

بررسی انواع میکوباکتریومهای محیطی در رسوبات استخرهای پرورش ماهی شمال ایران و اهمیت آن در بهداشت عمومی

دکتر کیومرث قاضی سعید - گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران
دکتر مریم محمدی - گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

Study of Different Types of Mycobacteria in Sediments of Fish Breeding Pools of North of Iran

ABSTRACT

In this study, 307 samples of the sediments of fish breeding pools of the different parts of North of Iran were tested for the survey of different environmental Mycobacteria.

After the process of cultivation, 107 cases of Mycobacterium were gained which after the performance of different biochemical tests, 112 cases of Mycobacterium were identified. From among the isolated Mycobacteria, the highest rank belonged to *M. fortuitum* with the frequency of 13.97% and the next *M. gordonae* 10.66% *M. xenopi*, *M. nonchromogenicum* 8.2% and the last *M. marinum* with the frequency of 5.74%. *M. marinum* was the cause of Tuberculosis of fish and had important role in the creation of granuloma. Next to that, *M. fortuitum*, *M. kansasii* and *M. gordonae* had less importance.

The existence of such Mycobacteria in the fish breeding pools were on one hand the cause of pollution of fish and on the other hand the fisherman and other people who are somehow connected to the fish and the pools sediments are subject to disease in case of existence of injury in their hands or feet.

مقدمه

طی یکصد سال اخیر و مدت کوتاهی پس از کشف باسیل توسط کخ دریافتند که گونه‌های دیگری از میکوباکتریومها بجز عوامل مولد سل و جذام وجود دارند. با آنکه بطور تصادفی یکی از این نوع میکوباکتریومها در محیط‌های کشت آزمایشگاهی ایزوله می‌شد ولی این اتفاق را غالباً منوط به یک کلونیزاسیون گذرا یا آلودگی محیط کشت می‌دانستند. در سال ۱۹۵۳ تیمپ و رانیون بطور سیستمیک کلکسیون بزرگی از میکوباکتریومهای غیر از باسیلهای کلاسیک سل جمع‌آوری کردند که از نمونه‌های کلینیکی بدست آمده بود (۶). این دسته از میکوباکتریومها از جهات متعددی با *M. tuberculosis* متفاوتند. از جمله این میکوباکتریومها، میکوباکتریوم مارینوم را می‌توان نام برد. در سال ۱۹۵۰ نوردون و لینل گزارشی در باره گرانولوم استخر شنا منتشر کردند و م. بال‌نثی را نامگذاری کردند که بعدها مشخص شد که این ارگانیزم همان پاتوژن ماهی‌ها یعنی *M. marinum* بوده است (۶، ۴، ۱۰، ۱۱).

خلاصه

به منظور بررسی میکوباکتریومهای محیطی در استخرهای پرورش ماهی قسمتهای مختلف شمال ایران ۳۰۷ نمونه از رسوبات این استخرها مورد آزمایش قرار گرفت و پس از انجام مراحل کشت ۱۰۷ مورد میکوباکتریوم بدست آمد و بوسیله تستهای مختلف بیوشیمیایی ۱۱۲ مورد میکوباکتریوم شناسایی گردید. از میان میکوباکتریومهای جدا شده بالاترین رتبه مربوط به *M. fortuitum* با فراوانی ۱۳/۹۷ درصد *M. gordonae* با ۱۰/۶۶٪، *M. xenopi*، *M. nonchromogenicum* با فراوانی ۸/۲٪ و بالاخره *M. marinum* با فراوانی ۵/۷۴ درصد بوده است. *M. marinum* عامل توبرکولوزیس ماهی بوده و در ایجاد گرانولوما اهمیت دارد و بعد از آن مافورتیوم، ماکانزاسی، *M. gordonae*، *M. marinum*، از جمله میکوباکتریومهایی هستند که در ایجاد عفونتهای پوستی دخالت دارند.

