مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، (JSIAU)
شماره ٦٦ زمستان ١٣٨٦

انتشار گو نه های آئرومونـاس در آبهای سطحی استان گلستان

احمد هلاکو*
گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه، خوزستان، ایران
نور امیر مظفری و هما فروهش
گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

Archive of SID

چکیده

جنس آئرومونـاس باکتری گرم منفی، اکسیداز مثبت است که به طور وسیع در آبهای سطحی، رودخانه ها ودریاچه هـای تمام نقاط دنیا یافت می شود این جنس عامل بیماری های مختلف در حیوانات دریا یی، پستانداران وشامل انـسان مـی شود. بعضی ازگونه های این جنس در بیماریهای گوارشی و خارج از دستگاه گوارشی نقـش دارنـد.ودر هنگـام وقـوع بلایای طبیعی مثل سیل،بیماریهای گوارشی ناشی از آن زیاد می شود.در این مطالعه سعی شـده اسـت نمونـه هـای آب برداشت شده از سیل استان گلستان از نظر گونه های آئرومونـاس بررسی شودبرای جدا سازی اولیه این گونه هـا از آب پپتون قلیایی و بلادآگار استفاده شد وبا آزمون های بیو شیمیایی استاندارد شامل اکسیداز، لیزین دکر بوکسیلاز،اور نیتین دکر بوکسیلاز،آرژینین دی هید رولاز،Dnase . بایل اسکولین،VP،سیمون سیترات، اندول، ONPGرشـد در٠٪، ١٪، ٦٪ نمـک و اسـترینگ تـشخیص نهـائی انجـام شـد.از ٦٠ نمونـه برداشـت شـده،٢٧مـورد آئرومونـاس جداشـد کـه ٢١مورد(٧٧٪)A . hydrophila،سه مورد(١١٪)A. caviae, وسه مورد(١١٪)A. media بود.

واژه های کلیدی **: آئرومونـاس، آب های سطحی، سیل، استان گلستان**

* عهده دار مکاتبات

www.SID.ir

مقدمه:

جنس آئروموناس شامل باکتری های کروی،گرم منفی،اکسیداز مثبت وتخمیر کننده گلوکز هستند که به طور وسیع درآبهای شیرین،دریاچه هاومحیط های دریایی تمام نقاط دنیا انتشار دارند.همچنین این میکروارگانیسم از مدفوع گاوها وخوک های سالم واز مدفوع اسب ها ،جوجه ها،بزوگوسفند نیز جدا شده است. این باکتری ها همچنین از غذا ،نمونه های کلینیکی وآب های آشامیدنی کلر زده شده(chlorinated drinking water) نیز جدا شده است [۱،۲].

آئروموناده عامل بیماریهای مختلف در انواع حیوانات خونسرد وخونگرم شامل ماهی ،خزنده،دوزیست ها،پستانداران و انسان می شود.این میکروارگانیسم ها بوسیله فلاژل های قطبی تکی،حرکت می کنند وفقط دو گونه A. Salmonicida و A. Media غیر متحرک هستند وبرای انسان بیماریزا نیستند[۳].

مهمترین راه انتقال گونه های آئروموناس، مدفوعی- دهانی می باشد که از طریق آب های آلوده به انسان منتقل می‌شوند [٤].

جنس آئروموناس را در دو شاخه تقسیم بندی می نمایند:

الف) گروه سایکروفیلیک: فقط یک گونه در این گروه قرار می گیرد A.salmonicidaکه برای ماهی پاتوژن است، غیر متحرک و در ۳۷ درجه سانتی گراد رشد نمی کند و بنابراین از نظر کلینیکی اهمیتی ندارد [۳].

ب) گروه مزوفیلیک: اعضای این گروه در ۳۷ درجه سانتی گراد رشدمی کنند و متحرک هستند و این گروه را به سه گروه فنوتیپی می‌توان تقسیم کرد،A.hydrophila, A.caviae, A.sobria این گونه ها به طور قابل ملاحظه ای برای انسان پاتوژن قوی هستند[۳].

