

مطالعه سندرم تلفات بچه ماهیان قزل آلاهی رنگین کمان در استانهای تهران و لرستان

● مهدی سلطانی، ● مینا رستمی ● حسینعلی ابراهیمزاده موسوی، ● سید سعید میرزرگر، اعضاء هیأت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ● روزه فلاحی، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات واکنس و سرم سازی رازی - حصارک کرج.

تاریخ دریافت: آبان ماه ۱۳۷۹ تاریخ پذیرش: مهر ماه ۱۳۸۰

مقدمه

طی دهه گذشته سندرم تلفات نوزادان و بچه ماهیان انگشت قد در قزل آلاهی رنگین کمان موجب تلفات و خسارات اقتصادی قابل توجهی در برخی کشورها از جمله دانمارک، فرانسه، انگلیس، فنلاند، آلمان و ایتالیا شده است (۳، ۷، ۹). با توجه به یافته‌های اتیولوژیک و شرایط محیطی زمان بروز بیماری تاکنون اسامی متعددی به این بیماری اطلاق شده که از جمله می‌توان به سندرم تلفات نوزادان قزل آلاهی رنگین کمان^۱، سندرم تلفات نوزادان^۲، بیماری باکتریایی آب سرد^۳، بیماری درجه حرارت پائین^۴ اشاره نمود. مطالعات انجام شده در خصوص شناسایی عامل مولد این تلفات حکایت از درگیری گونه یا گونه‌هایی از *Flavobacterium psychrophilus* (با نام قبلی *Flexibacter psychrophilus*) و باکتریهای گرم منفی *Janthinobacterium lividum* مانند (۲، ۳، ۷، ۹، ۱۰).

سابقه دقیق این بیماری در ایران نامشخص است ولی آنچه مسلم است این است که طی سالهای اخیر گزارشات واصله و مراجعات به عمل آمده حکایت از بروز نوعی تلفات سنگین در مراحل نوزادی پس از جذب کیسه زرده و بعضاً در مراحل انگشت قدی در برخی مزارع پرورشی قزل آلاهی رنگین کمان در استانهای نظیر تهران، آذربایجان غربی، لرستان، چهارمحال و بختیاری و کهگیلویه و بویراحمد می‌نماید. لذا هدف از بررسی حاضر، مطالعه یافته‌های بالینی این نوع تلفات و مقایسه آن با سوابق منتشره در مورد سندرم تلفات نوزادان قزل آلا در سایر مناطق دنیا، مطالعه علل احتمالی عفونی (باکتریایی، انگلی، قارچی) درگیر در بروز این نوع خسارات و نیز مطالعه یافته‌های هیستوپاتولوژیک احتمالی ناشی از این نوع تلفات بوده است.

مواد و روش کار

با توجه به گزارشها و مراجعات تعدادی از پرورش دهندگان قزل آلا از استانهای چهارمحال و بختیاری، لرستان و تهران و اظهار بروز مشکل و تلفات در بچه ماهیان مرحله نوزادی تا انگشت قدی، از سه مزرعه

✓ Pajouhesh & Szazandegi, No 53 PP: 2-5

Study of fry trout mortality syndrome in some farmed rainbow trout in Tehran and Lorestan provinces.

By: Soltani, M, Rostami, M. Ebrahimzadeh - Mousavim H. Mirzargar, S.S. Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran. Fallahi, R. Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj-Iran

Clinical, microbiological and histopathological studies were undertaken to study any possible aetiological agents of fry trout mortality syndrome in some farmed rainbow trout of Tehran and Lorestan provinces during 1998 and 1999. Anorexia, lethargy, darkening of body, swimming in the surface of water, exophthalmia, fin - rot, abdominal distension and hyperemia of internal organs were some of clinical findings. Histopathologically, the affected fish showed hyperemia, hyperplasia and necrosis of gill lamellae, hyperemia/haemorrhage in liver sinusoids as well as a notable accumulation of haemosidrin in the liver and kidney tissues were observed. The results of microbiological studies consisting of bacteriology and parasitology were negative except for a few samples at which were positive for some filamentous, rod and gram negative bacteria observed in the liver and gills.

Keywords: Fry trout mortality syndrome, *Flavobacterium psychrophila*, bacteriology. Histopathology.

