

## مقایسه‌ی تأثیر واکسن دوگانه‌ی استرپتوکوکوزیس (*Lactococcus garvie*) و *Streptococcus iniae* ایرانی و واکسن خارجی بر شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

حسین خاج<sup>۱</sup>، مهرزاد مصباح<sup>۲</sup>، محمدرضا تابنده<sup>۳</sup>، تکاور محمدیان<sup>۴\*</sup> و مریم دادار<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۱۸

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۲۲

### چکیده

استرپتوکوکوزیس / لاکتوکوکوزیس بیماری مهم صنعت آبی‌پروری به ویژه قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) می‌باشد. هدف از این تحقیق مقایسه‌ی تأثیر واکسن دوگانه‌ی استرپتوکوکوزیس (*Lactococcus garvie* و *Streptococcus iniae*) ایرانی (ساخت جهاد دانشگاهی) و واکسن خارجی (ساخت شرکت AquaVac) بر برخی پاسخ‌های ایمنی شامل فعالیت کمپلمان، میزان لیزوزیم سرم، قدرت باکتری‌کشی، انفجار تنفسی (احیاء NBT)، تیترا آنتی‌بادی (به روش میکروآگلوتیناسیون باکتریایی) و برخی شاخص‌های خونی شامل شمارش کلی و تفریقی گلبول‌های سفید و درصد هماتوکریت و همچنین عملکرد رشد شامل وزن اولیه، وزن پایانی، درصد افزایش وزن بدن، میزان رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، میزان کارایی پروتئین، درصد افزایش وزن بدن و فاکتور وضعیت و در پایان انجام چالش باکتریایی و تعیین درصد بقا نسبی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود. برای انجام این مطالعه تعداد ۶۳۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن  $26 \pm 3$  گرم در سه تیمار واکسن خارجی، واکسن ایرانی و شاهد تقسیم و طی یک دوره‌ی ۶۰ روزه و در روزهای صفر، ۱۴، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز پس از واکسیناسیون نمونه‌گیری انجام شد. نتایج حاصله نشان‌دهنده‌ی افزایش شاخص‌های خونی و پاسخ‌های ایمنی اندازه‌گیری شده در ماهیان قزل‌آلای واکسینه نسبت به گروه شاهد از روز ۱۴ تا ۶۰ آزمایش می‌باشد که مقدار آن‌ها در گروه واکسن خارجی بیش‌تر از دو گروه دیگر بود. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که واکسن ایرانی تأثیر بهتری بر عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت به گروه واکسن خارجی و گروه شاهد داشته است. نتایج مربوط به چالش باکتریایی نشان داد که تلفات در تیمارهای واکسن ایرانی و خارجی نسبت به گروه شاهد کم‌تر بود. با توجه به نتایج کلی این مطالعه، واکسیناسیون با واکسن خارجی و داخلی توانسته است تأثیر مثبتی روی شاخص‌های سلامت ماهی داشته باشد.

کلمات کلیدی: واکسن، استرپتوکوکوزیس، شاخص‌های رشد و ایمنی، قزل‌آلای رنگین‌کمان

### مقدمه

برابر شرایط نامطلوب محیطی، سازگاری خوب با تغذیه‌ی دستی و داشتن افزایش رشد بالا می‌باشد (Faghani et al., 2008). افزایش نیاز برای تولید قزل‌آلای رنگین‌کمان منتج به پرورش متراکم ماهیان گردیده است. با افزایش

امروزه قزل‌آلای رنگین‌کمان یکی از مهم‌ترین گونه‌های اقتصادی است که در جهان پرورش داده می‌شود. مشخصه‌هایی که سبب برتری این ماهی می‌شود شامل سازگاری با تراکم بالا در شرایط پرورشی، مقاومت در

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت آبزیان، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

<sup>۲</sup> استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

<sup>۳</sup> دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

<sup>۴\*</sup> استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز E-mail: Takavar\_m2002@yahoo.com (نویسنده‌ی مسئول)

<sup>۵</sup> استادیار بخش بروسولوز، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

صورت غوطه‌وری و خوراکی ساختند که به صورت مشترک علیه استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه محافظت ایجاد می‌کند. با توجه به مشکلات موجود در درمان بیماری استرپتوکوکوزیس، واکسیناسیون به عنوان یک روش پیش‌گیری مناسب در سطح جهان پذیرفته شده است. لذا با عنایت به ضرورت استفاده از سویه‌های بومی در تولید واکسن، تولید واکسن داخلی بر واکسن‌های وارداتی ارجحیت دارد. علی‌رغم این که چند سالی است واکسن این بیماری در کشور در سطح صنعتی مجوز تولید یافته و در اختیار پرورش دهندگان قرار گرفته است، در مورد کارایی و ایمنی‌زایی آن تحقیق مناسبی صورت نگرفته است. لذا در این تحقیق، مقایسه‌ی تأثیر واکسن دوگانه‌ی استرپتوکوکوزیس تولیدی داخل کشور (ساخت جهاد دانشگاهی) و واکسن ساخت خارج (AquaVac™ Garvetil™) بر برخی پاسخ‌های ایمنی و شاخص‌های خونی و رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) صورت گرفت و در پایان هر سه تیمار واکسن ایرانی، واکسن خارجی و شاهد با هر دو باکتری استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه چالش داده شده و درصد بقای نسبی ماهیان در تیمارها با یکدیگر مقایسه شدند.

#### مواد و روش کار

تعداد ۶۳۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن  $26 \pm 3$  گرم تهیه شده و تحت شرایط مناسب به آزمایشگاه بهداشت آبزیان دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انتقال یافت. از واکسن‌های استرپتوکوکوزیس جهاد دانشگاهی (دارای مجوز سازمان دامپزشکی) و واکسن خارجی شرکت AquaVac™ Garvetil™ استفاده شد. این واکسن‌ها محتوی دو سویه بیماری‌زای مهم مسبب استرپتوکوکوزیس ماهی بوده که شامل باکترین غیرفعال (کشته) باکتری‌های بیماری‌زای استرپتوکوکوس اینیایی و

تراکم، شیوع بیماری‌های باکتریایی، ویروسی و انگلی نیز معمول‌تر شده است (Woo and Bruno 2011). در ایران طی دو دهه‌ی اخیر، صنعت آبزی‌پروری رشد مناسبی را داشته است، اما متأسفانه بروز برخی بیماری‌ها و مشکلات بهداشتی از جمله بیماری استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس موجب بروز خسارات و زیان‌های فراوان به صنعت قزل‌آلای کشور شده است (سلطانی و همکاران ۱۳۸۶). استرپتوکوکوزیس / لاکتوکوکوزیس عامل بیماری سیستمیک در ماهیان دریایی، لب شور و آب شیرین از جمله مارماهی، باس دریایی، تیلپیا، ماهی دم زرد و قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. این بیماری در ابتدا در میان جمعیت قزل‌آلای رنگین‌کمان در ژاپن توسط Hoshina و همکاران در سال ۱۹۵۸ گزارش شد. بعدها این بیماری در مزارع پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان در آفریقای جنوبی، ایالات متحده آمریکا، بریتانیا و نروژ نیز اهمیت یافت و امروزه به عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان در آبزی‌پروری شناخته شده است (Agnew and Barnes 2007, Austin and Austin 2007). استرپتوکوکوزیس اولین بار در ایران از مزارع پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان استان مازندران در سال ۲۰۰۰، از مزارع پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان استان فارس در سال ۲۰۰۳ و از دستگاه گوارش شانه‌دار دریاچه‌ی خزر در سال ۲۰۰۲ جدا شده است. (Faghani et al. 2008). کنترل استرپتوکوکوزیس بسیار مشکل است، زیرا زمانی این بیماری آشکار می‌شود که ماهی به وسیله‌ی کیفیت پایین آب تحت استرس قرار گیرد. علاوه بر این، یک باکتری فراگیر و در سطح جهانی است (Sakai et al. 1993). درمان با مواد شیمیایی هزینه‌بردار و معمولاً بی-تأثیر است زیرا ماهیان بیمار معمولاً از گرفتن غذا، خودداری می‌کنند. روش‌های جایگزین برای کنترل بیماری‌های استرپتوکوکوزیس / لاکتوکوکوزیس، استفاده از واکسن‌ها می‌باشد (Pridgeon and Klesius 2011). اخیراً شرکت AquaVac™ Garvetil™ واکسن‌هایی را به

لاکتوکوکوس گارویه با دوز  $1 \times 10^9$  باکتری در میلی‌لیتر بود.

