ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر باکتری ویبریوهای بیماری‌زا در مراکز تکثیر میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

اعظم مقیمی[1*]
محمد افشار نسب[2]
عباسعلی زنده بودی[3]
عقیل دشتیان نسب[4]
وحید یگانه[5]
مهرزاد مصباح[6]

۱. کارشناس بخش آبزی پروری، اداره شیلات، گناوه، ایران
۲. بخش علوم و بهداشت بیماریهای آبزیان، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳. پژوهشکده میگوی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات اموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران
۴ و ۵. گروه بیماری‌های میگو، پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر، ایران
۶. گروه آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

***مسئول مکاتبات:**
Az.moghimi91@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۸۰۱۰۶۲۷
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۲
این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است.

چکیده

این تحقیق باهدف ارزیابی مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مراکز تکثیر میگوی سفید غربی بر باکتری ویبریوهای بیماری‌زا انجام شد. است. در ایران مهم‌ترین باکتری‌های آسیب‌رسان به مزارع پرورش میگو گونه‌های ویبریو است. در استان بوشهر نیز به علت کارائی مصرف بالایی که آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین استرپتومایسین اکسی‌تتراسایکلین و تری‌میتوپریم در بیماری‌های باکتریایی دارند به‌عنوان گونه‌های مورد تحقیق انتخاب شدند. باکتری‌های بیماری‌زای ویبریو هاروی و ویبریو آلجینولیتیکوس از مراکز تکثیر جدا شدند و با استفاده از روش دیسک دیفیوژن به تعیین مقاومت باکتری‌های پرداخته شد. جداسازی باکتری‌ها و شناسایی به روش بیوشیمیایی و تست‌های بیولوژیک و مقایسه نتایج pH و دماهای مختلف بررسی شدند. هر سه باکتری ویبریو هاروی جداسازی شده در سه مرکز تکثیر A, B, C نسبت به آنتی‌بیوتیک اریترومایسین به ترتیب نیمه حساس، مقاوم و حساس بودند. نسبت به آنتی‌بیوتیک تری‌متیوپریم هر سه باکتری حساس بودند. ویبریو آلجینولیتیکوس جداسازی شده از سه مرکز تکثیر نسبت به استرپتومایسین مقاوم بودند. ولی باکتری جداسازی شده از مرکز C نسبت به اریترومایسین نیمه حساس و دو باکتری مرکز A و B مقاوم بود. نتایج نشان می‌دهد که بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به استرپتومایسین در مرحله اول و سپس اریترومایسین در مرحله بعد دیده می‌شود. نتایج نشان داد در pH ۶ عملکرد آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه پایین بوده و و با افزایش pH به ۷ این میزان افزایش می‌یابد. مقاومت آنتی‌بیوتیکی با درجه حرارت نیز اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<0/95$). تجزیه و تحلیل نشان می‌دهد درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد مناسبترین درجه حرارت، برای باکتری‌های ویبریو است. ارزیابی نیز در آبزی‌پروری، با چالش‌های فراوانی درگیر است. به‌ویژه این‌که ارزیابی آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از عناصر حساس در سلامت جامعه است.

واژگان کلیدی: مقاومت آنتی‌بیوتیک، میگو سفید غربی، ویبریو هاروی، ویبریو آلجینولیتیکوس.

مقدمه

باکتری‌های خانواده ویبریوناسه، میله‌ای شکل، مستقیم، خمیده، متحرک و دارای تار لرزان قطبی بوده و در بعضی شرایط خاص محیط کشت، دارای چندین تار لرزان طرفی می‌باشند. فاقد کپسول، کمو ارگانوتروف و بی‌هوازی اختیاری هستند. متابولیسم آن‌ها تنفسی و تخمیری است. اغلب آن‌ها اکسیداز مثبت بوده، گلوکز را به‌عنوان منبع کربن و تولید انرژی مورداستفاده قرار می‌دهند. اکثر آن‌ها برای حداکثر رشد نیاز به ۲ تا ۳ درصد کلرید سدیم دارند و در آب‌های شور و شیرین و همچنین حیوانات آبزی یافت می‌شوند (Wang *et al.*, 2007).

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

میگوی وانامی بانام علمی *Litopenaeus vannamei* و نام عمومی میگوی پا سفید (White leg shrimp) بومی سواحل غربی آمریکای لاتین در اقیانوس آرام از پرو در جنوب تا مکزیک در شمال است. از اواخر دهه ۱۹۹۰ این‌گونه در مقیاس تجارتی با موفقیت در آسیا پرورش یافت. این‌گونه سریع الرشد نسبت به بیماری‌های رایج میگو و شرایط نامطلوب اکولوژیکی مقاوم است. در مقایسه با سایر گونه‌های رایج پرورشی نیاز به غذاهایی با پروتئین کمتر (۲۰ تا ۳۵ درصد) دارد و درنتیجه غذای آن ارزان‌تر است. بیشترین میانگین تولید میگوی وانامی با کنترل بالای بهداشتی–ویروسی و در سیستم مداربسته فوق متراکم تا ۶۳ تن در هکتار گزارش‌شده است (متین فر و همکاران، ۱۳۸۸).

عمده‌ترین خطری که صنعت آبزی‌پروری و به‌ویژه تکثیر و پرورش میگو را تهدید می‌کند، عامل بیماری در این صنعت است خسارت ناشی از بیماری‌ها چه به‌صورت تلفات آرام و بی‌سر صدا و چه به شکل وقایع و تلفات ناگهانی و مرگ‌ومیر همه‌گیر از عوامل صدمه زننده به رشد و توسعه صنعت تکثیر و پرورش میگو بوده است. عوامل بیماری‌زای مختلفی مانند باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها، پروتوزآها موجب آلودگی‌های میگوهای پرورشی می‌شوند. از سال ۱۹۹۸ پرورش‌دهندگان میگو با بیماری‌هایی که منجر به کاهش تولید می‌شوند، مانند بیماری ناشی از ویروس سندروم تورا (TSV) و ویبریوزیس ناشی از ویبریو آلجینولیتیکوس روبرو بوده‌اند (Cheng *et al.*, 1992). این آسیب‌ها به‌ویژه تولید لاروی را از کار انداخته و علاوه بر این، ازنظر زیست‌محیطی با تخلیه فاضلاب حاوی آنتی‌بیوتیک‌ها و ایجاد باکتری‌های مقاوم به دارو می‌تواند محیط را آلوده کنند بنابراین کنترل بیمارها در سطح جهانی در اولویت قرار دارد (Bachere, 2000) باکترهایی که در بروز بیماری در میگو درگیر هستند باکترهای فرصت‌طلب یا باکترهای پاتوژن می‌باشند. در شرایط محیطی نامطلوب، باکترهای فرصت‌طلب منجر به بروز بیماری می‌گردند. بیماری‌های باکتریایی در میگو می‌تواند باعث تلفات، ضایعات جلدی، نکروز، کدر و مات شدن عضلات بدن، تغییر رنگ آب‌شش‌ها، کاهش رشد، از دست دادن کوتیکول، ایجاد روده سفید، بی‌حالی و کاهش مصرف غذا شود. مهم‌ترین بیماری‌های باکتریایی در میگو عبارت‌اند از بیماری ویبریوزیس، بیماری نکروز هپاتوپانکراس (NHP) مایکوباکتریوم، بیماری ریکتزیا، بیماری باکتریایی کیتینوز پوسته میگو و بیماری باکتری‌های رشته‌ای میگو (افشار نسب، ۱۳۸۸). یکی از مهم‌ترین ویبریوهای بیماری‌زا، ویبریو هارویی است، بعضی از محققین اعلام نموده‌اند که ویبریو هارویی و برخی دیگر از سویه‌های ویبریو به‌عنوان پاتوژن واقعی هستند و به‌صورت اولیه ایجاد بیماری می‌کنند. (Brock and Lightner, 1990؛ Nash *et al.*, 1992 ؛ Lavilla-Pitogo *et al.*, 1992) از سویه‌های پاتوژن، ویبریو هارویی، ویبریو ولنیفیکوس، ویبریو پاراهمولتیکوس، اپیدمی‌های وسیعی در بسیاری از نقاط جهان مانند تایلند، فیلیپین، نیوکالدونیا و جنوب ایران (چابهار) گزارش‌شده است (افشار نسب، ۱۳۸۸؛ Nash *et al.*, 1992؛ Lavilla-Pitogo *et al.*, 1992).