چکیده

به منظور مطالعه علل تلفات بچه ماهیان قزل آلاهی رنگین کمان در مزارع تکثیر و پرورش قزل آلاهی رنگین کمان، طی سالهای ۱۳۷۷ و ۱۳۷۸ از برخی مزارع تکثیر و پرورش قزل آلاهی رنگین کمان استانهای لرستان (۸۰ نمونه) و تهران (۳۵ نمونه) نمونه برداری و از نظر یافته‌های بالینی، میکروبیولوژیک (باکتری شناسی، انگل شناسی و قارچ شناسی) و هیستوپاتولوژی مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج مطالعات انجام شده نشان داد که ماهیان از نظر بالینی علائم متفاوتی از قبیل بی‌اشتهایی، کمی تحرک، تیرگی بدن، اگزوفتالمی، پوسیدگی باله، آمدن به سطح آب، پرخونی اندامهای داخلی و تجمع آسیت در محوطه شکمی از خود نشان دادند. از نظر هیستوپاتولوژی پرخونی، هیپرپلازی، نکروز رشته‌های آبششی، پرخونی و خونریزی در سینوزوئیدهای کبدی همراه با وجود مقادیر قابل توجه هموسیدرین در اطراف عروق کبدی و نیز در ناحیه قدامی بافت کلیوی قابل مشاهده بود. از نظر یافته‌های میکروبیولوژیک به جز موارد محدودی که در نمونه‌های بافت کبدی ارگانیزم‌های گرم منفی رشته‌ای (گسترش مستقیم) قابل مشاهده بود، برای سایر موارد منفی بود. کلمات کلیدی: سندرم تلفات نوزادان قزل آلا، *Flavobacterium psychrophila* باکتری شناسی، هیستوپاتولوژی

مخلوط به آب چاه یا رودخانه حاصل از ذوب برف نگهداری می‌شدند. شرایط کیفی آب مورد استفاده در مزارع مذکور، شامل درجه حرارت با دامنه ۸-۱۲، درجه سانتیگراد pH حدود ۷-۸/۲ و اکسیژن محلول mg/l ۱۰-۸ بود. ضمناً مقادیر CO_2 ، آمونیاک و نیتريت در حد قابل قبول بوده است.

تغذیه

غذای تمامی مزارع مذکور از نوع پلت بچه ماهی تولیدی شرکت چینه بوده و به‌علاوه پرورش دهندگان از غذای دستی تازه شامل ضایعات کشتارگاهی (کبد، طحال و خون) نیز استفاده می‌کردند.

اقدامات درمانی

هر گونه اقدامات کنترلی و درمانی که توسط مزرعه‌داران برای کاهش تلفات صورت گرفته بود یادداشت می‌گردید.

مطالعات باکتری‌شناسی

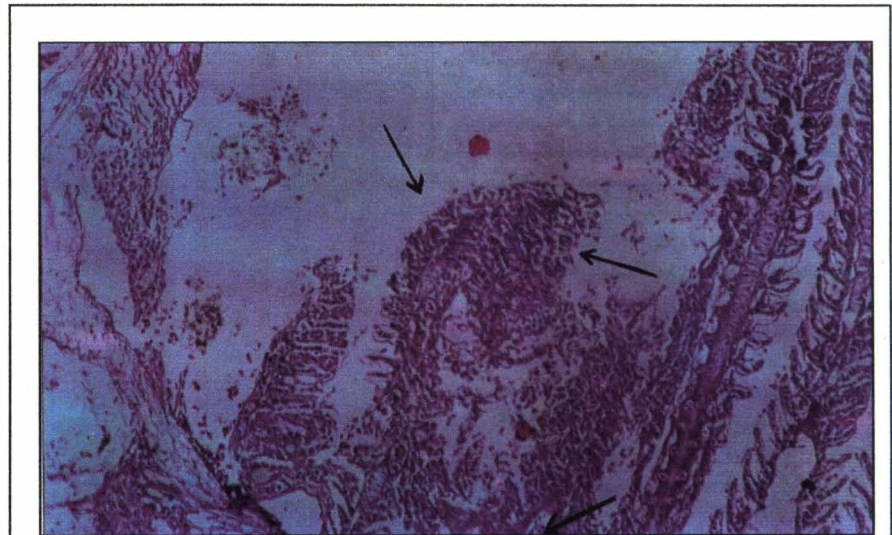
در مجموع از تعداد یکصد نمونه بچه ماهی مبتلا و تیره رنگ برای کشت باکتریایی استفاده گردید. برای کشت باکتریایی ابتدا ماهی را در الک ۷۰٪ به مدت چند ثانیه غوطه‌ور نموده سپس با رعایت شرایط آسپتیک از نواحی بافت کلیه ماهیان توسط پیست پاستور یا لوپ تلقیح روی محیط‌های آگار خون، آگار قلب-مغز، TSA و محیط انتخابی آگار سایتوفاگا کشت باکتریایی داده و محیط‌های کشت در ۱۵-۲۰ درجه سانتیگراد به مدت تا یک هفته نگهداری و در صورت رشد پررنگ باکتریایی نسبت به شناسایی آنها اقدام می‌گردید.