برخوردارند، احتمال وجود این میکوپلازموها در محیط بمراتب بیشتر خواهد بود. هدف از انجام این برنامه، جداسازی میکوپلازموها از استخرهای پرورش ماهی می‌باشد. همچنین با توجه به وفور این میکوپلازموها در این مناطق، و خصوصاً در استخرهای پرورش ماهی و نیز انتقال این باکتری‌ها از راه خراشهای پوستی به بدن میزبان طبعاً افرادی که با چنین محیط‌هایی سروکار داشته باشند شانس زیادی برای ابتلاء به عفونت توسط این دسته از میکوپلازموها دارند، صیادانی که به صید ماهی در این استخرها می‌پردازند و نیز خانمهای خانه‌داری که ماهی‌های پرورش یافته در این استخرها را پاک کرده و آماده طبخ می‌نمایند چنانچه دچار زخم یا خراش پوستی باشند در معرض ابتلاء به بیماری ناشی از این میکوپلازموها قرار می‌گیرند. بنابراین حصول روشی که یوسيله آن بتوان از ابتلاء به چنین عفونتهایی جلوگیری کرد ضرورت دارد.

مواد و روش کار

۱- نمونه برداری: نمونه برداری از مناطق واستخرهای مختلف انجام شد و در هر منطقه‌ای که مورد بررسی قرار گرفت با توجه به بزرگی استخرها، از هر استخر بطور جداگانه چندین نمونه تهیه شد. نمونه‌ها از کتله‌های استخرها، واز گل ولای و رسوبات وسط استخرها جمع‌آوری شد. برای برداشت نمونه، ابتدا با یک قاشق فلزی (اسپاتول) گل قسمت سطح را کنار زده و از عمق ۴-۳ سانتی متری مقداری گل برداشت کرده و در شیشه‌های درب‌بند ریختیم. هر شیشه شماره‌گذاری شد و مشخصات استخرها و مناطقی که نمونه‌برداری انجام گرفت ثبت کردیم و تمامی نمونه‌ها را تا زمان عملیات کشت در یخچال نگهداری کردیم.

۲- کشت: نمونه‌ها را بعد از انجام مراحل آلودگی‌زدایی در دو مرحله (۱ و ۱۱) لوانتین جانشین کشت داده و لام مستقیم از آنها تهیه کردیم.

لامها بطریق ذیل لیسون رنگ آمیزی شدند. شیشه‌های حاوی محیط کشت را در حرارت ۳۷ درجه قرار دادیم و هر روز آنها را بررسی کردیم (چون زمان رشد باکتری از نظر تعیین نوع میکوپلازموها برای ما اهمیت داشت).

پس از رشد نمونه‌ها برای شناسایی و جداسازی میکوپلازموهای بدست آمده آزمایشهای مختلف شیمیایی را انجام دادیم. این آزمایشها شامل:

- آزمایش نیاسین
- آزمایش احیاء نیترات
- آزمایش کاتالاز
- آزمایش هیدرولیز توئین ۸۰
- آزمایش تولید اوره‌آز
- کشت روی محیط گلو تکلی
- آزمایش تورانس نمک طعام
- واکنش در برابر تور و همچنین رشد در حرارتهای مختلف بود.

میکوپلازموزیس ماهی، یک بیماری مزمن یا تحت حاد در بسیاری از ماهیان می‌باشد. این بیماری در میان جمعیت‌های ماهیان آبهای شیرین، شور و آب‌های یاقت می‌شود. احتمالاً تمام گونه‌های ماهی به عفونت با *M. maritimum* و *M. furunculium* حساسند (۸).

اخیراً مشخص شده که میکوپلازمو *M. maritimum* در ایجاد گرانولوما دارای اهمیت زیادی بوده و بعد از آن *M. kansasii*، *M. furunculium*، *M. avium* و... از اهمیت کمتری برخوردارند (۷ و ۸). این میکوپلازموها عفونتهای جلدی یا حساسیت زیاد را برپزه نزد آکواریوم‌داران و کارکنان پرورش ماهی ایجاد می‌کنند (۹). عفونت با *M. maritimum* در انسان یک بیماری غیر شایع می‌باشد. بیماری بعنوان گرانولوما استخر شنا و گرانولوما ماهیان شناخته شده است (۱۰). اکثر موارد شیوع بیماری، در بین افراد شناگر در استخرها اتفاق می‌افتد. البته در بین افرادی که با مخازن ماهی سروکار دارند و خراشهایی در دستپاها ایجاد می‌شود باکتری از راه خراشها وارد شده و ایجاد آلودگی می‌کند. جراحات ایجاد شده به‌صورت منفرّد یا چند تایی بوده و مانند جوانه‌های شبیه زگیل بر روی آنجهها، زانو، پاها یا دستها ظاهر می‌شوند (۹ و ۱۰).

