بررسی تغییرات شاخصهای خون، ایمنی، سرم و آلودگی مایکوباکتریومی در کفال ماهیان بیمار دریای خزر

مریم قیاسی*[۱]، محمد بینایی[۲]، آذین زاهدی[۳]، علیرضا باباعلیان امیری[۴]، فرشیده حبیبی[۵]، شهریار بهروزی[۶]

۱، ۲، ۳، ۵، ۶- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی-

۴ – اداره کل دامپزشکی استان مازندران – ساری

ghiasimaryam4@gmail.com

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

چکیده

در این بررسی ۳۵ عدد ماهی کفال بیمار از گونه پوزه باریک (*Liza saliens*) واجد علایم بالینی (اتساع محوطه بطنی، لاغری مفرط و بیحالی و پولک ریزی) و ۳۳ عدد سالم از گونه طلایی(*Liza aurata*) (بدون علایم) در اسفند ماه ۱۳۹۳ از منطقه فرح آباد صید گردید. ماهیان بصورت زنده به آزمایشگاه انتقال داده شده، پس اززیست سنجی، ازآنها نمونه خون تهیه شد. از کبد ماهیان بیمار پس از آماده سازی بروی محیط لوین اشتاین جهت جداسازی مایکوباکتریوم کشت تهیه و برای ۸ هفته در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری گردید. نتایج نشان داد ماهیان بیمار بطور معنی‌داری کوتاهتر و لاغرتر از ماهیان سالم بودند. تعداد گلبولهای قرمز و سفید، درصد لنفوسیت و نوتروفیل، میزان هموگلوبین، هماتوکریت و MCHC ماهیان بیمارکاهش معنی‌داری در مقایسه با ماهیان سالم داشت. لیکن میزان میلوسیت و MCV در ماهیان بیمار بطور معنی داری بیشتر از ماهیان سالم بود و میزان MCH تفاوتی در دو گروه نداشت. کاهش معنی دار فاکتورهایی چون پروتئین تام، آلبومین، گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، ALP،CPK، رادیکال آزاد اکسیژن و IgM تام در ماهیان بیمار دیده شد ولی افزایش معنی دار میزان آنزیم‌های ALT و AST در ماهیان بیمار وجود داشت. در بررسیهای باکتری شناسی مایکوباکتریوم جداسازی نگردید. یافته های حاصل از بیومتری ونتایج پاراکلینیکی نشان داد ماهیان بیمار از یک کم خونی هیپوکرومیک ماکروسیتیک همراه پن لکوپنی و ضعف ایمنی شدید ناشی از یک گرسنگی طولانی مدت رنج می برند که این امر میتواند آنها را نسبت به عوامل عفونی از جمله عفونتهای مایکوباکتریومی حساس نماید.

کلمات کلیدی: کفال ماهیان، دریای خزر، شاخصهای خونی، مایکوباکتریوم، پروتئین تام

مقدمه

کفال ماهیان دریای خزر که شامل دو گونه کفال طلایی (*Liza aurata*) و پوزه باریک (*Liza saliens*)، جز ماهیان بومی دریای خزر نبوده و طی سالهای ۱۳۱۳ – ۱۳۰۹ شمسی به این دریاچه معرفی شده و در کمتر از ۱۰ سال در تمام سواحل دریای خزر گسترش یافتند و جمعیتهای بسیار چشمگیری را در سواحل خزر جنوبی تشکیل دادند(دریانبرد ۱۳۸۷). این ماهیان یکی از مهمترین و اقتصادی‌ترین ماهیان دریای خزر می‌باشند بطوریکه بعد از ماهی سفید بیشترین سهم صید ماهیان استخوانی را به خود اختصاص میدهند(سالنامه شیلات ایران ۱۳۹۲). متأسفانه طی سالهای اخیر صید این ماهیان روند نزولی داشته بطوریکه میزان صید از حدود ۶۹۰۰ تن در سال ۱۳۸۲ به حدود ۲۴۰۰ تن در سال بهره برداری ۹۲-۱۳۹۱رسیده است (Fazli *et al*., 2013).

اولین بار بروز علایمی چون اتساع محوطه بطنی، شنای غیر طبیعی، بیحالی و ماهیان در سطح آب غوطه ور مانده و فاقد تعادل لازم در شنا بودند در کفال ماهیان صید شده در فاصله زمانی اسفند ۱۳۷۷ تا تیر ۱۳۸۷ خورشیدی در استان گیلان مشاهده شد. در این بررسی ها علت احتمالی بروز این علایم را ناشی از اختلالات تغذیه ای و در پی آن اختلال در تنظیم گاز موجود در کیسه شنا دانستند و این پدیده به عنوان عارضه نفخ در کفال ماهیان دریای خزر گزارش گردید (سلطانی و رهاننده، ۱۳۸۰).

