

## مطالعه عوامل ایجاد کننده و میزان شیوع استرپتوکوکوزیس در مزارع منتخب ماهی قزل آلای رنگین کمان دشت ارزن و کوهمره شیراز

علیرضا گلچین مشادی<sup>\*</sup>، سید سعید موسوی<sup>۱</sup>، محمد ترحمی<sup>۲</sup>

۱- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، کازرون، ایران

۲- دانش آموخته، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، دانشکده دامپزشکی، کازرون، ایران.

۳- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، کازرون، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۱۳

### چکیده

به منظور بررسی عوامل ایجاد کننده و میزان شیوع بیماری مشکوک به استرپتوکوکوزیس در برخی مزارع پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان مناطق دشت ارزن و کوهمره شهرستان شیراز، تعداد ۱۰۰ نمونه از ماهیان زنده دارای علائم بیماری شبیه به استرپتوکوکوزیس صید گردید و پس از کالبد گشایی، نمونه برداری باکتریایی از بافت‌های کلیه، کبد و مغزانجام و بر روی محیط کشت آگار خون دار (*Blood Agar*) کشت گردید. نمونه‌های اخذ شده در داخل انکوباتور با درجه حرارت ۲۵-۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری گردید. پس از طی این مدت، ابتدا با انجام رنگ آمیزی گرم و آزمایش کاتالاز نمونه‌های گرم منفی حذف گردید و سپس آزمایشات بیوشیمیایی تکمیلی پس از کشت مجده نمونه‌ها بر روی آنها انجام گرفت. نتایج حاصل نشان داد که نمونه‌های جدا شده از دو گونه، *Lactococcus garvieae* و *Streptococcus iniae* بودند. میزان ابتلاء ماهیان دارای علایم بالینی به ۷۷٪ و ۱۳٪ *L. garvieae* بود و از ۱۰٪ موارد آلدگی جدا نگردید.

**کلمات کلیدی:** استرپتوکوکوزیس، قزل آلای رنگین کمان، استرپتوکوکوس اینیه، لاکتوکوکوس گارویه

\* نویسنده مسئول: علیرضا گلچین مشادی

آدرس: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، کازرون، ایران. تلفن: ۰۲۱۷۳۰۸۰۰۶

پست الکترونیک: (dr.golchin@iauk.ac.ir)Golchinalireza@yahoo.com

## مقدمه

استرپتوکوکوزیس یکی از معضلات مهم مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی بوده است. این بیماری در مناطق مختلف جهان از جمله آفریقای جنوبی، ایتالیا، ژاپن (۷ و ۲۳)، آمریکا، استرالیا، فیلیپین، تایوان، بحرین، ترکیه و کره (۵)، تایوان و انگلستان (۹)، فرانسه و کشورهای بالکان (۱۴)، پرتغال (۲۴)، اسپانیا (۳۰) و ایران (۴، ۵، ۱۵، ۱۷ و ۲۵) گزارش شده است. این بیماری در بیش از ۴۰ گونه ماهی اعم از ماهیان پرورشی و وحشی، ماهیان آب شور، شیرین و نیز ماهیان زیستی گزارش شده است (۲۶ و ۲۷) که می‌توان به کوسه سیاه دم قرمز (۲۷)، کفال (*Epalzeorhynchus bicolor*)، وحشی (*Sparus klunzingeri Liza*)، سیم دریایی قرمز (*Oreochromis niloticus*) (۱۳)، تیلاپیا (*ouratus*) (۱۶)، دلفین‌های آب شیرین (*Inia geoffrensis*) (۱۲)، گیش دم زرد (*Seriola uinqueradiata*) (۱۹) و قزل آلای رنگین کمان (۶ و ۱۱) اشاره نمود. این بررسی با توجه به شیوع استرپتوکوکوزیس در کشورمان در سال‌های اخیر، به منظور بررسی وضعیت این بیماری و شناسایی عوامل مسبب آن در برخی مزارع پرورش قزل آلای رنگین کمان شیراز به منظور شناخت بیشتر پراکندگی بیماری و مبارزه مؤثر با آن انجام گردید.

