نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی
دوره نوزدهم، شماره اول، بهارو تابستان ۱۴۰۲،
پیاپی ۴۶ :۴۴-۳۵

JVM Journal of Veterinary Microbiology

مقاله پژوهشی

گزارش اولین جداسازی و شناسایی باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به روش مولکولی از ماهیان خاویاری سیبری (*Acipenser baerii*) پرورشی در استان فارس، ایران

رضا سلیقه زاده[1*]، امین غلامحسینی[2]، حسن شریفی یزدی[3]، محمدرضا خیراندیش[4]، وحید دیانت پور[5]، نرگس ساکی[6]، سمیرا رشیدی منفرد[4]

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

۲- دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳- استاد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۴- دانش آموخته گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۵- دانش آموخته گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۶- دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی ،گروه دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۵

چکیده

طی تابستان سال ۱۴۰۱، یک عفونت در تاس ماهیان سیبری (Acipenser baerii) پرورشی در سیستم های ریس وی استان فارس ظاهر گردید. ۳۰ قطعه ماهی که دارای علائم بالینی بودند از استخرها جمع آوری شد. نمونه های باکتریایی به روش استاندارد از بافت کلیه ماهیان و در محیط برین هارت آگار کشت شدند. رنگ آمیزی گرم، آزمون های بیولوژیکی و بیوشیمیایی روی باکتری های جداسازی شده از نمونه ها انجام شد؛ علاوه بر این واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR) روی ژن ۱۶SrDNA انجام شد. جداسازی اولیه کلونی های کشت باکتریایی و آزمایشات بیولوژیکی و بیوشیمیایی بر روی باکتری های جداسازی شده نشان داد که ایزوله های جداسازی شده با جنس استافیلوکوک مطابقت دارند. نتایج آزمون PCR روی ژن ۱۶SrDNA با پرایمری های اختصاصی با شماره دسترسی MK ۳۴۸۰۶۳در بانک ژن یک باند ۱۵۰۰ جفت باز (bp) را ایجاد نمود؛ نتایج آنالیزها نشان داد که توالی ایجاد شده با ۱۰۰ درصد تشابه متعلق به گونه ی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس می باشد. این اولین گزارش از جداسازی گونه ی استافیلوکوکوس اورئوس از ماهیان خاویاری سیبری (Acipenser baerii) پرورشی در جنوب غربی ایران است. از این مطالعه نتیجه گیری شد که انجام تحقیقات بیشتر روی بیماریزایی این گونه ی باکتریایی و اثرات آن بر ماهیان خاویاری سیبری و سایر گونه های ماهیان خاویاری ضروری است.

واژه های کلیدی: استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، تاس ماهی سیبری، استافیلوکوکوزیس، ماهیان خاویاری، ایران

*نویسنده مسئول : رضا سلیقه زاده

آدرس: گروه دامپزشکی ، واحد شوشتر، دانشگاه ازاد اسلامی ،شوشتر ،ایران

پست الکترونیکی: rezasalighehzadeh@yahoo.com

مقدمه

تاس ماهیان از جمله ماهیان غضروفی استخوانی بسیار قدیمی بوده که تحت عنوان فسیل زنده نیز نامیده می شوند (Williot et al., 2018). امروزه به دلایل مختلفی همچون صید بی رویه، آلودگی، کاهش زیستگاه و احداث سدها، جمعیت این ماهیان در حال کاهش می باشد (Williot et al., 2018). ماهیان خانواده Acipenseridae دارای ارزش اقتصادی بسیاری بوده که از آن جمله می توان به تولید خاویار گران قیمت اشاره نمود. به همین دلیل از نقطه نظر آبزی پروری، پرورش جمعیت تمام ماده این ماهیان بسیار سودآورتر از جمعیت مخلوط می باشد (Williot et al., 2018). در این میان یکی از گونه های این خانواده، تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) بوده که گونه بومی رودخانه های بزرگ سیبری و دریاچه های اروپا و به عنوان گونه پرورشی مطرح در اروپاست که از آن برای تولید گوشت و استحصال خاویار استفاده می شود (Williot et al., 2018). علیرغم وارداتی بودن این ماهی، می توان به مزیت هایی همچون سازگاری راحت با شرایط پرورشی، مقاوم بودن به تغییرات محیطی، سرعت رشد بالا، سن بلوغ کم و خاویاردهی سریع اشاره نمود و یکی از گونه هایی است که در آیندهای نزدیک مناطق معتدله توسعه خواهد یافت (Mirzakhani et al., 2020). با توجه به موفقیت های بدست آمده به منظور سازگاری و پرورش این ماهی در آب شیرین و رسیدن به توجیه اقتصادی عرضه ماهی خاویاری گوشتی به بازارهای داخلی و خارجی کشور موجبات توجه بخش خصوصی به پرورش این گونه ارزشمند فراهم شده است (Mirzakhani et al., 2020). از سوی دیگر، پرورش این گونه با ارزش در آب های شیرین به صورت متراکم، عدم کنترل دقیق عوامل فیزیکی و شیمیایی آب و غذای مصرفی و نیز عدم استقرار امنیت زیستی از منظر بهداشتی، زمینه بروز استرس و بیماری در ماهیان بوجود آمده است (Gholizadeh Zare Tavana et al., 2018).

