک لوپ از محلول غنی شده مرحله قبل برداشته و در محیط تیو سولفات سترات بایل ساکارز آگار به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد کشت داده شد. روز بعد کلنی های ویبریو پاراهمولیتیکوس در این محیط به رنگ سبز یا زرد (بسته به تخمیر ساکارز یا عدم تخمیر ساکارز) با ضخامت ۳-۴ میلی متر دیده شدند. جهت بررسی بیشتر از کلنی های مشکوک، جهت رنگ آمیزی گرم، تست اکسیداز، SIM, TSI, MRVP تست اوره آز، تست سیمون سترات، تست لیزین دکربوکسیلاز و تست ONPG استفاده گردید (۳).

تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی (روش دیسک دیفیوژن)

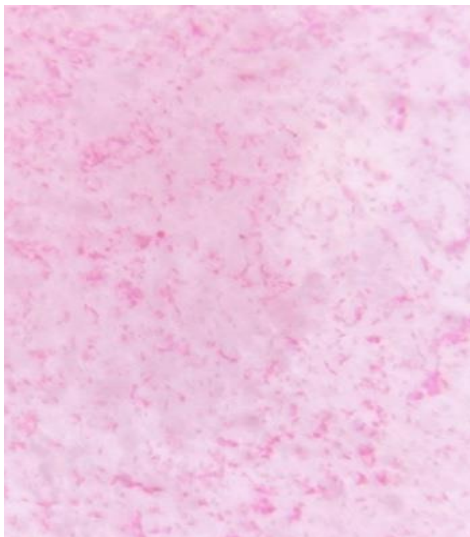
درصد فراوانی این سویه در ماهی کفال و کمترین درصد فراوانی در ماهی سوف مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱، تعداد و نوع نمونه های مورد آزمون و تعداد *V.parahaemolyticus* جدا شده

نوع نمونه	تعداد نمونه مورد آزمایش	تعداد <i>V.parahaemolyticus</i> به دست آمده (درصد)
ماهی سفید	۵۵	۱۰ (۱۸.۱٪)
ماهی کفال	۵۵	۱۹ (۳۴.۵٪)
ماهی سوف	۵۵	۵ (۹.۱٪)
ماهی کپور	۵۵	۸ (۱۴.۵٪)

بودند. به منظور تایید فنوتیپی بیشتر، از آزمون های بیوشیمیایی استفاده شد که نتایج در (جدول ۲) مشاهده می شود.

کلنی های *V.parahaemolyticus* به صورت برجسته و سبز رنگ در محیط *TCBSA* مشاهده می شوند (تصویر ۱) همچنین مشاهده باسیلهای میله ای شکل خمیده به رنگ قرمز (تصویر ۲) شواهد دیگری برای تایید *V.parahaemolyticus*



تصویر ۲. رنگ آمیزی گرم از *V.parahaemolyticus* زیر میکروسکوپ نوری بر روی محیط *TCBSA*



تصویر ۱، کلنی های *V.parahaemolyticus* بر روی محیط *TCBSA*

جدول ۲. خصوصیات بیوشیمیایی *V. parahaemolyticus* جدا شده از نمونه های ماهی

	<i>Oxidase</i>	<i>Urease</i>	<i>Citrate</i>	<i>VP</i>	<i>TSI</i>	<i>Lysin</i>	<i>ONPG</i>	<i>SIM</i>
<i>V. Parahaemolyticus</i>	+	-	+	-	Alk/Acid	+	-	- + +

بررسی فنوتیپی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی *V. parahaemolyticus*

الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های *V. parahaemolyticus* به دست آمده نیز مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاکی از حساسیت آنها به آنتی بیوتیکهای

سیپروفلوکساسین (98.9%)، جنتا مایسین (87.8%)، کلرامفنیکل (92.4%) و مقاومت آنها به آنتی بیوتیکهای آموکسی سیلین (96.3%)، دی اکسی سایکلین (94.1%) و تتراسایکلین (92.3%) می باشد (جدول ۳).

