جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

تاثیر عوامل خطر محیطی در بروز استرپتوکوکوزیس در مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) رودخانه هراز به روش Logistic Regression

ابوالفضل سپهداری[۱]*؛ علی اصغر سعیدی[۲]؛ شاپورکاکولکی[۳]؛ فرشیده حبیبی کوتنایی[٤] و علیرضا باباعلیان[۵]

asepahdari@yahoo.com

۱و۳- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران صندوق پستی: ۱۳۱۸۵ -۱۱٦

۲و٤- پژوهشکده اکولوژی دریای مازندران، ساری صندوق پستی:۹٦۱

۵- سازمان دامپزشکی کشور، تهران

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۲

چکیده

استرپتوکوکوزیس یک بیماری عفونی باکتریایی است که در اکثر مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سردابی (قزل‌آلای رنگین کمان) کشور مشاهده شده است. در بروز و همه گیری این بیماری عواملی از جمله حرارت، نیتریت، نیترات، آمونیوم، کدورت آب، اکسیژن محلول، دبی، شمارش کلی باکتریائی و.. در بروز بیماری نقش دارند. این مطالعه با هدف شناسایی عوامل خطر محیطی و ارزیابی میزان تاثیر گذاری آنان در بروز استرپتوکوکوزیس وارائه پیشنهادهای اجرایی برای کنترل بیماری در شرق استان مازندران اجرا گردید. این تحقیق در ۱۰ مزرعه منتخب از مجموعه مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی استان مازندران، با بکارگیری طرحهای آماری استاندارد، در یک بازه زمانی یک ساله و با فواصل ماهانه به ثبت عوامل اپیدمیولوژیک مؤثر بر بروز بیماری اقدام گردید. به منظور جداسازی، شناسایی و تشخیص بیماری ضمن بررسی علائم و مشاهدات کلینیکی از آزمون‌های تشخیصی بیوشیمیایی و PCR استفاده شد. نتایج نشان می‌دهد عواملی از جمله میزان نیتریت، دمای آب، اکسیژن محلول در آب و ماههای سال به میزان ۲۰ درصد بروز بیماری استرپتوکوکوزیس افزایش می‌دهند. مدیریت عوامل مذکور می‌تواند تا حد زیادی درکاهش میزان بروز و شیوع این بیماری در شرق استان مازندران مؤثر باشد.

لغات کلیدی: بیماریهای باکتریایی، طرح آماری، شرق استان مازندران

---

*نویسنده مسئول

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

استرپتوکوکوزیس بعنوان یکی از بیماریهای اصلی سپتی سمی دهنده عمده مراکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی در بسیاری از کشورهای دنیا و از جمله در ایران معرفی شده است و تخمین زده شده است که این بیماری موجب خسارات اقتصادی شدید و جبران ناپذیر (بیش از ۱۵۰ میلیون دلار در سال) در دنیا می‌گردد (Romalde ; *et al*., 2000 ;Beack *et al*., 2006; Shoemaker *et al*., 2008; Garcia *et al*., 2008; Romalde *et al*., 2000). این بیماری اولین بار از کشور ژاپن در ماهیان دریایی گزارش گردید (Hoshina *et al*., 1958) و بتدریج گزارشات متعددی از بروز آن در کشورهای مختلف مانند: سنگاپور (Foo *et al*., 1985)، آفریقای جنوبی (Bragg & Broere, 1986)، استرالیا (Carson *et al*., 1993)، اسپانیا (Toranz *et al*., 1994)، آمریکا (Perera *et al*., 1994)، رژیم اشغالگر قدس (Eldar *et al*., 1999)، ایتالیا (Ghittion *et al*., 1992)، فرانسه (Michel *et al*., 1997)، کوی (Evans *et al*., 2002) ، کره جنوبی (Baeck *et al*., 2006)، برزیل(Filho *et al*., 2009)، ایتالیا (Elder *et al*., 1997) ، در کویت بین ماهیان Red Sea bream و کفال خاکستری (Grey mullet)(Evans *et al*., 2002)، ماهیان دریایی واقع در خلیج مکزیکو (Plumb *et al*., 1974)، خلیج چیساپیک در ایالات متحده آمریکا (Baya *et al*., 1990) ، در آزاد ماهی کوهو (Coho salmon)، مارماهی ژاپنی، ماهی آیو و تیلاپیا (Austin & Austin, 1993)، در گربه ماهی (Chang *et al*., 2002)، در ماهی کپور معمولی (Bunch *et al*., 1997) و در ایران نیز این بیماری در بین مولدین ماهی قزل آلای رنگین کمان در استان مازندران (قیاسی و همکاران، ۱۳۷۹)، استان فارس، در ماهی قزل آلا (اخلاقی و همکاران،۱۳۸۱)، ماهی هامور در استان خوزستان شناسایی و گزارش گردیده است (مظلومی، ۱۳۸۲).

طی دهه گذشته تغییرات زیادی در طبقه بندی عوامل ایجاد کننده این بیماری رخ داده است. با ایجاد روش‌های تشخیصی جدید بر پایه خصوصیات ژنوتیپی، طبقه‌بندی جدید ایجاد شده و جنسهای انتروکوکوس، لاکتوکوکوس، واگوکوکوس و کارنوباکتریوم به جنس استرپتوکوکوس افزوده شده است(Venderell *et al*., 2006; Romalde *et al*., 2000; Yanong & Floyd, 2002; Austin & Austin, 1993; Austin & Austin, 1999; Pasnike *et al*., 2006). بیماری استرپتوکوکوزیس در بسیاری از گونه‌های ماهیان دریایی (Eldar; *et al*., 1999; Colorni *et al*., Romalde *et al*., 2000; 2002) و ماهیان آب شیرین(Yanong & Floyed, 2000) هم در ماهیان پرورشی و هم ماهیان وحشی (Baya *et al*.,1990 ; Zlotkin *et al*., 1998 ; Colorni *et al*., 2002) گزارش شده است.

برخی گونه‌های استرپتوکوک دارای آنتی ژنهای پلی ساکاریدی ویژه‌ای هستند که به گروه‌های مشخص (گروه‌های لانسفیلد) اختصاص پیدا می‌کنند و براساس حضور این گروه‌های آنتی ژنی مخصوص به گروه‌های (A, B, C, D, E, F, G, H, K, L, M, N وO) طبقه‌بندی می‌شوند. که گروه‌های B و D لانسفیلد در ماهیهای بیمار گزارش شده است. گروه استرپتوکوکسی D، کلنی‌هایی شبیه استافیلوکوکسی تولید می کنند (Austin & Austin, 1993).

گونه‌های زیادی از استرپتوکوک‌ها می‌تواند در ماهی بیماریزا باشند، اما اطلاعات کافی برای تعیین اینکه کدام گونه از استرپتوکوس بیماریزایی بیشتری دارد وجود ندارد (Yanong & Floyd, 2002).

