

# ***Aeromonas sobria* infection in farmed mud loach (*Misgurnus mizolepis*) in Korea, a bacteriological survey**

**Yu, J.<sup>1</sup>; Koo, B. H.<sup>2</sup>; Kim, D. H.<sup>3</sup>; Kim, D. W.<sup>4</sup>  
and Park, S. W.<sup>3\*</sup>**

<sup>1</sup>Quarantine and Inspection Division, National Fishery Products Quality Management Service, Yeongdo-gu, Busan, Republic of Korea; <sup>2</sup>MSc, Department of Aquatic Life Medicine, Kunsan National University, Gunsan-si, Jeollabuk-do, Republic of Korea; <sup>3</sup>Department of Aquatic Life Medicine, Kunsan National University, Gunsan-si, Jeollabuk-do, Republic of Korea; <sup>4</sup>Dong Gyeong Microorganism, Iksan-si, Jeollabuk-do, Republic of Korea

\*Correspondence: S. W. Park, Department of Aquatic Life Medicine, Kunsan National University, Gunsan-si, Jeollabuk-do, Republic of Korea. E-mail: psw@kunsan.ac.kr

(Received 24 Dec 2014; revised version 7 Mar 2015; accepted 14 Mar 2015)

## **Summary**

A disease outbreak occurred in June 2012 among mud loach cultured on pond farms in Jangseong-gun, Jeollanam-do, Korea. Mortality rates reached up to 1.2% in the farm per day. Typical clinical signs were bleeding ulcer at the middle portion of head and haemorrhagic erosion of the operculum. Based on biochemical characteristics, the causative bacterium isolated from diseased fish was identified as *Aeromonas sobria*. The isolate expressed two haemolytic genes, aerolysin (*sob*) and haemolysin (*asl*) genes. Histopathologically, liver showed hepatocellular vacuolar degeneration and congestion in sinusoids. The spleen exhibited necrotized splenocytes and haemorrhagic pulps. In the kidney, glomerular destruction, renal tubular necrosis and haemorrhage were observed. Experimental infection (infectious dose of  $10^6$ ,  $10^7$ , and  $10^8$  cfu fish $^{-1}$ ) of healthy mud loach with the isolate resulted in the development of clinical signs similar to those seen in the farm. By injection with an infectious dose of  $10^6$  cfu fish $^{-1}$ , the mortality rate was 10.3% within 7 days post infection. A mortality rate of 60.9% was reached within 2 days when an infectious dose of  $10^7$  cfu fish $^{-1}$  was used. Otherwise, all fish died within 1 day when injected with  $10^8$  cfu fish $^{-1}$ . The results demonstrated that *A. sobria* is involved in the morbidity and mortality of the farmed mud loach.

**Key words:** *Aeromonas sobria*, Haemolysin, *Misgurnus mizolepis*, Mud loach

## **Introduction**

*Aeromonas* species are ubiquitous gram-negative, motile, rod-shaped bacteria which can be commonly isolated from fresh water ponds and are also normal inhabitant of the gastrointestinal tract of fish (Fraire, 1978; Inglis *et al.*, 1993; Sersy *et al.*, 1996; Yu *et al.*, 2010; Modarres Mousavi Behbahani *et al.*, 2014). Infected fish show skin ulcers, tail rot, fin erosion, hemodiapedesis and hemorrhagic septicemia. The organisms often invade skin wounds, commonly with the water molds, or ectoparasites (Noga, 1986; Noga, 2010). In particular, *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *A. salmonicida*, *A. jandaei*, *A. bestiarum* and *A. veronii* form the most predominant clinical isolates that are typically associated with diseased fishes (Toranzo *et al.*, 1989; Esteve *et al.*, 1993; Kozińska *et al.* 2002; Wahli *et al.*, 2005; Austin and Austin, 2007; Noga, 2010; Yu *et al.*, 2010; Yi *et al.*, 2012). Several researchers suggested that infections caused by *Aeromonas* spp. are closely associated with overcrowding under intensive cultures, water temperature change, abrasive handling, hypoxia, organic pollution and rough weather condition (Inglis *et al.*, 1993; Eisa *et al.*, 1994; Cipriano, 2001; Noga, 2010; Yu *et al.*, 2010; Majtán *et al.*, 2012). *Aeromonas sobria* has been recovered from the blood, faeces and wounds in humans (Daily *et al.*, 1981; Filler

*et al.*, 2000; Igbinosa *et al.*, 2012). The organisms have also been isolated from wild-spawning gizzard shad, *Dorosoma cepedianum*, farmed perch, *Perca fluviatilis* and mud loach, *Misgurnus mizolepis* (Toranzo *et al.*, 1989; Wahli *et al.*, 2005; Yu and Park, 2008). Moribund gizzard shad did not display any clinical signs of disease whereas perch and mud loach showed skin lesions and fin rot. The loaches, *Misgurnus* spp. are widely distributed throughout the streams, ditches, reservoirs and rice paddy fields in Korea, China and Japan (Kim, 1993; Kim *et al.*, 1995, Ahn *et al.*, 2010). Bacterial pathogens such as *Flavobacterium columnare* (*Flexibacter columnaris*), *Staphylococcus epidermidis*, *A. hydrophila*, *A. sobria* have been described in cultured loaches (Chowdhury and Wakabayashi, 1991; Park *et al.*, 2002; Yu and Park, 2008; Jun *et al.*, 2010). Loach is usually cultured in ponds which suffer from difficulties in controlling water quality and stocking densities. Thus, such conditions can easily stress the fish making them more susceptible to various bacterial infections.

The aim of the present study was to identify the causative agent of mud loach losses in a pond farm and estimate the pathogenic capacity of this agent in terms of Koch's postulates. In addition, pathological lesions in the affected fish and biochemical and genetic properties of the isolated bacterium were described.

## Materials and Methods

### Fish and microbiology

A disease outbreak occurred in June 2012 in a mud loach farm located in Jangseong-gun, Jeollanam-do, Korea. When the disease outbreak occurred, water temperature in the farm ranged from 23°C to 25°C. Fish (mean length  $11.5 \pm 1.5$  cm; mean weight  $8.6 \pm 1.1$  g) were reared at a density of 15 kg. Mortality rate per day was estimated to be 1.2% of the total fish in the farm. Salt bathing and oxytetracycline administration were adopted for 7 days to prevent the mortality but the treatments were not effective. Skin and gill samples from 20 anesthetized fish with 2-propoxyethanol ( $40\text{ mg L}^{-1}$ ) were examined for the presence of parasites under a light microscope (CH2, Olympus, Tokyo, Japan). Gross necropsy was performed and imprints of the spleen and kidney were taken and Gram stained. For bacteriological analysis, kidney, spleen and brain were aseptically streaked on tryptic soy agar (TSA) (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, US). After incubation at 25°C for 48 h, dominant colonies on TSA agar plates were re-streaked onto TSA to obtain pure isolates. The isolate was identified using API 20E and 50CHE system (BioMérieux, Durham, NC, US) following 48 h incubation at 25°C. Interpretation of the API results was carried out in accordance with the manufacturer's manual. The isolate was streaked onto sheep blood agar plates and then incubated at 10°C and 30°C for hemolytic activity. Antibiotic susceptibility was determined by Kirby-Bauer disk diffusion method (Bauer *et al.*, 1966) on Müller-Hinton agar (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, US). Chemotherapeutic discs (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, US) and their concentrations ( $\mu\text{g disc}^{-1}$ ) used in the test were: ampicillin (10), doxycycline (30), erythromycin (15), gentamycin (10), kanamycin (30), nalidixic acid (30), and tetracycline (30). After 48 h of incubation at 25°C, diameters of the inhibition zone were measured. Two ATCC collections, *Aeromonas sobria* (ATCC43979) and *A. hydrophila* (ATCC700183), and one isolate *A. sobria* (DJ-1) from kidney in dead pond loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) were used as controls.

### Histopathology

Nine moribund mud loaches were sacrificed for histopathology. The fish were anaesthetized with 2-phenoxyethanol and gills, operculum, liver, spleen, kidney and head lesions were removed and fixed in 10% neutral buffered formalin for 24 h. The tissues were dehydrated in an ethanol series and embedded in paraffin. Sections of 5  $\mu\text{m}$  thickness were stained with Mayer's haematoxylin and eosin (H&E).

### Survival ability of the isolate in the fish serum

Survival ability of the isolate in serum was measured with some modifications from Leung *et al.* (1994) and Won and Park (2008). Briefly, blood was sampled from the caudal vein in nine healthy mud loach using a 1 ml disposable syringe and centrifuged with 5,000 rpm for 5

min. The supernatant was used as the serum sample. The isolate suspension was mixed with the same volume of fish serum in 96 well plates (flat bottom). After incubation for 0, 1, 3, 6 and 12 h at 25°C, the absorbance at 600 nm was measured. *Aeromonas sobria* (ATCC43979), *A. hydrophila* (ATCC700183), *A. veronii* (ATCC35623) and DJ-1 were used as controls.

### PCR detection of hemolytic genes

Genomic DNA of the isolate was extracted using a commercial genomic DNA extraction kit (Bioneer, Daejeon, Korea). As specific primers of *Aeromonas sobria* aerolysin genes (288 bp), sobf (5'-GCG ACC AAC TAC ACC GAC CTG-3') and sobb (5'-GGA CTT GAT GAG GGC AAC CCG-3') designed by Filler *et al.* (2000) were used. The PCR conditions were as follows: initial denaturation 94°C for 5 min, 20 cycles of denaturation at 94°C/1 min, annealing at 57°C/1 min, extension at 72°C/1 min followed by final extension at 72°C/5 min. For amplification of the hemolysine gene (*asa1*) fragment (294 bp), forward primer 5'-TAA AGG GAA ATA ATG ACG GCG-3' and the reverse primer 5'-GGC TGT AGG TAT CGG TTT TCG-3' was used (Das *et al.*, 2013). Polymerase chain reaction products were analyzed by gel electrophoresis in 1.5% (w/v) agarose gel and viewed, after ethidium bromide staining, under UV light. ATCC43979, ATCC700183 and DJ-1 served as controls.

### Haemolysin assay

Haemolysin assay was carried out by the method of Wahli *et al.* (2005). Mud loach blood was washed with sterile phosphate-buffered saline (PBS), pH = 7.4 until the supernatant became clear. Four hundred microliters of packed erythrocytes were then diluted in 50 ml of PBS to obtain a 0.8% suspension of erythrocytes. The isolate ( $1 \times 10^9 \text{ cfu ml}^{-1}$ ) was incubated at 25°C for 24 h in tryptic soy broth with gentle agitation. The culture supernatant was collected by centrifugation and filtered using 0.2  $\mu\text{m}$  pore-size membranes. Two-fold serial dilutions of the filtrate were made with PBS. One hundred  $\mu\text{L}$  of diluted filtrate were combined with 100  $\mu\text{L}$  of a 0.8% suspension of the mud loach erythrocytes in 96 well plates (flat bottom). The plates were incubated at 25°C for 3 h (without shaking) and visually examined for haemolysis. For positive controls, PBS containing 0.1% sodium dodecyl sulphate was used. Haemolytic activity was expressed as the highest dilution of filtrate producing complete haemolysis. The test was performed in triplicate.

