

بررسی میزان شیوع استرپتوکوکوزیس در ماهیان قزل آلاي رنگين کمان در مزارع پرورشی

شرق استان مازندران (حوضه رودخانه هراز)

ابوالفضل سپهداری^{(۱)*}، علی اصغر سعیدی^(۲)، شاپور کاکولکی^(۳)، فرشیده حبیبی کوتنایی^(۴)، علیرضا باباعلیان^(۵)

*asepahdari@yahoo.com

۳۱- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

۴۲- پژوهشکده اکولوژی دریای مازندران

۵- سازمان دامپزشکی کشور

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۲

چکیده

استرپتوکوکوزیس یک بیماری عفونی باکتریایی است که در اکثر مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سردابی (قزل آلاي رنگين کمان) کشور مشاهده شده است. این بیماری دارای این قابلیت است که به شکل همه گیر مزارع ماهیان سردابی را در اقلیم های مختلف تهدید نماید و خسارتهای اقتصادی زیادی را به صنعت آبزی پروری وارد نماید. در بروز، گسترش و همه گیر شدن این بیماری عواملی از جمله دمای آب، میزان نیتريت، نترات، آمونیوم، کدورت، اکسیژن محلول، دبی و فلور باکتریائی نقش دارند. این مطالعه به هدف بررسی میزان آلودگی و ابتلای گروههای سنی مختلف ماهیان قزل آلاي رنگين کمان به استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورشی شرق استان مازندران (حوضه رودخانه هراز) اجرا گردید. با بکارگیری روش نمونه برداری تصادفی، تعداد ۱۰ عدد از مزارع منتخب زیر پوشش پروژه قرار گرفت. به منظور جداسازی، شناسایی و تشخیص بیماری ضمن بررسی علائم ظاهری و مشاهدات کلینیکی از آزمون های بیوشیمیایی و PCR استفاده شد. به این منظور، نمونه برداری از تعداد ۱۲۰۰ عدد ماهی از ۱۰ مزارع منتخب، در یک بازه زمانی یک ساله وبا تناوب ماهیانه به انجام رسید. طی این تحقیق مشخص شد که ۸ عدد از ۱۷۵ عدد بچه ماهی دارای علائم بیماری (۴/۶ درصد) و ۲ عدد از ۳۰۷ عدد بچه ماهی فاقد علائم بیماری (۰/۷ درصد)، آلوده به باکتری استرپتوکوک بودند. از طرفی ۲۱ عدد از ۲۳۵ عدد ماهی (۸/۹ درصد) پروراری دارای علائم بیماری و ۵ عدد از ۴۸۳ عدد ماهی پروراری فاقد علائم بیماری (۱ درصد)، آلوده به باکتری استرپتوکوک بودند. باکتری استرپتوکوک جدا شده بر اساس تست های بیوشیمیایی و آزمایشات مولکولی استرپتوکوکوس یوبریس (*Streptococcus Uberis*) شناسایی گردید.

لغات کلیدی: استرپتوکوکوزیس، قزل آلاي رنگين کمان، میزان شیوع، استان مازندران

*نویسنده مسئول

مقدمه

استرپتوکوکوزیس بعنوان یکی از بیماریهای عمده مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی در بسیاری از کشورهای دنیا و از جمله در ایران معرفی شده است و تخمین زده شده این بیماری موجب خسارات اقتصادی شدید و جبران ناپذیر (بیش از ۱۵۰ میلیون دلار در سال) در دنیا می گردد (Garcia, et al., 2008; Romalde et al., 2008; Shoemaker et al., 2008; Romalde et al., 2006; Beack et al., 2006). در ایران نیز این بیماری در بین مولدین ماهی قزل آلائی رنگین کمان در استان مازندران (قیاسی و همکاران، ۱۳۷۹)، در ماهی قزل آلا در استان فارس (آذری تاکامی، ۱۳۷۶) و در ماهی هامور در استان خوزستان (مظلومی، ۱۳۸۲) شناسایی و گزارش گردیده است. گونه های زیادی از استرپتوکوکوس می تواند در ماهی بیماریزا باشند، اما اطلاعات کافی برای تعیین اینکه کدام گونه از استرپتوکوکوس بیماریزایی بیشتری دارد وجود ندارد (Yanong & Floyed, 2002). استرپتوکوک های بیماریزای ماهی می توانند در زمان های مختلف گونه های متفاوتی باشند. لذا می توان فرض کرد که استرپتوکوکوزیس سندرمی است که بیش از یک گونه باکتری عامل آن است. البته تفاوت های جغرافیایی نیز در آن موثرند (Eldar et al., 1999). ماهیان مبتلا ممکن است یک یا بیش از یک علامت کلینیکی را نشان دهند، با توجه به گونه ماهی این علائم شامل: شنای نامنظم (چرخشی یا مارپیچی)، از دست دادن تعادل، بیحالی، تیرگی پوست، بیرون زدگی یک یا دو طرفه چشم، کدورت قرنیه، خون ریزی در داخل یا اطراف چشم ها، صفحه آبششی، پایه باله های شکمی و مخرجی، بالای سر و یا جاهای دیگر بدن و زخم در پوست و اتساع محوطه بطنی می باشد. در بررسی های کالبد گشایی، بزرگی و پر خونی طحال، رنگ پریدگی و بزرگ شدن کبد، پر خونی کلیه و در مواردی بروز خونریزی در سطح کبد و قلب مشاهده می شود. علاوه بر اینها زخمهای خونریزی دهنده نیز در سطح بدن ممکن است مشاهده شود (Salvador et al., 2005; Yanong & Floyed, 2002). در برخی موارد ممکن است که ماهی قبل از مرگ علائم آشکاری را نشان ندهد. در سالهای گذشته این بیماری در اغلب استانهای کشور (لرستان، مازندران، فارس، چهار محال بختیاری، کرمانشاه، کهگیلویه و بویر احمد و گیلان) در ماهیان سردآبی پرورشی یک بیماری غالب و یکی از مشکلات جدی ایجاد خسارتهای سنگین اقتصادی در صنعت آبی پروری بوده است (Akhlaghi & ۴۲