مواردی نیز در دستها و انگشتان ماهیگیران همچنین در پانتهای و چانه دیده شده است. عفونت ایجاد شده لوکالیزه بوده و خود محدود و خورش خیم است و بندرت گرفتاری استواری را بوجود آورده است و به آسانی از توپیکولوژیس پیش‌رونده و عفونتهای جدی مانند لوپوس و لگاریس قابل تشخیص است. ۳-۵ هفته بعد از آلوده شدن ضایعاتی به قطر ۲/۵-۱ سانتی متر ایجاد می‌شود که این ضایعات تحت عناوین متنوعی توصیف شده‌اند، مثلاً یک ندول التهابی، بدون درد یا یک گرانولوم زخم شونده یا ضایعات جلدی زگیل مانند (۴ و ۱۰).

در بعضی از بیماران ممکن است ضایعات ندولر روی دستها و بازوها در ابتدای مسیر مجاری لنفاوی دیده شود. درد زیر بغل و همچنین تورم غدد لنفاوی معمولاً دیده نمی‌شود. در بیماری که این ضایعاتی شده در نزد عفونت با *M. maritimum* عمیق ایجاد می‌کنند (۴).

هدف

با توجه به اینکه میکوپلازموهای محیطی در مناطقی که دارای آب و هوای معتدل و مرطوب می‌باشند وفور بیشتری دارند، در استانهای گیلان و مازندران که از چنین شرایط اقلیمی خاص

جدول ۱: توزیع فراوانی نمونه های انتخابی و درصد موارد مثبت آنها بر حسب مناطق نمونه برداری در سال ۱۳۷۱

محل نمونه برداری	تعداد نمونه های برداشت شده	تعداد موارد مثبت میکوباکتریوم	درصد موارد مثبت میکوباکتریوم
ساری سمس کننده	۱۶	۱۱*	۶۸/۷۵
رشت سد سنگر	۴	۲*	۵۰
مرداب انزلی	۸	۳	۳۷/۵
رشت (کارگاه شهید انصاری)	۱۰	۶	۶۰
سلمان شهر (روستای دانیال)	۱۸	۹	۵۰
رشت (شعر صنعتی)	۱۲	۵	۴۱/۶۶
نشتارود (روستای بتدین)	۳۴	۱۰	۲۹/۴
چالوس کیل کلا	۲۵	۸	۳۲
چالوس نجار کلا	۱۶	۳*	۱۸/۷۵
نور (روستای سنگین ده)	۲۲	۶	۲۷/۲۷
نور علمده (تاتکوه علیا)	۸	۱	۲۱/۵
نور (روستای عبدا... آباد)	۲۶	۶*	۲۳/۰۷
بابل (درزی کلا)	۱۶	۴*	۲۵
بابل (روستای کمانگر)	۱۵	۴	۲۶/۶
نوشهر (روستای اندرور)	۲۰	۳*	۱۵
نوشهر (روستای اندرور)	۱۰	۶	۶۰
بابلسر (گالش کلا)	۱۳	۷*	۵۳/۸۴
بابلسر (گالش کلا)	۱۷	۷*	۴۱/۱۷
رامسر (دریا پشته)	۱۷	۶*	۳۵/۲۹
جمع	۳۰۷	۱۰۷	۳۴/۸

* - بیش از یک نوع مایکوباکتریوم از هر محیط کشت جدا شده است.