### Experimental challenge

Mud loach (mean length  $12.3 \pm 1.2$ , mean weight  $9.4 \pm 0.7$  g) that had been grown with ground water were obtained from a commercial mud loach farm. Fish had no history of unusual mortalities or abnormalities before transport to the lab. To adapt to lab conditions, fish were maintained in a 1 ton tank supplied with aerated dechlorinated tap water (dissolved oxygen  $6.3\text{--}6.5 \text{ mg L}^{-1}$ ; nitrite  $0.3\text{--}0.4$ ; pH  $6.5\text{--}6.9$ ) for 30 days. The water

temperature was maintained at 25°C. During the acclimation, these fish were fed once a day with commercial mud loach feed (Woosung Aquafeed, Korea). Fish were starved for 24 h prior to the commencement of acclimation in order to standardize the dietary status of the fish. The bacterial isolate were grown for 48 h on TSA at 25°C and cell suspensions were then prepared in PBS (pH 7.4). In order to determine the effective bacterial dose for experimental infection, groups of 20 mud loach each were injected intraperitoneally (i.p.) with 100 µL of PBS containing  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  and  $1 \times 10^8$  colony forming units (cfu) of the isolate. A control fish group was injected with 100 µL of PBS. Water temperature, pH and dissolved oxygen during the infection test were 24~25°C, 6.7~6.9 and 6.1~6.6 mg L<sup>-1</sup>. The course of mortality was recorded daily for 7 days after infection. Fish were not fed throughout the experimental period. Macroscopic alterations in the fish were recorded and dead fish were analyzed for presence of infecting pathogen.

## Results

### Naturally infected mud loach: clinical signs and bacterial isolation

Affected fish mainly showed petechiae at the lateral portion of body, hyperemia at the base of fins, bleeding

ulcer at the middle portion of head and haemorrhagic erosion of operculum (Fig. 1). Grey ulcers were also observed in some individuals. Mucus samples from the skin and gill did not reveal the presence of any parasites. On the fourth day after the fish arrival on the farm, clinical signs began to appear. Internal necropsy showed pale coloration of liver and enlarged haemorrhagic kidney and spleen in the moribund fish. Gram stained imprints of the kidney and spleen exhibited numerous small gram-negative bacteria except for brain. Bacterial isolation was not successful in the brain but the isolates were obtained from the kidney and spleen of all diseased fish. The presence of these bacteria was confirmed by the appearance of round punctate and pale yellow colonies on TSA after 48 h incubation at 25°C. The isolate was gram-negative, small-sized straight rods and motile. In the API test systems, the isolate produced β-galactosidase, arginine dihydrolase and lysine decarboxylase, but not H<sub>2</sub>S and ornithine decarboxylase (Table 1). It acidified glucose, mannitol and sucrose, but not inositol, sorbitol, rhamnose, arabinose and salicin. No ability in the isolate to degrade urea and esculin was observed. The isolate was identified as *Aeromonas sobria* (99.3%). The isolate caused β-haemolysis on sheep blood agar plates when incubated at 30°C but not at 10°C. Among all antibiotics, the isolate was susceptible to erythromycin, gentamicin, kanamycin and nalidixic acid.

**Table 1:** Comparison of biochemical characteristics among the present study (LBH) and the reference strains, *A. sobria* (DJ-1, ATCC 43979) and *A. hydrophila* (ATCC 700183)

Characteristics	Present isolate		<i>A. sobria</i>	<i>A. hydrophila</i>
	LBH	DJ-1	ATCC 43979	ATCC 700183
Gram stain	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+
Oxidase	+	+	+	+
Motility	+	+	+	+
Fermentation of glucose 0/129 (150 µg)	+	+	+	+
β-Galactosidase	+	+	+	+
Arginine dehydrolase	+	+	+	+
Lysine decarboxylase	+	+	+	+
Ornithine decarboxylase	-	-	-	-
Citrate utilization	+	+	+	+
H <sub>2</sub> S production	-	-	-	-
Urease production	-	-	-	-
Tryptophan deaminase	+	-	+	+
Indole production	+	+	+	+
Acetone production	+	+	+	+
Gelatinase	+	+	+	+
Glycerol	+	+	+	+
Erythritol	-	-	-	-
D-Arabinose	-	-	-	-
L-Arabinose	-	-	-	+
D-Ribose	+	+	+	+
D-Xylose	-	-	-	-
L-Xylose	-	-	-	-
D-Adonitol	-	-	-	-
Methyl-β-xyloside	-	-	-	-
D-Galactose	+	+	+	+
D-Glucose	+	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	+
L-Sorbose	-	-	-	-

L-Rhamnose	-	-	-	-	+
Dulcitol	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-
D-Mannitol	+	+	+	+	+
D-Sorbitol	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Methyl-D-mannoside	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Methyl-D-glucoside	-	-	+	+	+
N-Acetylglucosamine	-	-	-	-	+
Arbutin	-	-	-	-	+
Esculin ferric acid	-	-	-	-	+
Salicin	-	-	-	-	+
D-celllobiose	+	-	+	-	-
D-Maltose	+	+	+	+	+
D-Lactose	-	-	-	-	-
D-Melibiose	-	-	-	-	-
D-Saccharose	+	+	+	+	+
D-Trehalose	+	+	+	+	+
Inulin	-	-	-	-	-
D-Melezitose	-	-	-	-	-
D-Raffinose	-	-	-	-	-
Amidon	+	+	+	+	+
Glycogen	+	+	+	+	+
Xylitol	-	-	-	-	-
Gentibiose	+	-	-	-	-
D-Turanose	-	-	-	-	-
D-Lyxose	-	-	-	-	-
D-Tagatose	-	-	-	-	-
D-Fucose	-	-	-	-	-
L-Fucose	-	-	-	-	-
D-Arabinol	-	-	-	-	-
L-Arabinol	-	-	-	-	-
Potassium gluconate	+	+	+	+	+
Potassium 2-ketogluconate	-	-	-	-	-
Potassium 5-ketogluconate	-	-	-	-	-
Sheep blood agar at 10°C	-	-	-	-	+
Sheep blood agar at 30°C	+	+	+	+	+
<b>Susceptibility to</b>					
Ampicillin (10 µg)	R	R	S	R	R
Doxycycline (30 µg)	R	S	S	S	S
Erythromycin (15 µg)	S	S	S	I	S
Gentamycin (10 µg)	S	S	S	S	S
Kanamycin (30 µg)	S	S	S	S	S
Nalidixic acid (30 µg)	S	S	S	S	S
Tetracycline (30 µg)	R	S	S	S	S

+ Positive, - Negative, R: Resistance, I: Intermediate, and S: Sensitive

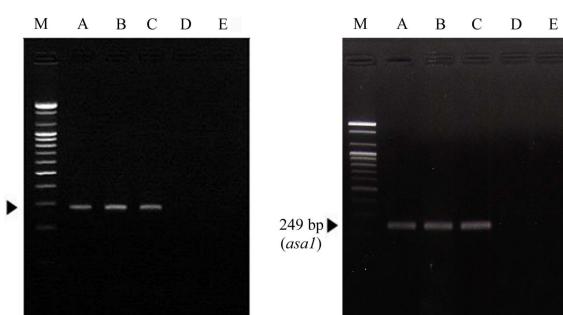


**Fig. 1:** Diseased mud loach displays bleeding ulcerations at the operculum (A) and middle of the head (B) and haemorrhages at the lateral portion of body and basal portion of fins (C)

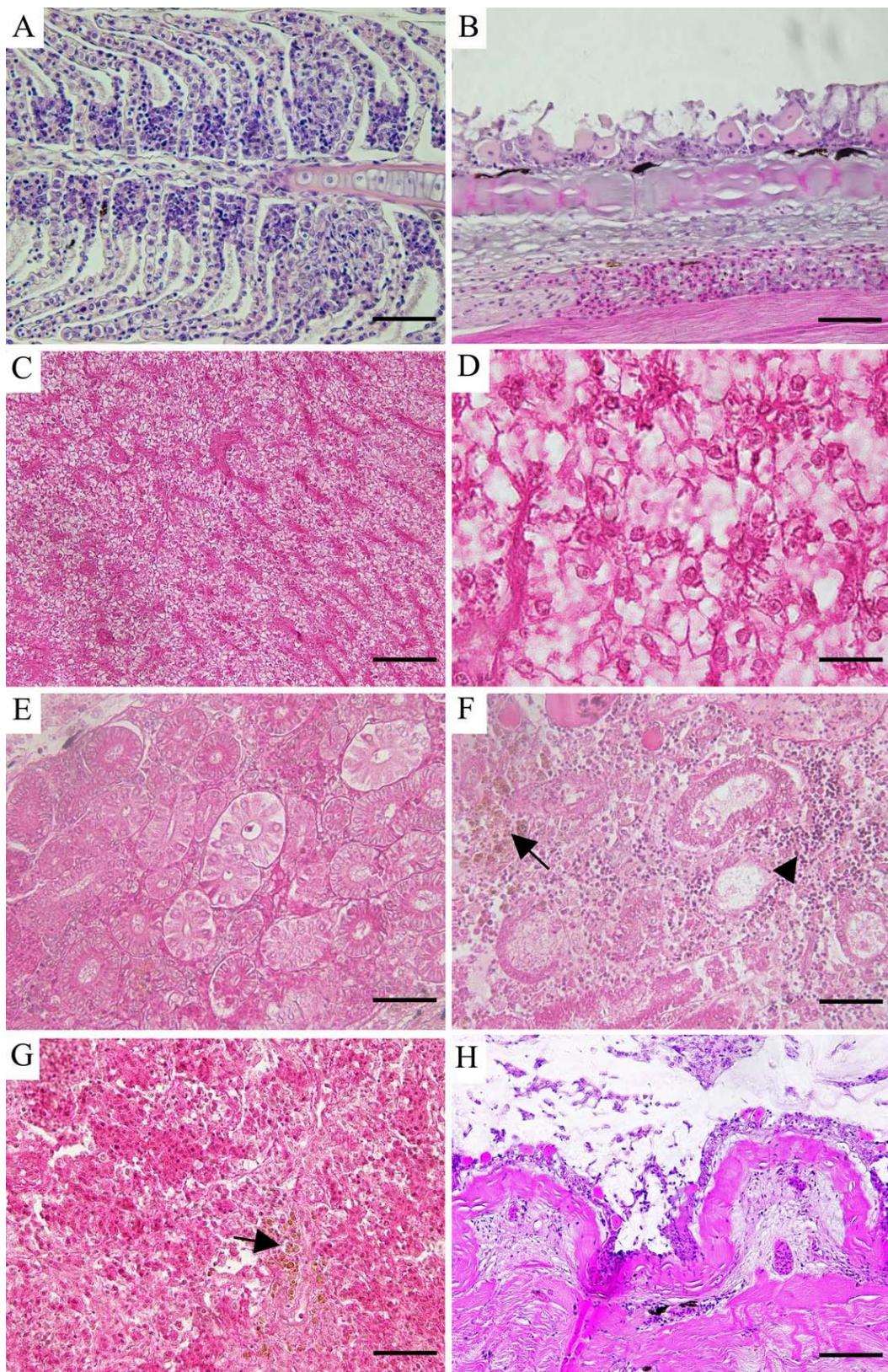
#### Haemolytic genes and haemolysin assay

The isolated strains, *A. sobria* (ATCC43979) and DJ-1 generated 288 bp and 294 bp fragments for aerolysin gene and haemolysin gene, respectively, whereas *A.*

*hydrophila* (ATCC700183) did not (Fig. 2). In the haemolysin assay, the isolate did not show any haemolytic activity to mud loach erythrocytes.



