magiran.com



[ Downloaded from isfj.ir on 2025-07-27 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.2.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109936 ]

# بررسی اثرات حاد باکتری استرپتوکوکوس فسیوم (*Streptococcus faecium*) روی بعضی از بافتها و مشخصه‌های خونی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

رضا پورغلام[۱]*؛ علی مکرمی رستمی[۲]؛ علی اصغر سعیدی[۳]؛ عیسی شریف‌پور[٤]؛ احمد غرقی[٥] و حمزه پورغلام[٦]

r_pourgholam@yahoo.com

۱، ۲ و ۳ - پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، صندوق پستی ۹٦۱

٤ و ٥ - موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ٦۱۱٦-۱٤۱٥٥

٦- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، صندوق پستی: ۱٦۱٦

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۸۸

## چکیده

استرپتوکوکوزیس بدلیل شیوع سریع بویژه در فصل تابستان، مرگ و میر نسبتاً بالا، کاهش تولید و خسارات اقتصادی به صنعت آبزی‌پروری یکی از مهمترین بیماریهای باکتریایی در ماهیان سرد آبی است. هدف از انجام این بررسی تعیین قدرت کشندگی باکتری استرپتوکوکوس فسیوم و بررسی اثرات حاد آن بر برخی از مشخصه‌های خونی و بافتها بوده است. برای تعیین ۵۰ درصد کشندگی باکتری، ۵ غلظت از باکتری به روش مک فارلن تهیه شد و بصورت داخل صفاقی به بچه ماهیان قزل‌آلا تزریق گردید. آزمایش در شش تیمار و سه تکرار انجام گرفت (پس از ده روز) و LD50 باکتری تعیین گردید. سپس ماهیان با مقدار LD50 مورد تزریق قرار گرفتند و پس از ده روز از ماهیان باقیمانده خونگیری بعمل آمد و همچنین از بافتهای مختلف ماهیان مانند چشم، مغز، کلیه، کبد و آبشش نمونه‌های بافتی تهیه شد.

نتایج بدست آمده حاکی از کاهش معنی‌دار گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت و افزایش معنی‌دار میانگین هموگلوبین گویچه‌ها و میانگین غلظت هموگلوبین گویچه‌ها در گروه آزمون می‌باشد. آثار آسیب‌شناسی در بافتهای چشم بصورت خونریزی، در مغز پرخونی و تورم پرده مننژ، در کلیه خونریزی و تخریب لوله‌های کلیوی، در کبد به شکل پرخونی، خونریزی و از هم گسیختگی سینوزوئیدها و در آبشش بصورت تورم و پرخونی رشته‌های آبششی، چماقی شدن رشته‌های ثانویه و پیکنوتیک شدن هسته در سلولهای پیلار و سلولهای پوششی مشاهده گردید.

**لغات کلیدی:** بیماری، LD50، استرپتوکوکوزیس، خونشناسی، ضایعات بافتی

* نویسندهٔ مسئول

magiran.com

[ Downloaded from isfj.ir on 2025-07-27 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.2.2 ]

[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109936 ]

## مقدمه

پرورش ماهی قزل‌آلا طی سالهای اخیر با شتاب زیادی توسعه یافته است. مزارع جدید احداث شده و میزان تولید در واحد سطح افزایش چشمگیری پیدا کرده است. همراه چنین توسعه‌ای که افزایش تراکم ماهی را در واحد سطح طلب می‌نماید، انواع بیماریهای عفونی در جمعیت ماهیان پرورشی بروز و گسترش می‌یابند.

در دهۀ اخیر از جمله مهمترین عوامل بیماریزای ماهی را می‌توان باکتریهای گرم مثبت نام برد (Eldar & Ghittino, 1999)، که یکی از مهمترین آنها باکتری استرپتوکوک می‌باشد که در صورت وقوع می‌تواند خسارتهای جبران ناپذیری را به صنعت پرورش ماهی وارد نماید (Yanong & Floyd, 2002). اولین گزارش استرپتوکوکوزیس مربوط به سال ۱۹۵۸ می‌باشد که در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از ژاپن گزارش شده است (Hoshina *et al.*, 1958). این بیماری بصورت انفرادی و به شکل همه‌گیر در ماهیان آب شیرین و دریایی در بسیاری از مناطق از جمله آفریقای جنوبی، استرالیا، سنگاپور، انگلیس و نروژ، چین، ترکیه، اسپانیا، ایتالیا و کره اتفاق افتاده است (Bromage & Owens, 2002).

استرپتوکوکوزیس از جمله مهمترین بیماریها در آبزی‌پروری محسوب می‌شود که باعث مرگ و میر بالا (گاه تا بیش از ۷۰ درصد) در ماههای گرم سال می‌شود (Bromage *et al.*, 1999).

مطالعات انجام گرفته در ایران حاکی از گسترش این بیماری در مزارع پرورش قزل‌آلای کشور است (اخلاقی و کشاورز، ۱۳۸۱؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۶؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۷ و Soltani *et al.*, 2008) همچنین در این مطالعات گونه‌های عمده بیماریزا در مزارع کشور، استرپتوکوکوس اینیائی (Soltani *et al.*, 2005) و لاکتوکوکوس گارویه (Soltani *et al.*, 2008) معرفی شدند.

