

٢- الدراسة المرجعية:

١-٢ مرض التهاب الجلد الأحمر:

١-١-٢ - لحة وتعريف :

يعد التهاب الجلد الأحمر عند أسماك الكارب مرضاً جليداً مزمنياً، ويشاهد ضمن درجات حرارة تتراوح بين ٤ و ٣٠ م، وقد عدّ هذا المرض جزءاً من متلازمة الاستسقاء عند أسماك الكارب، وعند عزل العامل المسبب لهذا المرض تبين أنه معقد جرثومي، ينتمي إلى جراثيم العصيات الغازية *Aeromonas* sp (Bootsma *et al.*, 1977 ; Bootsma and Blommaert, 1978).

وعلى أية حال؛ فقد برهن (Schultz (1980) على وجود عوامل مسببة مرضية جرثومية أخرى تسهم في إحداث التغيرات الجلدية التي تصيب أسماك الكارب، وأمكن عزل الجراثيم المسببة لهذه التغيرات في المنطقة المصابة بين طبقتي البشرة والأدمة حصرياً (Bootsma *et al.*, 1977).

إضافة لكون الإيرومونات سالمونيسيديا *Aeromonas salmonicida* العامل المسبب لمرض التهاب الجلد الأحمر عند أسماك الكارب، فهو يعد العامل المسبب لأمراض مهمة أخرى أيضاً كمرض الدم Furunculosis عند أسماك الترويت (Austin and Austin, 2007)، ومرض القرحة عند الكارب الذهبي Ulcerative Disease (Elliott and Shotts , 1980).

وعلى صعيد آخر؛ فقد برهنت دراسة أخرى أن التهاب الجلد الأحمر عند أسماك الكارب يمكن أن تشارك به جراثيم عدة، وبشكل رئيس جراثيم الإيرومونات هيدروفيليا *Aeromonas hydrophila* (Sioutas *et al.*, 1991)

تأتي جراثيم الإيرومونات هيدروفيليا مباشرة بعد الإيرومونات سالمونيسيديا في الأهمية كمسبب لمرض التهاب الجلد الأحمر، وهي عصيات سلبية غرام متحركة ومنتشرة وموزعة بشكل واسع في البيئة المائية، وهي عامل مسبب للتسمم الدموي الغازي المتحرك (MAS) Motile *Aeromonas* Septicemia (Harikrishnan *et al.*, 2003) أو متلازمة التقرح الوبائي Epizootic Ulcerative Syndrome

الدراسة المرجعية

(EUS) (Mastan and Qureshi, 2001)، وتشمل أعراض الإصابات المرضية المسببة بالإيرومونات هيدروفيليا تورم وانتفاخ الأنسجة، واستسقاء، وخراجات، ودمامل مؤلمة، ونخر، وتقرحات، وتسمم دموي نزفي (Karunasagar et al., 1989; Azad et al., 2001) عند أنواع كثيرة من الأسماك كسمك المشط *Tilapia* (Abd-El-Rhman, 2009; Tellez-Ban̄uelos et al., 2010) وأسماك السلور *Siluridae* (Ullal et al., 2008)، والأسماك الذهبية *Carassius auratu* (Irianto et al., 2003; Harikrishnan et al., 2009)، وأسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* (Yin et al., 2009; Jeney et al., 2009).

ويدعم هذا التوجه ما توصل إليه دعبول (٢٠٠٩) في دراسة أجراها في سورية، إذ تمكن من عزل ٩٠ عزلة من جراثيم جنس الإيرومونات من أسماك سليمة ظاهرياً، وأخرى مصابة بنزوفات جلدية سطحية، وكانت نسبة جراثيم الإيرومونات هيدروفيليا ١١,١%.

كما لوحظت أشكال عدوى التقرح التي تسببت بها جراثيم الإيرومونات سالمونيسيديا غير النمطية عند السمك الذهبي (Elliott and Shotts, 1980)، وعند أسماك الكارب الشائع (Csaba et al., 1981).

٢-١-٢ - العلامات السريرية :

يظهر أول عرض لهذا المرض كواحدة أو أكثر من المناطق الصغيرة النازفة والملتهبة، أو على شكل تآكل أبيض محاط بمنطقة حمراء ضيقة، وبصباغ داكن، وعند ظهور القرحة يكون في مركزها منطقة نخر، وتترافق هذه الأعراض بجحوظ العينين، وقد لوحظ الظهور الكثيف للأعراض على الكارب العادي، مع احتمال أقل لتضخم في البطن، ونزف على الغلاصم، وفي الحالات المتقدمة يحصل ارتشاحات في تجويف البطن، وربما تتوذم الأعضاء الحشوية (Fijan, 1972; Bootsma et al., 1977).

