

مطالعه ضایعات هیستوپاتولوژی عفونت ناشی از آئروموناس ورونی

در ماهی

دکتر مینا رستمی بضمن*^۱ دکتر ایرج سهرابی حقدوست^۲

چکیده

A histopathological study of the *Aeromonas veronii* infection in fish

Rostami.M¹, Sohrabi Haghdoust.I²

1-Department of health and aquatic disease, Faculty of veterinary medicine, Tehran university, Tehran, Iran

2- Department of pathology, Faculty of specialized veterinary sciences, Islamic azad university, Science & Research Campus, Tehran, Iran

This study reveals the histopathological effects of *A. veronii* in three pet fish. Sample of two, 2 year female oscar fish with weight of 1200 gr and a gold fish were infected to *A. veronii*. The gross lesions included of congestion and hemorrhage in liver and spleen, bloody ascitis, muddy kidney and spleen and spotted liver. The samples of liver, kidney, spleen and gill were sent to bacteriology laboratory immediately after death. The same samples were used for histopathology studies and kept in 10% formalin buffer solution and tissue samples made by H&E staining method. Microscopic lesions in the liver, kidney and spleen were aggregation of lipofusion and hemosiderin in the damage tissue or in the blood or tissue macrophages. Other pathological changes were necrotic changes in urinary tubules that normal glomeruli were surrounded by necrotic tubules mass and hematopoietic tissue.

Key words: Histopathology, *Aeromonas veroni*, Oscar fish, Gold fish

مطالعه حاضر ضایعات بافتی ناشی از آئروموناس ورونی را در ماهی زینتی اسکار و ماهی حوض ارائه می نماید. نمونه های بافتی از تعداد سه عدد ماهی اسکار دو ساله (جنس ماده) و با وزن تقریبی یک کیلو و ۲۰۰ گرم و ماهی حوض مبتلا به عفونت ناشی از آئروموناس ورونی بودند. علائم ماکروسکوپی شامل پر خونی، خونریزی در طحال و کبد، آسیت خونی، کلیه و طحال لجنی و کبد خالدار در نمونه ماهیان مورد آزمایش بارز بودند. از کبد، کلیه، طحال و آبشش ماهیان مذکور بلافاصله پس از مرگ نمونه برداری شد نمونه های بافتی جهت کشت میکروبی به آزمایشگاه باکتریولوژی ارسال گردید. همچنین جهت انجام آزمایشات هیستوپاتولوژی قسمت دیگری از این نمونه ها در فرمالین ۱۰٪ نگهداری شدند و سپس به روش روتین هماتوکسیلین و اتوزین (H&E) مقاطع بافتی تهیه گردید. ضایعات میکروسکوپی در بافتهای کبد، کلیه و طحال شامل تجمع مقادیر زیادی رنگدانه لیپوفوشین و هموسیدرین در داخل ماکروفاهای خونی یا بافتی و یا در داخل بافتهای منهدم شده بود. تغییرات پاتولوژیک دیگر از جمله نکروز در داخل لوله های ادراری مشاهده شد که گلمرولهای مالپیگی سالم توسط توده های نکروتیک لوله های ادراری و بافت هماتوپوئیک احاطه شده بود.

واژه های کلیدی: هیستوپاتولوژی، آئرو موناس ورونی، ماهی اسکار، ماهی حوض

مقدمه

رشد روز افزون آبی پروری در دنیا و گسترش این صنعت در ایران بخصوص در سالهای اخیر، پیدایش بیماریهای متنوع، بروز مشکلات بهداشتی را بدنبال داشته است. گسترش روزمره این صنعت و بکارگیری روشهای پیچیده نوین برای پرورش بمنظور تولید بیشتر باعث شده است که مطالعات وسیعتری بر روی بیماریها انجام پذیرد. اگرچه بسیاری از عوامل عفونت زای آئروموناسها مشخص شده است، لیکن مطالعات بیشتری نیاز است تا به خصوصیات هیستوپاتولوژی آنها مشخص شود.

