تعیین فراوانی *لاکتوکوکوس گارویه* عامل بیماری لاکتوکوکوزیس در مزارع پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان استان چهارمحال و بختیاری و تعیین توالی ژن 16S rRNA جدایه‌های حاصله

مهدی سلطانی[۱]، مهدی رئیسی[۲]، محمدعلی گودرزی[۲]، حسن ممتاز[۳] و منوچهر مومنی[۴]

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۰/۴/۲۵

خلاصه

در این مطالعه موارد بروز بیماری لاکتوکوکوزیس (استرپتوکوکوزیس) باعامل *لاکتوکوکوس گارویه* در مزارع پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان استان چهارمحال و بختیاری مورد مطالعه قرار گرفت. تعداد ۱۹۲جدایه باکتریایی ازبافت کلیه ماهیان بیمار مربوط به ۳۲ مزرعه پرورشی در محیط آگار خون دار در ۳۰ درجه سانتی‌گراد جداسازی شد که پس از انجام آزمون‌های بیوشیمیایی تعداد ۶۸ جدایه آن خصوصیات *لاکتوکوکوس گارویه* را نشان دادند. در آزمایش PCR تعداد ۳۶ نمونه به عنوان گونه *لاکتوکوکوس گارویه* شناسایی شدند. به منظور سنجش قرابت باکتری‌های جدا شده با نمونه‌های جدا شده از سایر کشورها، ژن 16S rRNA مربوط به برخی ایزوله‌های شناسایی شده به صورت تصادفی مورد تعیین توالی قرار گرفت و با نمونه‌های جدا شده از سایر کشورها مقایسه گردید. نتایج نشان داد که نمونه‌های جدا شده در این بررسی بیشترین قرابت را با نمونه‌های جدا شده ازچین، ژاپن و استرالیا و کمترین قرابت را با نمونه‌های گزارش شده از کشور تونس دارند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که موارد بروز لاکتوکوزیس (استرپتوکوکوزیس) در مزارع قزل آلای چهارمحال و بختیاری در سال ۱۳۸۸ نسبت به سال‌های قبل افزایش یافته است.

کلمات کلیدی: *لاکتوکوکوس گارویه*، قزل آلای رنگین کمان، چهارمحال و بختیاری، PCR

مقدمه

لاکتوکوکوس گارویه عامل بیماری استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس امروزه یکی از مهمترین باکتری‌های بیماری‌زا در ماهیان به حساب می‌آید. باکتری مذکور منجر به بروز سپتی سمی در ماهی مبتلا می‌شود که معمولاً با علائمی چون شنای غیر عادی، تیرگی بدن، اگزوفتالمی، خونریزی در داخل و یا اطراف کره چشم یا خونریزی‌های سطحی بدن در نواحی سرپوش آبششی، قاعده باله‌ها و همچنین خونریزی‌های وسیع داخلی ظهور پیدا می‌کند. بیماری تا کنون از گونه‌های مختلف شامل قزل آلای رنگین کمان، گیش دم زرد، تیلاپیا، مارماهی ژاپنی، کفشک ماهی، کفال خاکستری، گربه ماهی، زمرد ماهی، ماهی صخره، آمبرجک، شاه ماهی و همچنین میگوی آب شیرین گزارش شده است ولی به نظر می‌رسد که گونه‌هائی همانند کپور معمولی نسبت به بیماری مقاوم باشند (۲، ۸، ۹، ۱۰، ۱۲، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹ و ۲۰). دامنه میزبانی این باکتری محدود به ماهیان نیست و باکتری از گاو، گاومیش، سگ و گربه (۷ و ۱۱) و همچنین فراورده‌های خام دامی شامل شیر گاو (۱۹) و گوشت ماکیان (۴) نیز جدا شده است. باکتری مذکور همچنین از افراد مبتلا به اندوکاردیت نیز گزارش شده است به طوری که گزارشات متعدد *لاکتوکوکوس گارویه* از انسان باعث شده است که این باکتری امروزه به عنوان یکی از عوامل

[۱] استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران E-mail: msoltani@ut.ac.ir (نویسنده مسئول)