**Fig. 2:** Amplification of 288 bp and 249 bp by PCR for detection of *Aeromonas sobria* aerolysine (*sob*) and haemolysine (*asaI*) genes, respectively. Lane M: Marker, A: LBH (isolate), B: DJ-1 (*Aeromonas sobria*), C: ATCC43979 (*A. sobria*), D: ATCC700183 (*A. hydrophila*), and E: negative control (without template DNA)



**Fig. 3:** Histopathology of diseased mud loach, *Misgurnus mizolepis*. (A) Gill showing epithelial lifting and hyperplasia of epithelial cells at the basal portions. (B) Operculum showing damaged epithelial and club cells, and haemorrhage in the underlying dermal loose connective tissues. (C) Liver displaying hepatocellular vacuolar degeneration and congestion in sinusoids. (D) Hepatic cells presented karyorrhexis, karyolysis, karyopyknosis and hypochromatoses of the nuclear membrane. (E) Kidney showing renal parenchymal haemorrhages, tubular necrosis and peritubular haemorrhages. (F) Interstitial lymphocyte infiltration (arrow head) and haemosiderin granules (arrow) exhibiting in the parenchyma of the kidney. (G) Spleen showing haemorrhage, deposition of haemosiderin (arrow) and destruction of sheathed tissue. (H) Raised lesion on the head displaying epidermal exfoliation and haemorrhages and edema in the underlying dermal loose connective tissue, (scale bars, 100  $\mu$ m)

**Table 2:** Experimental infections of the isolate (LBH) from mud loach, *Misgurnus mizolepis*

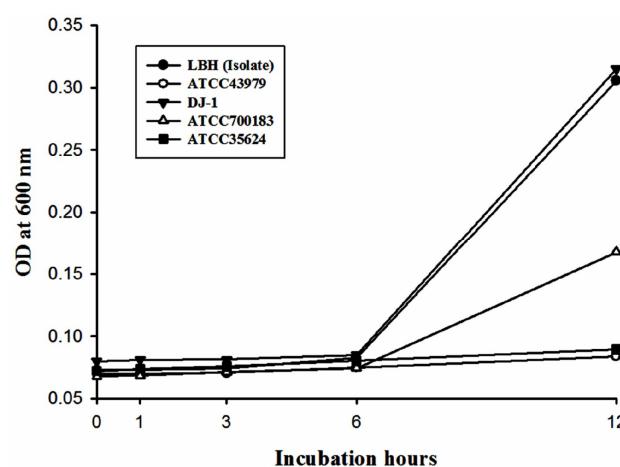
Control/infectious dose (cfu/fish)	Cumulative mortality (%)	Post-infection days
Group I ( $10^6$ )	10.3	7
Group II ( $10^7$ )	60.9	2
Group III ( $10^8$ )	100	1
Group IV(control)	0	0

### Histopathology

Histopathological lesions were observed in gill, operculum, liver, spleen and kidney of affected fish. The lesions observed in the gill consisted of epithelial lifting which is characterized by a desquamation of the outer layer of the lamellar epithelium (Fig. 3A). Hyperplasia was present with an increased number of epithelial cells at the basal portions. The interlamellar epithelium showed some nuclei exhibiting marginal hyperchromatosis. The operculum exhibited damaged epithelial and club cells and hemorrhage was revealed in the underlying loose dermal connective tissues (Fig. 3B). In the liver, there were hepatocellular vacuolar degeneration and congestion in sinusoids (Fig. 3C). Necrotic cells showed karyorrhexis, karyolysis, karyopyknosis and hypochromatosis of the nuclear membrane (Fig. 3D). Extensive haemorrhage was observed in the parenchyma and peritubular region (Fig. 3E). Necrotic renal tubular epithelial cells showed karyorrhexis, karyopyknosis and hypochromatosis of the nuclear membrane. The interstitial lymphocyte infiltration and haemosiderin granules were also evident (Fig. 3F). Pulps in the spleen were congested, accompanied by haemorrhages and the destruction of sheathed tissue (Fig. 3G). Deposition of haemosiderin was also observed. The swollen lesion on the head showed epidermal exfoliation and haemorrhages and edema in the underlying loose dermal connective tissue (Fig. 3H).

### Survival ability of the isolate in the fish serum

The survival ability in fish serum was stronger in the isolate and DJ-1 after incubation for 12 h than in ATCC43979, ATCC700183 and ATCC35623 (Fig. 4).



**Fig. 4:** Survival of isolate (LBH), *Aeromonas sobria* strains (ATCC43979, DJ-1), *A. hydrophila* (ATCC700183), *A. veronii* (ATCC35624) in sera of the mud loach, *Misgurnus mizolepis*

### Experimental challenge

All dead fish from intraperitoneal injection showed typical external and internal clinical signs comparable to those found in diseased fish in the farm. A causative bacterial isolate could be reisolated from liver, spleen and kidney of all challenged fish. In injection with an infectious dose of  $10^6$  cfu fish $^{-1}$  (group I), the mortality rate was 10.3% within 7 days post infection (Table 2). A mortality rate of 60.9% was reached within 2 days when an infectious dose of  $10^7$  cfu fish $^{-1}$  (group II) was used. Otherwise, all fish died within 1 day when injected with  $10^8$  cfu fish $^{-1}$  (group III). Control group did not show any abnormal clinical signs or mortality during the experiment. The LD<sub>50</sub> value was estimated to be  $2.1 \times 10^7$  cfu fish $^{-1}$ .

### Discussion

Motile *Aeromonas* spp. are well recognized as significant causes of disease and mortality in fish (Miyazaki and Jo, 1985; Toranzo *et al.*, 1989; Inglis *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 1993; Cipriano, 2001; Miyazaki *et al.*, 2001; Wahli *et al.*, 2005; Austin and Austin, 2007; Yu *et al.*, 2010).

The biochemical, morphological and physiological characteristics of the bacterial isolate from diseased mud loach was almost identical to the reference strain *A. sobria* (ATCC 43979) and DJ-1 which utilize glucose, mannitol and sucrose and haemolyse on blood plate agar at 30°C, but not salicin, esculin and arabinose. These findings are thus consistent with the features of *A. sobria* (Inglis *et al.*, 1993; Austin and Austin, 2007).

The two haemolytic toxins (aerolysin and haemolysin) have been described in *A. sobria* (Filler *et al.*, 2000; Das *et al.*, 2013). Filler *et al.* (2000) reported that *A. sobria* strains positive for cytotoxin production possessed aerolysine genes (*sob*). Das *et al.* (2013) suggested that haemolysin genes (*asa1*) seem to be predominant virulence factor of motile *A. sobria* associated with *Aeromonas* septicaemia. In this study, we found that the isolated bacteria expressed both *sob* and *asa1* genes, and exhibited haemolytic activity on blood agar plates. It appears that those genes in the isolate are responsible for the virulence factors for cell lysis (haemolysis), causing the fish septicemia. *Aeromonas sobria* contains a cell-bound  $\beta$ -toxin because it has  $\beta$ -haemolytic activity (Sersy *et al.*, 1996). Our isolate showed  $\beta$ -haemolytic activity on blood agar plate, so the isolate might have contained a cell-bound haemolysin ( $\beta$ -toxin). Arimi *et al.* (1990) postulated the existence of a cell-bound haemolytic factor that is released intracellularly. Haemolytic activity was not detected in the

bacterial supernatant of the isolate tested by the microplate assays. It is presumed that the isolate possess a cell-associated haemolysin.

Serum resistance has been suggested to be a good indicator for virulence in bacteria (Leung *et al.*, 1994; Won and Park, 2008). In the present study, the survivability in fish serum was tested and found to be related to the pathogenicity of the isolate. Similarly, *Flavobacterium psychrophilum* in trout serum and *Vibrio harveyi* in flounder serum showed higher survivability (Wiklund and Dalsgaard, 2002; Won and Park, 2008). From this result, we suggest that the ability of *A. sobria* to survive and grow in the mud loach serum plays a major role in septicemia by this organism.

Gross symptoms in fish infected with an *Aeromonas* spp. include dermal ulceration, fin rot, ocular ulceration and haemorrhagic septicemia (Cipriano, 2001; Miyazaki *et al.*, 2001; Wahli *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2010). Diseased mud loaches examined in the present study displayed focal haemorrhage and ulceration on skin (erythrodermatitis), and operculum erosion. Yu and Park (2008) reported that external signs of *A. sobria* infected mud loach were limited to haemorrhage of skin and fins. In this study, however, some affected fish exhibited haemorrhagic ulceration on the middle of head. It appears that *A. sobria* produces different symptoms in mud loach.

Internal examination revealed liver congestion and enlargement of spleen and kidney. The common gross lesions observed in the diseased fish were in accordance with the findings of earlier studies (Miyazaki and Jo, 1985; Austin and Austin, 1987; Inglis *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 1993; Miyazaki *et al.*, 2001; Wahli *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2010; Noor El Deen *et al.*, 2014).

In histological examination, the most prominent pathological changes were noted in the liver, spleen and kidney. In various fish species infected with *Aeromonas* spp., degeneration of the hepatic cells and haemorrhage and destruction of haematopoietic tissues are observed (Miyazaki and Jo, 1985; Lee and Kim, 1993; Miyazaki *et al.*, 2001; Yu *et al.*, 2010; Noor El Deen *et al.*, 2014). *A. hydrophila* infection is also known to cause haemorrhage and destruction of sheathed tissues in spleen, and renal tubular necrosis and haemorrhage in the kidney (Miyazaki and Jo, 1985; Miyazaki *et al.*, 2001; Noor El Deen *et al.*, 2014). Haemosiderosis is attributed to  $\beta$ -haemolysin secreted by the bacteria that cause haemolysis inside the fish body followed by deposition of haemosiderin (Miyazaki and Kaige, 1985; Noor El Deen *et al.*, 2014). In this study, we observed haemosiderin granules in the spleen and kidney. This finding suggests that the haemosiderosis is induced by haemolysis because the isolate has haemolytic activity. Clinical signs of the diseased mud loaches are similar to *A. hydrophila* infection in various fishes but we could not isolate the *A. hydrophila* from the lesions. Hence, the lesions of the liver, spleen and kidney were not considered to be the primary pathological changes caused by *A. hydrophila* invasion.

Injection of the isolated strain into healthy fish

resulted in high mortality with accompanying symptoms, comparable to those found in diseased fish on the farm. The API test verified that the reisolated bacterium from experimentally infected fish was the same one as used for infection, thereby satisfying Koch's postulates. Yu and Park (2008) reported that *A. sobria* shows weak pathogenicity to mud loach. Likewise, in this study, the concentration of  $1 \times 10^6$  cfu fish $^{-1}$  did not cause profound mortality, although the isolate displayed haemolytic activity on blood agar plate. From these results, we postulate that the isolate by itself has weak pathogenicity, and its pathogenic properties may be potentiated by environmental factors in fish farms. Several researchers suggested that the infections caused by *Aeromonas* spp. are closely related with overcrowding, rough handling, undesirable weather condition, poor nutritional status and non-bacterial pathogenic infections (Ventura and Grizzle, 1987; Eisa *et al.*, 1994; Aoki, 1999; Cipriano, 2001; Wahli *et al.*, 2005; Yu and Park, 2008; Yu *et al.*, 2010; Majtán *et al.*, 2012). Additionally, fish which are under poor environmental conditions such as high nitrite levels, low dissolved oxygen, transfer of fish, or high levels of carbon dioxide are more susceptible to infections caused by *Aeromonas* spp. (Majtán *et al.*, 2012). In Korea, it is difficult to control water quality or stocking densities because mud loaches are usually cultured in pond culture system. However, it is not possible to conclude that poor environmental conditions caused the present *A. sobria* infection in the mud loaches because we did not evaluate the relationship between outbreaks of disease in the farm and the environmental parameters such as overcrowding and water conditions. Iversen *et al.* (2005) reported that transportation often involves traumatic events (capture, transport, loading, unloading and stocking) which may induce severe stress factors to fish. The disease outbreak occurred on the fourth day after mud loach arrival at the farm. Thus, we speculate that transportation stress rendered them more susceptible to *A. sobria* infection.

The isolate was sensitive to erythromycin, gentamicin, kanamycin and nalidixic acid whereas it was resistant to ampicillin, doxycycline and tetracycline. According to the results of our study, aminoglycosides (gentamycin and kanamycin) or macrolide (erythromycin) could be recommended to treat fish infected with *A. sobria*. However, due to the risks for development of resistance for antibiotics, we recommend that farmers establish good farm management in order to prevent *A. sobria* infection. In this study, we conclude that *A. sobria* is involved in the morbidity and mortality of the cultured mud loach and that this bacterium has the potential to act as a pathogen of mud loach.

