

گزارش اولین مورد جداسازی و شناسایی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از ماهیان خاویاری گونه سیری (*Acipenser baeri*) پرورشی در ایران

علیرضا بابا علیان امیری^۱، میلاد عادل^{۲*}، سید جلیل ذریه زهرا^۳، امراله قاجاری^۳، پولین شهره^۴،
حمید رسولی زاده^۱، لاله ذبیحی^۱

*Miladadel85@yahoo.com

- ۱- اداره کل دامپزشکی استان مازندران، ساری، ایران
- ۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
- ۳- سازمان دامپزشکی کشور، تهران، ایران
- ۴- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۴

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۸

چکیده

در این مطالعه به دنبال بروز تلفات در ماهیان خاویاری گونه سیری (*Acipenser baeri*) از یک مرکز پرورش ماهیان خاویاری در شهرستان ساری در مرداد ماه سال ۱۳۹۰، نمونه برداری از ۲۰ عدد ماهی خاویاری گونه سیری و آب مزرعه منتخب صورت گرفت. پس از ثبت مشاهدات بالینی، کالبد گشایی، کشت باکتریایی، آزمایش‌های بیوشیمیایی و مولکولی (PCR) جهت شناسایی جنس و گونه باکتری انجام گردید. نتایج حاصله نشان داد که ماهیان مبتلا دارای علائم بیحالی، کاهش اشتها، عدم تحرک و شنای وارونه بودند. در کالبد گشایی علائمی از قبیل خونریزی و پرخونی در اندام‌های داخلی، خونریزی پتشی و پرخونی در کبد، طحال و آبشش‌ها مشاهده شد. پس از کشت میکروبی و انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی، طی بررسی مولکولی بر ۲۰ جدایه گرم مثبت، تعداد ۱۸ جدایه به عنوان باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تشخیص داده شدند که دارای قطعه مورد انتظار ۲۷۰ جفت باز (bp) بودند. نتیجه آزمایش آنتی‌بیوگرام بر جدایه‌ها، بیشترین حساسیت را به فلورفنیکل نشان داد. در ادامه، پس از مصرف ۱۰ میلی گرم در هر کیلوگرم از داروی مذکور به مدت ۱۴ روز به صورت خوراکی تلفات کاملاً قطع و بیماری کنترل شد. نتایج این تحقیق بیانگر بروز یک توکسمی شدید در ماهیان خاویاری گونه سیری ناشی از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بوده است. براساس اطلاعات موجود، این مطالعه اولین مورد جداسازی و شناسایی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از ماهیان خاویاری گونه سیری می‌باشد.

لغات کلیدی: تاس ماهی سیری، استافیلوکوکوس اورئوس، آزمایش‌های مولکولی، آنتی بیوگرام، درمان

*نویسنده مسئول

مقدمه

تاس ماهی سیبری (*Acipenser baeri*) گونه بومی رودخانه های بزرگ سیبری و دریاچه های اروپا و به عنوان گونه پرورشی مطرح در اروپاست که از آن برای تولید گوشت و استحصال خاویار استفاده می شود (Jeney and Jeney, 2002). این ماهی به تاس ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) شباهت دارد، با این تفاوت که دارای تیغه های آبششی بادبزی است. پوزه آن کوتاه، اندکی مسطح و بریدگی لب پایین آن عمیق است (Jeney and Jeney, 2002). این گونه به لحاظ تحمل شرایط پرورشی، در خارج از محیط های طبیعی نظیر دریاچه، رودخانه و ... به منظور تولید گوشت پرورش می یابد (نجفی پورمقدم و همکاران، ۱۳۹۰) و از نظر تولید خاویار حجم بالایی را بخود اختصاص می دهد (بزدانی ساداتی و رضایی، ۱۳۹۳). با توجه به موفقیت های بدست آمده به منظور سازگاری و پرورش این ماهی در آب شیرین و رسیدن به توجیه اقتصادی عرضه ماهی خاویاری گوشتی به بازارهای داخلی و خارجی کشور موجبات توجه بخش خصوصی به پرورش این گونه ارزشمند فراهم شده است (Akrami et al., 2013). از سوی دیگر، پرورش این گونه با ارزش در آب های شیرین به صورت متراکم، عدم کنترل دقیق عوامل فیزیکی و شیمیایی آب، بی توجهی به لزوم انجام آزمایش های میکروبی آب و غذای مصرفی و نیز عدم استقرار امنیت زیستی از منظر بهداشتی، زمینه بروز استرس و بیماری در ماهیان بوجود آمده است (Angelica et al., 2008).

