مجله میکروب شناسی پزشکی ایران

سال ۱ شماره ۲ تابستان ۱۳۸۶، مقاله کوتاه، صفحات ۶۷-۶۹

گزارشی از انتشار کلونال سویه جدیدی از ویبریو کلرا سروتیپ O1 بیوتیپ التور در شمال غرب کشور در تابستان ۱۳۸۶

بی تا بخشی[۱]،حبیب ا... ناصری[۲]، محسن زهرایی، محمد تقی افشانی، محمد رضا پورشفیع*[۱]

۱) بخش باکتری شناسی، انستیتو پاستور ایران

۲) مرکز بهداشت استان کردستان، معاونت امور آزمایشگاههای دانشگاه کردستان

نویسنده رابط: محمد رضا پورشفیع، بخش باکتری شناسی، انستیتو پاستور ایران تلفن: ۶۶۴۰۵۵۳۵ - ۰۲۱ **pour@pasteur.ac.ir**

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۷/۱۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۶/۷/۲۳

وبا یک بیماری اسهالی است که توسط سروتیپ های مختلف ویبریو کلرا ایجاد میشود و می تواند به سرعت به دهیدراتاسیون و مرگ منجر گردد (۱). این بیماری یک مشکل بزرگ کشورهای در حال توسعه و از جمله ایران است. هفت پاندمی جهانی وبا گزارش شده که درطی آن ویبریو کلرا O_1 بیوتیپ التور به بسیاری از کشورهای آسیایی گسترش یافته است (۲).

ویبریو کلرا سروتیپ O_1 به سه ساب سروتیپ اینابا، اوگاوا و هیکوجیما تقسیم شده است. که اساس این زیر سروتیپ‌بندی سه شاخص آنتی‌ژنی ساختار آنتی‌ژن O از LPS آنهاست. هر سه سروتیپ دارای آنتی‌ژن A هستند. علاوه بر این سویه‌های اینابا آنتی‌ژن C را هم بیان می‌کنند، درحالیکه سویه‌های اوگاوا آنتی‌ژن B را همراه آنتی‌ژن A بیان می‌نمایند و سویه های ساب سروتیپ هیکوجیما هر سه آنتی ژن را بیان می کنند. در سرو گروه O_1 ساب سروتیپ ها به دو بیوتیپ متمایز می‌شوند: کلاسیک و التور. سه پاندمی وبا که از اواخر قرن نوزده آغاز شد بواسطه سویه های O_1 کلاسیک ایجاد گردید، در حالیکه بیوتیپ التور برای اولین بار در سال ۱۹۰۶ شرح داده شد و عامل اتیولوژیک برای پاندمی هفتم گردید. اساس تقسیم‌بندی بیوتیپ ها، تفاوت های بیوشیمیایی از قبیل حساسیت به پلی میکسین B هماگلوتیناسیون اریتروسیستهای جوجه، همولیز اریتروسیستهای گوسفند و تست VP می‌باشد (۳).

شیوع غیر منتظره وبا در کشورهایی که قبلاً وبا نداشته‌اند و نیز ظهور سویه‌های جدیدی که قادر به ایجاد فرم های اپیدمی بیماری می باشند، منجر به این گردید که از تکنیک‌های اپیدمیولوژی مولکولی برای بررسی تکامل گونه های *V.cholerae* استفاده شود.

