

مقاله پژوهشی

بررسی فراوانی و الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های *آئروموناس هیدروفیلا* و *یرسینیا راکری* جدا شده از ماهیان بیمار قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی در استان چهارمحال و بختیاری

نیما پناهی^۱، محسن پورنیا^۲، رضا سلیقه‌زاده^{۱*}، مرجان مسافر^۳

۱- گروه دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

۲- گروه میکروبیولوژی، واحد مسجدسلیمان، دانشگاه آزاد اسلامی، مسجدسلیمان، ایران

۳- گروه بیولوژی دریا، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: rezasalighehzadeh@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۳

DOI: 10.22034/ascij.2023.1975527.1450

چکیده

شناخت میزان مقاومت و حساسیت باکتری‌های مشکل‌ساز مانند *یرسینیا راکری* و *آئروموناس هیدروفیلا* در مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، در انتخاب مناسب و صحیح آنتی‌بیوتیک و کنترل عفونت در استخرهای پرورشی نقش موثری دارد. در این مطالعه، تعداد یکصد قطعه ماهی بیمار از استخرهای پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری شده و پس از انجام تست‌های بیوشیمیایی و خالص‌سازی گونه‌های *آئروموناس هیدروفیلا* و *یرسینیا راکری*، با استفاده از تست PCR با پرایمرهای اختصاصی مورد تایید نهایی قرار گرفتند. حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها با روش انتشار دیسک با کشت بر روی محیط کشت مولر هیتون‌آگار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام جدایه‌های *آئروموناس هیدروفیلا* مشخص نمود که بیشترین مقاومت، مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، کولیستین (۸۰ درصد)، انروفلوکساسین (۸۰ درصد)، فلومکوئین (۸۰ درصد) و پس از آن، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین (۶۰ درصد) و فلورفنیکل (۶۰ درصد) می‌باشد. بیشترین حساسیت جدایه‌ها، مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های تریمتوپریم-سولفامتوکسازول (۶۰ درصد) و فسفومایسین (۶۰ درصد) بود. بررسی نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام جدایه‌های *یرسینیا راکری* نشان داد که بیشترین مقاومت در بین جدایه‌های مورد بررسی، مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، اریترومایسین (۱۰۰ درصد)، تریمتوپریم-سولفامتوکسازول (۱۰۰ درصد) و کولیستین (۸۳/۳۴ درصد) و پس از آن نسبت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین، فلورفنیکل و فسفومایسین مقاومت حدود ۶۷ درصدی را نشان دادند. مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های فلومکوئین، لینکومایسین + اسپکتینومایسین و انروفلوکساسین هم ۵۰ درصد مشاهده شد و این بدین معنی است که هیچ یک از آنتی‌بیوتیک‌های مورد اشاره گزینه‌ی مناسبی برای درمان عفونت باکتریایی حاصل از باکتری *یرسینیا راکری* نخواهند بود. برای جلوگیری از افزایش مقاومت، باید از مصرف بی‌رویه و خودسرانه آنتی‌بیوتیک‌ها ممانعت کرده و قبل از استفاده، کشت باکتریایی و تست آنتی‌بیوگرام صورت گیرد.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، حساسیت آنتی‌بیوتیک، *آئروموناس هیدروفیلا*، *یرسینیا راکری*، استان چهارمحال و بختیاری.

مهم و نسبتاً شایع در بین مراکز پرورش ماهی می‌باشد. این باکتری‌ها علاوه بر بروز برخی بیماری‌های عفونی در بین ماهیان مختلف، در مواردی باعث بروز بیماری در انسان نیز می‌شوند (۸).