استافیلوکوکوس باکتری گرم مثبت و بی هوازی اختیاری می باشد. از مهمترین گونه های این جنس استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) است که بسیاری از نژادهای پتاهمولیتیک و کوآگولاز مثبت این باکتری، فرصت طلب هستند و برخی از آنها تولید آنترتوکسین می نمایند که منجر به بروز مسمومیت های غذایی در انسان می شود (Dinges et al., 2000). این باکتری به عنوان یک عامل بیماریزای اجباری در ماهیان است که از راه آب و غذای آلوده وارد بدن ماهی می گردد. برخی از نژادهای این باکتری جزء میکروفلور طبیعی روده هستند که در

شرایط تضعیف سیستم ایمنی بدن ماهیان و استرس های محیطی مختلف نظیر (حمل و نقل، دستکاری، تراکم بالا، استفاده از منابع آبی با کیفیت پایین، تغییر عوامل فیزیکی و شیمیایی آب و تغذیه نامطلوب) شروع به تکثیر می کنند (موسوی و همکاران، ۱۳۸۸) و تولید اگزوتوکسین و در نهایت پس از جذب سم باکتری ایجاد توکسمی و علائمی نظیر بیحالی، کاهش اشتها، عدم تحرک، شنای وارونه، خونریزی در اندام های داخلی و خارجی می نمایند (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۱).

مطالعات صورت گرفته در مورد عوامل بیماریزای ماهیان خاویاری در ایران بیشتر محدود به فلور باکتریایی آنها بوده است و گزارش های محدودی از بروز تلفات و بیماری در این ماهیان گزارش شده است (عادل و همکاران، ۱۳۹۳). با توجه به اهمیت گونه تاس ماهی سیبری و از سویی، به دلیل کاهش شدید ذخایر طبیعی این ماهی، شناخت علل تلفات در این ماهیان به منظور اجرای راهکار مناسب در جهت مقابله با عوامل احتمالی بروز تلفات ضروری بنظر می رسد.

مواد و روش کار

در مرداد ماه ۱۳۹۰ به دنبال بروز تلفات در ماهیان خاویاری گونه سیبری در یکی از مراکز پرورش ماهیان خاویاری واقع در شهرستان ساری، پس از اخذ فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب، تعداد ۲۰ نمونه ماهی زنده (با میانگین وزنی 2 ± 0.5 کیلوگرم) با علائم بالینی از قبیل بی حالی، کاهش اشتها، عدم تحرک و شنای وارونه به آزمایشگاه دامپزشکی ساری منتقل شدند. فاکتورهای شیمیایی و فیزیکی آب شامل اکسیژن محلول و pH، به صورت روزانه اندازه گیری شدند. این شاخص ها با استفاده از روش های استاندارد اندازه گیری شدند (APHA, ۲۰۰۵). اکسیژن محلول به روش وینکلر اندازه گیری شد. مقدار اسیدیته آب، به کمک pH متر پرتابل با الکتروود حساس (مدل 320-WTW، ساخت کشور آمریکا) تعیین گردید. نیتريت، نترات و آمونیاک نیز به وسیله دستگاه دیجیتال HACH (ساخت کشور آمریکا) به صورت هفتگی اندازه گیری شدند.

حاصله توسط دستگاه UVI tec (مدل BTS-20.MS) عکسبرداری شد و نتیجه آزمایش قرائت گردید. به منظور ارزیابی میزان حساسیت باکتری‌های جدا شده به درمان آنتی بیوتیک، از دیسک‌های آنتی بیوتیک شرکت پادتن طب ایران شامل اریتروماپسین (۱۵ میکروگرم)، انروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، فلوموکوئین (۳۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ واحد بین المللی) و فلورفنیکل (۳۰ میکروگرم) برای آزمایش آنتی بیوگرام استفاده شد (شهرانی و همکاران، ۱۳۹۳). آزمایش آنتی بیوگرام به روش دیسک و در دمای ۲۵ سانتی‌گراد انجام و نتایج حاصله پس از ۲۴ ساعت، با اندازه‌گیری قطر هاله ممانعت کننده‌گی رشد^۱، اندازه‌گیری شد (Ebrahimzadeh Mousavi et al., 2009). در پایان نتیجه آزمایش آنتی بیوگرام بر جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، بیشترین حساسیت را به فلورفنیکل نشان داد و درمان با این آنتی‌بیوتیک به میزان ۱۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۲ روز همراه با مصرف ویتامین C به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن در دستور کار قرار گرفت و با توجه به نتایج حاصله و طبق روش توصیه شده توسط Noga (۲۰۱۳)، درمان طی ۲ هفته تکمیل شد.

