المنـاقشـــة

١- توزع القرحات على الأسماك المصابة بمرض التهاب الجلد الأحمر وأنواعها:

تمت دراسة ٢١٤ سمكة كارب عادي مصابة بمرض التهاب الجلد الأحمر؛ إذ كانت نسبة عدد الأسماك المدروسة ١٦,٤% و٥٤,٦% و٢٩% من مزارع كازو، ومزارع كريميش، ومزارع عين الطاقة على التوالي، وربما يعود اختلاف عدد العينات بين المزارع المدروسة إلى ظروف الدراسة، وإمكانيات كل مزرعة التي تختلف من مزرعة إلى أخرى. وباعتبار أن الغاية هي الحصول على أسماك مصابة ودراسة مراحل المرض عليها في حال وجودها تم الاكتفاء بجمع الأسماك المصابة من الأحواض حتى الحصول على العدد المطلوب للدراسة.

وكانت أعداد القرحات التي ظهرت على الأسماك المصابة، والتي تم جمعها في هذه الدراسة متفاوتة من مزرعة إلى أخرى، ومن سمكة إلى أخرى كذلك، وهذا يتوافق مع ما أشار إليه (Fijan, 1972)، يعود سبب ذلك لاختلاف عوامل عدة منها: الظروف البيئية المتوفرة في كل مزرعة مثل: نوعية المياه، ووجود عوامل مرضية طفيلية، وطريقة تقديم العلف، ونوعيته، وعوامل الإجهاد التي تختلف من مزرعة إلى أخرى، ومدى نجاح برامج السيطرة على هذه الآفة المرضية (Pickering, 1997).

وقد لوحظ أن نسبة الأسماك المصابة بالقرحات الأولية والمتوسطة والعميقة كانت ٦٨,٢ % و٤٨,٦% و٢٦,٢ % على التوالي، وهذا يدل على تطور الإصابة في كل المزارع المدروسة من خلال تطور شكل القرحات من نمط إلى نمط آخر، وإلى إمكانية إصابة السمكة الواحدة بأكثر من نمط من القرحات، وهذا يتوافق مع ما أشار له(Bootsma *et al.,* 1977) .

ووجود القرحات الأولية على ٦٨,٢% من الأسماك ربما يدل على استمرار ظهور الآفات رغم تقدم الحالة المرضية في أسماك أخرى، ومن ثم ضعف إجراءات السيطرة على المرض، أو تطور ذراري مقاومة للمضادات الحيوية، وما لهذا من دور في الحد من إمكانيات السيطرة على هذا المرض، وإخفاق برامج المعالجة (Fijan, 1972) .

٢- تقييم درجة الإصابة بمرض التهاب الجلد الأحمر:

كانت أعلى نسبة للأسماك في المرحلة المتقدمة في مزرعة عين الطاقة، وبنسبة ٤٦,٨ %، تليها مزارع كازو بنسبة ٢٠ %، وأخيراً مزارع كريميش، وبنسبة ١٧,٩%، وهذا يدل على أن تطور الحالة المرضية في مزرعة عين الطاقة كان أكبر من المزارع الأخرى المدروسة، وربما يعود ذلك لتفشي المرض بالمزرعة، وعدم التمكن من السيطرة عليه، نظراً لضعف تأثير الإجراءات المتخذة للتحكم في هذا المرض، فضلاً عن الظروف البيئية التي تختص بها كل مزرعة، والتي لها دور حاسم في إعاقة عملية المعالجة، وتوفير الظروف الملائمة لاستمرار المرض وتطوره (Pickering, 1997).

