

✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۴۰، ۴۱، ۴۲، بهار ۱۳۷۸

**پروژیک مورد سپتی سمی**  
**ادواردزیلایی در نوعی گربه ماهی زینتی**  
(*Otocinclus* sp.)  
**وارداتی**



● مهدی سلطانی،

گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

● رحیم پیغان،

بخش بیماری‌های ماهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز  
تاریخ دریافت: مهرماه ۱۳۷۷

مقدمه

سپتی‌سمی ادواردزیلایی یکی از عفونت‌های باکتریایی در ماهیان گرم آبی بویژه گربه ماهی (*Ictalurus*) و مارماهیان (*Anguillidae*) می‌باشد که توسط گونه‌های *Edwardsiella tarda* و *Edwardsiella ictaluri* اتفاق می‌افتد. از اولین گزارش‌های وارده در نقش بیماری‌زایی گونه تاردا توسط Hoshina (۱۹۶۲) تا کنون مشخص شده که *E. tarda* می‌تواند همواره یک خطر جدی نه تنها برای توسعه صنعت گربه ماهیان و مارماهیان پرورشی بویژه در آسیای شرقی و ایالات متحده آمریکا باشد بلکه احتمال بروز عفونت‌زایی ناشی از آن در سایر گونه‌های ماهیان نیز وجود دارد (۳، ۷، ۸، ۹، ۱۷).

در ایران اگرچه اولین گزارش توسط زهرایی و ستاری (۱۳۷۵) مبنی بر جداسازی ارگانیسم‌های شبیه *E. tarda* از ماهی اسکار ارائه شده است اما به دلیل عدم مطالعات کافی میکروبیولوژیک برای شناسایی دقیق ارگانیسم‌های جداسازی شده، قضاوت در این خصوص مورد شک و تردید است. مطالعه حاضر جداسازی و شناسایی ارگانیسم‌های شبیه *E. tarda* از نوعی گربه ماهی زینتی وارداتی با علائم بالینی سپتی‌سمی همراه با خونریزی، آسیت، تیرگی رنگ بدن، بی‌حالی و اگزوفتالمی را گزارش می‌نماید.

مواد و روش کار

در دی ماه ۱۳۷۶ یک قطعه گربه ماهی خانگی (با طول ۲۵ سانتیمتر) توسط یکی از آکواریوم داران به بخش میکروبیولوژی و ایمونولوژی آبزیان دانشکده دامپزشکی تهران ارائه گردید. ماهی مذکور از نظر بالینی دچار بی‌حالی، عدم تحرک، تیرگی بدن، اگزوفتالمی مختصر، تورم ناحیه شکم و خونریزی روی ناحیه شکمی و محوطه بطنی بود. ابتدا با تهیه لام مرطوب از مناطق مختلف پوست، اقدام به شناسایی آلودگی‌های انگلی احتمالی نموده، سپس گسترش‌هایی از پوست نواحی حاوی خونریزی گرفته شد و به روش گیمسا و گرم رنگ‌آمیزی گردید. سپس با ضد عفونی نمودن سطوح خارجی ماهی با الکل ۷۰٪، در شرایط استریل و با استفاده از وسایل کالبدگشایی استریل اقدام به کالبدگشایی نموده، از محتویات اسیت شکمی، کبد، طحال و کلیه کشت میکروبی بر روی محیط‌های TSA، BHIA و NA انجام گردید. نمونه‌های کشت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری، سپس آزمایشات باکتری شناسی مورد نیاز (جدول شماره ۱) توصیه شده توسط سلطانی (۱۳۷۶)، Frerichs (۱۹۹۳) و Reade (۱۹۹۰) انجام گردید. ضمناً اندام‌های داخلی مورد بررسی کالبدگشایی بالینی قرار گرفته و هم‌زمان با کشت میکروبی اقدام به تهیه گسترش مستقیم از اندام‌های مذکور و رنگ‌آمیزی گرم گردید.

نتایج

ماهی مورد مطالعه از نظر بالینی دچار تیرگی بدن، اگزوفتالمی، بی‌حالی، تورم ناحیه شکمی و خونریزی بر روی سطح پوست بویژه ناحیه شکمی بود (شکل

شماره ۱). همچنین خونریزی عمومی در اندام‌های داخلی و تجمع مایع خونی در محوطه شکمی کاملاً مشهود بود. در مطالعه لام‌های مرطوب هیچگونه آلودگی انگلی مشاهده نگردید. همچنین مطالعه گسترش‌های رنگ‌آمیزی گرم و گیمسا از سطوح خارجی نیز حکایت از عدم آلودگی و عدم ابتلا به عفونت‌های باکتریایی و یا قارچی می‌نمود. در گسترش‌های به دست آمده از اندام‌های داخلی ارگانیسم‌های میله‌ای گرم منفی قابل مشاهده بود.

