

مطالعه وضعیت ابتلا ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی به استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه در برخی میادین عرضه ماهی تهران و کرج

علی طاهری میرقائد^{۱*}، مهدی سلطانی^۱، زهرا محمودی^۱ و سیدپژمان حسینی شکرابی^۲

۱. گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲. گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: Email: mirghaed@ut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۳/۱۰/۲۰ پذیرش نهایی ۹۵/۳/۱۲)

چکیده

استرپتوکوکوزیس از بیماری‌های مهم و اقتصادی در صنعت آبی پروری به‌ویژه برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان است و سالانه خسارات فراوانی را به این صنعت وارد می‌کند. از سوی دیگر این بیماری یکی از بیماری‌های مشترک بین ماهیان و انسان می‌باشد که موجب بیماری و تلفات انسانی در بین مصرف‌کنندگان ماهیان آلوده می‌شود. در این مطالعه وضعیت آلودگی ماهیان قزل‌آلای پرورشی به استرپتوکوکوس اینیایی (*Streptococcus iniae*) و لاکتوکوکوس گارویه (*Lactococcus garvieae*) عامل بیماری در پنج میدان عرضه ماهی مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور نمونه‌های ماهیان با علائم ظاهری غیرطبیعی از برخی بازارهای فروش ماهی در شهرهای تهران و کرج خریداری و آزمون‌های میکروبی بر روی آن‌ها انجام گرفت. پس از رنگ‌آمیزی گرم و مشاهده کوسی‌های گرم مثبت، گونه‌های باکتریایی با انجام آزمایشات بیوشیمیایی و PCR شناسایی شدند. طبق نتایج به‌دست آمده، از مجموع ۶۴ ماهی مورد مطالعه، ۳۶ مورد (۵۶/۲۳٪) مبتلا به این دو باکتری بیماری‌زا بوده که از این میزان در ۲۱ (۳۲/۸٪) مورد استرپتوکوکوس اینیایی و در ۱۵ (۲۳/۴۳٪) مورد لاکتوکوکوس گارویه جداسازی گردید. بیشترین و کمترین میزان فراوانی ابتلا به استرپتوکوکوس اینیایی به ترتیب در کرج (۱۵/۶۲٪) و کهریزک (۰٪) مشاهده شد. بیشترین و کمترین میزان فراوانی ابتلا به لاکتوکوکوس گارویه نیز به ترتیب مربوط به کرج و شهریار (۷/۸۱٪) و میدان نبی (۱/۵۶٪) بود. نتیجه این مطالعه حاکی از میزان بالای آلودگی ماهیان عرضه شده به استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس می‌باشد و لذا نیازمند مطالعه بیشتر در این زمینه است.

واژه‌های کلیدی: استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوس گارویه، قزل‌آلای رنگین‌کمان، PCR

مقدمه

بیماری استرپتوکوکوزیس یکی از بیماری‌های خسارت‌زا بوده و از جنبه بهداشت عمومی در صنعت آبزی‌پروری نیز حائز اهمیت است. این بیماری یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی در ماهیان آب شیرین، شور و لب‌شور پرورشی می‌باشد به طوری که این بیماری در ژاپن، استرالیا و نروژ مشکل‌ساز بوده و خسارت اقتصادی قابل توجهی را موجب می‌شود. از عوامل مولد استرپتوکوکوزیس (لاکتوکوکوزیس) در آبزیان می‌توان به گونه‌های استرپتوکوکوس اینیایی (*Streptococcus iniae*)، استرپتوکوکوس پارااوبریس، استرپتوکوکوس فکالیس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه، لاکتوکوکوس گارویه و لاکتوکوکوس لاکتیس (*Lactococcus garvieae*) اشاره نمود که تمامی این باکتری قادر به ایجاد عفونت در انسانی می‌باشند. از بین گونه‌های باکتریایی مذکور، دو گونه اینیایی و گارویه از بیشترین فراوانی در مزارع ماهیان پرورشی برخوردارند که علاوه بر ایجاد بیماری در ماهیان، باعث عفونت در مصرف‌کنندگان ماهی‌های آلوده می‌شوند (Soltani et al., 2009).