تلفات به علت بیماری ویبریوزیس هنگامی رخ می‌دهد که میگوها به‌وسیله عواملی از قبیل: کیفیت بد؛ آب، تراکم زیاد، افزایش دمای آب و تعویض کم آب تحت‌فشار قرار گیرند (Lightner, 1975؛ Brock *et al.*,1990 ؛Lewis, 1973). تلفات بالا معمولاً در پست لاروها و میگوهای جوان رخ می‌دهد. میگوهای بالغ مبتلابه ویبریوزیس ممکن است دچار کمبود اکسیژن، قرمز شدن بدن تا قهوه‌ای شدن آب‌شش و کاهش تغذیه شوند و ممکن است به حالت خواب‌آلود شناور در کنار استخر مشاهده شوند (Nash *et al.*, 1992، Anderson *et al.*, *1988*).

بازگشت بیماری‌های عفونی که تا حدودی محصول بی‌اثر شدن آنتی‌بیوتیک‌ها و مقاوم‌تر شدن عوامل بیماری‌زاست، روزبه‌روز آسیب‌پذیری ما را در مقابل بیماری‌های مختلف افزایش می‌دهد و بی‌شک ادامه چنین روندی مشکلات بسیار جدی و خطرناکی را برای بشر و طبیعت به همراه خواهد داشت. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در موارد غیرانسانی به علت عدم ارتباط کلامی لازم و عدم درک مستقیم نتیجه نامطلوب ممکن، از لحظه کشف تاکنون بسیار فراتر از حد لازم و طبیعی بوده است. در مراحل لاروی و اولیه پست لاروی، تعدادی از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد ضد باکتریایی به‌عنوان عوامل کنترل و کاهش تلفات ناشی از گونه‌های ویبریو شناخته‌شده‌اند و بعضی از آن‌ها که هم مورداستفاده قرار می‌گیرد مالاشیت گرین، فرمالین، فورازولیدون، نیتروفورازون، اریترومایسین، اکسی‌تتراساکلین، کلرامفنیکل است.در میگوهای جوان و بالغ از اکسی‌تتراسایکلین، نیتروفورازون‌ها، فوراسین و فوراناس به‌عنوان داروی مؤثر بر ضد ویبریو استفاده می‌شود.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

پایش و ارزیابی این سیستم‌ها و پیشرفت آن‌ها موجب اقدامات مناسب و به هنگام در سنجش بهداشت و درمان خواهد شد. اهمیت ارزیابی این سیستم‌ها بیشتر نمایان می‌گردد. عدم ارزیابی‌های عملکردی می‌تواند منجر به عدم درک فواید بالقوه و بالفعل سیستم‌های اطلاعاتی شود. بنابراین برای رسیدن به حداکثر فواید سیستم اطلاعاتی، بایستی سیستم در برابر معیارها و الزامات معین ارزیابی شوند (علی پور و همکاران، ۱۳۸۹). پرورش میگو در سراسر مناطق گرمسیری جهان رواج دارد. در حالت عادی درزمانی که باکتری‌های پاتوژن و یا ویروس‌ها ظاهر شدند، آبزی پرور باید برای مقابله با وضعیت موجود از آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده کند، که متأسفانه این عمل حتی در زمانی که استخر در شرایط عادی نیز قرار دارد به‌وفور مشاهده می‌گردد. این امر به‌طور خودبه‌خود در افزایش میزان بیماری‌زایی و تعداد پاتوژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها دارای تأثیر بسزایی است. در یک بررسی مشخص‌شده که در فرایند مقاومت علیه آنتی‌بیوتیک توسط یک باکتری پاتوژن در حین تقسیم سلولی از هر یک‌میلیون تقسیم سلولی یک جهش‌یافته را می‌توان یافت که به آن آنتی‌بیوتیک مقاوم باشد، که هرگاه این جهش در جاندار تحت درمان با آنتی‌بیوتیک رخ دهد، پاتوژن جهش‌یافته قدرت زنده ماندن بیشتر را نسبت به سایر سلول‌های میزبان را دارا بوده و در مدت کوتاهی تعداد آن‌ها افزایش می‌یابد، که باید آنتی‌بیوتیک دیگری جایگزین گردد که هم‌راستای با آن فرایند جهش و ایجاد مقاومت نیز ادامه خواهد داشت. در بیست سال گذشته صنعت آبزی‌پروری به‌ویژه میگو و ماهی به‌طور عظیمی رشد داشته است. سازمان فائو تخمین زده است در سال ۲۰۲۰ نیمی از تقاضای غذایی جهان با آبزی‌پروری پاسخ داده خواهد شد. امروزه پرورش میگو در سراسر کشورهای استوایی رایج شده است. در حال حاضر بیماری‌های زیادی پرورش میگوی سراسر جهان را تحت تأثیر قرار داده است میکروارگانیسم‌های پاتوژن زیادی در این شیوع رایج هستند (Barman *et al.*, 2011). در میان مهم‌ترین معضل بهداشتی و بیماری‌های میگوی پرورشی، عوامل عفونی باکتریایی به‌ویژه عوامل مولد ویبریوزیس در میگوهای (*Penaeidae*) دیده می‌شود (Lightner, 1988؛ Nash *et al.*, 1992).

یکی از مهم‌ترین و جدی‌ترین بیماری‌های باکتریایی ویبریوزیس است که تلفات و خسارت‌های قابل‌توجهی را در کارگاه‌های پرورش میگو ایجاد می‌کند و از طرفی همین باکتری‌ها جزء میکروفلورای دستگاه گوارش میگو نیز است. بنابراین شناسایی فلور باکتریایی میگو از این نظر اهمیت دارد که می‌توان برخی باکتری‌های فرصت‌طلب ایجادکننده بیماری‌های باکتری شناسایی و از آن‌ها به‌عنوان پروبیوتیک استفاده نمود (Keysami *et al.*, 2005).

ارزیابی استقامت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های بر باکتری ویبریوهای بیماری‌زا اصولاً باید با این هدف انجام شود که پرورش‌دهندگان به نقاط ضعف و قوت خود واقف شده و آن‌ها نیز ضمن شناسایی این امر، داده‌هایی برای اصلاح شیوه‌های استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مورداستفاده را به دست آورد. به‌این‌ترتیب، ارزیابی در مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها ماهیتاً تبدیل به ابزاری برای تصمیم‌گیری در خصوص استفاده مناسب از دوزهای آنتی‌بیوتیک‌های از یک مرحله‌به‌مرحله دیگر زندگی تبدیل خواهد شد. در اینجا دیگر مسئله راهنمایی و کمک به پرورش‌دهندگان برای حل مشکلات دوزهای بالا و تقویت او در نقاط ضعف، اگر فراموش نشود در اولویت‌های بعدی قرار می‌گیرد. یکی از مهم‌ترین هدف این پژوهش این است که تولیدکنندگان، در سطوح انتظارات عملکردی را نشان داده و می‌تواند در برنامه‌ریزی‌های آتی موردبررسی قرار گیرد امتیازات نسبتاً مناسبی کسب کنند.در این پژوهش عملکرد استقامت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های رایج در مراکز تکثیر میگو سفید غربی بر باکتری ویبریوهای بیماری‌زا سیستم‌های پرورشی منتخب شهر بوشهر، مورد ارزیابی قرارگرفته است.

