

بررسی باکتری‌های قابل انتقال میان ماهی و انسان در استخرهای ماهی قرمز (*Carassius auratus auratus*)، استان گیلان

منیره فئید*^۱، صادق امیدوار^۱، محدث قاسمی^۱، محمدرضا مهربانی^۲،
سیدفخرالدین میرهاشمی نسب^۱، جواد دقیق روحی^۱

*m_faeed@yahoo.com

۱- پژوهشکده آبی‌پروری آبهای داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندر انزلی، ایران
۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۶

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۷

چکیده

پرورش ماهی قرمز در اکثر کشورهای جهان متداول است. هدف از این تحقیق، شناخت و بررسی باکتری‌های شایع و قابل انتقال میان ماهی و انسان در استخرهای ماهی قرمز استان گیلان، عوامل مستعد کننده در بیماری‌زایی ماهی قرمز و مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری‌های جداسازی شده از ماهی قرمز بوده است. در این پژوهش، ۱۵۰ نمونه ماهی قرمز از چهار مزرعه (۱۲ استخر) استان گیلان بصورت فصلی و انتخابی صید و بطور زنده به آزمایشگاه باکتری شناسی پژوهشکده آبی‌پروری انزلی انتقال داده شدند و به روش افتراقی و بیوشیمیایی، باکتری‌های مختلف جداسازی و شناسایی شدند. نتایج نشان داد جدایه‌های جداسازی شده از ماهی قرمز و آب استخر در فصول مختلف سال شامل *Enterobacteriaceae* sp. *Pseudomonas* sp. *Aeromonas* sp. *Sterptococcus* sp. *Vibrio* sp. *Micobacterium* sp. بودند. بیشترین و کمترین درصد فراوانی باکتری در ماهی، بترتیب متعلق به جنس *سودوموناس* (۳۳/۶٪) و *استرپتوکوکوس* (۷/۳٪) بود.

لغات کلیدی: ایران، گیلان، باکتری، ماهی قرمز، باکتری‌های قابل انتقال میان ماهی و انسان

*نویسنده مسئول

مقدمه

صنعت آبی‌پروری در سالیان اخیر رشد و توسعه فراوانی داشته است و نرخ رشد سالانه آن بیشتر از سایر صنایع بوده است (FAO, 2014). پرورش ماهیان زینتی، یکی از پرسودترین صنایع دردهه های اخیر در زمینه آبی‌پروری بوده است. از گونه‌های متداول ماهیان زینتی آب شیرین در ایران می‌توان به ماهی حوض (*Carassius auratus*) (*auratus*) گوبی (*Poecilia reticulata*)، مولی (*Poecilia ephenops*)، اسکار (*Astronotus ocellatus*) و آنجل (*Pterophyllum scalare*) اشاره کرد که از بین آنها ماهی قرمز حوض در ایران نقش پررنگ تری دارد (رئیزی و همکاران، ۱۳۹۴). صادرات ماهیان زینتی در آسیا و در سراسر جهان اهمیت بسیار دارد. تجارت ماهیان زینتی برای منازل و آکواریوم‌های عمومی تبدیل به یک صنعت چند میلیارد دلاری گردیده است (اکبری و داشاب، ۱۳۹۳) اساس گزارش FAO، طی سال‌های ۲۰۱۱-۱۹۸۵ تجارت ماهیان زینتی در سطح جهانی به طور متوسط ۱۴ درصد رشد داشته است.

بیش از ۵۰ درصد کل صادرات ماهیان زینتی در دنیا توسط کشورهای در حال توسعه آسیایی نظیر سنگاپور، مالزی، تایلند، فیلیپین و اندونزی تامین شده است. آمریکا (۲۴ درصد)، ژاپن (۱۴ درصد)، آلمان (۹ درصد)، فرانسه (۸ درصد) و انگلیس (۸ درصد) نیز از مهمترین کشورهای واردکننده ماهیان زینتی در جهان محسوب می‌شوند (FAO, 2015؛ برقی لشگری و همکاران، ۱۳۹۶).

به گزارش شیلات ایران، سالانه ۲۰۰ میلیون قطعه ماهی زینتی به ارزش دو هزار میلیارد ریال در کشور در سال ۱۳۹۶ تولید گردید، در حالیکه در سال ۱۳۹۱، این میزان ۱۳۰ میلیون قطعه در کل کشور بود (روزبهرانی و نظری، ۱۳۹۴). در زمینه تکثیر و پرورش ماهی زینتی نیز تحقیقات کاربردی زیادی انجام پذیرفته است (Firouzbakhsh et al., 2011). توجه به اینکه ماهیان

