University of Tehran Press

Journal of Veterinary Research

Homepage: jvr.ut.ac.ir

Online ISSN: 2251-6190

Research Article

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*

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.

مجله تحقیقات دامپزشکی
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: ۶۱۹۰-۲۲۵۱
انتشارات دانشگاه تهران
مقاله پژوهشی

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]، روژین 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

دوره ۸۰، شماره ۳، ۱۴۰۴، ۱۷۵-۱۶۱
10.22059/jvr.2025.388340.3481

چکیده

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

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

روش‌کار: جداسازی و شناسایی عوامل بیماری‌زای باکتریایی به روش‌های فنوتیپی 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 به‌ترتیب ۵۹ و ۵۱ ایزوله باکتریایی از مزارع استان‌های کردستان و کرمانشاه جداسازی شد که شامل گونه‌های *استرپتوکوکوس اینیایی*، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه*، *لاکتوکوکوس گارویه*، *پرسینیا راکری* و *آیروموناس هایدروفیلا* در مزارع هر دو استان بود. فراوانی نسبی این گونه‌ها در مزارع استان کردستان به‌ترتیب 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 به‌ترتیب متعلق به گونه‌های *راکری* (۲۳/۵ درصد)، *گارویه* و *آگالاکتیه* (هر کدام ۲۱/۶ درصد)، *اینیایی* (۱۳/۷ درصد) و *دیس‌گالاکتیه* و *هایدروفیلا* (هرکدام ۵/۹ درصد) بود. به‌علاوه فراوانی نسبی ایزوله‌های جداسازی‌شده ناشناخته در مزارع استان کردستان ۸/۵ درصد و در مزارع استان کرمانشاه ۷/۸ درصد بود. به‌ترتیب 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، پرسینیا

کپی‌رایت © نویسندگان. ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

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 آبزی‌پروری 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، ازجمله بیماری‌های باکتریایی با اهمیت اقتصادی در گونه‌های با ارزش اقتصادی، نظیر قزل‌آلای رنگین‌کمان ازطریق روش‌های تشخیص صحیح و ارائه راهکارهای کنترلی و پیشگیری مناسب، از مهم‌ترین روش‌های جلوگیری از خسارات اقتصادی ناشی از این چالش در آبزی‌پروری 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 ازیک‌طرف و تغییرات آب‌وهوایی منجر به بروز خشکسالی‌ها و افزایش دما ازطرف‌دیگر، مزارع ماهیان سردآبی کشور با چالش‌های جدیدی، ازجمله 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 ازطریق 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 درنتیجه افزایش وجود عوامل خطرساز (مستعدکننده) موجب افزایش بروز و تشدید بیماری‌ها می‌شود، به‌ویژه اینکه تغییرات آب‌وهوایی در جهان و ازجمله در ایران به تشدید بیماری‌زایی برخی عوامل پاتوژن، به‌ویژه عوامل باکتریایی، مانند استرپتوکوکوزیس در گونه‌های حساس، نظیر تیلاپیا منجر گردیده است (۴-۶). اگرچه در سال‌های گذشته مطالعاتی پیرامون برخی بیماری‌های باکتریایی در برخی مزارع قزل‌آلا در برخی استان‌ها، مانند لرستان، چهارمحال‌وبختیاری و کهگیلویه‌وبویراحمد انجام شده است (۷-۱۱)، اما این مطالعات متمرکز بر ۱ یا ۲ پاتوژن خاص مانند *استرپتوکوکوس اینیایی* 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 (خطرساز/ استرس‌زا) بروز این بیماری‌ها انجام شده است. در این راستا و باتوجه‌به 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 موردمطالعه: مزارع موردمطالعه (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 خطرساز (مستعدکننده) بروز بیماری‌های عفونی: ازآنجایی‌که میزان بروز و شدت خسارات ناشی از بیماری‌های باکتریایی به عوامل و فاکتورهای متعددی بستگی دارد که از آن جمله می‌توان به عوامل خطرساز (فاکتورهای مستعدکننده/استرس‌زا) اشاره کرد، بنابراین در عملیات بازرسی کارگاهی نسبت به شناسایی و ثبت وجود فاکتورهای خطرساز در مزارع تحت نمونه‌برداری اقدام گردید. فاکتورهای خطرساز 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 تحصیل‌کرده 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، اگزوفتالمی، 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 مورداستفاده برای تشخیص گونه‌های موردمطالعه.