مواد و روش‌ها

محل نمونه‌برداری در این پروژه سه مرکز تکثیر میگو در استان بوشهر که شامل یک کارگاه تکثیر در مرکز استان مربوط به پژوهشکده میگوی کشور (مرکز تکثیر B) واقع‌شده در بندرگاه بوشهر و دو کارگاه تکثیر در جنوب یکی در رود حله (مرکز تکثیر C) و دیگری در روستای شیف (مرکز

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

تکثیر A) از توابع شهرستان بوشهر بود. نمونه‌برداری در سه مرحله انجام گرفت. مرکز تکثیر مرحله اول نمونه‌برداری در اوایل دوره تکثیر و دو مرحله دیگر در اواسط و اواخر دوره تکثیر میگوی غربی ۱۳۹۲ بود. طی سه مرحله نمونه‌برداری از مولد، تخم، مراحل لاروی و پست لاروی نمونه‌گیری صورت گرفت. نمونه‌گیری از سه تانک انجام می‌شد و به‌طور تصادفی انتخاب می‌شدند. در این پروژه ۲۰ عدد مولد و ۱۵۰۰ عدد تخم، ۱۵۰۰ عدد لارو و ۲۰۰ عدد پست لارو از هر کدام از مراکز تکثیر انتخاب و به آزمایشگاه میکروبیولوژی پژوهشکده میگوی کشور انتقال داده شد. بطری‌های درب دار قابل اتوکلاو و ظروف یک‌بارمصرف استریل که در حجم‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ سی‌سی استفاده شد. پس‌ازآنکه سه-چهارم بطری از آب پر شد تعداد نمونه‌ای که موردنیاز بود در بطری ریخته و درب بطری را محکم بسته و آن را برچسب‌گذاری نموده و بر روی برچسب نوع نمونه محل نمونه‌برداری، زمان و تاریخ نمونه‌برداری، نام نمونه‌بردار قید گردید و بعلاوه نام کارگاه نیز قید گردید. سپس آن را در یخچال یونولیتی و در کنار چندین تکه یخ قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. به این منظور در ابتدا نمونه‌ها هموژن شدند و از نمونه‌ها رقت تهیه شد و درنهایت از هر رقت بر روی دو محیط کشت TCBS و TSA نمکی کشت شد. در هاون‌های چینی استریل نمونه‌ها را هموژن نموده و یک گرم از نمونه هموژن شده را به لوله‌ای که حاوی ۹ میلی‌لیتر نرمال سیلین بود انتقال داده شد. ۷ لوله‌آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول نمکی ۳ تا ۳/۵ یک عدد لوله‌آزمایش خالی و استریل که این لوله‌ها قبلاً توسط اتوکلاو استریل شده و سپس سرد شده‌اند. لوله‌آزمایش خالی را شماره ۱ و سپس لوله‌های آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول نمکی را به ترتیب از شماره ۷-۲ شماره‌گذاری شد. برای نمونه‌برداری از مولدین ابتدا هپاتوپانکراس و دستگاه گوارش میگوهای مولد با کمک پنس و اسکالپل استریل جدا نموده و در هاون چینی ریخته و خوب هموژن نموده سپس ۲ میلی‌لیتر نرمال سیلین به بافت‌های هموژن شده اضافه نموده و دوباره هموژن نموده درنهایت با یک سمپلر ۱ میلی‌لیتری استریل و یا یک پیپت استریل مقدار یک سی‌سی از نمونه آب درون هاون را برداشته و در لوله‌آزمایش اول و دوم ریخته شد. سپس به‌وسیله شیکر لوله، آن را مخلوط کرده و با یک پیپت استریل دیگر یک سی‌سی از محتویات لوله‌آزمایش شماره ۲ را برداشته و به لوله‌آزمایش شماره ۳ که حاوی ۹ سی‌سی محلول نمکی است انتقال داده و به کمک دستگاه شیکر محتویات لوله‌آزمایش را کاملاً مخلوط نموده، به همین ترتیب با کمک پیپت استریل دیگری، ۱ سی‌سی از محتویات لوله‌آزمایش شماره ۳ را برداشته و به لوله‌آزمایش شماره ۴ انتقال داده، این عمل را تا آخرین لوله یعنی لوله شماره ۷ تکرار شد. بدین ترتیب لوله شماره ۱ حاوی نمونه رقیق نشده بود و لوله‌های شماره ۷-۲ به ترتیب حاوی رقت‌های از نمونه آب مورد آزمایش بود. در ادامه ۱ میلی‌لیتر از هر یک از نمونه‌ها را بر روی محیط TSA و CBS2 انتقال داده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه قرار داده شد. پس از رشد کلنی‌ها، از کلنی‌های مشابه ازلحاظ شکل ظاهری و مورفولوژی یک کشت بر روی محیط TSA با ۲/۵ درصد نمک در لوله‌آزمایش کشت slant (کشت در لوله‌آزمایش) تهیه نموده و جهت نگهداری گرمخانه گذاری شد.در جهت بررسی اثر درجه حرارت بر مقاومت آنتی‌بیوتیکی از سه درجه حرارت ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سانت‌گراد استنفاده شد. جهت ساخت ۰/۵ مک‌فارلند ۰/۵ میلی‌لیتر از ۱/۱۷۵ درصد کلروباریوم با مولکول آب را در یک بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و با اسیدسولفوریک ۱ درصد حجم آن را به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. استاندارد مک فارلند را در دمای ۲-۳۰ درجه سانتی‌گراد و در مکان تاریک نگه‌داشته شد و قبل از استفاده، شیشه محتوی آن را به‌شدت به هم زد تا سولفات باریوم کاملاً به حالت سوسپانسیون درآید. برای تعیین حساسیت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها از روش استانداردDisk diffusion استاندارد CLSI 2008 استفاده‌شده است. در این روش مقدار، مشخصی از آنتی‌بیوتیک بر روی هر دیسک قرار داده‌شده که پس از قرار دادن در سطح محیط کشت مولر هینتون در pHهای مختلف۶، ۷ و ۸ استفاده و آنتی‌بیوتیک موجود در دیسک در داخل محیط نفوذ کرده و باعث جلوگیری از رشد باکتری مورد آزمایش می‌گردد. قابل ذکر است pH محیط کشت قبل از استریل شدن با استفاده از pH متر مجهز به دماسنج، با اسیدکلریدریک و یا هیدروکسید سدیم رقیق تنظیم می‌گردد. بعد از فروبردن سواپ استریل در سوسپانسیون میکروبی در سطح پلیت ۳ بار در حالت زاویه ۶۰ درجه نسبت به هم مالیده شد و در آخر سواپ را دور قسمت داخلی پلیت چرخانده و سپس سواپ را داخل ماده ضدعفونی‌کننده قرار داده شد. اگر سوسپانسیون رقیق باشد قطر هاله عدم رشد بزرگ‌تر و اگر غلیظتر از استاندارد باشد هاله عدم رشد کمتری دیده خواهد شد. حداکثر ۱۵ دقیقه بعد از کشت با استفاده

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

از یک پنس استریل دیسک‌ها را بر سطح محیط کشت قرار داده و با نوک پنس آن را در جای خود محکم کرده. پلیت را در حرارت ۳۰،۳۵ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ الی ۱۸ ساعت قرار داده و پس‌ازآن با استفاده از خط‌کش دقیق، قطر هاله عدم رشد را برحسب میلی‌متر اندازه گرفته و با استفاده از جدول ۱ میزان حساسیت باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک به‌صورت، حساس- نیمه حساس و مقاوم با استفاده از جدول استاندارد CLSI ۲۰۰۸ گزارش شد. به‌منظور محاسبه مقاومت آنتی‌بیوتیکی (ARI) از فرمول ARI=y/nx استفاده شد که در آن y تعداد مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها در آزمایش‌های انجام‌شده n، جمعیت مورد آزمایش و x تعداد آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش است.

