بررسی میزان حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری آئروموناس هیدروفیلا در استخرهای پرورش ماهی شهرستان تنکابن

نیما ارزانی*[۱]، حمید درویشی[۲]، قاسم شریفیان توتکله[۳]،ارسلان ربیع پور[۴]

nima.arzani@gmail.com

۱و۲و۳-کارشناس ارشد میکروبیولوژی، انجمن علمی باکتری شناسی پزشکی ایران، تهران
۴-کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مدیر آزمایشگاه شبکه بهداشت و درمان شهرستان چالوس، ایران.

چکیده

شکل مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری ها در سراسر دنیا وجود دارد. شناخت الگوی مقاومت و حساسیت آئروموناس هیدروفیلا نسبت به آنتی بیوتیک ها، در انتخاب مناسب و صحیح آنتی بیوتیک و کنترل عفونت در استخرهای پرورش ماهی نقش موثری دارد. در مدت ۱۰ماه از بهار تا پاییز ۱۳۹۴ در مجموع ۱۰۰نمونه از آب استخر های پرورش ماهی شهرستان تنکابن با فاصله بین ۲۰تا۳۰ روز جمع آوری و پس از انجام تست های بیوشیمیایی و خالص سازی گونه ی آئروموناس هیدروفیلا حساسیت آنتی بیوتیکی آنها با روش انتشار دیسک[۱] با کشت بر روی محیط های کشت آگار خون دار و مولر هینتون مورد بررسی قرار گفت. از مجموع ۲۵ نمونه خالص شده تمامی نمونه ها براساس اندازه گیری قطرهاله عدم رشد به آنتی بیوتیک های تتراسایکلین، جنتامایسین، کانامایسین، نورفلوکساسین، افلوکساسین، آمیکاسین، نایلیدیکسیک اسید، آزیترومایسین و سیپروفلوکساسین ۱۰۰ درصد حساس بودند و نسبت به اگزاسیلین ، متیسیلین، اریترومایسین، آمپیسیلین و آموکسیسیلین نیز۱۰۰درصد مقاوم بودند و نسبت به کلیندامایسین، دزوکسیسیلین، ایمی پنم، توبرامایسین، ونکومایسین و ریفامپین حساسیت بینا بینی نشان دادند. این مطالعه جنتامایسین و کانامایسین را به عنوان موثر ترین آنتی باکتریال علیه تمامی آئروموناس هیدروفیلا جدا شده معرفی می کند. ضمن اینکه سیپروفلوکساسین، آزیترومایسین، نایلیدیکسیک اسید و نورفلوکساسین و افلوکساسین نیز آنتی بیوتیک های موثری علیه آئروموناس هیدروفیلا می باشند.