[۲] دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

[۳] دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

[۴] استادیار گروه پاتوفیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

[۵] استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

بیماری‌زای مشترک بین انسان و ماهی و عامل اندوکاردیت (۱۴، ۱۶ و ۲۶) به حساب آید. در بین ماهیان، گونه قزل آلای رنگین کمان از حساس‌ترین گونه‌ها محسوب می‌شود و تا کنون گزارشات متعددی از همه‌گیری آن در کشورهای مختلف منتشر شده است که می‌توان به گزارش بیماری در اسپانیا، ایتالیا، استرالیا و افریقای جنوبی، تایوان و انگلستان، پرتغال، فرانسه و کشورهای منطقه بالکان، ترکیه و کره (۳، ۵، ۶، ۱۳، ۱۵ و ۱۸) اشاره کرد. در ایران نیز تشخیص قطعی بیماری نخستین بار در سال ۲۰۰۵ در مزارع پرورش قزل آلای استان‌های فارس و چهارمحال و بختیاری به عمل آمد (۲۲). سپس در سال‌های ۲۰۰۸ و ۲۰۰۹ اپیدمیولوژی بیماری در برخی مزارع پرورش ماهی، استان‌های کشور از جمله استان‌های لرستان و مازندران، فارس و چهارمحال و بختیاری مطالعه شد (۲۳ و ۲۴). با توجه به گزارش موارد بیماری از استان چهارمحال بختیاری هدف از مطالعه حاضر بررسی دقیق‌تر بیماری در ماهیان مزارع پرورشی قزل آلای رنگین کمان استان به منظور شناخت پراکنش بیماری در مزارع قزل آلای استان بود.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری

در مجموع از ماهیان ۳۲ مزرعه پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان در استان چهارمحال و بختیاری نمونه‌گیری صورت پذیرفت. به طوری که در طول فصول بهار و تابستان ۱۳۸۸پس از مراجعه به مراکز پرورش ماهی، نمونه‌گیری از ماهیان مشکوک به بیماری و دارای علامت مانند بیرون زدگی چشم‌ها، کوری، کاتاراکت، سیاه شدن پوست، کاهش تحرک و اتساع شکم به عمل آمد. این نمونه‌ها از مناطق فارسان (۲ مزرعه)، سامان (۲ مزرعه)، بروجن (۱۲ مزرعه)، رستم آباد (۲ مزرعه)، صمصامی (۶ مزرعه)، چهارتخته ناغان (۴ مزرعه) و سندگان (۴ مزرعه) به دست آمدند. ماهیان در جعبه‌های حاوی یخ و در فاصله زمانی کمتر از ۲۴ ساعت به آزمایشگاه انتقال داده شدند.

مطالعات باکتریولوژیک

از بافت‌های کلیه نمونه‌های ماهیان در شرایط استریل بر روی محیط کشت آگار خون‌دار کشت داده شد و محیط‌های کشت به مدت تا ۷۲ ساعت در ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری گردید. پس از رشد باکتری، با انجام رنگ‌آمیزی گرم از پرگنه‌های خالص کوکسی گرم مثبت کاتالاز منفی، اوره‌آز منفی و سیترات منفی کشت مجدد داده شد. سپس برای تفکیک جدایه‌های لاکتوکوکوس گارویه از استرپتوکوکوس اینیایی از آزمایش سوربیتول استفاده شد و در مرحله بعد برخی خواص بیوشیمیایی جدایه‌های سوربیتول مثبت بر اساس روش توصیه شده توسط (Soltani et al .2005; 2008; Austin and Austin,1999) (۲ و ۲۲) (جدول۱) تشخیص داده شد.

جدول ۱: نتایج برخی خواص بیوشیمیایی مربوط به ۶۸ جدایه باکتری لاکتوکوکوس گارویه به دست آمده از مزارع قزل آلای رنگین کمان استان چهارمحال و بختیاری

مشخصه جدایه باکتری	نتیجه
رنگ آمیزی گرم	+
شکل	کوکوباسیل
تحرک	_
همولیز	α
کاتالاز	_
اکسیداز	_
نیترات	_
سیترات	_
اوره آز	_
اندول	+
VP	+
سوربیتول	+
سالیسین	+
آرژنین	+
اسکولین	+

مطالعات مولکولی (PCR)

