

## گزارش موردی سپتی سمی باکتریایی ناشی از آئروموناس هیدروفیلا به همراه آلودگی شدید به هگزامیتا و کرم کاپیلاریا در فرشته ماهی (*Pterophyllum scalare*)

### • رحیم پیغان

استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

### • زهرا طولابی دزفولی

دانشجوی دکتری دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

### • نغمه موری بختیاری

استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

### • مینا آهنگرزاده

دانشجوی دکتری دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

### • محمد مهدی حق پرست

دانشجوی دکتری دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز



تاریخ دریافت: آذر ماه ۹۳ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۹۴

Email: rpeyghan@yahoo.com

### چکیده

سپتی سمی باکتریایی از جمله بیماری‌های مهم ماهی است که به صورت اولیه و یا به واسطه عوامل مساعد کننده به صورت ثانویه بروز می‌کند. آلودگی به انگل هگزامیتا و کاپیلاریا نیز از بیماری‌های مهم انگلی ماهی خصوصاً در ماهیان آکواریومی به حساب می‌آیند. هدف از این مطالعه، بررسی علت تلفات در فرشته ماهیهای یک مرکز تکثیر بود. در این مطالعه موردی، از یک مرکز تکثیر و پرورش ماهیان آکواریومی، تعداد ۱۰ قطعه فرشته ماهی بیمار (نر و ماده با میانگین وزن ۵±۱ گرم) به بیمارستان دامپزشکی ارجاع داده شدند و به روش متداول و سپس بررسی‌های تکمیلی مطالعه گردیدند. به منظور بررسی ماهیان بیمار از روش‌های متداول تشخیصی و برای تشخیص باکتری‌های جدا شده از روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی (PCR) استفاده شد. در کالبد گشایی مهم‌ترین یافته در مشاهده با چشم غیر مسلح، آسیب و پرخونی احشا بود. در کشت باکتریایی از کلیه ماهیان بیمار، آلودگی شدید به باکتری آئروموناس هیدروفیلا مشاهده گردید که گونه عامل باکتریایی با روش‌های بیوشیمیایی بررسی و با روش PCR مورد تایید قرار گرفت. در بررسی روده این ماهیان، وجود تعداد زیادی تک‌یاخته‌ی تاژک‌دار (هگزامیتا) و نیز آلودگی به کرم کاپیلاریا در فضای لومن روده مشاهده گردید. نتایج بررسی ماهیان بیمار نشان می‌دهد که علت مرگ و میر این ماهیان، سپتی سمی باکتریایی ناشی از آئروموناس هیدروفیلا بود که احتمالاً آلودگی شدید روده به تک‌یاخته هگزامیتا و کرم کاپیلاریا نیز به عنوان عوامل مساعد کننده بیماری است.

کلمات کلیدی: هگزامیتا، کاپیلاریا، آئروموناس، فرشته ماهی، سپتی سمی.

• Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 111 pp: 117-121

A case study of *Aeromonas* septicemia coincides with infection to *Hexamita* sp. and *Capillaria* sp. in a stock of Angelfish, *Pterophyllum scalare*

By: Peyghan R., Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, ShahidChamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran; Tulaby Dezfily Z., PhD student, Faculty of Veterinary Medicine, ShahidChamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran; N. MooriBakhtiari, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, ShahidChamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran; Ahangarzadeh M., student, Faculty of Veterinary Medicine, ShahidChamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran; Haghparast M., PhD student, Faculty of Veterinary Medicine, ShahidChamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Email: rpeyghan@yahoo.com

Received: April 2014 Accepted: November 2015

Bacterial septicemia is a bacterial fish disease that occurs as primary or secondary infection. Also the contamination to ciliate parasites such as *Hexamita* to worms such as *capillaria* is an important finding in aquarium fishes, which can weaken the fish and make them susceptible to bacterial septicemia. The purpose of this study was diagnosis and identification of causes of death in an angelfish stock. A total of 10 fish samples (male and female, mean weight of  $5 \pm 1$  g) were transported live to the laboratory. For disease diagnosis, the routine investigation methods were done and for identification of isolated bacteria we used biochemical and molecular tests. At necropsy findings observed with the naked eye, had ascites and visceral congestion. In bacterial cultures of infected fish kidney, *Aeromonas hydrophila* infection was detected and the bacterium was definitely identified by biochemical and PCR methods. In examination of intestine, severe infection to flagellate protozoa *Hexamita* sp. and *Capillaria* sp. infection in the intestinal lumen were also observed in all samples. According to this study, it was determined that bacterial septicemia by *Aeromonas hydrophila* with heavy infestation with *Capillaria* and *Hexamita* can be introduced as causes of the death of the angelfish.