علائم بالینی قابل مشاهده در استرپتوکوکوزیس شامل: شنای غیر عادی، تیرگی پوست، بیرون زدگی چشم (اگزوفتالمی) و خونریزی در برخی از قسمتهای بدن می‌باشد (Bromage & Owens, 2002). در بررسی‌های کالبدگشایی ممکن است مایعات خون‌آلود در محوطۀ شکمی (Ascites) مشاهده شود. طحال بزرگ و قرمز رنگ، کبد رنگ پریده، تورم و آماس در اطراف قلب و کلیه نیز جلب توجه می‌نماید (Locke *et al.*, 2007).

تغییرات عمده آسیب‌شناسی باکتری استرپتوکوکوس در ماهی شامل پانوفتالمی و مننژیت است. در دیگر اندامها تغییرات آسیب‌شناسی ناچیز است (Eldar & Ghittino, 1999). همچنین یک گونه از این باکتری از خون، ادرار و پوست انسان که البته کشنده است، جداسازی شد (Lau *et al.*, 2003 ;Weinstein *et al.*, 1997). بنابراین استرپتوکوکوس یک عامل بیماریزای درمانگاهی مهم بشمار می‌رود (Lahav *et al.*, 2004).

در مطالعه حاضر تاثیرات حاد سویه بومی استرپتوکوکوس فسیوم (*Streptococcus faecium*) روی بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و نیز علائم درمانگاهی و آسیب شناختی آن مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش کار

برای تهیه باکتری، ابتدا ماهیان آلوده از مزارع پرورشی در استان مازندران جمع‌آوری شد و نمونه‌ها به آزمایشگاه باکتری‌شناسی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر منتقل گردید. ابتدا سطح شکمی ماهی با گاز استریل آغشته به الکل ۷۰ درجه ضدعفونی شد و سپس در شرایط آسپتیک از بافت کلیه نمونه‌برداری و به محیطهای کشت TSA و Blood agar منتقل گردیدند. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرارگرفتند و پس از رشد پرگنه‌ها ابتدا عمل خالص‌سازی انجام شد و در نهایت باکتری جداسازی شده (*Streptococcus faecium*) برای مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

برای تعیین ۵۰ درصد کشندگی (اثر حاد) باکتری استرپتوکوکوس از روش Reed و Muench در سال ۱۹۳۸ استفاده گردید. در این روش ابتدا ۷ رقت از باکتری ($10^{-3}$، $10^{-4}$، $10^{-5}$، $10^{-6}$، $10^{-7}$، $10^{-8}$ و $10^{-9}$) به روش MacFarlane در سال ۲۰۰۰ تهیه و به ماهیان بصورت داخل صفاقی تزریق گردید. ماهیان در ۷ وان فایبرگلاس ۲×۲ و در هر کدام ۱۰ عدد بچه ماهی قرار گرفتند و تلفات بصورت روزانه ثبت گردید و بعد از مدت ده روز رقتهایی از باکتری که بیشترین و کمترین تلفات را داشتند، تعیین شد و سپس آزمایشات اصلی در ۵ رقت از باکتری برای تعیین ۵۰ درصد کشندگی انجام گرفت.

این آزمایش در شش تیمار و هر کدام ۳ تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل ۵ تیمار باکتری در رقتهای $10^{-4}$، $10^{-5}$، $10^{-6}$، $10^{-7}$ و $10^{-8}$ و یک تیمار شاهد بود. برای انجام کار ۱۸ عدد وان ۳۰۰ لیتری انتخاب گردید و پس از ضد عفونی با نمک ۱۵ در هزار به مدت ۳۰ دقیقه و شستشوی کامل با آب تمیز آبگیری شدند. تعداد ۱۸۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین (± انحراف

magiran.com
[ Downloaded from isfj.ir on 2025-07-27 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.2.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109936 ]

استاندارد) وزن ۷±۳۷/۱ گرم در ۱۸ عدد وان و در هر یک ۱۰ عدد ماهی رهاسازی گردید. بعد از رهاسازی بچه ماهیان، رقتهای تهیه شده باکتری به روش داخل صفاقی (IP) با سرنگ انسولین به ماهیان مورد بررسی بیهوش شده با ماده بیهوشی (MS222) با مقدار ۲۰ میلیگرم در لیتر، تزریق گردید و به ماهیان تیمار شاهد به جای باکتری محلول PBS تزریق شد. در یک دوره ۱۰ روزه تلفات ماهیان در تیمارهای مختلف بصورت روزانه ثبت گردید.

پس از آنالیز و تعیین LD50 ۲۰ عدد ماهی مورد تزریق باکتری در مقدار LD50 قرار گرفتند و بعد از مدت ۱۰ روز از ماهیان باقیمانده برای انجام مطالعات خونشناسی از طریق ساقه دمی خونگیری بعمل آمد. همچنین برای بررسی اثرات آسیبشناسی باکتری بر بافتهای مختلف، نمونه بافتی نیز از اندامهای مغز، چشم، کلیه، آبشش و کبد ماهیان خونگیری شده بیمار، تهیه شد. نمونههای بافتی به روش Roberts (۱۹۸۹) آمادهسازی و اثرات آسیبشناسی باکتری استرپتوکوکوس روی لامهای تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت.