Watson و همکاران پیشنهاد کردند که فاکتورهای بیماریزایی گونه های آئروموناس مشابه سایرپاتوژن های انتریک ر می باشد که باعث افزایش سلولهای باکتریایی درمخاط روده شده وبه مخاط روده حمله می کنند. بیماریزایی این جنس بستگی به فاکتورهایی مثل انتروتوکسین، همولیزین وپروتئین های سیتو توکسیک دارد. حدود ۲۰٪ از بیمارانی که عفونت روده ای بوسیله گونه های آئروموناس داشته اند علائم آنها شبیه دیسانتری گونه های شیگلا وکمپیلوباکتر ژژونی بود [٤،۳،۱].

A.hydrophila ,A.sobria توکسین شبیه وبا یا chlorea – like extractable toxin تولید می کند که باعث اسهال آبکی می‌شود. عقیده قبلی درمورد A.caviae این بود که این باکتری انتروتوکسین تولید نمی کند و برای انسان بیماریزا نیست ولی Fritsche و همکاران نشان دادند که این گونه نیز عامل گاستروانتریت می باشد ودر انسان باعث اسهال حاد می شود واین ارگانیسم را از مدفوع اسهال شبه وبا جدا کردند [٤،۳].

Ko وChuang گزارش کردند که٦٨٪ باکتریمی آئروموناس مربوط به A.hydrophila و۱۷٪ A.sobriaو۱۰٪مربوط به A.caviae می باشد.اخیرا گونه های از آئروموناس توصیف شدند که از نظر کلینیکی مهم هستند وشامل A.schubertii که از عفونت های زخم جدا شده است. A.veronii باعث باکتریمی، عفونت های زخم و اسهال می شود و A.jandaei و A.trota که از مدفوع بیماران جدا شده است.

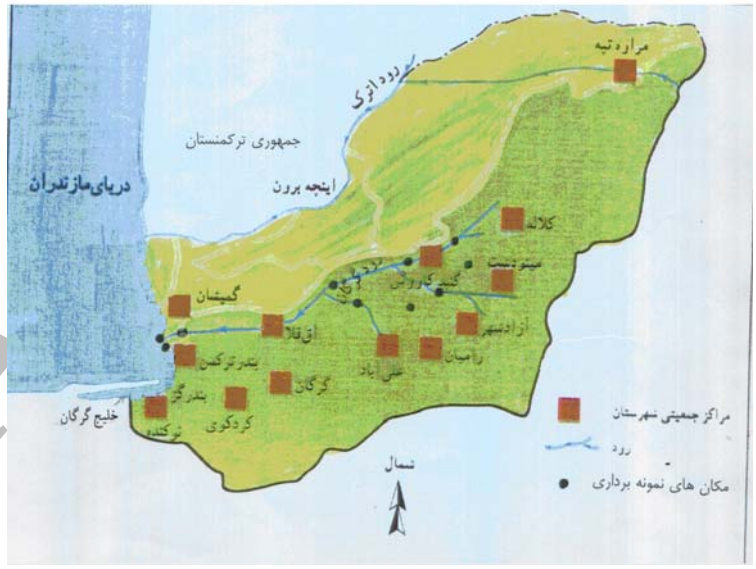
Archive of SID

www.SID.ir

A.allosaccharophilaیک گونه مزوفیلیک جدید آئروموناس می باشد که از مارهای بیمار ومدفوع بیماران جداشده است [٣].