ويتبين أن نسبة الأسماك المصابة في المرحلة الابتدائية والثانوية والمتقدمة لمجمل الأسماك المدروسة كانت: ٣٧,٤% و ٣٦% و ٢٦,٦% على التوالي في مجمل المزارع المدروسة. ومن ثم كانت النسبة العامة للأسماك المصابة بالمرحلة الابتدائية ٣٧,٤% فقط، أي أن أكثر من٦٢,٦% من الأسماك المصابة تطورت حالتها لبلوغ المرحلة الثانوية والمتقدمة في كل المزارع المدروسة، وربما يشير هذا إلى سرعة تطور الحالة المرضية في المزارع الإنتاجية، فضلاً عن صعوبة التحكم بهذا المرض وايقافه في مرحلته الابتدائية، وتوجيه الأسماك المرباة إلى الشفاء بتقديم المعالجة الوافية. (Faisal *et al.,* 1989; Pathiratne *et al.,* 1994; Yambot, 1998; Nielsen *et al.,* 2001; Fang *et al.,* 2004)

٣-تحديد العامل المسبب :

٣-١ نتائج العزل الجرثومي:

عزلت جراثيم جنس الإيروموناس بنسبة ٦٩,٦% من كل مراحل المرض، وهذا يماشي نتائج الأبحاث العلمية؛ التي تؤكد أن جراثيم جنس الإيروموناس هي: مسببات مرض التهاب الجلد الأحمر عند الكارب العادي Common carp *Cyprinus carpio*، وهذا ينسجم مع ما أشارت إليه الأبحاث أيضاً من أن الأمراض التي تسببها جراثيم جنس الإيروموناس تعد من المشكلات المرضية الأكثر خطراً على إنتاجية مزارع أسماك الكارب (Chowdhury, 1998; Rahman *et al.,* 2004) .

وكانت نسبة الأسماك المصابة التي عزلت منها جراثيم جنس الإيروموناس ٩٣,٧٥ % و٧٧,٩ % و٢٤,٦% من المرحلة الابتدائية والثانوية والمتقدمة على التوالي، بينما تزايدت نسبة العزلات الجرثومية من الأنواع الأخرى طرداً مع تقدم الحالة المرضية للأسماك؛ فكانت ٦,٢٥% و ٢٢,١% و٧٥,٤% في المرحلة الابتدائية والثانوية والمتقدمة للمرض على التوالي، ويمكن أن يعلل ذلك بأن المسبب الرئيس للقرحات الأولية التي يتطور منها المرض هي: جراثيم جنس الإيروموناس، ويمكن أن تتلوث القرحات التي تتطور إلى المرحلة الثانوية أو المتقدمة إما: نتيجة التلوث العرضي، أو المشاركة الفعلية لهذه الجراثيم الانتهازية في تطور الحالة المرضية، وتحول القرحات من نمط إلى نمط (Austin *and* Austin, 2007).

وربما يشير هذا إلى أن المسبب الأكثر شيوعاً لهذا المرض هو: جراثيم جنس الإيرموناس بأنواعها المختلفة؛ لارتفاع نسبة عزلها في المرحلة الابتدائية من المرض، ويدعم هذه الصورة ما توصل إليه (دعبول ، ٢٠٠٩) في دراسة أجراها في سورية، تمكنه من عزل ٩٠ عزلة من جراثيم جنس

إيروموناس من أسماك سليمة ظاهرياً، وأخرى مصابة بنزوفات جلدية سطحية ، وهذا ما توصل إليه سابقاً Bootsma *et al.,* (1977).

ويمكن تعليل انخفاض نسبة وجود جراثيم جنس الإيروموناس في المراحل المتقدمة؛ إذ كان ٢٤,٦% فقط بالتزامن مع زيادة وجود جراثيم أخرى متنوعة في أكثر من ٧٨,٩% بحصول التلوث الجرثومي بجراثيم ثانوية مختلفة أسهمت في تطور الحالة المرضية(Schultz, (1980، وتشكيل الأنواع المتقدمة من القرحات، إذ إن تكاثر الجراثيم، وتطور إمراضيتها يؤديان إلى تغيير وسط تكاثر جراثيم جنس الإيروموناس، ومن ثم تقليل عددها في القرحات المتقدمة، وهذا ما ينسجم مع ما أشار إليه Sioutas *et al.,* (1991) من أن التهاب الجلد الأحمر عند الكارب يمكن أن تشارك به أنواع عدة من الجراثيم، ولكن جراثيم الإيروموناس بشكل رئيس هي من تقوم به، أما مشاركة الأنواع الجرثومية الأخرى؛ فتكون غير نوعية، وتعزز تطور القرحات إلى المراحل المتقدمة نتيجة وجود بؤرة العدوى الأولية المسببة للقرحات الأولية، والتي تكون من جراثيم الإيروموناس غالباً.