برای انجام این مطالعه، ماهیان به صورت تصادفی به ۳ گروه: واکسینه شده با واکسن خارجی، واکسینه شده با واکسن ساخت داخل کشور و شاهد (دریافت حجم مساوی از سرم فیزیولوژی به جای واکسن) که هر گروه شامل ۳ تکرار (هر تکرار ۷۰ قطعه ماهی) بود در مخازن ۳۰۰ لیتری مجزا با شرایط مناسب (نزدیک به شرایط طبیعی پرورش ماهی) تقسیم و به مدت ۶۰ روز نگهداری شدند. زمان ایمن‌سازی روز اول به صورت تزریقی و بوستر در روز ۳۰ آزمایش به صورت غوطه‌وری بود. روش ایمن‌سازی مرحله‌ی اول برای همه‌ی ماهی‌ها به صورت تزریق داخل صفاقی و به میزان یک دهم میلی‌لیتر به ازای هر ماهی بود (Evensen et al. 2005). در مرحله-ی دوم ایمن‌سازی (روز ۳۰)، واکسن به نسبت ۱ به ۱۰ در آب رقیق گردید و ماهی‌ها به مدت ۵ دقیقه در سوسپانسیون واکسن غوطه‌ور شدند.

به منظور ارزیابی اثر واکسن‌ها بر سیستم ایمنی، فعالیت کمپلمان، میزان لیزوزیم سرم، قدرت باکتری‌کشی، انفجار تنفسی (احیاء NBT) و تیترا آنتی‌بادی، از تعداد ۴ قطعه ماهی از هر تکرار (مجموعاً ۱۲ قطعه ماهی) در روزهای صفر، ۱۴، ۳۱، ۴۵ و ۶۰ روز پس از واکسیناسیون، بعد از بی‌هوشی با تریکائین متان سولفانات ( $MS_{222}$ )، خون‌گیری و جداسازی سرم صورت گرفت و تا زمان آزمایش‌های مذکور، در دمای  $20^\circ\text{C}$  درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. برای ارزیابی اثر واکسن‌ها بر شاخص‌های خونی جهت شمارش کلی گلبول‌های سفید و درصد هماتوکریت، از خون حاوی ماده‌ی ضد انعقاد (هپارین) استفاده گردید.

جهت اندازه‌گیری فعالیت کمپلمان از آزمایش همولیز در ژل آگارز استفاده شد (Barta 1993, Mohammadian et al. 2016). برای این کار، ابتدا آگارز ۱/۵ درصد در بافر فسفات ( $\text{pH}=7/2$ ) حاوی ۰/۵ میلی‌مول کلرید منیزیم و ۱/۵ میلی‌مول کلرید کلسیم تهیه شد. مقدار  $1 \times 10^8$

گلبول قرمز خرگوش شسته شده با بافر فسفات در دمای  $55^\circ\text{C}$  -  $50^\circ\text{C}$  به آگارز اضافه شد. مخلوط آگارز حاوی گلبول‌های قرمز خرگوش داخل پلیت‌ها توزیع گردید. در گوده‌های ایجاد شده در آگار میزان ۲۰ میکرولیتر از سرم نمونه ریخته شد. پلیت‌ها در محیط مرطوب و دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند و پس از آن قطر هاله لیز گلبولی با خطکش مخصوص اندازه‌گیری شد.

$$\text{Arbitrary Unit (AU/ml)} = \frac{\text{Zone of lysis (mm)}}{\text{Volume of the sample loaded } (\mu\text{l})} \times 1000$$

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت لایزوزیم سرم از روش کدورت سنجی که توسط Ellis در سال ۱۹۹۰ و Mohammadian و همکاران در سال ۲۰۱۶ توصیه شده است، استفاده گردید. برای این کار، 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 ( $\text{pH}=5/8$ ) در گوده‌های میکروپلیت تخت مخلوط گردید و جذب نوری آن در دمای اتاق در زمان‌های صفر و ۶ دقیقه بعد از مخلوط‌سازی در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

برای ارزیابی قدرت باکتری‌کشی سرم از روش توصیه شده توسط Kajita و همکاران در سال ۱۹۹۰ و Mohammadian و همکاران در سال ۲۰۱۶ استفاده گردید. برای این کار، ابتدا باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* به مدت ۶ ساعت در محیط TSB کشت داده شد و سپس از آن رقت  $2 \times 10^{-5}$  تهیه گردید. نمونه‌های سرمی نیز به نسبت ۱:۳ با بافر فسفات رقیق گردیدند. سوسپانسیون باکتریایی حاصل در میکروتیوب‌های استریل به نسبت ۱:۱ با سرم رقیق شده مخلوط شد و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد با حرکت ملایم انکوبه گردید. علاوه بر نمونه‌های فعال، آزمایش با سرم غیرفعال شده (سرم حرارت دیده در دمای ۶۵ درجه‌ی سانتی‌گراد

شد و نتایج پس از یک شب ماندن در دمای اتاق قرائت شد به طوری که آخرین گوده‌ای (بالاترین رقتی) که در آن آگلوتیناسیون باکتریایی صورت گرفته به عنوان تیتراژ آنتی‌بادی نمونه‌ی سرم در نظر گرفته شد.

برای شمارش تعداد کلی گلبول‌های سفید، به دلیل این که از رقت ۱:۲۰ استفاده می‌گردد ۴ مربع لام هموسایتومتر شمارش شدند و با توجه به این که فاصله‌ی لام و لامل نیز ۰/۱ میلی‌متر می‌باشد، تعداد آن‌ها از فرمول زیر به دست می‌آید (Roberts 1989).

$$X \times 0/25 \times 10 \times 20 = X \times 50 \text{ WBC}/\mu\text{L}$$

برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید ابتدا از نمونه‌های خونی گسترش تهیه گردید و پس از رنگ‌آمیزی با محلول گیمسا، حداقل ۱۰۰ سلول روی لام شمارش شد و در نهایت تعداد هر یک از گلبول‌های سفید به صورت درصد خواهد شد (Roberts 1989). برای تعیین درصد هماتوکریت از روش میکروهیاتوکریت استفاده می‌شود (Firouzbakhsh et al. 2011).

زیست‌سنجی و شاخص‌های رشد تیمارهای مورد آزمایش در روز اول و پایان دوره بر اساس رابطه‌های زیر مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند (Salas et al. 2010).

جهت اندازه‌گیری میزان رشد ویژه یا Specific Growth rate (SGR)، ضریب تبدیل غذایی یا Feed Conversion ratio (FCR)، میزان کارایی پروتئین یا Protein efficiency ratio (PER)، درصد میزان بقا یا Survival rate% (SR)، درصد افزایش وزن بدن یا Body weight growth (BWG) و فاکتورهای وضعیت یا Condition factors (CF) از فرمول‌های زیر استفاده شد:

$$\%SGR = \frac{\ln W_f - \ln W_i}{t_2 - t_1} \times 100$$

Wf : وزن نهایی (گرم)    Wi : وزن اولیه (گرم)    (t2 - t1) : تعداد روزهای آزمایش

$$FCR = \frac{F}{W_f - W_i}$$

FCR : ضریب تبدیل غذایی    F : غذای مصرفی (وزن خشک به گرم)

به مدت نیم ساعت) نیز انجام شد. سپس، ۱۰ میکرولیتر از مخلوط سرم و باکتری در محیط کشت TSA کشت شد. تمامی مراحل در زیر هود و کنار شعله انجام گرفت. محیط‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس، به کمک دستگاه کلونی-کانتر تعداد پرگنه‌ی باکتریایی رشد یافته روی محیط کشت شمارش گردید. نتایج به صورت متوسط تعداد باکتری شمارش شده برای هر نمونه مشخص شد و تعداد باکتری شمارش شده در هر تیمار نسبت به تیمار شاهد مقایسه گردید.

برای ارزیابی انفجار تنفسی (احیاء NBT) از روش Secombe در سال ۱۹۹۰ و Mohammadian و همکاران در سال ۲۰۱۶ استفاده گردید. برای این کار، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از خون هیپارینه در داخل گوده‌های میکروپلیت تخت قرار داده شد و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۲ درصد NBT به آن اضافه شد. پلیت به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه شد و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از مخلوط حاصل برداشت و به یک لوله‌ی آزمایش حاوی ۲ میلی‌لیتر دی‌متیل‌فراماید اضافه گردید. سپس، نمونه سانتریفوژ شده و جذب نوری مایع رویی در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید.

برای سنجش تیتراژ آنتی‌بادی از روش میکروآگلوتیناسیون باکتریایی توصیه شده توسط Roberson در سال ۱۹۹۰ استفاده شد. به طور خلاصه، ابتدا ۲۵ میکرولیتر از بافر فسفات سدیم به گوده‌های پلیت الایزا (به جز گروه اول) افزوده شد و سپس مقدار ۲۵ میکرولیتر از نمونه‌ی سرم رقیق نشده (به اولین و دومین گوده) نیز به گوده‌ها اضافه گردید و سپس رقت‌های دو برابر در گوده‌های ۲ الی ۱۲ تهیه شد و ۲۵ میکرولیتر از گوده ۱۲ حذف و مقدار ۲۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی استرپتوکوکوس اینیایی تهیه شده در بافر فسفات سدیم (با رقت مک فارلین شماره‌ی ۳ = ۸ cells/ml) اضافه شد و سرم معمولی به عنوان کنترل لحاظ

مرحله‌ی قبل)، به صورت داخل صفاقی، مورد چالش قرار گرفت. هم‌زمان گروه شاهد (غیرواکسینه) نیز با LD50 باکتری مورد تزریق قرار گرفت. در طی دوره‌ی چالش، روزانه ماهی‌ها با علائم کلینیکی بیماری کنترل و میزان تلفات در طی ۱۴ روز ثبت و همچنین در صد بقا نسبی (RPS) مورد سنجش قرار گرفت. ماهیان مرده و در حال مرگ حذف شدند. برای تعیین میزان بازماندگی ماهیان در مواجهه با باکتری‌های بیماری‌زای استرپتوکوکوزیس از فرمول زیر محاسبه گردید (Amend 1981):

$$100 \times (\text{درصد تلفات گروه شاهد} / \text{درصد تلفات گروه واکسینه} - 1) = \text{بازماندگی (درصد)}$$

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک و دو طرفه (ANOVA) نرم‌افزار SPSS استفاده شد. برای بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین داده‌های آزمایشی (Mean ± SD)، از پس آزمون توکی استفاده شد. در تمام بررسی‌ها سطح معنی‌دار آزمون‌ها  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد. همچنین ترسیم نمودارها در فضای نرم‌افزار Excel (نسخه ۲۰۰۷) انجام گرفت.