در بررسیهای اولیه در مورد علل احتمالی این بیماری با استفاده از روشهای سلولی- مولکولی و ایمونوفلورسنت غیر مستقیم (IFAT) یک بتا نوداویروس جداسازی و شناسایی گردید (ذریه زهرا، ۱۳۹۲). در بررسیهای انجام شده در استان مازندران ماهیان واجد علایم بالینی مبتلا به کم خونی ماکروسیتیک هیپوکرومیک بودند. لکوپنی حاد از دیگر علایم دیده شده در این ماهیان بود و میزان میلوسیت این ماهیان افزایش معنی داری را نشان داد که نشان از افت ایمنی و تلاش سیستم ایمنی برای جایگزینی سلولهای از دست رفته بود. در بررسیهای سرم شناسی کاهش معنی دار فاکتورهایی چون پروتئین تام، آلبومین و IgM تام سرم مشاهده شد، که تمام اینها نشان دهنده یک روند شدید کاتابولیسم پروتئین بود. از سوی دیگر در بررسی فلس ماهیان مشخص گردید که آنها تقریبا از دو سالگی تغذیه مناسب نداشته اند (Ghiasi *et al*., 2016).

لیکن در بررسیهای انجام شده در زمستان ۱۳۹۲ از سوی سازمان دامپزشکی کشور اعلام گردید که در گروهی از کفال ماهیان بیمار صید شده در استان مازندران و گلستان در مقاطع پاتولوژی عوارض گرانولوماتوزی مشاهده گردیده و در بررسیهای بعدی Mycobacterium marinum گزارش گردید. لازم به ذکر است که وجود این باکتری قبلا در دریای خزر گزارش شده است. در تحقیق قاضی سعیدی و همکاران (۱۳۸۵) این باکتری از مجموع ۱۱ ماهی خاویاری صید شده تنها از دو مورد (۱/۷۶٪ ماهیان صید شده) جداسازی و شناسایی گردید لیکن از صیادان شاغل در همین ناحیه علی رغم وجود یک مورد زخم جلدی در دست، جداسازی و شناسایی باکتری صورت نگرفت. از سوی دیگر براساس تحقیق Babamahmodi و همکاران(۲۰۱۴) از سال ۱۹۸۰ تا ۲۰۱۴ تنها ۶

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

مورد عفونت با *M. marinum* در ایران گزارش شده است که سه مورد آن اخیر آن توسط این محقق و همکارانش در استان مازندران گزارش شده است. در این سه مورد نیز منبع عفونت ماهیان آکواریومی بوده اند. باتوجه به آنچه ذکر گردید در این بررسی تلاش شده تا از یک سو شمایی از تابلو خونی، سرمی و وضعیت ایمنی این ماهیان بدست آید و از سوی دیگر وجود مایکوباکتریوزیس به عنوان عامل بروز بیماری و تلفات با انجام کشت مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش کار

خونگیری و انجام آزمایشات خونشناسی، سرم و ایمنی: ابتدا ماهیان با غلظت ppm ۲۰۰ عصاره گل میخک بیهوش شده و پس از بیومتری با استفاده از سرنگ از ساقه دمی خونگیری گردید. نمونه‌های خون به دو میکروتیوب هپارینه و غیر هپارینه منتقل گردید. از نمونه هپارینه برای ارزیابی شاخص‌های خون‌شناسی استفاده گردید. نمونه های غیر هپارینه به مدت ۲ ساعت در حرارت اتاق نگهداری و پس از تشکیل لخته به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ و سرم بدست آمده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری گردید. برای شمارش گلبول قرمز و سفید، نمونه با محلول ریس به نسبت ۱ به ۲۰۰(برای گلبول قرمز) و ۱ به ۲۰ (برای گلبول سفید) رقیق شده و در نهایت سلولها با استفاده از لام هموسیتومتر شمارش گردیدند. شمارش تفریقی با استفاده از گسترش خونی رنگ شده با گیمسا انجام گردید. میزان هماتوکریت با استفاده از لوله میکروهماتوکریت پس از سانتریفوژ (۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰rpm) با استفاده از خط‌کش مخصوص انجام گردید. میزان هموگلوبین نیز با استفاده از روش سیانومت‌هموگلوبین انجام شد. محاسبه اندیسهای خونی شامل هموگلوبین، حجم متوسط سلولی (MCV)، هموگلوبین متوسط سلولی(MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی(MCHC) بر اساس فرمول و میزان گلبولهای قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت انجام گردید (Binaei *et al*. 2014). ارزیابی فاکتورهای سرمی شامل پروتئین تام سرم، آلبومین، کراتین فسفوکیناز(CPK)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز(ALT)، IgM تام، گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر(Eurolayzer، بلژیک) و با استفاده از کیت تجاری(شرکت پارس آزمون، ایران) انجام گردید (Shahsavani *et al*., 2010). سنجش رادیکال آزاد اکسیژن از نمونه های خون غیر هپارینه و با استفاده از روش کمولومینوسانس(LUMI skan Ascent T392 ، فنلاند) انجام گردید. نتایج حاصل از این آزمایش بصورت سنجش میزان انتشار نور در ثانیه($RLUs^{-1}$) گزارش گردید (Binaii *et al*., 2014).

