



Bacterial Diseases in Rainbow Trout Farms in Kurdistan and Kermanshah Provinces of Iran and Their Risk Factors

Mehdi Soltani^{1✉}, Kazem Abdi^{2✉}, Mohamad Azizzadeh^{3✉}, Rozhin Farshgar^{4✉}, Sepideh Asadi^{3✉},
Saeedeh Hoseini^{5✉}, Mahtab Khalaji^{6✉}, Elnaz Kamrani^{7✉}

¹ Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran; Harry Butler Institute, School of Veterinary and Life Science, Murdoch University, Perth, West Australia, Australia

² Department of Health and Prevention of Diseases of Aquatic Animals, Iran Veterinary Organization, Iran

³ Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

⁴ Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Razi University of Kermanshah, Kermanshah, Iran

⁵ Graduated from the Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran

⁶ Graduated from the Faculty of Natural Resources, University of Gorgan Agriculture and Natural Resources, Golestan, Iran

⁷ Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 30 Apr 2025, Reciver in revised from: 28 Jun 2025, Accepted: 2 Jul 2025, Available online: 13 Sep 2025

doi: [10.22059/jvr.2025.388340.3481](https://doi.org/10.22059/jvr.2025.388340.3481)

J Vet Res, Volume 80, Number 3, 2025, 161-175

Abstract

BACKGROUND: Study of economically significant bacterial diseases in farmed rainbow trout is important.

OBJECTIVES: This study aimed to investigate the economically important bacterial diseases in rainbow trout farms in Kurdistan and Kermanshah provinces, Iran.

METHODS: Ten diseased fish were obtained from 25 fish farms located at Palangan, Siravan, Bijar, and Rijab farms as well as the trout farms along the Gavroud river. Isolation and identification of the causative agents were done using phenotypic and molecular methods. The presence of 23 risk factors affecting the occurrence/severity of bacterial diseases was also studied in these fish farms.

RESULTS: We obtained 59 and 51 bacterial isolates from Kurdistan and Kermanshah fish farms, respectively. In molecular studies, six bacterial species including *Streptococcus iniae*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri*, and *Aeromonas hydrophila* were identified in the fish farms of both provinces. The most frequent bacterial pathogens in Kurdistan fish farms were *L. garvieae* (22%), *S. agalactiae* (20.3%), and *Y. ruckeri* (18.6%), followed by *S. iniae* (15.3%), *A. hydrophila* (8.5%), and *S. dysgalactiae* (6.8%), while in Kermanshah fish farms, *Y. ruckeri* (23.5%), *L. garvieae* (21.6%) and *S. agalactiae* (21.6%) were more prevalent, followed by *S. iniae* (13.7%), *S. dysgalactiae* (5.9%) and *A. hydrophila* (5.9%). Relative frequencies of unknown isolates in Kurdistan and Kermanshah fish farms were 8.5% and 7.8%, respectively. The relative frequency of 19 and 15 risk factors was 50% in Kurdistan and Kermanshah farms, respectively.

CONCLUSIONS: The rainbow trout farms in Kurdistan and Kermanshah have economically important bacterial diseases. Therefore, it is necessary to adopt methods to prevent their occurrence.

Keywords: Aeromonas, Risk factors, Streptococcus, Trout, Yersinia

Copyright © The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press

Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Corresponding author: Mehdi Soltani, Tel/Fax: +9821- 61117094/ +9821-66933222



How to cite this article:

Soltani M, Abdi K, Azizzadeh M, Farshgar R, Asadi S, Hoseini S, Khalaji M, Kamrani E. Bacterial diseases in rainbow trout farms in kurdistan and kermanshah provinces of iran and their risk factors. Journal of Veterinary Research, 2025; 80(3): 161-175. doi: 10.22059/jvr.2025.388340.3481

Figure Legends and Table Captions

Table 1. The primers used for the detection of target bacterial species.

Table 2. The temperature cycle used in the PCR for the detection of bacterial species. Note: For *S. agalactiae* and *S. dysgalactiae*, the reactions were slightly modified.

Table 3. Relative frequency of risk factors for bacterial diseases in trout farms of Kurdistan and Kermanshah provinces.

Table 4. Bacterial species identified in trout farms Kurdistan and Kermanshah provinces. 1: *Streptococcus iniae*, 2: *Streptococcus agalactiae*, 3: *Streptococcus dysgalactiae*, 4: *Lactococcus garvieae*, 5: *Yersinia ruckeri*, 6: *Aeromonas hydrophila*.

Table 5. Relative frequency of bacterial species isolated from the trout farms of Kurdistan and Kermanshah provinces.

Figure 1. Some clinical signs in diseased fish from trout farms of Kurdistan and Kermanshah provinces. A: Exophthalmia with hyperemia and hemorrhage as well skin darkening; B: Cataract and with hemorrhage in eye; C: Hemorrhage at ventral sit; D: Anal prolapse and hyperemia/hemorrhage at ventral fins.

Figure 2. Plotting the relative frequency of bacterial species isolated from the trout farms of Kurdistan and Kermanshah provinces. 1: *Streptococcus iniae*, 2: *Streptococcus agalactiae*, 3: *Streptococcus dysgalactiae*, 4: *Lactococcus garvieae*, 5: *Yersinia ruckeri*, 6: *Aeromonas hydrophila*, 7: Unknown isolates.

Figure 3. Gel electrophoresis of some isolates of *Yersinia*. M= marker, PC=positive control, NC=negative control, lanes 1 to 12= test isolates.

Figure 4. Gel electrophoresis of some isolates of *Aeromonas*. M: Marker, PC: Positive control, NC: Negative control, lanes 1-10: Test isolates.

Figure 5. Gel electrophoresis of some isolates of *Streptococcus*. M: Marker, PC: Positive control, NC: Negative control, lanes 1-3: Test isolates.

Figure 6. Gel electrophoresis of some isolates of *Streptococcus iniae*. M: Marker, PC: Positive control, NC: Negative control, lanes 1-10: Test isolates.

Figure 7. Gel electrophoresis of some isolates of *Streptococcus agalactiae*. M: Marker, PC: Positive control, NC: Negative control, lanes 1-6: test isolates.

Figure 8. Gel electrophoresis of some isolates of *Streptococcus dysgalactiae*. M: Marker, PC: Positive control, NC: Negative control, lanes 1-3: Test isolates.

Figure 9. Gel electrophoresis of some isolates of *Lactococcus garvieae*. M: Marker, PC: Positive control, NC: Negative control, lanes 1-4: Test isolates.

Figure 10. Gel electrophoresis of some isolates of *Yersinia ruckeri*. M: Marker, PC: Positive control, NC: Negative control, lanes 1-4: Test isolates.

Figure 11. Gel electrophoresis of some isolates of *Aeromonas hydrophila*. M: Marker, PC: Positive control, NC: Negative control, lanes 1-6: Test isolates.



بیماری‌های باکتریایی مزارع قزل‌آلای رنگین‌کمان استان‌های کردستان و کرمانشاه و نقش عوامل خطرساز در بروز آن‌ها

مهدی سلطانی^۱، کاظم عبدی^۲، محمد عزیززاده^۳، روزین فرشگر^۴، سپیده اسدی^۳، سعیده حسینی^۵،

مهتاب خلجی^۶، الناز کامرانی^۷

^۱ گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ موسسه هری باتلر، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه مرداک، استرالیا

^۲ دفتر بهداشت و مبارزه با بیماری‌های آبزیان سازمان دامپزشکی کشور، ایران

^۳ دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۴ دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

^۵ دانش‌آموخته دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۶ دانش‌آموخته دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران

^۷ دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۰ اردیبهشت ۱۴۰۴، تاریخ بازنگری: ۷ تیر ۱۴۰۴، تاریخ پذیرش: ۱۱ تیر ۱۴۰۴، تاریخ انتشار: ۲۲ شهریور ۱۴۰۴

doi: [10.22059/jvr.2025.388340.3481](https://doi.org/10.22059/jvr.2025.388340.3481)

دوره ۸۰، شماره ۳، ۱۴۰۴، ۱۶۱-۱۷۵

چکیده

زمینه مطالعه: بیماری‌های باکتریایی با اهمیت اقتصادی در مزارع قزل‌آلای رنگین‌کمان از اهمیت بالایی برخوردار است.

هدف: مطالعه حاضر با هدف بررسی بیماری‌های باکتریایی با اهمیت اقتصادی در مزارع ماهی قزل‌آلای استان‌های کرمانشاه و کردستان انجام شد.

