

ویژگی‌های ضد باکتریایی موکوس پوست ماهی

دکتر مهدی سلطانی^۱

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۳، شماره ۱ و ۲، ۳۴-۳۱، ۱۳۷۷

ویریوآنکلوئیلاروم نبود. اگرچه فعالیت ضد میکروبی کمپلمانت در مطالعه مذکور مشهود است ولی این افراد تلاشی جهت شناسایی دقیق فاکتورهای درگیر در فعالیت ضدباکتریایی موکوس بعمل نیاوردند.

Kamiya و Shimizu (۱۹۸۰) متوجه شدند که لکتینهای (Lectins) موکوس پوست نوعی ماهی پهن (*Lophopsetta maculata*) قادر به ایجاد آگلوتیناسیون یک نوع باکتری دریایی (*Microcyclus marinus*) بود، اما روی ویریبولجینو-لیتیکوس و گونه‌های سودوموناس اثری نداشت. از این مطالعه چنین نتیجه‌گیری می‌شود که احتمال یک نوع فعالیت انتخابی برای ترکیبات موکوس پوست گونه‌های مختلف ماهیان وجود دارد. بهرحال مشاهدات این افراد فاقد هر نوع ارتباط بین فعالیت هماگلوتیناسیون و اثرات ممانعت‌کنندگی موکوس برعلیه باکتریها بود.

طی مطالعه‌ای Hjelmeland و همکاران (۱۹۸۳) قادر نبودند تا فعالیت ممانعت‌کنندگی برای پروتئازهای شبیه تریپسین بدست آمده از موکوس پوست قزل‌آلای رنگین‌کمان را در شرایط *in vitro* برعلیه ویریبولجینوئیلاروم نشان دهند. این نتیجه‌گیری جای تعجب ندارد زیرا در شرایط *in vivo* قزل‌آلای رنگین‌کمان بروش حمام بمراتب حساستر از ماهی آزاد اطلس است در حالیکه هر دو گونه ماهی بروش تزریقی از حساسیت یکسانی به این عامل بیماریزا برخوردارند (مکاتبه شخصی Carson, J.). لذا بنظر می‌رسد که ماهی آزاد اطلس واجد ترکیبات محافظتی ویژه‌ای در موکوس پوست خود می‌باشد که در قزل‌آلا وجود ندارد.

Takahashi و همکاران (۱۹۸۷) نشان دادند که موکوس پوست گیش دم زرد فعالیت لیزکنندگی قابل توجهی برعلیه میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus lysodeikticus*) از خود نشان داد.

Sommerville و Subsinghe (۱۹۸۸) با استفاده از گونه‌های آئروموناس هایدروفیلا، سودوموناس فلورسنس، یرسینیا آکری، ادواردزیلا تاردا و فلاوباکتریوم هیچگونه فعالیت ضدباکتریایی برای موکوس محوطه دهانی نوعی ماهی اسکار (*Oreochromis mosambicus*) ماده و سالم در مراحل مختلف زندگی نیافتند.

طی مطالعه‌ای توسط Austin و McIntosh (۱۹۸۸) موکوس پوست قزل‌آلای رنگین‌کمان سالم بمیزان قابل توجهی خاصیت ممانعت از رشد برعلیه آئروموناس هایدرفیلا نشان داد، در حالیکه این فعالیت برعلیه مایکوباکتریوم فورچویتموم و نوکارڈیا بسیار کم بود. بعلاوه چنین فعالیتی برعلیه گونه‌هایی از سائتوفاگا، فلاوباکتریوم، میکروکوکوس روزئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس نیز قابل مشاهده بود. بعلت حفظ چنین فعالیتی در حضور pH قلیایی یا اسیدی و درجه حرارت بالا، خاصیت ضدباکتریایی موکوس را می‌توان ناشی از وجود ترکیبات گلی‌کوپروتئینی فعال در موکوس دانست.

مطالعه Fouz و همکاران (۱۹۹۰) نشان داد که موکوس پوست توربوت (*Scophthalmus maximus*) سالم خاصیت ضدباکتریایی برعلیه طیف وسیعی از باکتریهای گرم منفی و مثبت از خود نشان داد (جدول ۱). با توجه به حساسیت بالای استافیلوکوکوس آئوس (گونه مقاوم به لیزوزیم) به سوسپانسیون موکوس و عدم فعالیت موکوس حرارت دیده (در ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه) می‌توان نتیجه‌گیری کرد که باید نوعی ترکیبات گلی‌کوپروتئینی در این فعالیت ضدباکتریایی موکوس ماهیان نقش داشته باشند.