جدایه‌های سوربیتول مثبت با مشخصات مشابه گونه لاکتوکوکوس گارویه برای مطالعات PCR مورد استفاده قرار گرفتند برای این کار ابتدا استخراج DNA از پرگنه‌های باکتری با استفاده از کیت استخراج (Fermentas) بر اساس دستورالعمل کیت انجام شد و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل آگارز یک درصد مورد بررسی قرار گرفت. آزمون PCR بر اساس روش توصیه شده توسط Zlotkin و همکاران (۱۹۹۸) (۲۵) و با استفاده از زوج پرایمرهای PLG-F (5-CATAACAATGAGAATCGC-3) و PLG-R (5-GCACCCTCGCGGGTTG-3) به منظور تکثیر قطعه ژنی 16S rRNA و مشاهده باند 1100 bp انجام شد. مراحل PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (اپندورف آمریکا) و با برنامه واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۴ دقیقه (۹۵ درجه سانتی‌گراد)، واسرشته‌سازی به مدت ۱ دقیقه (۹۴ درجه سانتی‌گراد)، اتصال به مدت ۱ دقیقه (۵۷ درجه سانتی‌گراد)، طویل شدن به مدت ۱ دقیقه (۷۲ درجه سانتی‌گراد)، سپس تکرار مراحل ۲ الی ۴ به تعداد ۳۰ چرخه و در نهایت مرحله طویل شدن نهایی به مدت ۵ دقیقه (۷۲ درجه سانتی‌گراد) انجام شد محصول PCR با استفاده از ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم برمایدعکسبرداری از ژل با استفاده از دستگاه Gel Documentation انجام شد. به منظور بررسی صحت PCR اقدام به تعیین توالی باندهای تعداد ۵ جدایه باکتری به دست آمده شد و سپس بر اساس اطلاعات موجود در بانک جهانی ژن بلاست و با استفاده از نرم افزار BioEdit و برنامه optimal global paiwaise alignment انجام گردید.

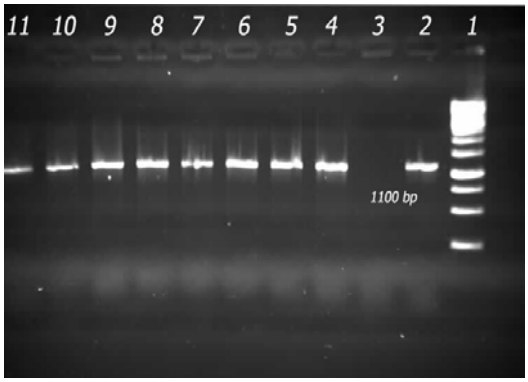
نتایج

نتایج باکتریولوژیک

نتایج کشت باکتریایی منجر به جداسازی تعداد ۱۹۲ ایزوله باکتریایی از بافت‌های کلیه ماهیان مورد مطالعه شد. از این تعداد ۱۷۴ نمونه در گروه کوکوباسیل‌های گرم مثبت قرار داشتند. بر اساس نتایج آزمایشات کاتالاز، اوره‌آز و سیترات تعداد ۱۰۷ ایزوله مشخصات مربوط به گونه گارویه را داشتند. نتایج آزمایش سوربیتول نشان داد که ۶۸ جدایه (از ۱۰۷ جدایه) قادر به تخمیر قند سوربیتول بودند که دارای خصوصیات شبیه به گونه لاکتوکوکوس گارویه بودند. سایر نتایج خواص بیوشیمیایی این جدایه‌ها در جدول ۱ آمده است به طوری که در مقایسه با خواص جدایه‌های گزارش شده و استاندارد می‌توان همگی را در جنس لاکتوکوکوس و گونه گارویه قرار داد.

نتایج مولکولی

پس از انجام PCR بر روی این جدایه‌ها (۶۸ جدایه) تعداد ۳۶ جدایه (۲۵ درصد کل جدایه‌ها) به عنوان لاکتوکوکوس گارویه تشخیص داده شدند (شکل ۱). نتایج به دست آمده همچنین نشان داد که ماهیان ۲۱ مرکز پرورش ماهی از مجموع ۳۲ مرکز بررسی شده (۶۵/۶٪) مبتلا به لاکتوکوکوزیس بودند. مزارع مبتلای مذکور واقع در مناطق بروجن (۱۰ مزرعه)، رستم‌آباد (۱ مزرعه)، صمصامی (۴ مزرعه)، چهارتخته ناغان (۳ مزرعه) و سندگان (۳ مزرعه) قرار داشتند. به علاوه هیچ گونه جدایه‌ای از مناطق فارسان و سامان جداسازی نشد.