بعد از خونگیری نمونههای خون به داخل ظرفهای پلاستیکی به حجم ۱ تا ۱/۵ میلیلیتر و واجد ماده ضد انعقاد هپارین (یک قطره هپارین برای یک میلیلیتر خون) منتقل شد. نمونههای خون سریعاً به آزمایشگاه هماتولوژی منتقل و فاکتورهای گلبول قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، میانگین حجم گویچهها، میانگین هموگلوبین گویچهها و میانگین غلظت هموگلوبین گویچهها مورد آزمایش و بررسی قرار گرفتند.

شمارش گلبولهای قرمز با پیپت ملانژور قرمز، رقت ۱ به ۲۰۰ با ماده رقیق کننده ریس و لام شمارش مخصوص نئوبائر در ۵ خانه از ۲۵ خانه لام مخصوص شمارش گردید و در عدد ثابت ۱۰۰۰۰ ضرب و تعداد گلبولها در واحد حجم تعیین شد.

اندازهگیری هماتوکریت به روش میکروهماتوکریت، با سانتریفیوژ هماتوکریت، با دور (RPM)۱۰۵۰۰، مدت زمان ۵ دقیقه و خطکش مخصوص هماتوکریت برحسب درصد انجام شد.

اندازهگیری هموگلوبین به روش سیانومت هموگلوبین، با اسپکتروفتومتر و طول موج ۵۴۰ نانومتر برحسب گرم در دسیلیتر انجام شد. برای تعیین مشخصههای گلبول قرمز، شامل میانگین حجم گویچهها (MCV)، میانگین هموگلوبین گویچهها (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین گویچهها (MCHC) از روابط ریاضی استفاده و تعیین شد.

در طول زمان آزمایش، هوادهی بصورت مستمر انجام گردید. میزان برخی از فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب وانها در طول آزمایش شامل: اکسیژن محلول در آب، سختی آب، کلر، کلسیم، نیترات، نیتریت، یون آمونیوم، pH و هدایت الکتریکی بترتیب ۹/۲، ۲۸۰، ۷۱، ۰/۰۰۳، ۲/۳۰ و ۰/۰۳۹ میلیگرم در لیتر، ۷/۴ و ۰/۹۶ (میلی زیمنس) تعیین و ثبت گردید. در این آزمایش درجه حرارت آب وانها (میانگین± انحراف استاندارد) ۱±۱۷ سانتیگراد بود.

تجزیه و تحلیل دادههای بدست آمده با روش آماری آنالیز واریانس یکطرفه و نرمافزار آماری SPSS انجام گرفت و آزمون آماری دانکن جهت تعیین اختلاف معنیدار بین تیمارهای آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت.

## نتایج

علائم بالینی در ماهیان مورد بررسی در مقادیر $10^6$، $10^7$ و $10^8$ عدد باکتری در واحد حجم پس از ۲ روز و در مقادیر $10^4$ و $10^5$عدد باکتری در واحد حجم پس از ۳ تا ۴ روز ظاهر شد. علایم بالینی مشاهده شده در شرایط آزمایشگاهی عبارت بودند از: تیرگی پوست، بیرون زدگی چشم یک و دو طرفه، خونریزی شدید در اطراف چشم، خونریزی موضعی در قاعده بالههای بعضی از ماهیان، تغییرات رفتاری بصورت شنای غیرمتعارف و بیحالی و علائم داخلی شامل: رنگ پریدگی کبد، پرخونی و خونریزی در اطراف قلب مشاهده گردید. نتایج کشت باکتریایی در همه نمونههایی که مورد تزریق قرار گرفته بودند، مثبت بود.

درصد تلفات تجمعی رقتهای مختلف باکتری استرپتوکوکوس در مدت زمانهای مختلف در ماهیان قزلآلای رنگین کمان در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان LD50 باکتری استرپتوکوکوس فسیوم در ۱۰ روز معادل $1/93\times10^5$ عدد باکتری در میلیلیتر محاسبه گردید. نتایج مشخصههای خونی هر دو گروه آزمون و شاهد بچه ماهیان قزلآلای جوان مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است.