جدول ۱: استاندارد CLSI تفسیر قطر هاله عدم رشد آنتی‌بیوگرام در روش دیسک دیفیوژن ۲.

ردیف	آنتی‌بیوتیک	حساس (میلی‌متر)	نیمه حساس (میلی‌متر)	مقاوم (میلی‌متر)
۱	استرپتومایسین	≥ ۱۵	۱۲-۱۴	≤ ۱۱
۲	اریترومایسین	≥ ۲۱	۱۶-۲۰	≤ ۱۵
۳	تری متوپریم	≥ ۱۶	۱۱-۱۵	≤ ۱۰
۴	اکسی‌تتراسایکلین	≥ ۱۹	۱۵-۱۸	≤ ۱۴

نتایج

باکتری ویبریو هاروی نتایج تست رشد در ۸ و ۱۰ درصد نمک منفی است ولی در ویبریو الجینولیتیکوس مثبت است. تست VOGES PROSKAUER هم بین این دو باکتری تفریق ایجاد می‌نماید که نتیجه آن تست ویبریو هاروی منفی و تست ویبریو الجینولیتیکوس مثبت است. نتایج جداسازی باکتری‌ها از ۴ مرحله مختلف سیکل زندگی (مولد، تخم، لارو و پست لارو) میگو نشان داد که ویبریو هاروی فقط در مرحله مولدی در چند روز اول که از گلخانه با شرایط کمتر بهداشتی به سالن تکثیر انتقال داده می‌شود می‌توان جداسازی نمود و به‌مرور با اعمال شرایط بهداشتی در مراکز تکثیر این باکتری حذف می‌شود. بررسی بر روی مراحل مختلف سیکل زندگی میگو در سه هچری نشان داد که ویبریو هاروی فقط در مرکز تکثیر B بیش از یک درصد از کل ویبریوها را تشکیل می‌داد و در دو مرکز دیگر کمتر از یک درصد کل است. بیشترین درصد ویبریو الجینولیتیکوس از کل به ترتیب در مرکز B با ۴۳/۱ درصد مرکز تکثیر A با ۳۴/۸۹ درصد و در آخر مرکز تکثیر C ۳۰/۷۶ درصد بود. از مولدین مرکز تکثیر A و C باکتری ویبریو هاروی جداسازی شد اما در مرکز مولدین مرکز تکثیر B ویبریو هاروی دیده نشد. از همه‌ی مولدین باکتری ویبریو الجینولیتیکوس جداسازی گردید. از کل ویبریوهای جداسازی شده در مرکز تکثیر A, B و C به ترتیب ۰/۹۸ درصد، ۱/۲۸ درصد و ۰/۹۰ درصد ویبریو هاروی و ۳۴/۸۹ درصد، ۴۳/۱ درصد، هم ویبریو الجینولیتیکوس بودند. از تخم‌های نمونه‌برداری شده در مراکز تکثیر A, B و C به ترتیب ۵۳/۳۳ درصد، ۶۹/۲۳ درصد و ۶۰ درصد کل باکتری‌های جداشده را ویبریو تشکیل می‌داد باکتری‌های *Vibrio alginolyticus*، *Vibrio.sp* و *V.anguillarum*، *V.parahaemolyticus* از نمونه‌های هر سه مرکز تکثیر جداسازی شد اما از هیچ‌یک از نمونه‌های تخم ویبریو هاروی جداسازی نشد.

ویبریو الجینولیتیکوس بیشترین درصد از ویبریوهای جداسازی شده را به خود اختصاص داده بود. به‌طوری‌که در مرکز تکثیر A ۵/۵۵ درصد و در مرکز تکثیر B (۴۴/۴) و (۵۰) C از کل ویبریوها را تشکیل می‌دادند. از لاروهای نمونه‌برداری شده در مراکز تکثیر A, B و C به ترتیب ۶۸/۸ درصد، ۷۱/۵۶ درصد و ۵۹/۳۹ درصد کل باکتری‌های جداشده را ویبریو تشکیل می‌داد در مرحله لاروی و پست لاروی نیز به‌مانند مرحله تخم باکتری‌های *V.anguillarum*، *V.parahaemolyticus*، *V.alginolyticus* و *Vibrio.s* در هر سه مرکز تکثیر جداسازی شد و از هیچ‌یک از نمونه‌ها ویبریو هاروی جداسازی نشد در مرحله لاروی ویبریو الجینولیتیکوس بیشترین درصد از ویبریوهای جداسازی شده را به خود اختصاص

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

داده بود. به‌طوری‌که در مرکز تکثیر A ۵۶/۷ درصد و در مرکز تکثیر B و C به ترتیب ۴۷/۵ و ۵۳/۸ از کل ویبریوها را تشکیل می‌دادند. در نمونه‌برداری از مراکز تکثیر A, B و C به ترتیب ۶۹/۵۷ درصد، ۷۳/۹۱ درصد و ۶۶/۶۷ درصد کل باکتری‌های جداشده را ویبریو تشکیل می‌داد در این مرحله از سیکل زندگی میگو نیز مانند مرحله تخم و لاروی، ویبریو الجینولیتیکوس بیشتر درصد در از ویبریوهای جداسازی شده را به خود اختصاص داده بود. به‌طوری‌که در مرکز تکثیر A ۵۵/۶ درصد و در مرکز تکثیر B وC به ترتیب ۵۱/۶ و ۴۹/۳ از کل ویبریوها را تشکیل می‌دادند. نتایج اندازه‌گیری قطر هاله تست آنتی‌بیوگرام دو گونه ویبریو هاروی و ویبریو آلجینولیتیکوس نشان می‌دهد. در جدول ۲ میانگین استاندارد مقاومت جدایه‌های گونه ویبریو هاروی و آلجینولیتیکوس به آنتی‌بیوتیک در روش دیسک دیفوژن نشان داده شده است. جدول ۳ نتایج ارزیابی تست قطر تست آنتی‌بیوگرام دو گونه ویبریو هاروی و ویبریو آلجینولیتیکوس را نشان می‌دهد.

جدول ۲: میانگین میزان مقاومت جدایه‌های گونه*Vibrio harveyi* و *Vibrio alginolyticus* به آنتی‌بیوتیک‌ها در روش دیسک دیفیوژن.

تکثیر	نوع باکتری	اکسی‌تتراسایکلین	استرپتومایسین	تری‌متیوپریم	اریترومایسین
A	*V.harveyi*	۲۵	۱۱	۱۶	۲۱
	V.alginolyticus	۱۵	۱۱	۱۲	۱۳
B	*V.harveyi*	۲۹	۰	۲۰	۱۳
	V.alginolyticus	۲۰	۱۰	۲۲	۰
C	*V.harveyi*	۲۶	۱۱	۲۵	۲۸
	V.alginolyticus	۲۵	۱۰	۲۶	۱۶

جدول ۳: نتیجه ارزیابی تست آنتی‌بیوگرام دو گونه *Vibrio harveyi* و *Vibrio alginolyticus*.