ماهیان مبتلا ممکن است یک یا بیشتر از یک علامت را نشان دهند، با توجه به گونه ماهی این علائم شامل: شنای نامنظم (چرخشی یا مارپیچی)، از دست دادن تعادل، بیحالی، تیرگی پوست، بیرون زدگی یک یا دو طرفه چشم،کدورت قرنیه، خونریزی داخل یا اطراف چشمها، صفحه آبششی، قاعده باله‌های شکمی و مخرجی، بالای سر و یا جاهای دیگر بدن، آب آوردگی شکم و زخم در پوست ، اتساع محوطه بطنی، بزرگی و پر خونی طحال، رنگ پریدگی و بزرگ شدن کبد، پرخونی کلیه و در مواردی بروز خونریزی در سطح کبد و قلب مشاهده می شود. علاوه بر اینها زخمهای خونریزی دهنده نیز در سطح بدن ممکن است مشاهده شود (Yanong & Floyed, 2002; Salvador *et al*., 2005).

عفونتهای استرپتوکوکی می‌تواند سبب مرگ و میر بالایی (بیش از ۵۰ درصد) طی یک دوره ۳ تا ۷ روزه (Yanong & Floyd, 2002) و گاه حتی بیش از ۷۵ درصد شود (Eldar *et al*.,1997 ; Eldar et Bromage *et al*. , 2009)

خسارت اقتصادی حاصله از تنها گونه *Streptococcus iniae* در آبزی پروری بیش از ۱۰۰ میلیون دلار در سال تخمین زده شده است (Xu *et al*., 2007).

در سالهای گذشته این بیماری در اغلب استانهای کشور (لرستان، مازندران، فارس، چهار محال بختیاری، کرمانشاه و

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

کهکیلویه و بویر احمد و گیلان) در ماهیان سردآبی پرورشی یک بیماری غالب بوده است و یکی از مشکلات جدی که منجر به خسارتهای سنگین اقتصادی در صنعت آبزی پروری می‌شد، این بیماری بود (Akhlaghi & Keshavarzi, 2002, Soltani *et al.*, 2005 , 2008; Saeedi *et al.*, 2009; Pourgholam *et al.*, 2010)

این مطالعه با هدف شناسایی عوامل خطر و ارزیابی میزان تاثیرگذاری آنان در بروز استرپتوکوکوزیس و تدوین دستورالعملهای اجرایی برای کنترل بیماری در شرق استان مازندران اجرا گردید.

مواد و روش کار

در این بررسی ۱۰ مزرعه منتخب از مزارع پرورش قزل‌آلای رنگین کمان در منطقه رودخانه هراز که در یک فاصله تقریبی پانزده کیلومتری از هم واقع شده‌اند به شکل تصادفی انتخاب شد. نمونه‌برداری از ماهیان پیش پروری و پروری با دامنه وزنی (۵۰ تا ۵۰۰ گرم) به تعداد ۷۱۸ عدد و بچه ماهیان با دامنه وزنی (۱۰ تا ۵۰ گرم) به تعداد ۴۸۱ عدد، بیمار (همرا با علائم) و به ظاهر سالم (بدون علائم) از ۱۰ مزرعه پرورش ماهی سردابی منتخب، به شکل ماهانه (مدت ۱۲ ماه) و هر ماه ۱۲۰ عدد ماهی (هر مزرعه ۱۰ عدد) به شکل زنده و تصادفی جمع‌آوری و مورد بررسی‌های آزمایشگاهی (کشت باکتریایی) قرار گرفت. که از این تعداد برخی سریعا از بین رفتند و صرفا۱۱۹۹ عدد ماهی مورد تحقیق و آزمون قرار گرفت. جهت تعیین درصد آلودگی و ابتلای نمونه‌های مورد بررسی از فرمول ذیل استفاده گردید :

۱۰۰× تعداد کل ماهیان/ تعداد ماهیان آلوده =درصد آلودگی

پس از جمع‌آوری نمونه‌ها به شکل زنده، ماهیان از نظر علایم ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند و سپس در شرایط استریل کالبد گشایی شدند و پس از شکافتن محوطه بطنی علائم داخلی ثبت شد . سپس جهت جداسازی باکتری با استفاده از آنس استریل از بافت‌های کبد و کلیه در محیط Trypticase Soy Agar (TSA) (MERK)® کشت خطی ، انجام گردید (Austin & Austin, 1999). پس از تایید باکتری استرپتوکوک به وسیله تست کاتالاز، نمونه‌های مثبت برای تعیین و شناسایی گونه به آزمایشگاه باکتریولوژی دارای گواهی استاندارد ایزو ۱۷۰۲۵ پژوهشکده اکولوژی دریای خزر ارسال گردید. جهت تشخیص افتراقی استرپتوکوکهای جداسازی شده از روش MacFaddin (۲۰۰۰) استفاده شد. استخراج DNA و انجام آزمایش‌های مولکولی با بهینه سازی روش فنل – کلروفرم به انجام رسید (Fevolden & Pogson, 1997). جهت تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده و تعیین غلظت و خلوص DNA استخراجی از روش اسپکتروفتومتری توسط دستگاه اسپکتروفتومترCECIL (مدل ۲۰۴۰DE) استفاده گردید. برای انجام واکنش PCR و تهیه پرایمرهای اختصاصی هر گونه، از توالی ژنهای16S RNA و گلوکوکیناز گونه‌های مختلف استرپتوکوکوس استفاده شد. با توجه به اینکه طراحی بعضی از پرایمرها به صورت کاملاً اختصاصی برای هر گونه با مشکل مواجه بود، از هضم آنزیمی با آنزیم‌های برش دهنده استفاده گردید. محصول PCR به روش الکتروفورز با ژل آگارز ۲ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت و اندازه قطعات حاصل از PCR با مقایسه با مارکر DNA (pBR322 DNA/AluI Marker, 20, MBI Fermentas) بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۸ درصد و با روش رنگ آمیزی نیترات نقره بدست آمد. تصاویر ژل پلی‌اکریل‌آمید پس از رنگ آمیزی ابتدا توسط دستگاه مستند سازی ژل ترانس ایلومیناتور مدل DOC008.XD ساخت کمپانی UVI همراه با برنامه نرم‌افزاری UVI DOC Version V.99.04 ثبت و ذخیره گردید.

قبل از نمونه‌برداری از آب با استفاده از دستگاه دیجیتال آنالیز آب، درجه حرارت، اسیدیته و میزان اکسیژن محلول در آب ورودی مزارع منتخب، اندازه گیری و ثبت شد. ماهانه طی ۱۲ ماه از آب ورودی هر مزرعه یک نمونه آب در ظرف پلاستیکی به حجم ۲۵۰ سی سی پس از ثبت اطلاعات اولیه (تاریخ، نام مزرعه و درجه حرارت) اخذ و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردید و پارامترهایی مثل نیتریت به روش برن اشنایدر و رابینسون و نیترات به روش ستون کاهشی کادمیوم اندازه‌گیری شد (Armstrong, 1963). جهت تعیین میزان آمونیوم از روش فنات بهره گیری شد (سیرژی- سولورزانو، ۱۹۶۹). کدورت (کل مواد جامد محلول (TDS) به روش دستگاهی مدل HACH و اکسیژن محلول به روش وینکلر اندازه گیری گردید.

