مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۲ شماره ٤، پاییز ۱٤۰۲، صفحات ۳۵۸ تا ۳۷۰

مطالعه میدانی اثربخشی واکسن استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس بر ایمنی‌زایی و زنده‌مانی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

احمد عرفان‌منش[۱]، مجید خانزاده[۱]*، بابک بیک‌زاده[۲].

۱- گروه پژوهشی فرآورده‌های بیولوژیک دامی، سازمان جهاد دانشگاهی تهران، تهران، ایران.

۲- گروه زیست‌شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

چکـــــیده

در این مطالعه ایمنی‌زایی واکسن چندظرفیتی استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مزرعه بررسی شد. ۹۰۰ ماهی با میانگین ۵±۵۰ گرم به سه تیمار و سه تکرار (تیمار تزریقی، تیمار غوطه‌وری و گروه شاهد) تقسیم شدند. ماهیان به مدت ۶۰ روز نگهداری و نمونه برداری در روزهای ۳۰ و ۶۰ انجام شد. سپس ماهیان به مدت ۱۴ روز با سه باکتری استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوس گارویه و یرسینیا راکری به صورت جداگانه به چالش کشیده شدند. نمونه‌برداری برای ارزیابی فعالیت لیزوزیم، کمپلمان، عیار آنتی‌بادی و نرخ بقا صورت پذیرفت. نتایج حاکی از افزایش معنادار فعالیت لیزوزیم و کمپلمان سرم در روزهای ۳۰ و ۶۰ نمونه‌برداری در گروه‌های واکسینه نسبت به گروه شاهد افزایش بود ($P<0.05$). عیار آنتی‌بادی علیه استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوس گارویه و یرسینیا راکری در روزهای ۳۰ و ۶۰ نمونه‌برداری در گروه‌های واکسینه افزایش معناداری را نسبت به گروه شاهد داشت ($P <0.05$). درصد بقای نسبی پس از ۱۴ روز چالش با استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوس گارویه و یرسینیا راکری در گروه تزریقی به ترتیب (۷۰، ۶۰ و ۷۶/۶٪) بود که نسبت به گروه شاهد معنادار بود ($P<0.05$). همچنین درصد بقای نسبی در گروه غوطه‌وری با استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوس گارویه و یرسینیا راکری به ترتیب (۳۰، ۳۶/۶ و ۵۳/۳٪) بود که فقط در گروه غوطه‌وری با استرپتوکوکوس اینیایی معنادار بود ($P<0.05$). به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از واکسن چندظرفیتی به روش تزریقی و غوطه‌وری اثرات قابل توجهی بر ایمنی و میزان بقای قزل‌الای رنگین کمان دارد. با این حال، روش تزریق موثرتر و مناسب‌تر از روش غوطه‌وری است.

کـــلید واژه‌ها: واکسن، استرپتوکوکوزیس، لاکتوکوکوزیس یرسینیوزیس، ایمنی، قزل‌آلای رنگین‌کمان

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۰۲

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۲/۰۹/۱۵

***نویسنده مسئول:**
khanzade@acecr.ac.ir

مقدمه

با افزایش روز افزون جمعیت جهان، در دسترس بودن غذا مهم ترین عاملی است که بر زندگی انسان تأثیر می‌گذارد و تولید آبزیان مهمترین پاسخ به این مشکل است [۱]. امروزه آبزی‌پروری یک صنعت موثر در تولید غذا محسوب می شود و از چند دهه گذشته نیز به سرعت به یک صنعت پویا و رو به رشد تبدیل شده است [۲]. آبزی پروری تجارتی است که تحت تأثیر بیماری های عفونی قرار دارد، که عمدتاً توسط باکتری‌ها، ویروس ها، انگل‌ها و تا حدی قارچ ها ایجاد می شود. بیماری های باکتریایی می توانند زیان های بیولوژیکی و اقتصادی قابل توجهی را وارد کنند [۳]. بیماری‌های باکتریایی معمولاً با آنتی بیوتیک ها قابل کنترل هستند. استفاده بی رویه از این داروها در نهایت به دلیل ایجاد و انتقال مکانیسم های مقاومت در میان گونه های باکتریایی، که برخی از آنها پاتوژن های انسانی نیز هستند، تهدیدی برای سلامت انسان است. بنابراین مصرف آنها در بسیاری از کشورها به شدت تنظیم و کنترل شده است [۴]. راهکارهای پیشگیری مختلفی در حال حاضر برای کنترل مصرف آنتی بیوتیک‌ها مانند اقدامات مهار زیستی (به عنوان مثال، قرنطینه و غربالگری ماهی‌های تازه معرفی شده)، سیستم‌های تصفیه آب (به عنوان مثال، امواج فرابنفش (UV) و ازن) پروبیوتیک ها، پری بیوتیک ها برای تحریک سیستم ایمنی و ارتقاء رشد [۵] استفاده می‌شود، اما بهترین راهکار برای جلوگیری از شیوع بیماری‌های باکتریایی استفاده از واکسن است [۶]. برای غلبه بر عوارض ناشی از تلفات بیماری‌ها پس از محدودیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-08-04]

در سطح مزارع آبزی‌پروری، واکسیناسیون یکی از جایگزین‌های قابل قبول و مناسب است [۷]. واکسن‌ها، سیستم ایمنی ماهی را تحریک می‌کنند و تولید آنتی‌بادی‌هایی می‌کنند که ماهیان را در برابر عوامل بیماری‌زا محافظت می‌کنند، اما بلعکس هدف اصلی آنتی‌بیوتیک‌ها کشتن یا توقف بیماری‌ها است[۸] .

اگرچه، امروزه واکسن های تک ظرفیتی برای پیشگیری از بیماری‌ها در مزارع آبزی‌پروری به خوبی شناخته شده اند، اما به دلیل بروز عفونت‌های همزمان در مزارع به بیش از یک واکسن مورد نیاز است. بنابراین، استفاده از واکسن های چند ظرفیتی نه تنها باعث کاهش هزینه‌های واکسیناسیون می شود بلکه استرس فرآیند واکسیناسیون را کاهش می دهد [۹]. واکسن‌های چند ظرفیتی بهترین نوع واکسن‌ها هستند، زیرا می‌توانند همزمان در برابر چندین عوامل بیماری‌زا که ماهیان به آن حساس هستند محافظت ایجاد کنند [۹].