تکثیر	نوع باکتری	اکسی‌تتراسایکلین	استرپتومایسین	تری‌متیوپریم	اریترومایسین
A	*V.harveyi*	حساس	مقاوم	حساس	نیمه حساس
	V.alginolyticus	نیمه حساس	مقاوم	نیمه حساس	مقاوم
B	*V.harveyi*	حساس	مقاوم	حساس	مقاوم
	V.alginolyticus	حساس	مقاوم	حساس	مقاوم
C	*V.harveyi*	حساس	مقاوم	حساس	حساس
	V.alginolyticus	حساس	مقاوم	حساس	نیمه حساس

هر سه ویبریو هاروی به اکسی‌تتراسایکلین حساس و به استرپتومایسین مقاوم بودند. ویبریو هاروی مرکز تکثیر A, B و C به ترتیب نسبت به اریترومایسین نیمه حساس، مقاوم و حساس بودند. در مرکز تکثیر A باکتری ویبریو هاروی به تری‌متیوپریم نیمه حساس و در دو مرکز تکثیر دیگر حساس بودند. ویبریو آلجینولیتیکوس جداسازی شده از سه مرکز تکثیر A, B و C به استرپتومایسین مقاوم بودند. همچنین این باکتری در دو مرکز تکثیر C و A به اریترومایسین نیمه حساس و در مرکز B مقاوم بود. اطلاعات به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که هیچ‌یک از آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش در مرکز تکثیر A برای باکتری ویبریو آلجینولیتیکوس حساس نبودند.اما باکتری ویبریو هاروی در مرکز تکثیر A به اکسی‌تتراسایکلین و تری‌متیوپریم حساس، به استرپتومایسین مقاوم و به اریترومایسین نیمه حساس بود. در مرکز تکثیر B باکتری آلجینولیتیکوس به دو آنتی‌بیوتیک

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

اریترومایسین و استرپتومایسین مقاوم و به دو آنتی‌بیوتیک تری‌متیوپریم و اکسی‌تتراسایکلین حساس بود نتایج ویبریو آلجینولیتیکوس در باکتری، ویبریو هاروی جداسازی شده نیز همانند ویبریو آلجینولیتیکوس به دست آمد. در مرکز تکثیر C, ویبریو هاروی فقط نسبت به آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین مقاومت نشان داد. نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های دیگر از خود حساسیت نشان داد. اما باکتری ویبریو آلجینولیتیکوس جداسازی شده در این مرکز نسبت به استرپتومایسین مانند باکتری ویبریو هاروی از خود مقاومت نشان داد و نسبت به اریترومایسین نیمه حساس بود و به دو آنتی‌بیوتیک دیگر حساسیت نشان داد.

تاثیر pH بر عملکرد آنتی‌بیوتیک‌ها در مقادیر ۶، ۷و ۸ ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که در pH: ۶ عملکرد آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی پایین بوده و و با افزایش pH به ۷ این میزان افزایش یافت و سپس با بالارفتن pH به ۸ تغییرات مشاهده شده در عملکرد آنتی‌بیوتیک‌های به مرور افزایش یافت. نتایج این تحقیق نشان داد که تغییرات pH در محیط کشت بیشترین تاثیر را بر روی فعال‌سازی اثرات عدم رشد آنتی‌بیوگرام را دارند بعضی از آنتی‌بیوتیک‌ها مثل تتراسایکلین در محیط‌های اسیدی بهترین نوع فعالیت دارند و بعضی دیگر از آنتی‌بیوتیک‌ها مانند اریترومایسین و استرپتومایسین در محیط قلیایی بهترین نوع فعالیت دارند. pH کنترل که ۷ در نظر گرفته شده است. جدول ۴ نتایج بررسی pH بهینه بر عملکرد مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها در برابر ویبریو آلجینولیتیکوس و ویبریو هاروی را نشان می‌دهد.

جدول ٤: بررسی pH بهینه بر عملکرد مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های در برابر ویبریوهای بیماری‌زا.

آنتی‌بیوتیک	نوع باکتری	میانگین pH		
		٦	۷	۸
اکسی‌تتراسایکلین	*V.harveyi*	^{b}۰/٤۲±۷۵/۳۳	^{b}۰/۳٤±۷۵/۲۱	^{a}۰/۱٤±۷۵/۱۵
	V.alginolyticus	^{b}۰/٤۰±۷۵/٤۳	^{b}۰/۱۲±۷۵/۲۳	^{a}۰/۰٤±۷۵/۲۳
استرپتومایسین	*V.harveyi*	^{b}۰/۰۳±۸/۳۷	^{a}۰/۲٤±۹/۰۱	^{b}۰/۰۵±۱۲/۳٤
	V.alginolyticus	^{b}۰/۰۵±۱۳/۳۹	^{a}۰/۲۱±۱٤/۷۵	^{b}۰/۳٤±۱۷/۲۸
تری‌متیوپریم	*V.harveyi*	^{b}۰/٤۵±۱۹/٦۵	^{b}۰/۰۸±۱۷/۷۲	^{a}۰/۰۷±۱٤/۱۷
	V.alginolyticus	^{b}۰/۲۰±۲۹/۸۵	^{b}۰/۱۰±۲۷/۷۱	^{a}۰/۱۲±۲۵/٤۷
اریترومایسین	*V.harveyi*	^{b}۰/۵٦±٤۲/٦۳	^{a}۰/۲٤±٤٤/۷۷	^{b}۰/۱۰±٤۸/۳۸
	V.alginolyticus	^{b}۰/۲۸±٤۹/۱۱	^{a}۰/۲۱±۵۲/۲٤	^{b}۰/٤۱±۵۵/۱۷
شاهد (دیسک خام)	-	–	-	-

*حروف نشانه اختلاف میان مراحل نمونه برداری می باشد.

درجه حرارت مورد بررسی در ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد اختلاف معنیداری وجود دارد. به نظر می‌رسد اختلاف درجه حرارت نیز بر بار باکتریایی تاثیر داشته است. تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از این قسمت نشان داد که درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد مناسبترین درجه حرارت، برای باکتری‌های ویبریو جدا شده است (جدول ۵). درجه حرارت در طی زمان‌های مختلف نمونه‌برداری اختلاف معنی‌دار است. به نظر می‌رسد اختلاف درجه حرارت نیز بر بار باکتریایی تاثیر زیای داشته است. همان گونه که از جدول مشهود است، مناسب‌ترین درجه حرارت برای رشد باکتری‌های بیماری‌زای جدا شده از گونه ویبریو آلجینولیتیکوس بوده که در آن میانگین رشد باکتری‌ها افزایش یافته است. در این آزمایش مشخص شد که ویبریو هاروی در دمای ۴۰ درجه رشد نمی‌کند.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

جدول ۵: بررسی درجه حرارت بهینه بر عملکرد مقاومت آنتی‌بیوتیک‌های در برابر ویبریوهای بیماری‌زا.

آنتی‌بیوتیک	نوع باکتری	درجه حرارت (°C)		
		۳۰	۳۵	۴۰
اکسی‌تتراسایکلین	*V.harveyi*	^{b}۰/۰۳±۱۵/۹۷	^{b}۰/۰۳±۱۸/۹٤	-
	V.alginolyticus	^{a}۰/۰٤±۱۹/٦٦	^{b}۰/۱۲±۲۰/٤۸	^{c}۰/۱٦±۱۸/٤۳
استرپتومایسین	*V.harveyi*	^{a}۰/۰٤±۱۲/۰۵	^{b}۰/۰۳±۱۲/۰٦	–
	V.alginolyticus	^{c}۰/۲۹±۱۳/۳۳	^{b}۰/۲٦±۱۳/۷۰	^{b} ۰/۱۷±۱۲/۵۳
تری‌متیوپریم	*V.harveyi*	^{b}۰/۰۸±۱٤/۵۲	^{b} ۰/۰٤±۱۵/٤۷	–
	V.alginolyticus	^{c}۰/۰۸±۱٦/۲٦	^{b}۰/۳۵±۱٦/٤۰	^{a}۰/۰۸±۱٦/۲٦
اریترومایسین	*V.harveyi*	^{c}۰/۱۰±٤۸/۳۸	^{b}۰/۲٤±٤٤/۷۳	-
	V.alginolyticus	^{a}۰/۲۱±۵۲/۲٤	^{b}۰/٤۱±۵۵/۱۷	^{c}۰/۲۸±٤۹/۱۱
شاهد (دیسک خام)	-	–	-	-

نتایج شاخص مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سه مرکز تکثیر (۰/۲۵) یکسان به دست آمد.