اولین گزارش‌های انتقال عفونت از طریق مصرف آبزیان به اواخر دهه ۹۰ برمی‌گردد که افراد با مصرف ماهیان مبتلا به پاتوژن‌های مذکور مبتلا به عوارض متعددی از جمله اسهال و استفراغ، سلولیت، کوری و سپتی‌سمی کشنده شدند (Austin and Austin, 2007; Dodson et al., 1999). با توجه به این که این بیماری

در مزارع قزل‌آلای ایران از شیوع بالایی برخوردار است (Soltani et al., 2005; Soltani et al., 2008; Haghighi et al., 2010; Erfanmanesh et al., 2012; Soltani et al., 2012) و نتایج همه این مطالعات بیانگر نقش گونه‌های اینیایی و گارویه به عنوان عوامل اصلی بروز این بیماری در صنعت قزل‌آلای کشور می‌باشد (Agnew and Barnes, 2007). از طرف دیگر ماهیان پرورشی به صورت خام به میادین بازار ماهی عرضه می‌شوند، لذا احتمال صید و عرضه ماهیان مبتلا به عوامل پاتوژن مشترک مذکور بسیار بالاست، چرا که این بیماری به عنوان یک بیماری ماهیان پرورشی با وزن نسبتاً بالا (میانگین وزن ۳۵۰-۳۰۰) شناخته می‌شود (Dodson et al., 1999; Austin and Austin, 2007). علاوه بر این از دیدگاه بهداشت مواد غذایی ماهیان عرضه شده به بازار می‌بایست از بیماری مذکور کاملاً عاری از این قبیل عوامل باکتریایی باشند، به ویژه این که دوز عفونی این باکتری‌ها در انسان مشخص نیست، اما نتایج گزارشات بیانگر این موضوع است که عفونت با کمترین تعداد سلول باکتریایی ایجاد می‌شود (Dodson et al., 1999; Soltani et al., 2008). با توجه به بروز بیماری در ماهیان پرورشی و مشاهده موارد عرضه ماهیان با علائم کوری و سیاه شدن پوست بدن - که از علائم متداول بیماری است - به بازارهای ماهی‌فروشی، احتمال عرضه چنین ماهیانی به بازار وجود دارد، لذا هدف از این مطالعه ارزیابی میزان احتمالی موارد ماهیان بیمار عرضه شده به برخی بازارهای عرضه ماهی در شهرهای تهران و کرج می‌باشد.

مواد و روش کار

- نمونه‌گیری و کشت باکتریایی

برای انجام این مطالعه در فصل تابستان به تعدادی از بازارهای فروش ماهی در تهران و کرج از جمله بازارهای قزل‌قلعه، میدان نبی، جاده ساوه، شهریار و بازار کرج مراجعه و به‌صورت تصادفی تعداد ۶۴ قطعه ۳۵۰ گرم خریداری شدند. نمونه‌ها ترجیحاً از ماهیانی انتخاب شدند که از نظر ظاهری دارای علائم ابتلا به بیماری نظیر کدر شدن چشم، آگزوفتالمی، سیاه شدن پوست بدن در مقایسه با سایر ماهیان بودند. سپس نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انتقال و بلافاصله در شرایط استریل از بافت کلیه (به‌عنوان بهترین بافت برای تشخیص سپتی‌سمی باکتریایی در ماهیان) بر روی محیط آگار خون‌دار کشت داده و محیط‌های کشت در ۲۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۳ روز گرمخانه‌گذاری شدند. از پرگنه‌های رشد یافته ابتدا رنگ‌آمیزی گرم به‌عمل آمد و در صورت مشاهده کوکسی‌های گرم مثبت، نسبت به انجام سایر آزمایشات بیوشیمیایی شامل کاتالاز، اکسیداز، اندول، VP، احیا نیترات، H_2S ، نوع همولیز، رشد در pH برابر با ۵ تا ۹/۵، آلکالین فسفاتاز، گالاکتوز، دی‌گلوکوز، لاکتوز، اوره، آرژنین، آرابینوز، اینوزیتول، مانیتول و سوربیتول اقدام شد (Austin and Austin, 2007). برای تأیید تشخیص از کشت ثانوی پرگنه‌های باکتریایی برای کارهای مولکولی استفاده شد.

