"مقاله پژوهشی"

بررسی کارایی واکسن استرپتوکوکوس اینیه و یرسینیا راکری به‌صورت دوگانه و تک واحدی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

سیدعبدالحمید حسینی[1*]، مجتبی علیشاهی[2]، ابوالحسن راستیان نسب[1]، رقیه محمودی[1]، حبیب اله گندم کار[1]

۱- مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران

۲-گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱/۱۶

چکیده

در این مطالعه مقایسه کارایی واکسن تزریقی ضد استرپتوکوکوزیس و یرسینیوزیس به‌صورت تک واحدی و دوگانه مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به وزن ۲±۲۵ گرم در ۴تیمار ایمن‌شده با واکسن استرپتوکوکوس، واکسن یرسینیوز، واکسن دوگانه استرپتوکوکوس/یرسینیوز و گروه کنترل تقسیم و طی یک دوره ۶۰ روزه در روزهای صفر، ۳۰ و ۶۰ نمونه برداری جهت تعیین شاخص‌های خونی و ایمنی انجام گرفت. بعد از روز ۶۰ و به مدت ۱۴ روز تیمارهای مذکور با دوز ایجادکننده تلفات ۵۰ درصد استرپتوکوکوس اینیه و یرسینیا راکری مورد چالش قرار گرفتند. نتایج نشان داد فعالیت لایزوزیم سرم در تیمار واکسن دوگانه در روز ۳۰ و ۶۰ نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود. میزان فعالیت کمپلمان نیز در روز ۳۰ و ۶۰ افزایش معنی‌دار در تیمار ایمن شده با واکسن دوگانه نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p<0/05$). افزایش در تعداد گلبول‌های سفید در تیمار واکسن یرسینیوز و واکسن دوگانه نسبت به سایر تیمارها مشاهده گردید. تیتر آنتی بادی اختصاصی نیز حاکی از افزایش معنی‌دار میزان پادتن در روز ۳۰ و ۶۰ در تیمار واکسن‌های تکی و دوگانه نسبت به گروه کنترل بود. همچنین درصد تلفات تجمعی در تیمارهای واکسن تکی و دوگانه نسبت به تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P<0.05$). نتایج این تحقیق علاوه بر تایید کارایی هر یک از واکسن‌ها به تنهایی، کارایی مناسب واکسن دوگانه را نیز مورد تایید قرار داده و با توجه به مشکلات اجرایی و هزینه واکسن تزریقی، تجمیع واکسیناسیون در آبزیان را توصیه می‌کند.

کلمات کلیدی: واکسن، استرپتوکوکوزیس، یرسینیوزیس، قزل‌آلای رنگین‌کمان

.

* عهده‌دار مکاتبات:hoseiniabdolhamid@gmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]

[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]

مقدمه

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از اهمیت بسیار زیادی در سیاست‌گذاری‌ها و برنامه‌ریزی‌های تحقیقاتی و اجرایی برخوردار بوده (قربانزاده و نظری، ۱۳۹۶) و با تولیدی به میزان ۱۷۳۳۸۴تن نقش مهمی در تأمین پروتئین کشور ایفا می‌کند (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۸). در بیان اهمیت جایگاه پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان ذکر این نکته ضروری است که از ۸۴۸ هزار تن تولید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دنیا، کشور ما دارای جایگاه نخست تولید این ماهی می‌باشد(FAO, 2020). بنابراین توجه به این صنعت از نظر جلوگیری از شیوع و بروز انواع بیماری‌ها ضروری به نظر می‌رسد. از بیماری‌هایی که در چند سال اخیر شیوع و بروز آنها در مزارع پرورشی باعث بروز تلفات و خساراتی گردیده است، بیماری‌های باکتریایی استرپتوکوکوس و یرسینیوز می‌باشد (فئید و رمضانی، ۱۳۹۷; سلطانی و همکاران، ۱۳۹۳). یکی از معمول‌ترین روش‌های درمان این عفونت‌ها، درمان با آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد. اما استفاده از این مواد در بیماری‌های آبزیان پرورشی، به دلایلی مانند افزایش مقاومت باکتریایی، از بین بردن فلور میکروبی محیط زیست، هزینه بالای درمان و عوارض جانبی این داروها بر موجودات آبزی و مصرف‌کنندگان به طورگسترده مورد انتقاد قرارگرفته است (Gatlin *et al*., 2004). استفاده از واکسن و عملیات واکسیناسیون از مهم‌ترین و مطمئن‌ترین روش‌های پیشگیری شناخته شده علیه این بیماری‌ها می‌باشد (Soltani *et al*., 2007 ; Pridgeon and Klesius 2011).

هر چند امروزه غالب واکسن‌های در دسترس آبزی‌پروری، تک واحدی یا مونووالانت می‌باشند، ولی با توجه به مزیت‌های متعدد استفاده از واکسن‌های چندواحدی (پلی والانت) در چند سال اخیر بیشتر مورد توجه محققان قرار گرفته و امروزه در پرورش آزاد ماهیان در نروژ حتی واکسن‌های پنج واحدی هم کاربردی شده‌اند (Ma *et al*., 2019; Evensen, 2016).

بنابراین به‌کارگیری واکسن پلی‌والان از جهات مختلف نسبت به واکسن مونووالان (تک واحدی) ارجحیت داشته و استراتژی ایمنی‌سازی با چند عامل در تحریک پاسخ ایمنی موثرتر واقع شده و موجب برانگیخته‌شدن پاسخ ایمنی در برابر گستره وسیعی از بیماری‌ها می‌گردد، علاوه بر آن کاهش هزینه و استرس ماهی را نیز به دنبال دارد (Adams, 2019). همچنین این واکسن‌ها می‌توانند سروتیپ‌های پاتوژن‌های موجود در یک منطقه جغرافیایی را تحت پوشش قرار دهند. لازم است در فرمولاسیون واکسن‌های چند ظرفیتی دقت شود زیرا ممکن است مشکل رقابت آنتی ژن بوجود بیاید، به خصوص هنگامی که این واکسن‌ها از طریق تزریق تجویز می‌شوند (Muktar *et al*., 2016). Bastardo و همکاران (۲۰۱۲) واکسن دوگانه لاکتوکوکوس/آئرومونـاس را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده کرده و کارایی این دو واکسن را نسبت به واکسن‌های تک‌واحدی هر باکتری مشابه گزارش کردند. بنابراین بکارگیری واکسن دوگانه می‌تواند در تحریک پاسخ ایمنی موثرتر واقع شده و موجب برانگیخته شدن پاسخ ایمنی در برابر این دو بیماری گردد. در همین راستا این مطالعه با هدف مقایسه کارایی واکسن تکی و دوگانه