Hexamita ,Capillaria , Aeromonas , Angelfish , Aquarium

#### مقدمه

فرشته ماهی متعلق به خانواده‌ی سیکلیده به دلیل وجود نژادهای ترکیبی و نگهداری آسان، یکی از مشهورترین ماهیان زینتی آب شیرین در صنعت ماهیان آکواریومی است (۶). عوامل بیماریزای ماهیان زینتی به دلیل سودهای تجاری، به سرعت در جهان منتشر می‌گردند، بنابراین کنترل بیماری‌های عفونی متداول به منظور پیشگیری بسیار حائز اهمیت است (۴).

آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*)، باکتری گرم منفی، متحرک و فرصت طلب است که می‌تواند منجر به سپتی سمی خون‌ریزی دهنده باکتریایی در ماهیان شود (۷). آئروموناس‌های متحرک عمدتاً در آب‌های شیرین یافت می‌شوند با اینحال با شرایط محیطی مختلف (دما، شوری، کدورت آب) سازگار هستند (۶). هگزامیتا انگل روده و کیسه صفرا ماهیان آب شیرین بوده که اغلب آزاد ماهیان را آلوده می‌کند و در کپور ماهیان و ماهیان زینتی نیز وجود دارد. در ماهیان ضعیف، هگزامیتوز به عنوان عفونت ثانویه‌ی متداول است (۸). بیماری هگزامیتوز انتشار جهانی داشته و کپور ماهیان، تاس ماهیان، مارماهیان، آزاد ماهیان و ماهیان زینتی را تاکنون درگیر کرده است. هگزامیتا سیکل زندگی

مستقیمی دارد و در نقاط مختلف جغرافیایی و در دماهای مختلف آب قادر به زیست می‌باشد (۹). کاپیلاریا نیز از جمله کرم‌هایی است که زئونوز بوده و بسیاری از پستانداران، پرندگان، ماهیان و جانوران بی مهره را آلوده می‌کند (۱۱). این انگل، متعلق به شاخه‌ی نماتودا، راسته‌ی تریشوریدا و خانواده‌ی تریشینلیده و جنس کاپیلاریا می‌باشد (۵).

انگل‌های زیادی از ماهیان آکواریومی و پرورشی کشورمان گزارش شده است (۱، ۲). در ایران نماتود کاپیلاریا توسط عادل و همکاران (۲۰۱۳) در یک ماهی سیکلاید گزارش گردید (۴). در ماهیان بومی، انگل کاپیلاریا تاکنون فقط از ماهی شیربت رودخانه کرخه خوزستان گزارش شده است (۳) با اینحال گزارشی از آلودگی به این انگل در ماهی آنجل در استان خوزستان وجود ندارد. انگل هگزامیتا در ایران قبلاً توسط پیغان و همکاران (۲۰۱۰) در ماهی اسکار مبتلا به بیماری «سوراخ در سر» گزارش شده است (۱۰). در مطالعه حاضر که ابتدا به منظور تشخیص و درمان ماهیان بیمار انجام شد اما با توجه به نادر بودن عفونت همزمان به سه نوع عامل بیماریزا، تشخیص با روش‌های تشخیصی تکمیلی کامل تر گردید. به طور کلی هدف از این مطالعه، بررسی علت تلفات ماهیان آنجل بیمار و شناسایی عوامل بیماریزای دخیل در بروز تلفات آن بوده است.



تصویر ۱: ماهی آنجل مبتلا به بیماری سپتی سمی باکتریایی و انگل‌های رودهای

رنگ آمیزی گیمسا، نوع تک یاخته هگزامیتا تشخیص داده شد (تصویر ۲). همچنین تعداد زیادی نماتود کاپیلاریا در گسترش مرطوب تهیه شده از رود مشاهده شد که بالغ بوده و دارای تخم‌های بزرگ بودند. تخم آن‌ها بشکله‌ای شکل و در دو انتهای خود دارای دریچه بودند (تصویر ۳ و ۴). نتایج کشت باکتریایی پس از ۲۴ ساعت نگهداری در انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد، وجود تعداد زیادی (شدت +۴) کلنی کوچک زردرنگ را نشان داد. در رنگ آمیزی این باکتری‌ها گرم منفی بوده و نتایج تست‌های بیوشیمیایی با مشخصات باکتری *Aeromonas hydrophila* مطابقت داشت (جدول ۱) و روش مولکولی نیز این یافته را اثبات نمود (تصویر ۵ و ۶).