زینتی در ایران از دیرباز به عنوان میهمان سفره‌های هفت سین و ایام نوروز مطرح بوده‌اند، یکی از گونه‌های مهم ماهیان زینتی، ماهی قرمز (*Carassius auratus*) است که از جمله گونه‌های غیر بومی بسیاری از مناطق جهان می‌باشد. در ایران نیز این ماهی در حوضچه‌های دریای خزر، دریاچه ارومیه، دریاچه هامون و رودخانه کارون یافت می‌شود (ستاری و همکاران، ۱۳۸۲). ماهی قرمز می‌تواند عوامل بیماری‌زایی را حمل نماید که موجب عفونت یا بیماری در انسان گردد. بیماری نتیجه روابط متقابل بین ماهی و میکرو ارگانیسم‌ها شامل عوامل بیماری‌زایی است که در محیط آب استخر و آکواریوم وجود دارند. باکتری‌ها ممکن است عامل اصلی ایجاد بیماری یا عامل ثانویه باشند و به پوست ماهی حمله می‌کنند یا با اختلال در سیستم ایمنی زمینه بروز بیماری را فراهم می‌کنند (Roberts et al., 2009). در شرایط پرورش، استرس‌های اضافی، تراکم بالای ماهیان، کاهش کیفیت آب، تغذیه نامناسب و حمل و نقل زمینه ساز بروز بیماری در ماهیان زینتی و در نهایت مرگ و میر این ماهیان می‌گردد (نژاد مقدم و همکاران، ۱۳۹۶). اکثر عفونت‌های باکتریایی توسط میکروارگانیسم‌های گرم منفی از جمله *مایکوباکتریوم*، *آئروموناس*، *ویبریو*، *سودوموناس*، *ادواردزیلا* و باکتری‌های گرام مثبت نظیر *استرپتوکوک* است. البته برخی دیگر از باکتری‌ها از جمله خانواده آنتروباکتریاسه نیز می‌توانند به عنوان عامل ثانویه بیماری به پوست ماهی حمله کنند و با اختلال در سیستم ایمنی زمینه بروز بیماری را فراهم نمایند (نژاد مقدم و همکاران، ۱۳۹۶؛ Roberts et al., 2009). اگر عوامل بیماری‌زا سریعتر تشخیص داده شوند، بهتر می‌توان از پیشرفت بیماری جلوگیری کرد و به درمان موفقیت آمیز اقدام ورزید. چون در غالب بیماری‌ها ماهی اشتهای خود را از دست می‌دهد و از دریافت دارو به همراه غذا امتناع می‌ورزد. در برخی موارد بیماری نظیر *مایکوباکتریوم* باید سرعت محیط آکواریوم توسط مواد ضد عفونی کننده‌ای مانند کلر گندزایی شوند، زیرا ماهی ناقل *مایکوباکتریوم* قادر به انتقال باکتری از طریق مواد دفعی و تخم ماهی

سوی آگار (TSA)^۱، محیط تیوسولفات سیترات بایل ساکارز آگار (TCBS)^۲، محیط مک کانگی آگار (MCA)^۳، بیسموت سولفیت آگار (BSA)^۴، گلوتامات نشاسته فنل آگار (GSP)^۵، کلی فرم آگار^۶، بلاد آگار (BA) و لووین اشتاین آگار^۷ تلقیح شدند (شکل ۲) (Brenner et al., 2005; Mahon et al., 2010).

سطح شکمی ماهی در کنار شعله توسط اونس استریل از کلیه و کبد نمونه برداری شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت تا یک هفته در انکوباتور ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از رشد آزمون‌های بیوشیمیایی کاتالاز، اکسیداز و رنگ‌آمیزی گرام انجام شد و توسط کلید شناسایی برجی تشخیص داده شدند. در ارزیابی آب استخرها، نمونه آب با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل تا 10^{-4} تهیه و از رقت‌های 10^{-3} و 10^{-4} به روش پورپلیت در سه تکرار در محیط تریپتیکاز سویا آگار (TSA) و مک کانگی آگار کشت بعمل آمد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند (Brenner et al., 2005; Mahon et al., 2010).

آزمون تعیین حساسیت و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف به روش Kirby-Bauer در باکتری‌های جداسازی شده از آبشش و زخم‌های پوستی و اندام‌های داخلی ماهی قرمز انجام پذیرفت. نمونه‌های جداسازی شده با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مختلف شامل (فلورفنیکل، استرپتومایسین، سولفومتاکسازول تری متوپریم، تتراسایکلین، آمپی‌سیلین، کلیندامایسین، پنی‌سیلین، اکسی‌تتراسایکلین، داکسی‌سایکلین، اریترومایسین) بررسی شدند (Holt et al., 2012; Mahon et al., 2010). در انتها به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۸، اختلاف میزان آلودگی در بافت‌های مختلف با استفاده از آزمون تی مستقل تعیین گردید.

است (نژاد مقدم و همکاران، ۱۳۹۶؛ مخیر، ۱۳۸۱؛ Noga, 2010). اغلب ماهیان پرورشی تحت تأثیر عفونت‌های باکتریایی قرار می‌گیرند که سیستم ایمنی آنها توسط شرایط استرس‌زا به خطر می‌افتد. یکی از معمول‌ترین روش‌های درمان این عفونت‌ها، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد، اما بکارگیری آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان بیماری‌های آبزیان پرورشی به طور گسترده مورد انتقاد قرار گرفته است که دلایل آن شامل افزایش توانایی مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، از بین بردن فلور میکروبی محیط زیست، هزینه بالای این داروها و عوارض جانبی این داروها بر آبزیان می‌باشد. ثابت گردیده است که برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها سیستم ایمنی را سرکوب می‌کنند و موجودات آبی را بیشتر مستعد پذیرش بیماری‌های باکتریایی، ویروسی و انگلی می‌نمایند. هدف از این تحقیق، بررسی باکتریایی بویژه باکتری‌های قابل انتقال میان ماهی و انسان و عوامل مستعد کننده در بیماری‌زایی ماهی قرمز و مقاومت آنتی‌بیوتیک باکتری‌های جداسازی شده از ماهی قرمز می‌باشد.