آئروموناسهای متحرک بخصوص آئروموناس هایدروفیلا، جزو بعضی از عوامل یا فاکتورهای ایجادکننده سپتی سمی در گونه های مختلف ماهیان می باشند، که هر ساله ضایعات و خسارات فراوانی ببار می آورند. با وجودیکه برخی ضایعات هیستوپاتولوژی آئروموناس هایدروفیلا تا حدودی شناخته شده است ولی با اینحال هنوز اطلاعات در مورد هیستوپاتوژن سایر گونه های متحرک آئروموناس ورونی، آئروموناس سوپریا و آئروموناس کاویا در ماهی اندک است (۲).

^۱ گروه آبیاری، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران (نویسنده مسئول مکاتبات: rostami@ut.ac.ir)

^۲ گروه پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

آثروموناس هایدروفیلا، آثروموناس سوبریاو آثروموناس کاویا، بطور کلی می توانند موجب بروز سپتی سمی در بسیاری از گونه های ماهیان گردند (۱، ۴). مطالعه حاضر تغییرات میکروسکوپی بافتی ناشی از آثروموناس ورونی را در ماهی مشخص می سازد.

مواد و روش کار

جهت انجام این مطالعه از ماهی های اسکار و حوض که مبتلا به سپتی سمی آثروموناس ورونی بودند استفاده گردید. بدین منظور نمونه های بافتی از کلیه، کبد، طحال، و آبشها گرفته شد. از هر اندام دو نمونه یکی جهت انجام آزمایشات میکروبیولوژی (بخش میکروبیولوژی آبزیان دانشکده دامپزشکی تهران) و دیگری به منظور آزمایشات هیستوپاتولوژی اخذ شد که نمونه اخیر در محلول فرمالین نمکی بافر ۱۰٪ ثابت گردید. این نمونه ها به روش معمول هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) تهیه و مورد مطالعه قرار گرفتند.

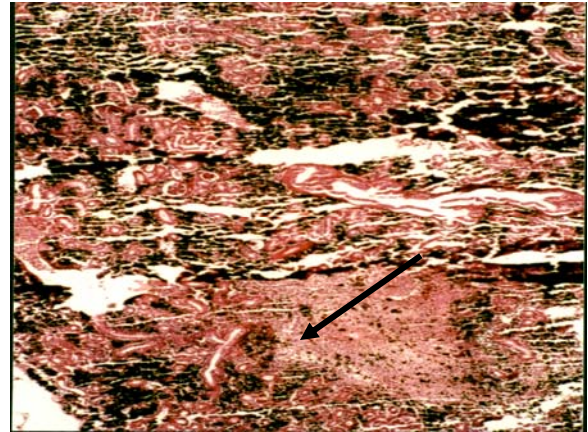
نتایج

نتایج مطالعه هیستوپاتولوژی بافتهای نمونه برداری شده بشرح زیر است:

در گسترشهای مربوطه به طحال ضایعات میکروسکوپی قابل مشاهده شامل پر خونی و به دنبال آن نواحی خونریزی، ادم بافت همبند، کاهش قابل توجه میزان بافت هماتوپوئیتیک بودند. و در بعضی نقاط تنها بافت فیبروزه دیده می شد. رسوب رنگدانه ملانین در داخل ماکروفاژها یا بصورت آزاد در بافت طحالی منتشر قابل ملاحظه بود. در بعضی گسترشها هموسیدرین نیز مشاهده گردید. در کلیه یک افزایش عمومی در سلولهای لمفوئیدی، نوتروفیل، و ماکروفاژها، سلولهای اپی تلیالی کلیوی کنده شده بداخل مجرای کلیوی، و گاهیگاهی نکروز توبولهای دیستال و پروگزیمال قابل رؤیت بودند. گلمرولهای سالم، توسط توده نکروتیک توبولی و بافت خونساز محاصره شده بودند.