انجام آزمایشات میکروب شناسی: برای کشت از کبد ماهیان واجد علایم بالینی استفاده گردید. جهت هموژن سازی نمونه های ابتدا از محلول سود(NaOH) ۴٪ به میزان هم حجم نمونه (۵ – ۴ میلی لیتر) افزوده شدو بعد از له شدن نمونه، نمونه ها به مدت ۳۰ دقیق در دور rpm ۳۰۰۰ سانترفوژ شدند. به محتوای لوله فنل فتالین به عنوان اندیکاتور pH افزوده گردید و جهت رساندن pH نمونه به

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

حدود ۷ میزان مناسب اسید کلردریک ۱ نرمال افزوده شد. از محلول بدست آمده به میزان ۱ – ۰/۵ میلی لیتر به محیط کشت لوین اشتاین – جانسون افزوده گردید. محیط کشتهای فوق به مدت ۸ هفته در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند(Lescenko *et al*., 2003).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده های بدست آمده از بیومتری، آزمایش اندیسهای خونی، بیوشیمی و ایمنی جهت آنالیز آماری در نرم افزار SPSS ورژن ۱۸ ثبت گردید و جهت تعیین وجود یا عدم وجود تفاوت معنی دار بین داده ها از آزمون T- test independent استفاده گردید (Zar, 1994).

نتایج و بحث

بررسیهای بالینی و بیومتری: علایم بالینی در ماهیان بیمار عمدتا بصورت تورم در ناحیه بطنی، بیحالی و عدم شنای فعال بود. به جز درجات مختلفی از پولک ریزی علایم خاصی در سطح بدن وجود نداشت. در کالبد گشایی، مهمترین یافته تورم شدید کیسه شنا، پر بون کیسه صفرا و خالی بودن دستگاه گوارش از غذا بود و هیچگونه مایعی در داخل محوطه بطنی مشاهده نگردید. کلیه ها رنگ پریده،تحلیل شدید بافت عضلانی و پرخونی و یا خونریزی در سطح کیسه شنا مشاهده گردید. در کبد و کلیه عوارضی چون پرخونی، خونریزی، وجود گرانول یا ضایعات دیگر مشاهده نگردید. میانگین طول، وزن و سن ماهیان بیمار بطور معنی داری کمتر از ماهیان سالم بود. لازم به ذکر است تمام ماهیان صید شده واجد علایم بالینی از گونه سالینس و ماهیان صیدد شده فاقد علایم بالینی از گونه اوراتوس بودند و در صید ماهیان واجد و فاقد علایم انتخابی عمل نگردیده بود (جدول۱).

جدول ۱ – نتایج میانگین طول، وزن و سن ماهیان صید شده در اسفند ماه ۱۳۹۳

تعداد	گونه	متوسط طول(cm)	متوسط وزن(g)	متوسط سن(سال)
۳۳ عدد	گونه اوراتوس (بدون علایم بالینی)	۳۴/۱ ± ۳/۸	۲۹۸/۷ ± ۹۲/۶	۴/۴ ± ۰/۸
۳۵ عدد	گونه سالینس(با علایم بالینی)	۲۴/۱ ± ۲/۱	۹۶/۲± ۲۹/۸	۳/۱± ۰/۶

نتایج آزمایشات خون، سرم و ایمنی: تعداد گلبولهای قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبولهای سفید، میزان لنفوسیت و نوتروفیل ماهیان بیمارکاهش معنی‌داری در مقایسه با ماهیان سالم داشت($p<0.05$). لیکن میزان حجم متوسط گلبولی(MCV) و میزان نوتروفیلهای نابالغ در این ماهیان افزایش معنی داری در مقایسه با ماهیان سالم داشت($p<0.05$). علی رغم کاهش عددی میزان وزن هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت هموگلوبین گلبولی(MCHC) در ماهیان بیمار، تفاوت معنی داری در این دو شاخص بین دو گروه مشاهده نگردید($p>0.05$) (جدول ۲). بر اساس یافته های بدست آمده از آنالیز داده های بیوشیمیایی سرم، میزان گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، پروتئین تام، آلبومین و آنزیمهای ALK و CPK ماهیان بیمار بطور معنی داری نسبت به گروه سالم کاهش

