الجمهورية العربية السورية

جامعة حماة

كلية الطب البيطري

قسم الصحة العامة والطب الوقائي

دراسة مرض تعفن الزعانف عند أسماك الكارب الذهبي

أطروحة مقدمـــة لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية

اختصاص تربية الأسماك وأمراضها

إعداد

طالبة الدراسات العليا بسمه سامر العبدان

بإشراف

الدكتور أحمد حمدي السمان

أستاذ تربية الأسماك وأمراضها

مشرفاً علمياً

الدكتور مرهف لحلح

أستاذ مساعد بيولوجيا الأسماك

مشرفاً مشاركاً

2020 م / 1441 هـ

كلمة شكر وامتنان

الشكر والحمد لله دوماً وأبداً . . . . أسطر بفخر إهدائي هذا

إلى أساتذتي الدكتور أحمد حمدي السمان والدكتور مرهف لحلح، اللذان تفضلا مشكورين بالإشراف على هذا البحث، فلم يدخرا جهداً في مساعدتي ، فكان لملاحظاتهما القيمة وتوجيهاتهما السديدة، وأخلاقهما الطيبة ومعاملتهما الكريمة الأثر الكبير في إنجاز هذا البحث وتقديمه بهذه الصورة فلهم مني عظيم الشكر والامتنان ودوام الصحة والتوفيق .

كما أتوجه بالشكر للأساتذة لجنة الحكم : الدكتور أمير إبراهيم والدكتور أشرف الصالح لجهودهم العظيمة في تدقيق وتحكيم هذا البحث وإثراءه بمعلوماتهم القيمة ، لهم مني فائق الاحترام والاعجاب والتقدير .

وأتقدم بخالص الشكر والتقدير إلى كنوز العلم ومشاعل النور في كليتي الحبيبة، كلية الطب البيطري ممثلة بعميد الكلية الدكتور سامر إبراهيم، وأساتذتي في قسم الصحة العامة والطب الوقائي لكم مني طيب الكلام والشكر والامتنان .

ولا يفوتني أن أرسل تقديري وشكري لرئاسة جامعة حماه ممثلة بالأستاذ الدكتور محمد زياد سلطان رئيس جامعة حماه لدعمه وتشجيعه لطلبة البحث العلمي ، والدكتور محمد أمين صباغ رئيس شعبة الدراسات والبحث العلمي بحماه الذي مد لي يد العون فكان لمساعدته الأثر الكبير في إظهار هذا البحث بأبهى صورة ، لك مني كل الشكر والتقدير والامتنان .

وأتوجه برسالة شكر خاصة إلى من زرع التفاؤل في دربي وقدم لي المساعدة والأفكار فكان خير سند وخير داعم، المتألق برحابة صدره وسعة فكره، صاحب الأصل الطيب الدكتور عمر المدني .

إلى الحبيبة التي لا كلام في العالم يعبر عن حبي لها ويصف ما قدمت وما ضحت به لأجلي

من ترخص النفس لها . . . إلى أمي كنزي وثرائي ونهائي .

إلى مأمني وأماني وسر ابتسامتي ، سندي وعضدي ونور عيني من قاسمني ألمي وأشعل شموع التضحية . . . إلى نصفي الثاني وشريك حياتي محمد نور .

إلى من ملؤو حياتي بالراحة والسعادة . . . إلى شقيقات الروح قبل الدم والجسد . . .

إلى موطن الدفء إخوتي .

إلى من معهم سعدت وبرفقتهم أفتخر . . . إلى من كانو الحياة وراحة البال . . أصدقائي جميعاً .

إلى كل جندي مجهول قدم لي عوناً ، أو مد يداً لي أو نثر دعوة في طريقي ، أو رمى كلمة طيبة في نفسي

شكراً من قلب أتعبته مشقة الطريق، يغمره يقين بالله العزيز الذي قال في كتابه

(إنا لا نضيع أجر من أحسن عملا) ۝٣٠

شكراً ودمتم

2020/4/9م

بسمه العبدان

شهادة

أشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة هو نتيجة بحث قامت به المرشحة طالبة الدراسات العليا الطبيبة البيطرية **بسمه سامر العبدان** لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية باختصاص **تربية الأسماك وأمراضها** تحت إشراف الدكتور **أحمد حمدي السمان** الأستاذ في قسم الصحة العامة والطب الوقائي في كلية الطب البيطري جامعة حماة والمشرف المشارك الدكتور **مرهف لحلح** أستاذ مساعد بيولوجيا الأسماك في كلية الطب البيطري، وأي رجوع إلى بحث أخر في هذا الموضوع موثق في النص.

المرشحة	المشرف المشارك	المشرف العلمي
بسمه العبدان	أ.م.د مرهف لحلح	أ.د أحمد حمدي السمان

التاريخ: / / 2020

Certificate

It is hereby certified that the work described in this thesis is the result of author's Dr.Basma Alabdan (specialization fish Rearing and Diseases) own investigation under the supervision of Dr. Ahmed Hamdi Al-Samman, (Prof in the Department of Public Health and Preventive Medicine in Faculty of Veterinary Medicine,Hama University) and Dr. Murhaf Lahlah (Assistant Professor of Fish Biology), and any reference to other researcher work has been acknowledged in the text.

Candidate

Basma Alabdan

Supervisor

prof. Ahmed Hamdi Al-Samman / Assistant prof. Murhaf Lahlah

Data: / / 2020

تصريح

أصرح أن هذا البحث الموسوم بعنوان:

" دراسة مرض تعفن الزعانف عند أسماك الكارب الذهبي "

لم يسبق أن قُدّم للحصول على أي شهادة وهوغير مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المرشحة: بسمه سامر العبدان

التاريخ: / / 2020

Declaration

It is hereby declare that this work under title:

Study of Fin Rot disease in Gold carp fish (*Carassiu auratus*)

Has not already been accepted for any degree, nor is being submitted concurrently for any other degree.

Candidate:Basma Alabdan

Data: / / 2020

المحتويات

المحتويات التفصيلية للرسالة

التصنيف	العنوان	رقم الصفحة
1	**المقدمة وأهداف البحث**	**1**
2	**الدراسة المرجعية**	**3**
1-2	الكارب الذهبي	**4**
2-2	تعريف مرض تعفن الزعانف	**5**
1-2-2	العوامل المهيئة للمرض	**5**
2-2-2	الأعراض المرضية	**7**
3-2	العامل المسبب لمرض تعفن الزعانف	**8**
1-3-2	الجراثيم الغازية	**10**
2-3-2	جراثيم الزوائف	**12**
4-2	إمراضية العامل المسبب لمرض تعفن الزعانف	**14**
5-2	عزل العامل المسبب وصفاته الكيمياحيوية	**15**
6-2	حساسية العامل المسبب للصادات الحيوية	**17**
7-2	العدوى التجريبية للعامل المسبب	**19**
3	**مواد وطرائق العمل**	**21**
1-3	موقع الدراسة	**22**
2-3	جمع العينات	**22**
3-3	أوساط الزرع الجرثومي	**24**
1-3-3	الأدوات والصبغات المستخدمة في الدراسة الجرثومية	**24**
2-3-3	الأوساط المستخدمة في الدراسة الجرثومية	**24**

3-3-2-1	تحضير المرق تريبتون الصويا (TSB)	**24**
3-3-2-2	تحضير وسط أغار تريبتون الصويا (TSA)	**24**
3-3-2-3	تحضير وسط الاغار المدمم	**24**
3-3-2-4	تحضير وسط أغار ماكونكي	**25**
3-3-2-5	تحضير وسط قاعدة عزل الايروموناس	**25**
3-3-2-6	تحضير وسط أغار مولر هنيتون	**25**
3-3-2-7	تحضير وسط الاغار المغذي	**26**
3-3-2-8	تحضير اختبار الاكسدة والتخمير	**26**
3-3-2-9	تحضير المجموعة التشخيصية من الاختبارات الكيمياحيوية	**26**
3-4	طرائق العمل	**27**
3-4-1	طرق أخذ العينة	**27**
3-4-1-1	من الأسماك	**27**
3-4-1-2	من المياه	**27**
3-4-2	تصنيف مراحل المرض	**28**
3-5-1	الزرع والعزل الجرثومي	**29**
3-5-1-1	مراحل العزل الجرثومي	**29**
3-5-1-2	اكثار الجراثيم على المرق	**31**
3-5-1-3	الزرع على وسط تريبتون الصويا	**31**
3-5-1-4	اجراء صبغة غرام	**31**
3-5-1-5	اختبار الكاتلاز	**32**
3-5-1-6	اختبار الاوكسيداز	**32**
3-5-1-7	اختبار الاكسدة والتخمير	**32**

3-5-2	الزرع على المنابت التمييزية والإنتقائية	**33**
3-5-2-1	الزرع على وسط الايروموناس	**33**
3-5-2-2	الزرع على وسط ماكونكي	**33**
3-5-2-3	الزرع على الوسط المدمم	**33**
3-5-3	تنقية العزولات الجرثومية	**34**
3-5-4	اجراء الاختبارات الكيماحيوية باستخدام المجموعة التشخيصية	**34**
3-5-5	اجراء اختبار الحساسية تجاه الصادات الحيوية	**35**
3-5-6	طريقة حفظ العينات	**38**
3-5-7	طريقة قياس الحمولة الجرثومية للمياه	**38**
3-6	اجراء العدوى التجريبية	**41**
3-6-1	اسماك التجربة	**41**
3-6-2	طريقة العمل	**41**
3-6-3	مجموعات أسماك العدوى التجريبية	**42**
3-6-3-1	المجموعة الأولى	**42**
3-6-3-2	المجموعة الثانية	**42**
3-6-3-3	المجموعة الثالثة	**42**
3-6-3-4	المجموعة الرابعة	**43**
3-6-3-5	المجموعة الخامسة	**43**
3-6-3-6	المجموعة السادسة	**43**
3-6-4	تقييم ضراوة العترات المستخدمة في العدوى التجريبية	**43**
3-7	الدراسة الإحصائية	**44**
4	**النتائج**	**47**

1-4	مجموعة الأسماك السليمة ظاهرياً	**48**
2-4	مجموعة الأسماك المريضة ظاهرياً	**48**
1-2-4	المرحلة (I)	**48**
2-2-4	المرحلة (II)	**48**
3-2-4	المرحلة (III)	**48**
4-2-4	المرحلة (IV)	**49**
3-4	الفحص الجرثومي لعينات الأسماك المدروسة	**49**
4-4	فحص الماء فيزيوكيميائياً وجرثومياً	**53**
5-4	تحديد هوية العامل المسبب للمرض	**54**
1-5-4	الاختبارات الكيمياحيوية لجنس الغازية	**54**
2-5-4	الاختبارات الكيمياحيوية لجنس الزائفة	**55**
6-4	اختبار الحساسية لعزلات الغازية والزائفة	**56**
1-6-4	اختبار الحساسية لجنس الغازية	**56**
2-6-4	اختبار الحساسية لجنس الزائفة	**59**
7-4	اختبار العدوى التجريبية	**62**
5	**المناقشة**	**65**
1-5	العزل الجرثومي للعامل المسبب	**66**
2-5	المياه مع توزع المراحل المرضية	**68**
3-5	تحديد هوية العامل المسبب للمرض	**69**
4-5	اختبار الحساسية تجاه الصادات الحيوية	**70**
5-5	العدوى التجريبية	**72**
6	**الاستنتاجات والتوصيات**	**74**

1-6	الاستنتاجات	**75**
2-6	التوصيات	**76**
7	**المراجع**	**77**

فهرس الجداول

رقم الجدول	رقم الصفحة	المحتوى
1-2	16	الاختبارات الكيميا حيوية لجنس الغازية وجنس الزوائف
2-3	23	عدد الأسماك المجموعة من أحواض التربية في محال البيع
3-3	33	تفسير نتائج اختبار الأكسدة والتخمير
4-3	36	أنوع وتراكيز الصادات الحيوية المستخدمة في الدراسة وحساسية الجراثيم حسب أقطار منع النمو بالميليمتر.
5-4	49	عدد أفراد الأسماك حسب المراحل المرضية
6-4	50	توزع العزلات الجرثومية في الزعانف حسب المرحلة المرضية
7-4	52	توزع العزلات الجرثومية في الكلى حسب المرحلة المرضية
8-4	53	نتائج فحص الماء فيزيوكيميائياً وجرثومياً
9-4	54	نتائج الاختبارات الكيمياحيوية لجنس الغازية
10-4	55	نتائج الاختبارات الكيمياحيوية لجنس الزائفة
11-4	57	نتائج اختبار الحساسية لجنس الغازية
12-4	59	نتائج اختبار الحساسية لجنس الزائفة
13-4	62	نتائج اختبار العدوى التجريبية

فهرس الأشكال

رقم الشكل	رقم الصفحة	المحتوى
1-3	28	(a) المرحلة (I)، (b) المرحلة (II)، (c) المرحلة (III)، شكل (d) المرحلة (IV)
2-3	30	مخطط مراحل العزل الجرثومي
3-3	39	(a) أحواض تربية الأسماك ، (b) طريقة نقل الأسماك، (c) طريقة أخذ العينات من الزعانف.
4-3	40	(a) عبوات الأوساط الزرعية، (b) تحضير الأغار المدمم، (c) الاختبارات الكيمياحيوية.
5-3	45	(a) أحواض اجراء العدوى التجريبية، (b) تحضير الجرعة المحقونة في التجربة، (c) اختبار العد الجرثومي للعزلات المستخدمة في التجربة.
6-3	46	(a) المواد المطلوبة لإجراء العدوى التجريبية، (b) طريقة الحقن في العضلات على جانبي الزعنفة الظهرية،(c) إضافة المرق الذي يحتوي على العزلات الى الأحواض لإجراء العدوى عن طريق الماء.
7-4	51	توزع العزلات الجرثومية في الزعانف حسب المرحلة المرضية
8-4	52	توزع العزلات الجرثومية في الكلى حسب المرحلة المرضية
9-4	63	(a) طريقة العمل على اختبارات الكيمياحيوية، (b) مستعمرات الزوائف على منبت ماكونكي، (c) التحلل الدموي على منبت الاغار المدمم، (d) مستعمرات الايروموناس على منبت أغار الايروموناس، (e) النتيجة الإيجابية لاختبار الأوكسيداز، (f) نتائج اختبار OF.
10-4	64	نتائج اختبار الحساسية

جدول المصطلحات العلمية وقائمة الاختصارات

الاختصار	المعنى باللغة الانكليزية	المعنى باللغة العربية
A	*Aeromonas*	الجراثيم الغازية
P	*Pseudomonas*	جراثيم الزوائف
API	Analytical Profile Index	مؤشر الملف التحليلي
T.B.C	Total Bacterial count	التعداد الجرثومي الكلي
TSB	Tryptone Soya Broth	مرق تريبتون الصويا
TSA	Tryptone Soya Agar	اغار تريبتون الصويا
CFU	Colony forming unit	وحدة مشكلة للمستعمرة
OF	Oxidation &Fermentation	الاكسدة والتخمير
DO	Dissolved oxygen	الأوكسجين المنحل
pH	Power of hydrogen	قوة الهيدروجين
OD	Optical density	الكثافة البصرية
TH	Total hardness	العسر الكلي
TDA	Phenylalanine analysis	تحليل فينيل الانين

الملخص باللغة العربية:

هدفت هذه الدراسة إلى الكشف عن مرض تعفن الزعانف عند أسماك الكارب الذهبي من خلال تشخيص المرض بأعراضه وعزل العامل المسبب من الآفات المرضية، ودراسة حساسية العوامل المسببة للمرض، حيث أجريت هذه الدراسة على 150 عينة سمكية أغلبها مصابة بتعفن الزعانف وقسمت حسب ظهور الأعراض الخارجية إلى أربع مراحل هي الأولى والثانية والثالثة والرابعة.

أظهرت نتائج العزل والزرع الجرثومي من الزعانف التي يظهر عليها تغيرات مختلفة كالتأكل أو التهتك أنه أعلى نسبة لجراثيم الايروموناس والبسيدوموناس في المرحلة الأولى للمرض وبلغت 40%و52% على التوالي، وفي المرحلة الثانية للمرض بلغ معدل جراثيم الايروموناس 35.3% والبسيدوموناس 44.1% وفي المرحلة الثالثة كان معدل جراثيم الايروموناس 14.9% والبسيدوموناس 31.9% أما في المرحلة الأخيرة للمرض كانت النسبة9.1% و18.2% لجراثيم الايروموناس والبسيدوموناس على التوالي. وقد أعتبرت جراثيم الايروموناس والبسيدوموناس هي العامل المسبب للمرض لارتفاع نسبة عزلها من أغلب مراحل المرض، كما أظهرت النتائج أيضاً أن العامل المسبب في البداية يتركز في الزعانف أما في الكلى فبنسب قليلة جدا، ومع تقدم سير الحالة المرضية تزداد هذه الجراثيم بشكل كبير جداً لتصل الأسماك الى مرحلة التسمم الدموي العام.

أظهرت نتائج تحليل عينات مياه الأحواض أن ارتفاع الحمولة الجرثومية والأمونيا والpH وانخفاض الأوكسجين المنحل تعتبر من العوامل الممهدة لدخول المرض وانتشاره.

بين اختبار الحساسية التحسس تجاه بعض الصادات الحيوية مثل: الأميكاسين والجنتامايسين ,الازيترومايسين, السلفاترايموثبريم, السيفاكلو الفلورفينكول, الفوسفو, النتروفيوران والنيومايسين.

وعند اجراء العدوى التجريبية تبين أن العزلات الجرثومية المعزولة من الاسماك المصابة تكون شديدة الفوعة، وتسبب حالات نفوق عالية في حالة الحقن العضلي، كما أن الاذية الخارجية تسهل دخول العدوى، بينما السليمة لا تسبب لها النفوق.

1- المقدمة وأهداف البحث:

يعتبر قطاع الثروة السمكية والأحياء المائية في الوطن العربي من القطاعات المهمة اقتصادياً والتي تعاني من بعض أوجه القصور وقلة المعلومات والبيانات المتاحة حول تربية الأحياء المائية.

كما يتسم هذا القطاع بالتباين بين الدول فيما يتعلق بمستوى الإنتاج من ناحية ومستوى الاستزراع من ناحية أخرى وذلك بسبب عدم التشخيص المناسب لعمليات التربية، سواء كانت في مجال تربية أسماك التغذية أو أسماك الزينة.

إذ لا يوجد في الوطن العربي مشاريع تهتم بأسماك الزينة بشكل خاص وتعتبر حالياً من أحد أهم القطاعات في مجال تربية الأسماك حيث يوجد في المملكة العربية السعودية مشروع وحيد لتربية أسماك الزينة في المياه العذبة (المنظمة العربية للتنمية الزراعية،2008).

حيث أن تربية الأسماك ليست هواية فحسب، بل هي علم له أسسه وتطبيقاته، والأسماك هي حيوانات فقارية من ذوات الدم البارد، وهي أكثر الانواع عدداً، تسكن البيئة المائية وتغطي 40% من نسبة الحيوانات الفقارية.

تختلف في أحجامها فهناك مالا يزيد طولها وهي بالغة عن (1-7) سم كأسماك الزينة التي تربى في أحواض، ومنها في البحار تكون هائلة الحجم.

تعد أسماك الزينة من أجمل أنواع الأسماك التي يمكن اقتناؤها وتربيتها في الأحواض، وأصبحت جزء لا يتجزأ من الديكورات الحديثة لما لها من أشكال جميلة وألوان زاهية، وقد أثبتت بعض الدراسات أن أسماك الزينة تزيد الاحساس بالهدوء والطمأنينة.

وقد أشارت دراسات أخرى أن الأشخاص الذين يقضون وقتاً في الأماكن التي تحتوي أحواضاً للأسماك تتحسن صحتهم النفسية والعقلية، وهذه الدراسة أو التجربة هي الأولى من نوعها والتي تظهر نتائج في مجال البيئة والسلوك (Cracknell *et al*., 2016).

ونظراً للتوسع السريع في تربية الأحياء المائية أصبحت أمراض الأسماك أحد العوامل الأساسية في إنتاج الأسماك (Rahman and Chowdhury,1996).

ومن جهة أخرى تعيش في البيئة المائية أحياء أخرى غير الأسماك، والتي تتضمن أنواعاً من الجراثيم، تعيش على بقايا النباتات والرواسب، بالإضافة إلى العوالق النباتية والحيوانية، كما أن بعض هذه الأحياء تعيش على الجلد والخياشيم وضمن الجهاز الهضمي للأسماك وتكون إما على هيئة غذاء أو أنها تساعد على الهضم، أو أن لها تأثير مفيد للجهاز المناعي.

كما يمكن لهذه الاحياء الدقيقة التأثير على صحة الأسماك وبالتالي قد تسبب العديد من الأمراض، حيث توجد العديد من الدراسات العلمية التي تبحث في العلاقة بين الأسماك وبعض المسببات المرضية وخاصة الجرثومية (Johnson and Paull ,2011; Safińska,2018).
حيث توجد العديد من الامراض الجرثومية التي تصيب أسماك الزينة والتي تؤثر سلباً على صحة وجمالية شكلها لذلك كان لابد من دراسة هذه الأمراض والتعرف على طرق السيطرة عليها، ومن أهم هذه الأمراض الجرثومية المنتشرة في أحواض تربية الأسماك عامة وأسماك الزينة خاصة هو مرض تعفن الزعانف *Fin rot*.

أهداف البحث:

1- تشخيص مرض تعفن الزعانف عند أسماك الكارب الذهبي.
2- عزل وتصنيف العامل المسبب لمرض تعفن الزعانف عند أسماك الكارب الذهبي.
3- اجراء اختبار الحساسية للعزولات ضد الصادات الحيوية المستخدمة محلياً.

2-الدراسة المرجعية

Literature Review

2- الدراسة المرجعية:

1-2 الكارب الذهبي: (*Carrassius auratus*) Gold carp fish

هو نوع من أسماك المياه العذبة وتعتبر الصين واليابان الموطن الأصلي لها ومنهما انتشر في أرجاء العالم ليتخذ طعاماً أو يربى للزينة.

التصنيف :Classification (Joseph,2001)

Phylum	**Chordata**
Subphylum	Vertebrata
Superclass	Gnathostomata
Class	Actinopterygii
Order	Cypriniformes
Family	Cyprinidae
Genus	*Carassius*
Species	*Carassius auratus*

تعد أسماك الكارب الذهبي من أكثر الأسماك التي يشاع تربيتها في المنازل والأحواض كونها من الأسماك التي تعيش في المياه العذبة المائلة للملوحة كالأنهار والبرك الراكدة والبحيرات وغيرها.

تتغذى أسماك الكارب الذهبي على العوالق واللافقاريات القاعية، والمواد النباتية والمخلفات، وتنمو في بعض الأحيان لتبلغ طولاً – 48 سنتمتر - ويصل وزنها حوالي 4.5 كغ، وتعيش في أحواض غير مدفأة (20-22) م، وتضع الأسماك بيوضها على النباتات المغمورة، كما تفرخ الإناث عدة مرات خلال فترة التفريخ، ويبدأ نشاط التبويض في فصل الربيع (Roots, 2007; Joseph, 2001).

2-2 تعريف مرض تعفن الزعانف:

هو مرض جرثومي يصيب الأسماك ويتم توزعه بشكل واسع في البلدان الاستوائية والمعتدلة ويتميز بوجود بقع رمادية بيضاء على الجسم وأيضاً تأكل في الجلد والزعانف.

معظم أنواع الأسماك معرضة لهذا المرض ويسبب وفيات كبيرة (Frerichs and Roberts ,1989;Noga,2000). كما يعرف على انه تهدم مستمر للزعانف ويدعى أيضاً بتعفن الذنب *Tail rot* لأنه يصيب المنطقة الخلفية للأسماك، (Bodammer, 2000)، وقد تم الكشف على مرض تعفن الزعانف في مزارع الأسماك المختلفة لأن معدل الإصابة به قد ارتفع في السنوات الأخيرة (Faruk *et al*.,2004).

وبالرغم من إمكانية العثور على الاصابة في الأسماك البرية إلا أنها تكون أعلى في الاسماك المستزرعة (Kahn *et. al*., 1981) ، لذلك اعتبره البعض وسيلة للتفريق بين أنواع الأسماك المستزرعة والأسماك البرية (Lund *et al*., 1989) . ويعتبر تآكل الزعانف هو أحد المقاييس الهامة لصحة الاسماك (Noble *et.al*.,2007)، وهو حالة شائعة تحدث غالبا في الأسماك التي يتم تربيتها بشكل مكثف (Laromyeux & Piper, 1971).