با توجه به پتانسیل بالای آبی‌پروری در استان چهارمحال و بختیاری و استفاده غیراصولی برخی از پرورش‌دهندگان از آنتی‌بیوتیک‌ها، این مطالعه به منظور معرفی آنتی‌بیوتیک‌های موثر جهت پیشگیری و کنترل عفونت‌ها و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در گونه‌های *یرسینیا راکری* و *آئروموناس هیدروفیلا*‌های جد شده از ماهیان قزل‌آلای پرورشی استان چهارمحال و بختیاری صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق از ۱۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی مشکوک به بیماری که به آزمایشگاه تشخیصی واقع در مرکز استان (شهرکرد) ارسال شده بودند نمونه‌برداری شد. به منظور نمونه برداری بافتی، شکم ماهی پس از ضدعفونی در کنار شعله باز شده و بافت کلیه قدامی استحصال گردید. بخشی از نمونه‌ی بافتی هر ماهی برای کشت باکتریایی در محیط‌های کشت افتراقی و عمومی آماده‌سازی گردید. تشخیص اولیه‌ی باکتری‌های هدف بر اساس رنگ‌آمیزی گرم منفی، شکل کلنی و برخی خصوصیات بیوشیمیایی صورت گرفت (۴، ۵).

استخراج DNA به روش جوشاندن انجام شد (Holmes and Quigley, 1981). بدین منظور از کلونی تک باکتری‌های مشکوک به جنس *استرپتوکوکوس* و *لاکتوکوکوس*، استخراج DNA صورت گرفت و DNAهای استخراج شده در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. به منظور شناسایی جدایه‌های *آئروموناس هیدروفیلا* و *یرسینیا*

رشد روزافزون جمعیت کشور و افزایش سطح آگاهی افراد از نقش مصرف آبیان بر سلامتی، منجر به افزایش تقاضای آبیان طی دهه‌های اخیر شده است. با توجه به تغییر الگوهای تغذیه‌ای در جهان، رشد سرانه مصرفی ماهی در جهان (۳/۲ درصد) از رشد سرانه مصرفی انواع پروتئین‌های حیوانی (۲/۸ درصد) به استثنای طیور، پیشی گرفته است (۷). افزایش تولید آبیان از طریق افزایش صید و یا گسترش آبی-پروری میسر است؛ از آنجایی که صید بی‌رویه سبب از بین رفتن یا کاهش جمعیت بسیاری از گونه‌های با ارزش آبیان می‌گردد، در ارتباط با افزایش میزان صید آبیان محدودیت وجود دارد، اما وجود منابع بالقوه آب‌های طبیعی و نیمه طبیعی این امکان را در کشور فراهم می‌سازد تا با توسعه آبی‌پروری، تولید پروتئین حیوانی سالم و دارای ارزش غذایی بالا افزایش یابد. اگرچه صنعت آبی‌پروری در ایران طی سال‌های اخیر از رشد قابل توجهی برخوردار بوده است، اما به موازات این توسعه با مشکلات افزایش شیوع بیماری‌ها نیز روبه‌رو شده است (۲).

همواره بهترین سیاست برای جلوگیری از وقوع بیماری، پیشگیری از بیماری است، اما در هنگام شیوع بیماری، معمولترین واکنش، مقابله با گسترش و درمان آن است که معمولاً با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و افزودنی‌های شیمیایی همراه می‌گردد (۹).

مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در مراکز پرورش ماهی، باعث بروز مقاومت‌های دارویی گسترده در میان باکتری‌ها گردیده است. به طوری که گزارش مختلف از جداسازی سویه‌های بسیار مقاوم باکتری‌های بیماری‌زا تاکنون ارائه شده است (۶).

بررسی مطالعات انجام شده نشان داد که باکتری‌های *آئروموناس هیدروفیلا* و *یرسینیا راکری* جزء عوامل

راکری به ترتیب از پرایمرهای زیر استفاده شد:

16S rRNA F:
GAAAGGTTGATGCCTAATACGTA
16S rRNA R:
CGTGCTGGCAACAAAGGACAG
16S rRNA F:
GAAAGGTTGATGCCTAATACGTA
16S rRNA R:
CGTGCTGGCAACAAAGGACAG

پادتن طب ایران سنجیده شد (۳). اطلاعات حاصله به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ آنالیز و با استفاده از شاخص‌های آمار توصیفی و رسم جدول فراوانی جهت به دست آوردن درصد مقاومت در باکتری‌ها ارائه شدند.