جنس/گونه باکتری	توالی پرایمر ′3-5′	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	TTTGGTGTTTACACTAGACTG TGTGTTAATTACTCTTATGCG	۵۰	۱۲۰	Meiri-Bendek و همکاران، ۲۰۰۲ (۱۴)
استرپتوکوکوس دیس‌آگالاکتیه	TGGAACACGTTAGGGTCG CTTTTACTAGTATATCTTAACTA	۵۰	۳۰۰	Forsman و همکاران، ۱۹۹۷ (۱۵)
لاکتوکوکوس گارویه	CATAACAATGAGAATCGC GCACCCTCGCGGGTTG	۵۲/۷	۱۱۰۰	Mata و همکاران، ۲۰۰۴ (۱۶)
آئروموناس	GAAAGGTTGATGCCTAATACGTA CGTGCTGGCAACAAAGGACAG	۶۰	۶۸۵	Ranjbar و همکاران، ۲۰۱۹ (۱۷)
یرسینیا راکری	CACTTAACCCTTCCTCCTCGC 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 مورداستفاده در واکنش PCR برای تشخیص گونه‌های موردمطالعه.

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
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۵ دقیقه
استرپتوکوکوس اینیایی	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۳ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۳۵	۹۴	۱ دقیقه
	اتصال	۳۵	۴۵	۱ دقیقه
	توسعه	۳۵	۷۲	۱/۵ دقیقه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۱۰ دقیقه
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۴ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۳۰	۹۲	۳۰ ثانیه
	اتصال	۳۰	۵۰	۴۰ ثانیه
	توسعه	۳۰	۷۲	۴۰ ثانیه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۵ دقیقه
استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۳۰	۹۲	۱ دقیقه
	اتصال	۳۰	۵۵	۱ دقیقه
	توسعه	۳۰	۷۲	۱/۵ دقیقه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۱/۵ دقیقه
لاکتوکوکوس گارویه	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۳۰	۹۲	۱ دقیقه
	اتصال	۳۰	۵۲/۷	۱ دقیقه
	توسعه	۳۰	۷۲	۱/۵ دقیقه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۵ دقیقه
یرسینیا	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۳۶	۹۴	۴۵ ثانیه
	اتصال	۳۶	۶۲	۴۵ ثانیه
	توسعه	۳۶	۷۲	۴۵ دقیقه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۷ دقیقه
یرسینیا راکری	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۴ دقیقه
	واسرشته‌سازی	۲۵	۹۲	۱ دقیقه
	اتصال	۲۵	۵۷	۱ دقیقه
	توسعه	۲۵	۷۲	۱ دقیقه
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۵ دقیقه
آئرومونا‌س	واسرشته‌سازی اولیه	۱	۹۴	۵ دقیقه
	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
	توسعه نهایی	۱	۷۲	۲ دقیقه

