

جداسازی و شناسایی باکتری‌های کوکسی شکل بیماری‌زا در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمانی در مزارع

پرورشی شمال غرب استان فارس با استفاده از روش‌های کشت و PCR

فرشید کفیل زاده^{۱*}، یلدا بناکار^۱ و ایرج نامداری^۲

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه زیست‌شناسی، جهرم، ایران.

۲- استادیار، اداره کل دامپزشکی شیراز، شیراز، ایران.

مسئول مکاتبات: Kafilzadeh@jia.ac.ir

چکیده

یکی از بیماری‌های مهم در آبی پروری بیماری استرپتوکوکوزیس / آنتروکوکوزیس است که یک بیماری عفونی سپتی سمیک ناشی از کوکسی‌های گرم مثبت در ماهیان آب‌های شیرین و شور بوده و در چند دهه اخیر خسارات اقتصادی جبران‌ناپذیری را به بار آورده است. از جمله باکتری‌های مهم، لاکتیک اسید باکتری‌ها هستند که مزارع پرورشی را مورد هجوم قرار داده و تلفات سنگینی را به جای می‌گذارند. هدف از این پژوهش شناسایی کوکسی‌های گرم مثبت بیماری‌زا در مزارع پرورشی قزل‌آلای رنگین‌کمانی در قسمت شمال غربی استان فارس با استفاده از روش‌های کشت و PCR است. از مزارع مشکوک به بیماری تعداد ۹۰ نمونه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمانی برداشته شد. پس از بررسی و ثبت مشخصات بالینی ماهیان بیمار و تلف شده، از اندام داخلی که شامل بافت کلیه ماهیان بیمار می‌باشد نمونه برداری و با انجام کشت و تست‌های بیوشیمیایی لازم شناسایی باکتری‌ها صورت گرفت. در مرحله بعدی جهت تعیین نوع آنتی بیوتیک موثر بر باکتری‌های شناخته شده، تست آنتی بیوگرام صورت گرفت. در نهایت با استفاده از روش مولکولی PCR بر پایه ژن 16srRNA شناسایی باکتری‌ها انجام شد. از بین ۴۳ نمونه که کوکسی گرم مثبت شناخته شدند، ۳ گونه باکتری شامل ۴/۶ درصد استرپتوکوکوس اینیایی، ۲۳/۳ درصد لاکتوکوکوس گارویه‌آ و ۷۲/۱ درصد استرپتوکوکوس میلری تشخیص داده شدند. نتایج تست PCR نشان داد که باکتری‌های شناخته شده جزو باکتری‌های لاکتیک اسید بوده که باعث ایجاد بیماری در ماهیان می‌شوند. با توجه به اینکه بیماری مذکور از لحاظ اقتصادی و مشترک بودن بین انسان و آبزیان بسیار مهم می‌باشد لذا شناسایی و درمان این عوامل عفونی حائز اهمیت است. از آنجا که علائم بالینی تمامی باکتری‌های مسبب بیماری بسیار شبیه بوده و با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی امکان تشخیص نادرست وجود دارد بنابراین دقیق‌ترین روش ممکن استفاده از روش مولکولی PCR است.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمانی، باکتری‌های لاکتیک اسید، PCR، استرپتوکوکوس میلری

مقدمه

های ناشی از انتقال ناخواسته عوامل باکتریایی و ویروسی هم اکنون عمده‌ترین خسارت را به این صنعت وارد می‌سازند [۱۰]. از جمله بیماری‌های مهم در آبی پروری استرپتوکوکوزیس / آنتروکوکوزیس است، که یک بیماری عفونی سپتی سمیک در ماهیان آب شیرین، آب شور و لب شور می‌باشد. این بیماری برای اولین بار در سال ۱۹۸۵ در ژاپن در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمانی (*Oncorhynchus mykiss*) گزارش گردیده است [۹]. استرپتوکوکوزیس اصطلاحی است که برای بیماری ناشی