مواد و روش کار

نمونه برداری از چهار مزرعه (۱۲ استخر) ماهیان قرمز استان گیلان بصورت انتخابی و فصلی، از مراکز منتخب پرورش ماهی زینتی قرمز استان گیلان که تلفات بیشتری گزارش شده بود، انجام پذیرفت. به منظور شناسایی عامل بیماری در ماهیان قرمز، ترجیحاً از ماهیان مشکوک به بیماری نمونه برداری انجام شد. نمونه‌هایی انتخاب گردیدند که اولاً زنده و ثانیاً دارای علائم مشکوک به بیماری از جمله کندی شنا، تیرگی بدن، اتساع شکم، بیرون زدگی چشم، التهاب مخرج، برآمدگی فلس، خونریزی پوستی و ضایعات پوستی بودند (شکل ۱). در مجموع ۱۵۰ نمونه انتخاب شدند. در هر مرحله نمونه برداری از ماهیان تعداد ۱۰ ماهی صید و با رعایت اصول استریل به صورت زنده به آزمایشگاه باکتری‌شناسی پژوهشکده آبی‌پروری انزلی انتقال داده شدند و با کمک لوپ در محیط‌های تریپتیک

¹ Trypticase soy agar

² Thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose agar

³ MacConkey agar

⁴ Bismuth sulfite agar

⁵ Glutamate Starch Phenol Red Agar

⁶ Hicrom Agar

⁷ Löwenstein-Jensen medium

نشان داد که بیشتر فاکتورها بیشتر از حد استاندارد بوده است (جدول ۱). شمارش کلی باکتری‌ها در ایستگاه‌ها نشان داد که میزان آلودگی باکتری‌ها در برخی ایستگاه‌ها در برخی فصول نظیر تابستان و پاییز بیشتر از سایر فصول سال بوده است.

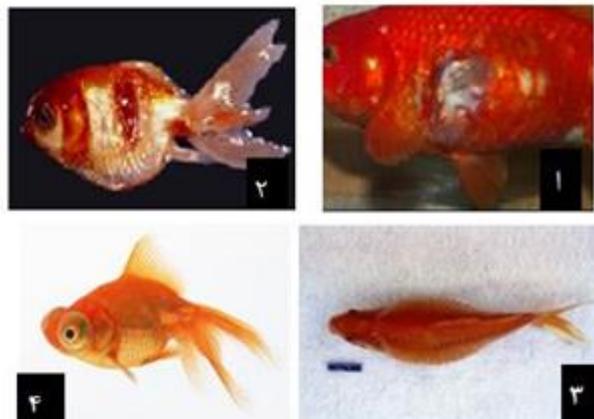
جدول ۱: محدوده تغییرات عوامل فیزیکی شیمیایی در فصول مختلف در استخرهای پرورش ماهی قرمز (برحسب استاندارد)

Table 1: Range of changes in physical and chemical factors in different seasons in red fish ponds (in standard)

| محدوده تغییرات | حدود استاندارد | پارامترهای کیفی آب |
|----------------|--|------------------------|
| ۰/۰۰۸-۰/۱ | حداکثر ۰/۱ | NO ₂ (mg/L) |
| ۰/۹-۲/۰۳۹ | حداکثر ۱ | NH ₄ (mg/L) |
| ۵/۹۶-۱۳/۲۵ | ۳-۵ نسبتاً آلوده >۵ بشدت آلوده | BOD (mg/L) |
| ۷/۲۲-۹/۵۲ | ۶/۵-۹ | pH |
| ۲۵-۶۸ | < ۵۰ خوب ۵۰-۱۲۰ متوسط ۱۲۰-۱۰۰ زیاد >۲۰۰ خیلی زیاد | کدورت NTU |

در شکل ۳، تغییرات لگاریتمی میانگین کل باکتری‌ها (Total count) در ایستگاه‌های مورد مطالعه در فصول مختلف را نشان می‌دهد که بیشترین و کمترین میزان میانگین بترتیب در ایستگاه D (۵/۶ Log CFU/ml) در فصل تابستان و ایستگاه A (۳/۱ Log CFU/ml) در فصل زمستان بود (شکل ۳).

در شکل ۴، تغییرات لگاریتمی میانگین باکتری‌های کل بر پوست ماهی قرمز در استخرهای مورد مطالعه در فصل‌های مختلف نشان داده شده است که بیشترین و کمترین میزان بترتیب متعلق به استخر D (۵/۲ log CFU/ml) در فصل تابستان و استخر A (۲/۵ Log CFU/ml) در فصل زمستان بود.