مطالعات انگل‌شناسی

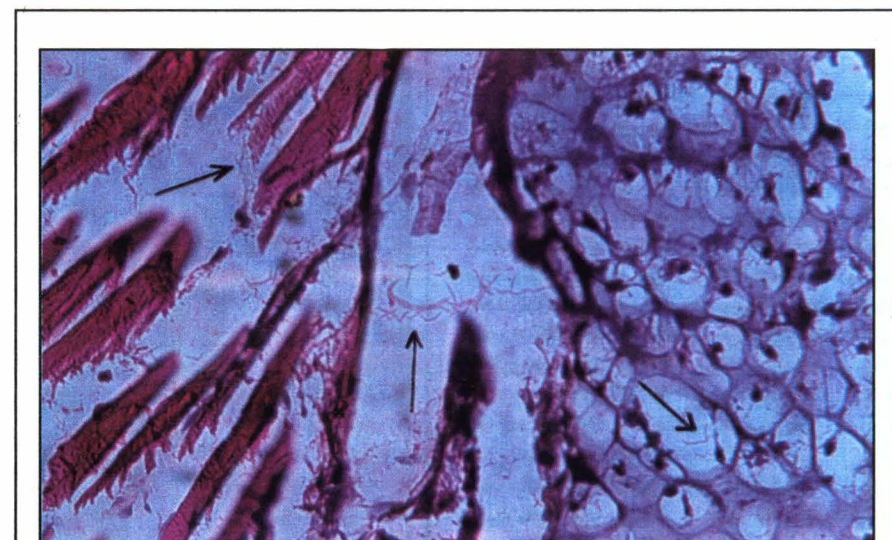
برای انجام مطالعات انگل‌شناسی و بعضاً عوامل قارچی و باکتریهای سطحی (باکتریهای رشته‌ای از نوع فلکسی باکتر / سایتوفاگا) اقدام به تهیه لام مربوط از هر نوع جراحات و موارد غیر طبیعی پوست و آبشش کرده و پس از انجام کشت باکتریایی و قارچی از اندامهای داخلی، از محوطه شکمی و اندامهای مربوطه و دستگاه گوارش نیز برای وجود عوامل احتمالی انگلی لام مربوط تهیه می‌گردید.

مطالعه هیستوپاتولوژیک

علاوه بر ماهیان نمونه‌برداری شده برای مطالعات باکتری‌شناسی و انگل‌شناسی از تعداد ۶۰ نمونه ماهی مبتلا یا در حال مرگ (از هر مزرعه حدود ۲۰ ماهی) برای مطالعات هیستوپاتولوژیک استفاده گردید. برای این کار ابتدا در ناحیه شکم ماهی با استفاده از تیغه اسکالپل یا قیچی برش داده سپس تمامی ماهی در فرمالین ۱۰٪ فیکس شده و در هنگام تهیه مقاطع بافتی ابتدا بلوکهای بافتی $1.5 \times 1.5 \times 1$ cm از اندامهای داخلی، کلیه و آبشش‌ها تهیه گردیده و پس از فرآیند بافتها و استفاده از هیستوتکنیک، مقاطع بافتی ۵ میکرونی تهیه و به روش هماتوکسیلین و انوزین و در مواردی هم گرم جهت مطالعات میکروسکوپی رنگ آمیزی شدند.



شکل شماره ۱- ضایعات پاتولوژیک برانش، شامل ادم که در تعدادی از رشته‌های آبششی دیده می‌شود. در بعضی از لاملاها پرخونی و هایپرپلازی منتشره دیده می‌شود. نکروز سلول‌های اپی‌تلیال برانش ↑ و واکنش شدن ایجاد شده است (H&E, x10).