استرپتوکوکوزیس و پرسینیوزیس روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط محل انجام آزمایش: تعداد ۳۰۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به وزن ۲±۲۵ گرم در زمستان ۱۳۹۸ از یکی از مزارع استان کهگیلویه و بویراحمد تهیه و به مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج منتقل گردید. قبل از انتقال، ماهیان از لحاظ عدم ابتلا به بیماری استرپتوکوکوزیس و پرسینیوزیس مورد آزمایش قرار گرفتند. برای این کار از ماهیهای بدون علامت و ظاهراً سالم استفاده شد، همچنین برای اطمینان، کشت از کلیه قدامی و مغز نمونه‌های اخذ شده از گله ماهی اولیه در آگار خون‌دار انجام شده و با توجه به عدم رشد باکتری در محیط کشت و نیز عدم سابقه دوساله مزرعه تأمین‌کننده بچه ماهی به این دو بیماری، از عدم حضور بیماری در گله ماهی مورد تحقیق اطمینان حاصل گردید. ماهیان در ۱۲ عدد مخزن فایبرگلاس با گنجایش ۲۰۰۰ لیتر به چهار تیمار مساوی (هر تیمار در سه تکرار ۲۵ قطعه‌ای) تقسیم (جدول ۱) و پرورش آنها همراه با شرایط محیطی کنترل شده و یکسان انجام پذیرفت. قبل از شروع تحقیق سازگاری ماهیان به شرایط پرورشی جدید به مدت ۲ هفته انجام پذیرفت. تأمین آب از طریق چشمه با میانگین دمای ۰/۷ ± ۱۲/۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن ۰/۴ ± ۹ میلی‌گرم در لیتر، سختی ۲۲ ± ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر و میزان pH برابر با ۰/۲ ± ۷/۸ انجام پذیرفت(با استفاده از دستگاه Multi 340i/SET). تغذیه ماهیان به مدت ۶۰ روز با غذای تجاری و به میزان ۲/۸ درصد وزن بدن صورت گرفت.

جدول ۱: تیمارهای آزمایشی

نام گروه	نوع غذا	تعداد ماهی
تیمار۱	تزریق واکسن استرپتوکوکوس	۷۵ قطعه (در سه تکرار)
تیمار۲	تزریق واکسن پرسینیوز	۷۵ قطعه (در سه تکرار)
تیمار۳	تزریق واکسن دوگانه استرپتوکوکوس/پرسینیوز	۷۵ قطعه (در سه تکرار)
کنترل	عدم تزریق واکسن	۷۵ قطعه (در سه تکرار)

تهیه واکسن

بذر باکتریایی انتخاب‌شده استرپتوکوکوس اینیایی و پرسینیا راکری (جداسازی شده از تلفات ماهی قزل آلای رنگین‌کمان در کشور که توسط تست‌های مولکولی تأیید تشخیص شده بود) در محیط کشت مایع TSB به مدت ۳۶ ساعت (فاز رشد لگاریتمی) کشت داده شد. سپس با استفاده از فرمالین ۱ درصد و انکوبه کردن به مدت ۲ ساعت در دمای آزمایشگاه، غیرفعال شده و سه مرتبه با بافر فسفات استریل شستشو گردید تا فرمالین باقیمانده حذف شود. به منظور اطمینان از غیرفعال شدن، باکتری قبل از استفاده در محیط آگار خون‌دار کشت داده شد. باکتری با استفاده از لوله‌های استاندارد مک فارلن به غلظت ۱۰۱۰ باکتری در میلی لیتر تنظیم و به عنوان واکسن (FKC) تک واحدی و ترکیب مساوی این دو باکتری به عنوان واکسن دوگانه استفاده شد (Alishahi *et al*., 2010; Tulaby *et al*., 2020). برای اطمینان از تخمین تعداد باکتری با لوله های مک فارلن، از روش تهیه سریال دایلوشن و کشت در محیط TSA به روش کشت سطحی استفاده گردید.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]

واکسیناسیون

واکسیناسیون در روز صفر و روز ۱۴ به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به روش تزریق داخل صفاقی انجام گرفت. به گروه شاهد ۱۰۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی به جای واکسن تزریق گردید. از هر تیمار ۹ ماهی (هر تکرار ۳ عدد) در روز صفر، ۳۰ و ۶۰ نمونه خون اخذ و آزمایشات خونی و ایمنی‌شناسی زیر روی آن‌ها انجام گرفت (کرمی و همکاران، ۱۳۹۷).

اندازه‌گیری میزان فعالیت کمپلمان سرم

جهت اندازه‌گیری فعالیت کمپلمان از آزمایش همولیز در ژل آگارز استفاده‌گردید (Brata *et al.*, 1993). برای این‌کار ابتدا آگارز ۱/۵٪ در بافر فسفات (pH=۷/۲ حاوی ۰/۵ میلی‌مول کلرید منیزیم و ۱/۵ میلی‌مول کلرید کلسیم) تهیه و مقدار ۱۰۸ ×۱ گلبول قرمز خرگوش شسته شده با بافر فسفات در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به آگارز اضافه شد. مخلوط آگارز حاوی گلبول‌های قرمز خرگوش داخل پلیت‌ها توزیع گردید. پلیت‌ها به مدت یک شب در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس حفرات به قطر ۳ میلی‌متر و با فاصله ۲ سانتی‌متر از هم در آگار ایجاد و در هر گوده میزان ۲۰ میکرولیتر از سرم نمونه ریخته شد. پلیت‌ها در محیط مرطوب و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شده و پس از آن قطر هاله لیز گلبولی با خط‌کش مخصوص اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری لایزوزیم سرم

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت لایزوزیم سرم از روش کدورت‌سنجی توصیه شده توسط Ellis (1990) و Nayak (2010) استفاده گردید. برای این‌کار در ابتدا ۱۵ میکرولیتر سرم با ۱۳۵ میکرولیتر از سوسپانسیون ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر باکتری میکروکوکوس لیزوداکتیکوس (سیگما) در بافر ۰/۰۲ مولار سدیم سیترات (pH= ۵/۸)در گوده‌های میکروپلیت تخت مخلوط و جذب نوری آن در دمای اتاق در زمان‌های صفر و ۶ دقیقه بعد از مخلوط‌سازی در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Nayak, 2010).

اندازه‌گیری احیاء NBT

برای ارزیابی احیاء NBT مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از خون هپارینه در داخل گوده‌های میکروپلیت تخت قرار داده شد و ۰/۱ میلی‌لیتر نیز محلول ۰/۲ درصد NBT به آن اضافه گردید. پلیت به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه شده و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از مخلوط حاصل برداشت، و به یک لوله آزمایش حاوی ۲ میلی‌لیتر دی متیل فرمامید اضافه گردید. سپس از نمونه سانتریفوژ، جذب نوری مایع رویی در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Feldman *et al.*, 2000).

