مقاومت آنتی بیوتیکی آئروموناس هیدروفیلا در آب استخرهای پرورش ماهی شهرستان تنکابن درحوزه کنترل عفونت

نیما ارزانی [۱] ، اسمعیل قربانعلی نژاد [۲*]

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد میکروبیولوژی،دانشکده ی علوم زیستی،واحد تنکابن،دانشگاه آزاد اسلامی،تنکابن،ایران.

۲. گروه میکروبیولوژی، دانشکده ی علوم زیستی،واحد تنکابن،دانشگاه آزاد اسلامی،تنکابن،ایران.

*نویسنده مسئول: Nima.Arzani@yahoo.com

چکیده

سابقه و هدف: مشکل مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری ها در سراسر دنیا وجود دارد . شناخت الگوی مقاومت و حساسیت آئروموناس هیدروفیلا نسبت به آنتی بیوتیک ها ، در انتخاب مناسب و صحیح آنتی بیوتیک و کنترل عفونت در استخرهای پرورش ماهی نقش موثری دارد.این تحقیق جهت تعیین الگوی حساسیت آئروموناس هیدروفیلا در آب استخرهای پرورش ماهی شهرستان تنکابن صورت پذیرفته است.

مواد و روش: در این مطالعه در مدت ۷ماه از بهار۱۳۹۴تا پاییز ۱۳۹۴ در مجموع ۱۰۰نمونه از آب استخر های پرورش ماهی شهرستان تنکابن با فاصله بین ۲۰تا۳۰ روز جمع آوری و پس از انجام تست های بیوشیمیایی و خالص سازی گونه ی آئروموناس هیدروفیلا حساسیت آنتی بیوتیکی آنها با روش انتشار دیسک (Disk Diffusion)با کشت بر روی محیط های کشت آگار خون دار و مولر هینتون و دیسک های آنتی بیوتیکی شامل: داکسی سایکلین(D) ،تتراسایکلین(TE) ،جنتامایسین(GM) ،کلیندامایسین(CC) ،کانامایسین(K)، اگزاسیلین(OX) ،ونکومایسین(V) ،متیسیلین(ME) ،ریفامپین(RA) ،ایمی پنم(IPM) ،نورفلوکساسین(NOR) ،توبرامایسین(TOB) ،افلوکساسین(OFX) ،آمیکاسین(AN) ،اریترومایسین(E) ،آمپیسیلین(AM)، نایلیدیکسیک اسید(NA) ،آزیترومایسین(AZM) ،سیپروفلوکساسین(CP) و آموکسیسیلین(AMC) مورد بررسی قرار گفت.

یافته ها: از مجموع ۲۵ نمونه خالص شده تمامی نمونه ها براساس اندازه گیری قطرهاله عدم رشد به آنتی بیوتیک های تتراسایکلین،جنتامایسین،کانامایسین،نورفلوکساسین،افلوکساسین،آمیکاسین،نایلیدیکسیک اسید،آزیترومایسین و سیپروفلوکساسین ۱۰۰ درصد حساس بودند و نسبت به اگزاسیلین ،متیسیلین،اریترومایسین ،آمپیسیلین و آموکسیسیلین نیز۱۰۰درصد مقاوم بودند و ونسبت به مابقی آنتی بیوتیک ها حساسیت بینا بینی نشان دادند.

نتیجه گیری: آنتی بیوتیک های نسل اول کوئینولون ها (Quinolon) و نسل دوم و سوم سفالوسپورین ها (Cephalosporin) از موثرترین آنتی بیوتیک ها علیه آئروموناس هیدروفیلا می باشند ، این مطالعه جنتامایسین و کانامایسین را به عنوان موثر ترین آنتی باکتریال علیه تمامی آئروموناس هیدروفیلا جدا شده معرفی می کند. ضمن اینکه سیپروفلوکساسین ، آزیترومایسین ،نایلیدیکسیک اسید و نورفلوکساسین و افلوکساسین نیز آنتی بیوتیک های موثری علیه آئروموناس هیدروفیلا می باشند.

