

مطالعه بیماری‌های باکتریایی مزارع تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین کمان در استان مازندران

مهدی سلطانی^{۱*}، مریم حاضری^۲، عیسی شریف پور^۳، سید سعید میرزدگر^۱، پولین شهره^۱

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

۲- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۳- بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۹ مهر ۱۳۹۱ | تاریخ دریافت: ۳۱ تیر ۱۳۹۱

چکیده

عفونت‌های باکتریایی ۶ مزارع از مزارع قزل‌آلای استان مازندران واقع در حاشیه رودخانه هراز در طی سه فصل بهار و تابستان و پاییز سال ۱۳۹۰ مورد مطالعه قرار گرفت. برای این منظور در هر فصل ۲ مرتبه و هر مرتبه از تعداد ۱۰ نمونه ماهی بیمار نمونه‌گیری بعمل آمد. مشاهدات بالینی، کالبدگشایی، انجام کشت باکتریایی و شناسایی جدایه‌های باکتریایی جداسازی شده مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که از نظر بالینی در کالبدگشایی ماهیان مبتلا و مورد نمونه‌گیری، علائم خونریزی در روده‌ها، کبد کم رنگ و گاهی خال دار و نیز تجمع مایع خونی در محوطه شکمی قابل مشاهده بود. در مطالعات باکتری شناسی، از مجموع ۳۶۰ نمونه ماهی مورد آزمایش از تعداد ۱۸۱ نمونه آنها عوامل باکتریایی گرم مثبت و منفی جداسازی گردید. که از این تعداد ۱۴۹ جدایه آن را کوکسی‌های گرم مثبت شامل استرپتوکوس اینیایی (۵۱ جدایه)، لاکتوکوکوس گارویه (۷ جدایه) و استافیلکوکوس (گونه‌های ارئوس و اپیدرمیدیس ۹۱ جدایه) و ۳۹ مورد را باکتری‌های گرم منفی شامل آئروموناس هایدروفیلا (۲۰ جدایه)، پرسینیا راکری (۱۴ جدایه) و ویریو آنگوئیلاروم (۵ جدایه) تشکیل داد. در آزمایشات آنتی بیوگرام همه جدایه‌های باکتریایی فوق الذکر نسبت به انروفلورکساسین و فلمکوئین حساس بودند. در حالی که درجه حساسیت آن‌ها به پنی سلین و اریتروماسین متفاوت بود. فراولی کل ابتلا مزارع تحت مطالعه به عفونت‌های باکتریایی فوق الذکر برابر ۵۲/۲۲ درصد و بیشترین فراوانی کل مزارع به عفونت‌های ناشی از استافیلکوکوزیس (۲۵/۲۷ درصد) و استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس (۱۶/۱۰ درصد) که دارای علائم کوری، بیرون زدگی چشم، تیرگی پوست، تورم شکم و پرولاپس مخرج و کاهش تحرک بودند) بود. بعلاوه فراوانی فصلی ابتلا مزارع فوق الذکر به عفونت‌های باکتریایی مذکور در فصول بهار، تابستان و پاییز به ترتیب ۴۰/۸۳ و ۴۰/۶۶ و ۴۹/۱۶ درصد بود. نتایج این تحقیق بیانگر بروز بیماری‌های باکتریایی متنوعی در مزارع قزل‌آلای حاشیه رودخانه هراز می‌باشد.

کلمات کلیدی: رودخانه هراز، قزل‌آلای رنگین کمان، عفونت‌های باکتریایی

*نویسنده مسئول: مهدی سلطانی

آدرس: گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. تلفن: ۰۲۱-۶۱۱۷۰۹۴

پست الکترونیک: msoltani@ut.ac.ir

مقدمه

خود جای داده است. از طرف دیگر جاده هراز، رستوران‌ها و روستاهای موجود در حاشیه این رودخانه آن را به یکی از پرترددترین مناطق توریستی کشور تبدیل نموده است. وجود عوامل مذکور موجب افزایش بار آلودگی‌های رودخانه و در نتیجه افزایش خطرات ناشی از ابتلا مزارع قزل‌آلای منطقه به بیماری‌های عفونی بویژه عوامل باکتریایی گردیده است. لذا با توجه به مطالعات قبلی بعمل آمده (۶) و نیز ارسال مکرر نمونه‌های ماهیان مزرعه داران منطقه به آزمایشگاه میکروبیولوژی آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، در این مطالعه تلاش شده تا با انجام بررسی‌های بالینی و نمونه‌برداری از تعدادی از مزارع مذکور در طی سه فصل سال ۸۷ (ایام مخاطره آمیز به دلیل افزایش حجم تردد و توریسم و تغییر کیفیت آب مانند افزایش دما و افزایش تراکم) به بررسی بیماری‌های باکتریایی احتمالی در منطقه پرداخته شود تا زمینه‌های لازم برای اقدامات پیش‌گیری و درمانی را فراهم نماید.