اندازه‌گیری شاخص‌های خونی

هماتوکریت (PCV) به روش میکروهماتوکریت با استفاده از لوله های میکروهماتوکریت و سانتریفوژ نمونه در ۱۰۰۰۰ دور در ۱۰ دقیقه صورت گرفت (Feldman *et al.*, 2000). اندازه‌گیری هموگلوبین به روش سیانومت هموگلوبین و با استفاده از محلول درابکین انجام گرفت. بدین صورت که ۲۰میکرولیتر از خون را به ۵ میلی‌لیتر از محلول درابکین اضافه کرده بعد از ۵ دقیقه و پس از صفر کردن اسپکتروفتومتر با محلول بلانک، جذب تمام نمونه ها در طول موج

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]

۵۴۰nm خوانده و میزان هموگلوبین برحسب گرم در دسی لیتر محاسبه گردید جهت شمارش کلی گلبول-های قرمز و سفید، نمونه های خونی به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول رقیق کننده نات-هریک (Natt-Herrik) رقیق و شمارش با استفاده از لام نئوبار انجام گرفت (Thrall *et al.*, 2004).

تعیین تیتر آنتی‌بادی ضد استرپتوکوک و یرسینیوز

تعیین تیتر آنتی‌بادی ضد هر باکتری به روش الایزا و با استفاده از آنتی‌بادی مونوکلونال ضد زنجیره سنگین IgM قزل‌آلای رنگین‌کمان در موش (اهدایی دکتر صیفی، دانشکده دامپزشکی شهید چمران اهواز) انجام گرفت. از الایزای غیر مستقیم برای تشخیص تیتر آنتی-بادی ضد استرپتوکوکوس و یرسینیوز استفاده شد (Halimi *et al.*, 2018) بدین منظور ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر آنتی‌ژن (باکتری سونیکه شده در بافر پوشاننده با میزان پروتئین ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) به کف گوده ۹۶ خانه‌ای کوت شد. بعد از ۲۰ ساعت محتویات پلیت تخلیه‌شده و ۴ مرتبه با PBS حاوی توئن شستشو گردید. سپس سرم‌های مورد آزمایش به نسبت ۱:۲۰ با رقیق‌کننده شیرچربی گرفته شده رقیق‌سازی گردید و به هر چاهک میزان ۱۰۰ میکرولیتر سرم رقیق شده اضافه گردید. پس از ۴۵ دقیقه انکوباسیون در دمای آزمایشگاه، محتویات پلیت تخلیه گردید. پس از شستشوی کامل پلیت، میزان ۱۰۰ میکرولیتر پادتن منوکلونال Mouse anti trout به هر چاهک اضافه گردید. و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. در این مرحله میزان ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی کونژوگه خرگوشی (Rabbit anti mouse) به چاهک اضافه و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. بعد از اضافه کردن سوبسترا، پلیت با استفاده از دستگاه قرائت کننده الایزا در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید (Shelby *et al.*, 2002).

چالش باکتریایی

جهت تعیین میزان LD50 باکتری استرپتوکوکوس اینیه و یرسینیا راکری، پس از کشت هر باکتری به تعداد ۱۰۱۰ عدد در هر میلی لیتر سرم فیزیولوژی تنظیم و رقت‌های متوالی برمبنای ده تهیه گردید (۱۰۷ تا ۱۰۱۰). از هر رقت به ۱۰ ماهی تزریق انجام و تلفات در طی ۱۰ روز ثبت گردید. نهایتاً با استفاده از نرم افزار Probit نسبت به تعیین میزان LD50 هر باکتری اقدام گردید.

در پایان روز ۶۰ تحقیق، تعداد ۱۰ قطعه از ماهیان هر تیمار با دوز ایجاد کننده ۵۰٪ تلفات بعد از ده روز (LD50) باکتریهای استرپتوکوکوس و یرسینیوز به روش داخل صفاقی، مورد چالش قرار گرفتند و میزان تلفات در تیمارهای مختلف ثبت و RPS با استفاده از فرمول زیر در مورد هر تیمار محاسبه شد.

$$RPS = 1 - \frac{\text{Percent mortality in treated group}}{\text{Percent mortality in control group}} \times 100$$

در مورد تیمار واکسن دوگانه، چالش باکتریایی با هر دو باکتری بصورت جداگانه انجام گرفت (Alishahi *et al.*, 2010). بعد از چالش باکتریایی کارایی واکسن تولیدی جهت بهبود و ارتقاء شرایط ایمنی زیستی مورد بررسی قرار گرفت. به نحوی که مقاومت ماهیان در برابر باکتری‌های مذکور نشان‌دهنده بهبود ایمنی زیستی و جلوگیری از ورود عامل بیماری‌زا می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) نرم افزار SPSS

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]

استفاده شد. برای بررسی معنی داری بودن تفاوت بین میانگین‌ها در ۴ گروه تحقیق، از پس‌آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های ایمنی

در مورد اندازه‌گیری لایزوزیم در بین تیمارهای آزمایشی همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد در روز ۶۰ این میزان در واکسن استرپتوکوکوس (۵۹/۸±۵۸/۵۴)، واکسن یرسینیوز (۵۹/۸±۳۳/۸۳) و واکسن دوگانه (۶۶/۶۷±۱۰/۲۷) بیشتر از گروه کنترل (۴۶/۱۱±۶۷/۴۷) بود. که در مورد واکسن دوگانه این افزایش نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌دار می‌باشد($p<0/05$). میزان فعالیت کمپلمان نیز هم در روز ۳۰ و هم در روز ۶۰ در تیمارهای ایمن شده با واکسن استرپتوکوکوس، یرسینیوز و دوگانه به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بدست آمد($p<0.05$). هیچ اختلاف معنی‌داری در بین تیمارهای آزمایشی در روزهای ۳۰ و ۶۰ از نظر قدرت احیاء مشاهد نگردید.

جدول۲: مقایسه میانگین (±انحراف معیار) برخی از شاخص‌های ایمنی قزل‌آلای رنگین کمان در مراحل مختلف نمونه گیری تحقیق.

