JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره پانزدهم، شماره اول، ۱۳۹۸، پیاپی ۳۸: ۷۴-۶۱

# تعیین فلور باکتریایی خارجی ماهیان بازاری (۳۰۰ تا ۵۰۰ گرم) مزارع پرورشی قزل آلای رنگین کمان در شهرستان آمل

**محمد جواد شکوهیان[۱]، بابک شعیبی عمرانی[۲*]، سهیل علی نژاد[۳]**

۱- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

۲- استادیار گروه بهداشت آبزیان، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

۳- استادیار، موسسه آموزش و ترویج کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ ارسال: ۱۳۹۷/۵/۱۴ تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۱۰/۱۱

**چکیده**

فلور باکتریایی آب و سطح بدن ماهی نقش مهمی در بروز بیماری‌های باکتریایی داشته و بعنوان عوامل بیماریزای ثانویه باکتریایی نامیده می‌شوند. این باکتری‌ها در صورت ایجاد شرایط مساعد ناشی از استرس‌های مختلف فعال شده و می‌توانند تلفات بالایی را ایجاد نمایند. در این تحقیق از سطح بدن (پوست و باله) و آبشش ۷۰ قطعه ماهی قزل آلای رنگین کمان ۳۰۰ تا ۵۰۰ گرمی از ۷ مزرعه پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان واقع در جاده هراز حد فاصل لاریجان-پلور توسط سواپ‌های استریل نمونه‌برداری انجام شد. آب کلیه مزارع از رودخانه هراز تامین می‌شد. سوآپ‌های سطح بدن و آبشش هر ماهی بطور جداگانه در ظروف شیشه‌ای درپوش دار حاوی PBS (Phosphate Buffer solution) استریل به آزمایشگاه حمل شدند و روی محیط‌های کشت TSA (Tryptic Soy Agar)، Plate Count Agar و MacConkey Agar کشت داده شدند. هر کدام از نمونه‌ها در دو پلیتTSA جهت نگهداری در شرایط هوازی و بیهوازی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و یک پلیت مک کانکی فقط در شرایط هوازی جهت اطمینان از عدم حضور باکتریهای گرم منفی کشت داده شد. برای جداسازی باکتری‌های مزوفیل و ساکروفیل از محیط Plate count agar در شرایط دمایی ۱۳ و ۳۷ درجه سانتیگراد استفاده شد. ۹ گونه باکتری از سطح بدن و آبشش ماهیان جدا شد (شامل: *Staph. areus, Staph. saprophyticus, Staph. epidermidis, E.coli, Bacillus cereus, Aeromonas hydrophila, Proteus mirabilis, Pasteurella multocida, Psuedomonas aeruginosa*). باکتری *E. coli* در تمامی نمونه‌های کارگاه‌ها از پوست و آبشش جداشد. درکارگاه‌های مختلف اختلاف معنی‌دار از نظر تعداد گونه باکتری جدا شده بین سطح بدن و آبشش مشاهده نشد ($P>0.05$). بین کارگاه‌های مختلف نیز، اختلاف معنی داری بین نوع باکتری‌های جداشده وجود ندارد ($P>0.05$). بجز باکتری *E. coli* که در همه کارگاه‌ها از پوست و آبشش تمامی نمونه‌ها جدا گردید و نیز باکتری *P. aeruginosa* که از فراوانی منظمی برخوردار نبود، در بقیه موارد درصد آلودگی به گونه‌های جداشده از کارگاه‌های بالادست بسمت پایین از روند افزایشی برخوردار بود. جداسازی این باکتری‌ها می‌تواند نشان از آلودگی آب رودخانه به فاضلاب‌های شهری و خانگی باشد.

***کلمات کلیدی: فلور باکتریایی، پوست، آبشش، قزل آلای رنگین کمان، رودخانه هراز، آمل***

*نویسنده مسئول: بابک شعیبی عمرانی

آدرس: گروه بهداشت آبزیان، واحد کرج، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران. تلفن: ۰۹۱۲۲۸۸۶۸۷۴

پست الکترونیک: babak.shoaibi@kiau.ac.ir

**مقدمه**

با رشد فزاینده جمعیت، تأمین پروتئین حیوانی یکی از ضروریات مبرم جامعه بحساب می‌آید و در این میان پروتئین ماهی جایگاه ویژه‌ای دارد(۱۱). میزان مصرف سرانه آبزیان در کشور از ۷/۳ کیلوگرم در سال ۱۳۹۰ به ۱۱/۲ کیلوگرم در سال ۱۳۹۶ رسیده است که همراه با آن میزان مصرف روزانه آبزیان از ۳/۳۸ گرم به ۶/۰۴ گرم افزایش یافته است در پاسخ به این افزایش مصرف، تولید آبزی پروری نیز روندی افزایشی داشته است. میزان تولید ماهیان سردابی در این بازه زمانی از ۱۰۶۴۰۹ به ۱۶۷۸۳۰ تن رسیده است (۵) عرضه ماهیان پرورشی در کشور عمدتا بصورت تازه می‌باشد. ماهی تازه به دلیل شرایط بدنی محصولی فاسد شدنی است. فساد ماهی ناشی از تغییرات ایجاد شده توسط واکنش‌های بیولوژیکی و فعالیت‌های متابولیکی میکروارگانیزم‌ها است. این محصولات در زمان نگهداری دستخوش تغییراتی می‌شوند و این فعالیت‌ها منجر به کاهش مدت نگهداری ماهی و محصولات آن می‌شوند (۱۵). یکی از علل فساد، فعالیت میکروارگانیزم‌ها می‌باشد. نقش گونه ماهی در فساد ایجاد شده توسط Alsalvar و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز تایید شده است(۱۴). افت کیفیت ماهیان چرب مانند قزل‌آلای رنگین کمان معمولاً توسط میکروارگانیزم‌ها و اکسید شدن چربی‌ها ایجاد می‌شود (۳۳). گوشت ماهیان سالم و یا تازه صید شده به دلیل فعالیت سیستم ایمنی استریل است. بعد از مرگ ماهی به دنبال غیر فعال شدن سیستم ایمنی باکتری‌ها به راحتی تکثیر پیدا کرده و در طی مدت نگهداری به گوشت حمله می‌کنند(۳۵). ۴۰/۵ درصد از تولید غذاهای دریایی بصورت تازه مصرف میشوند(۲۰). غذاهای دریایی تازه، زمان ماندگاری کوتاهی دارند که این مسئله در زمان توزیع آن‌ها مشکلات عدیده‌ای ایجاد می‌کند. بیماری‌های منتقله از مواد غذایی حتی در کشورهای توسعه یافته هم خطری جدی به حساب می‌آیند. بهبود وضعیت پرورش می‌تواند زمان ماندگاری محصول را بالا برده و از ضررهای حاصل از فساد جلوگیری کند و اجازه می‌دهد محصولات به بازارهای دور و جدید وارد شوند (۵۱).

