

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

علیرضا بابا علیان امیری<sup>۱</sup>، میلاد عادل<sup>۲\*</sup>، سید جلیل ذریه زهراء<sup>۳</sup>، امراهه قاجاری<sup>۳</sup>، پولین شهره<sup>۴</sup>،  
حمید رسولیزاده<sup>۱</sup>، لاله ذبیحی<sup>۱</sup>

\*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 پذیرش: مهر ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۴

### چکیده

در این مطالعه به دنبال بروز تلفات در ماهیان خاویاری گونه سیبری (*Acipenser baeri*) از یک مرکز پرورش ماهیان خاویاری در شهرستان ساری در مرداد ماه سال ۱۳۹۰، نمونه برداری از ۲۰ عدد ماهی خاویاری گونه سیبری 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 شناختی وارونه بودند. در کالبد گشایی علائمی از قبیل خونریزی و پرخونی در اندام‌های داخلی، خونریزی پیتشی 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 استافیلوكوکوس اورئوس تشخیص داده شدند که دارای قطعه مورد انتظار ۲۷۰ جفت باز (bp) بودند. نتیجه آزمایش آنتی‌بیوگرام بر جدایه‌ها، بیشترین حساسیت را به فلورفینیکل نشان داد. در ادامه، پس از مصرف ۱۰ میلی‌گرم 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 سیبری ناشی از باکتری استافیلوكوکوس اورئوس بوده است. براساس اطلاعات موجود، این مطالعه اولین مورد جداسازی و شناسایی باکتری استافیلوكوکوس اورئوس از ماهیان خاویاری گونه سیبری می‌باشد.

**لغات کلیدی:** تاس ماهی سیبری، استافیلوكوکوس اورئوس، آزمایش‌های مولکولی، آنتی‌بیوگرام، درمان

\*نویسنده مسئول

**۴۵۰**

شرایط تضعیف سیستم ایمنی بدن ماهیان و استرس‌های 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 می‌کنند (موسوی و همکاران، ۱۳۸۸) و تولید اگزوتوكسین و در نهایت پس از جذب سم باکتری ایجاد توکسمی و علائمی نظیر بیحالی، کاهش اشتها، عدم تحرک، شناخت وارونه، خونریزی در اندام‌های داخلی و خارجی می‌نمایند (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۱).

مطالعات صورت گرفته در مورد عوامل بیماریزای ماهیان خاویاری در ایران بیشتر محدود به فلور باکتریایی آنها بوده است و گزارش‌های 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 می‌رسد.

**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  $2\pm 0.5$  کیلوگرم) با علائم بالینی از قبیل بی‌حالی، کاهش اشتها، عدم تحرک و شناخت وارونه به آزمایشگاه دامپزشکی ساری منتقل شدند. فاکتورهای شیمیایی و فیزیکی آب شامل اکسیژن محلول و pH، به صورت روزانه اندازه گیری شدند. این شاخص‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه گیری شدند (APHA، ۲۰۰۵). اکسیژن محلول به روش وینکلر اندازه گیری شد. مقدار اسیدیته آب، به کمک pH متر پرتابل با الکترود حساس (مدل ۳۲۰-WTW HACH) ساخت کشور آمریکا) تعیین گردید. نیتریت، نیترات و آمونیاک نیز به وسیله دستگاه دیجیتال (HACH) (ساخت کشور آمریکا) به صورت هفتگی اندازه گیری شدند.

تاس ماهی سیبری (*Acipenser baeri*) گونه بومی رودخانه‌های بزرگ سیبری و دریاچه‌های اروپا و به عنوان گونه پرورشی مطرح در اروپاست که از آن برای تولید گوشت و استحصال خاویار استفاده می‌شود (Jeney and Jeney, 2002). این ماهی به تاس ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) شباهت دارد، با این تفاوت که دارای تیغه‌های آبششی بادبزنی 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 محیط‌های طبیعی نظیر دریاچه، رودخانه و ... به منظور تولید گوشت پرورش می‌یابد (نجفی پورمقدم و همکاران، ۱۳۹۰) و از نظر تولید خاویار حجم بالایی را بخود اختصاص می‌دهد (یزدانی ساداتی و رضایی، ۱۳۹۳). با توجه به موقوفیت‌های 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 آبهای شیرین به صورت متراکم، عدم کنترل دقیق عوامل فیزیکی و شیمیایی آب، بی توجهی به لزوم انجام آزمایش‌های 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).