در طی چند دهه اخیر سهم آبی پروری در تأمین غذاهای دریایی رو به افزایش نهاده است. یکی از دلایلی که می‌توان از آن به عنوان علت صعود ناگهانی آبی پروری یاد کرد تغییر آبی پروری از یک هنر به یک علم می‌باشد. همراه چنین توسعه‌ای که سودآوری بیشتری نیز با خود داشته و افزایش تراکم واحد سطح را طلب می‌کند، انواع بیماری‌های عفونی با سرعت هرچه تمام‌تر در جمعیت ماهیان پرورشی گسترش یافته است. به علاوه به دلیل عدم اجرای مدیریت صحیح بهداشتی در مزارع، بیماری-

از چندین گونه کوکسی گرم مثبت به کار می‌رود [۱۲] و نوع باکتری عامل بیماری استرپتوکوکوزیس تحت تاثیر منطقه جغرافیایی می‌باشد. این بیماری عفونی که سپتی سمیک است ممکن است به شکل حاد، مزمن و یا بدون علامت بروز یابد [۸]. با این حال تلفات بیماری قابل توجه است.

علاوه بر اهمیت بیماری در آبی پروری این بیماری یک تهدید برای سلامت عمومی انسان‌هایی که با آبزیان سروکار دارند محسوب می‌شود [۵]. استرپتوکوکوزیس در ماهی به شکل مجموعه‌ای از بیماری‌های مشابه می‌باشد و توسط جنس‌ها و گونه‌های مختلفی از باکتری‌های کوکسی که در رنگ آمیزی گرم مثبت هستند و از باکتری‌های لاکتیک اسید می‌باشند ایجاد می‌شود [۶]. این کوکسی‌های گرم مثبت کوچک بی‌هوازی اختیاری می‌باشند که اغلب در زنجیره‌های طولانی به اندازه $0.5-3$ میکرومتر دیده می‌شوند [۱۵،۱۳].

هدف از این تحقیق جدا سازی و شناسایی باکتری‌های کوکسی شکل بیماری زا در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمانی در مزارع پرورشی منطقه شمال غرب استان فارس با استفاده از دو روش کشت بر روی محیط کشت غنی و مولکولی (PCR) می‌باشد.

مواد و روش کار

این پژوهش به صورت تحقیقی انجام شده و جهت انجام پروسه مورد نظر از سه منطقه مختلف در بخش بیضاء از استان فارس (ملوس جان، هفت خوان و حسین آباد) تعداد ۹۰ نمونه از ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمانی از مزارع پرورش ماهی گرفته شد. سپس نمونه‌ها در کنار یخ به سرعت به آزمایشگاه منتقل شده و پس از بررسی علایم

کلینیکی ماهی‌های بیمار (اشکال A و B)، نمونه برداری از بافت کلیه ماهیان که بهترین محل جهت انجام نمونه گیری است به صورت استریل انجام گردید. شرایط فیزیکوشیمیایی مناطق نمونه برداری در جدول ۱ نشان داده شده است. ابتدا نمونه گرفته شده به محیط LB broth منتقل و پس از گذشت ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، نمونه‌ها به محیط Blood agar منتقل شدند و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت انکوبه گردیدند.

در مرحله بعد رنگ آمیزی گرم صورت گرفت و جهت شناسایی بیشتر باکتری‌ها تست‌های بیوشیمیایی انجام شد (جدول ۳). در مراحل بعد با تعیین نوع باکتری، نوع آنتی‌بیوتیک مؤثر توسط تست‌های آنتی‌بیوگرام مشخص شد. از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک اپتچین (Op)، کلرامفنیکل (C)، تری متوپریم / سولفامتوکسازول (SXT)، باسی تراسین (Bac)، استرپتوماسین (S)، آمپی سیلین (AM)، تتراسیکلین (Te)، پنی سیلین (P)، نالیدیکسیک اسید (Na) و آموکسی سیلین (AMX) جهت انجام تست آنتی‌بیوگرام استفاده گردید [۱،۲،۳].