magiran.com



**جدول ۱: تلفات تجمعی بچه ماهیان قزل‌آلا با تزریق باکتری استرپتوکوکوس فسیوم طی ۱۰ روز آزمایش LD50**

| تیمار | رقت باکتری | تلفات تجمعی ماهیان قزل‌آلا | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ۱روز | ۲روز | ۳روز | ٤روز | ٥روز | ٦روز | ۷روز | ۸روز | ۹روز | ۱۰روز |
| شاهد | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ |
| آزمون | $۱۰^{٤}$ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۱ | ٥ | ٥ | ۷ | ۸ | ۸ |
| | $۱۰^{٥}$ | ۰ | ۰ | ۱ | ۳ | ٤ | ٦ | ۹ | ۱۱ | ۱۲ | ۱۳ |
| | $۱۰^{٦}$ | ۰ | ۰ | ۱ | ٤ | ۱۱ | ۱۲ | ۱۳ | ۱٥ | ۱۸ | ۲۰ |
| | $۱۰^{۷}$ | ۱ | ۱ | ۳ | ۷ | ۱٤ | ۱۸ | ۱۹ | ۲۳ | ۲٤ | ۲٥ |
| | $۱۰^{۸}$ | ۱ | ۲ | ٤ | ۸ | ۱٦ | ۲۱ | ۲۲ | ۲٤ | ۲٥ | ۲۸ |

**جدول ۲: مقادیر مشخصه‌های خونی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان با تزریق باکتری استرپتوکوکوس فسیوم در دو گروه آزمون و شاهد**

| شاخص | واحد | تیمار | تعداد | میانگین | خطای استاندارد | احتمال |
|---|---|---|---|---|---|---|
| گلبول قرمز (RBC) | تعداد در میلی لیترمکعب | شاهد | ٥ | ۱۰۲٤۰۰۰ | ۱۰٤۷٦٦ | *۰/۰۱۱ |
| | | آزمون | ٥ | ٦۱۰۰۰۰ | ۲۷۳۸٥ | |
| هماتوکریت (Hct) | درصد | شاهد | ٥ | ٤۲/۲ | ۳/٥ | *۰/۰۰٦ |
| | | آزمون | ٥ | ۲٦/۷ | ۰/٥ | |
| هموگلوبین (Hb) | گرم در دسی‌لیتر | شاهد | ٥ | ۷/٤ | ۰/٦ | *۰/۰۱۱ |
| | | آزمون | ٥ | ٥ | ۰/۰۷ | |
| میانگین حجم گویچه‌ها (MCV) | فمتولیتر | شاهد | ٥ | ٤۱٦ | ۱۹/٤ | ۰/۳٦ |
| | | آزمون | ٥ | ٤٤۰ | ۱۳ | |
| میانگین هموگلوبین گویچه‌ها (MCH) | پیکوگرم | شاهد | ٥ | ۷۳ | ۲/۷ | *۰/۰۳ |
| | | آزمون | ٥ | ۸۳ | ۲/٤ | |
| میانگین غلظت هموگلوبین گویچه(MCHC) | درصد | شاهد | ٥ | ۱۷ | ۰/٤ | *۰/۰۱ |
| | | آزمون | ٥ | ۱۹ | ۰ | |

*: اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) بین گروه آزمون و شاهد

با توجه به مقادیر مندرج در جدول ۲، مشخصه‌های خونی شامل گلبول قرمز خون، هموگلوبین خون و هماتوکریت در گروه آزمون کاهش معنی‌داری ($P<0.05$) نسبت به گروه شاهد داشته است ولی مقادیر میانگین هموگلوبین گویچه‌ها و میانگین غلظت هموگلوبین گویچه‌ها در گروه آزمون افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P<0.05$). همچنین میزان میانگین حجم گویچه‌ها در گروه آزمون نیز افزایش غیرمعنی‌داری را نشان می‌دهد ($P>0.05$).

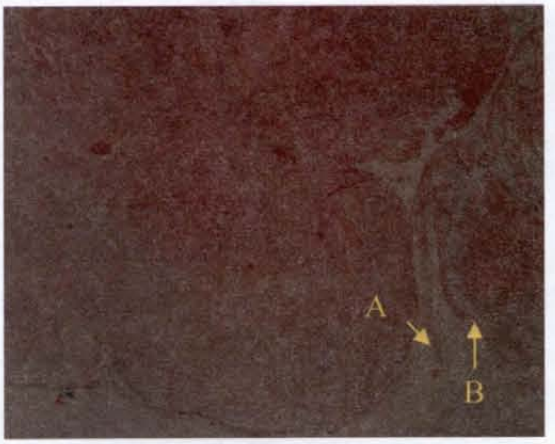
در مطالعه مقاطع میکروسکوپی تهیه شده از ماهیان بیمار، پرخونی عروق مغز، تورم و جداشدن پرده مننژ، پرخونی در سطح مغز و خونریزی در زیر لایه مننژ مشاهده شد (اشکال ۱ و ۲). در چشم خونریزی در بین و پشت سلولهای قرنیه، حضور پیگمانهای ملانین در سلولهای قرنیه، افزایش سلولهای موکوسی در قرنیه و خونریزی در بین سولولهای لایه غضروفی و اپیتلیوم مشاهده گردید (شکل ۳). در برشهای تهیه شده از کبد ماهیان بیمار پرخونی، از هم گسیختگی سلولهای کبدی و خونریزی در سینوزوئیدها مشاهده شد (شکل ۴). در کلیه خونریزی، پرخونی، اتساع فضای بومن، چروکیده شدن گلومرول، از هم گسیختگی بافت بینابینی، دژنراسیون و واکوئله شدن سلولهای لوله‌های کلیوی، افزایش