مواد و روش کار

عملیات نمونه‌گیری طی یک دوره ۹ ماهه و در طی سه فصل بهار، تابستان و پاییز سال ۱۳۸۷ انجام گرفت. به منظور اخذ نمونه‌های مورد نظر با مراجعه به کارگاه‌های قزل‌آلای منطقه و پس از بررسی‌های اولیه بالینی از نمونه‌های ماهیان زنده با علامت بالینی بیماری از جمله بیرون زدگی چشم، تیره شدن پوست، زخم‌های پوستی، تورم شکم نمونه‌گیری بعمل آمده و نمونه‌ها در کنار یخ طی فاصله زمانی کمتر از ۲۴ ساعت به آزمایشگاه میکروبیولوژی آبزیان گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل گردید. با توجه به وجود تعداد قابل توجه مزارع پرورش قزل‌آلای در منطقه جاده هراز، فقط از ماهیان

اگر چه صنعت آبزی پروری در ایران طی سال‌های اخیر از رشد قابل توجهی برخوردار بوده است اما به موازات این توسعه با مشکلاتی نیز مواجه شده است. یکی از چالش‌های مواجه شده در این زمینه بروز بیماری‌های عفونی بویژه با منشاء ویروسی و باکتریایی می‌باشد (۹). بروز و شیوع بیماری‌های مذکور در برخی مناطق کشور بویژه در صنعت قزل‌آلای بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (۷ و ۸). بطوري که تاکنون بیماری‌هایی نظیر نکروز عفونی بافت‌های خون ساز (IHN) استرپتوکوکوزیس، لاکتوکوکوزیس، یرسینیوزیس، سپتی سمی‌های ناشی از آئروموناس‌های متحرك در برخی از مزارع قزل‌آلای کشور شناسایی و تأثید شده است (۱، ۲، ۳، ۶، ۷ و ۸). بررسی‌های اولیه بعمل آمده نشان می‌دهد که افزایش موارد شیوع برخی بیماری‌های فوق بویژه در مناطقی که از آب رودخانه استفاده می‌شود یا احتمال انتقال آلودگی‌های ناشی از فاضلاب انسانی و دامی به آب مزارع ماهی وجود دارد مرتبط است (۷ و ۲). یکی از مناطق مستعد به بروز بیماری‌های با منشاء باکتریایی، مزارع پرورش قزل‌آلای واقع در حاشیه جاده هراز می‌باشد زیرا به علت تردد بالای گردشگران، وجود رستوران‌ها و روستاهای حاشیه رودخانه و نیز نزدیکی مزارع پرورش ماهی به یکدیگر، همواره احتمال بروز این بیماری‌ها وجود دارد. مطالعات اپیدمیولوژیک نظیر منع، راه انتقال و شرایط استرس- زای در گیر دریماری زایی عوامل مولد بیماری‌هایی نظیر استرپتوکوکوزیس، لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس بیانگر فراهم بودن شرایط لازم و مستعد برای بروز بیماری‌های ناشی از آنها می‌باشد (۲، ۴ و ۱۱). رودخانه هراز یکی از منابع آبی است که تعداد قابل توجهی مزرعه تکثیر و پرورش قزل‌آلای را در حاشیه



مطالعه بیماری‌های باکتریایی مزارع...۳

در هر مرتبه تعداد ۱۰ نمونه ماهی (مجموعاً تعداد ۳۶۰ نمونه) با علائم بالینی بیماری اخذ شد. از نظر وزنی ماهی‌یری شده در دامنه وزنی ۵ تا ۲۵۰ گرم قرار داشتند.

بیمار ۶ مزرعه مورد مطالعه که مکان استقرار آن‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است نمونه‌گیری به عمل آمد. از هر مزرعه در هر فصل ۲ مرتبه (ابتدا و انتهای فصل) و



شکل ۱: مکان استقرار مزارع پرورش ماهی در تحقیق حاضر

ساعت نگهداری گردید. سپس از پرگنه‌های رشد یافته ابتدا رنگ‌آمیزی گرم بعمل آمد. پس از طبقه‌بندی باکتری‌های جدا شده در دو گروه باکتری‌های گرم منفی و مثبت، از آزمایشات باکتری‌شناسی روتین توصیه شده توسط Austin و همکاران (۲۰۰۷) و Russo و همکاران (۲۰۰۶) برای شناسایی در حد جنس و گونه اقدام شد. از جمله آزمایش‌های مذکور می‌توان

پس از انتقال نمونه‌های زنده یا به صورت تازه در کنار یخ به آزمایشگاه، در شرایط استریل و با استفاده از چاقوی حرارت دیده و انجام برش عرضی در ناحیه پشتی ماهیان و دسترسی به بافت کلیه از این اندام نمونه‌گیری و در محیط تریپتیک سویا آگار حاوی و بدون خون گوسفند کشت داده شد و نمونه‌های کشت داده شده در دماهای ۲۵-۳۰ سانتیگراد به مدت تا ۷۲ ساعت در محل ساخت امدازه هاتم

علائمی از جمله خونریزی و پرخونی در اندام‌های داخلی، پرخونی روده، کبد کم رنگ و گاهی خالدار را نشان می‌دادند. در برخی از نمونه‌ها نیز تجمع مایع خونی در محوطه شکمی قابل مشاهده بود.

نتایج حاصل از مطالعات باکتری‌شناسی در جداول ۱ و ۲ آمده است. بطور کلی از تعداد ۳۶۰ نمونه اخذ شده، ۱۸۸ نمونه مبتلا به سپتی سمی باکتری‌ای بودند که از این تعداد، میزان ۱۴۹ مورد باکتری‌های کوکسی گرم مثبت و تعداد ۳۹ مورد باکتری‌های میله‌ای گرم منفی را شامل شد. تنها در یک مورد از نمونه‌های مورد مطالعه عفونت‌های هم زمان (جداسازی ۲ نوع باکتری متفاوت گرم منفی و مثبت) مشاهده گردید.