واژه های کلیدی: آئروموناس هیدروفیلا، حساسیت،آنتی بیوتیک، آب استخر، پرورش ماهی

مقدمه

ماهی یک قسمت مهم از غذای جمعیت جهان را تشکیل می دهد. با توجه به این واقعیت که ماهی نقش مهمی در رژیم غذایی جمعیت جهان 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 حضور این مواد در محیط زیست و به تبع آن مقاوم شدن برخی از باکتری ها به خصوص 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 نتیجه ایجاد عفونت های مختلف در مصرف کننده می شود[۱] امروزه مطالعات زیادی در خصوص تأثیر رها سازی آنتی بیوتیک 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 های 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 *E.coli* ،سرشیا ، سالمونلا وآئروموناس ها اشاره نمود. دراین بین عوامل بیماری زای مختلفی وجود دارند که می توانند از طریق محصولات دریایی به انسان منتقل شوند.یکی از مهمترین آنها باکتری آئروموناس هیدروفیلا می باشد.این باکتری متعلق به خانواده ویبریوناسه بوده اکثر آنها کاتالاز و اکسیداز مثبت ،گرم منفی ، بی هوازی اختیاری ،بدون اسپور و محرک می باشند و به طور وسیع در رودخانه ها و دریاچه های تمام نقاط دنیا یافت می شود[۳] .این باکتری معمولا در شرایط استرس زا ،متعاقب حمل و نقل یا افزایش درجه حرارت آب بروز می کند و عامل بیماری های مختلف در حیوانات دریایی،پستانداران و انسان می باشد[۴] . 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[۵] . از آنجا که محصولات دریایی به عنوان یک منبع غذایی عمده تلقی می شوند،می توانند به عنوان یک عامل مهم در انتقال عوامل بیماری زا از جمله باکتری آئروموناس هیدروفیلا به انسان مطرح باشد[۶] .در پاسخ به مقاومت آنتی بیوتیکی مختلف توسط میکرو ارگانیسم ها ،تعداد زیادی آنتی بیوتیک در طی دو دهه ی قبل تولید و معرفی شده است[۷] . اما روند رو به رشد مقاومت به آنتی بیوتیک های خاص از یک سو و شناسایی عوامل مقاومت در جهت محدود ساختن آنها از سوی دیگر ، محققان را در معرض چالش جدید قرار داده است. مقاومت به بتا لاکتام ها در غشای سلولی[۸] مقاومت به آمینوگلیکوزیدها از طریق تغییرات در اهداف ریبوزومال از طریق تغییر در زیر واحد S50 ریبوزومال [۹] ، مقاومت به کینولون ها از طریق تغییر در آنزیم های توپوایزومراز۲و۴ [۱۰] و مقاومت به گلیکوپپتیدها نظیر ونکومایسین از طریق تغییر در جزء D-alanine-D-alanine پپتیدوگلیکان ها رخ می دهد[۱۱] .

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 استوارت و کودیچک درسال ۱۹۸۰،مقاومت همزمان باکتری ها به بتالاکتام ها می تواند به علت انتشار پلاسمیدهای مقاوم به آنتی بیوتیک ها در محیط زیست دریا باشد [۱۲]. در حال حاضر در ایران تحقیقاتی روی حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری های گرم منفی موجود در ماهی های پرورشی به ویژه نوع پاتوژن فرصت طلب آن آئروموناس هیدروفیلا 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 حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری آئروموناس هیدروفیلا جدا شده از آب استخرهای پرورش ماهی شهرستان تنکابن بوده که مورد استفاده غذای انسان می باشد و استفاده بی رویه از آنها باعث بروز مقاومت در بین آبزیان می شود را بررسی می نماید.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه:

در این مطالعه طی مدت ۷ماه از بهار۱۳۹۴تا پاییز ۱۳۹۴ در مجموع ۱۰۰نمونه از آب استخر های پرورش ماهی شهرستان تنکابن با فاصله بین ۲۰تا۳۰ روز جمع آوری و در مجاورت یخ($-4^{\circ}C$)ودر شرایط مناسب به آزمایشگاه میکروب شناسی منتقل شدند.تمام نمونه ها بلا فاصله پس از ارسال به آزمایشگاه مورد بررسی و آزمایش قرار گرفتند.

ابتدا نمونه های آب هر استخر را در محیط تریپتیک سوی براث کشت داده شد و سوسپانسیونی میکروبی آماده گردید که بعد از ۲۴ ساعت انکوبه گذاری در دمای ۳۰درجه سانتی گراد برای کشت خطی آماده شدند. پس از رشد باکتری در محیط کشت مایع(نوترینت براث) با استفاده از لوپ ،کشت خطی در محیط آگار خون دار داده و همچنین جهت بدست آوردن کلونی تک با مشاهده شفافیت و رنگ کلونی آئروموناس با چندین بار کشت کلونی مورد نظر شناسایی و در محیط های مختلف کشت داده شد.