نمونه‌برداری از آب ورودی هر مزرعه با استفاده از ظرف پلاستیکی استریل درب دار با حجم ۷۰ میلی لیتر صورت گرفت و نمونه ها در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. بعد از تهیه رقتهای سریالی(۱-۱۰،۲-۱۰، ۳-۱۰) به روش کشت خالص در محیط TSA (Merck آلمان) کشت به عمل آمد. پلیتها به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند (گرمخانه کالیبره شده با استاندارد ایزو ۱۷۰۲۵). پس از این مدت شمارش کلی باکتریها انجام گردید. جهت تشخیص

جنس باکتری استرپتوکوکوس در پلیتهای فوق، ابتدا از پرگنه‌های مشخص نمونه‌برداری و به روش خطی در محیط آگار خوندار (BA) (Merck آلمان) کشت خالص به عمل آمد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ - ۲۵ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند و پس از طی این مدت از کلنی‌های تک بدست آمده رنگ آمیزی گرم انجام گردید. بعد از این مرحله و تایید کلنی های استرپتوکوکسی و شباهت آن با استافیلوکوک ها در نوع رنگ پذیری و شکل، تست افتراقی کاتالاز گذاشته شد و همه آنهایی را که تست کاتالاز منفی بودند، به عنوان استرپتوکوک پذیرفته شد (Buller, 2004).

جهت بررسی تاثیرگذاری برخی از متغییرهای کمی از جمله دما، نیتریت، نیترات، آمونیوم، کدورت آب، اکسیژن محلول، دبی و فراوانی کل باکتریائی بر بروز یا عدم بروز بیماری از مدل رگرسیون لجستیک (Logistic Regression) استفاده گردید.

نتایج

ارزیابی برخی عوامل فیریکی و شیمیایی آب، علائم بالینی، کالبد گشایی و میکروبیولوژی که در بروز بیماری استرپتوکوک مؤثر می‌باشند طی مطالعه مورد نظر قرار گرفت. در نمونه های دارای علائم بالینی و مشکوک به بیماری، علائمی از جمله شنای نامنظم (چرخشی یا مارپیچی)، از دست دادن تعادل، بیحالی، تیرگی پوست، بیرون زدگی یک یا دو طرفه چشم،کدورت قرنیه، خون ریزی اطراف چشم ها، صفحه آبششی، قاعده باله های شکمی و مخرجی،بالای سر و یا جاهای دیگر بدن، آب آوردگی شکم و زخم در پوست، اتساع محوطه بطنی مشاهده گردید. در کالبد گشایی نمونه‌های دارای علائم بالینی، بزرگی و پر خونی طحال، رنگ پریدگی و بزرگ شدن کبد، پرخونی کلیه و در مواردی بروز خونریزی (بصورت پشتی) در سطح کبد و قلب مشاهده شد.

از بافت کلیه ۴/۶ درصد از ۱۷۴ عدد بچه ماهی بیمار و ۸/۹ درصد از ۲۳۵ عدد ماهی پرواری بیمار باکتری استرپتوکوک جدا سازی گردید و بقیه نمونه‌ها به ترتیب ۹۵/۴ و ۹۱/۱ درصد از نظر استرپتوکوک منفی بودند، هر چند که از ۰/۷ درصد از ۳۰۷ عدد بچه ماهی سالم (جدول ۱) و ۱ درصد از ۴۸۳ عدد ماهی پرواری سالم که فاقد هرگونه علائم غیر طبیعی بودند (جدول ۲) نیز باکتری استرپتوکوکوس جدا سازی شد.

در بررسی آماری نتایج بدست آمده جهت بررسی تاثیرگذاری برخی از متغیرهای کمی از جمله نیتریت، نیترات، آمونیوم، کدورت، اکسیژن محلول، دبی آب و فراوانی کل باکتریهای هوازی آب بر بروز یا عدم بروز استرپتوکوکوزیس از مدل رگرسیون لجستیک استفاده گردید. براساس نتایج بدست آمده و با استناد به اینکه عدد صفر (۰) برای وقوع بیماری و عدد یک (۱) برای عدم وقوع بیماری استرپتوکوک همراه با مدل Backward; Wald در نظرگرفته شده بود، چنین به نظر میرسد که متغیرهای مستقل تعریف شده بر متغیر وابسته تاثیر مثبت داشته است و آزمون مربوطه نشان دهنده برازش مناسبی از مدل بود (Chi – square= 58.17, P=0.000). از آنجایی که R – Nagelkereke square در مرحله هفتم برابر با ۰/۲ درصد تعیین گردید، محتمل است تبیین تغییرات متغیر وابسته از روی متغیرهای مستقل در رگرسیون لجستیک ۲۰ درصد گردد. به عبارتی تنها ۲۰ درصد این تغییرات توسط مدل قابل بررسی است و احتمالا عوامل دیگری نیز دخیل هستند که می‌توانند این درصد را افزایش دهند. حساسیت مدل در تفسیر تغییرات به صورت کلی ۹۷ درصد بوده است.

بیشترین درصد آلودگی بچه ماهیان بیمار به استرپتوکوک به ترتیب ۱۵/۴، ۱۱/۱، ۴/۳ و ۴ درصد و در مزارع ۶، ۱ ، ۷ و ۳ مشاهده گردید و در ۶ مزرعه دیگر دیده نشد و بیشترین درصد آلودگی در بچه ماهیان سالم به ترتیب ۳/۲ و ۲/۸ درصد در مزارع ۵ و ۸ و در ۸ مزرعه دیگر مشاهده نشد (جدول ۱)

تفسیر تغییرات به صورت کلی ۹۷ درصد بوده است در خاتمه و با توجه به ضرایب بدست آمده معادله مدل لوجیت به شرح زیر است:

$$\ln\left\{\frac{P}{1-p}\right\} = ۳۳/۹۶ - ۰/۶۰\text{Month} + ۲۲/۷۶\text{Nitrite} - ۱/۶۷\text{DO} + ۰/۹۶\text{Temperature}$$

میانگین تعداد باکتریهای هوازی به ترتیب از فصل زمستان ، بهار، تابستان و پاییز افزایش می‌یابد به طوریکه در فصل زمستان حداقل ۱۰۲× ۰/۷ و حد اکثر ۱۰۳× ۵ ، فصل بهار حداقل ۱۰۲× ۰/۷ و حداکثر ۱۰۳× ۸، فصل تابستان حداقل ۱۰۳× ۱۵ و حداکثر ۱۰۳ × ۳۹ و فصل پاییز حداقل ۱۰۴× ۰/۶ و حداکثر۱۰۴× ۷ شمارش گردید.