استافیلولکوس باکتری گرم مثبت و بی‌هوای اختیاری می‌باشد. از مهمترین گونه‌های این جنس استافیلولکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) است که بسیاری از نژادهای بتاهمولیتیک و کواگولاز مثبت این باکتری، فرصت طلب هستند و برخی از آنها تولید آنتروتوکسین می‌شود (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 می‌گردد. برخی از نژادهای این باکتری جزء میکروفلور طبیعی روده هستند که در

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 اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، انروفلوکسازین (۳۰ میکروگرم)، فلوموکوئین (۵ میکروگرم)، پنی سیلین (۱۰ واحد بین المللی) و فلورفینیکل (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<sup>۱</sup>، اندازه‌گیری شد (Ebrahimzadeh Mousavi *et al.*, 2009). در پایان نتیجه آزمایش آنتی بیوگرام بر جایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس، بیشترین حساسیت را به فلورفینیکل نشان داد و درمان با این آنتی بیوتیک 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

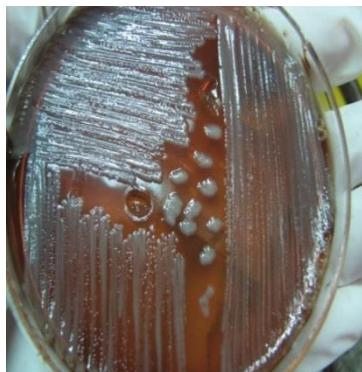
براساس نتایج بدست آمده، تمامی متغیرهای فیزیکی و شیمیایی آب مزارع پرورشی در محدوده استاندارد بود و تاثیری در شیوع بیماری نداشت (جدول ۱). به طور کلی، از نظر بالینی ماهیان مبتلا دارای علائم بی‌حالی، کاهش اشتها، عدم تحرک و شناوری وارونه بودند. در کالبد گشایی این ماهیان علائمی از قبیل: خونریزی و پرخونی در 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 گرمانه قرار داده شدند. از پرگنه‌های رشد یافته ابتدا رنگ آمیزی 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، کواگولاز، 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 بود.

استخراج DNA جدایه‌ها، بر اساس دستورالعمل کیت استخراج DNA MBST, Iran (MBST, Iran) صورت گرفت. تشخیص قطعی جدایه‌ها با طراحی آغازگرهای اختصاصی ۵'-R TGT ATG TAT GGA GGT GTA AC -3' و ۳'-ATT AAC CGA AGG TTC TGT -3' ۱۶S 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 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 نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. واکنش PCR در حجم ۲/۵ میکرولیتر شامل ۰/۲ میکرولیتر بافر X ۱۰ PCR، یک واحد Taq Polymerase، ۰/۰۰۰ میکرومول از مخلوط dNTPs، ۰/۲ 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

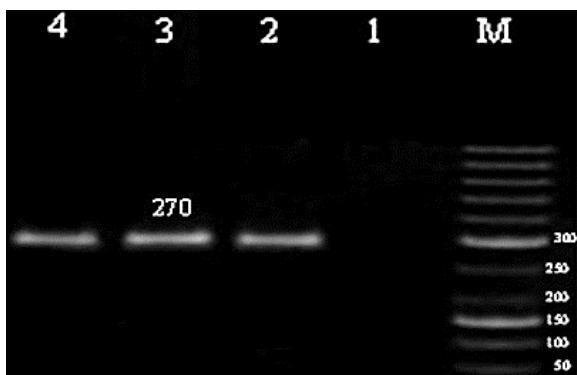
<sup>۱</sup> Growth inhibitor zone

بودند. نتایج حاصل از مطالعات آنتی‌بیوگرام در جدول ۳ ارائه شده است. بر اساس این نتایج، جدایه‌های استافیلوکوکوس آئوروس بترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های فلوروفنیکل، انروفلوکسازین و فلموکوئین و اریترومازین 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.