جهت جدا و خالص سازی گونه های آئروموناس ، کشت در پلیت محیط آگار مغذی(آگار خون دار) انجام و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۰درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند.کلونی های آئروموناس هیدروفیلا جهت تایید تشخیص با استفاده از تست های بیوشیمیایی از جمله قدرت تحرک،رنگ آمیزی گرم،تست اکسیداز و کاتالاز،ایندول،متیل رد،سیترات،احیای نیترات،تولید سولفات،KOH ودیسک آنتی بیوتیکی مورد مطالعه قرار گرفتند

جداسازی باکتریها:

در هر دو محیط کشت : شامل محیط پلیت آگار خون دار و مولر هینتون، پلیت هایی که بین ۱۰تا۶۰ کلونی داشتند انتخاب شدند سپس کلونی تک های انتخابی به صورت تصادفی مورد بررسی قرار گرفتند. مجددا باکتری های انتخاب شده روی محیط کشت نوترینت براث (Nutrient broth)کشت خالص داده شدند.

مشخصات جدایه ها:

مشخصات ظاهری کلونی ،رنگ آمیزی گرم،تست کاتالاز،تست اکسیداز،تست SIM،صاف یا محدب بودن کلونی برای باکتری های منتخب انجام شد و شناسایی گروه باکتریایی انجام گرفت.

تمامی گونه های آئروموناس از نظر تولید H_2S و تست متیل رد مثبت می باشند فقط تنها گونه ی هیدروفیلا در این ۲تست تشخیصی منفی می باشند که وجه تمایز این گونه با بقیه ی گونه های آئروموناس است که در مطالعه پیش رو کلونی ها از نظر تولید H_2S۸۳درصد منفی بوده و ۹۰درصد کلونی ها هم از نظر واکنش متیل رد منفی بودن که حسن انجام کار است همچنین کلونی ها پس از رنگ آمیزی گرم جهت تایید نهایی تست KOH بر روی آنها انجام گرفت که لزج و کش آمدن آنها دلیلی بر تایید گرم منفی بودن باکتری بوده است.

تست سنجش میزان حساسیت به آنتی بیوتیک ها

حساسیت گونه های باکتریایی جداشده به آنتی بیوتیک ها به وسیله تست Agar Disk Diffusion [۱۳] با استفاده از محیط کشت مولر هینتون آگار به روش دستورالعمل کمیته های ملی استاندارهای آزمایشگاه بالینی (۱۹۹۷) NCCLS انجام گرفت.باکتری های انتخاب شده جهت کشت مجدد، در محیط کشت نوترینت براث قرار داده شدند.میزان کدورت در محیط کشت نوترینت براث با محلول مک فارلند ۰/۵ سنجیده شد.سپس باکتری ها یی که در محیط کشت نوترینت براث کشت داده شده بودند توسط سوآپ بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار و آگارخون دار کشت داده شدند.

تمام باکتری ها برای سنجش میزان حساسیت به ۲۰ آنتی بیوتیک مورد آزمایش قرار گرفتند.دیسک های حاوی آنتی بیوتیک مورد آزمون شامل : داکسی سیلین(D30میکروگرم) ،تتراسایکلین (TE30میکروگرم) ،جنتامایسین(GM10میکروگرم) ،کلیندامایسین (CC2میکروگرم) ،کانامایسین(K30میکروگرم)، اگزاسیلین(OX1میکروگرم) ،ونکومایسین(V30میکروگرم) ،متیسیلین(ME5میکروگرم) ،ریفامپین(RA5میکروگرم) ،ایمی پنم (IPM10میکروگرم) ،نورفلوکساسین (NOR10میکروگرم) ،توبرامایسین(TOB10میکروگرم) ،افلوکساسین(OFX5میکروگرم) ،آمیکاسین(AN30میکروگرم) ،اریترومایسین(E15 میکروگرم) ،آمپیسیلین(AM10 میکروگرم)، نایلیدیکسیک اسید(NA30میکروگرم) ،آزیترومایسین (AZM15میکروگرم) ،سیپروفلوکساسین (CP5میکروگرم) و آموکسیسیلین(AMC20میکروگرم) تهیه شده از شرکت پادتن طب بودند که طبق دستورالعمل در محیط کشت مولر هینتون آگار گذاشته شدند وپلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار گرفتند.درنهایت طبق جدول دیسک های آنتی بیوتیکی بر اساس روش (۲۰۰۸) NCCLS حساسیت باکتری ها به آنتی بیوتیک مورد نظر سنجیده شد و به صورت درصد بیان گردید.