براساس نتایج جدول شماره ۱ جدایه‌های باکتری‌ای بددست آمده را می‌توان در سه جنس/استرپتوكوکوس، لاکتوکوکوس و استافیلوکوکوس طبقه‌بندی نمود به طوری که تعداد ۵۱ جدایه متعلق به جنس استرپتوكوکوس، ۷ جدایه متعلق به جنس لاکتوکوکوس و ۹۱ جدایه متعلق به جنس استافیلوکوکوس می‌باشد. با توجه به آزمایشات بیوشیمیایی بعمل آمده (جدول ۱) جدایه‌های باکتری‌های مذکور را می‌توان تحت عنوان استرپتوكوکوس اینیاچی (۵۱ جدایه)، لاکتوکوکوس گارویه (۷ جدایه)، استافیلوکوکوس ارئوس (۶۶ جدایه) و استافیلوکوکوس اپیدرمیکیس (۲۵ جدایه) معرفی نمود.

به اکسیداز، کاتالاز، O/F، اندل، MR، VP، اوره، تحرک، سیمون سیترات، همولیز، اسکولین، نیترات مصرف قندهای سوربیتول، سالیسین، مانیتول، گلوکز، تری هالوز، دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه آرژنین، لیزین و اورنیتین اشاره نمود. پس از کشت باکتریایی از نمونه ماهیان نسبت به کالبد گشایی آنها اقدام و علائم غیر طبیعی نیز یادداشت می‌گردید.

با توجه به عملیات درمانی در کارگاه‌های منطقه به منظور ارزیابی میزان حساسیت باکتری‌های جدا شده از آنتی بیوتیک‌های اریتروماسین (۱۵ میکروگرم)، ازووفلوكسازین (۵ میکروگرم)، فلمکوئین (۳۰ میکروگرم) و پنی‌سیلین (۱۰ واحد) (داروهای متداول مورد استفاده در منطقه) برای آزمایش آنتی بیوگرام استفاده شد. آزمایش آنتی بیوگرام به روش دیسک و در دمای ۲۵ سانتیگراد انجام و نتایج حاصله (اندازه گیری قطر ممانعت کنندگی) پس از ۲۴ ساعت از کشت قرائت شد.

فراآنی کل، فراآنی فصلی و فراآنی هر یک از گونه‌های باکتری‌ای شناسایی شده در مزارع تحت مطالعه نیز مورد محاسبه قرار گرفت. نتایج حاصله با استفاده از نرم افزارهای Excel و SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

بطور کلی از نظر بالینی ماهیان مبتلا و نمونه‌گیری شده دارای علائم بیرون زدگی چشم، کوری، گاهی بیرون زدگی چشم‌ها همراه با خون ریزی، تیرگی پوست، تورم شکم، پرولاپس مخرج همراه با پرخونی، عدم تحرک یا کمی تحرک و خونریزی در قاعده باله‌ها بودند. در کالبد گشایی این ماهیان، کم و بیش

جدول ۱: نتایج مطالعات جدایه‌های گرم مثبت بدست آمده از ماهیان قزل آلای بیمار از مزارع جاده هراز

آزمایش	سیجون میترات	نوع هموبیوتیک	سالیپین	تری‌هالوز	سوربیتول	مالتوز	ماتیبول	تولید اسید از: گلکوکتر	آرسکولین	ارینین دکربوکسیداز	H ₂ S	O/F	TSI	کاهش نیترات	آرژینین دکربوکسیداز	آرژینین دکربوکسیداز	آندول	کاتالاز	اکسیداز	تحرک	رنک آمیزی گرم			
آزمایش	سیجون میترات	نوع هموبیوتیک	سالیپین	تری‌هالوز	سوربیتول	مالتوز	ماتیبول	تولید اسید از: گلکوکتر	آرسکولین	ارینین دکربوکسیداز	H ₂ S	O/F	TSI	کاهش نیترات	آرژینین دکربوکسیداز	آرژینین دکربوکسیداز	آندول	کاتالاز	اکسیداز	تحرک	رنک آمیزی گرم			
آزمایش	سیجون میترات	نوع هموبیوتیک	سالیپین	تری‌هالوز	سوربیتول	مالتوز	ماتیبول	تولید اسید از: گلکوکتر	آرسکولین	ارینین دکربوکسیداز	H ₂ S	O/F	TSI	کاهش نیترات	آرژینین دکربوکسیداز	آرژینین دکربوکسیداز	آندول	کاتالاز	اکسیداز	تحرک	رنک آمیزی گرم			
SI-T	= استریپکوکوس اینیایی نمونه‌های آزمایش،	SI-R	= لاكتوکوکوس گارویه نمونه‌های آزمایش،	LG-T	= لاكتوکوکوس گارویه رفننس،	LG-R	= استریپکوکوس اینیایی رفننس،	SE-T	= استافیلکوکوس آوروس رفننس،	SE-R	= استافیلکوکوس اپیدرمیدیس (Austin et al., 1999)													
SA-R	= استافیلکوکوس آوروس رفننس،																							

اریترومایسین، انروفلوکسازین و فلمکوئین حساس بودند. همچنین جدایه‌های استافیلکوکوس ارئوس به ترتیب به آنتی بیوتیک‌های انروفلوکسازین و فلمکوئین حساس و نسبت به پنی سیلین و اریترومایسین مقاوم بودند. جدایه‌های استافیلکوکوس اپیدرمیدیس به ترتیب به آنتی بیوتیک‌های انروفلوکسازین و فلمکوئین حساس و نسبت به پنی سیلین و اریترومایسین مقاوم بودند.