نتایج

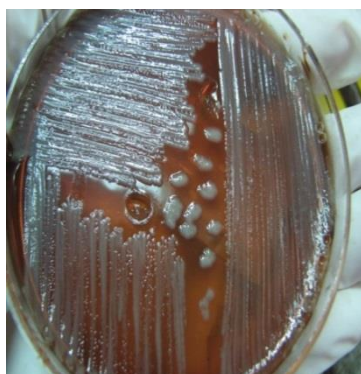
براساس نتایج بدست آمده، تمامی متغیرهای فیزیکی و شیمیایی آب مزارع پرورشی در محدوده استاندارد بود و تاثیری در شیوع بیماری نداشت (جدول ۱). به طور کلی، از نظر بالینی ماهیان مبتلا دارای علائم بی‌حالی، کاهش اشتها، عدم تحرک و شنای وارونه بودند. در کالبد گشایی این ماهیان علائمی از قبیل: خونریزی و پرخونی در اندام‌های داخلی (شکل ۱)، خونریزی و پرخونی در روده، خونریزی پتشی و پرخونی در کبد و خونریزی پتشی و تیرگی طحال و آبشش قابل مشاهده بود. پس از بررسی محیط‌های کشت، پرگنه‌های صاف و مدور به رنگ زرد مایل به نارنجی کم‌رنگ (شکل ۲) بودند که تحت آزمایش‌های بیوشیمیایی قرار گرفتند. نتایج حاصل از این

پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه و انجام کالبد گشایی، در شرایط استریل نمونه‌گیری از بافت‌های کبد و کلیه صورت گرفت و در محیط تریپتیک سوی آگار (TSA) کشت داده شد و نمونه‌های کشت داده شده در دمای ۲۵ سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه قرار داده شدند. از پرگنه‌های رشد یافته ابتدا رنگ‌آمیزی گرم بعمل آمد و با استفاده از آزمایش‌های باکتری‌شناسی رایج توصیه شده توسط Austin و Austin (۲۰۱۳) شناسایی باکتری‌ها در حد جنس صورت گرفت. آزمایش‌های بیوشیمیایی صورت گرفته شامل کاتالاز، اکسیداز، کوآگولاز، O/F، اندل، MR، VP، اوره، تحرک، سیمون سترات، همولیز، اسکولین، نترات، مصرف قندهای سوربیتول، سالیسین، مانیتول، گلوکز، تری هالوز، دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه آرژنین، لیزین و اورنیتین بود.

استخراج DNA جدایه‌ها، بر اساس دستورالعمل کیت استخراج DNA (MBST, Iran) صورت گرفت. تشخیص قطعی جدایه‌ها با طراحی آغازگرهای اختصاصی (5'- F (3'- TGT ATG TAT GGA GGT GTA AC و 5'- ATT AAC CGA AGG TTC TGT -3) بر پایه ژن 16S rRNA صورت گرفت و اندازه محصول مورد انتظار ۲۷۰ جفت باز (bp) بود. برنامه حرارتی دستگاه ترموسایکلر در ۳۵ سیکل حرارتی شامل: مرحله واسرشت سازی اولیه دو رشته DNA در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله اتصال پرایمر به DNA الگو در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن رشته الگو در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله گسترش نهائی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X PCR، یک واحد Taq Polymerase، ۳۰ پیکو مول از هر یک از پرایمرها، ۰/۲ میکرومول از مخلوط dNTPs، ۲ میکرولیتر از نمونه‌های DNA استخراج شده بود و حجم نهایی محصول PCR توسط آب مقطر استریل به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد (Anvari et al., 2008). در پایان محصول PCR با استفاده از از ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز و باند

¹ Growth inhibitor zone

بودند. نتایج حاصل از مطالعات آنتی-بیوگرام در جدول ۳ ارائه شده است. بر اساس این نتایج، جدایه‌های استافیلوکوکوس آئوروس بترتیب نسبت به آنتی-بیوتیک‌های فلورفنیکل، انروفلوکسازین و فلموکوئین و اریترومايسين حساس و نسبت به پنی‌سیلین مقاوم بودند.



