بهداشت و بیماری‌ها

بررسی آلودگی باکتریایی ماهیان کپور نقره‌ای استان خوزستان

نغمه موری بختیاری[۱]، مهرزاد مصباح[۲]، زهرا طولابی دزفولی[۳*]

۷- استادیار بخش میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۸- دانشیار بخش علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۹- دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

Z.tulaby@gmail.com

چکیده

آئروموناس هیدروفیلا یک باکتری همیشه حاضر و فرصت طلب است .در مورد بیماری زایی اولیه یا ثانویه بودن این باکتری، اختلاف نظر وجود دارد؛ اما به هر حال، تحت شرایط استرس زا، از قبیل تغییرات دمایی، دست‌کاری و یا کاهش کیفیت آب، تبدیل به یک پاتوژن می‌شود و ایجاد بیماری می کند .این باکتری، عامل اصلی سپتی سمی هموراژیک در ماهیان آب شیرین است . در این مطالعه تعداد ۱۰ قطعه ماهی کپور نقره ای با علایم بالینی خون‌ریزی پتشی در نواحی مختلف بدن، آسیت،عدم تعادل و بی حالی از یک حوضچه پرورش ماهی در استان خوزستان به آزمایشگاه باکتری شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران انتقال داده شدند. از کلیه ۵ عدد از این ماهیان در محیط کشت آگار خون دار و مک کانکی آگار گشت داده شد. کلنی باکتری‌های رشد یافته بر روی محیط‌های کشت خالص بوده و با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی و PCR با پرایمرهای اختصاصی جنس 16srRNA و اختصاصی گونه 16srRNA و لیپاز، آیروموناس هیدروفیلا تشخیص داده شدند. .نتایج نشان داد که میزان نقش آئروموناس ها و آئروموناس هیدروفیلا در ماهیان دارای علایم بالینی و تلفات ناشی از سپتی سمی باکتریایی مهم بوده و لازم است در خصوص پیشگیری از آن اقدام گردد .

واژه‌های کلیدی: آئروموناس هیدروفیلا ، استان خوزستان ، کپور نقره‌ای

مقدمه:

عفونت‌های باکتریایی، باعث تلفات سنگین در مزارع پرورش ماهی در صنعت آبزی‌پروری می‌شوند .در بین عوامل مسبب بیماری‌های باکتریایی، آئروموناس‌های متحرک به خصوص آئروموناس هیدروفیلا بسیار مورد توجه می‌باشد. آئروموناسها، باکتری‌های بی هوازی اختیاری، گرم منفی، اکسیداز و کاتالاز مثبتی هستند که در خانواده‌ی آئروموناداسه قرار داشته و از دو گروه مجزای غیر متحرک سرما دوست و گروه متحرک مزوفیلیک تشکیل شده‌اند این باکتری، عامل اصلی سپتی سمی هموراژیک در ماهیان آب شیرین از قبیل کپور

ماهیان، مار ماهی، شیر ماهی، گربه ماهی کانال، تیلاپیا و آیو می‌باشد .همچنین با بیماری لکه قرمز، پوسیدگی باله و سندروم زخم همه گیر (EUS) که در کشورهای آسیای جنوب شرقی، مشکل بزرگی محسوب می‌شود، در ارتباط است .این عفونت‌ها ممکن است سبب مرگ و میر بالا در هچری‌های ماهی و سیستم آبی طبیعی شوند . روش جداسازی و شناسایی بیوشیمیایی پاتوژن های باکتریایی، یک روند زمان بر است و برای تشخیص در حد گونه کافی و مناسب نیست. در این مطالعه که هدف بررسی کپور ماهیان دارای علایم بالینی و تلفات گسترده در یکی از مزارع پرورش ماهیان گرمابی استان خوزستان بود از روش PCR در کنار روش‌های معمول جهت تشخیص عوامل باکتریایی استفاده گردید.

مواد و روش‌ها:

۱۰ قطعه به طور راندم صید و با حفظ شرایط مناسب به آزمایشگاه آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال داده شدند. از کلیه این ماهیان که دارای علایم بالینی بودند در محیط آگار خون دار و مک کانکی کشت داده شد. برای این کار، ابتدا سطح بدن به وسیله‌ی الکل ۷۰درصد، ضدعفونی شد و سپس با استفاده از یک اسکالپل استریل، کالبدگشایی صورت گرفت و از اندام‌های داخلی(کلیه) نمونه برداری شد. در زمان کالبد گشایی ارگان‌های داخلی از نظر رنگ و سایز و وجود ضایعات و چرک، مایعات در محوطه بطنی و ارگان‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. پس از کشت نمونه‌ها در محیط کشت برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری شدند. پس از این مدت، از کلونی‌های مشکوک به آیروموناس برداشته و در محیط آگار خون دار کشت خالص تهیه گردید. جهت تایید جدایه‌های مشکوک از تست‌های اکسیداز و کاتالاز و تست‌های بیوشیمیایی افتراقی استفاده گردید. سپس از جدایه‌های مورد بررسی، DNA استخراج گردید و جهت انجام PCR در فریزر ۲۰- نگهداری شد. PCR در دو مرحله یکی جهت تعیین جنس و در مرحله بعد جهت تعیین گونه با دو پرایمر اختصاصی گونه انجام شد (جدول ۱).