علاوه جدایه‌های شبه یرسینیا راکری به ترتیب به آنتی بیوتیک‌های فلمکوئین، انروفلوکسازین و اریترومایسین حساس و نسبت به پنی سیلین مقاوم بودند. در حالی که جدایه‌های شبه آئروموناس هیدروفیلا به ترتیب به آنتی بیوتیک‌های انروفلوکسازین و فلمکوئین حساس و نسبت به پنی سیلین، اریترومایسین مقاوم بودند. علاوه جدایه‌های شبه ویریو آنگوئیلاروم به

براساس نتایج جدول ۲ جدایه‌های باکتریایی گرم منفی جداسازی شده را می‌توان در سه جنس یرسینیا (۱۴ جدایه)، ویریو (۵ جدایه) و آئروموناس (۲۰ جدایه) طبقه‌بندی نمود. با توجه به آزمایشات بیوشیمیایی بعمل آمده (جدول ۲) جدایه‌های باکتریایی مذکور جدا شده را می‌توان تحت عنوان یرسینیا راکری (۱۴ جدایه)، ویریو آنگوئیلاروم (۵ جدایه) و آئروموناس هیدروفیلا (۲۰ جدایه) قابل معرفی است. نتایج حاصل از مطالعات آنتی بیوگرام در جدول ۳ آمده است. براساس این نتایج جدایه‌های استریپکوکوس اینیایی به ترتیب به آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین، اریترومایسین، انروفلوکسازین و فلمکوئین حساس بودند. علاوه جدایه‌های لاكتوکوکوس گارویه نیز به ترتیب به آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین،

جدول ۲: نتایج مطالعات باکتری شناسی جدایه‌های گرم منفی بدست آمده‌از ماهیان قزل الای بیمار از مزارع جاده هراز

آزمایش	YR-T	YR-R	AH-T	AH-R	VA-T	VA-R
رنگ آبیزی گرم	-	-	-	-	+	+
تحرک	+	+	+	+	+	+
اسیداز	+	+	+	+	-	-
کاتالاز	+	+	+	+	+	-
اندول	+	+	+	-	-	-
میل رد	+	+	+	+	+	-
واکنش و گس-پروکسور	+	-	+	+	+	+
O/F	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
TSI	ac/ac	ac/ac	al/al	al/al	al/ac	al/ac
کاهش نیترات	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	-	+	+	-	+	+
آرژینین دکربوکسیداز	+	-	+	+	-	+
ارتئین دکربوکسیداز	-	-	-	-	-	-
آسکولین	+	+	+	-	+	+
اوره	-	-	-	-	-	-
نولید اسید از: گلوكز	(+)	(+)	+	+	+	+
ماتنول	(+)	(+)	+	+	+	+
مالتوز	(+)	(+)	+	+	+	+
سوربیتول	+	-	-	-	+	-
تری‌الالوز	+	+	+	+	+	+
سالیسین	+	+	-	-	(+)	(-)
نوع هموپتیک	-	-	-	-	-	-
سیمون سیرات	+	-	+	+	+	+

= پرسینیا راکری نمونه‌های آزمایش، YR-R = پرسینیا راکری رفرنس، AH-T = آئروموناس هیدروفیلا نمونه‌های آزمایش
 = آئروموناس هیدروفیلا رفرنس، VA-T = ویریو آنکوئیلاروم نمونه‌های آزمایش، VA-R = ویریو آنکوئیلاروم رفرنس (Austin et al., 1999).

جدول ۳: نتایج آنتی بیوگرام ایزوله‌های باکتری‌های بدست آمده از ماهیان مبتلا در مزارع قزل الای رتگین کمان جاده هراز

ایزوله باکتری	پنی سلین	ارتیروماپسین	افروفلورکسازین	فلوموکولین	قطر مساعده کشندگی (میلی متر)
استرپوکوکوس اینیابی	۲۷(۱۶)	۲۷(۱۶)	۲۸(۵)	۱۵(۱۶)	۲۸(۵)
	۴۰(۳۹)	۳۰(۱۷)	۲۵(۲۱)	۲۲(۲۶)	۳۰(۱۷)
	۳۷(۷)	۳۲(۷)	۲۴(۷)	۱۷(۱۸)	۲۴(۷)
	۴۳(۵)	۳۶(۶)	۲۳(۹)	۱۶(۹)	۲۳(۹)
	۴۳(۵)	۲۵(۵)	۲۲(۹)	۱۲(۲)	۲۲(۹)
لاکتوکوکوس گارویه	۴۰(۷)	۳۵(۷)	۲۵(۷)	۲۰(۷)	۲۰(۷)
استافیلکوکوس آرنس	(۶۶)R	(۶۶)R	(۶۶)R	۴۴(۷)	۳۴(۷)
	(۶۶)R	(۶۶)R	(۶۶)R	۴۰(۱۶)	۴۴(۷)
	(۶۶)R	(۶۶)R	(۶۶)R	۴۰(۴)	۴۴(۷)
	(۶۶)R	(۶۶)R	(۶۶)R	۳۵(۱۲)	۳۴(۱۶)
	(۶۶)R	(۶۶)R	(۶۶)R	۳۸(۲۴)	۴۰(۹)
	(۶۶)R	(۶۶)R	(۶۶)R	(۶۶)R	۳۳(۱۶)
استافیلکوکوس اپدرمیدیس	(۲۵) R	(۲۵) R	(۲۵) R	۴۰(۶)	۴۰(۹)
برسینیا راکری	(۸) R	(۸) R	(۸) R	۳۰(۸)	۳۷(۸)
آئروموناس هیدروفیلا	(۲۰) R	(۲۰) R	(۲۰) R	۴۰(۲۰)	۳۸(۲۰)
ویریو آنکوئیلاروم	(۵) R	(۵) R	(۵) R	(۵) R	(۵) R

* اعداد داخل پرانتز بیانگر تعداد جدایه‌های باکتریابی آزمایش شده می‌باشد.