جدول ۱ : درصد آلودگی بچه ماهیان بیمار و سالم به استرپتوکوکوس

شماره مزرعه	تعداد بچه ماهی بیمار در هر مزرعه	بچه ماهی بیمار(۱۷٤)	تعدا د بچه ماهی سالم در هر مزرعه	بچه ماهی سالم (۳۰۷)
		درصدآلودگی		درصد آلودگی
۱	۱۵	۰/۰	٤۰	۰/۰
۲	۱۰	۱۰/۰	٥٤	۰/۰
۳	۲۰	۳٥/۰	٤٦	۲/۲
٤	۳۳	۳/۰	٤٤	۰/۰
٥	۳۳	۱۲/۱	۳٦	۸/۳
٦	۲۹	۰/۰	٥۱	۰/۰
۷	۳۱	۰/۰	۳٦	۰/۰
۸	۲٦	۱۱/٥	٤۷	۰/۰
۹	۱۷	٥/۹	٦۸	۱/٥
۱۰	۲۱	۱۹/۰	٦۸	۰/۰
درصد کل	**۲۳٥**	**۸/۹**	**٤۳۸**	**۱/۰**

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

شماره مزرعه	تعداد بچه ماهی بیمار در هر مزرعه	ماهی پرواری بیمار (۲۳٥)	تعدا د ماهی پرواری سالم در هر مزرعه	ماهی پرواری سالم (٤۳۸)
		درصدآلودگی		درصد آلودگی
۱	۱٥	۰/۰	٤۰	۰/۰
۲	۱۰	۱۰/۰	٥٤	۰/۰
۳	۲۰	۳٥/۰	٤٦	۲/۲
٤	۳۳	۳/۰	٤٤	۰/۰
٥	۳۳	۱۲/۱	۳٦	۸/۳
٦	۲۹	۰/۰	٥۱	۰/۰
۷	۳۱	۰/۰	۳٦	۰/۰
۸	۲٦	۱۱/٥	٤۷	۰/۰
۹	۱۷	٥/۹	٦۸	۱/٥

۱۰	۲۱	۱۹/۰	٦۱	۰/۰

جدول ۳ : میانگین (±SD) میزان برخی پارامترهای فیزیکی وشیمیایی آب مزارع تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی منتخب منطقه هراز استان مازندران در فصول مختلف سال ۹۱-۹۰

فصل	Nitrite (میلی‌گرم در لیتر)	Nitrate (میلی‌گرم در لیتر)	$NH4^+$ (میلی‌گرم در لیتر)	TDS (گرم در لیتر)	DO (گرم در لیتر)	Temperature (درجه حرارت)	pH
بهار	۰/۰۰۸۷±۰/۰۱۰۸	۰/۷۹۱٦±۰/۰۹٤۳	۱۰۲۳±۰/۱	۰/۲۱٤۷±۰/۰	۹/۲۸±۰/۳	۱۱/۲۰±۱/٦	۸/٦٤±۰/۳
تابستان	۰/۰۱۰٦±۰/۰۱۳۱	۰/۸۵۰۹±۰/٤۹۹۵	۰/۰٦۲۱±۰/۱	۰/۱۹٦۱±۰/۰	۸/۵۵±۰/٤	۱٤/۰٤±۱/۱	۸/۳۷±۰/۳
پائیز	۰/۰۰۲۷±۰/۰۰۵۰	۰/۵۵۲۸±۰/۲۵۹٤	۰/۱٤۵۲±۰/۱	۰/۲۱۰۷±۰/۰	۹/۳۹±۰/٦	۹/۹۳±۲/۳	۸/۳٦±۰/۳
زمستان	۰/۰۳۱٤±۰/۰۲۹۵	۱/۰۰٦٤±۰/۲۸۳۹	۰/۱٤۰۵±۰/۲	۰/۲۳۵۳±۰/۱	۹/۸٦±۰/۵	۷/۲٤±۱/۲	۸/۱۹±۰/٦

جدول ٤: میانگین (±SD) تعداد کلی باکتریهای هوازی در آب ورودی مزارع منتخب مورد بررسی

فصل مزرعه	بهار	تابستان	پاییز	زمستان
F1	۱۷۵۳±۱۰۹۷	۳۱۳۷۸±۲٦٦۰۷	۱۳۹٦٦±۱۰۵۹۰	۱٤±۷۲۰
F2	۵۰۹۸±٦٦۸۰	۳۱۳۰۱±۲۸۱۰۰	۸۵۹٦۳±٦۰٤۷۳	٤۳۳±۲٦۷
F3	۱۸۸۰±۱٦۹۸	۲۸۲۳۷±۲۵۲۰۰	٦۵۰۰±۳٦٦۸	۲۸۵۳±۵٦٦۷
F4	۷۹۷±۲٦۲	۲۳۱۷۳±۱۹۹۹۳	۵۸۸۷±۳۹۰۵	۸۹۷±۷۵
F5	۲۹۰۰±۱۷٤٤	٤۰۷۳۰±۳۳۵۰۰	۵۰٦۰۰±۵۷٦۰۲	۳۰۳۳±٦۷۱
F6	۷۲۳۰±۹۱۳۰	۲٤۸۷۲±۲۰٦۳۳	۳٦۷۸۳±٤۱۱۰۸	۱۵۰۰±۲۲۰
F7	۹۰۰±۳۸۱	۱۵۱٦۰±۱۵۵۰۰	۷۰۳۰۷±۱۰۰٤٦۷	۱۰۳۷±۲٦۱
F8	۹۲۳۰±۷۱٦۷	۵۰۷۳٦±۳۹۵۳۳	۳۱۳۷۸±۲٦٦۰۷	۱۰٤۰±٦۱۹

F9	۸۸۱۰±۱۰۹٤٤	٤۲۸۰٤±۳۳٥۳۳	۳۱۳۷۸±۲٦٦۰۷	۱٥۰۰±۲۲۰
F10	۱۱٥۷±۳۹٦	۲۷۰۲۹±۲۳٦۰۰	۳۱۳۷۸±۲٦٦۰۷	۲٦۰۰±۷۲٤

بحث

استرپتوکوکوزیس از بیماریهای مهم باکتریایی است، هر چند که در لیست بیماریهای مهم اخطار کردنی سازمان OIE نیست (Eldar & Ghittina, 1999) ولی از چالش‌های بهداشتی و بیماریهای مهم صنعت آبزی پروری ماهیان سردآبی در سالهای اخیر بوده است بطوریکه در برخی مواقع سال (فصول گرم) موجب بروز تلفات در اغلب مراکز پرورش ماهیان سردابی استانهای صاحب این صنعت (گیلان، مازندران، لرستان ، فارس و بویر احمد و کهکیلویه و بویر احمد و تهران) گردیده است (اخلاقی و کشاورز، ۱۳۸۱؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۶؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۷، Soltani *et al*., 2008 و پورغلام و همکاران، ۱۳۸۹) همچنین این بیماری به شکل همه گیر در ماهیان آب شیرین و دریایی در اکثر نقاط دنیا و از کشورهای مختلف شامل آفریقای جنوبی، استرالیا، سنگاپور، انگلیس، نروژ، چین، ترکیه، اسپانیا، ایتالیا و کره جنوبی گزارش شده است (Bromage & Owens, 2009). این بیماری به عنوان بیماری ورشکستگی نامگذاری شده

زیرا در فرم حاد می‌تواند تا ۷۰ درصد تلفات را در ماهیان مبتلا موجب گردد (نامداری و همکاران، ۱۳۸۹،۱۳۸۱، Inlgis *et* ;Yanong & Floyd, 2002; Shoemaker *et al*., 2008, 1993 .(Garcia *et al*., 2008; Romalde *et al*., 2000