الدراسة المرجعية

ولوحظ أن أول أشكال العدوى يبدأ على شكل تضرر في طبقة البشرة، وتتطور عمليات التهابية نزفية بين طبقتي البشرة والأدمة، وتدرجياً تتمدد هذه المنطقة الملتهبة بالتوازي مع انتشار العدوى في أماكن أخرى من جسم السمكة، ويؤدي تحطم الأنسجة الجلدية في النهاية إلى تطور قرحة مركزية في المنطقة الملتهبة، والتي يمكن أن تظهر في أية منطقة من الجسم ، رغم أنه أكثر ما تكون متركزة في جانبي السمكة المصابة (Fijan, 1972) .

تبدي الأسماك المصابة قلةً في الشهية، وتظهر باهتة اللون، والشيء الشائع هو حصول عدوى ثانوية بالفطور والجراثيم الانتهازية. وفي الأسماك المتعافية تلاحظ القرحات الشافية على شكل ندبات بلون أسود رمادي، وكثيراً ما يؤدي النقص الشديد لكولاجين نسيج الندبات إلى حدوث تشوهات شديدة، والتي تقلل من القيمة الاقتصادية لهذه الأسماك (Fijan, 1972, Bootsma *et al.*, 1977).

وفي بعض الإصابات يتطور المرض إلى حالات تسمم دموي عامة، ويحدث النفوق، ويحصل هذا المرض في كل درجات حرارة الماء على عكس داء الدامل Furunculosis ، والذي يحصل في درجات الحرارة التي لا تزيد عن ١٦ مئوية فقط (Austin *and* Austin, 2007).

٣-١-٢ انتشار المرض والعوامل المؤهبة لحدوثه:

تعدّ جراثيم الإيرومونات عوامل ممرضة ثانوية، ومرافقة للجائحات المرضية، وفي كثير من الأحيان ما تظهر بعد عوامل الإجهاد أو الإصابات الطفيلية الشديدة، إلا أن هذه الجراثيم يمكن أن تصبح عوامل ممرضة رئيسة، ومسببة للجائحات المرضية في مزارع الأسماك ومرافقة مع معدلات نفوق عالية، محدثةً خسائر اقتصادية كبيرة في صناعة الأسماك حول العالم وتربيتها (Faisal *et al.*, 1989; Pathiratne *et al.*, 1994; Yambot, 1998; Nielsen *et al.*, 2001; Fang *et al.*, 2004; Xia *et al.*, 2004) .

الدراسة المرجعية

تحدث الجائحات المرضية المسببة بهذه الجراثيم غالباً تحت تأثير الإجهاد والتغيرات في الظروف البيئية والتغيرات المفاجئة في درجة الحرارة والإجهاد الناتج عن النقل اليدوي، والازدحام في المزارع السمكية وارتفاع مستويات الأمونيا وثاني أكسيد الكربون، وانخفاض معدلات الأوكسجين المنحل في الماء، و هذه العوامل كلها هي عوامل مهيئة ومرافقة لهذا المرض (Swann and White,1989).

يمكن لأنواع جراثيم جنس الإيرومونات (سالمونيسيديا وهيدروفيليا أساساً) التي تعيش في البيئات المائية أن تسبب التسمم الدموي والتقرحات Ulcerations، والنزف الدموي عند الأسماك، وهي المظاهر الأساسية للأمراض التي تسببها، والتي تشمل الدامل والقروح الجلدية، وينجم عنها نسبة نفوق مرتفعة، وخسائر اقتصادية كبيرة في مزارع الأسماك (Bernoth et al., 1997; Wiklund and Dalsgaard, 1998; Gudmundsdóttir and Björnsdóttir, 2007; Beaz-Hidalgo et al., 2010; Noga, 2010),

يستطيع المهتم بمجال تربية الأسماك وأمراضها أن يجد عدداً كبيراً من الأبحاث والمرجعيات التي تدل على أهمية جراثيم جنس الإيرومونات، وعلى انتشارها العالمي في مختلف القارات والدول، وأيضاً على الجهود المبذولة لفهم هذا المرض، ومحاولة إيجاد طرائق علاجية جديدة أو لقاحات تحد من الخسائر الناجمة عنه، في ظل تمدد ظاهرة مقاومة هذه الجراثيم للمضادات الحيوية (Esteve et al., 1993, Cipriano, 2001; Kozi ska et al., 2002; Yu et al., 2010 ; ižek et al., 2010; Laz r et al., 2012 ; Yi et al., 2012; Yu et al., 2015); وجود مرض التهاب الجلد الأحمر عند أسماك الكارب (Carp Erythrodermatitis (CE) في مناطق عدة من محافظة حماه، كما تم عزل بعض الجراثيم الأخرى والتي لها دور ثانوي في تطور المرض. هذا إضافة إلى الدراسة التي قام بها (دعبول، ٢٠٠٩) والتي ذكرت آنفاً.