- استخراج DNA

برای استخراج DNA از ایزوله‌های باکتریایی، از کیت Biospin Bacteria Genomic DNA Extraction (Bioflux، ژاپن) استفاده شد. برای این کار ابتدا 3×10^9 سلول از باکتری در $100 \mu l$ بافر EL به‌صورت سوسپانسیون در آمده و به‌مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوباسیون گردید. سپس به‌ترتیب مقدار 100 میکرولیتر از بافر RS و 10 میکرولیتر از محلول PK اضافه و پس از مخلوط نمودن، به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. در ادامه مقدار 200 میکرولیتر بافر GA اضافه و پس از مخلوط کردن محتویات تیوب، عمل سانتریفیوژ با شدت $12000 \times g$ به مدت ۱ دقیقه در دمای ۵ درجه سلسیوس انجام و فاز رویی به تیوب‌های $1/5$ میلی‌لیتری انتقال داده شد. مقدار 400 میکرولیتر بافر BA به تیوب اضافه و پس از مخلوط کردن به ستون جداسازی منتقل و به‌مدت ۱ دقیقه با شدت $10000 \times g$ در دمای ۵ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. مایع جمع شده در تیوب دور ریخته شد و 500 میکرولیتر بافر G به ستون فیلتردار اضافه و تحت شرایط فوق سانتریفیوژ و مجدداً مایع جمع شده در تیوب دور ریخته شد. در ادامه 500 میکرولیتر بافر شستشو به ستون فیلتردار اضافه و به مدت ۱ دقیقه با شدت $10000 \times g$ سانتریفیوژ صورت گرفت و مایع جمع شده در تیوب دور ریخته شد. این مرحله ۲ بار تکرار و بعد از آن فیلترهای ستون‌دار به تیوب‌های استریل $1/5$ میکرولیتری منتقل و 100 میکرولیتر شستشو بافر به ستون‌های فیلتردار اضافه و به‌مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق انکوباسیون شد. در نهایت عمل سانتریفیوژ با شدت

نهایی به $25 \mu\text{l}$ توسط آب مقطر استفاده شد. برنامه PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Bio-Rad، آمریکا) به ترتیب شامل واسرشت‌سازی اولیه (یک مرحله به مدت ۳ دقیقه در 94°C) و سپس ۳۵ چرخه شامل واسرشت‌سازی (به مدت ۱ دقیقه در 94°C)، اتصال (به مدت ۱ دقیقه در 56°C برای باکتری لاکتوکوکوس گارویه و 45°C برای استرپتوکوکوس اینیایی) بسط (به مدت ۱/۵ دقیقه در 72°C) و بسط نهایی (به مدت ۱۰ دقیقه در 72°C) انجام گرفت (جدول ۱). محصول PCR با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز گردید و باندهای حاصله با استفاده از GeneDirex, USA) Novel Juice XR – استفاده از دستگاه مستندساز ژل ترانس ایلومیناتور – (Bio-Rad، آمریکا) plus عکس‌برداری شد. از مارکر ۵۰ bp (Fermentas، لیتوانی) به‌عنوان مارکر وزنی استفاده شد (Soltani et al., 2008).

به مدت ۱ دقیقه انجام و ستون‌های فیلتردار دور ریخته شد و بافر حاوی DNA جمع شده در تیوب جهت مطالعات بعدی در دمای -20°C درجه سلسیوس نگهداری شد. کیفیت نمونه‌های DNA با الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ بررسی شد.