باکتری های گرم مثبت عامل برخی از عوامل عفونی ماهیان هستند که برخی از آنها مانند گونه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، اورئوس، وارنری و هومینیس توسط محققان مختلفی در ماهی (Huang, 1999; Gil et al., 2000; Kubilay, A. Ulukoy, 2004; Abrahim et al., 2010; Atyah, 2010; Ali, 2014; Bujjamma and Padmavathi, 2015; Korun et al., 2019) گزارش شده اند. استافیلوکوکوزیس توسط گونه های استافیلوکوکوس ایجاد می شود. باکتری استافیلوکوکوس جزو پاتوژن‌های فرصت‌طلب بوده و عامل اصلی انواع زیادی از بیماری ها در انسان و حیوانات هستند (Pridgeon, J.W., Klesius, 2011; Mlynarczyk-Bonikowska et al., 2022). سه گونه ی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس وارنری به عنوان عامل ایجاد استافیلوکوکوزیس در ماهیان شناخته شده اند. بیماری چشمی با گونه ی استافیلوکوکوس اورئوس مرتبط بود و کشنده بودن این بیماری برای کپور نقره ای در مزرعه ای در هند تایید شد (Gil et al., 2000) که در نتیجه ی این بیماری قرنیه کدر شده و نور از آن عبور نمی کند و به دنبال آن بافت های چشم تحلیل رفته و اعصاب مغز و چشم نیز تغییر می یابد؛ ماهی های مبتلا بی حال و راکد شده و رنگ آن ها تیره تر از دیگر ماهیان بود؛ با این وجود به نظر می رسد که اندام های حیاتی تحت تاثیر عفونت قرار نگرفته اند. احتمالا آب حوضچه پرورشی مخزن بیماری باشد. بیماریی هایی که در زیر به آن ها اشاره شده است شیوع اپی زوتیک جدی در مزارع پرورش ماهی داشته اند که در

اینجا به جدیدترین موارد اشاره شده است که عبارتند از: ماهی سیم سرطلایی در ترکیه (Kubilay and Ulukoy, 2004)، سیم دریایی و باس دریایی در مزارع مختلف یونان (Varvarigos, 2001)، ماهی سوف دریایی، کپورعلفخوار و تیلاپیا در تایوان (Kubilay and Ulukoy, 2004)، ماهی قرمز و دم زرد در ژاپن (Gil et al., 2000).