## مواد و روش‌ها

از ۱۰ مزرعه شهر شیراز در نواحی دشت ارزن و کوهمره طی سال ۱۳۹۳ نمونه برداری به عمل آمد. از هر مزرعه تعداد ۱۰ عدد ماهی دارای علائم مشکوک یا علائم ظاهری بیماری از جمله تیرگی پوست، شناور نامتعادل و بیرون زدگی و خون ریزی در چشم انتخاب گردید. پس از بیهوده کردن ماهیان با استفاده از گل میخک با دوز ۱۷۰ PPM، شکم ماهیان در شرایط استریل شکافته و از کلیه، طحال و کبد و مغز نمونه برداری به عمل آمد و در محیط آغاز خون دار کشت

لاکتوکوکوزیس و استرپتوکوکوزیس از جمله بیماری‌های باکتریایی هستند که با تلفات و خسارات فراوانی در ماهیان آب شیرین و شور همراه هستند. باکتری *L. garvieae* به همراه برخی باکتری‌های جنس استرپتوکوس که از آن جمله می‌توان به *S. iniae* اشاره کرد متعلق به خانواده استرپتوکوکاسه می‌باشد و عامل مهم بروز سپتی سمی و تلفات بالا در مزارع پرورش ماهی به ویژه در قزل آلای رنگین کمان محسوب می‌شوند (۲۹). عفونت استرپتوکوکی در ماهی می‌تواند سبب مرگ و میر بالا حتی بیش از ۷۵ درصد در صنعت تولید ماهی گردد (۲۲، ۲۳ و ۲۶). حدود ۱۵ گونه باکتری از ۴ جنس *Entrococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Lactococcus* هستند که همگی باکتری‌های کوکسی شکل گرم مثبت‌اند که می‌توانند عامل استرپتوکوکوزیس در ماهیان باشند (۲۹). علائم بالینی خارجی مشاهده شده در ماهیان شامل شناور نامنظم، تیرگی پوست، بی‌حالی، بیرون زدگی چشم‌ها (یک طرفه یا دوطرفه)، آبسه جلدی، خون‌ریزی در اطراف چشم‌ها و در سطح قاعده بالهای است (۱۰، ۱۲، ۵ و ۲۷). شناور نامنظم یکی از رایج‌ترین علائم این بیماری است. شناور ماهیان به صورت عمودی و یا به پهلو می‌باشد و ماهی تعادل در شنا ندارد. این موضوع مرتبط به تهاجم باکتری به مغز می‌باشد که همین تهاجم یکی از عوامل مرگ در ماهیان است (۲۳). اولین عفونت استرپتوکوکی در ماهیان پرورشی در سال ۱۹۵۸ در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در ژاپن گزارش شده است (۷). در ایران بروز این بیماری اولین بار در استان مازندران (۶) و پس از آن در استان فارس بوده است (۱) و طی چند سال اخیر بیماری

نتایج آزمایشات بیوشیمیایی نشان داد عامل ایجاد کننده بیماری استرپتوکوکوزیس در مناطق دشت ارژن و کوهمره شهر شیراز دو گونه *S. iniae* و *Lactococcus garvieae* بوده است (جدول ۱).

بر این اساس از تعداد ۱۰۰ ماهی مورد بررسی ۳۶ ماهی در منطقه کوهمره و ۴۱ ماهی در منطقه دشت ارژن آلوده به عامل *S. iniae* و ۸ ماهی در منطقه کوهمره و ۵ ماهی در منطقه دشت ارژن آلوده به عامل *L. garvieae* بودند. آلودگی باکتریایی تنها به یک عامل بود و آلودگی همزمان به دو باکتری مشاهده نگردید. از ۱۰ ماهی نیز عامل بیماری جداسازی نگردید. بدین ترتیب بررسی آماری نشان می‌دهد که میزان ابتلاء ماهیان دارای علایم بالینی به *S. iniae* ۷۷٪ و *L. garvieae* ۱۳٪ بوده است (۹۰٪ ماهیان در مجموع دو منطقه آلوده به بیماری بودند) و از ۱۰٪ موارد آلودگی جدا نگردید. میزان درصد آلودگی به تفکیک هر منطقه در شکل ۲ نشان داده شده است.