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).

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 سیبری

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

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

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

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

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

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

Austin and Austin, ( 2013)	(جدایه‌های مطالعه حاضر)	آزمایش
+	+	رنگ آمیزی گرم
-	+	تحرک
+	+	اکسیداز
+	+	کاتالاز
-	-	اندول
+	+	متیل رد
+	-	واکنش وگس-پروکسور
+/-	+/-	O/F
+	+	کاهش نیترات
+	+	H <sub>2</sub> S تولید
+	+	آرژینین دکربوکسیداز
-	+	ارنیتین دکربوکسیداز
-	-	آسکولین
+	-	اژره
(+)	(+)	تولید اسید از گلوكز
+	+	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: Antibiogram results of isolated bacteria obtained from fish infected to Staphylococcosis.

فلورفینیکل	اریتروماسازین	انروفلوکسازین	پنی سیلین	قطر ممانعت کنندگی رشد (میلی متر)	جدایه باکتری مورد	
					مطالعه	استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم
۴۰	۳۹	۴۴				

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 ۱۹۸۲-۸۳ می‌باشد که در یکی از مزارع پرورش ماهی کپور نقره‌ای با عوارض چشمی ۱۲۷

### 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

سلول‌های لنفاوی و هموراژیک در قسمت حدقه می‌باشد. این موضوع ممکن است سبب کشیده و گشاد شدن حدقه شود. آبتشش‌ها به صورت پرخون و نفوذ سلول‌های التهابی در لاملای آبیشش‌ها مشاهده می‌شوند و این موضوع باعث پاره شدن سلول‌های آبیشش در حین حمل و نقل و موجب مرگ و میر آنها می‌شود. از جمله عوامل شدت باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می‌توان به کواگولاز، لیپاز، استراز، الاستاز، استافیلوکیناز، دزوکسی ریبونوکلئاز، هیالورونیداز، فسفولیپاز، پروتئین A، لکوسیدین، آلفاتوكسین، بتاتوكسین، توکسین‌های اکسفولیاتیو و انتروتوکسین‌ها اشاره نمود (Balaban and Rasooly, 2000). گونه‌های استافیلوکوکوس معمولاً براساس ظاهر گلکنی، آزمایش‌های بیوشیمیایی و الگوهای تعیین حدودی Austin and RNA ریبوزومی طبقه‌بندی می‌گردند (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 باکتریائی، آزمایش‌های بیوشیمیایی و مولکولی تأیید تشخیص صورت گرفت. در مطالعات صورت گرفته قبلی، وجود بیماری‌های گوناگون از قبیل استرپتوکوکوزیس (Yang et al., 2009) و سپتی سمی برسینیوزیس (Vuillaume et al., 1987) و سپتی سمی خونریزی دهنده ناشی از آئروموناس هیدروفیلا (عادل و Angelica et al., 1393) و سودوموناس (همکاران, 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 اندکاران صنعت آبری پروری کشور می‌باشد که خود نکاتی را پیرامون ارتقاء بهداشت عمومی و محیط زیست، اجرای اصل امنیت زیستی، پیشگیری از بروز شرایط استرس زا 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

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 آلای 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 cheromagens*) در فصل تابستان جداسازی شدند. در مطالعه‌ای که سلطانی و همکاران (۱۳۹۱) بر بیماری‌های باکتریایی مزارع تکثیر و پرورش قزل آلای 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 اگزوتوكسین‌های 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 شناخت عمودی، تیره شدن رنگ بدن، اگزوفتالمی یک طرفه یا دو طرفه، کدورت قرنیه چشم، خونریزی روی سرپوش آبتشی و قاعده باله‌ها و پیدایش زخم‌های سطحی از جمله متداول‌ترین علائم بالینی در بسیاری از گونه‌ها می‌باشد که با علایم 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 آسیت هموراژیک نیز همراه می‌باشد. ضایعات آسیب شناسی در چشم شامل تورم کره چشمی و نفوذ