شکل شماره ۲- نفوذ رشته‌های باکتریایی به نواحی غضروفی رشته‌های آبششی همراه با نکروز سلولهای عضلانی و کندروسیت‌ها ↑ (H&E, x10).

مزارع مذکور در حد قابل قبول و شامل ۷ تا ۱۰ هزار بچه ماهی در هر متر مربع بوده است. در مواقع نمونه‌برداری از ماهیان، هر گونه موارد غیر طبیعی بالینی در جمعیت ماهیان موجود در ترفاها مشاهده می‌گردید، ضمناً سایر ماهیان بازاری، مولدین و بچه ماهیان بالای ۵ گرم نیز از نظر میزان تلفات احتمالی و وضع ظاهری مورد مطالعه قرار می‌گرفتند.

آب

ماهیان در ترفاهای سیمانی از آب چشمه، و بعضاً

پرورشی شامل شرکت قزل ماهی واقع در شهرستان ازنا (۴۰ نمونه)، مزرعه بزرگی واقع در جاده هراز (۳۵ نمونه) و مزرعه قزل رود در بروجرد (۴۰ نمونه) در بهار ۷۷ و ۷۸ اقدام به نمونه‌برداری گردید.

ماهی

به‌طور کلی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد نمونه‌برداری دارای وزن ۱-۵/۵ گرمی بوده که در ترفاهای سیمانی نگهداری می‌شدند. تراکم ماهیان در تمامی

بازاری و مولدین اتفاق نیفتاده بود.

در کالبد گشایی ماهیان بیمار در مواردی کم خونی اندامهای داخلی و در موارد دیگر پرخونی، تیره شدن طحال، وجود مایع آسیت زرد رنگ در محوطه شکمی، روده‌های خالی و کیسه صفراي متسع قابل مشاهده بود. به علاوه رشته‌های آبششی کم رنگ و در پاره‌های موارد به یکدیگر چسبیده و حاوی ترشحات زیاد موکوسی بودند.

اقدامات درمانی

از جمله اقدامات درمانی و کنترلی در مزارع مذکور استفاده از فرمالین و سبزمالاشیت به صورت حمام و فورازولیدون و اکسی تتراسایکلین به صورت خوراکی بوده است، به هر حال در تمام موارد اقدامات کنترلی و درمانی هیچگونه تأثیری در کاهش روند تلفات نداشته است.

مطالعه میکروبیولوژیک

(انگلی، فارچی و باکتریایی)

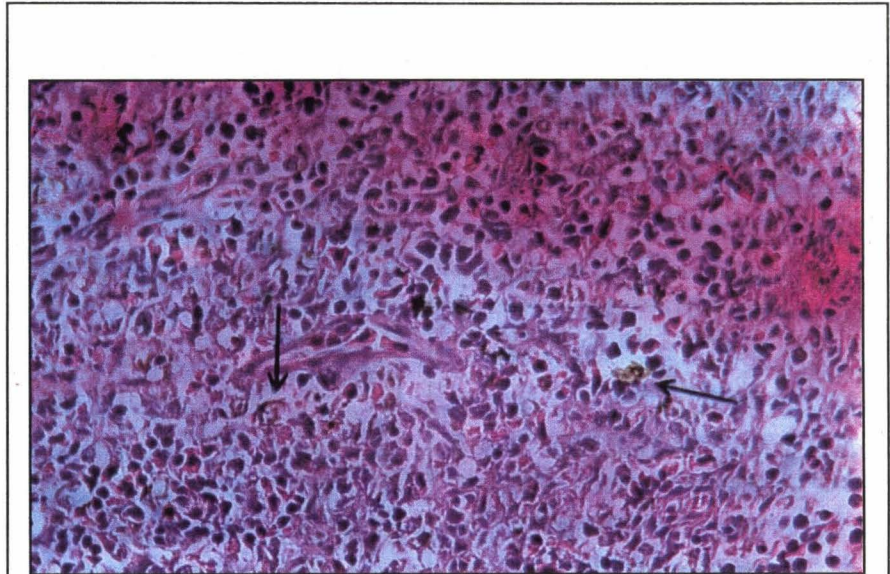
به جز موارد معدودی که ارگاناسم‌های باکتریایی رشته‌ای گرم منفی در برخی گسترش‌های لام مرطوب از آبشش‌ها و در ۳ مورد از بافت کبد ماهیان مبتلا (مزرعه بزرگی) مشاهده شد، نتایج مطالعات آزمایشگاهی شامل لام مرطوب، گسترش‌های مستقیم از اندامهای خارجی و رنگ آمیزی گرم، کشتهای باکتریایی و فارچی منفی بوده است.