واژگان کلیدی: آئروموناس هیدروفیلا، حساسیت،آنتی بیوتیک، آب استخر، پرورش ماهی

تاریخ دریافت مقاله :	۹۴/۱۰/۲۶
تاریخ پذیرش مقاله :	۹۵/۰۲/۲۵

[1] Disk Diffusion

۱-مقدمه

ماهی یک قسمت مهم از غذای جمعیت جهان را تشکیل می دهد. با توجه به این واقعیت که ماهی نقش مهمی در رژیم غذایی جمعیت جهان دارد، بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتریایی در ماهی ها لازم به نظر می رسد. در دهه های گذشته استفاده گسترده آنتی بیوتیک ها در درمان عفونت های انسانی، بیماری های دامی، کشاورزی و شیلات سبب افزایش حضور این مواد در محیط زیست و به تبع آن مقاوم شدن برخی از باکتری ها به خصوص باکتری های گرم منفی به آن ها شده است. همچنین گسترش آنتی بیوتیک ها باعث ایجاد باکتری هایی با چندین مقاومت شده که سبب آلودگی مواد غذایی و در نتیجه ایجاد عفونت های مختلف در مصرف کننده می شود[۱۶]. مطالعات زیادی در خصوص تأثیر رها سازی آنتی بیوتیک ها در اکوسیستم های خشکی انجام یافته است. در حالی که تحقیقات محدودی در خصوص رها سازی آن ها بر روی اکوسیستم های آبی صورت گرفته است. متأسفانه از همین تعداد اندک نیز تعداد انگشت شماری به مطالعه تأثیر آنتی بیوتیک ها بر روی اکوسیستم های دریایی پرداخته اند[۱۸]. از مهم ترین باکتری های گرم منفی اکوسیستم آبی می توان به انتروباکتریاسه ها[۲] اشاره نمود.این خانواده شامل گونه های متعددی از باکتری ها هستند که از این گروه می توان به *E.coli*، سرشیا، سالمونلا و آئروموناس ها اشاره نمود. در این بین عوامل بیماری زای مختلفی وجود دارند که می توانند از طریق محصولات دریایی به انسان منتقل شوند. یکی از مهمترین آنها باکتری آئروموناس هیدروفیلا می باشد. این باکتری متعلق به خانواده ویبریوناسه بوده اکثر آنها کاتالاز و اکسیداز مثبت، گرم منفی، بی هوازی اختیاری، بدون اسپور و محرک می باشند و به طور وسیع در رودخانه ها و دریاچه های تمام نقاط دنیا یافت می شود [۱۳]. این باکتری معمولا در شرایط استرس زا، متعاقب حمل و نقل یا افزایش درجه حرارت آب بروز می کند و عامل بیماری های مختلف در حیوانات دریایی، پستانداران و انسان می باشد [۱۵]. از آنجا که محصولات دریایی به عنوان یک منبع غذایی عمده تلقی می شوند، می توانند به عنوان یک عامل مهم در انتقال عوامل بیماری زا از جمله باکتری آئروموناس هیدروفیلا به انسان مطرح باشد [۱۲]. در پاسخ به مقاومت آنتی بیوتیکی مختلف توسط میکرو ارگانیسم ها، تعداد زیادی آنتی بیوتیک در طی دو دهه ی قبل تولید و معرفی شده است اما روند رو به رشد مقاومت به آنتی بیوتیک های خاص از یک سو و شناسایی عوامل مقاومت در جهت محدود ساختن آنها از سوی دیگر، محققان را در معرض چالش جدید قرار داده است[۷]. استفاده از هر ماده ضد میکروبی می تواند ایجاد مقاومت در جمعیت میکروارگانیسم های هدف کند و در نهایت ژن های مقاوم و باکتری های مقاوم را ایجاد نماید. از آن جایی که ژن های مقاوم برای انتقال از هیچ الگوی فیزیولوژیک و اکولوژیک و جغرافیایی تبعیت نمی کنند، استفاده زیاد از آنتی بیوتیک ها در یک مورد مثل آبزی پروری ممکن است سبب ایجاد مقاومت در موارد دیگر (از جمله بیماری های انسانی) شود[۲۴]. کینولون ها برای مثال، آنتی بیوتیک هایی هستند که هر باکتری دارای رادیکال هیدروکسیل را از بین می برند. بدین طریق، آنتی بیوتیک نمی گذارد تا لیپیدها و پروتئین ها در کنار یکدیگر قرار گرفته و غشای سلولی را مستحکم نگه دارند. بنابراین همه چیز از هم می پاشد و DNA در محیط رها می شود [۲۷]. در حال حاضر در ایران تحقیقاتی روی حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری های گرم منفی موجود در ماهی های پرورشی به ویژه نوع پاتوژن فرصت طلب آن آئروموناس هیدروفیلا صورت نگرفته، این در حالی است که ماهی ترکیب مهمی را در رژیم غذایی مردمان ایران به خصوص در شمال و جنوب تشکیل می دهد. بررسی میزان حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری آئروموناس هیدروفیلا جدا شده از استخرهای پرورش ماهی که مورد استفاده غذای انسان می باشد و استفاده بی رویه از آنها باعث بروز مقاومت در بین آبزیان می شود هدف اصلی این پژوهش است.