روش کار: جداسازی و شناسایی عوامل بیماری‌زای باکتریایی به روش‌های فوتوتیپی و مولکولی (PCR) از ماهیان مرضی به تعداد ۱۰ ماهی بیمار از هر مزرعه (مجموعاً ۲۵ مزرعه و از هر مزرعه ۱۰ ماهی بیمار) واقع در مجتمع‌های پرورش ماهی پلنگان، سیروان، بیجار و ریجاب و همچنین مزارع ماهی مسیر رودخانه گاورود انجام شد. همچنین وجود ۲۳ فاکتور خطرساز بروز و تشدید این بیماری‌ها در این مزارع مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج: در مطالعه حاضر به ترتیب ۵۹ و ۵۱ ایزوله باکتریایی از مزارع استان‌های کردستان و کرمانشاه جداسازی شد که شامل گونه‌های *استرپتوکوکوس اینیایی*، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه*، *لاکتوکوکوس گارویه*، *یرسینیا راکری* و *ایروموناس هایدروفیلا* در مزارع هر دو استان بود. فراوانی نسبی این گونه‌ها در مزارع استان کردستان به ترتیب متعلق به گونه‌های گارویه (۲۲ درصد)، *آگالاکتیه* (۲۰/۳ درصد)، *راکری* (۱۸/۶ درصد)، *اینیایی* (۱۵/۳ درصد)، *هایدروفیلا* (۸/۵ درصد) و *دیس‌گالاکتیه* (۶/۸ درصد) و در مزارع استان کرمانشاه به ترتیب متعلق به گونه‌های *راکری* (۲۳/۵ درصد)، گارویه و *آگالاکتیه* (هر کدام ۲۱/۶ درصد)، *اینیایی* (۱۳/۷ درصد) و *دیس‌گالاکتیه* و *هایدروفیلا* (هر کدام ۵/۹ درصد) بود. به علاوه فراوانی نسبی ایزوله‌های جداسازی شده ناشناخته در مزارع استان کردستان ۸/۵ درصد و در مزارع استان کرمانشاه ۷/۸ درصد بود. به ترتیب فراوانی نسبی ۱۹ و ۱۵ عامل خطرساز در مزارع استان‌های کردستان و کرمانشاه بیشتر از ۵۰ درصد بود.

نتیجه‌گیری نهایی: یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد مزارع قزل‌آلا در این مناطق درگیر بیماری‌های باکتریایی با اهمیت اقتصادی بالا است که اتخاذ روش‌های پیشگیری از بروز آن‌ها را ضروری می‌کند.

کلمات کلیدی: آیروموناس، استرپتوکوکوس، عوامل خطرساز، قزل‌آلا، یرسینیا

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

کپی‌رایت © نویسندگان.



نویسنده مسئول: مهدی سلطانی، گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ موسسه هری باتلر، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه مرداک، استرالیا

مقدمه

براساس گزارش‌های سازمان خواربار جهانی از بین ۱۰ چالش اول و عمده توسعه پایدار صنعت آبی‌پروری جهانی، بروز و شیوع بیماری‌های عفونی همواره به‌عنوان دومین و یا سومین چالش این صنعت طی سال‌های اخیر شناخته شده است؛ بنابراین مبارزه با بیماری‌های عفونی، از جمله بیماری‌های باکتریایی با اهمیت اقتصادی در گونه‌های با ارزش اقتصادی، نظیر قزل‌آلای رنگین‌کمان از طریق روش‌های تشخیص صحیح و ارائه راهکارهای کنترلی و پیشگیری مناسب، از مهم‌ترین روش‌های جلوگیری از خسارات اقتصادی ناشی از این چالش در آبی‌پروری است. در ایران پرورش ماهیان سردآبی (قزل‌آلای رنگین‌کمان) عمدتاً به دامنه رشته‌کوه‌های زاگرس و البرز محدود بوده، جایی که منابع آبی باکیفیت و دمای مناسب برای پرورش قزل‌آلا قابل‌دسترس می‌باشد. به‌هرحال با توسعه این صنعت و افزایش تعداد مزارع ماهی در این نواحی از یک‌طرف و تغییرات آب‌وهوایی منجر به بروز خشکسالی‌ها و افزایش دما از طرف دیگر، مزارع ماهیان سردآبی کشور با چالش‌های جدیدی، از جمله بروز و شیوع برخی بیماری‌های عفونی مواجه شده است. بدیهی است شیوع بیماری‌ها، به‌ویژه با عامل باکتریایی موجب استفاده بی‌رویه از مواد شیمیایی به‌ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها توسط مزرعه‌داران ماهی شده که تخریب اکوسیستم‌های آبی را از طریق حذف و یا تغییرات وسیع در زنجیره غذایی زئوپلانکتون‌ها و فیتوپلانکتون‌های منابع آبی به دنبال دارد (۱).

به‌علاوه توسعه مقاومت آنتی‌بیوتیکی همراه با افزایش باقیمانده‌های دارویی در لاشه ماهیان بازاری و خطر انتقال عوامل بیماری‌زا از ماهیان پرورشی به انسان‌ها از دیگر پیامدهای حاصل از شیوع بیماری‌های عفونی در مزارع ماهی قزل‌آلا در این نواحی می‌باشد (۲، ۳). این چالش زمانی برجسته‌تر می‌شود که مزارع به‌صورت مجتمع و یا پشت سر هم در حاشیه رودخانه‌ها احداث شده باشند، زیرا کاهش کیفیت آب و افزایش بار آلودگی‌های شیمیایی (مانند استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها) و میکروبی و در نتیجه افزایش وجود عوامل خطر ساز (مستعدکننده) موجب افزایش بروز و تشدید بیماری‌ها می‌شود، به‌ویژه اینکه تغییرات آب‌وهوایی در جهان و از جمله در ایران به تشدید بیماری‌زایی برخی عوامل پاتوژن، به‌ویژه عوامل باکتریایی، مانند استرپتوکوکوزیس در گونه‌های حساس، نظیر تیلپیا منجر گردیده است (۴-۶). اگرچه در سال‌های گذشته مطالعاتی پیرامون برخی بیماری‌های باکتریایی در برخی مزارع قزل‌آلا در برخی استان‌ها، مانند لرستان، چهارمحال‌بختیاری و کهگیلویه‌وبویراحمد انجام شده است (۷-۱۱)، اما این مطالعات متمرکز بر ۱ یا ۲ پاتوژن خاص مانند استرپتوکوکوس/ینیایی و لاکتوکوکوس گارویه بوده و مطالعات جامعی، به‌ویژه در مجتمع‌های پرورشی انجام نشده است؛ بنابراین ضرورت انجام این نوع مطالعات فراگیر، به‌ویژه به دنبال تغییرات آب‌وهوایی سالیان اخیر، امری اجتناب‌ناپذیر است. حتی همان مطالعات قبلی هم بیانگر بروز برخی بیماری‌های عفونی با منشأ باکتریایی، مانند استرپتوکوکوزیس در برخی مزارع ماهی می‌باشد. به‌هرحال سابقه انجام این‌گونه مطالعات در مزارع استان‌های کرمانشاه و کردستان که از مهم‌ترین مناطق پرورش قزل‌آلای کشور می‌باشند، اندک است؛ به‌ویژه انجام مطالعات جامع در مجتمع‌های پرورشی استان‌های مذکور و با هدف ارائه روش‌های پیشگیری امری ضروری است. مطالعه حاضر با هدف شناسایی بیماری‌های باکتریایی با اهمیت اقتصادی در مجتمع‌های پرورش مزارع قزل‌آلای استان‌های مذکور و ارتباط آن‌ها با عوامل مستعدکننده (خطر ساز/ استرس‌زا) بروز این بیماری‌ها انجام شده است. در این راستا و با توجه به سابقه بیماری‌های باکتریایی در برخی مزارع قزل‌آلای استان‌های دیگر کشور، در مطالعه حاضر فراوانی نسبی بیماری‌های استرپتوکوکوزیس، لاکتوکوکوزیس، یرسینیوزیس و سپتی‌سمی آئروموناسی در مزارع قزل‌آلای این مناطق مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

مزارع ماهی مورد مطالعه: مزارع مورد مطالعه (مجموعاً ۲۵ مزرعه) مجتمع‌های پرورش ماهی قزل‌آلا در استان‌های کردستان، شامل مجتمع پلنگان، مجتمع سیروان، مجتمع بیجار و مجتمع پرورش ماهی ریجاب در استان کرمانشاه بودند. به‌علاوه مزارع ماهی قزل‌آلای مسیر رودخانه گاورود در استان کردستان نیز مورد مطالعه قرار گرفتند.

بازرسی کارگاهی و شناسایی عوامل خطر ساز (مستعدکننده) بروز بیماری‌های عفونی: از آنجایی که میزان بروز و شدت خسارات ناشی از بیماری‌های باکتریایی به عوامل و فاکتورهای متعددی بستگی دارد که از آن جمله می‌توان به عوامل خطر ساز (فاکتورهای مستعدکننده/ استرس‌زا) اشاره کرد، بنابراین در عملیات بازرسی کارگاهی نسبت به شناسایی و ثبت وجود فاکتورهای خطر ساز در مزارع تحت نمونه‌برداری اقدام گردید. فاکتورهای خطر ساز بدین شرح است:

۱. استفاده از رودخانه به‌عنوان منبع آب مزرعه؛ ۲. وجود دمای بالای ۱۵ درجه؛ ۳. عدم وجود اکسیژن بالای ۷ میلی‌گرم در لیتر؛ ۴. وجود مزرعه ماهی در بالادست مزرعه؛ ۵. وجود روستا در بالادست مزرعه؛ ۶. وجود فعالیت صنعتی در بالادست مزرعه؛ ۷. عدم کنترل تردد توریست و افراد به مزرعه و در بالادست مزرعه؛ ۸. عدم اعمال قرنطینه لازم؛ ۹. عدم کنترل بهداشتی ورود و خروج تخم چشم‌زده و بچه‌ماهی به مزرعه؛ ۱۰. وجود جانوران خون‌گرم مانند سگ و گربه در مزرعه؛ ۱۱. عدم کنترل بهداشتی تردد وسایل نقلیه به مزرعه؛ ۱۲. عدم جمع‌آوری بهداشتی تلفات روزانه و دفن آن‌ها؛ ۱۳. عدم واکسیناسیون؛ ۱۴. عدم به‌کارگیری پرسنل ماهر و تحصیل کرده در مزرعه؛ ۱۵. عدم رعایت بهداشت فردی توسط پرسنل مزرعه؛ ۱۶. وجود تراکم بیش‌ازحد در مزرعه؛ ۱۷. مشاهده ماهیان با علائم بالینی مانند کوری، کاتاراکت، سیاه شدن، آگزوفتالمی، زخم‌های پوستی، پوسیدگی باله و پرولاپس مخرج؛ ۱۸. استفاده از غذاهای خام؛ ۱۹. عدم نگهداری بهداشتی خوراک در مزرعه؛ ۲۰. وجود استخرهای لجن‌زار در مزرعه؛ ۲۱. استفاده مجدد از آب خروجی مزرعه (آب برگشتی)؛ ۲۲. وجود فعالیت کشاورزی در بالادست مزرعه؛ ۲۳. عدم پایش در مزرعه.