پارامتر	تیمار/ واکسن	روز صفر	روز ۳۰	روز ۶۰
لایزوزیم (AU.ml/min)	استرپتوکوکوس	۵۳/۷۵ ± ۹/۴۶ a	۶۲/۲۴ ± ۷/۳۶ a	۵۹/۵۸ ± ۸/۵۴ ab
	یرسینیوز	۴۸/۸۹ ± ۶/۵۲ a	۵۹/۵۹ ± ۵/۰۱ a	۵۹/۳۳ ± ۸/۸۳ ab
	دوگانه	۵۲/۲۵ ± ۷/۷۶ a	۸۷/۹۲ ± ۸/۲ a	۶۶/۶۷ ± ۱۰/۲۷ a
	کنترل	۵۳/۰۹ ± ۸/۶۳ a	۴۸/۷۵ ± ۱۱/۲۵ a	۴۶/۶۷ ± ۱۱/۴۷ b
کمپلمان (AU/ml)	استرپتوکوکوس	۵/۰۰ ± ۱/۰۰ a	۷/۲۵ ± ۰/۹۶a	۸/۵ ± ۱/۷۳ a
	یرسینیوز	۴/۶۷ ± ۰/۵۸ a	۷/۷۵ ± ۰/۹۶ a	۸/۲۵ ± ۰/۹۶ a
	دوگانه	۴/۶۷ ± ۰/۵۸ a	۸/۲۵ ± ۰/۹۶ a	۹/۰۰ ± ۰/۸۲ a
	کنترل	۵/۳۳ ± ۰/۵۸ a	۵/۰۰ ± ۰/۸۲ b	۵/۰۰ ± ۰/۸۲ b
NBT(احیاء)	استرپتوکوکوس	۰/۹۵ ± ۰/۰۶ a	۰/۹۳ ± ۰/۰۹ a	۰/۹۳ ± ۰/۰۸ a
	یرسینیوز	۰/۹۸ ± ۰/۰۳ a	۱/۰۶ ± ۰/۰۸ a	۰/۹۹ ± ۰/۰۵ a
	دوگانه	۰/۹۷ ± ۰/۱ a	۱/۱۶ ± ۰/۲۲ a	۱/۰۰ ± ۰/۱۴ a
	کنترل	۰/۹۸ ± ۰/۱۶ a	۱/۰۰ ± ۰/۰۱ a	۰/۹۶ ± ۰/۰۳ a

حروف لاتین کوچک غیرمشابه به مفهوم اختلاف معنی دار بین میانگین گروه های مختلف در سطح اطمینان ۹۵ درصد است.

شاخص‌های خونی

نتایج حاصل از تأثیر واکسن دوگانه استرپتوکوکوس اینیه و یرسینیا راکری بر روی برخی از فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بیانگر افزایش تعداد گلبول‌های سفید در تیمار واکسن یرسینیوز و واکسن دوگانه در روز ۳۰ نسبت به سایر تیمارها بود که این افزایش در تیمار واکسن یرسینیوز به صورت معنی‌دار ($p<0.05$) و در واکسن دوگانه غیرمعنی‌دار می‌باشد ($p>0.05$). در روز ۶۰ نیز افزایشی در تعداد گلبول‌های سفید در گروه واکسن یرسینیوز و واکسن دوگانه مشاهده شد که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد (شکل ۱). این در حالیست که

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]

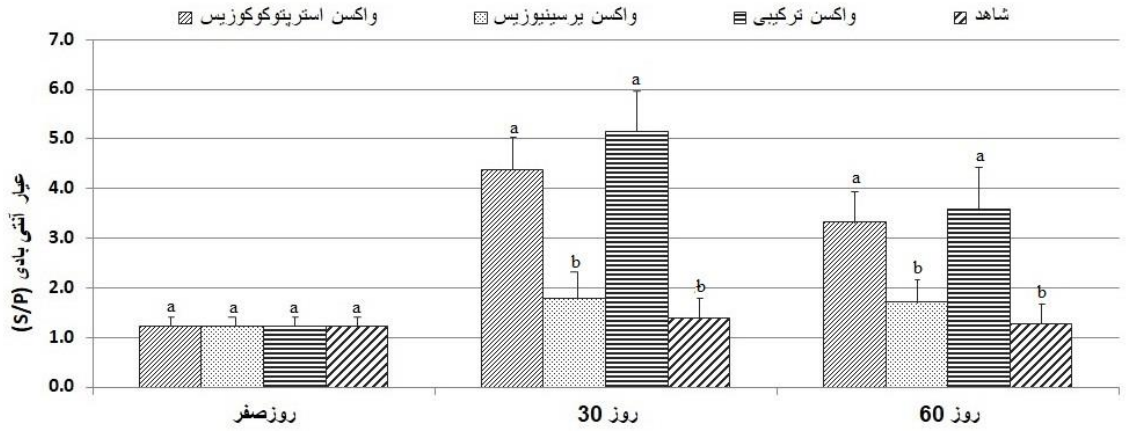
سایر شاخص‌های خونی مانند تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت تحت تأثیر ایمن سازی با واکسن قرارنگرفتند.

شکل۱: تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای آزمایشی (حروف لاتین کوچک غیرمشابه به مفهوم اختلاف معنی دار بین میانگین گروه های مختلف در سطح اطمینان ۹۵ درصد است).

تیتر آنتی‌بادی

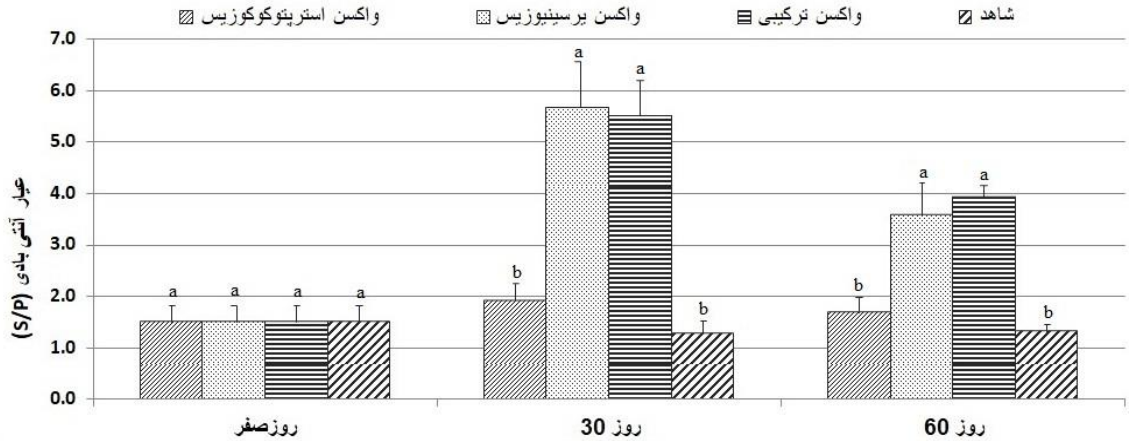
نتایج مربوط به تیتر آنتی‌بادی اختصاصی علیه استرپتوکوکوس اینیه و پرسینیا راکری در تیمارهای آزمایشی در شکل‌های ۲ و ۳ به ترتیب نشان داده شده است. تیتر آنتی‌بادی بر علیه استرپتوکوکوس اینیه نشان داد که بیشترین میزان پادتن در روز ۳۰ بعد از واکسیناسیون می‌باشد. در این روز میزان تیتر آنتی‌بادی در تیمارهای واکسن استرپتوکوکوس، واکسن دوگانه نسبت به گروه کنترل به صورت معنی‌داری بالاتر بود($p<0.05$). هرچند در روز ۶۰ بعد از واکسیناسیون کاهش تیتر آنتی‌بادی در این دو گروه نسبت به روز ۳۰ مشاهده شد، اما همچنان این میزان در تیمار واکسن استرپتوکوکوس و دوگانه در روز ۶۰ نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود($p<0.05$).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]