شکل ۱: الکتروفورز ژن 16S rRNA باکتری** لاکتوکوکوس گارویه **روی ژل آگارز ۲٪ و رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم پرومایید. ۱: نشانگر ۱۰۰ bp ۲: نمونه کنترل مثبت (لاکتوکوکوس گارویه). ۱۱-۴. نمونه‌های مورد مطالعه، ۳: نمونه کنترل منفی بدون DNA باکتری.

تعیین توالی ژن مورد بررسی و مقایسه آن با نمونه‌های جدا شده از سایر کشورها نشان داد که جدایه‌های مورد مطالعه (۵ جدایه) از قرابت ۱۰۰-۹۸/۸٪ با سایر جدایه‌های گزارش شده از سایر مناطق برخوردار می‌باشند. به علاوه و این نمونه‌ها بیشترین قرابت را با نمونه‌های جدا شده از چین، ژاپن و استرالیا و کمترین قرابت را با نمونه‌های گزارش شده از کشور تونس داشتند (۲۳) (جدول ۲). به علاوه این جدایه‌ها از قرابت حدود ۱۰۰٪ با جدایه EU727199(NCBI) گزارش شده از ایران دارند.

جدول ۲: مقایسه درصد همسانی توالی نوکلئوتیدی بخشی از محصول PCR مربوط به بخشی از ژن 16S rRNA سویه‌های تکثیر شده با یکدیگر و با تعدادی از توالی‌های همسنگ موجود در Genebank.

	HM1	HM2	HM8	HM11	HM22	AB267905-J	AB267901-J	EU081016-T	EU727199-I	AF352163-C	FJ749552-C	AY669388-F	GU299084-C	AY699289-A	AF283499-T
HM1		100	99.8	100	100	100	100	99.9	100	100	99.9	99.7	100	100	99.2
HM2	100		99.8	100	100	100	100	99.9	100	100	99.9	99.7	100	100	99.2
HM8	99.8	99.8		99.8	99.8	99.8	99.8	99.7	99.8	99.8	99.7	99.5	99.8	99.8	99
HM11	100	100	99.8		100	100	100	99.9	100	100	99.9	99.7	100	100	99.2
HM22	100	100	99.8	100		100	100	99.9	100	100	99.9	99.7	100	100	99.2
AB267905-J	100	100	99.8	100	100		100	99.9	100	100	99.9	99.7	100	100	99.2
AB267901-J	100	100	99.8	100	100	100		99.9	100	100	99.9	99.7	100	100	99.2
EU081016-T	99.9	99.9	99.7	99.9	99.9	99.9	99.9		99.9	99.9	99.8	99.6	99.9	99.9	99.1
EU727199-I	100	100	99.8	100	100	100	100	99.9		100	99.9	99.7	100	100	99.2
AF352163.C	100	100	99.8	100	100	100	100	99.9	100		99.9	99.7	100	100	99.2
FJ749552-C	99.9	99.9	99.7	99.9	99.9	99.9	99.9	99.8	99.9	99.9		99.6	99.9	99.9	99.1
AY669388-F	99.7	99.7	99.5	99.7	99.7	99.7	99.7	99.6	99.7	99.7	99.6		99.7	99.7	98.9
GU299084-C	100	100	99.8	100	100	100	100	99.9	100	100	99.9	99.7		100	99.2
AY699289-A	100	100	99.8	100	100	100	100	99.9	100	100	99.9	99.7	100		99.2
AF283499-T	99.2	99.2	99	99.2	99.2	99.2	99.2	99.1	99.2	99.2	99.1	98.9	99.2	99.2	

FJ749552-China و AF283499-Tunis و EU727199-Iran و EU081016-Taiwan و AB267901-Japan و AB267905-Japan و AF352163-China و AY669388-France و GU299084–China و AY699289-Australia. HM1,2,8,11,22 = ایزوله‌های لاکتوکوس گارویه در این مطالعه حاضر.