## Acknowledgements

We thank the Fisheries Science Institute of Kunsan National University for funding this study. We also thank quarantine officers in Janghang Regional Office, National Fisheries Products Quality Management Service (NFQS) for providing fish.

## References

- Ahn, SJ; Sung, JH; Kim, NY; Lee, AR; Jeon, SJ; Lee, JS; Kim, JK; Chung, JK and Lee, YH (2010). Molecular cloning, expression, and characterization of Cathepsin L from mud loach (*Misgurnus mizolepis*). *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 162: 1858-1871.
- Aoki, T (1999). Motile aeromonads (*Aeromonas hydrophila*). In: Woo, PT and Bruno, DE (Eds.), *Fish disease and disorders*. (1st Edn.), Wallingford, CABI Publishing. PP: 427-453.
- Arimi, SM; Park, RWA and Fricker, CR (1990). Study of haemolytic activity of some *Campylobacter* spp. On blood agar plates. *J. Appl. Bacteriol.*, 69: 384-389.
- Austin, B and Austin, DA (2007). *Bacterial fish pathogens*. 4th Edn., Chichester, UK, Praxis Publishing. PP: 24-28.
- Bauer, AW; Kirby, WM; Sherris, JC and Turck, M (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45: 493-496.
- Chowdhury, MBR and Wakabayashi, H (1991). A study on *Flexibacter columnaris* infection in loach, *Misgurnus anguillicaudatus* (Bleeker, Günther). *J. Fish Dis.*, 14: 389-394.
- Cipriano, RC (2001). *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish. Fish Diseases Leaflet, US Fish and Wild Wife Service 68. PP: 1-25.
- Daily, OP; Joseph, SW; Coolbaugh, JC; Walker, RI; Merrell, BR; Rollins, DM; Seidler, RJ; Colwell, RR and Lissner, CR (1981). Association of *Aeromonas sobria* with human infection. *J. Clin. Microbiol.*, 13: 769-777.
- Das, A; Rathore, A; Janani, C; Hemanth, C and Balakrishnan, RA (2013). Diagnosis of motile *Aeromonas sobria* from catfish with septicemia by PCR. *J. Agri. Vet. Sci.*, 2: 87-91.
- Eisa, IAM; Badran, AF; Moustafa, M and Fetaih, H (1994). Contribution to motile *Aeromonas septicaemia* in some cultured and wild freshwater fish. *Vet. Med. J. Giza*. 42: 63-69.
- Esteve, C; Biosca, EG and Amaro, C (1993). Virulence of *Aeromonas hydrophila* and some other bacteria isolated from European eels, *Anguilla Anguilla* reared in fresh water. *Dis. Aqua. Org.*, 16: 15-20.
- Filler, G; Enrich, JHH; Stauch, E and Beutin, L (2000). Acute renal failure in an infant associated with cytotoxic *Aeromonas sobria* isolated from patient's stool and from aquarium water as suspected source of infection. *J. Clin. Microbiol.*, 38: 469-470.
- Fraire, AE (1978). *Aeromonas hydrophila* infection. *JAMA*. 239: 192.
- Igbinosa, IH; Igumbor, EU; Aghdasi, F; Tom, M and Okoh, AI (2012). Emerging *Aeromonas* species infections and their significance in public health. *Sci. World. J.*, 2012: 1-13.
- Inglis, V; Roberts, RJ and Bromage, N (1993). *Bacterial diseases of fish*. 1st Edn., London, Blackwell. PP: 143-156.
- Iversen, M; Finstad, B; McKinley, RS; Eliassen, RA; Carlsen, KT and Evjen, T (2005). Stress responses in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts during commercial well boat transport and effects on survival after transfer to sea. *Aquaculture*. 243: 373-382.
- Jun, JW; Kim, JH; Gomez, DK; Choresca Jr, CH; Han, JE; Shin, SP and Park, SC (2010). Occurrence of tetracycline-resistant *Aeromonas hydrophila* infection in Korean cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). *Afr. J. Microbiol. Res.*, 4: 849-855.
- Kim, IB (1993). *Fish aquaculture*. 1st Edn., Korea, Shinheung Publishing. PP: 178-213.
- Kim, DS; Nam, YK and Park, IS (1995). Survival and Karyological analysis of reciprocal diploid and triploid between mud loach (*Misgurnus mizolepis*) and cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). *Aquaculture*. 135: 257-265.
- Kozińska, A; Figueras, MJ; Chacon, MR and Soler, L (2002). Phenotypic characteristics and pathogenicity of *Aeromonas* genomospecies isolated from common carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Appl. Microbiol.*, 93: 1034-1041.
- Lee, HK; Lee, TY and Kim, BS (1993). Histopathogenic characteristics of haemorrhagic ulcer in cultivated snakehead *Channa argus* artificially infected with *Aeromonas veronii*. *Kor. J. Microbiol.*, 31: 113-122.
- Leung, KY; Yeap, IV; Lam, TJ and Sin, YM (1994). Serum resistance as good indicator for virulence in *Aeromonas hydrophila* strains isolated from diseased fish in South-East Asia. *J. Fish Dis.*, 18: 511-518.
- Majtán, J; Černý, J; Ofúkaná, A; Takáč, P and Kozánek, M (2012). Mortality of therapeutic fish *Garra rufa* caused by *Aeromonas sobria*. *Asian. Pac. J. Trop. Biomed.*, 2: 85-87.
- Miyazaki, T and Kaige, N (1985). A histopathological study the on motile aeromonad disease in Crucian carp. *Fish Pathol.*, 21: 181-185.
- Modarres Mousavi Behbahani, SM; Akhlaghi, M and Sharif-Yazdi, H (2014). Phenotypic and genetic diversity of motile aeromonads isolated from diseased fish and fish farms. *Iranian J. Vet. Res.*, 15: 238-243.
- Noga, EJ (1986). The importance of *Lernea cruciata* (LeSeuer) in the initiation of skin lesions in largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepede) in the Chowan River, North California. *J. Fish. Dis.*, 9: 295-302.
- Noga, EJ (2010). *Fish disease*. 2nd Edn., US, Wiley-Blackwell. PP: 185-186.
- Park, SW; Jung, YS and Kim, YG (2002). *Staphylococcus epidermidis* isolated from cultured mud loach (*Misgurnus mizolepis*). *J. Fish Pathol.*, 14: 155-162.
- Sersy, NAE; Abe, M and Uchinumi, T (1996). General characterizations of two *Aeromonas sobria* strains isolated from *Silago parvisquamis*. *Rep. Fac. Sci. Kagoshima University*. 29: 139-150.
- Toranzo, AE; Baya, AM; Romalde, JL and Hetrick, FM (1989). Association of *Aeromonas sobria* with mortalities of adult gizzard shad, *Dorosoma cepedianum* Lesueur. *J. Fish Dis.*, 12: 439-448.
- Wahli, T; Burr, SE; Pugovkin, D; Mueller, O and Frey, J (2005). *Aeromonas sobria*, a causative agent of disease in farmed perch, *Perca fluviatilis* L. *J. Fish Dis.*, 28: 141-150.
- Wiklund, T and Dalsgaard, I (2002). Survival of *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) serum *in vitro*. *Fish. Shellfish. Immunol.*, 12: 141-153.
- Won, KM and Park, SI (2008). Pathogenicity of *Vibrio harveyi* to cultured fishes in Korea. *Aquaculture*. 285: 8-13.
- Yi, SW; You, MJ; Lrr, HB and Shin, GW (2012). A case of *Aeromonas veronii* infection in Israeli carp (*Cyprinus carpio*): phylogenetic analysis and antimicrobial resistance. *Korean J. Vei. Serv.*, 35: 239-243.
- Yu, JH; Han, JJ; Kim, HJ; Kang, SG and Park, SW (2010). First report of *Aeromonas veronii* infection in farmed Israeli carp, *Cyprinus carpio*, in Korea. *J. Fish Pathol.*, 23: 165-176.
- Yu, JH and Park, SW (2008). Isolation of *Aeromonas sobria* from cultured mud loach, *Misgurnus mizolepis*. *J. Fish Pathol.*, 21: 21-27.

# Summaries in Persian

## خلاصه مقالات به زبان فارسی

مقاله کامل: تأثیر استرس گرمایی بر پروفایل بیان ژن‌های مربوط به آپوپتوز در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی گاو دوره انتقالی نژاد ساهیوال

آنجلی سومال<sup>۱</sup>، آنجلی آگاروال<sup>۲</sup> و رامش چاندرا یوپدیوای<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی دکترای تخصصی فیزیولوژی دامپزشکی، بخش فیزیولوژی و اقلیم شناسی (P&C)، پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناکار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی،  
یوت پرداش، هند؛ <sup>۲</sup>بخش فیزیولوژی گاو شیری، پژوهشکده ملی تحقیقات گاو شیری، کرنال-۱۳۲۰۱، هریانا، هند

(دریافت مقاله: ۱ دی ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۳ اسفند ۱۳۹۳)

این مطالعه به منظور بررسی اثر استرس گرمایی بر الگوی بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز در حوالی زایمان گاوهای دوره انتقالی (فاز انتقالی قبل و بعد از زایمان) نژاد ساهیوال انجام گرفت. برای این منظور، ۱۲ گاو ساهیوال آبستن خشک از مرکز تحقیقات دامهای اهلی در پژوهشکده ملی تحقیقات گاو شیری، کرنال انتخاب شدند. گاوهای به دو گروه شامل شش گاو ساهیوال در هر گروه تقسیم شدند. گاوهای گروه I تحت شرایط دمایی معتدل ( $29/9^{\circ}\text{C}$ ) و گاوهای گروه II در فصل تابستان ( $\text{THI}=67/3^{\circ}\text{C}$ ) زایمان کردند. نمونه‌های خونی در روزهای ۰، ۱۵ و ۱۵ نسبت به روز زایمان جمع‌آوری گردیدند. سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC) مشخص شده و کل RNA برای بیان mRNAs مربوط به BCL-2 (لغومای سلول-B)، BAX (کشته آنتاگونیست-2)، BAK (بروتئین X مرتبط با Bcl-2)، CASP-3 (سیستئین-آسپارتیک پروتئازهای-۳) و P53 (پروتئین توموری-۵۳) جدا شدند. اثر تنظیمی بالای CASP-3 بر روی روز زایمان در طی هر دو شرایط دمایی مشخص داشت. مقایسه بین دو شرایط دمایی نشان داد که بین CASP-3، BAK، BAX/BCL-2 و P53 نسبت تابستان در میزان افزایش یافت که حساسیت این سلول‌ها به آپوپتوز را متباور به ذهن می‌کند. بر اساس یافته‌های بالا می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که هنگام زایمان PBMC نسبت به آپوپتوز حساس‌تر بوده و تابستان که استرس‌زاتر می‌باشد آپوپتوز گاوهای ساهیوال را تشدید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: آپوپتوز، PBMC، ساهیوال، استرس گرمایی، گاو دوره انتقالی

**مقاله کامل:** جداسازی اولیه گونه‌های مایکروباکتریوم در گونه‌های مولوس در ترکیه

**پیnar سویم<sup>۱</sup>، سلمین ازr<sup>۲</sup> و فریت راد<sup>۳</sup>**

<sup>۱</sup> وزارت غذا، کشاورزی و دامداری، اداره کل استان کوروم، کوروم، ترکیه؛ <sup>۲</sup> گروه آبزی پروری، دانشکده شیلات دانشگاه مرسین، مرسین ۳۳۱۶۹، ترکیه

(دریافت مقاله: ۲۸ اسفند ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۱۷ دی ۱۳۹۳)

گونه‌های مایکروباکتریوم اکتیوزئونوتیک خطرات بهداشتی در ماهی و انسان دارد. در این مطالعه، وجود گونه‌های مایکروباکتریوم اکتیوزئونوتیک در شاه ماهی (مولوس بارباتوس بارباتوس) و شاه ماهی قرمز (مولوس سورمولیتوس)، گونه‌های بسیار صید شده در دریای مدیترانه و اژه مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۲۰۸ نمونه ماهی تهیه شده از ماهیگیرهای در شهرستان مرسین (ترکیه) مورد مطالعه قرار گرفتند. گونه‌های مایکروباکتریوم با استفاده از قراردادی جداسازی شده و توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در سطح گونه PCR-RFLP در مولوس در سطح گونه شناسایی شده‌اند. ۱۳ گونه مایکروباکتریوم در ۱۳ نمونه ماهی (۶/۲۵٪) شناسایی شدند. چهار گونه مایکروباکتریوم به عنوان مایکروباکتریوم ژن‌آونس، سه گونه به عنوان مایکروباکتریوم فورتیوتوم، سه گونه به عنوان مایکروباکتریوم اسکروفولاسئوم، یک گونه به عنوان مایکروباکتریوم مارینوم، یک گونه به عنوان مایکروباکتریوم واسه و یک گونه به عنوان مایکروباکتریوم اوروم شناسایی شدند. هیچ گونه علامتی از مایکروباکتریوز در نمونه‌های ماهی مشاهده نشد. یافته‌های این مطالعه می‌توانند به مطالعات بعدی بر روی گونه‌های مایکروباکتریوم اکتیوزئونوتیک در غذاهای دریابی کمک نمایند.