مواد،وسایل وروش ها

٦٠نمونه آب از سد دریاچه گلستان ،رودخانه گرگان وشاخه های آن وآب های سطحی گنبد بعد از سیل استان گلستان در شهریور ١٣٨٠ برداشت شد(شکل ١). نمونه ها،٢-٣متر داخل آب واز عمق ٣٠ سانتی متری بوسیله شیشه دهان گشاد استریل برداشت شدند سپس در کوتاهترین زمان در آزمایشگاه در شرایط استریل ١٠ میلی لیتر از نمونه را با پیپت استریل به لوله آزمایش منتقل کرده، لوله آزمایش به مدت ٥ دقیقه با٣٠٠٠دور در دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی دور ریخته شد وسپس یک میلی لیتر از محلول زیرین لوله آزمایش را به ٩ میلی لیتر محیط آب پپتون قلیایی منتقل کرده وبعد از ٦-٤ساعت انکوباسیون در دمای ٣٧ درجه سانتی گراد به مدت ٢٤ ساعت قرار داده می شد سپس محیط بلاد آگار از نظر وجود کلنی های *B* همولیتیک مورد بررسی قرار می گرفت. کلنی های B همولیتیک رشد کرده بر روی بلاد آگار را بصورت خالص بر روی محیط Trypticase soya agar کشت داده شد سپس تک تک کلنی های ایزوله شده بوسیله تست اکسیداز آزمایش شد از این مرحله به بعد تست های افتراقی بر روی کلنی های اکسیداز مثبت انجام شد .سپس تست های لیزین دکر بوکسیلاز(LDC)،اورنیتین دکر بوکسیلاز (ODC) و آرژینین دی هید رولاز (ADH)، Dnase، بایل اسکولین VP، اندول، سیمون سیترات،ONPG ، رشد در ٠٪،١٪،٦٪ نمک واسترینگ تست بر روی کلنی های ایزوله شده انجام شد.



شکل ١: نقشه استان گلستان و مکانهای نمونه برداری که با نقاط سیاه مشخص شده است.

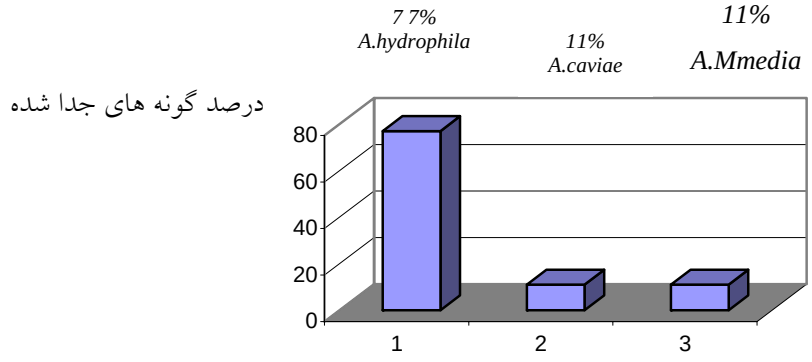
نتایج

از ٦٠ نمونه برداشت شده از آب های سیل استان گلستان،٢٧ مورد (٤٥٪) آئروموناس جدا شد و از ٣٣ نمونه(٥٥٪) دیگر برداشت شده هیچ گونه آئروموناس جدا نشدکلنی های جدا شده دراین ٣٣ نمونه اکسیداز مثبت

Archive of SID

www.SID.ir

نبودند واز ۲۷ مورد جدا شـده،۲۱ مـورد (۷۷٪) *A.hydrophila* و۳ مـورد (۱۱٪) و۳ مـورد (۱۱٪)*A.media* تشکیل می داد درصد جداسازی گونه های آئروموناس در نمودار۱ نشان داده شده است.



نمودار ۱: گونه های جدا شده آئروموناس از سیل استان گلستان

بحث

برای جدا سازی اولیه این جنس از محیط APW(آب پپتون قلیایی)استفاده شد این محیط یک محیط غنی کننده برای های ویبریو می باشد اما APW یک محیط غنی کننده برای گونه های آئروموناس نیز می باشد[۳].

برای جدا سازی این گونه ها از محیط بلاد آگار همراه با $10\ ^{\mu g}/_{ml}$ آمپی سیلین استفاده شد در این صورت این محیط بصورت انتخابی برای جنس آئروموناس در می آید،کلنی های گونه های آئروموناس به صورت بزرگ،کروی،برجسته ومات که همولیزB دارند بر روی بلادآگار رشد می کنند [۵و۳].

تست اکسیداز یکی از تست های اصلی در تشخیص گونه های آئروموناس از انتروباکتریاسه است زیرا تمام گونه های آئروموناس اکسیداز مثبت هستند.تست های لیزین دکربوکسیلاز،اورنیتین دکربوکسیلاز وآرژینین دی هیدرولاز نیز جزء تستهای اصلی در تشخیص گونه های آئروموناس هستند. اعضای این جنس بر خلاف گونه های ویبریو، آرژینین مثبت،لیزین واورنیتین منفی هستند[۶،۳،۷].