شکل ۱: علائم مشکوک به بیماری در ماهی قرمز: ۱- خونریزی پوستی^۱ ۲- ضایعات پوستی^۲ ۳- اتساع شکمی^۳ ۴- بیرون زدگی چشم^۴

Figure 1: Symptoms of the disease in red fish: 1 - Skin bleeding 2- Skin lesions 3- Abdominal distention 4- exophthalmia



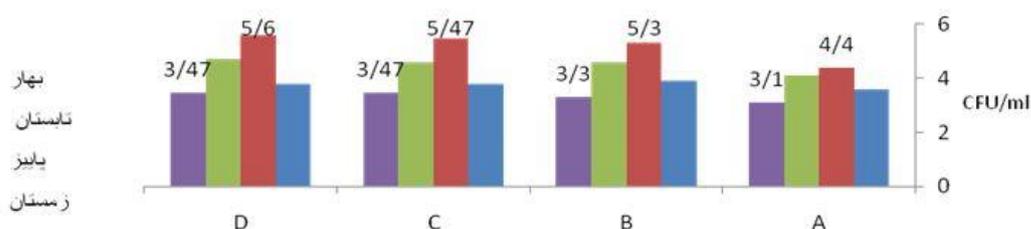
شکل ۲: باکتری‌های جداسازی شده روی محیط‌های تخصصی: ۱- میکوباکتریوم در محیط تخصصی لووین اشتاین آگار؛ ۲- بترتیب از چپ به راست: استرپتوکوک در محیط بلاد آگار، آئروموناس در محیط GSP آگار، سودوموناس در محیط سودوموناس آگار و محیط بیسموت سولفیت آگار

Figure 2: Isolated bacteria on specialist environments; 1. Mycobacterium in the Lewinstain Agar; 2. Right to left: Streptococcus in Blad Agar, Aeromonas in GSP Agar medium, Pseudomonas in Pseudomonas Agar medium and Salmonella in Bismuth Sulfate Agar medium.

نتایج

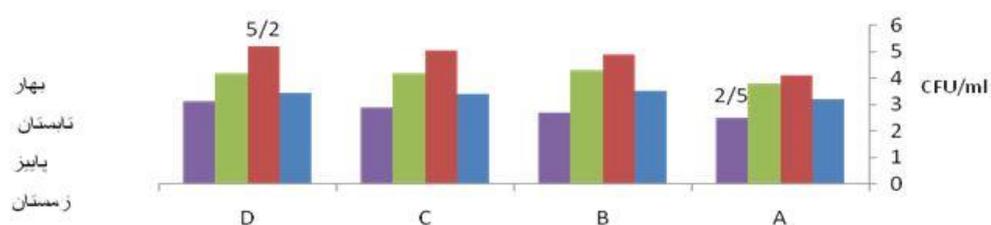
محدوده تغییرات عوامل فیزیکی شیمیایی در فصول مختلف در استخرهای پرورش ماهی قرمز (برحسب استاندارد)

- 1 Skin bleeding
- 2 Abdominal distension
- 3 Exoftalmia



شکل ۳: مقایسه میانگین تغییرات لگاریتمی کل باکتری ها در استخرهای مختلف ماهی قرمز در فصول مختلف

Figure 3: Comparison of mean logarithmic variations of total bacteria in different red fish in different seasons

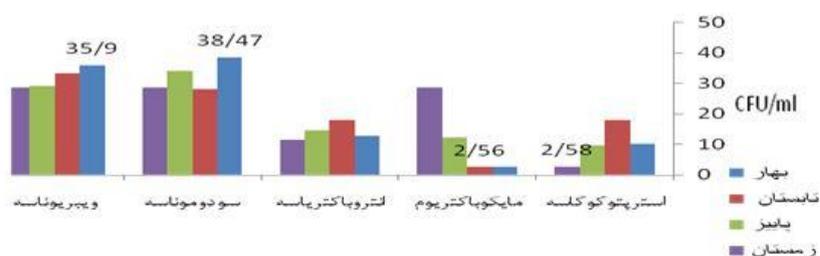


شکل ۴: مقایسه میانگین لگاریتمی باکتری های کل در روی پوست ماهی قرمز در استخرهای مختلف در فصول مختلف

Figure 4: Comparison of logarithmic mean of total bacteria on redfish skin in different pools in different seasons

متعلق به سودوموناسه (۳۸/۴۷٪) در فصل بهار و میکوباکتریوم (۲/۵۶٪) در فصل تابستان بود.

در شکل ۵، مقایسه میزان درصد فراوانی خانواده باکتری های مختلف در ماهی قرمز در فصول مختلف نشان داده شده است که بیشترین و کمترین میزان بترتیب

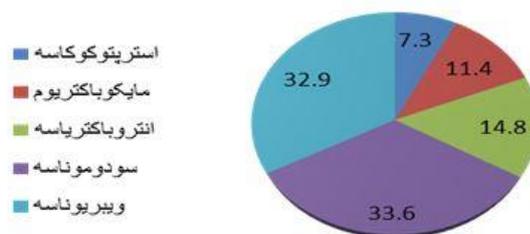


شکل ۵: مقایسه فراوانی خانواده باکتری های مختلف جداسازی شده از ماهی قرمز بر حسب فصول مختلف

Figure 5: Comparison of family of different bacteria isolated from red fish in different seasons

از خانواده ویبریوناسه، (۶۵/۳٪) فراوانی به جنس آئروموناس (۳۴/۷٪) فراوانی به جنس ویبریو تعلق داشت. در خانواده آنتروباکتریاسه درصد فراوانی باکتریها، شیگلا (۴/۵۴٪)، ادواردسیلا (۹/۹٪)، کلبسیلا (۱۳/۶۳٪)، اشرشیاکلی (۳۶/۳۶٪)، پروتئوس (۱۳/۶۳٪)، سالمونلا (۱۸/۱۸٪) و انتروباکتر (۴/۵۴٪) بود.