مطالعات اندکی در کشور بر روی بیماری‌های ماهیان زینتی صورت گرفته است. به منظور بهبود صنعت پرورش ماهیان زینتی در ایران و نیز جلوگیری از کاهش ذخایر این ماهیان، اطلاعات بیشتری در مورد عوامل باکتریایی و انگل‌هایی که ماهیان را درگیر کرده و منجر به انتقال آلودگی می‌شود، مورد نیاز است. سالیانه از کشورهای جنوب شرقی آسیا تعداد بسیار زیادی از گونه‌های مختلف ماهیان زینتی از جمله آنجل وارد ایران می‌شوند. واردات کنترل نشده‌ی ماهیان زنده‌ی آلوده می‌تواند منجر به انتقال کاپیلاریا و سایر انگل‌ها به ماهیان بومی با ارزش و خسارات اقتصادی شدید گردد. بنابراین ارزیابی سلامت ماهیان قبل از صادرات توسط این کشورها ضروری می‌باشد.

### مواد و روش کار

در پاییز سال ۱۳۹۲، با مراجعه به یک مرکز تکثیر ماهیان آکواریومی که تلفات نسبتاً شدیدی در ماهیان آنجل آن اتفاق افتاده بود، تعداد ۱۰ عدد ماهی آنجل به بیمارستان دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، بخش آبزیان منتقل گردید. سن ماهیان بیمار حدود ۴ ماه و میانگین وزن آن‌ها ۱۵±۵ گرم بود. ماهیان مذکور دارای علائمی شامل بی‌حالی، عدم تعادل، بی‌اشتهایی، خون‌ریزی و تغییر رنگ اطراف باله مخرجی، کاهش جلای پوست و کدر شدن رنگ بدن بودند (تصویر ۱). به منظور مطالعه‌ی دقیق این ماهیان از ۱۰ قطعه ماهی ارجاعی، ۵ قطعه ماهی به طور اتفاقی و پس از از بین رفتن علائم حیاتی، کالبدگشایی و برای بررسی انگلی و باکتری شناسی صورت گرفت. برای تایید تشخیص گونه باکتری عامل بیماری از روش مولکولی (PCR) استفاده شد و با مشاهده باند با وزن مولکولی ۵۹۹ bp جدایه مورد نظر به عنوان جنس *Aeromonas* و باند با وزن مولکولی ۶۸۵ bp به عنوان گونه *Aeromonas hydrophila* در نظر گرفته شد (۷).

### نتایج و بحث

در گسترش مرطوب تهیه شده از پوست و آبشش انگلی مشاهده نگردید ولی در محتویات رود تعداد زیادی تک یاخته تاژکدار مشاهده شد که مشخصات انگل از نظر شکل، اندازه و تاژک‌ها در گسترش مرطوب و پس از

- Camargo et al. Parasites and Vectors 3:11.
- 6-Hazen, T. C., Filiermans, C. B., Hirsch, R. P. and Esch, G. W. (1987) Prevalence and distribution of *Aeromonas hydrophila* in the USA. Journal of Applied and Environmental Microbiology, 36: 731-738.
- 7-Janda, J. M., Abboh, S. L., Khashe, S., Kellogg, G. H. and Shimada, T. (1996) Biochemical characteristics and serological properties of the genus *Aeromonas*. Journal of Clinical Microbiology, 34:1930-1983.
- 8-Jalali, B. (1997) Parasites and parasitic diseases of freshwater fishes of Iran. Iranian Fisheries Research Organization, pp: 105-112.
- 9-Meshgi, B., Eslami, A. and Yazdani, H. (2006) Study on the parasitic infections of aquarium fishes around Tehran. Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, 61(1): 1-5.
- 10-Peyghan, R., Boloki, A. and Ghorbanpour, M. (2010). Case Report and Treatment of Hole in the Head in Oscar, *Astronotus ocellatus*. Iranian Journal of Veterinary Science and Technology, 2, (1) :39-44.
- 11-Ruth francis- floyed and peggy reed. (1994) Management of Hexamita in ornamental cichlids, university of Florida cooperative extension service, Institute of food and agricultural sciences. Pp: 1,2