در مرحله آخر جهت تأیید تشخیص، آزمون PCR بر پایه ژن *srRNA* ۱۶ انجام گرفت. بدین منظور ابتدا به کمک کیت استخراج DNA شرکت سیناژن به شماره ساخت DN 8115 C، DNA را استخراج کرده و سپس به کمک آنزیم Taq DNA پلی‌مراز و پرایمر عملیات PCR در ۳۰ سیکل انجام و محصولات به دست آمده الکتروفورز گردید [۷].

آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون های ANOVA و Duncan انجام گرفت.

جدول ۱ - شرایط فیزیوشیمیایی مناطق نمونه برداری

| اکسیژن خروجی (mg/l) | اکسیژن ورودی (mg/l) | زمان نمونه برداری | دمای آب (درجه سانتی گراد) | ایستگاه نمونه برداری |
|------------------------|------------------------|-------------------|---------------------------|----------------------|
| ۵/۶ | ۸ | ۱۱:۳۰ | ۱۷ | هفت خوان ۱ |
| ۶/۶ | ۸ | ۱۲:۳۰ | ۱۸ | هفت خوان ۲ |
| ۷ | ۷ | ۱۴ | ۱۹ | حسین آباد ۱ |
| ۷ | ۷ | ۱۰:۰۰ | ۱۸ | ملوس جان |
| ۳/۶ | ۷/۱ | ۱۳:۰۰ | ۵/۱۶ | حسین آباد ۲ |

نتایج

از بین ۹۰ نمونه گرفته شده ۴۳ نمونه (۴۷/۷ درصد) به صورت کوکسی گرم مثبت می‌باشند که فراوانی آن هادر مزارع پرورشی در نمودار ۱ نشان داده شده است. پس از انجام تست‌های بیوشیمیایی مشخص گردید باکتری‌های مورد نظر همگی استرپتوکوکوسی‌های بیماری‌زا بوده که از نظر گونه با هم متفاوتند، ولی در نهایت همگی باعث ایجاد بیماری استرپتوکوکوزیس/انتروکوکوزیس در ماهیان شده و قابل انتقال به انسان نیز هستند. کلنی‌های ظاهر شده و تصویر مشاهده شده از باکتری زیر میکروسکوپ بعد از رنگ آمیزی گرم در اشکال C و D ۱ نمایش داده شده است.

از بین کوکسی‌های گرم مثبت مشخص شده ۲۳/۳ درصد لاکتوکوکوس گارویه‌آ (*Lactococcus garvieae*)، ۴/۶ درصد استرپتوکوکوس اینیایی (*Streptococcus*)

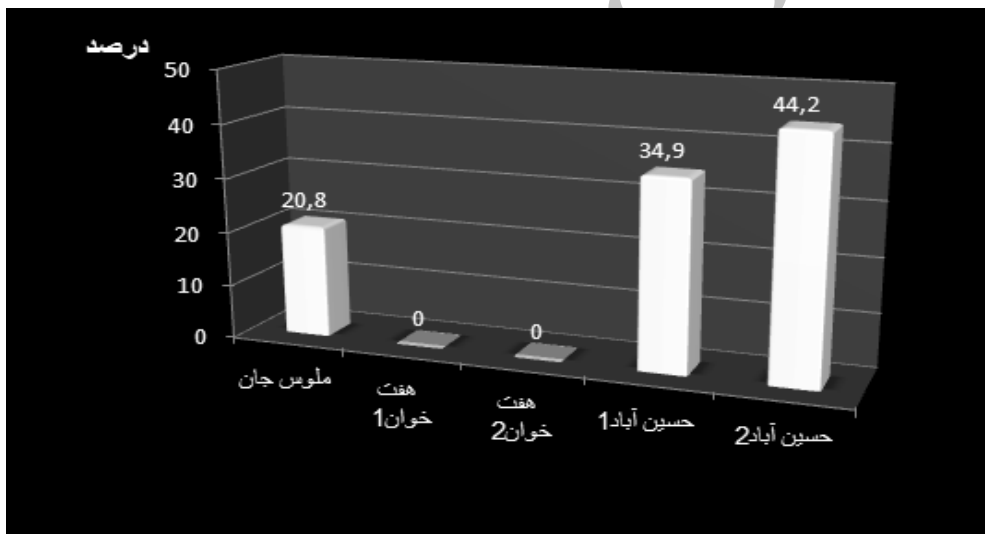
۱) و ۷۲/۱ درصد استرپتوکوکوس میلیری (*iniae*) را شامل می‌شود (جدول ۲). پس از انجام تست آنتی بیوگرام مشخص شد که بهترین داروی مورد نظر کلرامفنیکل بوده که باکتری‌ها بیشترین حساسیت را به آن نشان می‌دهند و بعد از آن SXT در درجه بعدی اهمیت قرار دارد. اما باکتری‌ها، مقاوم به آمپی‌سیلین، تتراسایکلین، پنی‌سیلین، نالیدیکسیک اسید و آموکسی‌سیلین می‌باشند.