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

داشت($p<0.05$). در حالی که افزایش معنی داری در میزان آنزیمهای ALT و AST در این گروه نسبت به ماهیان سالم دیده شد($p<0.05$)(جدول۳). میزان IgM تام در ماهیان بیمار و سالم به ترتیب ۳/۳۴ ± ۵۸/۳۴ و ۱۳/۸۴ ± ۱۸۶/۸۸ میلی گرم بر دسی لیتر و میزان تولید رادیکال آزاد اکسیژن در ماهیان بیمار و سالم به ترتیب $RLUs^{-1}$ ۷/۴۴ ± ۱۲۶/۰۳ و ۲۵/۴۷ ± ۵۳۱/۱۴ بود که میزان هر دو این پارامترها در ماهیان بیمار بطور معنی داری کمتر از ماهیان سالم بود($p<0.05$). مشخص گردید که این دو فاکتور در ماهیان بیمار کاهش معنی داری نسبت به گروه سالم داشته اند (شکل ۱ و ۲). نتایج آزمایشات باکتری شناسی: در بررسیهای باکتری شناسی، پس از کامل شدن دوره گرمخانه گذاری (۸ هفته در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد) نمونه های کشت داده شده، هیچگونه رشد باکتری و یا پرگنه ای در محیطهای کشت مشاهده نگردید (تصاویر ۱ و ۲).

جدول ۲– مقایسه میانگین شاخصهای خونی بین کفال ماهیان بیمار و سالم صید شده در اسفند ۱۳۹۳

شاخص	ماهی بیمار		ماهی سالم		t - test	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	p	t - value
گلبول قرمز × 10^{5}(سلول در میلی متر مکعب)	۲/۱	۷/۰	۴/۴	۰/۶	.001	-14.127
گلبول سفید × 10^{3} (سلول در میلی متر مکعب)	۴/۵	۱/۳	۱۱/۱	۲/۹	.001	-12.140
هماتوکریت (درصد)	۲۲/۳	۶/۶	۴۲/۵	۶/۷	.001	-12.549
هموگلوبین(gdL^{-1})	۶/۵	۲/۲	۱۲/۶	۲/۶	.001	-10.407
متوسط حجم گلبولی MCV (فمتولیتر)	۱۰۰/۸	۱۵/۵	۸۶/۹	۳۳/۲	.001	2.228
وزن هموگلوبین گلبولی (MCH) (پیکوگرم)	۲۸/۵	۳/۶	۳۰	۳/۴	.530	-1.771
غلظت هموگلوبین گلبولی(MCHC) (درصد)	۲۶/۵	۳/۱	۲۹	۲/۶	.039	-.668
لنفوسیت (درصد)	۳۶/۳	۹/۲	۵۹/۶	۸/۱	.001	-11.065
نوتروفیل (درصد)	۲۹	۶	۳۲/۳	۷	.039	-2.107
نوتروفیل نابالغ (درصد)	۳۴/۲	۱۲/۶	۸/۲	۳/۷	.001	11.438
مونوسیت	۰/۵	۰/۲	۰/۵	۰/۱	.897	-.130

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

جدول ۴ – مقایسه میانگین شاخصهای بیوشیمیایی سرم بین کفال ماهیان بیمار و سالم صید شده در اسفند ۱۳۹۳

شاخص	ماهی بیمار		ماهی سالم		t - test	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	t - value	p
گلوکز ($mgdL^{-1}$)	۷۱/۷	۴/۱	۹۸/۵	۴/۹	-4.217	0.001
تری گلیسرید ($mgdL^{-1}$)	۶۷/۱	۱/۹	۱۳۴/۱	۵/۹	-12.648	0.001
کلسترول ($mgdL^{-1}$)	۱۲۹/۵	۴/۹	۲۱۹/۵	۷/۷	-9.955	0.001
پروتئین تام سرم (gdL^{-1})	۱/۵	۰/۵	۳/۹	۰/۵	-21.187	0.001
آلبومین (gdL^{-1})	۰/۷	۰/۱	۲/۲	۰/۱	-17.070	0.001
ALT ($IUdL^{-1}$)	۲۸/۸	۱/۴	۵/۴	۰/۷	14.556	0.001
AST ($IUdL^{-1}$)	۳۱۴/۵	۲۰/۷	۳۷/۸	۳/۳	12.869	0.001
ALK ($IUdL^{-1}$)	۱۵/۴	۴/۱	۴۹/۴	۱۲/۵	-15.267	0.001
CPK ($IUdL^{-1}$)	۵۰۱/۶	۲۹	۲۷۷۸/۵	۱۸۲/۹	-12.648	0.001