محققین تلاش نموده‌اند تا طی مطالعاتی ویژگیهای ضدباکتریایی موکوس پوست تعدادی از گونه‌های ماهیان مانند قزل‌آلا، ماهی آزاد، ماهی حوض، گیش دم زرد، سیم دریایی و ماهی خاردار دریایی را نشان دهند، اما اکثر مطالعات آنها فاقد سوابق دقیق در ارتباط با درجه حدت باکتریایی است که در شرایط آزمایشگاهی استفاده نموده‌اند. اکثر باکتریهایی که در این مطالعات استفاده شده‌اند عبارتند از گونه‌هایی از آئروموناس، فلکسی‌باکتر/سائتوفاگا، ویریبو، فلاوباکتریوم، سودوموناس، یرسینیا و پاستورلا. نتایج حاصله نشان می‌دهد با اینکه در کیفیت موکوس استفاده شده اختلافاتی وجود داشته است اما بطور کلی فعالیت ضدباکتریایی موکوس در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) نسبت عکس با درجه حدت باکتری مربوطه در شرایط (*in vivo*) داشته است. از نقطه نظر عملی پرورش ماهی دو نکته را می‌توان در این ارتباط مورد تأکید قرار داد: (۱) توصیه در نگهداری و حفظ موکوس سطوح خارجی از طریق دقت در مدیریت و تغذیه خوب، (۲) اقدام به پرورش گونه‌هایی که موکوس پوست آنها بطور طبیعی واجد فعالیت ضدباکتریایی بیشتری هستند.

واژه‌های کلیدی: موکوس، باکتری، ماهی، پوست

علیرغم نقش مهم و حیاتی پوست ماهیان و موکوس روی آن که مانع نفوذ باکتریهای موجود در آب می‌باشد، مطالعات اندکی در مورد خواص ضدباکتریایی موکوس پوست ماهیان صورت گرفته است. حتی در همین مطالعات انجام شده، تعداد کمی از آنها تلاش نموده‌اند در مورد یک نژاد باکتری خاص نتایج مطالعات *in vitro* را با مطالعات *in vivo* ارتباط داده و مقایسه نمایند. مقاله حاضر نتیجه مطالعات انجام شده پیرامون فعالیتهای ضدباکتری موکوس پوست ماهیان را ارائه می‌نماید.

بررسی سوابق

علاوه بر نقش محافظتی بسیار مهم موکوس پوست ماهیان که بعلت ترشح و جایگزینی مداوم مانع از تثبیت انگلها، باکتریها و قارچها بر روی سطوح خارجی بدن جانور می‌شود، موکوس پوست ماهیان حاوی چندین ترکیب ترشخی از جمله آگلوتینها، لیزینها، لیزوزیمها، پرسپیپتینهای غیراختصاصی، پروتئین فاز حاد (C-reactive protein) و آنتی‌بادیهای طبیعی (Natural antibodies) است که نقش دفاعی شیمیایی برعلیه باکتریها را دارند. نتایج مطالعاتی که نقش ضد میکروبی موکوس پوست ماهیان را ارزیابی نموده در جدول ۱ خلاصه شده است. Harrell و همکارانش (۱۹۷۶) نشان دادند که فعالیتهای ضدباکتریایی موکوس پوست قزل‌آلای رنگین‌کمان ایمن و غیرایمن حاوی چهار مکانیسم مهم است:

۱. عامل مکمل (Complement) در موکوس وجود دارد و ممکن است که حداقل در شرایط *in vitro* فعالیت ضد میکروبی داشته باشد.
۲. در ترشحات موکوس ماهیان ایمن و غیرایمن ترکیبات پایدار و حساس به حرارت وجود دارد که قدرت ممانعت از رشد یا توانایی کشتن ویریبولجینوئیلاروم را در شرایط *in vitro* دارد.
۳. مخلوط موکوس ماهی غیرایمن یا سرم ماهی غیرایمن (بعنوان منبع کمپلمانت) قادر به ممانعت از رشد باکتریها است.
۴. موکوس غیرفعال (حرارت دیده) قادر به ممانعت از رشد

۱) گروه آموزشی بهداشت و بیماریهای آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.