= استرپوکوکوس اینیابی، T=SA-T = استافیلکوکوس اپدرمیدیس، SE-T = استافیلکوکوس اپدرمیدیس، LG-T = لاکتوکوکوس گارویه، YR-T = پرسینیا راکری، AH-T = آئروموناس هیدروفیلا، VA-T = ویریو آنکوئیلاروم

مطالعه بیماری‌های باکتریایی مزارع...۷

عفونت‌های باکتریایی یادشده برابر ۲۲/۵۲٪ و نیز فراوانی کل مزارع به هر یک از عفونت‌های ناشی از گونه‌های اینیایی، گارویه، ارئوس، اپیدرمیدیس، راکری، انگوئیلاروم و هایدروفیلا به ترتیب برابر ۱۶/۱۴، ۳/۳۳، ۱/۹۴، ۱۸/۳۸، ۶/۹۴، ۵/۵۵ درصد بوده است. بعلاوه فراوانی فصلی ابتلا به عفونت‌های مذکور در فصول بهار، تابستان و پاییز به ترتیب ۴۰/۸۳، ۴۹/۱۶ و ۶۶/۶۶ درصد برآورد گردیده است.

اریترومایسین حساس و به پنی‌سیلین، انروفلوکسازین و فلمکوئین مقاوم بودند. بررسی میزان فراوانی ابتلا مزارع تحت مطالعه به عفونت‌های باکتریایی مذکور و نیز فراوانی این مزارع به هریک از بیماری‌های استرپتوکوزیس، لاکتوکوزیس، یرسینیوزیس، سپتی سمی ناشی از آئروموناس‌های متحرك و ویبریوزیس در جدول ۴ نشان داده شده است. با توجه به نتایج مذکور فراوانی ابتلا مزارع تحت مطالعه به

جدول ۴؛ فراوانی مزارع قزل آلای برونشی مورد مطالعه در جاده هراز از نظر ابتلا به بیماری‌های باکتریایی با تأکید بر استرپتوکوس اینیایی، لاکتوکوس گارویه، استافیلکوکوس ارئوس، استافیلکوکوس اپیدرمیدیس، ویبریو آنگوئیلاروم و آئروموناس هایدروفیلا طی ۳ فصل نمونه‌گیری بهار، تابستان و پاییز

درصد فراوانی کل	پاییز										تابستان										مزرعه	
	VA	YR	AH	LG	SE	SA	SI	VA	YR	AH	LG	SE	SA	SI	VA	YR	AH	LG	SE	SA	SI	
۴۴/۴۴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱۲	-	-	-	-	-	-	-	۱	
۴۰	-	-	-	-	۹	-	-	-	-	۲	-	-	۱۰	-	-	-	-	-	-	-	۲	
۷۰	-	۱۴	-	-	۹	-	-	-	-	۹	-	-	۴	-	-	-	-	-	-	-	۴	
۴۴/۴۴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	-	۷	۶	۶	-	-	-	-	-	۱	۴	
۱۱/۲۱	-	-	-	۷	-	-	۶	-	-	-	-	-	۴	۹	-	-	-	-	۹	۹	۵	
۶۰	۵	-	-	-	-	-	۹	-	-	-	-	-	-	۱۲	-	-	-	-	-	۸	-	۶
۴/۱۶	۱۱/۱۱	-	۵/۸۴	۱۵	-	۱۲/۵	-	-	۱۰	-	۵/۸۴	۲۸/۴۴	۲۲/۵	-	-	۶/۱۱	-	-	۲۶/۱۱	۷/۵	درصد فراوانی	
۴۹/۱۶										۱۱/۱۱										درصد فراوانی کل		
																				درصد فراوانی کل		

= استرپتوکوس اینیایی، LG-T = لاکتوکوس ارئوس گارویه، SA-T = استافیلکوکوس آنوروس، YR-T = یرسینیا راکری، SE-T = استافیلکوکوس اپیدرمیدیس، آئروموناس هایدروفیلا، VA-T = ویبریو آنگوئیلاروم، VA = ویبریو آنگوئیلاروم.

۳- در فصل پاییز: فراوانی ابتلا مزارع به گونه‌های اینیایی، اپیدرمیدیس، گارویه، راکری و آنگوئیلاروم به ترتیب برابر ۱۲/۵، ۱۵، ۵/۸۳، ۱۵، ۱۱/۶۶ و ۴/۱۶ درصد بوده است.

با توجه به نتایج مذکور بیشترین موارد ابتلا در فصل تابستان با فراوانی ۶۶/۶۶ درصد و کمترین آن در فصل بهار با فراوانی ۴۰/۸۳ درصد می باشد. بعلاوه بیشترین موارد ابتلا به ترتیب مربوط به استافیلکوکوس ارئوس، استرپتوکوس اینیایی، استافیلکوکوس اپیدرمیدیس،

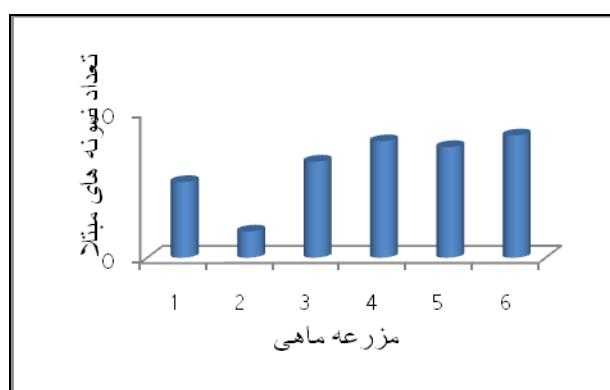
همچنین فراوانی فصلی ابتلا مزارع به هریک از گونه‌های باکتریایی مورد اشاره به شرح زیر بوده است:
 ۱- در فصل بهار: فراوانی ابتلا مزارع به گونه‌های اینیایی، ارئوس و هایدروفیلا به ترتیب ۷/۵، ۷/۵ و ۶/۶ درصد بوده است.

