**علوم و تکنولوژی محیط زیست ، دوره پانزدهم، شماره چهار، زمستان ۹۲**

# مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های گرم منفی جداشده ازروده ماهی کپور وحشی تالاب انزلی

**شیلا صفائیان**[۱]

**زهرا مقدم**[۲*]

*Moghaddam_z2009@yahoo.com*

**هدایت حسینی**[۳]

**اکبر اسماعیلی**[۱]

**تاریخ دریافت:۸۸/۸/۲۸** **تاریخ پذیرش:۸۹/۳/۸**

**چکیده**

در تالاب انزلی تحقیقی روی مقاومت آنتی بیوتیکی درباکتری های گرم منفی جدا شده از روده ماهیان کپور وحشی انجام یافت.

در مجموع ۱۲۶ باکتری گرم منفی از روده ماهیان جدا شده و میزان مقاومت باکتری ها نسبت به ۶ آنتی بیوتیک: آمپی سیلین ( AM ۱۰ میکروگرم) . استرپتومایسین( S ۳۰ میکروگرم). تتراسایکلین( T ۳۰ میکروگرم). کلرامفنیکل( C ۳۰ میکروگرم). جنتامایسین( GM ۱۰ میکروگرم). آمیکاسین( AK ۳۰ میکروگرم) سنجیده شد .

نتایج نشان داد که باکتـــری های گرم منفی نسبت به آنتی بیوتیک های: آمپی سیلین(۹۳/۵٪)، استرپتومایسین(۵۱/۱۵٪)، تتراسایکین (۴۶/۵٪) دارای مقاومت بالایی بودند، همچنین مقاومت این باکتری ها نسبت به کلرامفنیکل (۱۲/۱۵٪) نسبتاً پایین است و نیز شواهد فقدان مقاومت باکتری های گرم منفی را نسبت به آنتی بیوتیک های جنتامایسین وآمیکاسین(۰٪) نشان داد. با بررسی میزان مقاومت باکتری ها به چند آنتی بیوتیک مشخص شد که ۸۰٪ از باکتری های جدا شده از روده ماهیان نسبت به آنتی بیوتیک های مصرفی چند مقاومتی هستند.

۱- استادیار و مدیر گروه بیولوژی دریا دانشگاه آزاد اسلامی- واحدتهران شمال – دانشکده علوم وفنون دریایی، گروه بیولوژی

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیولوژی دریا دانشگاه آزاد اسلامی- واحدتهران شمال – دانشکده علوم وفنون دریایی، گروه بیولوژی

۲- استادیار و عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات غذا و دارو وزارت بهداشت، انستیتو تحقیقات تغذیه ای وصنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تحقیقات نشان می دهد که مصرف آنتی بیوتیک ها در صنعت دام پروری، آبزی پروری و همچنین مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها در محیط توانسته است مشکلات زیست محیطی از قبیل مقاومت در برابر آنتی بیوتیک ها را در محیط زیست ایجاد نماید . این تحقیق که برای اولین بار در تالاب انزلی بر روی میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های گرم منفی جدا شده از دستگاه گوارش ماهیان کپور وحشی صورت گرفته، نشان می دهد که در مجموع باکتری های گرم منفی مقاوم به آنتی بیوتیک ها در تالاب انزلی درصد بالایی دارد.

**واژه های کلیدی:** باکتری های گرم منفی، مقاومت آنتی بیوتیکی، کپور وحشی، تالاب انزلی.

**مقدمه**

ماهی یک قسمت مهم از غذای جمعیت جهان را تشکیل می دهد. با توجه به این واقعیت که ماهی نقش مهمی در رژیم غـــذایی جمعیت جهـــان دارد، بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتریایی در ماهی ها لازم به نظر می رسد .

در دهه های گذشته استفاده گسترده آنتی بیوتیک ها در درمان عفونت های انسانی، بیماری های دامی، کشاورزی و شیلات سبب افزایش حضـــور این مـــــواد در محیط زیست و به تبع آن مقاوم شدن برخـــی از باکتری ها به خصـــوص باکتری های گرم منفی به آن ها شده است. همچنین گسترش آنتی بیوتیک ها باعث ایجاد باکتری هایی با چندین مقاومت شده که سبب آلودگی مواد غذایی و در نتـــیجه ایجاد عفونت های مخـــــتلف در مصرف کننده می شود (۱). امروزه مطالعات زیادی در خصوص تأثیر رها سازی آنتی‌بیوتیک ها در اکوسیستم های خشکی انجام یافته است. در حالی که تحقیقات محدودی در خصوص رها سازی آن ها بر روی اکوسیستم های آبی صورت گرفته است. متأسفانه از همین تعداد اندک نیز تعداد انگشت شماری به مطالعه تأثیر آنتی بیوتیک ها بر روی اکوسیستم هـــای دریایی پرداخته اند (۲). از مهم ترین باکتری های گرم منفی می توان به *انتروباکتریاسه ها (Enterobacteriaceae)* اشاره نمود. این خانواده شامل گونه های متعددی از باکتری ها هستند که از این گروه می توان به *Salmonella* ، *Serratia* و *E.coli* اشاره نمود .