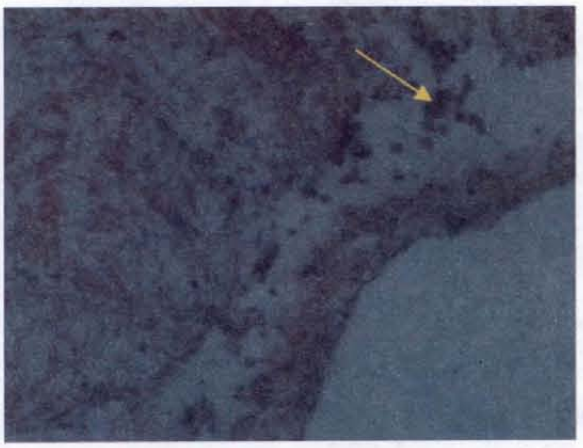
[ Downloaded from isfj.ir on 2025-07-27 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.2.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109936 ]

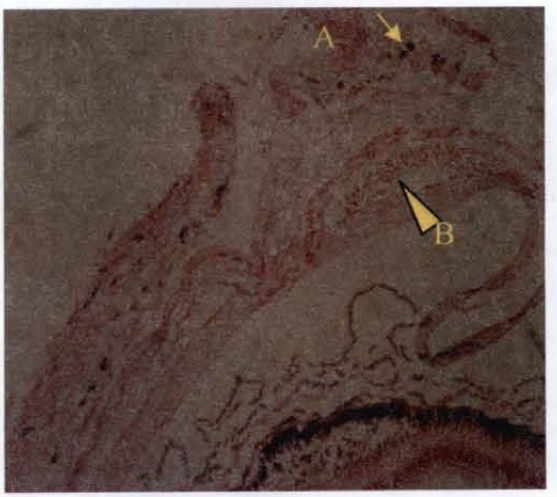
رنگدانه ملانین و افزایش MMCs (Melanomacrophge centers) رؤیت گردید (شکل ۵). در مقاطعی که از بافت آبشش تهیه شد، پرخونی رشته‌های اولیه آبششی، تورم و جداشدن لایه پایه رشته‌های ثانویه، چماقی شدن رشته‌های ثانویه، پیکنوزه شدن هسته سلولهای پیلار و پوششی رشته‌های ثانویه، پرخونی پریکندریوم رشته‌های اولیه، تورم شدید لایه پایه رشته‌های اولیه، کاهش و از بین رفتن سلولهای پوششی، موکوسی، پایه و نیز چسبیدن رشته‌های ثانویه بهم مشاهده گردید (اشکال ۶ و ۷).



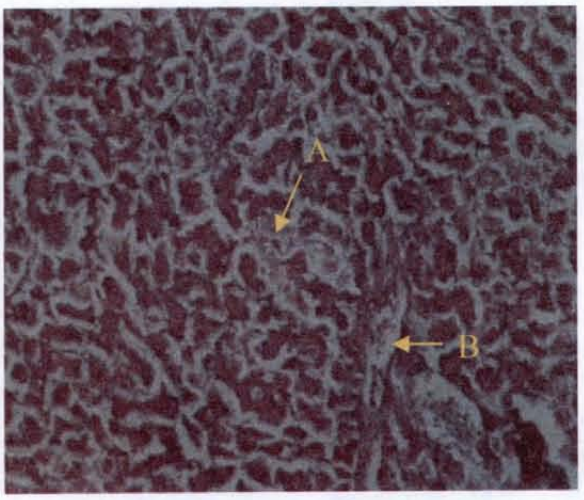

شکل ۱: جدا شدن و تورم پرده منتژ (A)، پرخونی در سطح مغز (B) (H&E,X4)



شکل۲: خونریزی زیر لایه مغز و حضور گلبولهای قرمز آزاد (پیکان) (H&E,X40)



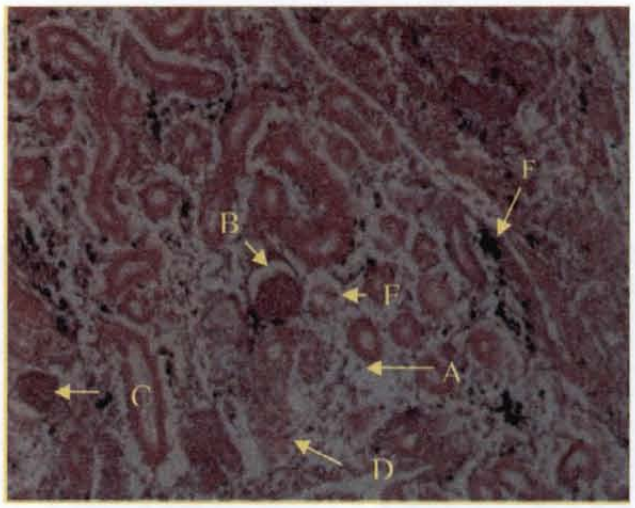

شکل۳: حضور پیگمانهای ملانین در بخش قرنیه چشم (A)، خونریزی بین لایه غضروفی و اپیتلیوم (B) (H&E,X4)