شکل ۲: مقایسه تیتر آنتی‌بادی بر علیه استرپتوکوکوس اینیه در تیمارهای مختلف در مراحل نمونه‌برداری، اطلاعات بصورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است. حروف کوچک متفاوت روی ستون انحراف معیار نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ در بین تیمارها می باشد.

همچنین نتایج تعیین تیتر آنتی‌بادی علیه یرسینیا راکری نشان داد، بیشترین میزان پادتن در روز ۳۰ بعد از واکسیناسیون در تیمار واکسن یرسینیا و دوگانه مشاهده می‌گردد. این میزان در روز ۶۰ نیز دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل بود ($p<0.05$)، هرچند نسبت به روز ۳۰ دارای میزان کمتری می‌باشد.



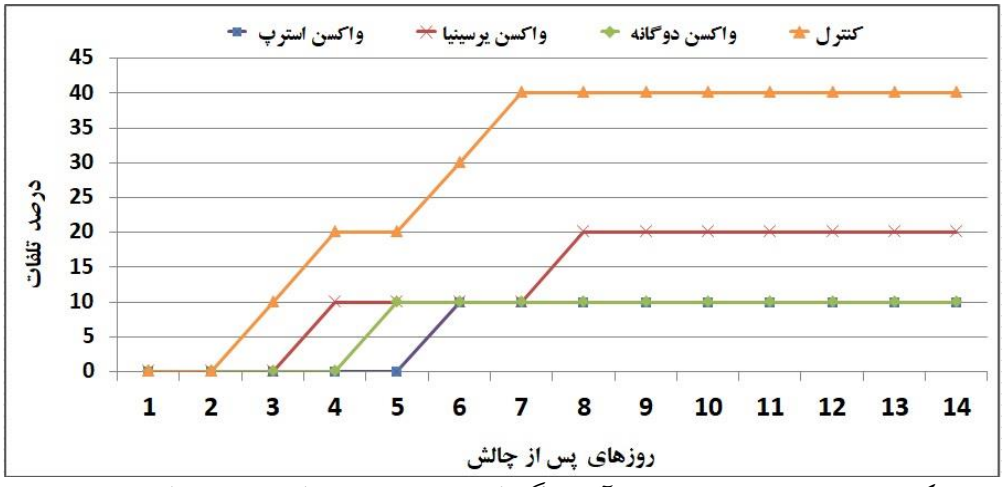
شکل۳: مقایسه تیتر آنتی‌بادی بر علیه یرسینیا راکری در تیمارهای مختلف در مراحل نمونه‌برداری، اطلاعات بصورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است. حروف کوچک متفاوت روی ستون انحراف معیار نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ در بین تیمارها می باشد.

چالش باکتریایی

نتیجه تلفات تجمعی چالش با باکتری استرپتوکوکوس اینیه و یرسینیا راکری بعد از دو هفته به ترتیب در شکل های ۴ و ۵ نشان داده شده است. بین تیمارهای واکسینه چالش‌شده با هر دو باکتری نسبت به گروه کنترل کاهش درصد تلفات تجمعی مشاهده گردید.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]

شکل۴: درصد تلفات تجمعی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بعد از چالش با باکتری استرپتوکوکوس اینیه



شکل۵: درصد تلفات تجمعی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بعد از چالش با باکتری یرسینیا راکری

بحث

غالب واکسن‌های در دسترس آبزی پروری، مونووالانت می‌باشند، در حالی‌که در محیط زیست ماهی، همواره گستره وسیعی از باکتری‌های مختلف و نیز مهاجم‌های ثانویه وجود دارند و استراتژی واکسیناسیون تنها با یک عامل، ممکن است قادر به محافظت در برابر یک پاتوژن خاص یا یک عامل بیماری باشد (Vendrell *et al*., 2006). در صورتی که استفاده از واکسن‌های دو و چندگانه علاوه بر کاهش هزینه، استرس ماهی را نیز کاهش می‌دهد. و از آنجا که در کشور ما هر دو عامل استرپتوکوکوس اینیه و یرسینیا راکری باعث ایجاد عفونت و تلفات در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردند (Soltani *et al*., 2005)، استفاده از این واکسن‌های دوگانه توجیه کافی دارد. بنابراین این مطالعه با هدف مقایسه کارایی واکسن تکی و دوگانه استرپتوکوکوزیس و یرسینیوزیس انجام گرفت.

در این مطالعه افزایش میزان فعالیت لایزوزیم سرم در تیمارهای ایمن شده با واکسن استرپتوکوکوس، یرسینیوز و تیمار واکسن دوگانه در روز ۶۰ واکسیناسیون نسبیت به گروه کنترل افزایش نشان داد که این افزایش در تیمار واکسن دوگانه معنی‌دار بود.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]

این افزایش می‌تواند نشانگر بهبود کارایی سیستم ایمنی ذاتی ماهی باشد. در مطالعه‌ای افزایش معنی‌دار میزان فعالیت لایزوزیم سرم ماهیان قزل‌آلای ایمن شده با واکسن استرپتوکوکوس/ لاکتوکوکوس در تمام مراحل نمونه‌برداری نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (کرمی و همکاران، ۱۳۹۷). علیشاهی و همکاران ۱۳۹۵ افزایش فعالیت لایزوزیم سرم ماهی کپور ایمن شده با باکتری کشته آئروموناس هیدروفیلا را گزارش نمودند.

یکی از مهم‌ترین شاخص‌های نشان دهنده کارایی سیستم ایمنی ماهی افزایش میزان لایزوزیم می‌باشد (Choi *et al*., 2008). لایزوزیم یکی از ترکیبات هومورال سیستم ایمنی غیراختصاصی است که منجر به شکسته شدن پیوند بتا ۱-۴ بین ان-استیل مورامیک اسید و ان-استیل گلوکز امین در دیواره سلولی باکتری‌ها می‌گردد. و بدبن ترتیب باعث تخریب دیواره سلولی آنها می‌شود و همچنین موجب افزایش فعالیت بیگانه خواری شده و نقش اپسونین در ماهی داراست (Ellis, 1990). قابلیت لیزوزیم در ابتدا در مقابل باکتری‌های گرم مثبت ثابت شده، در حالی که این آنزیم‌ها دارای خاصیت ضد باکتری‌های گرم منفی نیز می‌باشند (علیشاهی، ۱۳۸۸).