نتیجه

از تعداد ۳۰۷ نمونه رسوب استخرهای پرورش ماهی که مورد آزمایش قرار گرفتند، ۱۰۷ نمونه مثبت بدست آمد و ۱۲۲ مورد میکوباکتریوم جدا و تشخیص داده شد. ۱۵ نمونه اختلاف بین این دو عدد (۱۰۷ و ۱۲۲) به علت این است که در بعضی از نمونه‌های کشت داده شده بیش از یک نوع میکوباکتریوم رشد کرده بود (جدول ۱).

همانطور که در جدول ۲ مشخص شده بیشترین فراوانی و فراوانی نسبی مربوط به میکوباکتریوم فوروتیوم (۳/۹۶٪) می‌باشد که جزء میکوباکتریومهای دارای قدرت بیماری‌زایی محسوب می‌گردد.

میکوباکتریوم گوردونه با ۱۰/۶۶٪، زنویی با ۸/۲٪، اسکروفولاستوم به ترتیب با ۷/۳۷٪ و ۵/۷۴٪، کلونه‌ای با ۵/۷۴٪ و مارینوم با ۵/۴۷٪ بدست آمدند.

جدول ۲- توزیع فراوانی و فراوانی نسبی موارد مثبت میکوباکتریومهای بدست آمده از استخرهای پرورش ماهی در شمال ایران (۱۳۷۱).

نام باکتری	تعداد	درصد
م. فوروتیوم	۱۷	۱۳/۹۳
م. گوردونه	۱۳	۱۰/۶۶
م. زنویی	۱۰	۸/۲
م. نانکروموژنیکم	۱۰	۸/۲
م. اسکروفولاستوم	۹	۷/۳۷
م. فلاوسنس	۸	۶/۵۵
م. اسمگماتیس	۷	۵/۷۴
م. کلونه‌ای	۷	۵/۷۴
م. مارینوم	۷	۵/۷۴
م. اویوم کمپلکس	۵	۴/۰۹
م. تررا	۵	۴/۰۹
م. کانزاسی	۴	۳/۲۷
م. ترموریزیسیتیل	۳	۲/۴۵
م. کاستری	۲	۱/۶۳
م. فلنی	۲	۱/۶۳
م. وکی	۲	۱/۶۳
م. اگری	۱	۰/۸۰
م. هموفیلیم	۱	۰/۸۱
م. ناشناخته	۹	۷/۳۸
جمع	۱۲۲	۱۰۰

بحث

نتایج بدست آمده در این مطالعه از نظر بررسی انواع میکوباکتریومهای مسئول در ایجاد گرانولوم استخر شنا و عفونتهای پوستی و رابطه آنها با بیماری انسانهای در تماس، قابل بحث

می‌باشد.

م. مارینوم، م. فوروتیوم، م. کلونه‌ای، م. کانزاسی، م. هموفیلوم از جمله میکوباکتریومهایی هستند که در ایجاد عفونتهای پوستی دخالت دارند.

در بررسی ما از مخازن پرورش ماهی مناطق ساری، سلمان شهر، بابل، میکوباکتریوم مارینوم با فراوانی نسبی ۵/۷۴٪ بدست آمد، فوروتیوم بعد از م. مارینوم عامل ایجاد عفونتهای پوستی بوده است، م. فوروتیوم با فراوانی ۱۳/۹۳٪ بدست آمد. در مقایسه‌ای که بین نتایج بدست آمده از کشت خاک منطقه آذربایجان شرقی (۱۳) و گیلان (۱۱) و مازندران (۱۲) انجام گرفت از نظر فراوانی نسبی میکوباکتریومها در این مناطق گیلان در مرتبه اول، مازندران در مرتبه دوم و آذربایجان در مرتبه سوم قرار دارد و فراوانی نسبی میکوباکتریومهای محیطی در استخرهای پرورش ماهی ۳۴/۸٪ بوده که پایین تر از آمار بدست آمده در گیلان است. علت این اختلاف می‌تواند مربوط به اختلاف فصول نمونه برداری و موقعیت جغرافیایی و فاکتورهای دیگر باشد. چون اختلاف جغرافیایی در میزان پراکندگی میکوباکتریومهای محیطی موثر می‌باشد و آمار بدست آمده در قسمت‌های مختلف نیز تایید کننده این نکته است. مثلاً م. مارینوم در گل استخرهای پرورش ماهی، خاک گیلان و خاک مازندران با فراوانی نسبی به ترتیب ۷/۳، ۳/۳، ۵/۷۴٪ بدست آمد در حالیکه در آذربایجان این میکوباکتریوم بدست نیامد. محیط‌های آبی و مرطوب برای رشد این دسته از میکوباکتریومها لازم و ضروری می‌باشد.