آنالیز فاکتورهای سلولی و بیوشیمیایی خون می‌تواند تغییرات پاتوفیزیولوژیکی حاد یا مزمن ناشی ازتغذیه، کیفیت آب، سموم و بیماریها را مشخص نماید (Hrubec *et al*., 2001). در این بررسی در ماهیان بیمار کاهش معنی دار میزان گلبولهای قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در مقایسه با ماهیان سالم مشاهده شد. این در حالی بود که اندیسهای خونی مانندMCHC کاهش معنی داری در ماهیان بیمار داشت ولی میزان MCV در همین گروه افزایش معنی داری یافته بود و میزان MCH علی رغم کاهش عددی در ماهیان بیمار از تفاوت معنی داری در بین دو گروه برخوردار نبود. با توجه به نتایج فوق ماهیان بیمار مبتلا به آنمی از نوع ماکروسیتیک هیپوکرومیک هستند. بررسیها نشان داده است که این امر عمدتا در اثر کمبود اسید فولیک و ویتامین B12 و بطور کلی سوء تغذیه و اختلال در روند اریتروپویزیس ایجاد میشود. در چنین حالتی به دلیل کمبود ترکیباتی که ذکر شد سلولهای خونی بدون آنکه به بلوغ کامل برسند به جریان خون وارد می شوند (Řehulka, 2003; Smith *et al*., 2006). کاهش میزان گلبولهای قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در بیماریهای ویروسی و باکتریایی دیده شده است لیکن در تمام اینها تغییری در اندیسهای MCV، MCH و MCHC مشاهده نشده است (Řehulka, 2002). لذا به نظر نمی‌رسد این کم خونی منشا عفونی در ماهیان کفال داشته باشد. ماهیان بیمار دچار پن کلوپنی همراه با لکوپنی، نوتروپنی و میلوسیتوزیس (افزایش تعداد نوتروفیلهای نابالغ) بودند. معمولا بیماریهای عفونی با لکوسیتوزیس همراه با لنفوسیتوزیس و نوتروپنی اتفاق می‌افتد. لیکن کاهش لکوسیتها همراه با کاهش لنفوسیت و نوتروفیل و افزایش نوتروفیلهای نابالغ در یک گرسنگی طولانی مدت رخ میدهد

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

(Sopińska, 1984; Rios *et al*., 2005). ویتامین C و اسیدهای آمینه نقش بسیار مهمی در تنظیم عملکرد و بلوغ گلبولهای سفید دارند و کمبود آنها سبب افزایش سلولهای نابالغ می‌گردد (Adham *et al*., 2000; Grohmann and Bronte, 2010). لازم به ذکر است که یافته های مشابه در تابلو خونی ماهیان بیمار و سالم کفال قبلا نیز گزارش شده بود(ذریه زهرا، ۱۳۹۲).

بیومتری ماهیان بیمار،کاهش معنی‌دار طول و وزن را نسبت به ماهیان سالم نشان داد و نیز در ارزیابی بالینی مهمترین یافته بزرگ بودن کیسه صفرا و خالی بودن دستگاه گوارش بود. با توجه به داده های خونی و نیز علایم ذکر شده به نظر می رسد ماهیان بیمار از یک گرسنگی طولانی مدت رنج میبرند. معمولا ماهیان در مواردی چون فصل تکثیر کمتر به تغذیه میپردازند. در چنین شرایطی، رشد آنها متوقف شده و آنها انرژی مورد نیاز خود را از پروتئولیز عضلات بدست میاورند (Gillis and Ballantyne, 1996; Hung *et al*., 1997). این امر میتواند اختلاف معنی داری که در طول و وزن ماهیان سالم و بیمار دیده شده است توجیه نماید. میزان پروتئین تام، آلبومین، قند، کلسترول و تری‌گلیسیرید ماهیان بیمار در مقایسه با ماهیان سالم کاهش معنی داری داشت. در بیماریهای عفونی با منشا باکتریایی یا قارچی و سوء تغذیه طولانی مدت میزان پروتئین تام و آلبومین سرم کاهش می‌یابد. کاهش این دو فاکتور در بیماریهای عفونی ناشی از اختلالات کبدی و کلیوی و در سوء تغذیه طولانی بخاطر کاهش دریافت اسید آمینه‌های لازم برای ساخت آنها است(Adham *et al*., 2000; Grohmann and Bronte, 2010) البته کاهش میزان قند، کلسترول و تری‌گلیسرید نیز عمدتا در گرسنگی و سوء تغذیه طولانی مدت از مهمترین عوارض مشاهده شده در پروفایل بیوشیمیایی خون ماهیان است(Hung *et al*., 1997). کلسترول برای رشد و بقا سلولهای مهره داران ماده ای ضروری است و نیز پیش ساز هورمونهای استروئیدی نظیر پروژسترون، تستوسترون، پروژسترون، استرادیول و کورتیزول است(Percin and Konyalioglu, 2008).