آزمایش PCR برای شناسایی ایزوله‌های لاکتوکوکوس گارویه و استرپتوکوکوس اینیایی برای شناسایی ایزوله‌های لاکتوکوکوس گارویه از دو جفت پرایمر (جدول ۱) استفاده شد (Zlotkin et al., 1998; Soltani et al., 2005). مقادیر مورد استفاده برای انجام واکنش PCR شامل $2/5 \mu\text{l}$ بافر ۱۰X PCR (Fermentas، لیتوانی)، $1/5 \text{ U}$ آنزیم پلی‌مراز Dream Taq (Fermentas، لیتوانی)، هریک از پرایمرها به میزان $30 \mu\text{g}$ پیکومول، مخلوط dNTP (0.2mM) (Fermentas، لیتوانی)، به میزان $5 \mu\text{l}$ و از هریک نمونه‌های DNA به میزان 100 ng و رساندن حجم

جدول (۱) - جایگاه، توالی، دمای اتصال پرایمرهای استفاده شده برای شناسایی سویه‌های لاکتوکوکوس گارویه و استرپتوکوکوس اینیایی

منبع	اندازه محصول (جفت باز)	نام پرایمر	نام ژن	توالی پرایمر (5'→3')	سویه باکتریایی
Zlotkin et al, 1998	۱۱۰۰	PLG1 PLG2	16SrRNA	CATAACAATGAGAATCGC GCACCCTCGCGGGTTG	لاکتوکوکوس گارویه
Soltani et al., 2005	۵۱۳	I1 I2	16SrRNA	GTCGTAACAAGGTAAGCCGTATCG CTTACCTTAGCCCCAGTCTAACGAC	استرپتوکوکوس اینیایی

یافته‌ها

نتایج کشت باکتریایی از تعداد ۳۶ نمونه ماهی گردید که در جدول (۲) آمده است.

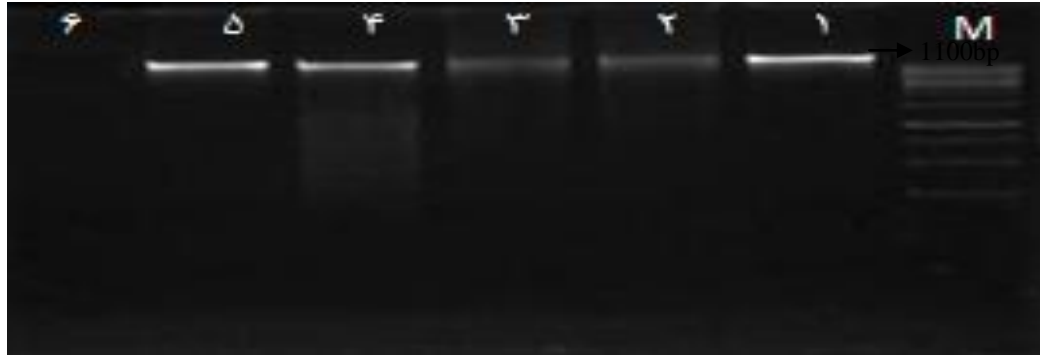
جدول (۲) - نتایج آزمایش‌های بیوشیمیایی مربوط به ایزوله‌های جداسازی شده از ماهیان قزل‌آلای پرورشی

مشخصه	لاکتوکوکوس گارویه	استرپتوکوکوس اینیایی
شکل باکتری	کوکسی تخم‌مرغی	کوکسی
گرم	+	+
کاتالاز	-	-
اکسیداز	-	-
اندول	-	-
VP	+	-
احیای نیترات	-	-
H2S	-	-
نوع همولیز	A	-
رشد در °C ۱۵-۴۰	+	+
رشد در pH ۹/۵-۵	+	+
رشد در ۶/۵٪ نمک	+	-
آلکالین فسفاتاز	-	+
گالاکتوز	+	-
دی گلوکز	+	+
سوربیتول	+	-
لاکتوز	+	-
اوره	-	-
آرژنین	+	+
آرابیتوز	-	-
اینوزیتول	-	-
مانینول	متغیر	+