Keshavarzi, 2002; Soltani et al., 2005, 2008; Saeedi et al., 2009; Pourgholam et al., 2009). این مطالعه باهدف تعیین میزان شیوع استرپتوکوکوزیس و شناسایی سویه های باکتری در گروه های مختلف سنی قزل آلائی رنگین کمان در مزارع پرورشی در شرق استان مازندران در سال ۱۳۹۱ به انجام رسید.

مواد و روش کار

در این بررسی ۱۰ مزرعه منتخب از مزارع پرورش قزل آلائی رنگین کمان در منطقه رودخانه هراز که در یک فاصله تقریبی ۱۵ کیلومتر از هم واقع شده اند به شکل تصادفی انتخاب شد. نمونه برداری از ماهیان پیش پروری و پرورای با دامنه وزنی (۵۰-۵۰۰ گرم) به تعداد ۷۱۹ عدد و بچه ماهیان با دامنه وزنی (۱۰-۵۰ گرم) به تعداد ۴۸۱ عدد، بیمار (همرا با علائم) و به ظاهر سالم (بدون علائم) از ۱۰ مزرعه پرورش ماهی سردابی منتخب، به شکل ماهیانه (مدت ۱۲ ماه) و هر ماه ۱۲۰ عدد ماهی (هر مزرعه ۱۰ عدد) به شکل زنده و تصادفی جمع آوری و مورد بررسیهای آزمایشگاهی (کشت باکتریایی) قرار گرفتند. جهت تعیین میزان شیوع نمونه های مورد بررسی به استرپتوکوکوزیس از فرمول ذیل استفاده گردید:

$100 \times \text{تعداد کل نمونه ها} / \text{تعداد نمونه های آلوده} = \text{میزان شیوع}$
پس از جمع آوری نمونه ها به شکل زنده، ماهیان از نظر علائم ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند و سپس در شرایط استریل کالبد گشایی شدند و پس از شکافتن محوطه بطنی علائم داخلی ثبت شد و سپس با استفاده از آنس استریل از بافت های کبد و کلیه در محیط تریپتوکاز سوی آگار (TSA) کشت خطی، جهت جداسازی باکتری انجام گردید (Austin & Austin, 1999). پس از تایید باکتری استرپتوکوک به وسیله تست کاتالاز، نمونه های مثبت برای تعیین و شناسایی گونه به آزمایشگاه باکتریولوژی دارای گواهی استاندارد ایزو ۱۷۰۲۵ پژوهشکده اکولوژی دریای خزر برای شناسایی گونه ارسال گردید. جهت تشخیص افتراقی استرپتوکوکهای جداسازی شده از روش (MacFaddin 2000) استفاده شد. مشخصات بیوشیمیایی استرپتوکوک یوبریس جداسازی شده در جدول شماره ۱ نمایش داده شده است.