امروزه ثابت شده باکتری های گرم منفی به ویژه *انتروباکتریاسه ها* جزء باکتری های فرصت طلب بوده و در مواردی سبب ایجاد بیماری های شدید تنفسی یا عفونت های ادراری در انسان ها می شود(۳).

استفاده از هر ماده ضد میکروبی می تواند ایجاد مقاومت در جمعیت میکروارگانیسم های هدف کند و در نهایت ژن های مقاوم و باکتری های مقاوم را ایجاد نماید. از آن جایی که ژن های مقاوم برای انتقال از هیچ الگوی فیزیولوژیک و اکولوژیک و جغرافیایی تبعیت نمی کنند، استفاده زیاد از آنتی بیوتیک ها در یک مورد مثل آبزی پروری ممکن است سبب ایجاد مقاومت در موارد دیگر ( از جمله بیماری های انسانی) شود. نحوه انتقال ژن مقاومت به گونه حساس بدین صورت است که ژن مقاومت در قسمتی از DNA قرار دارد که به آن فاکتور یا پلاسمید – R می گوییم . انتقال این فاکتور بین گونه های مشابه و حتی غیر مشابه دیده شده و اثبات شده است . بدین وسیله و با انتقال این فاکتور تعداد گونه های مقاوم به آنتی بیوتیک افزایش می یابد .

به گزارش Stewart و همکاران (۱۹۸۰)، مقاومت همزمان باکتری ها به بتالاکتام ها می تواند به علت انتشار پلاسمیدهای مقاوم به آنتی بیوتیک ها در محیط زیست دریا باشد(۴).

در حال حاضر در ایران تحقیقاتی روی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های گرم منفی موجود در ماهی های کپور وحشی تالاب انزلی صورت نگرفته ، این در حالی است که ماهی ترکیب مهمی را در رژیم غذایی مردمان ایران به خصوص در شمال و جنوب تشکیل می دهد . هدف از این تحقیق بررسی میزان مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های گرم منفی جدا شده از روده ماهیـــان کپور وحشی مورد استفاده غـــذای انســـان می باشد.

**مواد و روش ها**

۱۴ نمونه ماهی کپور وحشی*(Cyprinus Carpio)* تالاب انزلی در طی چهار نوبت ( در دو فصل زمستان ۸۷ و بهار ۸۸) بلافاصله پس از صید از صیادان محلی خریداری شد . نمونه ها را در درون زیپ کیپ قرار داده شده و در یخدان حاوی یخ سریعاً به آزمایشگاه دانشکده علوم و فنون دریایی واحد تهران شمال، انتقال داده شد. سطح خارجی ماهی ها جهت کاهش پتانسیل آلودگی با باکتری های پوستی به وسیله آب استریل شسته شد. در اتاق استریل در کنار شعله ۴ قسمت از روده را با پنس و قیچی استریل برداشته و سپس درون هاون استریل دستی کوبیده و خرد شد. جهت یکنـــواخت سازی نمونه های ترکیبات روده ۱ گرم از این روده هموژن شده را در ۹cc سرم فیزیولوژی یا پپتون واتر رقیق قرار داده شد و در این حالت رقت $۱۰^{-۱}$ ایجاد گردید به همین ترتیب عمل شد. یعنی ۱cc از محلول قبلی وارد ۹cc از پپتون واتر شد و تا $۱۰^{-۷}$ رقت ایجاد گردید (۱).

برای مشخص کردن تعداد کل باکتری های موجود در یک گرم از بافت مورد نظر در محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA) و برای مشخص کردن باکتری های شاخص روده ای موجود در یک گرم از بافت مورد نظر، در محیط کشت مک کانکی آگار (McC agar ) به روش پور پلیت کشت میکروبی انجام یافت.

به طور کلی آزمون به صورت سه تایی از محیط های کشت پلیت کانت آگار و مک کانکی آگار انجام یافت و به مدت ۲ روز در دمای ۳۷ درجه و ۱ روز در دمای ۳۵ درجه در انکوباتور قرار گرفت . برای شمارش تعداد کل باکتری های موجود در یک گرم از بافت مورد نظر در محیط کشت PCA و برای شمارش باکتری های شاخص روده ای موجود در یک گرم از بافت مورد نظر در محیط کشت McC agar از فرمول زیر استفاده شد .