بحث

استرپتوکوکوزیس / لاکتوکوکوزیس از جمله بیماری‌های باکتریایی است که با تلفات و خسارات قابل توجه در ماهیان آب شیرین و شور همراه است. این باکتری به همراه برخی باکتری‌های جنس استرپتوکوکوس که از آن جمله می‌توان به *استرپتوکوکوس اینیائی* اشاره کرد متعلق به خانواده استرپتوکوکاسه می‌باشند و عامل

مهم بروز سپتی سمی و تلفات بالا در مزارع پرورش ماهی محسوب می‌شوند. نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد که ماهیان ۲۱ مرکز پرورش ماهی از مجموع ۳۲ مزرعه پرورش بررسی شده (۶۵/۶٪) مبتلا به لاکتوکوکوزیس بودند. بررسی Soltani and Tarahomi در سال ۲۰۰۸ (۲۱) نشان داد که ۲۰ درصد از مجموع ۶۰۰ کوکسی گرم مثبت جدا شده از ماهیان قزل آلای پرورشی در استان فارس را گونه *لاکتوکوکوس گارویه* تشکیل می‌دهد و مابقی مربوط به جنس استرپتوکوکوس و عمدتاً گونه اینیائی بوده است. مطالعه میرزاخانی (۱۳۸۷) (۱) نشان داد که از مجموع ۲۰ جدایه کوکسی گرم مثبت جدا شده از ماهیان مزارع پرورش ماهی استان چهارمحال و بختیاری ۹ مورد *لاکتوکوکوس گارویه* و ۱۱ مورد *استرپتوکوکوس اینیائی* بودند با توجه به مخزن و منبع باکتری که شامل جانوران خون گرم می‌باشد و از طرفی با توجه به خشکسالی‌های اخیر به نظر می‌رسد روند بیماری نسبت به سال‌های گذشته تغییر کرده است و *لاکتوکوکوس گارویه* نقش بیشتری در بروز بیماری در برخی مزارع ایفا نماید. به هر حال چنانکه اشاره شد با توجه به دامنه متنوع عامل بیماری (گونه‌های درگیر) همواره امکان تغییر در جدایه‌های عامل بیماری در مناطق وجود دارد که مستلزم مطالعات مستمر می‌باشد و عوامل مختلفی در انتقال بیماری دخیل است که از آن جمله می‌توان به انتقال مستقیم از طریق آب، جابجائی و ورود ماهیان آلوده به کارگاه و یا تغذیه ماهیان با ضایعات کشتارگاهی آلوده اشاره کرد (۲).

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ماهیان تمامی کارگاه‌های پرورش ماهی بررسی شده واقع در بخش‌های پائین دست منابع آبی به باکتری آلوده بودند و بالعکس کارگاه‌های بالا دست از آلودگی کمتری برخوردار بودند که نقش شاخص‌های کیفی آب و همچنین احتمال انتقال باکتری از مزارع بالادست به کارگاه‌های پائین دست را نشان می‌دهد. تاثیر دما و وضعیت کیفی آب نیز به عنوان عوامل مستعد کننده در بروز بیماری توسط Soltani و همکاران (۲۲ و ۲۳) مورد تاکید قرار گرفته است. باکتری همزمان با افزایش دمای آب فعالیت بیشتری (رشد و تکثیر سریعتری دارد) می‌یابد و بیماری‌زائی خود را به خصوص در شرایط بد بهداشتی و مدیریتی نشان می‌دهد، در این میان کارگاه‌هائی که در بخش‌های پائینی رودخانه قرار دارند به دلیل استفاده از پساب سایر مزارع نسبت به بیماری مستعدتر هستند. به نظر می‌رسد انتقال آلودگی در مسیر رودخانه در حال حاضر مهمترین راه انتقال بیماری در مزارع پرورش ماهی است، این امر به واسطه ورود باکتری به آب از طریق پساب کارگاه‌های پرورش ماهی و همچنین تغییراتی که در شاخص‌های کیفی آب اعمال می‌شود آشکار می‌شود. به خصوص این که در بسیاری مناطق حداقل فاصله مجاز بین مزارع پرورش ماهی رعایت نشده است که خود باعث مضاعف شدن مشکل می‌شود. بروز همه‌گیری بیماری به خصوص در مناطق پر تولید کشور با ضرر و زیان‌های بالاتری برای صنعت پرورش ماهیان سردآبی کشور شده است به طوری که نتایج بررسی‌های سلطانی و همکاران (۲۰۰۹) (۲۴) بیانگر خسارات فراوان ناشی از بیماری در صنعت قزل آلا است. با توجه به اینکه این بیماری در گروه بیماری‌های قابل انتقال به انسان قرار دارد لذا این مسئله خود اهمیت بروز و انتقال بیماری را دو چندان می‌سازد. لذا در چنین شرایطی نیاز به اتخاذ سیاست‌های مؤثر و عملی در جهت مقابله با بیماری از قبیل واکسیناسیون و برنامه‌ریزی در راستای ریشه‌کنی بیماری بیش از پیش احساس می‌شود. به علاوه با توجه به اینکه جانوران خون گرم از مخازن متداول باکتری عامل بیماری محسوب می‌شوند، اتخاذ روش‌های پیش‌گیری برای جلوگیری از ورود فاضلاب‌های انسانی و دامی به منابع آبی مورد استفاده در تکثیر و پرورش مزارع قزل آلا امری ضروری است.