یافته های پژوهش

نتایج حاصل از نمونه برداری:

در این مطالعه از استخرهای پرورش ماهی دوهزار وسه هزار در تنکابن در مجموع سه بار نمونه برداری شد. با انجام کشت نمونه ها ابتدا در محیط مایع نوترینت براث و سپس در محیط کشت جامدآگار خون دار، از بین تقریباً۱۰۰ کلنی مشاهده شده بر روی محیط های آگارخون دار، در نهایت ۵۳ کلنی جدا گردید. پس از انجام تست های بیوشیمیایی تمام ایزوله‌ها بعنوان آئروموناس هیدروفیلا شناسایی شدند.

نتایج حاصل از تعیین حساسیت ضد میکروبی:

برای تعیین حساسیت باکتری های شناسایی شده نسبت به آنتی بیوتیک های رایج در درمان(براساس جدول CLSI۲۰۱۳) از روش استاندارد کربی بائر به روش دیسک دیفیوژن بهره گرفته شد . دیسک های مورد استفاده در این پژوهش مربوط به شرکت پادتن طب بود. نتایج آنتی بیوگرام بر اساس جداول استاندارد و قطر هاله عدم رشد به گروه های حساس(Sensitive)، بینابینی(Intermediate) و مقاوم (Resistant) تقسیم شدند.

پس از اتمام انکوباسیون پلیت هایی که دیسک های آنتی بیوتیک روی آن کاشته شده بود، مورد بررسی قرار گرفتند به طوری که در اطراف هریک از دیسک ها هاله هایی با اندازه های متفاوت ایجاد شده بود که برحسب میلی متر اندازه گیری و ثبت گردید.نوع آنتی بیوتیک های بکار رفته در جدول شماره ۱ و اندازه قطر هاله ها در جدول شماره ۲ آمده است.پس از قرائت و ثبت نتایج ، اطلاعات بدست آمده از میزان حساسیت هر نمونه ، با طیف حساست هر یک از آنتی بیوتیک ها که توسط شرکت پادتن طب تایید شده است در جدول شماره ۲ ، مقایسه گردید. در این بررسی از ۲۰ دیسک آنتی بیوتیکی استفاده گردید که پس از بررسی قطرهاله ها با تطبیق جدول CLSI ۲۰۱۳ حساسیت باکتری به هر دیسک را یاداشت نمودیم.در جدول ۱ انواع دیسک های آنتی بیوتیکی مورد استفاده اشاره گردید.

جدول(۱). آنتی بیوتیک های مورد استفاده در این پژوهش

آنتی بیوتیک	کد	S	I	R
Amikacin	AN-30	۱۶	۱۶-۱۵	۱۵
Amoxicillin	AmC-30	۱۸	۱۷-۱۴	۱۳
Ampicillin	AM-10	۱۴	۱۲-۱۳	۱۱
Ciprofloxacin	CIP-5	۲۱	۲۰-۱۶	۱۵
Clindamycin	CC-2	۲۱	۲۰-۱۵	۱۴
Doxycycline	D-30	۱۶	۱۵-۱۳	۱۲
Erythromycin	E-15	۲۳	۲۲-۱۴	۱۳
Gentamicin	GM-10	۱۵	۱۴-۱۳	۱۲
Imipenem	IPM-10	۱۶	۱۵-۱۴	۱۳
Kanamycin	K-30	۱۸	۱۴-۱۷	۱۳
Methicillin	ME-5	۱۴	۱۰-۱۳	۹
Norfloxacin	NOR-10	۱۷	۱۶-۱۳	۱۲
Oxacillin	OX-1	۱۳	۱۱-۱۲	۱۰
Tetracycline	Te-30	۱۹	۱۸-۱۵	۱۴
Tobramycin	NN-10	۱۵	۱۴-۱۳	۱۲
Vancomycin	Va-30	۱۲	۱۱-۱۰	۹
Rifampin	RA-5	۲۰	۱۹-۱۷	۱۶
Ofloxacin	OFX	۱۶	۱۵-۱۳	۱۲
Azithromycin	AZT	۱۸	۱۴-۱۷	۱۳
Nalidixic acid	NA	۱۹	۱۸-۱۴	۱۳