یافته های حاصل از مطالعات اکولوژیکی به فرضیه ی این مطالعه اعتبار می بخشد زیرا اینگونه مطالعات اکولوژیکی وجود گونه ی *S.epidermis* در محیط های آبی را تایید می نمایند (Kubilay and Ulukoy, 2004). ماهی ممکن است در تمام طول سال باکتری استافیلوکوک را بدون بروز علائم بیماری همراه داشته باشد و عموما بیماری به دنبال افزایش سریع و غیر منتظره ی دمای آب و یا وجود سایر عوامل استرس زا اتفاق می افتد. این پدیده معمولا در فصل بهار اتفاق افتاده و در تمام طول تابستان منجر به ایجاد مشکلاتی می گردد (Varvarigos, 2001; Kubilay and Ulukoy, 2004). مطالعه ی فرایر و روهووک (Kubilay and Ulukoy, 2004) نیز تایید کرد که باکتری استافیلوکوک منجر به ایجاد بیماری می گردد؛ همچنین این بیماری زمانی رخ می دهد که ماهی در معرض برخی عوامل استرس زای محیطی قرار می گیرند. عفونت های استافیلوکوک در ماهی علائم مشترکی دارند که عبارتند از اگزوفتالمی، ایجاد زخم در ناحیه ی دمی و احتقان (Gil et al., 2000). همچنین عفونت های ناشی از استافیلوکوک منجر به اختلالات سیستمیک می شود که کل بدن را تحت تاثیر قرار داده که به صورت سپتی سمی نمایان می گردد (Varvarigos, 2001). مطالعات صورت گرفته در مورد عوامل بیماریزای ماهیان خاویاری در ایران، بیشتر محدود به فلور باکتریایی آن ها بوده است و گزارش های محدودی از بروز تلفات و بیماری در این ماهیان گزارش شده است (Babaalian Amiri et al., 2019). Babaalian Amiri و همکاران باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را از ماهیان خاویاری گونه ی سیبری پرورشی در ایران گزارش کردند و علائم بیحالی، کاهش اشتها، عدم تحرک و شنای وارونه، خونریزی و پرخونی در اندامهای داخلی، خونریزی پتشی و پرخونی در کبد، طحال و آبشش ها را مشاهده کردند (Babaalian Amiri et al., 2019). با توجه به اهمیت گونه ی تاس ماهی سیبری و به دلیل کاهش شدید ذخایر طبیعی این ماهی، شناخت علل تلفات این ماهیان به منظور اجرای راهکار مناسب جهت مقابله با عوامل احتمالی بروز تلفات ضروری به نظر می رسد لذا مطالعه ی حاضر با هدف بررسی تلفات تاس ماهیان سیبری پرورشی در یک سیستم پرورشی استان فارس، انجام شد.

مواد و روش ها

نمونه برداری

در تیر ماه سال ۱۴۰۱ به دنبال بروز تلفات در ماهیان خاویاری گونه ی سیبری در یک سیستم پرورشی ماهیان خاویاری واقع در استان فارس، پس از بازدید از مزرعه و اخذ فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب، تعداد ۳۰ نمونه ماهی زنده (با میانگین وزنی ۱۵,۱۸±۲۳۵ گرم) با علائم بالینی از قبیل بی حالی، بی اشتهایی، عدم تحرک و شنای وارونه (شکل ۱) به طور تصادفی انتخاب شده و به بخش آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز منتقل شدند. مشاهدات بالینی و مشاهدات حاصل از کالبدشکافی برای هر نمونه به صورت جداگانه ثبت شد. فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل اکسیژن محلول و pH به صورت

روزانه اندازه گیری گردید. این شاخص ها با استفاده از روش های استاندارد اندازه گیری شدند. میزان اکسیژن محلول به روش وینکلر اندازه گیری شد. میزان اسیدیته ی آب، به کمک pH متر پرتابل با الکترود حساس (مدل WTW-۳۲۰ ساخت کشور آمریکا) اندازه گیری شد. سطح نیتریت، نیترات و آمونیاک نیز به وسیله ی دستگاه دیجیتال HACH (ساخت کشور آمریکا) به صورت هفتگی اندازه گیری شد (Assefa and Abunna, 2018; Lkr et al., 2020).

نمونه برداری بافتی و کشت میکروبی

نمونه‌های کلیه استحصال شده از ماهی‌ها به‌صورت رگه‌ای در محیط کشت عصاره ی قلب و مغز آگار (BHIA) کشت داده شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پرگنه های رشد یافته خالص سازی شده و رنگ آمیزی گردید و به منظور شناسایی باکتری ها در حد جنس از آزمایش های باکتری شناسی رایج توصیه شده استفاده شد (Jansson et al., 2020). آزمایشات بیوشیمیایی صورت گرفته در جدول ۲ نشان داده شد.