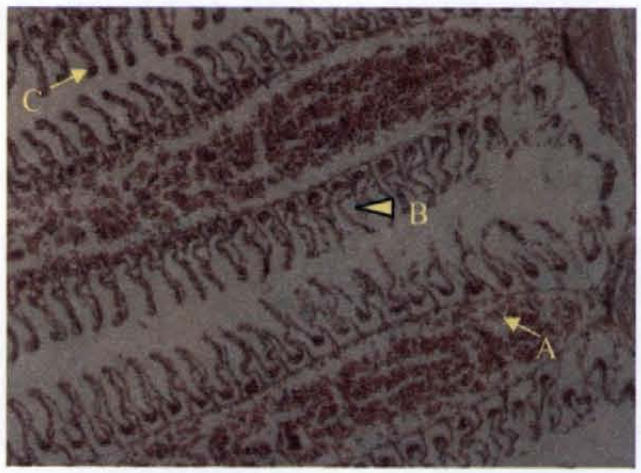

شکل٤: اتساع و از هم‌گسیختگی سینوزوئیدها (A) و پر خونی عروق (B)، (H&E,X10)



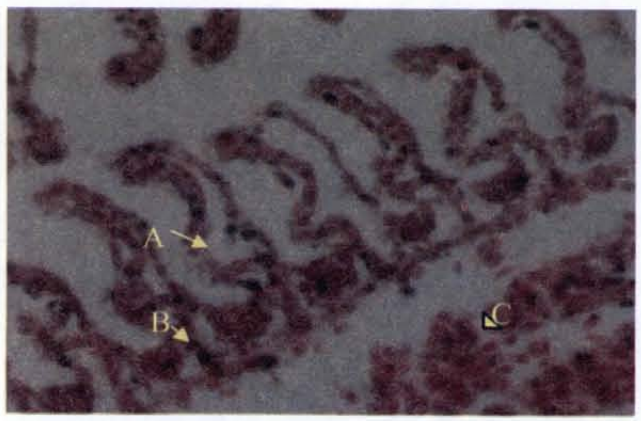
magiran.com
[ Downloaded from isfj.ir on 2025-07-27 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.2.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109936 ]




شکل ۵: خونریزی و پرخونی در کلیه (A)، اتساع فضای بومن (B)، چروکیده شدن گلومرول (C)، از هم گسیختگی بافت بینابینی (D)، دژنراسیون سلولهای لوله‌های کلیوی (E)، افزایش رنگدانه ملانین و MMC (F)، (H&E, X10)




شکل ٦ : پرخونی رشته‌های اولیه آبششی (A) ، تورم لایه پایه رشته‌های ثانویه (B)، چماقی شدن رشته‌های ثانویه (C) (H&E, X10)




شکل ۷ : تورم و جدا شدن لایه پایه رشته‌های ثانویه (A)، پیکنوتیک شدن هسته سلولهای پیلار و پوششی رشته‌های ثانویه (B)، پرخونی رشته‌های اولیه (C) (H&E, X40)



magiran.com
[ Downloaded from isfj.ir on 2025-07-27 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.2.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109936 ]

magiran.com
[ Downloaded from isfj.ir on 2025-07-27 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.2.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109936 ]

## بحث

استرپتوکوکوزیس یکی از بیماریهای مهم باکتریایی بشمار می‌رود که تاکنون شناخته شده است و از جمله گونه‌هایی که باعث بروز این بیماری در ماهیان می‌شوند را می‌توان استرپتوکوکوس اینیائی، لاکتوکوکوس گارویه، استرپتوکوکوس پارایوبریس، لاکتوکوکوس پیسیوم، واگوکوکوس سالمونینارووم، استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه و استرپتوکوکوس میلری نام برد (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۷؛ Austin & Austin, 2007). اما در مطالعه حاضر گونه‌ای که عامل بروز بیماری و ایجاد تلفات حاد در قزل‌آلای رنگین کمان گردیده، استرپتوکوکوس فسیوم می‌باشد.

علائم بالینی مشاهده شده در ماهیانی که مورد تزریق باکتری قرار گرفتند نظیر تیرگی پوست، اگزوفتالمی، خونریزی در چشم، تغییرات رفتاری و شنای غیرمتعارف و علائم داخلی شامل رنگ پریدگی کبد، پرخونی و خونریزی در اطراف قلب شبیه علائمی بوده که Bromage و همکاران (۱۹۹۹)؛ Eldar & Ghittino (۱۹۹۹)؛ Bromage & Owens (۲۰۰۲)؛ Lahav و همکاران (۲۰۰۴)؛ سلطانی و همکاران (۱۳۸۷) و سعیدی و همکاران (۱۳۸۸) گزارش داده‌اند.