جدول ۱: مشخصات بیوشیمیایی *S. uberis* جداسازی شده از نمونه های آلوده

مشخصات بیوشیمیایی	<i>S. uberis</i>
Gram - staining	+
Catalase production	-
haemolysis	-
Swarming	-
Production of ornithine decarboxylase	-
Production of lysine decarboxylase	-
Production of arginine dihydrolase	+
Motility test	+
Indole production	-
Citrate utilization	-
Urease production	-
Methyl red	-
Vogesproskauer reaction	+
Aesculin hydrolases	+
Onpg production	-
Oxidative-fermentative test	F
Acid production from arabinose	-
Acid production from glucose	+
Acid production from inositol	-
Acid production from maltose	+
Acid production from manitol	+
Acid production from mannose	+
Acid production from salicin	+
Acid production from sorbitol	+
Acid production from trehalose	+
Acid production from xylose	-
Temperature	10 °C - 37 °C
Growth on NaCl	0-6.5%
Hipporatesodium	+

آنزیمی با آنزیم های برش دهنده استفاده گردید. محصول PCR به روش الکتروفورز با ژل آگارز ۲ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت و اندازه قطعات حاصل از PCR با مقایسه با مارکر MBI DNA (pBR322 DNA/AluI Marker, 20, Fermentas) بر روی ژل پلی آکریل آمید ۸ درصد و با روش رنگ آمیزی نیترا نقره بدست آمد. تصاویر ژل پلی آکریل آمید پس از رنگ آمیزی ابتدا توسط دستگاه مستند سازی ژل ترانس ایلومیناتور مدل DOC008.XD ساخت کمپانی UVI همراه با برنامه نرم افزاری UVI DOC Version V.99.04 ثبت و ذخیره گردید.

استخراج DNA و انجام آزمایش های مولکولی با بهینه سازی روش فنل - کلروفرم به انجام رسید (Fevolden & Pogson, 1997). جهت تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده و تعیین غلظت و خلوص DNA استخراجی از روش اسپکتروفتومتری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر CECIL (مدل DE2040) استفاده گردید. برای انجام واکنش PCR و تهیه پرایمرهای اختصاصی هر گونه ازتوالی ژنهای ۱۶S RNA و گلوکوکیناز گونه های مختلف استرپتوکوکوس استفاده شد (Bac RNA, ENR, STRA, STRP1, STRP2). با توجه به اینکه طراحی بعضی از پرایمرها به صورت کاملاً اختصاصی برای هر گونه با مشکل مواجه بود، از هضم

نتایج

از ارزیابی علائم کلینیکی، کالبد گشایی و میکروبیولوژی جهت تشخیص بیماری استفاده شد. در نمونه‌های دارای علائم کلینیکی و مشکوک به بیماری، علائمی از جمله شنای نامنظم (چرخشی یا مارپیچی)، از دست دادن تعادل، بیحالی، تیرگی پوست، بیرون زدگی یک یا دو طرفه چشم، کدورت قرنیه، خون ریزی اطراف چشم ها، صفحه آبششی، پایه باله های شکمی و مخرجی، بالای سر و یا جاهای دیگر بدن، آب آوردگی شکم و زخم در پوست، اتساع محوطه بطنی مشاهده گردید. در کالبد گشایی نمونه‌های دارای علائم کلینیکی، بزرگی و پر خونی طحال، رنگ پریدگی و بزرگ شدن کبد، پر خونی کلیه و در مواردی بروز خونریزی در سطح کبد و قلب مشاهده شد.

باکتری استرپتوکوک از بافت کلیه ۴/۶ درصد از ۱۷۵ عدد بچه ماهی بیمار و از ۸/۹ درصد از ۲۳۵ عدد ماهی پرورشی بیمار جدا سازی گردید و بقیه نمونه‌ها به ترتیب ۹۵/۴ و ۹۱/۱ درصد از نظر استرپتوکوک منفی بودند. هر چند که از ۰/۷ درصد از ۳۰۷ عدد بچه ماهی سالم (جدول شماره ۲) و ۱ درصد از ۴۸۳ عدد ماهی پرورشی سالم که فاقد هرگونه علائم غیر طبیعی بودند (جدول ۳) نیز باکتری استرپتوکوکوس جدا سازی شد. بیشترین درصد آلودگی بچه ماهیان بیمار به استرپتوکوک به ترتیب ۱۵/۴، ۱۱/۱، ۴/۳ و ۴ درصد و در مزارع ۶، ۱، ۷ و ۳ مشاهده گردید. شش مزرعه فاقد آلودگی بودند. بیشترین درصد آلودگی در بچه ماهیان سالم به ترتیب ۳/۲ و ۲/۸ درصد در مزارع ۵ و ۸ بود و در ۸ مزرعه دیگر مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲: درصد آلودگی بچه ماهیان بیمار و سالم به استرپتوکوکوس