داده شد (شکل ۱). پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند (۲ و ۷). باکتری‌های رشد یافته روی محیط کشت‌ها، خالص سازی و سپس رنگ آمیزی گرم انجام شد. جهت شناسایی کامل گونه باکتری مسبب بیماری، از تستهای بیوشیمیایی استفاده گردید. این آزمایشات شامل اکسیداز، کاتالاز، کشت در محیط آگار خون دار جهت تشخیص نوع همولیز، تولید  $H_2S$ ، هیپورات سدیم، رشد در  $NaCl\ 6/5\%$  و رشد در حرارت‌های ۱۰ و ۴۵ درجه سانتی گراد بوده است. پس از انجام آزمایشات مورد نیاز گونه‌های جداسازی شده شناسایی شدند (۲۰). محیط‌های کشت به دو صورت مایع (درون لوله) و جامد (داخل پلیت) با توجه به دستورالعمل مندرج بر روی محیط‌های کشت خریداری شده از شرکت مرک آلمان در آزمایشگاه آماده سازی محیط‌های کشت باکتریایی تهیه گردید.

## نتایج

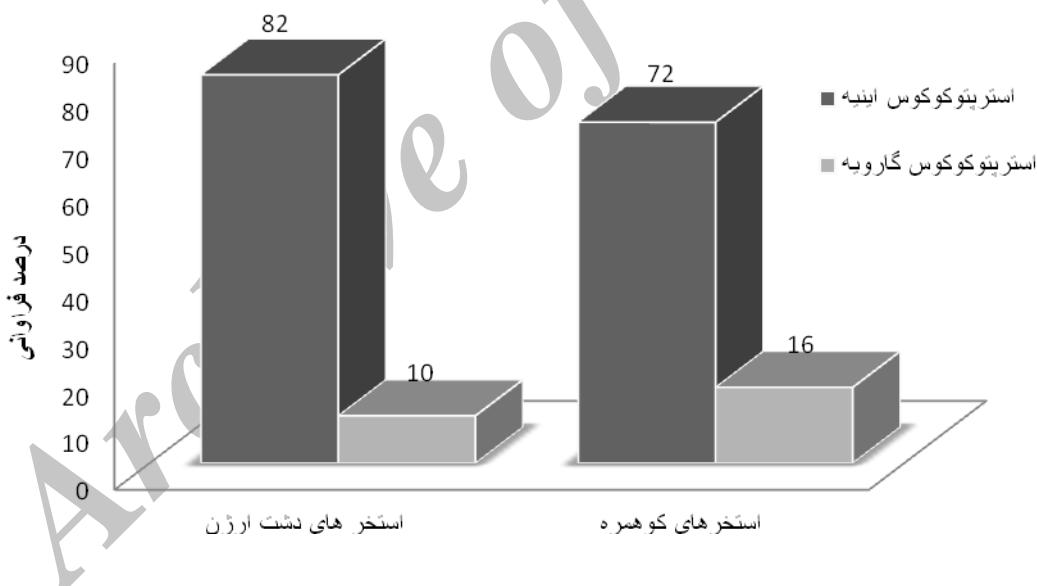


شکل ۱- محیط کشت آگار خون دار حاوی پرگنه‌های باکتری عامل بیماری استرپتوکوکوزیس

جدول ۱- آزمایشات انجام شده برای شناسایی گونه‌های جداسازی شده از ماهیان آلوده به استرپتوکوکوزیس

<i>Lactococcus garvieae</i>	<i>Streptococcus iniae</i>	آزمایش
+	+	رنگ آزمیز گرم
بیضی	کوکسی	مورفولوژی
+	+	اکسیداز
-	-	کاتالاز
(آلفا) (α)	(بتا) (β)	همولیز
-	-	H <sub>2</sub> S تولید
-	-	همولیز سدیم هیپورات
+	-	وگس-پروسکوثر (VP)
-	+	(MR) متیل رد
+	-	رشد در دمای ۱۰
+	-	رشد در دمای ۴۵
+	-	رشد در نمک طعام ۷/۶/۵
+	-	تولید اسید از قند گالاكتوز
+	-	تولید اسید از قند سوربیتول

(+) مثبت - (-) منفی



شکل ۲- میزان شیوع آلودگی به بیماری استرپتوکوکوزیس در نمونه‌های اخذ شده از دو منطقه شهر شیراز

کشت و آزمایشات میکروبیولوژی برای تشخیص اولیه عامل بیماری و در ادامه جهت تأیید تشخیص از روش‌های مولکولی استفاده شده است (۳). عوامل *S.iniae* میکروبی جداسازی شده در این بررسی شامل *L.garviae* و بوده‌اند که از نواحی دیگر دنیا نیز

## بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات زیادی بر روی کوکسی‌های گرم مثبت عامل استرپتوکوکوزیس انجام شده که هدف این مطالعات شناخت عامل بیماری، تعیین گونه و حتی کشف تفاوت سویه‌ها باهم بوده است. معمولاً از علائم بالینی،

