

اولین گزارش جداسازی ادواردزیلاتاردا از ماهی اسکار در ایران

● تقی زهرانی صالحی، استادیار گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ● مسعود ستاری، عضو هیات علمی دانشگاه گیلان

همچنین آزمایش سرولوژی با آنتی سرمهای تشخیصی جهت تفریق از سایر باکتریها انجام گرفت.

نتایج

خواص باکتری جدا شده از جهات مختلفی مورد بررسی و دقت نظر قرار گرفت که نتایج مربوط به آنها عبارتند از:

مورفولوژی و خواص کشت

در رنگ آمیزی گرام گسترش های تهیه شده از کبد و مایعات محوطه بطنی و همچنین محیطهای کشت، باسیل های گرام منفی به اندازه ۲-۳x۱ میکرون مشاهده گردید. در محیطهای کشت ۴۸ ساعت بعد از گرمخانه گذاری در آزمایشگاه و گرمخانه پرگنه های نسبتاً ریزی در حدود ۱ تا ۲ میلی متر ظاهر گردید.

خواص شیمیایی

باکتری در محیط مک کانکی پرگنه های سفید متمایل به زرد و بسیار شیبه به پرگنه سالمونلاها ایجاد نمود که معرف عدم تخمیر لاکتوز توسط باکتری بود. باکتری جدا شده در محیط TSI سولفید هیدروژن تولید و منظره های شیبه به منظره رشد سالمونلاها در این محیط ایجاد نمود. آزمایش اوره از این باکتری نیز منفی بود (تصویر شماره ۱). با توجه به نتایج بدست آمده، بویژه در محیطهای TSI و اوره به باکتریهای ادواردزیلاتا و سالمونلا مشکوک شده لذا آزمایشهای بیوشیمیایی تکمیلی که در جدول شماره ۱ آورده شده است بر روی باکتری جدا شده انجام گرفت. همانطوری که در جدول و تصویر شماره ۱ مشخص شده است باکتری جدا شده از نظر بعضی از آزمایشهای بیوشیمیایی با سالمونلاها متفاوت می باشد. وانگهی در آزمایش

باکتری در ایجاد بیماری در ماهی و آیزیان مسئله زئونوتیک بودن آن نیز بایستی مورد توجه قرار گیرد.

مواد و روش کار

آکواریوم داری در تاریخ ۷۵/۲/۳۰ ماهی اسکار[®] بیماری را به بخش بهداشت و بیماریهای آیزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ارجاع داد تا علت بیماری آن مشخص گردد. علائم بیماری شامل عدم تحرک، بی اشتها، افزایش تنفس (دهان زدن) بود. از نظر مشخصات ماهی مزبور در حدود ۲ سال سن داشت و جیره غذایی آن طبق اظهارات صاحب ماهی شامل ماهی زنده و گوشت گوساله بود. ماهی بیمار در حین معاینه بر اثر شدت بیماری تلف گردید در کالبد گشایی که در شرایط مناسب و در کنار شعله با وسایل سترون انجام شد، مایعات اکسوداتیو خونی رنگ و ژله ای در محوطه بطنی و پرخونی کبد نمایان بود. با توجه به علائم بالینی و کالبد گشایی احتمال ابتلای ماهی به سپتی سمی باکتریایی مدنظر قرار گرفت از اینرو ماهی به گروه میکروب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ارجاع شد. در آزمایشگاه میکروبی شناسی از مایعات محوطه بطنی و کبد روی محیطهای مناسب نظیر ژلوز خون دار، مک کانکی و آنگوست برین هارت کشت داده شد. همچنین از نمونه های فوق گسترش مستقیم تهیه و با رنگ آمیزی گرم مورد رنگ آمیزی قرار گرفت. محیطها در آزمایشگاه (۲۵°C) و گرمخانه (۳۷°C) قرار داده شد. بر روی باکتری جدا شده آزمایشهای احیاء نیترات، مصرف سیترات، تولید اندل، تخمیر قندها و...

در این جنس سه گونه *E. E. trada*، *E. hoshinae* و *E. ictaluri* قرار دارد که از نظر خواص بیوشیمیایی تفاوتی با هم دارند (۸، ۱۰، ۱۱، ۱۸). مهمترین گونه این جنس *E. tarda* می باشد که علاوه بر ماهی و حیوانات دریایی از انسان، گاو، حیوانات باغ وحش، موش و پرندگان نیز جدا شده است (۱۰ و ۱۱). این باکتری بیماری سیستمیک نسبتاً شدیدی در ماهیان گرمابی بویژه گریه ماهی روگامی (*Channel catfish*) با نام علمی *Ictalurus punctatus* ژاپنی (*Japanese eel*) با نام علمی *Anguilla japonica* ایجاد می کند (۱۱). علاوه بر این، بیماری ناشی از *E. tarda* از زخمهای عمیق جلدی و روده ماهی باس دهان بزرگ در امریکا و از ماهیان سیم دریایی، فلاندر و کفال در ژاپن و کره جدا شده است (۳، ۶ و ۱۱).