جدول ۱ - فعالیت ضدباکتریایی موکوس پوست تعدادی از گونه‌های ماهیان

Pathogen	Fish species																		
	AS		RT		GO		BA		SB		GF		TU		CI		YT		
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	
<i>Aeromonas salmonicida</i>			+	NT									+	NT					
<i>Aeromonas hydrophila</i>			+	NT									+	NT	-	NT			
<i>Bacillus</i> sp													+	NT					
<i>Cytophaga johnsonae</i>			+	-	+	-	±	±											
<i>Cytophaga psychrophila</i>			±	-	+	-													
<i>Cytophaga-like bacterium</i>			+	NT									+	+					
<i>Flexibacter columnaris</i>					±	+	±	+											
<i>Flexibacter maritimus</i>	-	+			+	-			-	NT	-	NT	±	±	-	+			
<i>Flavobacterium</i> sp.			+	NT									+	NT	-	NT			
<i>Lactobacillus piscicola</i>													+	NT					
<i>Moraxella</i> sp.													+	NT					
<i>Pasteurella piscicida</i>									-	+	-	+	+	+				+	NT
<i>pseudomonas fluorescens</i>			+	NT									+	NT					
<i>Serratia marcescens</i>			+	NT															
<i>Vibrio anguillarum</i>													+	+					
<i>vibrio splendidus</i>													-	NT					
<i>Vibrio damsela</i>													±	NT					
<i>Vibrio tubiashii</i>													+	NT					
<i>Vibrio pelagius</i>													+	NT					
<i>Yersinia ruckeri</i>													+	NT	-	NT			

a - اثر فعالیت ممانعت‌کنندگی موکوس: -- صفر تا میزان اندک، ± متوسط + قابل توجه NT - آزمایش نشده

AS - ماهی آزاد اطلس (Atlantic salmon)

b - حساسیت ماهی در شرایط *in vivo* با استفاده از گونه باکتری یا کتری آزمایش شده در شرایط *in vitro*

RT - قزل‌آلای رنگین‌کمان (Rainbow trout)

-- مقاومت نسبی، ± - حساسیت نسبی، + - خیلی حساس، NT - آزمایش نشده

BA - ماهی خاردار دریایی (Barramundi)

Go - ماهی حوض (Gold fish)

SB - ماهی سیم دریایی (Seabream)

SB - ماهی خاردار دریایی (گونه اروپایی) (Sea bass)

TU - توربوت (Turbot)

GF - نوعی ماهی پهن دریایی (Green back flounder)

YT - ماهی گیش دم زرد (Yellow Tail)

CI - Cichlid

فعالیت‌های باکتری‌سیدال و باکتریوستاتیک بر علیه گونه‌های آئروموناس هایدروفیلا، سالمونیسیدا و سراتیامارسه‌سنس را افزایش داد. این مطالعه نشان می‌دهد که فاکتورهای غیراختصاصی موکوس بدنال و اکسیناسیون افزایش می‌یابد (Rowley & Rainger 1993) بهر حال در مطالعه مذکور تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین فعالیت ضدباکتریایی موکوسی ماهیان واکسینه و غیرواکسینه بر علیه آئروموناس هایدروفیلا مشاهده نشد.

اخیراً طی مطالعه‌ای توسط Magarinos و همکاران (۱۹۹۵) هیچگونه فعالیت ضدباکتریایی برای موکوس پوست ماهی توربوت، سیم دریایی و باس دریایی سالم بر علیه فلکسی‌باکترمریتیموس مشاهده نشد اما این فعالیت بر علیه پاستورلا پیسیسیدا قابل ملاحظه بود. حاصل این مطالعه نشان می‌دهد که بایستی ترکیبات مقاوم به حرارت در ترشحات موکوس حرارت دیده (در ۱۰۰ درجه سانتیگراد) و درمان شده با pH ۴/۵ خاصیت ضدباکتریایی خود را از دست داده باشد. همچنین مطالعات انجام شده توسط Soltani (۱۹۹۵) نشان می‌دهد که:

در این مطالعه گروهی از ماهیان توربوت که موکوس پوست آنها جمع‌آوری شده بود همراه با گروه کنترل (بدون جمع‌آوری موکوس پوست) پرورش حمام در معرض ویبریونگوتیلاروم قرار داده شده و ماهیان گروه کنترل از مقاومت بیشتری برخوردار بودند و این مطلب نشان می‌دهد که موکوس پوست این ماهی نقش محافظتی خوبی بر علیه ویبریونگوتیلاروم دارد.

AL-Harbi و Austin (۱۹۹۲) نشان دادند که موکوس پوست و دستگاه گوارش توربوت ایمن و غیرایمن برای گونه‌ای از سایتوفاگا خاصیت ممانعت‌کنندگی دارد و این فعالیت برای موکوس دستگاه گوارش ماهیان ایمن (تزریق شده با لیپوپلی ساکارید باکتری) بمراتب بیشتر از ماهیان غیرایمن بود. این نوع فعالیت ضدباکتریایی را می‌توان به مکمل نسبت داد. این فعالیت با حرارت دادن موکوس (در ۵۶ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه) قابل مشاهده نبود.