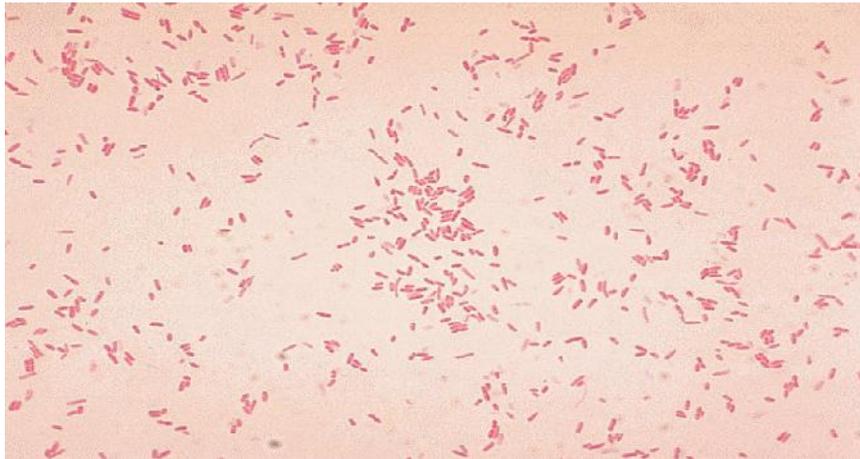
الدراسة المرجعية

وقد وصفت العديد من التقارير توزع أنواع الإيرومونات والعلاقة بينها وبين الجراثيم الأخرى والمؤشرات البيئية الحيوية واللاحيوية في البيئات المختلفة (Burke *et al.* 1984; Monfort *and* Baleux 1990; Ortega *et al.*, 1996; Pettibone, 1998)

٢-٢- العامل المسبب لمرض التهاب الجلد الأحمر:

١-٢-٢ هوية العامل المسبب :

تتبع جراثيم جنس الإيرومونات Genus *Aeromonas* إلى فصيلة معدية *Aeromonadaceae*، والتي تعيش في المياه، وهي عصيات سلبية الغرام (الشكل ٢-١)، لا هوائية مخيرة *Facultatively Anaerobic Bacteria*، إما محبة للحرارة المعتدلة متحركة، أو غير متحركة محبة للبرودة (Halda–Alija *and* Johnston 1999; Ko *et al.*, 2000)، وأفراد هذه العائلة تنتج منطقة صافية من التحلل على الآغار الدموي (Khardori & Faintein, 1988) ، وتسبب أمراضاً للحيوانات التي تعيش على اليابسة، وفي المياه العذبة والبحرية، وحتى في جسم الإنسان (Janda *and* Abbott, 1996; Tsukamoto *et al.*, 1993) إذ تسبب عند الإنسان التهاب الأمعاء، وأخماج الجروح في حال التماس مع المياه الملوثة بهذه الجراثيم (Minnaganti *et al.*, 2000).



الشكل ١: عصيات الإيرومونات

<https://www.koi-pond-guide.com/pseudomonas-aeromonas-bacteria.html>

الدراسة المرجعية

تعد جراثيم جنس الإيرومونات واحدة من أهم الأجناس التي تسبب الأمراض الجرثومية للأسماك (Rahman *et al.*, 2005)، وأهم الأنواع في هذا المجال، والتي يضمها هذا الجنس هي *Aeromonas hydrophila*, *caviae*, *sobria*, *salmonicida*, *jandaei*, *bestiarum* and *veronii* (Yu *et al.*, 2015) وتعدّ الأمراض التي تسببها جراثيم جنس الإيرومونات من المشكلات المرضية الأكثر خطراً على إنتاجية مزارع أسماك الكارب (Chowdhury, 1998; Rahman *et al.*, 2004).

ومن الجدير ذكره أن نوع الإيرومونات سالمونيسيديا بخلاف الإيرومونات هيدروفيليا، فقد تم تقسيمه إلى نوعيات، وذلك اعتماداً على عدد من الصفات الجينية والتفاعلات الكيمياءحيوية (Mc Carthy, 1977)، وتعدلت هذه التقسيمات والتصنيفات التي حددت نوعيات مرات عدة، إذ ضم هذا التقسيم بداية نوعين هما: إيرومونات سالمونيسيديا نوع سالمونيسيديا *salmonicida* subsp. *salmonicida* ، وإيرومونات سالمونيسيديا نوع أكروموجينيس *salmonicida* subsp. *achromogenes* (Schubert, 1967a,b) ، ولكن سرعان ما سجل وجود مجموعة لانمطية من جراثيم الإيرومونات سالمونيسيديا، إضافة إلى النوعيات المسجلة السابقة.