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

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

شماره	فاکتور خطرساز (عامل مستعدکننده)	فراوانی نسبی		
		استان کرمانشاه n=۹	استان کردستان n=۱۹	هر دو استان n=۲۸
۱	استفاده از رودخانه به‌عنوان منبع آب مزرعه	۰	۱۰۰	۶۸
۲	وجود دمای بالای ۱۵ درجه	۶۸	۶۸	۶۸
۳	وجود اکسیژن کمتر از ۷ میلی‌گرم 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 قرنطیه لازم	۱۰۰	۶۸	۷۹
۱۰	عدم کنترل بهداشتی ورود و خروج تخم چشم‌زده و بچه‌ماهی به مزرعه	۱۰۰	۶۸	۷۹
۱۱	وجود جانوران خون‌گرم، مانند سگ و گربه در مزرعه	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۲	عدم کنترل بهداشتی تردد وسایل نقلیه به کارگاه	۸۹	۶۸	۷۵
۱۳	عدم جمع‌آوری بهداشتی تلفات روزانه و دفن آن‌ها	۸۹	۷۹	۸۲
۱۴	عدم واکسیناسیون	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۵	عدم به‌کارگیری پرسنل ماهر و تحصیل‌کرده در مزرعه	۸۹	۸۴	۸۹
۱۶	عدم رعایت بهداشت فردی توسط پرسنل مزرعه	۸۹	۹۰	۹۳
۱۷	وجود تراکم بیش‌ازحد در مزرعه	۲۲	۵۸	۴۶
۱۸	وجود ماهیان بیمار با علائم بالینی (کوری، کاتاراکت، سیاه شدن، اگزوفتالمی، زخم‌های پوستی، پوسیدگی باله و پرولابس 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 لجن‌زار 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 طراحی‌شده، ۱۲/۵ میکرولیتر مستر میکس حاوی آنزیم Taq پلیمراز، dNTPs، بافر PCR و ۶/۵ میکرولیتر آب دیونیزه بود. مشخصات پرایمرهای مورداستفاده و همچنین سیکل حرارتی مورداستفاده 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 safe stain (Gene DireX) به هر ۷۰ میلی‌لیتر ژل اضافه و میزان ۵ میکرولیتر از محصولات PCR به چاهک‌های ژل تهیه‌شده منتقل شد. در هر الکتروفورز یک نمونه کنترل مثبت و یک نمونه کنترل منفی نیز بارگذاری و از مارکر ۱۰۰bp جفت باز (Gene DireX) استفاده شد. الکتروفورز در ولتاژ ۱۰۰ ولت تنظیم و به‌مدت ۶۰ دقیقه انجام شد. باندهای حاصله در ژل‌ها با استفاده از ترانس لومیناتور (BIO-RAD, USA) نمایان و با مقایسه موقعیت قطعات تکثیرشده با باندهای مارکر، اندازه محصولات PCR تعیین گردید. در مطالعه حاضر از سویه‌های *یرسینیا راکری*، *آئرومونواس هیدروفیلا*، *استرپتوکوکوس اینیایی*، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه* و *لاکتوکوکوس گارویه* موجود در بخش میکروبیولوژی آبزیان گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به‌عنوان نمونه‌های کنترل مثبت و از آب‌مقطر به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها: فراوانی نسبی گونه‌های باکتریایی جداسازی‌شده و نیز فراوانی نسبی فاکتورهای خطرساز در مزارع هر استان با استفاده از فرمول شماره ۱ تعیین گردید.

۱. فراوانی نسبی= فراوانی گونه باکتریایی جداسازی‌شده ÷ جمع فراوانی گونه‌های باکتریایی جداسازی‌شده ×۱۰۰

جدول ۴. گونه‌های باکتریایی شناسایی‌شده 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	
	مجتمع بیجار	+	+	−	+	+	+	۵
کردستان	مجتمع پلنگان	+	+	+	+	+	−	۵
	مجتمع سیروان	−	+	−	−	+	−	۲
	مسیر رودخانه گاورود ـ مزرعه بالادست	−	−	−	+	+	−	۲
	مسیر رودخانه گاورود ـ مزرعه میانی	−	+	−	+	−	+	۳
	مسیر رودخانه گاورود ـ مزرعه پایین‌دست	+	−	+	+	−	−	۳
کرمانشاه	مجتمع ریجاب مزرعه بالادست	+	+	−	−	−	−	۲
	مجتمع ریجاب مزرعه بالادست	+	+	−	+	−	−	۳
	مجتمع ریجاب مزارع میانی	+	+	−	+	+	−	۴
	مجتمع ریجاب مزارع میانی	−	+	−	+	+	−	۳
	مجتمع ریجاب مزارع پایین‌دست	+	−	+	−	+	+	۴
	مجتمع ریجاب مزارع پایین‌دست	+	−	+	−	+	+	۴

۱. *استرپتوکوکوس اینیایی* ۲. *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* ۳. *استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه* ۴. *لاکتوکوکوس گارویه* ۵. *یرسینیاراکری* ۶. *آیروموناس هایدروفیلا*. + = مثبت، − = منفی.

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

گونه پاتوژن	تعداد (درصد)		
	کردستان (n=۵۹)	کرمانشاه (n=۵۱)	هردو 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)