$$N = \frac{C_1 + C_2 + \dots}{n_1 v_1 d_1 + n_2 v_2 d_2 + \dots}$$

$N = cfu/g$ برحسب تعداد باکتری شمارش شده در یک گرم از بافت مورد نظر

$C_1$ = تعداد کلنی های باکتریایی شمارش شده دررقت اول

$C_2$ = تعداد کلنی های باکتریایی شمارش شده دررقت دوم

$n_{1,2}$ = تعداد پلیت ها

$v_{1,2}$ = (cc۱) حجمی که استفاده شده

$d_1$ = اولین رقت متوالی شمارش شده

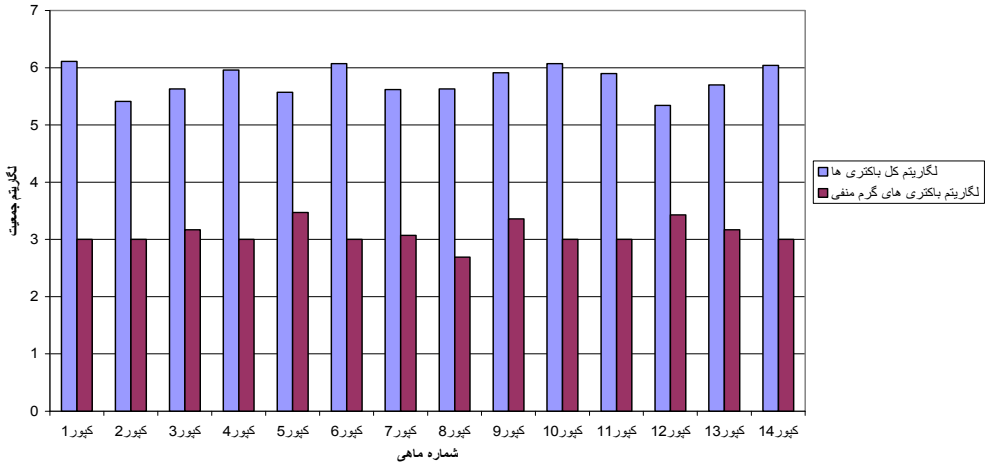
$d_2$ = رقت متوالی شمارش شده دومین

در هر دو محیط کشت : پلیت کانت آگار و مک کانکی آگار پلیت هایی که بین ۱۰ تا ۶۰ کلنی داشتند، انتخاب و شمارش شد و درنهایت ۱۴۵ باکتری به طور تصـــادفی از پلیت ها انتخاب گردید و مجدداً باکتری های انتخاب شده در محیط کشت نوترینت آگار (Nutrient agar) کشت خالص داده شدند . مشخصات ظاهری کلنی، رنگ آمیزی گرم ،تست کاتالاز، تست اکسیداز، تست SIM برای باکتری های منتخب انجام یافت و شناسایی گروه های باکتریایی انجام گرفت (۵) و در مجموع ۱۲۶ باکتری گرم منفی جدا گردید و حساسیت آنتی بیوتیکی باکترهای گرم منفی به وسیله تست ( Agar disk diffusion) (6) با استفاده از محیط کشت مولر هینتون آگار به روش دستـــور العمل کمیته های ملی استانـــدارد های آزمایشگاهی بالینی NCCLS انجام گرفت(۷). تمام باکتری ها برای سنجش میزان حساسیت پذیری شان به ۶ ماده ضد میکروب مورد آزمایش قرار گرفتند . دیسک های حاوی آنتی بیوتیک مورد نظر: آمپی سیلین (۱۰AM میکروگرم)، استرپتومایسین (۳۰S میکرو گرم)، تتراسایکلین (۳۰T میکرو گرم)، کلرامفنیکل ( ۳۰Cمیکرو گرم)، جنتامایسین (۱۰ GM میکرو گرم)، آمیکاسین (۳۰ AK میکرو گرم). در قسمت های مختلف محیط کشت مولر هینتون آگار گذاشته شد و ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه در انکوباتور قرار گرفت. طبق جدول دیسک های آنتی بیوتیکی بر اساس روش NCCLS حساسیت باکتری ها به آنتی بیوتیک مورد نظر سنجیده شد و به صورت درصد بیان گردید و نیز بر طبق دستورالعمل NCCLS از

باکتری *اشریشیاکلی* (*Esherichia coli*) PTCC/1533 و *سودوموناس آئروژینوزا* (*Pseudomonas aeruginosa*) PTCC/1430 و *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) PTCC/1431 به عنوان شاهد برای سنجش تأثیر ضد باکتریایی دیسک ها روی محیط کشت مولرهینتون آگار استفاده شد و نیز کلیه دیسک ها توسط شرکت تدبیر فن آزما تهران تهیه شده بود(۸).