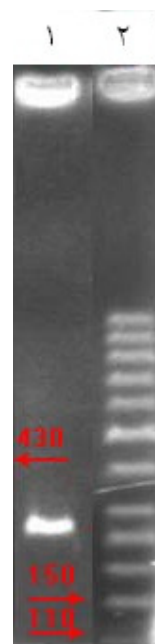
شماره مزرعه	تعداد بچه ماهی	بچه ماهی بیمار (175)	تعداد بچه ماهی سالم	بچه ماهی سالم (۳۰۷)
	بیمار در هر مزرعه	درصد آلودگی	در هر مزرعه	درصد آلودگی
۱	۱۸	۱۱.۱	۴۶	۰.۰
۲	۱۸	۰.۰	۳۸	۰.۰
۳	۲۲	۴.۳	۳۱	۰.۰
۴	۲۱	۰.۰	۲۲	۰.۰
۵	۲۰	۰.۰	۳۱	۳.۲
۶	۲۶	۱۵.۴	۱۴	۰.۰
۷	۲۵	۴.۰	۲۸	۰.۰
۸	۱۱	۰.۰	۳۶	۲.۸
۹	۴	۰.۰	۳۱	۰.۰
۱۰	۸	۰.۰	۳۰	۰.۰
جمع	۱۷۳	۳.۴۸	۳۰۷	۰.۶

جدول ۳: درصد آلودگی ماهیان پروراری بیمار و سالم به استرپتوکوکوس

شماره مزرعه	تعداد ماهی پروراری بیمار در هر مزرعه	ماهی پروراری بیمار (۲۳۵)	تعداد ماهی پروراری سالم در هر مزرعه	ماهی پروراری سالم (۴۸۳)
		درصد آلودگی		درصد آلودگی
۱	۱۵	۰.۰	۴۰	۰.۰
۲	۱۰	۱۰.۰	۵۴	۰.۰
۳	۲۰	۳۵.۰	۴۶	۲.۲
۴	۳۳	۳.۰	۴۴	۰.۰
۵	۳۳	۱۲.۱	۳۶	۸.۳
۶	۲۹	۰.۰	۵۱	۰.۰
۷	۳۱	۰.۰	۳۶	۰.۰
۸	۲۶	۱۱.۵	۴۷	۰.۰
۹	۱۷	۵.۹	۶۸	۱.۵
۱۰	۲۱	۱۹.۰	۶۱	۰.۰
جمع	۲۳۵	۹.۶۵	۴۸۳	۱/۲

بیشترین درصد آلودگی ماهیان پرورشی بیمار به استرپتوکوک به ترتیب ۳۵، ۱۹، ۱۲/۱، ۱۱/۵، ۱۰، ۵/۹ و ۳ درصد در مزارع ۳، ۱۰، ۵، ۸، ۲، ۹، ۴ مشاهده گردید و در مزارع ۱ و ۷ دیده نشد. بیشترین درصد آلودگی در ماهیان پرورشی سالم به ترتیب ۸/۳، ۲/۲ و ۱/۵ درصد در مزارع ۵، ۳ و ۹ و در مزرعه دیگر مشاهده نشد (جدول ۲).

باکتری استرپتوکوک جدا سازی شده بر اساس تست های بیوشیمیایی و آزمایشات مولکولی استرپتوکوکوس یوبریس (*Streptococcus Uberis*) بود.



تصویر ۱: نتیجه PCR شناسایی گونه استرپتوکوکوک جدا سازی شده از نمونه های آلوده

چاهک ۱ = مارکر

چاهک ۲ = نمونه مثبت استرپتوکوک یو بریس

بحث

بیماری استرپتوکوکوزیس علیرغم اینکه که در لیست بیماریهای مهم اخطار کردنی سازمان OIE نیست از بیماریهای مهم باکتریایی است (Eldar and Ghittina, 1999). این بیماری از چالش های بهداشتی و بیماریهای مهم صنعت آبی پروری ماهیان سردآبی در سالهای اخیر بوده است. بطوریکه در برخی مواقع سال