أما حالياً، فقد تم تقسيم هذا النوع وفق (Midtlyng *et al.*, 2000) إلى:

- إيرومونات سالمونيسيديا نوع سالمونيسيديا *salmonicida salmonicida*
- إيرومونات سالمونيسيديا نوع أكروموجينيس *salmonicida achromogenes*
- إيرومونات سالمونيسيديا نوع مازوسيديا *salmonicida masoucida*
- إيرومونات سالمونيسيديا نوع نوبا *salmonicida nova*
- و ذرارٍ لا نمطية.

الدراسة المرجعية

كما أن نوع سمثيا *salmonicida smithia* ذكر في العديد من المراجع القديمة، لمدة طويلة، لكن ذلك لم يرد مؤخراً في دليل برجى التصنيفي الشهير الذي يعدّ أساساً في تصنيف الجراثيم عالمياً (Hirvelä-Koski, 2005).

٢-٢-٢ عزل العامل المسبب وتنميته وصفاته الكيميائية:

يمكن أن تعزل الجراثيم المسببة للآفات المرضية عند الأسماك المختلفة بسهولة من الحالات السريرية مثل: الدامل، والتقرحات، والإصابات غير النموذجية بوساطة العزل المباشر باستخدام وسط آغار الصويا بالتربتون (TSA)، ويفضل أن يكون ممزوجاً بالدم، إضافة إلى وجود منابت انتقائية خاصة بجنس الإيرومونات، يتم الفحص الجرثومي عادةً بأخذ العينات من آفات الجلد والعضلات، ومن الأعضاء الداخلية مثل: الكلية، ويمكن أن تستعمل الغلاصم والمخاطية البشرية كعينات للزرع الجرثومي، ويمكن أن يتم تحديد أنواع الجراثيم المسببة من خلال الاعتماد على الاختبارات الكيميائية والطرائق المصلية والجزئية (Bernoth *et al.*, 1997; Byers *et al.* 2002b, Byers *et al.* 2002a).

يمكن التمييز بين نوع الإيرومونات هيدروفيلًا وباقي الأنواع ببساطة، وذلك بالقيام بدراسة حركة هذه الجراثيم على الأوساط المناسبة، إذ تتميز الإيرومونات هيدروفيلًا بأنها جراثيم متحركة بخلاف جميع الأنواع الأخرى، كما تتمتع بقدرتها على النمو في أوساط الزرع الجرثومي أيضاً، وبدرجة ٣٧ م (Hirvelä-Koski, 2005).

دلت الدراسات والمرجعيات السابقة على وجود مجموعة مهمة من الاختبارات البيوكيميائية الأساسية التي تمكننا من التمييز بين أنواع جنس الإيرومونات المسببة للتهاب الجلد الأحمر عند الأسماك (الجدول ١-٢)، والتي تضم اختبارات الإندول وفوجس بروسكاور وإطلاق غاز كبريت الهيدروجين، وتخمير الجلوكوز، مع إطلاق الغاز، ونمط التحلل الدموي على وسط الآغار الدموي، وأخيراً إنتاج الصباغ البني

الدراسة المرجعية

Brown pigment في المنابت، والمميز لـ إيرومونات سالمونيسيدا نوع سالمونيسيدا. إضافة إلى اختبارات أخرى تأكيدية يمكن إنجازها مثل: اختبارات الكاتالاز والأوكسيداز (الإيرومونات إيجابية لهذين الاختبارين) ، والسترات والنترات وتخمير العديد من السكاكر (Cipriano and Bullock, 2001).

الجدول (١) : الاختبارات الكيمياءحيوية للتمييز بين نويغات الإيرومونات سالمونيسيدا
(Cipriano and Bullock, 2001)

Characteristic	<i>Aeromonas salmonicida</i> subsp.		
	<i>salmonicida</i>	<i>achromogenes</i>	<i>masoucida</i>
Indole production	-	+	+
Methyl Red	+	+	+
Voges Proskauer	-	-	+
H ₂ S production	-	-	+
Lysine decarboxylase	d	d	d
Arginine dihydrolase	+	+	+
D-Glucose acid	↓	↓	↓
D-Glucose gas	+	-	+
L-Arabinose acid	+	-	+
D-Galactose acid	+	+	+
Glycerol acid	d	d	d
Maltose acid	+	+	+
D-Mannitol acid	↓	-	↓
Sucrose acid	-	+	+
Trehalose acid	+	+	+
Fesculine hydrolysis	+	-	+
Lipase (corn oil)	+	+	+
ONPG	d	d	d
Brown pigment	+	-	-

d : ١١-٧٥% من الذراري إيجابية (متغيرة النتائج)، ONPG : O-nitrophenyl-beta-D-galactopyranoside