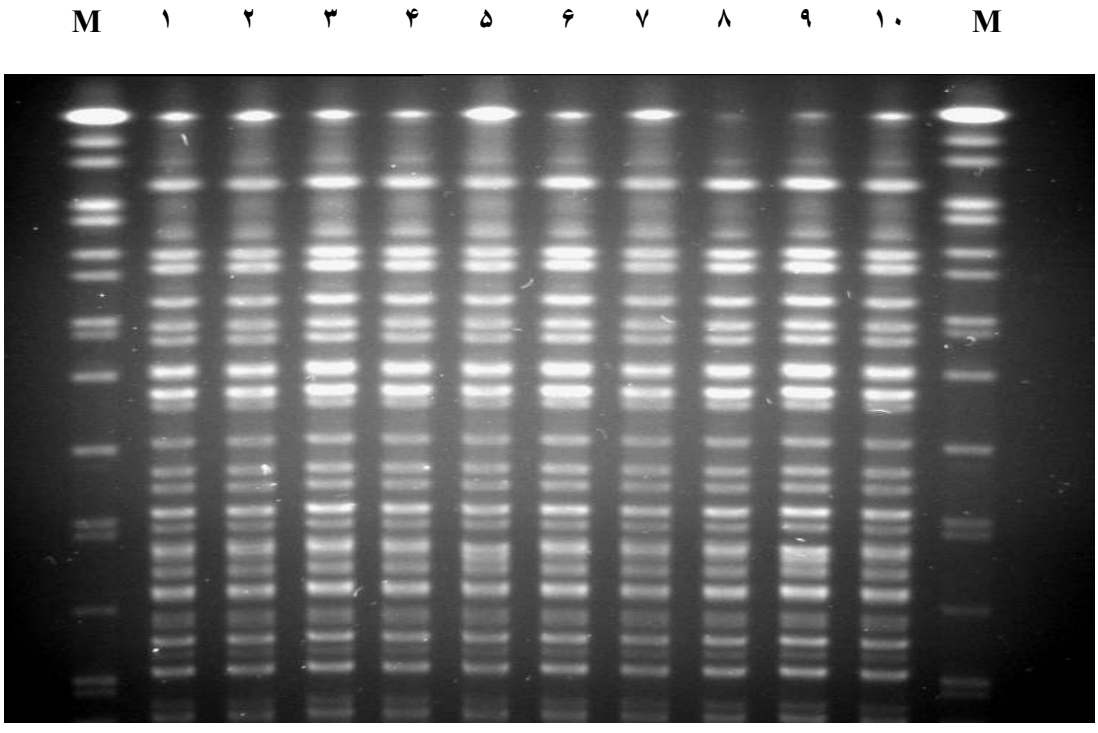
در مهرماه ۱۳۸۶، تعداد ۲۰ نمونه O_1 *V.cholerae* از ساب سروتیپهای مختلف (۸۰٪ اینابا و ۱۵٪ اوگاوا و ۵٪ هیکوجیما) به بخش میکروب شناسی انستیتو پاستور ایران ارسال گردید که پس از تعیین هویت بیوشیمیایی، نمونه ها تحت آنالیز مولکولی قرار گرفتند. نمونه های ارسالی مربوط به شهرهای بانه، مریوان، سرو آباد، بیجار و روستاهای اطراف دراستان کردستان بوده و تاریخ بروز بیماری در بیماران مختلف بین روزهای ۸۶/۶/۳ تا ۸۶/۷/۲ گزارش شده است. وضعیت بالینی بیماران در موارد مختلف متفاوت بوده و حتی در یک مورد بیماری منجر به مرگ گردیده است. از این تعداد ۷ مورد (۳۵٪) بیماری شدید، ۳ مورد (۱۵٪) بیماری با شدت متوسط و ۱۰ مورد (۵۰٪) به بیماری خفیف مبتلا بوده اند. از تعداد ۲۰ بیمار مورد بررسی ۱۱ مورد (۵۵٪) از آب لوله کشی تصفیه استفاده می کردند و منبع آب آشامیدنی ۹ مورد دیگر (۴۵٪) آب چاه بوده است. بیشتر بیماران در گروه سنی ۳۰-۲۰ قرار داشته (۵۰٪) و در میان بیماران یک بیمار یک ساله و یک بیمار ۳ ساله نیز به چشم می خورند.

برای بررسی ارتباط کلونال سویه های بدست آمده تکنیک Pulsed-Field Gel Electrophoresis بر اساس پروتوکل استاندارد Centre of Disease Control (CDC) صورت گرفت و بر این اساس الگوی PFGE سویه ها تعیین گردید. PFGE تکنیکی است که برای بررسی ارتباط کلونال باکتریهای پاتوژن بکار گرفته می شود (۶-۴). این تکنیک بر اساس جداسازی