استخراج DNA، واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR)، تعیین توالی و آنالیز فیلوژنیک

DNA باکتری هایی که با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی با جنس استافیلوکوک مطابقت داشتند ، استخراج گردید؛ به منظور استخراج DNA ژنومی جدایه های باکتری از روش جوشاندن استفاده شد (Abdelsalamet al., 2023). به منظور تشخیص قطعی جدایه ها از تکثیر ژن ۱۶SrDNA از پرایمرهای اختصاصی ۱fD (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG)و ۲rP (ACGGCTACCTTGTTACGACTT) استفاده شد که محصول نهایی به طول ۱۵۰۰ جفت باز تولید می کنند (Abdelsalamet al., 2023). هر مخلوط واکنش PCR(مجموع ۵۰ میکرولیتر) شامل ۴ میکرولیتر از DNA نمونه (۴۰ نانوگرم)، دو میکرولیتر از هر پرایمر (۲۰pmol)، ۲۵ میکرولیتر از مخلوط ۲× Master Mix PCR mixture (Ampliqon, Denmark) و ۱۷ میکرولیتر آب مقطر بود. برنامه ی حرارتی دستگاه ترموسایکلر (MJ mini, BioRad، آمریکا) به شرح زیر بود: واسرشت سازی اولیه¬ی دو رشته¬ی DNA در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۳۷ سیکل حرارتی شامل واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله اتصال پرایمر به DNA الگو در دمای ۵۹ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن رشته الگو در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه و مرحله ی گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه. در پایان ۵ میکرولیتر از محصول PCR با استفاده از ژل آگارز ۱٪ در ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۶۰ دقیقه الکتروفورز گردید و باندهای حاصله پس از رنگ آمیزی با (RedSafe Intron Biotechnology، کره جنوبی) توسط دستگاه در مقایسه با یک نردبان با وزن مولکولی ۱۰۰ جفت باز (K-Plus DNA Ladder، هند) قرائت گردید. تعیین توالی محصولات PCR از S ۱۶rDNA برای هر ده جدایه به صورت مستقیم انجام شد. برای تعیین توالی محصولات PCR از یک آنالایزر DNA ۳۷۳۰ استفاده شد (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). توالی‌های قابل دسترس قبلی در NCBI (مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی)، که از طریق BLAST در دسترس قرار گرفته بودند، برای مقایسه عمیق تر توالی های پیوسته مورد استفاده قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل تراز چند دنباله ای با استفاده از

برنامه MEGA۶ از طریق الگوریتم های FASTA انجام شد.

نتایج

مشاهدات بالینی

از نظر بالینی ماهیان مبتلا دارای علائمی از جمله: بی اشتهایی، شنای غیر طبیعی، زخم و خونریزی پتشی در سطح بدن و یا قاعده ی باله ها بودند؛ همچنین در کالبدگشایی این ماهیان خونریزی احشایی، مایع آسیتی در حفره ی شکمی و کیسه ی شنا مشاهده گردید (شکل ۱).

شکل ۱: علائم بالینی تاس ماهیان سیبری بیمار

کیفیت آب

بر اساس نتایج حاصله، متغیرهای فیزیکی و شیمیایی آب مزارع پرورشی همگی در محدوده ی استاندارد بوده و تاثیری بر شیوع بیماری نداشت (جدول ۱).

آزمایشات میکروب شناسی و بیوشیمیایی

پس از بررسی محیط های کشت، پرگنه های صاف و مدور به رنگ سفید مشاهده شد که تحت آزمایش های میکروب شناسی و بیوشیمیایی قرار گرفتند (جدول ۲).

جدول ۱: نتایج اندازه گیری فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب در واحد پرورش آب شیرین ماهیان خاویاری گونه ی سیبری