الدراسة المرجعية

ونظراً لأن الاختبارات الكيمياءحيوية التقليدية والمعتمدة في تحديد أنواع جراثيم الإيرومونات المعزولة تستغرق وقتاً وجهداً، وتحتاج لخبرة، فقد جرت محاولات عدة لتحديد أنواع جراثيم الإيرومونات، وتتميطها، وذلك باستخدام طرائق ووسائل عديدة أخرى مثل: الرحلان الكهربائي الأنزيمي متعدد المواضع *Multilocus Enzyme Electrophoresis (MLE)*، وتحليل ميثيل إسترات الحموض الدهنية (FAMES) المكونة أساساً للجدار الخلوي لهذه الجراثيم بالكروماتوغرافيا، وتحليل تعدد أشكال أطوال الشدق المقطعة (Altwegg *et al.*, Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) (Lee *et al.*, 2002 a b). وقد شاع استخدام الطرائق الجزيئية مثل: اختبار تفاعل البوليميراز التسلسلي PCR، وذلك اعتماداً على المورثة 16S rDNA، ومورثات أخرى، وقد برهنت هذه الطريقة أنها ذات قيمة في تحديد أنواع جراثيم الإيرومونات (Martínez-Murcia *et al.*, 1992, 1993; Huys *et al.*, 1997; Dermata *et al.*, 1999). إذ إن المشرعات Primers النوعية ضرورية لتحديد الأنواع المفترضة للإيرومونات، وكذلك ذكرت بعض المراجع استخدام تحليل PCR-RFLP على جراثيم عزلت من المصادر البيئية، على أية حال فإن الاختبارات الكيمياءحيوية ما زالت أساسية ومهمة لتأكيد الأنواع الافتراضية لأنواع الإيرومونات وتحديدها.

٣-٢-٢ الكشف عن العامل المسبب وتنميته بالبيولوجيا الجزيئية :

مع تطور التقانات الحيوية بدأ العلماء يعتمدون شيئاً فشيئاً على الطرائق الجزيئية في تشخيص الأمراض والمسببات المرضية المختلفة نظراً لما تتميز به من دقة، واختصار الوقت في تحديد هوية العامل الممرض المدروس.

وذكرت المصادر العلمية أن طريقة الرحلان الكهربائي الأنزيمي متعدد المواقع *Multilocus Enzyme Electrophoresis (MLE)* هي الطريقة الأولى التي استخدمت بهدف تنميط جراثيم الإيرومونات، وتم

الدراسة المرجعية

عن طريقها تقسيم الإيرومونات سالمونيسيديا إلى مجموعتين: نمطية ولا نمطية (Boyd *et al.*, 1994). وأثبتت الدراسات اللاحقة وجود اختلافات على المستوى الجزيئي في المجموعة اللانمطية، وذلك اعتماداً على تقانة تهجين الـ DNA وسلسلة المورثة الـ 16S rDNA (Yamada *et al.*, 2000).

أصبح الاعتماد على تقانة تفاعل البموليميراز المتسلسل أمراً روتينياً في المختبرات التشخيصية على مستوى العالم، وكذلك الأمر في جراثيم الإيرومونات، إذ تمكن هذه التقنية الدارسين من الكشف عن العامل المسبب في العينات البيئية كالماء، أو في العينات المرضية مباشرة بشرط توفر العتائد التجارية المناسبة لاستخلاص الـ DNA من تلك العينات، كما يعتمد على تقانة الـ PCR أيضاً في تعريف النوع المعزول على المنابت الجرثومية وتأكيد، وذلك نظراً للنتائج المتباينة التي قد تشاهد عند إجراء الاختبارات الكيمياءحيوية.

صمم الباحثون أزواج عدة من المشرعات Primers (برايمرات) تمكن من الكشف عن جنس الإيرومونات عموماً، وأهمها تلك المتعلقة بالمورثة الـ 16S rDNA، والمورثة المسؤولة عن بروتين glycerophospholipid:cholesterol acetyltransferase واختصاره (GCAT) (Peng *et al.*, 2000a,b; Lee *et al.*, 2002a) ، واعتمد الباحثون أيضاً على استخدام مشرعات نوعية لكل نوع على حدة (Osorio *et al.*, 1999; Peng *et al.*, 2000a, b).

كما ذكرت بعض المقالات العلمية استخدام تحليل تعدد أشكال أطوال الشدق المقطعة (RFLP)، والمطبق على نواتج اختبار PCR اعتماداً على أنزيمات اقتطاع داخلية للـ DNA، ودراسة شواكل الـ DNA Profiles بعد إنجاز الرحلان الكهربائي لنواتج التقطيع من أجل تحديد الأنواع ضمن جنس الإيرومونات (Lee *et al.*, 2002b, Rahman *et al.*, 2005).