محیط‌های پرورشی بدلیل تراکم بالا همواره در معرض بروز بیماری‌های مختلف عفونی و غیرعفونی می‌باشند. در آبزی‌پروری قسمت مهمی از بیماری‌های عفونی، به بیماری‌های باکتریایی برمی‌گردد. در بین بیماری‌های باکتریایی نیز بیماری‌های ناشی از عوامل باکتریایی ثانویه یا همان فلور باکتریایی از اهمیت بیشتری برخوردارند و عواملی که بعنوان پاتوژن اولیه مطرحند بسیار محدود می‌باشند (۶، ۲۲، ۲۵ و ۴۹) در واقع میکروب‌های عامل بیماری ماهیان یا به طور اولیه بیماری‌زا بوده و یا در شرایط معینی بیماریزا گشته و میزبان خود را مورد حمله قرار میدهند (۲۲). در کارگاه‌های پرورشی، ماهیان همیشه در معرض عفونت‌های گوناگون قرار دارند که اگر کنترل نشوند ممکن است سراسری شده و منجر به مرگ آنها شود. بیماری‌های باکتریایی تلفات شدیدی را در ماهیان وحشی و پرورشی موجب میشوند و می‌توانند به عنوان عوامل تاثیرگذار در دوام و زیست جمعیت‌های ماهیان به حساب آیند (۴۲).

این باکتری‌ها بطور طبیعی در آب و روی بدن ماهی حضور دارند و در صورت ایجاد شرایط مناسب تعدادشان زیاد شده و باعث بروز بیماری می‌شوند. از طرفی بعضی از باکتری‌ها قابل انتقال به انسان بوده و می‌توانند سلامت جامعه را به خطر بیندازند(۱۰).

تولید متراکم ماهی در دنیا احتمال سرایت بیماری‌های عفونی را افزایش داده است(۳۸و ۵۴). یک بیماری زمانی می‌تواند رخ دهد که عامل بیماریزا از موانع اولیه نفوذ کند، سه راه عمده سرایت، عفونت ازطریق پوست(۱۸) آبشش و مجاری گوارشی می‌باشد(۵۳و ۵۵). لذا ارزیابی بار میکروبی بافت‌های مزبور و نیز تابلوی باکتریایی منطقه در مدیریت بهداشتی استخر و کاهش خطرات احتمالی ناشی از آن نقش تعیین کننده‌ای دارد.

میکروارگانیزم‌ها روی کلیه سطوح خارجی بدن (پوست و آبشش) و روده ماهی زنده و تازه صید شده مشاهده می‌شوند. تعداد کل این میکروارگانیزم‌ها بسیار متغیر است. دامنه طبیعی آن‌ها روی سطح پوست $10^{7}$-$10^{2}$ باکتری در هر سانتی متر مربع است (۳۵). بافت آبشش هم، بعنوان یک جایگاه برای تجمع‌های باکتریایی بالا مطرح است و بار باکتریایی آن تا $10^{6}$ در هر گرم می‌باشد(۵۸).

ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) گونه ایی با ارزش تجاری بالا می‌باشد(۱۰). و بدلیل ظاهر بازار پسند، طعم و رنگ گوشت مناسب و قابلیت فیله شدن از مقبولیت بالایی برخوردار است. طبق آخرین سالنامه آماری سازمان شیلات کشور میزان تولید این ماهی در سال ۱۳۹۵، ۱۶۳۳۲۵ تن بوده که در مقایسه با سال ۱۳۸۳ (۳۰۰۰۰ تن) از روند افزایشی قابل توجهی برخوردار بوده است و از پرمصرف‌ترین ماهیان پرورشی داخل کشور بحساب می‌آید (۴و۵).

بیماری‌های عفونی باکتریایی در بسیاری از مزارع پرورشی ماهی یکی از دلایل عمده کاهش میزان تولید می‌باشد(۳۲). استفاده از آنتی بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی برای برطرف نمودن مشکلات آبزی پروری علاوه بر دارا بودن اثرات جانبی و هزینه بالا موجب انباشتگی این مواد در محیط و ماهی می‌شود(۵۶). در حال حاضر جنبه‌های کیفی محیط آبی و مسائل مرتبط با شرایط سلامت ماهیان، از فاکتورهای محدود کننده توسعه بیشتر پرورش آبزیان و ماهیان آب شیرین است(۸).

کیفیت ماهی عرضه شده در بازار به عوامل متعددی از جمله غذای مصرفی، کیفیت آب، شرایط نگهداری و بطور کلی مدیریت بهداشتی مزرعه پرورشی بستگی دارد ( ۳۹و۶۱). امکان انتقال میکروارگانیزم‌های سطوح خارجی بدن ماهی به دستگاه گوارش هم وجود دارد(۵۰) ضمن اینکه در مواردی برخی عوامل بیماریزا در بافتهای ماهی سالم هم یافت شده‌اند مانند *فلاوباکتریوم سایکروفیلوم* عامل بیماری "آب سرد" در آزادماهیان و نیز Rainbow trout fry syndrome که در اندام‌های کلیه، طحال، مغز، مایع تخمدانی، تخمک‌های نابارور و اسپرم ماهی آزاد بالتیک *Salmo salar* سالم یافت شده است (۲۸). گاهی اوقات تجمع باکتریایی می‌تواند در مرحله تخم یا لاروی آغاز شود و با رشد ماهی افزایش یابد(۵۰).

بار میکروبی سطح بدن ماهی متاثر از بار میکروبی آب و رسوبات است (۲۸) و فلور باکتریایی ماهیان تازه صید شده بیشتر از اینکه به گونه ماهی ارتباط داشته باشد به محیطی بستگی دارد که از آن صید شده‌اند. برای مثال ماهیان صید شده از آب‌های خیلی خنک و تمیز تعداد کمتری باکتری حمل می‌کنند در حالی که ماهیان صید شده از آب‌های گرم آلودگی بیشتری دارند (۳۵). با توجه به مزیت منبع آبی زیرزمینی، کارگاه‌هایی که از آب چشمه استفاده می‌کنند از یک فلور تقریبا ثابت در طول سال با بارمیکروبی کمتر برخوردارند و آلودگی کمتری دارند در حالیکه کارگاه‌هایی که در مسیر رودخانه ساخته شده اند تحت تاثیر شرایط حاکم در بالادست رودخانه می‌باشند و نسبت به گروه اول با

تغییرات بیشتری مواجه هستند. به جهت اهمیت موضوع طی مطالعات میکروبیولوژیک متعدد، باکتری‌های سطح بدن ماهیان استخوانی مشخص شده است، که جزو فلور بوده و از باکتری‌های غیراختصاصی به حساب می‌آیند(۲۵). در همین راستا تحقیق حاضر بمنظور بررسی بار باکتریایی و تغییرات احتمالی آن در کارگاه‌های پرورشی مسیررودخانه هراز صورت گرفته است.

## مواد و روش کار

تعداد ۷۰ قطعه ماهی قزل آلای رنگین کمان ۳۰۰ تا ۵۰۰ گرمی‌از ۷ مزرعه پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان واقع در جاده هراز حد فاصل لاریجان با طول و عرض جغرافیایی ′′32.955 ′12 °52 ، ′53 °35 ′′29.842 و پلور با طول و عرض جغرافیایی ′3 °52 ′′22.334 و ′′43.330 ′50 °35 در دامنه ارتفاع ۱۶۱۳ تا ۲۱۸۴ متر از سطح دریا، از بالادست (مزرعه شماره ۱) تا پایین دست (مزرعه شماره ۷) رودخانه با ساچوک استریل صید و نمونه‌گیری از پوست و آبشش ماهی‌ها به شرح زیر انجام شد.

الف) پوست و باله: نمونه گیری با سواپ استریل (مرطوب شده با آب مقطر استریل) ازسطح بدن صورت گرفت. در این مرحله سواپ استریل روی پوست از سر به دم (نواحی مختلف پوست و قاعده باله‌ها) کشیده شد.