با انجام آنالیز PCR مشخص شد که ۸۳/۷ درصد از کوکسی‌های گرم مثبت مورد نظر باکتری‌های لاکتیک اسید بوده و ۱۶/۳ درصد باکتری‌های غیر لاکتیک اسید بوده‌اند (نمودار ۲). شکل ۲ نتیجه حاصل از الکتروفورز را نشان می‌دهد

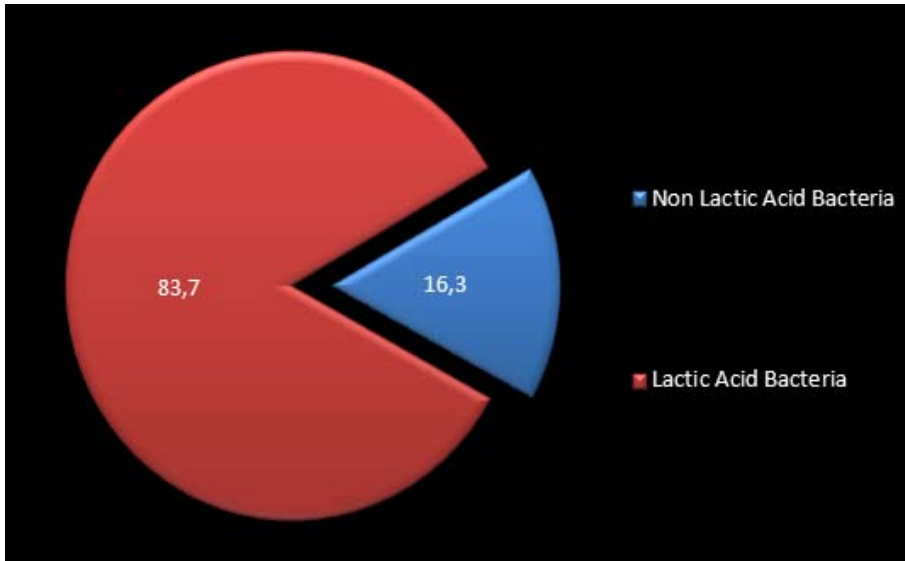


جدول ۲- نتایج حاصل از تست‌های بیوشیمیایی

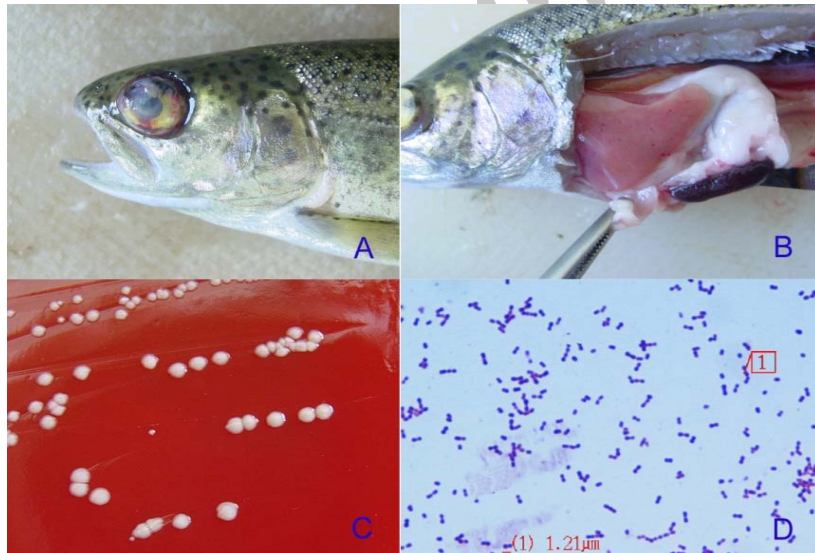
| تست بیوشیمیایی نام باکتری | کاتالاز | احیاء نیترات | ژلاتیناز | هیدرولیز نشاسته | متیل رد | رشد در ۶/۵ درصد نمک | تجزیه دی - زایلوز |
|------------------------------|---------|-----------------|----------|--------------------|---------|---------------------------|----------------------|
| لاکتوکوکوس گارویه‌آ | - | + | + | - | + | + | - |
| استرپتوکوکوس اینیایی | - | + | - | + | + | - | - |
| استرپتوکوکوس میلری | - | - | - | - | + | - | - |



نمودار ۱- فراوانی (درصد) کوکسی‌های گرم مثبت در مزارع پرورشی

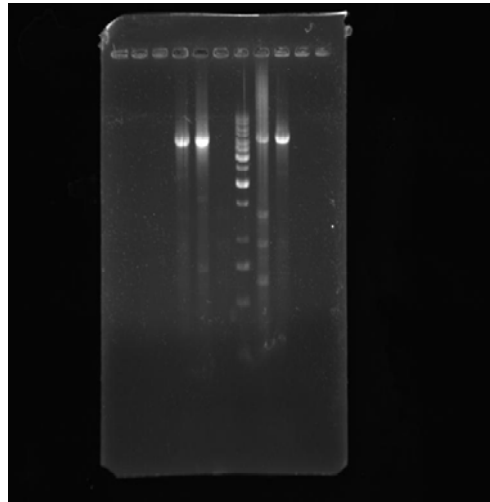


نمودار ۲- درصد باکتری‌های لاکتیک اسید و غیر لاکتیک اسید حاصل از آنالیز PCR