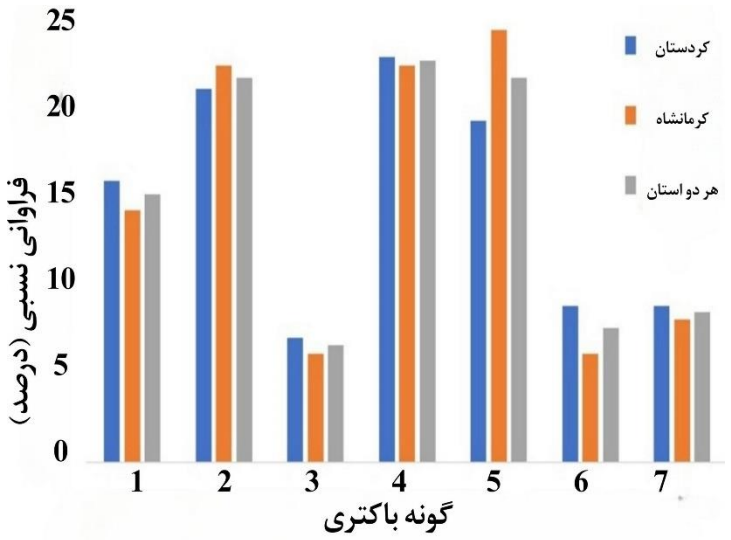
نتایج

فاکتورهای خطرساز (مستعدکننده) بروز و تشدید بیماری‌های تحت مطالعه: باتوجه‌به نقش عوامل استرس‌زای محیطی و مدیریتی و نیز کیفیت منابع آب مورداستفاده در بروز بیماری‌های باکتریایی وجود و یا عدم وجود تعداد ۲۳ فاکتور خطرساز (مستعدکننده) بروز بیماری‌های باکتریایی در بازرسی‌های مزارع ثبت گردید و فراوانی نسبی این فاکتورها در مزارع استان‌های موردمطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است، به‌طوری‌که به‌ترتیب فراوانی نسبی ۱۵ و ۱۹ عامل خطرساز در مزارع استان‌های کرمانشاه و کردستان بیشتر از ۵۰ درصد و ۱۱ و ۸ عامل خطرساز در مزارع هر استان بیش از ۸۰ درصد می‌باشد.

یافته‌های بالینی: علائم بالینی ماهیان بیمار مورد نمونه‌برداری 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).

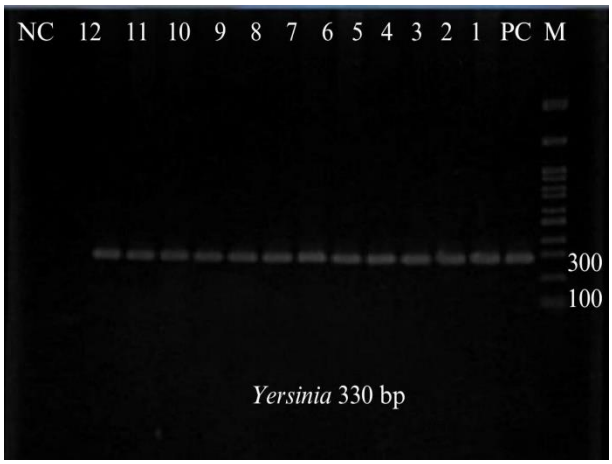
نتایج کشت و جداسازی پاتوژن‌های باکتریایی: در رنگ‌آمیزی گرم از پرگنه‌های رشدیافته ۵۹ نمونه ماهی بیمار اخذشده از مزارع استان کردستان، ۳۸ ایزوله باکتریایی گرم مثبت، ۱۶ ایزوله گرم منفی و ۵ ایزوله مخلوط گرم مثبت و گرم منفی یا مخلوط گرم منفی از ماهیان بیمار جداسازی گردید. از ۵۱ نمونه ماهی بیمار اخذشده از مزارع 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. هموراژی ناحیه شکمی. ۴.۱. پرولاپس مخرج همراه با پرخونی و خون‌ریزی در باله‌های شکمی.

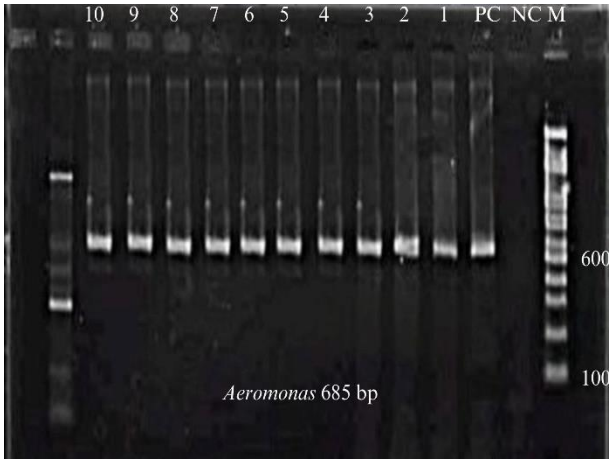


تصویر ۲. میزان فراوانی نسبی گونه‌های باکتریایی شناسایی‌شده در مزارع استان‌های کردستان و کرمانشاه. ۱. *استرپتوکوکوس اینیایی*. ۲. *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*. ۳. *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه*. ۴. *لاکتوکوکوس گارویه*. ۵. *پرسینیا راکری*. ۶. *آیروموناس هایدروفیلا*. ۷. ایزوله‌های ناشناخته.