۲-مواد و روش ها

در این مطالعه طی مدت ۱۰ماه از بهار تا پاییز ۱۳۹۴ در مجموع ۱۰۰نمونه از آب استخر های پرورش ماهی شهرستان تنکابن با فاصله بین ۲۰تا۳۰ روز با تکیه بر شرایط هوایی هر فصل و میزان دمای آب استخرها جمع آوری و در مجاورت یخ ($-4^{\circ}C$) و در شرایط مناسب به آزمایشگاه میکروب شناسی منقل شدند. تمام نمونه ها بلا

[2] Enterobacteriaceae

فاصله پس از ارسال به آزمایشگاه مورد بررسی و آزمایش قرار گرفتند. ابتدا نمونه های آب هر استخر را در محیط تریپتیک سوی براث کشت داده شد و سوسپانسیونی میکروبی آماده گردید که بعد از ۲۴ ساعت انکوبه گذاری در دمای ۳۰درجه سانتی گراد برای کشت خطی آماده شدند. پس از رشد باکتری در محیط کشت مایع(نوترینت براث) با استفاده از لوپ، کشت خطی در محیط آگار خون دار داده و همچنین جهت بدست آوردن کلونی تک با مشاهده شفافیت و رنگ کلونی آئروموناس با چندین بار کشت کلونی مورد نظر شناسایی و در محیط های مختلف کشت داده شد[۲۵]. جهت جدا و خالص سازی گونه های آئروموناس، کشت در پلیت محیط آگار مغذی(آگار خون دار) انجام و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۰درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند. کلونی های آئروموناس هیدروفیلا جهت تایید تشخیص با استفاده از تست های بیوشیمیایی از جمله قدرت تحرک، رنگ آمیزی گرم، تست اکسیداز و کاتالاز، ایندول، متیل رد، سیترات، احیای نیترات، تولید سولفات، KOH و دیسک آنتی بیوتیکی مورد مطالعه قرار گرفتند[۲۵].

۲-۱-تست سنجش میزان حساسیت به آنتی بیوتیک ها

حساسیت گونه های باکتریایی جداشده به آنتی بیوتیک ها به وسیله تست آگار دیفیوژن[3] با استفاده از محیط کشت مولر هینتون آگار به روش دستورالعمل کمیته های ملی استاندارهای آزمایشگاه بالینی (۱۹۹۷) NCCLS انجام گرفت.باکتری های انتخاب شده جهت کشت مجدد، در محیط کشت نوترینت براث قرار داده شدند. میزان کدورت در محیط کشت نوترینت براث با محلول مک فارلند ۰/۵ سنجیده شد. سپس باکتری ها یی که در محیط کشت نوترینت براث کشت داده شده بودند توسط سوآپ بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار و آگارخون دار کشت داده شدند[۱۳]. تمام باکتری ها برای سنجش میزان حساسیت به ۲۰ آنتی بیوتیک مورد آزمایش قرار گرفتند. دیسک های حاوی آنتی بیوتیک مورد آزمون تهیه شده توسط شرکت پادتن طب بوده که در جدول۱ با میزان خلوص آنها آمده است که طبق دستورالعمل در محیط کشت مولر هینتون آگار گذاشته شدند وپلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار گرفتند. درنهایت طبق جدول دیسک های آنتی بیوتیکی بر اساس روش (۲۰۰۸) NCCLS حساسیت باکتری ها به آنتی بیوتیک مورد نظر سنجیده شد و به صورت درصد بیان گردید[۱۳].