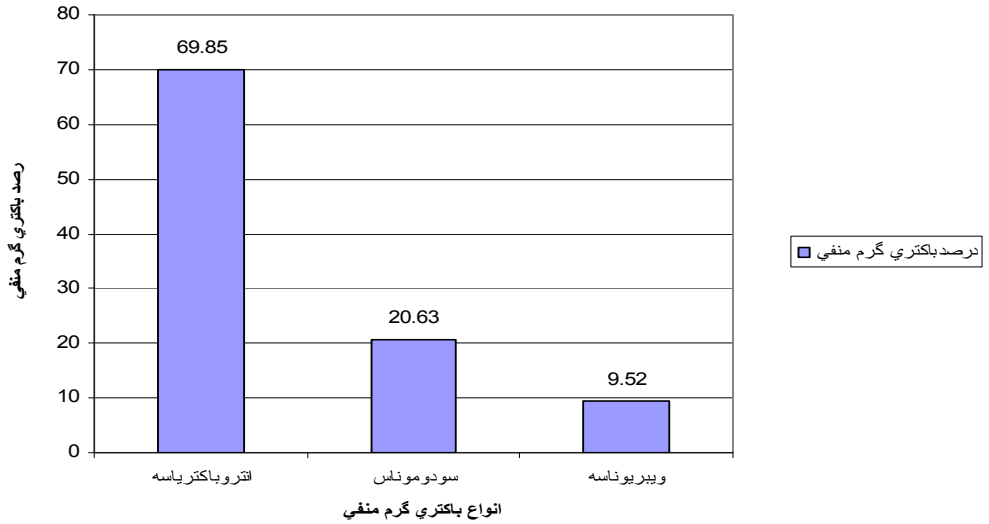
## نتایج

این تحقیق مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های گرم منفی جدا شده از روده ماهی کپور وحشی تالاب انزلی را نشان داد. در مجموع ۱۲۶ باکتری گرم منفی از روده مربوط به ۱۴ ماهی کپور وحشی (*Cyprinus Carpio*) یک ساله با میانگین وزن ۱ کیلو و ۳۲۰ گرم طی چهار نوبت در دو فصل زمستان ۸۷ و بهار ۸۸ از محیط کشت های پلیت کانت آگار (PCA) و مک کانکی آگار (McC agar) جدا شد. تعداد کل باکتری ها در محیط کشت پلیت کانت آگار (cfu/g) $۷/۱\times۱۰^{۵}$ و با انحراف معیار ۳۸۵۱۶/۷ $\pm$ و تعداد کل باکتری های شاخصی روده ای در محیط کشت مک کانکی آگار (cfu/g) $۱/۴\times۱۰^{۳}$ و با انحراف معیار۷۳۶/۳۷۸۱ $\pm$ بود. بررسی های آماری در نرم افزار spss با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که اختلاف معنی داری بین تعداد کل باکتری ها و باکتری های گرم منفی موجـــود در روده کپور وحشی وجـــود داشته است ($P< ۰/۰۵$) (نمودار ۱) .




**نمودار۱- لگاریتم جمعیت کل باکتری های گرم منفی موجود در روده کپور وحشی تالاب انزلی**

نتایج به دست آمده از شناسایی ۱۲۶ باکتری گرم منفی جدا شده از روده ماهی کپوروحشی تالاب انزلی درمحیط های کشت : پلیت کانت آگار (PCA) و مک کانکی آگار (McC agar) نشان داد که ۶۹/۸۵٪ باکتری ها از خانواده *انتروباکتریاسه* و۲۰/۶۳٪ از گروه *سودوموناس* و۹/۵۲٪ از خانواده *ویبریو ناسه* می باشند(نمودار ۲).




**نمودار ۲ – درصد انواع باکتری های گرم منفی جدا شده از روده ماهی کپور وحشی تالاب انزلی درمحیط های کشت McC agar و PCA**

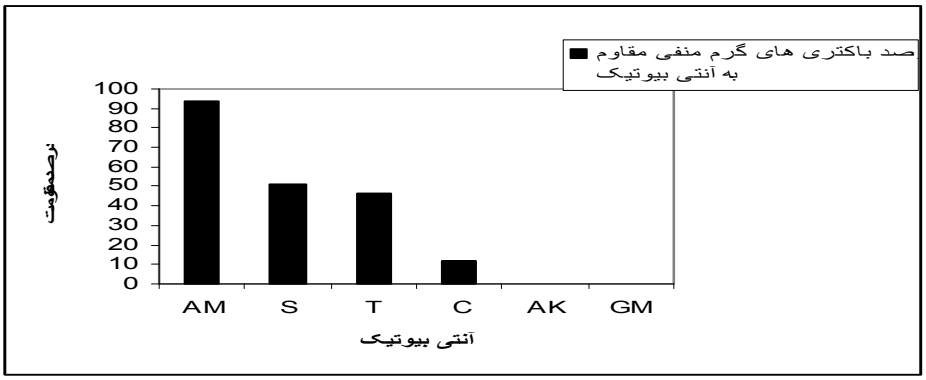
حساسیت تمام باکتری های گرم منفی نسبت به ۶ آنتی بیوتیک: آمپی سیلین (۱۰AM میکرو گرم)، استرپتومایسین (۳۰S میکرو گرم)، تتراسایکلین (۳۰T میکرو گرم)، کلرا مفنیکل ( ۳۰C میکرو گرم ) ، آمیکا سین (۳۰AK میکرو گرم)، جنتا مایسین ( ۱۰GM میکرو گرم) سنجیده شد.

نتایج بررسی ها نشان داد که باکتری های گرم منفی جدا شـــده از روده ماهیان کپـــور وحشی تالاب نسبت بـــه آنتی بیوتیک های: آمپی سیلین، استرپتومایسین، تترا سایکلین دارای مقاومت بالایی بودند. به طوری که مقاومت باکتری های گرم منفی به آمپی سیلین ۹۳/۵٪ و استرپتو مایسین ۵۱/۱۵٪ و تترا سایکلین ۴۶/۵٪ مقاومت نشان دادند. در حالی که مقاومت باکتری های گرم منفی نسبت به کلرا مفنیکل نسبتاً پایین بود (۱۲/۱۵٪). همچنین فقدان مقاومت باکتری های گرم منفی نسبت به آنتی بیوتیک های جنتامایسین و آمیکاسین (مقاومت مشاهده شد( جدول۱).