نمونه‌گیری، کشت و جداسازی گونه‌های باکتریایی: با مراجعه حضوری به مزارع ماهی و بازدید مزرعه و کسب اطلاعات مربوط به تاریخچه بیماری‌های قبلی در مزرعه از ماهیان بیمار با علائم کوری، کاتاراکت، آسیت، تغییر رنگ پوست و بی‌حالی به تعداد حداقل ۱۰ ماهی مرضی (اکثراً با وزن بالای ۵۰۰ گرم و تا ۳ کیلوگرم) به‌صورت تصادفی از هر مزرعه صید شد و در شرایط استریل از بافت کلیه قدامی یا طحال آن‌ها بر روی محیط تریپتیک سوی آگار و یا محیط ژلوز خون کشت داده شد. پلیت‌های کشت در دمای ۲۵ یا ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت نگهداری و روی پرگنه‌های رشدیافته ابتدا رنگ‌آمیزی گرم و سپس آزمایش‌های کاتالاز و اکسیداز انجام شد. از پاساژ ثانویه ایزوله‌های باکتریایی به‌دست‌آمده در محیط حاوی گلیسرول در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و برای مطالعات مولکولی و شناسایی جنس و گونه‌های باکتریایی استفاده گردید.

مطالعات مولکولی: مطالعات مولکولی به‌منظور تشخیص ایزوله‌های باکتریایی جداسازی‌شده از ماهیان بیمار به شرح زیر انجام شد:

استخراج DNA: استخراج DNA از پرگنه‌های پاساژ اول یا دوم هر ایزوله و با استفاده از کیت استخراج DNA (شرکت سینا کلون) انجام شد. کیفیت و کمیت DNAهای استخراجی با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد و اسپکتروفتومتری (Bio-Rad, Germany) انجام گردید.

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده برای تشخیص گونه‌های مورد مطالعه.

جنس/گونه باکتری	توالی پرایمر 5'-3'	دما (درجه سانتی‌گراد)	اندازه محصول (جفت باز)	منبع
استرپتوکوکوس	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG GTACCGTCACAGTATGAACTTTCC	۵۵	۵۰۰	Conra و همکاران، ۱۹۹۷ (۱۲)
استرپتوکوکوس اینیایی	GTCGTAACAAGGTAAGCCGTATCG CTTACCTTAGCCCCAGTCTAACGAC	۴۵	۵۱۴	Soltani و همکاران، ۲۰۰۵ (۱۳)
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	TTTGGTGTTCACACTAGACTG TGTGTTAATTACTCTTATGCG	۵۰	۱۲۰	Meiri-Bendek و همکاران، ۲۰۰۲ (۱۴)
استرپتوکوکوس دیس‌آگالاکتیه	TGGAACACGTTAGGGTCG CTTTTACTAGTATATCTTAACTA	۵۰	۳۰۰	Forsman و همکاران، ۱۹۹۷ (۱۵)
لاکتوکوکوس گارویه	CATAACAATGAGAATCGC GCACCTCGCGGGTTG	۵۲/۷	۱۱۰۰	Mata و همکاران، ۲۰۰۴ (۱۶)
آئروموناس	GAAAGGTTGATGCCTAATACGTA CGTGCTGGCAACAAAGGACAG	۶۰	۶۸۵	Ranjbar و همکاران، ۲۰۱۹ (۱۷)
یرسینیا راکری	CACTTAACCCCTTCCTCCTCGC AGTAATGTCTGGGGATCTGCC	۵۷	۳۴۷	Gibello و همکاران، ۱۹۹۹ (۱۸)
آئروموناس هیدروفیلا	CTCAGTCCGTGCGACCGACT GATCTCCAGCCTCAGGCCTT	۵۶	۵۰۳	Chu و همکاران، ۲۰۰۵ (۱۹)
یرسینیا	AATACCGCATAACGTCTTCG CTTCTTCTGCGAGTAACGTC	۶۲	۳۳۰	Wim و همکاران، ۲۰۰۱ (۲۰)

جدول ۲. سیکل حرارتی مورد استفاده در واکنش PCR برای تشخیص گونه‌های مورد مطالعه.

جنس/گونه باکتریایی	مرحله	تعداد دور	درجه حرارت (درجه سانتی‌گراد)	زمان
استرپتوکوکوس	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۳۰	۹۲	۱ دقیقه
	اتصال		۵۵	۱ دقیقه
	توسعه		۷۲	۱/۵ دقیقه
استرپتوکوکوس اینیایی	توسعه نهایی	۱	۷۲	۵ دقیقه
	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۳ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۳۵	۹۴	۱ دقیقه
	اتصال	۳۵	۴۵	۱ دقیقه
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	توسعه	۳۵	۷۲	۱/۵ دقیقه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۱۰ دقیقه
	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۴ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۳۰	۹۲	۳۰ ثانیه
استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه	اتصال	۳۰	۵۰	۴۰ ثانیه
	توسعه	۳۰	۷۲	۴۰ ثانیه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۵ دقیقه
	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه
لاکتوکوکوس گارویه	واسرشته‌سازی	۳۰	۹۲	۱ دقیقه
	اتصال	۳۰	۵۵	۱ دقیقه
	توسعه	۳۰	۷۲	۱/۵ دقیقه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۱/۵ دقیقه
یرسینیا	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۳۰	۹۲	۱ دقیقه
	اتصال	۳۰	۵۲/۷	۱ دقیقه
	توسعه	۳۰	۷۲	۱/۵ دقیقه
یرسینیا راکری	توسعه نهایی	۱	۷۲	۵ دقیقه
	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۳۶	۹۴	۴۵ ثانیه
	اتصال	۳۶	۶۲	۴۵ ثانیه
آئروموناس	توسعه	۳۶	۷۲	۴۵ دقیقه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۷ دقیقه
	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۴ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۲۵	۹۲	۱ دقیقه
آئروموناس هیدروفیلا	اتصال	۲۵	۵۷	۱ دقیقه
	توسعه	۲۵	۷۲	۱ دقیقه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۵ دقیقه
	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه
آئروموناس	واسرشته‌سازی	۳۰	۹۴	۴۵ ثانیه
	اتصال	۳۰	۶۰	۱ دقیقه
	توسعه	۳۰	۷۲	۱ دقیقه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۵ دقیقه
آئروموناس هیدروفیلا	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۳۰	۹۴	۲ دقیقه
	اتصال	۳۰	۵۶	۲ دقیقه
	توسعه	۳۰	۷۲	۲ دقیقه
آئروموناس	توسعه نهایی	۱	۷۲	۲ دقیقه

درمورد سیکل حرارتی استرپتوکوکوس آگالاکتیه و دیس‌گالاکتیه سیکل حرارتی و یا زمان با اصلاحات جزئی انجام شده است.

جدول ۳. فراوانی نسبی عوامل خطر ساز بیماری‌های باکتریایی در مزارع قزل‌آلای استان‌های کردستان و کرمانشاه.

شماره	فاکتور خطر ساز (عامل مستعد کننده)	فراوانی نسبی		
		استان کرمانشاه n=۹	استان کردستان n=۱۹	هر دو استان n=۲۸
۱	استفاده از رودخانه به عنوان منبع آب مزرعه	۰	۱۰۰	۶۸
۲	وجود دمای بالای ۱۵ درجه	۶۸	۶۸	۶۸
۳	وجود اکسیژن کمتر از ۷ میلی گرم در لیتر	۳۳	۲۱	۲۵
۴	وجود مزرعه ماهی در بالادست مزرعه	۱۱	۶۸	۵۰
۵	وجود روستا در بالادست مزرعه	۳۳	۶۸	۵۷
۶	وجود فعالیت کشاورزی در بالادست مزرعه	۵۶	۶۸	۶۴
۷	وجود فعالیت صنعتی در بالادست مزرعه	۰	۰	۴۶
۸	تردد توریست و افراد به مزرعه و در بالادست مزرعه	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۹	عدم مقررات قرنطینه لازم	۱۰۰	۶۸	۷۹
۱۰	عدم کنترل بهداشتی ورود و خروج تخم چشم زده و بچه ماهی به مزرعه	۱۰۰	۶۸	۷۹
۱۱	وجود جانوران خون گرم، مانند سگ و گربه در مزرعه	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۲	عدم کنترل بهداشتی تردد وسایل نقلیه به کارگاه	۸۹	۶۸	۷۵
۱۳	عدم جمع آوری بهداشتی تلفات روزانه و دفن آن‌ها	۸۹	۷۹	۸۲
۱۴	عدم واکسیناسیون	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۵	عدم به کارگیری پرسنل ماهر و تحصیل کرده در مزرعه	۸۹	۸۴	۸۹
۱۶	عدم رعایت بهداشت فردی توسط پرسنل مزرعه	۸۹	۹۰	۹۳
۱۷	وجود تراکم بیش از حد در مزرعه	۲۲	۵۸	۴۶
۱۸	وجود ماهیان بیمار با علائم بالینی (کوری، کاتاراکت، سیاه شدن، اگزوفتالمی، زخم‌های پوستی، پوسیدگی باله و پروپلاس مخرج)	۷۸	۸۴	۸۶
۱۹	استفاده از غذاهای خام	۰	۰	۰
۲۰	عدم نگهداری بهداشتی خوراک در مزرعه	۲۲	۸۴	۶۴
۲۱	وجود استخرهای لجن زار در مزرعه	۶۷	۵۳	۵۷
۲۲	استفاده مجدد از آب خروجی مزرعه (آب برگشتی)	۱۰۰	۳۲	۵۴
۲۳	عدم پایش دوره‌ای در مزرعه	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