[3] Agar Disk Diffusion

۳- نتایج

در این مطالعه از استخرهای پرورش ماهی دوهزار وسه هزار در تنکابن در مجموع سه بار نمونه برداری شد. با انجام کشت نمونه ها ابتدا در محیط مایع نوترینت براث و سپس در محیط کشت جامد آگار خون دار، از بین تقریباً۱۰۰ کلنی مشاهده شده بر روی محیط های آگارخون دار، در نهایت ۵۳ کلنی جدا گردید. پس از انجام تست های بیوشیمیایی تمام ایزوله‌ها بعنوان آئروموناس هیدروفیلا شناسایی شدند. تمامی گونه های آئروموناس از نظر تولید H_2S و تست متیل رد مثبت می باشند فقط تنها گونه ی هیدروفیلا در این ۲تست تشخیصی منفی می باشند که وجه تمایز این گونه با بقیه ی گونه های آئروموناس است که در مطالعه پیش رو کلونی ها از نظر تولید H_2S ۸۳ درصد منفی بوده و ۹۰درصد کلونی ها هم از نظر واکنش متیل رد منفی بودن که حسن انجام کار است همچنین کلونی ها پس از رنگ آمیزی گرم جهت تایید نهایی تست KOH بر روی آنها انجام گرفت که لزج و کش آمدن آنها دلیلی بر تایید گرم منفی بودن باکتری بوده است[۲۰].

۳-۱-نتایج حاصل از تعیین حساسیت ضد میکروبی:

برای تعیین حساسیت باکتری های شناسایی شده نسبت به آنتی بیوتیک های رایج در درمان براساس جدول CLSI۲۰۱۳ از روش استاندارد کربی بائر به روش دیسک دیفیوژن بهره گرفته شد. دیسک های مورد استفاده در این پژوهش مربوط به شرکت پادتن طب بود. نتایج آنتی بیوگرام بر اساس جداول استاندارد و قطر هاله عدم رشد به گروه های حساس(Sensitive)، بینابینی(Intermediate) و مقاوم (Resistant) تقسیم شدند.

پس از اتمام انکوباسیون پلیت هایی که دیسک های آنتی بیوتیک روی آن کاشته شده بود، مورد بررسی قرار گرفتند به طوری که در اطراف هریک از دیسک ها هاله

هایی با اندازه های متفاوت ایجاد شده بود که برحسب میلی متر اندازه گیری و ثبت گردید. نوع آنتی بیوتیک های بکار رفته در جدول شماره ۱ و اندازه قطر هاله ها در جدول شماره ۲ آمده است. پس از قرائت و ثبت نتایج، اطلاعات بدست آمده از میزان حساسیت هر نمونه، با طیف حساست هر یک از آنتی بیوتیک ها که توسط شرکت پادتن طب تایید شده است در جدول شماره ۲، مقایسه گردید. در این بررسی از ۲۰ دیسک آنتی بیوتیکی استفاده گردید که پس از بررسی قطرهاله ها با تطبیق جدول CLSI ۲۰۱۳ حساسیت باکتری به هر دیسک را یاداشت نمودیم. در جدول ۱ انواع دیسک های آنتی بیوتیکی مورد استفاده اشاره گردید.