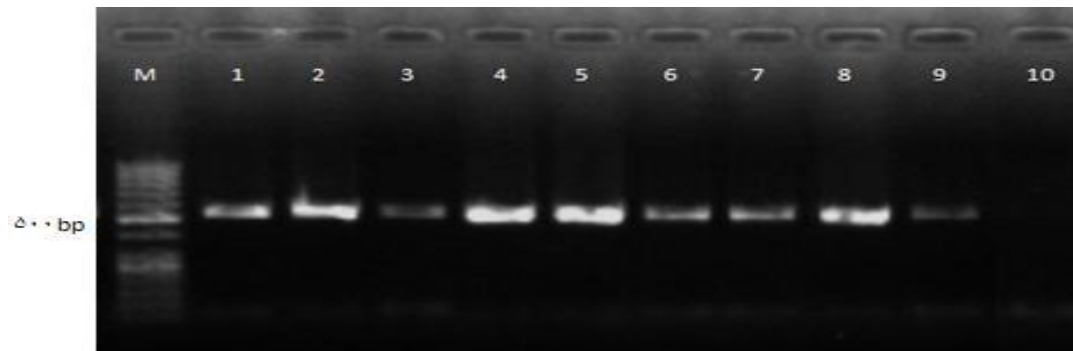
است. فراوانی نسبی موارد مثبت در میادین کرج، شهریار، میدان نبی تهران، میدان قزل‌قلعه تهران و میدان کهریزک به ترتیب ۲۳/۴۳، ۹/۳۷، ۴/۶۸، ۱۰/۹۳ و ۷/۸۱ درصد بود. به علاوه فراوانی نسبی موارد مثبت مبتلا به گونه اینیایی در میادین مذکور به ترتیب ۱۵/۶۲، ۶/۲۵، ۳/۱۲، ۸۱/۷ و برای گونه گارویه ۷/۸۱، ۳/۱۲، ۱/۵۶، ۳/۱۲ و ۷/۸۱ درصد بود. هم‌چنین از کل تعداد ۳۶ مورد

الکتروفورز محصول PCR روی ژل آگارز ۲ درصد بیانگر قطعه ژن تکثیر شده 16S rRNA لاکتوکوکوس گارویه با اندازه باند 1100 bp و قطعه ژن تکثیر شده 16s rRNA استرپتوکوکوس اینیایی با وزن مولکولی ۵۱۳ bp می‌باشد (به ترتیب شکل ۱ و ۲). نتایج حاصل از موارد تأیید گونه‌های اینیایی و گارویه تأیید شده با روش PCR در میادین مختلف در جدول (۳) آمده

ماهی مبتلا تعداد ۲۱ (۳۲/۸٪) مورد به اینیایی و ۱۵ (۲۳/۴۳٪) مورد به گارویه آلوده بودند (جدول ۳)



شکل (۱) - ژل آگارز ۲٪ مربوط به PCR حاصل از DNA ایزوله‌های لاکتوکوکوس گارویه؛ M: مارکر ۵۰ bp، ۱-۴: ایزوله‌های مورد آزمایش؛ ۵: کنترل مثبت (لاکتوکوکوس گارویه Accession No. GQ850376)؛ ۶: کنترل منفی (استرپتوکوکوس اینیایی Accession No. GQ850377)



شکل (۲) - ژل آگارز ۲٪ مربوط به PCR حاصل از DNA برخی ایزوله‌های استرپتوکوکوس اینیایی بدست آمده، M: مارکر ۵۰ bp، ۲-۹: ایزوله‌های مورد آزمایش، ۱: کنترل مثبت (استرپتوکوکوس اینیایی Accession No. GQ850377)؛ ۱۰: کنترل منفی (لاکتوکوکوس گارویه Accession No. GQ850376).