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



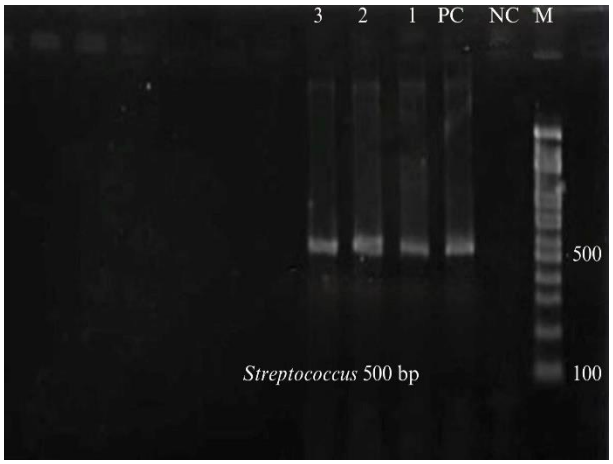
تصویر ۳. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های *یرسینیا*. M =مارکر، PC= کنترل مثبت، NC= کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۱۲ ایزوله‌های *یرسینیا راکری* به‌دست‌آمده از ماهیان مرضی.



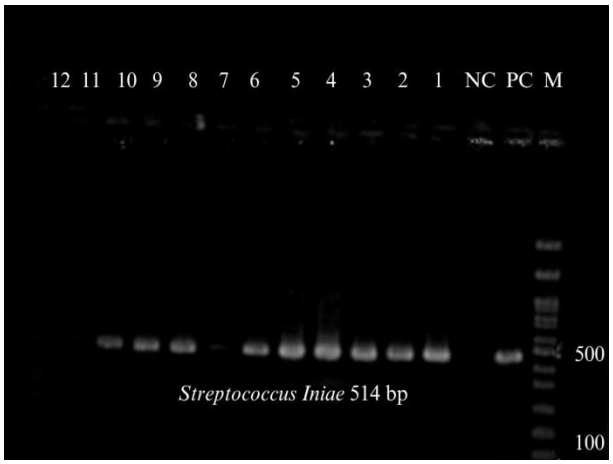
تصویر ۴. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های *آئروموناس*. M = مارکر، PC= کنترل مثبت، NC=کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۱۰ ایزوله‌های به‌دست‌آمده از ماهیان مرضی.

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 قابل‌توجه بود. همچنین در مطالعه حاضر ۱۱۰ ایزوله باکتریایی، ازجمله 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 شناسایی‌شده در این جنس‌ها شامل *استرپتوکوکوس اینیایی*، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه*، *لاکتوکوکوس گارویه*، *یرسینا راکری* و *آیروموناس هایدروفیلا* بودند. علاوه‌براین برخی ایزوله‌های گرم مثبت و گرم منفی جداسازی شد که نیازمند مطالعات آتی شناسایی در سطح جنس و گونه می‌باشند؛ بنابراین باتوجه‌به 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 *یرسینا راکری* از عوامل عمده بروز بیماری‌های باکتریایی در مزارع قزل‌آلای ایران، ازجمله مزارع استان‌های موردمطالعه 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.



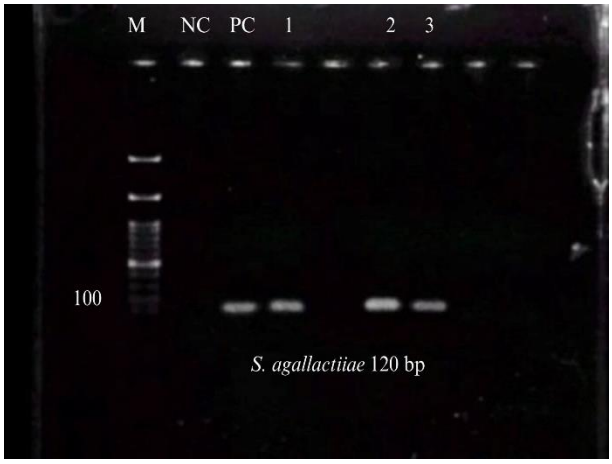
تصویر ۶. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های *استرپتوکوکوس اینیایی*. M= مارکر، PC =کنترل مثبت، NC= کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۱۰ ایزوله‌های به‌دست‌آمده از ماهیان مرضی.