جدول(۱) آنتی بیوتیک های مورد استفاده در این پژوهش تهیه شده توسط شرکت پادتن طب

آنتی بیوتیک	کد	درصد خلوص (میکرو گرم)	R	I	S
Amikacin	AN	۳۰	۱۵	۱۶-۱۵	۱۶
Amoxicillin	AmC	۳۰	۱۳	۱۷-۱۴	۱۸
Ampicillin	AM	۱۰	۱۱	۱۲-۱۳	۱۴
Ciprofloxacin	CIP	۵	۱۵	۲۰-۱۶	۲۱
Clindamycin	CC	۲	۱۴	۲۰-۱۵	۲۱
Doxycycline	D	۳۰	۱۲	۱۵-۱۳	۱۶
Erythromycin	E	۱۵	۱۳	۲۲-۱۴	۲۳
Gentamicin	GM	۱۰	۱۲	۱۴-۱۳	۱۵
Imipenem	IPM	۱۰	۱۳	۱۵-۱۴	۱۶
Kanamycin	K	۳۰	۱۳	۱۴-۱۷	۱۸
Methicillin	ME	۵	۹	۱۰-۱۳	۱۴
Norfloxacin	NOR	۱۰	۱۲	۱۶-۱۳	۱۷
Oxacillin	OX	۵	۱۰	۱۱-۱۲	۱۳
Tetracycline	Te	۳۰	۱۴	۱۸-۱۵	۱۹
Tobramycin	NN	۱۰	۱۲	۱۴-۱۳	۱۵
Vancomycin	Va	۳۰	۹	۱۱-۱۰	۱۲
Rifampin	RA	۵	۱۶	۱۹-۱۷	۲۰
Ofloxacin	OFX	۵	۱۲	۱۵-۱۳	۱۶
Azithromycin	AZT	۱۵	۱۳	۱۴-۱۷	۱۸
Nalidixic acid	NA	۳۰	۱۳	۱۸-۱۴	۱۹

جدول(۲) قطر هاله ی عدم رشد و درصد حساسیت آنتی بیوتیک ها در محیط کشت مولر هینتون آگار طبق استاندارد جهانی به روش انتشار دیسک در شرایط آزمایشگاهی

آنتی بیوتیک	قطرهاله	درصد	حساس یا مقام
آمیکاسین	۱۸	۱۰۰	حساس
آموکسیسیلین	۱۰	۱۰۰	مقاوم

آمپیسیلین	۱۵	۱۰۰	مقاوم
سیپروفلوکسازین	۲۳	۱۰۰	حساس
کلیندامایسین	۱۵	۸۰	مقاوم
دزوکسیسیلین	۱۶	۹۰	حساس
اریترومایسین	۱۲	۱۰۰	مقاوم
جنتامایسین	۱۵	۱۰۰	حساس
ایمی پنم	۱۶	۶۰	حساس
کانامایسین	۱۸	۱۰۰	حساس
متیسیلین	۹	۱۰۰	مقاوم
نورفلوکسازین	۱۷	۱۰۰	حساس
اگزاسیلین	۱۰	۱۰۰	مقاوم
تتراسایکلین	۲۰	۱۰۰	حساس
توبرامایسین	۱۳	۱۰۰	متوسط
ونکومایسین	۱۶	۱۰۰	متوسط
ریفامپین	۲۰	۸۵	حساس
اوفلوکسازین	۱۸	۱۰۰	حساس
آزیترومایسین	۱۹	۱۰۰	حساس
نالیدیکسیک اسید	۲۱	۱۰۰	حساس

جهت تایید نهایی همچنین در پایان کار مجددا بر روی ۶محیط کشت مولر هینتون آگار ۳دیسک آنتی بیوتیکی خانواده کینولون ها شامل نایلیدیکسیک اسید، سیپرو فلوکساسین و افلوکساسین را قرار دادیم و بعد از ۲۴ ساعت هاله ی عدم رشد و قطر هاله ها را اندازه گرفتیم که تمامی جدایه ها به این ۳ دیسک ۱۰۰درصد حساسیت نشان داده که می توان صحت انجام کار را تضمین نمود که در جدول ۳ به آنها اشاره شده است.

جدول (۳) نتایج آنتی بیوتیک های خانواده کینولون ها ویژه آئروموناس هیدروفیلا که تاثیر مناسبی بر باکتری های گرم منفی دارند

آنتی بیوتیک	کد	غلظت	قطرهاله	درصد	سنجش
نایلیدیکسیک اسید	NA	۳۰µg	۲۱	۱۰۰	حساس
افلوکساسین	OFX	۵µg	۱۸	۱۰۰	حساس
سیپروفلوکساسین	CIP	۵µg	۲۳	۱۰۰	حساس

۴- نتایج

بر خلاف برخی مطالعات که اکسی تتراسایکلین را آنتی بیوتیک با حساسیت بالا ارزیابی کرده بود، ایگبال و همکاران در سال ۱۹۹۹ نشان دادند که گونه های آئروموناس جداشده نسبت به سایر عوامل باکتریایی مقاوم تر بودند. آنها خاطر نشان کردند که درصد بالایی از گونه

های آئروموناس جداسازی شده به اریترومایسین مقاوم و تتراسایکلین حساس بودند. با این حال تنها تعدادی از اینها به اکسولونیک اسید و استرپتومایسین مقاوم بودند [۱۱]. نتایج حاصل از این مطالعه نیز یافته های ایگبال و همکاران را تایید می کند.