**واژه‌های کلیدی:** بیماری ماهی، اینمی غذا، گونه‌های مایکروباکتریوم، شاه ماهی (مولوس بارباتوس بارباتوس)، شاه ماهی قرمز (مولوس سورمولیتوس)

**مقاله کامل:** تعیین خصوصیات گونه‌های توکسین‌زای آسپرژیلوس فلاوس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس جدا شده از خوراک دام در شمال شرق ایران

**الهام داوری<sup>۱</sup>، محمد محسن‌زاده<sup>۲</sup>، غلامرضا محمدی<sup>۳</sup>  
و رویا رضائیان دلوئی<sup>۴</sup>**

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛ <sup>۲</sup> گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛ <sup>۳</sup> گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛ <sup>۴</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

(دریافت مقاله: ۱۰ اسفند ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۵ آذر ۱۳۹۳)

آفلاتوكسین‌ها، متabolیت‌های ثانویه تولید شده به وسیله بعضی از گونه‌های آسپرژیلوس به ویژه آسپرژیلوس فلاوس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس می‌باشند که باعث آلودگی مواد غذایی و یا خوراک دام می‌شوند. این مطالعه با هدف ارزیابی آلودگی خوراک دام به انواع آسپرژیلوس و تشخیص ژن‌های موثر در مسیر سنتز آفلاتوكسین در آسپرژیلوس فلاوس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس جدا شده از خوراک دام انجام گرفت. تعداد ۱۱۰ نمونه خوراک دام شامل سیلو، کنسانتره، علوفه و خوراک آماده از ۳۰ گاوداری صنعتی و نیمه صنعتی استان خراسان رضوی جمع‌آوری و با استفاده از

روش کشت آزمایشگاهی و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد ارزیابی قرار گرفت. تعداد ۶۸ (۶۱/۸۲٪) سویه آسپرژیلوس از ۱۱۰ نمونه خوراک دام مورد بررسی، جداسازی گردید. بیشترین میزان آلودگی به انواع آسپرژیلوس فومیگاتوس (۲۱/۸۱٪)، سپس آسپرژیلوس فلاوس (۱۷/۲۷٪)، آسپرژیلوس نایجر (۱۰٪)، آسپرژیلوس پارازیتیکوس (۸/۱۸٪) و آسپرژیلوس اروزیه (۴/۵۴٪) تعلق داشت. از بابت میزان آلودگی قارچی بین گاوداری‌های صنعتی و نیمه صنعتی هیچگونه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). از آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چندگانه برای تشخیص چهار ژن اصلی (*nor-1*, *ver-1*, *omtA*, *aflR*) مسؤول تولید آنزیم‌های کلیدی در چرخه بیوسنتز آفلاتوكسین در آسپرژیلوس فلاوس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس استفاده گردید. از ۲۸ سویه آسپرژیلوس فلاوس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس جدا شده تعداد ۱۰ جدایه (۳۵/۷۱٪) واحد چهار ژن اصلی با باندهای مشخص بودند. کلیه جدایه‌ها از بابت تولید آفلاتوكسین با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه نازک مورد تایید قرار گرفتند. ۱۸ جدایه (۶۴/۲۹٪) دارای ۱، ۲ یا ۳ باند بودند. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که تشخیص سریع و اختصاصی قارچ‌های توکسین‌زا برای اطمینان از سلامت میکروبیولوژیکی خوراک دام حائز اهمیت می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** آفلاتوكسین، گونه‌های آسپرژیلوس، خوراک دام، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چندگانه

## مقاله کامل: تاثیر افزودن امولسیون کننده به جیره‌های حاوی منابع مختلف چربی بر عملکرد اردک‌های خاکی کمپل

زُسانگپوای<sup>۱</sup>، آملان کومار پاترا<sup>۲</sup> و گوتام سامانتا<sup>۲</sup>

اکارشناس ارشد، گروه تغذیه دام، دانشکده دامپژشکی و علوم دامی دانشگاه علوم دامی و شیلات بنگال غربی، سارانی B. K. ۳۷، بلگاجیا، کلکته، ۷۰۰۰۳۷، بنگال غربی، هند؛ گروه تغذیه دام، دانشکده دامپژشکی و علوم دامی دانشگاه علوم دامی و شیلات بنگال غربی، سارانی B. K. ۳۷، بلگاجیا، کلکته، ۷۰۰۰۳۷، بنگال غربی، هند

(دریافت مقاله: ۸ بهمن ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۲۹ بهمن ۱۳۹۳)

یک آزمایش به منظور مطالعه اثرات یک امولسیون کننده (گلیسرول پلی اتیلن گلیکول رسینولئات، GPGR) و منابع مختلف چربی بر روی عملکرد اردک‌های خاکی کمپل انجام گرفت. اردک‌ها به پنج گروه با سه تکرار (۱۰ اردک به ازای هر تکرار) در هر گروه تقسیم‌بندی شدند. درمان‌ها، جیره کنترل (C1)، بدون افزودن روغن و امولسیون کننده، جیره کنترل افزوده شده با ۲٪ روغن سویا (C2) بودند. برای گروه دیگر، بلال ذرت با سبوس برنج جایگزین و به ۲٪ روغن سویا به همراه امولسیون کننده (T1)، ۲٪ روغن خرما به اضافه امولسیون کننده (T2)، و ۰.۲٪ چربی خوک به اضافه امولسیون کننده (T3) افزوده شد. مصرف خوراک تحت تأثیر هیچ یک از درمان‌های غذایی قرار نگرفت ( $P > 0.1$ ). همچنین اثری از درمان غذایی بر روی افزایش وزن بدن و بازدهی خوراک به استثنای گروه T3، که افزایش وزن بدن در مقایسه با سایر درمان‌ها کمتر و بازدهی خوراک کمتر از C2، T1 و T2 بود، وجود نداشت. قابلیت متابولیزه کردن ماده خشک در گروه‌های T1، T2 و T3 نسبت به گروه C1 و C2 میل به کاهش داشت ( $P = 0.08$ ). مقادیر انرژی قابل متابولیزه به طور معنی‌داری در گروه C2 نسبت به گروه C1 بیشتر بوده ( $P < 0.05$ ، ولی در میان گروه‌های C1، T1، C2، T2 و T3 مشابه بودند). قابلیت متابولیزه کردن چربی و سایر مواد مغذی تحت تأثیر درمان‌های غذایی قرار نگرفتند ( $P < 0.10$ ). صفات اصلی لاشه در میان درمان‌ها تحت تأثیر قرار نگرفتند ( $P > 0.10$ ). به عنوان نتیجه‌گیری، روغن سویا و روغن خرما همراه با GPGR به عنوان امولسیون کننده می‌توانند به جیره‌های حاوی مقادیر زیاد سبوس برنج بدون اثر بر عملکرد افزوده شوند، در حالی که چربی خوک ممکن است عملکرد اردک‌ها را به طور معکوس تحت تأثیر قرار دهد.

**واژه‌های کلیدی:** امولسیون کننده، چربی‌ها، رشد، اردک‌های خاکی کمپل، مصرف مواد مغذی

## آنالیز انسجام کروماتین و آسیب DNA اسپرماتوزوآی بوفالو

مقاله کامل:

کریما غ. ام. محمود<sup>۱</sup>, عبدالحامد ای. ای. السوکری<sup>۲</sup>, آلا ای. عبدالغفار<sup>۳</sup>,  
محمود ای. ای. ابوالروز<sup>۳</sup> و یوسف اف. احمد<sup>۱</sup>

گروه تولید مثل دام و تلقیح مصنوعی، مرکز تحقیقات ملی، الدقی، الجیزه، مصر؛ <sup>۲</sup>اداره کل خدمات دامپزشکی، الدقی، الجیزه، مصر؛ <sup>۳</sup>گروه مامایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه بنها، الکالیوبیا، مصر

(دریافت مقاله: ۲۱ مرداد ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۱ آذر ۱۳۹۳)

این مطالعه به منظور تخمین انسجام کروماتین و آسیب DNA به وسیله الکتروفورز DNA و سنجش کامت در مایع منی تازه و منجمد بوفالو انجام گرفت. نمونه‌های مایع منی از چهار بوفالوی نر جمع‌آوری شدند، و مایع منی بعد از فریز از لحظه تحرک اسپرم، زنده مانی، ناهنجاری‌های اسپرم، انسجام کروماتین و آسیب DNA بررسی شد. اختلاف معنی‌داری در پارامترهای مایع منی در میان گاوها نر بعد از آب شدن پیدا شد. اختلاف‌های بسیار معنی‌داری ( $P < 0.001$ ) در انسجام کروماتین بین مایع منی تازه و منجمد مشاهده شدند. اختلاف معنی‌داری بین گاوها از نظر انسجام کروماتین در مایع منی تازه وجود نداشت، اما در مایع منی منجمد در میان گاوها اختلاف معنی‌داری شناسایی شد ( $P < 0.05$ ). قطعه قطعه شدن DNA به وسیله الکتروفورز ژل آگاروز دیده نشد. درصد اسپرم با آسیب دیده با سنجش کامت به طور معنی‌داری بین مایع منی تازه و منجمد فرق می‌کرد. رابطه منفی معنی‌داری بین تحرک و آسیب به DNA ( $r = -0.68$ ,  $P < 0.05$ ) وجود داشت و ناهنجاری‌های اسپرم و قطعه قطعه شدن DNA به طور قابل توجهی به شکل مثبت در ارتباط بودند ( $r = 0.59$ ,  $P < 0.05$ ). در نتیجه، ارزیابی آسیب DNA ممکن است اطمینان از نرمال بودن ژنوم را میسر ساخته و بتواند تکامل روش‌های اصلاح شده انتخاب اسپرماتوزوآبا DNA سالم را به منظور استفاده در تلقیح مصنوعی هدایت نماید.