جدول (۲). قطرهاله های عدم رشد و درصد حساسیت

آنتی بیوتیک	کد دیسک- غلظت	قطرهاله	درصد	حساس یا مقام
آمیکاسین	AN-30	۱۸	۱۰۰	حساس
آموکسیسیلین	AMC-30	۱۰	۱۰۰	مقاوم
آمپیسیلین	AM-10	۱۵	۱۰۰	مقاوم
سیپروفلوکسازین	CIP-5	۲۳	۱۰۰	حساس
کلیندامایسین	CC-2	۱۵	۸۰	مقاوم
دزوکسیسیلین	D-30	۱۶	۹۰	حساس
اریترومایسین	E-15	۱۲	۱۰۰	مقاوم
جنتامایسین	GM-10	۱۵	۱۰۰	حساس
ایمی پنم	IPM-10	۱۶	۶۰	حساس
کانامایسین	K-30	۱۸	۱۰۰	حساس
متیسیلین	ME-5	۹	۱۰۰	مقاوم
نورفلوکسازین	NOR-10	۱۷	۱۰۰	حساس
اگزاسیلین	OX-1	۱۰	۱۰۰	مقاوم
تتراسایکلین	Te-30	۲۰	۱۰۰	حساس
توبرامایسین	NN-10	۱۳	۱۰۰	متوسط
ونکومایسین	Va-30	۱۶	۱۰۰	متوسط
ریفامپین	RA-5	۲۰	۸۵	حساس
اوفلوکسازین	OFX	۱۸	۱۰۰	حساس
آزیترومایسین	AZT	۱۹	۱۰۰	حساس
نالیدیکسیک اسید	NA	۲۱	۱۰۰	حساس

جهت تایید نهایی همچنین در پایان کار مجددا بر روی ۶محیط کشت مولر هینتون آگار ۳دیسک آنتی بیوتیکی خانواده کینولون ها شامل نایلیدیکسیک اسید ، سیپرو فلوکساسین و افلوکساسین را قرار دادیم و بعد از ۲۴ ساعت هاله ی عدم رشد و قطر هاله ها را اندازه گرفتیم که تمامی جدایه ها به این ۳ دیسک ۱۰۰درصد حساسیت نشان داده که می توان صحت انجام کار را تضمین نمود که در جدول ۳ به آنها اشاره شده است.

جدول (۳).نتایج آنتی بیوتیک های خانواده کینولون ها ویژه آئروموناس

آنتی بیوتیک	کد	غلظت	قطرهاله	درصد	سنجش
نایلیدیکسیک اسید	NA	۳۰µg	۲۱	۱۰۰	حساس
افلوکساسین	OFX	۵µg	۱۸	۱۰۰	حساس
سیپروفلوکساسین	CIP	۵µg	۲۳	۱۰۰	حساس

بحث و پیشنهادات

نیومن و پلوگر در سال ۱۹۷۹ از ده نمونه که به صورت تصادفی مورد مطالعه قرار دادند حساسیت بالایی را نسبت به اکثر آنتی بیوتیک ها نشان دادند گرچه پنی سیلین ،کلوکساسیلین،سولفادیمیدین و اسپیرامایسین آنتی بیوتیک های چندان موثری نبودند[۱۴] .

درمطالعه دیگری میراندا و زملمن درسال ۲۰۰۶ سطوح بالایی از حساسیت به تتراسایکلین را در جمعیت بزرگی از باکتری های میکرو فلور مزارع ماهی آزاد نشان دادند[۲] که با نتایج حاصل از این بررسی نیز همخوانی دارد.

بر خلاف برخی مطالعات که اکسی تتراسایکلین را آنتی بیوتیک با حساسیت بالا ارزیابی کرده بود،ایگبال و همکاران در سال ۱۹۹۹ نشان دادند که گونه های آئروموناس جداشده نسبت به سایر عوامل باکتریایی مقاوم تر بودند.آنها خاطر نشان کردند که درصد بالایی از گونه های آئروموناس جداسازی شده به اریترومایسین مقاوم و تتراسایکلین حساس بودند.با این حال تنها تعدادی از اینها به اکسولونیک اسید و استرپتومایسین مقاوم بودند[۱۵] .نتایج حاصل از این مطالعه نیز یافته های ایگبال و همکاران را تایید می کند.