همچنین ساها و پال در سال۲۰۰۲ در مطالعه ای بر روی زخم های ماهی مبتلا به سندروم قرحه ای همه گیر[1] دریافتند که سودوموناس ها و آئروموناس ها عمدتا به پنیسیلین، آمپیسیلین و اریترومایسین مقاوم بودند. علاوه بر این برخی نیز به جنتامایسین و آموکسی سیلین مقاوم بودند. با این حال مقاومت نسبت به برخی آنتی بیوتیک ها مانند کلرامفنیکل و اکسی تتراسایکلین که قبلا گزارش شده بود، مشاهده نگردید. نتیجه اینکه عوامل بیماری زای جداشده در مطالعه مذکور به اکسی تتراسایکلین، کلرامفنیکل و نایلیدیکسیک اسید حساس بودند(ساها وپال،۲۰۰۲). نتایج حاصل از این مطالعه با یافته های ساها و پال به غیر از مقاومت به جنتامایسین کاملا برابر و تایید می کند.

نتایج حاصل از مطالعه لیپتون درسال۱۹۹۱ نشان داد که در میان ۱۰ نوع آنتی بیوتیک، جنتامایسین، تتراسایکلین، استرپتومایسین، پنی سیلین و نئومایسین رشد هر دو باکتری آئروموناس هیدروفیلا و سودوموناس آئروژینوزا را مهار کردند [۱۴] که با یافته های این پژوهش یکی است.

کاسترو- اسکارپولی هم در سال۲۰۰۳ مطالعه ای با استفاده از ۲۳ آنتی بیوتیک جهت ارزیابی میزان حساسیت آنها به آئروموناس ها ، نسل اول کوئینولون ها[2] و نسل دوم و سوم سفالوسپورین ها[3] را از موثرترین آنتی بیوتیک ها علیه آئروموناس معرفی کرد[۴].

از مجموع مطالعات انجام شده در زمینه یافتن آنتی بیوتیک موثر می توان نتیجه گرفت که تنها برخی از مطالعات یا بخشی از آنها با نتایج بدست آمده از این مطالعه مطابقت دارد ضمن اینکه نتایج مطالعات مختلف نیز در مواردی یکدیگر را تایید نمی کند چنانچه به طور نمونه میراندا و زملمن (۲۰۰۲) جمعیت بزرگی از باکتری های مقاوم به اکسی تتراسایکلین را در مزارع ماهی آزاد گزارش کردند در حالیکه در همین سال ساها و پال ادعا کردند که مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک مشاهده نگردید[۱۹و۱۸].

برای توجیه این اختلاف باید گفت همانطور که بسیاری از مطالعات نشان می دهد، باکتری یک گونه ممکن است دارای زیر گونه یا بیو وار های متعددی باشند. ضمن اینکه ممکن است حدت این باکتری ها در منابع مختلف آب با یکدیگر متفاوت باشد. بنابراین فقدان اطلاعات مشخص برای بیان حدت ارگانیسم هایی که در ارزیابی آزمایشگاهی خاصیت ضد میکروبی باکتری در استخرهای پرورش ماهی یا منابع آبی مورد استفاده قرار گرفته اند را می توان یکی از مشکلات موجود دانست[۲۳].