در شکل ۶، مقایسه میزان کل درصد فراوانی باکتری های مختلف در ماهی قرمز استان گیلان نشان داده شده است که بیشترین و کمترین میزان فراوانی باکتریایی بترتیب متعلق به سودوموناس (۳۳/۶٪) و استرپتوکوک (۷/۳٪) بودند.



شکل ۶: مقایسه درصد فراوانی خانواده باکتری‌های مختلف جداسازی شده از ماهی قرمز استان گیلان فصول
Figure 6: Comparison of the frequency of family of different bacteria isolated from red fish in Guilan province

آمی سیلین، کلیندامایسین بود و بیشترین مقاومت در گروه باکتری‌های گرم مثبت بترتیب نسبت به آمپی سیلین و داکسی سایکلین بود (جدول ۲).

در باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت بیشترین حساسیت، نسبت به فلورفنیکل وجود داشت. در باکتری‌های گرم منفی بیشترین مقاومت بترتیب نسبت به

جدول ۲: درصد مقاومت آنتی‌بیوتیک در باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی جداسازی شده از ماهی قرمز استان گیلان
Table 2: Antibiotic resistance percent in gram positive bacteria and gram negative bacteria isolated from goldfish in Guilan province

| نوع باکتری | کلیندامایسین | تری منوپریم (۵ میکروگرم) میلی لیتر | سولفامتوکسازول تری منوپریم (۳۳/۷ میکروگرم) | استرپتومایسین | آمی سیلین (۱۰ میکروگرم) میلی لیتر | نالیدیکسیک اسید | ارینرومایسین (۱۵ میکروگرم) میلی لیتر | فلورفنیکل (۳۱ میکروگرم) میلی لیتر | داکسی سایکلین (۳۱ میکروگرم) میلی لیتر | تتراسایکلین (۳۱ میکروگرم) میلی لیتر | اکسی تتراسایکلین (۳۱ میکروگرم) میلی لیتر |
|---------------------|--------------|------------------------------------|--|---------------|-----------------------------------|-----------------|--------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|--|
| باکتری‌های گرم مثبت | ۵۳/۴ | ۲۲/۵ | ۳۵/۶ | ۲۸/۷ | ۸۷/۵ | ۵۹/۴ | ۱۲ | ۰ | ۶۳/۰۶ | ۲۵ | ۲۵ |
| باکتری‌های گرم منفی | ۹۴/۵ | ۱۸ | ۴۷/۴ | ۵۸/۵ | ۱۰۰ | ۳۴/۵ | ۲۵/۷ | ۱۲/۵ | ۵۴ | ۵۱/۵ | ۴۳/۳ |

نیتروفیکاسیون از ترکیبات سمی هستند. افزایش میزان نیترات و فسفات در آب ناشی از تراکم ماهیان در آب استخرها و فضولات آنهاست و موجب ایجاد منبع غذایی مناسبی برای رشد باکتری‌ها و افزایش بار آلودگی می‌گردد (فئید و همکاران، ۱۳۹۴).

بحث

در این تحقیق، میزان آمونیوم و نیترات و pH در محدوده غیر مجاز بود (جدول ۱). آمونیوم و نیترات اشکالی از نیتروژن هستند که مورد مصرف جانداران قرار می‌گیرند و ترکیبات آمونیاک (فرم غیر یونیزه آمونیوم) و نیتريت، ترکیب واسطه از اکسیداسیون آمونیوم در مرحله