موکوس پوست قزل‌آلای رنگین کمان واکسینه شده بر علیه آئروموناس سالمونیسیدا در مقایسه با گروه کنترل (تزریق شده با سرم فیزیولوژی)



- fish - pathogenic *Cytophaga-like* bacterium (CLB). Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 12: 80-82, (1992).
- Austin, B. and McIntosh, D. Natural antibacterial compounds on the surface of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Dis., 11: 275-277, (1988).
 - Fooz, B., Devesa, S., Gravningen, K., Barja, J.L. and Toranzo, A.E. Antibacterial action of the mucus of turbot Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 10: 56-59, (1990).
 - Harrell, L.W., Etlinger, H.M. and Hodgins, H.O. Humoral factors important in resistance of salmonid fish to bacterial disease. II. *Anti-Vibrio anguillarum* activity in mucus and observation on complement. Aquaculture, 7: 363-370, (1976).
 - Hjelmeland, K., Christie, M. and Raa, J. Skin mucus protease from rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) and its biological significance. J. Fish Biol., 23: 13-23, (1983)
 - Ingram, G.A. Substances involved in the natural resistance of fish to infection-A Review. J. Fish Biol., 16: 23-60, (1980).
 - Itami, T., Takahashi, Y., Okamoto, T. and Kubono, K. Purification and characterization of immunoglobulin in skin mucus and serum of ayu. Nippon Suisan Gakkaishi. (Jap. Soc. Sci. Fish.), 54: 1611-1617, (1988).
 - Kamia, H. and Shimizu, Y. Marine biopolymers with cell specificity II. Purification and characterization of agglutinins from mucus of windowpane flounder, *Lophopsetta maculata*. Biophys. Acta, 622: 171-178, (1980).
 - Magarinos, B., Pazos, F., Santos, Y., Romalde, J.L. and Toranzo, A.E. Response of *Pasteurella piscicida* and *Flexibacter mantimus* to skin mucus of marine fish. Dis. Aquat. Org., 21: 103-108, (1995).
 - Rainger, G.E. and Rowley, A.F. Antibacterial activity in the serum and mucus of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, following immunisation with *Aeromonas salmonicida*. Fish Shellfish Immunol., 3: 475-482, (1993).
 - Smith, A. and Ramos, F. Occult haemoglobin in fish skin mucus as an indicator of early stress. J. Fish Biol., 9: 537-541, (1976).
 - Soltani, M., Munday, B. and Carson, J. Susceptibility of some freshwater species of fish to infection by *Cytophaga johnsonae*. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 14: 133-135, (1994).
 - Soltani, M. Comparison of some physiological parameters of four species of *Cytophaga/Flexibacter-like* bacteria (CFLB) and the pathogenesis and chemotherapy of diseases caused by some of these pathogens. Ph.D Thesis, Univ. Tasmania, Australia, (1995).
 - Subasinghe, R.P. and Sommerville, C. No antibacterial properties found in buccal and skin mucus of the mouth-brooding cichlid (*Oreochromis mossambicus*). Asian Fis. Sci., 2: 109-113, (1988).
 - Takahashi, Y., Kajiwaki, T., Itami, T. and Okamoto, T. Enzymatic properties of the bacteriolytic substances in the skin mucus of yellowtail. Nippon Suisan Gakkaishi. Jap. Soc. Sci. Fish, 53: 425-431, (1987)

- ترشحات موکوسی ماهی حوض (*Carassius auratus*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان دارای خاصیت ممانعت‌کنندگی بر علیه سایتوفاگا جونسونای می‌باشد در حالیکه این فعالیت برای موکوس ماهی خاردار دریایی (*Lates calcarifer*) بسیار اندک می‌باشد.
- موکوس پوست قزل‌آلای رنگین‌کمان، ماهی حوض و ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) دارای خاصیت ضدباکتریایی بر علیه سایتوفاگا سایکروفیلا می‌باشد.
- موکوس ماهی خاردار دریایی و ماهی حوض برای فلکسی باکتر کولومناریس دارای خاصیت ممانعت‌کنندگی از رشد می‌باشد.
- موکوس پوست ماهی حوض برای فلکسی باکتر مریتیموس اثر ضد رشد داشته در حالیکه این خاصیت برای موکوس نوعی ماهی پهن‌دانه (*Rhombosolea tapirina*) اندک و برای ماهی آزاد اطلس صفر می‌باشد. در این مطالعه هیچگونه فعالیت ضد میکروبی برای نمونه‌های موکوسی درمان شده با سولفات آمونیوم (۵۰٪) مشاهده نشد که احتمالاً ناشی از اثر سوء سولفات آمونیوم روی ساختمانهای طبیعی پروتئینهای موکوسی است.