ويدعم هذا التصور Schultz, (1980) الذي أشار إلى وجود عوامل مسببة مرضية جرثومية أخرى تسهم في إحداث التغيرات الجلدية التي تصيب أسماك الكارب.

٢-٣ تأكيد جنس العامل المسبب بتقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR:

وجد بحسب تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR أن جراثيم جنس الإيروموناس قد وجدت في ٩٢,٥% من الأسماك المصابة بالمرحلة الابتدائية، وبنسبة أقل من أسماك المراحل الثانوية والمتقدمة ٧٦,٦ % و ٢١,١ % على التوالي، ويتوافق ذلك بدرجة عالية جداً مع نتائج العزل الجرثومي(Austin *and* Austin, (2007، وهذا يتوافق مع ما ذكر في كثير من الدراسات

والتقارير بأن جراثيم الإيروموناس هي المسبب الرئيس لمرض التهاب الجلد الأحمر عند أسماك الكارب، وتسبب خسائر اقتصادية كبيرة في مزارع الأسماك (Altwegg *et al.,* (1988); Pathiratne *et al*., (1994); Dermata *et al*., (1999) Nielsen *et al.,* (2001).

٣-٣ تحديد أنواع جنس الإيروموناس المسببة للمرض:

عزلت جراثيم الإيروموناس سالمونسيدا نويع أكروموجينس *Aer. salmonicida* subsp. *achromogenes* في ٨٩,٢% من المرحلة الابتدائية، بينما عزلت جراثيم الإيروموناس سالمونسيدا نويع سالمونسيدا *Aer. salmonicida* subsp. *Salmonicida* ، وجراثيم الإيروموناس هيدروفيلا *Aer. hydrophila* بنسب أقل بكثير ٩,٥% و ١,٤% على التوالي.

وتشير هذه النتائج إلى أن جراثيم الإيروموناس سالمونسيدا نويع أكروموجينس *Aer. salmonicida* subsp. *achromogenes* هي المسبب المرضي الأكثر احتمالية في إحداث مرض التهاب الجلد الأحمر عند أسماك الكارب Carp Erythrodermatitis (CE) ؛ لأنها الأكثر عزلاً من المراحل الابتدائية التي منها تنشأ الآفات المرضية وتتطور على جلد الأسماك، وهذا يتوافق مع ما أشار إليه (Austin *and* Austin, 2007)، إلا أن وجود النوعين الآخرين في المراحل الابتدائية بنسبة ضئيلة ربما يعود لتأثير ثانوي لهما في تطور الإصابة، ويؤكد ذلك أن نسبة عزل هذين النوعين تزداد مع تقدم الحالة المرضية إلى القرحات المتوسطة والمتقدمة، وهذا يتوافق مع ما أشار له (McCarthy, 1977).

وبينت نتائج هذه الدراسة كذلك أن جراثيم الإيروموناس سالمونسيدا نويع سالمونسيدا *Aer. salmonicida* subsp. *salmonicida*، جاءت في المرتبة الثانية من حيث نسبة الإصابة بالمراحل الابتدائية للمرض عند أسماك الكارب، والتي بلغت ٩,٥%، وقد توافقت هذه النتيجة مع

ما ذكره .(Austin & Austin, 1999) بأن هذه الجراثيم تكون مصاحبة، ومسببة للقرحات عند أسماك الكارب.