در مطالعه ای که توسطBurke وهمکاران انجام شده میزان جدا سازی گونه های آئروموناس از محیط های آبی در فصل تابستان بیشتر می شود.همچنین در این فصل،این ارگانیسم ها از آب های کلر دار به خوبی آب های سطحی جدا می شوند در زمان جدا سازی این گونه ها دمای آب بالاتر از ۱٤/٥℃بوده است[۷].

در مطالعه که توسط Ivanova و همکاران در سال ۲۰۰۰ بر روی انتشار گونه های آئروموناس و گونه های ویبریو را در آب‌های آشامیدنی شهر ولادی وستوک بررسی کردند که ۲۵٪ باکتریهای جدا شده را گونه های آئروموناس تشکیل می دادند که گونه های *A.sobria* و*A.popffii* را تشکیل می داد[۸].

Ghenghesh وهمکاران بر روی انتشار گونه های آئروموناس در آب های شیرین بررسی کردند که ۵۹٪ *A.hydrophila*،۲۷٪ *A.caviae*، ۱۱٪ *sobria*و۳٪ نیز گونه های دیگر آئروموناس را تشکیل می داد[۹].

مطالعات نشان می دهد که غلظت گونه های آئروموناس در آب های محیطی علاوه بردمای آب به غلظت مواد آلی مانند فسفات،نیتروژن وکربن در محیط بستگی دارد.غلظت بالای گونه های آئروموناس در محیط های آبی یک

Archive of SID

www.SID.ir

اندیکاتور برای آب‌های گرم می باشد این باکتری ها می توانند به عنوان نشانه ی بیولوژی برای تعیین درجه آب های گرم باشند[1].

در این بررسی نیز٧٧٪ گونه های آئروموناس مربوط به *A.hydrophila* ١١٪ *A.cariae* و١١٪ *A.media* بود که این نمونه‌ها در فصل تابستان بعد از سیل برداشت شدند که در این زمان دمای آب بالا بوده وهمچنین به علت سیل غلظت مواد آلی همچون کربن،نیتروژن،فسفر افزایش می یابد که این عوامل در جداسازی گونه های آئروموناس مؤثر هستند.

گونه های آئروموناس هالوتولورنت هستند و در غلظت ٠ تا٤٪ نمک می توانند رشد کنند[1].در بررسی انجام شده درجه شوری نمونه‌های آب برداشت شده ٠ تا١٪ بود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری کارکنان مرکز تحقیقاتی و آموزشی علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ایران صمیمانه سپاسگزاری می شود.

References

1- Fiorentini, C., Barbieri, E., Paizano, l., and.et al. *Journal of Applied Microbioology*, **85**, 50 (1998).
2- Mahon, C. R. and manuselis, G., *Textbook of Diagnostic Microbiology*. W.B.Sanders Co, Philadelphia, 524 (2000).
3- Koneman, E., Allen, S., janda, W., Winn, W., Procop, G., schreekenberger, P. and Wood, G., *Atles and Textbook of Diagnostic Microbiology*.6th ed. Lippincott, Philadelphia, 417 (2006).
4- Nayduch, D., Honko, A., Noblet, G. P. and stutzenberger, F., *Epidemiol. Infect*, **127**, 561. (2001).
5- Forbes, A. B., Sahm, F. D. and weissfeld, S. A., *Bailey and Scotts diagnostic microbiology*, 10 th ed, mosby Co, St Louis, 488 (1998).
6- Murray, P. R., Baron, E. J., Pfaller, M. A., Tenover, F. C. and Yolken, R. H., *Manual of Clinical Microbiology*, 7 th ed. ASM Press, Washington DC, 497 (1999).
7- Burke,V., Robinson, J., Gracey, M. and et al., *Applied and Environmental Microbiology*, **48**, 361 (1984).
8- Ivanova, E. P., Zhukova, N. V., Gorshkova, N. M. and et al, *J-Appl-icrobiol*, **90**, 919 (2001).
9- Ghenghesh, K. S., EL Ghodban, A., Dkakni, R. and et al., *Mem-Inst-oswaldo- cru*, **96**, 169 (2001).

Archive of SID

www.SID.ir