جدول ۳. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی *V. parahaemolyticus* (بر حسب درصد)

<i>Antimicrobial class</i>	<i>Antibiotic</i> (μ g)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (n=42)		
		<i>Sensitivty</i>	<i>Intermediate</i>	<i>Resistance</i>
B-lactams	<i>Ampicillin</i> (10)	17.3	19.2	63.5
	<i>Amoxicillin</i> (25)	0	3.7	96.3
	<i>Ceftazidime</i> (30)	7.5	12.3	80.2
	<i>Meropenem</i> (10)	3.3	20.3	76.4
Phenicols	<i>Chloramphenicol</i> (30)	92.4	6.2	1.4
Tetracycline	<i>Tetracycline</i> (30)	0	7.7	92.3
	<i>Doxycycline</i> (30)	0	5.9	94.1
Fluoroquinolones	<i>Ciprofloxacin</i> (5)	98.9	2.2	0
Aminoglycosides	<i>Gentamicin</i> (10)	87.8	5.1	7.1
Folate pathway inhibitors	<i>Trimethoprim-sulfamethoxazole</i> (25)	83.5	14.3	2.2

بررسی حاضر نشان داد که نمونه های ماهی صید شده از دریای خزر بار آلودگی میکروبی نسبتا بالایی از نظر باکتری های گونه ویبریو، خصوصا ویبریو پاراهمولیتیکوس داشتند. بنابراین مصرف این فراورده های دریایی به شکل خام و یا نیم پز می تواند مشکل آفرین باشد. نتایج مشابه در بررسی های فراوان دیگری نیز گزارش شده است (11، 12).

در بررسی حاضر ویبریو پاراهمولیتیکوس بیشترین میزان شیوع را در نمونه های صید شده داشت 42 (19%). همچنین (38) 17.2% و (32) 14.5% از نمونه های صید شده به ترتیب آلوده به ویبریو میمیکوس و ویبریو وولنیفیکوس بودند.

بحث:

آمار بالای صید ماهی های دریای خزر و همچنین آمار مصرف روزافزون این ماده غذایی توسط خانواده های ایرانی سبب می شوند تا اهمیت بهداشتی آنها بیش از پیش مورد توجه قرار گیرد. بنابراین بررسی حاضر که به منظور مطالعه شیوع گونه های ویبریو به خصوص ویبریو پاراهمولیتیکوس انجام شد از جنبه بهداشت عمومی اهمیت بسیار بالایی دارد.

شده است اما هیچ گونه نمونه مثبتی از نظر حضور ویبریو پاراهمولیتیکوس در نمونه های ماهی صید شده از انگلیس و فرانسه یافت نشد و این نشان می دهد که هر گونه ویبریو در یک منطقه خاص فراوانی بیشتری دارد (۲۵،۲۶).

بررسی انجام پذیرفته در کشور ایتالیا میزان شیوع بسیار بالاتری را برای گونه های ویبریو و خصوصا ویبریو پاراهمولیتیکوس گزارش کرده است (۳۲،۶٪). بررسی دیگری در ویتنام نشان داد که میزان شیوع گونه ویبریو پاراهمولیتیکوس در غذاهای دریایی ۸۶/۲٪ بوده است که به مراتب از نتایج بررسی ما بیشتر است (۲۷،۲۸).

مطالعات انجام شده توسط شیرازی و همکاران (۲۱) در جهت بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در سوشهای ویبریو پاراهمولیتیکوس حاکی از حساسیت این باکتری نسبت به آنتی بیوتیکهای سیپروفلوکساسین و جنتامایسین و کلرامفنیکل و مقاومت آن نسبت به آنتی بیوتیکهای تتراسایکلین و آمپی سیلین و دی اکسی سایکلین میباشد که حاکی از این است که ویبریو پاراهمولیتیکوس هنوز به عنوان یک عامل مهم آلودگی در ماهی و متعاقبا ایجاد گاستروانتریت در اثر مصرف غذاهای دریایی الوده در کشور ما مطرح است. در نتیجه تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی به منظور انتخاب بهترین آنتی بیوتیک و سریعترین روش درمان امری لازم است.