همچنین ساها و پال در سال۲۰۰۲ در مطالعه ای بر روی زخم های ماهی مبتلا به سندروم قرحه ای همه گیر(Pizootic Ulcerative) دریافتند که سودوموناس ها و آئروموناس ها عمدتا به پنیسیلین ، آمپیسیلین و اریترومایسین مقاوم بودند. علاوه بر این برخی نیز به جنتامایسین و آموکسی سیلین مقاوم بودند. با این حال مقاومت نسبت به برخی آنتی بیوتیک ها مانند کلرامفنیکل و اکسی تتراسایکلین که قبلا گزارش شده بود،مشاهده نگردید.نتیجه اینکه عوامل بیماری زای جداشده در مطالعه مذکور به اکسی تتراسایکلین ، کلرامفنیکل و نایلیدیکسیک اسید حساس بودند(ساها وپال،۲۰۰۲).نتایج حاصل از این مطالعه با یافته های ساها و پال به غیر از مقاومت به جنتامایسین کاملا برابر و تایید می کند.

نتایج حاصل از مطالعه لیپتون درسال۱۹۹۱ نشان داد که در میان ۱۰ نوع آنتی بیوتیک ، جنتامایسین ،تتراسایکلین ،استرپتومایسین ،پنی سیلین و نئومایسین رشد هر دو باکتری آئروموناس هیدروفیلا و سودوموناس آئروژینوزا را مهار کردند [۱۷] که با یافته های این پژوهش یکی است.

میکنین و سایووکین در سال ۱۹۹۶طی مطالعه ای نشان دادند که باکتری های جداسازی شده از ماهی کپور معمولی متعلق به آئروموناس هیدروفیلا نسبت به اریترومایسین ،تتراسایکلین،استرپتومایسین،پلی میکسین،نئومایسین و خصوصا لائومایسین روسی حساس بودند و در حالی که نسبت به لائومایسین ایتالیایی حساس نبودند [۱۸].نتایج حاصل از این مطالعه حساسیت آئروموناس هیدروفیلا را به اریترومایسین حاصل از یافته های میکنین و سیووکین (۱۹۹۶) را تایید نمی کند.

کاسترو- اسکارپولی هم در سال۲۰۰۳ مطالعه ای با استفاده از ۲۳ آنتی بیوتیک جهت ارزیابی میزان حساسیت آنها به آئروموناس ها ، نسل اول کوئینولون ها (Quinolon) و نسل دوم و سوم سفالوسپورین ها (Cephalosporin) را از موثرترین آنتی بیوتیک ها علیه آئروموناس معرفی کرد [۱۹].

اخیرا به دلیل مقاومت میکروارگانیسم ها نسبت به آنتی بیوتیک ها ی موجود، نیاز به تولید آنتی بیوتیک ها ی جدید را نه تنها در علوم پزشکی بلکه در دامپزشکی نیز افزایش داده است.رقابت برای استقرار و تغذیه عوامل بیماریزا راهبرد اساسی جهت ارزیابی دفاع ضد میکروبی در محیط های آبی را تشکیل می دهد. بنابر این ارگانیسم هایی نظیر گیاهان دریایی به عنوان منابع بلقوه و غنی از داروهای جدید به عنوان جانشین آنتی بیوتیک های رایج در آبزی پروری پیشنهاد می گردد. بانسمیر وهمکاران(۲۰۰۶) آنها طی مطالعه ای دی کلرومتان (Dichloromethan) ، متانول و عصاره آبی ۲۶ گونه از گیاهان دریایی را جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی پنج عامل بیماری زای ماهی از جمله آئروموناس هیدروفیلا به کار گرفتند و عصاره ی دی کلرو متان جداشده از شش گیاه دریایی فعالیت هایی ضد باکتریایی قوی از خود نشان دادند [۲۰].

درهمین راستا چودهری و همکاران در سال ۲۰۰۲ با استفاده از متابولیت های دریایی به عنوان مواد آنتی باکتریال در کنترل باکتری ها ی بیماریزا ، نتایج رضایت بخشی را بدست آوردند به طوری که ماهیان پس از مجاور شدن با ادواردزیلاتاردا (Edvardziella tarda) در حضور عصاره خام (Crude Extract) برخی اسفنج ها تا ۸۰٪ بازماندگی را نشان دادند در حالی که این مجاورت با آئروموناس هیدروفیلا و سودوموناس فلورسنس ۱۰۰٪ بازماندگی را نشان داد. عصاره گیاهان مناطق ساحلی نیز ۱۰۰٪ بازماندگی ماهیان را پس از مجاورت با ادواردزیلاتاردا به همراه داشت. عصاره نوعی مرجان نیز به ترتیب ۵۰٪ و ۸۰٪ بازماندگی ماهیان را پس از مجاورت با آئروموناس هیدروفیلا و سودوموناس فلورسنس نشان داد.نهایتا اینکه عصاره نوعی جلبک نیز۱۰۰٪ بازماندگی ماهیان را پس از مجاورت با آئروموناس هیدروفیلا در پی داشت[۲۱] .