نتیجه‌گیری

بطور کلی سوابق موجود نشان می‌دهد که در کیفیت و کمیت ترکیبات موکوس گونه‌های مختلف ماهی اختلافاتی وجود دارد و این نوع اختلافات علاوه بر تأثیر فاکتورهای ژنتیکی مربوط به گونه ماهی، می‌تواند ناشی از سن، تاثیر تغذیه (مانند مقادیر دریافت ویتامینهای C و E در جیره) فاکتورهای محیطی مانند درجه حرارت و وجود یا عدم وجود فاکتورهای استرس‌زا در قبل یا در زمان نمونه‌برداری موکوس باشد.

با توجه به اینکه اطلاعات اندکی در ارتباط با حدت گونه‌های باکتریایی استفاده شده در این مطالعات ارائه شده است، بنابراین مقایسه نتایج *in vivo* با مطالعات *in vitro* مشکل می‌باشد. با اینحال براساس مقایسه بعمل آمده (جدول ۱) ماهیان با موکوس دارای فعالیت ضد میکروبی (شرایط *in vitro*) از درجه مقاومت بیشتری به عوامل بیماری‌زای مربوطه (شرایط *in vivo*) برخوردار بوده‌اند. این نتیجه‌گیری بویژه در مطالعات Soltani (۱۹۹۵) قابل توجه بوده است. برای مثال ماهی خاردار در مقایسه با ماهی حوض و قزل‌آلای حساسیت به سایتوفاگا جونسونای و فلکسی باکتر کولومناریس برخوردار بودند و ماهی آزاد اطلس در مقایسه با ماهی فلاندر به فلکسی باکتر مریتیموس حساستر بود. اینگونه مطالعات نشان می‌دهد که ترشحات موکوسی پوست ماهیان واجد خاصیت ضدباکتریایی است و لذا از نقطه نظر عملی پرورش ماهی رعایت دو نکته:

- تلاش در نگهداری و حفظ لایه‌های موکوس سطوح خارجی از طریق اعمال مدیریت خوب (مانند خودداری از دستکاریهای غیر ضروری، حفظ تراکم مناسب ذخایر ماهی و کیفیت مناسب آب) و ارائه تغذیه مناسب (مانند استفاده کافی از ویتامینها و اسیدهای آمینه ضروری)
- اقدام به پرورش گونه‌هایی که از نظر ژنتیکی مقاومت بیشتری دارند، می‌تواند موجب حفظ و افزایش مقاومت ماهی به عفونت‌های میکروبی شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از سرکار خانم زهرا زمانی بخاطر تایپ مقاله تشکر و قدردانی می‌نماید.

References

- Alexander, J.B. and Ingram, G.A. Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish. Ann. Rev. Fish Dis., 2: 249-276, (1992).
- Al-Harbi, A.H. and Austin, B. Influence of skin and gut mucus from turbot (*Scophthalmus maximus* L.) on the survival of a



Review of the literature relating to the antibacterial properties of piscine skin mucus

Soltani M.

Department of Aquatic of Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.

A number of studies have attempted to demonstrate the antibacterial properties of skin mucus from different species of fish such as turbot, Atlantic salmon, rainbow trout, gold fish, seabass, seabream, flounder, barramundi, cichlid and yellowtail. However, most have suffered from a lack of definitive data concerning the virulence of the organisms used for *in vitro* assessment of antibacterial properties of skin mucus. Most of pathogens which have been investigated are isolates of *Aeromonas* spp.,

Cytophaga/Flexibacter-like bacteria, *Vibrio* spp., *Flavobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Yersinia* sp. and *Pasteurella* sp. The data show that there is a variation in the quality of the mucus from the fish species investigated.

In general, the antibacterial activity of mucus, when tested *in vitro*, was inversely related to the *in vivo* pathogenicity of the same isolate of the pathogen. Growth inhibition of bacteria by fish mucus emphasises two criteria for practical aquaculture, firstly, emphasis should be on the maintenance of a good layer of external mucus surfaces by careful management and good nutrition and secondly, selection of fish species which inherently possess strong inhibitory activities against pathogens in their mucus may be a useful strategy.

Key words : Mucus, Bacterium, Fish, Skin