2-2-1 العوامل المهيئة للمرض:

توجد العديد من العوامل الممهدة للمرض منها سلوك الأسماك، الحمولة الجرثومية للمياه، طبيعة البيئة ونوعية التغذية (Latremouille, 2003).

كما أن تذبذب درجة الحرارة على نطاق واسع والملوحة غير المستقرة وانخفاض مستويات الأكسجين المذاب، بالاضافة الى الاصابات الميكانيكية والهجمات الجرثومية والطفيلية كلها لها تأثير كبير على تآكل الزعنفة (Barker *et al*., 1994).

كما أن الكثافة العالية في الأحواض تؤدي الى اجهاد الأسماك وبالتالي ارتفاع مستويات الكورتيزول في البلازما مما يؤدي لزيادة العدوان بينها (Pickering & Pottinger, 1989).

وقد يسبب السلوك العدواني والتنافس على الغذاء ضمن أحواض التربية الى حدوث تأكل بالزعانف بسبب وجود سباحة قوية ومتسارعة للتنافس على الغذاء مما يساهم بشكل غير مباشر في حدوث تعفن الزعانف (Krohn & Boisclair, 1994)، وتزداد حالات المنافسة الغذائية عند اعتماد نظام التغذية ضمن ساعات محددة مما يسهم في زيادة انتشار حالة تعفن الزعانف

(Ryer & Olla 1995, Almazan-Rueda *et al*., 2004) . وبينت بعض الدراسات أن تآكل الزعانف في الأسماك يحدث بشكل معقد وموسمي، ويتعلق أيضًا ذلك بحجم الأسماك، ونظام التربية ونظام التغذية، كما يحدث عندما يتم صيد الأسماك بشكل مفرط (Grant,2007)

وأظهرت دراسات أخرى أن الأسماك التي نمت بشكل أسرع لديها معدلات أكثر من تآكل الزعانف وذلك بسبب هيمنة الأقوى حيث كلما كانت الأسماك أكبر وأثقل زادت عندها حالات الإصابة (MacLean e*t al.,* 2000) .

على العكس في دراسات أخرى حيث أكدت أنه لا يوجد علاقة بين حجم الأسماك وتآكل الزعانف حيث أن الأسماك الأصغر هي الأكثر عرضة للهجمات من الأسماك الكبيرة (Abbott& Dill, 1985).

وأشارت دراسات أنه يمكن أن يكون لأسطح الأحواض أيضًا تأثير سلبي على تآكل الزعانف كالأسطح الكاشطة التي تسهم في ظهور تأكل الزعانف وأفات الجسم أيضاً (Larmoyeux &Piper, 1971) ، كما يمكن أن يلعب الاختلاف في درجات الحرارة دوراً في الحفاظ على الزعانف أو تأكلها حيث أن درجات الحرارة الأبرد تلعب دوراً في امتداد تأكل الزعانف عند أسماك السلمون (Schneider & Nicholson, 1980) ،على عكس أسماك أخرى مثل أسماك Steelhead fish التي تستفيد من درجات الحرارة الأكثر دفئاً (Winfree *et al*., 1998).

ولوحظ أن تأكل الزعانف يرتبط أيضاً بمستويات الأكسجين المنخفضة بالمقارنة مع مستويات الأكسجين المرتفعة (Larmoyeux& Piper, 1973)، كما أن الماء الذي يحوي تركيزات عالية

من المعادن الثقيلة مثل الزنك والرصاص والكادميوم يزيد أيضاً من حالات تأكل الزعانف (Bangaramma & Lakshmi, 1999).

وأيضاً التلوث في الأسماك البرية يظهر معدلات أكبر من تأكل الزعانف بالمقارنة مع الأسماك القادمة من بيئات غير ملوثة (Reash & Berra, 1989).

وقد تبين أن وجود حالة مرض تعفن الزعانف يمكن أن يكون مؤشراً على صحة مصبات الأنهار وجودة المياه المربى فيها الأسماك. وهو أيضاً وسيلة لرصد أثار الإجهاد البيئي (Moles and Norcross, 1998)، ووجِد أن الارتباطات الواضحة بين علامات تعفن الزعانف وتلوث رواسب المياه أدى إلى استخدام حالة تعفن الزعانف كمؤشر لأمراض التلوث في الأسماك البحرية (O'Connor and Huggett, 1988; O'Connor *et al*., 1987).

كما تبين أن وجود تعفن الزعانف يزيد من إمكانية الإصابات الجهازية مثل Furunculosis (Horak,1969; Mahesh kumar,1995)، حيث وجد علاقة بين الكلى غير الطبيعية أو الضعيفة وحالة تعفن الزعانف مما يشير إلى العلاقة بين ضعف وظائف الكلى وتعفن الزعانف في الأسماك (Mahoney *et al*., 1973).

2-2-2 الأعراض المرضية:

تظهر الأعراض على شكل بقع رمادية اللون على الزعانف (Rahman *et al*., 2010)، وغالباً يمكن رؤية تآكل الزعانف في الزعنفة الظهرية الموصوفة بأنها تالفة وعادة ما تقصر في الحجم نتيجة الاحتكاك والهجوم العدواني من الأسماك الأخرى فيتطور التآكل إلى نخر الزعنفة والأسوأ من ذلك الى تعفن الزعنفة (Bodamer, 2000)، حيث يبدأ تأكل الزعانف عادة عند حدود الزعانف ونادراً ما تظهر فتحة عند منتصف الزعنفة (Chattoraj and Modak,2015).

ويصيب الأسماك الفتية والأسماك البالغة وتكون العدوى عبارة عن خط أبيض على حواف الزعانف ثم ينتشر على كامل الزعانف لتتعفن وتتلف كما يمكن أن يؤدي الى فقدان الزعنفة بشكل

كامل، وعادة تكون الزعانف متدلية بدلاً من أن تكون منتصبة، وعند فحص الزعانف عن قرب يلاحظ أنها ناعمة ومشدفة. وهو من الأمراض المعدية ويسبب أضرار جسيمة على الأسماك (Sharma *et al*.,2012)، وقد لا تكون الأضرار المعتدلة ضارة في البداية ولكن عندما تكون الأسماك مزدحمة أو متوترة وكان هناك تدهور في نوعية المياه، فإن الحالة تزداد بسرعة وتسبب أضراراً خطيرة للأسماك وخاصة أنها لا تتغذى جيداً وتصبح ضعيفة وعرضة للإصابة الثانوية (Turnbullet *et al*., 1996).

3-2 العامل المسبب لمرض تعفن الزعانف:

صنف Rodeick &kvenberg (1991) الجراثيم المسببة لأمراض الأسماك إلى قسمين:

- جراثيم مسببة للأمراض غير الأصلية
- جراثيم مسببة للأمراض الأصلية

حيث يقوم العامل الممرض غير الأصلي بتلويث الأسماك أو موائل الأسماك بطريقة او بأخرى وتشمل هذه العوامل الممرضة: المطثيات *Clostridium* -الليستريا *Listeria* -المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcu aureus*–السالمونيلا *Salmonella* - الشيغيلا *Shigella* – الاشريكية القولونية *E. coli* .

أما مسببات الأمراض الأصلية هي تلك الطبيعية التي تعيش في موطن الأسماك مثل أنواع الجراثيم الغازية (*Aeromonas*) – أنواع الزوائف (*Pseudomonas*)-والضمات (Kvenberg ,1991; Rodeick,1991).

وأشارت الأبحاث أنه لا يمكن تشخيص نوع واحد من الجراثيم المسببة لهذا المرض، فقد أمكن عزل جراثيم *Aeromonas* من الأسماك المصابة، وأمكن احداث المرض بصورة تجريبية،

وكذلك عزلت جراثيم الزائفة *Pseudomonas* من الأسماك الذهبية المصابة بتعفن الزعانف ((Bodammer, 2000

وقد وجد الباحثان Manshadi & Assareh (2014) في دراسة أُجريت في ايران على أسماك التروبيت أن العامل المسبب هو *Aeromonas hydrophila* 100 % من العينات المعزولة من الحالة المرضية، أما جراثيم الزائفة وجدت بالنسب التالية: 36.84 % *Pseudomonas fluorescens*، 31.57 % *Pseudomonas aeruginosa* و بنسبة 21.05 % *Pseudomonas putida*، وكانت 10.25 % من العزولات *Pseudomonas* غير معروفة .

وقام باحثون بدراسة على الأسماك الذهبية حيث تم عزل *A.hydrophila* و*P.putida* , من سطح جسم وزعانف الأسماك الذهبية المصابة بنزيف في الجلد والزعانف (Crouse-Eisnor *et al.*, 1985; Ostland *et al.*, 1989; Yildiz and Kumantas, 2002; Chowdhury *et al.*,2003; Chanda *et al.*, 2011; Kayis *et al.*, 2013).

وقام أيضاً الباحث وزملائه بعزل *A.hydrophila* من الأسماك الذهبية المصابة بآفات على الزعانف والرأس والكلى(Harikrishnan *et al.*,2009)، وقام Chowdhury (1998) في دراسة أجراها على أسماك المياه العذبة المصابة بتعفن زعانف حيث تم عزل *Aeromonas* و *Pseudomonas*،كما قام الباحث أيضا بعزل هذه الجراثيم من الأسماك المصابة بحالات التسمم الدموي(Rab *et al.*,2001).

وصرح Naderi and Maivan (2003) في دراسة أجراها على الكارب العاشب المصاب بتعفن الزعانف أن العزلات تنتمي *إلى A.hydrophila* و*A.cavia* و *pseudomonas*.

وتم عزل ايضاً عده أنواع جرثومية من أسماك الكارب المصابة بأذية في الزعانف وسطح الجسم وهذه الأنواع هي *A.hydrophila* و*A.cavia* و*P.flurescens* . (Xia *et al.,2004*)،

وعزلت *P.putida* من سطح جسم و زعانف أسماك الترويت في تركيا (Altinok *et al.,* *2006*).

1-3-2 الجراثيم الغازية *Aeromonas*:

تنتمي إلى عائلة Aeromonadaceae وهي عصيات سلبية الغرام، مستقيمة أو منحنية، لاهوائية مخيرة، أحادية السوط غير متحركة أو متحركة، تنمو على الأجار الدموي على شكل مستعمرات كبيرة الحجم مسطحة رمادية اللون ومحاطة بتحلل دموي كامل من نوع β، محبة للحرارة المعتدلة ، وتنتشر في مياه الصرف الصحي والتربة، يزداد وجودها مع زيادة كمية المادة العضوية، ويعتبر النوع *A.hydrophila* جزء من الفلورا الطبيعية في اسماك المياه العذبة ، وتعتبر مسبب مرضي انتهازي في الأسماك والزواحف وحتى أيضاً في الثدييات (Quinn *et al*.,2004).

ويوجد لهذا النوع العديد من الصفات المميزة والتي تشبه الى حد كبير عائلة الامعائيات *Enterobacteriaceae* أو الضمات *Vibrio*، لذلك من الصعب تصنيفها باستخدام الطرق التشخيصية الاعتيادية (Finegold *et al*.,1978. Chong *et al*.,1980).

وقد تم سرد 3 أنماط من الايروموناس وهي *A.hydrophila-A.punctata-A.salmonicida* في الطبعة الثامنة من دليل Bergey's manual.

كما أن التعرف الدقيق على جنس الايروموناس يقيم من المسائل البالغة الصعوبة (Finegold *et al.,1978*) لذلك كان من المفيد استخدام نظام API (Analy tab products Inc) لأنه يحوي العديد من الاختبارات البيوكيميائية بما في ذلك اختبار OF لكن الأهم البدء باختبار الأوكسيداز مسبقاً بسبب زيادة الإصابة بالجراثيم سلبية الغرام (Dowda,1977).

وتمتلك جراثيم Aeromonas العديد من عوامل الفوعة التي لها دورفي إحداث الإمراضية منها بروتين الطبقة A ، والتي هي عبارة عن طبقة خارجية بروتينية إضافية ، و موجودة في أغلب الذراري الممرضة ، وتشبه إلى حد كبير الخمل الإلتصاقي الموجود لدى جراثيم الإشريكية

القولونية، وهذه الطبقة تحمي الايروموناس وتوفر لها ألية الالتصاق ودخولها في البلاعم ، البروتياز الجرثومي وهي ذيفانات خارجية تفرزها جراثيم الايروموناس وتؤدي إلى قتل الكريات البيض والعديد من الخلايا الأخرى وتخريب أنسجة الأسماك ، كما تقوم بإفراز ذيفانات خارجية أخرى تكون على شكل معقد مع عديد السكريد الشحمي وهذه الذيفانات تؤدي إلى انحلال الكريات الحمراء عند الأسماك ، ولها القدرة على حل الكريات البيض أيضاً وتقوم بإنتاج حوامل الحديد وهذه الأنزيمات تساعد جراثيم الايروموناس للنمو في الأوساط الفقيرة بهذا العنصر ، وتمكنها من أخذ الحديد من بعض المركبات الأخرى كالخضاب الدموي

.(Howard *et al* .,1993; Cipriano,2001)

كما تسبب أمراضاً للحيوانات التي تعيش على اليابسة، وإصابات لدى البشر أيضاً، حيث تؤدي إلى التهابات بالجروح وخاصة تلك الملوثة بالمياه، وفي بعض الأحيان تسبب حدوث تسمم دموي والتهاب سحايا Meningitis ، وغيرها من الإصابات ويعد المضيف الأكثر عرضة للإصابة من البشر هم من يعانون عيوب مناعية.

(Bulger and sherris,1966; Lopez *et al.,*1968; Von Graevenitz and Mensch,1968; Slotnick,1970; McCracken and Barkley,1972; Qadri *et* (Joseph *et al*.,1979 *al*.,1976;

وأهم الأنواع التي يتضمنها جنس الايروموناس هي:

A.hydrophila – A.caviae – A.sobria – A.salmonicida – A.veronii – A.jandaei – A.bestiarum. (Yu et al.,2015).

والنوع *A.hydrophila* جراثيم ممرضة انتهازية تسبب حالة تقرح وحالات مختلفة من التسمم الدموي النزفي والاستسقاء المعدي وتعفن الزعانف والذيل عند أسماك المياه العذبة (Austin and Austin,1993) وهي جراثيم تتوزع على نطاق واسع في البيئات المائية

(Grizzle and Kirya,1993; Ventura and Grizzle,1998.)، وتعتبر مقاومة جدا للمضادات الحيوية (Pang *et al*.,2015) وضراوتها متغيرة حسب الطبيعة والمكان والمرضية القائمة على الاجهاد (Rasmussen et al.,2016. Awan *et al*.,2018).

وهي ديناميكية جدا في الطبيعة وتتواجد على نطاق واسع وتسبب المرض في الإنسان والأسماك (Daskalov,2006. Rasmussen *et al*.,2016) ، حيث أنها تسبب أمراض في الأسماك البرية والمستزرعة وتسبب تسمم دم نزفي خاصة تحت ظروف الاجهاد (Harikrishnan *et al*.,2009a) والتغيرات البيئية وسوء جودة المياه والتغيرات المفاجئة في الأوكسجين المذاب وارتفاع الأمونيا (Cipriano, 2001; Yildiz *et al*.,2005)

وهذا التسمم الدموي يصيب اغلب الاحياء المائية كالأسماك وخاصة اسماك الكارب والضفادع والقريدس (Angka *et al*., 1995; Nielsen *et al*., 2001; Rhaman *et al*., 2001; Vivekanadhan *et al*., 2002; Huys *et al*., 2003).

حيث وجدت في الماء في الطبيعة، وتعتبر أحد مسببات الأمراض للكائنات من ذوات الدم البارد وعزلت لأول مرة عام 1937 من رجل قد أصيب بعدوى نادرة، وتصيب الأسماك والبرمائيات والزواحف (*Ventura &Grizzle,1988*) وهي من أهم المشكلات الجرثومية التي تواجه الاستزراع المائي وتسبب وفيات جماعية وانخفاض جودة الكائنات المائية وأدرجت في حالات تفشي المرض الشديد (El-Sayyad *et al.,*2010).

2-3-2 جراثيم الزوائف *Pseudomonas*:

تنتمي إلى عائلة Pseudomonadaceae ، توجد بأعداد كبيرة حرة في التربة والمياه العذبة والبيئات المالحة والبيئات الطبيعية الأخرى، فضلاً عن كونها موجودة على سطح النباتات والحيوانات كمسببات مرضية (Gunsalus,1996; Virella,1997; Zumft,1997) وتعتبر الزوائف عصيات مستقيمة أو منحنية قليلاً، سالبة لصبغة غرام، هوائية مجبرة، تحركية السياط

إما بسوط قطبي واحد أو أكثر، غير مكونة للأبواغ،تنمو بمدى حراري واسع يتراوح بين 4 – 42 مْ ولكن أغلب الأنواع تنمو عند الدرجة 28 مْ ، الرقم الهيدرجيني المثالي يتراوح بين 7 – 9 pH ، حيث أنها لا تنمو في الظروف الحمضية pH=4.5 .

سعة انتشار هذه الجراثيم يجعلها تتواجد بشكل كبير في الأماكن الرطبة، وتتميز بأنها لا تحتاج متطلبات كبيرة للنمو وإنما تنمو على مغذيات بسيطة جداً، حيث لها القدرة على استغلال العديد من المصادر الكربونية كمصدر للطاقة العضوية (Ridgway and Safarik,1990) .

أغلب مستعمراتها بنية داكنة بسبب ارتفاع تركيز السيتوكروم في الخلايا، كما هناك 6 أصبغة تنتجها أنواعها : أربعة من نوع الفينازين وهي (البيوسيانين pyocyanin – بيوروبين pyorubin -كلورورافين chlororaphin – أوكسيفينازين oxiphenazin) ، والبروتين الأزرق الزائف *Pseudomonas* blue protein الذي يعطي اللون الأزرق لقيح الجروح والإصابات المسببة بالزوائف ، البيوفيردين pyoverdine وهو صبغة خضراء مصفرة منحلة في الكلوروفورم ومتألقة عند تعريضها للأشعة فوق البنفسجية، وغالبية الأنواع لجنس الزوائف يمكنها أن تنتج أكثر من نوع لهذه الأصبغة، لذلك إفراز الصبغات ليس دائماً خاصية يمكن الاعتماد عليها لتحديد الأنواع، وتشاهد هذه الأصبغة عند زرع الزوائف على الأغار المغذي، وهي موجبة لاختبار الأوكسيداز والكاتالاز وغير مخمرة للكاربوهيدرات،إلا أنها مستهلكة لها بواسطة عملية الأكسدة،كما يؤدي زرع هذه الجراثيم على منبت الأغار الدموي إلى تحلل كامل للدم حول المستعمرات النامية، كما أنها غير مخمرة لسكر اللاكتوز على منبت EMB أو ماكونكي (Kiska and Gilligan,2003).

يضم جنس الزوائف أنواع كثيرة منتشرة في الأنظمة البيئية، منها في النبات مثل *P.syringae* ، وفي الانسان *P.aeruginosa* ، كما أن بعضها انتهازي - *P.putida* - *P.fluorescens* *P.chlororaphis* . (McGrath *et al*.,2004; Tavender *et al*.,2008)

ترتبط إمراضية جراثيم الزوائف بالعديد من عوامل الفوعة منها الإلتصاق بأنسجة الخلية المضيفة وبالخلايا الظهارية، والسوط الذي ساعدها على الحركة ، والأنظمة التي تساعد وتشارك في توصيل بروتينات الزوائف إلى داخل الخلايا المضيفة، وعديدات السكريد الدهنية التي تثبط ردود المضيف المناعية ، بالإضافة إلى العديد من العوامل السريرية الأخرى كإنتاج المواد مثل البروتياز الذي يقوم بتخريب بروتينات الخلية المضيفة، وإنتاج السموم ذات الوزن الجزيئي المنخفض كالليباز والسيانيد والبيوسيانين ، التي تعمل على تخريب مواقع عديدة من الخلية المضيفة (Baldini and Rahme,2001).

وتعتبر جراثيم الزوائف والجراثيم الغازية أحد أهم مسببات أمراض الأسماك الجرثومية وهي مسؤولة عن الأمراض من نوع القرحة وتسمم الدم البكتيري النزفي وتعفن الذيل والزعانف والاستسقاء.

(Paniagua *et al*.,1990; Lasee, 1995; Altinok *et al*., 2006; Altinok *et al*., 2007, Noga, 2010)

4-2 إمراضية العامل المسبب لمرض تعفن الزعانف:

على عكس الفقاريات الأعلى، تعد الأسماك من الفقاريات الأقل كفاءة مناعياً وهذا هو العامل الرئيسي الذي يؤهبها إلى تفشي الأمراض التي لا تعد ولا تحصى، وتطور هذه الأمرض بشكل كبير وسريع، ومن ناحية أخرى العوامل المحيطة بالأسماك كونها تعيش في البيئة المائية، فعندما تتعرض سمكة حساسة للمرض في ظل ظروف بيئية غير مواتية، يزداد هذا المرض فوعة وبالتالي هذا التطور في المرض هو نتيجة تفاعل معقد بين الأسماك الأقل كفاءة مناعياً والعامل الممرض والبيئة المائية المحيطة (Snieszko,1975).

فعند إصابة الأسماك بتعفن الزعانف تكون أولى العلامات المرضية هي ظهور خط أبيض على الحافة الخارجية للزعانف ، ثم يتقدم المرض إلى قاعدة الزعانف فيظهر التأكل والالتهاب فيها

وتبدو الزعانف متدلية وناعمة ، وهذه العلامات الخارجية على الزعانف وجسم السمكة كلها تكون غير سريعة التطور بدايةً ، لكن عندما تكون العوامل البيئية المحيطة بالأسماك غير مواتية كالازدحام والتغذية السيئة ، والمستويات المنخفضة من الأوكسجين المذاب ، والمحتوى العالي من المواد العضوية ، والتلوث في المياه ، والعسارة المرتفعة و الpH الغير المستقرة ، كل هذه العوامل تخفض من مناعة الأسماك وتؤدي لفقدانها دفاعاتها الخارجية المتمثلة بالمواد المخاطية التي تحميها، فتشكل هذه الاصابات الخارجية نقاط لدخول العامل المسبب إلى الأعضاء الداخلية ، وهي ما تدعى بوابات دخول العامل الممرض ، وهذه التطورات كلها تكون في المراحل المتقدمة لمرض تعفن الزعانف حيث تتجمع الجراثيم في أماكن الإصابات والنزوفات الخارجية ، لتدخل إلى الأوعية الدموية وتسبب زيادة في نفوذيتها وتحطيم جدرانها لتصل الى الكلى عن طريق تيار الدم ، وإلى الكبد والأعضاء الداخلية الأخرى ، وأخيراً لتنتشر في العضلات أيضاً ، مسببة حالة من التسمم الدموي تؤدي إلى إيقاف الاستجابات المناعية الأخرى لدى الأسماك.

وتعتبر حالة التسمم الدموي لدى الأسماك نتيجة لإفراز أنزيمات عديدة من جراثيم الايروموناس والتي تؤدي إلى حل الكريات الحمراء وتخريبها، فينخفض عددها بشكل كبير، وتقوم أيضاً بإفراز ذيفاناتها التي تسبب التسمم وتخرب الأعضاء الحيوية كالكلى والكبد، وهذا مشابه أيضاً لما تقوم به جراثيم *Pseudomonas* فتقوم أيضاً بإفراز ذيفاناتها التي تؤدي إلى تخريب وتلف الأنسجة وإفراز أنزيمات مسببة حالة تسمم وفقر دم للأسماك (Harikrishnan and Balasundaram.,2005).

5-2 عزل العامل المسبب وصفاته الكيمياحيوية:

يمكن أن تعزل الجراثيم المسببة للآفات المرضية لتعفن الزعانف لدى الأسماك من حواف الزعانف التي يظهر عليها الخط الأبيض، والذي هو بداية المرض ويمكن أخذ أيضاً جزء من الزعانف التي يظهر عليها تأكل أو تهتك أو فقدان جزء منها ومن الإصابات الغير نموذجية من المراحل المتقدمة للمرض كالإصابات على سطح جسم السمكة وعلى زعانفها أيضاً ، كما يتم

الفحص الجرثومي أيضاً بأخذ عينات من أفات العضلات وهذه تكون في المراحل المتقدمة جداً للمرض حيث يمكن أن تكون الجراثيم وصلت إليها ومن الأعضاء الداخلية أيضاً مثل : الكلية ، الكبد ،الغلاصم حيث أن هذه الأعضاء كلها يمكن أن يتواجد فيها العامل المسبب في مراحلة المتقدمة والتي هي مرحلة التسمم الدموي.