شکل ۲: تصویر پرگنه جداسازی شده از کشت کلیه ماهیان بیمار

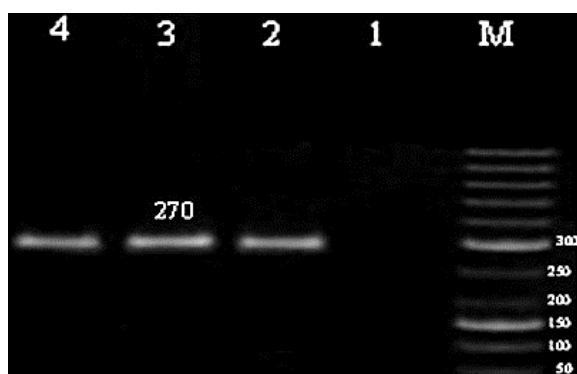
Figure 2: Colony of isolated bacteria from cultured kidney of infected fish.

آزمایش‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. پس از انجام واکنش PCR بر ۲۰ جدایه، تعداد ۱۸ جدایه به عنوان باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تشخیص داده شدند که دارای قطعه مورد انتظار ۲۷۰ جفت باز (bp) بودند (شکل ۳). با توجه به آزمایش‌های بیوشیمیایی و مولکولی بعمل آمده جدایه‌های باکتری مذکور استافیلوکوکوس اورئوس



شکل ۱: خونریزی و پرخونی در اندام‌های داخلی تاس ماهی بیمار گونه سبیری

Figure 1: hemorrhagic in the internal organs of the infected Siberian sturgeon.



شکل ۳: PCR حاصل از DNA برخی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مورد استفاده در این مطالعه (M: مارکر، جدایه ۱: کنترل منفی، جدایه ۲: کنترل مثبت، جدایه‌های ۳ و ۴: جدایه‌های مورد آزمایش)

Figure 3: PCR from DNA of some *Staphylococcus aureus* isolates used in this study (M: marker, isolate 1: negative control, isolate 2: positive control, isolates 3 and 4: sample isolates).

جدول ۱: نتایج اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب در واحد پرورش آب شیرین ماهیان خاویاری گونه سبیری

Table 1: Physical and chemical water factors measured in freshwater farm of Siberian sturgeon.

شاخص	نتایج	حد مجاز
دما	۱۹/۵	۱۶-۲۱
هدایت الکتریکی	۹۸۷	-۵۰۰۰
(میکروموس/سانتی‌متر)	۴۰۰	
اکسیژن محلول (میلی گرم/لیتر)	۷/۲۹	۶-۱۴
سولفید هیدروژن (میلی گرم/لیتر)	صفر	صفر
آمونیاک	۰/۲	۰/۵-۰/۵
pH	۷/۷	۷/۶-۸/۵
آهن کل (میلی گرم/لیتر)	۰/۲	۰/۳-۰/۲
نیتريت (میلی گرم/لیتر)	۰/۰۰۱	-۰/۰۰۹
	۰/۱	
نیترات (میلی گرم/لیتر)	۱	۱-۲

جدول ۲: نتایج مطالعات باکتری شناسی جدایه‌های گرم مثبت حاصله از ماهیان بیمار گونه تاس ماهی سیبری

Table 2: Bacteriological results of gram positive isolates from Siberian sturgeon.