مطالعه هیستوپاتولوژیک

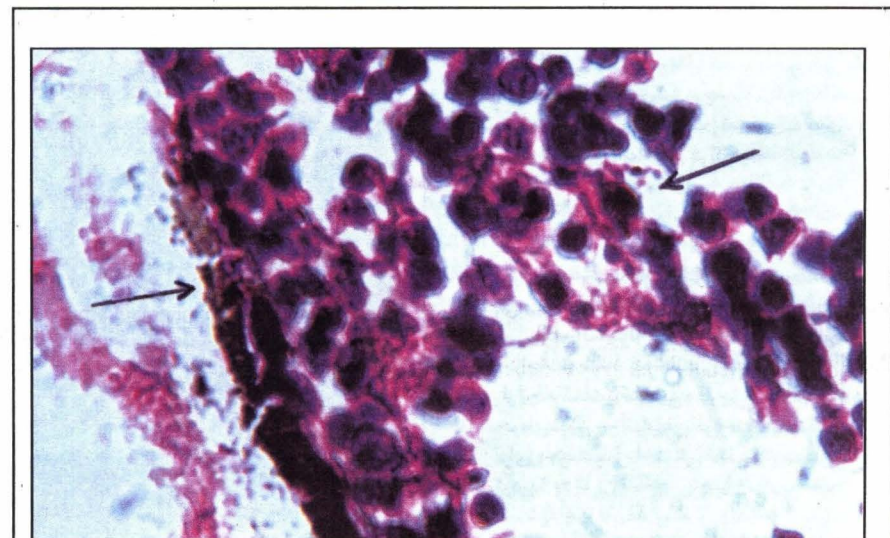
در مطالعه ریزینی مقاطع بافتی، تورم، پرخونی، هیپرپلازی و در بعضی مناطق نکروز رشته‌های آبششی (شکل ۱)، نفوذ رشته‌های باکتریایی به نواحی غضروفی رشته‌های آبششی همراه با نکروز سلولهای عضلانی و کندروسیت‌ها (شکل ۲)، پرخونی خونریزی سینوزوئیدهای کبدی (شکل ۳) همراه با وجود مقادیر زیاد هموسیدرین در اطراف عروق قابل مشاهده بود. در بافت کلیه نیز مقادیری هموسیدرین در ناحیه قدامی کلیه (شکل ۴) قابل مشاهده بود ولی ضایعات خاص دیگری دیده نشد.

بحث

یافته‌های بالینی و میکروسکوپی و نیز برآورد خسارات وارده در مزارع مورد مطالعه نشان می‌دهد که سندروم تلفات نوزادان قزل آلا یکی از جدی‌ترین مشکلات امروزه این صنعت در کشور محسوب می‌شود. Lorenzen و همکاران در مطالعه خود به علائمی از قبیل تیرگی بدن، کم‌اشتهایی، کم خونی و لجنی شدن کلیه‌های ماهیان مبتلا اشاره نموده‌اند که از نظر هیستوپاتولوژیک دارای نکروز موضعی در بافت‌های کبد، کلیه و قلب، دژنراسانس هیالین قطره‌ای در توپول‌های کلیه و بافت عضلانی بوده و باکتری‌های رشته‌ای از نوع *Flexibacter psychrophilus* (نام جدید *Flavobacterium psychrophilus*) در بافت‌های خون‌ساز (کلیه، طحال) و خون به وفور قابل مشاهده بود (۷). به علاوه Rangdale و همکاران نیز در مطالعه خود به آتروفی و دژنراسانس سلولی در طحال، نکروز آبششی و بعضاً جراحات پوستی برخورد نموده که



شکل شماره ۲- نکروز سلولهای کبدی همراه با تجمع هموسیدرین در برخی نواحی (بزرگ‌نمایی $\times 40$ و H & E)