نتایج

بر اساس آزمون کشت و تست‌های بیوشیمیایی تفریقی باکتری ۲۳ درصد از نمونه ماهیان بیمار از نظر آلودگی با باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* و ۲۵ درصد آلودگی با باکتری *یرسینیا* را نشان دادند (جدول ۱). نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام بر روی جدایه‌های *آئروموناس هیدروفیلا* تایید شده به وسیله PCR در جدول ۲ نشان داده شده است. بررسی نتایج حاصل از آنتی‌بیوگرام بر روی جدایه‌های *یرسینیا* راکری تایید شده به وسیله PCR در جدول ۳ نشان داده شده است.

این پرایمرها ناحیه ژن *16S rRNA* باکتری‌های *آئروموناس هیدروفیلا* و *یرسینیا* راکری را به طور اختصاصی شناسایی و تولید باند ۶۸۵ و ۵۷۳ جفت بازی می‌نمایند. واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای مربوطه و بر اساس دستورالعمل توصیه شده انجام شد (۴، ۵). محصولات PCR در ژل ۱/۵ درصد و ولتاژ ۱۰۰ به مدت ۱ ساعت الکتروفورز شدند و توسط دستگاه ترانس ایلومیناتور روئیت شدند (۱۰). مقاومت دارویی جدایه‌های حاصل به آنتی‌بیوتیک‌های رایج به روش دیسک‌گذاری در محیط مولر هیتون آگار یا MHA (Mueller-Hinton Agar) با استفاده از دستورالعمل CLSI و دیسک‌های سفارشی شرکت

جدول ۱- نتایج آنالیزهای بیوشیمیایی و کشت صد ماهی بیمار مورد بررسی

تست بیوشیمیایی تفریقی باکتریایی	نتایج رنگ‌آمیزی گرم	کشت بافت فوق کلیه روی محیط Blood Agar	کشت بافت فوق کلیه در محیط TSA
<i>یرسینیا</i> راکری	۵۸ نمونه کوکوباسیل گرم منفی	۷۹ نمونه مثبت	۷۵ نمونه مثبت
۲۵ نمونه	۲۳ نمونه		
(باکتری گرم منفی، کاتالاز مثبت و سیتوکروم اکسیداز منفی)	(باکتری گرم منفی، اکسیداز مثبت، کاتالاز مثبت)		

جدول ۲- مقایسه بین میزان حساسیت جدایه‌های باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه

درصد جدایه‌های مورد بررسی			آنتی‌بیوتیک
مقاوم	متوسط	حساس	
۱۰۰	۰	۰	آمپی‌سیلین
۸۰	۰	۲۰	کولیستین
۸۰	۲۰	۰	انروفلوکساین
۴۰	۴۰	۲۰	اریترومایسین
۶۰	۰	۴۰	فلورفینیکل
۸۰	۲۰	۰	فلومکوئین

فسفومایسین	۶۰	۰	۴۰
لینکومایسین+اسپکتینومایسین (لینکواسپکتین)	۴۰	۲۰	۴۰
تتراسایکلین	۰	۴۰	۶۰
تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول	۶۰	۰	۴۰

جدول ۳- مقایسه بین میزان حساسیت جدایه‌های باکتری یرسینیا راکری به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه

درصد جدایه‌های یرسینیا راکری مورد بررسی			آنتی‌بیوتیک
مقاوم	متوسط	حساس	
۱۰۰	۰	۰	آمپی‌سیلین
۸۳/۳۳	۰	۱۶/۶	کولیسیتین
۵۰	۳۳/۴	۱۶/۶	انزوفلوکساین
۱۰۰	۰	۰	اریترومایسین
۶۶/۶۷	۱۶/۶	۱۶/۶	فلورفیکل
۵۰	۱۶/۶	۳۳/۴	فلومکوئین
۶۶/۶۶	۰	۳۳/۴	فسفومایسین
۵۰	۱۶/۶	۳۳/۴	لینکومایسین+اسپکتینومایسین (لینکواسپکتین)
۶۶/۶۷	۱۶/۶	۱۶/۶	تتراسایکلین
۱۰۰	۰	۰	تری‌متوپریم+سولفامتوکسازول

بحث

گرفتن اثرات سوء آنها، از جمله آلودگی زیست محیطی و تهدید سلامت انسان‌ها، افزایش یافته است. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که مقاومت باکتری‌ها از گذشته تا به امروز رو به افزایش بوده که احتمالاً به دلیل استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف می‌باشد (۱۳).

مطالعات زیادی در خصوص مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جداسازی شده از حیوانات مختلف انجام شده است. اما با توجه به تفاوت نمایی آنتی‌بیوگرام در مناطق مختلف جغرافیایی استفاده از الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی منطقه‌ای در درمان تجربی و اختصاصی ضروریست. در بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *آئروموناس هیدروفیلا*، اقبال و همکاران (۱۹۹۹) عنوان کردند که *آئروموناس*‌های جداسازی شده به اریترومایسین مقاوم و در برابر تتراسایکلین حساس

آبزی‌پروری یکی از منابع مهم تولید غذا برای بشر می‌باشد. در سال‌های اخیر، این صنعت بدلیل شیوع انواع بیماری‌های ویروسی و باکتریایی با مشکل مواجه شده است. افزایش تراکم در استخرهای پرورش ماهی، به منظور تامین نیاز بازار مصرفی، شیوع بیماری در محیط‌های پرورشی را طی سالیان گذشته افزایش داده است به همین دلیل استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های ماهی اجتناب‌ناپذیر است. استفاده از این ترکیبات شیمیایی، در محیط‌های پرورش ماهی به دلیل تماس دارو با محیط و مشکلات ایجاد کننده در سلامت انسان اهمیت خاصی یافته و موجب نگرانی دست‌اندرکاران صنعت پرورش آبزیان و فعالان حوزه‌ی سلامت انسان، در دنیا شده است. متأسفانه در حال حاضر به دلایل نامعلوم کاربرد داروها و مواد شیمیایی بدون در نظر

مطالعات یا بخشی از آنها با نتایج به دست آمده از این تحقیق مطابقت دارد ضمن اینکه نتایج مطالعات مختلف نیز در مواردی یکدیگر را تایید نمی‌کنند. برای توجیه این اختلاف باید گفت همانطور که بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد، باکتری یک گونه ممکن است دارای زیرگونه‌های متعددی باشند ضمن اینکه ممکن است قدرت بیماری‌زایی این باکتری‌ها در منابع مختلف آب با یکدیگر متفاوت باشد. بنابراین فقدان اطلاعات مشخص برای بیان قدرت بیماری‌زایی ارگانسیم‌هایی که در ارزیابی آزمایشگاهی خاصیت ضد میکروبی باکتری، در استخرهای پرورش ماهی یا منابع آبی، مورد استفاده قرار گرفته‌اند را می‌توان یکی از مشکلات موجود دانست.

این مطالعه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، کولیستین، انروفلوکساسین، فلومکوئین را به منظور درمان عفونت ناشی از باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* پیشنهاد نمی‌کند.

آنتی‌بیوتیک‌های تریمتوپریم + سولفامتوکسازول و فسفومایسین را به عنوان آنتی‌بیوتیک‌های کارا و موثر علیه *آئروموناس هیدروفیلا* معرفی می‌کند.