كذلك أشارت نتائج هذه الدراسة بأن جراثيم الإيروموناس هيدروفيلا *Aer. hydrophila* هي من بين جراثيم الإيروموناس المتحركة، والتي سببت القرحة عند أسماك الكارب بنسبة إصابة بلغت ١,٤%، وتتوافق هذه النتيجة مع ما ذكره بعض الباحثين بأن هذه الجراثيم هي من بين جراثيم الإيروموناس المتحركة، والتي تشمل إلى جانبها جراثيم الإيروموناس هيدروفيلا وأ. فيرونيي التي تسبب الأمراض عند أسماك الكارب، وينتج عنها معدلات نفوق عالية (Popoff and VéEron,1976; Garrity *et al.*, 2004). وعموماً فقد توافقت نتائج هذه الدراسة مع ما توصل إليه (دعبول،٢٠٠٩) من أن جراثيم الإيروموناس كانت من أهم جراثيم الإيروموناس التي عزلت من أسماك الكارب، واختلفت معه بنسبة العزل، ويعود السبب الى أن الباحث عزل جراثيم الإيروموناس من أسماك مصابة بالتهاب الجلد، ومن أسماك سليمة ظاهرياً، ومن المعروف أن جراثيم الإيروموناس تتواجد في البيئة المائية التي تعيش فيها الأسماك بشكل طبيعي وغير مرضي.

٤ -معالجة مرض التهاب الجلد الأحمر:

٤- ١ اختبار الحساسية للمضادات الحيوية:

كانت العزلات كلها مقاومة للأمبيسلين والسيفالكسين، وهذا يتوافق جزئياً مع ما توصل له Barnes *et al.*, (1994) ومتوسط الحساسية للأوكسي تتراسيكلن والدوكسي سايكلين والأنروفلوكساسين والسيبروفلوكساسين، وكانت العزلات حساسة لكل من السلفاديازين مع التريميثوبريم و الأريثرومايسين، والفلوماكوين، والنيومايسين، والجنتامايسين، وكان أفضلها على العموم: الفلورفينيكول: والنتروفوران، وهما أكثر المضادات الحيوية تأثيراً في جراثيم الإيروموناس سالمونسيدا

نويع أكروموجينس *Aer. salmonicida* subsp. *achromogenes* المسبب المرضي المفترض لمرض التهاب الجلد الأحمر عند أسماك الكارب(CE) Carp Erythrodermatitis ، وهذا ينسجم مع اعتبار الفلورفينيكول مضاداً حيوياً واعداً في مراجع علمية عدة، بناءً على نتائجه الجيدة في معالجة مرض الدمل (الفرينكلوزس) عند الأسماك في النيرويج (Nordmo *et al*, 1994; Samuelsen *et al*, 1998)، ورغم أن المعلومات عن الأمراض التي تسببها جراثيم الإيروموناس سالمونسيدا كمرض التهاب الجلد الأحمر غير كافية (Austin *and* Austin, 2007).

وكانت كل عزلات جنس الإيروموناس حساسة لكل من الستربتومايسين وجنتامايسين والأريثرومايسين، بينما كانت ٧٨% من العزلات مقاومة للأوكسي تتراسيكلين، وهذا يتوافق على العموم مع ما توصل إليه (Guz *and* Kozinska, 2004) الذي اختبر حساسية عزلات من جنس الإيروموناس لـ ٢٢ مضاد حيوي، ووجد أن جراثيم هذا الجنس حساسة للتريميثوبريم، والفلوماكوين، والكلورامفينيكول، والبفلوكساسين، وكانت كل الذراري مقاومة للأموكسيسيلين والبنسلين، وتختلف نتائج هذا البحث جزئياً مع ماتوصل له (Banu, 1996) من أن جراثيم جنس الإيروموناس مقاومة جداً للأوكسي تتراسيكين، إذ تبين في هذه الدراسة أنها ذات حساسية متوسطة له ، وربما يعود ذلك إلى اختلاف ظروف الاستخدام، وربما للتركيز على مضادات أخرى في مناطق التربية في سورية، ويتضح من النتائج، التفاوت في حساسية عزلات النوع الجرثومي نفسه للمضاد الحيوي نفسه، وربما يعود ذلك إلى تباعد المناطق التي عزلت منها الجراثيم، واختلاف المعالجات المطبقة في كل منطقة، واجتماع مقاومة الأنواع المعزولة بمعظم ذراريها ربما يعود إلى

الاستخدام غير الصحيح لهذا المضاد الحيوي، أو استخدامه لمدة طويلة أو إلى خصائص تتمتع بها جراثيم جنس الإيروموناس، وهي نقاط أشار إليها (Swann *and* White, 1991).