آزمایش‌های PCR: واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (BIO-RAD, USA) با حجم کلی ۲۵ میکرولیتر انجام شد که شامل ۴ میکرولیتر DNA الگو، ۱ میکرولیتر از هریک از پرایمرهای اختصاصی طراحی شده، ۱۲/۵ میکرولیتر ماستر میکس حاوی آنزیم Taq پلیمرز، dNTPs، بافر PCR و ۶/۵ میکرولیتر آب دیونیزه بود. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده و همچنین سیکل حرارتی مورد استفاده در آزمون PCR در **جدول‌های ۱ و ۲** ارائه شده است.

الکتروفورز محصولات PCR: برای انجام الکتروفورز محصولات PCR از بافر TBE 1x و ژل آگارز ۱ درصد (محصول شرکت سیناژن) استفاده گردید. میزان ۴ میکرولیتر محلول رنگی (Gene DireX) safe stain به هر ۷۰ میلی لیتر ژل اضافه و میزان ۵ میکرولیتر از محصولات PCR به چاهک‌های ژل تهیه شده منتقل شد. در هر الکتروفورز یک نمونه کنترل مثبت و یک نمونه کنترل منفی نیز بارگذاری و از مارکر ۱۰۰ bp جفت باز (Gene DireX) استفاده شد. الکتروفورز در ولتاژ ۱۰۰ ولت تنظیم و به مدت ۶۰ دقیقه انجام شد. باندهای حاصله در ژل‌ها با استفاده از ترانس لومیناتور (BIO-RAD, USA) نمایان و با مقایسه موقعیت قطعات تکثیر شده با باندهای مارکر، اندازه محصولات PCR تعیین گردید. در مطالعه حاضر از سویه‌های *یرسینیا راکری*، *آئروموناس هیدروفیلا*، *استرپتوکوکوس اینیایی*، *استرپتوکوکوس آگلالتیکه*، *استرپتوکوکوس دیس گالاکتیکه* و *لاکتوکوکوس گاریو* موجود در بخش میکروبیولوژی آبزیان گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به عنوان نمونه‌های کنترل مثبت و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: فراوانی نسبی گونه‌های باکتریایی جداسازی شده و نیز فراوانی نسبی فاکتورهای خطر ساز در مزارع هر استان با استفاده از فرمول شماره ۱ تعیین گردید.

۱. فراوانی نسبی = فراوانی گونه باکتریایی جداسازی شده ÷ جمع فراوانی گونه‌های باکتریایی جداسازی شده $\times 100$

جدول ۴. گونه‌های باکتریایی شناسایی شده عامل بیماری در مزارع قزل‌آلای تحت مطالعه در استان‌های کردستان و کرمانشاه.

استان	منطقه تحت مطالعه	گونه باکتریایی						جمع گونه باکتریایی
		۱	۲	۳	۴	۵	۶	
کردستان	مجتمع بیجار	+	+	-	+	+	+	۵
	مجتمع پلنگان	+	+	+	+	+	-	۵
	مجتمع سیروان	-	+	-	-	+	-	۲
	مسیر رودخانه گاورد - مزرعه بالادست	-	-	-	+	+	-	۲
	مسیر رودخانه گاورد - مزرعه میانی	-	+	-	+	-	+	۳
	مسیر رودخانه گاورد - مزرعه پایین‌دست	+	-	+	+	-	-	۳
	مجتمع ریجاب مزرعه بالادست	+	+	-	-	-	-	۲
	مجتمع ریجاب مزرعه بالادست	+	+	-	+	-	-	۳
	مجتمع ریجاب مزارع میانی	+	+	-	+	+	-	۴
	مجتمع ریجاب مزارع میانی	-	+	-	+	+	-	۳
کرمانشاه	مجتمع ریجاب مزارع پایین‌دست	+	-	+	-	+	+	۴
	مجتمع ریجاب مزارع پایین‌دست	+	-	+	-	+	+	۴

۱. استرپتوکوکوس اینیایی ۲. استرپتوکوکوس آگالاکتیه ۳. استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه ۴. لاکتوکوکوس گارویه ۵. یرسینیا راکری ۶. آیروموناس هایدروفیلا. + مثبت، - منفی.

جدول ۵. فراوانی نسبی گونه‌های باکتریایی جداسازی شده از مزارع قزل‌آلای استان‌های کردستان و کرمانشاه.

گونه پاتوژن		تعداد (درصد)	
کردستان (n=۵۹)	کرمانشاه (n=۵۱)	هر دو استان (n=۱۱۰)	
استرپتوکوکوس اینیایی	۹ (۱۵/۳)	۷ (۱۳/۷)	۱۶ (۱۴/۶)
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	۱۲ (۲۰/۳)	۱۱ (۲۱/۶)	۲۳ (۲۰/۹)
استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه	۴ (۶/۸)	۳ (۵/۹)	۷ (۶/۴)
لاکتوکوکوس گارویه	۱۳ (۲۲)	۱۱ (۲۱/۶)	۲۴ (۲۱/۸)
یرسینیا راکری	۱۱ (۱۸/۶)	۱۲ (۲۳/۵)	۲۳ (۲۰/۹)
آیروموناس هایدروفیلا	۵ (۸/۵)	۳ (۵/۹)	۸ (۷/۳)
ناشناخته	۵ (۸/۵)	۴ (۷/۸)	۹ (۸/۲)
جمع	۵۹ (۱۰۰)	۵۱ (۱۰۰)	۱۱۰ (۱۰۰)

نتایج

فاکتورهای خطر ساز (مستعدکننده) بروز و تشدید بیماری‌های تحت مطالعه: باتوجه به نقش عوامل استرس‌زای محیطی و مدیریتی

و نیز کیفیت منابع آب مورد استفاده در بروز بیماری‌های باکتریایی وجود و یا عدم وجود تعداد ۲۳ فاکتور خطر ساز (مستعدکننده) بروز بیماری‌های باکتریایی در بازرسی‌های مزارع ثبت گردید و فراوانی نسبی این فاکتورها در مزارع استان‌های مورد مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است، به‌طوری که به ترتیب فراوانی نسبی ۱۵ و ۱۹ عامل خطر ساز در مزارع استان‌های کرمانشاه و کردستان بیشتر از ۵۰ درصد و ۱۱ و ۸ عامل خطر ساز در مزارع هر استان بیش از ۸۰ درصد می‌باشد.

یافته‌های بالینی: علائم بالینی ماهیان بیمار مورد نمونه برداری شامل تیرگی پوست، کاتاراکت، کوری، اگزوفتالمی دوطرفه همراه با

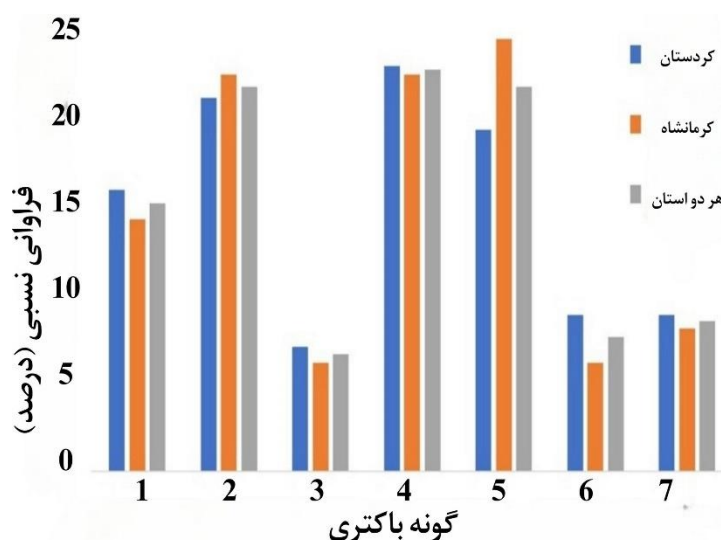
پرخونی و خونریزی در چشم‌ها، پرولاپس مخرج همراه با پرخونی، پرخونی و خونریزی در باله‌ها، کاهش تحرک و عدم اشتها بود (تصویر ۱).