از تمامی کشت‌های به دست آمده از اندام‌ها تنها یک نوع پرگنه باکتریایی سفید مایل به خاکستری ریز (به قطر ۱-۲ میلیمتر) مخاطی تا اندازه‌های خشک رشد نموده که در رنگ‌آمیزی گرم، شامل ارگانیسم‌های باکتریایی گرم منفی میله‌ای بودند. نتایج مطالعات باکتریایی فوق‌الذکر در جدول ۱ آمده است. براساس این نتایج باکتری جدا شده از خانواده آنتروباکتریاسه (اکسیداز منفی، گرم منفی میله‌ای)، جنس ادواردزیلا و گونه تاردا (متحرک در ۳۷ درجه سانتیگراد، رشد در محیط NaCl (۰/۳) و MR مثبت) قرار می‌گیرد. این باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل و سفالوتین حساس اما نسبت به آمپی‌سیلین و پنی‌سیلین مقاوم بود.

بحث

سپتی‌سمی ادواردزیلایی یک عفونت سیستمیک نسبتاً ضعیف بوده که عمدتاً ماهیان گرم آبی بویژه گربه ماهیها و مارماهیان را مبتلا می‌سازد. این بیماری در حال حاضر یکی از مشکلات صنعت پرورش گربه ماهی و مارماهی در آمریکا و آسیای شرقی است. از نظر بالینی، علائم بالینی بیماری بسته به مناطق جغرافیایی و گونه ماهی مبتلا متفاوت است (Plumb, ۱۹۹۳). برای مثال در گربه ماهی جویباری در آمریکا جراحات زیرپوستی همراه با آبسه‌های حاوی گاز بدبو در عضلات و نواحی زیرپوست ایجاد می‌نماید به طوری که بیماری را تحت عناوین گانگرن ماهی<sup>۱</sup>، آمفیزم چرکی گربه‌ماهی<sup>۲</sup> و بیماری قرمز<sup>۳</sup> مارماهیان نیز می‌شناسند (۳ و ۹). چنین علائمی (آبسه‌های زیرجلدی و عضلانی) در گربه ماهی مورد مطالعه، قابل مشاهده نبود که احتمالاً می‌تواند مربوط به گونه ماهی و شرایط نگهداری آن باشد. به هر حال تورم شکم، تیره شدن بدن، بی‌حالی، خونریزی در نواحی شکمی و اندام‌های داخلی همراه با آسیت خونی قابل مشاهده بود (شکل شماره ۱). در مطالعه‌ای توسط Park و همکاران (۱۹۸۳) بر روی ۴۴۵ نمونه باکتریایی جدا شده از مارماهیان و مایع محیطی آنها چهار سروتیپ از *E. tarda* شامل سروتیپ‌های A، B، C و D شناسایی گردید که حدود ۷۲٪ سروتیپ‌های به دست آمده از ماهی را سروتیپ A تشکیل می‌داد. این مطلب می‌تواند نشان‌دهنده نقش بیماری‌زایی بیشتر سروتیپ A در ماهیان باشد به طوری که نامبردگان این موضوع را از طریق تعیین حدت باکتری در مارماهی مورد تأیید قرار دادند.

کلیه آزمایش‌های باکتری‌شناسی در خصوص نمونه‌های باکتریایی به دست آمده از اندام‌های خون‌ساز و دفاعی گربه‌ماهی مورد مطالعه، منجر به جداسازی یک نوع پرگنه خالص باکتریایی گردید که از نظر خصوصیات

✓ Pajouhesh & Sazandegi,  
No 40, 41, 42  
PP: 188-191

Occurrence of an *Edwardsiella septicaemia* in an imported catfish (*Otocinclus sp.*)

By: Soltani M., Dept. of Fish Hygiene and Diseases, Vet. Faculty of Tehran University & Payghan, R., Dept. of Fish Diseases, Vet. Faculty, University of Shahid Chamran, Ahwaz.