ب) آبشش: سرپوش آبششی بدون تماس با سطح آبشش توسط پنس استریل باز شده و بوسیله سواپ استریل نمونه‌برداری از سطح آبشش‌ها صورت گرفت.

سوآپ‌های سطح بدن و آبشش هر ماهی بطور جداگانه در ظروف شیشه‌ای درپوش دار حاوی PBS (Phosphate Buffer solution) استریل به آزمایشگاه حمل شدند و عملیات کشت در زیر هود میکروبیولوژی در کنار شعله روی محیط‌های کشت TSA (Tryptic Soy Agar)، Plate Count Agar و MacConkey Agar ساخت شرکت مرک آلمان صورت گرفت.

هر کدام از نمونه‌ها در دو پلیت TSA جهت نگهداری در شرایط هوازی و بیهوازی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و یک پلیت مک کانکی فقط در شرایط هوازی جهت اطمینان از عدم حضور باکتریهای گرم منفی کشت داده شد.

پلیتهای در نظر گرفته شده جهت بررسی باکتری‌های هوازی بمدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و پلیت‌های بی‌هوازی پس از قرار گرفتن در جار بی‌هوازی حاوی Gas Pack از برند مرک بمدت ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انکوبه شدند.

برای جداسازی باکتری‌های مزوفیل و ساکروفیل از محیط Plate count agar در شرایط دمایی ۱۳ و ۳۷ درجه سانتیگراد استفاده شد.

شناسایی باکتری‌های جدا شده از طریق رنگ آمیزی گرم، تست‌های بیوشیمیایی مانند کاتالاز، اکسیداز، IMViC (تشخیص تفریقی): تریپتیکاز، پپتون براث، MRVP با معرف متیل رد، تحرک، اوره، سیترات سدیم و کشت محیط‌های اختصاصی حاوی رنگدانه اختصاصی کروم آگار صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده با استفاده از آمار توصیفی از نوع همبستگی و رگرسیون مبتنی بر معادلات ساختاری صورت گرفت.

## نتایج

۹ گونه باکتری از سطح بدن و آبشش ماهیان جدا شد. باکتری *E. coli* در تمامی نمونه‌های کارگاه‌ها از پوست و آبشش جداشد (جداول شماره ۱، ۲ و ۳).

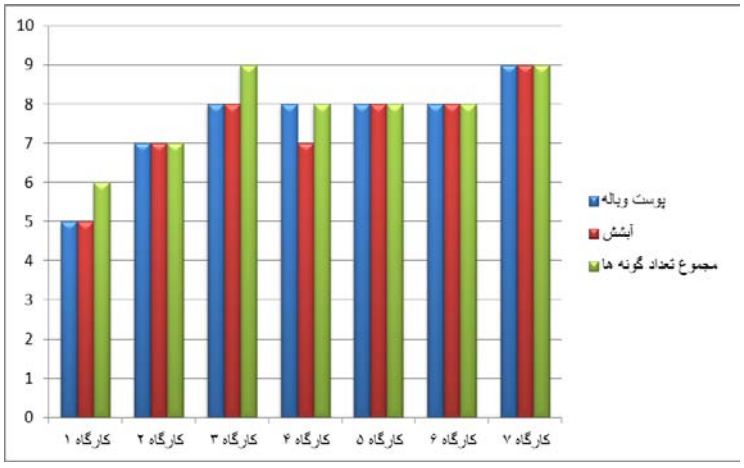
**جدول شماره ۱. باکتری‌های پوست ماهیان به تفکیک کارگاه و رشد در دماهای ۱۳ و ۳۷ درجه سانتیگراد**

| کارگاه ← | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۱۳°c | ۳۷°c |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| باکتری ↓ | | | | | | | | | |
| *E. coli* | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| *Staph. areus* | – | + | + | + | + | + | + | – | + |
| *Staph. saprophyticus* | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| *Staph. epidermidis* | + | + | + | + | + | + | + | – | + |
| *Bacillus cereus* | – | + | + | + | + | + | + | – | + |
| *Aeromonas hydrophila* | + | + | + | + | + | + | + | – | + |
| *Proteus mirabilis* | – | – | + | – | + | + | + | + | + |
| *Pasteurella multocida* | – | – | – | + | – | – | + | + | + |
| *Psuedomonas aeruginosa* | + | + | + | + | + | + | + | + | – |

**جدول شماره ۲. باکتریهای آبشش ماهیان به تفکیک کارگاه و رشد در دماهای ۱۳ و ۳۷ درجه سانتیگراد**

| کارگاه ← | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۱۳°c | ۳۷°c |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| باکتری ↓ | | | | | | | | | |
| *E. coli* | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| *Staph. Areus* | – | + | + | + | + | + | + | – | + |
| *Staph. saprophyticus* | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| *Staph. Epidermidis* | + | + | + | + | + | + | + | – | + |
| *Bacillus cereus* | – | + | + | + | + | + | + | – | + |
| *Aeromonas hydrophila* | + | + | + | + | + | + | + | – | + |
| *Proteus mirabilis* | – | – | + | – | + | + | + | + | + |
| *Pasteurella multocida* | – | – | – | – | – | – | + | – | + |
| *Psuedomonas aeruginosa* | + | + | + | + | + | + | + | + | – |

بالاترین میزان آلودگی از نظر تعداد گونه جدا شده، کارگاه شماره ۷ با ۹ ایزوله و کمترین آن مربوط به کارگاه شماره ۱ با ۵ ایزوله بود. درکارگاه‌های مختلف اختلاف معنی‌دار از نظر تعداد گونه باکتری جدا شده بین سطح بدن و آبشش مشاهده نشد ($P>0.05$). بین کارگاه‌های مختلف نیز، اختلاف معنی داری بین کارگاه‌های پرورش از نظر نوع باکتری‌های جداشده وجود ندارد ($P>0.05$) ( نمودار شماره ۱).




**نمودار ۱. تعداد و مجموع گونه‌های باکتری جداشده از سطح بدن (پوست و باله) و آبشش به تفکیک کارگاه**

باوجود مشابهت زیاد در گونه‌های جدا شده باکتری از ایستگاه‌های مختلف، نمونه‌های هر ایستگاه از نظر میزان آلودگی با گونه‌های مختلف ثبت شده با ایستگاه‌های دیگر متفاوت بودند (جدول شماره ۳). همانگونه که در جدول شماره ۳ مشاهده می‌شود بجز باکتری *E. coli* که در همه کارگاه‌ها از پوست و آبشش تمامی نمونه‌ها جدا گردید و نیز باکتری *P. aeruginosa* که از فراوانی منظمی برخوردار نبود، در بقیه موارد درصد آلودگی به گونه‌های جداشده از کارگاه‌های بالادست بسمت پایین از روند افزایشی برخوردار بود.