در مورد اندازه‌گیری میزان فعالیت کمپلمان در تیمارهای آزمایشی، نتایج حاکی از افزایش معنی‌دار فعالیت کمپلمان در تیمارهای واکسینه شده نسبت به گروه کنترل در روز ۳۰ و روز ۶۰ می‌باشد. مشابه با نتایج این تحقیق کرمی و همکاران (۱۳۹۶) افزایش فعالیت سیستم کمپلمان در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ایمن شده با واکسن استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس را در اکثر مراحل نمونه‌گیری در تیمار واکسینه نسبت به گروه شاهد گزارش نمودند. که این افزایش فعالیت را می‌توان به آنتی‌ژنهای موجود در واکسن نسبت داد که علاوه بر تحریک تولید ایمنی اختصاصی، بهبود کارایی ایمنی غیراختصاصی ماهی را نیز باعث شده است. همچنین Wang و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند ایمن‌سازی گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) با واکسن تحت واحد استرپتوکوکوس اینیه موجب افزایش در فعالیت کمپلمان گردیده است.

فعالیت سیستم کمپلمان در ماهی یکی از شاخص-های مهم ایمنی غیراختصاصی می‌باشد، که تحت تاثیر واکسیناسیون ماهی در برابر عوامل بیماریزا نیز قرار می-گیرد. گزارشات از تاثیر واکسیناسیون بر فعالیت سیستم کمپلمان در ماهی متفاوت و بعضاً متناقض بوده است. Alishahi و همکاران (۲۰۱۰) عدم تاثیر ایمنی‌سازی بر فعالیت کمپلمان سرم را گزارش نموده اند. در حالی که Soltani و همکاران (۲۰۰۷) افزایش فعالیت کمپلمان سرم در ماهیان ایمن شده با باکتری فرمالینه استرپتوکوکوس اینیه به روش تزریق داخل صفاقی در ماهی قزل‌آلا را گزارش نمودند. همچنین در مطالعه‌ای Wang و همکاران (۲۰۱۶) افزایش در فعالیت کمپلمان گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) ایمن شده با واکسن تحت واحد استرپتوکوکوس اینیه را گزارش نمودند.

آنالیز نتایج نشان داد که گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری ندارند اما تعداد گلبول‌های سفید در روز ۳۰ واکسیناسیون در تیمار ایمن شده با واکسن یرسینیوز و واکسن دوگانه نسبت به سایر تیمارها بیشتر می‌باشد که این افزایش در تیمار واکسن یرسینیوز بصورت معنی‌دار می‌باشد. مشابه با این نتایج در مطالعه کرمی و همکاران

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]

افزایش معنی‌دار میزان گلبول‌های سفید در روزهای ۱۴، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ واکسیناسیون نسبت به گروه شاهد مشاهده گردید. افزایش تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند بیانگر تأثیر واکسن بر تحریک سیستم ایمنی غیراختصاصی و اختصاصی باشد. همچنین Faghani و همکاران (۲۰۰۸) عدم تأثیر ایمن‌سازی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در برابر استرپتوکوکوزیس به همراه آلژنیک اسید را بر شاخص‌های خونی گزارش نمودند. در مطالعه دیگری Alishahi و همکاران (۲۰۱۰) گزارش نمودند ایمن‌سازی کپور معمولی با باکتری آئروموناس هیدروفیلا دارای تأثیر معنی‌داری بر روی شاخص‌های خونی (هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبولهای قرمز) نمی‌باشد. همچنین Alishahi و همکاران (۲۰۱۴) عدم تأثیر ایمن‌سازی با باکتری آئروموناس هیدروفیلا و ادجوانت نانوکیتوزان را بر شاخص‌های خونی مذکور در ماهی کپور معمولی گزارش نمودند. لذا می‌توان نتیجه گرفت با توجه به عدم تغییر شاخص‌های خونی در مطالعه حاضر و نیز مطالعات مشابه ذکر شده، ایمن‌سازی بر روی شاخص‌های خونی مربوط به گلبول قرمز بی تأثیر بوده و به احتمال زیاد در مراحل خون‌سازی بافت‌های خون ساز و همچنین در طول عمر گلبول‌های قرمز نقشی ندارد.

بیشترین میزان تیتر آنتی‌بادی در روز ۳۰ بر علیه هر دوگونه مشاهده گردید. هرچند این میزان در روز ۶۰ کاهش پیدا نمود اما همچنان نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی دار می‌باشد. در مطالعه کرمی و همکاران پاسخ پادتن سرمی قزل‌آلای رنگین کمان نسبت به تزریق واکسن دوگانه استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس مورد بررسی قرار گرفت و بیشترین میزان پادتن ۳۰ روز بعد از واکسیناسیون اولیه بر علیه هر دو گونه بدست آمد. هرچند در روزهای ۴۵ و ۶۰ بعد از واکسیناسیون میزان تولید پادتن کاهش نشان داد اما همچنان نسبت به گروه کنترل دارای اختلاف معنی‌دار بود (کرمی و همکاران ۱۳۹۷). Huang و همکاران در سال ۲۰۱۴ افزایش معنی‌دار تیتر آنتی‌بادی را در سرم ماهیان ایمن شده با واکسن کشته استرپتوکوکوس اینیه در ۱۴ روز پس از تزریق داخل صفاقی واکسن نسبت به تیمار شاهد را گزارش نمودند. در مطالعه دیگری مقایسه تیتر آنتی‌بادی اختصاصی علیه آنتی‌ژن‌های موجود در واکسن‌های دوگانه ایرانی و خارجی استرپتوکوکوزیس اینیه/استرپتوکوکوزیس گارویه نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد(خاج و همکاران ۱۳۹۶). Bastardo و همکاران (۲۰۱۲) افزایش سطح آنتی‌بادی را در مطالعه تأثیر واکسن دوگانه آئروموتوس هیدروفیلا و لاکتوکوکوس گارویه در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در روز ۱۵ واکسیناسیون گزارش نمودند. از مکانیسم‌های اساسی آنتی‌بادی‌های اختصاصی می‌توان از بین بردن توانایی باکتری در چسبیدن و حمله به بافت میزبان، اپسونیزه کردن سلول‌های باکتری و تحریک فاگوسیتوزیس به وسیله ماکروفاژها و فعال شدن کمپلمان را برشمرد (Lafrentz *et al*., 2011).