شکل ۱- A: ظاهر ماهی مبتلا به استرپتوکوکوزیس. B: مشاهده هموراژی نقطه‌ای اندام‌های داخلی. C: کلنی‌های ظاهر شده بعد از نمونه‌برداری از ماهی بیمار بر روی محیط کشت غنی آگار خوندار. D: تصویر مشاهده شده از باکتری زیر میکروسکوپ بعد از رنگ‌آمیزی گرم.

نتیجه حاصل از الکتروفورز



شکل ۲- نتیجه حاصل از الکتروفورز: از سمت راست به چپ: ستون سوم مارکر ۱ Kb و باندهای مشاهده شده در ستون اول، دوم، پنجم، ششم مربوط به الکتروفورز باکتری‌های مورد آزمایش می‌باشد که در ۵۰۰۰bp باند داده اند. در ستون چهارم باندهای مشاهده نگردید.

بحث

در پژوهش جاری بیشترین میزان وقوع بیماری (۴۴/۲ درصد) مربوط به منطقه حسین آباد ۲ بوده که متراکم ترین مزرعه را شامل می‌شود. نکته قابل توجه در ارتباط با کوکسی‌های گرم مثبتی که در ارتباط با بیماری‌های ماهیان می‌باشد این است که علائم کلینیکی همگی ماهیان بیمار بسیار شبیه به هم بوده و همگی باعث ایجاد یکسری علائم مشترک می‌گردند اما عامل مسبب اگرچه استرپتوکوکوس است ولی از لحاظ گونه بایکدیگر متفاوت هستند. مطابق پژوهش‌های انجام شده [۱۴، ۱۲، ۵، ۴، ۱]، در تحقیق جاری نیز باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه‌آ گزارش گردیدند. علاوه بر این باکتری‌ها، باکتری استرپتوکوکوس میلری نیز براساس تست‌های بیوشیمیایی مشخص شده است، که اولین گزارش وقوع آن در منطقه جنوب کشور می‌باشد.