(فصول گرم) موجب بروز تلفات در اغلب مراکز پرورش ماهیان سردابی استانهای صاحب این صنعت (گیلان، مازندران، لرستان، فارس و بویر احمد و کهکولیه و تهران) گردیده است (اخلاقی و کشاورز، ۱۳۸۱؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۶؛ Soltani *et al.*, 2008؛ pourgholam *et al.*, 1389). همچنین این بیماری به شکل همه گیر در ماهیان آب شیرین و دریایی در اکثر نقاط دنیا و از کشورهای مختلف شامل آفریقای جنوبی، استرالیا، سنگاپور، انگلیس، نروژ، چین، ترکیه، اسپانیا، ایتالیا و کره گزارش شده است (Bromage & Owens, 2009). این بیماری به عنوان بیماری ورشکستگی نامگذاری شده زیرا در فرم حاد می تواند تا ۷۰ درصد تلفات را در ماهیان مبتلا موجب گردد (۱۳۸۱ نامداری، سعیدی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Inlgis *et al.*, 1999؛ Bromage *et al.*, 1993؛ Yanong & Floyd, 2002؛ Shoemaker, *et al.*, 2008؛ Garcia, *et al.*, 2006). نتایج این تحقیق نشان داد که ۸ عدد از ۱۷۵ عدد بچه ماهی دارای علائم بیماری (۴/۶ درصد) و ۲ عدد از ۳۰۷ عدد بچه ماهی فاقد علائم بیماری (۰/۷ درصد) آلوده به باکتری استرپتوکوک بودند و از طرفی ۲۱ عدد از ۲۳۵ عدد ماهی (۸/۹ درصد) پرورشی دارای علائم بیماری و ۵ عدد از ۴۸۳ عدد ماهی پرورشی فاقد علائم بیماری (۱ درصد) به باکتری استرپتوکوک آلوده بودند. در مجموع از ۴۱۰ عدد ماهی بیمار (همراه با علائم) فقط در ۲۸ عدد (۷ درصد) ماهیان بیمار ی استرپتوکوکوزیس مشاهده گردید. نتایج این مطالعه با نتایج پورغلام (سالهای ۸۷ و ۸۸) در استان مازندران که از ۷۲ عدد ماهی واجد علائم بالینی تنها از ۵ عدد (۷ درصد) باکتری استرپتوکوک جدا کرد کاملاً مطابقت دارد. اما این نتیجه با نتایج نامداری (۱۳۸۱) در استان فارس که از ۲۴۰ نمونه ماهی واجد علائم بالینی تنها از ۲۸ عدد ماهی (۱۳ درصد) باکتری استرپتوکوک جدا کرد نمونه یک اختلاف ۵ درصدی مشاهده می شود. در مطالعه ای دو ساله بر روی عوامل رایج استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس در استان فارس از ۴ مزرعه ۶۰۰ عدد ماهی واجد علائم بالینی نمونه برداری و از کلیه، مغز و کبد آنها کشت تهیه گردید. در مجموع ۴۸۰ پرگنه مثبت به استرپتوکوکوزیس بدست آمد (۸۰ درصد) که از این تعداد ۳۹۰ نمونه *S. iniae* (۸۲ درصد) و ۹۰ نمونه *L. garvieae* (۱۸ درصد) شناسایی شدند و از طرفی کشت باکتریایی ۲۰ درصد ماهیان واجد علائم، منفی بود (Soltani & Tarahomi, 2009). در بررسی تعداد دیگری در

استان اصفهان ۷۲ عدد ماهی با وزن ۲۰۰ - ۱۵۰ گرم واجد علائم بالینی از ۶ مزرعه پرورش قزل آلائی رنگین کمان نمونه برداری و در آزمایشگاه از بافت های ۱۰۰ درصد کلیه و کبد آنها کشت میکروبی انجام دادند. باکتری استرپتوکوکوس جدا سازی شد (Mohammadi Arani & Moghadas, 2009). به نظر می رسد این نزدیکی درصد حضور بیماری استرپتوکوکوزیس در استان مازندران (منطقه هراز) در سالها ۸۷، ۸۸ با سال های ۹۰ و ۹۱ با اختلاف یک زمان دو ساله به دلایلی مثل درجه حرارت آب، برخی فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب، عدم تغییر و هر گونه اصلاح در کیفیت آب مورد استفاده رودخانه هراز، عدم استفاده از عوامل پیشگیرانه (محرک های ایمنی غیر اختصاصی و اختصاصی، اصلاح جیره غذایی، عدم اصلاح مدیریت جابجای تخم، لارو، بچه ماهی و ماهی پروراری) و مدیریت پرورش در بروز بیماری استرپتوکوکوزیس باشد و اختلاف در صد کمتر حضور بیماری استرپتوکوکوزیس در منطقه هراز با مزارع استان های فارس و اصفهان به نظر می رسد مربوط به درجه حرارت آب مورد استفاده باشد. از آنجایی که در منطقه هراز از آب رودخانه ای با رژیم برفی یخچالی استفاده میگردد دمای آب کمتر از آب مصرفی در استان فارس و اصفهان است که معمولاً از آب چشمه استفاده می گردد که حد اقل چند درجه سانتی گراد با آب رودخانه هراز اختلاف دارد. از عوامل اصلی دیگر اختلاف میتوان به کاهش دبی آب چشمه های مورد استفاده در فصول گرم سال و به دنبال آن کاهش میزان اکسیژن محلول در آب، تغییرات کیفی آب اشاره کرد (نامداری، ۱۳۸۱). نتیجه اینکه در مجموع از ۵۰/۸ درصد ماهیان بیمار دارای علائم و نشانه های بالینی عوامل باکتریایی جدا سازی شد در حالیکه از ۴۹/۲ درصد ماهیان بیمار با علائم بالینی مشابه، کشت باکتریایی آنها منفی بود. در مجموع بررسی های کمی انجام شده از کل ۵۰/۸ درصد ماهیان واجد علائم بالینی که کشت باکتریایی آنها مثبت بود تنها ۷ درصد آنها مبتلا به استرپتوکوکوزیس بودند. لذا بر خلاف تصور گذشته این بیماری دیگر یک بیماری تهدید کننده مهم در صنعت آبرزی پروری ماهیان سردآبی نمی باشد و با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می رسد که بیشتر باید به مشکلات ایجاد شده ناشی از سایر عوامل مانند یوسینیا توجه گردد. نکته دیگری که باید به آن اشاره کرد عدم جداسازی هر گونه باکتری بیمارزا از ۴۹/۲ درصد بچه ماهیان و ماهیان پروراری دارای علائم بالینی بود و این امر باید بیشتر مورد