طی این تحقیق مشخص شد که ۸ عدد از ۱۷۵عدد بچه ماهی دارای علائم بیماری (۴/۶ درصد) و ۲ عدد از ۳۰۷ عدد بچه ماهی فاقد علائم بیماری (۰/۷ درصد) آلوده به باکتری استرپتوکوک بودند و از طرفی ۲۱ عدد از ۲۳۵ عدد ماهی (۸/۹ درصد) پرواری دارای علائم بیماری و ۵ عدد از ۴۸۳ عدد ماهی پرواری فاقد علائم بیماری (۱ درصد) به باکتری استرپتوکوک آلوده بودند . در مجموع از ۴۱۰ عدد ماهی بیمار (همراه با علائم) فقط در ۲۸ عدد (۷ درصد) ماهیان استرپتوکوکوزیس مشاهده گردید . نتایج این مطالعه با نتایج پورغلام (سالهای ۸۷ و ۸۸) در استان مازندران که از ۷۲ عدد ماهی واجد علایم بالینی تنها از ۵ عدد (۷ درصد) باکتری استرپتوکوک جدا کرد کاملا مشابهت دارد . اما این نتیجه با نتایج نامداری (۱۳۸۱) در استان فارس که از ۲۴۰ نمونه ماهی واجد علایم بالینی تنها از ۲۸ عدد ماهی (۱۳ درصد) باکتری استرپتوکوک جدا کرد، یک اختلاف ۵ درصدی مشاهده می‌شود. در مطالعه‌ای دو ساله روی عوامل رایج استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس در استان فارس از ۴ مزرعه ۶۰۰ عدد ماهی واجد علایم بالینی نمونه‌برداری و از کلیه، مغز و کبد آنها کشت تهیه گردید. در مجموع ۴۸۰ پرگنه مثبت به استرپتوکوکوزیس بدست آمد (۸۰ درصد) که از این تعداد ۳۹۰ نمونه *S. iniae* (۸۲ درصد) و ۹۰ نمونه *L. garvieae* (۱۸ درصد) شناسایی شدند واز طرفی کشت باکتریایی ۲۰ درصد ماهیان واجد علائم منفی بود (Soltani & Tarahomi, 2009). در بررسی تعداد دیگری در استان اصفهان ۷۲ عدد ماهی با وزن ۲۰۰ – ۱۵۰ گرم واجد علایم بالینی از ۶ مزرعه پرورش قزل آلای رنگین کمان نمونه برداری و در آزمایشگاه از بافت‌های ۱۰۰ درصد کلیه و کبد آنها کشت میکروبی انجام دادند. باکتری استرپتوکوکوس جداسازی شد (Mohammadi Arani & Moghdas, 2009) به نظر می‌رسد این نزدیکی درصد حضور استرپتوکوکوزیس در استان مازندران (منطقه هراز) در سالهای۸۷، ۸۸ با سالهای ۹۰ و ۹۱ با اختلاف یک زمان دو ساله به دلایلی مثل درجه حرارت آب، برخی فاکتورهای فیزیکی وشیمیایی آب، عدم تغییر و هر گونه اصلاح در کیفیت آب مورد استفاده رودخانه هراز، عدم استفاده از عوامل پیشگیرانه (محرکهای ایمنی غیراختصاصی و اختصاصی، اصلاح جیره غذایی، عدم اصلاح مدیریت جابجائی تخم، لارو، بچه ماهی و ماهی پرواری) و مدیریت پرورش در بروز استرپتوکوکوزیس باشد و اختلاف در صد کمتر حضور استرپتوکوکوزیس درمنطقه هراز با مزارع استان های فارس و اصفهان به نظر می‌رسد مربوط به درجه حرارت آب مورد استفاده باشد. از آنجایی که در منطقه هراز از آب رودخانه‌ای با رژیم برفی یخچالی استفاده میگردد دمای آب کمتر از آب مصرفی در استان فارس و اصفهان است که معمولا از آب چشمه استفاده می گردد که حداقل چند درجه سانتیگراد با آب رودخانه هراز اختلاف دارد. از عوامل اصلی دیگر اختلاف می‌توان به کاهش دبی آب چشمه‌های مورد استفاده در فصول گرم سال و به دنبال آن کاهش میزان اکسیژن محلول در آب، تغییرات کیفی آب اشاره کرد (نامداری، ۱۳۸۱). نتیجه اینکه در مجموع از ۵۰/۸ درصد ماهیان بیمار دارای علائم و نشانه های بالینی عوامل

باکتریایی جدا سازی شد در حالیکه از ۴۹/۲ درصد ماهیان بیمار با علایم بالینی مشابه، کشت باکتریایی آنها منفی بود. در مجموع بررسیهای کمی انجام شده از کل ۵۰/۸ درصد ماهیان واجد علایم بالینی که کشت باکتریایی آنها مثبت بود تنها ۷ درصد آنها مبتلا به استرپتوکوکوزیس بودند. لذا بر خلاف تصور گذشته این بیماری دیگر یک بیماری تهدید کننده مهم در صنعت آبزی پروری ماهیان سردآبی نمی باشد و با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می رسد که بیشتر باید به مشکلات ایجاد شده ناشی از سایر عوامل مانند یرسینیا راکری توجه گردد. نکته دیگری که باید به آن اشاره کرد عدم جداسازی هر گونه باکتری بیماریزا از ۴۹/۲ درصد بچه ماهیان و ماهیان پروری دارای علائم بالینی بود و این امر باید بیشتر مورد توجه سازمانهای متولی بهداشت این صنعت قرار گیرد

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

- استرپتوکوکوزیس در منطقه هراز در تمام مزارع منتخب مورد بررسی مشاهده گردیده و بروز گسترده ای در منطقه داشته است.
- ماهیان قزل آلای پروری در مقایسه با بچه ماهیان حساسیت بیشتری نسبت به بیماری داشتند.
- دو مزرعه شماره ۱ و ۲ که به شکل مستقل از رودخانه هراز آب می گیرند و با آب خروجی مزارع دیگر ارتباط ندارند، از بیماری ایمن نیستند
- منبع آب مشترک و عدم اصلاح آب خروجی مزارع و ورود مستقیم آن به رودخانه یک عامل اصلی در انتشار و گسترش آلودگی استرپتوکوکوزیس است

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

براین اساس به نظر می رسد که ماهیان پروری و بچه ماهیان به ظاهر سالم که فاقد هر گونه علایم بالینی هستند به عنوان حامل عمل کرده مهمترین نقش در سرایت بیماری ازیک مزرعه به مزرعه دیگر را بازی می کنند و متاسفانه این جابجائی ها بدون انجام هرگونه تمهیدات بهداشتی در منطقه هراز به کرات اتفاق می افتد.

همچنین باید در نظر داشت که ۲/ ۴۸ درصد ماهیان واجد علائم از نظر کشت باکتری منفی بودند ، که باید علل ایجاد کننده این علایم را در مدیریت تغذیه و آب جستجو کرد. هرچند علایم بالینی مشاهده شده در بسیار از مطالعات دیگر نیز آمده است (Yanong & Floyed, 2002; Salvador et al., 2005; Eldar *et al*., 1999; Bromage *et al*., 1999; Bromage & Owens, 2009; Pourgholam *et al*., 2010; Saeedi *et al*., 2009; Soltani *et al*., 2005, 2008; Amal & Zamri-Saad, 2011; اخلاقی و کشاورز، ۱۳۸۱؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۶ ؛ سلطانی و همکاران، ۱۳۸۷؛ نامداری، ۱۳۸۱) لیکن نمی توان صرفا بر اساس علایم بالینی به تشخیص قطعی استرپتوکوکوزیس رسید.