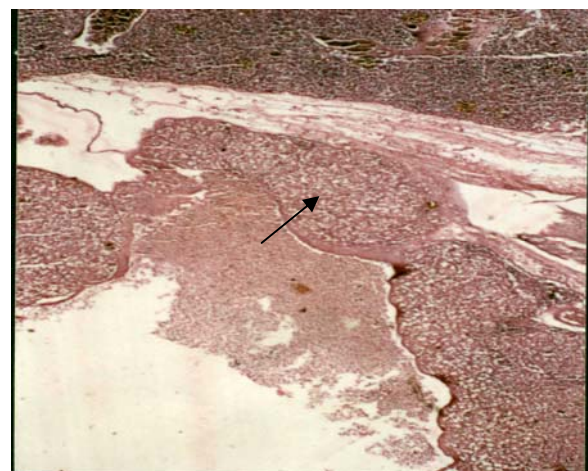
با توجه به افزایش جمعیت، گسترش بیشتر صنعت شیلات و پرورش آبزیان جهت تأمین پروتئین مورد نیاز ضروری است. همراه با توسعه مزارع پرورشی و افزایش تراکم آبزیان در واحد حجم از یک سو و احتمال ضعف مدیریت بعضی از این واحدها از سوی دیگر استرسهای مختلف در ماهیان بوجود آمده و به دنبال آن بیماریهای مختلف زیاد می شوند. با توجه به اهمیت بیماری در آزاد ماهیان و سایر ماهیان، ضرورت توجه بیش از پیش و همه جانبه نسبت به این بیماری مشخص می شود. خانواده ویبریوناسه از باکتریها (ویبریوها و آثروموناسها) شامل اشکال میله ای، گرم منفی، اندکی خمیده یا مستقیم، بی هوازی اختیاری، واجد تحرک یا بعضاً غیر متحرک بوده و دارای متابولیسم هوازی (اکسیداتیو) و یا بی هوازی (تخمیری) می باشند. عمدتاً در آب و در ارتباط با جانوران آبی یافت می شوند، چندین گونه از جنسهای آثروموناس از عوامل مهم بیماریزا در ماهیان و میگوها هستند. از جمله عوامل بیماریزا در جنس آثروموناس، یکی آثروموناس سالمونیسیدا است که عامل مولد بیماری فرونکولوزیس در آزاد ماهیان و غیر آزاد ماهیان می باشد. دیگری گونه های آثروموناسهای متحرک یعنی آثروموناس هایدروفیلا، آثروموناس کاویا است که بطور کلی موجب بروز سپتی سمی باکتریائی در بسیاری از گونه های ماهیان می شود (۳). از نظر مورفولوژیکی آثروموناس های متحرک شامل اشکال میله ای، گرم منفی با انتهای مدور و به ابعاد ۳/۵ - ۱ در ۳ / ۰ - ۱ میکرون، اندکی خمیده یا مستقیم هستند. این باکتری ها، بیهوازی اختیاری، برخی متحرک و بعضی غیر متحرک و دارای متابولیسم هوازی یا بیهوازی تخمیری می باشند. بطور عمده در آب و در ارتباط با جانوران آبی یافت شده و از عوامل عمده عفونتهای ماهی و میگو می باشند. از نظر طبقه بندی پذیرفته شده سال ۱۹۸۴ جنس آثروموناس در خانواده ویبریوناسه ابقاء و به دو گروه متحرک و غیر متحرک تقسیم می گردد. گروه متحرک شامل سه گروه بیماریزای

ذرات کوچک و واضح رنگدانه ملانین در داخل ماکروفازها و یا در داخل بافتهای ضایعه دیده بارز بود. از دیگر تغییرات هیستوپاتولوژیک، ادم و پر خونی در کلیه بود (نگاره ۱).



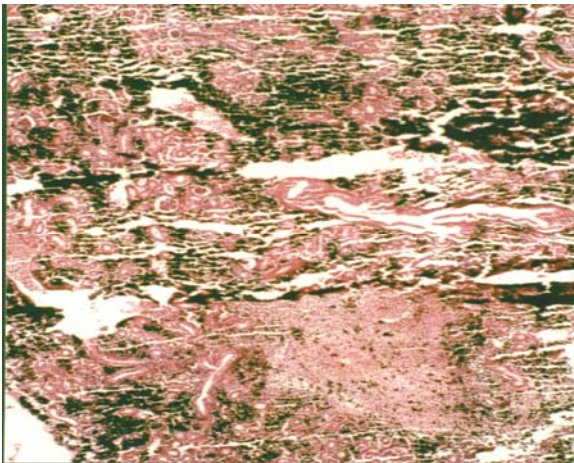
(H&E*40)