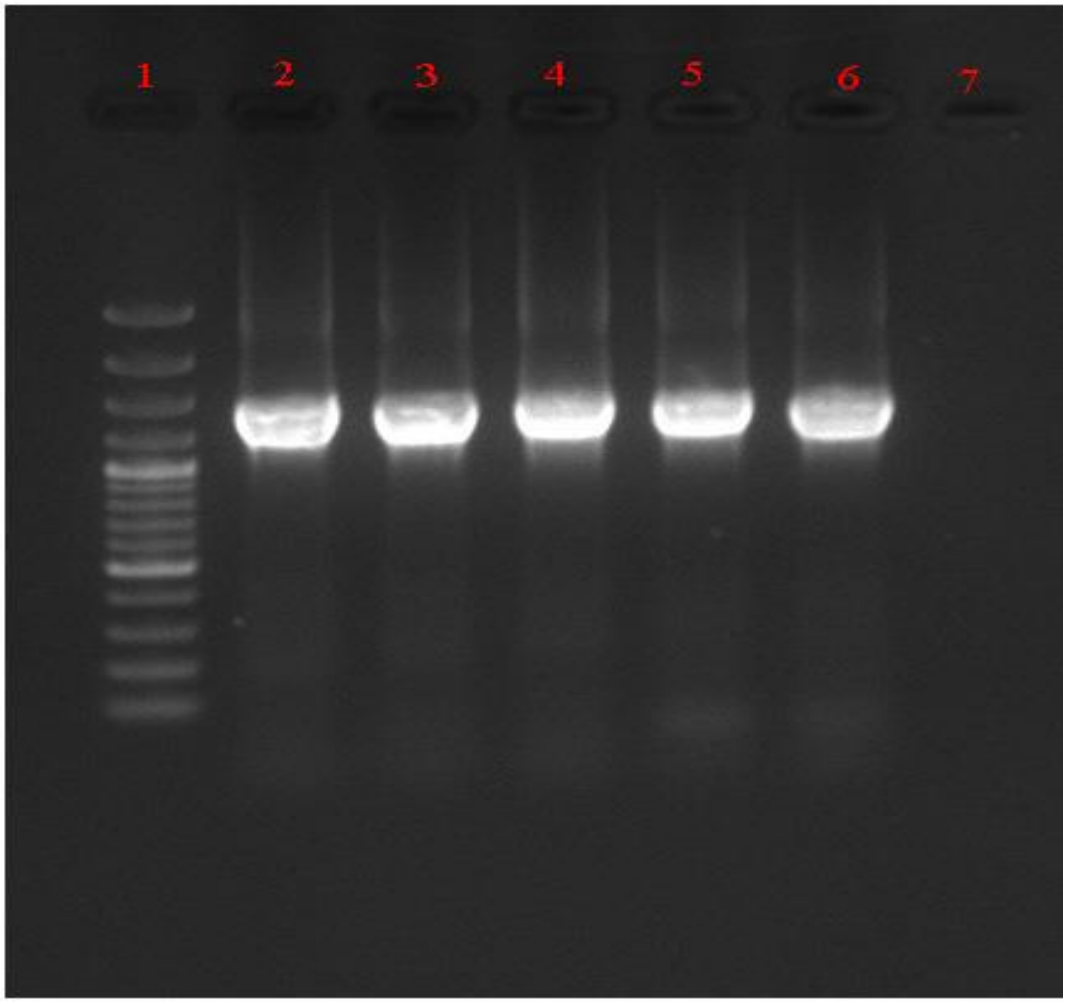
شاخص	نتایج
دما (درجه سانتی گراد)	۱۷
اکسیژن محلول (میلی‌گرم /لیتر)	۷/۲
سولفید هیدروژن (میلی‌گرم /لیتر)	۰
pH	۷/۹
آهن کل (میلی‌گرم /لیتر)	۰/۳
آمونیاک	۰/٤
نیتریت (میلی‌گرم /لیتر)	۰/۰۰۵
نیترات (میلی‌گرم /لیتر)	۱/۳

جدول ۲: نتایج مطالعات باکتری شناسی جدایه های گرم مثبت حاصله از ماهیان بیمار تاس ماهی سیبری

شاخص	نتایج برای جدایه های حاصله
رنگ کلونی	سفید
شکل	کروی
رنگ آمیزی گرم	+
تحرک	-
اکسیداز	-
کاتالاز	+
اندول	-
متیل رد	+
واکنش وگس-پروکسور	+
O/F	F
کاهش نیترات	+
تولید H_2S	-
آرژنین دهیدرولاز	-
اورنیتین دکربوکسیلاز	-
اوره	+
تولید اسید از گلوکز	(+)
مانیتول	–
اینوزیتول	–
سوربیتول	–
ساکارز	+
سوربیتول	-
همولیز	بتا
سیمون سیترات	–

نتایج و اکنش زنجیره ای پلیمراز و توالی یابی

پس از انجام واکنش PCR ژن rDNA 16S روی جدایه ها، تمامی جدایه ها با قطعه ی مورد انتظار ۱۵۰۰ جفت باز (bp)، با باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مطابقت داشتند (شکل ۲). توالی ژن rDNA 16S این سویه ها شباهت ۱۰۰ درصدی با توالی های ثبت شده برای گونه ی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در بانک ژن را نشان داد. نتیجه ی توالی یابی ژن rDNA 16S حاصله در جدایه های حاصل از این مطالعه به عنوان سویه ی ایرانی با شماره دسترسی MK ۳۴۸۰۶۳ در بانک ژن ثبت گردید.