مازندران، *S. agalactiae* از استان‌های مازندران و گیلان، *S. dysgalatiae* از استان‌های لرستان، کهکیلویه و بویر احمد، گیلان و کرمانشاه و *S. uberis* در همه استان‌ها به جز استان‌های مازندران و لرستان جداسازی گردید (۲۵). این در حالی است که در مطالعه موسوی و همکاران (۱۳۸۸) بر روی مزارع منتخب تکثیر و پرورش قزل آلای رنگین کمان استان مازندران، عوامل باکتریایی شناسایی شده به عنوان عامل *S. iniae*، *S. agalactiae* و *Enterococcus faecalis* به ترتیب با ۲۸، ۴۳ و ۲۸ درصد فراوانی بوده است (۵). مطالعه حاضر نیز نشان داد *S. iniae* با ۷۷ درصد و *L. garviae* با ۱۳ درصد فراوانی عوامل ایجاد کننده استرپتوکوکوزیس در مزارع منتخب ماهی قزل آلای رنگین کمان شهرستان شیراز در منطقه کوهمره و دشت ارژن بودند. بدین ترتیب با مقایسه مجموع مطالعات انجام شده می‌توان دریافت اکثر مزارع پرورش قزل آلای رنگین کمان کشور خصوصاً مناطق مرکزی و جنوب و جنوب غربی کشور به نحوی آلدگی به دو عامل یاد شده را دارند. همچنین بررسی‌های به عمل آمده در این مطالعه نشان داد علائم بالینی داخلی که شامل بیرون زدگی چشم، رنگ پریدگی کبد، پرخونی و بزرگ شدن طحال، خون ریزی اطراف قلب و بعضًا سطح احشاء است (۱۹) و (۲۰)، در تمام ماهیانی که آلدگی آن‌ها مثبت بود، مشاهده گردید. ضمن این که در بعضی از ماهیان، تخریب کامل کره چشم نیز وجود داشت. از منظر همه‌گیری شناسی، تحقیقات نشان داده است که استرپتوکوکوزیس در ماهیان پس از بروز یک استرس شدید اتفاق افتاده است (۵). یکی از عوامل استرس زا تغییر درجه حرارت آب می‌باشد، به طوری که در تحقیقی بر روی ماهی تیلاپیا *S. iniae* با دوز  $10^7 \times 1$

گزارش شده‌اند (۲۲، ۱۸، ۲۰ و ۲۷). در ایران نیز مطالعاتی در این خصوص وجود دارد. Fadaei fard و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه‌ای بر روی برخی از مزارع Multiplex PCR و *S. iniae*، *L. garviae* را از این مزارع جداسازی کردند بطوری که ۲۸ نمونه مربوط عامل اول و ۱۲ نمونه مربوط به عامل دوم بود (۱۵). Haghghi Karsidani و همکاران (۲۰۱۰) نیز با بررسی ۱۰۸ نمونه باکتریایی کوکسی گرم مثبت از ۷ استان ایران به روش شیمیایی و مولکولی دریافتند ۴۵/۳۷ درصد آلدگی مربوط به *S. iniae* و ۳۵/۲ درصد موارد مربوط به *L. garviae* بود (۱۷). شهرانی و همکاران (۱۳۹۳) فراوانی *L. garviae* را در ماهیان ۳۳ مزرعه پرورش ماهی استان چهار محال و بختیاری بررسی کردند که نتایج نشان داد ۲۳ مزرعه آلدگی به این باکتری بود (۳). فرهاد زاده و همکاران (۱۳۹۴) در تحقیقی ایزوله‌های کوکسی گرم مثبت عامل استرپتوکوکوزیس جدا شده از ماهیان قزل آلای رنگین کمان در استان مرکزی را به روش شیمیایی و مولکولی بررسی کردند. ۱۲ جدایه کوکسی گرم مثبت از بافت‌های کلیه، مغز، کبد و طحال ۱۲۰ ماهی قزل آلای دارای علائم بیماری توسط آزمایشات میکروبیولوژی جدا سازی شد. تمامی نمونه‌های مثبت میکروبی در آزمایش PCR براساس ژن 16S rRNA مثبت تشخیص داده شد و این کوکسی *L. garviae* های گرم مثبت پس از تعیین توالی به عنوان Pourgholam (۲۰۱۱) و همکاران (۴) شناسایی شدند. نیز در مطالعه‌ای بر روی جدایه‌های باکتریایی به دست آمده از ۲۷ مزرعه پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان ۸ استان کشور توانستند ۵ گونه عامل استرپتوکوکوزیس را شناسایی کنند. بدین ترتیب که *S. iniae* از استان فارس، *S. faecium* از استان