**واژه‌های کلیدی:** بوفالو نر، انسجام کروماتین، آسیب DNA، کیفیت مایع منی

## تأثیر مایع آمنیون جنین جوجه بر روی بازسازی عصب سیاتیک موش صحرایی

مقاله کامل:

غلامحسین فرجاه<sup>۱</sup> و فرزانه فضلی<sup>۲</sup>

۱ مرکز تحقیقاتی نوروفیزیولوژی، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران؛ ۲ دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشريحی، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ارومیه، ایران

(دریافت مقاله: ۱۹ شهریور ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۰ دی ۱۳۹۳)

هدف از این مطالعه تحریبی ارزیابی تاثیر مایع آمنیون جوجه بر برش عرضی عصب سیاتیک موش صحرایی است. ۳۰ سر موش نر صحرایی (اسپراغو-داولی) بالغ به وزن ۲۷۵ تا ۳۰۰ گرم به طور تصادفی به سه گروه شامل (۱) مایع آمنیون، (۲) نرمال سالین و (۳) شم جراحی تقسیم شدند. مایع آمنیون از حفره آمنیون جنین جوجه ۱۴ روزه کشیده شد. عصب سیاتیک نمایان شد و به طور عرضی قطع شد. بلاforallse ترمیم اپی نوریال انجام شد. به حیوانات تحت درمان با مایع آمنیون ۲ میلی لیتر بر کیلوگرم به صورت زیر جلدی و به طور روزانه، ۵ بار در هفتة و به مدت دو هفتة تزریق شد. همه حیوانات توسط شاخص حرکتی عصب سیاتیک، الکتروفیزیولوژی، بافت شناسی و ایمونوھیستوتولوژی در ۲۸ و ۵۶ روز پس از

جراحی ارزیابی شدند. شاخص حرکتی عصب سیاتیک در روزهای ۲۱ و ۲۸ پس از جراحی در بین گروههای مایع آمنیون و نرمال سالین از لحاظ آماری معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). در روز ۲۸، تعداد آکسون های میلین دار در گروه مایع آمنیون از لحاظ آماری بیشتر از گروه نرمال سالین بود ( $P < 0.05$ ). در روزهای ۲۸ و ۵۶ پس از جراحی، میانگین سرعت هدایت عصب در گروه مایع آمنیون نسبت به گروه نرمال سالین سریع تر بود، اما این اختلاف معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ). نتایج این مطالعه نشان می دهد که مایع آمنیوتیک جنین جوجه، بازسازی عصب محیطی را تقویت می نماید.

**واژه های کلیدی:** مایع آمنیون، جنین جوجه، بازسازی عصب، موش صحرایی

## مقاله کامل: شناسایی و تفیریق سویه های وحشی و واکسن ویروس دیستمپر سگ سanan توسط واکنش زنجیره ای پلیمراز داپلکس با رونویسی معکوس

زیاً-یینگ دونگ<sup>۱</sup>، ون-هو لی<sup>۳</sup>، جون-لینگ ژو<sup>۴</sup>، ون-جون لیو<sup>۱</sup>،  
مینگ-کیو ژا<sup>۵</sup>، یونگ-ون لو<sup>۱</sup> و جین-دینگ چن<sup>۱</sup>

گروه طب پیشگیری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی جنوب چین، منطقه تیان هی، گوانگزو<sup>۱</sup>، چین؛ گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی و مهندسی یینگ دونگ، دانشگاه شاگوان، شاگوان<sup>۲</sup>، چین؛ گارشناس ارشد ویروس، گروه طب پیشگیری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی جنوب چین، منطقه تیان هی، گوانگزو<sup>۳</sup>، چین؛ گارشناس ویروس، گروه طب پیشگیری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی جنوب چین، منطقه تیان هی، گوانگزو<sup>۴</sup>، چین؛ گارشناس ارشد واکسن، گروه طب پیشگیری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی جنوب چین، منطقه تیان هی، گوانگزو<sup>۵</sup>، چین

(دریافت مقاله: ۲۳ دی ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۲۵ آذر ۱۳۹۳)

ویروس دیستمپر سگ سanan (CDV) عامل دیستمپر سگ سanan (CD) است که بیماری شدید و بسیار واگیری در سگ ها می باشد. در مطالعه حاضر، یک روش واکنش زنجیره ای پلیمراز داپلکس با رونویسی معکوس (RT-PCR) برای شناسایی و تمایز سویه های نوع وحشی و واکسن CDV تهیه شد. چهار پرایمر به منظور شناسایی و افتراق بین ویروس ها به ترتیب به وسیله تولید فراورده های ۷۸۱ cDNA bp و ۶۳۸ bp طراحی شدند. علاوه بر این، روش RT-PCR دو رشته ای برای شناسایی ۶۷ نمونه مزرعه مشکوک به CD از استان گوانگ دونگ در چین استفاده گردید. به عنوان نتیجه، ۳۳ نمونه مشابه نوع وحشی بودند. روی هم رفته، روش RT-PCR دو رشته ای ویژگی و حساسیت بالایی دارد که می تواند برای شناسایی و تفیریق مؤثر واکسن CDV و سویه نوع وحشی مورد استفاده قرار گیرد و نشان دهنده آن است که می تواند در شناسایی بالینی و بررسی اپیدمیولوژیکی به کار رود.

**واژه های کلیدی:** ویروس دستمپر سگ سanan، تمایز، RT-PCR داپلکس، حساسیت، ویژگی

مقاله کامل:

## جداسازی و شناسایی مولکولی مایکوپلاسمای اکوئی جنیتالیوم از دستگاه تناسلی اسب سانان در شمال هند

کاپیل نهرا<sup>۱</sup>، راجنیش رانا<sup>۲</sup>، کوناساگارا ناگالیکار ویسواس<sup>۳</sup>، تاچاپولی رمش آرون<sup>۱</sup>،  
ویجندر پال سینگ<sup>۴</sup>، آجی پراتاپ سینگ<sup>۵</sup> و شیاما نارایانا پرابهو<sup>۶</sup>

<sup>۱</sup>دانش آموخته پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوت پرداش، هند؛ <sup>۲</sup>آزمایشگاه رفال مایکوپلاسمای، بخش باکتری شناسی و قارچ شناسی، پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوت پرداش، هند؛ <sup>۳</sup>بخش باکتری شناسی و قارچ شناسی، پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوت پرداش، هند؛ <sup>۴</sup>دانشکده دامپزشکی و علوم دامی (COVs&AH) دانشگاه دامپزشکی بیت دین دایال (DUVASU)، ماتورا، ۲۸۱۰۰۱، بودش، هند؛ <sup>۵</sup>دانشجوی دکترای تخصصی آسیب شناسی دامپزشکی، بخش پاتولوژی، پژوهشکده تحقیقات دامپزشکی هند، ایزاتناگار، ۲۴۳۱۲۲، باریلی، یوت پرداش، هند

(دریافت مقاله: ۱۳۹۲ دی، پذیرش نهایی: ۱ آذر ۱۳۹۳)

اگرچه به مایکوپلاسمای اکوئی جنیتالیوم در مشکلات تولید مثلی اسب سانان اشاره شده است، اما به دلیل فقدان آزمایش‌های تشخیصی، اختصاصی شیوع آن تا حد زیادی ناشناخته است. به منظور بر طرف کردن این محدودیت، جفت پرایمرهای اختصاصی گونه را تکامل بخشیده و بهینه‌سازی کرده‌ایم که توالی‌های ژن *rpoB* مایکوپلاسمای اکوئی جنیتالیوم (RNA پلیمراز تحت واحد B) را مورد هدف قرار می‌دهند. ویژگی روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تکامل یافته در این مطالعه با استفاده از ۱۲ جدایه مزرعه‌ای شامل سویه مایکوپلاسمای اکوئی جنیتالیوم و دیگر گونه‌های مایکوپلاسمای تعیین شد. در مطالعه مزرعه‌ای، تعداد ۱۲۲ نمونه شامل ۵۰ نمونه بالینی و ۷۲ نمونه تصادفی جمع‌آوری شده از مادیان و نریان به منظور شناسایی مایکوپلاسمای اکوئی جنیتالیوم در دستگاه تناسلی اسب سانان با آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اختصاصی گونه تحت بررسی قرار گرفتند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اختصاصی گونه مایکوپلاسمای اکوئی جنیتالیوم ۲۲/۱۳٪ از نمونه‌ها را مثبت شناسایی کرد، در حالی که ۰/۹٪ از نمونه‌ها با تکنیک قراردادی کشت مثبت بودند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز فراهم شده در این مطالعه توانست برای تشخیص سریع، اختصاصی و دقیق سویه‌های مایکوپلاسمای اکوئی جنیتالیوم مورد استفاده قرار گیرد. طبق اطلاعات نویسنده‌گان، این اولین گزارش راجع به تکامل و ارزیابی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اختصاصی گونه برای شناسایی مایکوپلاسمای اکوئی جنیتالیوم می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** تشخیص، مایکوپلاسمای اکوئی جنیتالیوم، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، ژن *rpoB*

## مقاله کامل: بررسی MMP-2 و MMP-9 در سرم سگ‌های مبتلا به بزرگ شدگی اتساعی قلب

سولماز چگینی<sup>۱</sup>، زهره خاکی<sup>۲</sup>، داریوش شیرانی<sup>۳</sup>، علیرضا وجهی<sup>۴</sup>،  
محمد طاهری<sup>۵</sup>، یارا تمرجی<sup>۶</sup> و عبدالرزاک رستمی<sup>۷</sup>

<sup>۱</sup>رژیدنت کلینیکال پاتولوژی، بخش کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ <sup>۲</sup>بخش داخلی دام کوچک، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ <sup>۳</sup>بخش کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ <sup>۴</sup>بخش داخلی دام کوچک، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ <sup>۵</sup>بخش رادیوپتیکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ <sup>۶</sup>آزمایشگاه دکتر رستمی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ <sup>۷</sup>رژیدنت داخلی دام کوچک، بخش داخلی دام کوچک، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ <sup>۷</sup>دامپزشک خصوصی، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۲۲ شهریور ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۱۲ بهمن ۱۳۹۳)

بزرگ شدن اتساعی قلب (DCM) با تغییراتی در میوسیت‌ها و بافت همبندی قلب همراه است. ماتریکس متالوپروتئینازها (MMPs) نقش

مهمی در سازماندهی و بازسازی قلب ایفا می‌کنند. به نظر می‌رسد که ژلاتینازها (MMP-2 و MMP-9) آنزیم‌های مهمی در بروز کارديومایوباتی می‌باشند. در ۲۲ قلاده سگ (گروه بیمار) شامل ۱۱ نر و ۱۱ ماده وجود بزرگ شدگی اتساعی قلب با کمک معاینات بالینی، گوش کردن صدای قلب، رادیوگراف از قفسه سینه و اکوکاردیوگرافی تایید شد. همچنین ۱۷ قلاده سگ سالم (گروه کنترل) با وزن و نژاد مشابه با بیماران به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند و کلیه روند تشخیصی در مورد آن‌ها نیز انجام گرفت. سپس ۲ MMP-9 و ۲ MMP-2 سرم گروههای کنترل و بیمار با روش زایموگرافی نیمه کمی اندازه‌گیری شد. بررسی‌ها نشان داد که میزان کلی MMP-9 در گروه بیمار بیشتر از گروه کنترل است و تفاوت معنی‌داری در میزان کلی MMP-2 بین ۲ گروه مشاهده نمی‌شود. در گروه بیمار یافت نشد اما شکل فعل آن در هر دو گروه وجود داشت و فعالیت ۲ MMP در بیماران از نظر آماری معنی‌دار بود. شکل فعل ۹ MMP تنها در بیماران دیده شد. گرچه pro-MMP-9 در هر دو گروه مشاهده گردید اما میزان آن در گروه کنترل به صورت معنی‌داری بیشتر از بیماران بود. از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در مقادیر شکل فعل ۲ MMP و ۹ MMP مابین گروههای مختلف بزرگ شدگی قلب (راست، چپ و هر دو سمت) و VHS (مقیاس اندازه قلب بر حسب اندازه مهره‌های کمر) در مقایسه با کنترل مشاهده نگردید. اگر چه تغییراتی در مقادیر ۲ MMP و ۹ MMP سرم سگ‌های مبتلا به DCM وجود دارد، اما به نظر آمده که افزایش ۹ MMP مهتم‌تر از ۲ MMP می‌باشد و هیچکدام از آن‌ها تحت تاثیر بزرگ شدگی قلب یا درجه VHS نیستند.