جدول (۳) - درصد فراوانی نسبی موارد مثبت ماهیان مبتلا به گونه‌های استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه در میداین عرضه ماهی

محل نمونه گیری	فراوانی نسبی (%)	
	لاکتوکوکوس گارویه	استرپتوکوکوس اینیایی
کرج	۷/۸۱	۱۵/۶۲
شهریار	۳/۱۲	۶/۲۵
میدان نبی	۱/۵۶	۳/۱۲
قزل قلعه	۳/۱۲	۷/۸۱
کهریزک	۷/۸۱	۰
جمع	۲۳/۴۳	۳۲/۸

بحث و نتیجه گیری

افزایش روزافزون جمعیت جهانی موجب نگرانی‌های زیادی برای تأمین مواد غذایی با کمیت و کیفیت لازم شده است. به‌ویژه تأمین مواد غذایی سالم و عاری از مواد شیمیایی و عوامل بیماری‌زا مورد توجه ملت‌ها و دولت‌ها قرار گرفته است. عوامل بیماری‌زای ویروسی، باکتریایی و قارچی متعددی از طریق مصرف غذاهای آلوده، به انسان انتقال پیدا می‌کنند (Dodson et al., 1999; Aoki et al., 2000; Austin and Austin, 2007). در صنعت آبزی‌پروری نیز برخی از عوامل بیماری‌زا قابل انتقال به انسان بوده که از آن جمله عوامل مولد بیماری‌های استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس است. از زمان اولین موارد گزارش‌های بروز این بیماری در انسان، تا به امروز گزارش‌های دیگری در شرق آسیا مکتوب شده است که از آن جمله بروز بیماری در مصرف‌کنندگان ماهیان مبتلا در تایوان می‌باشد که موجب بروز سپتی‌سمی، کوری، سلولیت، تهوع و مشکلات گوارشی در مبتلایان گردید (Dodson et al., 1999; Agnew et al., 2007). بنابراین توجه به ارتقاء سطح مدیریت بهداشت مزارع ماهیان نه تنها برای جلوگیری از بروز بیماری در ماهیان پرورشی بلکه برای

جلوگیری از عرضه ماهیان مرضی به بازارهای فروش امری ضروری است. با توجه به گسترش وسیع این بیماری در مزارع قزل‌آلای کشور طی سال‌های گذشته و از طرفی با توجه به اینکه این بیماری عمدتاً در ماهیان پرورشی قابل عرضه به بازار ظاهر می‌شود و بسیاری از ماهیان بیمار دچار فرم مزمن بیماری شده به‌طوری‌که تا زمان صید و عرضه به بازار زنده می‌مانند. لذا همواره احتمال عرضه برخی ماهیان مرضی به بازار مصرف وجود دارد (Soltani et al., 2005; Soltani et al., 2008; Haghghi et al., 2010; Erfanmanesh et al., 2012). به‌علاوه از آن‌جایی‌که منابع عوامل باکتریایی مسبب این بیماری متعدد بوده و شامل جانوران خون‌گرم و ماهیان می‌باشند (Agnew et al., 2007; Austin and Austin, 2007)، لذا همواره مزرعه‌داران ماهی قزل‌آلای کشور در معرض این بیماری هستند به‌طوری‌که این عوامل باکتریایی موجب توسعه بیماری در کشور شده است. بر اساس مطالعات سلطانی و همکاران (۱۳۹۳) این بیماری در مزارع قزل‌آلا کشور از شیوع بالایی برخوردار است. فاکتورهای مستعدکننده متعددی در بروز این بیماری در مزارع قزل‌آلا نقش دارند که از آن جمله می‌توان به افزایش دمای آب