با توجه به این که عفونت استرپتوکوکی به ویژه پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمانی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و خسارات جبران‌ناپذیری را به بار می‌آورد، از این رو شناسایی مناطق آلوده و کمک به رفع آلودگی از طریق تشخیص به موقع بیماری و عامل مسبب آن از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است، چرا که مردم تولیدات بهداشتی با کیفیت استاندارد را می‌پسندند.

در مزارع متراکم، شرایط محیطی باعث استرس‌های قابل توجه شده و ماهیان را به طیف وسیعی از پاتوژن‌ها حساس می‌نماید. گاهی نیز در غیاب بیماری، پاتوژن‌ها می‌توانند حضور داشته باشند. از طرفی باکتری‌های پاتوژن علاوه بر از بین بردن ماهیان در مزارع قابلیت انتقال و سرایت به انسان را دارند، بنابراین تشخیص دقیق و به موقع می‌تواند از گسترش بیماری جلوگیری به عمل آورد.

شامل استرپتوکوکوس آگالاکتیه (*Streptococcus agalactiae*)، استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه (*Streptococcus dysgalactiae*) و استرپتوکوکوس اوبریز (*Streptococcus uberis*) بوده است که همگی از باکتری‌های لاکتیک اسید محسوب می‌شوند [۱۱].

Christion و همکاران (۲۰۰۷) وجود باکتری‌های لاکتیک اسید را در مزارع دارای تلفات زیاد در فرانسه بررسی کردند و پس از انجام بررسی‌های فنوتیپی، با استفاده از PCR ژن *srRNA* ۱۶ و روش توالی‌یابی مشخص کردند تمامی نمونه‌های مشکوک، کوکسی‌های گرم مثبتی هستند که در گروه باکتری‌های لاکتیک اسید طبقه‌بندی می‌شوند و توالی‌یابی مشخص کرد که باکتری-ها از جنس استرپتوکوکوس و لاکتوکوکوس می‌باشند [۷]. بنابراین با استناد بر مطالعات ذکر شده و نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر مشخص می‌گردد که تمامی کوکسی‌های گرم مثبت شناخته شده بیماری‌زا بوده و باعث آلودگی مزارع می‌گردند و آنالیز PCR مشخص کرد که همگی جزو باکتری‌های لاکتیک اسیدی هستند که قزل‌آلای رنگین‌کمانی را آلوده می‌سازند.

براساس منابع علمی ذکر شده با استفاده از این روش و مثبت بودن نمونه‌ها می‌توان بیان کرد که نمونه‌های تشخیصی صحیح می‌باشند و از آنجا که در تحقیق حاضر ۱۶/۳ درصد از کل نمونه‌ها در آنالیز PCR جواب منفی دادند دلیل دیگری است که استفاده مطلق از شناسایی بر پایه آنالیز بیوشیمیایی را رد می‌نماید.

بچه ماهی‌های وارد شده به حوضچه‌ها می‌توانند آلودگی را همراه با خود به مزارع منتقل کنند و مزارع سالم را درگیر نمایند. می‌توان چنین اظهار داشت که در منطقه مورد بررسی علاوه بر دو باکتری استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه‌آ که قبلاً از موارد مشکوک بوده و آنتی‌بیوتیک‌ها براساس این دو باکتری مصرف می‌شده‌اند، باکتری استرپتوکوکوس میلری نیز وجود دارد به طوری که این باکتری نیز با علائم مشابه می‌تواند باعث تلفات شود.