در این تحقیق کارایی واکسن از طریق چالش با سویه‌های باکتری استرپتوکوکوس اینیه و یرسینیا راکری بر اساس میزان تلفات ایجاد شده نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد تلفات تجمعی در گروه واکسینه بعد از چالش با هر دو باکتری استرپتوکوکوس اینیه و یرسینا راکری برابر ۱۰ بود که نسبت به تلفات تجمعی در تیمار شاهد که برابر ۴۰ بود، تفاوت معنی‌داری نشان داد. درصد محافظت نیز بر علیه باکتری

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]

استرپتوکوکوزیس اینیه و یرسینا راکری در تیمار ایمن شده با واکسن دوگانه به میزان ۷۵ بدست آمد. بنابراین با توجه به نتیجه بدست آمده می‌توان گفت که واکسن دو گانه استرپتوکوکوزیس/یرسینیوز سطح محافظت مناسبی ایجاد کرده است.

در مطالعه کرمی و همکاران درصد تلفات تجمعی در گروه واکسینه بعد از چالش با هر دو باکتری استرپتوکوکوس اینیه و لاکتوکوکوس گارویه به ترتیب برابر ۳۶/۷ و ۳۰ بود که نسبت به تلفات تجمعی درتیمار شاهد که برابر ۹۶/۷ بود اختلاف معنی‌داری نشان داد. همچنین میزان محافظت نیز ۶۸/۹۸ و ۶۲/۰۵ درصد به ترتیب علیه لاکتوکوکوس گارویه و استرپتوکوکوس اینیه گزارش گردید. Vendrell و همکاران (۲۰۰۶) بازماندگی حدود ۹۴ درصد را بعد از چالش ماهیان قزل‌آلای ایمن شده، با سویه حاد لاکتوکوکوس گارویه گزارش نمودند. همچنین Bastardo و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که واکسن دوگانه محافظت بسیار بالایی را علیه لاکتوکوس گارویه و آئروموناس هیدروفیلا موجب می‌شود.

بنابراین می‌توان گفت اثر سینرژیسمی دو واکسن کاملا قابل توجیه است، بویژه برای استرپ، به کار بردن یک باکتری گرم منفی که کاملا ایمونوژن است با یک باکتری گرم مثبت که ایمونوژنیسیتی کمتری دارد نقش ادجوانی داشته و افزایش ایمنی‌زایی واکسن را باعث می‌شود (Shomaker & Klesius, 2012). همچنین استفاده خوراکی از مواد محرک ایمنی نه تنها در طول دوره پرورش مفید است بلکه در ماهیان واکسینه موجب ارتقاء کارایی واکسن نیز می‌گردد (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۶؛ ظاهری عبده‌وند و همکاران، ۱۴۰۰).

این تحقیق علاوه بر تایید کارایی هر یک از واکسن‌ها به تنهایی، کارایی مناسب واکسن دوگانه را نیز مورد تأیید قرار داد. لذا پرورش دهندگان ماهی قزل‌آلا با تزریق واکسن دوگانه استرپتوکوکوزیس / یرسینیوزیس علاوه بر ایجاد ایمنی قابل اعتماد در برابر دو بیماری از مصرف آنتی‌بیوتیک در طول دوره نیز ممانعت بعمل خواهند آورد. البته همزمان با واکسیناسیون باید به سایر اصول امنیت زیستی مثل کاهش استرس، رعایت اصول بهداشتی و قرنطینه توجه کافی داشت.

سپاسگزاری

این طرح از محل اعتبارات معاونت ترویج سازمان جهاد کشاورزی استان کهگیلویه و بویراحمد، توسط مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج و با همکاری دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گرفت. بدینوسیله از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند کمال تقدیر و تشکر را بعمل می‌آوریم.

منابع

۱. خاج، ح.، مصباح، م.، تابنده، م.، محمدیان، ت.، دادار، م.، ۱۳۹۶. مقایسه تأثیر واکسن دوگانه استرپتوکوکوزیس اینیه/لاکتوکوکوزیس گارویه ایرانی و واکسن خارجی بر شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhunchus mykiss*). مجله دامپزشکی ایران، ۱۳ (۴)، ۲۸-۴۳.

۲. سالنامه آماری شیلات ایران.، ۱۳۹۸.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]

۳. سلطانی، م.، موسوی، ش.، ابراهیم زاده موسوی، ح.، میرزرگر، س.س.، طاهری میرقائد، ع.، شفیعی، ش.، شهره، پ.، ۱۳۹۳. مطالعه مولکولی یرسینیا راکری عامل بیماری یرسینیوزیس در برخی از مزارع قزل‌آلای کشور. مجله دامپزشکی ایران، ۱۰(۱)، ۵۹-۶۸.

۴. سلطانی، م.، امامی، ع.ر.، طاهری میرقائد، ع.، مغانی قهرمانلو، م. و شهبازی، م.، ۱۳۹۶.تأثیر محرک ایمنی ماکروگارد برکارایی واکسن دوگانه لاکتوکوکوزیس/استرپتوکوکوزیس در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۱ (۲)،۶۱-۶۷.

۵. ظاهری عبده‌وند، ل.، سلطانی، م. و شفیعی، ش.، ۱۴۰۰. مقایسه تاثیر ادجوانت مونتانایید (AVG ۷۶۳Montanide™ ISA) و عصاره شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) بر شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین (*Oncorhynchus mykiss*) واکسینه شده با واکسن لاکتوکوکوزیس. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۵ (۴)،۸۴-۷۱.

۶. علیشاهی، م.، ۱۳۸۸. مقدمه ای بر ایمنی شناسی آبزیان. انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران.۵۱۲ صفحه.

۷. علیشاهی، م.، سعیدی منش، م.؛ مصباح، م. و زارعی، م.، ۱۳۹۵. بررسی اثر نانوکیتوزان بر ایمنی زایی واکسن خوراکی آئروموناس هیدروفیلا در ماهی کپور معمولی. مجله دامپزشکی ایران. سال ۱۲، شماره ۱، صفحه ۵۳ تا ۶۵.

۸. فئید، م. و رمضانی، ب.، ۱۳۹۷. بررسی باکتریایی ماهیان مبتلا به استرپتوکوس و ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی آنها در مزارع تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۲(۲)، ۱۰۳-۱۱۲.

۹. قربانزاده، ر. و س، نظری.، ۱۳۹۶. سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، انتشارات سازمان شیلات ایران، معاونت برنامه ریزی و مدیریت منابع، دفتر برنامه ریزی و بودجه،گروه برنامه ریزی و آمار.

۱۰. کرمی، ا.، علیشاهی، م.، تابنده، م.، قربانپور، م.، و محمدیان، ت.، ۱۳۹۶. ارزیابی ایمنی زایی واکسن دوگانه استرپتوکوکوزیس / لاکتوکوکوزیس در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhunchus mykiss*). فصلنامه محیط زیست جانوری، ۹(۴)، ۲۰۶-۱۹۹.