میزان LD50 باکتری استرپتوکوک در ماهیان قزل‌آلا در ده روز معادل $1/93\times10^{5}$ $Cfuml^{-1}$ باکتری بوده است. در بررسی‌های Bromage و Owens در سال ۲۰۰۲، میزان LD50 باکتری استرپتوکوک در ماهیان بارمونده در مدت ده روز $3/2\times10^{4}$ کلنی باکتری در میلی‌لیتر بوده است. همچنین در بررسی‌های Eldar و Ghittino در سال ۱۹۹۹، میزان LD50 استرپتوکوک در ماهیان قزل‌آلا برابر با $2/5\times10^{5}$ کلنی باکتری در میلی‌لیتر در ۲۱ روز محاسبه گردید. در بررسی انجام شده توسط سلطانی و همکاران در سال ۱۳۸۷، میزان LD50 ۷۲ ساعته استرپتوکوکوس جدا شده از مزارع پرورشی $1/5\times10^{8}$ باکتری بوده است. مقایسه نتایج بدست آمده در بررسی فوق با دیگر بررسی‌ها نشان می‌دهد که سویه بومی باکتری استرپتوکوک باعث بیماریزایی و تلفات بیشتری در ماهیان قزل‌آلا می‌شود یعنی در حقیقت قدرت بیماریزایی آن نسبت به سویه‌های دیگر بالاتر می‌باشد.

در بررسی برخی از مشخصه‌های خونی ماهیان قزل‌آلا بعد از تزریق باکتری، مشاهده شد که گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در گروه آزمون کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است ولی مقادیر میانگین حجم گویچه‌ها (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین گویچه‌ها (MCHC) در گروه آزمون نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشته است.

همانطور که در علائم بالینی مشاهده گردید دلیل عمده کاهش این شاخص‌ها، خونریزی در بافتهای مختلف می‌باشد و از طرف دیگر بافتهای خونساز ماهیان بیمار نظیر کلیه درگیر آلودگی بوده و با توجه به مشاهدات آسیب‌شناسی خسارت این بافتها مشهود بود.

در بررسی مقاطع میکروسکوپی تهیه شده از ماهیان بیمار پرخونی در رگهای مغز، تورم و جدا شدن پرده مننژ، پرخونی و خونریزی در سطح و زیر لایه مننژ، خونریزی در چشم، حضور رنگدانه‌های ملانین در سلولهای قرنیه، پرخونی در کبد، خونریزی در کلیه، اتساع فضای بومن، دژنراسیون لوله‌های کلیوی و همچنین پرخونی در رشته‌های آبششی و پیکنوزه شدن سلولهای پیلار مشاهده گردید. در مشاهداتی که توسط سلطانی و همکاران، ۱۳۸۷؛ Neely و همکاران (۲۰۰۲)؛ Eldar و همکاران (۱۹۹۵،۱۹۹۹)؛ Eldar و Ghittino (۱۹۹۹) و Locke و همکاران (۲۰۰۷) انجام گرفت برخی از علائم مشاهده شده را گزارش کرده‌اند. با توجه به نتایج بدست آمده و مقایسه آن با سایر مطالعات می‌توان به این نتیجه رسید که سویه بومی جداسازی شده از مزارع پرورشی قزل‌آلا (استرپتوکوکوس فسیوم)، جزء گونه‌های مهم بیماریزا بوده و با توجه به LD50 محاسبه شده دارای قدرت بیماریزایی بالایی می‌باشد که باعث تلفات شدید در مزارع سردآبی کشور می‌گردد.

## تشکر و قدردانی

از زحمات فراوان و بیدریغ کارشناسان و همکاران بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان و بخش تکثیر و پرورش پژوهشکده اکولوژی دریای خزر تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع

**اخلاقی، م. و کشاورز، م.، ۱۳۸۱.** وقوع استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش قزل‌آلای استان فارس. مجله تحقیقات دامپزشکی ایران، دوره سوم، شماره دوم، صفحات ۱۸۳ تا ۱۸۹.

**سعیدی، ع.ا.؛ پورغلام، ر.؛ زاهدی، آ. و فیروزکندیان، ش.، ۱۳۸۸.** انتقال تجربی (آزمایشگاهی) بیماری استرپتوکوکوزیس به بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان با باکتری *Streptococcus*

magiran.com
[ Downloaded from isfj.ir on 2025-07-27 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.2.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109936 ]

*faecium* نخستین همایش ملی بیماریهای اقتصادی صنعت پرورش قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد.

**سلطانی، م. ؛ علیشاهی، م.؛ خضرائی نیا، پ. و ستاری، ا.، ۱۳۸۸.** مطالعه برخی پاسخهای ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به برخی آنتی ژنهای استرپتوکوکوس اینیائی، مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۲، شماره ۱، صفحات ۱ تا ۱۰.

**سلطانی، م.؛ فدایی‌فرد، ف.؛ شریف‌پور، ع. و زرگر، ا.، ۱۳۸۷.** مطالعه آسیب‌شناسی تجربی باکتری استرپتوکوکوس در قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، سال هفدهم، شماره ۴، صفحات ۸۱ تا ۸۸.

**Austin B. and Austin D.A., 2007.** Bacterial fish pathogens. Disease in farmed and wild fish. Ellis Horwood, Chichester. pp.56-63.

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

**Bromage E.S. and Owens L., 2002.** Infection of barramundi Lates calcarifer with *Streptococcus iniae*: Effects of different routes of exposure. Disease Aquatic Organism, 52:199–205.