ويتم الإكثار باستخدام مرق تريبتون الصويا TSB وزرعها بعد ذلك على أجار تريبتون الصويا TSA ، ويفضل أن يكون هذا الوسط ممزوجاً بالدم (Allen *et al.*,1983)، كما يمكن استخدام منابت انتقائية خاصة كأجار ماكونكي الذي تنمو عليه جراثيم الزوائف على شكل مستعمرات صفراء اللون ، وأجار الايروموناس الذي تنمو عليه هذه الجراثيم على شكل مستعمرات خضراء عاتمة المركز (Quinn *et al.*,1999)، وقد دلت الدراسات السابقة أن نوع *A.hydrophila* يتميز بإطلاق H2S بخلاف الأنواع الأخرى من الايروموناس ،و وجود مجموعة مهمة من الأختبارات الكيمياحيوية الأساسية ، والتي تمكننا من التمييز جنس *Aeromonas* و *Pseudomonas* عند الأسماك والجدول رقم (1) الذي يضم اختبار الإندول وفوكس بروسكاور ، وتخمير الغلوكوز، ونمط التحلل الدموي على وسط الأجار الدموي ، واختبار الكاتالاز والأوكسيداز والسترات ، وتخمير بعض السكاكر (Janda et al.,1996)

جدول (2-1):يوضح الاختبارات الكيميا حيوية لجنس الغازية وجنس الزوائف.

الخواص	*Aeromonas spp.*	*Pseudomonas spp.*
الاندول	+	–
فوكس بروسكاور	+	–
ارجاع النترات	+	+
تخمير الادونيتول	–	–
تخمير المانيتول	+	–
تخمير اللاكتوز	+	–
تخمير الاربينوز	+	–
تخمير سكروز	+	–
اختبار الاكسدة والتخمير للجلوكوز(OF)	مخمرة F	Oمؤكسدة

اختبار الاوكسيداز	+	+
اختبار الكاتالاز	+	+
صبغة غرام	−	−

6-2 حساسية العامل المسبب للصادات الحيوية:

إن الاستخدام المكثف والعشوائي للصادات الحيوية يؤدي الى زيادة في مقاومة الجراثيم سواء في الطب البيطري أو البشري (Shao,2001).

ولذلك تعتبر اختبارات الحساسية من الأمور الهامة لتحديد الصاد الحيوي المناسب لعلاج أمراض الأسماك المسببة بجراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas*.

وقد تم تصنيف *Pseudomonas* كأشد أنواع الأحياء الدقيقة مقاومة للصادات الحيوية بسبب قدرتها على التكيف مع الشروط المختلفة ، ومقاومتها للظروف البيئية الصعبة فضلاً عن قدرتها على خفض نفاذية الغشاء الخارجي الذي يمثل حاجز ضد مرور جزيئات الصاد الحيوي ، وإنتاج الأنزيمات المعطلة للصادات الحيوية مثل B-Lactamases ، والتغيرات الطفرية التي تؤدي لاكتساب جيناتها صفة المقاومة عن طريق النقل الأفقي للجينات ،الذي يزيد فرصتها بالبقاء مع وجود الصاد الحيوي الأمر الذي ينشط ويزيد افرازات أنزيماتها والتعبير الزائد لمضخات التدفق التي تضخ الصادات الحيوية خارج الخلية، وتقليل نفاذية غشائها بشكل أكبر(Lambert , 2002).

لذلك تعتبر شديدة المقاومة لمعظم الطرق المستخدمة في علاجها ومتغيرة الحساسية وعالية المقاومة بشكل كبير، فكان من المهم القيام باختبارات الحساسية لها (Lister *et al*., 2009).

أما جراثيم *Aeromonas* فقد انصب اهتمام العديد من الباحثين على تحديد الصاد الحيوي المناسب لعلاج أمراضها التي تصيب الأسماك، والقيام بدراسات لمتابعة الذراري التي لديها هذه المقاومة، ويرتبط ذلك بشكل رئيسي بالاختيار النسيلي أو ما يسمى بنقل الجينات ،حيث أن بعض

المكونات الجينية مسؤولة بشكل كبير عن ذلك، كالبلازميدات التي تحمل عادة مورثات المقاومة و Intergrons والناقلات والتي تكون أيضاً مسؤولة عن عوامل المقاومة فيها وأظهرت العديد من الدراسات أن جراثيم *Aeromonas* المعزولة من أسماك المياه العذبة تحتوي العديد من الأنماط الظاهرية المقاومة بواسطة ال *Intergrons* (Ranjbar *et al.,2019*).

وإحدى الدراسات لحساسية جراثيم الايروموناس هي التي قام بها صباغ(2018) في دراسة على أسماك الكارب العادي المصاب بمرض التهاب الجلد الأحمر،حيث كانت عزلات الايروموناس مقاومة للأمبيسلين والسيفالكسين ومتوسطه الحساسية للأوكسي تتراسيكلين والدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين والسيبروفلوكساسين وكانت حساسة للفلورفينكول ,السلفاترايمثوبريم الارثرومايسين ,النيومايسين,فلومكوين,جنتامايسين.

وأشاردعبول,(2009) في دراسة لحساسية جراثيم الايروموناس المعزولة أيضاً من أسماك الكارب العادي المصابة بأذيات خارجية، حيث كانت العزلات مقاومة للأرثرومايسين، الأمبيسلين، فلومكوين، تتراسايكلين، والفلورفينكول وحساسة للسيبروفلوكساسين نيومايسين ،جنتامايسين ، والسلفاترايموثبريم.

وأفاد Chong وزملاؤه (1980) أن عزلات الايروموناس حساسة للجنتامايسين والتتراسايكلين، كولستين، ومقاومة للأمبيسلين ومتوسطة الحساسية للستربتومايسين ، وفي أبحاث أخرى فقد توصل Shayo وزملاؤه (2012) أن عزلات الايروموناس كانت مقاومة للستربتومايسين وحساسة للجنتامايسين، ارثرومايسين، نيومايسين، سيبروفلوكساسين، أميكاسين، وسلفاترايموثبريم ،وهذا مختلف نوعاً ما عن أبحاث أخرى فكانت العزلات هنا حساسة للستربتومايسين ومتوسطة للأرثرومايسين ومقاومة للأمبيسلين والسيفالكسين

.(Jeeva *et al*.,2013)

وفي دراسة للباحثين Shayo *et al*., (2012) على حساسية جراثيم الزوائف تبين أن العزلات حساسة جنتامايسين وسيبروفلوكساسين والنيومايسين ومتوسط للأميكاسين والأرثرومايسين ومقاومة للأمبيسلين ,التتراسايكلين ,أموكسيسلين والسلفاترايموثبريم.

7-2 العدوى التجريبية للعامل المسبب:

أجريت العديد من الدراسات لتقييم ضراوة العزلات لكل من *Aeromonas* و *Pseudomonas* على أساس تطور العلامات السريرية والوفيات المئوية وإعادة زرع وعزل العامل المسبب من الأسماك المصابة والنافقة حيث قام الباحثون Shayo *et al*., (2012) في تنزانيا بعدوى تجريبية على أسماك المشط ، وتم استخدام سبع عزلات من *A.hydrophila* و *A.veronii* و *P.aeruginosa* ، تم حقن الأسماك عضلياً 0.1 مل بتركيز 2.4×10^8 Cfu/ml من معلق هذه الجراثيم مع مراقبة هذه الأسماك، حيث بلغ معدل نفوق الأسماك خلال 48 ساعة من الحقن بجراثيم الايروموناس 75%، أما الأسماك المحقونة بجراثيم *Pseudomonas* و *Aeromonas* معاً كان معدل النفوق لديها 90% وكانت الأعراض العامة على هذه الأسماك هي عتامة ونزوفات شديدة غير منتظمة على سطح الجسم والزعانف.

وفي دراسة أخرى لدى Hossian *et al*.,(2011) في بنغلادش من أجل تقييم فوعة جراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* المعزولة من أسماك المياه العذبة حيث تم استخدام تركيز 3-5×10^6 Cfu/ml لجراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* معاً حيث وصلت نسبة النفوق إلى أكثر من 50%.

وفي تجربة أيضا قام بها الباحث Bullock,(1965) على أسماك الترويت وأسماك الكارب الذهبي لقياس ضراوة جراثيم *Pseudomonas* ، تم استخدام تركيز 6.4×10^7 Cfu/ml بالحقن العضلي على جانب الزعنفة الظهرية ،*حيث أن جراثيم Pseudomonas كانت أكثر إمراضية على أسماك الكارب الذهبي*، فبلغ معدل النفوق فيها 88.9% أما في أسماك الترويت كانت نسبة النفوق 83.3% ،و تم اختبار هذه الجراثيم وتاثيرها على أسماك الكارب الذهبي عن طريق

اضافتها إلى مياه حوض هذه الأسماك بعد اكثارها بالمرق بمعدل 2-3 مستعمرات جرثومية في 6 مل مرق لكل 3 ليتر من ماء الحوض ،وقد تم نزع عدة حراشف من هذه الأسماك فكانت نسبة النفوق لديها 70%، أما مجموعة الأسماك التي لم ستم نزع حراشفها لم يكن هناك نفوق لديها خلال 24 ساعة، لكن استمرار مراقبتها بدأت علامات تعفن الزعانف بالظهور على أطراف زعانفها مع ظهور الخط الأبيض عليها أيضاً.

وفي دراسة أخرى على جراثيم *Aeromonas* التي تم عزلها من المياه، حيث تم إجراء هذه العدوى على أسماك الكارب العادي بحقنها عضلياً بمعدل تركيز 10^6 من معلق هذه الجراثيم فلم تسبب سوى نسبة نفوق تصل إلى 50% (Lio *et al*.,1998) ، وقد تم تفسير هذا الإنخفاض من قبل العديد من الباحثين حيث أن السبب لذلك هو أن الجراثيم المعزولة من الحالات المرضية في الأسماك تكون شديدة الضراوة والقدرة على إحداث الإمراضية مقارنة مع الجراثيم المعزولة من المياه (Paniagua *et al*.,1990).

3-مواد وطرائق العمل

Materials & Methods

3- **مواد وطرائق العمل**:

1-3 **مواقع الدراسة**:

شملت الدراسة سبعة أحواض تتبع ل 7 محال تجارية في مدينة حماه تختص بتربية أسماك الكارب الذهبي وهي أحواض زجاجية مصدر المياه في جميع هذه الأحواض مياه الخزانات الغير مكلورة وأبعادها تتراوح 90×40×30 تقريباً في أغلبها ,وسعتها من المياه حوالي 108 ليتر تقريباً، البعض منها مزود بمضخات أوكسجين والبعض الأخر غير مزود.

2-3 **جمع العينات**:

تم اعتيان ١٥٠ سمكة من أسماك الكارب الذهبي (*Carassius auratus*) Gold carp fish والتي ظهرت على بعضها أعراضا مرضية يشتبه في أنها إصابة لمرض تعفن الزعانف

وشملت هذه الأعراض خط أبيض على حواف وأطراف الزعانف وأسماك أخرى ظهر عليها تهتك وتأكل في اطراف الزعانف أو فقدان كامل الزعنفة مع تقرحات في الجلد وأعراض خارجية أخرى من الجروح وانتفاخ البطن واصابات ثانوية عديدة.

وقد تم جمع هذه الأسماك عشوائيا بين شهري شباط وأب ٢٠١٩ تراوحت أطوالها 8±4سم وأوزانها 10±2غرام ووضعت هذه الأسماك في أكياس نايلون وتم ملئ الاكياس من مياه الاحواض والسماح لبقاء الهواء في القسم الأعلى للكيس بنسبة 3 : 1 لضمان وصول الأسماك حية الى كلية الطب البيطري في جامعة حماه وذلك اعتماداً على طريقة (Apha,1980)

وتم جمعها كالتالي:

الجدول (3-2): يبين عدد الأسماك المجموعة من أحواض التربية في محال البيع :

الحوض	الأسماك (حجم العينة)	النسبة المئوية ٪
١	١٩	١٢،٧
٢	٢٤	١٦
٣	٢٣	١٥،٣
٤	٢٣	١٥،٣
٥	٢٣	١٥،٣
٦	١٩	١٢،٧
٧	١٩	١٢،٧

ووضعت الأسماك التي نقلت من المحال التجارية ضمن أحواض زجاجية أخرى بالماء الذي نقلت فيه وتم تعبئه ما تبقى من الحوض بماء الصنبور.

3-3 أوساط الزرع الجرثومي

3-3-1 الأدوات والصبغات المستخدمة في الدراسة الجرثومية:

- ماسحات قطنية معقمه سعه ١٥ مل
- كحول ايتيلي 70٪ وقطن
- اطباق بتري بلاستيكية تستخدم لمرة واحدة
- انابيب زجاجة معقمة وأدوات أخرى ضرورية للزرع الجرثومي

صبغة غرام

- أقراص الاوكسيداز
- ماء اوكسجيني ٣٪

3-3-2 الأوساط المستخدمة في الدراسة الجرثومية:

3-3-2-1 تحضير مرق تريبتون الصويا (TSB) Tryptone Soya Broth

من شركة HiMedia الهندية لإكثار العينات قبل الزرع على المنابت الصلبة.

3-3-2-2 تحضير وسط أغار تريبتون الصويا (TSA) تم استخدام وسط تريبتون الصويا (من شركة HiMedia الهندية) من أجل الإكثار العام وتنقية المستعمرات وتم تحضيره حسب تعليمات الشركة بِوزن ٤٠ غرام أُضِيفت إلى ١٠٠٠ مل ماء مقطر ثم مُزج جيداً باستخدام السخان المغناطيسي ثم وضِع في جهاز المؤصدة على الدرجة ١٢١ مْ و ضغط 1.5 بار لمدة ١٥ دقيقة بغرض التعقيم ثم بُرِد الوسط إلى الدرجة ٥٠ مْ وأُضيف له دم الأغنام منزوع الفبرين والامبيسيلين ١٠ميكرو غرام /مل ومُزج جيداً ثم صب في أطباق بيتري بلاستيكية في المخبر بجانب اللهب في جو عقيم .

3-3-2-3 تحضير وسط أغار مدمم Blood Agar Base تم استخدام وسط الأغار المدمم (من شركة HiMedia الهندية) من أجل الإكثار العام أيضاً والكشف عن

خاصية التحلل الدموي وتم تحضيره حسب تعليمات الشركة بِوزن ٤٠ غرام أُضِيف الى ١٠٠٠مل من الماء المقطر، ثم مُزج جيداً باستخدام السخان المغناطيسي ثم وضع في جهاز المؤصدة على الدرجة ١٢١ مْ و ضغط 1.5 بار لمدة ١٥ دقيقة بغرض التعقيم ثم بُرِد الوسط الى الدرجة ٥٠ مْ وتم إضافة دم الأغنام منزوع الفبرين وصب المنبت في أطباق بيتري بلاستيكية بيتري بلاستيكية في المخبر بجانب اللهب في جو عقيم .

4-2-3-3 تحضير وسط أغار ماكونكي McConkey: وسط زرع جرثومي تميزي للجراثيم سلبية الغرام (من شركة HiMedia الهندية) وتم تحضيره حسب تعليمات الشركة بوزن ٤٩,٥٣ غرام أُضِيفت إلى ١٠٠٠ مل ماء مقطر ،ثم مزج جيدا باستخدام السخان المغناطيسي ثم وضع في جهاز المؤصدة على الدرجة ١٢١ مْ و ضغط 1.5 بار لمدة ١٥ دقيقة بغرض التعقيم ،ثم برد الوسط الى الدرجة ٥٠ مْ وصب في اطباق بيتري بلاستيكية في المخبر بجانب اللهب في جو عقيم .

5-2-3-3 تحضير وسط قاعدة عزل الإيروموناس Aeromonas Isolation Medium Base وهو وسط تمييزي وانتقائي لجراثيم الايروموناس عن جراثيم الزوائف (من شركة HiMedia الهندية) وتم تحضيره حسب تعليمات الشركة بوزن ٢٨,١٥ غرام أُضِيفت الى ٥٠٠ مل ماء مقطر وسُخنت حتى درجة الغليان لتمام الذوبان على السخان المغناطيسي ثم برد الوسط حتى الدرجة ٥٠ وأُضيف له أنبولة واحدة من الإضافات الخاصة بهذا المنبت ورمزها FD039 من شركة HiMedia ثم صب الوسط في أطباق بيتري بلاستيكية في المخبر بجانب اللهب في جو عقيم .

6-2-3-3 تحضير وسط أغار مولر هينتون Muekker-Hinton Agar : أُستخدم هذا الوسط (من شركة HiMedia الهندية) في اختبار فحص الحساسية للجراثيم المعزولة تجاه الصادات الحيوية تم تحضيره حسب تعليمات الشركة بوزن ٣٨ غرام أُضِيفت الى ١٠٠٠ مل ماء مقطر ثم مُزِج جيداً باستخدام السخان المغناطيسي ثم وضِع

في جهاز المؤصدة على الدرجة ١٢١ مْ و ضغط 1.5 بار لمدة ١٥ دقيقة بغرض التعقيم ثم بُرِد الوسط الى الدرجة ٥٠ مْ وصُب في أطباق بيتري بلاستيكية في المخبر بجانب اللهب في جو عقيم .

3-3-2-7 تحضير وسط أغار مغذي Nutrient Agar: (من شركة HiMedia الهندية) وتم تحضيره حسب تعليمات الشركة بوزن ٢٨ غرام أُضِيفت الى ١٠٠٠ مل ماء مقطر ثم مُزِج جيداً باستخدام السخان المغناطيسي ، ثم وضِع في جهاز المؤصدة على الدرجة ١٢١ مْ و ضغط 1.5 بار لمدة ١٥ دقيقة بغرض التعقيم ثم برد الوسط الى الدرجة ٥٠ مْ وصب في أطباق بيتري بلاستيكية في المخبر بجانب اللهب في جو عقيم .

3-3-2-8 تحضير اختبار الأكسدة والتخمير Oxidation Fermentation (OF) Test:

يُحضر وسط الأكسدة والتخمير بإضافة كمية ٩،٤ غرام من مادة وسط الاكسدة والتخمير ومصدره شركة هايميديا الى ١٠٠٠ مل ماء مقطر وبعد التعقيم بالمؤصدة على الدرجة ١٢١ مْ وضغط 1.5 بار لمدة ١٥ دقيقة والتبريد لدرجة ٥٠-٤٥مْ نضيف كمية من ١٠مل من الغلوكوز ذو تركيز ١٠٪ (المعقم بواسطة مرشحات غشائية قطرها 22 ميكرون) لكل 100 مل من الوسط ثم يوزع المزيج في أنابيب معقمة بحيث يحتوي كل أنبوب ٣مل وتحفظ الأنابيب بدرجة ٤مْ وأُستخدم هذا الوسط لتمييز العزلات المؤكسدة لسكر الغلوكوز عن العزلات المخمرة لسكر الغلوكوز.

3-3-2-9 المجموعة التشخيصية من الإختبارات الكيميا حيوية Biochemical Identification (BIK003) من شركة HiMediaالمخصصة للكشف عن عصيات سلبية الغرام والتي تحوي على ٢٥ اختبار وتم الإستفادة من الاختبارات الخاصة لتمييز هذه العصيات السلبية (السترات، اللايسين دي كربوكسيلاز ، الاورنثينين دي كربوكسيلاز ، اليورياز ، اختبار تحليل فينيل الانين TDA ، اختبار

ارجاع النترات ، اختبار فوكس بروسكاور ،الاندول ، الأوكسيداز ،انتاج H2S ، وتخمير سكر الغلوكوز و الادونيتول واللاكتوز والارابينوز و السوربيتول.

4-3 **طرائق العمل**: Methods

1-4-3 طرق أخذ العينات

1-1-4-3 من الأسماك : حيث أُخذت كل سمكة على حدة وقتلت الأسماك بتخريب الدماغ وخزاً بالإبرة في الجزء الذي يعلو العين مباشرة وفقاً (James &Alan , 1991) وتم أخذ عينات للزرع من الزعانف و الكلى أيضاً، حيث تم الزرع من الزعانف المتأكلة والمتأذية بأخذ قطعة من حواف الزعانف التي يظهر عليها خط أبيض أو تأكل وتم وضعها في أنابيب اختبار معقمة، أما عينات الكلى فقد تم تعقيم سطح جسم السمكة بالكحول الايثيلي 70 % بعدها تم فتح تجويف البطن بشكل معقم ثم وضع جزء من هذه الأنسجة في أنابيب اختبار معقمة.

2-1-4-3 من المياه : تم جمع عينات المياه من أحواض التي أُخِذت منها عينات الأسماك في زجاجات سعة ٢٥٠ مل والتي تم تعقيمها مسبقاً، وبعد الجمع مباشرة تم تخزينها في حافظة مبردة بالجليد وأُجرِيت التحليلات لها خلال من ٤-٨ ساعة (Swanson, 1992)

حيث تم قياس بعض المواصفات الفيزيوكيميائية (pH,Do,NH_4,TH) للمياه في مديرية الموارد المائية في محافظة حماه بالإضافة الى قياس الحمولة الجرثومية العامة لها (T.B.C) Total Bacterial count ومقارنة نتائج مياه هذه الأحواض السبعة مع مياه حوض تم تربية أسماك الكارب الذهبي فيه والمحافظة على الشروط المثالية لتربية أسماك الزينة، حيث لم تظهر على هذه الأسماك أي إصابات لتعفن الزعانف.

2-4-3 تصنيف مراحل المرض:

تم توزيع الأسماك إلى مجموعات تمثل مراحل تطورالأعراض الظاهرية للمرض حسب (Goed & Barton, 1990;Canon Jones *et al* ., 2010)

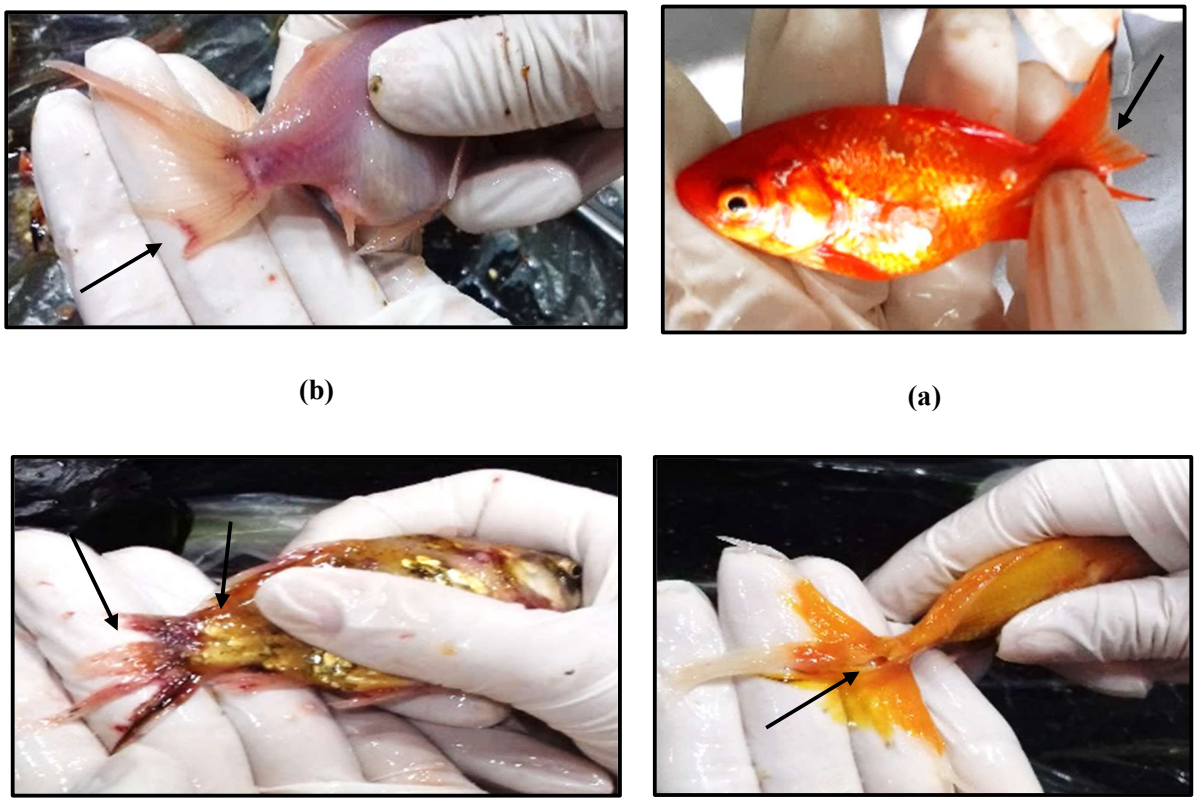
المرحلة الأولى (I) : الأسماك التي ظهر عليها خط أبيض على حواف وأطراف الزعانف.