## نتایج

نتایج حاصل از مقایسه‌ی تأثیر واکسن دوگانه‌ی استرپتوکوکوزیس (*Lactococcus garvie*) و واکسن خارجی (*Streptococcus iniae*) ایرانی (ساخت جهاد دانشگاهی)، واکسن خارجی (ساخت شرکت AquaVac™ Garvetil™) و گروه شاهد بر برخی شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی روزهای صفر، ۱۴، ۳۱، ۴۵ و ۶۰ روز پس از واکسیناسیون، در جدول شماره ۱ نمایش داده شده است. همان‌گونه که در جدول ملاحظه می‌شود، هماتوکریت (PCV) در روز ۳۱ آزمایش در گروه واکسن ایرانی نسبت به دو گروه دیگر افزایش داشته است ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نیست ( $P > 0.05$ ). در روز ۴۵

$$PER = \frac{BW_f - BW_i}{AP}$$

BWf: وزن نهایی (گرم)    BWi: وزن اولیه (گرم)  
AP: پروتئین مصرفی (گرم)

$$\text{Survival rate} = (N_t/N_0) \times 100$$

Nt = تعداد بچه ماهی‌ها در انتهای دوره آزمایش    N0 =

تعداد بچه ماهی‌ها در ابتدای دوره آزمایش

$$\%BWG = (BW_f - BW_i) / BW_i \times 100$$

%BWG: درصد افزایش وزن بدن    BWf: وزن نهایی

(گرم)    BWi: وزن اولیه (گرم)

$$CF = (W/L3) \times 100$$

CF: شاخص کیفیت    W: وزن ماهی (وزن تر به گرم)

L: طول ماهی (سانتی‌متر)

به منظور محاسبه LD50 باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه، هر کدام به طور جداگانه به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در محیط کشت TSB کشت داده شدند. پس از آن محیط کشت به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۵۰۰ سانتریفیوژ شد و رسوب ته لوله سه بار با سرم فیزیولوژی شست و شو داده شد. پس از این مراحل، باکتری‌های رسوب یافته دوباره با استفاده از سرم فیزیولوژی در حدود تراکم کدورت سنج مک‌فارلند شماره‌ی ۷ تنظیم ( $2/1 \times 10^9$ ) و سپس از هر دو باکتری بیماری‌زا با انجام رقیق‌سازی تراکم را به  $10^9$  باکتری در میلی‌لیتر به عنوان محلول ذخیره‌ی اصلی رسانده شد (Sun et al. 2011) و با استفاده از رقت‌های متوالی از این محلول ( $10^5$  الی  $10^9$ ) و تزریق آن به صورت داخل صفاقی تلفات هر رقت به مدت ۴ روز ثبت و پس از مرگ ماهی‌ها، با کشت مجدد باکتری از اندام‌های داخلی، از علت مرگ در اثر عفونت باکتریایی اطمینان حاصل گردید. نهایتاً با استفاده از نرم‌افزار Probit، اقدام به اندازه‌گیری LD50 گردید.

برای ارزیابی کارایی واکسن‌ها بعد از ۶۰ روز از واکسیناسیون، تیمار واکسینه شده با باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه به میزان دوز ایجاد کننده ۵۰ درصد تلفات (به دست آمده در

ایرانی نسبت به گروه واکسن خارجی بیش‌تر است، در بقیه روزهای آزمایش مقدار کمپلمان در گروه واکسن خارجی بیش‌تر از دو گروه دیگر است. همچنین در تمامی روزهای آزمایش اختلاف معنی‌داری بین دو گروه واکسن ایرانی و واکسن خارجی با گروه شاهد مشاهده می‌شود ( $p \leq 0/05$ ). در مورد مقایسه‌ی قدرت باکتری‌کشی دو تیمار واکسن ایرانی و واکسن خارجی با گروه شاهد طبق جدول ۱، در روزهای ۱۴، ۳۱، ۴۵ و ۶۰ آزمایش قدرت باکتری‌کشی دو گروه واکسن ایرانی و واکسن خارجی نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است که اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشتند ( $P \leq 0/05$ ).

همان‌گونه که در جدول ۱ ملاحظه می‌شود، در روز ۱۴ آزمایش مقدار لایوزیم در دو گروه واکسن ایرانی و واکسن خارجی نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نیست ( $P > 0/05$ ). در روز ۳۱ آزمایش نیز مقدار لایوزیم در گروه واکسن ایرانی نسبت به دو گروه واکسن خارجی و گروه شاهد بیش‌تر است ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نیست ( $P \geq 0/05$ ). در روز ۴۵ آزمایش مقدار لایوزیم در گروه واکسن خارجی نسبت به دو گروه واکسن ایرانی و گروه شاهد افزایش یافته است که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار است ( $P \leq 0/05$ ). در روز ۶۰ آزمایش نیز مقدار لایوزیم در گروه واکسن خارجی نسبت به دو گروه واکسن ایرانی و گروه شاهد بیش‌تر است ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نیست ( $P > 0/05$ ). در مورد اندازه‌گیری میزان انفجار تنفسی (احیاء NBT) بین سه گروه آزمایشی طبق جدول ۱، میزان آن در روزهای ۱۴، ۳۱، ۴۵ و ۶۰ آزمایش در دو گروه واکسن ایرانی و واکسن خارجی نسبت به گروه شاهد افزایش یافته است که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار است ( $p \leq 0/05$ ).

در مورد نتایج بررسی تیتراژ آنتی‌بادی (MAT) علیه باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه جهت مقایسه‌ی تأثیر تیمارهای آزمایشی در ایمنی‌زایی

آزمایش نیز میزان هماتوکریت در دو گروه واکسن ایرانی و واکسن خارجی نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار است ( $P \leq 0/05$ ). در روز ۶۰ آزمایش نیز افزایش معنی‌داری در میزان هماتوکریت گروه واکسن ایرانی نسبت به دو گروه دیگر مشاهده می‌شود ( $P \leq 0/05$ ).

در مورد WBC، طبق جدول ۱ در روز ۱۴ آزمایش تعداد آن در گروه واکسن ایرانی نسبت به دو گروه واکسن خارجی و گروه شاهد بیش‌تر است ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نیست ( $P > 0/05$ ). در روز ۳۱ آزمایش، تعداد گلبول‌های سفید در گروه واکسن خارجی نسبت به دو گروه واکسن ایرانی و گروه شاهد بیش‌تر می‌باشد. همچنین بین دو گروه واکسن خارجی و ایرانی با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود ( $P \leq 0/05$ ). در روز ۴۵ آزمایش مقدار گلبول‌های سفید در گروه واکسن خارجی نسبت به دو گروه واکسن ایرانی و گروه شاهد بیش‌تر می‌باشد. همچنین بین گروه واکسن خارجی و دو گروه واکسن ایرانی و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود ( $P \leq 0/05$ ). در روز ۶۰ آزمایش نیز تعداد WBC در گروه واکسن خارجی نسبت به دو گروه واکسن ایرانی و گروه شاهد بیش‌تر می‌باشد. همچنین بین دو گروه واکسن خارجی و ایرانی با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود ( $p \leq 0/05$ ). همچنین با توجه به جدول ۱، نتایج شمارش تفریقی گلبول‌های سفید نشان داد که جمعیت لنفوسیتی در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در همه‌ی گروه‌های ایمن شده در مقایسه با گروه شاهد بیش‌تر بوده اما این تفاوت‌ها معنی‌دار نبوده است ( $P > 0/05$ ).

### پاسخ‌های ایمنی

در مورد اندازه‌گیری کمپلمان در بین تیمارهای آزمایشی، همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود به جز روز ۳۱ آزمایش که میزان کمپلمان در گروه واکسن

ایرانی و تیمار شاهد وجود دارد ( $p \leq 0.05$ ). همچنین بیشترین تیترا آنتی‌بادی در دو تیمار واکسن ایرانی و واکسن خارجی در روز ۱۴ آزمایش مشاهده می‌شود.