نتیجه گیری:

نتایج به دست آمده بیانگر آلودگی ماهیهای دریای خزر به ویبریو پاراهمولیتیکوس میباشد، و متعاقبا میتواند یک تهدید جدی برای سلامت مصرف کنندگان غذاهای دریایی محسوب گردد. مصرف خام یا نیم پز می تواند سبب بروز مشکلات گوارشی مانند دل درد، اسهال و گاستروانتریت شود. همچنین نظارت صحیح بهداشتی در مراکز صید و توزیع فرآورده های دریایی نیز می تواند از بار آلودگی این فرآورده ها بکاهد.

تشکر و قدردانی:

در این زمینه بررسی های متفاوتی در ایران و سایر نقاط جهان انجام شده است (۱۷-۲۰). میزان شیوع ویبریو پاراهمولیتیکوس در مطالعات انجام پذیرفته در ایران شامل بررسی های جلالی و همکاران (اصفهان) و شیرازی و همکاران (تهران) به ترتیب ۳۹٪ و ۱۰-۵٪ گزارش شده است که از نتایج بررسی حاضر کمتر می باشد (۱۵-۲۱). برعکس مطالعات اصغریور و همکاران (۲۲) نشان داد ۲۲/۸٪ نمونه های میگو بررسی شده در زنجان آلوده به ویبریو پاراهمولیتیکوس بودند، که با نتایج ما (۱۹٪) تقریبا همخوانی داشتند.

در مطالعه ای که توسط علیپور و همکاران صورت گرفت از مجموع ۳۰۰ نمونه آب و رسوب دریای خزر، ۹۸ نمونه (۳۰،۳٪) از نظر ویبریو پاراهمولیتیکوس مثبت بودند که نشان دهنده حضور ویبریو پاراهمولیتیکوس به میزان نسبتا زیادی در آبهای دریای خزر و متعاقبا آلودگی بیشتر ماهیها و آبزیان به این باکتری می باشد که می تواند تایید کننده نتایج بررسی حاضر باشد (۲۳).

ریسی و همکاران با بررسی بر روی ۱۳۰ نمونه میگو و خرچنگ صید شده از خلیج فارس، نشان دادند که ۳۰،۳٪ از نمونه ها آلوده به ویبریو پاراهمولیتیکوس و ویبریو هارووی هستند (۲۴).

اما در بررسی های صورت گرفته توسط صفر پور دهکردی و همکاران در ماهی های صید شده از خلیج فارس آلودگی به ویبریو پاراهمولیتیکوس ۲۲٪ گزارش شده است که نشان دهنده میزان شیوع بالاتری نسبت به سایر مطالعات انجام شده در ایران می باشد که به احتمال زیاد دلیل بالا بودن میزان شیوع ویبریو پاراهمولیتیکوس در نمونه های بررسی شده، قدرت بالاتر این گونه در تحمل نمک آب خلیج فارس بوده است و میتواند یکی از علل اصلی ایجاد گاستروانتریت در اثر مصرف خام یا نیم پز ماهی و سایر فرآورده های دریایی نسبت به محصولات دریایی شمال کشور باشد (۳).

همچنین میزان شیوع ویبریو پاراهمولیتیکوس در نمونه های ماهی صید شده از یرتقال و یونان به ترتیب ۳۵٪ و ۱۴٪ گزارش

بدینوسیله از مدیریت بخش تحقیق و توسعه سازمان شیلات جهت تهیه نمونه های ماهی قردانی میگردد. این مقاله ، بخشی از طرح تحقیقاتی مرکز تحقیقات زئونوز دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۴۶۰۱۹ و اخلاق IR.TUMS.VCR.REC.1398.1069 میباشد. بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه قردانی می گردد.