استرپتوکوکوس اینیایی/ لاکتوکوکوس گارویه به همراه *یرسینیا راکری* باکتری های رایجی هستند که سبب بیماری‌های سیستماتیک، مرگ و میر بالا و زیان‌های اقتصادی شدید در سطح مزارع ماهی قزل آلای رنگین کمان می شوند [۷]. یکی از بیماری‌هایی که در دهه اخیر باعث مرگ و میر بسیاری در مزارع پرورش ماهیان سردآبی شده است استرپتوکوکوزیس است. استرپتوکوکوس اینیایی یک کوکسی گرم مثبت از خانواده باکتری‌های استرپتوکوکاسه است. این بیماری با ظاهر بالینی نظیر، تورم طحال، کوری، پرخونی و گاها تخریب کامل چشم نمایان می‌شود [۱۰]. *یرسینیا راکری* عامل ایجاد کننده بیماری دهان قرمز، یک بیماری سیستماتیک در ماهی سردآبی است که باعث خسارات اقتصادی قابل توجهی در صنعت آبزی پروری، به ویژه در آزاد ماهیان در سراسر جهان می شود. ماهیان مبتلا علائمی نظیر کندی حرکت، تیرگی رنگ همراه با قرمز شدن رنگ اطراف دهان، سرپوش آبششی و قاعده باله‌ها به همراه اگزوفتالمی از خود نشان می‌دهند [۱۰]. لاکتوکوکوس گارویه عامل ایجاد کننده لاکتوکوکوزیس، یک کوکو باسیل گرم مثبت غیر متحرک است که به عنوان یک پاتوژن در بسیاری از گونه‌های ماهی، به ویژه قزل آلای رنگین کمان گزارش شده است [۷].

مدل ارزیابی اثربخشی واکسن‌ها در ماهی، بیشتر بر اساس روش های ایمن سازی ماهی در محیط آزمایشگاهی است. این مدل ها از نظر علمی ثابت کرده‌اند که ارتباطی بین ایمنی ایجاد شده توسط آنتی‌ژن واکسن انتخابی و اثربخشی آن وجود دارد. اطلاعات دقیق حاصل از بررسی سازوکارهای مرتبط با سیستم ایمنی در سطوح مولکولی (بیان ژن)، میتواند به فهم بهتر و دقیق‌تر ارتباط میان ایمنی‌زایی و حفاظت میزبان در مقابل عامل مهاجم و فعالیت سایتوکین‌ها کمک کرده و به طور گسترده در ارتقاء روش‌های پیشگیری و درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرد [۲۴] به طور خاص سایتوکین‌های مولد التهاب از جمله IL1β، IL8 و TNFα به صورت عمومی در مطالعه ژن‌های تنظیم کننده ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان استفاده می‌شوند. این سایتوکین‌ها به منظور کمک به مکانیسم‌های دفاعی میزبان در پاسخ به کلونیزه کردن و یا حمله به باکتری‌ها استفاده می‌شوند [۲۵]. واکسیناسیون باعث افزایش تولید ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها و همچنین افزایش تولید سایتوکین و لیزوزیم می‌شود. در طی بررسی‌های انجام شده توسط علیشاهی و همکاران، استفاده از واکسن ضد استرپتوکوکوس باعث افزایش گلبول‌های سفید خون و جمعیت لنفوسیت‌ها شده است [۲۶].

مطالعات مختلفی به بررسی اثر واکسن های دوگانه و چند گانه در شرایط آزمایشگاهی پرداخته اند. برای مثال عرفان منش و همکاران (۲۰۲۳)، اثر واکسن چند ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس را در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بررسی کردند و گزارش کردند که این واکسن اثر مثبت و بهبود بخشی بر شاخص‌های ایمنی و بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان دارد [۷]. در مطالعه‌ای دیگر حسینی و همکاران (۱۴۰۰) عیار آنتی بادی و بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را با استفاده از واکسن‌های استرپتوکوکوزیس و یرسینیوزیس بررسی کردند و گزارش کردند که این واکسن‌ها اثر معناداری بر ایمنی و بازماندگی ماهی قزل آلای رنگین کمان دارد [۱۱].

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-08-04]

از آنجایی که اثر واکسن در شرایط فارمی (مزارع پرورشی) بررسی نشده اند، بنابراین در مطالعه جاری ایمنی زایی واکسن چندگانه استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس بر شاخص‌های ایمنی و بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش

در تابستان سال ۱۴۰۱ تعداد ۹۰۰ قطعه ماهی به وزن ۵±۵۰ گرم از یک مزرعه فاقد بیماری‌های ویروسی، باکتریایی، قارچی و انگلی مورد تأیید سازمان شیلات خریداری شد و تحت شرایط مناسب به شهرستان فیروزکوه استان تهران انتقال یافت. پس از سازگاری اولیه با شرایط محیط به مدت ۱۴ روز به صورت تصادفی در سه تیمار و سه تکرار در تراف‌هایی به ابعاد ۱× ۰/۵× ۳ با تراکم ۱۰۰ ماهی در هر تراف تقسیم شدند. ماهیان مورد آزمایش طی ۲ ماه با جیره تجاری ۲۱ بیضا حاوی ۴۵ درصد پروتئین خام، ۱۴/۵ درصد چربی خام، کمتر از ۱۰ درصد رطوبت و ۴۳۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی قابل هضم تغذیه شدند. تامین آب از طریق چشمه با میانگین دمای ۱۳ درجه سانتی‌گراد، pH آب: ۷/۸-۷/۵، سختی آب: ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر و اکسیژن محلول در آب ۹ میلی‌گرم در لیتر صورت گرفت.

تیمارهای آزمایشی

۱-گروه شاهد

۲- گروه واکسن خورده تزریقی

۳- گروه واکسن خورده غوطه وری

تهیه واکسن

در این تحقیق از واکسن کشته (با فرمالین) سه‌گانه (استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس) و واکسن (یرسینیوزیس) تولیدی سازمان جهاد دانشگاهی تهران دارای مجوز سازمان دامپزشکی استفاده شد. واکسن سه‌گانه حاوی دو سویه بیماری‌زای بومی عامل استرپتوکوکوزیس بوده که شامل باکتری غیرفعال با دوز ۴×۱۰^{۸} سلول در میلی‌لیتر است. واکسن یرسنیوزیس حاوی سویه بیماری‌زای بومی عامل یرسینیوزیس بوده که شامل باکتری غیرفعال با دوز ۱×۱۰^{۹} سلول در میلی‌لیتر است.