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، همان طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، از روز ۱۴ تا روز ۶۰ آزمایش تفاوت معنی‌داری بین تیمار واکسن خارجی با دو تیمار واکسن

جدول ۱: مقایسه میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) برخی از شاخص‌های خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول دوره پرورش ( $n=45$ )

روز ۶۰	روز ۴۵	روز ۳۱	روز ۱۴	روز صفر	گروه	فاکتور خونی
۴۳/۴±۱/۱۴ <sup>Aa</sup>	۳۸/۳۳±۴/۹۶ <sup>ab</sup>	۳۱/۸۳±۵/۸۱ <sup>Ab</sup>	۲۴/۳۳±۲/۸۰ <sup>Ac</sup>	۲۴/۶۶±۲/۸ <sup>Ac</sup>	ایرانی	هماتوکریت (%)
۳۲±۲/۷ <sup>Bab</sup>	۳۶/۱۶±۳/۷۱ <sup>ABa</sup>	۲۷/۶۶±۶/۹۵ <sup>ab</sup>	۲۵/۸±۶/۲۲ <sup>Ab</sup>	۲۵/۱۶±۲/۴۸ <sup>ab</sup>	خارجی	
۲۷±۵/۵۶ <sup>Bab</sup>	۳۰/۶۶±۲/۳۰ <sup>Ba</sup>	۲۶/۳۳±۱/۵۲ <sup>ab</sup>	۲۴/۳۳±۲/۹۴ <sup>ab</sup>	۲۳/۸۳±۲/۲۲ <sup>Ab</sup>	کنترل	
۷۲/۶±۱۲/۹۵ <sup>Aa</sup>	۴۰/۳۳±۶/۸۶ <sup>Bb</sup>	۶۲/۸۳±۱۷/۳۲ <sup>Aab</sup>	۸۶/۷۵±۱۵/۱۳ <sup>Aa</sup>	۳۹/۲۵±۲۱/۱۵ <sup>Ab</sup>	ایرانی	تعداد کل گلبول‌های سفید ( $k/mm^3$ )
۸۹/۵±۱۰/۶۳ <sup>Aa</sup>	۸۵±۴/۱۶ <sup>Aa</sup>	۷۹/۳±۱۲/۵۱ <sup>Aa</sup>	۶۳/۷۵±۳۰/۲۳ <sup>Aa</sup>	۴۲/۰۸±۳۸/۸۳ <sup>Aa</sup>	خارجی	
۳۱/۵±۱/۹۱ <sup>Ba</sup>	۳۲/۲۵±۱۲/۰۱ <sup>Ba</sup>	۳۳/۵±۱۳/۸۹ <sup>Ba</sup>	۴۲±۱۰/۳۹ <sup>Aa</sup>	۳۷/۰۸±۳۱/۱۶ <sup>Aa</sup>	کنترل	
۹۸/۶±۱/۱۴ <sup>Aa</sup>	۹۹±۱ <sup>Aa</sup>	۹۷±۱/۵۸ <sup>Aa</sup>	۹۹±۱ <sup>Aa</sup>	۹۸/۶±۱/۱۴ <sup>Aa</sup>	ایرانی	لنفوسیت (%)
۹۹/۶۶±۰/۵۷ <sup>Aa</sup>	۹۹/۶±۰/۵۴ <sup>Aa</sup>	۹۶±۲/۴۴ <sup>Aa</sup>	۹۹/۶۶±۰/۵۷ <sup>Aa</sup>	۹۹/۶±۰/۵۴ <sup>Aa</sup>	خارجی	
۹۹/۳۳±۰/۵۷ <sup>Aa</sup>	۹۵/۸±۱/۴۸ <sup>Aa</sup>	۹۷±۱/۸۲ <sup>Aa</sup>	۹۶±۲/۴۴ <sup>Aa</sup>	۹۵/۸±۱/۴۸ <sup>Aa</sup>	کنترل	
۱/۵±۰/۵۷ <sup>Aa</sup>	۱/۳۳±۰/۵ <sup>Aa</sup>	۳±۱/۵ <sup>Aa</sup>	۱/۳۳±۰/۵ <sup>Aa</sup>	۱/۵±۰/۵۷ <sup>Aa</sup>	ایرانی	هترووفیل (%)
۱/۵±۰/۵۷ <sup>Aa</sup>	۱ <sup>Aa</sup>	۴/۵±۱/۷۳ <sup>Aa</sup>	۱/۵±۰/۵۷ <sup>Aa</sup>	۱ <sup>Aa</sup>	خارجی	
۱ <sup>Aa</sup>	۲/۸±۱/۰۹ <sup>Aa</sup>	۲/۶۶±۰/۵۷ <sup>Aa</sup>	۴/۵±۱/۷۳ <sup>Aa</sup>	۲/۸±۱/۰۹ <sup>Aa</sup>	کنترل	
۱ <sup>Aa</sup>	۱ <sup>Aa</sup>	۱ <sup>Aa</sup>	۱ <sup>Aa</sup>	۱ <sup>Aa</sup>	ایرانی	مونوسیت (%)
۱ <sup>Aa</sup>	۱ <sup>Aa</sup>	۱/۲۵±۰/۵ <sup>Aa</sup>	۱ <sup>Aa</sup>	۱ <sup>Aa</sup>	خارجی	
۱ <sup>Aa</sup>	۱/۴±۰/۸۹ <sup>Aa</sup>	۱/۳۳±۰/۵۷ <sup>Aa</sup>	۱/۲۵±۰/۵ <sup>Aa</sup>	۱/۴±۰/۸۹ <sup>Aa</sup>	کنترل	

\* حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر سطر به مفهوم اختلاف معنی‌دار بین میانگین گروه‌های مختلف در سطح اطمینان ۹۵ درصد است و حروف لاتین بزرگ غیرمشابه در هر ستون به مفهوم اختلاف معنی‌دار بین میانگین گروه‌های مختلف در سطح اطمینان ۹۵ درصد است.

جدول ۲: مقایسه میانگین (±انحراف معیار) برخی از شاخص‌های ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول دوره‌ی پرورش (n=۴۵)

فاکتور ایمنی	گروه	روز صفر	روز ۱۴	روز ۳۱	روز ۴۵	روز ۶۰
کمپلمان (AU/ml)	ایرانی	۳۸۸/۵±۳۰/۵۶ <sup>Aa</sup>	۴۲۲/۲۲±۸۰/۷۳ <sup>Aa</sup>	۴۲۶/۶۶±۳۶/۵۱ <sup>Aa</sup>	۳۶۰±۳۶/۵۱ <sup>Aa</sup>	۴۴۴/۴۴±۳۴/۴۲ <sup>Aa</sup>
	خارجی	۳۷۶±۲۶/۶۶ <sup>Ab</sup>	۵۱۶/۶۶±۳۳/۳۳ <sup>Aa</sup>	۴۲۲/۲۲±۳۸/۴۹ <sup>ab</sup>	۴۴۰±۹۲/۴۹ <sup>ab</sup>	۴۸۳/۳۳±۳۳/۳۳ <sup>ab</sup>
	کنترل	۲۷۹/۸۳±۸۷/۱۹ <sup>Ba</sup>	۲۴۸/۵±۴۴/۳۵ <sup>Ba</sup>	۲۶۵/۱۶±۴۷/۸۹ <sup>Ba</sup>	۲۶۰±۱۴/۹۰ <sup>Ba</sup>	۲۴۴/۴۴±۳۸/۴۹ <sup>Ba</sup>
قدرت باکتری کشی	ایرانی	۱۰۷/۴۱±۴۹/۱۴ <sup>Aa</sup>	۵۳/۱۶±۱۲/۲۸ <sup>Ab</sup>	۵۹/۸۳±۱۸/۷۰ <sup>Ab</sup>	۶۶/۶۶±۱۲/۷۵ <sup>Aab</sup>	۷۳/۸۳±۱۳/۴۳ <sup>Aab</sup>
	خارجی	۱۰۴/۰۸±۵۴/۸۵ <sup>Aa</sup>	۵۴/۶±۹/۷۸ <sup>Aa</sup>	۶۰/۴±۱۹/۷۹ <sup>Aa</sup>	۶۱/۵±۱۳/۱۲ <sup>Aa</sup>	۷۸/۵۷±۲۹/۹۸ <sup>Aa</sup>
	کنترل	۱۱۵/۷۵±۶۷/۴۶ <sup>Aa</sup>	۱۱۰/۴۱±۵۶/۷۲ <sup>Ba</sup>	۱۱۲/۰۸±۵۵/۴۳ <sup>Ba</sup>	۱۱۳/۷۵±۵۴/۴۱ <sup>Ba</sup>	۱۱۶/۲۵±۵۰/۶۰ <sup>Ba</sup>
لایزوزیم (AU/ml/min)	ایرانی	۱۴۵/۷۱±۳۴/۵۵ <sup>Aa</sup>	۱۸۴/۲۴±۶۱/۱۲ <sup>Aa</sup>	۲۳۳/۲۲±۹۰/۳۴ <sup>Aa</sup>	۱۶۳/۷۲±۷۱ <sup>ABa</sup>	۱۵۲/۵۷±۲۹/۲۴ <sup>Aa</sup>
	خارجی	۱۳۷/۳۸±۱۲/۴۸ <sup>Aab</sup>	۱۸۵±۲۷/۹۳ <sup>Ab</sup>	۱۷۷/۶±۶۴/۷۲ <sup>Aab</sup>	۲۹۹/۷±۱۰۶/۴۶ <sup>Aa</sup>	۲۱۰/۹±۵۰/۴۶ <sup>ab</sup>
	کنترل	۱۳۵/۷۱±۱۷/۵۹ <sup>Aa</sup>	۱۳۴/۸۵±۳۶/۴۰ <sup>Aa</sup>	۱۳۳/۲۱±۴۴/۴ <sup>Aa</sup>	۱۴۴/۵۷±۴۲/۷۹ <sup>Ba</sup>	۱۴۲/۰۷±۴۰/۴۵ <sup>Aa</sup>
میزان احیاء NBT	ایرانی	۰/۳۸±۰/۰۹ <sup>Aa</sup>	۰/۷۶±۰/۱۹ <sup>Aa</sup>	۰/۶۴±۰/۰۳ <sup>Aa</sup>	۰/۶۹±۰/۰۸ <sup>Aa</sup>	۰/۷۳±۰/۰۶ <sup>Aa</sup>
	خارجی	۰/۳۵±۰/۱۲ <sup>Aa</sup>	۰/۸۰±۰/۰۸ <sup>Aa</sup>	۰/۷۱±۰/۰۵ <sup>Aa</sup>	۰/۷۴±۰/۰۵ <sup>Aa</sup>	۰/۷۷±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>
	کنترل	۰/۳۲±۰/۰۴ <sup>Aa</sup>	۰/۳۵±۰/۰۶ <sup>Ba</sup>	۰/۳۵±۰/۰۵ <sup>Bb</sup>	۰/۲۳±۰/۱۰ <sup>Bb</sup>	۰/۲۷±۰/۰۶ <sup>Bb</sup>

\* حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر سطر به مفهوم اختلاف معنی‌دار بین میانگین گروه‌های مختلف در سطح اطمینان ۹۵ درصد است و حروف لاتین بزرگ غیرمشابه در هر ستون به مفهوم اختلاف معنی‌دار بین میانگین گروه‌های مختلف در سطح اطمینان ۹۵ درصد است.

جدول ۳: مقایسه میانگین (±انحراف معیار) تیتراژ آنتی‌بادی (MAT) بر علیه باکتری‌های استریتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه در تیمارهای آزمایشی (n=۴۵)

باکتری	گروه	روز صفر	روز ۱۴	روز ۳۱	روز ۴۵	روز ۶۰
استریتوکوکوس اینیایی	ایرانی	۶/۶۶±۲/۰۶ <sup>Ab</sup>	۱۶±۸/۷۶ <sup>Ba</sup>	۱۲±۴/۳۸ <sup>Bab</sup>	۱۰±۴/۸۹ <sup>Bab</sup>	۹/۳۳±۳/۲۲ <sup>Bab</sup>
	خارجی	۶/۶۶±۲/۰۶ <sup>Ac</sup>	۵۰/۶۶±۲۱/۲۶ <sup>Aa</sup>	۳۴/۶۶±۱۵/۷۳ <sup>Aab</sup>	۲۶/۶۶±۸/۲۶ <sup>Abc</sup>	۲۱/۳۳±۸/۲۶ <sup>Abc</sup>
	کنترل	۶/۶۶±۲/۰۶ <sup>Aa</sup>	۶±۲/۱۹ <sup>Ba</sup>	۵/۳۳±۲/۰۶ <sup>Ba</sup>	۵/۳۳±۲/۰۶ <sup>Ba</sup>	۴/۶۶±۱/۶۳ <sup>Ba</sup>
لاکتوکوکوس گارویه	ایرانی	۴/۶۶±۱/۶۳ <sup>Ab</sup>	۱۶±۱۲/۳۹ <sup>Ba</sup>	۷/۳۳±۱/۶۳ <sup>Bab</sup>	۶/۶۶±۲/۰۶ <sup>Bab</sup>	۶±۲/۱۹ <sup>Bb</sup>
	خارجی	۴/۶۶±۱/۶۳ <sup>Ac</sup>	۲۹/۳۳±۶/۵۳ <sup>Aa</sup>	۲۵/۳۳±۱۰/۶۳ <sup>Aab</sup>	۲۱/۳۳±۸/۲۶ <sup>Aab</sup>	۱۶±۸/۷۶ <sup>Abc</sup>
	کنترل	۴/۶۶±۱/۶۳ <sup>Aa</sup>	۶±۲/۱۹ <sup>Ba</sup>	۴/۶۶±۱/۶۳ <sup>Ba</sup>	۴/۶۶±۱/۶۳ <sup>Ba</sup>	۴/۶۶±۱/۶۳ <sup>Ba</sup>

\* حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر سطر به مفهوم اختلاف معنی‌دار بین میانگین گروه‌های مختلف در سطح اطمینان ۹۵ درصد است و حروف لاتین بزرگ غیرمشابه در هر ستون به مفهوم اختلاف معنی‌دار بین میانگین گروه‌های مختلف در سطح اطمینان ۹۵ درصد است.

### عملکرد رشد

می‌باشد که تفاوت معنی‌داری را بین تیمارها نشان می‌دهد (p≤۰/۰۵). از لحاظ ضریب تبدیل غذایی، تیمار واکسن ایرانی بهترین ضریب تبدیل غذایی ۳/۳۳±۰/۳۳ و کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به گروه شاهد می‌باشد و تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های واکسینه و گروه شاهد

نتایج حاصل از رشد بچه ماهیان در تیمارهای مختلف در طی یک دوره‌ی ۶۰ روزه در جدول شماره ۴ نمایش داده شده‌اند. بر اساس نتایج مذکور، بیش‌ترین رشد ثانویه مربوط به تیمار واکسن ایرانی ۴۸/۲۵±۰/۷۵ گرم و کم‌ترین رشد ثانویه مربوط به تیمار شاهد ۳۶/۲۵±۱/۲ گرم



خارجی و گروه شاهد کمترین کارایی پروتئین را داشته است که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار است ( $p \leq 0/05$ ). از لحاظ کارایی تبدیل غذایی، تیمار واکسن ایرانی بهترین کارایی و کمترین کارایی مربوط به گروه شاهد می‌باشد و تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های واکسینه و گروه شاهد مشاهده می‌شود ( $p \leq 0/05$ ).

مشاهده می‌شود ( $p \leq 0/05$ ). در مورد رشد ویژه تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد، به طوری که بیشترین ضریب رشد مربوط به تیمار واکسن ایرانی  $0/79 \pm 0/09$  و کمترین ضریب رشد مربوط به تیمار شاهد  $0/26 \pm 0/06$  می‌باشد ( $p \leq 0/05$ ). از نظر میزان کارایی پروتئین، تیمار واکسن ایرانی  $242/06 \pm 37/77$  بیشترین و تیمار واکسن

جدول ۴: مقایسه میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) برخی از شاخص‌های رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول دوره‌ی پرورش ( $n=45$ )

شاخص رشد	گروه واکسن ایرانی	گروه واکسن خارجی	گروه شاهد
وزن اولیه (gf)	$27/93 \pm 1/31$	$27/86 \pm 1/77$	$25/30 \pm 1/33$
وزن نهایی (gf)	$48/25 \pm 0/75$	$42/25 \pm 1/12$	$36/25 \pm 1/23$
درصد افزایش وزن بدن (gf)	$46/73 \pm 10/68$	$52/15 \pm 12$	$43/68 \pm 12/37$
ضریب رشد ویژه	$0/39 \pm 0/04$	$0/30 \pm 0/05$	$0/26 \pm 0/06$
ضریب تبدیل غذایی	$3/15 \pm 0/33$	$3/46 \pm 0/57$	$5/57 \pm 1/31$
میزان کارایی پروتئین	$242/06 \pm 37/77$	$219/01 \pm 24/58$	$221/51 \pm 51/63$
فاکتورهای وضعیت	$0/95 \pm 0/01$	$1 \pm 0/01$	$0/97 \pm 0/01$
کارایی تبدیل غذایی	$0/31 \pm 0/03$	$0/29 \pm 0/50$	$0/18 \pm 0/04$

### نتایج چالش باکتریایی

است، تلفات در تیمارهای واکسن ایرانی و خارجی نسبت به گروه شاهد کم‌تر بود که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار است ( $P < 0/05$ ).