۲- در فصل تابستان: فراوانی ابتلا مزارع به گونه‌های اینیایی، ارئوس و هایدروفیلا به ترتیب برابر ۲۲/۵، ۲۲/۵ و ۱۰ درصد بوده است.

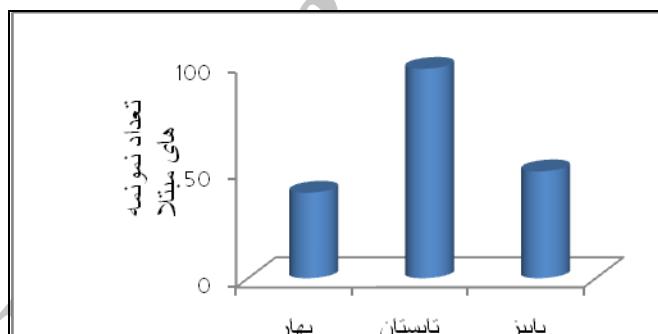


میزان آلدگی هر یک از مزارع تحت مطالعه بر حسب تعداد نمونه ماهی مبتلای اخذ شده در نمودار ۱ آمده است بطوریکه بیشترین و کمترین آلدگی به ترتیب مربوط به مزارع ۴ و ۲ می باشد. علاوه بطور کلی میزان موارد ابتلا در مزارع پائین دست رودخانه بیشتر از مزارع بالا دست بوده است.

یرسینیا راکری، آثروموناس هایدروفیلا، لاکتوکوکوس گارویه و ویریوآنکوئیلاروم بوده است. همچنین موارد میزان ابتلای کلی مزارع تحت مطالعه در سه فصل مورد مطالعه در نمودار ۲ نشان داده شده است بطوری که موارد ابتلا در فصل تابستان برابر مجموع موارد ابتلا در دو فصل بهار و پاییز بوده است.



نمودار ۱: میزان آلدگی (تعداد نمونه‌های مرضی) ایستگاه‌های مورد مطالعه به باکتری‌های شناسایی شده در تحقیق حاضر در فصول نمونه‌برداری



نمودار ۲: میزان آلدگی ایستگاه‌های مورد مطالعه به باکتری‌های شناسایی شده در این تحقیق در فصول نمونه‌برداری

استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس جداسازی گردید. بروز بیماری‌های باکتریایی متعدد در جاده هراز از زوایای مختلف قابل بررسی است. با توجه به شرایط جغرافیایی منطقه و پشت سر هم قرار گرفتن مزارع قزل‌آلا بطوری که آب مزارع بالا دست برای مزارع پائین دست مورد استفاده قرار می‌گیرد براحتی زمینه انتقال عامل یک بیماری را به مزارع سالم فراهم می‌آورد. بطوری که در این مطالعه میزان ابتلا مزارع

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که برخی مزارع قزل‌آلای جاده هراز با مشکل بیماری‌های باکتریایی از جمله استرپتوکوکوزیس، لاکتوکوکوزیس، استافیلوکوکوزیس، یرسینیوزیس و سپتی سمی ناشی از آثروموناس‌های متحرک درگیر می‌باشند، زیرا عوامل بیماری‌های مذکور در موارد متعددی از ماهیان با علائم بالینی و مرضی بویژه عوامل

بعلاوه در ایام تابستان دمای آب کارگاه‌ها قدri افزایش می‌یابد که خود به رشد و تکثیر عوامل بیماری‌های مذکور کمک می‌نماید. در این مطالعه موارد بروز استافیلوکوکوزیس، استرپتوکوکوزیس و سپتی سمی آئروموناسی به مراتب بیشتر از سایر بیماری‌های باکتریایی شناسایی شده بود. علل متفاوتی می‌تواند در این زمینه مطرح شود. باکتری‌های عامل این بیماری‌ها نسبت به تغییرات شرایط محیطی مانند نوسانات درجه حرارت و pH از مقاومت بیشتری برخوردارند، لذا میزان پایداری و بقاء آنها در محیط‌های آبی بیشتر است. بعلاوه فاضلاب‌های انسانی و دامی از مخازن عمدۀ این باکتری‌ها محسوب می‌شود (۱۲). قابل ذکر است که اگر چه بیشترین موارد باکتری‌های جداسازی شده متعلق به جنس استافیلوکوکوس بود اما با توجه به اینکه موارد گزارش‌های مربوط به استافیلوکوکوزیس را تحت عنوان عفونت‌های ثانویه قلمداد می‌کند لذا افزایش قابل توجه این گونه عفونت‌ها بیانگر پائین بودن سطح بهداشت مزارع است (۲).