واکسیناسیون

بدین منظور گروه واکسینه طبق پروتکل واکسن ها به روش غوطه‌وری (یک لیتر واکسن در نه لیتر آب مخلوط شد) واکسن دوگانه استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس به همراه واکسن یرسینیوزیس به مدت ۹۰ ثانیه در وزن ۵۰ گرم در روز صفر انجام شد. گروه واکسینه به روش تزریقی ۰/۱ میلی لیتر از واکسن چند ظرفیتی به صورت داخل صفاقی به ماهیان تزریق گردید. دو روز قبل از واکسیناسیون غذادهی قطع گردید.

نمونه‌گیری

در انتهای روزهای ۳۰ام و ۶۰ام نمونه برداری از هر تیمار ۲۷ (۹ ماهی از هر تکرار و در مجموع ۲۷ ماهی از هر تیمار) عدد ماهی به صورت تصادفی نمونه برداری گردید. به این منظور ماهی‌ها روز قبل از نمونه‌گیری قطع غذا شده و با ۰/۲ گرم در لیتر پودر گل میخک بیهوش گردیدند،

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-08-04]

سپس با سرنگ ۲/۵ میلی‌لیتری از ورید ساقه دمی ماهی‌ها خون‌گیری گردید (۹ ماهی از هر تکرار). برای سنجش شاخص‌های ایمنی‌شناسی نمونه خون‌ها به مدت یک روز در دمای یخچال نگهداری گردیدند و سپس روز بعد به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سرم‌ها جداسازی و تا زمان استفاده در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند.

آزمایش‌های ایمنی‌شناسی

سنجش لیزوزیم

برای سنجش لیزوزیم ابتدا ۹ میلی‌گرم از دیواره باکتری میکروکوکوس لوتئوس در ۳۰ میلی‌لیتر بافر فسفات حل شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از سرم به دورن چاهک‌های میکروپلیت ریخته شد و پس از آن ۹۰ میکرولیتر از سوسپانسیون دیواره به چاهک‌ها اضافه شدند. خوانش در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه الایزا انجام شد. ترتیب خوانش: دقایق صفر ۱۰ دقیقه بود. فعالیت هر واحد آنزیم با کاهش هر ۰/۰۰۱ واحد در دقیقه محاسبه شد [۱۲].

سنجش فعالیت کمپلمان

برای اندازه گیری فعالیت مکمل، از روش یانو (۱۹۹۲) با اندکی تغییراتی استفاده شد. به طور خلاصه، ۲۰ میکرولیتر سرم نمونه و ۲۳۰ میکرولیتر بافر کمپلمان (pH: ۲/۵ ، حاوی ۰/۵ میلی مول کلرید منیزیم و ۱/۵ میلی مول کلرید کلسیم) و ۵۰ میکرولیتر گلبول قرمز خرگوش شسته شده به هر چاهک صفحه ELISA اضافه شد. نمونه ها به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی گراد انکوبه شدند و سپس جذب نوری مایع رویی با اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۳۰ نانومتر اندازه گیری شد [۱۳].

سنجش عیار آنتی بادی علیه استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس

عیار آنتی بادی سرم علیه استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس با روش توصیه شده توسط Skov و همکاران با تغییرات جزئی توسط الایزا اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، به هر چاهک از صفحات الایزا ۵۰ میکرولیتر آنتی ژن محلول استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوس گارویه و یرسینیا راکری (۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) در بافر بی کربنات (pH: ۹/۶) اضافه شد و یک شب در دمای ۴ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. نمونه های هر چاهک سه بار با ۱٪ PBS حاوی PBS توئین شستشو شدند. سپس با شیر بدون چربی ۲.۵ درصد در PBS توئین به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد مسدود شدند. پس از ۳ بار شستشو با بافر، نمونه های سرم ۱:۴۰۰ در PBS توئین رقیق شده و ۱٪ شیر بدون چربی و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون به چاهک ها اضافه شد. پلیت به مدت ۹۰ دقیقه بر روی شیکر در دمای اتاق قرار داده شد و پس از ۴ بار شستشو، آنتی بادی پلی کلونال ضد قزل‌آلای رنگین کمان خرگوش ۱:۲۰ رقیق شد. ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون به چاهک ها اضافه شد و به مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه شد. پس از شستشو، ۵۰ میکرولیتر آنتی‌بادی ثانویه ضد خرگوشی تولید شده در بز (Goat anti mouse) به صورت کنژوگه HRP با رقت ۱:۳۰۰۰ به چاهک ها اضافه شد. در نهایت ۵۰ میکرولیتر محلول سوبسترای کروموژنیک به چاهک ها و پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق و ۵۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده (اسید سولفوریک ۲ درصد) به چاهک ها اضافه شد. در نهایت عدد جذب نمونه ها توسط الایزا در طول موج ۴۹۰ نانومتر تعیین شد [۱۴].

بررسی میزان حدت باکتری‌ها (LD_{50})

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-08-04]

به منظور محاسبه دوز کشنده هر باکتری در ماهی قزل آلا، ابتدا *استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوس گارویه و یرسینیا راکری* به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در محیط TSB کشت داده شدند و پس از سانتریفوژ و جداسازی، باکتری، غلظت باکتری در سرم فیزیولوژی به $۱۰^{۹}$ باکتری در میلی لیتر تنظیم شد و با سریال رقت از این سوسپانسیون رقت های ($۱۰^{۵}$ الی $۱۰^{۹}$) تهیه گردید. با استفاده از این رقت ها تزریق داخل صفاقی انجام و تلفات به مدت ۳ روز ثبت گردید. پس مرگ ماهی ها کشت به منظور اطمینان از اینکه علت تلفات باکتری بوده از اندام های داخلی صورت گرفت. نهایتاً با استفاده از نرم افزار Probit میزان LD_{50} اندازه‌گیری شد. میزان LD_{50} باکتری استرپتوکوکوس اینیایی $۲/۶\times۱۰^{۶}$، لاکتوکوکوس گارویه $۵/۱\times۱۰^{۷}$ و یرسینیا راکری $۶/۹\times۱۰^{۷}$ محاسبه شدند [۲۸].