پژوهش حاضر نشان داد که هیچ یک از آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه، اثر بازدارندگی مطلوبی بر رشد باکتری *یرسینیا راکری* نداشتند و صددرد جدایه‌های مورد مطالعه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، اریترومایسین و تریمتوپریم + سولفامتوکسازول مقاومت نشان داشتند و همچنین مقاومت بالای هشتاد درصد از جدایه‌های *یرسینا راکری* در برابر آنتی‌بیوتیک کولیستین، و مقاومت حدود ۶۰ درصدی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین، فلورفنیکل و فسفومایسین مشاهده گردید. درصد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های فلومکوئین، لینکوسپکتین و انروفلوکساسین هم ۵۰ درصد مشاهده شد و این بدین معنی است که هیچ یک از آنتی‌بیوتیک‌های مورد

بودند (۹) که جدایه‌های *آئروموناس هیدروفیلا* بررسی شده در مطالعه‌ی حاضر مقاومت ۴۰ درصدی در برابر اریترومایسین و مقاومت ۶۰ درصدی در برابر تتراسایکلین را نشان داد. در پژوهشی بر روی زخم‌های ماهیان مبتلا به سندرم قرح‌ای همه‌گیر نشان داده شد که باکتری‌های *آئروموناس* جدا شده عمدتاً به پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و اریترومایسین مقاوم بودند که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت (۱۴).

کاسترو-اسکارپولی و همکاران (۲۰۰۳) با مطالعه بر روی استفاده از ۲۳ آنتی‌بیوتیک جهت ارزیابی میزان حساسیت آنها به *آئروموناس*‌ها، نسل اول کوئینولون‌ها را از موثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها علیه *آئروموناس*‌ها معرفی کرد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر در تضاد بود و همانگونه که در بخش نتایج ذکر شد مقاومت ۸۰ درصدی باکتری در برابر فلومکوئین مشاهده گردید. در مطالعه‌ی حاضر مقاومت ۶۰ درصدی جدایه‌های *آئروموناس هیدروفیلا* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و فلورفنیکل مشاهده گردید؛ در حالیکه در مطالعه صورت گرفته توسط محققین مختلف، عنوان شده است که اکثر سویه‌های *آئروموناس هیدروفیلا* به تتراسایکلین حساس می‌باشند.

در پژوهش ارزانی و همکاران (۲۰۱۶) بر روی بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های *آئروموناس هیدروفیلا*‌های جدا شده از استخرهای پرورش ماهی شهرستان تنکابن، مقاومت ۱۰۰ درصدی جدایه‌ها، نسبت به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین را گزارش کردند (۱) که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت؛ البته حساسیت ۱۰۰ درصدی جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین نیز گزارش شد که در مطالعه‌ی حاضر مقاومت ۶۰ درصدی جدایه‌های *آئروموناس هیدروفیلا* به این آنتی‌بیوتیک مشاهده گردید.

از مجموع مطالعات انجام شده در زمینه یافتن آنتی‌بیوتیک موثر، می‌توان نتیجه گرفت که تنها برخی از

نتیجه‌گیری کرد که باکتری‌های *آئروموناس هیدروفیلا* و *یرسینیا راکری* در ایام گرم سال از شیوع بیشتری برخوردار است که لزوم رعایت بهداشت و اعمال اقدامات پیشگیرانه در خصوص جلوگیری از بروز بیماری در این فصول را نشان می‌دهد. همچنین انجام تست‌های آزمایشگاهی و تشخیص دقیق پاتوژن به منظور شناسایی قطعی عامل بیماری‌زا و انجام تست‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی در صورت بروز عفونت‌های باکتریایی، به منظور تجویز درست نوع و دوز آنتی‌بیوتیک مورد نیاز جلوگیری از درمان‌های کور و مشکلاتی که به دنبال استفاده بی‌رویه از داروها به وجود خواهد آمد، الزامی است.