**جدول۱- درصد مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های گرم منفی جدا شده از روده ماهی کپور وحشی تالاب انزلی درمحیط کشتMcC agar**

| نام عمومی ماهی | طول کل ماهی (cm) | تعداد نمونه ماهی | تعداد باکتری های گرم منفی | تعداد کل باکتری cfu/g | درصد مقاومت به آنتی بیوتیک در باکتری های گرم منفی | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | آمپی سیلین (AM)۵۰میکروگرم در میلی لیتر | استرپتو مایسین (S)۲۵ میکرو گرم درمیلی لیتر | تتراسایکلین(T)۲۵میکرو گرم در میلی لیتر | کلرامفنیکل (c)۲۵میکروگرم درمیلی لیتر | جنتامایسین (GM) ۲۵میکروگرم درمیلی لیتر | آمیکاسین (AK) ۲۵میکروگرم درمیلی لیتر |
| Common Carp | ۴۲/۴۳ | ۱۴ | ۱۲۷ | $۱/۴\times۱۰^{۳}$ | ۹۳/۵ | ۵۱/۱۵ | ۴۶/۵ | ۱۲/۱۵ | ۰ | ۰ |

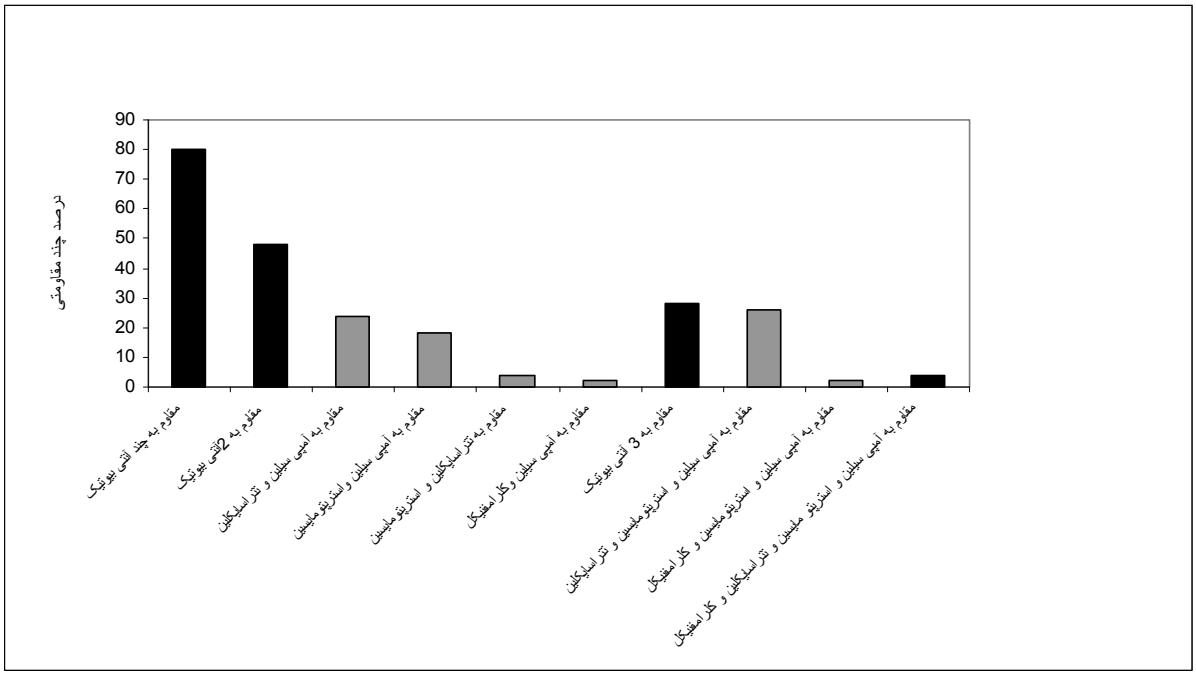
همچنین تعداد قابل توجهی از باکتری های گرم منفی جدا شده از روده ماهی کپور وحشی تالاب انزلی نسبت به ۴ نوع آنتی بیوتیک مصرفی مقاومت نشان دادند که از این میان تعداد باکتری های گرم منفی جدا شده از روده ماهی کپور وحشی، مقاوم به آمپی سیلین بیشتر از انـــواع مقاوم به استرپتو مایسین و تترا سایکلین و کلرامفنیکل بود. با این حال تفاوت خاصی بین تعداد باکتری های مقاوم به استرپتو مایسین و تتراسایکلین مشاهده نشد ( نمودار ۳).