قطعات بزرگ DNA حاصل از هضم آنزیمی DNA ژنومیک توسط Restriction Enzyme است که DNA را به صورت infrequent برش می دهد. مشخص شده آنالیزDNA ژنومیک *V.cholerae* O_1 که توسط آنزیم *Not*I برش داده شده، توسط PFGE، در جداسازی و تمایز سویه های غیر یکسان، بسیار موثرتر از MEE یا ریبوتایپینگ بوده است(۷). این تکنیک به طور گسترده ای در مطالعات اپیدمیولوژیک صورت گرفته بر روی سویه های مختلف ویبریو کلرا جدا شده از کشورهای مختلف مورد استفاده قرار گرفته است (۸ و ۹). نتایج حاصل از PFGE الگوی یکسانی را در تمام سویه های بررسی شده نشان می دهد که در مقایسه با سویه های سالهای گذشته و با در نظر گرفتن سطح بهداشت عمومی و منبع آب آشامیدنی مبتلایان، بیانگر انتشار کلونال سویه جدیدی از ویبریو کلرا سروتیپ O_1 در شمال غرب کشور می باشد.

جدول ۱: پراکندگی جداسازی سویه های *V.cholerae* جدا شده در سال ۱۳۸۶ از شهرستانهای استان کردستان و اطلاعات مربوط به منبع آب آشامیدنی و وضعیت بالینی بیماران مبتلا و سروتیپ سویه های جدا شده

شهرستان محل جداسازی				محل سکونت		سروتیپ			منبع آب اشامیدنی		وضعیت بالینی		
بانه	مریوان	سرو آباد	بیجار	شهری	روستایی	اوگاوا	اینابا	هیکوجیما	لوله کشی	چاه	شدید	متوسط	خفیف
٪۴۰	٪۵۰	٪۵	٪۵	٪۴۵	٪۵۵	٪۱۵	٪۸۰	٪۵	٪۵۵	٪۴۵	٪۳۵	٪۱۵	٪۵۰



شکل ۱: ستونهای ۱۰- ۱ : تصویر PFGE سویه های ویبریو کلرا ارسالی از استان کردستان، M : سایز مارکر

فهرست مراجع:

1. Damian M, Koblavi S, Carle I. Molecular characterization of *Vibrio cholerae* O1 strains isolated in Romania. *Res. Microbiol.* 1998; 149: 745–755.
2. Boyd EF, Waldor MK. Alternative mechanism of cholera toxin acquisition by *vibrio cholerae*: generalized transduction of CTXΦ by bacteriophage CP-T1. *Infect. Immun.*1999; 5898-5905.
3. Kaper JB, Morris JG, Levine MM. Cholera. *J. Clin. Microbiol*. 1995; 8: 48-86.
4. Autio T, Hielm S, Miettinen M, Sjoberg AM, Aarnisalo K, Bjorkroth J, Mattila-Sandholm T, Korkeala H. Sources of *Listeria monocytogenes* contamination in a cold-smoked rainbow trout processing plant detected by pulsed-field gel electrophoresis typing. *Appl Environ Microbiol.* 1999; 65: 150–155.
5. Maslanka SE, Kerr JG, Williams G, Barbaree JM, Carson LA, Miller JM, Swaminathan B. Molecular subtyping of *Clostridium perfringens* by pulsed-field gel electrophoresis to facilitate food-borne-disease outbreak investigations. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 37: 2209–2214.
6. Ribot EM, Fitzgerald C, Kubota K, Swaminathan B, Barrett TJ. Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of *Campylobacter jejuni*. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1889-1894.
7. Kam KM., Luey CKL, Tsang YM, Law CP, Chu MY, Cheung TL, Chiu AWH. Molecular Subtyping of *Vibrio cholerae* O1 and O139 by Pulsed-Field Gel Electrophoresis in Hong Kong: Correlation with Epidemiological Events from 1994 to 2002. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 4502- 4511.
8. Sinha S, Chakraborty R, De K, Khan A, Datta S, Ramamurthy T, Bhattacharya S K, Takeda Y, Nair GB. Escalating association of *Vibrio cholerae* O139 with cholera outbreaks in India. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40; 2635–2637.
9. Vadivelu J, Iyer L, Kshatriya BM, Puthucheary S. Molecular evidence of clonality among *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor during an outbreak in Malaysia. *Epidemiol. Infect.* 2000; 124: 25–30.