سالیان اخیر واکسن این بیماری از خارج کشور وارد شده و برای پیشگیری استفاده می‌شود ولی این واکسن در مواردی اثر بخشی کاملی ندارد که یکی از دلایل آن بومی نبودن سوبه‌های باکتریایی استفاده شده در آن است (۳). با توجه به این که بیماری مذکور از لحاظ اقتصادی و زئونوز بودن بسیار مهم می‌باشد لذا شناسایی و درمان این عوامل عفونی به عنوان یک راهکار کوتاه مدت و تولید و بکارگیری واکسن‌های بومی با توجه به عوامل ایجاد کننده بیماری در مزارع پرورش ماهی از اهمیت به سزاوی برخوردار است.

#### منابع

- آذری تاکامی، ق. (۱۳۷۶). مدیریت بهداشتی و روش‌های پیشگیری و درمان بیماری‌های ماهی. انتشارات پریور، ویرایش دوم با ضمیمه بیماری استرپتوکوکوس، صفحه ۳۱-۳۲.
  - سلطانی، م. (۱۳۷۵). بیماری‌های باکتریایی ماهی (ترجمه). انتشارات سازمان دامپزشکی کشور با همکاری موسسه نشر جهاد وابسته به جهاد کشاورزی، صفحه ۵۳۱.
  - شهرانی، م، رئیسی، م، تاجیخش، ا. (۱۳۹۳). مطالعه فراوانی و مقاومت دارویی باکتری لاکتوکوکوس گارویه در ماهیان قزل آلای رنگین کمان استان چهارمحال و بختیاری. فصلنامه علمی پژوهشی زیست شناسی میکرو ارگانیسم‌ها، سال ۳، شماره ۱۱، صفحات ۷۱-۷۸.
  - فرهادزاده، ن، حسینی، س، د، پوربابایی، ا. ع. (۱۳۹۴). شناسایی و تعیین هویت مولکولی ایزوله‌های کوکسی گرم مثبت عامل استرپتوکوکوزیس جدا شده از ماهیان قزل آلای رنگین کمان در استان مرکزی. مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی، دوره ۵، شماره ۱۸، صفحات ۷۵-۸۲.
  - موسوی، س.س، خارا، ح، سعیدی، ع.ا، قیاسی، م، زاهدی، آ. (۱۳۸۸). بررسی بروز استرپتوکوکوزیس و شناسایی باکتری‌های مسبب آن در مزارع منتخب تکییر و پرورش قزل آلای رنگین کمان استان مازندران. مجله علوم زیستی واحد لامیجان، دوره سوم، شماره اول، صفحات ۷۳-۸۲.
  - Agnew, W. and Barnes, A.C. (2007). *Streptococcus iniae*: An aquatic pathogen of global veterinary significance and a
- باکتری صورت داخل صفاقی تزریق گردید و ماهیان آلوده در پنج رژیم دمایی مختلف شامل ۱۹، ۲۳، ۲۷، ۳۱ و ۳۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان مرگ و میر ماهیان در دمای ۱۹ و ۳۵ درجه سانتی گراد به طور معنی داری بیش از سایر دماها بوده است. بیماری به صورت حاد سبب مرگ و میر بالایی طی ۲-۳ هفته در فضول با درجه حرارت بالای آب می‌گردد. با این وجود، بیماری ممکن است به صورت مزمن، وقتی دمای آب پایین‌تر است وجود داشته باشد و مرگ و میر کمتر اما مداوم ماهیان را به دنبال داشته باشد (۱۴).
- موسوی و همکاران (۱۳۸۸) دریافتند بروز استرپتوکوکوزیس در مزارع تکثیر و پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان استان مازندران عمده‌تاً از اواخر خرداد ماه تا اوایل شهریور رخ می‌دهد لیکن وجود آلودگی در مزرعه تا اواخر آبان قابل رویابی است. در زمان بروز بیماری درجه حرارت آب معمولاً ۱۷ تا ۲۲ درجه سانتی گراد بوده است و در فصل زمستان بیماری مشاهده نگردید، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که استرپتوکوکوزیس یک بیماری فصلی است و با افزایش درجه حرارت آب، احتمال بروز آن افزایش می‌یابد و انتظار روبرو شدن با این بیماری از اواخر بهار تا اواخر تابستان می‌باشد (۳). علاوه بر اهمیت استرپتوکوکوزیس در آبزی پروری این بیماری تهدیدی جدی برای سلامت عمومی انسان‌هایی که با آبزیان سروکار دارند محسوب می‌شود با توجه به مطالعات انجام شده عوامل شایع این بیماری *S. iniae* و *L. garvieae* هستند که در تمام طول سال در انواع مختلف آبی وجود دارند و در صورت ایجاد شرایط مناسب مانند فاکتورهای محیطی و ضعف سیستم ایمنی می‌توانند باعث ایجاد بیماری در ماهی‌ها شوند. در