شکل ۲: الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱,۵ درصد. (۱) نردبان ژنی ۱۰۰ جفت باز، (۲-٦) جدایه¬های استافیلوکوکوس، (۷) کنترل منفی

بحث و نتیجه‌گیری

استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مهم ترین عضو گروه استافیلوکوک های کوآگولاز منفی و عامل ۷۵ ٪ از عفونت های این گروه می باشد. این میکروارگانیسم بخشی از میکرو فلور طبیعی پوست انسان بوده و در مخاط بینی و بخش فوقانی مجاری تنفسی مستقر می باشد (Najar Peerayeh et al., 2016). استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس تا مدت ها به خاطر طبیعت همه جایی و بیماریزایی نسبتا ضعیف به عنوان ساپروفیت معرفی می شد و در افرادی که سیستم ایمنی آنها ضعیف یا سرکوب شده بود قادر به ایجاد عفونت بود (Mathur et al., 2006; Halverson et al., 2013; Goudarzi et al., 2018). عامل بیماری زایی مهم در استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به واسطه تشکیل بیوفیلم توسط یک ادهسین بین سلولی پلی ساکاریدی می باشد (Eftekhar and Mirmohamadi, 2009; Brown and Horswill, 2020).

اولین گزارش مرتبط با وقوع بیماری استافیلوکوکوزیس در سال ۱۹۸۶ در یکی از مزارع پرورش ماهی کپور نقره ای کشور هند با عوارض چشمی مشاهده شد و عامل تلفات به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نسبت داده شد (Gil et al., 2000). در سال های ۱۳۸۸ و ۱۳۹۱ گونه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، استافیلوکوکوس کوهنی، استافیلوکوکوس وارنری و استافیلوکوکوس کروموجنز را محققان ایرانی از ماهیان قزل آلای رنگین کمان پرورشی مازندارن جدا کردند (Babaalian Amiri et al., 2019). Babaalian Amiri و همکاران باکتری استافیلوکوکوس اورئوس را از ماهیان خاویاری گونه ی سیبری پرورشی در ایران گزارش کردند (Babaalian Amiri et al., 2019).

علائم بالینی بیماری استافیلوکوکوزیس با توجه به گونه ماهی متفاوت است، اما شنای عمودی، تیره شدن رنگ بدن، اگزوفتالمی یک طرفه یا دو طرفه، کدورت قرنیه چشم، خونریزی پتشی روی سرپوش آبششی و قاعده باله ها، پیدایش زخم های سطحی، آسیت هموراژیک، ضایعات چشمی و آبششی از جمله متداول ترین علائم بالینی در بسیاری از گونه ها می باشد (Jansson et al., 2020)، که با علائم بالینی مشاهده شده در این مطالعه همخوانی دارد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که ماهیان خاویاری سیبری با بیماری استافیلوکوکوزیس درگیر بودند، زیرا عامل مذکور از بافت کلیه ماهیان بیمار با علائم بالینی جداسازی گردید و با روش های کشت باکتریایی، آزمایش های بیوشیمیایی و مولکولی مورد تشخیص قرار گرفت. در مطالعات قبلی صورت گرفته، وجود بیماری های گوناگون از قبیل استرپتوکوکوزیس، پرسینیوزیس، آئروموناس و سودوموناس در گونه های مختلف ماهیان خاویاری گزارش شده است (Babaalian Amiri et al., 2019)، ولی مورد جدا شده اخیر به عنوان یک مورد نادر ولی قابل توجه دست اندرکاران صنعت آبزی پروری کشور می باشد که رعایت نکات بهداشتی، امنیت زیستی، پیشگیری از شرایط استرس زا، نمونه گیری های دوره ای از مزارع و تشخیص بموقع بیماری های درگیر را گوشزد می نماید. مواردی از قبیل عدم انجام آزمایش های میکروبی آب و غذای مصرفی در مزارع، بی توجهی کارگران به اصول بهداشتی شخصی و فردی، استفاده از ظروف مشترک غذادهی، عدم استفاده از ضدعفونی کننده موثر در ورودی سالن ها و ماشین های حمل ماهی، تردد نابجای افراد متفرقه و حیوانات از جمله عوامل ورود عوامل بیماری زا می باشند

(Babaalian Amiri et al., 2019). با توجه به اینک ۱۰-۲۵ درصد افراد، حامل باکتری های استافیلوکوکوس در مجاری فوقانی تنفسی خود می باشند، به منظور حفظ و کنترل آلودگی های میکروبی، کاهش عفونت ها و کاهش مشکلات بهداشتی کلیه پرسنل ملزم به رعایت موارد بهداشتی و امنیت زیستی گردند (Babaalian Amiri et al., 2019).