نتایج کشت و جداسازی پاتوژن‌های باکتریایی: در رنگ‌آمیزی گرم از پرگنه‌های رشد یافته ۵۹ نمونه ماهی بیمار اخذ شده از مزارع

استان کردستان، ۳۸ ایزوله باکتریایی گرم مثبت، ۱۶ ایزوله گرم منفی و ۵ ایزوله مخلوط گرم مثبت و گرم منفی یا مخلوط گرم منفی از ماهیان بیمار جداسازی گردید. از ۵۱ نمونه ماهی بیمار اخذ شده از مزارع استان کرمانشاه ۳۲ ایزوله باکتریایی گرم مثبت، ۱۵ ایزوله گرم منفی و ۴ ایزوله مخلوط گرم مثبت و گرم منفی یا مخلوط گرم منفی جداسازی شد.



تصویر ۱. برخی علائم بالینی در ماهیان قزل‌آلای مرضی مزارع استان‌های کردستان و کرمانشاه. ۱.۱. اگزوفتالمی دوطرفه همراه با پرخونی و خونریزی در چشم‌ها و تیرگی پوست. ۲.۱. کاتارکت همراه با خونریزی در چشم. ۳.۱. همورازی ناحیه شکمی. ۴.۱. پرولاپس مخرج همراه با پرخونی و خونریزی در باله‌های شکمی.

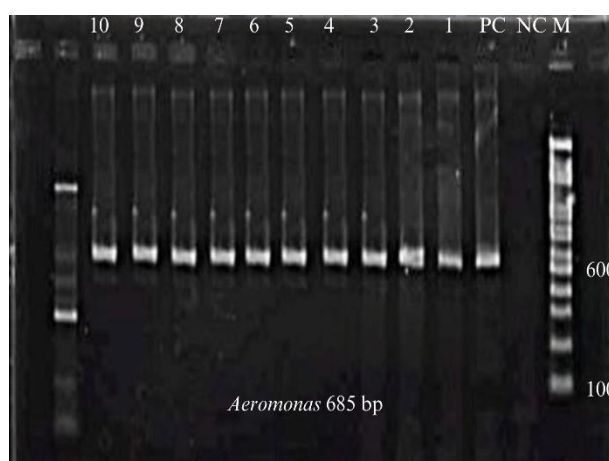


تصویر ۲. میزان فراوانی نسبی گونه‌های باکتریایی شناسایی شده در مزارع استان‌های کردستان و کرمانشاه. ۱. استرپتوکوکوس اینیایی. ۲. استرپتوکوکوس آگالاکتیه. ۳. استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه. ۴. لاکتوکوکوس گارویه. ۵. یرسینیا راکری. ۶. آیروموناس هایدروفیلا. ۷. ایزوله‌های ناشناخته.

یافته‌های مولکولی: نتایج یافته‌های مولکولی مربوط به نمونه‌های ماهیان بیمار در مزارع قزل‌آلای هر دو استان در جدول ۴ و تصویر ۲ قابل مشاهده است. در مطالعه حاضر ۶ باکتری، شامل گونه‌های استرپتوکوکوس اینیایی، استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه، لاکتوکوکوس گارویه، یرسینیا راکری و آیروموناس هایدروفیلا از ماهیان مرضی در مزارع ماهی هر دو استان جداسازی و شناسایی شد. به علاوه تعداد و فراوانی نسبی موارد جداسازی هریک از گونه‌های باکتریایی مذکور به تفکیک استان و گونه باکتریایی در جدول ۵ بیان شده است. براین اساس بیشترین فراوانی نسبی موارد جداسازی هریک از گونه‌های پاتوژن مذکور در مزارع استان کردستان به ترتیب متعلق به گونه‌های لاکتوکوکوس گارویه (۲۲ درصد)، استرپتوکوکوس آگالاکتیه (۳/۲۰ درصد)، یرسینیا راکری (۶/۱۸ درصد)، استرپتوکوکوس اینیایی (۳/۱۵ درصد)، آیروموناس هایدروفیلا (۵/۸ درصد) و استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه (۸/۶ درصد) بود. همچنین این فراوانی نسبی در مزارع کرمانشاه به ترتیب مربوط به گونه‌های یرسینیا راکری (۵/۲۳ درصد)، گونه‌های لاکتوکوکوس گارویه و استرپتوکوکوس آگالاکتیه (هرکدام ۶/۲۱ درصد)، استرپتوکوکوس اینیایی (۷/۱۳ درصد) و گونه‌های استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه و آیروموناس هایدروفیلا (هرکدام ۹/۵ درصد) بود. همچنین فراوانی نسبی ایزوله‌های جداسازی شده ناشناخته در مزارع کردستان ۵/۸ درصد و در مزارع استان کرمانشاه ۸/۷ درصد بود. نمونه ژل‌های محصول PCR مربوط به تعدادی از ایزوله‌های گونه‌های باکتریایی شناسایی شده در مزارع دو استان در تصاویر ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰ و ۱۱ نشان داده شده است.



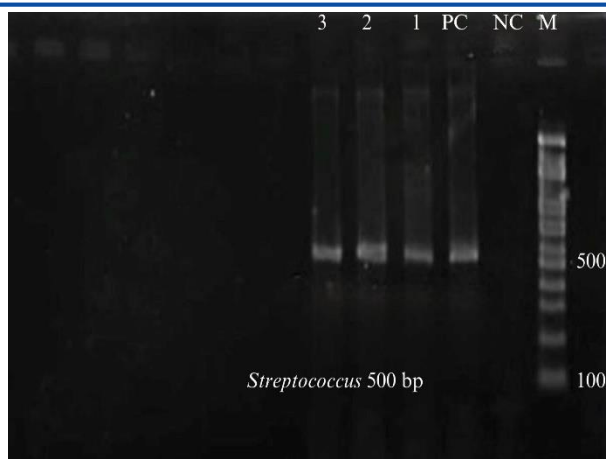
تصویر ۳. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های *یرسینیا*. M = مارکر، PC = کنترل مثبت، NC = کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۱۲ ایزوله‌های *یرسینیا* راکری به دست آمده از ماهیان مرضی.



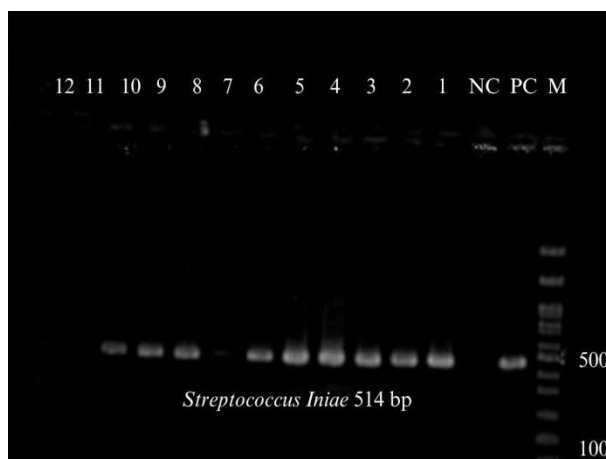
تصویر ۴. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های *آئروموناس*. M = مارکر، PC = کنترل مثبت، NC = کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۱۰ ایزوله‌های *آئروموناس* راکری به دست آمده از ماهیان مرضی.

بحث

یافته‌های بالینی مطالعه حاضر نشان داد وجود ماهیان بیمار و با علائم بالینی، به‌ویژه اگزوفتالمی دوطرفه همراه با پرخونی و یا خونریزی در چشم‌ها، کاتاراکت، پرولاپس مخرج همراه با پرخونی و یا خونریزی، تیرگی پوست و کاهش تحرک در مزارع قزل‌آلای هر دو استان قابل توجه بود. همچنین در مطالعه حاضر ۱۱۰ ایزوله باکتریایی، از جمله ۷۰ ایزوله گرم مثبت و ۳۱ ایزوله گرم منفی از مزارع ۲ استان جداسازی شد که در مطالعات PCR مشخص شد نمونه‌های اخذشده مربوط به جنس‌های *استرپتوکوکوس*، *لاکتوکوکوس*، *یرسینیا* و *آیروموناس* می‌باشند. گونه‌های باکتریایی شناسایی شده در این جنس‌ها شامل *استرپتوکوکوس اینیایی*، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه*، *لاکتوکوکوس گارویه*، *یرسینیا راکری* و *آیروموناس هایدروفیلا* بودند. علاوه بر این برخی ایزوله‌های گرم مثبت و گرم منفی جداسازی شد که نیازمند مطالعات آتی شناسایی در سطح جنس و گونه می‌باشند؛ بنابراین با توجه به یافته‌های مطالعات قبلی در مزارع قزل‌آلای سایر مناطق کشور (۱۰، ۱۱، ۲۱، ۲۲)، یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد همچنان گونه‌های *استرپتوکوکوس اینیایی*، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *لاکتوکوکوس گارویه* و *یرسینیا راکری* از عوامل عمده بروز بیماری‌های باکتریایی در مزارع قزل‌آلای ایران، از جمله مزارع استان‌های مورد مطالعه می‌باشند.



تصویر ۵. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های استرپتوکوکوس. M = مارکر، PC = کنترل مثبت، NC = کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۳ ایزوله‌های به‌دست‌آمده از ماهیان مرضی.