گونه‌های جنس *آئروموناس*، *سودوموناس* و *آنتروباکتریاسه* ها جز میکروبهای غالب محیط زیست آب شیرین هستند و به صورت یک بیوفیلتر طبیعی و موثر در خودپالایی آب عمل می‌کنند. این باکتریها به عنوان عامل بیماری‌زای فرصت طلب در آبزیان و موجودات خاکزی و انسان محسوب می‌شوند (فدایی فرد، ۱۳۹۳). مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین میزان باکتری بیماری‌زا در استخرهای پرورش ماهیان قرمز استان گیلان به خانواده‌های *ویبریوناسه* و *سودوموناسه* تعلق داشت. *آئروموناس هیدروفیلا* یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی ماهیان زینتی است که سبب ایجاد آب آوردگی عفونی در ماهیان زینتی می‌گردد (Uma et al., 2010). در این تحقیق، بیشترین میزان آلودگی در خانواده *ویبریوناسه* به باکتری جنس *آئروموناس* و گونه *آئروموناس هیدروفیلا* تعلق داشت. ماهیان بیمار دارای علائم بالینی مانند خونریزی در سطح بدن، اتساع شکم، بیرون زدگی چشم، خونریزی آبشش، ریزش فلس و پوسیدگی باله بودند. معمولاً سپتی سمی هموراژیک منجر به التهاب و نکروز بافت‌هایی مانند کلیه، کبد، طحال و عضلات می‌شود (Roberts et al., 2009). میکوباکتریوز جزء بیماری‌های شایع در ماهیان زینتی می‌باشد و جزء بیماری‌های قابل انتقال میان انسان و ماهی نیز هست. این بیماری در ماهی قرمز دارای علائم بالینی، بیرون زدگی چشمی، بی اشتها، لاغری، عوارض جلدی شامل از بین رفتن رنگ پوست و فلس‌ها، بوجود آمدن آبسه، زخم، پوسیدگی باله و اختلالات تنفسی می‌باشد. تعداد زیادی توده‌های تومور مانند در اندام‌های مختلف بدن ماهی مبتلا به این بیماری مشاهده می‌شود (Lewbart and Dipi, 2001; Noga, 2010). از جنس میکوباکتریوم در ماهی، اغلب، گونه‌های *M. fortuitum* جداسازی شدند که عامل بیماری عفونت پوستی به نام گرانولوم آکواریوم، در افراد شاغل در محیط‌های مرتبط با آب و استخر ماهی هستند و به صورت ضایعات قرمز رنگ پلاک مانند در اندام‌های این افراد ظاهر می‌شوند (قاضی سعیدی و همکاران، ۱۳۸۵). در این تحقیق، باکتری میکوباکتریوم از ماهی

بررسی فاکتورهای فیزیکوشیمیایی در فصول مختلف در آب استخرهای ماهیان قرمز نشان داد که بالا رفتن دمای هوا، رشد باکتریهای کلی فرمی را افزایش می‌دهد و در فصل تابستان، افزایش معنی‌دار میزان باکتری‌های کل در آب استخر و پوست ماهیان دیده شد. همچنین pH در دامنه ۷/۲۲-۹/۵۲ است که افزایش pH در برخی مزارع با میزان باکتری‌های کلی فرمی رابطه مستقیم داشته است. میزان اکسیژن محلول تحت تاثیر عوامل مختلفی است. رشد میکروارگانسیم‌ها با مصرف اکسیژن محلول موجود در آب رابطه مستقیم داشتند. BOD^۱ در فصول مختلف گرم سال پایین بود که به معنی میزان بالای آلودگی در استخرها بود. با فعالیت باکتری‌های هوازی، اکسیژن محلول در آب بشدت کاهش می‌یابد و حیات آبزیان مختل می‌شود. در این تحقیق، بیشترین مقادیر آنتروباکتریاسه‌ها به جنس *شرشیا کلی* تعلق داشت که میزان تکثیر آن بسیار سریع است. گرچه اغلب باکتریهای خانواده آنتروباکتریاسه در ماهی ایجاد بیماری نمی‌کند، اما عوامل استرس‌زا مانند حمل و نقل نامناسب، کیفیت پائین آب، تراکم، تغذیه نامناسب و ناکافی سبب افزایش بروز بیماری می‌گردند. تغییرات لگاریتمی میانگین باکتری‌های کل بر پوست ماهی در استخرهای ماهی قرمز استان گیلان در فصل‌های مختلف نشان داد که بیشترین و کمترین میزان بترتیب تعلق به استخر D ($5/2 \log \text{CFU/ml}$) در فصل تابستان و استخر A ($2/5 \log \text{CFU/ml}$) در فصل زمستان داشت (شکل ۴) که رابطه مستقیمی با میزان باکتریهای کل در آب استخر داشت. در شمارش کل باکتریایی در آب و پوست ماهی در فصول مختلف، اختلاف معنی‌داری از نظر آماری مشاهده نشد ($p > 0/05$). Cahill (۱۹۹۰) گزارش داد میزان فلور باکتریایی در سطح پوست ماهی با میزان فلور محیط آب ارتباط مستقیم دارد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در این تحقیق، نوع باکتری‌های جداسازی شده از پوست ماهی قرمز با باکتری‌های عامل بیماری در این ماهی که در داخل بافت‌های داخلی یافت می‌شود، رابطه مستقیم داشت.

¹ Biochemical Oxygen Demand

قرمز جداسازی گردید و علایمی نظیر گرانولوم های احشایی و بیرون زدگی چشم‌ها، لاغری، در ماهی قرمز مشاهده گردید. این باکتری در فصول سرد سال بیشتر از ماهی قرمز جداسازی گردید. ماهی ناقل *مایکوباکتریوم* باید سرعت از ماهیان سالم جداسازی شود و مواد دفعی ماهی باید سرعت با مواد ضد عفونی کننده مانند کلر ضد عفونی شوند، زیرا قادر به انتقال از طریق ماهی به تخم است (Dipi and Lewbart, 2001).