شکل شماره ۴- بخشی از قسمت قدامی بافت کلیه همراه با رسوب مقادیر قابل توجه هموسیدرین در داخل سلولهای ماکروفاژ و نواحی قشری کلیه (بزرگ‌نمایی $\times 100$ و H & E)

و از تعداد ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ قطعه ماهی در روز متغیر بوده است. به علاوه تلفات کلی نیز بسته به جمعیت در مزرعه متفاوت و از ۴۰٪ تا ۹۰٪ بوده و روند تلفات نیز به گونه‌ای بود که به تدریج افزایش و پس از رسیدن به حد ماکزیمم، به تدریج کاهش می‌یافت. در یک تراف مشخص، بچه ماهیان درشت‌تر زودتر از بقیه تلف می‌گردیدند و ضمناً کل دوره تلفات در حدود ۲-۴ هفته برآورد شده است. نکته جالب توجه اینکه هیچگونه تلفاتی برای سایر ماهیان انگشت قد (بالتر از یک گرم) و

نتایج

مشاهدات بالینی

ماهیان مبتلا ابتدا دچار بی‌اشتهایی شده، سپس تحرک آنها کم شده و تیرگی بدن، اگر وقت‌آلی، پوسیدگی باله و جراحات پوستی کم و بیش در آنها قابل مشاهده بود. ماهیان مبتلا تلاش در شنا کردن در سطح آب داشته و یا در کناره‌ها و خروجی‌های استخر جمع می‌شدند. میزان تلفات روزانه در مزارع مختلف متفاوت

psychrophilus) in association with rainbow trout mortality in the United Kingdom. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 12:209-210.

12- Sarti, M. and Bruno, G. 1991. An infectious haematopoietic necrosis outbreak in breeding trout fingerlings. Bull. Soc. Ital. Pathol., 5: 37-42

13- Toranzo, A.E. and Barja, J.L. 1993. Fry mortality syndrome (FMS) in Spain. Isolation of the causative organism *Flexibacter psychrophilus*. Bull. Eur. Ass. Fish pathol., 13: 30-32.

14- Wiklund, T., Kaas, K., Lonnstrom, L. and Dalsgaard, I. 1994. Isolation of *Cytophaga psychrophila* (*Flexibacter psychrophilus*) from wild and farmed rainbow trout. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 14: 44-46.

15- Wolf, K. 1988. Fish virus and fish diseases. Comstock Pub. Ass. Cornell Univ. Press. pp. 476

2- Fry mortality syndrome.

3- Bacterial cold - water disease.

4- Low temperature disease.

منابع مورد استفاده

۱- سلطانی، مهدی و رستمی، مینا، ۱۳۷۶. عفونت ناشی از ارگانسیم‌های شبیه سایتوفالگا/فلکسی باکتر در مزارع پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۲، شماره ۳ صص ۱۳-۲۳.

2- Austin, B. and Stobie, M. 1991. Recovery of yellow pigmented bacteria from dead and moribund fish during outbreaks of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fry syndrome in England. J. of Fish Diseases, 14: 677-682.

3- Austin, B. and Stobie, M. 1992. Recovery of *Micrococcus luteus* and presumptive *Planococcus* sp. from moribund fish during an outbreak of rainbow trout fry syndrome in England. J. of Fish Diseases, 15:203-206.

4- Bucker, D. and Barker, G.A. 1991. Rainbow trout fry syndrome. Trout News, March/Aprill, 14: 14-16

5- Castric, J. 1997. Viral diseases in fish mariculture. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 17: 220-229.

6- Chua, F. H. C. 1991. A study on the rainbow trout fry syndrome. MSc Thesis, institute of Aquaculture, University of Stirling.

7- Lorenzen, E. Dalsgaard, L., From, L. Hansen, E.N., Horlyck, V., Korsholm, H., Mellergaard, S. and Olesen, N.J. 1991. Preliminary investigations of fry mortality syndrome in rainbow trout. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 11: 77-79

8- Lorenzen, E. and Karas, N. 1992. Detection of *Flexibacter psychrophilus* by immunofluorescence in fish suffering from fry mortality syndrome: A rapid diagnostic method. Diseases of Aquatic Organisms, 13: 231-234.

9- Rangdale, R. E., Richards, R.H., Alderman, D. J. 1999. Histopathological and electron microscopical observation on rainbow trout fry syndrome. Veterinary Record, 144: 251-254.