بر اساس نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر تمامی کوکسی‌های گرم مثبت جدا شده در ارتباط با بیماری ماهی‌ان با عود و با عود ایچ-اس استرپتوکوکوزیس/انتروکوکوزیس می‌شوند. همگی، کلنی‌های کوچک سفید رنگ ایجاد کرده و حالت موکوئیدی دارند. براساس تست‌های بیوشیمیایی مشخص شد که دو گونه استرپتوکوکسی شامل استرپتوکوکوس میلری (۷۲/۱ درصد) و استرپتوکوکوس اینیایی (۴/۶ درصد) و یک گونه لاکتوکوکوس شامل لاکتوکوکوس گارویه‌آ (۲۳/۳ درصد) از عوامل بیماری‌زا هستند. همان‌طور که در پژوهش‌های دیگر بیان شده [۵، ۶، ۷، ۸] تست‌های بیوشیمیایی رایج توان شناسایی صد در صد باکتری‌ها را نداشته و امکان تشخیص غلط نیز وجود دارد. بنابراین از روش مولکولی PCR بر پایه ژن *srRNA* ۱۶ جهت شناسایی دقیق استفاده شده است.

در مطالعات انجام شده توسط Altinok و همکاران (۲۰۱۱) وجود باکتری لاکتوکوکوس گارویه‌آ در قزل‌آلای رنگین‌کمانی با استفاده از روش (mPCR) Multiplex PCR به اثبات رسید [۴].

از آنجا که Soltani و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی بیماری‌های سیستمیک فوق‌حاد که گونه‌های ماهی آب شیرین و شور را درگیر می‌کند مشخص کردند که قزل-آلای رنگین‌کمانی ایران آلوده به کوکسی‌های گرم مثبت است، روش مولکولی PCR بر پایه ژن *srRNA* ۱۶ انجام گرفت که نتیجه آن شامل اثبات وجود استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوس گارویه‌آ و جنس-های دیگری از استرپتوکوکوس بوده است. نتایج این مطالعه مشخص کرد مزارع پرورشی ایران به شدت تحت تأثیر این دو گونه باکتری می‌باشند [۱].

همچنین Pourghalam و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند نمونه‌های قزل‌آلای رنگین‌کمانی ۸ استان در ایران آلوده به استرپتوکوکوس بوده و بر اساس آنالیز PCR ژن *srRNA* ۱۶ مشخص شد که استان فارس آلوده به استرپتوکوکوس اینیایی است ولی غالب گونه‌ها به ترتیب

- ۱- مظلومی، م. (۱۳۷۲). استرپتوکوکوزیس / آنروکوکوزیس بیماری مهم اقتصادی در پرورش ماهی. انتشارات نوید شیراز، چاپ اول.
- ۲- وزیری، ب. (۱۳۶۳). اصول بیوشیمیایی و میکروب شناسی تشخیصی. چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران.
- ۳- ناظم، م. راشد، ط و نادری نسب، م. (۱۳۷۰). باکتری شناسی آزمایشگاهی. انتشارات بنیاد فرهنگی رضوی.

4- Altinok, I. (2011), Multiplex pcr assay for detection of four major bacterial pathogens causing rainbow trout diseases. *Inter-Research D.A.O* . 93(3): 199-206.

5- Mata, A.I., Blanco, M.M., Dominguez, L. and J.F. Fernandez-Garayzabal (2004), Development of a PCR assay for *Streptococcus iniae* based on the lactate oxidase (IctO) gen with potential diagnostic value. *Vet. Microbiol.* 101(2):109-116.

6- Bercover, H., Ghittino, C. and A. Eldar (1997), Immunization with bacterial antigens: infections with streptococci an related organisms. *Deve. Biol. Stand.* 90: 153 – 160.

7- Michel, C., Pelletier, C., Boussaha, M., Douet, D.G., Lautraite, A. and P. Tailliez (2007), Diversity of Lactic acid bacteria associated with fish and fish farm environment, Established by amplified rRNA gene restriction analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 73(9): 2947-2955.