استخرهای پرورشی، حضور جانوران خون‌گرم در کارگاه‌های ماهی، عدم رعایت بهداشت فردی کارکنان مزارع ماهی و نفوذ فاضلاب‌های انسانی و کشاورزی به آب‌های پرورشی ماهیان نیز به تشدید این بیماری در کشور کمک زیادی می‌کند. همه این موارد موجب توسعه وسیع بیماری در مزارع قزل‌آلای کشور شده و به همین دلیل اتخاذ روش‌های پیشگیری مانند واکسیناسیون و حذف عوامل مستعد کننده از مهم‌ترین روش‌های پیشگیری از بروز این بیماری‌ها می‌باشد. در ارتباط با عرضه ماهیان بازاری مریض نیز به دلیل عدم فرآوری ماهیان و برخی موارد ذکر شده قبلی احتمال عرضه این‌گونه ماهیان به بازارهای فروش زیاد است. نتایج این مطالعه برای اولین بار نشان می‌دهد که بخشی از ماهیان قزل‌آلای عرضه شده به بازار فروش مبتلا به استرپتوکوکوزیس می‌باشند. انتقال بیماری به افراد انسانی به‌ویژه به صیادان در زمان صید و خانم‌های خانه‌دار در هنگام پاک کردن ماهیان به راحتی اتفاق می‌افتد. هم‌چنین در صورت عدم پخت کامل ماهیان، باکتری از طریق خوراکی موجب بروز بیماری می‌شود و عوارضی مانند سلولیت، کوری، سپتی‌سمی، مننژیت و

مشکلات قلبی و عروقی ایجاد می‌کند (Jose *et al.*, 1998) با توجه به نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌شود تا ضمن جلوگیری از انتقال و عرضه ماهیان بیمار به بازارهای فروش، ساز و کارهای لازم برای جلوگیری از عرضه ماهیان به صورت شکم‌پر و فرآوری نشده به کار گرفته شده و تمامی مزرعه‌داران ماهی ملزم به استخدام کارشناس بهداشتی برای کنترل این‌گونه موارد باشند. از جمله پیشگیری از ورود آب‌های آلوده به مزارع ماهی، جلوگیری از صید و عرضه ماهیان مریض به بازار و جلوگیری از عرضه ماهیان خام در مرکز پخش غذا مطالعات بیشتری نیاز است تا میزان دقیق‌تر عرضه ماهیان بیمار به بازارهای فروش در سایر شهرهای بزرگ کشور تحقیق شود.

سپاسگزاری

بخشی از این مطالعه در قالب حمایت مالی قطب علمی بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشگاه تهران انجام گرفته است.