چالش باکتریایی

بعد از ۶۰ روز ۳۰ ماهی از تیمار به منظور چالش باکتریایی به سالن تکثیر و پرورش دانشگاه تهران واقع در امین آباد شهر ری انتقال یافتند. ماهی ها به صورت جداگانه با باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوس گارویه و یرسینیا راکری با دوز LD50 تعیین شده به صورت درون صفاقی چالش شدند. تلفات به مدت ۱۴ روز ثبت و با فرمول زیر محاسبه گردید [۷].

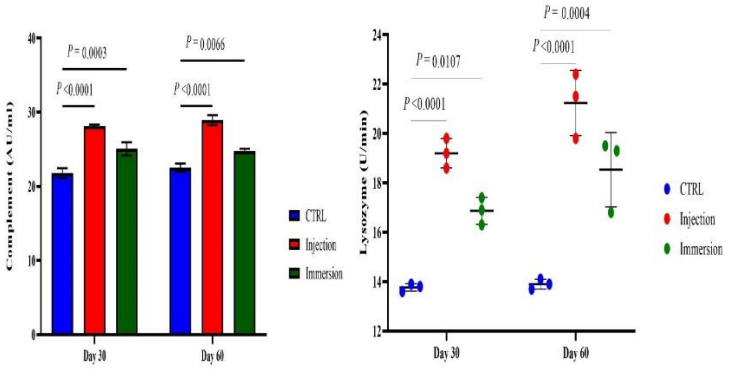
(درصد تلفات گروه کنترل / درصد تلفات گروه واکسینه −۱)×۱۰۰

تجزیه و تحلیل آماری

برای آنالیز داده‌های به دست آمده از نرم افزار GraphPad PRISM نسخه هشت استفاده گردید. ابتدا از آزمون statistic test Leven برای نرمالیتی و همگن بودن انحراف معیار اطلاعات استفاده شد. همچنین برای مقایسه گروه‌های واکسینه و شاهد در طی زمان از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه ANOVA و Tukey استفاده و سطح $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. داده‌ها بصورت میانگین ± SE نشان داده شده‌اند.

نتایج

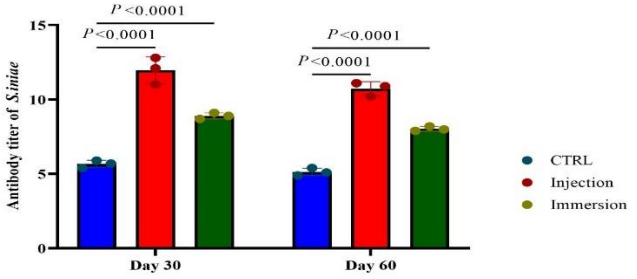
نتایج حاصل از این مطالعه بر شاخص‌های ایمنی از قبیل لیزوزیم وکمپلمان سرم نشان داد که در روزهای ۳۰ و ۶۰ نمونه برداری در گروه های ایمن شده با واکسن چند ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس افزایش معناداری در میزان لیزوزیم و کمپلمان سرم نسبت به گروه شاهد وجود دارد (شکل ۱ و ۲)، ($P < 0.05$). اثر اصلی زمان در میزان لیزوزیم سرم و فعالیت کمپلمان معنادار نبود ($P > 0.05$). همچنین اثر متقابل تیمار در زمان در میزان لیزوزیم سرم ($P = 0.1874$) و فعالیت کمپلمان ($P = 0.2443$) معنادار نبود.



[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-08-04]

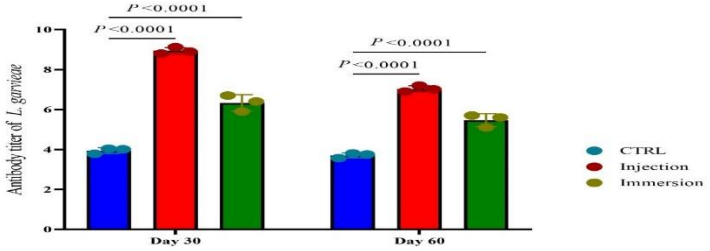
شکل ۱و ۲. مقایسه فعالیت لیزوزیم و کمپلمان سرم در گروه های ایمن شده با واکسن چند ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس نسبت به گروه کنترل در روزهای ۳۰ ام و ۶۰ام نمونه برداری، CTRL: گروه شاهد، Injection: گروه واکسن تزریقی، Immersion: گروه واکسن غوطه‌وری

نتایج مربوط به عیار آنتی بادی علیه استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوزیس گارویه و یرسینیا راکری به ترتیب در شکل‌های ۳، ۴ و ۵ نشان داده شده‌اند. عیار آنتی بادی ضد *استرپتوکوکوس اینیایی* در روز ۳۰ام و ۶۰ام نمونه برداری، در گروه‌های ایمن شده با واکسن چند ظرفیتی نسبت به گروه شاهد افزایش معناداری داشتند (شکل ۳)، ($P < 0.05$). بیشترین عیار آنتی بادی ضد استرپتوکوکوس اینیایی در گروه واکسن تزریقی (۱۱/۹۷) در روز ۳۰ام مشاهده شد. اثر اصلی زمان فقط در گروه واکسن تزریقی در روز ۳۰ام نسبت به روز ۶۰ام معنادار بود ($P = 0.0490$). اما اثر متقابل تیمار در زمان در عیار آنتی بادی علیه *استرپتوکوکوس اینیایی* معنادار نبود ($P = 0.4235$).



شکل ۳. مقایسه عیار آنتی بادی علیه استرپتوکوکوس اینیایی در گروه های ایمن شده با واکسن چند ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس نسبت به گروه کنترل در روزهای ۳۰ ام و ۶۰ام نمونه برداری ، CTRL: گروه شاهد، Injection: گروه واکسن تزریقی، Immersion: گروه واکسن غوطه‌وری

عیار آنتی بادی علیه لاکتوکوکوس گارویه در روز ۳۰ام و ۶۰ام نمونه برداری، در گروه‌های ایمن شده با واکسن چند ظرفیتی نسبت به گروه شاهد افزایش معناداری داشتند (شکل ۴)، ($P < 0.05$). بیشترین عیار آنتی بادی علیه لاکتوکوکوس گارویه در گروه واکسن تزریقی (۸/۹۴) در روز ۳۰ام مشاهده شد. اثر اصلی زمان در گروه‌های واکسن تزریقی و غوطه وری در روز ۳۰ام نسبت به روز ۶۰ام معنادار بود ($P = 0.05$). همچنین اثر متقابل تیمار در زمان در عیار آنتی بادی علیه لاکتوکوکوس گارویه معنادار بود ($P = 0.0002$).