لذا با توجه به توریستی بودن منطقه و وجود روستاهای و رستوران‌ها و حجم بالای تردد جاده‌ای، همواره احتمال آلودگی رودخانه به این گونه باکتری‌های بیماری‌زا برای مزارع قزل آلا وجود دارد، بویژه در فصل تابستان که کارگاه‌ها با مشکل کمبود منابع آبی، افزایش میزان توریست در منطقه و افزایش فعالیت‌های کشاورزی و انسانی مواجه‌اند. همچنین نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که فراوانی بیماری‌های باکتریایی مذکور از مزارع بالا دست به طرف مزارع پایین دست از روند افزایشی برخوردار بوده است که علت آن ناشی از افزایش عوامل آلاینده در بخش‌های پایینی رودخانه می‌باشد و از آنجاکه تعداد قابل توجیهی کارگاه تکثیر و پرورش (حدود ۲۸ کارگاه فعال) در منطقه وجود دارد

پائین دست بیشتر از مزارع بالا دست بوده است (نمودار ۱). بعلاوه با توجه به اینکه منطقه هراز و جاده ارتباطی مربوطه به عنوان یکی از محورهای بسیار پر تردد و توریستی کشور محسوب می‌شود که با احداث رستوران‌ها و محل‌های استراحتی متعدد در حاشیه و حتی حريم رودخانه زمینه بروز و افزایش آلودگی‌های رودخانه را بیش از پیش فراهم نموده است و از آنجائی که منابع و مخازن برخی از عوامل بیماری‌های باکتریایی مذکور جانواران خونگرم و فاضلاب‌های ناشی از آن‌ها می‌باشد، لذا کمک زیادی به شیوع این بیماری‌ها می‌نماید. برای مثال جانورانی نظیر گاو، سگ، گربه، انسان، موش به عنوان برخی مخازن عوامل استرپتوکوکوزیس، لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس در ماهیان شناخته شده است (۱۰) و بعلاوه از آنجائی که چاه‌های فاضلاب بسیاری از رستوران‌ها و روستاهای حاشیه این رودخانه فاقد سیستم سپتیک می‌باشد لذا احتمال انتقال عوامل بیماری‌زای مذکور را به مزارع قزل آلای منطقه فراهم می‌آورد. همچنین نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که فراوانی درگیری مزارع تحت مطالعه به بیماری‌های باکتریایی فوق الذکر در ایام تابستان و پاییز به مراتب بیشتر از فصل بهار است. یکی از علل فراوانی بالای این بیماری‌ها در تابستان و اوایل پاییز می‌تواند ناشی از کاهش حجم دبی رودخانه و در نتیجه کاهش دبی آب ورودی به مزارع قزل آلا باشد. زیرا در سال مورد مطالعه بارندگی‌های بهاری به مراتب بیشتر از فصول تابستان و اوایل پاییز بوده است. افزایش بارندگی موجب طغیان رودخانه و در نتیجه موجب شستشو و نظافت آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از توریسم در حاشیه آن می‌شود و در نتیجه به حذف عوامل بیماری‌زا کمک قابل توجیهی می‌نماید.



بیماری‌های عفونی از جمله بیماری‌های مذکور کمک می‌نمایند. همچنین بروز ویربوزیس در برخی مزارع جاده هراز بیانگر استفاده غذاهای دریابی خام مانند کیلکا می‌باشد که زمینه انتقال عامل بیماری را به مزارع آب شیرین فراهم می‌آورد. بهر حال با توجه به اینکه ویربوزیها باکتری‌های آب شور هستند تداوم بیماری حاصل از آن‌ها در آب‌های شیرین قابل توجه بالا نمی‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعات با حمایت مالی (اعتبار ویژه) معاونت پژوهشی دانشگاه تهران انجام گرفته است. همچنین مؤلفین لازم می‌دانند از مساعدت و همکاری صاحبان مزارع قزل آلای مورد مطالعه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

1. Alishahi, M., Soltani, M., Zargar, A. (2009). Study of bacterial agents associated with grass carp (*C. idella*) mortality in Khozestan province, Iran. *Iranina Journal of Veterinary Medicine* **1**: 25-9.
2. Austin, B., Austin, D. (2007). *Bacterial fish pathogens. Disease in farmed and wild fish.* Praxis Publishing, Chichester: 238-42; 245-72.
3. Fallahi, R., Soltani, M., Kargar, R., Zorriehzahra, M.E.J., Shchelkunov I., Hemmatzadeh, F., Nouri, A. (2003). Isolation and identification of the infectious haematopoietic necrosis virus (IHNV)-like agent from farmed rainbow trout (*O. mykiss*) from Iran. *Archives of Razi Institutes* **56**: 37-45.
4. Furones, M.D., Rodgers, C.J., Munn, C.B. (1993). *Yersinia ruckeri*, the causal agent of enteric red mouth disease (ERM) in fish. *Annual Review in Fish Diseases* **3**: 103-25.