منابع

1. Arzani N., Darvishi H., Sharifian G.H., Rabiepur A. 2016. Evaluation of antibiotic sensitivity of bacteria *Aeromonas hydrophila* fish ponds Tonekabon city. *Iranian Journal of Marine Science and Technology*, 20(79):65-72. (in Persian)
2. Castro-Escarpulli G., Figueras M.J., Castro-Escarpulli G., Soler L., Fernandez Rendon E., Aparicio G.O., Guarro J., Chacon M.R. 2003. Characterisation of *Aeromonas* spp. Isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico. *International Journal of Food Microbiology*, 84(1):41-49.
3. CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. 2007. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement, CLSI document M100-S15, Clinical and Laboratory Standards Institute, Pennsylvania, Wayne.
4. Delcero A., Marquez I., Guijarro J.A. 2002. Simultaneous Detection of *Aeromonas salmonicida*, *Flavobacterium psychrophilum*, and *Yersinia ruckeri*, Three major Fish Pathogen, by multiplex PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(10):5177-5180.

اشاره‌گزینه‌ی مناسبی برای درمان عفونت باکتریایی حاصل از باکتری *یرسینیا راکری* نخواهند بود. مقاومت باکتری *یرسینیا راکری* جدا شده از مزارع پرورش ماهی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکسازین و اکسی‌تراسایکلین گزارش شد (۱۱) که در مطالعه‌ی حاضر مقاومت پنجاه درصدی جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک انروفلوکسازین مشاهده شد.

اورزوا و همکاران در مطالعه‌ی روی بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۱۲ جدایه‌ی باکتری *یرسینیا راکری* از مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، گزارش کردند که این باکتری در برابر آنتی‌بیوتیک‌های فلورفنیکول، اریترومایسین و اکسی‌تراسایکلین مقاوم است (۱۲)، که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعات گذشته و مطالعه‌ی حاضر نشان دهنده‌ی مقاومت باکتری *یرسینیا راکری* در برابر طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های پرمصرف در آبی‌پروری است و این زنگ خطری برای کنترل عفونت‌های حاصله از این باکتری و لزوم توجه سختگیرانه نسبت به سایر روش‌های درمانی و متدهای پیشگیری از انتقال و شیوع این باکتری را نشان می‌دهد. مهمترین روش کنترل و پیشگیری از این پاتوژن‌ها رعایت اصول بهداشتی در طول مراحل مختلف دوره‌های پرورش، توزیع و فرآوری است. اعمال مدیریت مناسب مزرعه‌ای از جمله حفظ کیفیت آب، رعایت موازین بهداشتی، اعمال شرایط قرنطینه‌ای و استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های موثر در دوزهای مناسب جهت کنترل بیماری‌ها، در صورت بروز بیماری، می‌تواند در پیشگیری و کنترل عفونت‌های ناشی از *آئروموناس هیدروفیلا* و *یرسینیا راکری* در ماهیان و عدم بروز مقاومت آنتی‌بیوتیک و انتقال آن به انسان کمک نماید. بر اساس نتایج بدست آمده می‌توان چنین

Bangladesh. *The Journal Promotes Fisheries Science*, 12(1):17-24.

10. Mata A.I., Gibello A., Casamayor A., Blanco M.M., Domínguez L., Fernández-Garayzábal J.F. 2004. Multiplex PCR assay for detection of bacterial pathogens associated with warm-water Streptococcosis in fish. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5):3183-3187.

11. Önalana S., Cevika M. 2020. Investigation of the effects of some phytochemicals on *Yersinia ruckeri* and antimicrobial resistance. *Brazilian Journal of Biology*, 80(4):934-942.

12. Orozova P., Chikova V., Sirakov I. 2014. Diagnostics and Antibiotic Resistance Of *Yersinia Ruckeri* Strains Isolated From Trout Fish Farms In Bulgaria. *International Journal of Development Research*, 5(1):3013-3019.

13. Ranjbar R., Salighehzadeh R., Sharifiyazdi H. 2019. Antimicrobial Resistance and Incidence of Integrins in *Aeromonas* Species Isolated from Diseased Freshwater Animals and Water Samples in Iran. *Antibiotics*, 8:198.