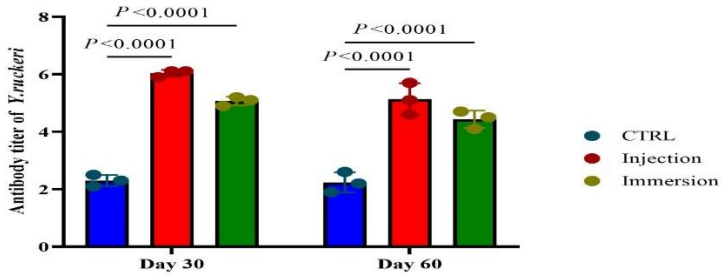


شکل ۴. مقایسه عیار آنتی بادی علیه لاکتوکوکوس گارویه در گروه های ایمن شده با واکسن چند ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس نسبت به گروه کنترل در روزهای ۳۰ ام و ۶۰ام نمونه برداری ، CTRL: گروه شاهد، Injection: گروه واکسن تزریقی، Immersion: گروه واکسن غوطه‌وری

همچنین عیار آنتی بادی علیه یرسینیا راکری در روز ۳۰ام و ۶۰ام نمونه برداری، در گروه‌های ایمن شده با واکسن چند ظرفیتی نسبت به گروه شاهد افزایش معناداری داشتند (شکل ۵)، ($P < 0.05$). بیشترین عیار آنتی بادی علیه یرسینیا راکری در گروه واکسن تزریقی (۶/۰۳) در روز

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-08-04]

۳۰ام مشاهده شد. اثر اصلی زمان فقط در گروه واکسن تزریقی در روز ۳۰ام نسبت به روز ۶۰ام معنادار بود ($P = 0.0398$). اما اثر متقابل تیمار در زمان در عیار آنتی بادی علیه یرسینیا راکری معنادار نبود ($P = 0.1053$).

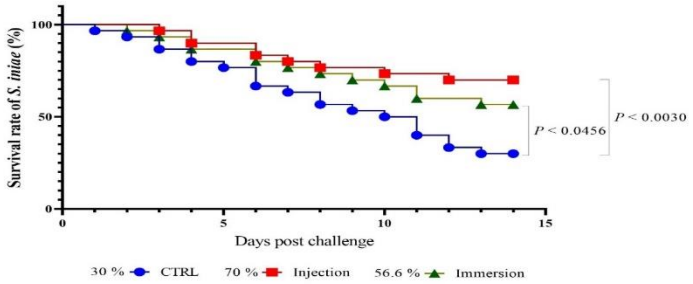


شکل ۵. مقایسه عیار آنتی بادی علیه لاکتوکوکوس گارویه در گروه های ایمن شده با واکسن چند ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس نسبت به گروه کنترل در روزهای ۳۰ ام و ۶۰ام نمونه برداری ، CTRL: گروه شاهد، Injection: گروه واکسن تزریقی، Immersion: گروه واکسن غوطه‌وری

نتایج حاصل از درصد بقای نسبی در مواجه با استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوزیس گارویه و یرسینیا راکری به ترتیب در شکل‌های ۶، ۷ و ۸ نشان داده شده‌اند. نرخ بقا پس از مواجه با *استرپتوکوکوس اینیایی* در گروه‌های واکسن تزریقی ($P < 0.0030$) و غوطه‌وری ($P = 0.0456$) افزایش معناداری را نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند (شکل ۶). گروه واکسن تزریقی با ۷۰٪ بازماندگی و گروه شاهد با ۳۰٪ بازماندگی کمترین درصد بقای نسبی را از خود نشان دادند (شکل ۶).

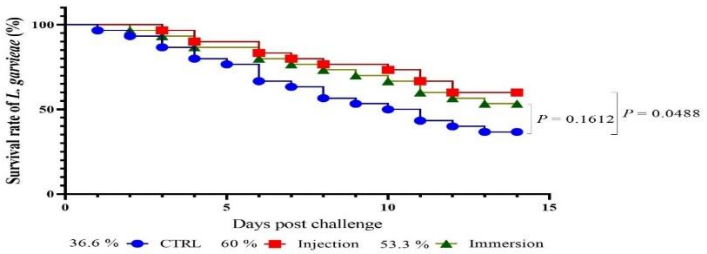
درصد بقای نسبی پس از مواجه با لاکتوکوکوس گارویه در گروه‌های واکسن تزریقی ($P = 0.0488$) افزایش معناداری را نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند اما گروه واکسن غوطه‌وری($P = 0.1612$) اختلاف معناداری را نسبت به گروه شاهد از خود نشان نداد (شکل ۷). گروه واکسن تزریقی با ۶۰٪ بازماندگی و گروه شاهد با ۳۶/۶٪ بازماندگی کمترین درصد بقای نسبی را از خود نشان دادند (شکل ۷).

درصد بقای نسبی پس از مواجه با یرسینیا راکری در گروه‌های واکسن تزریقی ($P = 0.0463$) افزایش معناداری را نسبت به گروه شاهد از خود نشان دادند اما گروه واکسن غوطه‌وری($P = 0.2838$) اختلاف معناداری را نسبت به گروه شاهد از خود نشان نداد (شکل ۸). گروه واکسن تزریقی با ۶۰٪ بازماندگی و گروه شاهد با ۳۶/۶ ٪ بازماندگی کمترین درصد بقای نسبی را از خود نشان دادند (شکل ۸).