از مجموع مطالعات انجام شده در زمینه یافتن آنتی بیوتیک موثر می توان نتیجه گرفت که تنها برخی از مطالعات یا بخشی از آنها با نتایج بدست آمده از این مطالعه مطابقت دارد ضمن اینکه نتایج مطالعات مختلف نیز در مواردی یکدیگر را تایید نمی کند چنانچه به طور نمونه میراندا و زلمن (۲۰۰۲) جمعیت بزرگی از باکتری های مقاوم به اکسی تتراسایکلین را در مزارع ماهی آزاد گزارش کردند در حالیکه در همین سال ساها و پال ادعا کردند که مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک مشاهده نگردید[۲۲و۲] .

برای توجیه این اختلاف باید گفت همانطور که بسیاری از مطالعات نشان می دهد ، باکتری یک گونه ممکن است دارای زیر گونه یا بیو وار های متعددی باشند.ضمن اینکه ممکن است حدت این باکتری ها در منابع مختلف آب با یکدیگر متفاوت باشد. بنابراین فقدان اطلاعات مشخص برای بیان حدت ارگانیسم هایی که در ارزیابی آزمایشگاهی خاصیت ضد میکروبی باکتری در استخرهای پرورش ماهی یا منابع آبی مورد استفاده قرار گرفته اند را می توان یکی از مشکلات موجود دانست [۲۴].

مسئله دیگر اینکه بر اساس نظر میکنین و سایووکین درسال ۱۹۹۶ ، قدرت ضد باکتریایی یک آنتی بیوتیک با توجه به شرکت های سازنده آن ممکن است متفاوت باشد، چنانچه لائوومایسین ایتالیایی اثر ضد باکتریایی لائوومایسین روسی را ندارد. بنابراین به نظر می رسد ارزیابی قدرت ضد باکتریایی آنتی بیوتیک ها قبل از بکار گیری آنها ضروری باشد [۱۸].

به هر حال این مطالعه به کار گیری آنتی بیوتیک ها را در صورتی که عوامل باکتریایی ایجاد کننده بیماری در ماهی نباشد را پیشنهاد نمی کند با این حال این مطالعه جنتامایسین و کانامایسین را به عنوان موثر ترین آنتی باکتریال علیه تمامی آئروموناس هیدروفیلا جدا شده معرفی می کند. ضمن اینکه سیپروفلوکساسین ، آزیترومایسین ،نایلیدیکسیک اسید و نورفلوکساسین و افلوکساسین نیز آنتی بیوتیک های کارا و موثری علیه آئروموناس هیدروفیلا بودند.

گونه های آئروموناس در محیط های دریایی و خشکی سراسر دنیا یافت می شوند و بیماری زایی آنها به طور طبیعی در محیط های دریایی اتفاق می افتد.لذا پیشگیری از این آلودگی ها در چنین محیط هایی غیر ممکن است و مهمترین روش کنترل و پیشگیری از این پاتوژن ها رعایت اصول بهداشتی در طول مراحل صید ،نگهداری ، توزیع و فرآوری می باشد.عموما محیط زیست آبزی، تماس ثانویه در هنگام صید و مراحل انتقال از دلایل انتشار باکتری در بروز آلودگی به شمار می روند.اعمال مدیریت مناسب مزرعه ای از جمله حفظ کیفیت آب رعایت موازین بهداشتی ، اعمال شرایط قرنطینه ای و استفاده از آنتی بیوتیک های توصیه شده در سطح مناسب جهت کنترل بیماری می تواند در پیشگیری و کنترل عفونت ناشی از آئروموناس هیدروفیلا در ماهیان و هم چنین عدم سرایت آن به انسان کمک نماید. نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که

فرآورده های دریایی خصوصا ماهی می تواند به باکتری های بیماری زای فرصت طلب انسانی از جملـه آئروموناس هیـدروفیلا آلوده باشد و در این خصوص پخت کامل مواد غذایی به عنوان بهترین روش قبل از مصرف پیشنهاد می گردد.

توصیه می گردد جهت درمان بیماری های ناشی آئروموناس هیدروفیلا طی انجام آنتی بیوگرام ،انتخاب آنتی بیوتیـک بـا رقـت های مختلف انجام شود و از مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها در این خصوص خودداری نمود.