المرحلة الثانية (II) : هي الأسماك التي ظهر عليها تآكل وتهتك في أطراف الزعانف مع التهاب في قاعدة الزعانف.

المرحلة الثالثة (III) : وفي هذه المرحلة تم فقدان كامل الزعنفة عند الأسماك مع تقرح للجلد.

المرحلة الرابعة (IV) : وهي المرحلة التي تشكلت فيها القرحات والجروح العميقة مع إصابات ثانوية أخرى.

مراحل المرض



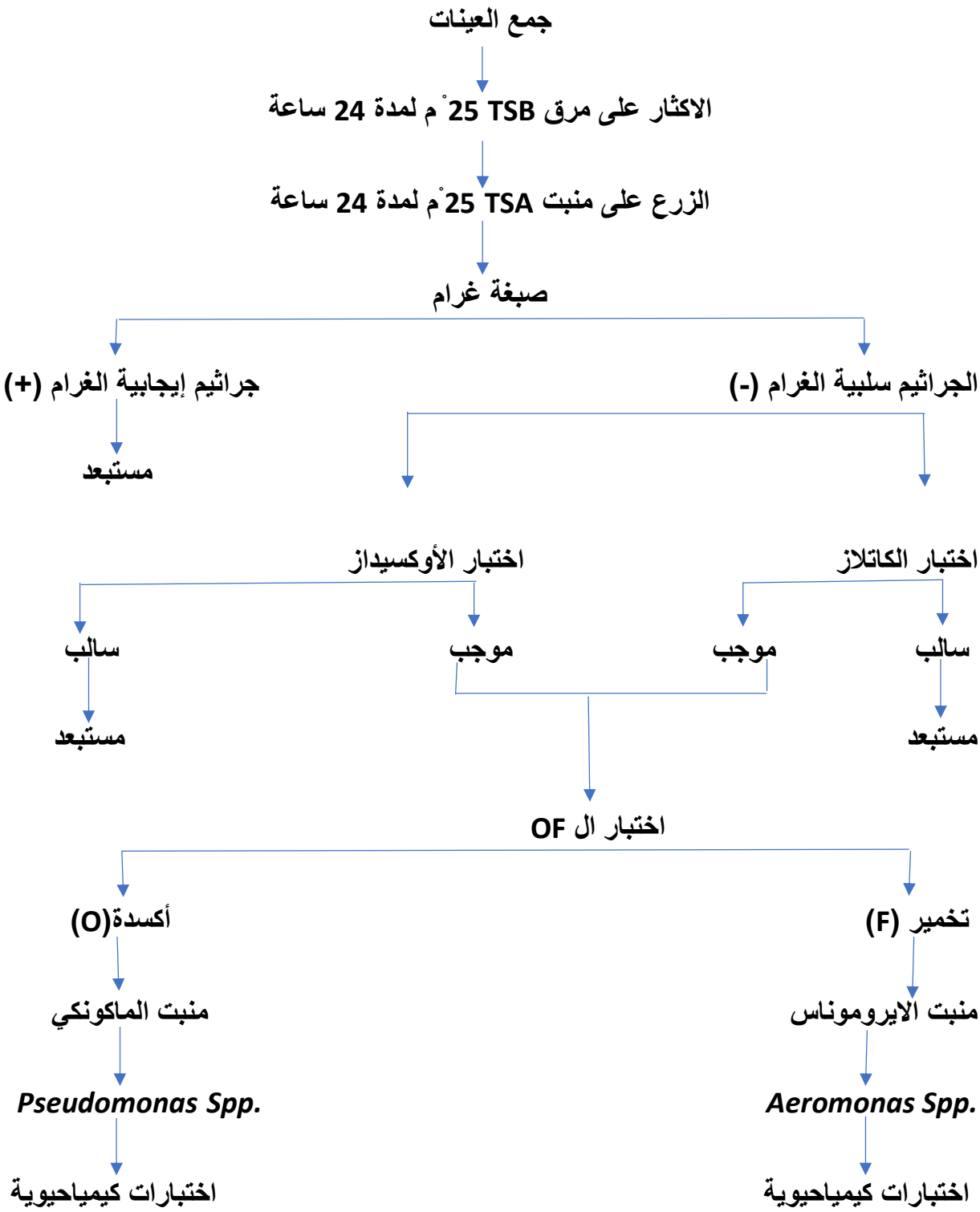
(a) **(b)** **(c)** **(d)**

شكل (3-1): (a)المرحلة (I). (b): المرحلة (II). (c): المرحلة (III). شكل (d): المرحلة (IV)

1-5-3 الزرع والعزل الجرثومي

1-1-5-3 مراحل العزل الجرثومي:

تم وضع مخطط عمل للكشف عن مسببات مرض تعفن الزعانف واستخدم دليل عزل الأمراض الجرثومية السمكية (Barrow and Feltham , 1999) وقد تم دمج العديد من مراحل الزرع والعزل الجرثومي على المنابت التمييزية الانتقائية وحددت هذه الأنواع الجرثومية المسببة للمرض باختبارات الكيميا حيوية المتممة، والشكل رقم (1) يوضح مراحل العزل الجرثومي.



شكل رقم (3-2) : مخطط مراحل العزل الجرثومي.

3-5-1-2 اكثار الجراثيم على المرق:

بوضع كمية كافية من مرق تريبتون الصويا لكل من عينات الزعانف والكلى التي تم أخذها من الأسماك وحُضِنت على الدرجة ٢٥ مْ لمدة ٢٤ ساعة بهدف الإكثار العام للجراثيم (Quinn *et al.*,1999).

3-5-1-3 الزرع على وسط تريبتون الصويا TSA:

تم النقل باللوب من مرق تريبتون الصويا TSB إلى منبت تريبتون الصويا TSA المضاف له دم الأغنام ٥٪ منزوع الفبرين و مضاف له أيضاً الأمبيسلين كعامل انتقائي (١٠ميكرو غرام / مل) وتم الزرع بطريقة التخطيط على الطبق حُضِنت في الدرجة ٢٥مْ لمدة ٤٨ ساعة مع الفحص يومياً مع توصيف و ملاحظة شكل المستعمرات وحجمها وتحليل الدم ونمطه و اجراء صبغة غرام لهذه المستعمرات (Richardson *et al* ., 1982).

3-5-1-4 اجراء صبغة غرام Gram stain:

تمت عملية الصبغة بِأخذ مسحة جرثومية برأس عروه الزرع من كل مستعمرة من طبق وسط تريبتون الصويا على الشريحة الزجاجية ومزجها بقطرة من الماء المقطر المعقم ونشرها بشكل جيد على الشريحة وتجفيفها على اللهب بمسافة مناسبة ،ثم التثبيت بتمريرها على اللهب مرات سريعة ،بعد ذلك غمرت اللطاخة بصبغة بنفسجية الكريستال Crystal Violate لمدة دقيقة واحدة ثم غسلت الشريحة بماء جاري خفيف ،ثم تم وضع محلول اليود المثبت لمدة دقيقة واحدة ثم الغسل ثم الكحول الايتيلي 95٪ لنصف دقيقة وغسلها ثم الانهاء بإضافة صبغة السفرانين Safranin لدقيقة ،ثم غُسلت الشريحة بالماء وجففت بورق تم فحص الشريحة المصبوغة بطريقة غرام باستخدام المجهر الضوئي باستخدام العدسة الزيتية تكبير ١٠٠ x .

3-1-5-5 اختبار الكاتالاز: Catalase Test

أُجري اختبار الكاتالاز بوضع نقطة من الماء الأوكسجين H2O2 تركيز ٣٪ على شريحة زجاجية معقمة ، ثم وضِع مستعمرة من وسط تريبتون الصويا داخل نقطه الماء الأوكسجين مع القيام بعملية المزج بواسطة عروة زرع جرثومي ،وتكون النتيجة إيجابية عندما يلاحظ ظهور فقاعات أو فوران خلال ثواني عدة من التفاعل (Atlas *et al*., 1995).

3-1-5-6 اختبار الاوكسيداز Oxidase test:

أُجري اختبار الأوكسيداز للعينات الإيجابية للكاتالاز وتم ذلك باستخدام أقراص الأوكسيداز الحاوية على ١٪ من (تيترا ميثيل – ب – فينيل دا امين دي هايدروكلورايد)

1% Tetramthyl – p – phenylenediamie dihydrochloride

بحيث وضِعت قطرة من الماء المقطر المعقم على قرص الاختبار ثم نُقِلت المستعمرة المراد فحصها بواسطة عروة زرع معقمة وتم توزيع المستعمرة بشكل متجانس فوق نقطة الماء على القرص ،وتكون النتيجة إيجابية في حال تبدل لون القرص من عديم اللون الى اللون الأزرق أو البنفسجي (Atlas *et al*., 1995).

3-1-5-7 اختبار الأكسدة والتخمير Oxidation & Fermentation Test (OF):

ويتم إجراء هذا الاختبار للعزولات الإيجابية لاختبار الأوكسيداز والكاتالاز للكشف عن خاصية أكسدة سكر الغلوكوز أو تخميره (Quinn *et al*.,1999) ويتم الزرع من المنابت الجرثومية بطريقة الحقن بواسطة عروة الزرع المعقمة ويضاف لأحد الأنبوبين ١مل من البارافين السائل المعقم ويتم التحضين على الدرجة ٢٥مْ وتقرأ النتيجة بدلالة ما هو موضح في الجدول التالي:

جدول (3-2) :يوضح تفسير نتائج اختبار الأكسدة والتخمير:

النتيجة	الانبوب المفتوح	الانبوب المغلق
الأكسدة	أصفر	أخضر
التخمير	أصفر	أصفر
سلبية	أخضر	أخضر

جراثيم الايروموناس: هي جراثيم مخمرة لسكر الغلوكوز.

جراثيم الزوائف: هي جراثيم مؤكسدة لسكر الغلوكوز.

3-5-2 الزرع على المنابت التمييزية الانتقائية:

3-5-2-1 الزرع على وسط الايرموناس: Aeromonas Isolation Medium Base

تنمو على هذا الوسط جراثيم الايرموناس ولا ينمو عليه الجراثيم المعوية وهو منبت تمييزي انتقائي لجراثيم الإيروموناس والزوائف حيث تنمو جراثيم الإيرموناس على شكل مستعمرات خضراء عاتمة المركز بينما جراثيم الزوائف تنمو على شكل مستعمرات شفافة رمادية مزرقة.

3-5-2-2 الزرع على وسط أجار ماكونكي:

تم الزرع على هذا المنبت وملاحظة الخصائص الزرعية عليه حيث أن جراثيم الزوائف تنمو عليه بلون أصفر لعدم تخمير اللاكتوز (Quinn *et al.*,1999).

3-5-2-3 الزرع على الوسط المدمم:

تم الزرع على هذا المنبت لدراسة خاصية التحلل الدموي للمستعمرات النامية وقد تم إضافة دم أغنام منزوع الفبرين بنسبة ٥٪.

3-5-3 تنقية عزولات الجراثيم:

تم ذلك بأخذ مستعمرات الجراثيم وإعادة زرعها على وسط تريبتون الصويا TSA وتحضينها على الدرجة ٢٥ مْ لمدة ٤٨ ساعة بهدف تنقية المستعمرات(Cowan and steel 1974).

3-5-4 إجراء الاختبارات الكيمياحيوية باستخدام المجموعة التشخيصية

Biochemical Identification KB003

وهذه المجموعة يتم التفريق بين أنواع عديدة من الجراثيم منها جراثيم الزوائف وجراثيم الإيروموناس المزروعة وقد تم ذلك (باتباع توصيات الشركة المصنعة في النشرة المرفقة من شركة HiMedia) كما يلي:

تم أخذ المستعمرات المعزولة والنقية وإعاده زرعها على أغار مغذي لمدة ٢٤ ساعة ، ثم أخذ ١-٣ من هذه المستعمرات وحلها في ٣مل من المحلول الملحي المعقم (sterile saline) وتم قياس العكارة على طول موجة ٦٢٠ نانو متر ، حيث يجب أن تكون (OD) تساوي ٠,١ ثم بعد ذلك تم وضع ٥٠ ميكروليتر من المعلق السابق في كل حفرة من حفر هذه الاختبارات ، وتم التحضين لمدة ٢٤ ساعة على الدرجة ٣٥مْ ، ثم وضع الكواشف المرفقة مع المجموعة كالتالي:

في الحفرة ٥ (تحليل فينيل الأدنين) يوضع كاشف TDA (٢-٣) . ثم تقرأ النتيجة بعد دقيقة وتكون النتيجة الإيجابية عند تغير اللون الى الأخضر الغامق.

في الحفرة ٦ (ارجاع النترات) يوضع كاشف سلفانيك أسيد (١-٢). وكاشف ديميثيل N-N (١-٢) . وتقرا النتيجة فوراً تغيرها إلى زهري محمر هي نتيجة إيجابية

الحفرة ٩(فوكس بروسكاور) يوضع ٢ نقطة من كاشف A ثم ٢ نقطة من كاشف B ويترك لمدة ١٠ دقائق ثم تُقرآ النتيجة في حال عدم تغيير اللون تكون نتيجة سلبية اما إذا تغير اللون الى الزهري المحمر تكون نتيجة إيجابية .

الحفرة ١١(الأندول) يوضع ٢ نقطة من كاشف كوفاك لاختبار الاندول وتغيير اللون بعد ١٠ ثواني إلى اللون الزهري هي نتيجة إيجابية.

ثم يتم مطابقة هذه الاختبارات بعد إضافة الكواشف اليها مع النشرة المرفقة من شركة هايميديا الخاصة بالنتائج.

5-5-3 اجراء اختبار الحساسية تجاه الصادات الحيوية Antibiotic Sensitivity Test

أُجري اختبار الحساسية تجاه الصادات الحيوية باستخدام وسط أغار مولر هينيتون بطريقة الإنتشار حسب ما ورد عن (Quinn et al.,1994) وفق ما يلي :

تحضير معلق جرثومي بوضع مستعمرات معزولة في محلول ملحي معقم أو ماء مقطر، والعكارة تقارب عكارة أنبوب ماك فرلاند Mcfarland رقم ٠،٥ وبدون تحضين، ثم اخذ ٠،١ مل من المعلق ونشرها على سطح أغار مولر هينيتون بواسطة ماسحة معقمة بشكل منتظم وتُركت الأطباق لمدة عشر دقائق ، ثم وضِعت أقراص الصادات الحيوية عليها وحضنت لمدة ٢٤ ساعة على درجة ٣٥مْ ،ثم تم قياس مناطق تثبيط النمو للجراثيم و قُورِنت بالمعدلات القياسية حسب توصيات الشركة المنتجة للأقراص Abtek وتم استخدام الأقراص المشبعة بالصاد الحيوي التالية :

جينتامايسين GN ١٠ ميكروغرام / القرص ، اريثرومايسين ERY ١٥ ميكروغرام / القرص ، ازيترومايسين AZM ١٥ ميكروغرام / القرص ، اميكاسين AMK ٣٠ ميكروغرام / القرص ، انروفلوكساسين ENR ٥ ميكروغرام / القرص ، امبيكتام (امبيسلين + سولبكتام) UNZ ١٠/١٠ ميكروغرام / القرص ، دوكسي سايكلين DOX ٣٠ ميكروغرام / القرص ، سبيكتينومايسين SPC ١ ميكروغرام / القرص ، سلفاميكسازول (سلفاديازين + تريميوثبرين) COT ٢٥ ميكروغرام / القرص ، سيبروفلوكساسين CIP ٥ ميكروغرام / القرص ، سيفاكلور CCL٣٠ ميكروغرام / القرص ، فلورفينيكول FL ٣٠ ميكروغرام / القرص ، فلوموكوين

FLM ٣٠ ميكروغرام / القرص ، فوسفومايسين FOS ٢٠٠ ميكروغرام / القرص ، كولستين COL ١٠ ميكروغرام / القرص ، لينكومايسين LN٢ ميكروغرام / القرص ، نالديكسيك اسيد NAL ٣٠ ميكروغرام / القرص ، نيتروفيوران NIT ٣٠٠ ميكروغرام / القرص، نيومايسين N ٣٠ ميكروغرام / القرص ، اوغمنتين AUG (اموكسي + كلافونيك اسيد) ٣٠ ميكروغرام / القرص ، سيفالوكسين CFX٣٠ ميكروغرام / القرص

وكان التقييم على ثلاثة مستويات (حساس – متوسط الحساسية – مقاوم) وفقاً لدليل الشركة حسب الجدول رقم (3).

جدول (3-4): أنوع وتراكيز الصادات الحيوية المستخدمة في الدراسة وحساسية الجراثيم حسب أقطار منع النمو بالميليمتر.

الصاد الحيوي	الرمز	التركيز ميكروغرام/ القرص	قطر منع النمو (ملم)		
			حساس	متوسط	مقاوم
Gentamicin	**p**	١٠	≥١٨	١٤-١٧	≤١٣
Erythromycin	**ERY**	١٥	≥٢٣	١٧-٢٥	≤١٣
Azithromycin	**AZM**	١٥	≥١٨	١٤-١٧	≤١٣
Amikacin	**AMK**	٣٠	≥١٧	١٥-١٦	≤١٤
Enrofloxacin	**ENO**	٥	≥٢٠	١٧-١٩	≤١٦
Ampicillin/Sulbactam	**UNZ**	(١٠/١٠)	≥١٥	١٢-١٤	≤١١
Doxicyclin	**DOX**	٣٠	≥١٦	١٣-١٥	≤١٢
Spectinomycin	**SPC**	١	≥١٨	١٥-١٧	≤١٤

≤١٠	١١-١٥	≥١٦	(١،٢٥/٢٣،٧٥)	COT	Trimethoprim/Sulphamethoxazoze
≤١٥	١٦-٢٠	≥٢١	٥	CIP	Ciprofloxacin
≤١٤	١٥-١٧	≥١٨	٣٠	CCL	Cefaclor
≤١٢	١٣-١٧	≥١٨	٣٠	FL	Florfenicol
≤١١	١٠-١٤	≥١٥	٣٠	FLM	Flumequine
≤١٢	١٣-١٥	≥١٦	٢٠٠	FOS	Fosfamycin
≤٨	٩-١٠	≥١١	١٠	COL	Colistin
≤٩	١٠-١٤	≥١٥	٢	LN	Lincomycin
≤١٣	١٤-١٨	≥١٩	٣٠	NAL	Nalidixic.acid
≤١٤	١٥-١٦	≥١٧	٣٠٠	NIT	Nitrofurantion
≤١٢	١٣-١٦	≥١٧	٣٠	N	Neomycin
≤١٣	١٤-١٧	≥١٨	٣٠	AUG	Augmentin
≤١٤	١٥-١٧	≥١٨	٣٠	CFX	Cephalexin

6-5-3 طريقة حفظ العينات

تم حفظ العزلات الجرثومية حسب (Chabot & Thune, 1991) وذلك بالطريقة التالية:

- تم تحضير محلول غليسيرول معقم تركيز 20% وذلك بإضافة 8 مل من الماء المقطر المعقم + 2 مل الغليسيرول النقي.
- تم أخذ حجم لحجم من المحلول السابق مع محلول ملحي معقم (saline) 0.85%.
- تم تحضير معلق من العزلات الجرثومية في مرق تربتون الصويا وتحضينه لمدة 24 ساعة عند الدرجة 25° م.
- بعد 24 ساعة تم أخذ حجم من المعلق الجرثومي مع حجم من محلول (غليسيرول 20% + محلول ملحي) ووضعه بأنابيب ابندورف وبعدها تم حفظها في التجميد عند -70°م.

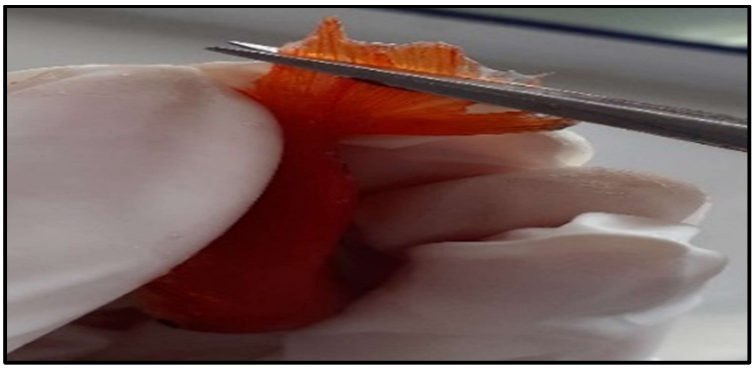
7-5-3 طريقة قياس الحمولة الجرثومية للمياه:

تم تجنيس عينة المياه بشكل جيد ونقل منها ١ مل الى أنبوب معقم يحوي ٩ مل ماء مقطر معقم للحصول على التخفيف 10^{-1} وتمرير هذا التخفيف حتى 10^{-6} .

وتم نقل ٠،١ مل من كل تخفيف من التخفيفات السابقة الى أطباق بتري معقمة تحوي أغار مغذي ، ثم تم فرد الكمية المذكورة على كامل الطبق بواسطة لوب على شكل (L) وحضنت على الدرجة ٣٧مْ لمدة ٢٤ ساعة ،وقُرِأت النتائج من خلال عد المستعمرات النامية في الأطباق التي تحتوي ٣٠ – ٣٠٠ مستعمرة وجرى تقدير أعداد البكتيريا بضرب عدد المستعمرات بمقلوب التخفيف لاستخراج العدد في ١ مل من الماء (Quinn *et al* ., 1999).

(a)

(b)



(c)

شكل (3-3): (a) أحواض تربية الأسماك . (b): طريقة نقل الأسماك. (c): طريقة أخذ العينات من الزعانف.

(a)

(b)

(c)

شكل (3-4): (a) عبوات الأوساط الزرعية. (b): تحضير الأغار المدمم. (c): الاختبارات الكيمياحيوية.

6-3 اجراء العدوى التجريبية:

تم اجراء العدوى التجريبية في مخبر تربية الأسماك وأمراضها في كلية الطب البيطري واستخدمت ٦ أحواض زجاجية من سعة ١٠٠ لتر وتم تعبئة هذه الأحواض قبل أسبوع من احضار الأسماك لإزاله الكلور منها مع تهوية جيدة للمياه، وضبطت مؤشرات المياه وخصائصها الفيزيوكيميائية لتكون (٢٢ ∓ ٢) مْ درجة حرارة الماء ودرجة بهاء pH (٧،٥ – ٨) ودرجة انحلال الأوكسجين عند (70%) مع مراقبة هذه المعايير بشكل يومي.

1-6-3 أسماك التجربة:

تم احضار ٦٠ سمكة من أسماك الكارب الذهبي بمتوسط وزن (2±11.80) غ والتي لم يظهر عليها أي أعراض مرضية من أحد محال بيع الأسماك ونقلت الى المخبر في كلية الطب البيطري بأكياس نايلون حقنت بالأوكسجين، وقسمت هذه الأسماك الى ٦ مجموعات كل مجموعة تتكون من عشرة أسماك.

وزعت هذه الأسماك في الأحواض وتركت لمدة أربعة أيام لتتكيف مع ظروف الحوض الجديد حيث تم تطبيق شروط متماثلة على كل الأحواض وتم تغذية الأسماك بحبيبات علف مركز تجارية جاهزة لتغذية أسماك الزينة.