14. Saha D., Pal J. 2002. Invitro antibiotic susceptibility of bacteria isolated from Eus-affected fishes in India. *Letters in Applied Microbiology*, 34(5):311-316.

5. Dorsch M., Ashbolt N.J., Cox P.T., Goodman A.E. 1994. Rapid identification of *Aeromonas* species using *16s rDNA* targeted oligonucleotide primers: a molecular approach based on screening of environmental isolates. *Journal of Applied Microbiology*, 77(6):722-726.

6. Fadaeifard F., Sharifzadeh A., Raissy M., Mazrooi H., Safari S., Moumeni M. 2014. Molecular identification of *Yersinia ruckeri* isolates by polymerase chain reaction test in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *European Journal of Experimental Biology*, 4:1-4.

7. FAO. 2019. Fisheries and Aquaculture Department, Statistics and Information Service Fish StatJ: Universal software for fishery statistical time series. Copyright 2016. Rome. <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/query/en>. (Accessed 30 July 2019)

8. Harikrishnan R., Kim J.S., Kim M.C., Balasundaram C., Heo M.S. 2011. *Lactuca indica* extract as feed additive enhances immunological parameters and disease resistance in *Epinephelus bruneus* to *Streptococcus iniae*. *Aquaculture*, 318(1-2): 43-47.

9. Igbal M.M., Chowdhury M.B.R., Islam M.A., Baqui M., Karim M.R., Tajima K., Ezura Y. 1999. Seasonal fluctuation of motile *Aeromonas* and *Pseudomonas* in cultured pond of *Cirrhinus mrigala* in

The Frequency and Antibiotic Resistance Pattern of *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia ruckeri* Isolated from Diseased Rainbow Trout Cultured in Chaharmahal and Bakhtiari Province

Nima Panahifar¹, Mohsen Pournia², Reza Salighehzadeh¹, Marjan Mosafer³

- 1- Department of Veterinary, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran
- 2- Department of Microbiology, Masjed-Soleiman Branch, Islamic Azad University, Masjed-Soleiman, Iran
- 3- Department of Marine Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Recognition of resistance and susceptibility of problematic bacteria such as *Yersinia ruckeri* and *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout farms, in proper selection of antibiotics and infection control in breeding ponds. It plays an effective role. In this study, 100 diseased fish were collected from rainbow trout farms in Chaharmahal and Bakhtiari province and after performing biochemical tests and purification of *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia ruckeri* species, using PCR test with specific primers were finally approved. Antibiotic susceptibility of bacteria was investigated by disk diffusion method by culture on Müller-Hinton agar medium. Examination of the results of antibiogram of *Aeromonas hydrophila* isolates showed that the highest resistance was related to the antibiotics ampicillin (100%), colistin (80%), enrofloxacin (80%), flumequin (80%) and then, Compared to tetracycline (60%) and fluorophenicol (60%) antibiotics. The most sensitive isolates were related to trimethoprim-sulfamethoxazole (60%) and phosphomycin (60%) antibiotics. Examination of the antibiogram results of *Yersinia ruckeri* isolates showed that the highest resistance among the isolates was related to the antibiotics ampicillin (100%), erythromycin (100%), trimethoprim-sulfamethoxazole (100%) and colistin (83.34%) and then showed about 67% resistance to tetracycline, fluorophenicol and phosphomycin antibiotics. Resistance to the antibiotics flumequin, lincomycin + spectinomycin (lincospectin) and enrofloxacin were also observed to be 50%, which means that none of these antibiotics would be a viable option for the treatment of bacterial infections caused by *Yersinia ruckeri*. In order to avoid growing bacterial resistance and to take the most effective decision in terms of antibiotic therapy, usage of antibiotics without antibiogram must be avoided.

Keywords: *Oncorhynchus mykiss*, Antibiotic Susceptibility, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, Chaharmahal and Bakhtiari Province.