نتایج مربوط به آلوده‌سازی تیمارهای تحقیق با باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه در جدول ۴ آورده شده است. همان‌طور که در جدول مشخص

جدول ۴: تلفات ماهی‌های تیمار شده با واکسن دوگانه ایرانی و واکسن خارجی بعد از چالش با باکتری‌های

استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه

تیمارها	باکتری	تعداد ماهی	تعداد تلفات	درصد تلفات
ایرانی	گارویه	۳۰	۹	۳۰ درصد
	اینی	۳۰	۱۲	۴۰ درصد
خارجی	گارویه	۳۰	۱۲	۴۰ درصد
	اینی	۳۰	۱۳	۴۴ درصد
کنترل	گارویه	۳۰	۲۸	۹۵ درصد
	اینی	۳۰	۳۰	۱۰۰ درصد

## بحث

بیماری استرپتوکوکوزیس با عامل استرپتوکوکوس اینیایی و لاکتوکوکوس گارویه موجب خسارت اقتصادی قابل توجه در مزارع ماهی در برخی کشورها از جمله مزارع قزل‌آلای پرورشی در ایران می‌باشد (سلطانی و همکاران ۱۳۸۶). در این مطالعه مقایسه‌ی تأثیر واکسن دوگانه‌ی استرپتوکوکوزیس (*Lactococcus garvie*) و (*Streptococcus iniae*) ایرانی (ساخت جهاد دانشگاهی) و واکسن خارجی (ساخت شرکت AquaVac™ Garvetil™) بر برخی شاخص‌های خونی و پاسخ‌های ایمنی و شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج حاصل از مقایسه‌ی تأثیر واکسن دوگانه‌ی استرپتوکوکوزیس (*Lactococcus garvie*) و (*Streptococcus iniae*) ایرانی، واکسن خارجی و گروه شاهد بر برخی شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در این تحقیق، نشان می‌دهد که واکسیناسیون توانسته است شاخص‌های خونی مورد آزمایش را در ماهیان واکسینه نسبت به گروه شاهد افزایش دهد.

در طی بررسی‌های انجام شده توسط Alishahi و Buchmann در سال ۲۰۰۶، استفاده از واکسن ضد استرپتوکوکوزیس باعث افزایش گلبول‌های سفید خون و جمعیت لنفوسیت‌ها شده است (Faghani et al. 2008). در مطالعه‌ی دیگری که توسط سلطانی و همکاران در سال ۱۳۸۶ روی برخی پاسخ‌های ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به برخی آنتی‌ژن‌های استرپتوکوکوس اینیایی صورت گرفت نتایج حاصل حاکی از افزایش جمعیت کل لکوسیت‌ها در گروه‌های ایمن شده به روش تزریقی و غوطه‌وری و خوراکی در تمام مراحل نمونه‌گیری نسبت به گروه شاهد بود. McNulty و همکاران در سال ۲۰۰۳ در ماهی تیلاپیا به دنبال بررسی جمعیت لوکوسیتی ماهیان ایمن شده بر علیه استرپتوکوکوس اینیایی نشان دادند که در ایام نمونه‌برداری پس از واکسیناسیون در مقایسه با

گروه شاهد جمعیت گلبول‌های سفید (شمارش کلی) و جمعیت لنفوسیتی از افزایش قابل ملاحظه‌ای برخوردار بوده است. لنفوسیت‌ها یکی از مهم‌ترین فاکتورهای حفاظتی ماهیان در برابر عوامل میکروبی می‌باشند. این دسته از سلول‌ها قابلیت فاگوسیتوزیس و تولید آنتی‌بادی را دارند. افزایش تعداد لنفوسیت‌ها، همانند سایر محرک‌های سیستم ایمنی، فاکتورهای فعال‌کننده‌ی ماکروفاژها را تولید می‌کند که در بیگانه‌خواری نقش دارند. در مطالعه‌ی دیگری که توسط پورمظفر و همکاران در سال ۱۳۹۴ صورت گرفت، نتایج به دست آمده نشان داد که ماکروگارد تأثیر چندانی بر هماتوکریت، هموگلوبین، MCH، MCV، MCHC ندارد. Faghani و همکاران در سال ۲۰۰۸ واکسن ضد استرپتوکوکوزیس به همراه آلزینیک اسید را روی فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار دادند که نتایج حاصل، تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های مورد آزمایش و گروه شاهد نشان نداد. فغانی و همکاران در سال ۱۳۸۸ در مطالعه‌ی دیگر که جهت ارزیابی اثر ارگوسان و واکسن ضد استرپتوکوکوزیس بر پارامترهای خونی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام دادند این گونه بیان کردند که ارگوسان و واکسن ضد استرپتوکوکوزیس تأثیر چندانی بر تعداد گویچه‌های قرمز، هماتوکریت، MCV، MCH و MCHC ندارد. نتایج این مطالعه با نتایج مطالعات فوق هم‌خوانی ندارد که احتمالاً نشان دهنده‌ی اثرات مؤثر واکسیناسیون در مطالعه‌ی حاضر است.

نتایج حاصل از ارزیابی تأثیر واکسن دوگانه‌ی استرپتوکوکوزیس (*Lactococcus garvie*) و (*Streptococcus iniae*) ایرانی، واکسن خارجی و گروه شاهد بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در این تحقیق، نشان‌دهنده‌ی افزایش برخی از شاخص‌های ایمنی در ماهیان واکسینه شده نسبت به گروه شاهد می‌باشد.

غیراختصاصی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته و می‌تواند کارایی واکسن ضد استرپتوکوکوزیس را افزایش دهد. با توجه به ترشح لیزوزیم از لوکوسیت‌ها، می‌توان بالا رفتن سطح لیزوزیم سرم را با افزایش تعداد لوکوسیت‌ها مرتبط دانست. نتایج این مطالعه با نتایج مطالعات فوق‌هم‌خوانی دارد که این احتمالاً به دلیل افزایش تولید لیزوزیم در سرم و به تبع آن افزایش میزان لنفوسیت‌ها بعد از واکسیناسیون در ماهیان می‌باشد. همچنین واکسیناسیون در مطالعه‌ی حاضر، مکانیسم‌های دفاع غیر اختصاصی را افزایش داده و این باعث بهبود وضعیت سیستم دفاعی بدن ماهی شده است.

مقایسه‌ی تیتراژ آنتی‌بادی اختصاصی علیه آنتی‌ژن‌های موجود در واکسن‌های مورد آزمایش در این مطالعه نشان داد که افزایش تیتراژ آنتی‌بادی در دو تیمار واکسن ایرانی و خارجی نسبت به تیمار شاهد، با میزان بقای بعد از چالش در ارتباط است که این احتمالاً به دلیل آنتی‌بادی‌های اختصاصی تولید شده توسط میزبان می‌باشد. غشای سلولی ارگانسیم‌های بیماری‌زا در تماس مستقیم با سیستم ایمنی میزبان قرار می‌گیرد و این مطلب اثبات شده است که مولکول‌های غشای انواع مختلف میکروارگانسیم‌ها می‌توانند پاسخ‌های ایمنی قوی سلولی و همورال را در ماهی تحریک کنند (Kawai et al. 2004, Tang et al. 2009). پروتئین‌های استرپتوکوکوس/اینیایی ایمونوژنیک هستند و به عنوان فاکتورهای حدت در چسبندگی، کلونیزه کردن و تهاجم بافتی نقش دارند. بنابراین، مکانیسم‌های مؤثر آنتی‌بادی‌های اختصاصی بر علیه پروتئین‌ها ممکن است شامل از بین بردن توانایی باکتری در چسبیدن و حمله به بافت میزبان، اپسونیزه کردن سلول‌های باکتری و تحریک فاگوسیتوزیس به وسیله‌ی ماکروفاژها و فعال شدن آبشار کمپلمان باشد (Lafrentz et al. 2011). Yang و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که تیتراژ آنتی‌بادی ماهی واکسینه با OMPN به طور معنی‌داری نسبت به ماهی واکسینه شده با PBS بیش‌تر می‌باشد. Huang و همکاران در سال ۲۰۱۴ افزایش

تحریک سیستم ایمنی بدن جهت افزایش فعالیت لیزوزیم در آزاد ماهیان بعد از واکسیناسیون مشاهده شده است (Ackerman et al. 2000). لیزوزیم یک آنزیم باکتری‌کش است که خصوصاً در برابر باکتری‌های گرم مثبت مؤثر است و باعث لیز باکتری و تحریک فعالیت فاگوسیتوزی می‌شود (Juha et al. 2004). در مطالعه‌ای که توسط Jokinen و همکاران در سال ۲۰۰۳ روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد، میزان لیزوزیم پلاسما در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲ و ۴۹ آزمایش اندازه‌گیری شد که میزان آن از روز ۱۴ آزمایش نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری یافت به گونه‌ای که در پیک لیزوزیم (روز ۴۲)، مقدار آن بیست برابر گروه شاهد به دست آمد. واکسیناسیون باعث افزایش تولید ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها و همچنین افزایش تولید سایتوکین و لیزوزیم می‌شود. Balfry و همکاران در سال ۲۰۰۱ برای بررسی مقاومت آزاد ماهی نقره‌ای *Oncorhynchus kisutch* در برابر *Listonella anguillarum* در روزهای ۰، ۲، ۴، ۷ و ۱۸ پس از واکسیناسیون فاکتورهای ایمنی مختلف را اندازه‌گیری کردند. نتایج حاصل حاکی از افزایش ایمنی ماهیان واکسینه شده بود. Barnes و همکاران در سال ۲۰۰۳ مقاومت باکتری استرپتوکوکوس/اینیایی را در برابر قدرت باکتری کشی آنتی‌سرم ماهی قزل‌آلای ایمن شده گزارش کردند به طوری که تعداد باکتری شمارش شده در پلیت‌های مربوط به تیمارهای واکسینه ۱۸۰ تا ۴۰۰ درصد نسبت به تیمار شاهد که فاقد سرم بود افزایش نشان داد. Faghani و همکاران در سال ۲۰۰۸ واکسن ضد استرپتوکوکوزیس به همراه آلژینک اسید را روی ارزیابی سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار دادند که حاکی از ارتقای سیستم ایمنی و افزایش مقاومت ماهی در برابر عوامل بیماری‌زا بود. بادزهره و همکاران در سال ۱۳۹۱ کارایی واکسن تک‌گانه تولید داخل را به همراه محرک ایمنی بتاگلوکان بررسی کردند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزودن بتاگلوکان به غذا تأثیر مثبتی بر پاسخ‌های ایمنی