This study reports the isolation of some isolates of gram negative, oxidase negative, rod bacteria obtained from haematopoietic tissues (Kidney, spleen and liver) and ascitic fluid of an infected aquarium catfish (*Otocinclus sp.*) with clinical signs of darkening of body, exophthalmia, lethargy and abdominal distention. Results of morphological, physiological and biochemical features of the bacterial isolates are very identical to those of *Edwardsiella tarda* strains.

نتیجه						آزمایش
۶	۵	۴	۳	۲	۱	
-	-	-	-	-	-	رنگ آمیزی گرم
+	+	+	+	+	+	کاتالاز
-	-	-	-	-	-	اکسیداز
-	+	+	+	+	+	متیل رد
-	-	-	-	-	-	VP
-	+	(+)	(+)	(+)	(+)	اندول
-	-	-	-	-	-	سیترات
+	+	+	+	+	+	نیتрат
-	-	-	-	-	-	هیدرولیز:
-	-	-	-	-	-	اسکولین
-	-	-	-	-	-	اوره
-	-	-	-	-	-	ژلاتین
-	-	-	-	-	-	اسید از:
+	+	+	+	+	+	گلوکز
-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	ترهالوز
-	-	-	-	-	-	آرابینوز
-	-	-	-	-	-	اینوزیتول
-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	مانیتول
-	-	-	-	-	-	لاکتوز
-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	سالیسین
K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	K/A	TSI
-	-	+	+	+	+	ONPG
-	-	+	+	+	+	تحرك و رشد در:
+	+	+	+	+	+	۲۵ درجه سانتیگراد
-	+	+	+	+	+	۳۷ درجه سانتیگراد
-	-	-	-	-	-	تحمل نمک (%NaCl):
+	+	+	+	+	+	۱
+	+	+	+	+	+	۲
-	+	+	+	+	+	۳
-	+	+	+	+	+	۴
-	+	+	+	+	+	۵
-	+	+	+	+	+	۶
-	-	-	-	-	-	حساسیت به:
-	-	+	+	+	+	(a) کلرآمفینیکل (۳۰μg)
-	-	+	+	+	+	(b) سفالوتین (۳۰μg)
-	-	-	-	-	-	آمپی سیلین (۱۰μg)
-	-	-	-	-	-	پنی سیلین (۱۰μg)

1973. *Edwardsiella tarda*, a new pathogen of channel catfish (*I. punctatus*). Applied Microbiology 25: 155-156.

10- Park Socti Wakabayashi H. and Watanabe Y., 1983. Serotype and virulence of *E. tarda* isolated from eel and their environment. Fish Pathology, 18: 85-9.

11- Plumb J.A., 1993. *Edwardsiella septicaemia* In: Inglis, J.V., Roberts, R.J. and Bromage, N.R. (eds): Bacterial Diseases of Fishs. Blackwell scientific publications, PP: 61-80.

12- Reade E., 1991. Microbiological Techniques. School of Microbiology, University of Melburne, Australia, PP: 352.

13- Sakazki R., 1967. Studies on the Asakusa group of Enterobacteriaceae (*E. tarda*). Japanese Journal of Medical Science and Biology 20: 205-12.

14- Van Damme L.R. and Vandepitte J., 1980. Frequent isolation of *E. tarda* and *Plesiomonas shigelloides* form healthy Zairese fresh water fish. A posible source of sporadic diarrhea in the tropics. Applied and Environmental Microbiology. 39: 475-9.

15- Wallace L.J., White F.H. and Gore H.L., 1966. Isolation of *E. tarda* from a sea lion and two alligators. Jorunal of the American Veterinary medicine Association, 149: 881-3.

16- White F.H., Simpson C.F. and Williams L.E., 1973. Isolation of *E. tarda* from aquatic animal species and surface waters in florida. Journal of wildilfe diseases, 9: 204-8.

17- Wyatt L.E., Nickelson R. and Van Daizanto C., 1979. *Edwardsiella tarda* in freshwater catfish and their environment. Applied and Environmental Microbiology 38: 710-714.

### تشکر و قدردانی

مؤلفین لازم می‌دانند از زحمات آقای هادی باقری کارشناس بخش میکروبیولوژی آبی‌زیان دانشکده دامپزشکی به خاطر همکاری در انجام آزمایشات باکتری‌شناسی و سرکار خانم مریم محقق‌زاد به خاطر تقبل تایپ مقاله تشکر و قدردانی نمایند.