همچنین موارد جداسازی *آیروموناس 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 آگالاکتیه*، *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 علاوه‌بر تنوع بیماری‌های باکتریایی با عوامل متعدد نظیر استرپتوکوکوزیس با عوامل *آگالاکتیه*، *اینیایی* و *دیس گالاکتیه* 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.

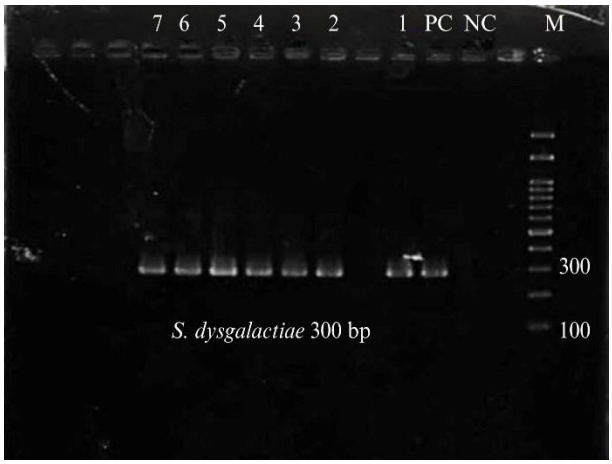
منابع اولیه پاتوژن‌های جداسازی‌شده در طبیعت متنوع بوده و شامل انواع متنوعی از جانوران خونگرم و ماهیان می‌باشد (۲۵) که می‌توانند به‌راحتی ازطریق فاضلاب‌های کشاورزی، دامی و انسانی و نیز پساب مزارع بالادست به مزارع پایین‌دست ماهی راه یابند. به‌علاوه برخی از این پاتوژن‌ها، به‌ویژه گونه‌های *آیروموناس هیدروفیلا*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

دنبال شرایط استرس‌زا حدت‌دار شده و موجب بروز تلفات می‌شوند. علاوه‌براین برخی از این پاتوژن‌ها، مانند گونه‌های *استرپتوکوکوس* و *لاکتوکوکوس* جداسازی‌شده 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 خطرساز) تکثیر و موجب بروز بیماری و تلفات قابل‌توجه شوند (۶، ۲۶).

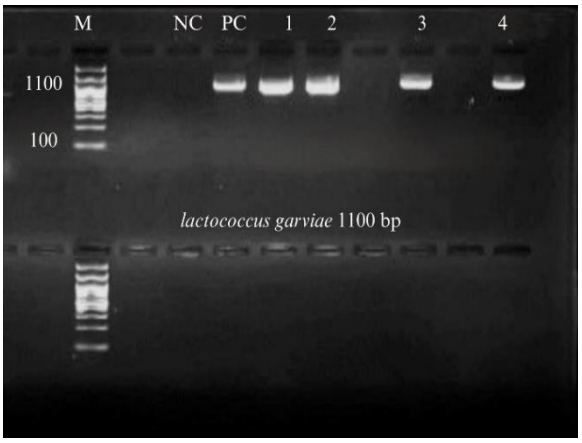
در مطالعه Liao و همکاران در سال ۲۰۲۰ که در یک دوره ۱۰ ساله به بررسی نقش رابطه بین فاکتورهای تغییرات آب‌وهوایی با بروز استرپتوکوکوزیس در ماهی تیلاپیا پرداختند، نشان داده شد تغییرات درجه حرارت و افزایش اشعه ماورای بنفش و باران‌های موسمی در تشدید استرپتوکوکوزیس در ماهی تیلاپیا نقش مؤثری دارند (۴). همچنین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



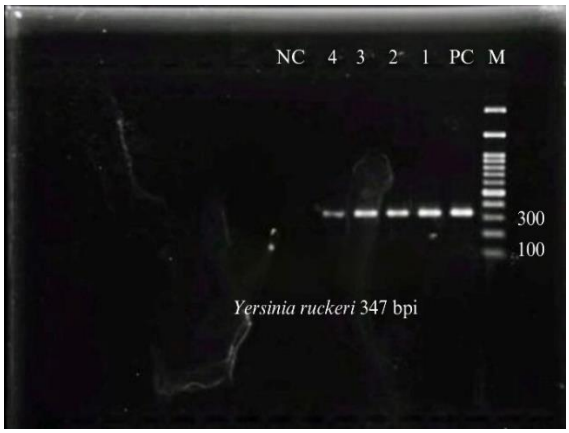
تصویر ۷. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*. M =مارکر، PC =کنترل مثبت، NC =کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۶ ایزوله‌های به‌دست‌آمده از ماهیان مرضی.