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق تعداد ویبریوها بیشترین درصد از باکتری‌های جداسازی شده در مراحل مختلف سیکل زندگی میگو وانامی در هچری را تشکیل می‌دادند. همچنان که نتایج دیگر محققان هم این موضوع را ثابت می‌نمود به‌طوری‌که Sahul Hameed, 2003، Anderson *et al*., 1988 نشان دادند که ویبریوها عمده‌ترین باکتری موجود در تخم‌ها، لاروها و پست لاروهای میگوی *M.rosenbergii* بود هم چنان‌که singh (1986) در مورد *P.indicus*، مشاهده کردند که ویبریوها بیشترین تراکم باکتریایی را در میگوهای موردمطالعه دارند. در این تحقیق مانند نتایج Sahul Hameed *et al* (2003)، الگوی خاصی از تغییرات و افزایش تعداد باکتری‌ها در طول زمان تکثیر با افزایش سن میگوها مشاهده نشد. تنها دلیل آن می‌تواند استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در مراکز تکثیر جهت کنترل جمعیت باکتری‌ها و پیشگیری از بیماری باشد. این موضوع ممکن است دلیل نوسان تعداد باکتری‌ها در مراحل مختلف سیکل زندگی میگو در هچری‌ها باشد. بر همین اساس نتایج تحقیق نشان داد که باکتری‌های جداسازی شده از سه مرکز تکثیر، واکنش‌های متفاوتی از خود نسبت به چهار آنتی‌بیوتیک مورد آزمایش نشان دادند .نتایج تست آنتی‌بیوگرام در این تحقیق نشان داده است که هر سه باکتری ویبریو هاروی جداسازی شده در نقاط مختلف نسبت به استرپتومایسین مقاوم هستند اما تنها باکتری‌های جداشده از مرکز تکثیر B نسبت به هر دو آنتی‌بیوتیک اریترومایسین و استرپتومایسین مقاوم بودند. اما ویبریو هاروی جداسازی شده در سه مرکز تحقیق فقط به استرپتومایسین مقاوم بودند و تنها در مرکز تکثیر B بود که به اریترومایسین نیز مقاوم بود (Toranzo *et al*., 1987).

Toranzo *et al*., (1987) در این موضوع نتایج ما مشابه نتایج دیگر محققان است اما با تأکید بر اینکه ویبریو الجینولیتیکوس هم نسبت به استرپتومایسین مقاوم است. اکسی‌تتراسایکلین با توجه به دسترسی آسان به آن پرمصرف‌ترین آنتی‌بیوتیک کاربردی در مراکز تکثیر میگویی وانامی واقع در استان بوشهراست. مشکل عمده اکسی‌تتراسایکلین این است که باکتری‌های بیماری‌زا به‌راحتی در برابر آن مقاوم می‌شوند و آن را توسعه می‌دهند (shotts *et al*., 1976). اکسی‌تتراسایکلین می‌تواند مقاومت آنتی‌بیوتیکی را در بین باکتری‌های مختلف در هچری ها و مزارع پرورشی رواج و افزایش دهد (۱۹۹۷).

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

اما نتایج تحقیق ما عدم مقاومت باکتریایی به اکسی‌تتراسایکلین را نشان داد و همه باکتری‌های مورد آزمایش به‌جز ویبریو الجینولیتیکوس مرکز A نیمه حساس بود دیگر باکتری‌ها حساس بودند. باید دلیل حساسیت باکتری‌های موردبررسی در این تحقیق به اکسی‌تتراسایکلین و تری‌متیوپریم را باوجود مصرف این آنتی‌بیوتیک در مراکز تکثیر استان بوشهر، را این‌گونه توضیح داد که میزان آنتی‌بیوتیک مصرفی اکسی‌تتراسایکلین و تری‌متیوپریم در مراکز تکثیر به میزان دوز مؤثره بوده و همچنین تعداد دفعات استفاده به میزانی نبوده است که بتواند در طی مدت استفاده ایجاد مقاومت نماید. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق باکتری‌های مورد آزمایش در برابر اکسی‌تتراسایکلین حساس است و با نظر Toranzo *et al.*, (1987) که اعلام نمودند به دلیل عدم تماس مکرر سویه‌های باکتریایی مورد آزمایش با آنتی‌بیوتیک موردنظر می‌تواند هیچ مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایجاد نشود به‌طوری‌که در تحقیق آنان هیچ‌کدام از گونه‌های دیگر ویبریو به‌جز ویبریو هاروی جداشده از میگو، مقاوم در برابر اکسی‌تتراسایکلین نبودند (Toranzo *et al.*, 1987) همخوانی دارد. با این اوصاف باکتری ویبریو هاروی جداشده در مرکز تکثیر B که به دو آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و اریترومایسین مقاوم است می‌تواند بیماری‌زاتر از دو ویبریو هاروی جداشده‌ی دیگر باشد. شباهت‌ها و تفاوت‌هایی بین نتایج آنتی‌بیوگرام هر دو باکتری ویبریو هاروی و الجینولیتیکوس هر منطقه وجود دارد. نتایج آنتی‌بیوگرام مرکز تکثیر A به‌جز در مورد استرپتومایسین که هر دو باکتری ویبریو هاروی و ویبریو الجینولیتیکوس مشابه و به آن مقاوم بودند دیگر نتایج متفاوت بودند. اما در مرکز تکثیر C فقط نتایج آنتی‌بیوگرام اریترومایسین در دو باکتری متفاوت است به‌طوری‌که الجینولیتیکوس به اریترومایسین نیمه حساس ولی هاروی حساس است. دیگر نتایج آنتی‌بیوگرام دو باکتری مشابه است.

این عدم تشابه در نتایج در مرکز تکثیر B مشاهده نمی‌شود و تمام نتایج دو باکتری کاملاً مشابه است. تحقیقات Manjusha *et al.*, (2005) نشان داد سطح مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در آب‌های شور مزارع پرورش میگو در نزدیکی سواحل کمتر از آب‌های مناطق ساحلی نزدیک شهرها است. آن‌ها اعلام کردند که این موضوع ممکن است به علت ورود باکتری‌های خشکی که دارای پلاسمیدهای حامل ژن مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها است به آب دریا باشد و می‌تواند مسئول شیوع مقاومت در ژن‌ها در مناطق دریایی باشد .بر این اساس مقاومت به آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و اریترومایسین در این تحقیق را به آب‌های منطقه مورد آزمایش می‌توان نسبت داد، زیرا این آنتی‌بیوتیک‌ها در موارد انسانی بسیار مورداستفاده قرار می‌گیرند و آب‌های مشرف‌به هچری‌های موردبررسی مانند هچری پژوهشکده میگوی کشور B که درواقع در روستای هلیله و بندرگاه است و همچنین هچری A که در مجاورت روستای شیف از توابع شهر بوشهر است از هچری فاضلاب‌های انسانی دور نیستند و از طریق فاضلاب باکتری‌های دارای پلاسمید مقاوم و آنتی‌بیوتیک‌های باقی‌مانده مصرفی انسان و دام به دریا راه پیدا نموده و ایجاد مقاومت در باکتری‌های دریا نموده است. مرکز تکثیر C که واقع در رود حله است و به فاضلاب‌های انسانی دور می‌باشند دارای مقاومت کمتری است.