دو آنزیم کبدی ALT و AST در ماهیان بیمار نسبت به ماهیان سالم بطور معنی داری افزایش داشت. افزایش این دو آنزیم نشان دهنده بروز آسیب کبدی است که میتواند ناشی از عفونت و یا گرسنگی طولانی مدت باشد. در گرسنگی طولانی مدت تجمع ترکیبات اکسیداتیو در کبد سبب آسیب کبدی میگردد (Pascual *et al*., 2003).

دو آنزیم CPK و ALP نیز در ماهیان بیمار در مقایسه با ماهیان سالم کاهش معنی دار داشتند. مهمترین وظیفه CPK تامین منابع غنی از فسفوکراتین برای سلولها (خصوصا سلولهای ماهیچه و مغز) و دخالت درتولید ATP بوده، با کنترل گلیکولیز منبع انرژی مناسب در اختیار سلول قرار میدهد. تغییرات این آنزیم در سرم تا بع تغییرات سوبسترای آن است (Witzemann, 1985). با توجه به کاهش منابع تولید انرژی و سوبسترای این آنزیم در ماهیان بیمار (افت گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول) به نظر میرسد

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

کاهش این آنزیم قابل توجیه است و این امر میتواند تا حدودی پاسخگوی بیحالی و کم تحرکی ماهیان بیمار در مقایسه با ماهیان سالم باشد. ALP از آنزیمهای متصل به غشا سلولی است که نقش آن برداشتن عامل فسفات از استرهای آلی حاوی فسفات و نیز تسهیل حرکت مواد از غشا سلول است. از مهمترین موارد کاهش این آنزیم میتوان به کمبود اسید فولیک ، ویتامین C، سوء تغذیه یا مصرف اندک پروتئین اشاره نمود(Percin and Konyalioglu, 2008).

میزان IgM تام و میزان تولید رادیکال آزاد اکسیژن در ماهیان بیمار کاهش معنی داری نسبت به ماهیان سالم داشت. ماهیان استخوانی معمولا دو شکل IgM شامل شکل محلول(موجود در سرم) و فرم متصل به غشا سلول دارند که فرم محلول از طریق لنفوسیتهای B ترشح و وارد خون میشود(Cuesta *et al*., 2004). اگرچه این دسته از ترکیبات پروتئینی به عنوان منبع انرژی در شرایط گرسنگی توسط بدن ماهیان مورد استفاده قرار نمیگیرند لیکن بدلیل محدودیت تأمین اسیدهای آمینه ضروری برای ساخت آنها میزان آن در ماهیان در معرض گرسنگی طولانی مدت کاهش می یابد (Davis *et al*., 1999). لذا به نظر می رسد کاهش میزان IgM تام سرم ماهیان بیمار در این بررسی احتمالا مربوط به کاهش جمعیت لنفوسیتها و یا کاهش سنتز آن باشد. رادیکال آزاد اکسیژن تولیدی توسط سلولهای بیگانهخوردرانفجار تنفسی پدیدهای مهم در فرآیند عملکرد ایمنی این گروه از سلولها است. آنیون سوپراکسیدی که طی این فرآیند آزاد میشود سبب آسیب دیواره سلولی باکتریها و انگلها و نهایتا مرگ آنها میگردد و نیز موجب تسهیل در واکنش سایر عوامل آنزیمی دخیل درانهدام آنها میشود. لذا کاهش تولید این آنیونها موجب تضعیف عملکرد سلولهای بیگانه خوار و نهایتا سبب ضعف ایمنی و افزایش حساسیت به عوامل باکتریایی اجباری داخل سلولی مانند مایکوباکتریومها میگردد(Sharp and Secombes, 1992 & 1993; Secombes 1990; Gauthier and Rhodes, 2009).