الدراسة المرجعية

استخدمت أيضاً بعض التقانات الأخرى الأقل انتشاراً من السابقة في تنميط الأنواع والعزولات المختلفة مثل: تحليل RAPD و AFLP (Lund *et al.*, 2003; O'hici *et al.*, 2000)، ولكنها تتصف إما بصعوبة تنفيذها أو كلفتها الكبيرة، أو حتى قلة دقتها مقارنة باختبار PCR و RFLP . وكانت إحدى الطرائق الجزيئية التي ذكرت في المرجعيات هي: تحليل شواكل البلازميدات Plasmid Profile Analysis (PPA) لجراثيم الإيرومونات، وذلك بعد استخلاص البلازميدات بالطرائق المناسبة، وتطبيق الرحلان الكهربائي عليها، ودراسة أشكالها، إذ لوحظ في الإيرومونات سالمونيسيدا اللانمطية عادة وجود ثلاثة بلازميدات: إحداها كبير يتجاوز طوله 55kb، وآخر متوسط يختلف طوله من عذلة لأخرى، وثالث صغير طوله أقل من 11kb (Sørum *et al.*, 2000 ; Pedersen *et al.*, 1996).

٤-٢-٢ عوامل الفوعة في جراثيم الإيرومونات:

نظراً إلى إمكانية إحداث تغيرات مرضية شبيهة بتلك الملاحظة عند الإصابة بجراثيم الإيرومونات، وذلك بمجرد حقن موادها المنتجة والمفرزة خارجياً في أثناء نموها ضمن الأوساط، فقد افترض وجود عوامل فوعة لها الدور الأهم في إمراضية هذه المسببات، وأفضت الدراسات إلى تحديد عدد منها، وهي:

١-٤-٢-٢ بروتين الطبقة A : A-layer Protein

تمتلك الذراري الممرضة من جراثيم الإيرومونات سالمونيسيدا طبقة بروتينية إضافية خارجية، وتتميز بصفات متشابهة عند جميع الذراري الممرضة، وذلك من الناحية المناعية، وبخواصها الكارهة للماء، وعدم ذوبانها فيه ، وهي مماثلة للخمل الالتصاقي K99 Adhesive Fimbriae الموجود عند جراثيم الإشريكية القولونية الممرضة (المذيفنة للأمعاء)(Cipriano, 2001) .

الدراسة المرجعية

ومن وظائفها المعروفة أيضاً، إحصار مستقبلات العاثيات Bacteriophage Receptors على سطح الإيرومونات، كما توفر الحماية لهذه الجراثيم من بعض الوسائط المناعية الحالة كالمتممة، وتمكنها من الالتصاق والدخول في البلاعم، والبقاء حية متهربة من عناصر القتل داخل الخلوي في البلاعم. وقد اعتمد الباحثون على وجود هذه الطبقة في معرفة فيما إذا كانت المستعمرات النامية على المنابت هي لذراير ضارية أم لا، وذلك بزراعتها على وسط يحتوي على أزرق الكومازي اللماع Coomassie Brilliant Blue (CBB) agar إذ يلون أزرق الكومازي المستعمرات التي تحتوي على الطبقة البروتينية باللون الأزرق (Esteve, 1993; Cipriano, 2001).

٢-٤-٢-٢ فليسيروفوسفوليبيد كوليستيرول أستييل ترانسفيراز:

Glycerophospholipid Cholesterol Acyltransferase

يفرز GCAT كذيفان خارجي على شكل معقد مع متعدد السكريد الشحمي LPS، مما يزيد من ثباتيته وفعالته، إذ يؤدي إلى انحلال الكريات الدموية الحمر عند الأسماك، ويمتلك سمية كبيرة للخلايا والقدرة على حل الكريات البيض (Cipriano, 2001).

٢-٤-٢-٢ البروتيازات الجرثومية: Bacteria Proteases

تعد هذه البروتيازات من أهم الذيفانات الخارجية المفترزة من قبل جراثيم الإيرومونات، والمرتبطة بفوعتها، إذ تؤدي إلى قتل الكريات البيض والعديد من الخلايا الأخرى وحلها، كما لوحظ ترافقها مع الجراثيم التي تتسبب في الآفات الشبيهة بالدمامل وتخرب الأنسجة.

وجد أن جراثيم الإيرومونات سالمونيسيديا تفرز ثلاثة أنواع من البروتيازات، أولها: السيرين بروتياز ذو الوزن الجزيئي ٧٠ كيلودالتون، والفعال على الكازينين والجيلاتين، وثانيها: ذو الوزن الجزيئي ٢٠ كيلودالتون، والفعال على الجيلاتين فقط، وثالثها ذو الوزن الجزيئي ٣٥ كيلو دالتون الفعال على الجيلاتين والـAzocoll (Midtlyng, 2000; Cipriano, 2001).