به هر حال این مطالعه به کار گیری آنتی بیوتیک ها را در صورتی که عوامل باکتریایی ایجاد کننده بیماری در ماهی نباشد را پیشنهاد نمی کند با این حال این مطالعه جنتامایسین و کانامایسین را به عنوان موثر ترین آنتی باکتریال علیه تمامی آئروموناس هیدروفیلا جدا شده معرفی می کند. ضمن اینکه سیپروفلوکساسین، آزیترومایسین، نایلیدیکسیک اسید و نورفلوکساسین و افلوکساسین نیز آنتی بیوتیک های کارا و موثری علیه آئروموناس هیدروفیلا بودند.

مهمترین روش کنترل و پیشگیری از این پاتوژن ها رعایت اصول بهداشتی در طول مراحل صید، نگهداری، توزیع و فرآوری می باشد. عموما محیط زیست آبزی، تماس ثانویه در هنگام صید و مراحل انتقال از دلایل انتشار باکتری در بروز آلودگی به شمار می روند. اعمال مدیریت مناسب مزرعه ای از جمله حفظ کیفیت آب رعایت موازین بهداشتی، اعمال شرایط قرنطینه ای و استفاده از آنتی بیوتیک های توصیه شده در سطح مناسب جهت کنترل بیماری می تواند در پیشگیری و کنترل عفونت ناشی از آئروموناس هیدروفیلا در ماهیان و هم چنین عدم سرایت آن به انسان کمک نماید. نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که فرآورده های دریایی خصوصا ماهی می تواند به باکتری های بیماری زای فرصت طلب انسانی از جمله آئروموناس هیدروفیلا آلوده باشد و در این خصوص پخت کامل مواد غذایی به عنوان بهترین روش قبل از مصرف پیشنهاد می گردد.

۵-نتیجه گیری

[1] Pizootic Ulcerative
[2] Quinolon
[3] Cephalosporin

در این پژوهش که طی ۳فصل از سال انجام گرفت مشخص گردید که باکتری آئروموناس هیدروفیلا در ایام گرم سال از شدت و شیوع بیشتری برخوردار است که رعایت اصول بهداشتی در ایام گرم سال به جهت جلوگیری از تلفات استخرهای پرورش ماهی و انتشار بیماری به مصرف کنندگان جلوگیری گردد. آموزش، بررسی و نظارت مزارع در فصل تابستان توسط نهاد های نظارتی و بهداشتی نیز مورد انتظار است.

۶- مراجع

[1] Arthur M,Andermont A,Courvalin P.Distribution of erythromycin esterase and rRNA methylase genes in members of the family Enterobacteriaces highly resistance to erythromycin. Antimicrob Agents Chemother.1987; 31:404.

[2] Bansemir, A., Blume, M., Schroder, S and Lindequist,U. (2006) : Screening of cultivated sea weeds for antimicrobial activity against fish pathogenic bacteria journal of Aquaculture. Vol 25, no.1.pp. 79-84

[3] Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; Sherris, J. C. & Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol., 45(4):493–496.

[4] Castro-Escarpulli, G., Figueras M.J,. Castro-Escarpulli, G., Soler,L., Fernandez Rendon,E., Aparicio,G.O., Guarro,J. and Chacon,M.R. (2003): characteristion of Aeromonas spp. Isolated from frozen fish intended for human consumption in mexico j.food microbiology pp. 41-49

[5] Choudhury, s., sree, A., Mukherijee, Sc,. Bapuji, M. and pattnaik, p. (2002) Antibacterials from marine organism Potential for fish disease control, NATCUB Regional research laboratory, Bhubaneswar pp. 129-139.

[6] Daschner, F.D. (1980) .In A, von Graevenitz and S. J. Rubin (eds.) .The Genus Serratia. CRC press, Inc., Boca Raton, Fla., pp: 187-196.

[7] Eliopoulos GM, Wennersten C, Moellering RC. Resistance to B-lactam anitibiotics in *streptococcus faecium*.Antimicrob Agents Chemother.1982; 22:295.