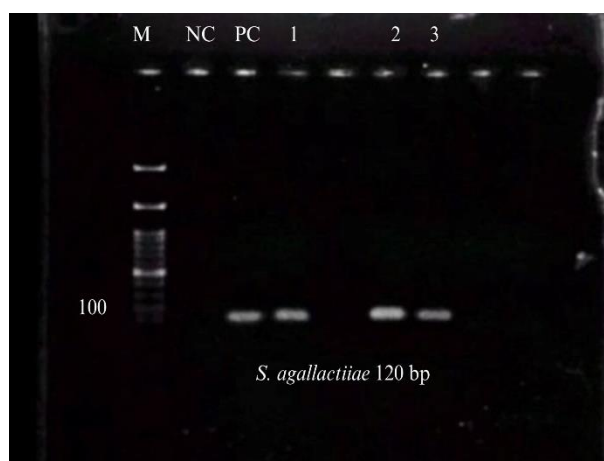
تصویر ۶. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های استرپتوکوکوس اینیایی. M = مارکر، PC = کنترل مثبت، NC = کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۱۰ ایزوله‌های به‌دست‌آمده از ماهیان مرضی.

همچنین موارد جداسازی *ایروموناس هایدروفیلا* از ماهیان مرضی در مطالعه حاضر بیانگر نقش عوامل استرس‌زا در این مزارع می‌باشد که موجب بیماری‌زا شدن این پاتوژن ثانویه می‌شود (۲۳، ۲۴)؛ بنابراین جداسازی و شناسایی گونه‌های متعدد باکتریایی مذکور و موارد فراوانی نسبی جداسازی آن‌ها از ماهیان مرضی مزارع قزل‌آلای این استان‌ها بیانگر تنوع بالای شیوع بیماری‌های باکتریایی با اهمیت اقتصادی، شامل استرپتوکوکوزیس، لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس در این مزارع می‌باشد. به‌علاوه فراوانی نسبی موارد جداسازی هریک از گونه‌های پاتوژن مذکور در مزارع هر دو استان تقریباً مشابه بوده و بیشترین فراوانی نسبی مربوط به گونه‌های لاکتوکوکوس گارویه، استرپتوکوکوس آگلالتیه، یرسینیا راکری و استرپتوکوکوس اینیایی می‌باشد. همچنین یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد احتمال بروز چند بیماری باکتریایی در یک مزرعه یا یک مجتمع پرورشی وجود دارد. به‌علاوه از برخی ماهیان مرضی بیش از ۱ گونه باکتری بیماری‌زا جداسازی شد که بیانگر شدت ابتلا و درگیری ماهیان به عفونت‌های متعدد در یک مقطع زمانی است؛ بنابراین علاوه بر تنوع بیماری‌های باکتریایی با عوامل متعدد نظیر استرپتوکوکوزیس با عوامل آگلالتیه، اینیایی و دیس گالاتیه در یک مزرعه یا مجتمع پرورشی، تنوع عفونت‌های هم‌زمان در یک ماهی بیمار نشان‌دهنده مدیریت ضعیف بهداشتی مزارع پرورشی می‌باشد. علت یا علل تنوع بیماری‌های مذکور و نیز شدت آن‌ها در مزارع متنوع بوده و از آن جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد.

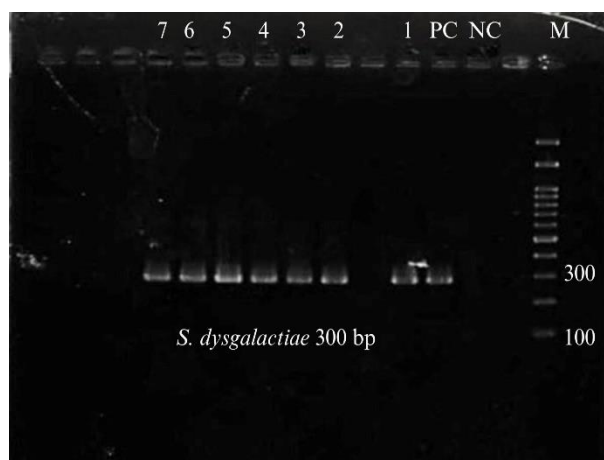
منابع اولیه پاتوژن‌های جداسازی‌شده در طبیعت متنوع بوده و شامل انواع متنوعی از جانوران خونگرم و ماهیان می‌باشد (۲۵) که می‌توانند به‌راحتی از طریق فاضلاب‌های کشاورزی، دامی و انسانی و نیز پساب مزارع بالادست به مزارع پایین‌دست ماهی راه یابند. به‌علاوه برخی از این پاتوژن‌ها، به‌ویژه گونه‌های *ایروموناس هایدروفیلا* و *یرسینا راکری* به‌عنوان بخشی از فلور میکروبی روده ماهیان بوده و به

دنبال شرایط استرس‌زا حداثه شده و موجب بروز تلفات می‌شوند. علاوه بر این پاتوژن‌ها، مانند گونه‌های/استرپتوکوکوس و لاکتوکوکوس جداسازی شده در مطالعه حاضر به شرایط تغییرات محیطی، مانند نوسانات درجه حرارت و شوری مقاوم بوده، بنابراین می‌توانند برای مدت طولانی در ستون آب و لجن‌زارهای استخرهای پرورشی زنده بمانند و به دنبال ایجاد شرایط استرس‌زا (عوامل خطر ساز) تکثیر و موجب بروز بیماری و تلفات قابل توجه شوند (۶، ۲۶).

در مطالعه Liao و همکاران در سال ۲۰۲۰ که در یک دوره ۱۰ ساله به بررسی نقش رابطه بین فاکتورهای تغییرات آب‌وهوایی با بروز استرپتوکوکوزیس در ماهی تیلپیا پرداختند، نشان داده شد تغییرات درجه حرارت و افزایش اشعه ماورای بنفش و باران‌های موسمی در تشدید استرپتوکوکوزیس در ماهی تیلپیا نقش مؤثری دارند (۴). همچنین در یک مطالعه ۵ ساله که Truong و همکاران در سال ۲۰۲۱ بر روی تأثیر فاکتورهای خطر ساز در بروز استرپتوکوکوزیس در ماهی تیلپیا انجام دادند، نشان داده شد عوامل متعددی، همانند افزایش گازهای سمی نیتريت، آمونیاک، سولفید هیدروژن و نوسانات دمای آب در تشدید بیماری مؤثر می‌باشند (۲۷). در مطالعه Reyes و همکاران در سال ۲۰۲۱ علاوه بر افزایش درجه حرارت آب به عنوان مهم‌ترین فاکتور خطر ساز در بروز استرپتوکوکوزیس در ماهی تیلپیا فاکتورهای دیگری، مانند تراکم بالا، عملیات دستکاری و جابه‌جایی ماهیان، pH قلیایی، کاهش اکسیژن آب و افزایش فسفر آب نیز به عنوان عوامل خطر ساز در بروز و تشدید این بیماری معرفی شده‌اند (۵).



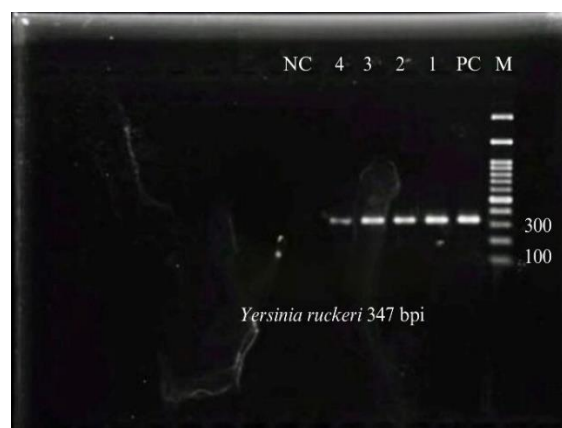
تصویر ۷. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های استرپتوکوکوس/گالاکتیه. M=مارکر، PC=کنترل مثبت، NC=کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۶ ایزوله‌های به‌دست‌آمده از ماهیان مرضی.



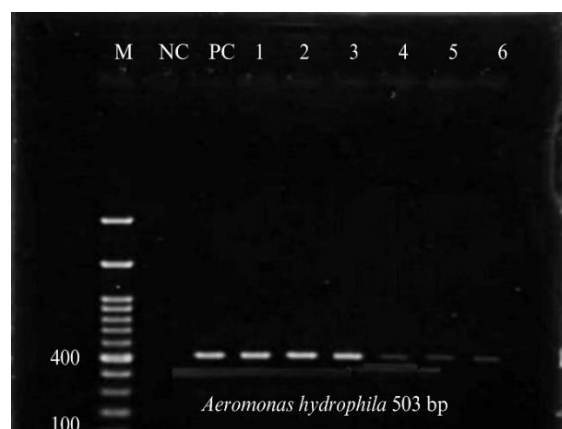
تصویر ۸. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه. M=مارکر، PC=کنترل مثبت، NC=کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۳ ایزوله‌های به‌دست‌آمده از ماهیان مرضی.



تصویر ۹. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های لاکتوکوکوس گاریو. M= مارکر، PC= کنترل مثبت، NC= کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۱۲ ایزوله‌های به‌دست‌آمده از ماهیان مرضی.



تصویر ۱۰. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های یرسینیا راکری. M= مارکر، PC= کنترل مثبت، NC= کنترل منفی نمونه‌های ۱ الی ۴ ایزوله‌های یرسینیا راکری به‌دست‌آمده از ماهیان مرضی.