در این مطالعه از ۴۱۰ عدد ماهی پروری و بچه ماهی بیمار (واجد علائم بالینی) مورد بررسی ۲۹ مورد (۷/۲ درصد) و از ۷۱۰ عدد ماهی پروری و بچه ماهی سالم (فاقد علائم بالینی) ۷ مورد (۱ درصد) به باکتری استرپتوکوک آلوده بودند . باکتری استرپتوکوک جدا سازی شده بر اساس تست های بیوشیمیایی و آزمایشات مولکولی استرپتوکوکوس یوبریس (*Streptococcus uberis*) شناسایی گردید . باکتری *S. uberis* از عوامل مهم ورم پستان تحت درمانگاهی در گاوهای شیری است که باعث کاهش شیر می گردد و متاسفانه اطلاعات کمی از بیماریزایی و اپیدمیولوژی این باکتری در دسترس است(Coffy *et al*., 2006). در مطالعه پورغلام و همکاران در سال ۲۰۱۰ از ۷۲ ماهی بیمار واجد علائم در استان مازندران (منطقه هراز) ۵ مورد مثبت (۷ درصد) به باکتری استرپتوکوک و از نوع استرپتوکوکوس فسیوم (*Streptococcus facieum*) را گزارش کردند. نامبرده استرپتوکوکوس یوبریس را با درصد فراوانی ۳۸/۹ درصد به عنوان رایجترین عامل استرپتوکوکوزیس در استانهای چهار محال بختیاری، گیلان، کهکیلویه و بویراحمد، کرمانشاه و فارس گزارش کرده است و از طرفی در سال ۱۳۷۹ قیاسی و همکاران نیز از

مولدین ماهی قزل‌آلای رنگین کمان باکتری استرپتوکوکوس فسیوم (*Streptococcus facieum*) را در منطقه هراز گزارش کرد ندکه نتایج هر دوی این مطالعه با مشاهدات ما ۱۰۰ درصد اختلاف دارد، استرپتوکوکوس یوبریس که در دیگر استانها رایج ترین نوع آلودگی ماهیان سردابی به بیماریهای باکتریایی استرپتوکوکی است، اما چرا این باکتری در مزارع ماهیان سردابی استان مازندرا ن (منطقه هراز) مشاهده شده است ؟ به نظر می رسد نقل و انتقال تخم های چشم زده، لارو، بچه ماهی، ماهیان پرواری، غذا، وسایل حمل و نقل و حتی در مواردی نقل و انتقال مولدین و نیز عدم توجه به قرنطینه، مهمترین عامل نقل و انتقال این آلودگی باشد. در خصوص بیماریزایی این باکتری در ماهیان اطلاعات بسیار اندکی وجود دارد. با توجه به نتایج رگرسیون ، تاثیر گذاری نیتریت بسیار بالا بوده وتقریبا با یک واحد (ppm) میلی گرم در لیتر تغییر، ۲۲برابر در احتمال وقوع بیماری تغییر ایجاد می‌نماید. درصورتی که به ازای هر یک درجه سانتیگراد افزایش دما، یک درجه به بروز بیماری و به ازای هر ۱/۵ واحد کاهش اکسیژن محلول در آب ، یک درجه میزان بروز بیماری تغییر می‌نماید (افزایش مییابد). لذا به طور کلی به نظر میرسد در بروز استرپتوکوکوزیس عوامل مدیریتی و بهداشتی در سطح مزرعه از اهمیت ویژه ای برخوردار بوده وارزیابی آنان بسیار مهم است. بطور کلی نتایج بدست آمده مؤید این مطلب است که عواملی از جمله میزان نیتریت ،درجه حرارت و اکسیژن محلول در آب و نیز ماههای سال (فصول) که باز بیشتر به درجه حرارت مرتبط می شود به میزان ۲۰٪ بروز استرپتوکوکوزیس را تحت تاثیر قرار می دهند. یکی از عوامل مهم و تاثیر گذار در بروز بیماریهای باکتریایی ماهی وجود استرس است که میتواند ناشی از شرایط محیطی باشدکه از جمله می توان به درجه حرارت آب که متاثر از درجه حرارت هوا است اشاره کرد . میانگین درجه حرارت آب مزارع منتخب (جدول ۳) که در چهار فصل مورد بررسی قرارگرفت به غیر از یک مورد (مزرعه ۸) که در تابستان ۱۵/۳ درجه سانتی گراد ثبت گردید در بقیه مزارع بین ۵/۸۷ تا ۱۴/۶ درجه سانتی گراد در نوسان بود، بنابراین درجه حرارت یکی از عوامل محدود کننده استرپتوکوکوزیس در منطقه هراز بوده و درصد آلودگی ماهیان بیمار گواه بر این ادعا است و بر اساس مدل لوجیت به ازای افزایش یک درجه سانتی گراد یک درجه بروز بیماری بیشتر می شود لذا درجه حرارت پایین آب مورد استفاده در منطقه هراز می تواند یکی از عوامل محدود کننده اصلی بیماری مورد نظر باشد. مطالعات دیگر محققین نشان داده است که درجه حرارت بیش از ۱۵ درجه سانتیگراد می تواند با افزایش تکثیر و قدرت بیماری زایی باکتری در انتشار و گسترش بیماری مورد نظر نقش داشته باشد (Eldar & Chittino, 1999). Inglis و همکاران در مطالعات خود در سال ۱۹۹۳ نشان دادند که بین استرس های محیطی به ویژه درجه حرارت آب و فصول سال در بروز استرپتوکوکوزیس ارتباط معنی دار وجود دارد، بطوریکه باعث تلفات ۵۰ درصدی در ماهی می گردد. Sepahi و همکاران در سال ۲۰۱۳ در بررسی اثر درجه حرارت آب بر میزان بازماندگی ماهی قزل آلا در مواجهه با دزهای مختلف باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه در دمای ۱۸ درجه سانتی گراد نشان دادند، که پس از ۲ – ۳ روز علائم بالینی ظاهر شده و میزان بازماندگی با افزایش دز را تا ۱۳ درصد گزارش کردند و حال آنکه در دمای ۱۲ درجه سانتی گراد میزان بازماندگی در مقایسه با دمای ۱۸ درجه سانتی گراد دارای اختلاف معنی داربود و بین ۲ تا ۳ برابر در شرایط یکسان (دز مساوی) میزا ن ماندگاری ماهی در درجه حرارت ۱۲ درجه سانتی گراد بیشتر است. Hamid و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند که بین بروزو شیوع این بیماری با درجه حرارت آب (۱۸ درجه سانتیگراد) رابطه معنی دار وجود دارد. درجه حرارت آب نه تنها در ماهیان سردابی موجب افزایش حساسیت به عفونت استرپتوکوکی میگردد، بلکه در ماهیان گرمابی نظیر تیلاپیا نیز افزایش درجه حرارت و در حرارت بیش از ۳۰ درجه سانتیگراد بروز بیماری و تلفات ناشی ازآن بسیار بیشتر از حرارت زیر ۳۰ درجه سانتیگراد است (Rodkhum *et al*., 2011; Blv & Clem, 1992).