## تشکر و قدردانی

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

## منابع

- سلطانی، م.، حاضری، م.، شریف پور، ع.، میرز رگر، س.س. و شهره، پ.، ۱۳۹۱. مطالعه بیماری‌های باکتریایی مزارع تکثیر و پرورش قزل آلای رنگین کمان در استان مازندران. نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی، ۱-۲۴(۸):۱-۲۴.
- شهرانی، م.، رئیسی، م. و تاج بخش، ا.، ۱۳۹۳. مطالعه فراوانی و مقاومت دارویی باکتری لاکتوکوکوس گارویه در ماهیان قزل آلای رنگین کمان در استان چهارمحال و بختیاری. زیست شناسی میکروگانیسم‌ها، ۱۱(۳):۷۱-۷۸.
- عادل، م.، سعیدی، ع. و صفری، ر.، ۱۳۹۳. بررسی علل تلفات در ماهیان خاویاری پرورشی (فیل ماهی و ماهی شیپ) در استان مازندران طی سال‌های ۱۳۸۹-۱۳۸۸. مجله شیلات، ۸(۳):۴۶-۵۹.
- موسی، ع.، قیاسی، م.، سعیدی، ع. و زاهدی، آ.، ۱۳۸۸. استافیلوکوکوزیس در مزارع منتخب پرورشی قزل آلای رنگین کمان در استان مازندران. پانزدهمین کنگره دامپزشکی ایران. تهران. ۵۲-۵۴.
- نجفی پور مقدم، ا.، فلاحتکار، ب. و کلباسی، م.، ۱۳۹۰. اثر لسیتین جیره بر شاخص‌های رشد و ویژگی‌های خونی بچه ماهی تاسماهی سیبری. مجله علمی شیلات ایران، ۲۰(۳):۱۴۳-۱۵۴.
- DOI:10.22092/ISFJ.2017.110014
- بیزدانی ساداتی، م.ع. و رضایی، ا.، ۱۳۹۳. تاثیر جایگزینی پروتئین کنستانتره سویا بجای پودر ماهی بر شاخصهای رشد و ترکیب لاشه تاسماهی سیبری. 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 دستهای قبل و هنگام غذاهای، استفاده از ظروف مشترک غذاهای در سالن‌های پرورش، عدم استفاده از ضدعفونی ماشین‌های حمل نهاده‌های خوراکی، تانک‌های حمل لارو و بچه ماهیان (Safari *et al.*, 2015) تردد نابجای افراد متفرقه و ورود حیوانات ولگرد و پرنده‌گان به مزارع از جمله عوامل ورود عوامل بیماری‌زا به ساختار منابع آبزی پروری و بروز تلفات در این گونه با ارزش و سایر ذخایر ملی کشور می‌باشند. با توجه به اینکه ۱۰-۲۵ درصد افراد، حامل باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در مجاری فوکانی تنفسی خود می‌باشند، به منظور حفظ و کنترل آلودگی‌های میکروبی، کاهش عفونتها، کاهش مشکلات بهداشتی در یک برنامه دقیق و عملی، کلیه پرستل 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 فلورفینیکل نشان داد. بنابراین، بر اساس پیشنهاد Noga (۲۰۱۳) پس از مصرف ۱۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن از داروی مذکور همراه با مصرف ویتامین C به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی، اشتهاهی 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 سیبری در ایران می‌باشد. بنابراین، ضروری است که بررسی‌های تکمیلی و جامع تری 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 Zootehniesi Biotehoologii*, 41(2): 41-45.
- Anvari, Sh., Sattari, M., Forozandehe-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/cmrr.13.1.16-34.2000
- Ebrahimzadeh Mousavi, H.A., Atee, M., Dastmalchi, F. and Rahmany 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.<sup>1</sup>; Adel M.<sup>2\*</sup>; Zorriehzahra J.<sup>2</sup>; Ghajari A.<sup>3</sup>; Shohre P.<sup>4</sup>; Rasoolizadeh H.<sup>1</sup>; Zabihi L.<sup>1</sup>

\*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. areuse* from *A. baeri*.

**Key words:** *Acipenser baeri*, *Staphylococcus areuse*, Molecular assay, Antibiogram, Treatment.

\*Corresponding author