1. Letchumanan V, Chan KG, Lee LH. *Vibrio parahaemolyticus*: a review on the pathogenesis, prevalence, and advance molecular identification techniques. *Front Microbiol*. 2014; 5: 705.
2. Daniels N A, MacKinnon L, Bishop R, Altekruze S, Ray B, Hammond RM, et al. (2000a). *Vibrio parahaemolyticus* infections in the United States, 1973–1998. *J. Infect. Dis*. 181 1661–1666.
3. Safarpour Dehkordi F, Hosseini S, Rahimi E, Momeni M, Yahaghi E, Khodaverdi Darian E. Investigate the frequency of virulence genes *Vibrio parahaemolyticus* isolated from fish, lobsters and crabs caught from Persian Gulf. *Iran J Med Microbiol*. 2014; 8 (2) :1-7.
4. Soltan Dallal MM, Rahimi Foroushani A, Sharifi –Yazdi S, Sharifi –Yazdi MK, Arfatahery N. Prevalence of *Staphylococcus aureus* in shrimps in Tehran during 2013. *J Med Bacteriol*. 2015, 4 (5, 6):42-46.
5. Raissy M, Moumeni M, Ansari M, Rahimi E. Occurrence of *Vibrio* Spp in Lobster and Crab from The Persian Gulf. *J Food Saefy*. 2012, 32(2):198-203.
6. Shimohata T, Takahashi A. Diarrhea induced by infection of *Vibrio parahaemolyticus*. *J Med Invest*. 2010 Aug; 57(3-4):179-82.
7. Wong HC, Chen MC, Liu SH, Liu DP. Incidence of highly genetically diversified *Vibrio parahaemolyticus* in seafood imported from Asian countries. *Int J Food Microbiol*. 1999 Nov 15; 52(3):181-8.
8. Su YC, Liu C. *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of seafood safety. *Food Microbiol*. 2007 Sep; 24(6):549-58.
9. Ahmadi H, Shafizade A. Rainbow trout contamination to *Salmonella* in 2020 in Charmahal Bakhtiyari province. *Zoonosis* 2021; 1 (1):9-16.
10. Soltan Dallal MM, Motalebi S, Masoumi Asl H, Rahimi Foroushani A, Sharifi Yazdi MK, Rajabi Z et al. Analysis of epidemiological data of foodborne outbreak reported in Iran. *Tehran Univ Med J*. 2015; 72(11):780-88.
11. Soltan Dallal MM, Motalebi S, Masoumi Asl H, Yazdi MKS, Foroushani AR. Antimicrobial investigation on the multi-state outbreak of salmonellosis and shigellosis in Iran. *Med J Islam Repub Iran*. 2020; 34:49.
12. Mirzababaei M, Soltan Dallal MM, Mazaheri Nezhad Fard R, Masoumi Asl H, Pourmoradian M. Frequency of SEA and SEB Producing *Staphylococcus aureus* Isolated from Foodborne- Outbreaks in Iran. *Afr J Microbiol Res*. 2021; 15(3):535-42.
13. Yoon JH, Bae YM, Song H, Lee S, Moon SK, Oh SW, Lee SY. Development of enhanced selective media for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters. *Food Sci Biotechnol*. 2021 Feb 6; 30(3):475-485.
14. Clinical and laboratory standard institute (CLSI), January 2020. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Wayne, PA, M100-30 th ed. replaces M100, 29 th ed.
15. Jalali M, Mahdavi M, Javadi A, Khorvash F, Ataei B, Abedi D. *Vibrio parahaemolyticus* contamination in sea food of Isfahan city. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*. 2009, 46 (14): 33 - 36.
16. Holakoo A, Mirmozaffari N, Foroohesh Tehrani H. Distribution of *Vibrio* species in the waters of the Caspian Sea. *Today's Journal of Internal Medicine*, 2014, 11(3): 16 -20.
17. Powell A, Baker-Austin C, Wagley S, Bayley A, Hartnell R. Isolation of pandemic *Vibrio parahaemolyticus* from UK water and shellfish produce. *Microb Ecol*. 2013; 65(4):924-7.
18. Changsen C, Likhitrattanapisa S, Lunha K, Chumpol W, Jiemsup A, Prachumwat S et al. Incidence, genetic diversity, and antimicrobial resistance profiles of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood in Bangkok and eastern Thailand. *PeerJ*. 2023 May 11:11:e15283.
19. Nsen Bughe R, Mbu Oben P, Oben BO, Mbuh Nji A, Mbuli Ali I, Masumbe Netongo P. Prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* in *Penaeus Monodon* (Fabricius, 1798) from the Douala Coastal Waters of Cameroon: Implication for Food Safety. *International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB)*. 2016, 4(6):10-20.
20. Tra Vu TT, Ha Hoang TT, Fleischmann S, Ngan Pham H, Huong Lai TL, Ha Cam TT et al. Quantification and Antimicrobial Resistance of *Vibrio parahaemolyticus* in Retail Seafood in Hanoi, Vietnam. *Journal of Food Protection*. 2022, 85(5):786-791.
21. Shirazi MH, Ranjbar R, Salari MH, Bagheri Tirtash Y, Najafi A, Sadeghifard, N. Isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from fish in Tehran and their antimicrobial resistance. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2007; 11 (35): 65 - 68.
22. Asgarpoor D, Haghi F, Zeighami H. Detection and Molecular Characterization of *Vibrio Parahaemolyticus* in Shrimp Samples. *The Open Biotechnology Journal*, 2018, 12, 46-50.
23. Alipour M, Issazadeh K, Soleimani J. Isolation and identification of *Vibrio parahaemolyticus* from seawater and sediment samples in the southern coast of the Caspian Sea. *Comparative clinical pathology*, 2014, 23(1): 129-133.
24. Raisi M, Momeni M, Mateenfar A, Mumtaz H, Fadaeifard F. Study Occurrence of