٢-٤-٤- إنتاج حوامل الحديد وتنظيم الحديد: Siderophore Production and Iron Regulation

تمكن آليات قبض الحديد والاستفادة منه وتحريره من خلاطاته Chelates جراثيم الإيرومونات من النمو في الأوساط الفقيرة بهذا العنصر، كما تمكنها من الحصول عليه من بعض المركبات كالخضاب الدموي (Cipriano, 2001).

٢-٣-٣- معالجة مرض التهاب الجلد الأحمر:

٢-٣-١ - حساسية العامل المسبب للمضادات الحيوية:

انصب اهتمام الكثير من الباحثين على تحديد المضادات الحيوية المناسبة لعلاج أمراض جراثيم الإيرومونات، والقيام بدراسات لمعرفة ومتابعة الذراري التي تكون لديها مقاومة تجاه المضادات الحيوية المختلفة، وذلك لما تمثله ظاهرة المقاومة المضادات الحيوية من تحدٍ كبير وخطير يواجه جميع المهتمين بتربية الأسماك خصوصاً، والصحة عموماً.

واحدة من هذه الأعمال هي التي قام بها (Schmidt *et al.*, 2001) في الدنمارك، إذ وجد أن ٦٩% من عزلات الإيرومونات كانت مقاومة للأوكسي تتراسكلين، و ٤٣% كانت مقاومة للسلفاديازين، والترياميثوبريم، و ٢٠% لحمض الأوكزالينيك.

وجد في تركيا (Kirkan *et al.*, 2003) أن نصف العزلات كانت مقاومة للأوكسي تتراسكلين. كما سجلت دراسات أخرى وجود عزلات مقاومة لمضادات حيوية أخرى مثل: الأمبيسلين، والأموكسيسيلين، والفلورفينيكول (Menanteau-Ledouble *et al.*, 2016).

تحمل البلازميدات عادة مورثات مقاومة تجاه المضادات الحيوية، وحددت العديد من الدراسات بعض تلك البلازميدات والمضادات الحيوية التي تحمل مورثات المقاومة تجاهها (Vincent *et al.*, 2014).

٢-٣-٢ - الوقاية والمعالجة:

تتضمن أساليب التحكم والسيطرة على مرض التهاب الجلد الأحمر، والأمراض الناجمة عن الإصابة بجنس الإيرومونات استخدام اللقاحات، وتحسين ظروف الرعاية والتربية للأسماك (Midtlyng, 1997).

الدراسة المرجعية

إن اللقاحات الفعالة تجاه الإيرومونات، لاسيما مرض الدامل أصبحت متوفرة تجارياً في بعض الدول، ومنذ بداية التسعينات، وكان ذلك نتيجة ٥٠ عاماً من الجهود المضنية (Midtlyng, 1997).

وكانت أول تجربة عام ١٩٩٢، إذ استخدم في اللقاح الجرثوم كاملاً مع أملاح الألمنيوم كمساعد (Lillehaug *et al.*, 1992)، وبعدها تم استخدام المساعدات الزيتية بشكل أوسع في اللقاحات مع الجراثيم الكاملة، أو بعض منتجاتها أو مكوناتها. والنمط الأساسي المستخدم في تصنيع اللقاحات هو:

الإيرومونات سالمونيسيديا نويك أكروموجينيس *salmonicida achromogenes* .

وتعد طريقة الحقن بالبريتوان الطريقة الأفضل لإعطاء هذه اللقاحات، قد أدت إلى تكون مناعة حامية، لمدة جيدة، بخلاف إعطاء اللقاح بطرائق أخرى كتغطيس الأسماك في الماء مع اللقاح بتركيز معين أو إعطائه فموياً (Midtlyng, 1997) .

من عيوب الحقن بالبريتوان: عدم القدرة على تطبيقه عند الأسماك الصغيرة والأصبعيات وذلك لصغر حجمها أولاً ولتأثير اللقاح والمواد المساعدة على الأحشاء الداخلية، لاسيما المناسل؛ مما سيؤثر في تكاثر الأسماك.

لوحظ عند الأسماك الملقحة أن مناعتها كانت أفضل بعد ١٢ أسبوعاً، مقارنة بـ ٦ أسابيع من إعطاء اللقاح (Gudmundsdóttir *et al.*, 1997)، كما أن أهم الأضداد الواقية المتشكلة كانت تجاه الطبقة البروتينية السطحية للجراثيم، والتي تعد من عوامل الفوعة الأساسية لجراثيم الإيرومونات (Lund *et al.*, 2003).