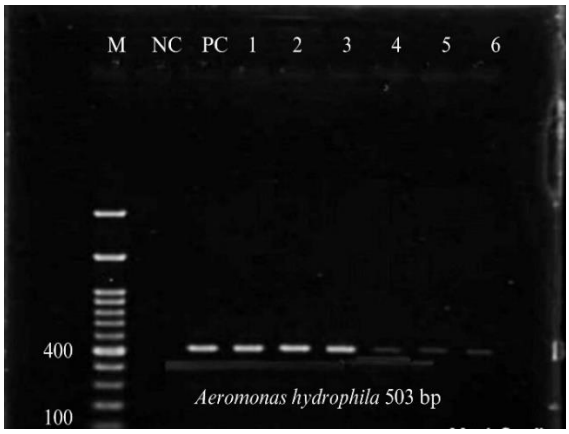
تصویر ۸. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از *ایزوله‌های استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه*. M= مارکر، PC =کنترل مثبت، NC =کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۳ ایزوله‌های به‌دست‌آمده از ماهیان مرضی.



تصویر ۹. ژل الکتروفورز مربوط به تعدادی از ایزوله‌های *لاکتوکوکوس گارویه*. 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 هیدوفیلا*. M = مارکر، PC= کنترل مثبت، NC=کنترل منفی، نمونه‌های ۱ الی ۶ ایزوله‌های به‌دست‌آمده از ماهیان مرضی.

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

مطالعه، ازجمله علل تشدید و نیز تنوع بالای این بیماری‌ها در این مزارع می‌باشد. ازجمله این فاکتورهای خطرساز 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 درنتیجه به بروز و تشدید این بیماری‌ها کمک می‌کند. به‌علاوه عوامل خطرساز 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، ازجمله عوامل این بیماری‌ها در منابع آبی مزارع ماهی شده و درنتیجه موجب سرایت عوامل باکتریایی مذکور به مزارع می‌شوند. برای‌مثال 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 ازآنجایی‌که 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 (خطرساز) مذکور در بروز و تشدید بیماری‌های استرپتوکوکوزیس با عامل *استرپتوکوکوس اینیایی* و لاکتوکوکوزیس با عامل *لاکتوکوکوس گارویه* در برخی مزارع قزل‌آلای استان‌های لرستان، چهارمحال‌وبختیاری و کهگیلویه و بویر احمد نیز قابل‌توجه بوده و رابطه مستقیمی با بروز و تشدید این بیماری‌ها داشته است (۷، ۸).

همچنین در مطالعه Zorriehzahra و همکاران در سال ۲۰۱۷ افزایش نیتریت در مزارع قزل‌آلای مبتلا به پرسنیوز در آذربایجان غربی به‌عنوان فاکتور خطرساز گزارش شده است (۱۰). به‌علاوه ازآنجایی‌که برخی عوامل تشدیدکننده (استرس‌زا) در اکثر مزارع ماهی وجود دارد و از طرفی با بروز این بیماری‌ها مزرعه‌داران اقدام به استفاده از انواع داروها، ازجمله آنتی‌بیوتیک‌ها می‌کنند، این نوع مدیریت‌های غیربهداشتی خود موجب تشدید این بیماری‌ها و درنتیجه افزایش تلفات می‌شود.