در این بررسی در تمام موارد کشت با هدف جداسازی و شناسایی باکتری مایکوباکتریوم مرینوم نتیجه منفی بود. بروز مایکوباکتریوزیس اولین بار در ماهی کپور معمولی توسط Bataillon و همکاران (۱۸۹۷) گزارش گردید. سه مایکوباکتریم شامل M. marinum، M. fortuitum وM. chelonae از مهمترین عوامل مایکوباکتریومی بیماریزا در آبزیان هستند. لیکن در بین آنها گونه مرینوم قابلیت بیماریزایی در انسان را نیز داراست. باکتری مایکوباکتریوم مرینوم در منابع آبی مختلف قادر به رشد و حفظ بقا خود می باشد و به راحتی قابلیت آلوده نمودن ماهیان وحشی را داراست. عواملی چون استرس و سوء تغذیه به دلیل آنکه موجب تضعیف ایمنی میگردند موجب افزایش حساسیت ماهیان در برابر این باکتری میشوند (Gauthier and Rhodes, 2009). از سوی دیگر این باکتری در بین انسان و ماهی مشترک بوده و قابلیت ایجادسل جلدی و نه سل احشایی را در انسان داراست. این بیماری معمولا در دارندگان آکواریوم و افراد صیاد بیشتر دیده میشود و عمدتا آن را یک بیماری شغلی میدانند (Gluckman, 1995).

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

بر اساس نتایج هرچند نتایج کشت اختصاصی مایکوباکتریوم ماهیان بیمار منفی بود ولی به نظر میرسد عاملی سبب شده تا ماهیان کفال برای مدت بسیار طولانی قادر به تغذیه نباشند و فرآیند این گرسنگی طولانی مدت نه تنها بر رشد آنها تأثیرات جبران ناپذیری گذاشته است بلکه به خاطر ضعف شدید ایمنی میتواند آنها را به کانونی مناسب جهت گسترش عوامل بیماریزای عفونی خصوصا میاکوباکتریومها تبدیل نماید. . لذا ضروری است مطالعاتی تعریف گردد تا به بررسی علل احتمالی بروز گرسنگی در این جمعیت از ماهیان دریای خزر بپردازد.

منابع

دریا نبرد. غ.م، ۱۳۸۷، مطالعه خصوصیات تولید مثلی ماهی کفال طلایی (*Liza aurata*) در سواحل جنوبی دریای خزر استان مازندران، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده شیلات و محیط زیست دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

ذریه زهرا. س.م.ج، ۱۳۹۲، مطالعه بیماری نکروز عصبی ویروسی (جداسازی، شناسایی و شناسایی و بیماریزایی آن) در کفال ماهیان دریای خزر، گزارش نهایی به شماره ۴۳۰۱۰، موسسه تحقیقت علوم شیلاتی کشور

سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۲، دفتر برنامه و بودجه – گروه آمار و مطالعات توسعه شیلاتی

سلطانی. م، رهاننده. م، ۱۳۸۰ ، گزارش عارضه نفخ در کفال ماهیان دریای خزر، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۱، دوره ۵۶، ص ۱۰۶ – ۱۰۵

قاضی سعیدی.ک، هاشم زاده. ر، فاطمی نسب. ف. د، قائمی. ع.، ۱۳۸۵، فراوانی گرانولوم استخر شنا و مایکوباکتریوم مرینوم در کارکنان صنعت شیلات و ماهیهای صید شده در شیلات آشوراده استان گلستان، مجلع علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، دوره ۸، شماره ۲، ۶۲ – ۶۰

Adham. K.G., Hashem. H.O., Abu-Shaban. M.B., Kamel. A.H., 2000, Vitamin C deficiency in catfish Clarias gariepinus. Aquaculture Nutrition, 6: 129 -139.

Babamahmoodi. F., Babamahmoodi. A.R., Nikkhahan.B., 2014, Review of Mycobacterium marinum infection reported from Iran and report of three new cases with sporotrichoid presentation, Iranian Red Crescent Medical Journal, 16(2):1 – 6.

Binaii. M, Ghiasi. M, Farabi. S.M.V., Pourgholam. R., Fazli. H., Safari. R., Alavi.S.E., Taghavi. M.J., Bankehsaz. Z., 2014, Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

beluga (Huso huso) following the diet supplemented with nettle (Urtica dioica), Fish and Sellfish Immunology, 36: 46-51.

Cuesta. A., Meseguer. J., Esteban. M.A., 2004, Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in seabream (Sparus aurata L.). Veterinary Immunology and Immunopathology, 101: 203–210.

Davis, C.R., Marty, C.G., Adkison, M.A., Freiberg, E.F., Hedrick, R.P., 1999, Association of plasma IgM with body size, histopathologic changes and plasma chemistries in adult Pacific herring Clupea pallasi. Disease of Aquatic Organisms,38:125–33.