2-6-3 طريقة العمل:

تم تجهيز محاليل الحقن اللازمة وحساب الجرعة الخامجة للأسماك حسب (Samayanpaulraj *et. al.,* 2019) بحيث لا تقل عن (10^6)، حيث تم تحضير معلق جرثومي بعكارة تساوي 0.5 على مقياس ماكفرلاند والتي تعادل (1.5×10^8) CFU/ml حسب (Zapata and Ramirez-Arcos,2015) كما تم حساب الحمولة للتأكد منها من خلال عد الجراثيم في 0.1 مل على الاطباق. تم تحضير معلق جرثومي في محلول ملحي فيزيولوجي معقم وعملت منه ممددات من 10^{-1} وحتى 10^{-10} وكل ممدد أُخذ منه 0.1 مل وزرع على 3 أطباق من المنبت المغذي، ثم أُخِذ

المعدل الوسطي لعدد الجراثيم، وتم أخذ المستعمرات المعدودة بين المجالين من (30- 300). وتم تقدير عدد الجراثيم في 0.1 مل حسب (Quinn *et al*., 1999).

عدد الجراثيم في 0.1 مل = عدد المستعمرات X التمديد.

عدد الجراثيم في 1 مل = عدد المستعمرات X التمديد X 10.

وهذه تم تحضيرها من أجل عدوى الحقن العضلي أما العدوى في الماء فقد تم تنمية العزلات (الإيروموناس و البسيدوموناس) في ٢٠٠ مل من مرق تريبتون الصويا لمدة ٢٤ ساعة على درجة ٢٥ مْ (Sarker and Faruk, 2016)

3-6-3 مجموعات أسماك العدوى التجريبية:

1-3-6-3 المجموعة الأولى:

وهي مجموعة الشاهد من أسماك الكارب الذهبي والتي تمت تغذيتها على العلف الصناعي الجاهز الخاص بأسماك الزينة مع مراعاة المحافظة على نفس شروط التجربة طول فترة العدوى التجريبية.

2-3-6-3 المجموعة الثانية:

وهي مجموعة العدوى في الماء وذلك عن طريق إضافة ٢٠٠ مل من المرق المحضن لمدة ٢٤ ساعة بجراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* إلى ماء الحوض الذي يحوي أسماك سليمة وغير مصابة بأية أذية خارجية.

3-3-6-3 المجموعة الثالثة:

وهي مجموعة العدوى في الماء عن طريق اضافة ٢٠٠ مل من المرق المحضن لمدة ٢٤ ساعة بجراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* إلى ماء الحوض الذي يحوي على أسماك تم

اصابتها بأذية ميكانيكية ، وذلك عن طريق نزع عدة حراشف من سطح جسم كل سمكة حسب (Warren , 1963).

4-3-6-3 المجموعة الرابعة:

وهي مجموعة العدوى بالحقن العضلي التي تحتوي على جراثيم *Pseudomonas* فقط ، حيث تم تحضير معلق الحقن بتركيز (10^8 x1.68)CFU/ml، و تم حقن 0.1 مل من المعلق الجرثومي في العضل باستخدام إبرة معقمة قياس (1مل) عند عضلات الظهر على أحد جانبيي الزعنفة الظهرية إلى الخلف .

5-3-6-3 المجموعة الخامسة:

وهي مجموعة العدوى بالحقن العضلي التي تحتوي على جراثيم *Aeromonas* فقط ، حيث تم تحضير معلق الحقن بتركيز (10^8 x1.76)CFU/ml، و تم حقن 0.1 مل من المعلق الجرثومي في العضل باستخدام إبرة معقمة قياس (1مل) عند عضلات الظهر على أحد جانبيي الزعنفة الظهرية الى الخلف .

6-3-6-3 المجموعة السادسة:

وهي مجموعة العدوى بالحقن العضلي التي تحتوي جراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* معاً وذلك بأخذ حجم لحجم من المعلقات السابقة ومزجها جيداً، ثم أخذ منها 0.1 مل لإجراء الحقن في العضل على أحد جانبيي الزعنفة الظهرية للخلف.

4-6-3 تقييم ضراوة العترات المستخدمة في العدوى التجريبية:

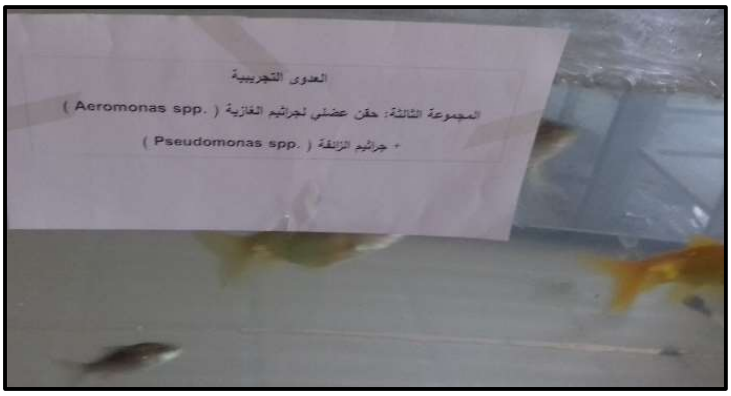
تم تقييم ضراوة العترات المستخدمة في العدوى التجريبية من خلال تقييم حالة الأسماك من بدء التجربة الى نهايتها خلال 7 أيام مع مراقبة الأسماك كل يوم، وتسجيل عدد الأسماك النافقة من كل مجموعة والأعراض الظاهرة عليها وعدد الأسماك المتبقية بعد نهاية زمن تجربة العدوى ثم

عُزلت المسببات المرضية من الأفات على الأوساط الزرعية المناسبة ، وأُجريت لها كافة الاختبارات السابقة وتم تنظيم ذلك من خلال جدول يوضح النتائج.

7-3 الدراسة الإحصائية:

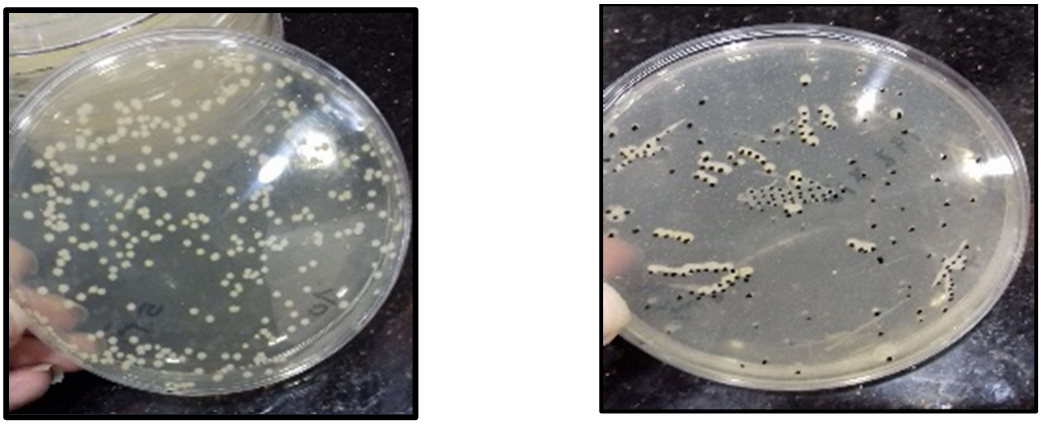
تم التحليل الإحصائي لبعض بيانات البحث التي تتطلب ذلك حسب (Origin 7)واختيرت على درجة المعنوية على مستوى 0.05 (Anova One-Way).

طريقة العمل لإجراء العدوى التجريبية



(a)

(b)



(c)

شكل (3-5): (a) أحواض اجراء العدوى التجريبية. (b) تحضير الجرعة المحقونة في التجربة. (c) اختبار العد الجرثومي للعزلات المستخدمة في التجربة.

(a)

(b)

(c)

شكل (3-6): (a) المواد المطلوبة لإجراء العدوى التجريبية. (b) طريقة الحقن في العضلات على جانبي الزعنفة الظهرية. (c) إضافة المرق الذي يحتوي على العزلات الى الأحواض لإجراء العدوى عن طريق الماء.

4-النتـــائـــج

THE RESULTS

تم اعتيان (150) سمكة من نوع الكارب الذهبي من أحواض تربية الاسماك في محال البيع الموجودة في مدينة حماة، والتي ظهرت على بعض الاسماك فيها أعراضاً مرضية يشتبه في أنها اصابة لمرض تعفن الزعانف، وقد تم اجراء الفحص الطفيلي لاستبعاد الإصابة الطفيلية.

وتم تقسيم الأسماك الى مجموعتين رئيستين:

4-1 مجموعة الأسماك السليمة ظاهرياً:

حيث شكلت نسبة (22%) من الحجم الكلي للعينات، وهذه الأسماك لم تبدي أي علامات مرضية ظاهرية للمرض سوى الخمول والسباحة عند سطح الماء.

4-2 مجموعة الأسماك المريضة ظاهرياً:

وكانت بعض أفراد هذه المجموعات تعاني من ضعف وهزال مع تغير في لون الخياشيم مع إفرازات في تجويف البطن.

وقسمت هذه المجموعة حسب سير الحالة المرضية والفحص الظاهري إلى أربع مراحل:

4-1-1 المرحلة (I): وتشمل الأسماك التي ظهر عليها خط أبيض على حواف وأطراف الزعانف، أما تشريحياً فقد لوحظ بداية شحوب في الكلى، وقد شكلت نسبة الأسماك في هذه المرحلة (16.7) % من الأفراد التي تم العزل منها.

4-1-2 المرحلة (II): وهي الأسماك التي ظهر عليها تآكل وتهتك في أطراف الزعانف مع إلتهاب في قاعدة الزعانف، تشريحياً لوحظ زيادة في شحوب الكبد والكلى، وقد شكلت هذه المرحلة نسبة (22.7) % من عدد الأفراد

4-1-3 المرحلة (III): وفي هذه المرحلة تم فقدان كامل للزعنفة مع تقرح للجلد، وقد شكلت هذه المرحلة نسبة (31.3)% من مجمل الأفراد.

4-1-4 المرحلة (IV): وهي المرحلة التي تشكلت فيها القرحات والجروح مع إصابات ثانوية أُخرى، حيث شكلت نسبة (7.3) % من حجم الأفراد التي ظهرت عليها الأعراض المرضية، أما تشريحياً فقد لوحظ في كلا المرحلتين (IIIوIV) حدوث نزوفات وتراكم للإفرازات في التجويف البطني.

الجدول (4-5) يوضح عدد أفراد الأسماك حسب المراحل المرضية :

العينة		عدد الأفراد	النسبة المئوية
الاسماك الطبيعية		33	%22
مراحل المرض	المرحلة (I)	25	%16.7
	المرحلة (II)	34	%22.7
	المرحلة (III)	47	%31.3
	المرحلة (IV)	11	%7.3
المجموع		150	

وقد لوحظ أيضا وجود أكثر من نمط للحالة المرضية على جسم السمكة الواحدة أحياناً، حيث يمكن أن توجد الإصابة في المرحلة الأولى فقط أو يمكن ملاحظة أكثر من نوع للإصابة كالمرحلة الأولى والثانية سوياً أو الثانية والثالثة سوياً،وفي المراحل المتقدمة جداً من المرض وجدت المرحلة الرابعة مع أغلب المراحل السابقة وهنا تكون الإصابة شديدة لدى هذه الأسماك ،وشكلت نسبة الاصابة المفردة والتي كانت فقط في المرحلة الأولى نسبة (21.37%)، في حين كانت نسبة الاصابة بأكثر من نوع (78.63) % من عدد أفراد الأسماك المصابة.

3-4 الفحص الجرثومي لعينات الاسماك المدروسة:

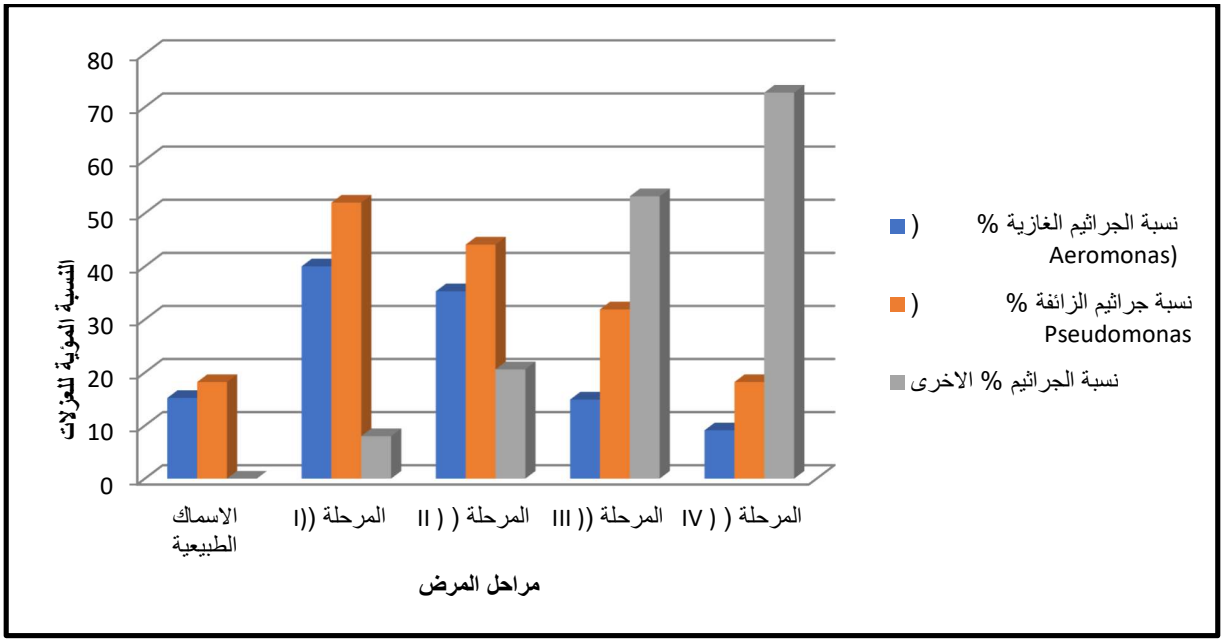
أظهرت نتائج عمليات العزل الجرثومي من زعانف الأسماك التي تم جمعها والتي فحصت ظاهرياً وتشريحياً، والتي بلغت (150) سمكة من نوع الكارب الذهبي، أن نسبة العزلات الجرثومية من **الأسماك السليمة ظاهرياً** (15,2%) للجراثيم الغازية، و (18,2%) لجراثيم الزوائف في حين

كانت بقية العينات سلبية لوجود الجراثيم فيها وكانت نسبتها (66,6)%، أما في **المرحلة الاولى (I)** فقد شكلت نسبة العزلات لجراثيم الغازية (*Aeromonas*)(40 %) ولجراثيم الزائفة (*Pseudomonas*) نسبة (52%) أما الجراثيم الاخرى فكانت بنسبة (8%) ، وقد تركزت الآفات في الزعانف فقط في هذه المرحلة.

في المرحلة الثانية (II) كانت نسبة العزلات الجرثومية كالتالي: (35,3%)، (44,1%) و (20,6%) لجراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* والجراثيم الأخرى على التوالي، ومع تقدم الحالة المرضية **أي في المرحلة الثالثة (III)** كانت نسبة العزلات الجرثومية لجراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* (14,9%) و (31,9%) على التوالي، في حين كانت نسبة الجراثيم الأخرى في هذه المرحلة (53,2%). أما في المرحلة الاخيرة للمرض وهي **المرحلة الرابعة (IV)** ومع تقدم الحالة المرضية وتشكل القرحات فقد ازدادت نسبة الجراثيم الثانوية الأخرى حيث بلغت نسبة العزلات (72,7%) ، في حين كانت نسبة عزلات جراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* لكل منهما في هذه المرحلة (9,1%) و (18,2%) على التوالي و الجدول (5) يوضح توزع العزلات الجرثومية في الزعانف حسب المرحلة المرضية.

الجدول (4-6) يوضح توزع العزلات الجرثومية في الزعانف حسب المرحلة المرضية:

	العينة	عدد الأسماك	عدد الأسماك الحاوية على الجراثيم الغازية	نسبة الجراثيم الغازية %	عدد الأسماك الحاوية على الجراثيم الزائفة	نسبة جراثيم الزائفة %	عدد الجراثيم الأخرى	نسبة الجراثيم الاخرى %
مراحل المرض	الأسماك السليمة ظاهرياً	33	5	15,2	6	18,2	-	-
	المرحلة (I)	25	10	40	13	52	2	8
	المرحلة (II)	34	12	35.3	15	44.1	7	20.6
	المرحلة (III)	47	7	14.9	15	31.9	25	53.2
	المرحلة (IV)	11	1	9.1	2	18.2	8	72.7
المجموع		150						



شكل (4-7) يوضح توزع العزلات الجرثومية في الزعانف حسب المرحلة المرضية

أما نتائج عمليات العزل الجرثومي من كلى الأسماك المصابة بتعفن الزعانف من نفس الأسماك التي تم جمعها والتي فُحِصت ظاهرياً وتشريحياً حيث تم اختيار 38 سمكة منها.

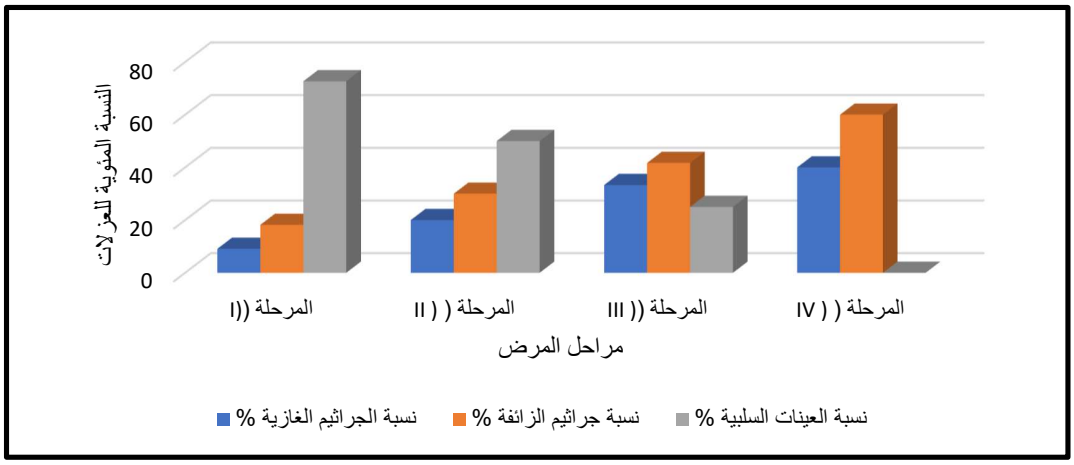
في المرحلة الاولى (I) فقد شكلت نسبة العزلات لجراثيم الغازية (*Aeromonas*) (9.1%) ولجراثيم الزائفة (*Pseudomonas*) نسبة (18.2%) أما العينات الأخرى فقد كانت سلبية لوجود الجراثيم فيها وكانت نسبتها 72.7%

في المرحلة الثانية (II) كانت نسبة العزلات الجرثومية كالتالي: (20%)، (30%) و (50%) لجراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* والعينات السلبية لتواجد الجراثيم على التوالي، ومع تقدم الحالة المرضية أي في المرحلة الثالثة (III) كانت نسبة العزلات لجراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* (33.3%) و (41.7%) على التوالي، في حين كانت نسبة العينات السلبية لوجود الجراثيم في هذه المرحلة (25%).

أما في المرحلة الاخيرة للمرض وهي المرحلة الرابعة (IV) كانت نسبة عزلات جراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* لكل منهما في هذه المرحلة (40%) و (60%) على التوالي ولم يكن هناك أي عينات سلبية لتواجد الجراثيم, والجدول (6) يبين ذلك.

الجدول (4-7) يوضح توزع العزلات الجرثومية في الكلى حسب المرحلة المرضية:

مراحل المرض	العينة	عدد الأسماك	عدد الأسماك الحاوية على الجراثيم الغازية	نسبة الجراثيم الغازية %	عدد الأسماك الحاوية على الجراثيم الزائفة	نسبة جراثيم الزائفة %	عدد العينات السلبية	نسبة العينات السلبية %
	المرحلة (I)	11	1	9.1	2	18.2	8	72.7
	المرحلة (II)	10	2	20	3	30	5	50
	المرحلة (III)	12	4	33.3	5	41.7	3	25
	المرحلة (IV)	5	2	40	3	60	-	-



شكل (4-8) توزع العزلات الجرثومية في الكلى حسب المرحلة المرضية

4-4 فحص الماء فيزيوكيميائياً وجرثومياً:

جاءت نتائج عينات مياه الأحواض السبعة التي جُمعت أثناء أخذ عينات الأسماك، والتي قِيست بعض المكونات الكيميائية لهذه المياه بالإضافة إلى الحمولة الجرثومية العامة لها Total Bacterial Count (T.B.C) ونتائج مياه حوض الأسماك السليمة كالتالي في الجدول (8)

الجدول (4-8) يوضح نتائج فحص الماء فيزيوكيميائياً وجرثومياً:

رقم الحوض	pH SD±	DO% SD±	TH(mg\L) SD±	NH_4(mg\L) SD±	T.B.C log_{10} SD±
1	0.09±*8.32	0.21±*4.35	1.5±*281.3	0.01±*0.04	0.30±*4.22
2	0.08±*8.61	0.12±*1.76	1.5±*479.6	0.01±*0.53	0.11±*4.96
3	0.1±*8.22	0.09±*2.83	1.7±*229	0.02±*0.32	0.25±*4.64
4	0.09±*8.61	0.05±*1.54	1.1±*190.3	0.01±*0.72	0.32±*4.68
5	0.08±*8.21	0.12±*4.1	1±*850	0.02±*0.13	0.13±*4.90
6	0.09±*8.42	0.13±*4.24	1.5±*580.3	0.01±*0.1	0.46±*5.39
7	0.01±*8.72	0.14±*3.41	1.5±*770.3	0.01±*0.2	0.17±*6.09
حوض الأسماك السليمة	0.1±7.57	0.11±5.81	1.5±201.3	0.01±0.02	0.22±*3.12

*النتيجة فيها فروقات معنوية عند قيمة الإحتمالية $P<0.05$ مقارنة مع حوض الأسماك السليمة.

ملاحظة: تم اغفال حساب درجات حرارة مياه الأحواض كون جميع الأحواض كانت ضمن المحال التجارية ، وكانت درجة الحرارة ضمن المجال 18م- 22°م.

5-4 تحديد هوية العامل المسبب للمرض:

تم تحديد هوية العامل المسبب بعد عملية العزل والتنقية للعزلات من الزعانف والكلى باستخدام الاختبارات الكيمياحيوية وقد أظهرت نتائج هذه الاختبارات مايلي :

1-5-4 نتائج الاختبارات الكيمياحيوية لجنس الغازية:

تم تمييز نوعين من جنس الغازية (*Aeromonas*): (*A. caviae A.hydrophila,*) وكانت الاصابة بنوع (*A.hydrophila*) هي الأغلب والتي تعتبر أحد العوامل الرئيسية المسببة للمرض.

جدول (4-9) يوضح نتائج الاختبارات الكيمياحيوية لجنس الغازية:

الخواص	*A.hydrophila*	*A. caviae*
السترات	+	**V**
اللايسين ديكاربوكسيلاز	**V**	**-**
اورثينين ديكاربوكسيلاز	+	**-**
يورياز	**-**	**-**
تحليل فينيل الانين (TDA)	**-**	**-**
ارجاع النترات	+	+
انتاج H2S	+	**-**
فوكس بروسكاور	+	+
اختبار الأندول	+	+
تخمير الجلوكوز	+	+
تخمير الادونيتول	**-**	**-**
تخمير اللاكتوز	+	+
تخمير الاربينوز	+	+

تخمير السوربيتول	-	-
اختبار الاكسدة والتخمير للجلوكوز (OF)	**مخمره (F)**	**مخمره (F)**
اختبار الاوكسيداز	+	+
اختبار الكاتالاز	+	+
اختبار التحلل الدموي نمط بيتا	+	+
صبغة غرام	-	-

تشير + و – و V الى أن أكثر من 80%، و وأقل من 20%، وما بين 21-79% من العزلات كانت ايجابية للاختبار على الوالي.

2-5-4 نتائج الاختبارات الكيمياحيوية لجنس الزائفة:

تم تمييز (3) أنواع من جنس الزوائف (*Pseudomonas*): (P.flurescens, P.putida, P.aeruginosa)، وكانت الاصابة بنوع (P.flurescens) هي الأغلب.