**نمودار ۳ - درصد مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های گرم منفی جدا شده از روده ماهی کپور وحشی تالاب انزلی**

شواهد نشان داد که ۸۰٪ از باکتری های گرم منفی نسبت به آنتی بیوتیک های مصرفی چند مقاومتی هستند. از این میان ۴۸ ٪ از این باکتری های گرم منفی نسبت به ۲ آنتی بیوتیک مقاوم هستند: ۲۴٪ مقاوم به آمپی سیلین و تتراسایکلین، ۱۸٪ مقـــاوم بـــه آمپی سیلین و استرپتومایسین، ۴٪ مقاوم به تتراسایکلین و استرپتومایسین و ۲٪ مقاوم به آمپی سیلین

وکلرامفنیکل. ۲۸ ٪ از این باکتری های گرم منفی جدا شده از روده ماهی کپور وحشی نسبت به ۳ آنتی بیوتیک مقاوم هستند:. ۲۶٪ مقاوم به آمپی سیلین و استرپتومایسین و تتراسایکلین و ۲ ٪ مقاوم به آمپی سیلین و استرپتومایسین و کلرامفنیکل ونیز ۴ ٪ این باکتری های گرم منفی نسبت به ۴ آنتی بیوتیک: آمپی سیلین، استرپتومایسین، تتراسایکلین و کلرامفنیکل مقاوم هستند (نمودار ۴).




**نمودار ۴- درصد باکتری های گرم منفی جدا شده از روده ماهی کپور وحشی تالاب انزلی که به چند آنتی بیوتیک مقاوم هستند.**

**بحث و نتیجه گیری**

مقاومت آنتی بیوتیکی مسئله مهم در سلامت عمومی انسان هاست که توسط محققان مختلف دنیا مورد بررسی قرار گرفته. وجود باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک در ماهی های پرورشی گزارش شده است(9). ولی تنها تعداد محدودی مطالعه درخصوص وجود باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک در ماهی های وحشی انجام یافته است(10).

نتایج این تحقیق نشان داد که در مجموع ۱۲۶ باکتری گرم منفی از روده ۱۴ ماهی کپور وحشی (*Cyprinus Carpio*) تالاب انزلی جدا شد . با بررسی آماری توسط آنالیز واریانس یک طرفه معلوم شد که بین تعداد کل باکتری های شمارش شده در محیط کشت PCA با تعداد کل باکتری های شاخص روده ای در محیط کشت McC agar اختلاف کاملاً معنی داری وجود دارد ( $P< ۰/۰۵$) . در تحقیقی که در سال ۲۰۰۴ روی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های موجود در آبشش و محتویات روده ماهیان موجود در بازار مصرف ترکیه انجام گرفت، مانند تحقیق حاضر تفاوت های عمده ای در تعداد کل باکتری های شمارش شده بین پلیت های حاوی Count agar و MacConkey agar مشاهده شد(1) .

بر اساس نتایج به دست آمده درصد باکتری های گرم منفی مقاوم به آمپی سیلین و استرپتومایسین و تتراسایکلین نسبت به باکتری های گرم منفی مقاوم به کلرامفنیکل بالاتر می باشد و در آمپی سیلین بیشترین میزان باکتری های گرم منفی مقاوم دیده شد. ولی در دو آنتی بیوتیک دیگر این میزان در یک حد نزدیک به هم قرار داشت . نتایج همچنین فقدان مقاومت باکتری های گرم منفی جدا شده از روده ماهی کپور وحشی