در این تحقیق دیده شد که هچری B که نسبت به دیگر هچری ها به مراکز مسکونی نزدیک‌تر است دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی بیشتری نسبت به دو هچری دیگر است این رابطه تأثیر فاصله بین هچری و مرکز مسکونی که هر چه کمتر باشد مقاومت بیشتری دیده می‌شود در بین دو مرکز دیگر نیز دیده می‌شود. در بررسی که توسط Chowdury *et al.*, (1987) انجام شد نشان دادند که برخی ویبریوهای جداسازی شده از محیط در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مورداستفاده در انسان از خود مقاومت نشان دادند. Manjusha *et al.*, (2005) نتایج تحقیق ما نشان داده است که بالاترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک در ابتدا برابر استرپتومایسین و سپس اریترومایسین است. در ارزیابی مشخص شد، دو گونه باکتری مورد آزمون در هچری‌های مختلف مقاوم به استرپتومایسین و حساس به اکسی‌تتراسایکلین و تری‌متیوپریم بودند و فقط در یک مورد باکتری ویبریو الجینولیتیکوس مرکز تکثیر A به اکسی‌تتراسایکلین و تری‌متیوپریم نیمه حساس بود و در دیگر مراکز حساس بود.در این تحقیق نیز مانند نتایج Manjusha *et al.*, (2005) با تغییر نقاط نمونه‌برداری در نتایج آنتی‌بیوگرام تغییر ایجاد می‌شد البته بیشترین تغییرات در نتایج اریترومایسین دیده می‌شود و در دیگر نتایج آنتی‌بیوگرام تغییرات در نتایج فقط در مورد باکتری ویبریو الجینولیتیکوس مرکز تکثیر A دیده می‌شود. این نتایج مشخص می‌سازد که اغلب گونه‌های ویبریو در محیط آبی مقاومت خود را در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در مناطق ساحلی افزایش می‌دهند.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

در بررسی مقایسه میزان بار باکتریایی بین نمونه‌های در pH و درجه حرارت‌های مختلف، اختلاف معنیداری مشاهده شد که می‌توان نتیجه گرفت آماده سازی سالن تکثیر به درستی انجام نشده است. افزایش بار باکتریایی در مراکز تکثیر به دلیل باقی مانده‌های مواد غذایی، مدفوع میگو و مرگ و میر پلانکتونی قابل انتظار است اما در اول دوره پرورش با توجه به استفاده از آهک پاشی و آماده سازی باید بار باکتریای کم باشد (Sheryl Oliveira *et al*., 2013).

درجه حرارت مناسب برای رشد ویبریوها از ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد است ولی می‌توانند در محدودهٔ ۱۰ تا ۴۴ درجه سانتیگراد نیز رشد کنند و در pH کمتر از ۵ و بالاتر از ۱۱ متوقف شوند (مجیدی نسب، ۱۳۷۳). سه مرکز تکثیر میگو در استان بوشهر دما بین ۳۰- ۴۰ درجه سانتی‌گراد و pH ۶ تا ۸ در نوسان است، آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین در pH ۸ بیشترین فعالیت را دارند (۵۵/۱۷±۰/۴۱) و اکسی تتراسایکلین در pH ۶-۷ بالاترین فعالیت را خواهد داشت. بنابراین امکان وجود برای رشد باکتری‌های ویبریو را بوجود می‌آورد. یکی از عوامل تأثیرگذار بر فراوانی گونه‌های مختلف ویبریو در آب دریا و حتی استخرهای پرورش، دمای محیط است. بنابراین بسیار بدیهی است در فصول مختلف سال و براساس میزان متوسط دمای روزانه، فراوانی برخی از گونه‌های ویبریو در نوسان نباشد، البته تاثیر سایر عوامل محیطی را نباید نادیده گرفت.

در بررسی مقایسه pH و درجه حرارت با آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی مشخص شد که همبستگی معنادار است. با مطالعه شکوری و رحیمی قره میر شاملو (۱۳۹۵) مطابقت دارد. نتایج این تحقیق بیانگر آن است که بیشترین میزان بار باکتریایی جنس ویبریو در سه مرکز تکثیر A, B, C میگوی *L.vannamei* در درجه اول به گونه ویبریو الجینولیتیکوس و سپس به ویبریو هاروی تعلق دارد. که بر اساس مرور منابع این گونه‌ها فلور طبیعی آب نیز می‌باشند (راسخی ،۱۳۷۸) که این بانگر این است فلور طبیعی در خورهای مختلف، متفاوت است (Thompson *et al*., 2010). یافته‌های این تحقیق با نظر رحیمی و قره میر شاملو (۱۳۹۵) مبنی بر اینکه گونه ویبریو الجینولیتیکوس یک گونه غالب منطقه است و تحمل بالایی در مقابل دما دارد و رشد باکتری‌ها در استخر ناشی از وفور مواد غذایی به خاطر غذادهی و وجود مواد آلی فراوان ناشی از مواد زاید میگوها است، مطابقت دارد. تاثیر دما، pH و وضعیت کیفی آب نیز به عنوان عوامل مستعد کننده در بروز بیماری توسط (Soltani and Tarahomi, 2009) مورد تایید قرار گرفته است. باکتری‌ها به طور کلی با افزایش دمای آب فعالیت بیشتری دارند و در واقع رشد و تکثیر بیشتری خواهند داشت که این امر می‌تواند بیماری‌زایی خود را در شرایط بد بهداشتی و عدم مدیریت صحیح نشان می‌دهد. امروزه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها روند افزایش داشته است. استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها به نوبه خود منجر به پیدایش و گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی بخصوص آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف می‌شود (Raissy and Ansari , 2011).

مرکز A در مرحله بعد از مرکز B قرار می‌گیرد که با ۲ مقاومت و ۲ نیمه حساس برای هر دو باکتری بود و در آخر مرکز C با ۱ مقاوم برای هر دو باکتری و یک‌نیمه مقاوم برای ویبریو الجینولیتیکوس ثبت شد .بالاترین مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک در مورد استربتومایسین و نیمه مقاوم به ترتیب در مورد اریترومایسین، تری‌متیوپریم و اکسی‌تتراسایکلین مشاهده گردید. کمترین مقاومت در برابر اکسی‌تتراسایکلین با یک مورد نیمه مقاوم در برابر الجینولیتیکوس جداسازی شده از مرکز A مشاهده شد.رابطه زیر در نتایج مقاومت به آنتی‌بیوتیک در مراکز موردبررسی بر اساس نتایج مقاومت آنتی‌بیوتیکی به دست آمد. بیشترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک $C < A < B$ کمترین مقاومت به آنتی‌بیوتیک اما با بررسی شاخص مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سه هچری موردبررسی و دو باکتری مورد آزمون بدون در نظر گرفتن مناطق جداسازی آن‌ها یکسان و برابر ۰/۲۵ بود که این عدد هرچه از یک کوچک‌تر باشد نشان‌دهنده بروز مقاومت کمتری به آنتی‌بیوتیک‌ها است. این مقوله کلان به نتایج منفی و خنثی ارزیابی استقامت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مراکز تکثیر میگو سفید غربی بر باکتری ویبریوهای بیماری‌زا کیفی توصیفی است. منظور از این مقوله درواقع نتایجی است که تحقیقات از مقایسه عملکرد دو الگوی ارزیابی کیفی و کمی به دست آورده‌اند. درواقع می‌توان گفت این پژوهش حاوی مضامینی هستند که نشان می‌دهد در مواردی که شاخصه‌های مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزیان پرورشی و حتی دریایی تأمین‌کننده بهداشت جامعه

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

هستند لازم و ضروری است. ارزیابی کیفی توصیفی نیز نتایج خوبی به همراه داشته است. بنابراین در برخی مناطق پایش و اندازه‌گیری مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها، برنامه ارزیابی توصیفی توانسته است به مهم‌ترین اهداف خود که ارتقاء سطح بهداشت غذایی افراد در جامعه کمک شایانی بنماید.

منابع

افشار نسب، م.، ۱۳۸۸. بررسی وضعیت بهداشت و بیماریهای مراکز تکثیر و پرورش میگوی کشور. موسسه تحقیقات شیلات ایران، گزارش علمی شماره ۸۹۱۱۰۳۰۰۱.

متین فر، ع.، آئین جمشید، خ. و مطلبی، ع.، ۱۳۸۸. برنامه راهبردی میگو و سایر سخت پوستان .موسسه تحقیقات شیلات ایران، گزارش علمی شماره ۸۸۶۱۱۰۴۱.