یکی دیگر از عوامل مستعد کننده این بیماری که با حرارت نیز در ارتباط است ، اکسیژن محلول در آب است که با افزایش و کاهش آن رابطه مستقیم دارد . در تمامی فصول مورد بررسی و در تمامی مزارع منتخب، میزان اکسیژن محلول در آب بین ۸/۵ میلی گرم در لیتر در تابستان و ۱۰/۲ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود و این میزان اکسیژن محلول در آب با معیارهای زیست محیطی ماهی قزل آلا برای پرورش منطبق و بسیار مطلوب می باشد (لاوسون، ۱۳۸۰) مطلوب بودن میزان اکسیژن محلول در آب محیط پرورش در منطقه هراز و با استناد به دبی آب مورد استفاده و درجه حرارت کمتر از ۱۵ درجه سانتیگراد آب می تواند از عوامل محدود کننده استرپتوکوکوزیس در این منطقه باشد ، اما بر اساس نتایج آماری به ازای هر ۱/۵ واحد کاهش اکسیزن محلول در آب یک درجه در میزان بروز بیماری تغییر ایجاد شده ، یعنی افزایش می‌یابد . با توجه به ضرایب بدست آمده در معادله مدل لوجیت تاثیرگذاری میزان نیتریت آب بسیار بالا بوده و تقریبا با یک واحد (ppm)

میلی گرم در لیتر تغییر، ۲۲برابر در احتمال وقوع این بیماری تغییر ایجاد می‌نماید و این نتیجه بدست می آید که میزان نیتریت در مقایسه با دیگر پارامترهای تاثیر گذار مثل درجه حرارت آب، میزان اکسیژن محلول در آب و ماهها از تاثیرگذارترین عوامل است که با کنترل این پارامتر می توان با شرایط حاکم بر این منطقه تا ۲۰ درصد از بروز بیماری پیشگیری نمود . میزان نیتریت آب ۱۰ مزرعه منتخب مورد بررسی ۱۰ تا ۱۰۰ برابر کمتر از محدوده حد مجاز با معیارهای زیست محیطی ماهی قزل آلا برای پرورش تعیین گردید (جدول ۳) هر چند که میزان آن برای باکتری استرپتوکوک معلوم نیست اما بالابودن میزان اکسیزن محلول در آب و پایین بود ن درجه حرارت آب در کنترل میزا ن ترکیبات نیتروژنی ازجمله میزان نیتریت موثر است. Inglis و همکاران درمطالعات خود در سال ۱۹۹۳ نشان دادکه بین استرس‌های محیطی به ویژه کیفیت بد آب از نظر میزان نیتریت و آمونیاک رابطه معنی دار وجود دارد . در بررسی های آماری تبیین تغییرات متغییر وابسته (بیماری) از روی متغییرهای مستقل (برخی پارامترهای فیزیکی وشیمیایی آب) در رگرسیون لجستیک ۲۰ درصد گردید. به عبارتی تنها ۲۰ درصد این تغییرات توسط مدل قابل بررسی است و احتمالا عوامل دیگر یا دیگری نیز دخیل هستند که میتوانند این درصد را افزایش دهند . مطالعه حاضر بیانگر این مطلب است که استرپتوکوکوزیس در حال حاضر در شرق استان مازندران بر خلاف انتظار بیماری غالب نبوده و چالش‌های دیگری مثلا بیماری دهان قرمز و بیماریهای غیر عفونی، صنعت آبزی پروری ماهیان سردابی در این منطقه را تهدید می‌نماید که می بایست به شکل جدی مورد مطالعه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه همکاران و مسئولان در مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان دامپزشکی کشور، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، اداره کل دامپزشکی استان مازندران و مزارع تحت بررسی که بدون حمایت‌های ایشان اجرای پروژه امکان پذیر نبود ، قدردانی می‌گردد.

منابع

پورغلام، ر.؛ مکرمی رستمی، ع.؛ سعیدی، ع.،ا.؛ شریف‌پور، ع.؛ غرقی، ا. و پورغلام، ح.، ۱۳۸۹. بررسی اثرات حاد باکتری استرپتوکوکس فسیوم (*Streptococcus faecium*) روی بعضی از بافت‌ها و مشخصه‌های خونی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران. سال نوزدهم، شماره ۲،

قیاسی، م.؛ زاهدی، آ. وخوشباور رستمی، ح.، ۱۳۷۹. بروز اپیدمی استرپتوکوکوزیس (Streptococcosis) در ماهیان مولد قزل آلای رنگین کمان، اولین همایش بهداشت و بیماریهای آبزیان، ۲۷ – ۲۵ بهمن، اهواز، ایران.

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

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

Austin B. and Austin D.A., 1999. Characteristics of the diseases. *In:* Bacterial pathogens: Diseases of farmed and wild fish. Springer-Praxis, Praxis Publishing, Ltd Chichester, UK. pp 13-15.

Austin B. and Austin D., 1993. Bacterial fish pathogens diseases in farmed and wild fish. Ellis Horwood Limited. pp. 27-37 and 70-73.

Baya A.M., Lupiani B., Hetirck F.M., Roberson B.S., Lukacovic R., May E. and Poukish C., 1990. Association of *Streptococcus* sp. With fish mortalities in the Chesapeake Bay and its tributaries. Journal of Fish Diseases,13: 251-253.

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

Blv J.E. and Clem L.W., 1992. Temperature and teleost immune functions. Fish & Shellfish Immunology, 2: 159-171.

Bragg R.R. and Broere J.S.E., 1986. Streptococcosis in rainbow trout in South

Africa. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 6:89–91.

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

Bromage E. and Owens L., 2009. Environmental factors affecting the susceptibility of

Barramundi to *Streptococcus iniae*. Aquaculture, 290:224–228.

Bunch E.C. and Bejerano I., 1997. The effect of environmental factors on the susceptibility of hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* to Streptococcosis. Aquaculture, 49(2):67-76.

Carson J., Judkovs N. and Austin B., 1993. Characteristics of an Enterococcus-like bacterium from Australia and South Africa, pathogenic for rainbow trout, (*Oncorhychus mykiss* Walbaum). Journal of Fish Disease, 16: 381-388.

Coffey T.J., Pullinger G.D., Urwin R., Jolley K.A.,Wilson S.M., Maiden M.C. and Leigh J.A., 2006. First Insights into the Evolution of *Streptococcus uberis*: A multilocus sequence typing scheme that enables investigation of its population biology. Applied and Envir-onmental Microbiology, pp.1420–1428.

Colorni A.A., Diamant A., Eldar A., Kvitt H. and Zlotkin A., 2002. *Streptococcus iniae* infections in Red Sea cage-culture and wild fish. Diseases of Aquatic Organism, 49: 165-170.

Deok-Chan Lee, Jae-LI Lee, Chan-Il Park and Soo-Il Park, 2001. The study on the causal agent of Streptococcusis (*Lactococcus garvieae*) isolated from cultured marine fish. Fish Pathology, 14(2): 71-80.

Eldar A., Horovitcz A. and Bercovier H., 1997. Development and efficacy of a vaccine against Streptococcus iniae infection in farmed rainbow trout. Veterinary Immunology and Immunopathology, 56(1-2): 175-183.