تالاب انزلی را نسبت به آنتی بیوتیک های: جنتاماسین و آمیکاسین نشان داد. بر این اساس چون بیشترین مقاومت ها نسبت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و استرپتومایسین و تتراسایکلین می باشد، مقاومت بالا نسبت به آمپی سیلین می تواند به دلیل ورود فاضلاب های شهری و بیمارستانی به درون تالاب باشد و مقاومت به استرپتومایسین و تتراسایکلین می تواند به دلیل استفاده از این آنتی بیوتیک ها در آبزی پروری و دامپروری (به عنوان محرک رشد یا برای درمان بیماری ها) باشد. با بررسی های آماری مشخص شد انواعی از باکتری های گرم منفی که نسبت به آمپی سیلین مقاوم هستند نسبت به ۳ آنتی بیوتیک دیگر (استرپتومایسین، تتراسایکلین، کلرامفنیکل) نیز مقاوم می باشند. در تحقیقی که توسط Monahan (1993) روی مقاومت آنتی بیوتیکی نمونه های پرورشی و وحشی ماهی سالمون انجام یافت، مشخص شد انـواعی از باکتری های گرم منفی که نسبت به سولفامتوکسازول مقاوم بودند نسبت به ۷ آنتی بیوتیک دیگر مورد استفاده نیز مقاومت نشان دادند(۱۱). وجود این تعداد باکتری گرم منفی مقاوم، شاهد مطمئنی برای اثبات مقاومت باکتریایی نمونه ها می باشد. بررسی باکتری های گرم منفی مقاوم به آنتی بیوتیک در محتویات روده ماهیـــان و تأثیر آن ها در سلامت عمومی انسان ها در مقالات دیگر آورده شده است که نتایج مشابهی با تحقیق حاضر دارد. از آن جمله در آدانا ترکیه تحقیقاتی روی ۱۲۶ باکتری مقاوم به آنتی بیوتیک جدا شده از محتویات روده و آبشش مربوط به ۵ نوع ماهی موجود در بازار مصرف انجام یافت که نتایجی مشابه با تحقیق حاضر داشت . به طوری که در این تحقیق هم درصد مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و استرپتومایسین و تتراسایکلین بالا بوده و مقاومت به کلرا مفنیکل نسبتاً پایین و نسبت به جنتامایسین و آمیکاسین و کوتریماکسازول عدم مقاومت مشاهده شد(1). در شیلی هم تحقیقاتی روی مقاومت آنتی بیوتیکی ۱۷۸ باکتری جمع آوری شده از آبشش و روده ماهیان عمق زی و پلاژیک خلیج کنسپسیون انجام یافته که نتایج معنی داری با تحقیق حاضر داشت. در این تحقیق باکتری های جدا شده نسبت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و استرپتومایسین و تتراسایکلین مقاومت بالا داشته و مقاومت باکتری ها به کلرامفنیکل نسبتاً پایین بوده و به جنتامایسین و آمیکاسین و کوتریماکسازول عدم مقاومت دیده شد (۲). وجود این تعداد باکتری های گرم منفی مقاوم این سؤال را مطرح می کند که منشأ این ژن مقاوم از کجا بوده است . در این خصوص به نظر می رسد که باکتری های مدفوعی مقاوم به آنتی بیوتیک که در فاضلاب ها بوده و به رودخانه ها و در نهـایت به تالاب ریخته می شود، سبب انتقال این مقاومت به فون و فلور بومی منطقه شده و بدین ترتیب گسترش می یابند. این مسئله در مورد دریای مدیترانه نیز اعلام شده است(۱). شواهد متعددی از این آزمایش مبنی بر وجود مقاومت آنتی بیوتیکی (نه تنها یک آنتی بیوتیک بلکه چند آنتی بیوتیک مختلف) در بین گونه های مختلف باکتری های گرم منفی موجود در محتویات روده ای به دست آمده که این مسئله ،نگرانی زیادی را در خصوص استفاده از آنتی بیوتیک ها بر می انگیزد. همچنین گزارش های متعددی مبنی بر مقـــاومت آنتی بیوتیکی چنـــدتایی نسبت بـــه آنتی بیوتیک های: آمپی سیلین، استرپتومایسین، تتراسایکلین، کلرامفنیکل در پاتوژن های ماهی و باکتری های موجود در محیط زیست آبزیان گزارش شدکه عموماً به علت استفاده از برخی داروها می باشد و شواهد متعددی بر مقاومت آنتی بیوتیکی چندتایی از مزارع پرورش ماهی غرب مدیترانه نیز گزارش شده است(۱۲).

همچنینOgbondeminu و همکاران (۱۹۹۳) گزارش دادند که ۵۵/۹٪ باکتری های روده ای نسبت به ۴-۳ آنتی بیوتیک مقاوم هستند(۱۳). و نیز حدود ۴۰٪ از گونه های *اشریشیاکلی ( E .Coli )* جدا شـــده از دستگاه گـــوارش ماهی های صید شده از سواحل سا ئوپائولوپائو مقاوم به یک یا چند آنتی بیوتیک می باشند(۱۰) .

Chelossi و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که موجودات دریایی در آب های آلوده می توانند مرکز مناسبی بـــرای باکتری های روده ای باشند(۱۴).

تحقیقات نشان داده که باکتری های گرم منفی جدا شده از ماهیان عمق زی سطح چند مقاومتی (مولتی مقاومتی) بیشتری نسبت به ماهی های پلاژیک از خود نشان می دهند.

در تحقیقی که بر روی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های جدا شده از روده و آبشش نمونه های ماهیان عمق زی و پلاژیک خلیج کنسپسیون انجام گرفت، مشخص شد که باکتری های جدا شده از ماهیان عمق زی به ۱۰ نوع آنتی بیوتیک مقاومت نشان دادند در حالی که باکتری های جدا شده از ماهیان پلاژیک هیچ کدام به بیش از ۷ نوع آنتی بیوتیک مقاومت نشان ندادند(۲). بررسی ها نشان داد که ۸۶/۸۹٪ باکتری های جدا شده از روده ماهی کپور وحشی گرم منفی وبیشتر از خانواده *انتروباکتریاسه* می باشد و چون باکتری های گرم منفی بیشتر بیماری های موجودات خون گرم از جمله انسان را بوجود می آورند، بنابراین ماهیی که کم ترین میزان باکتری گرم منفی را در روده داشته باشد برای سلامت عمومی خطر کم تری خواهد داشت. با این اوصاف در این تحقیق کپور وحشی که درصد بالایی از باکتری های گرم منفی مقاوم به آنتی بیوتیک را درروده خود داشته برای سلامت عمـــومی انسان ها خطر بیشتری را در بر داردکه دلیل آن می تواند به خاطر نوع تغذیه و اکولوژی این ماهی باشد.

ماهی کپور وحشی بنتیک است و در بستر زندگی می کند و از موجودات و لجن و مواد کف بستر تغذیه می کند که ممکن است باکتری های بیماری زای بیشتری وارد روده آن شود و هم ممکن است باقی مانده های آنتی بیوتیک ها و فلزات سنگین که توسط فاضلاب ها در آب ریخته می شود در بستر رسوب کرده و توسط ماهی کپور وحشی خورده شود و از آن طریق به انسان منتقل شود وسبب ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی در ماهی و باعث بیماری های مختلف در انسان گردد.