**واژه‌های کلیدی:** DCM، ماتریکس متالوپروتئیناز، ۲ MMP، ۹ MMP، زایموگرافی

## مقاله کامل: ارزیابی اسپرم‌های منجمد/آب شده از ناحیه دم اپیدیدیم و پتانسیل بارورسازی اسپرم گاوی جمع‌آوری شده از دم اپیدیدیم در محیط آزمایشگاه

آنتونیو چاویرو<sup>۱</sup>، کارلا سرکواپیرا<sup>۱</sup>، جواو سیلووا<sup>۱</sup>، جوانا فرانکو<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> فرناندو موریارا دا سیلووا<sup>۱</sup>

گروه علوم مناطق بیابانی، مرکز تحقیقات و فن‌آوری کشاورزی آذربایجان (CITA-A)، دانشگاه آذربایجان، آنگرا دو هروایسمو ۴۲-۰۰-۷۰۰۰، پرتغال؛<sup>۱</sup> دانشجوی دوره کارشناسی، مرکز تحقیقات و فن‌آوری کشاورزی آذربایجان (CITA-A)، دانشگاه آذربایجان، آنگرا دو هروایسمو ۴۲-۰۰-۷۰۰۰، پرتغال؛<sup>۳</sup> دانش‌آموخته مرکز تحقیقات و فن‌آوری کشاورزی آذربایجان (CITA-A)، دانشگاه آذربایجان، آنگرا دو هروایسمو ۴۲-۰۰-۷۰۰۰، پرتغال؛<sup>۱</sup> کارشناس ارشد، گروه علوم مناطق بیابانی، مرکز تحقیقات و فن‌آوری کشاورزی آذربایجان (CITA-A)، دانشگاه آذربایجان، آنگرا دو هروایسمو ۴۲-۰۰-۷۰۰۰، پرتغال

(دریافت مقاله: ۹ تیر ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۳ اسفند ۱۳۹۳)

در مطالعه حاضر، پتانسیل بارورسازی مایع منی جمع‌آوری شده از اپیدیدیم گاوها نر کشتار شده بعد از انجماد به وسیله تکنیک‌های قراردادی و روش‌های فلوزیتومتری مورد بررسی قرار گرفت. دم اپیدیدیم برش داده شد، و اسپرم‌ها جمع‌آوری شده و از نظر حجم، غلظت اسپرم و انسجام آکروزوم و غشا با استفاده از یک فلوزیتومتر ارزیابی شدند. پتانسیل بارورسازی اسپرم به وسیله لقادح داخل آزمایشگاهی (IVF) مورد آزمایش قرار گرفت. قبل از فریز کردن، غلظت متوسط اسپرم  $10^6 \text{ sperm/ml} \pm 27/5 \times 216 \pm 216$  بود. زنده مانی اسپرم به طور متوسط  $86/5 \pm 4/5$  بود. درصد متوسط اسپرم با آکروزوم و غشا پلاسمایی سالم قبل و بعد از انجماد به ترتیب  $90/8 \pm 1/9$  و  $90/7 \pm 2/9$  بود ( $P \geq 0.05$ ). متوسط میزان بارورسازی، با استفاده از مایع منی منجمد/آب شده ناحیه اپیدیدیم  $64/1 \pm 3/9$  بارورسازی بدون اختلاف معنی‌دار ( $P > 0.05$ ) بود. میان گاوها به دست آمد. در رابطه با گاوها منظور شده به عنوان گروه کنترل، میزان بارورسازی  $72/2 \pm 4/5$  بود، که به طور معنی‌داری با میزان بارورسازی مایع منی منجمد/آب شده اپیدیدیم اختلاف داشت ( $P < 0.05$ ). در نتیجه، امکان بهره‌گیری از تکنیک‌های آزمایشگاهی با اسپرماتوزوآهای منجمد جمع‌آوری شده از اپیدیدیم گاوها با استفاده از روش انجماد با سرعت تحت کنترل به همراه نمودار انجماد از قبیل تعیین شده، و همراه با ارزیابی زنده مانی اسپرم با تکنیک‌های معمول و روش‌های فلوزیتومتری، با قابلیت بارورسازی اسپرماتوزوآهای اپیدیدیمی منجمد وجود دارد.

**واژه‌های کلیدی:** گاوی، روش انجماد، اپیدیدیم، لقادح داخل آزمایشگاهی، مایع منی

## مقاله کامل: عفونت آئروموناس سوبریا در ماهی لوج (*Misgurnus mizolepis*) پرورشی در کره جنوبی، یک بررسی باکتریولوژیک

جینهها یو<sup>۱</sup>، بُن-هیونگ کو<sup>۲</sup>، دا-هیون کیم<sup>۳</sup>، دونگ-وان کیم<sup>۴</sup>  
و سونگ-وو پارک<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup>بخش قرنطینه و بازرگانی، اداره خدمات ملی کیفیت فرآوردهای شیلات، یانگدو-گو، بوسان، کره جنوبی؛ <sup>۲</sup>کارشناس ارشد، گروه حیات آبزیان، دانشگاه ملی کوسان، گانسان-سی، جنوب کوسان، کره جنوبی؛ <sup>۳</sup>گروه حیات آبزیان، دانشگاه ملی کوسان، گانسان-سی، جنوب کوسان، کره جنوبی؛ <sup>۴</sup>دونگ زیونگ میکروارگانیسم، ایکسان-سی، جنوب کوسان، کره جنوبی

(دریافت مقاله: ۳ دی ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۳ اسفند ۱۳۹۳)

یک وقوع بیماری در ژوئن ۲۰۱۳ در میان ماهیان لوج پرورشی یافته در مزارع استخراج پرورشی در شهر جانگ سئونگ-گان، جنوب کوسان-دلو، کره جنوبی رخ داد. میزان مرگ و میر روزانه به ۱/۲٪ در مزرعه رسید. عالیم بالینی مشخص زخم خونریزی دهنده در قسمت میانی سر و اروزیون خونریزی دهنده سپریوش بودند. بر اساس خصوصیات بیوشیمیایی، باکتری مسبب جدا شده از ماهی بیمار به عنوان آئروموناس سوبریا شناسایی شد. جدایه، دو ژن همولیتیک، ژن‌های آترولیزین (*sob*) و همولیزین (*asaI*) را بیان نمود. از لحاظ هیستوپاتولوژیک، کبد دزیرسانس و اکتوپلور هپاتوسولوار و پر خونی غیر فعلی در سینوزوئیدها را نشان داد. طحال اسپلنوسیت‌های نکروز شده و پولپ‌های خونریزی دهنده داشت. در کلیه، تخریب گلومرول‌ها، خونریزی و نکروز توبول‌های کلیوی مشاهده شدند. عفونت تجربی (دوز عفونی  $10^7$ ،  $10^6$  و  $10^8$  ماهی لوج  $\text{cfu fish}^{-1}$ ) پرورشی سالم به همراه جدایه منجر به تکامل عالیم بالینی مشابه عالیم دیده شده در مزرعه گردید. در تزریق همراه با دوز عفونی  $10^6$   $\text{cfu fish}^{-1}$ ، نرخ مرگ و میر  $10/3\%$  در مدت هفت روز پس از عفونت بود. زمانی که دوز عفونی  $10^7$   $\text{cfu fish}^{-1}$  به ازای هر ماهی استفاده شد، نرخ مرگ و میر طی مدت زمان دو روز به  $60/9\%$  رسید. به شیوه دیگر، زمانی که با  $10^8$   $\text{cfu fish}^{-1}$  تزریق شدند، همه ماهی‌ها در مدت یک روز مردند. نتایج اثبات نمودند که آئروموناس سوبریا در شیوع و مرگ و میر ماهی لوج پرورشی دخالت دارد.

واژه‌های کلیدی: آئروموناس سوبریا، همولیزین، میسگورنوس میزوپلیس، ماهی لوج

## مقاله کوتاه: شناسایی مولکولی آلودگی پیروپلاسموز اسبی در الاغ‌های استان خراسان شمالی

ولی عابدی<sup>۱</sup>، غلامرضا رزمی<sup>۱</sup>، حسام سیفی<sup>۲</sup> و ابوالقاسم نقیبی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛ <sup>۲</sup>گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(دریافت مقاله: ۲۹ اردیبهشت ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۱۷ اسفند ۱۳۹۳)

پیروپلاسموز اسی ناشی از تیلریا اکویی و بازیا کابالی یک بیماری انگلی داخل گلبول قرمزی در تک سمی‌های سراسر جهان می‌باشد. هدف این بررسی شناسایی مولکولی تیلریا اکویی و بازیا کابالی در الاغ‌های شمال شرق ایران بود و نیز ارتباط میزان آلودگی و فاکتورها خطر وابسته به میزان مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این مطالعه  $10^6$  راس الاغ به ظاهر سالم در استان خراسان شمالی مورد خونگیری قرار گرفتند. از خون‌های جمع‌آوری شده گسترش خونی تهیه و با گیمسا رنگ آمیزی گردید. DNA نمونه‌های خون نیز استخراج شده و با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چندگانه جهت تعیین آلودگی پیروپلاسمی مورد آزمایش قرار گرفتند. در چهار گرفتنده، در چهار گسترش خونی تیلریا اکویی مشاهده شد، همچنین آلودگی تیلریا اکویی در ۵۴ نمونه خون ( $54/94\%$ ) الاغ با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز چندگانه تعیین گردید. آلودگی بازیا کابالی در

نمونه‌های خون با دو روش میکروسکوپی و مولکولی تعیین نشد. اختلاف معنی‌داری در میزان آلودگی تیلریا اکوبی در لاغ در ارتباط با فاکتورهای وابسته به میزبان مشاهده نشد. این اولین گزارش مطالعه مولکولی درباره پیروپلاسموز اسپی در الاغ‌های ایران می‌باشد. نتایج نشان دادند که تیلریا اکوبی در الاغ‌های خراسان شمالی شایع است.

**واژه‌های کلیدی:** بابزیا کابالی، الاغ، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، تیلریا اکوبی

## مقاله کوتاه: بازسازی سه بعدی ساعد خرگوش نیوزیلندي به وسیله توموگرافی کامپیوتری با آشکارسازهای متعدد

سما آزکادیف<sup>۱</sup>، امرالله اکن<sup>۲</sup>، کمیل بشولوک<sup>۳</sup> و مصطفی اورهان دایان<sup>۴</sup>

اگروه پرستاری، دانشکده بهداشت دانشگاه بتمن، بتمن، ترکیه؛ <sup>۳</sup>گروه آناتومی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سلجوق، کونیا، ترکیه

(دریافت مقاله: ۲۸ اسفند ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۲۹ بهمن ۱۳۹۳)

هدف از انجام این مطالعه تأیید خصوصیات بیومتریک ساعد (درشت نی و نازک نی) خرگوش نیوزیلندي به وسیله بازسازی تصاویر سه بعدی (3D) حاصل از توموگرافی کامپیوتری با آشکارسازهای متعدد (MDCT) بود. تحت بیهودی عمومی، ساعدهای تعداد ۱۶ خرگوش از هر دو جنس با استفاده از MDCT تشخیصی عمومی تصویربرداری شد. اندازه‌های بیومتریک مدل‌های بازسازی شده از تصاویر MDCT با قدرت تفکیک بالا به طور آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در نتیجه، هنگامی که مقادیر اندازه بیومتریک استخوان‌های مربوطه ساعد مقایسه شدند، تأیید شد که اهمیت آماری داخل دو جنس وجود ندارد، اما بین دو جنس تفاوت‌های مهم معنی‌داری از نظر برخی اندازه‌های بیومتریک وجود داشت. پیشنهاد شده است که نتایج حاصل از مطالعه می‌توانند مطالعات بعدی بر روی سیستم اسکلتی را روشن ساخته و نظریه جدیدی در آموزش آناتومی شکل دهند.