جدول (4-10) يوضح نتائج الاختبارات الكيميا حيوية لجنس الزائفة:

الاختبار	*P.flurescens*	*P.putida*	*P.aeruginosa*
السترات	+	+	+
اللايسين ديكاربوكسيلاز	-	-	-
اورثينين ديكاربوكسيلاز	-	-	-
يورياز	V	V	+
تحليل فينيل الانين (TDA)	-	-	-
ارجاع النترات	+	-	+
انتاج H_2S	-	-	-
فوكس بروسكاور	-	-	-
اختبار الأندول	-	-	-

تخمير الجلوكوز	+	+	+
تخمير الادونيتول	-	-	-
تخمير اللاكتوز	-	-	-
تخمير الاربينوز	-	+	-
تخمير السوربيتول	-	-	-
اختبار الاكسدة والتخمير للجلوكوز (OF)	مؤكسدة O	مؤكسدة O	مؤكسدة O
اختبار الاوكسيداز	+	+	+
اختبار الكاتالاز	+	+	+
اختبار التحلل الدموي نمط بيتا	+	+	+
صبغة غرام	-	-	-

تشير + و – و V الى أن أكثر من 80%، و وأقل من 20%، وما بين 21-79% من العزلات كانت ايجابية للاختبار على الوالي.

6-4 اختبار الحساسية لعزلات الجراثيم الغازية والزائفة:

أُجري اختبار الحساسية لعزلات جنس *Aeromonas* و *Pseudomonas* للمضادات الحيوية، وذلك باستخدام أقراص مشبعة بالمضادات الحيوية، حيث تم استخدام (21) مضاد حيوي لمعرفة المضاد الحيوي الأكثر تأثيراً في المعالجة والوقاية من المرض.

1-6-4 نتائج اختبار الحساسية لجنس الجراثيم الغازية (*Aeromonas*):

يبين الجدول (11) نتائج اختبار الحساسية لجراثيم *Aeromonas* المعزولة للمضادات الحيوية. ويلاحظ أن العزلات أغلبها كانت مقاومة للأمبسلين، السيفالكسين، أموكسيسلين، ناليدكسيك أسيد، سبكتينومايسين واللينكومايسين، وكانت أغلب العزلات حساسة لكل من الأزيترومايسين، أرثرومايسين، الاميكاسين، جينتامايسين، فلورفينيكول، فوسفومايسين،

الكولستين، النتروفيوران والنيومايسين، وكانت متوسطة الحساسية تجاه الدوكسيسيكلين، انروفلوكساسين، سيفاكلور، سيبروفلوكساسين، فلومكوين، سلفا ترايموثبريم

الجدول (4-11) يوضح نتائج اختبار الحساسية لجنس الغازية:

العزلة	نوع المضاد الحيوي	التركيز ميكروغرام/قرص	العدد	النتائج					
				حساس		متوسط		مقاوم	
				العدد	%	العدد	%	العدد	%
A.hydrophila	اريثرومايسين	15 µg	35	21	60	11	31.4	3	8.6
A. caviae			9	5	55.6	3	33.3	1	11.1
A.hydrophila	ازيترومايسين	15 µg	35	25	71.4	7	20	3	8.6
A. caviae			9	6	66.7	3	33.3	0	0
A.hydrophila	اميكاسين	30µg	35	26	74.3	8	22.9	1	2.8
A. caviae			9	7	77.8	2	22.2	0	0
A.hydrophila	انروفلوكساسين	5 µg	35	6	17.1	20	57.2	9	25.7
A. caviae			9	1	11.1	7	77.8	1	11.1
A.hydrophila	امبسلين+سولبكتام	20/10 µg	35	3	8.6	10	28.6	22	62.8
A. caviae			9	2	22.2	4	44.4	3	33.4
A.hydrophila	اموكسيسيلين+كلافونيك	20/10 µg	35	2	5.7	9	25.7	24	68.6
A. caviae			9	0		3	33.3	6	66.7
A.hydrophila	جنتامايسين	10 µg	35	26	74.3	7	20	2	5.7
A. caviae			9	6	66.7	3	33.3	0	
A.hydrophila	دوكسيسيكلين	30 µg	35	5	14.3	21	60	9	25.7
A. caviae			9	2	22.2	5	55.6	2	22.2
A.hydrophila	سبكتينومايسين	100 µg	35	1	2.8	5	14.3	29	82.9
A. caviae			9	0		1	11.1	8	88.9
A.hydrophila	سلفا+ترايميثوبريم	23.75/1.25 µg	35	29	82.9	5	14.3	1	2.8
A. caviae			9	7	77.8	2	22.2	0	

11.4	4	34.3	12	54.3	19	35	5 µg	سيبروفلوكساسين	*A.hydrophila*
	0	33.3	3	66.7	6	9			*A. caviae*
5.7	2	17.1	6	77.2	27	35	30 µg	سيفاكلور	*A.hydrophila*
11.1	1	22.2	2	66.7	6	9			*A. caviae*
74.3	26	22.9	8	2.8	1	35	30 µg	سيفالكسين	*A.hydrophila*
55.6	5	33.3	3	11.1	1	9			*A. caviae*
2.8	1	20	7	77.2	27	35	30 µg	فلورفينيكول	*A.hydrophila*
11.1	1	11.1	1	77.8	7	9			*A. caviae*
8.6	3	40	14	51.4	18	35	30 µg	فلومكوين	*A.hydrophila*
11.1	1	33.3	3	55.6	5	9			*A. caviae*
5.7	2	20	7	74.3	26	35	50 µg	فوسفومايسين	*A.hydrophila*
11.1	1	22.2	2	66.7	6	9			*A. caviae*
5.7	2	14.3	5	80	28	35	10 µg	كولستين	*A.hydrophila*
11.1	1	33.3	3	55.6	5	9			*A. caviae*
88.6	31	11.4	4		0	35	15 µg	لينكومايسين	*A.hydrophila*
100	9		0		0	9			*A. caviae*
80	28	11.4	4	8.6	3	35	30 µg	ناليدكسيك اسيد	*A.hydrophila*
66.7	6	22.2	2	11.1	1	9			*A. caviae*
	0	20	7	80	28	35	300 µg	نيتروفيوران	*A.hydrophila*
11.1	1	11.1	1	77.8	7	9			*A. caviae*
2.8	1	14.3	5	82.9	29	35	30 µg	نيومايسين	*A.hydrophila*
11.1	1	11.1	1	77.8	7	9			*A. caviae*

2-6-4 نتائج اختبار الحساسية لجنس الزائفة (*Pseudomonas*):

يبين الجدول (12) نتائج اختبار الحساسية لجراثيم *Pseudomonas* المعزولة للمضادات الحيوية، ويلاحظ أن العزلات أغلبها كانت مقاومة ل الأمبيسلين، السبكتينومايسين واللينكومايسين، سيفالوكسين، أموكسيسكلين، نيومايسين وكانت العزلات أغلبها حساسة لكل من الأزيترومايسين، الاميكاسين، الأرثرومايسين، الجنتامايسين، السيبروفلوكساسين، الفوسفومايسين والكولستين، فلورفينيكول، وكانت متوسطة الحساسية تجاه الدوكسيسيكلين، السلفاديازين مع الترايميثوبريم، السيفاكلور، الفلومكوين، الناليدكسيك اسيد، النيتروفيوران وانروفلوكسساسين.

الجدول (4-12) يوضح نتائج اختبار الحساسية لجنس الزائفة:

العزلة	نوع المضاد الحيوي	التركيز ميكروغرام/قرص	العدد	النتائج					
				حساس		متوسط		مقاوم	
				العدد	%	العدد	%	العدد	%
P.flurescens	اريثرومايسين	15 µg	34	14	41.2	11	32.4	9	26.4
P.putida			9	4	44.5	3	33.3	2	22.2
P.aeruginosa			21	9	42.9	2	9.5	10	47.6
P.flurescens	ازيترومايسين	15 µg	34	17	50	12	35.3	5	14.7
P.putida			9	5	55.6	2	22.2	2	22.2
P.aeruginosa			21	11	52.4	6	28.6	4	19
P.flurescens	اميكاسين	30µg	34	20	58.8	13	38.2	1	3
P.putida			9	7	77.8	2	22.2	0	
P.aeruginosa			21	13	61.9	8	38.1	0	
P.flurescens	انروفلوكساسين	5 µg	34	8	23.5	15	44.1	11	32.4
P.putida			9	3	33.3	4	44.5	2	22.2
P.aeruginosa			21	4	19	7	33.3	10	47.7

79.4	27	14.7	5	5.9	2	34	20/10 µg	امبسلين+سولبكتام	*P.flurescens*
66.7	6	22.2	2	11.1	1	9			*P.putida*
71.4	15	14.3	3	14.3	3	21			*P.aeruginosa*
73.5	25	23.6	8	2.9	1	34	20/10 µg	اموكسيسيلين+كلافونيك	*P.flurescens*
77.8	7	22.2	2		0	9			*P.putida*
71.4	15	19.1	4	9.5	2	21			*P.aeruginosa*
11.7	4	32.4	11	55.9	19	34	10 µg	جنتامايسين	*P.flurescens*
11.1	1	33.3	3	55.6	5	9			*P.putida*
9.5	2	42.9	9	47.6	10	21			*P.aeruginosa*
38.2	13	44.1	15	17.7	6	34	30 µg	دوكسيسيكلين	*P.flurescens*
44.5	4	44.4	4	11.1	1	9			*P.putida*
28.6	6	61.9	13	9.5	2	21			*P.aeruginosa*
85.3	29	11.8	4	2.9	1	34	100 µg	سبكتينومايسين	*P.flurescens*
77.8	7	22.2	2		0	9			*P.putida*
66.7	14	23.9	5	9.5	2	21			*P.aeruginosa*
26.5	9	44.1	15	29.4	10	34	23.75/1.25 µg	سلفا+ترايميثوبريم	*P.flurescens*
33.3	3	44.5	4	22.2	2	9			*P.putida*
28.6	6	38.1	8	33.3	7	21			*P.aeruginosa*
20.6	7	26.5	9	52.9	18	34	5 µg	سيبروفلوكساسين	*P.flurescens*
11.1	1	33.3	3	55.6	5	9			*P.putida*
19	4	38.1	8	42.9	9	21			*P.aeruginosa*
32.4	11	38.2	13	29.4	10	34	30 µg	سيفاكلور	*P.flurescens*
44.5	4	22.2	2	33.3	3	9			*P.putida*
33.3	7	42.9	9	23.8	5	21			*P.aeruginosa*
47.1	16	35.2	12	17.7	6	34	30 µg	سيفالكسين	*P.flurescens*
66.7	6	22.2	2	11.1	1	9			*P.putida*
61.9	13	23.9	5	14.2	3	21			*P.aeruginosa*

17.7	6	29.4	10	52.9	18	34	30 µg	فلورفينيكول	*P.flurescens*
22.2	2	44.5	4	33.3	3	9			*P.putida*
23.8	5	33.3	7	42.9	9	21			*P.aeruginosa*
47.1	16	32.4	11	20.5	7	34	30 µg	فلومكوين	*P.flurescens*
55.6	5	33.3	3	11.1	1	9			*P.putida*
47.6	10	38.1	8	14.3	3	21			*P.aeruginosa*
11.8	4	29.4	10	58.8	20	34	50 µg	فوسفومايسين	*P.flurescens*
	0	33.3	3	66.7	6	9			*P.putida*
4.7	1	42.9	9	52.4	11	21			*P.aeruginosa*
11.8	4	23.5	8	64.7	22	34	10 µg	كولستين	*P.flurescens*
22.2	2	22.2	2	55.6	5	9			*P.putida*
4.8	1	38.1	8	57.1	12	21			*P.aeruginosa*
88.2	30	11.8	4		0	34	15 µg	لينكومايسين	*P.flurescens*
88.9	8	11.1	1		0	9			*P.putida*
85.7	18	9.5	2	4.8	1	21			*P.aeruginosa*
32.4	11	47.1	16	20.5	7	34	30 µg	نالیدکسیك اسید	*P.flurescens*
44.5	4	33.3	3	22.2	2	9			*P.putida*
42.9	9	52.4	11	4.7	1	21			*P.aeruginosa*
32.4	11	29.4	10	38.2	13	34	300 µg	نيتروفيوران	*P.flurescens*
22.2	2	33.3	3	44.5	4	9			*P.putida*
23.8	5	33.3	7	42.9	9	21			*P.aeruginosa*
50	17	38.2	13	11.8	4	34	30 µg	نيومايسين	*P.flurescens*
66.7	6	22.2	2	11.1	1	9			*P.putida*
38.1	8	47.6	10	14.3	3	21			*P.aeruginosa*

6-4 نتيجة اختبار العدوى التجريبية:

بلغ معدل نفوق الأسماك المحقونة بجراثيم *Aeromonas* و 70% بينما الأسماك التي حقنت بجراثيم *Pseudomonas* 80% أما مجموعة الأسماك التي حقنت بجراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* معاً فقد بلغ معدل النفوق فيها 90% ، ومجموعة الأسماك التي أضيفت لها جراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* في الماء مع التسبب لها بأذية خارجية بنزع عدة حراشف من سطح جسمها كان معدل النفوق فيها 80% في حين لم يكن هناك نفوق في المجموعة التي لم نسبب لها أذيه خارجية ولكن بدأ يظهر فيها علامات سباحة غير طبيعية وبدأت علامات الخط الأبيض على أطراف زعانفها, والجدول (13) يوضح ذلك.

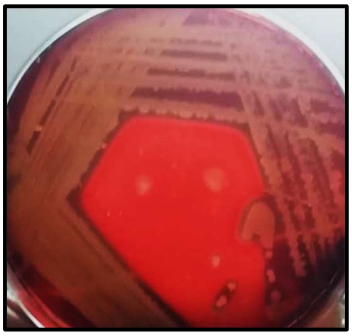
جدول (4-13) نتائج اختبار العدوى التجريبية:

الأيام بعد الحقن	*Aeromonas* حقن عضلي	*Pseudomonas* حقن عضلي	*Aeromonas Pseudomonas* حقن عضلي	*Aeromonas Pseudomonas* في الماء بدون نزع حراشف	*Aeromonas Pseudomonas* في الماء مع نزع حراشف	شاهد سلبي
1	2	5	4	-	3	-
2	2	3	4	-	3	-
3	3	-	1	-	2	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
مجموع النفوق	10/7	10/8	10/9	10/0	10/8	10/0
نسبة النفوق	%70	%80	%90	%0	%80	%0

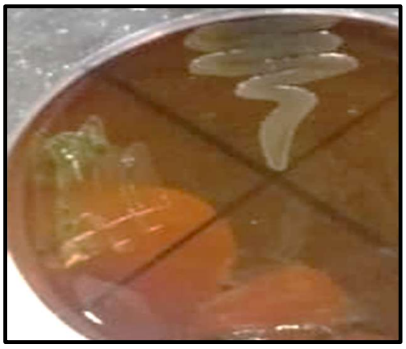
نتائج العزل الجرثومي

(a)

(b)



(c)



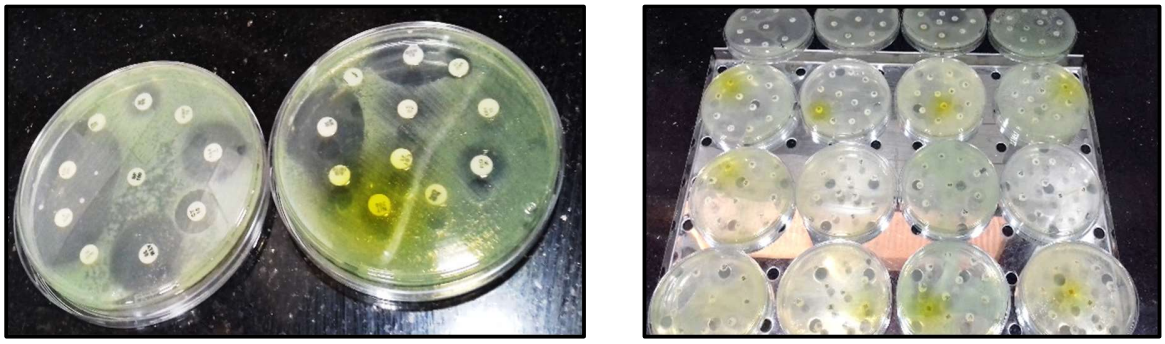
(d)

(e)

(f)

العينة السلبية للاختبار | العينة الإيجابية للتخمير (F) | الحالة الإيجابية للأكسدة (O)

شكل (4-9): (a) طريقة العمل على اختبارات الكيمياحيوية، (b) مستعمرات الزوائف على منبت ماكونكي، (c) التحلل الدموي على منبت الاغار المدمم، (d) مستعمرات الايروموناس على منبت أغار الايروموناس، (e) النتيجة الإيجابية لاختبار الأوكسيداز، (f) نتائج اختبار OF.



(b) (a)

شكل (4-10): نتائج اختبار الحساسية.

المناقشة

DISCUSSION

من خلال هذه الدراسة التي تمت على 150 سمكة كارب ذهبي أغلبها تبدي علامات إصابة بمرض تعفن الزعانف وقد كانت هذه الأسماك مأخوذة من 7 أحواض تجارية حيث أُختيرت بناء على الأعراض الخارجية الظاهرة على الأسماك.

وتختلف أعداد الأسماك المأخوذة من كل حوض حسب انتشار الحالات المرضية ،فتم أولاً جمع الأسماك المصابة والتي يظهر على زعانفها وسطح جسمها المرض فكانت نسبتها 78% ثم اختيرت الأسماك التي تبدي علامات خمول وسباحة عند سطح ماء الحوض ولكنها سليمة ظاهرياً ،لإكمال عدد الأسماك والحصول على عدد مناسب للدراسة وكانت نسبة هذه الأسماك 22%.

قسمت الأسماك المصابة حسب سير الحالة المرضية والفحص الظاهري الى أربع مراحل:

المرحلة الأولى للمرض **(I)**: الأسماك التي ظهر عليها خط أبيض على حواف وأطراف الزعانف، وكانت نسبتها (16.7) % ، أما المرحلة الثانية **(II):** وهي الأسماك التي ظهر عليها تآكل وتهتك في أطراف الزعانف وبلغ نسبتها (22.7) % ، وفي المرحلة الثالثة**(III)** والرابعة **(IV)** للمرض وكانت نسبة الأسماك على التوالي(31.3)% و (7.3)%.وذلك كما أشار (Goede & Barton, 1990; Canon Jones *et. al.,* 2010.) في تصنيف مراحل الإصابة بمرض تعفن الزعانف.

وقد لوحظ وجود أكثر من نمط للحالة المرضية على جسم السمكة الواحدة أحياناً وهذه الأسماك كانت جميعها من المرحلة الثانية والثالثة والرابعة وكانت نسبتها (78.63)% ويعود السبب في أن العلامات الخارجية لأمراض الأسماك واسعة للغاية ومتغيرة جداً بشكل ملحوظ كتلون الداكن للزعانف أو التآكل مع النزيف في الجلد والزعانف حسب (Noga, 2010) اما الأسماك المصابة بنمط واحد من الحالة المرضية فكانت من المرحلة الأولى للمرض ونسبتها (21.37)%.

1-5 العزل الجرثومي للعامل المسبب:

عُزلت جراثيم *Aeromonas* من زعانف الأسماك السليمة ظاهرياً بنسبة (15.2)% وجراثيم *Pseudomonas* بنسبة (18.2)% وهذا يدل على وجود هذه الجراثيم بشكل دائم في الأسماك وزعانفها ولكن بنسب محدودة نوعاً ما وهذا يتوافق مع (Colwell, 1962; Bell *et al*., 1971;

Horsely, 1973, Trust and Sparrow, 1974; Austin and Al Zahrani, 1988;, Inglis *et al*., 1993: Sugita *et al*., 1995)

حيث أكد الباحثون أن *Pseudomonas* تتواجد بشكل أساسي في المياه والرواسب المرتبطة بالأسماك أو بيض الأسماك أو في جلد وزعانف وخياشم الأسماك.

وأكد أيضا Toranzo *et al*, (1986), Austin *et al*.,(1996) أن *Aeromonas* تتواجد على نطاق واسع في المسالك المعوية للأسماك وزعانفها والماء وأحواض أسماك المياه العذبة الغنية بالمواد العضوية ويدعم هذه الصورة ما توصل اليه دعبول (2009) في دراسة أجراها في سوريا على أسماك الكارب حيث تمكن من عزل جراثيم الايروموناس أيضاً من الأسماك السليمة ظاهرياً وكانت نسبة العزل 22.22%.

ومن خلال نتائج هذه الدراسة تبين أن نسبة العزل في المرحلة الأولى للمرض لجراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* على التوالي (40)% و (52)% ونسبة الجراثيم الأخرى (8)% ومع تقدم الحالة المرضية في المرحلة الثانية للمرض كانت النسب على التوالي (35.3)% (44.1)% (20)%.وفي المرحلة الثالثة والرابعة تناقصت نسبة جراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* بشكل كبير وزادت نسبة عزل الجراثيم الأخرى لتصل في المرحلة الرابعة الى (72.7)% ويعلل ذلك الى أن المسبب الرئيسي لتعفن الزعانف والذي هو جراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* والتي عزلت من المرحلة الأولى للمرض بشكل كبير قد تراجعت مع تقدم سير الحالة المرضية نتيجة المشاركة مع الجراثيم الأخرى الثانوية التي أسهمت في تطور الحالة المرضية وغيرت وسط تكاثر العامل المسبب الرئيسي وهذا ينسجم مع ما أشار إليه Austin and Austin (2007).

أما في الكلى فقد تم عزل جراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* من المرحلة الأولى للمرض ولكن بنسب قليله جداً كون الإصابة في هذه المرحلة تتركز في الزعانف فقط أي في السطح الخارجي للجسم وكانت نسبة عزل هذه الجراثيم (9.1)%و(18.2)% على التوالي ومع تقدم سير الحالة المرضية في المرحلة الثانية والثالثة للمرض زادت نسبة عزل هذه الجراثيم بشكل كبير نتيجة وصول هذه الجراثيم الى تيار الدم مما أدى لتركزها بشكل كبير في الكلى وصولاً للمرحلة الرابعة للمرض حيث كانت جميع

الأسماك مصابه بجراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* في الكلى نتيجة تطور الإصابة بتعفن الزعانف من الشكل الخارجي الى الشكل الحشوي الذي يؤدي الى تسمم دموي عام وهذا ما ذكره (Anitha,2010).

2-5 نتائج المياه مع توزع المراحل المرضية:

من خلال الدراسة تمت ملاحظة تواجد الحالات المرضية بالمجمل في جميع هذه الأحواض كون نتائج تحليل مياه هذه الأحواض سيئة جداً وبعيدة عن المعايير النظامية لتربية أسماك الزينة حيث كانت جميع الاحواض مرتفعة من حيث الحمولة الجرثومية وأكثر الاحواض ارتفاعاً بها الحوض 5 و 6 و 7 وارتفاع قيمة الpH أيضاً مما أدى الى ارتفاع في حالات تعفن الزعانف.

حيث أشار Reash and Berra, (1989) إلى أن نوعية المياه السيئة وارتفاع الحمولة الجرثومية فيها يظهر معدلات أكبر من تأكل الزعانف وأكد ذلك Pelis and McCormick, (2003) في أن المراحل المتقدمة من مرض تعفن الزعانف تكون عالية في البيئات الملوثة عن البيئات الأقل تلوث وأيضاً زيادة أمراض الأسماك الحادة في المياه ذات المواد العضوية العالية (*Toor et al.*,1983; Bauer *et al.*,1973; Rippey and Cabelli,1980).

وقد لوحظ انخفاض شديد لقيمة الأمونيا ، في الحوض 2 ، 3 ، 4 حيث انتشرت مراحل المرض الثانية والثالثة بشكل ملحوظ وهذا يتوافق مع ما ذكره Jeney *et al* (1992) ; Jensen *et al*., (1993) فقد أوضحوا أن التراكيز العالية من الأمونيا تؤدي إلى تنخر في أنسجة الزعانف والخياشيم وانتشار لمرض تعفن الزعانف بشكل كبير.