Fazli, H., Daryanabard, G.H., Abdolmaleki, S., Bandani, G.A., 2013, Stock assessment and management implications of golden grey mullet (Liza aurata Risso, 1810) in Iranian waters of the Caspian Sea. Journal of Applied Ichthyology, 29:431–436

Gauthier. D., Rhodes. M.W., 2009, Mycobacteriosis in fishes: A review, The Veterinary Journal, 180: 33–47

Ghiasi, M., Binaii, M., Ghasemi, M., Fazli, H., Zorriehzahra, M.J., 2016, Haemato-biochemical disorders associated with nodavirus like-agent in adult leaping mullet Liza saliens (Risso, 1810) in the Caspian Sea, Virus Diseases, 27(1): 12 - 18

Gillis. T.E., Ballantyne. J.S., 1996, The effect of starvation on plasma free amino acid and glucose concentration in lake sturgeon. Journal of Fish Biology, 49: 1306 – 1316.

Gluckman. S., 1995, Mycobacterium marinum, Clinics in Dermatology, 13:273-276

Grohmann. U., Bronte. V., 2010, Control of immune response by amino acid metabolism. Journal of Fish Biology, 236: 243–264.

Hrubec T.C, Smith.S.A, Robertson.J.L, 2001, Age – related changes in hematology and plasma chemistry values of hybrid striped bass, Journal Veterinary clinical pathology, 30(1): 8 – 15.

Hung. S.S.O., Liu. W., Li. H., Storebakken. T., Cui. Y., 1997, Effect of starvation on some morphological and biochemical parameters in white sturgeon, Acipenser transmontanus. Aquaculture, 151: 375 – 363.

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

Lescenko. P., Matlova. L., Dvorska. L., Bartos. M., Vavra. O., Navratil. S., 2003, Mycobacterial infection in aquarium fish, Veterina Medicina Czech, (3): 71–78.

Pascual. P., Pedrajas. J.R., Toribio. F., Lo´pez-Barea. J., Peinado. J,. 2003, Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (Sparus aurata). Chemico-Biological Interactions, 145: 191-199.

Percin. F., Konyalioglu. S., 2008, Serum biochemical profiles of captive and wild northern bluefin tuna (Thunnus thynnus L. 1758) in the Eastern Mediterranean, Aquaculture Research, 39: 945-953.

Řehulka. J., 2002, .Aeromonas causes severe skin lesions raibow trout (Oncorhynchus mykiss): clinical pathology, haematology and biochemistry. Acta Veterinaria Brno 71: 351-360.

Řehulka. J., 2003, Haematological analyses in rainbow trout Oncorhynchus mykiss affected by viral haemorrhagic septicaemia (VHS), Disease of Aquatic Organisms, 56: 185–193.

Rios. F.S., Oba. E.T., Fernandes. M.N., Kalinin. A.L., Rantin. F.T., 2005, Erytocyte senescence and haematological changes induced by starvation in neotropical fish Traira, Hoplias malabaricus (Characiforms , Erythrinidae). Comparative Biochemistry and Physiology 140, 281 -287.

Secombes. C.J., 1990, Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing activity. In: Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Roberson BS, editors. Techniques in fish immunology, vol. 1. Fair Haven, New Jersey: SOS Publications; 137 -163.

Shahsavani. D, Mohri. M, Gholipour Kanani. H., 2010, Determination of normal values of some blood serum enzymes in Acipenser stellatus Pallas. Fish Physiology and Biochemistry, 36:39 - 43.

Sharp. G.J., Secombes. C.J., 1992, Observations on the killing of Aeromonas salmonicida by rainbow trout (O. mykiss, Walbaum) macrophages. Diseases in Asian Aquaculture, 1:379-89

Sharp. G.J., Secombes. C.J., 1993, The role of reactive oxygen species in the killing of the bacterial pathogen Aeromonas salmonicida by rainbow trout macrophages. Fish and Shellfish Immunology, 3:119- 129.

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)

Smith, P.A., Larenas. J., Contreras, J., Cassigoli. J., Venegas. C., Rojas. M.E., Guajardo. A., 2006, Infectious haemolytic anaemia causes jaundice outbreaks in seawater-cultured coho salmon, Oncorhynchus kisutch (Walbaum), in Chile. Journal of Fish Diseases, 29: 709–715

Sopińska, A., 1984, Effect of physiological factors, stress and disease on hematological parameters of carp, with particular reference to leukocyte pattern. II. Hematological results of stress in carp. Acta Ichtyologica et Piscatoria, 16:121-139

Witzemann. V., 1985, Creatine phosphokinase : isoenzymes in Torpedo marmorata, European Journal of Biochemistry, 150:201 -210.

Zar. JH., 1994, Biostatistical analysis. New Jersey: Prentice-Hall,p. 662pp

Journal of Aquatic Caspian Sea (J.A.C.S)