**جدول شماره ۳. درصد آلودگی پوست و آبشش ماهیان هر کارگاه به باکتری‌های جداشده**

| شماره کارگاه ← ۱ | | ۲ | | ۳ | | ۴ | | ۵ | | ۶ | | ۷ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| باکتری ↓ | | | | | | | | | | | | | |
| | پوست | آبشش | پوست | آبشش | پوست | آبشش | پوست | آبشش | پوست | آبشش | پوست | آبشش | پوست | آبشش |
| *E.coli* | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *Staph. Areus* | ۰ | ۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۵۰ | ۳۰ | ۵۰ | ۷۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *Staph. Saprophyticus* | ۱۰ | ۱۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۴۰ | ۴۰ | ۹۰ | ۴۰ | ۹۰ | ۹۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *Staph. Epidermidis* | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۴۰ | ۴۰ | ۵۰ | ۵۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *Bacillus cereus* | ۰ | ۰ | ۱۰ | ۱۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۴۰ | ۴۰ | ۴۰ | ۴۰ |
| *Aeromonas hydrophila* | ۱۰ | ۱۰ | ۶۰ | ۶۰ | ۸۰ | ۸۰ | ۸۰ | ۸۰ | ۸۰ | ۸۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *Proteus mirabilis* | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۲۰ | ۲۰ | ۰ | ۰ | ۴۰ | ۴۰ | ۴۰ | ۴۰ | ۵۰ | ۵۰ |
| *Pasteurella multocida* | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۱۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۵۰ | ۵۰ |
| *Psuedomonas aeruginosa* | ۸۰ | ۸۰ | ۶۰ | ۶۰ | ۸۰ | ۸۰ | ۳۰ | ۳۰ | ۹۰ | ۹۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۷۰ | ۷۰ |

## بحث

ماهی قزل آلای رنگین کمان از گونه‌های پرورشی با ارزش تجاری بالا می‌باشد.عوامل متعددی در افزایش یا کاهش تولید این ماهی نقش دارند، یکی از دلایل عمده کاهش تولید، بیماری‌های باکتریایی می‌باشد (۳۲). استفاده از آنتی بیوتیک‌ها معمول‌ترین روش درمان عفونت‌های باکتریایی است که باعث ایجاد مشکلاتی از جمله بروز مقاومت باکتریایی در این حیوانات می‌شود(۵۹). استفاده از آنتی بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی برای برطرف نمودن مشکلات آبزی پروری نسبت به حیوانات خشکی‌زی نیاز به دقت بیشتری دارد. مصرف این ترکیبات علاوه بر دارا بودن اثرات حاشیه‌ای و هزینه بالا موجب انباشتگی مواد شیمیایی در محیط زیست و ماهی می‌شود(۵۶).

قسمت مهمی از باکتری‌های بدن، جزو جمعیت طبیعی میکروارگانیزیمی یا همان فلور می‌باشد. فلور میکروبی موجود در دستگاه گوارش موجودات خشکی و انسان تقریباً ثابت است (۴۵). این در حالی است که در آبزیان به علت خونسرد بودن و تبعیت دمای بدن از دمای آب محیط، فلور میکروبی دائماً در حال تغییر است (۴۰). حضور و فراوانی هر باکتری روی توزیع و فراوانی سایر باکتریها تاثیرگذار است(۲۴). تنوع فلور باکتریایی که شامل عوامل بیماریزای اختیاری نیز می‌باشد، می‌تواند منجربه بروز اپیدمی در جمعیت ماهیان پرورشی شود و هزینه‌های زیادی را به پرورش دهنده تحمیل کند(۲۳). نتایج مطالعات متعدد نشان می‌دهد که ماهیان، جمعیت‌های باکتریایی مختلفی را در پوست، آبشش و دستگاه گوارش خود دارند (۱۶) و اغلب میکروارگانیزم‌های بیماریزای انسان در همین نواحی تجمع می‌یابند(۱). علاوه بر آن، اندام‌های داخلی مانند کبد، کلیه و طحال در یک ماهی سالم نیز می‌تواند حاوی باکتری باشد(۳۶). از طرفی میکروب‌های

ساپروفیت پوست و روده پس از مرگ ماهی به سرعت در بدن نفوذ می‌کنند(۷)، اما در مورد اینکه بافت ماهیچه‌ای واقعا استریل است یا نه جای بحث وجود دارد. دسته‌هایی از این باکتری‌ها مثل سودوموناس‌ها می‌توانند در فساد بافت ماهی از طریق تولید هیستامین نقش داشته باشند(۱۶). وجود عوامل بیماریزای زئونوز در ماهیان قزل آلای رنگین کمان پرورشی پیامدهایی در بهداشت عمومی هم برای مصرف کننده و هم کارگران درگیر با این ماهیان دارد که در اینجا فلور باکتریایی از نظر بهداشت عمومی نیز اهمیت پیدا می‌کند.

علاوه بر آب غذای مصرفی ماهی نیز ازدیگر منابع آلودگی بحساب می‌آید و جمعیت باکتریایی آن می‌تواند روی فلور طبیعی ماهی در حال رشد اثر بگذارد(۲۱و۲۲). غذای تجاری ماهی، در حین حمل و نقل بار میکروبی بالایی را با خود جابجا می‌کند. در زمان غذادهی، ماهی ممکن است غذا را توام با باکتری‌های آب و رسوبات استخر ببلعد و وارد روده کرده و از طریق مدفوع دفع کند(۲۷) به همین جهت بیشترین تنوع فلور باکتریایی در روده‌ها می‌باشد که همانطور که گفته شد آب پیرامون ماهی و غذای مصرفی نقش مهمی در آن دارند (۳۴، ۲۲ و ۵۵). باکتری‌های غالب در خوراک ماهی، شامل جنس‌های *آئروموناس*، *باسیلوس*، *استافیلوکوکوس* و همچنین *سودوموناس* می‌باشند ( ۳۹و۶۱). غذاهای خورده نشده به همراه ضایعات و مواد دفعی موجب کاهش اکسیژن، افزایش آمونیاک آب و کاهش ایمنی بدن ماهی می‌شود. بنابراین حذف این عوامل از آب نقش مهمی در جلوگیری از بروز بیماری‌های باکتریایی دارد(۲۷).

عامل موثر بعدی در فلور باکتریایی، گونه ماهی بوده بطوریکه هر گونه ماهی فلور باکتریایی مخصوص به خود دارد(۲۶) اما نقش و تاثیر محیط برروی فلور باکتریایی پررنگتر از نقش گونه ماهی است (۲۵). فلور میکروبی سطح بدن متاثر از شرایط محیطی بوده و بازتابی از فلور آبی می‌باشد که ماهی از آن محل صید شده است (۱، ۷، ۱۶، ۲۲ و ۲۳). عوامل متعددی مانند شرایط محیط پرورش، تغذیه، نوع گونه و میزان استرس ماهی روی فلور باکتریایی ماهیان مؤثر است (۵۲). در تحقیق Thomas (۲۰۱۴) این موضوع کاملاً مشاهده می‌شود و اختلاف معنی‌داری بین فلور باکتریایی دریاچه آب شیرین و موکوس ماهیان مورد مطالعه (اردک ماهی و ماهی آبشش آبی *Lepomis macrochirus*) ) دیده نشد(۵۷).

به سبب اهمیت موضوع، فلور باکتریایی پوست، آبشش و دستگاه گوارش ماهیان آب شیرین و شور توسط بسیاری از محققین مطالعه شده است (۱۲، ۲۶، ۴۷ و ۵۳). فلورباکتریایی در ماهی عمدتا شامل باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری، میله‌ای گرم منفی، *سودوموناس*، *آلتروموناس*، *مورکسلا*، *آسینتوباکتر*، *فلاوباکتریم*، *سایتوفاگا* و *ویبریو* می‌باشد(۲۵). در ماهیان آب شیرین غالب باکتری‌های فلور، گرم منفی هستند (۲۶). در مناطق استوایی فلور میکروبی ماهی عمدتا شامل *باسیلوس*، *میکروکوکوس* و غالبیت گرم مثبت‌ها مثل کورینه فرم‌ها می‌باشد (۲۲).