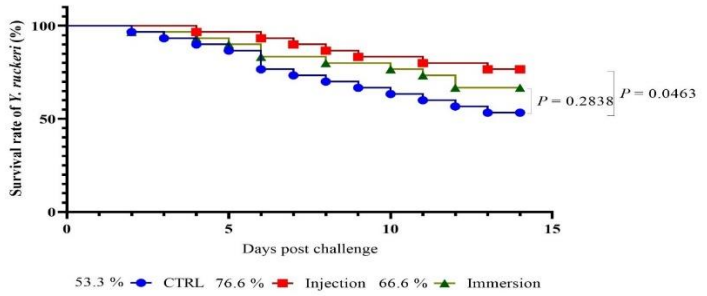


شکل ۶. نرخ بقای نسبی تجمعی پس از مواجه با استرپتوکوکوس اینیایی در گروه های ایمن شده با واکسن چند ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس نسبت به گروه کنترل، CTRL: گروه شاهد، Injection: گروه واکسن تزریقی، Immersion: گروه واکسن غوطه‌وری

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-08-04]



شکل ۷. نرخ بقای نسبی تجمعی پس از مواجه با لاکتوکوکوس گارویه در گروه های ایمن شده با واکسن چند ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس نسبت به گروه کنترل، CTRL: گروه شاهد، Injection: گروه واکسن تزریقی، Immersion: گروه واکسن غوطه‌وری



شکل ۸. نرخ بقای نسبی تجمعی پس از مواجه با یرسینیا راکری در گروه های ایمن شده با واکسن چند ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/ لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس نسبت به گروه کنترل، CTRL: گروه شاهد، Injection: گروه واکسن تزریقی، Immersion: گروه واکسن غوطه‌وری

بحث

واکسن های چند ظرفیتی به دلیل انواع مختلف باکتری ها در آبزی‌پروری دارای اهمیت ویژه ای هستند و برای مقابله با چندین بیماری به جای یک بیماری توسعه یافته اند [۱۵]. در سال‌های اخیر، بیشتر واکسن‌های تجاری توسعه‌یافته برای ماهیان شامل واکسن‌های دو ظرفیتی و چند ظرفیتی هستند. واکسن های چند ظرفیتی واکسن های ایده آلی هستند که می توانند به طور همزمان از ماهی ها در برابر اکثر بیماری‌های عفونی محافظت کنند [۱۶].

اولین یا اساسی ترین سیستم دفاعی در ماهی، پاسخ ایمنی غیر اختصاصی است که نقش مهمی در سیستم ایمنی ثانویه یا اختصاصی و تنظیم هموستاز بدن ایفا می‌کند [۱۷]. به دلیل ارتباط نزدیک با لکوسیت ها، لیزوزیم یک نشانگر پذیرفته شده و ارجح پاسخ ایمنی است که توسط ماکروفاژها و بسیاری دیگر از محرک های ایمنی در پاسخ به اجزای بیماری زا تولید می شود [۱۸]. بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش، میزان فعالیت لیزوزیم سرم در گروه‌های ایمن شده با واکسن چند ظرفیتی افزایش معناداری را نسبت به گروه شاهد در روزهای ۳۰ام و ۶۰ام نمونه برداری داشتند. همسو با نتایج ما عرفان‌منش و همکاران اثر واکسن چند ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس را بر فعالیت لیزوزیم سرم قزل‌آلای رنگین کمان در مطالعه ای آزمایشگاهی بررسی کردند و گزارش کردند که واکسن چند ظرفیتی اثر معناداری بر گروه‌های ایمن شده با واکسن دارد [۷]. در گزارشی دیگر اثر واکسن چند ظرفیتی ویبریوزیس، استرپتوکوکوزیس و آئروموناس بر ماهی سی‌باس آسیایی بررسی شد و گزارش شد که این واکسن اثر معناداری بر فعالیت لیزوزیم سرم دارد [۹]. با توجه به قدرت ضد باکتریایی لیزوزیم و افزایش قابل توجه لیزوزیم سرم ماهیان واکسینه شده نسبت به گروه شاهد، امکان ایجاد حفاظت غیر اختصاصی پس از واکسیناسیون وجود دارد. علاوه بر این،

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-08-04]

افزایش مقدار لیزوزیم در گروه واکسینه شده نسبت به گروه کنترل احتمالاً نشان دهنده عملکرد چشمگیر سیستم ایمنی غیر اختصاصی ماهی در برابر این بیماری ها است.

سیستم کمپلمان می‌تواند باعث فعال‌سازی، فاگوسیتوز، کموتاکسی، پاسخ التهابی، اپسونیزاسیون و ایمونوسیت‌ها برای پاتوژن‌ها شود و نقش عمده‌ای را در ایمنی ذاتی ماهی ایفا می‌کند [۱۹]. بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش فعالیت کمپلمان گروه‌های واکسینه در روز ۳۰ام و ۶۰ام نمونه برداری نسبت به گروه شاهد افزایش معناداری داشتند. همسو با نتایج ما واکسن استرپتوکوکوزیس و یرسینیوزیس در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان [۷]، واکسن آئروموناس سالمونیسیدا و *Vibrio scophthalmi* در ماهی توربوت [۲۰] اثر مثبت و معناداری بر میزان فعالیت سیستم کمپلمان داشتند. افزایش فعالیت کمپلمان پس از ایمن‌سازی با واکسن‌های چند ظرفیتی، اثربخشی واکسن‌های غیرفعال را بر علیه بیماری‌های یاد شده ثابت می‌کند.

در این مطالعه پاسخ ایمنی اختصاصی قزل‌آلای رنگین کمان بعد از ایمنی‌زایی با واکسن‌های استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس با محاسبه عیار آنتی‌بادی هر یک از باکتری‌ها ارزیابی گردید. با توجه به نتایج بدست آمده عیار آنتی‌بادی علیه در هر سه باکتری در گروه‌های واکسینه در روزهای ۳۰ و ۶۰ نسبت به گروه شاهد افزایش معناداری داشت. همسو با نتایج ما واکسن ویبریو آلجینولیتیکوس و ویبریو پاراهمولایتیکوس در ماهی شانک سر طلایی (*Sparus aurata*)، واکسن استرپتوکوکوزیس و یرسینیوزیس در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان [۱۱]، واکسن استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان [۷]، واکسن استرپتوکوکوس آگالاکتیه و استرپتوکوکوس اینیایی در ماهی سی‌باس آسیایی [۲۱] و واکسن ویبریو هاروی و ویبریو آنگویلاروم در ماهی توربوت [۲۲] افزایش معناداری را بر عیار آنتی‌بادی واکسن‌های یاد شده داشتند. افزایش سطح ایمنی را می‌توان به آنتی‌ژن‌های واکسن چندظرفیتی نسبت داد که احتمالا توانستند به بخش انتهایی روده ماهی منتقل شوند و پاسخ ایمنی موضعی و سیستمیک را القا کنند [۲۳].