استفاده گسترده آنتی بیوتیک ها و ورود فاضلاب های شهری خانگی و بیمارستانی و کشاورزی به درون آب ها و آلودگی صنعتی می تواند علت حضور باکتری های گرم منفی مقاوم به آنتی بیوتیک در ماهی کپور وحشی که در آب های آلوده تالاب انزلی زندگی می کند باشد. بسیاری از تحقیقات نشان می دهد که باکتری های گوارشی از نظر تغذیه ای برای ماهی ها حایز اهمیّت هستند. و یا این که در تجمع باکتریایی پا توژن در دستگاه گوارشی ماهی نقش دارند. بنابراین ورود آنتی بیوتیک ها به آب دریا باعث تغییر میکروفلور گوارشی ماهیان شده که می تواند نتایج غیر منتظره ای را برای سلامت ماهی ها در برداشته باشد(۱۵).

وجود تعداد زیاد باکتری مقاوم به آنتی بیوتیک در دستگاه گوارش ماهیان کپور وحشی می تواند مخاطرات اکولوژیکی و سلامت عمومی در پی داشته باشد.

در حال حاضر در ایران بررسی دقیقی روی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری های گرم منفی کپور وحشی تالاب انزلی صورت نگرفته است. این تحقیق بیان می کند در صورت عدم کنترل مسئله، درصد باکتری های مقاوم بالا رفته و امکان انتقال مقاومت به آنتی بیوتیک ها در انسان هایی که از این ماهی ها استفاده می کنند، نیز افزایش می یابد. همین مسئله ضرورت تحقیقات بیشتر در این زمینه خصوصاً تحقیق روی ژن های ایجاد کننده مقاومت و احتمال انتقال این باکتری های گرم منفی مقاوم به آنتی بیوتیک ها به انسان از طریق مصرف ماهی را بیان می نماید.

**منابع**


1. Matyar, F., Din, cers, s., kaya, A. &, ColAK, o. (2004). Prevalence and resistance to antibiotics in Gram negative bacteria isolated from retial fish in Turkey. Annals of microbioligy, 54: 151-160.
2. Miranda, C.D. & Zemelman, R. (2001). Antibiotic resistance in fish from the Conception Bay Chile Mar ine Polluttiom Bulletin, 42: 1096–1102.
3. Daschner, F.D. (1980) .In A, von Graevenitz and S. J. Rubin (eds.) .The Genus Serratia. CRC press, Inc., Boca Raton, Fla., pp: 187-196

4. Stewart, K.R., Koditschek, L. (1980). Drug resistance transfer in *Escherichia coli* in NewYork Bight. Marine Pollution Bulletin, 5: 71-74.
5. Okami, Y., Okazaki, T (1972). Studies on Marine Microorganisms. Isolation from the Japan Sea, the Journal of Antibiotics, pp: 456- 460.
6. Bauer, AW., Kirby,WM ., Sherris, JC., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. Apr; 45(4):493–496.
7. NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests - sixth edition; Approved standard. (1997).NCCLS document M2-A6 (ISBN 1-56238-306-6). NCCLS, 940 West Valley Rd., Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898.
8. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (2002). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twelfth Informational Supplement. NCCLS document M100-S12, Wayne, Pennsylvania, USA.
9. Hansen, P. K., Lunestad, B.T. and Samuelsen, O.B. (1992). Ecological effects of antibiotics and chemotherapeutants from fish farming, In Chemotherapy in Aquaculture. From Teory to Reality, eds.c. Michel and D. Alderman, pp: 174-178. Office International des Epizooties, Paris.
10. Alves de Lima e Silva, A. and Hofer, E. (1993). Resistance to antibiotics and heavy metals in *Escherichia coli* from marine fish. Environmental Toxicology and Water Quality. An International Journal 8: 1-11.
11. Monahan, Robert, L. An Overview of Salmon Aquaculture, *Salmon Aquaculture*. (1993). Edited by Heen, Knut; Monahan, Robert, L., Utter, Fred. Halsted press, New York.
12. Pathak, S.P. & Gopal, K. (2005). Occurrence of antibiotic and metal resistance in bacteria from organs of river fish. Environmental Research, 98:100-103.
13. Ogbondeminu and F.S and Olayemi. (1993). Antibiotic Resistance in Enteric Bacterial Isolates from fish and water Media. Journal of Aqua. Trop. Vol. 8:pp. 207-212.
14. Chelossi, E., Vezzulli, L., Milano, A., Branzoni, M., Fabiano, M., Riccardi, G., Banat, I. M. (2003). Antibiotic resistance of benthic bacteria in fishfarm and control sediments of the Western Mediterranean. Aquaculture, 219:83 -97.
15. Honsen, G. H., Olafsen, J. A. (1999). Bacterial interactions in early life stages of marine cold water fish. Microbial Ecology, 38: 1-26.