**Eldar A., Bejerano Y., Livoff A., Horovitcz A. and Bercovier H., 1995.** Experimental streptococcal meningo-encephalitis in cultured fish. et Microbiol, 43:33–40.

**Eldar A., Perl S., Frelier P.F. and Bercovier H., 1999.** Red drums (*Sciaenops ocellatus*) mortalities associated with *Streptococcus iniae* infection. Diseases of Aquatic Organisms, 36:121–127.

**Eldar A. and Ghittino C., 1999.** *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Similar, but different diseases. Disease Aquatic Organism, 36:227–231.

**Hoshina T., Sano T. and Morimato Y., 1958.** A streptococcus pathogenic to fish, Journal of Tokyo University Fisheries, 44:57-58

**Lahav D., Eyngor M., Hurvitz A., Ghittino C., Lublin A. and Eldar A., 2004.** *Streptococcus iniae* type II infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Disease Aquatic Organism, 62:177-180.

**Lau S.K., Woo P.C., Tse H., Leung K.W., Wong S.S. and Yuen K.Y., 2003.** Invasive *Streptococcus iniae* infections outside North America. Journal of Clinical Microbiology, 41:1004–1009.

**Locke J.B., Colvin K.M., Datta A.K., Patel S.K., Naidu N.N., Neely M.N., Nizet V. and Buchanan J.T., 2007.** *Streptococcus iniae* capsule impairs phagocytic clearance and contributes to virulence in fish. Journal of Bacteriology, 189:1279–1287.

**MacFarlane J.F., 2000.** Biochemical testes for identification of medical bacteria . Williams and Wilkins. 912P.

**Neely M.N., Pfeifer J.D. and Caparon M., 2002.** Streptococcus-zebrafish model of bacterial pathogenesis. Infection and Immunity, 70:3904–3914.

**Reed L.J. and Muench H., 1938.** A simple method of estimation of fifty percent endpoints. American Journal of Hygiene, 27:493-497.

**Roberts R.J., 1989.** Fish Pathology. Bailliere Tindall London, Second edition. 466P.

**Soltani M., Jamshidi S. and Sharifpour I., 2005.** Streptococcosis caused by *Streptococcus iniae* in farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Iran, Biophysical 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 lacotoccosis caused by *Lacotococcus garvieae* in farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Iran. Bulletin of the

European Association of Fish Pathologists, 28(5):209-214.

**Yanong R.P.E. and Floyed R.F., 2002.** Streptococcal infection of fish. Florida Cooperative Extension Service. IFAS, University of Florida, p.3. Circular FA057.

**Weinstein M.R., Litt M., Kertesz D.A., Wyper P., 1997.** Invasive infections due to a fish pathogen, *Streptococcus iniae*. National England Journal of Medicine, 337:589–594.



magiran.com
[ Downloaded from isfj.ir on 2025-07-27 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.2.2 ]
[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109936 ]

magiran.com



# Assessment of acute effects of *Streptococcus faecium* on some hematological and histopathological parameters in juveniles rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

**Pourgholam R.[1]*; Mokarami Rostami A.[2]; Saeedi A.A.[3]; Shrifpour I.[4]; Ghoroghi A.[5] and Pourgholam H.[6]**

r_porgholam@yahoo.com

1, 2 & 3- Caspian Sea Ecology Research Center, P.O.Box: 66 Sari, Iran

4 & 5- Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

6- Islamic Azad University, Lahijan Branch, P.O.Box: 1616 Lahijan, Iran

Received: September 2009 Accepted: February 2010

**Keywords:** Disease, LD50, Streptococcosis, Hematology, Histopathology

[ Downloaded from isfj.ir on 2025-07-27 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1389.19.2.2.2 ]

[ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109936 ]

## Abstract

Streptococcosis is one of the most important bacterial diseases in cold water fish because of its rapid outbreak specially in summer, relatively high morbidity and mortality, productive reduction and economic losses in aquaculture industry. However, it would be necessary to determine of 50% lethal dose (LD50) of bacteria (*Streptococcus faecium*) and studying its acute effects on hematological and histopathological parameters. For measuring LD50 five dilutions of bacteria were obtained by Macfarlane method and the fish were injected by intraperitoneal (IP). The experience was carried out in 6 treatments and 3 replicates. The fish were injected by LD50 dose and after 10 days, samples of blood and tissues including: Eyes, brain, kidney, liver and gills were collected. The injected fish showed darkening of body, exophthalmia, abdominal distension and prolapsed anal. The obtained results showed significant reduction ($P<0.05$) in level of red blood cells (RBC), hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct) and significant increase ($P<0.05$) of mean corpuscular hemoglobin (MCH) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) in test group compare to control group. In addition histopathological findings including hemorrhage in brain, eyes, kidney and liver, congestion in liver, brain and gills, inflammation of gills, meningitis and separation of menangial layers, presence of melanin pigments and increasing of mucus cells in the cornial epithelium and were showed shrinkage, bowmans space dilation, degeneration and vacoelation in tubular cells, increasing of melanomacrofage centers and melanin pigments in kidney.

* Corresponding author