در این پژوهش کارایی واکسن با استفاده از چالش باکتریایی (استرپتوکوکوس اینیایی، لاکتوکوکوس گارویه و یرسینیا راکری) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که درصد بقا نسبی پس از چالش با باکتری‌های استرپتوکوکوس اینیایی (تزریقی و غوطه‌وری)، لاکتوکوکوس گارویه (در گروه تزریقی) و یرسینیا راکری (در گروه تزریقی) نسبت به گروه شاهد افزایش معناداری دارند. همسو با نتایج ما Zhang و همکاران (۲۰۲۱) محافظت بالای واکسن دوگانه علیه ویبریوزیس را گزارش کردند [۲۲]. همچنین حسینی و همکاران (۱۴۰۰)، بازماندگی ۹۰ درصدی را با استفاده از واکسن دوگانه استرپتوکوکوزیس و لاکتوکوکوزیس گزارش کردند [۱۱]. در مطالعه‌ای دیگر عرفان‌منش و همکاران (۲۰۲۳) بازماندگی ۸۰ درصدی با واکسن استرپتوکوکوزیس، ۹۰ درصدی با واکسن لاکتوکوکوزیس و ۸۰ درصدی با واکسن یرسینیوزیس را نسبت به گروه شاهد گزارش کردند [۷]. در مطالعه‌ای دیگر حسینی و همکاران (۱۴۰۲) بازماندگی ۹۰ درصدی با واکسن دوگانه استرپتوکوکوزیس و یرسینیوزیس را نسبت به گروه شاهد گزارش کردند [۲۷].

نتیجه‌گیری

ایمن سازی با استفاده از واکسن‌های غیرفعال، یک استراتژی خوب در برابر بسیاری از بیماری ها در آبزی پروری است، زیرا یک ایمنی قوی را فراهم می کند و ماهی را از عفونت‌ها محافظت می‌کند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان دهنده‌ی این است که واکسن چند ظرفیتی استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس و یرسینیوزیس در ماهی قزل‌آلا در سطح مزرعه توانسته است محافظت بالایی را در برابر باکتری‌های یاد شده از خود نشان دهد. همچنین این واکسن نشان داد که می‌تواند با واکسن‌های تک ظرفیتی با توجه به ایمنی بالا و مقرون به صرفه بودن رقابت

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-08-04]

گند. ما پیشنهاد می‌کنیم که ژن‌های دخیل در تقویت ایمنی در قزل‌آلای رنگین کمان با استفاده از واکسیناسیون چند ظرفیتی مورد مطالعه قرار گیرند.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مقاله، مراتب تشکر و قدردانی را از کسانی که در این تحقیق ما را یاری نمودند، به خصوص جهاد کشاورزی استان تهران ابراز می‌نماید.

تاییدیه‌های اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: بین نویسندگان تعارض منافعی وجود ندارد.

منابع مالی/ حمایت‌ها: این تحقیق با حمایت مالی جهاد کشاورزی استان تهران انجام پذیرفت.

منابع

1. Khanzadeh M, Beikzadeh B, Hoseinifar SH. The Effects of *Laurencia caspica* Algae Extract on Hemato-Immunological Parameters, Antioxidant Defense, and Resistance against *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture Nutrition. 2023;2023.
2. Adel M, Gholaghaie M, Binaii M, Khanjany P, Awad E. Effect of dietary Achillea wilhelmsii extract on growth performance, and immune status of common carp (*Cyprinus carpio*). Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2016;7(6):1037–46.
3. Kibenge MJT, Iwamoto T, Wang Y, Morton A, Routledge R, Kibenge FSB. Discovery of variant infectious salmon anaemia virus (ISAV) of European genotype in British Columbia, Canada. Virology Journal. 2016;13:1–17.
4. Lulijwa R, Rupia EJ, Alfaro AC. Antibiotic use in aquaculture, policies and regulation, health and environmental risks: a review of the top 15 major producers. Reviews in Aquaculture. 2020;12(2):640–63.
5. Miccoli A, Manni M, Picchietti S, Scapigliati G. State-of-the-art vaccine research for aquaculture use: The case of three economically relevant fish species. Vaccines. 2021;9(2):140.
6. Costanzo V, Roviello GN. The Potential Role of Vaccines in Preventing Antimicrobial Resistance (AMR): An Update and Future Perspectives. Vaccines. 2023;11(2):333.
7. Erfanmanesh A, Beikzadeh B, Khanzadeh M. Efficacy of polyvalent vaccine on immune response and disease resistance against streptococcosis/lactococcosis and yersiniosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Veterinary Research Communications. 2023;1–9.
8. Pereira WA, Mendonça CMN, Urquiza AV, Marteinsson VÞ, LeBlanc JG, Cotter PD, et al. Use of Probiotic Bacteria and Bacteriocins as an Alternative to Antibiotics in Aquaculture. Microorganisms. 2022;10(9):1705.
9. Mohamad A, Zamri-Saad M, Amal MNA, Al-Saari N, Monir MS, Chin YK, et al. Vaccine efficacy of a newly developed feed-based whole-cell polyvalent vaccine against vibriosis, streptococcosis and motile aeromonad septicemia in Asian Seabass, *Lates calcarifer*. Vaccines. 2021;9(4):368.
10. Varalakshmi B, Shanmugapriya A, Karpagam T, Suganya V, Firdous J, Arumugam VA, et al. Bacterial Fish Diseases and Treatment. In: Aquaculture Science and Engineering. Springer; 2022. p. 517–72.
11. Hosseini SA, Alishahi M. Efficacy of Injectable monovalent and bivalent Vaccines against Streptococcosis and yersiniosis in rainbow trout. Journal of Aquaculture Development. 2023;17(1):27–40.
12. Ross NW, Firth KJ, Wang A, Burka JF, Johnson SC. Changes in hydrolytic enzyme activities of naive Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. Diseases of Aquatic Organisms. 2000;41(1):43–51.
13. Yano T. Assay of hemolytic complement activity. Techniques in Fish Immunology. 1992;131–41.
14. Skov J, Chettri JK, Jaafar RM, Kania PW, Dalsgaard I, Buchmann K. Effects of soluble immunostimulants on mucosal immune responses in rainbow trout immersion-vaccinated against *Yersinia ruckeri*. Aquaculture. 2018;492:237–46.
15. Cheng Z, Chu X, Wang S, Peng X, Li H. Six genes of ompA family shuffling for development of polyvalent vaccines against *Vibrio alginolyticus* and *Edwardsiella tarda*. Fish & Shellfish Immunology. 2018;75:308–15.
16. Mondal H, Thomas J. A review on the recent advances and application of vaccines against fish pathogens in aquaculture. Aquaculture International. 2022;1–30.
17. Bae J, Lee S, Moniruzzaman M, Hamidoghli A, Choi W, Lee S, et al. Evaluation of dietary fish meal analog with or without supplementation of natural feed additives as the substitute of fish meal in juvenile Japanese eel,