دراین تحقیق منبع آبی کارگاه‌های پرورش از رودخانه هراز تامین می‌شد و فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب مانند دما، اکسیژن وpH یکسان بود. همانطور که در بخش نتایج گفته شد، ۹ گونه باکتری از سطح بدن و آبشش ماهیان مورد مطالعه جدا شد ( *E.coli, Staph. areus, Staph. saprophyticus, Staph. epidermidis, Bacillus cereus, Aeromonas hydrophila, Proteus mirabilis, Pasteurella multocida, Psuedomonas aeruginosa*).

*اشریشیا کولای: اشریشیا کولای* بخشی از فلور میکروبی طبیعی روده انسان و بسیاری از حیوانات است. منبع اصلی این گونه در محیط احتمالا آلودگی با مدفوع انسان می‌باشد ولی ممکن است حیوانات به عنوان مخزن نقش داشته باشند(۳). این باکتری مهم‌ترین نشانگر آلودگی‌های مدفوعی بوده(۱۳) و باکتری بیماریزای فرصت‌طلب در مواد غذایی به حساب می‌آید و به عنوان شاخص بهداشتی حائز اهمیت است(۳). در سال‌های اخیر باکتری *اشریشیا کولای* به عنوان عامل اختصاصی بیماری‌های روده‌ای و خارج روده‌ای در انسان(۳) شامل اسهال، اسهال خونی، مسمومیت سراسری بدن و ... شناسایی شده است (۳۰). این باکتری از کلیه نمونه‌ها (پوست و آبشش) در همه استخرها جدا شد. با توجه به توضیحات داده شده این موضوع می‌تواند زنگ خطری دال بر آلودگی آب رودخانه و خطرات احتمالی برای بهداشت عمومی باشد.

*استافیلوکوکوس*: این جنس شامل ۲۳ گونه شناخته شده می‌باشد که ۱۲ گونه آن بخشی از فلور میکروبی طبیعی انسان را تشکیل می‌دهد. سه گونه آن از نظر کلینیکی مهم هستند که عبارتند از *آرئوس، اپیدرمیدیس* و *ساپروفیتیکوس. استافیلوکوکوس آرئوس* گونه بیماریزا بوده ومسمومیت ناشی از آن جزو سه مسمومیت درجه اول در اغلب کشورها بحساب می‌آید. دو گونه دیگر انواع فرصت‌طلب و یا عامل عفونت‌های بیمارستانی می‌باشند. ضمنا از بهترین حمایت کننده‌های غذایی برای این باکتری می‌توان به خود ماهی اشاره نمود(۳). هر سه گونه ذکر شده از همه مزارع مورد بررسی در این تحقیق جدا شدند و میزان فراوانی از یک روند افزایشی از مزرعه ۱ تا ۷ را دارا بود. فقط گونه *آرئوس* از آبشش درمزرعه اول جدا نشد.

در مطالعات مشابه در نقاط مختلف نیز گونه غالب شناسایی شده در این جنس، اپیدرمیدیس بوده است (۴۸).

*باسیلوس سرئوس*: پنج گونه از جنس *باسیلوس* به عنوان عامل مسمومیت غذایی شناخته شده‌اند که *باسیلوس سرئوس* یکی از انواع مهم آن است و عامل اپیدمی‌های گاستروآنتریتی می‌باشد. این باکتری بعنوان بخشی از فلور ناپایدار روده انسان بوده و در روده بیش از ۱۰٪ افراد بالغ سالم موجود است(۳). *باسیلوس سرئوس* جز در مزرعه اول که در بالادست قرار داشت از بقیه مزارع جدا شد. البته میزان آلودگی از مزرعه بالا دست به پایین دست از روند افزایشی برخوردار بود.

*آئروموناس هیدروفیلا*: جنس *آئروموناس* شامل چندین گونه است که اغلب در نمونه‌های کلینیکی تهیه شده از عفونت‌های گاستروآنتریتی انسان جدا شده است(۳). *آئروموناس هیدروفیلا* از گونه‌های مهم این جنس به حساب می‌آید. این باکتری یکی از عوامل بیماریزا در ماهی، لاک‌پشت آبی، قورباغه، حلزون، تمساح و انسان خصوصاً در افراد با ضعف سیستم ایمنی به شمار می‌آید. البته سویه‌های حدت داری از این گونه شناسایی شده اند که خاصیت آنتروتوکسینی، سیتوتوکسینی و همولیتیک دارند (۳). *آئروموناس*ها از غالب‌ترین باکتری‌هایی هستند که نسبت به مواد آنتی‌باکتریالی که موکوس تولید می‌کند مقاومند. مقایسه بین باکتری‌های غالب در نمونه‌های بدست آمده از ماهی تیلاپیا و آب نشان داد که *آئروموناس* و *استرپتوکوکوس* در این دو نمونه از فراوانی بیشتری برخوردارند. منابع آب و رسوبات استخر می‌توانند بعنوان یک مخزن باکتریایی جهت انتقال آن به ماهی و حتی برخی اندام‌ها عمل کنند (۲۷). البته حضور *آئروموناس*ها در آب شاخص آلودگی یا تمیزی

نیست(۳۲). *آئروموناس*ها و *سودوموناس*ها به فراوانی و بکرات از نمونه‌های آبشش و روده جدا شده اند(۴۸).

*آئروموناس هیدروفیلا* شاید یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های فرصت‌طلب ماهیان آب شیرین و مصبی باشد، که می‌تواند بعنوان عامل اولیه عفونت‌های ماهی و یا پاتوژن ثانویه جداسازی شود (۴۴). این باکتری از هر ۷ ایستگاه جدا شد و فراوانی آن از ۱۰٪ در مزرعه ۱ شروع و در مزرعه ۶ و۷ به ۱۰۰٪ رسید. با توجه به فرصت‌طلب بودن این باکتری در ایجاد بیماری، هر گونه سهل‌انگاری در مدیریت بهداشتی می‌تواند منجر به بیماریزا شدن آن خصوصاً در استخرهای پایین دست رودخانه شود.

*پروتئوس میرابیلیس*: جنس *پروتئوس* بعنوان یکی از علل عفونت‌های پلک چشم انسان مطرح است. *پروتئوس میرابیلیس* جزو باکتریهای طبیعی دستگاه گوارش بوده و ازگونه‌های معمول شناسایی شده درآزمایشگاه‌های بالینی است(۳۶). *پروتئوس میرابیلیس* و *ولگاریس* با گستردگی بالایی بعنوان پاتوژن انسانی بحساب می‌آیند(۴۳).

*پاستورلا مولتوسیدا* : جنس *پاستورلا* جزو فلور طبیعی مجاری تنفس و گوارش بسیاری از گونه‌های حیوانات اهلی، وحشی و ماکیان می‌باشد. *پاستورلا مولتوسیدا* شایع‌ترین گونه در میان پاستورلاها بوده که از زخم‌های ناشی از گازگرفتگی حیوانات، ترشحات تنفسی بیماران مبتلا به پنومونی و همچنین از مایع مغزی- نخاعی، آبسه و بیوپسی از بیماران استئومیلیت جدا شده است(۱۷). این گونه، بصورت عامل اولیه یا ثانویه برای میزبان‌های متعددی بیماریزاست. شایع‌ترین تظاهر آن سلولیت است که متعاقب گاز گرفتگی سگ یا گربه (شایع‌تر) ایجاد می‌شود (۴۳).