۱۱. کرمی، ا.، علیشاهی، م.، قربانپور، م.، تابنده، م.، و محمدیان، ت.، ۱۳۹۷. بررسی پاسخ پادتن سرمی قزل‌آلای رنگین‌کمان به واکسن دوگانه استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس. مجله علمی شیلات ایران، ۲۸ (۱)، ۹-۱.

12. Adams, A. 2019., Progress, challenges and opportunities in fish vaccine development. Fish & shellfish immunology, 90, 210-214.
13. Alishahi, M., Ranjbar,M. M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R.; Mesbah, M. and Razi jalali, M., 2010. Effects of dietary on specific and nonspecific immunity in the common carp Aloe vera *Cyprinus carpio*. International Journal of Veterinary Research, 3, 189-195.
14. Alishahi, M., Esmaeili Rad, A., Zarei, M. and Ghorbanpour, M., 2014. Effect of dietary chitosan on immune response and disease resistance of *Cyprinus carpio*. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 8(2) 125-133.
15. Bastardo, A., Ravelo, C., Castro, N., Calheiros, J., Romalde, J.L., 2012. Effectiveness of bivalent vaccines against *Aeromonas hydrophila* and *Lactococcus garvieae* infections in rainbow trout

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]

Oncorhynchus mykiss (Walbaum). Fish & shellfish immunology, 32, 756-761.
16. Brata, O., 1993. Veterinary Clinical Immunology Laboratory 2. Bar-Lab Inc., pp: 24-25.
17. Choi, S.H., Park, K.H., Yoon, T.J., Kim, J.B., Jang, Y.S. and Choe, C.H., 2008. Dietary Koren mistletoe enhances cellular non- specific immune responses and survival of Japanese eel (*Anguilla japonica*). Fish & shellfish immunology. 24, 67-73.
18. Ellis, A. E., 1990. Immunity to bacteria in fish. Fish & shellfish immunology, 9:291 308. for Responsible fisheries.NO.5/suppl.4.Rome.53pp.
19. Evensen, Ø., 2016. Development of fish vaccines: Focusing on methods. In Fish Vaccines; Adams, A., Ed.; Springer: Basel, Switzerland, pp. 53–74.
20. Faghani, T., Azari Takami., Gh., Kousha, A. and Faghani, S., 2008. Surveying on alginic acid and anti-streptococcus vaccine effects on the growth performance, survival rate, hematological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchos mykiss*). World Journal of Zoology, 3 (2), 54-58.
21. Feldman, B.F.; Zinkl, J.G. and Jain, N.C., 2000. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins. Vol. 1124, pp: 67-73.
22. Gatlin, D.M., Li, P., 2004. Dietary supplementation of prebiotics for health management of hybrid striped bass. Aqua feeds formula beyond, 1(4), 19-21.
23. Huang, H.Y., Chen, Y.C., Wang, P.C., Tsai, M.A., Yeh, S.C., Liang, H.J., Chen, S.C., 2014., Efficacy of a formalin-inactivated vaccine against *Streptococcus iniae* infection in the farmed grouper Epinephelus coioides byintraperitoneal immunization. Vaccine, 32(51),7014-7020.
24. Lafrentz, B.R., Shoemaker, C.A. and Klesius, P.H., 2011. Immuno proteomic analysis of the antibody response obtained in Nile tilapia following vaccination with a Streptococcus iniae vaccine. Veterinary Microbiology, 152 (3-4), 346-352.
25. Ma, J., Bruce, T. J., Jones, E. M., & Cain, K. D., 2019. A review of fish vaccine development strategies: conventional methods and modern biotechnological approaches. Microorganisms, 7(11), 569.
26. Muktar, Y., Tesfaye, S., Tesfaye, B., 2016. Present Status and Future Prospects of Fish Vaccination: A Review. Journal of Veterinary Science & Technology. l 7(2), 1-7.
27. Nayak, S.K., Swain, P., Nanda, P.K., Dash, S., Shukla, S., Meher, P.K., & Maiti, N.K., 2010. Effect of endotoxin on the immunity of Indian major carp, Labeo rohita. Fish & shellfish immunology, 24(4), 394-399.
28. Pridgeon, J.W. and Klesius, P.H., 2011. Development and efficacy of a novobiocin-resistant *Streptococcus iniae* as a novel vaccine in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Vaccine. 29, 5986-5993.
29. Shelby, R.A., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A. and Evans, J.J., 2002. Passive immunization of tilapia, Oreochromis niloticus (L.), with anti-*Streptococcus iniae* whole sera. Journal of Fish Diseases, 25(1), 1-6.
30. Shomaker, C.A., Klesius, P., 2012. Bivalent vaccination of sex reversed hybrid tilapia against *Streptococcus iniae* and Vibrio vulnificus. Aquaculture, 354-355, 45-49.
31. Soltani, M., Jamshidi, Sh. and Sharifpour, I., 2005. Streptococcosis caused by Streptococcus iniae in farmed rainbow trout (*Oncorhynchos mykiss*) in Iran: biophysical characteristics and pathogensis. Bulletin of European Association of Fish Pathologists, 25, 95-107.
32. Soltani, M., Alishahi, M., Mirzargar, S. and Nikbakht, G., 2007. Vaccination of rainbow trout against *Streptococcus iniae* infection: comparison of different routes of administration and different vaccines. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 7(1), 129-140.
33. Thrall, M.A.; Baker, D.C. and Lassen, ED., 2004. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry: Text and Clinical Case Presentations Set. John Wiley & Sons. UK, London. pp: 241-402.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]

34. Tulaby Dezfuly, Z., Aramoon, A., Alishahi, M., Halimi, M., Rahnama, R., 2020. The Effects of Lead Toxicity on the Hematological Parameters Common Carp (*Cyprinus carpio*) at Varying Salinity Levels. Iranian journal of Toxicology. 14(1), 1-8.
35. Vendrell, D., Balcazar, JL., Ruiz-Zarzuela, I., Ignacio, d.B., Girones, O. and Muzquiz, JL., 2006. *Lactococcus garvieae* in fish: Review. Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases, 29, 177-198.
36. Wang, E., Wang, J., Long, B., Kaiyu, W., Yang H., Qian., Huang, H., Ouyang, P. and Lai, H., 2016. Molecular cloning, expression and the adjuvant effects of interleukin-8 of channel catfish (*Ictalurus Punctatus*) against *Streptococcus iniae*. Scientific Reports. 6, 29310 p.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1402.17.1.3.2]
[DOI: 10.61186/aqudev.17.1.27]