وكذلك الأمر بالنسبة للحوض رقم 2 و 4 أيضاً انتشرت حالات مرضية لتعفن الزعانف لانخفاض الأوكسجين المنحل وأيضاً ارتفاع في الpH حيث أن أفضل قيمة لبقاء أسماك الزينة بصحة جيدة هي 7.4 حسب (Wurts and Durborow 1992; Albers, 1970) وهذا ما بينته نتيجة تحليل معايير المياه لحوض الأسماك السليمة الذي تم تربية الأسماك فيه والمحافظة على شروط ثابتة حيث لم يتواجد فيه أي حالات مرضية وكانت أغلب معاييره ضمن الحدود المناسبة لتربية أسماك الزينة وصحتها مما

منع ظهور الحالات المرضية .وأشار khatun *et al.*,(2011) في أن جراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* هي جراثيم منتشرة بكل مكان وتصبح ممرضة للأسماك في الظروف البيئية غير المواتية حيث أنها تعتبر من النبيت الطبيعي للأحياء المائية ومياه المفرخات السمكية ومياه أحواض الأسماك ومزارعها وتكون متواجدة في الزعانف والخياشيم والأمعاء وتصبح ممرضة في حال حدوث الاجهاد الذي يخفض الدفاعات الطبيعية وعند ازدحام الأسماك وانخفاض الأوكسجين المنحل والأمونيا العالية وبذلك تكون هذه أغلب العوامل الممهدة للمرض وهذا ما أكده الباحثون Larmoyeux &Piper,(1973); Barker *et.al.*,(1994); Latremouille, (2003)

3-5 تحديد هوية العامل المسبب للمرض:

تم عزل جراثيم من المرحلة الأولى للمرض بنسبة (40)% بنسبة (56)% ومن الكلى كانت جميع العزلات هي جراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* في مختلف مراحل المرض وهذا يؤكد أنها العامل الأساسي المفترض للمرض وتم تحديد هوية العامل المسبب باستخدام الاختبارات كيمياحيوية وتم تمييز نوعين لجراثيم *Aeromonas* (*A.hydrophila, A. caviae*) وجراثيم *Pseudomonas* تم تمييز (*P.flurescens, P.putida, P.aeruginosa*) وهذه النتائج قريبة نوعاً ما مع عديد من الباحثين منهم (Crouse-Eisnor *et al.*, 1985; Ostland *et al.*, 1989; Yildiz and Kumantas, 2002; Chanda *et al.*, 2011; Kayis *et al.*, 2013) حيث تم عزل *A.hydrophila* و*P.putida* , من سطح جسم وزعانف الأسماك الذهبية المصابة بنزيف في الجلد والزعانف وقام ايضاً Harikrishnan *et* al.,(2009a) بعزل *A.hydrophila* من الأسماك الذهبية المصابة بآفات على الزعانف والرأس والكلى. وقام Chowdhury,(1998) في دراسة أجراها على أسماك المياه العذبة المصابة بتعفن زعانف حيث تم عزل *Aeromonas* و *Pseudomonas*. كما قام الباحث Rab *et al.*,(2001) أيضا بعزل هذه الجراثيم من الأسماك المصابة بحالات التسمم الدموي.

وفي بنغلادش قام الباحث *Khan,(2001)* بعزل عدة أنواع للإيروموناس (*A. hydrophila*, *A. veronii, A. schubertii and A. jandaei*) من أسماك مصابة بأذية في الزعانف ونزوفات في

سطح الجسم الخارجي، *أما الباحث (Taylor,(2003 فقد قام بعزل 30 عينة من أسماك الكارب وهي (A.hydrophila و A. sobria و A.cavia)*

*وتمكن كلا من (*Miranda and Zemelman,(2002 من عزل *A.hydrophila* و *P.flurescens* من أسماك السلمون في شمال ألمانيا وأيضا (Saha and pal,2002) تم عزل Aeromonas و *Pseudomonas* من الجروح السطحية للأسماك.

وصرح Naderi and Maivan,(2003) في دراسة أجراها على الكارب العاشب المصاب بتعفن الزعانف أن العزلات تنتمي إلى *A.hydrophila* و *A.cavia* و *Pseudomonas* .

وفي دراسة أخرى قام بها Xia et al.,(2004) بعزل عده أنواع جرثومية من أسماك الكارب المصابة بأذية في الزعانف وسطح الجسم وهي A.hydrophila و A.cavia و P.flurescens .

وقد وجد الباحثان Manshadi and Assareh,(2014) أن العامل المسبب في أسماك الترويت *Aeromonas hydrophila* 100 % من العزولات المعزولة من الحالات المرضية، أما جراثيم الزائفة وجدت بالنسب التالية: 36.84 % *Pseudomonas fluorescens*، 31.57 %*Pseudomonas aeruginosa* وبنسبة 21.05 % *Pseudomonas putida*، وكانت 10.25 % من العزولات *Pseudomonas* غير معروفة.

4-5 اختبار الحساسية تجاه الصادات الحيوية:

كانت عزلات جراثيم *Aeromonas* أغلبها مقاومة للأمبسلين، السيفالكسين، أموكسيسلين، ناليدكسيك أسيد ، سبكتينومايسين واللينكومايسين ، وكانت العزلات حساسة لكل من الازيترومايسين ، ارثرومايسين، الأميكاسين ، جينتامايسين، فلورفينيكول ، فوسفومايسين، الكولستين، النتروفيوران ,النيومايسين ، وسلفا ترايموثبريم وكانت متوسطة الحساسية تجاه الدوكسيسيكلين ، انروفلوكساسين، سيفاكلور، سيبروفلوكساسين، فلومكوين، وهذا يتوافق نوعا ما مع (صباغ,2018) حيث كانت العزلات مقاومة للأمبيسلين والسيفالكسين ومتوسطه الحساسية للأوكسي تتراسيكلين والدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين والسيبروفلوكساسين وكانت حساسة للفلورفينكول ,السلفاترايمثوبريم الارثرومايسين

,النيومايسين,فلومكوين,جنتامايسين.ويتوافق جزئيا مع (دعبول,2009) حيث كانت عزلات الايروموناس مقاومة للأرثرومايسين ,الأمبيسلين, فلومكوين, تتراسايكلين والفلورفينكول وحساسة للسيبروفلوكساسين,نيومايسين,جنتامايسين,والسلفاترايموثبريم.

كما بين Chong *et al*.,(1980) أن عزلات *Aeromonas* حساسة للجنتامايسين والتتراسايكلين, كولستين, ومقاومة للأمبيسلين ومتوسطة الحساسية للستربتومايسين بينما كانت مقاومة للستربتومايسين وحساسة للجنتامايسين, ارثرومايسين, نيومايسين سيبروفلوكساسين أميكاسين وسلفاترايموثبريم لدى الباحثين (Shayo *et al*.,2012) و كانت حساسة للستربتومايسين ومتوسطة للأرثرومايسين ومقاومة للأمبيسلين والسيفالكسين لدى (Jeeva *et al*.,2013).

ويعود ذلك الاختلاف في الحساسيات نتيجة الى تباعد المناطق التي تم عزل الجراثيم منها أو التباعد أيضا في الفترة الزمنية والاستخدام العشوائي للصادات الحيوية وبكميات كبيرة مما أدى لحصول مقاومة نوعية ضد صاد حيوي معين.

أما عزلات جراثيم *Pseudomonas* فقد كانت مقاومة ل الامبيسلين، السبكتينومايسين واللينكومايسين، سيفالوكسين، أموكسيسكلين، نيومايسين وكانت العزلات حساسة لكل من الازيترومايسين، الاميكاسين، الارثرومايسين، الجنتامايسين، السيبروفلوكساسين، الفوسفومايسين والكولستين، فلورفينيكول، وكانت متوسطة الحساسية تجاه الدوكسيسيكلين، السلفاديازين مع الترايميثوبريم، السيفاكلور، الفلومكوين، الناليدكسيك اسيد، النيتروفيوران وانروفلوكسساسين ويتوافق جزئياً مع دراسة للباحثين (Shayo *et al*.,2012) على حساسيه جراثيم *Pseudomonas* ، حيث كانت العزلات حساسة جنتامايسين وسيبروفلوكساسين والنيومايسين ومتوسط للأميكاسين والأرثرومايسين ومقاومة للأمبيسلين ,التتراسايكلين ,أموكسي والسلفاترايموثبريم.

وبذلك نجد أن جراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* مختلفة الحساسية بين منطقة وأخرى، وقد يعود ذلك الى الاستخدام العشوائي والمتكرر أو الاستخدام لمدة طويلة لهذه الصادات الحيوية واختلافات المعالجات بين منطقة وأخرى مما أدى لاكتساب هذه الجراثيم صفة المقاومة.

5-5 العدوى التجريبية:

أظهرت نتائج العدوى التجريبية أن جراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* معاً يمكن أن تسبب نفوق تصل الى 90% وفي مصر أظهرت نتائج العدوى التجريبية أن هذه الجراثيم تسبب نفوق تصل الى 100%(Ibrahem *et al*.,2008).

وقد بلغ معدل نفوق الأسماك خلال مدة العدوى التجريبية التي هي 7 أيام في المجموعة التي حقنت بجراثيم الايروموناس 70%وهذا يتوافق نوعاً ما مع (Shayo *et al*.,2012) حيث بلغ معدل نفوق الأسماك خلال 48 ساعة من الحقن بجراثيم الايروموناس 75% ، أما الأسماك المحقونة *Aeromonas* و *Pseudomonas* معاً كان معدل النفوق 90%.

و في دراسة أخرى للعدوى التجريبية في الفلبين بلغ معدل نفوق الأسماك المحقونة أيضا بجراثيم *Aeromonas* المائية 50% (Lio *et al*.,1998) وقد فُسر هذا الانخفاض في معدل النفوق الى أن الجراثيم المعزولة من الأسماك أكثر ضراوة من الجراثيم المعزولة من المياه (Paniagua *et al*.,1990).

أما المجموعة التي حقنت بجراثيم *Pseudomonas* بلغ معدل النفوق بها 80% خلال 48 ساعة ولدى (Shayo *et al*.,2012) كانت عترات *Pseudomonas* ضارية جدا حيث سببت معدل نفوق 90%.

وفي تجربة أيضا قام بها الباحث Bullock,(1965) على أسماك الترويت والكارب الذهبي لقياس ضراوة جراثيم *Pseudomonas* كانت نسبة النفوق في الأسماك الذهبية 88.9% أما في أسماك الترويت كانت 83.3% حيث أنها كانت أكثر امراضية على الكارب الذهبي، وعند إضافة هذه الجراثيم الى المياه لمجموعة الأسماك التي تم التسبب لها بأذية خارجية بنزع عدة حراشف من سطح جسمها كانت نسبة النفوق 70%.

أما في هذه الدراسة كانت النفوق للأسماك اعلى وصلت الى 80% ويعود السبب لاستخدام جراثيم *Aeromonas* و *Pseudomonas* معاً في المياه.

أما مجموعة الأسماك التي لم يسبب لها اذية بنزع حراشفها والسليمة بشكل تام فلم تسبب لها الجراثيم أية نفوق إنما بدأ لظهور علامات تعفن الزعانف خلال مدى العدوى التجريبية وهذا يتوافق أيضا مع (Bullock,1965).

وتفسر ألية العدوى التجريبية هنا بالتركيز على عاملين أساسيين هما فوعة الجراثيم فهي كما ذكر سابقاً معزولة من الحالات المرضية لدى الأسماك فتكون شديدة الفوعة بالمقارنة مع الجراثيم المعزولة من المياه ، والعامل الأخر هو ألية انتقال العامل المسبب والمدخل الأساسي للعدوى ، فهناك سلسلة عامة لدخول الجراثيم ،تؤدي إلى تطور العدوى بشكل متتابع ، ففي مرض تعفن الزعانف تكون ألية انتقال العامل المسبب إلى داخل جسم السمكة بألية متتابعة تدعى بالمسار التطوري للمرض لتصل هذه الجراثيم إلى الأوعية الدموية فالدم لتنتشر في كافة الأعضاء الداخلية، لكن الأهم بداية وجود أذية خارجية أو أية عوامل أخرى مجهدة للأسماك فتفقدها مناعاتها الخارجية وتسبب انتشار المرض في كامل جسمها ، وهذا ما أكدت عليه العدوى التجريبية حيث أن الحقن العضلي سرع بشكل كبير من المسار التطوري للمرض وأدى إلى نفوق الأسماك، كما أيضاً الأذية الخارجية سببت ذلك. (Paniagua *et al*.,1990).

6-الاستنتاجات والتوصيات

CONCLUSIONS & RECOMMENDATION

1-6 الاستنتاجات:

1. تعتبر هذه الدراسة هي الأولى من نوعها في سوريا و التي تم من خلالها تحديد العامل المسبب لمرض تعفن الزعانف.
2. تم عزل جراثيم الايروموناس و البسيدوموناس و التي تعتبرهي العامل الرئيسي للمرض من جميع مراحله
3. أظهرت العوامل المسببة للمرض حساسية تجاه بعض الصادات الحيوية والتي كان أهمها: الاميكاسين، الجنتامايسين، الأزيترومايسين، سيفاكلور، فلورفينيكول، فوسفومايسين، نيتروفيوران، نيومايسين والسلفاميثوكزازول.
4. أكدت نتائج تحليل مياه الأحواض للحمولة الجرثومية ولبعض المكونات الفيزيوكيميائية لمياه الأحواض التي كانت تربى بها الأسماك أن ارتفاع الحمولة الجرثومية والأمونيا وال pH وانخفاض الأكسجين المنحل بالماء كان من أهم العوامل الممهدة لظهور المرض وتقدم مراحله بشكل سريع.
5. تم تأكيد النتائج السابقة من خلال العدوى التجريبية وقد تبين أن العزلات الجرثومية المعزولة من الأسماك المصابة تكون شديدة الضراوة، وتسبب حالات نفوق عالية في حالة الحقن العضلي، كما أن الأذية الخارجية تسهل دخول العدوى، بينما السليمة لا تسبب لها النفوق.

2-6 التوصيات:

1. تطبيق الاجراءات الوقائية للأسماك الموجودة في أحواض الزينة، والإجراءات الرقابية لأماكن بيع هذه الأسماك لمنع بيع الأسماك الموبوءة والتي يظهر عليها أعراض مرضية.
2. تحسين ظروف التربية لأسماك الزينة ضمن الاحواض من خلال تأمين تدفق مستمر للمياه أو تغير جزء من مياه الحوض باستمرار لبقاء pH ضمن الحدود الطبيعية.
3. تجنب التربية المكثفة ضمن الاحواض والتي تسبب ارتفاع الحمولة العضوية وارتفاع نسبة الامونيا مما يساعد على ظهور المرض وتقدم حالاته.
4. الحد من حالات التنافس على الغذاء بين الأسماك الناتج عن زيادة عدد الأسماك أو تربية اعمار مختلفة ضمن الحوض الواحد والتي قد ينتج عنها حدوث أذيات خارجية لجسم الأسماك وبالتالي فتح مداخل للعدوى الجرثومية بمختلف أنواعها.
5. ضرورة الفحص الدوري للأسماك لتلافي حصول وتطور اصابات الزعانف.
6. وضع برامج تحكم بالمرض من بداية ظهور أول الآفات المرضية أي عند بدء تشكل الخط الأبيض، وإجراء التدخل العلاجي المناسب.
7. ضرورة اجراء اختبار الحساسية لتحديد نوع الصاد الحيوي المناسب وتجنب الاستخدام العشوائي والجائر للصادات والذي قد يسبب نشوء عترات مقاومة للصادات الحيوية.
8. ضرورة متابعة هذه الدراسة بدراسات أخرى توضح تأثير العلاجات المختلفة وخاصة البدائل النباتية للسيطرة على هذا المرض.

7-المراجع

REFERENCES

- المنظمة العربية للتنمية الزراعية 2008.دراسة حول تطوير تقانات الاستزراع السمكي في الوطن العربي،الخرطوم.
- صباغ، محمد أمين،2018: دراسة مرض التهاب الجلد الأحمر المسبب بجراثيم جنس الايروموناس عند الكارب العادي في مزارع الأسماك الإنتاجية،اطروحة دكتوراه-كلية الطب البيطري-جامعة حماه
- دعبول، علاء الدين،2009: التقصي عن العدوى المرضية عند أسماك الكارب العادي و المتسببة بالعصيات الجرثومية الهوائية،رسالة ماجستير-كلية الطب البيطري-جامعة البعث.

- Abbott, J.C. and Dill, L.M.,(1985): Patterns of aggressive attack in juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*) .J. Fish. Aquat .Sci,42:1702-1706.
- Albers,C.,(1970): Acid-Base Balance In: Hoar W and Randall D, editors. Fish Physiology Volume IV. New York and London: Academic Press. 17 -204.
- Allen, D.A., Austin, B.,Colwell,R.R.,(1983): Aeromonas media new species isolated from river water. Int. J. Syst. Bacteriol. 33: 599–604.
- Almazan-Rueda,P.,Schrama, J.W. and Verreth, J.A.J.,(2004): Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. Aquaculture 231, 347-359.
- Altinok, I., Balta, F., Capkin, E., Kayis, S.,(2007): Disease of rainbow trout caused by *Pseudomonas luteola*. Aquaculture, 273:393-397.
- Altinok, I., Kayis, S., Capkin, E.,(2006): *Pseudumonas putia* infection in rainbow trout, Aquaculture 261: 850-855.
- Angka, S.L., Lam,T.J., and Sin, Y.M.,(1995): Some virulence characteristics of *Aeromonas hydrophila* in walking catfish (Clarias gariepinus). Aquacul.130: 103-112.

- Anitha, A., (2010): Non specific and specific immunomodulatory efficacy of potential plant extracts in controlling major bacterial diseases in freshwater fish, Labeo rohita. Ph.D Thesis, Manonmaniam Sundaranar University, India.
- APHA, (1980): Standard methods for the examination of water and waste water, 15thEdition, American Public Health Association, Washington. Pp: 1134.
- Atlas, R.M., Parks, L.C. And Brown, A.E.,(1995): Laboratory Manual Of Experimental Microbiology. Mosby-Year Book, USA.
- Austin, B.& Austin, D.A.(2007): Bacterial Fish Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish, 4Th Edn. Praxis Publ. Ltd., Chichester, UK.
- Austin, B. and Austin, D.A.,(1993): Bacterial fish pathogens. In Schuster Chichester S, Edr. Diseases of farmed and wild fish. 2nd Edn. Springer Publication,p. 111e7.
- Austin, B., Altwegg, M., Gosling, P.J. and Joseph, S.W.,(1996): "The Genus Aeromonas". John Wiley and Sons, Ltd., Chichester, UK.
- Austin,B.and Al Zahrani, P.M.J.,(1988): The effect of antimicrobial compounds on the gastro intestinal micro flora of rainbow trout. Salmo gairdneri Richardson. J.Fish Biol. 33:1- 4.
- Awan, F., Dong, Y., Wang, N., Liu, J., Ma, K., Liu, Y.J., (2018): The fight for invincibility environmental stress response

mechanisms and Aeromonas hydrophila.Microb Pathog.116:135–45.

- Baldini, R.L., Rahme, L.G.,(2001): Commonmechanisms For Pathogens of Plants and Animals. Annu Rev Phytopathol.39:259-84.
- Bangaramma, L.M.R. and Lakshmi, B.B.,(1999): Frequency of occurrence of external diseases in 27.
- Barker, D.E., Khan, R.A., Hooper, R.,(1994): Bioindicators of stress in winter flounder, Pleuronectes americanus, captured adjacent to a pulp and paper mill in St. George's Bay, Newfoundland. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 51, 2203–2209.
- Barrow, G.I. and Feltham R.K.A.,(1999): Cowan and Steel's Manual for the Identification Of Medical Bacteria. 3rd Edn., Cambridge University Press, Cambridge, UK., pp: 331.
- Bauer, O.N., Musselius, V.A., Strelkov, Y. A.,(1973): Diseases of Pond Fishes. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem. P: 220.
- Bell, G.R., Hoskins, G.E., Hodgkiss, W.,(1971): Aspects of the characterization, identification and ecology of the bacterial flora associated with the surface of stream incubating Pacific Salmon (Oncorhynchus) Eggs. Journal fisheries Research Board of Canada, 28(10):1511-1525.

- Bodammer, J.E.,(2000): Some new observations on the cytopathology of fin erosion disease in winter flounder, Pseudopleuronectes americanus. Diseases of Aquatic Organisms 40, 51–65.
- Buchannan,R.E. and Gibbons,N.E.,(1974): Bergy's manual of detdrminative bactiology.8th ed,Baltimore wiliams and Wilkins, P345.
- Bulgar,R.J. and Sherris,J.C.,(1966): The clinical significance of *Aeromonas hydrophila*.Arch Intern Mcd 118:562-564.
- Bullock,G.L.,(1965): Characteristics and pathogenicity of capsulated pseudomonas isolated from Goldfish. Applied Microbiology,13(1)89-92.
- Canon jones, H.A., Noble, C., Damsgård, B., Pearce, G.P.,(2010): Social network analysis of the behavioural interactions that influence the development of fin damage in Atlantic salmon parr (*Salmo salar*) held at different stocking densities. Applied Animal Behaviour Science, 133:117-126.
- Chabot , D.J. and Thune, R.L.,(1991): Proteases of *Aeromonas hydrophila* complex: indentification, characterization and relation to virulence in channel catfish , Ictalurus punctatus (Rafinesque). J Fish Dis, 14, 171-183
- Chanda, M., Paul, M., Maity, J., Dash, G., Gupta, S.S., Patra, B.C. (2011): Ornamental fish goldfish, Carassius auratusand related

parasites in three districts of West Bengal, India. Chronicles Young Scientists, 2:51-54

- Chattoraj,p.,Modak,H.K.,(2015): studies on treatment of fin rot in cultured puntius sophore(HAM) using extract of neem(azadirachta indica) leaves.J Environ&Sociobiol.,12(1):29-33.
- Chong,Y.,Yi,K.N.,Lee,S.Y.,(1980): Cultural and biochemical characteristics of clinical isolates of *Aeromonas hydrophila*.Yonsei medical Journal.,21(1)52-57.
- Chowdhury, M. B. R., (1998): Involvement of aeroimonads and pseudomonads diseases of farmed fish in Bangladesh. Proceedings of the International Symposium on Diseases in Marine Aquaculture Hiroshima, Fish Pathology, 33: 4, 247-254.
- Chowdhury,M.B.R.,Muniruzzaman,M.,Zahura,U.A.,.Habib,K.Z.A. and Khatun, M.D .,(2003): Ulcer type of diseas in the fishes of small-scale farmer's pond in Bangladish.Pak.J.Biol.Sci.,6:544-550.
- Cipriano, R.,(2001): Aeromonas and motile aeromonad septicemias of fish .US Department of interior, U.S. Fish and Wildlife Service,DC,Google Scholar.
- Cipriano, R.C., (2001): *Aeromonas hydrophila* and motile Aeromonad septicemias of fish. Fish Dis Leaflet 68, United States Department of the Interior fish and wildlife service, Division of Fishery research. Washington. DC. pp.1-25.

- Colwell, R. R.,(1962): The bacterial flora of Puget Sound fish. J. Appl. Bacteriol. 25:147-158.
- Cowan,S.T., and Steel,K.J., (1974): Manual for the identification of medical bactria Second edition revised by T.S. Cowan, Cambridge University PRES.
- Cracknell.D., White, M. P., Pahl, S., Nichols W. J., M. H. Depledge M. H.,(2016): Marine Biota and Psychological Well-Being A Preliminary Examination of Dose-Response Effects in an Aquarium Setting. Environment and Behavior, 48(10) 1242–1269.
- Crouse-Eisnor, R.A., Cone, D.K., Odense, P.H.,(1985): Studies on relations of bacteria with skin surface of Carassius auratus L. and Poeciloia reticulate, Journal of Fish Biology 27:395-402.
- Daskalov, H.(2006): The importance of *Aeromonas hydrophila* in food safety. Food Control.17:474–83.
- Dowda,H.,(1977):Evaluatio of two rapid methods for identification of commonly encountered nonfermenting or oxidase-positive gram-negative rods.J Clin Microbiol 6:605-609.
- El-Sayyad,H.I., Zaki V.H., El-Shebly A.M., and El-Badry,D.A., (2010): Annals of Biological Research,Vol. 4 No.1, pp. 106-118
- Faruk,M.A.R.,Alam,M.J.,Sarker,M.M.R.S.,Kabir,M.B.,(2004): Status of fish disease and health management practices in rural freshwater aquaculture of Bangladesh.Pak.J.Biol.Sci.,7:2092-2098.