*سودوموناس آئروجینوزا*: یک باکتری محیطی است و امکان دارد از مدفوع انسان و حیوانات جدا شود، ضمن اینکه به عنوان یک پاتوژن فرصت‌طلب مورد توجه می‌باشد (۳). میزان فراوانی *سودوموناس*ها در آب استخرپرورش قزل آلای رنگین کمان نسبت به سایر باکتری‌ها از نوسانات بیشتری برخوردار است که این خود ناشی از عواملیست که بعلت تغییرات فصلی رخ میدهند(۲۷ و ۴۸). ماهی هنگام تنفس حجم زیادی آب را از آبشش خود عبور می‌دهد، بخاطر نقش فیلتراسیون آبشش، اغلب باکتری‌ها به دام افتاده و باکتری‌هایی نظیر *سودوموناس*، *آئروموناس* و *استرپتوکوکوس* که در شرایط پراکسیژن می‌توانند زنده بمانند در این مناطق یافت شده و تکثیر می‌یابند (۲۷)، اما در تحقیق حاضر اختلافی بین آلودگی پوست و آبشش از این لحاظ مشاهده نشد. این باکتری نیز از همه مزارع جدا شد و مانند بقیه گونه‌های شناسایی شده میزان آلودگی در پوست و آبشش یکسان بود. نکته جالب در مورد این باکتری اینکه بر خلاف سایر گونه‌های جدا شده از روند افزایشی از استخر بالا دست به پایین دست برخوردار نبود و هیچ نظمی در میزان فراوانی آن مشاهده نمی‌شود.

باکتری‌های غالب در آبشش شامل گونه‌های جنس *سایتوفاگا* *Cytophaga* spp (۵۸)، *آئروموناس*، کورینه فورم، آنتروباکتر، کوکسی‌های گرم مثبت، *سودوموناس* و *ویبریو* هستند که از آبشش ماهیان جوان و سالم قزل‌آلای رنگین کمان نیز جدا شده‌اند(۴۸). باکتری‌های ذکر شده در مواردی با گونه‌های جدا شده در تحقیق حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه Salgado-Miranda و همکاران (۲۰۱۰) باکتری‌هایی نظیر گونه‌های *آئروموناس* مانند *هیدروفیلا*و *سالمونیسیدا* و گونه‌های جنس *سودوموناس*

مثل *آئروجینوزا* از کبد و طحال نیز جدا گردید. چنین نتایجی می‌تواند نشاندهنده آن باشد که این باکتری‌ها می‌توانند حتی بافت‌های عمقی‌تر ماهیان ظاهرا سالم را آلوده کنند(۲۳). سویه‌های این باکتری‌ها را می‌توان بعنوان عواملی که پتانسیل ایجاد بیماری را دارند، درنظر گرفت (۳۷ و ۶۰). البته حضور این باکتریها لزوما نشان‌دهنده ایجاد بیماری نیست.

لاوری و اسمیت (۲۰۰۷)، نشان دادند که باکتری‌هایی که بعنوان عوامل زئونوز مطرحند، می‌توانند حین صید، جابجایی و عرضه آبزیان گسترش یابند. بهمین جهت باید به پرورش دهندگان و افرادیکه بنحوی با این امور سروکاردارند، آموزش‌های لازم داده شود تا در پیشگیری و کاهش انتشار پاتوژن‌ها در داخل کارگاه پرورش نقش موثر داشته باشند(۴۱). از آنجائیکه درصد قابل توجهی از باکتری‌های شناسایی شده در این تحقیق، از این گروه بودند این مسئله در این منطقه اهمیت بیشتری پیدا می‌کند.

در تحقیق حاضر هیچگونه باکتری بی‌هوازی جدا نشد، که با نتایج تحقیق Nedoluha و Westhoff (۱۹۹۷) مطابقت دارد.

درنهایت، افزایش بیش از حد بار میکروبی در استخرهای پرورشی می‌تواند منجر به بروز بیماری و وادار شدن پرورش دهنده به مبارزه با آن شود. عدم شناخت کافی پرورش دهندگان و دست اندرکاران آبزی پروری با داروها و ترکیبات ضدعفونی کننده در سطح کشور، نبود منابع و اطلاعات مناسب از یک سو و مصرف داروها و ترکیبات شیمیایی مختلف مجاز و غیرمجاز به مراکز آبزی پروری از سوی دیگر، مشکلات اساسی را به دنبال داشته است(۱۱). اغلب آبزی پروران برای مقابله با این عفونت‌ها از آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌کنند که روش مناسبی حداقل در ابتدای کار نیست(۱۶). استفاده غیر اصولی از ترکیبات ضدباکتریایی، ضدعفونی کننده‌ها، سموم و غیره می‌تواند خطرات جدی را برای مصرف کننده انسانی، ماهی و محیط زیست به وجود آورد(۹). هم اکنون ضدعفونی کننده‌های شیمیایی مجازمانند فرمالین، سولفات مس، هالامید، دی اکسید کلر و غیرمجاز (مالاشیت گرین) برای کنترل آلودگی‌های باکتریایی و قارچی در پرورش ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرند. علاوه بر خاصیت ضدعفونی کننده‌ای که این مواد شیمیایی دارند، ممکن است به دنبال انتشار این ترکیبات در طبیعت، اثرات نامطلوبی بر روی سایر موجودات آبزی و زیستگاه‌های آنها داشته باشند(۱۹، ۲۹ و ۴۶). به همین جهت و باتوجه به اهمیت فلوردر بروز و شیوع بیماری‌های باکتریایی اگزوتیک و آندمیک و نیز بحث بهداشت عمومی، پیشنهاد می‌شود مطالعات اپیدمیولوژیک بیشتری با فواصل زمانی مشخص و در مناطق مختلف جهت تعیین تابلوی باکتریایی منابع آبی صورت گیرد و هویت ژنتیکی فلور باکتریایی با روش‌های تشخیص مولکولی مشخص شود(۲۳) تا بتوان با استفاده از راهکارهای مدیریتی کنترل لازم را اعمال نمود که حاصل آن تشخیص سریعتر بیماریهای باکتریایی و مصرف کمتر انواع داروها و ترکیبات شیمیایی خواهد بود که از یک سو موجب افزایش تولید و سوددهی واز سوی دیگر حفظ محیط زیست می‌گردد.

## منابع

۱. بحری، ا.ه.، فلاح، ف.، یاسمی فر، پ. وآفتاب سوار، ی. (۱۳۹۴). بررسی باکتریولوژیک فلور طبیعی پوست و آبشش در ماهی شورت *Sillago sihama* ( و ارتباط آن با آلودگی سواحل بندرعباس )شمال خلیج فارس. مجله آبزیان و شیلات سال ششم، شماره ۲۳ پاییز ۹۴.