و همگی از یک منبع آبی (یعنی رودخانه هراز) استفاده می‌نمایند، لذا همواره مزارع پایین دست در معرض خطر بالاتری قرار دارند. با توجه به مکانیسم‌های بیماری‌زاگی عوامل باکتری‌ای مورد مطالعه در این تحقیق خسارات حاصله می‌تواند قابل توجه باشد، زیرا بروز بیماری‌های مذکور بویژه در سنین پرورادی قابل توجه است، بطوری که در این مطالعه نیز بیشترین موارد مرضی در سنین بالای ۱۵ گرمی تا ۲۵۰ گرمی بوده است. به هر حال برآورد خسارات اقتصادی ناشی از این بیماری‌ها در کارگاه‌های قزل آلا جاده هراز نیازمند مطالعات بعدی است. نتایج مطالعات قبلی بعمل آمده (۵، ۶ و ۸) همراه با نتایج مطالعات حاضر بیانگر درگیری مزارع قزل آلا منطقه هراز به برخی بیماری‌های باکتری‌ای بویژه استرپتوکوکوزیس، لاکتوکوکوزیس و سپتی سمی آئروموناسی می‌باشد. بنابراین با توجه به شرایط اکولوژیکی منطقه و رودخانه، شرایط گردشگری، وجود روستاهای و رستوران‌های متعدد و وضعیت قرار گرفتن کارگاه‌های قزل آلا در مسیر رودخانه لزوم اتخاذ اعمال مدیریت بهداشتی واحد و منسجم را نمایان می‌سازد. در این راستا توجه به منابع آلاینده و آلوده‌کننده آب رودخانه مانند سپتیک کردن فاضلاب‌های انسانی و دامی و جلوگیری از نفوذ آن‌ها به آب رودخانه، ارتقاء بهداشت عمومی و محیط زیست، پیش‌گیری از بروز شرایط استرس‌زا در مزارع از طریق رعایت تراکم، بکارگیری غذای با کیفیت مناسب، کنترل حمل و نقل تخم، بچه ماهی و مولد به منطقه، انجام نمونه‌گیری‌های مرتب و دوره‌ای از همه مزارع (به علت پشت سر هم قرار گرفتن) و تشخیص به موقع بیماری‌های درگیر، استفاده از روش‌های اصلاح و درمان آب‌های ورودی و نیز واکسیناسیون علیه بیماری‌های مذکور به کاهش و حذف موارد

cultured marine fish. *Applied and Environmental Microbiology* **64**: 4065-7.

5. Soltani, M., Rostami, M. (1996). A flexibacteriosis-like infection in farmed rainbow trout in Iran. *Journal of Faculty of Veterinary Medicine* **52**: 22-5.
6. Soltani, M., Jamshidi, Sh., Sharifpour, I. (2005). Streptococcosis caused by *Streptococcus iniae* in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran: Biophysical characteristics and pathogenesis. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists* **2**: 95-106.
7. Soltani, M., Mousavi, M., Nikbakht, Gh., Ahmadzadeh, E.A.H. (2008a). Epizootic outbreaks of lactococcosis caused by *Lactococcus garvieae* in farmed rainbow trout in Iran. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists* **28**: 207-12.
8. Soltani, M., Zargar, A., Hematzadeh, F., Kazemi, B., Mousavi, H.A. (2008 b). Geographical distribution of IHN in 5 provinces of Iran using PCR and indirect immunofluorescence antibody technique. *Journal of Veterinary Research* **63**: 99-105.
9. Soltani, M., Mousavi, H.A., Mirzargar, S. (2009). Status of aquaculture health management in the Islamic Republic of Iran, 1st international congress on aquatic animal, Islamic Republic of Iran, 27-8.
10. Russo, R., Mitchell, H., Yanong, R.P.E. (2006). Characterization of *Streptococcus iniae* isolated from ornamental cyprinid fishes and development challenge models. *Aquaculture* **256**: 105-10.
11. Vendrell, D., Balcázar, J.L., Ruiz-Zarzuela, I., Blas, I., Olivia Gironés, O., Múzquiz, J.L. (2006). *Lactococcus garvieae* in fish: A review. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **29**: 177-98.
12. Zlotkin, A., Hershko, H., Eldar, A. (1998). Possible transmission of *Streptococcus iniae* from wild fish to



Study of Bacterial Diseases in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Mazandaran Province, Iran

Soltani, M.¹, Hazeri, M.², Sharifpour, E.³, Mirzargar, S.¹, Shohre, P.¹

1- Department of Fish diseases and hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

2- Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3- Department of Fish diseases and hygiene, Fisheries research Institute, Tehran, Iran

Received Date: 21 Jul 2012

Accepted Date: 30 Sep 2012

Abstract: The possible bacterial infections were studied in six farmed rainbow trout in Mazandaran province at Haraz river region during spring, summer and autumn 2008. The external and internal clinical signs of affected fish were recorded and a number of 20 diseased fish from each fish farm were then obtained for bacteriology studies during each season. Clinically, the affected fish were lethargic showing blindness or exophthalmia, darkening of body, abdominal distension and prolaps of anal area. Internally, signs of hemorrhage in the intestine, pale and tattoo liver and accumulation of bloody fluids in the abdominal cavity were observable in dissection. From total 360 fish samples processed for routine bacteriological works, 149 samples were positive for Gram positive bacteria consisting of *Streptococcus iniae* (51 isolates), *Lactococcus garviae* (7 isolates), *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis* (91 isolates). Also, 39 fish samples were positive for Gram negative bacteria consisting of *Aeromonas hydrophila* (20 isolates), *Yersinia ruckeri* (14 isolates) and *Vibrio anguillarum* (5 isolates). In antibiogram, all bacterial isolates were sensitive to enrofloxacin and flumequine while showing a variable sensitivity to penicilin and erythromycin. Total incidence of affected fish in the investigated fish farms to these bacterial infections were 52.22% and the highest incidence of infections were due to staphylococcosis (5.27%) and streptococcosis/lactococcosis (16.10%). Furthermore, the seasonal incidence of these bacterial infections during spring, summer and autumn were 40.83%, 6.66% and 49.61%, respectively. The results of this study show that the farmed rainbow trout of Haraz region are affected with different bacterial infections.

Keywords: Haraz River, rainbow trout, bacterial infections.

*Corresponding author: Soltani, M.

Address: Department of Fish diseases and hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Tel: 021-61117094

Email: msoltani@ut.ac.ir