نتایج مطالعات فیلوژنیک تعدادی از این جدایه‌ها نشان می‌دهد که این جدایه‌ها با برخی جدایه‌های لاکتوکوکوس گارویه گزارش شده از سایر کشورها مانند استرالیا، چین و ژاپن از بیشترین قرابت برخوردارند. دلیل با دلایل این

گونه قرابت‌ها نـامعلوم اسـت امـا احتمـالاً نقـش عوامـل اکولوژیک باکتریایی (شرایط آب و هوایی و جغرافیایی) و نیز حمـل و نقـل آبزیـان حامـل ایـن بـاکتری‌هـا در بـین کشورها می‌توان در این زمینه مؤثر باشد.

در جمع‌بندی کلی نتایج حاصل از ایـن مطالعـه نـشان می‌دهد کـه ابـتلا مـزارع قـزل آلای اسـتان چهارمحـال و بختیاری بر عفونت‌های ناشی از *لاکتوکوکوس گارویـه* در حال افزایش است که بیانگر عدم توجه کـافی بـه رعایـت مقررات بهداشتی مزارع ماهیان می‌باشد. بنـابراین اعمـال مدیریت بهداشتی و ارتقاء امنیت زیستی مزارع استان نیـاز به توجه جدی دارد به ویژه در مورد این گونه بیماری‌های باکتریایی مشترک بین انسان و ماهی که می‌تـوان سـلامت جوامع انسانی مصرف کننده را نیز با مخاطره مواجه نماید.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تهران و معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجـام گرفته است.

منابع

۱- میرزاخانی علـی (۱۳۸۷). تـشخیص *Streptococcus iniae* و *Lactococcus iniae* بـــا اســـتفاده از روش Multiplex PCR در ماهیان قزل آلای رنگین کمان اسـتان چهارمحال و بختیاری. پایان‌نامـه بـرای دریافـت دکتـرای دامپزشکی، دانشگاه آزاد واحد شهرکرد. شماره ۱۳۵.

2- Austin B., Austin D.A. (1999). Bacterial Fish Pathogens. Disease of Farmed and Wild Fish, Fourth ed. Springer, Bristol. UK, pp: 121-129.

3- Baeck G.W., Kim J.H., Gomez D.K., Park S.C. (2006). Isolation and characterization of *Streptococcus sp*. from diseased flounder (*Paralichthys olivaceous*) in Jeju Island. Journal of Veterinary Sciences, 7: 53–8.

4- Barakat R.K., Griffiths M.W. and Harris L.J. (2000). Isolation and characterization of Carnobacterium, *Lactococcus*, and *Enterococcus sp*. from cooked, modified atmosphere, packaged, refrigerated poultry meat. International Journal of Food Microbioligy, 62:83–94.

5- Bark S. and Mc Gregor D. (2001). The first occurrence of *lactococcosis* in farmed trout in England. Trout News, 31: 9-11.

6- Carson J., Gudkovs N. and Austin B. (1993). Characteristics of an *Enterococcus*-like bacterium from Australia and South Africa, pathogenic for rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum). Journal of Fish Diseases, 6: 381–8.

7- Carvalho M.G., Vianni M.C., Elliot J.A., Reeves M., Facklam R.R. and Teixeira L.M. (1997). Molecular analysis of *Lactococcus garvieae* and *Enterococcus gallinarum* isolated from water buffalos with subclinical mastitis. Advantages in Experimental Medical Biology, 418:401–4.

8- Chen S.C. and Lin Y.D. (2001). *Lactococcus garvieae* infections in the giant fresh water prawn *Macrobranhium rosenbergii* confirmed by polymerase chain reaction and 16S rDNA sequencing, Disease of Aquatic Organisms, 45: pp. 45-52.