فراوانی میکوباکتریومهای محیطی در استخرهای پرورش ماهی از نظر بهداشت عمومی حائز اهمیت می‌باشد. چون خاک و آب با یکدیگر ارتباط مستقیم دارند، لذا میکروارگانیسم‌هایی که در خاک هستند احتمالاً در آب نیز وجود خواهند داشت و آلوده بودن خاک به میکوباکتریومها موجب آلودگی آب نیز خواهد شد. بخصوص در استخرهای پرورش ماهی گرم آبی که کف و دیواره‌های استخر گل است، آلودگی آب استخرها ممکن است باعث آلوده شدن ماهی‌هایی که در این استخرها پرورش می‌یابند شود بخصوص ماهی‌هایی مانند کپور که بیشتر در گل ولای و لجن زندگی می‌کند. آلوده شدن ماهی بدین نحو موجب می‌شود که کسانی که با ماهی یا رسوبات و یا آب استخرها سروکار دارند آلوده شوند و اغلب صیادان که با دست ماهی را می‌گیرند و یا خانم‌های خانه‌داری که ماهی‌های آلوده را تمیز می‌کنند آلوده می‌شوند (۴ و ۱).

لذا بررسی وجود زخم در دست یا پای صیادان و کسانی که بنحوی با استخرهای پرورش ماهی سروکار دارند لازم است و بهتر است برای همه این افراد تست پوستی، بوسیله معرفهای تست پوستی که از هریک از این میکوباکتریومها تهیه شده انجام شود و در صورت وجود زخم، بی‌پوشی و آزمایشات لازم انجام شود و نسبت به درمان آنها اقدام شود تا از انتشار عفونت بدین نحو جلوگیری گردد.

منابع

- 1- Amerio-R; Carmenin. S.; Demori, F; et al; Atypical Mycobacteriosis caused by Mycobacterium G-Ital -Dermatol Veneral-1990, Apr; 125(4):177-9
- 2- Baron, Ellen Jo, Finegald Sydney M, (Baiby & Scotts') Diagnostic Microbiology 1990, P:610-638
- 3- Boy d, Robert F, Ph.D. Hoerl, Brayn G, Ph.D. (1990) Basic Medical Microbiology P, 540-543.
- 4- Collins, C oh and Others. Mycobacterium marinum in men. J.Hyg. Camb(1985).
- 5- Davis, Bryon R. M.D. : Joga Biumbach, Mit , et al. Skin Lesions caused by Mycobacterium haemophilum. Annals of internal medicine vol.97 No. : 5 November 1982.
- 6- Eugene Sanders, W, Jr. Edward A Horowitz. Infection disease and their etiologic agents other Mycobacterium species. Mandel. chapter 231(1990) P:1914-1924.
- 7- Feldman, Roger, A. M.D. and Earl Hershfield, M.D. Mycobacterial Skin infection by and unidentified species. Annals of Internal Medicine vol. 80, No. : 4P :445-452 ,1977.
- 8- Gengout, p,m,d., f,Portaels, M.D... et al skin Granulomas due to Mycobacterium gordonae. International Journal of Dermatology April 1987 , Vol.26, No. 3 181-184.
- 9- Joves, M.W. and L.A. wah:d . 1988. Mycobacterium marinum infections of the hand and wrist Results of conservative treatment in twenty four cases J.Bone Joint Surg. 70:631-632.
- 10- Wayne, Lauveny, and Srneki. Hilda. Agents of Newly recognized of Infrequently encountered Mycobacterial Diseases. Clinical Microbiology Reviews. Jan.1992. P.1-25. Vol.5 No.:1.