نتیجه گیری

به عنوان نتیجه گیری نهایی شایان ذکر است که یافته های مطالعه ی حاضر از این جهت حائز اهمیت است که این اولین گزارش باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس جدا شده از ماهیان خاویاری سیبری پرورشی در جنوب غرب ایران تا سال ۱۴۰۱ می باشد.

منابع

1. Abdelsalam, M. Elgendy, M.Y. Elfadadny, M.R. Ali, S.S. Sherif, A.H. Abolghait, S.K. (2023). A review of molecular diagnoses of bacterial fish diseases. *Aquaculture International* **31:**417-434.
2. Abrahim, A. Sergelidis, D. Kirkoudis, I. Anagnostou, V. Kaitsa-Tsiopoulou, E. Kazila, P. Papa, A. (2010). Isolation and antimicrobial resistance of Staphylococcus spp. in freshwater fish and Greek marketplaces. *Journal of Aquatic Food Product Technology* **19:**93-102.
3. Ali, H.H. (2014). Isolation and identification of Staphylococcus bacteria from fish of fresh water and its antibiotics sensitivity in Mosul city. *Basrah Journal of Veterinary Research* **1:**33-42.
4. Assefa, A. Abunna, F. (2018). Maintenance of fish health in aquaculture: review of epidemiological approaches for prevention and control of infectious disease of fish. Veterinary medicine international. *Veterinary Medicine International* **2018:**5432497.
5. Atyah, M.A.S. Zamri-Saad, M. Siti-Zahrah, A. (2010). First report of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from cage-cultured tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Veterinary microbiology* **144:**502-504.
6. Babaalian Amiri, B. Adel, M. Zorriehzahra, J. Ghajari, A. Shohre, P. Rasoolizadeh, H. Zabihi, L. (2019). The first isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) cultured in Iran. *Iranian Scientific Fisheries Journal* **28:**121-131. (In Persian)
7. Brown, M.M. Horswill, A.R. (2020). *Staphylococcus epidermidis*—Skin friend or foe?. *PLoS pathogens* **16:**p.e1009026.
8. Bujjamma, P. Padmavathi, P. (2015). Prevalence of *Staphylococcus aureus* in fish samples of local domestic fish market. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* **4:**427-433.
9. Eftekhar, F. Mirmohamadi, Z. (2009). Evaluation of biofilm production by *Staphylococcus epidermidis* isolates from nosocomial infections and skin of healthy volunteers. *International Journal of Medicine and Medical Sciences* **1:**438-441.
10. Gil, P. Vivas, J. Gallardo, C.S. Rodriguez, L.A. (2000). First isolation of *Staphylococcus warneri*, from diseased rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in Northwest Spain. *Journal of Fish Diseases* **23:**295-298.
11. Gholizadeh Zare Tavana, B. Banaee, M. Yousefi Jourdehi, A. Nematdoost Haghi, B. Seyed Hassani, M.H. (2018). Effects of selenium (Sel-Plex) supplement on blood biochemical parameters of juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* **17:**300-312.

Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology* **24:**25-26.