[8] Fluit AC,Schmitz FJ.Class1 integrons , gene cassettes,mobility , and epidemiology .Eur J Clin Microbiol Infect Dis.1999;18:761.

[9] Georgopapadakou NH.Penicillin-binding proteins and bacterial resistance to B-lactam. Antimicrob Agents Chemother.1993; 37:2045.

[10] Hooper DC,Mechanisms of action of antimicrobials:focus on fluoroquinolones.Clin Infect 2001;32:9.

[11] Igbal, M.M., Chowdhury,M.B.R,. Islam,m.A., Baqui,M., Karim,M.R,. Tajima,K. and Ezura,Y. (1999): seasonal flactuation of motile Aeromonas and pseudomonas in cultured pond of mrigal cirrhinus in Bangladesh, j.Asian fish. Sci vol 12, no.1, pp. 17-24.

[12] Imani, P. and Akhlaghi, M. 2004. Immunogenicity of hemolysin Protease and Lipoplysacharide extracted from Aeromonas hydrophilia in common carp(Cyprinus carpio(. Arch Razi Ins,vol. 57: 55-56.

[13] Joseph, S.W., Canahan, A.M. 2000. Update on the genus Aeromonas spp. Appl Environm Microbiol,vol. 66: 218-223.

[14] Lipton, A.P. (1991): control of Aeromonas and pseudomonas infections in fresh water aquaculture system, j. ICAR/CIFA, BHUBANESWAR (INDIA) PP.171-173

[15] Mahon, C. R. and Manuselis, G. 2000. Textbook of diagnostic Microbiology. W. B. Saunders. Philadelphia. 524.

[16] Matyar, F. Dincers, S. Kaya, A. & Colak, O. 2004. "Prevalence and resistance to antibiotics in Gram negative bacteria isolated from retial fish in Turkey", Annals of microbiology,vol. 54: 151-160.

[17] Mickeniene, L. and Syvokiene, J. (1996): Bacteriological research in to carps in fishing farms, j. LITHUANIA, PP. 307-316

[18] Miranda, C.D. & Zemelman, R. 2001. "Antibiotic resistance in fish from the Conception Bay Chile Mar ine Polluttiom Bulletin", vol .42: 1096–1102.

[19] Miranda, C.D. and Zemelman, R. (2002): Bacterial resistance to oxytetracyclin in Chilean salmon farming, j. Aquaculture, vol212No. 1-4, PP. 23

[20] NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) 2002. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twelfth

Informational Supplement. NCCLS document M100-S12, Wayne, Pennsylvania, USA.

[21] Neumann, W. and ploger. W. (1979): Examination in resistance tests of some strain of Aeromonas hydrophila punctata group isolated from carp, J. fish disease third edition, Munich, COPRA Q-session.

[22] Saha, D. and Pal, J. (2002): Invitro antibiotic susceptibility of bacteria isolated from Eus-affected fishes in India, Lett. Appl Microbiol. Vol.34, No. 5, pp. 311-316.

[23] Soltani, M. (1998): Review of the literature relating to the antibacterial properties of piscine skin mucus, J. fac. Vet. Univ. Tehran, Vol. 53, no. 1-2, pp. 31-34.

[24] Stewart, K.R., Koditschek, L. (1980). Drug resistance transfer in Escherichia coli in NewYork Bight. Marine Pollution Bulletin, 5: 71-74.

[25] Villari P, Crispino M, Montuori P, Boccia S. Molecular typing of *Aeromonas* isolates in natural mineral waters. Appl Environ Microbiol, 2003. 69(1): p. 697-701.

[26] Goettsch W, Pelt W, Nagelkerke N, Hendrix MGR, Buiting AGM, Petit PL, et al. Increasing resistance to fluoroquinolones in escherichia coli from urinary tract infections in The Netherlands. Antimicrob Agents Chemother2000; 46:223-28.

[27] Hooper DC, Mechanisms of action of antimicrobials: focus on fluoroquinolones.clin Infect2001; 32:9.