References

1. Matyar, F.; Dincers, S.; Kaya, A. & Colak, O. 2004. Prevalence and resistance to antibiotics in Gram negative bacteria isolated from retial fish in Turkey. Annals of microbiology, 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. .Joseph, S.W., Canahan, A.M. 2000. Update on the genus Aeromonas spp. Appl Environm Microbiol. 66: 218-223.
4. . Mahon, C. R. and Manuselis, G. 2000. Textbook of diagnostic Microbiology. W. B. Saunders. Philadelphia. 524.
5. 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.
6. .Imani, P. and Akhlaghi, M. 2004. Im-munogenicity of hemolysin Protease and Lipoplysacharide extracted from Aer-omonas hydrophilia in common carp(Cyprinus carpio(. Arch Razi Ins. 57: 55-56.
7. Eliopoulos GM, Wennersten C, Moellering RC. Resistance to B-lactam anitibiotics in *streptococcus faecium*.Antimicrob Agents Chemother.1982;22:295.
8. Georgopapadakou NH.Penicillin-binding proteins and bacterial resistance to B-lactam . Antimicrob Agents Chemother.1993;37:2045.
9. Arthur M,Andermont A,Courvalin P.Distribution of erythromycin esterase and rRNA methylase genes in members of the family Enterobacteriaces highly resistance to erythromycin. Antimicrob Agents Chemother.1987;31:404.
10. Hooper DC,Mechanisms of action of antimicrobials:focus on fluoroquinolones.Clin Infect 2001;32:9.
11. Fluit AC,Schmitz FJ.Class1 integrons , gene cassettes,mobility , and epidemiology .Eur J Clin Microbiol Infect Dis.1999;18:761.
12. Stewart, K.R., Koditschek, L. (1980). Drug resistance transfer in Escherichia coli in NewYork Bight. Marine Pollution Bulletin, 5: 71-74.
13. Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; Sherris, J. C. & Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol., 45(4):493–496.
14. Neumann, W. and ploger. W. (1979): Examination in resistance tests of some strain of Aeromonas hydrophila punctata group isolated from carp, J. fish disease third edition, Munich, COPRA Q-session.
15. Igbal, M.M., Chowdhury,M.B.R,. Islam,m.A., Baqui,M., Karim,M.R,. Tajima,K. and Ezura,Y. (1999): seasonal flactuation of motile Aeromonas and pseudomonas in cultured pond of mrigal cirrhinus in Bangladesh, j.Asian fish. Sci vol 12, no.1, pp. 17-24.
16. Saha, D. and Pal, J. (2002): Invitro antibiotic susceptibility of bacteria isolated from Eus-affected fishes in India, Lett. Appl Microbiol. Vol.34,No. 5, pp. 311-316.

17. Lipton, A.P. (1991): control of Aeromonas and pseudomonas infections in fresh water aquaculture system, j. ICAR/CIFA, BHUBANESWAR (INDIA) PP.171-173
18. Mickeniene, L. and Syvokiene, J. (1996): Bacteriological research in to carps in fishing farms, j. LITHUANIA, PP. 307-316
19. Castro-Escarpulli, G., Figueras M.J,. Castro-Escarpulli, G., Soler,L., Fernandez Rendon,E., Aparicio,G.O., Guarro,J. and Chacon,M.R. (2003): characteristion of Aeromonas spp. Isolated from frozen fish intended for human consumption in mexico j.food microbiology pp. 41-49
20. Bansemir, A., Blume, M., Schroder, S and Lindequist,U. (2006) : Screening of cultivated sea weeds for antimicrobial activity against fish pathogenic bacteria journal of Aquaculture. Vol 25, no.1.pp. 79-84
21. Choudhury, s., sree, A., Mukherijee, Sc,. Bapuji, M. and pattnaik, p. (2002) Antibacterials from marine organism Potential for fish disease control, NATCUB Regional research laboratory, Bhubaneswar pp. 129-139.
22. Miranda, C.D. and Zemelman, R.(2002): Bacterial resistance to oxytetracyclin in Chilean salmon farming, j. Aquaculture, vol212No. 1-4, PP. 23
23. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) 2002. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twelfth Informational Supplement. NCCLS document M100-S12, Wayne, Pennsylvania, USA.
24. Soltani, M. (1998): Review of the literature relating to the antibacterial properties of piscine skin mucus, J. fac. Vet. Univ. Tehran, Vol. 53, no. 1-2, pp. 31-34.