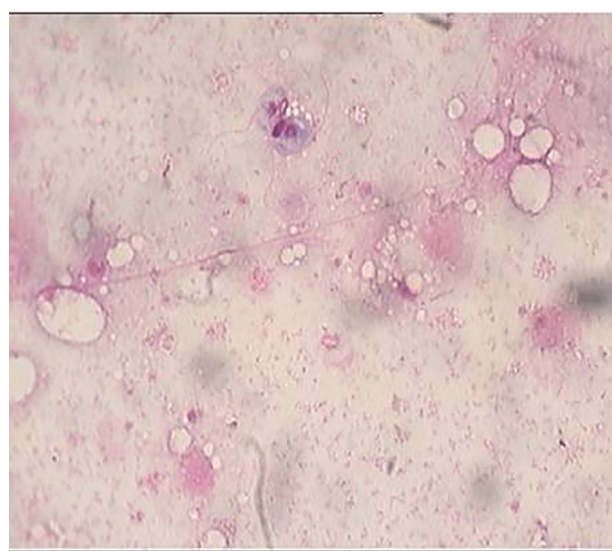
تشکر و قدردانی: این تحقیق با استفاده از امکانات دانشکده دامپزشکی و دانشگاه شهید چمران اهواز (گرات ۱۳۹۳) انجام گردیده و در این رابطه از مسئولین محترم دانشگاه تشکر و قدردانی می گردد.

### منابع مورد استفاده

- ۱-جلالی جعفری، بهیبار (۱۳۷۷) انگلها و بیماریهای انگلی ماهیان آب شیرین، اداره کل آموزش، چاپ اول، انتشارات معاونت تکثیر و پرورش آبزیان. صفحات ۳۸۵-۴۰۵.
- ۲-مغینمی، سید رحیم (۱۳۷۴) گزارش نهایی مطالعه آلودگی انگلی در ماهیان تالاب هورالعظیم دشت آزادگان. موسسه تحقیقات شیلات ایران. صفحات ۱۷-۷۹.
- ۳-مصباح، مهرزاد، راضی جلالی، محمدحسین، علیشاهی، مجتبی، اکبرزاده، عباس (۱۳۸۹) مجله دامپزشکی ایران. شماره ۳، ۲۰-۲۷.
- 4-Adel, M., Saeedi, A. Safari, R., Azizi, H. and Adel, M. (2013) *Pterophyllu mscalare* (Perciformes: Cichlidae) a new paratenic host of *Capillaria* sp. (Nematoda: Capillariidae) in Iran, World Journal of Zoology 8 (4) : 371-375.
- 5-Camargo, L.M.A., Camargo, J., Vera, L.J., Barreto, P.D., Tourinho, E.K., Souza, M.M. (2010) *Capillaria* (Trichurida, Trichinellidae, *Capillaria hepatica*) in the Brazilian Amazon: low pathogenicity, low infectivity and a novel mode of transmission,

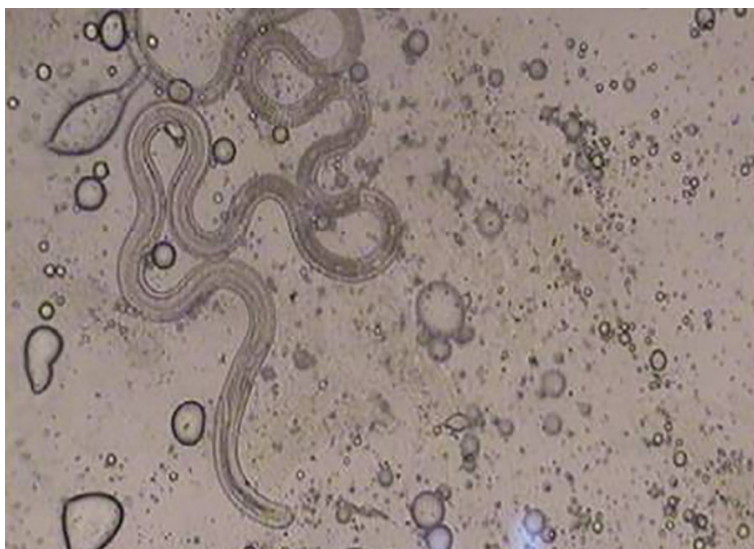


تصویر ۳: انگل کاپیلاریا در گسترش مرطوب از روده (بزرگنمایی نهایی ۱۰۰×).