وكما ذكر آنفاً؛ فإن تحسين ظروف تربية الأسماك، والإقلال من عوامل الإجهاد يسهم وبدرجة كبيرة في الوقاية من الأمراض الناجمة عن جراثيم الإيرومونات، ومن الأمثلة على ذلك: تحسين نوعية المياه ومحتواها من الأوكسجين (Midtlyng, 1997)، ويعد تعقيم مصادر المياه أمراً مهماً في حال كان مصدراً لجراثيم الإيرومونات، وذلك باستخدام الطرائق المناسبة، وتعد الأشعة فوق البنفسجية أكثرها

الدراسة المرجعية

استخداماً. كما أن الحرص على نوعية العلف وغذاء الأسماك ومكوناته له بالغ الأهمية، وتعد الإصابات الطفيلية الخارجية المختلفة من الأمور المؤهبة للإصابة، والتي قد تؤدي إلى ظهور الإصابات، ويجب علاجها (Swann and White, 1991).

تعالج حالات التهاب الجلد الأحمر وأمراض جراثيم الإيرومونات باستخدام المضادات الحيوية المختلفة، وذكرت المراجع أن الأوكسي تتراسكلين (Tetramycin)، وبجرعة ٥٠ ملغ/كغ وزن حي لمدة ٥ أيام هو أهم تلك المضادات الحيوية ويستخدم مع العلف، أو يضاف للماء، كما استخدمت مركبات السلفا وحدها أو مع الترابمثوريم، والنتروفوران، والكلورامفينيكول، والفلوفينيكول، والإنروفلوكساسين، والفلوماكوين في العلاج، ولكن بصورة أقل من الأوكسي تتراسكلين (Cipriano and Bullock, 2001; Hirvelä-Koski, 2005 Swann and White, 1991).

يزداد الاهتمام بطرائق المعالجة البديلة حالياً، واستخدام البروبيوتيك probiotic مثل: العصيات اللبنية، ومعززات المناعة المختلفة كالكيتوزان في التحكم والسيطرة على العدوى بجراثيم الإيرومونات (Menanteau-Ledouble et al., 2016).

٣-٣-٢ - مزايا المعالجة عن طريق العلف:

تتميز المعالجة عن طريق العلف بأمر إيجابية عدة تجعل منها الوسيلة الأهم ضمن وسائل العلاج الأخرى عند الأسماك (Cipriano and Bullock, 2001) للأسباب الآتية:

١- الوصول إلى تراكيز علاجية من المضاد الحيوي داخل جسم الأسماك بشكل أفضل من الطرائق الأخرى.

٢- الاقتصاد في استهلاك المضاد الحيوي المستخدم؛ لأن الوصول إلى تراكيز علاجية في مياه التربية يحتاج إلى كميات أكبر من المضادات الحيوية.

الدراسة المرجعية

٣- إن إضافة المضادات الحيوية لمياه التربية يعرضها إلى العديد من الأملاح والشوارد الموجودة في الماء بشكل مباشر، وأهمها شوارد الكالسيوم؛ مما يحد من فعاليتها.

٤- تعد ظاهرة انتشار المضاد الحيوي في البيئة عند إضافته لمياه التربية مشكلة كبيرة تسهم في ظهور سلالات جرثومية مقاومة، وتقلل من إمكانية استخدام المضادات الحيوية في المستقبل.

٤-٣-٢ استعمال فيتامين (A) وأوكسيد الزنك كعامل مساعد في المعالجة :

يعدّ فيتامين A (Retinoic acid) من الفيتامينات الذوابة في الدهون، وهو من الفيتامينات المهمة لكونه جزءاً من بروتين الريدوبسين، و الموجود في شبكية العين، ومن أهم مصادر الغذائية: البيتاكاروتين الذي يوجد في النباتات الخضراء أساساً، وتحصل عليه الأسماك من الطحالب، أو من القشريات عبر السلسلة الغذائية، وتتمثل أعراض نقصه عند الأسماك بعتامة عدسة العين، والتهاب في قواعد الزعانف والتوائها، وتقرحات على الجلد وله دور كبير في سرعة ترميم الجلد (Chen *et al.*, 2015; Wang and Wang, 2015; Swain *et al.*, 2016).

يعد الزنك عنصراً أساسياً من العناصر المعدنية الثقيلة، له دور حاسم في العمليات البيولوجية والوظائف الفسيولوجية مثل: التركيب الحيوي للهرمونات، والنشاط الأنزيمي، والتمثيل الغذائي للبروتينات والكربوهيدرات (Wang and Wang, 2015)، ويرتبط نشاط أكثر من ٣٠٠ إنزيم في أنواع مختلفة من الحيوانات ارتباطاً وثيقاً بالزنك، وترتبط أيونات الزنك على وجه التحديد بمستقبلات أغشية الخلايا وناقلاتها، وقنواتها، وتنظيم نشاطها (Swain *et al.*, 2016).

لذلك، يمكن أن يؤدي نقص الزنك إلى انخفاض معدل النمو، وزيادة نسبة النفوق، وإعتام عدسة العين، وضعف الزعانف، وتآكل الجلد، والتقرم (Wang and Wang, 2015).