منابع

- سلطانی، مهدی؛ طاهری میرقائد، علی؛ پیرعلی خیرآبادی، اسماعیل؛ شفیعی، شفیق؛ محمدیان، سمیرا و روح‌الهی، شقایق (۱۳۹۳). مطالعه مولکولی پراکنش بیماری‌های مشترک استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس در مزارع قزل‌آلای رنگین‌کمان استان‌های چهارمحال و بختیاری و کهگیلویه و بویر احمد و تعیین فراوانی نسبی عوامل خطر ساز آن‌ها. مجله تخصصی اپیدمیولوژی ایران، دوره ۹، شماره ۲، صفحات ۵۹-۶۶.
- Agnew, W. and Barnes, A.C. (2007). *Streptococcus iniae*: an aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination. *Veterinary Microbiology*, 122: 1-15.
 - Aoki, T., Park, C.L., Yamashita, H. and Hirono, I. (2000). Species-specific polymerase chain reaction for *Lactococcus garvieae*. *Journal of Fish Diseases*, 23: 1-6.
 - Austin B. and Austin D. (2007). *Bacterial Fish Pathogens. Disease of farmed and wild fish*. Springer Press, pp. 58-63.
 - Dodson, S.V., Maurer, J.J. and Shotts, E.B. (1999). Biochemical and molecular typing of *Streptococcus iniae* isolated from fish and human cases. *Journal of Fish Diseases*, 22: 331-336.
 - Erfanmanesh, M., Soltani, E., Pirali, S.M. and Taherimirghaed, A. (2012). Genetic Characterization of *Streptococcus iniae* in diseased farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Iran. *The Scientific World Journal*, 2012: 594-597.
 - Haghighi, S., Soltani, M., Nikbakht-Brojeni, G., Ghasemi, M. and Skall, H.F. (2010). Molecular epidemiology of zoonotic streptococcosis/lactococcosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) aquaculture in Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, 2 (4): 198-209.
 - Jose, J., Fefer, K.R., Ratzan, S.E. and Enma, S. (1998). *Lactococcus garvieae* Endocarditis: Report of a case and review of the literature. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 32: 127-130.
 - Soltani, M., Nikbakht-Borojeni, G.H., Ebrahimzadeh-Moussavi, H.A. and Ahmadzadeh, N. (2008). Epizootic outbreaks of Lactococcosis caused by *Lactococcus garvieae* in farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Iran. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 5: 209-214.
 - Soltani, M., Jamshidi, S. and Sharifpour, I. (2005). Streptococcosis caused by *Streptococcus iniae* in farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in Iran: Biophysical characteristics and pathogenesis. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 25: 95-106.
 - Soltani, M., Mousavi, H.A. and Mirzargar, S. (2009). Status of aquaculture health management in the Islamic Republic of Iran, 1th international congress on aquatic animal, Tehran, Iran, 27-28.
 - Soltani, M., Pirali, E., Shayan, P., Eckert, B., Rouholahi, S. and Sadr-Shirazi, N. (2012). Development of a reverse line blot hybridization method for detection of some Streptococcal/Lactococcal Species, the causative agents of Zoonotic Streptococcosis/Lactococcosis in farmed fish. *Iranian Journal of Microbiology*, 4(2): 70-74.
 - Soltani, M., Pirali Kheirabadi, A., Taherimirkahed, E., Shafie, S., Mohamadian, S. and Roholahi, S. (2013). Molecular Study of Streptococcosis/Lactococcosis Distribution in Farmed Rainbow Trout in Charmahal-va-Bakhteyari and Kohgiluyeh-va-Boyerahmad Provinces, Iran. *Iranian Journal of Epidemiology*, 9(2): 59-68. [in Persian]
 - Zlotkin, A., Eldar, A., Ghittimo, C. and Bercovier, H. (1998). Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 36: 983-985.

Study of cultured rainbow trout contamination with *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garvieae* in some fish markets of Tehran and Karaj

Taheri Mirghaed, A.^{1*}, Soltani, M. ¹, Mahmoodi, Z. ¹, Hosseini Shekarabi, P.²

1. Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

2. Department of Fisheries Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

* Corresponding Author email: mirghaed@ut.ac.ir

(Received: 2015/10/1 Accepted: 2016/5/22)

Abstract

Streptococcosis is one of the economically important diseases in the aquaculture industry particularly in rainbow trout aquaculture causing remarkable annual losses. Streptococcosis is known as a zoonotic disease causing morbidity and mortality in some consumers. In this study the status of farmed rainbow trout contamination with *Streptococcus iniae* and *Lactococcus garvieae* was assessed. For this reason, during summer months, 64 apparently diseased trout were sampled from fish markets of Tehran and Karaj. Gram staining was performed on grown colonies and then gram-positive cocci were further characterized using biochemical and PCR assays. The obtained results showed that 56.23% (36 samples) of the samples were infected with the both bacterial pathogens. The prevalence of *S. iniae* and *L. garvieae* were 32.8 % (21 samples) and 23.43% (15 samples), respectively. The highest and lowest prevalence rate of *S. iniae* was observed in the samples of Karaj (15.62%) and Kahrizak (0%) markets, respectively. In the case of *L. garvieae*, the highest and lowest rates were obtained in Karaj/Kahrizak (7.81%) and Meidan-Nabi (1.56%) markets, respectively. The results revealed that in some markets, the prevalence of streptococcosis and lactococcosis in cultured rainbow were relatively high. Therefore, it is necessary to conduct further trials.

Keywords: *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garvieae*, Rainbow trout, PCR