٤ - ٢ تطبيق معالجة مرض التهاب الجلد الأحمر:

إن تأثير المعالجة بالمضاد الحيوي مع عوامل مساعدة أو بدونها كان حاسماً في تخفيض متوسط عدد القرحات عموماً، لاسيما في المراحل الابتدائية للمرض، متمثلة في القرحات الأولية فقط، وربما يعود ذلك إلى سيادة جرثوم الإيروموناس سالمونسيدا نويع أكروموجينس، والذي كان حساساً بنسبة ٧٧,١%، وكان تأثير العلاج بالفلورفينكول أفضل في القرحات الأولية منه في القرحات الأخرى، والأدق أن المضاد الحيوي كان أكثر فعالية في المراحل المبكرة للمرض.

وقد تناقص هذا التأثير بتقدم الحالة المرضية إلى الحالة المتوسطة والمتقدمة، فضلاً عن ذلك فقد لوحظ تحسن طفيف في مجموعة الشاهد بحوالي ٦,٩%، وكان هذا التحسن أوضح في المراحل الابتدائية أكثر منه في المراحل المرضية الأكثر تطوراً للمرض، وهذا يمكن أن يعلل بدخول الأسماك في المراحل الابتدائية في طور الشفاء نتيجة تحسن بعض المؤشرات البيئية المحيطة بالأسماك مع تربيتها في شروط المختبر (Austin *and* Austin, 2007).

وبشكل عام كان للمعالجات المساعدة بالفيتامينA ، وأوكسيد الزنك أثر طفيف في خفض متوسط عدد القرحات بواقع ٧,١٤%، ولكنه أسهم بتأثير تآزري مع المعالجة بالفلورفينكول ومغاطس برمنغنات البوتاسيوم، إذ كان للمغاطس دور حاسم في تقليل التعداد الجرثومي في القرحات بالتماس، وكان للمضاد الحيوي دور أوضح في المراحل الابتدائية في معالجة المسبب الرئيس، بينما ساعدت المعالجة المساعدة المكونة من فيتامين A، وأوكسيد الزنك على التئام القرحات، وتغيير مقومات القرحة، وتوجيهها باتجاه الشفاء.

ظهر لدينا بوضوح أنه كان للمعالجة بالمضاد الحيوي مع العوامل المساعدة والمغاطس أثر شبه تام في خفض متوسط عدد القرحات عموماً، وبنسبة مئوية ٧٧,٩٥%، وكان تأثيره العلاجي في المرحلة الابتدائية تاماً بنسبة ٩١,٣%.

وهذا الاختلاف في نسبة التأثير العلاجي يرجع بشكل قوي، كون المرحلة الابتدائية أقل تعقيداً؛ إذ كانت الآفات صغيرة، وكلها من نمط القرحات الأولية، والعامل المسبب بنسبة كبيرة هو: الإيروموناس سالمونسيدا نويع أكرموجينس، فضلاً عن أن لتأثير وسط التربية والمعالجات المساعدة والمغاطس لها دور كبير في حسم الشفاء، ووصوله إلى هذه الدرجات المرتفعة Nordmo *et al*, (1994).

أما في الحالات المتقدمة والثانوية كانت نسبة الشفاء ٧٧,٩٥%، لوجود عدد من الجراثيم المشاركة في تطور القرحات مع إمكانية مقاومة هذه الجراثيم للعلاج التجريبي بالمضاد الحيوي، ومن ثم فقدان تأثيره في الجراثيم المتواجدة في القرحة في بعض الحالات Swann *and* White, (1991)، كما أن زيادة حجم القرحات، فضلاً عن تمركز الجراثيم بين طبقتي البشرة والأدمة تحت الحطام الخلوي قد وقى هذه الجراثيم من تأثير المغاطس بدرجة معينة.