در اطراف کبد یک پری هپاتیتیس همراه با سلولهای آماسی و فایبرو وجود داشت که بداخل بافت چربی اطراف کبدی کشیده شده بود. متامورفوز چربی بیشتر در زیر کپسول کبدی دیده شد. نکروز سلولهای کبدی، پر خونی، تجمع هموسیدرین در بستر مویرکها و نفوذ سلولهای لنفوسیتی بصورت منتشره، از دیگر ضایعات هیستوپاتولوژیکی قابل مشاهده در گسترشهای کبدی بودند (نگاره ۲).



(H&E*40)

()



(H&E*40)

هدف این مطالعه بررسی خصوصیات هیستوپاتولوژیکی سویه های باکتریائی آئروموناس در نمونه های ماهی اسکار و حوض بوده است. برخی از تغییرات بافتی ایجاد شده تاحدودی مشابه تغییرات میکروسکوپی بافتی در آئروموناس هایدروفیلا می باشند و قابل تفکیک از همدیگر نیستند، بخصوص در مواردیکه تغییرات مربوطه به طحال و کلیه می باشند. در عفونت آئروموناس هایدروفیلا مشابه آئروموناس ورونی میزان بافت هماتوپوئیتیک طحال بطور قابل ملاحظه ای کاهش می یابد و بر عکس در کلیه افزایش بافت لمفوئیدی بهمراه نکروز توپولهای کلیوی دیده میشود. گلو مروهلهای مالپیگی هیچگونه تغییر دژنراتیوی را نشان نمی دهند. علائم ماکروسکوپی بیماری از جمله کبد خالدار، کلیه و طحال لجنی در سیتی سمی آئروموناسی دیده می شود

4.Roberts R.j.(2001): Fish pathology. Harcourt publishers limited,London.England,p:472

که با نتایج میکروسکوپی از جمله رسوب ملانین و افزایش هموسیدرین در بافتهای مربوطه همخوانی دارد. این علائم بخصوص حضور ملانین اضافی و آزاد یا لیپوفوشین در داخل مراکز ملانوماکروفاژها نشان می دهد که این بیماری یک سپتی سمی حاد بوده است.

بنابراین ضایعات هیستوپاتولوژی قابل مشاهده در این مطالعه عمدتاً از مشخصه های زیر برخوردار بوده اند :

۱. از مشخصه های اختصاصی و واضح این سپتی سمی وجود میزان زیادی از ملانین آزاد یا لیپوفوشین (Lipofusion) است که از مراکز ماکروفاژهای ملانینی بافت خونساز تخریب شده منشأ می گیرند.

۲. در عفونت ناشی از آئروموناس ورونی از میزان بافت هماتوپوئیک طحال و کلیه بطور قابل ملاحظه ای کاسته می شود. در کلیه تغییرات دژنراتیو مجاری کلیوی دیده می شود در حالیکه گلو مرونول های مالپیگی سالم باقی می مانند.

۳. این یک سپتی سمی حاد بوده و هیچگونه ضایعات جلدی دیده نشد. علائم ماکروسکوپی کبد خالدار و کلیه و طحال لجنی مشاهده شده در عفونت ناشی از آئروموناس ورونی مورد مطالعه در اینجا، با ضایعات میکروسکوپی یعنی وجود ملانین و هموسیدرین زیاد در اندامهای فوق همخوانی دارد.

References:

- 1.Ferguson.H. W, (1989):Systemic Pathology of fish. ISBN-964-5782-8.
2. Hameed A.S. Sahul , Balasubremian G. (2000):Antibiotic resistance in bacteria isolated from Artemia nauplii and efficacy of formaldehyde to control bacterialload. Aquaculture.183 ,195-205.
- 3.Rotchell Jeanette M., Lee Jae-Seong, Chipman James K., Ostrander Grary K (2001): Structure,expression and activation of fish *ras* genes. Aquatic Toxicology. 55.1-21.