آزمایش	(جدایه‌های مطالعه حاضر)	Austin and Austin, (2013)
رنگ آمیزی گرم	+	+
تحرك	+	-
اکسیداز	+	+
کاتالاز	+	+
اندول	-	-
متیل رد	+	+
واکنش وگس-پروکسور	-	+
O/F	+/+	+/+
کاهش نیتрат	+	+
تولید H ₂ S	+	+
آرژنین دکربوکسیداز	+	+
ارنیتین دکربوکسیداز	+	-
آسکولین	-	-
اوره	-	+
تولید اسید از گلوکز	(+)	(+)
مانیتول	+	+
مالتوز	+	+
سوربیتول	+	+
تری هالوز	+	+
سالیسین	-	-
همولیز	+	-
سیمون سیترات	+	+

جدول ۳: نتایج آنتی بیوگرام جدایه‌های باکتریایی بدست آمده از ماهیان مبتلا به استافیلوکوکوزیس

Table 3: Antibio gram results of isolated bacteria obtained from fish infected to Staphylococcosis.

جدایه باکتری مورد مطالعه	پنی سیلین	انروفلوکسازین	اریترومایسین	فلورفنیکل
استافیلوکوکوس اورئوس	مقاوم	۴۴	۳۹	۴۰

بحث

استافیلوکوکوس اورئوس جزء عوامل بیماریزای فرصت طلب محسوب می‌شود که در شرایط مساعد از قبیل شرایط نامساعد بهداشتی و تضعیف سیستم ایمنی قادر به ایجاد عفونت در انسان و حیوانات می‌باشد. این باکتری در قسمت فوقانی دستگاه تنفس و بخش تحتانی دستگاه

ادراری تناسلی و نیز به عنوان باکتری عبوری در دستگاه گوارش انسان و پستانداران یافت می‌شوند و در شرایط محیطی نسبتاً پایدار است (Mohammed et al., 2014). اولین گزارش مرتبط با استافیلوکوکوزیس در ماهیان مربوط به سال‌های ۸۳-۱۹۸۲ می‌باشد که در یکی از مزارع پرورش ماهی کپور نقره‌ای با عوارض چشمی

بوقوع پیوست و عامل تلفات به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نسبت داده شد (Noga, 2013). در مطالعه‌ای که موسوی و همکاران (۱۳۸۸) جهت بررسی بروز استافیلوکوکوزیس در مزارع منتخب پرورش ماهی قزل آلاي رنگین کمان استان مازندران انجام دادند، گونه‌های بیماریزای استافیلوکوکوس کوهنی (*Staphylococcus cohnii*) و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (*Staphylococcus epidermidis*) در فصل بهار و استافیلوکوکوس ورنئی (*Staphylococcus warneri*) و استافیلوکوکوس کروموجنز (*Staphylococcus cheromogens*) در فصل تابستان جداسازی شدند. در مطالعه‌ای که سلطانی و همکاران (۱۳۹۱) بر بیماری‌های باکتریایی مزارع تکثیر و پرورش قزل آلاي رنگین کمان استان مازندران انجام دادند، بیشترین موارد باکتری‌های جداسازی شده متعلق به جنس استافیلوکوکوس بود.

مکانیسم بیماری‌زایی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس هنوز ناشناخته است، ولی اعتقاد براین است که بیماری‌زایی و تلفات حاصله ناشی از آگزوتوکسین‌های باکتریایی مانند استرپتوکیناز (سبب هضم فیبرین)، استرپتودرناز (سبب تجزیه DNA سلولی)، هیالورونیداز و همولیزین است (Nieto et al., 2006). عفونت غذایی ناشی از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس زمانی که از ماهیان بیمار یا حامل جهت تغذیه استفاده می‌شود، اتفاق می‌افتد. علائم بالینی بیماری با توجه به گونه ماهی متفاوت است، اما شایع‌ترین عفوندها، تیره شدن رنگ بدن، آگزوفتالمی یک طرفه یا دو طرفه، کدورت قرنیه چشم، خونریزی روی سرپوش آبششی و قاعده باله‌ها و پیدایش زخم‌های سطحی از جمله متداول‌ترین علائم بالینی در بسیاری از گونه‌ها می‌باشد که با علائم بالینی مشاهده شده در این مطالعه همخوانی دارد (Noga, 2013). عفونت معمولاً با تغییر رژیم غذایی، دستکاری یا جابجایی بروز می‌کند و اولین بروز بیماری معمولاً بدون عوامل مستعد کننده ایجاد می‌شود. این حالت همراه با خونریزی‌های پتشی در پهلوها یا در پایه باله‌ها می‌باشد و معمولاً با آسیب همورائیک نیز همراه می‌باشد. ضایعات آسیب شناسی در چشم شامل تورم کره چشمی و نفوذ