افزایش درصد لنفوسیت‌ها و ماکروفاژها و به دنبال آن افزایش سیستم دفاعی بدن موجب افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا، تحریکات محیطی و استرس‌ها گردیده که این خود می‌تواند با افزایش فعالیت سوخت و سازی، نهایتاً بهبود رشد، کاهش میزان مرگ و میر و افزایش میزان بازماندگی ماهیان را به دنبال داشته باشد.

Juha و همکاران در سال ۲۰۰۴ دو واکسن تجاری (Apoject 1800 and Lipogen duo) را به صورت خوراکی در ماهی سفید اروپایی مورد بررسی قرار دادند که حاکی از عدم تأثیر واکسن بر رشد ماهی بوده است. کاهش رشد به علت واکسیناسیون در آزمایش‌های کوتاه مدت روی سایر آزاد ماهیان نیز مشاهده شده است (Pylkko et al. 2000). نتایج این تحقیق با نتایج مطالعات فوق هم‌خوانی ندارد.

با توجه به نتایج خوب واکسن خارجی در بحث شاخص‌های خونی و ایمنی نسبت به واکسن ایرانی در این مطالعه، احتمالاً به دلیل وجود فرمالین در واکسن خارجی جهت کشتن باکتری و عدم خروج آن از واکسن باعث کشته شدن سلول‌های بافت ماهی شده و در نهایت این امر موجب کاهش رشد ماهی در تیمارهای واکسینه‌ی خارجی در برابر تیمارهای ایرانی گردیده است (Rønsholdt and McLean, 1999). همچنین ترکیب آنتی‌ژن واکسن با ادجوانت نیز می‌تواند باعث کاهش رشد ماهی شود (Melingen and Wergeland 2002).

با توجه به نتایج این مطالعه، واکسن خارجی با افزایش پاسخ‌های ایمنی و برخی شاخص‌های خونی، تأثیر بهتری بر سلامت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته است و واکسن تولیدی داخل نیز روی رشد ماهی و تا حدودی بازماندگی بعد از چالش عملکرد بهتری را از خود نشان داده است. با توجه به نتایج کلی این مطالعه، هر دو واکسن توانسته‌اند تأثیر مثبتی بر روی شاخص‌های سلامت ماهی داشته باشند اما برای حصول نتیجه‌گیری کامل‌تر نیاز به مطالعات عمیق‌تر از جمله بررسی بیان ژن-های ایمنی می‌باشد.

معنی‌دار تیر آنتی‌بادی را در سرم ماهی‌های ایمن شده با واکسن کشته استرپتوکوکوس اینیایی در ۱۴ روز پس از تزریق داخل صفاقی واکسن نسبت به تیمار شاهد گزارش نمودند. Li و همکاران در سال ۲۰۱۵ در طی مطالعه‌ای که جهت بررسی ایمنی‌زایی واکسن زنده تخفیف حدت یافته استرپتوکوکوس آگالاکتیه در ماهی تیلاپیا انجام دادند، مشاهده نمودند که سطح آنتی‌بادی محافظتی به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد می‌باشد. همچنین بیان داشتند که میزان آنتی‌بادی در ۱۴ تا ۲۱ روز بعد از ایمن‌سازی به حداکثر خود رسید. نتایج این مطالعه با نتایج مطالعات فوق هم‌خوانی دارد که این نشان می‌دهد، احتمالاً واکسیناسیون در مطالعه‌ی حاضر، مکانیسم‌های دفاع اختصاصی مانند تولید آنتی‌بادی‌ها بر علیه باکتری-های موجود در واکسن را افزایش داده و این باعث بهبود وضعیت سیستم دفاعی بدن ماهی شده است.

رشد به عنوان یکی از فاکتورهای سنجش سلامت ماهی محسوب می‌شود. نتایج حاصل از این مطالعه در مورد تأثیر تجویز واکسن دوگانه‌ی استرپتوکوکوزیس بر روی رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که واکسن ایرانی تأثیر بهتری نسبت به واکسن خارجی بر عوامل رشد داشته است.

استفاده از واکسن شرکت Aquavac Garvetil ضریب رشد ماهی را افزایش می‌دهد. بررسی‌ها نشان داده که این واکسن می‌تواند در عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان در کنار استرس‌های محیطی، مؤثر باشد زیرا، ماهیان تحت تیمار واکسن، اشتها‌ی خوبی برای غذا خوردن داشتند (Nakajima et al. 2014). بادزهره و همکاران در سال ۱۳۹۱ کارایی واکسن تک‌گانه‌ی تولید داخل را به همراه محرک ایمنی بتاگلوکان بررسی کردند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزودن بتاگلوکان به غذا، تأثیر مثبتی بر رشد و پاسخ‌های ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته و می‌تواند کارایی واکسن ضد استرپتوکوکوزیس را افزایش دهد. نتایج این تحقیق با نتایج مطالعات فوق هم‌خوانی دارد. احتمالاً

## منابع

- Alishahi, M. and Buchmann, K. (2006). Temperature-dependent protection against *Ichthyophthirius multifiliis* following immunisation of rainbow trout using live theronts. *Diseases of Aquatic Organisms*, 72 (3): 269-73.
- Amend, DF. (1981). Potency testing of fish vaccines. *International symposium on fishbiologics: serodiagnostics and vaccines. Developments in Biological Standardization*; 49: 447-454.
- Austin, B. and Austin, D.A. (2007). 1. Bacterial Fish Pathogens: 2. Disease of Farmed and Wild Fish, Springer Praxis Publication, Chichester, pp. 58-63, 156, 238-239.
- Balfry, S.K.; Maule, A.G. and Iwama, G.K. (2001). Coho salmon *Oncorhynchus kisutch* strain differences in disease resistance and non-specific immunity, following immersion challenges with *Vibrio anguillarum*, *Diseases of Aquatic Organisms*, 47 (1): 39-48.
- Barnes, A.C.; Young, F.M.; Horne, M.T. and Ellis, A.E. (2003). *Streptococcus iniae*: serological differences, presence of capsule and resistance to immune serum killing. *Inter-Research Diseases of Aquatic Organisms*, 53 (3): 241-247.
- Brata, O. (1993). *Veterinary Clinical Immunology Laboratory 2*. Bar-Lab Inc., Pp: 24-25.
- Ellis AE (1990). "Lysozyme assays. In: Stolen, JS, Fletcher TC, Anderson, DP, Roberson Bs and Van Muiswinkel WB, Eds., *Techniques in Fish Immunology* Fair Haven, 101-103.
- Evensen, O.; Brudeseth, B. and Mutoloki, S. (2005). The vaccine formulation and its role in inflammatory processes in fish effects and adverse effects. *Developments in Biologicals*, 121 (3): 117-125.
- 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 (*Oncorhynchus mykiss*). *World Journal of Zoology*, 3 (2): 54-58.
- Firouzbakhsh, F.; Noori, F.; Khalesi, M.K. and Jani-Khalili, K. (2011). Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37 (4): 833-842.
- بادزهره، غلامرضا؛ سلطانی، مهدی؛ شاه‌حسینی، غلامرضا و نفیسی‌بهابادی، محمود (۱۳۹۱). تأثیر گلوکان بر رشد، بقا و کارایی واکسن ضد استرپتوکوکوزیس در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*). *مجله تحقیقات دامپزشکی*، دوره ۶۷، شماره ۱، صفحات ۱۷-۱۱.
- پورمظفر، سجاد؛ سلطانی، مهدی؛ نفیسی‌بهابادی، محمود؛ مهاجری، ژاله؛ محمدی، مهرزاد و پذیر، خلیل (۱۳۹۴). بررسی اثر ماکروگارد بر کارایی واکسن ضد استرپتوکوکوزیس (*Streptococcus iniae*) و برخی شاخص‌های خونی و رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، *مجله دامپزشکی ایران*، دوره دوازدهم، شماره ۲، صفحات ۵۳-۴۴.
- سلطانی، مهدی؛ علیشاهی، مجتبی؛ خضایی‌نیا، پروانه؛ ربانی، محمد و ستاری، امیر (۱۳۸۶). مطالعه برخی از پاسخ‌های ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به برخی آنتی‌ژن‌های استرپتوکوکوس اینیایی، *مجله تحقیقات دامپزشکی*، دوره ۶۲، شماره ۱، صفحات ۹-۱.
- فقانی، طاهره؛ آذری‌تاکامی، قباد؛ قیاسی، مریم؛ فقانی، سمیه و احمدی‌فر احسان (۱۳۸۸). ارزیابی اثر ارگوسان و واکسن ضد استرپتوکوکوزیس بر پارامترهای خونی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، *مجله شبيلات دانشگاه تهران*، سال سوم، شماره دوم، صفحات: ۷۱-۶۱، ۸۲-۸۰، ۱۵۰-۱۴۷، ۳۰۱-۲۹۱.
- Ackerman, P.A.; Iwama, G.K. and Thornton, J.C. (2000). Physiological and immunological effects of adjuvanted *Aeromonas salmonicida* vaccines on juvenile rainbow trout. *Journal of Aquatic Animal Health* 12 (2): 157-164.
- Agnew, W. and Barnes, A.C. (2007). *Streptococcus iniae*: an aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination. *Veterinary Microbiology*, 122 (1-2): 1-15.