### باورقی‌ها

- 1- Fish gangrene
- 2- Emphysematous putrifactive disease
- 3- Red disease

### منابع مورد استفاده

- ۱- سلطانی، مهدی، ۱۳۷۶. بیماری‌های باکتریایی ماهی (ترجمه). انتشارات سازمان دامپزشکی کشور با همکاری مؤسسه نشر جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران.
- ۲- زهرایی، تقی و ستاری، مسعود، ۱۳۷۵. اولین گزارش جداسازی *E. tarda* از ماهی اسکار در ایران. پژوهش و سازندگی ۹۵-۹۴.
- 3- Austin B. and Austin D., 1993. Enterobacteriaceae representative In: Austin B. Austin D. (eds) and Wildfish. Ellis Horwood Chichester. PP: 196-224.
- 4- Egusa S., 1976. Some bacterial diseases of fresh water fishes in japan. Fish pathology, 10: 103-14.
- 5- Frerichs G.N., 1990. Manual for the Isolation and Identification of Fish Bacterial Pathogens. Pisces Press, Stirling, PP: 44.
- 6- Hoshinae T., 1962. On a new bacterium *Paracolobacterium anguillimortiferum*. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheris 28; 162-164.
- 7- Inglis J.V., Roberts R.J. and Bromage N.R., 1993. Bacterial Diseases of Fish. Blackwell Scientific Publications, PP: 61-80.
- 8- Liu C.I., Tasoi S.S., 1980. Edwardsiellosis in pond-cultured eel in Taiwan. CAPP Fisheries NO. 3, Reports on Fish Disease Research 3: 109-15.
- 9- Meyer F.P. and Bullock G.L.,

بیوشیمیایی و فیزیولوژیک (تحمل نمک بالای ۰.۳٪، تحرک در ۳۵ درجه سانتیگراد) به مراتب مشابه سویه‌های *E. tarda* می‌باشد تا *E. ictaluri* (سلطانی ۱۳۷۶، Austin و Austin، ۱۹۹۳). به هر حال بسته به سویه باکتریایی ممکن است اختلافاتی در بین سویه‌های هر گونه وجود داشته باشد که مطالعات بیشتری نیاز است تا شناسایی دقیق‌تر گونه و نوع سروتیپ آن امکانپذیر نماید. اگر چه بیماری‌زایی و حدت این نمونه باکتری مورد مطالعه قرار نگرفته است اما این نوع جداسازی از اندامهای داخلی و خون‌ساز می‌تواند دلیلی موجه بر عامل بیماری بودن باکتری در این ماهی باشد.

از نظر همه‌گیری شناسی، عفونت بیشتر در فصل تابستان در مزارع رخ می‌دهد، اگر چه مواردی از شیوع بیماری در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد نیز از آسیای شرقی گزارش شده است (Liu و Tsai، ۱۹۸۰). میزان تلفات در گربه ماهیان پرورشی در استخر کم بوده اما با انتقال ماهیان به آکواریوم یا تانکها بر شدت تلفات افزوده می‌شود. باکتری مولد بیماری از لجن‌های استخر گربه ماهیان، قورباغه‌ها، لاک‌پشته‌ها، خرچنگ‌های دراز، مارها، پرندگان و پستانداران از جمله انسان گزارش شده است و می‌تواند به طور ثانویه عامل ایجاد عفونت‌های سپتی‌سمی و عوارض گوارشی در این جانوران و انسان باشد (۱۳، ۱۴، ۱۵ و ۱۶).

شناسایی دقیق‌تر این باکتری (تعیین سروتیپ) و ارزیابی میزان حدت و بیماری‌زایی آن در ماهی نیازمند مطالعات بعدی است.

جدول شماره ۱- نتایج آزمایشهای مرفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی سویه‌های *E. tarda* جدا شده از کبد، کلیه، طحال و آسیت محوطه شکمی گربه‌ماهی آکواریومی

۱- نژاد جدا شده از کلیه، ۲- نژاد جدا شده از طحال، ۳- نژاد جدا شده از کبد، ۴- نژاد جدا شده از آسیت شکمی، ۵- نتایج منتشره برای *E. tarda* (سلطانی، ۱۳۷۶)، ۶- نتایج منتشره برای *E. ictaluri* (سلطانی، ۱۳۷۶) علائم + و - داده شده برای شماره‌های ۵ و ۶ نشان‌دهنده ۹۰٪ نژادها برای واکنش‌های مورد نظر + و یا - می‌باشد. علائم داخل پرانتز نشان‌دهنده واکنش ضعیف است. a) ۲۶ میلی‌متر، b) ۲۲ میلی‌متر، k) نشان‌دهنده واکنش قلیایی، A) نشان‌دهنده واکنش اسیدی