8- Eldar, A. and C. Ghittio (1999), *Lactococcus garviea* and *Streptococcus iniae* infection in rinbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), similar but different diseases. *Dis. Aquat. Org.* 36: 227-231.

9- Hoshina, T., Sano, T. and Y. Morimoto (1958), A *Streptococcus* pathogenic to fish. *J. Tokyo Univ. Fish.* 44: 57-68.

10- Narog, B.J. (2002), Difficult issues for aquaculturists in the US and around the word. *Aquaculture magazine.* May/June: 1-5.

بنابراین ممکن است نیاز به مصرف آنتی بیوتیک‌های جدیدتر و مناسب‌تر باشد.

با وجود کاربرد آنتی بیوتیک‌ها به نظر می‌رسد که آنتی-بیوتیک‌ها شیوع بیماری را مهار می‌کنند اما باکتری‌ها را حذف نمی‌نمایند و به دلیل کاهش اشتها، ماهیان بیمار نمی‌توانند غذاهای درمانی را مصرف کنند [۱].

در صورت آلودگی مزارع پرورشی ماهیان به این باکتری-ها، ضررهای اقتصادی جبران ناپذیری به بار می‌آید و از آنجا که باکتری قابل انتقال به انسان و پستانداران است شناسایی و تشخیص دقیق و به موقع و جلوگیری از ورود آلودگی به منطقه حائز اهمیت است.

پیشنهادات این پژوهش عبارتند از:

۱- انجام تحقیقی مشابه به همراه انجام روش توالی یابی ژن srRNA ۱۶ و ثبت در بانک ژنی.

۲- شناسایی سویه‌های مختلف باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی و استرپتوکوکوس میلری به روش PCR.

۳- بررسی آلودگی آب‌های ورودی به مزارع پرورشی و تأثیر آنها بر انتقال آلودگی به ماهیان.

۴- بررسی رابطه سلامت کارگران مزارع پرورشی و سلامت ماهیان.

۵- بررسی آلودگی میکروبی مواد غذایی ماهی‌ها و وسایل نگهداری ماهیان و بیماری‌های شایع مزارع پرورشی.

۶- بررسی استفاده از ترکیبات مختلف پروبیوتیکی در پیشگیری و کنترل بیماری استرپتوکوکوزیس / آنروکوکوزیس در ماهی قزل آلائی رنگین کمانی.

۷- تهیه و تولید واکسن DNA بر علیه بیماری استرپتوکوکوزیس.

۸- مطالعه تأثیر آنتی بیوتیک‌های مختلف بر میزان ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی ماهیان قزل آلائی رنگین کمانی چالش یافته به باکتری‌های استرپتوکوکوی آنروکوکوی.

منابع



- 13- Ronald, J., and R. Roberta (2001), Fish diseases by bacterial pathogens. In: Fish Pathology. 3rd Edition. New York: W. B. Saunder. 234 -235.
- 14- Soltani, M., Haghghi Karsidani, S., Nikbakht-Brojeni, G., Ghasemi, M. and H.F. Skall (2010). Molecular epidemiology of zoonotic streptococcosis / lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) aquaculture in Iran. *Iran. J. Microbiol.* 2(4): 198-209.
- 15- Woo, P.T.K. and D.W. Bruno (1999), Fish diseases and disorders. Viral Bacterial and Fungal infection. London: CAP publishing. 33-319.
- 11- Pourgholam, R., Laluei, F., Saeedi, A.A., Zahedi, A., Safari, R., Taghavi, M.J., NasrollahzadehSaravi, H. and H. Pourgholam (2009), Distribution and Molecular identification of some causative agents of streptococcosis isolated from farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) in Iran. *Iran. J. Fish. Sci.* 10(1): 109-122.
- 12- Ravelo, C., Magarinos, B., Romalde, J.A. and A.E. Tornazo (2001), Conventional versus miniaturized system for the phenotypic hracterization of *Lactococcus garveae* strains. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 21: 136-144.

Archive of SID