این باکتری هم چنین از مار ماهیان تابوان نیز گزارش شده که با جراحات اولسراتیو در سراسر بدن و کانونهای نکروزی در کبد و کلیه همراه بوده است. محققان تایوانی گفته اند که راه دهانی، مهمترین راه آلودگی ماهی به باکتری بوده و ماهیان جوان معمولاً حساستر از ماهیان بالغ می باشند (۹ و ۱۳).

E. tarda را از مار ماهیان ایتالیا نیز گزارش کرده اند و در این ارتباط عنوان شده است که بیماری ادواردزیلاتوزیس یک بیماری مشترک است که می تواند از ماهی به انسان منتقل شود و باعث اسهال، عفونت دستگاه ادراری، مننژیت و اندوکاردیت گردد. نکته جالب در مورد این باکتری ارتباط آن با تک یاخته *Entamoeba histolytica* در ایجاد اسهال خونی در انسان می باشد (۴، ۱۱ و ۱۹). بنابراین علاوه بر اهمیت این

چکیده

باکتریهای جنس *Edwardsiella tarda* در خانواده آنتروباکتریاسه قرار داشته و خصوصیات کلی این خانواده را دارا می باشند. مهمترین گونه این جنس *E. tarda* است که در آیزیان باعث بروز بیماری می شود. در این مقاله خواص مختلف این باکتری که از ماهی زینتی اسکار جدا شده است مورد مطالعه و دقت نظر قرار گرفته است. *Edwardsiella tarda* باکتری گرم منفی، باسیلی شکل و متحرک بوده و قادر به تولید اندل و سولفید هیدروژن است. این باکتری قندهای لاکتوز، ساکاروز و مانیتول را تخمیر نمی کند. همچنین آزمایش VP و اوره آن منفی است ولی نیترات را احیاء نموده و آزمایش MR آن مثبت می باشد.

مقدمه

باکتری ادواردزیلاتا اولین بار در سال ۱۹۶۲ توسط Sakazaki در ژاپن گزارش و در سال ۱۹۶۵ بوسیله Ewing شرح داده شد. نام *Edwardsiella tarda* برگرفته از نام باکتری شناس امریکایی، Edwards می باشد که تحقیقات وسیعی در مورد خانواده آنتروباکتریاسه داشته است. گونه های این جنس خصوصیات خانواده آنتروباکتریاسه را دارا بوده و از این رو در این خانواده بزرگ قرار می گیرند. این باکتریها برای رشد نیاز به ویتامینها و اسیدهای آمینه دارند و در مقایسه با سایر جنس های خانواده سخت رشد تر بوده و در تخمیر قند غیر فعالتر هستند (۱۰)

جدول شماره ۱- آزمایشهای بیوشیمیایی انجام گرفته بر روی *E. tarda* و مقایسه آنها با سالمونلا

خواص شیمیایی باکتری	تولید H ₂ S در آزمایش اوره	حرکت	احیاء نیترات	مصرف سیترات	تولید اندل	تخمیر ساکاروز	تخمیر لاکتوز	تخمیر مانیتول	تخمیر سالیسین	اکسیداز	کاتالاز	MR	vp	IMVIC
<i>E. tarda</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+++
سالمونلا*	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+++

* به منابع ۲ و ۱۹ مراجعه شود.

tarda. J. Fish pathol, Vol 5 (1), PP: 29-35.

4- Baron. E. J et al. 1990: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, PP: 345, 365, 367, 371, C.V. Mosby company.

5- Choi. H. S., 1991: Study on *Edwardsiella tarda* isolated from cultured bastrad halibut (*paralichthys olivaceus*), Bull. Natl. fish. res. dev. Agency, no. 45, pp: 197-205.

6- Francis-floyd. R et al 1993: An epizootic *Edwardsiella tarda* in large mouth Bass (*Micropterus salmoides*) Wild. Dis, Vol. 29, No. 2, PP: 334-336.

7- Inglis. V et al 1993: Bacterial diseases of Fish, Blackwell science PP: 62-75.

8- Ioklik. W. K et al 1992: Zinsser Microbiology 20 th edition PP: 539-553.

9- Jian. M et al 1997: Studies on pathogenesis of edwardsiellosis in experimentally infected eel, publ by COA TAIPEI, PP: 176-186.

10- Krieg. N.R et al 1984: Bergey's Manual of systematic bacteriology, Vol. 1, PP: 486-491, Williams and wilkins.

11- Kusuda. R, 1992: Bacterial fish diseases in mariculture in Japan... ISR. J. Aquacult./ Bamidghev, Vol. 44, no. 4, pp. 140.

12- Lee. H.K. et al 1990: The study on the experimental ascite by *Edwardsiella tarda* in snakehead (*Chana argus*), bull. korean fish SOC, Vol. 23, No. 5, PP: 353-360.

13- Liu. chen. I et al 1987: Edwardsiellosis in pond cultured eel in Taiwan, COA TAIPEI, PP: 92-100

14- Palacois. F et al 1987: First record of edwardsiellosis in Italian eel farm, Riv. Ital. piscic. Itfopatol, Vol. 22, pp. 105-106.