توجه سازمانهای متولی بهداشت این صنعت قرار گیرد. بیشترین درصد آلودگی ماهیان پروراری واجد علائم بالینی به باکتری استرپتوکوک به ترتیب ۳۵، ۱۹، ۱۲/۱، ۱۱/۵، ۱۰، ۵/۹ و ۳ درصد به ترتیب و در مزارع ۳، ۱۰، ۵، ۸، ۲، ۹، ۴ مشاهده گردید و در ۳ مزرعه (مزارع ۱، ۶ و ۷) دیگر، دیده نشد (جدول شماره ۱). از طرف دیگر در بچه ماهیان واجد علائم بالینی به باکتری استرپتوکوک به ترتیب ۱۵/۴، ۱۱/۱، ۴/۳ و ۴ درصد و در مزارع ۱، ۶، ۷ و ۳ مشاهده گردید (جدول شماره ۲). تحلیل بدست آمده از این نتایج نشان می دهد که:

- استرپتوکوکوزیس در منطقه هراز در تمام مزارع منتخب مورد بررسی مشاهده گردیده و از بروز گسترده ای در منطقه داشته است؛
- ماهیان قزل آلائی پروراری در مقایسه با بچه ماهیان حساسیت بیشتری نسبت به بیماری داشتند؛
- دو مزرعه شماره ۱ و ۲ که به شکل مستقل از رودخانه هراز آب می گیرند و با آب خروجی مزارع دیگر ارتباط ندارند، از بیماری ایمن نیستند؛ و

- منبع آب مشترک و عدم اصلاح آب خروجی مزارع و و رود مستقیم آن به رودخانه از عوامل اصلی در انتشار و گسترش آلودگی استرپتوکوکوزیس است.

هرچند که درصد تلفات ماهیان واجد علائم این بیماری در مقایسه با مناطقی مثل استان های چهارمحال و بختیاری، لرستان، فارس و کهگیلویه و بویراحمد بسیار کمتر است، این سؤال مطرح می گردد که چرا بیماری در تمام مزارع این منطقه مشاهده شد. نتیجه دیگر آنکه در ماهیان پروراری به ظاهر سالم بیشترین درصد آلودگی به ترتیب ۸/۳، ۲/۲ و ۱/۵ درصد در مزارع ۵، ۳ و ۹ بود در حالیکه باکتری از این گروه از ماهیان در سایر مزارع جداسازی نشد. همچنین این باکتری از ۳/۲ و ۲/۸ درصد بچه ماهیان به ظاهر سالم در مزارع ۵ و ۸ جداسازی گردید در حالیکه کشت سایر بچه ماهیان سالم از سایر مزارع منفی بود.

براین اساس به نظر می رسد که ماهیان پروراری و بچه ماهیان به ظاهر سالم که فاقد هر گونه علائم بالینی هستند به عنوان ناقل عمل کرده و مهمترین نقش را در انتقال بیماری از یک مزرعه به مزرعه دیگر به عهده داشته اند. متأسفانه این جابجایی ها بدون انجام هرگونه تمهیدات بهداشتی در منطقه هراز به کرات اتفاق می افتد.

نامداری، ا.، ۱۳۸۱. گزارش وضعیت بیماری مشکوک به استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش ماهی قزل آلائی رنگین کمان در استان فارس. <http://www.farsvet.ir/fa/health/3/2.html>
پورغلام، ر.، مکریمی رستمی، ع.، سعیدی، ع. ا.، شریف پور، ع.، غرق، ا. و پورغلام، ح.، ۱۳۸۹. بررسی اثرات حاد باکتری استرپتوکوکوس فسیوم (*Streptococcus faecium*) روی بعضی از بافتها و مشخصه‌های خونی بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران. سال نوزدهم، شماره ۲، ۱۸۰ - ۹.