سلول‌های لنفاوی و همورائیک در قسمت حدقه می‌باشد. این موضوع ممکن است سبب کشیده و گشاد شدن حدقه شود. آبشش‌ها به صورت پر خون و نفوذ سلول‌های التهابی در لاملای آبشش‌ها مشاهده می‌شوند و این موضوع باعث پاره شدن سلول‌های آبشش در حین حمل و نقل و موجب مرگ و میر آنها می‌شود. از جمله عوامل شدت باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می‌توان به کوآگولاز، لیپاز، استراز، الاستاز، استافیلوکیناز، دزوکسی ریبونوکلئاز، هیالورونیداز، فسفولیپاز، پروتئین A، لکوسیدین، آلفاتوکسین، بتاتوکسین، توکسین‌های اکسفولیاتیو و انتروتوکسین‌ها اشاره نمود (Balaban and Rasooly, 2000). گونه‌های استافیلوکوکوس معمولاً براساس ظاهر کلنی، آزمایش‌های بیوشیمیایی و الگوهای تعیین حدودی ژن RNA ریبوزومی طبقه‌بندی می‌گردند (Austin and Austin, 2013). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که ماهیان خاویاری سیبری بیمار ممکن است با بیماری استافیلوکوکوزیس درگیر باشند، زیرا عامل مذکور از کلیه و کبد ماهیان بیمار با علائم بالینی جداسازی گردید و با روش‌های کشت باکتریایی، آزمایش‌های بیوشیمیایی و مولکولی تأیید تشخیص صورت گرفت. در مطالعات صورت گرفته قبلی، وجود بیماری‌های گوناگون از قبیل استرپتوکوکوزیس (Yang et al., 2009)، یرسینیوزیس (Vuillaume et al., 1987) و سپتی سمی خونریزی دهنده ناشی از آنروموناتس هیدروفیلا (عادل و همکاران، ۱۳۹۳) و سودوموناس (Angelica et al., 2008) در گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری گزارش شده است، ولی مورد جدا شده اخیر به عنوان یک مورد نادر ولی قابل توجه دامپزشکان، مدیران مراکز پرورش و دست اندرکاران صنعت آبی پروری کشور می‌باشد که خود نکاتی را پیرامون ارتقاء بهداشت عمومی و محیط زیست، اجرای اصل امنیت زیستی، پیشگیری از بروز شرایط استرس‌زا در مزارع از طریق رعایت تراکم، بکارگیری غذای با کیفیت مناسب، انجام نمونه‌گیری‌های مرتب و دوره‌ای از همه مزارع و تشخیص بموقع بیماری‌های درگیر گوشزد می‌نماید. مواردی از قبیل عدم انجام آزمایش‌های

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود می‌دانند تا از تلاش‌ها و زحمات مسئولین آزمایشگاه دامپزشکی استان مازندران تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

سلطانی، م.، حاضری، م.، شریف پور، ع.، میرزرگر، س.س. و شهره، پ.، ۱۳۹۱. مطالعه بیماری‌های باکتریایی مزارع تکثیر و پرورش قزل آلا رنگین کمان در استان مازندران. نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی، ۲۴(۸): ۱-۲۴.

شهرانی، م.، رئیسی، م. و تاج بخش، ا.، ۱۳۹۳. مطالعه فراوانی و مقاومت دارویی باکتری لاکتوکوکوس گارویه در ماهیان قزل آلا رنگین کمان در استان چهارمحال و بختیاری. زیست شناسی میکروارگانیسم‌ها، ۱۱(۳): ۷۱-۷۸.

عادل، م.، سعیدی، ع. ا. و صفری، ر.، ۱۳۹۳. بررسی علل تلفات در ماهیان خاویاری پرورشی (فیل ماهی و ماهی شپ) در استان مازندران طی سال‌های ۱۳۸۹-۱۳۸۸. مجله شیلات، ۸(۳): ۴۶-۳۹.

موسوی، ع.، قیاسی، م.، سعیدی، ع. ا. و زاهدی، آ.، ۱۳۸۸. استافیلوکوکوزیس در مزارع منتخب پرورشی قزل آلا رنگین کمان در استان مازندران. پانزدهمین کنگره دامپزشکی ایران. تهران. ۵۲-۵۴.