10- Rintamaki, P.K., Bernadet, J. f. and Blogu, A. 1996. Yellow pigmented filamentous bacteria connected with farmed salmonid fish mortality Aquaculture, 149: 1-14.

11- Santos, Y., Huntly, P. J., Turnbull, A. and Hastings, T.S. 1992. Isolation of *Cytophaga psychrophila* (*Flexibacter*

با یافته‌های گزارش شده قبلی ناشی از سندرم تلفات نوزادان در آلمان، انگلیس، ایتالیا و اسپانیا همخوانی دارد (۴، ۶، ۷، ۸، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴).

یافته‌های بالینی و تا حدی هیستوپاتولوژیک بدست آمده در این مطالعه نیز با یافته‌های سندرم تلفات نوزادان در اروپا به‌ویژه از نقطه نظر شرایط محیطی، زمان بروز تلفات، سن، اندازه و گونه ماهی درگیر مطابقت دارد زیرا در تمامی موارد بروز این سندرم از جمله در ایران عمدتاً نوزادان زیر گرم (گاهی بچه ماهیان انگشت قد) را در بر می‌گیرد و ثانیاً در درجه حرارت‌های پائین (معمولاً زیر ۱۴ درجه سانتیگراد) تلفات ایجاد می‌شود، در حالیکه بندرت در ماهیان بزرگ جثه و مولدین تلفاتی اتفاق می‌افتد. بنابراین اگر بپذیریم که علت یا علل سندرم باکتریایی است همچنانکه امروزه در اروپا عامل اصلی مولد آن را *F. psychrophilus* می‌دانند، احتمال وجود علت باکتریایی برای این نوع تلفات در مزارع پرورشی ایران هم قابل تصور است. علی‌الخصوص با عنایت به یافته‌های مطالعه سلطانی و رستمی در مورد نقش باکتری‌های رشته‌ای (فلکسی باکتر /سایتوفالگا) در مرحله انگشت قدی و نوزادی قزل‌آلا در شمال کشور، می‌توان به احتمال علت باکتریایی این سندرم مظنون شد (۱). ذکر این نکته ضروری است که عدم توفیق در جداسازی عامل باکتریایی درگیر با عدم مشاهده اجرام باکتریایی در مقاطع هیستولوژیک را می‌توان اولاً به مشکل پسند بودن این نوع باکتریها (فلاوباکترها/سایتوفالگاها) از نظر رشد ثانیاً به فرآیند هیستوتکنیک و ثالثاً عمل ناشناخته دیگری نسبت داد. همچنانکه در مطالعه Rangdale و همکاران نیز به مشکل مذکور اشاره شده است.

حاصل مطالعات انجام شده در خصوص نقش احتمالی عوامل ویروسی در بروز این نوع تلفات در کشورهای اروپایی درگیر نشان می‌دهد که هیچگونه عامل ویروسی در بروز این نوع تلفات دخیل نبوده است (۳، ۸)، اما در ایران با توجه به عدم مطالعات به‌عمل آمده قضاوت در این خصوص مشکل است و لذا مطالعات آتی ویروس‌شناسی نیاز است تا نسبت به تفکیک عامل احتمالی باکتریایی، انگلی یا قارچی این سندرم از عوامل احتمالی ویروسی به‌ویژه VHS، IPN و IHN اقدام نمود، زیرا بیماری‌های ویروسی مذکور نیز عمدتاً در مراحل نوزادی تا انگشت قدی در آزاد ماهیان به‌ویژه در قزل‌آلای رنگین‌کمان و درجه حرارت‌های پائین اتفاق می‌افتند. البته یافته‌های بالینی و هیستوپاتولوژیک بیماری‌های ویروسی مذکور تا حد زیادی از سندرم نوزادان قزل‌آلا قابل تفکیک می‌باشد (۵، ۱۵). علاوه بر این اگر چه با بررسی‌های بعمل آمده در این مطالعه به مشکل یا مشکلات عمده و قابل توجه محیطی برخورد نشده است، اما از نقطه نظر اپیدمیولوژیک نباید نقش احتمالی عوامل تغذیه‌ای (سوء تغذیه)، نواقص ژنتیکی و فاکتورهای محیطی را در بروز این سندرم نادیده گرفت.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تهران انجام شده است.

پاورقی‌ها

1- Fry trout mortality syndrome.