۲. خورشیدی، ز.، کلباسی، م.، بهروزی، ش.(۱۳۹۴). بررسی تغییرات فلور باکتریایی روده و پوست ماهی کپورعلفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) تحت تاثیر نانوذرات نقره کلوئیدی. فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان. سال سوم، شماره چهارم، ۹۴-۷۹

۳. رضویلر، و. (۱۳۹۵). میکروبهای بیماریزا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت‌های غذایی، ناشر : دانشگاه تهران

۴. سالنامه آماری سازمان شیلات ایران. ۱۳۹۲ -۱۳۸۲. (۱۳۹۳). تهیه و تدوین: دفتر برنامه و بودجه، واحدآمار و مطالعات توسعه شیلاتی، سازمان شیلات ایران .

۵. سالنامه آماری سازمان شیلات ایران ۱۳۹۶-۱۳۹۱. (۱۳۹۷). تهیه و تدوین: دفتر برنامه و بودجه، واحدآمار و مطالعات توسعه شیلاتی، سازمان شیلات ایران .

۶. سلطانی، م.، شریف پور، ع.، قیاسی، م. (۱۳۸۲). جداسازی و شناسایی عوامل بیماریزای باکتریایی در ماهی. انتشارات بین الملل شمس. ۹۲ صفحه

۷. سهیل نقشی، س.، زمینی، ع.، شناورماسوله، ع.، پورعلی فشتمی، ح.، یزدانی سادات، م.، روشن ضمیر، ن. (۱۳۹۱). اثرات ماده ضدعفونی کننده‌هالامید بر روی بار باکتریایی پوست و آبشش بچه تاسماهیان ایرانی ( *Acipenser persicus*) مجله توسعه آبزی پروری، سال ششم، شماره ۱، ۶۵-۵۷

۸. شریف روحانی، م. (۱۳۷۴). تشخیص، پیشگیری و درمان بیماری‌ها و مسمومیت‌های ماهی (ترجمه)، انتشارات معاونت تکثیروپرورش آبزیان شیلات ایران، ص ۲۵۶.

۹. فاطمی، س.ا.، میرزرگر، س.س. (۱۳۸۶). فارماکولوژی کاربردی ماهیان. انتشارات دانشگاه تهران، ۶۲۴ صفحه.

۱۰. قلجایی فرد، ا.، خارا، ح.، شناور ماسوله، ع. (۱۳۹۵). اثر باکتری *Lactobacillus plantarum* (*KC426951*) جداسازی شده از روده قزل آلای رنگین کمان استان گیلان بر فاکتورهای رشد، فلور باکتریایی روده وترکیب شیمیایی لاشه بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

۱۱. مشتاقی، ب.، خارا، ح.، پژند، ذ.، شناور ماسوله، ع.، فتح الهی، ر. (۱۳۹۳) اثرات سولفات مس و پرمنگنات پتاسیم بر بار باکتریایی آب، پوست و آبشش بچه تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus*، اقیانوس شناسی، سال پنجم شماره ۱۹، ۱۳۰-۱۲۵

۱۲. مطلبی، ع (۱۳۸۹) بهداشت وصنایع موادغذایی دریایی انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران ۴۶۵ صفحه

۱۳. ملک زاده، ف .و شهامت، م. (۱۳۷۱). میکروبیولوژی عمومی .انتشارات شهر آب .چاپ دوم 692 .صفحه.

14. Alsalvar C., Shahidi F., Miyashita K., Wanasundara U. (2011). Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Application, Wiley Blackwell, 226 pp.

15. Arashisara S., Hisara O., Kayab M., Yanik T. (2004). Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) fillets. *International Journal of Food Microbiology* **97**: 209–214.

16. Austin, B. (2006). *The Bacterial Microflora of Fish, Revised*, *The Scientific World Journal* **6:** 931–945.

17. Baron, E. J., Finegold, S.M. (1990). Diagnostic Microbiology: Textbook for the Isolation and Identification of Pathogenic Micro-organisms 8th Edition, Mosby. 861 pp.

18. Birkbeck, T.H., Ringo, E. (2005). Pathogenesis and gastrointestinal tract of growing fish. In: Holzapfel, W.; Naughton, P. (Eds): Microbial Ecology in Growing Animals. Elsevier, Edinburgh, UK, pp.208-234.

19. Boyd, C.E., Massut, L. (1999). Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture. *Aquaculture engineering* **20**: 113-132.

20. Boziaris, I.S. (2014). Seafood Processing Technology, Quality and Safety, Wiley Blackwell, UK. 488p.

21. Burr, G., Gatlin, S., Ricke, S. (2005). Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society* **36**:425–436.

22. Cahill, M. M. (1990). Bacterial flora of fishes: A Review. *Microbial Ecology* **19**: 21–41.

23. Celene Salgado-Miranda, Elizabeth Palomares, Mirsam Jurado, Ai´Damari´n, Fernando Vega, Edgardo Soriano-Varga (2010). Isolation and Distribution of

Bacterial Flora in Farmed Rainbow Trout from Mexico. *Journal of Aquatic Animal Health* **22**: 244–247.

24. Cipriano R.C., Dove A. (2011). Publication of an organizationother than the U.S. Geological Survey. Cipriano, RC, Bruckner, AW. Shchelkunov, IS. (Ed) Far From Superficial: Microbial Diversity Associated with the Skin and Mucus of Fish. Khaled bin Sultan Living Oceans Foundation publisher. Landover, USA. 156-167
25. Crouse-Eisnodr, R. A., Cone, D. K., Odense, P. H. (1985). Studies on relations of bacteria with skin surface of *Carassius auratus* and *Poecilia reticulate*. *Journal of Fish Biology* **27**: 395-402.
26. Diler, O., Altun, S., Çalikusu, F., Dilera, A. (2000). A Study on Qualitative and Quantitative Bacterial Flora of the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Living in Different Fish Farms. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* **24**: 251–259.
27. Ekpo I.A., Agbor R.B., Osuagwu A.N., Ekanem, A.P., Okpako, E.C., Ekanem, B.E. (2013). Relationship between bacteria associated with fish pond sediment, water and the fish, *Journal of current research in science* **1:** 50-54.
28. El-Shafai, S.A., Gijzen, H.J., Nasr, F.A., El-Gohary, F.A. (2004). Microbial quality of tilapia reared in fecal contaminated ponds. *Environmental Research* **95**: 231–238.
29. Erondu, E.S.; Ayanwu, P.E. (2005). Potential hazards and risks associated with the aquaculture industry. *African Journal of Biotechnology* **4**: 1622-1627.
30. Fleisher, J.M., Kay, D., Wyer, M.D., Godfree, A.F. (1998). Estimates of the severity of illnesses associated with bathing in marine recreational waters contaminated with domestic sewage. *International Journal of Epidemiology* **27**: 722-727.
31. Gonzalez, C.J., Santos, J.A., Garcia-Lopez, M.L., Gonzalez, N., Otero, A. (2001). Mesophilic aeromonads in wild and aquacultured freshwater fish. *Journal of Food Protection* **64**: 687–691.
32. Gosh, K., Sen, S.k., Ray, A.K. (2002). Growth and survival of Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) spawn fed diets supplemented with fish intestinal microflora. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* **32:** 83- 92.
33. Gram L., Wedell-Neergaard C. and Huss, H. H. (1990). The bacteriology of fresh and spoiling Nile perch. *International Journal of Food Microbiology* 10, 303–316.
34. Horsley, R.W. (1973). The bacterial flora of the Atlantic salmon (*Salmo salar*) in relation to its environment. *Journal of Applied Bacteriology* **36:** 377–386.
35. Huss, H.H. (1995). Quality and Quality Changes in Fresh Fish. FAO Fisheries Technical Paper. No. 348, Rome. 195p.
36. Jorgensen, J.H., Pfaller, M.A. (2015). Manual of Clinical Microbiology (2 vol) 11th Edition, ASM Press. Washington DC. 2892 pp.
37. Joseph, S.W., Carnahan, A. (1994). The isolation, identification, and systematics of the motile Aeromonas species. *Annual Review of Fish Diseases* **4:** 315–343.
38. Karunasagar, I., Karunasagar, I. (1999). Diagnosis, treatment and prevention of microbial diseases of fish and shellfish. *Current Science* **76:** 387–399.
39. Kitao, T., Aoki, T. (1976). Microbial flora of artificial fish diets. *Fish Pathology* **10:** 181–185.
40. Lesel, R., (1990). Thermal effect on bacterial flora in the gut of rainbow trout and African catfish. In: Lesel, R. (Ed) Microbiology in Poecilotherms. Elsevier, Amsterdam, pp. 33-38.
41. Lowry, T., Smith, S.A. (2007). Aquatic zoonoses associated with food, bait, ornamental, and topical fish. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **231:** 876–880.
42. Mac Fariane, R.D., McLaughlin, J. J., Bullock, G. L. (1986). Quantitative and bass from estuarine and coastal marine environments. *Journal of wildlife Diseases* **22:** 344-348.
43. Mahon, Connie R., Lehman D.C., Manuselis G. (2007). Textbook of Diagnostic Microbiology, 3rd Edition, Saunders; St Louise, MO.
44. Mittal, K.R., Lalonde, G., Leblanc, D., Oliver, G., Lallier, R. (1980). *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout: relation between virulence and surface characteristics. *Canadian Journal of Microbiology* **26:** 1501-1503.