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-08-04]

Anguilla japonica. Frontiers in Marine Science. 2022;9:931940.
18. Harikrishnan R, Devi G, Van Doan H, Vijay S, Balasundaram C, Ringø E, et al. Dietary plant pigment on blood-digestive physiology, antioxidant-immune response, and inflammatory gene transcriptional regulation in spotted snakehead (*Channa punctata*) infected with *Pseudomonas aeruginosa*. Fish & Shellfish Immunology. 2022;120:716–36.
19. Li M, Zhang H, Sun J. A novel C1qDC (PoC1qDC) with a collagen domain in Paralichthys olivaceus mediates complement activation and against bacterial infection. Fish & Shellfish Immunology. 2023;132:108472.
20. Zhou S, Zheng X, Ding Y, Su L, Huang Q, Xiu Y. Immuno-Protective Efficiency of the Bivalent Inactivated Vaccine Against *Vibrio scophthalmi* and *Aeromonas salmonicida* Infections in Turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Journal of Ocean University of China. 2023;22(4):1079–86.
21. Lan NGT, Salin KR, Longyant S, Senapin S, Dong HT. Systemic and mucosal antibody response of freshwater cultured Asian seabass (*Lates calcarifer*) to monovalent and bivalent vaccines against *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus iniae*. Fish & Shellfish Immunology. 2021;108:7–13.
22. Zhang J, Hu Y, Sun Q, Li X, Sun L. An inactivated bivalent vaccine effectively protects turbot (*Scophthalmus maximus*) against *Vibrio anguillarum* and *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture. 2021;544:737158.
23. Radhakrishnan A, Vaseeharan B, Ramasamy P, Jeyachandran S. Oral vaccination for sustainable disease prevention in aquaculture—An encapsulation approach. Aquaculture International. 2023;31(2):867–91.
24. Secombes C.J, Wang T, Bird S, The interleukins of fish. Developmental & Comparative Immunology. 2011; 35:1336–1345.
25. ZHANG, Zhihui, et al. Immune responses of zebrafish (*Danio rerio*) induced by bath-vaccination with a live attenuated *Vibrio anguillarum* vaccine candidate. Fish & Shellfish Immunology. 2012;33.1: 36-41.
26. Faghani T, Takami G. A, Kousha A, Faghani S. 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. 2008;3.2: 54-58.
27. Hosseini S A, Alishahi M, rastiannasab A, mahmoudi R, gandomkar H. Efficacy of Injectable monovalent and bivalent Vaccines against Streptococcosis and yersiniosis in rainbow trout. Journal of Aquaculture Development. 2023;17 (1) :27-40.
28. Ghanei-Motlagh R, Gharibi D, Mohammadian T, Khosravi M, Mahmoudi E, Zarea M, etal, Feed supplementation with quorum quenching probiotics with anti-virulence potential improved innate immune responses, antioxidant capacity and disease resistance in Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*. 2021; 535: 736345.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-08-04]

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume12, Issue 4, autumn 2023
Pages: 358-370

Field study of Streptococcosis / Lactococosis and Yersiniosis vaccine effectiveness in immunogenicity and survival rate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Ahmad Erfanmanesh[1], Majid Khanzadeh[1*], Babak Beikzadeh[2]

[1] Animal Biological Product Research Group, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran Organization, Tehran, Iran.
[2] Department of Cell and Molecular Biology & Microbiology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

A B S T R A C T

In this study, the immunogenicity of streptococcosis/lactococcosis and yersiniosis vaccine in rainbow trout was investigated in farm. 900 fish with an average of 50±5 g was divided into three treatments and three replications (injection treatment, immersion treatment and control group). Fish were kept for 60 days and samples were taken on the 30th and 60th days. Then the fishes were challenged for 14 days with three bacteria, *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garvieae*, and *Yersinia ruckeri*. Sampling was done to evaluate lysozyme activity, complement, antibody titer and survival rate. The results indicated a significant increase in serum complement and lysozyme activity on the 30th and 60th days of sampling in the vaccinated groups compared to the control group ($P<0.05$). Antibody titers against *S. iniae*, *L. garvieae* and *Y. ruckeri* on the 30th and 60th days of sampling in the vaccinated groups had a significant increase compared to the control group ($P < 0.05$). The relative percentage survival after 14 days of challenge with *S. iniae*, *L. garvieae* and *Y. ruckeri* in the injected group was (70, 60, and 76.6%), respectively, which was significant compared to the control group ($P<0.05$). Also, the relative percentage survival in the immersion group with *S. iniae*, *L. garvieae* and *Y. ruckeri* was (30, 36.6 and 53.3%), respectively, which was significant only in the group immersed with *S. iniae* ($P<0.05$). In general, it can be concluded that the use of polyvalent vaccine by injection and immersion has significant effects on the immunity and survival rate of rainbow trout. However, the injection method is more effective and suitable than the immersion method.

KEYWORDS: Vaccine, Streptococcosis, Lactococcosis, yersiniosis, Immunity, Rainbow trout

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 26 Aug 2023
Accepted: 23 Nov 2023
ePublished: 6 Dec 2023

* Corresponding Author:
Email address: khanzade@acecr.ac.ir
Tel:
© Published by Tarbiat Modares University
ISSN: 2322-5513

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-08-04]