بیماری استرپتوکوکوزیس در ماهیان پرورشی و وحشی بوفور مشاهده شده است و سبب ایجاد بیماری در ماهی از فرم حاد تا مزمن می‌گردد و دارای علایم بالینی بیرون زدگی چشم‌ها، شنای نامنظم، خونریزی چشم و تیرگی رنگ بدن در ماهی بیمار می‌باشد. یکی از راه‌های شناسایی بیماری از طریق کشت باکتریایی از بافت کلیه و مغز می‌باشد (Lewbart and Dipi, 2001; Noga, 2010).

در این تحقیق، باکتری‌های جنس *استرپتوکوک* از ماهی قرمز استان گیلان جداسازی و شناسایی شد، اما این جنس از باکتری کمترین میزان درصد فراوانی باکتری‌های شناسایی شده در ماهی قرمز بود و در فصل تابستان در ماهیان قرمز بیشتر دیده شد.

گسترش آنتی‌بیوتیک‌ها باعث ایجاد باکتری‌هایی با چندین مقاومت شده است که سبب آلودگی مواد غذایی و در نتیجه ایجاد عفونت‌های مختلف در مصرف کننده می‌شود. صفائیان و همکاران (۱۳۸۵)، گزارش دادند باکتری‌های گرم منفی جداسازی شده از کپور ماهیان وحشی تالاب، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، استرپتومایسین و تتراسایکلین مقاومت بالایی داشتند و دلیل آن را ورود فاضلاب‌های شهری و بیمارستانی به درون تالاب عنوان کردند. گلچین منشادی و همکاران (۱۳۸۹)، گزارش دادند دو جنس از باکتری‌های *آئروموناس* و *سودوموناس*، عامل پوسیدگی باله دمی در ماهی آزاد دریای خزر هستند که بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیک در جنس *آئروموناس* به اکسی تتراسایکلین و اریترومایسین و در جنس *سودوموناس* به تتراسایکلین، اریترومایسین، نالیدیکسیک اسید، تری متوپریم و کلرآمفینکل تعلق داشتند. در این

تحقیق، بیشترین میزان حساسیت باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت نسبت به آنتی‌بیوتیک فنل فنیکل بوده است. با این وجود در برخی از باکتری‌های گرم منفی، مقاومت به این آنتی‌بیوتیک نیز دیده شد در باکتری‌های گرم منفی بیشترین مقاومت بترتیب نسبت به آمپی‌سیلین، کلیندامایسین بود. بیشترین مقاومت در گروه باکتری‌های گرم مثبت بترتیب نسبت به آمپی‌سیلین و داکسی‌سایکلین بوده است. افزایش باکتری‌های خانواده سودوموناسه، ویبریوناسه و آنتروباکتریاسه که از باکتری‌های فرصت‌طلب در آب، خاک و مواد غذایی فاسد هستند، نشان‌دهنده آلودگی بالای آب و مدیریت نامطلوب استخرها در مزارع پرورش ماهی قرمز بوده است. مهمترین روش کنترل و پیشگیری از این عوامل بیماری‌زا رعایت اصول بهداشتی در طول مراحل صید، نگهداری، توزیع و فرآوری می‌باشد. عموماً محیط زیست آبی، تماس ثانویه هنگام صید و مراحل انتقال از دلایل انتشار باکتری در بروز آلودگی بشمار می‌روند. اعمال مدیریت مناسب مزرعه‌ای از جمله حفظ کیفیت آب، رعایت موازین بهداشتی، اعمال شرایط قرنطینه‌ای در سطح مناسب، جهت کنترل بیماری می‌تواند در پیشگیری و کنترل عفونت ناشی از بیماری‌های باکتریایی در ماهیان و نیز عدم سرایت آن به انسان کمک نماید.

منابع

- اکبری، ح.، داشاب، غ.، ۱۳۹۳. آنالیز دی آلل کراس برخی صفات مرتبط با رشد و امید به زندگی در ماهیان زینتی (*Puntius tetrazona*). مجله علمی شیلات، ۲۳ (۴): ۱۳۷-۱۱۹. DOI:10.22092.119-137
- برقی لشگری، ا.، رجبی اسلامی، ه. و صالحی، ح.، ۱۳۹۶. عوامل موثر بر تولید و بازاریابی ماهیان زینتی استان البرز. نشریه توسعه آبی‌پروری، ۱۱(۲): ۱۲-۱.
- روزبهبانی، ش. و نظری، ع. ر.، ۱۳۹۴. تأثیر عصاره اتانولی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر رشد و باروری ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*). نشریه توسعه آبی‌پروری، ۹(۳): ۹۲-۰۳.