درخصوص ارزیابی میزان خسارات اقتصادی وارده ناشی از این بیماری‌ها در این مزارع ماهی اطلاعات دقیقی در دسترس نمی‌باشد. باوجوداین باتوجه‌به درجه حدت عوامل بیماری‌زای شناسایی‌شده 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 هرکدام از این بیماری‌ها در ماهی قزل‌آلا در دامنه ۵ تا ۷۰ درصد گزارش شده است. برای‌مثال میزان تقریبی خسارت اقتصادی ناشی از بیماری‌های استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس در مزارع قزل‌آلای ایران ۲۳ میلیون دلار برآورد شده است (۲۱، ۲۲). همچنین ازآنجایی‌که بروز این بیماری‌ها، به‌ویژه بیماری‌های استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس عمدتاً در ماهیان با وزن بازاری موجب تلفات می‌شود، در اکثر موارد نمونه‌های ماهیان مرضی اخذشده از وزن بالای ۵۰۰ گرم و تا ۳ کیلوگرم برخوردار بودند که بیانگر اهمیت خسارت اقتصادی وارده ناشی از این بیماری‌ها می‌باشد. به‌علاوه ازآنجایی‌که برخی از این بیماری‌ها مانند استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس به‌علت مکانیسم‌های بیماری‌زایی، مانند برخورداری از کپسول یا گلیکوکالیکس و ایجاد واکنش‌های گرانولوماتوز در بافت‌های ماهیان حساس، مانند قزل‌آلا به‌خوبی به درمان پاسخ نمی‌دهند، درمان‌های آن‌ها موقتی بوده که این امر خود موجب تحمیل هزینه‌های بالای دارودرمانی به مزرعه‌داران می‌شود؛ بنابراین علاوه‌بر خسارات مستقیم ناشی از تلفات، هزینه‌های درمانی این بیماری‌ها نیز قابل‌توجه می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی: در جمع‌بندی کلی باتوجه‌به شدت و تنوع بیماری‌های باکتریایی شناسایی‌شده در مزارع قزل‌آلای استان‌های موردمطالعه ضروری است سازمان‌های متولی، مانند سازمان دامپزشکی نسبت به اجرای برنامه‌های مستمر مبارزه و پیشگیری، مانند واکسیناسیون علیه این بیماری‌ها، به‌ویژه پرسینوزیس، لاکتوکوکوزیس و استرپتوکوکوزیس اقدام کنند، زیرا امروزه و باتوجه‌به اپیدمیولوژی این بیماری‌ها، مانند تنوع بالای مخازن این پاتوژن‌ها و عدم درمان‌های موفق علیه آن‌ها و نیز باتوجه‌به ضرورت حفظ محیط زیست و پیشگیری از تکرار دارودرمانی در منابع آبی، اعمال روش‌های پیشگیری، مانند واکسیناسیون به‌عنوان روشی مؤثر، ارزان و سازگار با محیط زیست برای پیشگیری از بروز این بیماری‌ها می‌باشد. به‌علاوه درمان منابع آبی مورداستفاده در مزارع ماهی، به‌ویژه با استفاده از روش‌های مطمئن و مقرون‌به‌صرفه، مانند اوزن‌تراپی (۲۸) می‌تواند ازطریق کاهش بار میکروبی منابع آبی مورداستفاده مزارع ماهی تا حد قابل‌توجهی

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

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر براساس کد اخلاق IR.UT.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، دکترحیدری، 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 ۷۰۳۵ / ۲۰ فی مابین سازمان دامپزشکی و دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و با حمایت مالی سازمان دامپزشکی کشور انجام شده است.

تعارض منافع

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

References

1. 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
2. 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
3. Farías DR, Ibarra R, Estévez RA, Tlusty 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
4. 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
5. 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.
6. 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(1):25-38. doi: 10.1080/23144599.2024.2348408 PMID: 38751408
7. Soltani M, Pirali Kheirabadi A, Taherimirkahead E, Shafie SH, Mohamadian S, Roholahi SH. Molecular study of streptococcosis/lactococcosis distribution in farmed rainbow trout in Charmahal–va-Bakhteyari and Kohgiloyeh-va-Boyerahmad provinces, Iran. Iran J Epid. 2013;9(2):59-68. (In Persian).
8. 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).
9. 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 (*Oncorhynchusmykiss*) and mugger crocodile (*Crocodyluspalustris*) in Iran. Iran J Vet Res. 2020;21(1):26-32. PMID: 32368222
10. Zorriehzahra SJ, Kakoolaki 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.
11. 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 *P*CR for the detection of endodontopathogenic bacteria. J Endodont. 1997;23(7):433-438. doi: 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 (*Onchorhynchus 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 detectionof *Streptococcus agalactiae* in milk. J Dairy Sci. 2002;85(7):1717-1723. doi: 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 PMID: 9387227

16. Mata AI, Blanco MM, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF, Gibello A. Development of a *P*CR 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 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 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 PMID: 9872807

19. Chu WH, Lu CP. Multiplex *P*CR 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 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 Clinic Microbiol. 2001;39(12):4483-4486. doi: 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 PMID: 36139303

22. Soltani M, Baldisserotto 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 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;7:44:e000922. doi: 10.29374/2527-2179.bjvm000922 PMID: 36523569

24. Topić Popovic N, Teskeredžić E, Strunjak-Perovic´ 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 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 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 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 Nghiệ. 2021;63(7):42-47. doi: 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

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

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

31. Barnes AC, Rudenko O, Landos M, Dong HT, Lusiastuti 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