9- Chen S.C., Liaw L.L., Su H.Y., Ko S.C., Wu C.Y., Chaung H.C. and et al. (2002). *Lactococcus garvieae*, a cause of disease in grey mullet, Mugil cephalus L., in Taiwan. Journal of Fish Diseases, 25: 727-32.

10- Colorni A., Ravelo C., Romalde J.L., Toranzo A.E. and Diamant A. (2003). *Lactococcus garvieae* in wild Red Sea wrasse *Coris aygula* (Labridae). Diseases of Aquatic Organisms, 56:275-8.

11- Devriese L.A., Hommez J., Laevens H., Baneadme P. and Haesebrouck F. (1999). Identification of aesculin hydrolyzing *streptococci* and *enterococci* from subclinical intramammary infections in dairy cows.Vetetrinary Microbiology, 70: 87-94.

12- Eldar A., Bejerano Y., Livoff A., Horovitcz A. and Bercovier H. (1995). Experimental *streptococcal* meningoencephalitis in cultured fish. Veterinary Microbioloy, 43: 33-40.

13- Eyngor M., Zlotkin A., Ghittino C., Prearo M., Douet D.G., Chilmonczyk S. and et al. (2004). Clonality and diversity of the fish pathogen *Lactococcus garvieae* in Mediterranean countries. Applied Enviromental Microbiology. 70: 5132-7.

14- Fefer J.J., Ratzan K.R., Sharp S.E. and Saiz E. (1998). *Lactococcus garvieae* endocarditic: report of a case and review of the literature. Microbioly of Infectious Diseases, 32: 127-30.

15- Ghittino C. and Prearo M. (1992). Report of *Streptococcosis* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Italy: preliminary note. Bolton Society Ital Pathologyl Ittica. 8: 4-11.

16- Kang S., Shin G., Shin Y., Palaksha K.J., Kim Y., Yang H. and et al. (2004). Experimental evaluation of pathogenicity of *Lactococcus garvieae* in black rockfish (*Sebastes schlegeli*). Journal of Veterinary Scieinces, 5(4): 387–90.

17- Lee D.C., Lee J.I., Park C.I. and Park S.I. (2001). The study on the causal agent of *streptococcosis* (*Lactococcus garvieae*), isolated from cultured marine fish. Journal of Fish Pathology, 14: 71–80.

18- Pereira F., Ravelo C., Toranzo A.E. and Romalde J.L. (2004). *Lactococcus garvieae*, an emerging pathogen for the Portuguese trout culture. Bulletin of European of Association of Fish Pathologists, 24: 274–9.

19- Rantsiou K., Urso R., Iacumin L., Cantoni C., Cattaneo P., Comi G. and et al. (2005). Culture-dependent and independent methods to investigate the microbial ecology of Italian fermented sausages. Appllied Environmental Microbiology, 71: 1977-86.

20- Ravelo C., Magarin˜ os B., Lo´ pez-Romalde S., Toranzo A.E. and Romalde J.L. (2003). Molecular fingerprinting of fish-pathogenic *Lactococcus garvieae* strains by random amplified polymorphic DNA analysis. Journal of Clinical Microbiology, 41: 751-6.

21- Soltani M. and Tarahomi M. (2008). Study of *streptococcosis/lactococcosis* in some farmed rainbow trout in Fars province, Iran. The first International Congress on Aquatic Animal Health Management and Diseases, Tehran, Iran.p. 124.

22- Soltani M., Jamshidi Sh. and Sharifpour I. (2005). Streptococcosis caused by *Streptococcus iniae* in farmed rainbow trout (O. mykiss) in Iran : biophysical characteristics and pathogensis. Bulletin of European Association of Fish Pathologists, 25: 95-107.

23- Soltani M., Nikbatht GH., Mousavi H. and Ahmadzadeh N. (2008). Epizootic outbreak of *lactococcosis* caused by *Lactococcus garvieae* in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran. Bulletin of European Association of Fish Pathologists, 28 (5): 207-212.

24- 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, p.231.

25- Zlotkin A., Eldar C., Ghittino H. and Bercovier. (1998). Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR. Journal of Clinical Microbiology, 36:983-985.

26- Wang C.Y.C, Shie H.S., Chen S.C., Hung J.P., Hsie,h T.C., Wen F.C. and Wu D. (2007). *Lactococcus garvieae* infections in human: possible association with aquaculture outbreaks. International Journal of Clinical Practice, 61(1): 68-73.