- رئیس، م.، میرزا پورقه فرخی؛ م.، پیله وریان، ع.، ۱۳۹۴. شناسایی انگل های خارجی برخی ماهیان زینتی استان اصفهان، مجله علمی شیلات، ۲۴ (۲)، ۸۷-۹۵.
- ستاری، م.، شاهسونی، د. و شفیع، ش.، ۱۳۸۲. ماهی شناسی (۲) سیستماتیک. انتشارات حق شناس، ۸۶ صفحه.
- صفائیان، ش.، مقدم، ز.، حسینی، ه. و اسماعیلی، ا.، ۱۳۹۲. مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های گرم منفی جدا شده از روده ماهی کپور وحشی تالاب انزلی. مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست، ۱۵ (۴): ۶۵-۷۴.
- فدایی فرد، ف.، ۱۳۹۳. تشخیص مولکولی باکتری آئروموناس هیدروفیلا در ماهیان قرمز آکواریومی و قزل آلاهی رنگین کمان پرورشی استان چهارمحال و بختیاری. مجله آسیب شناسی درمانگاهی دامپزشکی، ۸ (۱): ۲۹: ۴۰۹-۴۰۱.
- فئید، م.، بابایی، ه. و عابدینی، ع.، ۱۳۹۴. بررسی پارامترهای میکروبی و فیزیکی شیمیایی در تالاب انزلی، فصلنامه علمی-پژوهشی اکوبیولوژی تالاب، ۲۵ (۷): ۴۵-۵۴.
- قاضی سعیدی، ک.، هاشم زاده، ر.، محمدی، م.، فاطمی نسب، ف. و قائمی، ع.، ۱۳۸۵. فراوانی گرانولوم استخر شنا و مایکوباکتریوم مارینوم در کارکنان صنعت شیلات و ماهی های صید شده در شیلات آشورزاده استان گلستان. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، ۸ (۲): ۶۰-۶۲.
- گلچین منشادی، ع.، سلطانی، م.، شریف پور، ع.، ۱۳۸۹. بررسی و تعیین موثرترین آنتی بیوتیک ها به روش آنتی بیوگرام و بیان پیش آگهی مصرف آنها در باکتری های دو جنس آئروموناس و سودوموناس دخیل در پوسیدگی باله دمی مولدین ماهی آزاد دریای خزر. مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، ۱۱ (۴): ۳۷-۴۴.
- مخیر، ب.، ۱۳۸۱. بیماری ماهیان پرورشی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ چهارم، ۱۰۱ صفحه.
- نژاد مقدم، ش.، صفری، ر. و نهاوندی، ر.، ۱۳۹۶. بیماریهای باکتریایی ماهیان زینتی، فصلنامه علمی-ترویجی آبریان زینتی، ۳۴-۲۹.
- Brenner, D., Kriey, N. and Staley, J., 2005.** Bergey manual of systematic bacteriology, 2(1): 570-572.
- Cahill, M. 1990.** Bacterial flora of fishes: A review. Microbial Ecology 19(1):21-41. DOI: 10.1007/BF02015051.
- FAO, 2014.** The state of world fisheries and aquaculture 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 243P.
- FAO., 2015.** Fisheries and Aquaculture topics. Ornamental fish Topics Fact Sheets, Text by Devin Bartley. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department <http://www.fao.org/fishery/topic/13611/en>
- Firouzbakhsh, F., Noori, F., Khalesi, M.K. and Jani-Khalili, K., 2011.** Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. Fish physiology and biochemistry, 37: 833-842. DOI:10.1007/s10695-011-9481-4
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T., 2012.** Bergey's manual of determinative bacteriology, 12th Ed., USA: Lippincott Williams and Wilkins, 202P.
- Lewbart, G.A. and Dipi, A., 2001.** Bacteria and Ornamental Fish. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, 10(1): 48-56.

- Mahon, M.R., Lehman, D.C. and Manuselis, G., 2010.** Textbook of diagnostic microbiology. 4th Ed., USA: W.B. Saunders, 120 P.
- Noga, E.J., 2010.** Fish Disease: Diagnosis and Treatment. Second Edition. Blackwell Publishing, 130p.
- Roberts, H.E., Palmeiro, B. and Weber, E.S., 2009.** Bacterial and Parasitic Diseases of Pet Fish. *Veterinary Clinic of North America*, 12(3): 610-638.
- Uma, A., Rebecca, G., Meena, S. and Saravanabava, K., 2010.** PCR detection of Putative aerolysin and hemolysin genes in an *Aeromonas hydrophila* isolate from infected Koi Carp (*Cyprinus Carpio*). *Journal of Veterinary and Animal Science*, 6(1): 31-33.

The study on Zoonotic bacteria in Gold fish (*Carassius auratus auratus*) of Guilan province farms

Faeed M.^{*1}, Omidvar S.¹, Ghasemi M¹., Mehrabi, M². Hasheminasab F¹., Daghigh rohi J.¹

* m_faeed@yahoo.com

- 1- Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization(AREEO), Bandar Anzali, Iran
- 2- Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization(AREEO), Tehran, Iran

Abstract

Goldfish rearing is common in most countries of the world. In this study, 150 specimens of Goldfish were taken from four fish farms (12 pools) seasonally and selectively, and transferred alive in the bacteriological laboratory of Inland Waters Aquaculture Research Center. The bacteria were isolated from professional test and biochemical methods. The results showed that Goldfish and pool water bacteria isolations were included Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp., *Streptococcus* sp., *Vibrio* sp., *Mycobacterium* sp. In different seasons of the year, the highest and lowest abundance of bacteria in Goldfish, respectively, belonged to the genus *Pseudomonas* spp. (33/6%) and *Streptococcus* spp. (7/3%).

Keywords: Iran, Guilan, Bacteria, Goldfish, Zoonosis

*Corresponding author