- Finegold,S.W.,Martin,W.J.,Scott,E.G.,(1978):Diagnostic microbiology.5th Edn Saint louis,CV Mosby, p180.
- Frerichs,G.N. and Roberts,R.J.,(1989): The bacteriology of Teleosts. In Fish pathology,Roberts,R.J(Edn) Bailliere Tindall,London pp:289-291.
- Goede, R.W. and Barton, B.A.,(1990): Organismic indices and an autopsy-based assessment as indicators of health and condition of fish. Am. Fish. Soc. Symposium, 8:93-108.
- Grant, J.W.A.,(2007): Territoriality. In Behavioural Ecology of Teleost Fishes. Pp. 81-103.Oxford University Press. Oxford.
- Grizzle, J.M., Kirya, Y.,(1993): Histopathology of gill, liver and pancreas and serum enzyme levels of channel catfish infected with *Aeromonas hydrophila* complex. J. Aquat Animal Health, 5, 36-50
- Gunsalus, I. C.,(1996): Pseudomonas A Century Of Biodiversity.In: Molecular Biology Of Pseudomonads. ASM Press. Washington, DC. 8–21.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C.,(2005): Modern Trends in Aeromonas Disease Management with Fish. Fisheries Science,13:281-320.
- Harikrishnan,I., Balasundaram,C.,Heo,M.S.,(2009): Effect of chemotherapy, vaccines and immunostimulants on innate immunity of goldfish infected with *Aeromonas hydrophila*. Diseases of aquatic organisms.88(1)45-54.

- Harikrishnan,R., Balasundaram, C., Moon, Y.G., Kim, M.C., Kim, J.S., Heo, M.S., (2009): Use of herbal concoction in the therapy of goldfish (*Carassius auratus*) infected with *Aeromonas hydrophila*. Bull Vet Inst Pulawy 53:27–36.
- Horak,D.L.,(1969): The effect of fin removal on stamina of hatchery-reared rainbow trout.Prog.fish Cult.,31:217-220.
- Horsley, R.W.,(1973): The bacterial flora of the Atlantic salmon (Salmo salar L) in relation to its environment. J. Appl. Bact. 36: 377-386.
- Hossian,M.M.M.,Rahman,M.A.,Mondal,S., Shadat, A.S.M, and Chowdhury M.B.R.,(2011): Isolation of Some Emergent Bacterial Pathogens Recovered from Capture and Culture Fisheries in Bangladesh. Bangladesh research publications journal.6(1):77-90.
- Howard, S.P., Critch, J., Bedi, A.,(1993): Isolation and analysis of eight exe genes and their involvement in extracellular protein secretion and outer membrane assembly in *Aeromonas hydrophila*. J Bacteriol,175: 6695–6703.
- Huys, G., M. Pearson, P. Kampfer, R.Denys, M. Cnockaert, V. Inglis and Swings, J.,(2003): *Aeromonas hydrophila* subsp ranae subsp.Nov. isolated from septicaemic farmed frogs in Thailand. Inter. J. System. Evol. Microbiol. 53:855-891.
- Ibrahem M.D., Mostafa M.M., Arab R.M.H., Rezk M.A., (2008): Prevalence Of *Aeromonas Hydrophyla* Infections In Wild and

Cultured Tilapia Nilotica (O.Niloticus) In Egypt, in 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture 1257- 1271.

- Inglis, V., Robert, R.J. and Bromage, N.R., (1993): Bacterial disease of fish. Blackwell Scientific Publ., London 143-155.
- James, H.T.&Alan,P.C., (1991) : Ecology & Classification Of North American Water Invertebrates, 911pp.
- Janda, J.M., Abbott, S.L., Khashe, S., Kellogg, G.H., and Shimad,T.,(1996) Further studies on biochemical characteristics and serologic properties of the genus Aeromonas. J.Clin. Microbiol. 34: 1930–1933.
- Jeeva, S., Packia Lekshmi, N.C.J., Raja Brindha, J., Vasudevan,A.,(2013): Studies on antibiotic subsceptibility of *Aeromonas hydrophila* Isolated from gold fish (*Carassius auratus*).international journal of current microbiology and applied sciences.,2(12)7-13.
- Jeney,G., Nemcsók,J., Jeney,Z.s., and Oláh, J.,(1992): Acute effect of sublethal ammonia concentrations on common carp (*Cyprinus carpio L.*). II. Effect of ammonia on blood plasma transaminases (GOT, GPT), G1DH enzyme activity, and ATP value. Aquaculture, 104(1-2): 149-156.
- Jensen,F.,Nikinmaa,M.,Weber,R.,(1993):Environmentalperturbati-ons of oxygen transport in teleost fishes causes consequences and

compensations. In: Rankin J and Jensen F, editors. Fish Ecophysiology. London: Chapman & Hall. 162-174.

- Johnson P.J., Paull S.H.(2011): The ecology and emergence of diseases in fresh waters. Freshwater Biol 56, 638–657.
- Joseph,S., (2001): Goldfish varieties and genetics: A handbook for breeders. Oxford: Blackwell Science. p. 21.
- Joseph,S.W.,Daily,O.P,Hunts,W.S.,Seidler,R.J.,Allen,D.A.,and Colwell,R.R.,(1979): Aeromonas primary wound infection of a diver in polluted waters.J. Clin Microbiol 10(1):46-49.
- Kahn, R.A., Campbell, J. and Lear, H.,(1981): Mortality in captive atlantic cod Gadus morhua associated with fin rot disease. Journal of Wildlife Diseases vol. 17:4.
- Kayis, S., Balta, F., Serezli, R., Er, A.,(2013): Parasites on Different Ornamental Fish Species in Turkey fisheriessciences.com 7:114-120.
- Khan, M. H.,(2001): Epidemiological studies on epizootic ulcerative syndrome (EUS) in Bangladesh. Ph.D. thesis, Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland, UK. 182pp.
- Khatun,H.,Hossain,M.D.,Jahan,S.N.,Khanom,D.A.,(2011):Bacteria l infestation in different fish at rajshahi.foundation.,9(1)77-84.
- Kiska,D.L. and Gilligan,P.H.,(2003): Pseudomonase In Manual Of Clinical Microbiology .8thed.Murray,P.R.(Ed.).ASM Press.

- Krohn, M. & Boisclair, D. 1994. The use of stereo-video system to estimate the energy expenditure of free-swimming fish. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 51, 1119–1127.
- Kvenberg,E.J.,(1991): Non-indigenous Bacterial Pathogens In Microbiology of Marine Food Products. (Edn) Donn, R. W. and Cameron, H. Van Nostrand Reinhold, New York, pp. 263-291
- Lambert,P.A.,(2002): Mechanisms Of Antibiotic Resistance In *Pseudomonas aeruginosa*.J. R Soc Med;95 Suppl 41:22–6.
- Larmoyeux, J.D. and Piper, J.D.,(1973): Effects of water reuse on rainbow trout in hatcheries.Prog. Fish. Cult., 35:2-8.
- Larmoyeux, J.D. and Piper, J.D.,(1971): Reducing eroded fin condition in hatchery trout: feeding to satiation may eliminate or reduce so-called eroded fins commom in raceway-reared trout.American Fishes and U.S. Trout News, September-October, 8-9.
- Lasee, B.A.,(1995): Introduction to Fish Health Management, U.S. Fish and Wildlife Service La Crosse Fish Health Center 555, Lester Avenue Onalaska, Wisconsin, 54650.
- Latremouille, D.N.,(2003): Fin erosion in aquaculture and natural environments. Reviews in Fisheries Science 11 (4), 315–335.
- Lio-Po,G.,Albright,L.,Michel,C.,Leano,E., M.(1998): Experimental induction of lesions in snakeheads and catfish with *Aeromonas hydrophila* and pseudomonas sp.J. of Applied Ichthyology, 14, pp. 75-79

- Lister, P.D., Wolter, D.J., Hanson, N.D.,(2009): Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*:clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clin Microbiol Rev 22, 582–610.
- Lopez,J.F.,Quesada,J.,Saied,A.,(1968): Bacteremia and osteomyelitis due to *Aeromonas hydrophila*.A complitis during the treatment of acute leukemia.Am J. Clin pathol 50:587-591.
- Lund, R.A., Hansen, L.P., Jarvi, T.,(1989): Identification of reared and wild salmon by external morphology, size of fins and scale characteristics. NINA Research Report 1.
- MacLean, A., Metcalfe, N.B., Mitchell, D.,(2000): Alternative competitive strategies in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*): evidence from fin damage. Aquaculture 184, 291-302.
- Maheshkumar,S.,(1995): The epitzootiology of fin rot in hatchery-reared Atlantic salmon(*salmo salar*). M.Sc. Thesis, University of marine, Orono.
- Mahoney, J.B., Midlige, F.H., Deuel, D.G., (1973): A fin rot disease of marine and euryhaline fishes in the New York Bight. Transactions of the American Fisheries Society (3), 596–605.
- Manshadi, A. G. and Assareh, R., (2014) : Bacterial study of Fin Rot in Brown Trout by API20E. Pakistan Journal of Biological Sciences. 17 (3):434-438.
- McCracken,A.W.,Barkley,R.,(1972): Isolation of Aeromonas species from clinical sources.J. Clin path 25:970-975.

- Mcgrath, S., Wade, D. S. And Pesci, E. C., (2004): Dueling Quorum Sensing System In *Pseudomonas aeruginosa* Control The Production Of The Pseudomonas Quinolone Signal (PQS). FEMS Microbiol. Lett. 230:27-34.
- Miranda,C.D.and Zemelman,R.,(2002): Bacterial resistance to oxytetracycline in Chilean salmon farming Aquaculture,212:31-47.
- Moles, A., Norcross, B.L.,(1998): Effects of oil-laden sediments on growth and health of juvenile flatfishes. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 55, 605–610.
- Naderi-Maivan,G.H.M.,(2003):investigating cases of fin rot by motile aeromonas of grass carp fish in some province workshops.DVM Thesis,Faculty of Veterinary Medicine,Tehran University.
- Nielsen, M. E., Hoi,L., Schmidt, A.S., Qian,D., Shimada,T., Shen,J.Y.,and Larsen, J. L.,(2001): Is *Aeromonas hydrophila* the dominant motile Aeromanas species that causes disease outbreaks in aquaculture production in the Zhejiang province of China Dis.Aquat.Org. 46: 23-29.
- Noble, C., Kadri, S., Mitchell, D.F., Huntingford, F.A.,(2007): Influence of feeding regime on intraspecific competition, fin damage and growth in 1+ Atlantic salmon parr (*Salmon salar L.*) held in freshwater production cages. Aquaculture research, 38:1137-1143.

- Noga, E.J.,(2010): Fish disease: diagnosis and treatment. 2nd Edn. Iowa State University Press.
- Noga,E.J.,(2000): Fish Disease Diagnosis and Treatment,1999.Iowa state University Press,Ames,Iowa pp:367.
- O'Connor, J.M., Huggett, R.J., (1988): Aquatic pollution problems, North Atlantic coast, including Chesapeake Bay. Aquatic Toxicology 11,163–190.
- O'Connor, J.S., Ziskowski, J.J., Murchelano, R.A.,(1987): Index of pollutant-induced fish and shellfish disease. United States Department of Commerce NOAA Special Report, 29 pp.
- Ostland, V.E., Ferguson, H.W., Stevenson, R.M.W.(1989): Case report: bacterial gill disease in goldfish Carassias auratus Diseases of Aquatic Organisms 6: 179-184.
- Pang, M., Jiang, J., Xie. X., Wu, Y., Dong, Y., Kwok, A.H.,(2015): et al. Novel insights into the pathogenicity of epidemic *Aeromonas hydrophila* ST251 clones from comparative genomics. Sci Rep.5:9833.
- Paniagua,C.,Octavio,R., Juan A., and German, N.,(1990): J. Clin. Microbiol, Vol. 28, No. 2, pp. 350-355.
- Pelis, R.M. and McCormick, S.D.(2003): Fin development in stream-and hatchery-reared Atlantic salmon. Aquaculture 220: 525-536.

- Pickering, A.D. & Pottinger, T.G.(1989): Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. Fish Physiology and Biochemistry, 7:253-258.
- Popoff,M. (1984): Genus III Aeromonas Kluyver and van Niel 1936 398AL. In:Krieg NR, Holt JG, eds. Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 1.Baltimore, MD, Williams and Wilkins: 545–548.
- Qadri,H.S.M.,Gordon,L.P.,Wende,R.D.,(1976):Meningitis due to *Aeromonas hydrophila* J. Clin Microbiol 3:102-104.
- Quinn, P . J .,Carter, . M .,Markey,B. And Carter, . G . R., (1994): Bact . Clini .Vet . Microb . London.
- Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B., and Carter, G.R., (2004): Clinical Veterinary Microbiology. Mosby, Elsevier Limited. London, 237-247.
- Quinn, P.J., Crter,M.E., Markey,B.,(1999): Clinical Veterinary microbiology. St Louis, United States .
- Rab, A., Afzal,M., Akhtar,N., Barlas,A., and Qayyum,M.,(2001): Incidence of epizootic ulcerative syndrome (EUS) in freshwater fishes in the endemic area of Punjab, Pakistan. Bangladesh J. Fish. Res., 5(1): 45-52.
- Rahman, M.M., Ferdowsy, H., Kashem, M.A., Foysal, M.J.,(2010): Tail and fin rot disease of Indian major carp and climbing perch in Bangladesh. J. of Biological Sciences 10 (8):800-804.

- Rahman,M.M. and chowdhury, M.B.R.,(1996): Isolation of bacterial pathogen causing an ulcer disease in farmed carp fishes of Mymensingh. Bangladesh J.fish,19:103-110.
- Ranjbar, R., Salighehzadeh, R., Sharifiyazdi, H.,(2019): Antimicrobial Resistance and Incidence of Integronsin Aeromonas Species Isolated from Diseased Freshwater Animals and Water Samples in Iran. J. antibiotics.8(198).
- Rasmussen-Ivey, C.R., Figueras, M.J., McGarey, D., Liles, M.R.,(2016): Virulence factors of *Aeromonas hydrophila*: in the wake of reclassification. Front Microbiol.7:1337.
- Rasmussen-Ivey, C.R., Hossain, M.J., Odom, S.E., Terhune, J.S.,(2016): Hemstreet WG,Shoemaker CA, et al. Classification of a hypervirulent *Aeromonas hydrophila* pathotype responsible for epidemic outbreaks in warm-water fishes. Front Microbiol.7:1615.
- Reash, R.J. & Berra, T.M.,(1989): Incidence of fin erosion and anomalous fishes in a polluted stream and a nearby clean stream Water, Air ans Soil Pollution, 47: 47-63.
- Rhaman, M.H., S. Suzuki and Kawai, K.,(2001): The effect of temperature on *Aeromonas hydrophila* infection in goldfish, *Carassius auratus*. J. Appl. Ichthyol. 17: 282-285.
- Richardson,C.J., Robinson, J.O., Wagner, L.B., Burke,V.,(1982): Invitro susceptibility of Aeromonase species to antimicrobial Agents. J Antimicrob Chemother, 9:267-274.

- Ridgway,H.F., Safarik,J.,(1990): Identification And Catabolic Activity Of Well-Derived Gasoline-Degrading Bacteria From A Contaminated Aquifer. Appl. Environ. Microbiol., 56: 3565-3575.
- Rippey, S.R. and Cabelli, V.J.,(1980): Occurrence of *Aeromonas hydrophila* in limmetic environmnents: relationship of the organism to trophic state. Microbial Ecol. 6: 45-54.
- Rodricks,E.G.,(1991): Indigenous Pathogen Vibrionaceae of Microbiology of Marine Food Products. Reinhold New York, 285-295.
- Roots, C., (2007): Domestication. Westport: Greenwood Press. pp. 20–21.
- Ryer, C.H. and Olla, B.L.,(1995): The influence of food distribution upon the development of aggressive and competitive behaviour in juvenile chum salmon, Oncorhynchus keta. Journal.
- Safińska, A. P., (2018): Contemporary threats of bacterial infections in freshwater fish J. Vet Res 62, 261-267.
- Saha,D. & pal,J.,(2002): In vitro antibiotic susceptibility of bacteria isolated from EUS-effected fish in India Lett,Applied Microbiol,34:311-316.
- Samayanpaulraj, V., Velu, V., Uthandakalaipandiyan, R.,(2019): Determination of lethal dose of Aeromonas hydrophila Ah17 strain in snake head fish Channa striata. Microbial Pathogenesis, (127):7-11.

- Sarker,J.and Faruk,M.A.R.,(2016):Experimental infection of Aeromonas hydrophila in pangasius.Progressive Agriculture 27 (3):392-399
- Schneider, R. and Nicholson, B. L.,(1980): Bacteria associated with fin rot disease in hatcheryreared Atlantic salmon (*Salmo salar*). Can J. Fish. Aquat. Sci. 37: 1505-1513.
- Shao,Z.J.,(2001): Aquaculture pharmaceuticals and biologicals current perspectives and future possibilities. Adv DrugDeliv Rev 50:229–243.
- Sharma,M.,Shrivastay.A.B.,Sahni.Y.P.,Pandey.G.,(2012):Overvie ws of the treatment and control of common fish diseases international research j.of pharmacy.3(7) 123-127.
- Shayo,S.M.,wita, C.,and Hosea K.,(2012): Jornal of Marine Science:Research Development, Vol.1,No.115
- Slotnick,I.J.,(1970): Aeromonas species isolates.Ann N Y Acad Sci 174:503-510.
- Snieszko, S. F.,(1975): History and presnt status of fish diseases. J.Wildlife Dis.11: 446–459.
- Sugita, H., Tanaka, K., Yoshinami, M. and Deguchi, Y.,(1995): Distribution of Aeromonas species in the intestinal tracts of river fish. Appl. Environ. Microbiol. 61: 4128-4130.
- Swanson, K. M. J., Busta, F.F., Peterson, E.H. and Johnson, M. G.,(1992): Colony Count Methods,In Compendium of Methods for

the Microbiological Examination of Foods, 3rd ed. C. Vanderzant and D. F. Splittoesser (eds.), American Public Health Association, Washington, D.C, 75 - 95.

- Tavender,T.J.,Halliday,N.M.,Hardie,K.R.,AndWinzer,K.,(2008): Luxsindependent Formation Of AI-2 From Ribulose-5-Phosphate. BMC Microbiology. 8:98.
- Taylor,P.W.,(2003): Multiple antimicrobial resistance in chronic bacterial infection of Koi carp.North Am.J.Aquacult.,65:120-125.
- Toor, H.S., Sehgal, H.S., Sehder, R.S.,(1983): A case study of acute fish diseases in tanks loaded with high levels of organic manures. Aquaculture. 35:277–282.
- Toranzo, A.E., Santos, Y., Nieto, T.P. and Barja, J.L.,(1986): Evaluation of different systems for identification of environmental Aeromonas strains. Applied and Environmental Microbiology. 51: 652–656.
- Trust, T.J. and Sparrow, R.A.H.,(1974): The bacterial flora in the alimentary tract of freshwater salmonid fishes. Can J. Microbial. 20: 1219-1228.
- Turnbull. J. F., Richards, R. H., Robertson, D.A.,(1996): Gross histological and scanning electron microscopic appearance of dorsal fin rot in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar L*. J. of fish diseases,19: 415-427.

- Ventura, M.T. and Grizzle, J.M., (1998): Lesion associated with natural and experimental infections of *Aeromons hydrophila* in channel catfish, Ictalurus punctatus (Rafinesque). J. Fish Dis. 11, 397– 407.
- Ventura, M.T., Grizzle, J.M.,(1988): Lesions associated with natural and experimental infections of *Aeromonas hydrophila* in channel catfish, Ictalurus puntatus Rafinesque. J Fish Dis 11, 397-407.
- Virella, G., (1997): Gram-Negative Rods III Opportunistic And Zoonotic Bacteria In Microbiology And Infectious Diseases By Virella, G 3rded. Williams And Wikins, U.S.A. P:160.
- Vivekanandhan, G., K. Savithamani, A.A.M., Hatha Lakshmanap-erumalsamy, P., (2002): Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from market fish and prawn of South India, Inter. J. Food Microbiol. 76: 165-168.
- Von Graevenitz,A.,Mensch,A.H.,(1968):The genus Aeromonas in human bacteriology.Report of 30 cases and review of the literature.N Engl J Med278:245-249.
- Warren, J. W.,(1963): Kidney disease of salmonid fishes and the analysis of hatchery waters. Progressive Fish Culturist 25:121-131.
- Winfree, R.A., Kindschi, G.A., Shaw, H.T.,(1998): Elevated water temperature, crowding, and food deprivation accelerate fin erosion in juvenile steelhead. Prog. Fish. Cult., 60:192-199.

- Wurts, W. and Durborow, R.,(1992): Interactions of pH, Carbon Dioxide, Alkalinity and Hardness in Fish Ponds. Southern Regional Aquaculture Center, 464: 1-4.
- Xia,J.A.,Ma,Z.H.,Rahman,M.H., and Wu,Z.J.,(2004): PCR cloning and identification of the heamoiysin gene of *Aeromonas hydrophila* from freshwater fishes in China.J. Aquacult.,229:45-53.
- Yildiz, H., S. Bekcan, A.C. Karasu Benli and Akan, M.,(2005): Some blood parameters in the eel (Anguilla anguilla) spontaneously infected with Aeromonas hydrophila, Israel J. Vet. Med. 60: 91-92.
- Yıldız, K., and Kumantas, A.,(2002): Argulus foliaceus Infection in a Goldfish (*Carassıus Auratus*), Israel J. of Vet Med 57:118–120.
- Yu,j.,Koo,B.,Kim,D.,Kim,D., and Park,S.,(2015): *Aeromonas sobria* infection in farmed mud loach in korea abacteriological survey.Iranian journal of veterinary research 16(2):194-201.
- Zapata,A., Ramirez-Arcos,S.,(2015): A Comparative Study of McFarland Turbidity Standards and the Densimat Photometer to Determine Bacterial Cell Density. Current Microbiology (70)4.
- Zumft, W. G(1997):Cell Biology And Molecular Basis Of Denitrification. Microbiol. Molec. Biol. Rev. 61:533–616.

When conducting the experimental infection, it was found that the isolated bacterial isolates from the infected fish were found to be extremely virulent, and cause high mortality in the case of intramuscular injection, and that the external damage facilitates the entry of the infection, but the healthy fish did not die.

Summary:

This study was conducted on 150 fish specimens, most of them infected with fin rot, with the aim of detecting the causative agent of this disease. The external symptoms were divided according to their appearance and severity into four phases, the first, the second, the third and the fourth.

After performing transplantation and bacterial isolation from the fins that show different changes such as erosion or laceration, the highest percentages of the bacterium and pheromonas were recorded in the first stage of the disease and reached 40% and 52%, respectively. In the second stage of the disease, the rate of the bacterium, the Aerumonas, reached 35.3% and the pseudomonas 44.1%. In the 3rd stage, the rate of the Aerumonas bacterium was 14.9% and the pseudomonas 31.9%. In the last stage of the disease, the percentage were 9.1% and 18.2% for the Aerumonas and pseudomonas spores, respectively. Aerumonas and pseudomonas were considered as the causative agent of the disease due to the high rate of isolation from most stages of the disease, as the results also showed that the causative agent at the beginning is concentrated in the fins, but in the kidneys very few percentages, and with the progress of the pathological condition these germs increased very significantly to reach the fish to the stage General bloody poisoning.

The results of analyzing pond water samples showed that high bacterial load, ammonia, pH and low dissolved oxygen are among the factors leading to the entry and spread of the disease.

The sensitivity test showed sensitivity to some antibiotics such as: amikacin , gentamicin , azithromycin , sulfatrimimothrim , cefaclofluorvincol, phospho, nitrofuran and neomycin.

Syrian Arab Republic
Hama University
College of Veterinary Medicine
Department of Public Health
and Preventive Medicine

Study of Fin Rot Disease in Gold Carp Fish

(*Carassiu auratus*)

Thesis presented for master's degree in Veterinary Medical Sciences

Fish Rearing and Diseases

Prepared By

Basma Al-abdan

Dr. Ahmad Alsamman
Prof. fish Rearing and Diseases
Scientific supervisor

Dr. Murhaf Lahlah
Ass. Prof Fish Biology
Associate Supervisor

2020-1441