20. Mirzakhani, M.K. Abedian Kenari, A. Motamedzadegan, A. Banavreh, A. (2020). Apparent digestibility coefficients of crude protein, amino acids, crude lipid, dry matter and gross energy of ten feedstuffs for yearling Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt 1869). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* **19:**1500-1516.
21. Mlynarczyk-Bonikowska, B. Kowalewski, C. Krolak-Ulinska, A. Marusza, W. (2022). Molecular mechanisms of drug resistance in *Staphylococcus aureus*. *International journal of molecular sciences* **23:**8088.
22. Najar Peerayeh, S.h. Jazayeri, M. Behmanesh, M. (2016). Prevalence of virulence related determinants in clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis*. *Jundishapur Journal of Microbiology* **9:**e30593.
23. Pridgeon, J.W. Klesius, P.H. (2011). Molecular identification and virulence of three *Aeromonas hydrophila* isolates cultured from infected channel catfish during a disease outbreak in west Alabama (USA) in 2009. *Diseases of Aquatic Organisms* **94:**249-253.
24. Varvarigos, P. (2001). Gram-positive coccobacteria (Micrococcaceae, streptococcaceae) causing systemic disease in intensively farmed fish. Vetcare Veterinary Services to Aquaculture and Distribution of Fish Health Products.
25. Williot, P. Nonnotte, G. Chebanov, M. (2018). The Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) Volume 2-Farming. Springer International Publishing.
12. Goudarzi, M. Mehrabi, M. Mirzaee, M. (2018). Investigating the Prevalence of IS256 Insertion Sequence and Biofilm Formation in *Staphylococcus Epidermidis* Isolated from Healthy Human Skin. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences* **26:**85-93. (In Persian)
13. Halverson, S. Malani, P. Newton, D.W. Habicht. A. Younger, G. (2013). Impact of hourly emergency department patient volume on blood culture contamination and diagnostic yield. *Journal of Clinical Microbiology* **51:**1721-1726.
14. Huang, S.L. Chen, W.C. Shei, M.C. Liao, I.C. Chen, S.N. (1999). Studies on epizootiology and pathogenecity of *Staphylococcus epidermidis* in tilapia (*Oreochromis* spp.) cultured in Taiwan. *Zoological Studies* **38:**178-188.
15. Jansson, E. Haenen, O. Nonnemann, B. Madsen, L. Van Gelderen, E. Aspán, A. Dalsgaard, I. (2020). MALDI-TOF MS: A diagnostic tool for identification of bacterial fish pathogens. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* **40:**240-248.
16. Lkr, A. Singh, M.R. Puro, N. (2020). Assessment of water quality status of Doyang river, Nagaland, India, using water quality index. *Applied water science* **10:**1-13.
17. Korun, J. Yilmaz, M. Gökoğlu, M. Çelik, Y. (2019). Isolation of *Staphylococcus hominis* from cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) in Antalya Bay, Turkey. *Journal of Agricultural Sciences* **25:**123-128.
18. Kubilay, A. Ulukoy, G. (2004). First isolation of *Staphylococcus epidermidis* from cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* **24:**137-143.
19. Mathur, T. Singhal, S. Khan, S. Upadhyay, D.J. Rattan, A. (2006).

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 19, Issue 1, Spring & Summer 2023

Report of the first isolation and identification of Staphylococcus epidermidis by molecular method from cultured Siberian Sturgeon (Acipenser baerii) in Fars province

Reza Salighehzadeh[1]*, Amin Gholamhosseini[2], Hassan Sharifiyazdi[3], Mohammadreza Kheirandish[4], Vahid Dianatpur[5], Narges Saki[6], Samira Rashidi Monfared[4]

1.ssistant Professor, Department of Veterinary, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

2. Associate professor, Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

3. Professor, Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

4.PhD Graduated of Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

5.PhD Graduated of Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

6.Graduate of Veterinary medicine, Department of Veterinary, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

Received: 21 June 2023 Accepted: 6 September2023

Abstract

During the summer of 2022, an infection appeared in siberian sturgeon (Acipenser baerii) reared in raceway system of Fars province. 30 pieces of fish with clinical symptoms were collected from the ponds. Bacterial samples were cultured from kidney tissue of fish using brain heart infusion (BHI) agar according to standard method. Gram staining, biological and biochemical tests were performed on the bacteria isolated from the samples; In addition, polymerase chain reaction (PCR) was performed on SrDNA16 gene. Initial isolation of bacterial culture colonies and biological and biochemical tests on the isolated bacteria showed that the isolates corresponded to the genus Staphylococcus. The results of the PCR test on the SrDNA16 gene with specific primers with accession number MK348063 in the gene bank created a band of 1500 base pairs (bp). The results of the analysis showed that the sequences belonged to Staphylococcus epidermidis with 100.00% similarity. This is the first report of the isolation of Staphylococcus epidermidis species from Siberian sturgeon (Acipenser baerii) farmed in southwest Iran. It was concluded from this study that further studies are necessary to investigate the pathogenicity of these organisms and their effects on Siberian sturgeon and other strains of sturgeon.

Keywords: : Staphylococcus epidermidis, Acipenser baerii, Staphylococcosis, Sturgeon, Iran

**Corresponding author: Reza Salighehzadeh*

Address: Department of Veterinary, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

E. mail: rezasalighehzadeh@yahoo.com