**واژه‌های کلیدی:** توموگرافی کامپیوتری، پیش بازو، مورفومتری، خرگوش، بازسازی سه بعدی

## مقاله کوتاه: اولین بررسی سرولوژیک تب کیو در گاومیش‌های آزاد در چین

مینگ-یانگ بین<sup>۱</sup>، کیوای-دونگ تان<sup>۱</sup>، سی-یوان کیواین<sup>۱</sup>، لینگ-بینگ هو<sup>۱</sup>،  
گوا-هوآ لیو<sup>۳</sup>، دونگ-هوای ژو<sup>۴</sup> و زینگ-کیوان ژو<sup>۴</sup>

کارشناسی علوم دامپزشکی، آزمایشگاه زیست شناسی بر پایه علت شناسی دامپزشکی، موسسه تحقیقات دامپزشکی لانژو، آکادمی علوم کشاورزی چین، لانژو، استان گانسو، چین؛ <sup>۳</sup>گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه کشاورزی هونان، چانگشا، استان هونان، چین؛ <sup>۴</sup>آزمایشگاه زیست شناسی بر پایه علت شناسی دامپزشکی، موسسه تحقیقات دامپزشکی لانژو، آکادمی علوم کشاورزی چین، لانژو، استان گانسو، چین؛ <sup>۵</sup>مرکز نوآوری جیانگسو جهت جلوگیری و کنترل بیماری‌های عفونی دام‌های مهم و بیماری‌های مشترک بین دام و انسان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ژانگزو، ژانگزو، جیانگسو، چین

(دریافت مقاله: ۴ آبان ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۱۴ دی ۱۳۹۳)

هدف از مطالعه حاضر بررسی شیوع سرمی عفونت کوکسیلا بورنتسی در گاومیش‌های آزاد در چین بود. تعداد ۵۵۲ نمونه سرمی از گاومیش‌های

استان گانسو، شمال غربی چین بین آوریل ۲۰۱۳ و ژانویه ۲۰۱۴ جمع آوری گردیده و آنتی بادی های ضد کوکسیلا بورنستی با استفاده از روش ایمونوسوربنت متصل به آنزیم (ELISA) مورد ارزیابی قرار گرفتند. به طور کلی، ۷۵/۵۵۲٪ (۱۳/۵۹٪ CI: ۱۰/۷۳-۱۶/۴۵٪) از حیوانات بررسی شده برای آنتی بادی های کوکسیلا بورنستی مشبت بودند. تفاوت عنی داری در شیوع سرمی کوکسیلا بورنستی میان گاو میش های ماده (۱۳/۷۸٪ CI: ۱۰/۳۶-۱۷/۱۹٪) و نر (۱۸/۳۶٪ CI: ۷/۸۹-۱۸/۷۸٪) وجود نداشت. شیوع سرمی کوکسیلا بورنستی در گاو میش ها در گروه های سنی مختلف در محدوده ۱۰/۸۸٪ تا ۱۵/۲۶٪ بود، ولی اختلاف از لحاظ آماری معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ). شیوع سرمی کوکسیلا بورنستی در گاو میش های سنی مختلف در محدوده ۱۲/۰۶٪ (پاییز) تا ۱۸/۳۳٪ (تابستان) بودند، اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ). این اولین گزارش از شیوع سرمی کوکسیلا بورنستی در گاو میش های آزاد در چین است که نمایانگر نیاز به اندازه گیری ها جهت کنترل عفونت کوکسیلا بورنستی در گاو میش های آزاد در چین است.

**واژه های کلیدی:** چین، کوکسیلا بورنستی، شیوع سرمی، گاو میش ها

## اثر عصاره آبی گیاه گل میمون بر مدت زمان نگهداری و کیفیت ماهی قزل آلای رنگین کمان در حالت فوق سرد

مقاله کوتاه:

اشکان جبلی جوان<sup>۱</sup>، مرضیه بلندی<sup>۲</sup>، زهره جدیدی<sup>۲</sup>، مهنوش پارسايی مهر<sup>۱</sup>  
و عباس جواهري وايقان<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران؛ <sup>۲</sup>گروه علوم و صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران؛ <sup>۳</sup>گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

(دریافت مقاله: ۲۵ اسفند ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۵ آبان ۱۳۹۳)

این مطالعه به منظور ارزیابی تاثیر غوطه وری در عصاره آبی گیاه گل میمون بر کیفیت و مدت زمان ماندگاری فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان در شرایط فوق سرد انجام شده است. در این آزمایش، نمونه های ماهی پس از غوطه ور سازی در عصاره های ۰٪ و ۳٪ گیاه گل میمون به مدت ۲۰ روز در دمای ۲- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. نمونه های تیمار شده و شاهد در فواصل معین از نظر ویژگی های شیمیایی، میکروبی و ارگانولپتیک مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که استفاده از عصاره آبی گل میمون در فیله ماهی قزل آلا به خوبی توانست پراکسیسیداسیون چربی و فساد هیدرولیتیک را در نمونه های تیمار شده با ۳٪ عصاره در مقایسه با کنترل در روز پایانی آزمایش به تاخیر بیندازد ( $P < 0.05$ ). همچنین فیله های ماهی حاوی ۳٪ عصاره آبی گل میمون از میزان شمارش میکروبی کمتری نسبت به نمونه های تیمار شده با ۱٪ عصاره آبی و شاهد در طول آزمایش برخوردار بودند ( $P < 0.05$ ). نتایج آزمون های حسی نیز نشان داد که نمونه های تیمار شده با ۳٪ عصاره حتی در روز بیستم نگهداری قابل قبول بودند. در مجموع، نتایج حاکی از آن بود که عصاره آبی گیاه گل میمون در حفظ کیفیت مطلوب نمونه های ماهی و افزایش مدت زمان نگهداری آن ها در حالت فوق سرد تاثیر بسزایی داشت که نتایج آزمون های میکروبی، شیمیایی و ارزیابی حسی به خوبی این مطلب را اثبات کردند.

**واژه های کلیدی:** کیفیت، قزل آلای رنگین کمان، گیاه گل میمون، شرایط فوق سرد، عصاره آبی

## مقاله کوتاه: فیلوژنی مولکولی برخی گونه‌های پرندگان با استفاده از آنالیز توالی ژن سیتوکروم b

اشرف فاطی سعید آواد<sup>۱</sup>، سماح رمضان السید خلیل<sup>۲</sup> و یاسمینا محمد عبدالحکیم<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>گروه توسعه فراوانی دام، دانشکده دامپزشکی دانشگاه الزقازیق، الزقازیق ۴۴۵۱۱، مصر؛ <sup>۲</sup>گروه پزشکی قانونی و سم شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه الزقازیق، الزقازیق ۴۴۵۱۱، مصر

(دربافت مقاله: ۱۹ بهمن ۱۳۹۲، پذیرش نهایی: ۶ آبان ۱۳۹۳)

شناسایی و تفیریق واقعی گونه‌های پرندگان گام حیاتی در مداخلات محافظه کارانه، تاکسونومیک، قانونی، حقوقی، و سایر مداخلات مربوط به پرنده شناسی است. از این‌رو، این مطالعه کاربرد روش مولکولی جهت شناسایی برخی گونه‌های پرندگان از قبیل ماکیان (*Gallus gallus*), اردک روسی (*Coturnix japonica*), بلدرچین ژاپنی (*Cairina moschata*)، قمری خانگی (*Streptopelia senegalensis*) و کبوتر راک (*Columba livia*) را در بر داشت. DNA ژئومی از نمونه‌های خون استخراج شد و بخشی از توالی ژن سیتوکروم b میتوکندری (۳۵۸ bp) انجام تقویت و با استفاده از پرایمرهای یونیورسال توالی یابی شدند. مسیر توالی‌ها و آنالیزهای فیلوژنی توسط برنامه workbench اصلی CLC گرفت. پنج توالی به دست آمده در بانک ژن رسوب یافته و با توالی‌های قبلاً ثبت شده در بانک ژن مقایسه شدند. درصد شباهت بین مورد مطالعه و گونه‌های بانک ژن در محدوده ۸۰/۴۶٪ تا ۸۸/۶۰٪ بین *Coturnix japonica* و *Gallus gallus* بود. درصد شناسایی بین گونه‌های *Gallus gallus* و *Anas platyrhynchos* و *Columba oenas* (۷۷/۲۰٪) تا ۱۰۰٪ (*Columba livia* و *Meleagris gallopavo*) بود. تأثیر گردید که تقویت توالی جزیی ژن سیتوکروم b میتوکندری به طور مشخص برای شناسایی گونه‌های پرندگان قابل استفاده است.

واژه‌های کلیدی: گونه‌های پرندگان، ژن سیتوکروم b، آنالیز فیلوژنیک

## گزارش علمی: هیپراستوز اسکلتی ایدیوپاتیک منتشر در یک سگ نژاد بولداگ: گزارش موردي

عباس غضنفر، ام. ان. عاصی، ام. ان. موغال،  
ام. سقیب و جی. محمد

گروه جراحی و طب بالینی، دانشکده علوم دامپزشکی دانشگاه کشاورزی، فیصل آباد، ۳۸۰۴۰، پاکستان

(دربافت مقاله: ۹ تیر ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۶ آبان ۱۳۹۳)

این گزارش موردی وجود هیپراستوز ایدیوپاتیک منتشر (DISH) در یک بولداگ جنگی را شرح می‌دهد. سگ به بیمارستان آموزشی دامپزشکی، دانشگاه کشاورزی فیصل آباد پاکستان، با ابراز شکایت از سختی در راه رفتن پیشرونده، ناتوانی در ایستادن بر روی اندام خلفی و سفتی عضله در ناحیه کمری-خاجی ارجاع داده شد. معاینات بالینی، هماتولوژی و سروبیوژیمیابی به استثنای تشکیل وسیع استخوان جدید در رادیوگرافون چهار مهره آخر پشت سر هم کمری (L4-L8) در ناحیه کمری که موازی با لیگامنت نوکال حرکت می‌کند، غیر معنی دار بودند.

تشخیص DISH بر اساس عالیم بالینی و بررسی رادیوگرافیک که پیشنهاد کننده DISH بود، انجام شد. این گزارش اولین مورد در بولداگ جنگی در پاکستان را ثبت می‌کند.

**واژه‌های کلیدی:** هیپراستوز اسکلتی ایدیوپاتیک منتشر، بولداگ جنگی، لیگامنت نوکال

## آمفیزم عمومی زیر جلدی متعاقب شکستگی غضروف کریکوئید و جداشده‌گی آن از نای در یک قلاده سگ ژرمن شپرد

بهروز نیک احوال<sup>۱</sup>، مهرزاد فرود<sup>۲</sup>، علیرضا رعایت جهرمی<sup>۱</sup>  
و محمد سعید احراری خوافی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران؛ <sup>۲</sup>دانشجوی دکترای تخصصی جراحی دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

(دریافت مقاله: ۱۳ مرداد ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۴ بهمن ۱۳۹۳)

یک قلاده سگ نژاد ژرمن شپرد با سابقه آمفیزم زیر جلدی پیشرونده عمومی متعاقب درگیری با یک سگ دیگر به بیمارستان دامپزشکی ارجاع شد. ارزیابی رادیوگرافی نشان دهنده آمفیزم زیر جلدی، نوموربتوپریتونئوم و نومومدیاستینوم و نوموربتوپریتونئوم بود. در بررسی جراحی شکستگی طولی غضروف کریکوئید و جدایی آن از نای واضح بود. شکستگی غضروف مورد بخیه قرار گرفت و نای توسط بخیه‌های ساده تکی به غضروف کریکوئید اتصال داده شد. موقع همزمان شکستگی کریکوئید و جداشده‌گی آن از نای در منابع دامپزشکی گزارش نشده است. از این رو این نوع ضایعه به عنوان یکی از علتهای آمفیزم زیر جلدی به دنبال ترومای خارجی ناحیه حنجره می‌تواند مد نظر قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** شکستگی غضروف کریکوئید، جداشده‌گی نای، آمفیزم زیر جلدی