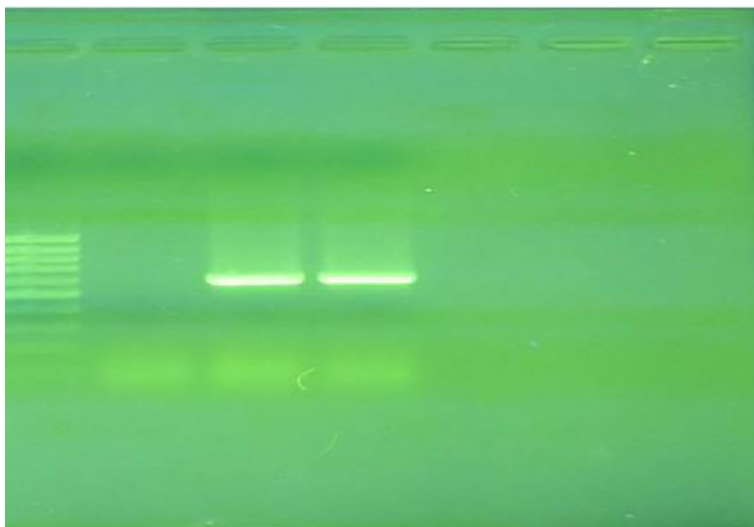


تصویر ۲: تک یاخته‌ی هگزامیتا در گسترش خشک رنگ آمیزی شده به روش گیمسا (بزرگنمایی نهایی ۱۰۰۰×).

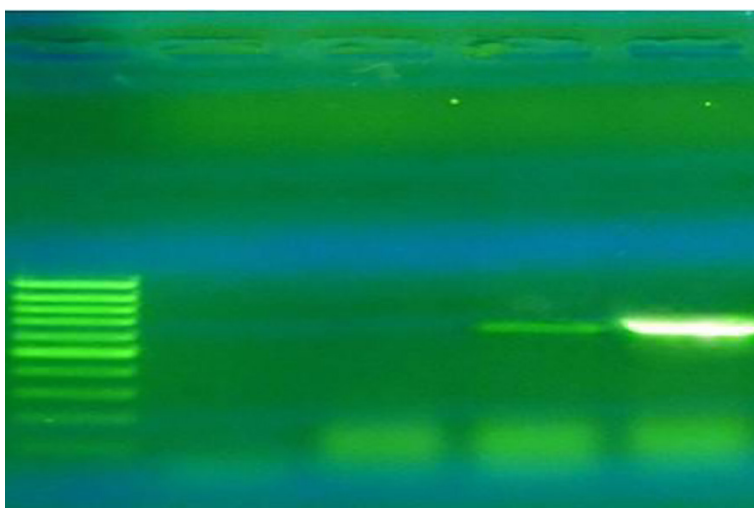




تصویر ۴:  
انگل کاپیلاریا حاوی تخم در  
گسترش مرطوب از روده  
(بزرگنمایی نهایی ۴۰۰×).



تصویر ۵:  
ژن PCR الکتروفورز محصول  
اختصاصی جنس آئروموناس بر روی  
ژل آگارز ۱/۵٪  
ستون ۱: نردبان ژنی  
(M) ۱۰۰ bp  
ستون ۲: نمونه منفی  
ستون ۳: جدایه  
تأیید شده جنس آئروموناس  
(bp واجد باند ۵۹۹) مثبت.  
ستون ۴: کنترل مثبت



تصویر ۶:  
ژن اختصاصی PCR الکتروفورز محصول  
گونه‌ی آئروموناس هیدروفیلا بر روی ژل  
آگارز ۱/۵٪  
ستون ۱: نردبان ژنی (M) ۱۰۰ bp  
ستون ۲: کنترل منفی  
ستون ۳: نمونه منفی،  
ستون ۴: جدایه‌ی تأیید شده آئروموناس  
هیدروفیلا (۶۸۵ bp)  
ستون ۵: کنترل مثبت