Vibrio species in oysters caught from the Gulf Persic by PCR-Multiplex method. Journal of Marine Biology.1992, -21-26.

25. Odeyemi OA. Incidence and prevalence of Vibrio parahaemolyticus in seafood: a systematic review and meta analysis. SpringerPlus.2016, 5:464.

26. Su YC, Liu C. Vibrio parahaemolyticus: A concern of sea food safety. Food Microbiol. 2007;24(6):549- 558 .

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

28. Tran TH, Yanagawa A H, Nguyen KT, Hara-Kudo Y, Taniguchi T, Hayashidani H. Prevalence of Vibrio parahaemolyticus in seafood and water environment in the Mekong Delta, Vietnam. J Vet Med Sci. 2018; 80(11): 1737–1742.

The frequency of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from Caspian Sea fishes and their antibacterial resistance pattern

Elaheh Yazdanpanah¹, Zahra Rajabi^{2,4}, Mohammad Kazem Sharifi Yazdi^{3,4}, **Mohammad Mehdi Soltan Dallal**^{1,2*}

1-Division of Food Microbiology, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Food Microbiology Research Centre, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Zoonoses Research Centre, Tehran University of Medical Sciences, Iran

4- Department of Medical Laboratory Sciences, Faculty of Paramedicene, Tehran University of Medical Sciences (TUMS), Tehran, Iran

Abstract

Vibrio parahaemolyticus is a marine and estuarine bacterium that damages the aquatic industry due to food-related outbreaks and is a great threat to food safety and human health. Annually, many reports of food poisoning occur due to consumption. Seafood contaminated with *Vibrio* bacteria is released. The present study was conducted in order to investigate the frequency of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from Caspian sea fish and to determine the pattern of antibacterial resistance. For five months (June 2021 to October 2021), 220 samples of fish caught from the Caspian Sea were prepared from the Gilan Fisheries Department with full compliance with health conditions. To isolate *Vibrio parahaemolyticus*, after enrichment in buffered peptone water for 24 hours at 37°C, a loop was cultured in thiosulfate citrate bile sucrose agar medium for 24 hours at 37°C. The day after the colony yellow and green suspects are used from standard differential tests. In addition, to determine the pattern of antibiotic resistance according to CLSI guidelines, antibiotic disks of MAST Company were used. Out of a total of 220 fish samples caught from the Caspian Sea, 75.9% of the fish samples were infected with *Vibrio* species. *Vibrio parahaemolyticus* abundance was reported as 19%, which was more than the other species obtained. Also, the results obtained from the antibiotic resistance pattern indicate the sensitivity of this strain to ciprofloxacin antibiotics (98.9%), gentamycin (87.8%), chloramphenicol (92.4%) and their resistance to amoxicillin (96.3%), doxycycline (94.1%) and tetracycline (92.3%). Our findings showed that the fish studied in the Caspian Sea are infected with *Vibrio parahaemolyticus*, which can be considered a serious threat to the health of seafood consumers.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*, Fish, Caspian Sea, Antibiotic Resistance

* msoltandallal@gmail.com