16. George, T.T. (1999). Canadian doctors confirm the infection and effects of *Streptococcus iniae* in fish and humans, Contributed-papers-Aquaculture-Canada **98**: 87-89.
17. Haghghi Karsidani, S., Soltani, M., Nikbakhat-Brojeni, G., Ghasemi, M., Skall, H.F. (2010). Molecular epidemiology of zoonotic streptococcosis/lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) aquaculture in Iran. *Iranian Journal of Microbiology* **2**: 198-209.
18. Klesius, P., Evans, J., Shoemaker, C., Yeh, H., Goodwin, A.E., Adams, A., Thompson, K. (2006). Rapid detection and identification of *Streptococcus iniae* using a monoclonal antibody-based indirect fluorescent antibody technique, *Journal of Aquaculture* **258**:180-186.
19. Kusuda, R., Kawai, T., Toyoshima, T., Komatus, I. (1976). A new pathogenic bacterium belonging to the genus *Streptococcus*, isolated from an epizootic of cultured yellowtail. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **42**:1345-1352.
20. MacFaddin, J.F. (2000). *Biochemical Testes for Identification of medical Bacteria*. Williams and Wilkins:912.
21. Ndong, D., Chen, Y.Y., Lin, Y.H., Vaseeharan, B., Chen, J.C. (2006). The immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures. *Journal of Fish and Shellfish Immunology* **22**: 686- 694.
22. Nguyen, H.T., Kanai, K., Yoshikoshi, K. (2002). Ecological investigation of *Streptococcus iniae* in cultured Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) using selective isolation procedures. *Journal of Aquaculture* **205**: 7-17.
23. Nomoto, R., Munasinghe, L.I., Jin, D.H., Shimahara, Y., Yasuda, H., Nakamura, A., Misawa, N. Itami, T., Yoshida, T. (2004). Lancefield group C *Streptococcus dysgalactiae* infection responsible for fish mortalities in Japan. *Journal of Fish Diseases* **27**:679-686.
24. Pereira, F., Ravelo, C., Toranzo, A.E., Romalde, J.L. (2004). *Lactococcus garvieae*, an emerging pathogen for the Portuguese trout culture. *Bulletin of challenging candidate for reliable vaccination, *Journal of Veterinary Microbiology* **122**:1-15.*
7. Austin, B., Austin, D. (1993). *Bacterialfish Pathogens Diseases in Farmed and Wild Fish*. Ellis Horwood limited: 27-37,70.
8. Baeck, G.W., Kim, J.H., Gomez, D.K., Park, S.C. (2006). Isolation and characterization of *Streptococcus sp.* from diseased flounder (*Paralichthys olivaceous*) in Jeju Island. *Journal of Veterinary Science* **7**: 53-58.
9. Bark, S., McGregor, D. (2001). The first occurrence of *lactococcosis* in farmed trout in England. *Trout News* **31**: 9-11.
10. Bowser, P.R., Wooster, G.A., Getchell, R.G., Timmons, M.B. (1998). *Streptococcus iniae* infection of tilapia *Oreochromis niloticus* in a recirculation production facility, *Journal of the World Aquaculture Society* **29**: 335-339.
11. Eldar, A., Ghittino, C. (1999). *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: similar, but different diseases, *Journal of Diseases of Aquatic Organisms* **36**:227-231.
12. Eldar, A., Perl, S., Frelier, P.F., Bercovier, H. (1999). Red drum *Sciaenops ocellatus* mortalities associated with *Streptococcus iniae* infection, *Journal of Diseases of Aquatic Organisms* **36**:121-7.
13. Evans, J., Klesius, P.H., Gilbert, P.M., Shoemaker, C.A., Alsarawi, M.A., Landsberg, J., Duremdez, R., Almarzouk, A., Alzenki, S. (2002). Characterization of beta-haemolytic Group B *streptococcus agalactiae* in cultured sea bream, *Sparus ouratus* l. and wild mullet, *Liza klunzingeri*, in Kuwait. *Journal of Fish Diseases* **25**: 505-513.
14. Eyngor, M., Zlotkin, A., Ghittino, C., Prearo, M., Douet, D.G., Chilmonczyk, S., Eldar, A. (2004). Clonality and diversity of the fish pathogen *Lactococcus garvieae* in Mediterranean countries. *Applied Environmental Microbiology* **70**: 5132-7.
15. Fadaefard, F., Momtaz, H., Rahimi, E., Mirzakhani, A. (2011). Detection of *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garvieae* by multiplex polymerase chain reaction (PCR) in some rainbow trout farms of Iran. *African Journal of Biotechnology* **11**: 260-3.