Eldar A., Perl S., Frelier P.F. and Bercovier H., 1999. Red drum *Sciaenops ocellatus* mortalities associated with *Streptococcus iniae* infection. Journal of Diseases of Aquatic Organisms, 36(2): 121-127.

Eldar A. and Ghittino C., 1999. *Lactococcus garvieae* and *Streptococcus iniae* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: Similar, but different diseases. Journal of Diseases of Aquatic Organisms, 36(3): 227-231.

Evans J., Klesius P.H. and Shoemaker C., 2006. Therapeutic and prophylactic immunization against *Streptococcus iniae* infection in hybrid striped bass (*Morone chrysops* & *Morone saxatilis*). Journal of Aquaculture Research, 37: 742-750.

Fevolden S.E. and Pogson G.H., 1997. Genetic divergence at the synaptophysin (Syp I) locus among Norwegian coastal and north-east Arctic populations of Atlantic cod. Journal of Fish Biology, 51(5): 895-908.

Filho C.I., Muller E.E., Pretto-Giordano L.G. and Bracarense F.R.L., 2009. Histological finding of experimental *Streptococcus agalactiae* infection in Nile tilapia (*Oreochromis nilotocus*). Brazilian Journal Veterinary Patology, 2(1): 12–15.

Foo J.T.W., Ho B. and Lam T.J., 1985. Mass mortality in *Siganus canaliculatus* due to streptococcal infection. Aquaculture, 49: 185–195.

Garcia J.C., Klesius P.H., Evans J.J. and Shoemaker C.A., 2008. Non-infectivity of cattle *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquaculture, 281: 151–154.

Ghittino C. and Praero M., 1992. Report of Streptococcusis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Italy: Preliminary

Transactions of the American Fisheries Society, 103: 358-361.

Rodkhum C., Kayansamruaj P. and Pirarat N., 2011. Effect of water temperature on susceptibility to *Streptococcus agalactiae* serotype Ia infection in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). The Thai Journal of Veterinary Medicine, 41(3): 309-314.

Romalde J.L., Lores F., Magarinos B., Barja L. and Toranzo A.E., 2000. Study of cell surface associated virulence factors of *Streptococcus parauberis* strains pathogen for turbot. Bulletin of European Association of Fish Oathology, 20: 244-251.

Saeedi A.A., Pourgholam R., Zahedi A. and Ghiasi M., 2009. Streptococcosis in farmed rainbow trout in some provinces of Iran. Proceedings of the First National Conference on Industrial Economic Fish Diseases for Rainbow Trout Culture. Islamic Azad University of Shahrkord, May 17-18.

Salvador R., Muller E.E., Freitas J.C., Leonhadt J.H., Giordano L.G.P. and Dias J.A., 2005. Isolation and characterization of *Streptococcus* spp. group B in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in hapas nets and earth nurseries in the northern region of Parana State, Brazil. Ciencia Rural Santa Maria, 35: 1374-1378.

Sepahi A., Heidarieh M., Mirvaghei A., Reza Rai G., Mand F. and Sheikhzadeh N., 2013. Effects of water temperature on the susceptibility of Rainbow trout to *Streptococcus agalactiae*. Acta Scientiae Veterinariae, 41(1): 1097P.

Shoemaker C.A., Vandenberg G.W., Désormeaux A., Klesius P.H. and Evans J.J., note. Bolletino Della Societa Italiana di Patologia Ittica, 8: 4–11.

Hoshina T., Sano T. and Morimoto Y., 1958. A Streptococcus pathogenic to fish. Journal of Tokyo University of Fisheries, 44: 57-68.

Inglis V., Roberts R.J. and Bromage N.R., 1993. Chapter 12, Streptococcal Infections. *In:* Bacterial diseases of fish. Halsted Press, John Wiley & Sons, Inc., NY. pp. 196-97.

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

Micheal C., Nougayre`de P., Eldar A., Sochon E. and De Kinkelin P., 1997. *Vagococcus salmoninarum*, a bacterium of pathological significance in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* farming. Diseases of Aquatic Organisms, 30: 199–208.

Mohammadi Arani M. and Moghadas M.B., 2009. Infection of rainbow trout with *Streptococcus* spp. in Isfahan Province. 1st International Congress on Aquatic Animal Health Management and Disease, January 27 – 28 2009, Tehran, Iran. 126 P.

Pasnik D.J., Evans J.J. and Klesius P.H., 2006. Fecal strings associated with *Streptococcus agalactiae* infection in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. The Open Veterinary Science Journal, 3: 6-8.

Perera R.P., Johnson S.K., Collins M.D. and Lewis D.H., 1994. *Streptococcus iniae* associated with mortality of *Tilapia nilotica* × *T. aurea* hybrids. Journal of Aquatic Animal Health, 6: 335–340.

Plumb J.A., Schachte J.H., Gaines J.L., Peltier W. and Carroll B., 1974. *Streptococcus* sp. from marine fishes along the Alabama and northwest Florida coast of the Gulf of Mexico.

2008. Efficacy of a *Streptococcus iniae* modified bacterin delivered using Oralject™ technology in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus.* Aquaculture, 255: 151–156.

Soltani M., Jamshidi S. and Sharifpour I., 2005. Streptococcosis caused by *Streptococcus iniae* in farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Iran: Biochemical characteristics and pathogenesis. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 25: 95-106.

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

Soltani M. and Tarahomi M., 2009. Study of streptococcosis/Lactoccosis in some farmed rainbow trout in Fars Province, Iran. 1st International Congress on Aquatic Animal Health Management and Disease, January 27 – 28 2009, Tehran, Iran. 113P.

Logistic regression of some risk factors underlying the outbreak of streptococcusis in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) farms in Haraz River, Mazandaran Province, Iran

Sepahdari A.[(1)] *; Saeedi A.[(2)];Kakoulaki Sh. [(3)]; Habibi Kotanaee F. [(4)] and Babaalian A.R. [(5)]

asepahdari@yahoo.com

1,3- Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 13185-116 Tehran, Iran

2,4- Caspian Sea Ecology Center, P.O.Box:916 Sari, Iran

5- Iran Veterinary Organization

Received: July 2013 Accepted:December2013

Keywords: Streptococcusis, Risk factors, rainbow trout, Bcterial diseases, Logistic regression, east of Mazandaran Province

Abstract

Streptococcusis is the one of the most important bacterial fish diseases with outbreak in rainbow trout farms in Iran. The fish farmers have been largely suffered from huge economic losses due to the Streptococcusis outbreaks in different rainbow trout farms in Iran. The present study assessed the effects of some environmental risk factors on incidence of streptococcusis in rainbow trout farms in Haraz River in Mazandaran Province, Iran. A suit of environmental factors including water temperature, nitrite, nitrate, ammonium, water turbidity, DO, water Debi and total count of bacteria were explored as influential factors. Fish and water samples were randomly collected from 10 farm on a monthly basis throughout a year. Isolation and recognition of strep strains were made using biochemical and PCR tests and the data were analyzed by logistic regression method. According to the results, 20% of the differences were explained by the logistic model. Management of these factors might decline the rate of disease outbreak.

*Corresponding author