15- Post. G, 1987: Textbook of fish health., T. F. H publicationm, PP: 70-71.

16- Quanzhang. L. Xinling. Z, 1994: Studies on the pathogenic of the liver and kidney disease of eels (*Anguilla japonica*), Acta Hydrobiol, Vol. 18, No. 4, PP: 360-368.

17- Quinn. P. J et al 1994: Clinical veterinary microbiology, PP: 210, 213, 215, 216, 218, 221, WOLF.

18- Sonnenwirth, A. C, Jarett. L, 1980: Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis, PP: 1744, 1763-1764, C.V. Mosby company.

تصویر شماره ۱

خواص بیوشیمیایی *E. tarda*.
محیطها از چپ به راست به ترتیب عبارتند از:
Mo = حرکت (+), Ma = مالتوز (-) یا تاخیر (+),
ساکاروز (-), نیترات (+),
مانیتول (-), TSI (تولید H₂S و عدم تخمیر لاکتوز), اوره (-).
اندل (+), MR (+), VP (-) و سیمون سیترات (-).



با مراجعه به منابع و مجلات مختلف داخلی موردی از جداسازی این باکتری از ماهی اسکار و حتی از سایر ماهیان و آبیان مشاهده نگردید. لذا این گزارش اولین گزارش جداسازی *E. trada* از ماهی در ایران می باشد.

پاورقی

۱- جایگاه ماهی اسکار آمریکای جنوبی است و از آنجا به سایر نقاط جهان منجمله ایران راه یافته است این ماهی نسبت به دیسکوسهای دیگر بزرگتر است و در هر آکواریومی می توان آن را نگهداری نمود. در شرایط طبیعی، طول آن به ۳۳ سانتی متر می رسد ولی به طور معمول اندازه ماهی ۲۰ تا ۲۵ سانتی متر می باشد بدن ماهی بیضی شکل بوده و در پهلو به شدت فشرده است. باله پشتی آن از دو بخش مجاور هم تشکیل شده است. باله جلویی معمولاً کوتاه تر بوده و دارای تیغه های متحرک است ولی باله عقبی خیلی بزرگتر بوده و دارای تیغه های نرمی است. بخش فوقانی باله شمای دمی دارای زمینه زرد بالک های روشن است. زمینه بدن به رنگ کبود - خاکستری با خطوط و لکه های روشن است (۱).

منابع مورد استفاده

۱- ایلین. م، ۱۳۷۳، آکواریوم، مرکز نشر سپهر (ترجمه حسین فرپور)
۲- زهرانی صالحی، تقی، ۱۳۷۳، بررسی ساختار آنژیژن سالمونلاها و استفاده از آن جهت تشخیص و دریافت دکترای تخصصی میکروبی شناسی (ph.D)، شماره ۱۵، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران.
3- Bang. J.D et al. 1992: Studies on the biochemical and serological characteristics of *Edwardsiella*

سروتایپینگ که آنتی سرمهای پلی A-۱ و Vi، پلی D، B، A و G ضد سالمونلا انجام شد هیچگونه واکنش مثبتی مشاهده نگردید.

بحث

E. tarda در گربه ماهیان روگهای سبیتی سمی ایجاد می نماید که با همه گیری همراه بوده و نشانیهای آن به صورت جراحات زیر پوستی و آبسه (دمل) در داخل عضلات است که بعد از مدتی این ضایعات به شکل حفره های بزرگ چرکی و پر از گازهای بدبو در می آیند (۱۵). Quanzhang و همکاران در سال ۱۹۹۴ گزارش نمودند که این باکتری در مارماهیان ژاپنی بیماری کبد و کلیه یا بیماری پاراکولو ایجاد می نماید (۱۶). در سال ۱۹۹۰ Lee و همکاران این باکتری را به ماهی *Chana argus* تزریق کرده که با آسیت، نکروز شدید کلیه و عضلات، ضایعات بافت گلو مری و افزایش گلبولهای سفید همراه بوده است (۱۲).

E. tarda جدا شده از ماهی اسکار از نظر بعضی از خصوصیات بیوشیمیایی از جمله تولید سولفید هیدروژن در محیط TSI، عدم تخمیر قندهای لاکتوز، ساکاروز، سالیسین و آزمایش اوره از تنها با سالمونلاها شباهت داشت که برای تائید قطعی آن آزمایشهای بیوشیمیایی بیشتری همانند آزمایش تولید اندل و تخمیر مانیتول... بر روی آن انجام گرفت (به جدول شماره ۱ مراجعه شود). علاوه بر آزمایشهای بیوشیمیایی ذکر شده،

جدول شماره ۲- مقایسه خواص بیوشیمیایی گونه های *E. tarda*

خواص بیوشیمیایی باکتری	تولید H ₂ S در TSI	اوره آز	تولید اندل	تخمیر ساکاروز	تخمیر مانیتول	تخمیر ترهالوز	حرکت	مصرف	MR	VP	IMVIC
<i>E. tarda</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	++--
<i>E. hoshinae</i>	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-+--
<i>E. ictaluri</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	---