Akhlaghi, M. and Keshavarzi, M., 2002. Streptococcus outbreaks in rainbow trout farms of Fars province. Journal of Iranian Veterinary Research, 2(3): 183-189 (in Persian with English abstract).

Amal, M. N. A., Zamri-Saad, M., 2011, Streptococcus in Tilapia (*Oreochromis niloticus*): A review. Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science, 34 (2): 195–206.

Armstrong, F. A. J., 1963. The determination of nitrite in water by ultra-violet spectrophotometry. Analytical Chemistry, 35: 1292-1294.

Beack G. W., Kim, J. H., Gomez, D. K., Park, S. C., 2006. Isolation and characterization of *Streptococcus* sp. from diseased flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Jeju Island. Journal of Veterinary Science, 7(1): 53 – 58.

Bragg, R. R., Broere, J. S. E., 1986. Streptococcus in rainbow trout in South Africa. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 6: 89–91.

Bromage, E., Thomas, A. and Owens, L., 1999. *Streptococcus iniae*, a bacterial infection in barramundi *Lates calcarifer*. Diseases of Aquatic Organisms, 36: 177–181.

در این مطالعه از ۴۱۰ عدد ماهی پروراری و بچه ماهی بیمار (واجد علائم بالینی) مورد بررسی ۲۹ مورد (۷/۲ درصد) و از ۷۱۰ عدد ماهی پروراری و بچه ماهی سالم (فاقد علائم بالینی) ۷ مورد (۱ درصد) به باکتری استرپتوکوک آلوده بودند. باکتری استرپتوکوک جدا سازی شده بر اساس تست های بیوشیمیایی و آزمایشات مولکولی استرپتوکوکوس یوبریس (*Streptococcus uberis*) شناسایی گردید. باکتری *S. uberis* از عوامل مهم ورم پستان تحت درمانگاهی در گاوهای شیری است که باعث کاهش شیر می گردد و متاسفانه اطلاعات کمی از بیماریزایی و اپیدمیولوژی این باکتری در دسترس است (Coffy et al., 2006). در مطالعه پورغلام و همکاران در سال ۲۰۱۰ ۷۲ ماهی بیمار واجد علائم در استان مازندران (منطقه هراز) ۵ مورد مثبت (۷ درصد) به باکتری استرپتوکوک و از نوع استرپتوکوکوس فسیوم (*Streptococcus faecium*) گزارش گردید. پورغلام و همکاران (۲۰۱۰) استرپتوکوکوس یوبریس را با درصد فراوانی ۳۸/۹٪ به عنوان رایج ترین عامل استرپتوکوکوزیس در استان های چهار محال بختیاری، گیلان، کهگیلویه و بویراحمد، کرمانشاه و فارس گزارش نمود و از طرفی در سال ۱۳۷۹ قیاسی و همکاران نیز از مولدین ماهی قزل آلا ی رنگین کمان باکتری استرپتوکوکوس فسیوم (*Streptococcus faecium*) را در منطقه هراز گزارش کردند. نتایج این مطالعات با نتایج مطالعه حاضر در تقابل است. استرپتوکوکوس یوبریس در دیگر استان ها نیز رایج ترین نوع آلودگی در ماهیان سردابی مبتلا به بیماریهای باکتریایی استرپتوکوکی بوده است و تا قبل از این تحقیق گزارشی از حضور این گونه در استان مازندران وجود ندارد. به نظر می رسد نقل و انتقال تخم های چشم زده، لارو، بچه ماهی، ماهیان پروراری، غذا، وسایل حمل و نقل و حتی در مواردی نقل و انتقال مولدین و عدم توجه به قرنطینه، مهمترین عامل نقل و انتقال این آلودگی باشد. در خصوص بیماریزایی این باکتری در ماهیان اطلاعات بسیار اندکی وجود دارد که نیازمند مطالعات بیشتر است.

منابع

سلطانی، م. و نیکبخت بروجنی، غ.، ۱۳۸۶. استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس در مزارع قزل آلائی ایران. مجموعه خلاصه مقالات پنجمین گردهمایی دامپزشکان علوم بالینی ایران، ۲۵ - ۲۳ بهمن ۱۳۸۶، اهواز، ایران، ۴.