تصویر ۱۱. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های آئروموناس هیدروفیلا. M= مارکر، PC= کنترل مثبت، NC= کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۶ ایزوله‌های به‌دست‌آمده از ماهیان مرضی.

علاوه بر عوامل مذکور حضور عوامل مستعدکننده یا خطر ساز متعددی در بروز و تشدید بیماری‌های باکتریایی، از جمله پاتوژن‌های جداسازی شده در مطالعه حاضر نقش دارند که فراوانی نسبی این فاکتورها در **جدول ۱** نشان داده شده است. فراوانی نسبی وجود ۱۵ و ۱۹ عامل خطر ساز در مزارع استان‌های کرمانشاه و کردستان بیشتر از ۵۰ درصد و فراوانی نسبی وجود ۱۱ و ۸ عامل خطر ساز در مزارع این دو استان بیش از ۸۰ درصد می‌باشد؛ بنابراین وجود عوامل مستعدکننده و خطر ساز بروز این بیماری‌ها به میزان بالا در مزارع تحت

مطالعه، از جمله علل تشدید و نیز تنوع بالای این بیماری‌ها در این مزارع می‌باشد. از جمله این فاکتورهای خطر ساز می‌توان به کاهش اکسیژن و افزایش دمای آب مزارع (بالاتر از ۱۵ درجه) در اواخر بهار و در ایام تابستان اشاره کرد که از یک طرف موجب تسریع در تکثیر این عوامل پاتوژن باکتریایی شده و از طرف دیگر زمینه ایجاد استرس در ماهی قزل‌آلا را فراهم می‌آورد و در نتیجه به بروز و تشدید این بیماری‌ها کمک می‌کند. به علاوه عوامل خطر ساز دیگری، مانند وجود مزارع ماهی و فعالیت کشاورزی و نیز فعالیت‌های انسانی (توریست و روستا) در بالادست و یا در جوار این مزارع موجب افزایش بار آلودگی میکروبی، از جمله عوامل این بیماری‌ها در منابع آبی مزارع ماهی شده و در نتیجه موجب سرایت عوامل باکتریایی مذکور به مزارع می‌شوند. برای مثال در مجتمع پالنگان و ریجاب صاحبان مزارع خرد در جوار استخرهای خود ساکن می‌باشند و همچنین در فصول بهار و تابستان حضور و تردد توریست در بالادست منابع آبی این مجتمع‌ها و حتی در داخل مزارع به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد. این در حالی است که هیچ‌گونه امکانات بهداشتی مانند سرویس‌های بهداشتی برای جلوگیری از آلوده شدن منابع آبی این مزارع وجود ندارد. همچنین از آنجایی که صاحبان مزارع و یا کارکنان آن‌ها از تحصیلات لازم مرتبط با بهداشت آبزیان برخوردار نمی‌باشند، عدم رعایت بهداشت مزرعه و بهداشت فردی خود موجب تشدید این بیماری‌ها در این مزارع می‌شود. در مطالعه‌ای Soltani و همکاران در سال‌های ۲۰۱۳ و ۲۰۱۵، حضور برخی از عوامل مستعدکننده (خطر ساز) مذکور در بروز و تشدید بیماری‌های استرپتوکوکوزیس با عامل /سترپتوکوکوس/ینیایی و لاکتوکوکوزیس با عامل لاکتوکوکوس گارویه در برخی مزارع قزل‌آلای استان‌های لرستان، چهارمحال و بختیاری و کهگیلویه و بویر احمد نیز قابل توجه بوده و رابطه مستقیمی با بروز و تشدید این بیماری‌ها داشته است (۷، ۸).

همچنین در مطالعه Zorriehzahra و همکاران در سال ۲۰۱۷ افزایش نیتريت در مزارع قزل‌آلای مبتلا به یرسینوز در آذربایجان غربی به عنوان فاکتور خطر ساز گزارش شده است (۱۰). به علاوه از آنجایی که برخی عوامل تشدیدکننده (استرس زا) در اکثر مزارع ماهی وجود دارد و از طرفی با بروز این بیماری‌ها مزرعه داران اقدام به استفاده از انواع داروها، از جمله آنتی بیوتیک‌ها می‌کنند، این نوع مدیریت‌های غیربهداشتی خود موجب تشدید این بیماری‌ها و در نتیجه افزایش تلفات می‌شود.

در خصوص ارزیابی میزان خسارات اقتصادی وارده ناشی از این بیماری‌ها در این مزارع ماهی اطلاعات دقیقی در دسترس نمی‌باشد. با وجود این باتوجه به درجه حدت عوامل بیماری‌زای شناسایی شده و نقش عوامل استرس‌زای تشدیدکننده تلفات، به نظر می‌رسد این بیماری‌ها حداقل موجب خساراتی بالغ بر ۳۵ درصد در سال می‌شوند، زیرا میزان تلفات ناشی از هر کدام از این بیماری‌ها در ماهی قزل‌آلا در دامنه ۵ تا ۷۰ درصد گزارش شده است. برای مثال میزان تقریبی خسارت اقتصادی ناشی از بیماری‌های استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس در مزارع قزل‌آلای ایران ۲۳ میلیون دلار برآورد شده است (۲۱، ۲۲). همچنین از آنجایی که بروز این بیماری‌ها، به ویژه بیماری‌های استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس عمدتاً در ماهیان با وزن بازاری موجب تلفات می‌شود، در اکثر موارد نمونه‌های ماهیان مرضی اخذ شده از وزن بالای ۵۰۰ گرم و تا ۳ کیلوگرم برخوردار بودند که بیانگر اهمیت خسارت اقتصادی وارده ناشی از این بیماری‌ها می‌باشد. به علاوه از آنجایی که برخی از این بیماری‌ها مانند استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس به علت مکانیسم‌های بیماری‌زایی، مانند برخورداری از کپسول یا گلیکوکالیکس و ایجاد واکنش‌های گرانولوماتوز در بافت‌های ماهیان حساس، مانند قزل‌آلا به خوبی به درمان پاسخ نمی‌دهند، درمان‌های آن‌ها موقتی بوده که این امر خود موجب تحمیل هزینه‌های بالای دارودرمانی به مزرعه داران می‌شود؛ بنابراین علاوه بر خسارات مستقیم ناشی از تلفات، هزینه‌های درمانی این بیماری‌ها نیز قابل توجه می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی: در جمع‌بندی کلی باتوجه به شدت و تنوع بیماری‌های باکتریایی شناسایی شده در مزارع قزل‌آلای استان‌های مورد مطالعه ضروری است سازمان‌های متولی، مانند سازمان دامپزشکی نسبت به اجرای برنامه‌های مستمر مبارزه و پیشگیری، مانند واکسیناسیون علیه این بیماری‌ها، به ویژه یرسینوزیس، لاکتوکوکوزیس و استرپتوکوکوزیس اقدام کنند، زیرا امروزه و باتوجه به اپیدمیولوژی این بیماری‌ها، مانند تنوع بالای مخازن این پاتوژن‌ها و عدم درمان‌های موفق علیه آن‌ها و نیز باتوجه به ضرورت حفظ محیط زیست و پیشگیری از تکرار دارودرمانی در منابع آبی، اعمال روش‌های پیشگیری، مانند واکسیناسیون به عنوان روشی مؤثر، ارزان و سازگار با محیط زیست برای پیشگیری از بروز این بیماری‌ها می‌باشد. به علاوه درمان منابع آبی مورد استفاده در مزارع ماهی، به ویژه با استفاده از روش‌های مطمئن و مقرون به صرفه، مانند اوزن‌تراپی (۲۸) می‌تواند از طریق کاهش بار میکروبی منابع آبی مورد استفاده مزارع ماهی تا حد قابل توجهی

به کاهش اثر عوامل خطر ساز و در نتیجه کنترل این بیماری‌ها در مزارع کمک کند. همچنین استفاده از محرک ایمنی مانند بتاگلوکان‌ها و پروبیوتیک‌های بومی (اندوزنوس) می‌تواند از تشدید این بیماری‌ها و تلفات حاصله جلوگیری کند (۲۹-۳۱).

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر براساس کد اخلاق IR.VT.VETMED.REC.1403.56 در کمیته اخلاق دانشگاه تهران انجام شده است.