45. Moriarty, D.J.W. (1990). Interactions of microorganisms and aquatic animals, particularly the nutritional role of the gut flora. *Microbiology in poecilotherms.* Elsevier, Amsterdam. pp. 217-222.
46. Nash, C.E. (2003). Interactions of Atlantic salmon in the Pacific northwest VI. A synopsis of the risk and uncertainty. *Fisheries Research* **62:** 339-347.
47. Nedoluha, P.C., Westhoff, D. (1997). Microbiological analysis of striped bass (*Morone saxatilis*) grown in a recirculating system. *Journal of Food Protection* **60:** 948–953.
48. Nieto, T.P., Toranzo, A.E., Barja, J.L. (1984). Comparison between the bacterial flora associated with fingerling rainbow trout cultured in two different hatcheries in the north-west of Spain. *Aquaculture* **42**: 193–206.
49. Noga, E.J. (2010). Fish Disease: Diagnosis and Treatment. 2nd Edition. Wiley-Blackwell. Ames, USA: 52.
50. Olafsen, J.A. (2001). Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. *Aquaculture* **200:** 223–247.
51. Rhodehamel, E.J. (1992). FDA's concerns with sous vide processing. *Food Technology* **46**: 73–76.
52. Ringo E., Birkbeck T.H. (1999). Intestinal microflora of fish larvae and fry. *Aquaculture Research* **30:** 73–93.
53. Ringo, E., Myklebust, R., Mayhew, T.M., Olsen, R.E. (2007). Bacterial translocation and pathogenesis in the digestive tract of larvae and fry. *Aquaculture* **268:** 251-264.
54. Ringo, E., Strom, E. (1994). Intestinal microflora of Arctic charr. (*Salvelinus alpinus*) (L.I.). The gastrointestinal microflora of free-living fish, and the effect of diet and salinity on Intestinal microflora. *Aquaculture and Fisheries Management* **25**: 623-629.
55. Ringo, E.; Strom, E., Tabachek, J.A. (1995). Intestinal microflora of salmonids: a review. *Aquaculture Research* **26:** 773-789.
56. Sealy, W.M., Gatlin, D.M. (2001). Overview of nutritional strategies affecting the health of marine fish. Lim, C., Webster, C.D. (Ed) *Nutrition and fish health*. Howorth press, Binghomton, U.S.A.
57. Thomas, R .W. (2015). Comparison of Bacterial Flora in Fish Mucus and Lake Water. Honors Theses. Paper 85.
58. Trust, T.J. (1975). Bacteria associated with the gills of salmonid fishes in freshwater. *Journal of Applied Bacteriology* **38:** 225–233.
59. Tuber, M. (2001). Veterinary use and antibiotic resistance laboratory of Food microbiology, *Current Opinion in Microbiology* **4:** 493-499.
60. Sakai, M., Atsuta, S., Kobayashi. M. (1989). *Pseudomonas fluorescens* isolated from the diseased rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Kitasato Archives of Experimental Medicine* **62:**157–162.
61. Zmyslowska, I., Lewandowska, D., Nowakowski, T., Kozlowski, J. (2001). Occurrence of bacteria in water and in vendace (*Coregonus albula*) during rearing in tanks. *Polish Journal of Environmental Studies* **10:** 51–56.

*Journal of Veterinary Microbiology, Volume 15, Issue 1, 2019*

# Determination of body surface bacterial flora in grow-out (300-500 g) rainbow trout in Amol city farms

***Shokouhian, M.J.[1], Shoaibi Omrani, B. [2*], Alinezhad, S.[3]***

*1. Graduated Student, Veterinary Medicine College, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran*
*2. Assistant Professor, Aquatic Animals Health Department, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran*
*3. Assistant Professor, Institute of Agricultural Education and Extension, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran*

*Received: 5 August 2018 Accepted: 1 January 2019*

***Abstract***

*Bacterial microflora in water and fish body surface has an important role for fish bacterial diseases outbreak and are known as secondary bacterial infections. These bacteria can be pathogenic and develop high mortality in stress conditions. In this study, samples were collected from body surface and gills of 70 rainbow trout (300-500 g) in seven fish farms on Haraz road between Larijan and Poloor regions by sterile swabs. Water resource was Haraz River. Skin and gill swabs were transferred to the lab in capped tubes containing sterile PBS (Phosphate Buffer solution), individually and were cultured in TSA (Tryptic Soy Agar), Plate Count Agar and MacConkey Agar media. Each sample were cultured in two TSA medium plates for conserving in aerobic and anaerobic conditions in 25°C, and one MacConkey Agar plate to reassure of gram negative bacteria absence. Plate count agar culturing was applied for mesophilic and psychrophilic bacteria isolation in 13 and 37° C. Nine bacterial species were isolated from gills and fish body surface (including: E.coli, Staph. areus, Staph. saprophyticus, Staph. epidermidis, Bacillus cereus, Aeromonas hydrophila, Proteus mirabilis, Pasteurella multocida, Psuedomonas aeruginosa). E. coli were identified in all samples. There was no significant difference between gills and skin in all facilities (P>0.05). Among the facilities, there was no significant difference between isolated bacterial species (P>0.05). Except E.coli that was identified in all farms, and irregularity frequency for P. aeruginosa in farms, in other cases, bacterial frequency increased up to downstream fish farms. Isolation of such bacteria may be an indicator for urban and home waste water contamination.*

***Keywords: Bacterial flora; Skin, Gill; Rainbow trout; Haraz River; Amol city.***

**Corresponding author: Shoaibi Omrani, B.*
*Address: Aquatic Animals Health Department, Veterinary Medicine college, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. Tel: +989122886874*
*E-mail address: babak.shoaibi@kiau.ac.ir*