*European Association of Fish Pathologists*  
**24**:274-9

25. Pourgholam, R., Laluei, F., Saeedi, A.A., Zahedi, A., Safari, R., Taghavi, M.J., Nasrollhzadeh Saravi, H., Pourgholam, H. (2011). Distribution and Molecular identification of some causative agents of streptococcosis isolated from farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) in Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* **10**:109-122.
26. Roach, J.C.M., Levett, P.N., Lavoie, M.C. (2006). Identification of *Streptococcus iniae* by Commercial bacterial identification systems. *Journal of Microbiological Methods* **67**: 20-26.
27. Romalde, J.L., Toranzo, A.E. (1999). *Streptococcosis of marine fish*. Gilles Oliver: 560
28. Russo, R., Mitchell, H., Yanong, R.P.E. (2006). Characterization of *Streptococcus iniae* isolated from ornamental cyprinid fishes and development of challenge models. *Journal of Aquaculture* **256**: 105 – 110.
29. Sako, H. (1998). Studies on *Streptococcus iniae* infection in Yellowtail, *Seriola quinqueradiata* *Bulletin of Nansei National Fisheries Research Institute* **31**: 36-120.
30. Zarzuela, R.I., Bias, I., Girones, O., Ghittino, C., MuAzquiz, J. (2005). Isolation of *Vagococcus salmoninarum* in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Veterinary Research Communications* **29**: 553-562.

Archive

## **Survey on Causative Agents and the Incidence of Streptococciosis in Selected Farms of Rainbow Trout in Dasht-e-arjan and Kohmaren of Shiraz**

**Golchin Manshadi, A.R.<sup>1\*</sup>, Musavi,S.S.<sup>2</sup>, Tarahomi, M.<sup>3</sup>**

*1-Assistant Professor, Department of Aquatic animal health, Faculty of Veterinary Medicine,  
Kazerun Branch, Islamic Azad university, Kazerun, Iran*

*2- Graduated of Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad university, Kazerun,  
Iran.*

*3-Assistant Professor, Department of Aquatic and Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine,  
Kazerun Branch, Islamic Azad university, Kazerun, Iran.*

Received Date: 4 December 2015

Accepted Date: 12 December 2017

**Abstract:** In order to survey on the causative agents and the occurrence of suspected disease to Streptococciosis in some farms of rainbow trout in the areas of Dasht-e-Arzhan and Kohmaren in Shiraz province, 100 specimens of live fish with symptoms similar to Streptococciosis were caught and After dissection, bacterial sampling were taken from kidney, liver and brain then cultured on Blood Agar media. Samples were stored in the incubator at a temperature of 25 -30 °C for 48 hours. After this time, at first gram negative samples were removed by using gram stain technique and catalase test. then the supplementary biochemical tests were performed after recultivating of the samples. The results showed that the samples isolated from the two species, *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garvieae*. The occurrence of fish with clinical symptoms was 77% to *S. iniae* and 13% to *L. garvieae* and no Infection isolated from 10% of the samples.

**Keywords:** Streptococciosis; Rainbow trout, *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garvieae*

\*Corresponding author: Golchin Manshadi, A.R.

Address: Department of Aquatic animal health, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad university, Kazerun, Iran. Tel: 02177308006

Email: Golchinalireza@yahoo.com dr.golchin@iauk.ac.ir