نجفی پورمقدم، ا.، فلاحتکار، ب. و کلباسی، م.، ۱۳۹۰. اثر لیسیتین جیره بر شاخص‌های رشد و ویژگی‌های خونی بچه ماهی تاسماهی سبیری. مجله علمی شیلات ایران ۲۰(۳): ۱۴۳-۱۵۴.

DOI:10.22092/ISFJ.2017.110014

یزدانی ساداتی، م.ع. و رضایی، ا.، ۱۳۹۳. تاثیر جایگزینی پروتئین کنستانتره سویا بجای پودر ماهی بر شاخصهای رشد و ترکیب لاشه تاسماهی سبیری. مجله علمی شیلات ایران. ۲۳(۴): ۷۳-۸۵.

Akrami, R., Iri, Y., Khoshbavar Rostami, H. and Razeghi Mansour, M., 2013. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, Lactobacillus bacterial population and hemato-

میکروبی آب و غذای مصرفی در مزارع، بی‌توجهی کارگران به اصول بهداشتی مانند عدم ضدعفونی دستها قبل و هنگام غذادهی، استفاده از ظروف مشترک غذادهی در سالن‌های پرورش، عدم استفاده از ضدعفونی کننده موثر در ورودی سالن‌ها و عدم ضدعفونی ماشین‌های حمل نهاده‌های خوراکی، تانک‌های حمل لارو و بچه ماهیان (Safari et al., 2015) تردد نابجای افراد متفرقه و ورود حیوانات و لگرد و پرندگان به مزارع از جمله عوامل ورود عوامل بیماری‌زا به ساختار منابع آبی پروری و بروز تلفات در این گونه با ارزش و سایر ذخایر ملی کشور می‌باشند. با توجه به اینکه ۲۵-۱۰ درصد افراد، حامل باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در مجاری فوقانی تنفسی خود می‌باشند، به منظور حفظ و کنترل آلودگی‌های میکروبی، کاهش عفونت‌ها، کاهش مشکلات بهداشتی در یک برنامه دقیق و عملی، کلیه پرسنل مزرعه ملزم به رعایت موارد بهداشتی و امنیت زیستی گردند. آگاهی از طیف اثر دارو، مقدار و دستور ترکیبی دارو، استفاده از داروهای ضد میکروبی تحت نظر دامپزشک و تحت کنترل سیستم نظارتی و علمی و استفاده از ضد عفونی کننده مناسب از جمله راهکارهای مهم جهت غلبه و کاهش مقاومت آنتی بیوتیک در آبزیان است. نتیجه آزمایش آنتی‌بیوگرام بر جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، بیشترین حساسیت را به فلورفنیکل نشان داد. بنابراین، بر اساس پیشنهاد Noga (۲۰۱۳) پس از مصرف ۱۰ میلی گرم در هر کیلوگرم وزن بدن از داروی مذکور همراه با مصرف ویتامین C به میزان ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی، اشتهای ماهیان بهبود یافت و طی مدت دو هفته تلفات کاملاً قطع و بیماری کنترل شد.

این مطالعه اولین مورد گزارش جداسازی و شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس از ماهیان خاویاری گونه سبیری در ایران می‌باشد. بنابراین، ضروری است که بررسی‌های تکمیلی و جامع‌تری در مورد وضعیت این بیماری در مزارع پرورشی کشور به منظور حفظ و ارتقاء سلامتی این گونه ارزشمند صورت گیرد.

- immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. *Fish and Shellfish Immunology*, 35(4): 1235-1239. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.07.039.
- Angelica, D., Iulia, G., Lorena, S., Vasilean, I. and Cristea, V., 2008.** Studies regarding the presence of the pathogens bacteria into a recirculating system of beluga sturgeon intensive rearing. *Lucari Stiintifice Zootehnicesi Biotehnologii*, 41(2): 41-45.
- Anvari, Sh., Sattari, M., Forozandeh-Moghadam, M., Najar Peerayeh, Sh. and Imanee-Fouladi, A.A., 2008.** Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins A to E from clinical sample by PCR. *Research Journal of Biology Sciences*, 3(8): 826-29. DOI: 10.1128/jcm.41.10.4683-4687.2003
- Austin, B. and Austin, D., 2013.** Bacterial Fish Pathogens. Disease in Farmed and Wild Fish. Praxis Publishing, Chichester, 238-242, 245-272.
- Balaban, N. and Rasooly, A., 2000.** Staphylococcal enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology*, 61:1-10. DOI: 10.1016/s0168-1605(00)00377-9
- Dinges, M. M., Dinges, P., Orwin, M. and Schlievert, P., 2000.** Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical and Microbiological Research*, 13(1): 16-34. DOI: 10.1128/cmr.13.1.16-34.2000
- Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Atee, M., Dastmalchi, F. and Rahmánya J., 2009.** The inhibitory effect of silver nanoparticles on the bacterial fish pathogens, and *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas hydrophila*. *International Journal of Veterinary Research*, 3(2): 137-142.
- Jeney, G. and Jeney, Z.S., 2002.** Application of immunostimulants for modulation of the non-specific defense mechanisms in sturgeon hybrid: *Acipenser ruthenus* A. baerii. *Journal of Applied Ichthyology*, 18: 416-419. DOI: 10.1046/j.1439-0426.2002.00405.x
- Mohammed, T.A., Elsubki Khalid, A. and Saadabi, A.M., 2014.** PCR detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxin A and B genes in *Staphylococcus aureus* isolated from salted fermented fish. *Journal of Microbiology*, 4(2): 51-56. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2004.02349.x
- Nieto, T.P., Lopez, L.R., Santos, Y., Nunez, A. and Toranzo, A.E., 2006.** Isolation of *Serratia plymuthica* as an opportunistic pathogen in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases*, 13(2): 175-177. DOI: 10.1111/j.1365-2761.1990.tb00772.x
- Noga, E.J., 2013.** Fish Disease. Diagnosis and treatment. Iowa State University Press, USA.
- Safari, R., Adel, M., Ghiasi, M., Saeidi Asl, M. R. and Khalili, E., 2015.** First isolation and identification of *Vibrio vulnificus* (biotype 2) from cultured beluga, *Huso huso* in Iran. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 13(3): 275-281.
- Vuillaume, A., Brun, R., Cnene, P. and Lesel, R., 1987.** First isolation of *Yersinia ruckeri* from sturgeon, *Acipenserbaeri* BRANT, in south west of france. *Bulletin*

of the European Association of Fish Pathologists, 7(1): 18-19. DOI: 10.1080/08997659.2012.728169.

Yang, W. and Li, A., 2009. Isolation and characterization of *Streptococcus dysgalactiae* from diseased *Acipenser schrenckii*. *Aquaculture*, 294: 14-17. DOI:10.1016/j.aquaculture.2009.05.018

The first isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) cultured in Iran

Babaalian Amiri A.¹; Adel M.^{2*}; Zorriehzahra J.²; Ghajari A.³; Shohre P.⁴; Rasoolizadeh H.¹; Zabihi L.¹

*miladadel85@yahoo.com

1-Veterinary Administration Mazandaran Province, Sari, Iran.

2-Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

3- Iran Veterinary Organization, Tehran, Iran.

4-Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

Abstract

This study was done after report of some mortality in one Sturgeon fish farm (*Acipenser baeri*) in Sari (north of Iran) during June- July 2011. Sampling was done on 20 fish and waters from selective farm for detection and identification of its agent. After recording the clinical observation, necropsy, bacterial cultures, biochemical analysis and molecular survey (PCR) was done to identify the genus and species of bacteria. The results showed clinical signs including: lethargy, reduce of appetite, motionless, up-down swimming, also, in necropsy symptoms such as hyperemia and hemorrhage in external and internal organs, petechial hemorrhage and congestion in the liver, spleen and gills was observed. After culture, biochemical tests and by molecular study on 20 gram-positive isolates, 18 isolates were identified as *Staphylococcus aureus* that had the expected 270 bp fragment. Antibiotic susceptibility testing on isolates showed more sensitivity to Florfenicol. The following, after taking 10 mg per kilogram of the drug orally for 14 days, mortality completely stop and disease was control. The results indicate the occurrence of a severe toxemia in Siberian sturgeon have been caused by *S. aureus*. According to our knowledge, this is first report of isolation and identification of *S. aureus* from *A. baeri*.

Key words: *Acipenser baeri*, *Staphylococcus aureus*, Molecular assay, Antibigram, Treatment.

*Corresponding author