علیپور، ج حسینی، س.، حیاوی حقیقی ، م.، فقهی، ز.، شریفی، ر. و کوه‌کن، ا.، ۱۳۸۹. بررسی سیستم اطلاعات بیمارستانی بیمارستان و درمان کودکان بندرعباس از دیدگاه کاربران، مجله پزشکی هرمزگان. ۱۴ (۲). صفحات ۱۴۰-۱۴۷.

مجیدی‌نسب، ا.، ۱۳۷۳. شناسایی کشت باکتری میگو گیاهان (معاونت تکثیر و پرورش آبزیان)، گزارش نهایی .شرکت شیلات ایران، صفحه ۵۳.

شکوری، آ. و رحیمی قره میرشاملو، ق.، ۱۳۹۵. تعیین فراوانی و تنوع باکتری های جنس ویبریو در استخرهای پرورش میگو و کانال آب رسان در طول دوره پرورش (در مجتمع گواتر -چابهار). مجله بوم شناسی آبزیان.۶ (۳). صفحات ۱۰۲-۱۱۴.

راسخی، س.، ۱۳۷۸. پیشگیری و بهداشت از بیماری در مزرعه پرورشی میگو. ناشر انتشارات آبزی پروری. بخش توسعه آموزش و پرورش. صفحه ۱۷۶.

Abraham, T.J., Manley, R., Palaniappan, R. and Devendran, K., 1997. Pathogenicity and antibiotic sensitivity of luminous *Vibrio harveyi* isolated from diseased penaeid shrimp. Journal of Aquacuiture in the Tropics**.** 12 (1): 1–8.

Anderson, I. G, Shamsdi*n*, M. N. and Sharif, M. 1988. Bacterial septicemia in juvenile tiger shrimp, *Penaeus* monodon, cultured in Malaysian brackish water ponds. Asian Fishery Sciences, 2: 93-108.

Bachere, E., 2000. Introduction Shrimp immunity and disease control. Journal of Aquaculture, 191:3-11. https://doi .org/10.1016/S0044-8486(00)00413-0

Barman, P., Banerjee, A., Bandyopadhyay, P., Mondal, K. C. and Das Mohapatra., P. K., 2011. Isolation, identification and molecular characterization of potential probiotic bacterium, *Bacillus subtilis*. PPP 13 from *Penaeus monodon*. Biotechnol Bioinf Bioeng. 1(4): 473-482.

Brock, J. A. and Lightner, D. V., 1990. Diseases of Crustacean. In: O. Kinne (Ed). Diseases of Marine Animals, Hamburg, Biologische Anstalt Helgoland, PP. 245-424.

Cheng, W., Wang, L., Chen, J., 2005. Effect of water temperature on the immune response of white shrimp Litopenaeus vannamei to Vibrio alginolyticus. Aquaculture, 250: 592 – 601. https://doi.org/10.1016/j. aquaculture.2005.04.060

Chowdury, M. A. R., Aziz, K. M. S., Rahim, Z. and Kay, B. A., 1986. Antibiotic resistance patterns of *Vibrio mimicus* isolated from human and environmental sources in Bangladesh. Antimicrobial Agents Chemotherapy, 4:622–630.

Eleonor, A. and Tendencia la Peña. L. D., 2005. Antibiotic resistance of bacteria from shrimp ponds. The Internet Journal of Microbiology, 11:980-986**.**
https://doi.org/10.1128/AAC .30.4.622

Keysami, M. A., Saad, C. R., Daud, H. M., Sijam, K., Alimon, A. R., 2005. Effect of Probiotic on larval growth and development rate of *Macrobrachium rosenbergii* (deMan). Kustem 4th Annual Seminar held at Primula Beach Resort, *Kuala Terengganu*, Malaysia during May 2-3, Abstract book, p. 80.

Lavilla-Pitogo, C. R., Cruz-Lacierda, E. R., de.la Pena, L. D and Sunaz, N. A., 1990. Studies on the chemical control of luminous bacteria *Vibrio harveyi* and *V. splendidus* isolated from diseased *Penaeus monodon* larvae and rearing water. Baticados MCL, Diseases of Aquatic Organisms, 9: 133-139.

Lewis, D. H., 1973. Response of brown shrimp to infection with *Vibrio* sp. Journal of Aquaculture, 109: 101-108.

Lightner, D. V., 1988. Red disease of penaeid shrimp. In: Sindermann C.J., Lightner, D.V., (eds). Disease diagnosis and control in North American marine aquaculture. Developments in aquaculture and Fisheries science 17. Elsevier, Amsterdam. pp. 100-103.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]

Lightner, D. V. and Lewis, D. H., 1975. A septicemia bacterial disease syndrome of Penaeid shrimp. Marine Fisheries Review, 375: 25-28.

Manjusha, S., Sarita, G. B., Elyas, K. K. and Chandrasekaran, M., 2005. Multiple Antibiotic Resistances of *Vibrio* Isolates fromCoastal and Brackish Water Areas.American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 14: 201-206.

Nash, G., Nithimathachoke, C., Tungmandi, C., Arkarjamorn, A., Prathanpipat, P. and Ruamthaveesub, P., 1992. Vibriosis and its control in pond-reared *Penaeus monodon* in Thailand. In: M. Shariff, R.P. Subasinghe and J.R. Authur (Eds). Diseases in Asian Aquaculture. 1nd end, Manila, Philippines: Fish Health Section Asian Fisheries Society, pp: 143-155.

Raissy, M. and Ansari, M., 2011. Antibiotic susceptibility of Lactococcus garvieae isolated from rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) in Iran fish farms. African Journal of Biotechnology, 8: 1473-1476.

Sahul Hameed, A. S., Rahaman, K. H., Alagan, A. and Yoganandhan, K., 2003. Antibiotic resistance in bacteria isolated from hatchery-reared larvae and post-larvae of Macrobrachium rosenbergii. Aquaculture, 217: 39– 48**.**

Sheryl Oliveira, F., Sreepada Shantanu, R. A., Kulkarni, Karekar, S., Shirodkar, R. R., Vogelsang, C. and Loka Bharathi, P. A., 2013. Low-input modified extensive shrimp culture system for *Penaeus monodon* restrain *Vibriosis*. International Journal of Marine Science. 3(40): 319- 332.

Shotts, E. B., Vanderwork, L. V., Cambell, M. L., 1976. Occurrence of R-factors associated with Aeromonas hydrophila isolates from aquarium fish and waters. Journal Shellfish Research, 33: 736 – 740**.**

Singh, B. I., 1986. Studies on the bacteria associated with Penaeus indicus in culture system. Journal Shellfish Research, 168:852-861.

Soltani, M., and Tarahomi, M., 2009. Study of streptococcosis/lactococcosis in some farmed rainbow trout in Fars province, Iran1st International Congress on Aquatic Animal Health Management and Diseases, Tehran, Iran, 231 p.

Thompson, J., Gregory, S., Plummer, S., Shields, R. J., Rowley, A. F., 2010. An in vitro and in vivo assessment of the potential of *Vibrio* spp. as probiotics for the Pacific White shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Journal of Applied Microbiology. (4): 1177-1184.

Toranzo, A. E., Santos, Y., Lemos, M. L., Ledo, A., Bolinches, J. 1987. Homology of *Vibrio anguillarum* strains causing epizootics in turbot, salmon and trout reared on the Atlantic coast of Spain. Aquaculture. 67:841–852. https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90006-8.

Wang, C. Y., Shie, H. S., Chen, S. C., Huang, J. P., Hsieh, I. C.,Wen, MS., Lin, F. C. and Wu, D., 2007. Lactococcus garvieae infections in humans: possible association with aquaculture outbreaks. International Journal of Clinical Practice, 61, 68- 73. https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2006.00855.x.

[Downloaded from jmb.ahvaz.iau.ir on 2026-06-06]