سپاسگزاری

نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از کارشناسان دامپزشکی استان‌های کردستان و کرمانشاه بویژه آقایان دکتر زندی، دکتر زیباکردار، دکتر حیدری، دکتر قریشی و همچنین دکتر امین رستمی کارشناس آزمایشگاه میکروبیولوژی آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران اعلام می‌دارند. مطالعه حاضر در قالب طرح تحقیقاتی کاربردی به شماره قرارداد ۲۰/۷۰۳۵ فی مابین سازمان دامپزشکی و دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و با حمایت مالی سازمان دامپزشکی کشور انجام شده است.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافی در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

References

- Cherian T, Ragavendran C, Vijayan S, Kurien S, Peijnenburg WJGM. A review on the fate, human health and environmental impacts, as well as regulation of antibiotics used in aquaculture. *Environ Adv*. 2023;13(9):100411. doi: 10.1016/j.envadv.2023.100411
- Santos L, Ramos F. Antimicrobial resistance in aquaculture: current knowledge and alternatives to tackle the problem. *Int J Antimicrob Agents*. 2018;52(2):135-143. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.03.010 PMID: 29567094
- Fariás DR, Ibarra R, Estévez RA, Tlustý MF, Nyberg O, Troell M, et al. Towards sustainable antibiotic use in aquaculture and antimicrobial resistance: participatory experts' overview and recommendations. *Antibiotics* 2024;13(9):887. doi: 10.3390/antibiotics13090887
- Liao PC, Tsai YL, Chen YC, Wang PC, Shu-Chu Liu SC, Chen SC. Analysis of streptococcal infection and correlation with climatic factors in cultured *Tilapia Oreochromis spp.* in Taiwan. *Appl Sci*. 2020;10(11):2076–3417. doi: 10.3390/app10114018
- Reyes AT, Raymundo AK, Baldrias LR, Paller VG, Dalmacio IF. Occurrence of *Streptococcus spp.* on farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in Lubao, Pampanga, Philippines. *Int J Agri Tech*. 2021;17(3):1041-1060.
- Juárez-Cortés MZ, Vázquez LEC, Díaz SFM, Félix CSC. *Streptococcus iniae* in aquaculture: a review of pathogenesis, virulence, and antibiotic resistance. *Int J Vet Sci Med*. 2024;13(12):25-38. doi: 10.1080/23144599.2024.2348408 PMID: 38751408
- Soltani M, Pirali Kheirabadi A, Taherimirkahed E, Shafie SH, Mohamadian S, Roholahi SH. Molecular study of streptococcosis/lactococcosis distribution in farmed rainbow trout in Charmahal–va-Bakhteyari and Kohgiluyeh-va-Boyerahmad provinces, Iran. *Iran J Epid*. 2013;9(2):59-68. (In Persian).
- Soltani M, Pirali KE, Taheri MA, Zargar A, Mohamadian S. Study on streptococcosis and lactococcosis outbreaks in rainbow trout farms in Fars and Lorestan provinces. *J Vet Microbiol*. 2015;11(1):49-58. (In Persian).
- Salighehzadeh R, Sharifiyazdi H, Akhlaghi M, Soltanian S. Serotypes, virulence genes and polymorphism of capsule gene cluster in *Lactococcus garvieae* isolated from diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and mugger crocodile (*Crocodylus palustris*) in Iran. *Iran J Vet Res*. 2020;21(1):26-32. PMID: 32368222
- Zorriehzadra SJ, Kakooolaki S, Adel M, Amirikar M, Behboudi N, Motallebi AA, et al. Epidemiologic study on enteric redmouth disease in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured farms in West Azerbaijan province and relation this disease with environmental parameters (In Persian). *Iran Sci Fish J*. 2017;25(5):31-41.
- Haghighi Karsidani S, Soltani M, NikbakhatBrojeni G, Ghasemi M, Skall HF. Molecular epidemiology of zoonotic streptococcosis/lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) aquaculture in Iran. *Iran J Microbiol*. 2010;2(4):198-209. (In Persian). PMID: 22347573

12. Conrads G, Gharbia SE, Gulabivala K, Lampert F, Shah H N. The use of a 16S rDNA directed PCR for the detection of endodontopathogenic bacteria. J Endodont. 1997;23(7):433-438. [doi: 10.1016/S0099-2399\(97\)80297-X](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(97)80297-X) PMID: 9587296
13. Soltani M, Jamshidi Sh, Sharifpour I. Streptococcosis caused by *Streptococcus iniae* in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran: biophysical characteristics and pathogenesis, Bull Eur Ass Fish Patholo. 2005;25(3):95-106.
14. Meiri-Bendek I, Lipkin E, Friedmann A, Leitner G, Saran A, Friedman S, et al. A PCR-based method for the detection of *Streptococcus agalactiae* in milk. J Dairy Sci. 2002;85(7):1717-1723. [doi: 10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74245-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74245-8) PMID: 12201522
15. Forsman P, Tilsaia-Timisjrvi A, Alatossava T. Identification of staphylococcal and streptococcal causes of bovine mastitis using 16S-23S rRNA spacer regions. Microbiol. 1997;143(11):3491-3500. [doi: 10.1099/00221287-143-11-3491](https://doi.org/10.1099/00221287-143-11-3491) PMID: 9387227
16. Mata AI, Blanco MM, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF, Gibello A. Development of a PCR assay for *Streptococcus iniae* based on the lactate oxidase (lctO) gene with potential diagnostic value. Vet Microbiol. 2004;101(2):109-16. [doi: 10.1016/j.vetmic.2004.03.012](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.03.012) PMID: 15172693
17. Ranjbar R, Salighehzadeh R, Sharifiyazdi H. Antimicrobial resistance and incidence of integrons in *Aeromonas* species isolated from diseased freshwater animals and water samples in Iran. Antibiotics. 2019;8(4):198. [doi: 10.3390/antibiotics8040198](https://doi.org/10.3390/antibiotics8040198) PMID: 31661794
18. Gibello A, Blanco MM, Moreno MA, Cutuli MT, Domenech A, Domínguez L, et al. Development of a PCR assay for detection of *Yersinia ruckeri* in tissues of inoculated and naturally infected trout. Appl Environ Microbiol. 1999;65(1):346-50. [doi: 10.1128/AEM.65.1.346-350.1999](https://doi.org/10.1128/AEM.65.1.346-350.1999) PMID: 9872807
19. Chu WH, Lu CP. Multiplex PCR assay for the detection of pathogenic *Aeromonas hydrophila*. J Fish Dis. 2005;28(7):437-41. [doi: 10.1111/j.1365-2761.2005.00628.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2005.00628.x) PMID: 16083449
20. Wim J, Wannet B, Reessink M, Brunings H, Henny Maas M E. Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* by a rapid and sensitive duplex PCR assay. J Clin Microbiol. 2001;39(12):4483-4486. [doi: 10.1128/JCM.39.12.4483-4486.2001](https://doi.org/10.1128/JCM.39.12.4483-4486.2001) PMID: 11724866
21. Doan VH, Soltani M, Leitão A, Shafiei S, Asadi S, Lymbery AJ, et al. Streptococcosis a re-emerging disease in aquaculture: significance and phytotherapy. Animals. 2022;12(18):2443. [doi: 10.3390/ani12182443](https://doi.org/10.3390/ani12182443) PMID: 36139303
22. Soltani M, Baldissarroto B, Hosseini Shekarabi SP, Shafiei S, Bashiri M. Lactococcosis re-emerging disease in aquaculture: disease significant and phytotherapy. Vet Sci. 2021;8(9):181. [doi: 10.3390/vetsci8090181](https://doi.org/10.3390/vetsci8090181) PMID: 344564575
23. Moya-Salazar J, Díaz CR, Cañari B, Badillo RX, Verano-Zelada M, Chicoma-Flores K, et al. Detection of pathogenic *Aeromonas hydrophila* from two rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Peru. Braz J Vet Med. 2022;744:e000922. [doi: 10.29374/2527-2179.bjvm000922](https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm000922) PMID: 36523569
24. Topić Popovic N, Teskeredžić E, Strunjak-Perović I, Čož-Rakovac R. *Aeromonas hydrophila* isolated from wild freshwater fish in Croatia. Vet Res Comm. 2000;24(6):371-377. [doi: 10.1023/A:1006418116155](https://doi.org/10.1023/A:1006418116155) PMID: 11014606
25. Mishra A, Nam GH, Gim JA, Lee HE, Jo A, Kim HS. Current challenges of *Streptococcus* infection and effective molecular, cellular, and environmental control methods in aquaculture. Mol Cells. 2108;41(6):495-505. [doi: 10.14348/molcells.2018.2154](https://doi.org/10.14348/molcells.2018.2154) PMID: 29754470
26. Agnew W, Barnes AC. *Streptococcus iniae*: an aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination. Vet Microbiol. 2007;122(1-2):1-15. [doi: 10.1016/j.vetmic.2007.03.002](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.03.002) PMID: 17418985
27. Truong TMH, Phan TV, Le TM, Nguyen HN, Vo VN, Nguyen DXQ, Dang TL. The risk factors related to the occurrence of streptococcosis disease in cultured freshwater aquaculture. Khoa Học Nông Nghiệp. 2021;63(7):42-47. [doi: 10.31276/VJST.63\(7\).42-47](https://doi.org/10.31276/VJST.63(7).42-47)
28. Powell A, Scolding JWS. Direct application of ozone in aquaculture systems. Rev Aquacult. 2016;0,1-15. [doi: 10.1111/raq.12169](https://doi.org/10.1111/raq.12169)
29. Soltani M, Ghosh K, Dutta D, Ringø E. Prebiotics and probiotics as affective immunomodulators in aquaculture. In: Elumalai P, Soltani M, Lakshmi S. editors. 1st ed. Immunomodulators in Aquaculture and Fish Health. Taylor and Francis. London, UK. p.136-168. [doi: 10.1201/9781003361183-13](https://doi.org/10.1201/9781003361183-13)
30. Doan HV, Soltani M, Ringø E. In vitro antagonistic effect and in vivo protective efficacy of Gram-positive probiotics versus Gram-negative bacterial pathogens in finfish and shellfish. Aquacult. 2021;540,736581. [doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.7365](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.7365)
31. Barnes AC, Rudenko O, Landos M, Dong HT, Lusiatuti A, Phuoc LH et al. Autogenous vaccination in aquaculture: A locally enabled solution towards reduction of the global antimicrobial resistance problem. Rev Aquacult. 2022;00:1-12. [doi: 10.1111/raq.12633](https://doi.org/10.1111/raq.12633)