- Jokinen, E.I.; Vielma, J.; Aaltonen, T.M. and Koskela, J. (2003). The effect of dietary phosphorus deficiency on the immune responses of European whitefish (*Coregonus lavaretus L.*). *Fish and Shellfish Immunology*, 15(2): 159-168.
- Juha, K.; Riitta, R.; Marja, P. and Heikki, K. (2004). Effect of immunization with two commercial vaccines on feed intake, growth, and lysozyme activity in European whitefish (*Coregonus lavaretus L.*). *Aquaculture*, 234 (1-4): 41-50.
- Hoshina, T.; Sano, T. and Morimoto, Y. (1958). A Streptococcus pathogenic to fish. *Journal of Tokyo University of Fisheries*, 44 (5): 57-68.
- Huang, H.Y.; Chena, Y.C.; Wanga, P.C.; Tsaia, M.A.; Yeha, S.C.; Liang, H.J. et al. (2014). Efficacy of a formalin-inactivated vaccine against Streptococcus iniae infection in the farmed grouper Epinephelus coioides by intraperitoneal immunization. *Vaccine*, 32 (51): 7014-7020.
- Kajita, Y.; Sakai, M.; Atsuta, S. and Kobayashi, M. (1990). The immunomodulatory effects of levamisole on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Pathology*, 25(2): 93-98.
- Kawai, K.; Liu, Y.; Ohnishi, K. and Oshima, S.I. (2004). A conserved 37 kDa outer membrane protein of *Edwardsiella tarda* is an effective vaccine candidate. *Vaccine*, 22 (25-26): 3411-3418.
- 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.
- Li, L.P.; Wang, R.; Liang, W.W.; Huang, T.; Huang, Y.; Luo, F.G. et al. (2015). Development of live attenuated Streptococcus agalactiae vaccine for tilapia via continuous passage in vitro. *Fish and Shellfish Immunology*, 45(1): 955-963.
- McNulty, S.T.; Klesius, P.H. and Shoemaker, C.A. (2003). Hematological Changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected with *Streptococcus iniae* by nare inoculation. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34(3): 418-422.
- Meltingen, G.O. and Wergeland, H.I. (2002). Physiological effects of an oil-adjuvanted vaccine on out of season Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) smolt. *Aquaculture*, 214 (1-4): 397-409.
- Mohammadian, T.; Alishahi, M.; Tabandeh, M.R.; Ghorbanpoor, M.; Gharibi, D.; Tollabi, M. and Rohanizade, S. (2016). Probiotic effects of *Lactobacillus plantarum* and *L. delbrueckii* ssp. *bulguricus* on some immune-related parameters in *Barbus grypus*. *Aquaculture International*, 24(1): 225-242.
- Naokajima, N.; Kawanishi, M.; Imamura, S.; Hirano, F.; Uchiyama, M.; Yamamoto, K. et al. (2014). Development of a serology-based assay for efficacy evaluation of a lactococciosis vaccine in Seriola fish. *Fish and Shellfish Immunology*, 38(1): 135-139.
- Pridgeon, J.W. and Klesius, P.H. (2011). Identification and expression profile of multiple genes in Nile tilapia in response to formalin killed *Streptococcus iniae* vaccination. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 142 (3-4): 201-206.
- Pylkko, P.; Lyytikainen, I.; Ritola, O. and Pelkonen, S. (2000). Vaccination influences growth of Arctic charr. *Diseases of Aquatic Organisms*, 43(1): 77-80.
- Roberts, R.G. (1989). *Fish pathology*. Second ed. Bailliere Tindall, London, P: 402.
- Roberson, B.S. (1990). Bacterial agglutination. In: Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Roberson BS, van Muiswinkel WB (eds) *Techniques in fish immunology*. SOS Publications, Fair Haven, NJ, P: 81-86.
- Rønsholdt, B. and McLean, E. (1999). The effect of vaccination and vaccine components upon short-term growth and feed conversion efficiency in rainbow trout. *Aquaculture*, 174 (3-4): 213-221.
- Sakai, M.; Otubo, T.; Atsuta, S. and Kobayashi, M. (1993). Enhancement of resistance to bacterial infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), by oral administration of bovine lactoferrin. *Journal of fish Diseases*. 16(3): 239-247.
- Salas-Leiton, E.; Anguis, V.; Martín-Antonio, B.; Crespo, D.V.; Planas, J.; Infante, C. et al. (2010). Effects of stocking density and feed ration on growth and gene expression in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*): Potential effects on the immune response. *Fish & Shellfish Immunology*, 28 (2): 296-302.
- Secombes, C.J. (1990). Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing activity. *Techniques in Fish Immunology*, 1: 137-154.
- Sun, Y.Z.; Yang, H.L.; Ma, R.L.; Song, K.; Li, J.S. (2011). Effect of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecium* on growth performance, digestive enzymes and immune response of grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture Nutrition*, 165 (3):1-9.

- Tang, X.; Zhan, W.; Sheng, X. and Chi, H. (2009). Immune response of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* to outer membrane protein of *Edwardsiella tarda*. *Fish and Shellfish Immunol*, 28 (2): 333-343.
- Woo, P.T.K. and Bruno, D.W. (Eds.) (1999). *Fish Diseases and Disorders*. Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections, CABI, U.K., P: 874.
- Yang, Q.; Pan, Y.L.; Wang, K.Y.; Wang, Y.; Yang H.; Wang, E.L. et al. (2016). OmpN, outer membrane proteins of *Edwardsiella ictaluri* are potential vaccine candidates for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Molecular Immunology* 78: 1-8.

## Comparative effects of Iranian streptococcus/lactococcus vaccine and Aquavac vaccine on growth performance and immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Khaj, H.<sup>1</sup>; Mesbah, M.<sup>2</sup>; Tabandeh, M.R.<sup>3</sup>; Mohammadian, T.<sup>4</sup> and Dadar, M.<sup>5</sup>

Received: 06.04.2016

Accepted: 11.01.2017

### Abstract

Streptococcosis / Lactococcosis are important diseases for the aquaculture industry specially in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The aim of this study was to compare the efficacy of streptococcosis divalent (*Lactococcus garvie* and *Streptococcus iniae*) Iranian (SID) and foreign vaccines (Aquavac vaccine) in the immune responses contain, complement activation, serum lysozyme rate, bactericidal, respiratory burst (NBT), antibody titers (MAT) and some hematological indices contains, RBC count, total and differential white counts and hematocrit and as well as the growth performance contains, initial weight, final weight, body weight gain percent, specific growth rate, feed conversion ratio, protein efficiency rate, body weight gain percent and condition factor and in final performance bacterial challenge and determine the relative survival rate (RPS) in rainbow trout. In this study, 630 rainbow trout fish weighing  $26\pm 3$ g were divided into three treatments contains, Aquavac vaccine, Iranian vaccines and control group. During the 60-day period and on days 0, 14, 30, 45 and 60 after vaccination samples were taken. The results of this study showed an increase in measured indices of blood and immune responses. From 14 to 60 test day in vaccinated trout fish compared to the control group that the amount of Aquavac vaccine group than two other groups. Also, the results of this study showed that Iranian vaccine had a better effect on growth performance of rainbow trout compared to Aquavac vaccine and control groups. Results of the bacterial challenge showed that losses related to the treatment of Iranian and foreign vaccine were lower than the control group. According to the results of this study, vaccination by Aquavac and Iranian vaccine could have a positive effect on fish health indicators.

**Key words:** Vaccine, Streptococcosis, Growth performance, Immunity, Rainbow trout

---

1- Ph.D Student of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2- Professor, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

3- Associate Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

4- Assistant Professor, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

5- Assistant Professor, Department of Brucellosis, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

**Corresponding Author:** Mohammadian, T., E-mail: Takavar\_m2002@yahoo.com