- Aquatic Animal Health Management and Disease, January 27 – 28 2009, Tehran, Iran, 126P.
- Pourgholam, R., Mokarami, A., Saeedi, A. A., Shrifpour, I., Ghoroghi, A. and Pourgholam, H., 2010.** Assessment of acute effects of *Streptococcus faecium* on some hematological and histopathological parameters of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) juveniles. Iranian Scientific Fisheries Journal, 19 (2): 19-30.
- Romalde, J. L., Lores, F., Magarinos, B., Barja, L., and Toranzo, A. E., 2000.** Study of cell surface associated virulence factors of *Streptococcus parauberis* strains pathogen for turbot. Bulletin of European Association of Fish Pathology, 20: 244-251.
- Saeedi, A. A., Pourgholam, R., Zahedi, A. and Ghiasi, M., 2009.** Streptococcosis in farmed rainbow trout in some provinces of Iran. Proceedings of the First National Conference on Industrial Economic Fish Diseases for Rainbow Trout Culture. Islamic Azad University of Shahrkord. May 17-18, (in Persian).
- Salvador, R., Muller, E.E., Freitas, J. C., Leonhardt, J. H., Giordano, L. G. P. and Dias, J. A., 2005.** Isolation and characterization of *Streptococcus* spp. group B in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in hapas nets and earth nurseries in the northern region of Parana State, Brazil. Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria, 35: 1374-1378.
- Shoemaker, C. A., Vandenberg, G. W., Désormeaux, A., Klesius, P. H., Evans, J. J., 2008.** Efficacy of a *Streptococcus iniae* modified bacteria delivered using Oralject™ technology in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 255: 151–156.
- Eldar, A., Horovitz, A. and Bercovier, H., 1997.** Development and efficacy of a vaccine against *Streptococcus iniae* infection in farmed rainbow trout. Journal of Veterinary Immunology and Immunopathology, 56 (1-2): 175-183.
- Eldar, A., Perl, S., Frelier, P. F. and Bercovier, H., 1999.** Red drum *Sciaenops ocellatus* mortalities associated with *Streptococcus iniae* infection. Journal of Diseases of Aquatic Organisms, 36 (2): 121-127.
- Eldar, A. and Ghittino, C., 1999.** *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infections in rainbow trout *Onchorhynchus mykiss*: Similar, but different diseases. Journal of Diseases of Aquatic Organisms, 36 (3): 227-231.
- Fadaeifard, 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 (2): 260-263.
- Garcia, J. C., Klesius, P. H., Evans, J. J. and Shoemaker, C. A., 2008.** Non-infectivity of cattle *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquaculture, 281: 151–154.
- Inglis, V., Roberts, R. J. and Bromage, N. R., 1993.** Chapter 12, Streptococcal infections. In: Bacterial diseases of fish. Halsted Press, John Wiley & Sons, Inc., NY. pp. 196-97.
- MacFaddin, J. F., 2000.** Biochemical testes for identification of medical bacteria. Williams and Wilkins, 912 P.
- Mohammadi Arani, M. and Moghadas, M. B., 2009.** Infection of rainbow trout with *Streptococcus* spp. in Isfahan Province. 1st International Congress on

Soltani, M., Jamshidi, S. and Sharifpour, I., 2005.

Streptococcosis caused by *Streptococcus iniae* in farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Iran: Biochemical characteristics and pathogenesis. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 25: 95-106.

Soltani, M., Nikbakht, G., Ebrahimzadeh Moussavi,

H. A. and Ahmadzadeh, N., 2008. Epizootic outbreaks of Lactococcosis caused by *Lactococcus garviae* in farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Iran. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 28 (5): 95-106.

Incidence of streptococcosis in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) farms in Haraz River in Mazandaran Province, Iran

Sepahdari, A.⁽¹⁾; Saeedi, A. S.⁽²⁾; Kakoulaki, S.⁽³⁾; Habibi Kotanaee, F.⁽⁴⁾; Babaalian, A. R.⁽⁵⁾

* asepahdari@yahoo.com

1,3- Iran Fisheries Research Organization

2,4- Caspian Sea Ecology Center

5- Iran Veterinary Organization

Received: April 2013

Accepted: October 2013

Key words: Streptococcosis , Incidence , Rainbow trout , Mazandaran Province

Abstract

One of the most important bacterial fish diseases which have caused some outbreaks in rainbow trout farms in Iran is streptococcosis .The farmers have been suffering from huge economical losses due to the disease outbreak in different rainbow trout farms in Iran. The aim of present study was to determine the rate of streptococcosis incidence in different growth stage in the farmed rainbow trout in Haraz River in Mazandaran Province, Iran. Fish specimens along with water samples were collected from 10 haphazardly selected fish farms on a monthly basis throughout a year. After clinical observations, isolation and recognition of strep strains were undertaken using biochemical and PCR tests. The results showed that 4.6% of juvenile fish showed clinical signs of streptococcosis while only 0.7% had strep. contamination. These rates in adult specimens were 8.9 and 1 percent, respectively. The main isolated bacterial strain was *Streptococcus uberis* .