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده جهت تعیین جنس و گونه جدایه های آیروموناس

ژن	توالی پرایمر	ویژگی	طول قطعه	رفرانس
16srRNA	5´-TCA TGG CTC AGA TTG AAC GCT-3´ 5´-CGG GGC TTT CAC ATC TAA CTT ATC-3´	جنس	۵۹۹	Porteen et al 2006
16srRNA	5´-GAA AGG TTG ATG CCT AAT ACG TA-3´ 5´-CGT GCT GGC AAC AAA GGA CAG-3´	گونه	۶۸۵	Dorsch et al 1994
Lipase	5´-AAC CTG GTT CCG CTC AAG CCG TTG-3´ 5´-TTG CTC GCC TCG GCC CAG CAG CT-3´	گونه	۷۶۳	Cascon et al 1996

نتایج و بحث :

با بررسی بافت‌های داخلی ۱۰ قطعه ماهی مورد بررسی، تمام آن‌ها دارای آسیت و خون‌ریزی پتشی در سطح بدن بودند. کلنی باکتری‌های رشد یافته بر روی محیط‌های کشت خالص بوده و با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی و PCR با پرایمرهای اختصاصی جنس 16srRNA و اختصاصی گونه 16srRNA و لیپاز، آیروموناس هیدروفیلا تشخیص داده شدند.

آیروموناس هیدروفیلا یک باکتری فرصت طلب موجود در محیط می‌باشد اما قطعاً حضور فراوان آن در محیط ، ریسک آلودگی و درگیری ماهیان را افزایش خواهد داد از این جهت پرورش آبزیان در آب‌های آلوده با فاضلاب ریسک آلودگی ماهیان و نهایتاً آلودگی انسان را افزایش خواهد داد. مطالعات متعددی در خصوص بررسی آلودگی با این باکتری‌ها در محصولات غذایی بخصوص ماهیان صورت گرفته است از جمله مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۴ توسط Eissa و همکاران انجام شده است، نشان داده که شیوع سپتی سمی‌های آئروموناس‌های متحرک در بین تیلاپیاهای پرورشی و وحشی به ترتیب ۱۰ و ۲/۵ درصد و در گربه ماهیان پرورشی و وحشی ۱۸/۷۵ و ۶/۲۵ در صد می‌باشد که این، نشان دهنده‌ی تأثیر استرس در بروز این بیماری است. همچنین Nielsen و همکاران در سال ۲۰۰۱ در مطالعه‌ی خود، روی تلفات ماهیان گرمابی و خرچنگ‌ها چنین گزارش کردند که آیروموناس‌ها در ۷۲ درصد و آئروموناس هیدروفیلا در ۳۰/۵ درصد موارد حضور داشته‌اند، که اگرچه مطالعه‌ی فوق از نظر شرایط پرورش و موقعیت جغرافیایی با مطالعه‌ی حاضر تفاوت دارد، ولی از نظر برآورد نقش آئروموناس‌ها و آئروموناس هیدروفیلا در ماهیان دارای علایم تقریباً هم خوانی دارد.

منابع:

1. Lee, S.; Kim, S.; Oh, Y. and Lee, Y. 2000. Characterization of Aeromonas hydrophila isolated from rainbow trouts in Korea. The Journal of Microbiology, 38 (1): 1-7.
2. Nielsen, M.E.; H L.; Schmidt, A.S.; Qian, D.; Shimada, T.; Shen, J.Y. and Larsen, J.L. 2001.Is Aeromonas hydrophila the dominant motile aeromonas species that causes disease outbreaks in aquaculture production in the Zhejiang province of china?. Disease of Aquatic Organisms, 46 (22): 23-29.
3. Peyghan, R.; Khadjeh, G.H.; Mozarmnia, N. and Dadar, M. 2010. Effect of intraperitoneal and tramuscular injection of killed Aeromonas hydrophila on lymphocytes and serum proteins of common carp, Cyprinus carpio. Advances in Bioscience and Biotechnology, 1:26-29.
4. Porteen, K.; Agarwal, R.K. and Bhilegaonkar, K.N. 2006. PCR Based Detection of Aeromonas from Milk Samples. Journal of Food Technology, 4 (2): 111-115.

5. Swaminathan, T.R.; Rathore, G.; Abidi, R. and Kapoor, D. 2004. Detection of Aeromonas hydrophila by polymerase chain reaction. Indian Journal of Fisheris, 51 (2): 251-254.