

دراسات حقلية لمرض الاكثيوفونوس الذى يصيب أسماك الطرادى المستزرعة بالبحر الاحمر فى جدة بالمملكة العربية السعودية مع المحاولة الخاصة للعلاج باستخدام مورنجا أوليفيرا.

حسين عبد الفتاح محمد عثمان ، أحمد محمد عزت الرفاعى، عبد الرحمن
غرسان الزهرانى، محمد سعد هزاع

ملخص البحث:

الاكثيوفونوس شبة فطر يسبب مرض نظامى حبيبي مزمن فى الاسماك ، أهدفت الدراسة الحالية التحقق من الاعراض المرضية والاصابات بعد النفوق مع محاولة علاج أسماك الطرادى المستزرعة المصابة طبيعيا بالاكثيوفونوس باستخدام المستخرج المائى لأوراق نبات المورنجا ودراسة قابلية الإصابة التجريبية لأسماك بحرية فى جدة بالمملكة العربية السعودية. عن طريق الحقن البريتونى والتأكيل بالأنسجة المصابة من أسماك الطرادى المصابة طبيعيا بالاكثيوفونوس ، وكانت الاعراض المرضية لأسماك الطرادى المصابة طبيعيا بالمرض هى جحوظ بالعينين وأعراض عصبية وتنفسية وفقدان فى اللون وانتفاخ البطن وفى الحالات المتقدمة للإصابة الاعضاء الداخلية كلها تغلف بالسبورس ، نسبة الشفاء للأسماك المصابة بالمستخرج المائى لأوراق نبات المورنجا كانت 80 % بعد 60 يوم علاج بالمقارنة بالمجموعة الضابطة نسبة الشفاء كانت صفر% ، وأعلى نسبة إصابة بالعدوى التجريبية بالاكثيوفونوس كانت فى أسماك الطرادى 100% وأقلهم إصابة كانت أسماك الدنيس الاوروبى 36.6% كما كانت العدوى عن طريق انبوب المعدة اكثر تأثيرا من الحقن البريتونى.

مقدمة:

الأكتيوفونوس فطر يسبب مرض مزمن نظامي حبيبي متوطن في العديد من التجمعات السمكية البحرية في المياه الباردة وقد سجل في أكثر من 80 فصيلة من الأسماك البحرية (1، 2، 3). العامل الأساسي المسبب للمرض هو فطر الأكتيوفونوس هوفرى ، هذا المرض واسع المدى في الانتشار ويصيب الأسماك البحرية وأسماك المياه العذبة البرية ، المرض مزمن حبيبي نظامي يؤثر على الأعضاء الدموية مثل القلب والطحال والكبد والكلى (4، 5، 6، 7). وربما يكون السبب الرئيسى في النفوق المزمن لمعظم تجمعات الأسماك البحرية (2).

مرض الأكتيوفونوس غالبا يصيب الأسماك التجارية الهامة ، المرض يصيب 80 نوع من الأسماك مثل السالمون والرنجة ويسبب العدوى الفطرية العامة للأسماك (3، 8، 9، 10). العدوى في أسماك السالمون يعتقد أنها حدثت عن طريق أكتيوفونوس هوفرى التى سجلت في مزارع أسماك التروت في أوروبا وشمال أمريكا و أسماك أونكورنكس في نهر يوكن

المورنجا أوليفيرا واحد من أهم النباتات الطبية المنتشرة في البلاد الحارة ، أوراقه تحتوى على العديد من المواد الكيميائية والبيولوجية النشطة ، أشجار المورنجا أوليفيرا موطنها الاصلى منطقة الهمالايا الهند وباكستان وأسيا الصغرى وأفريقيا والمملكة العربية السعودية [14] ، النبات له العديد من الصفات الدوائية والعلاجية للكثير من الامراض فهو مضاد للحمى والالتهاب والقرح [15] وضغط الدم المرتفع [16] وخافض للكوليسترول [17] ومضاد للتأكسد [17] ومرض السكرى وواقى للكبد [19] ومضاد للبكتيريا والفطريات [18,20,21].

استهدفت الدراسة الحالية تسجيل نسبة الإصابة والاعراض المرضية والاصابات بعد النفوق ومحاولة علاج أسماك الطرادى المصابة طبيعيا بمرض الأكتيوفونوس باستخدام المستخرج المائى لأوراق نبات المورنجا أوليفيرا ودراسة قابلية الإصابة بالمرض لأسماك القاروص الأسىوي والبطلطى السبيرولس والدنيس الاوربى في جدة بالمملكة العربية السعودية كما استهدفت الدراسة تسجيل التغيرات الهستوباثولوجية لأسماك الطرادى المصابة طبيعيا بالمرض.

الطرق والمواد المستخدمة:

الاسماك المصابة طبيعيا :

عدد 120 سمكة أمهات طرادى مستزرعة على شاطئ البحر الاحمر بمركز أبحاث الثروة السمكية بجدة المملكة العربية السعودية ، الأسماك كانت فى أحواض إسمنتية وكانت تعاني من الهزال والاعراض العصبية والنفوق المفاجئ ، نقلت الاسماك المصابة دية الى معمل صحة وسلامة الأسماك بالمركز ، سجلت الاعراض المرضية والاصابات بعد النفوق .

الأعراض المرضية والاصابات بعد النفوق:

لوحظت الاسماك المصابة فى الاحواض لآى أعراض أو علامات غير طبيعية ، السباحة والسلوك والتنفس والتغذية وانعكاس الهرب ، الجلد والزعانف والاعضاء الداخلية ، الخياشيم والمثانة الهوائية والامعاء والمناسل والاعضاء الدموية القلب والكبد والطحال والكلى.

الفحص الفطري:

مسحات حديثة وأجزاء صغيرة من أنسجة القلب والكبد والطحال والكلى والغشاء البريتونى والخياشيم وضعت على شرائح مع قطرات من مياه البحر للفحص بالميكروسكوب الضوئى للبحث عن السبورس أو أى أطوار للأكتيوفونىس ، بعض المواد الفطرية عزلت من الاعضاء والغشاء البريتونى للزراعة فى البيئات المناسبة ، زرعت العزلات فى ظروف تعقيم كاملة فى بيئات سائلة (Broth) سبارود ديكستروز بروت وإجل منيمم إسنشال ميديم (MEM, Sigma M5775) بأستخدام أنابيب معقمة 5 مل/ ميديم ، زرع الفطر أيضا فى بيئات صلبة سبارود ديكستروز أجار (SDA, Difco) كل البيئات زودت بتركيزات مختلفة من السيرم الجنينى للأبقار (FBS, Difco) ، زودت كل البيئات أيضا بالبىنسولين 100 وحدة دولية/مل و الستربتوميسين 100 ميكروجرام/مل البيئات كلها حضنت فى 15 درجة مئوية لمدة 15 يوم.

التعرف على الفطر المعزول:

تم التعرف على النموات الفطرية بعمل تحضيرات سائلة من الفطر بعد صبغة بالالاكتوفينول الازرق وفحصها بالميكروسكوب الضوئى .
العدوى التجريبية :

عدد كللى 120 سمكة قسموا الى 8 مجموعات كل مجموعة 15 سمكة بحرية مستزرعة على شاطئ البحر الاحمر من أنواع الطرادى والقاروص الأسويى والبطلطى

السبيرولس والدنيس الاوربي ، المجاميع الاربعة الاولى حقنت فى التجويف البطنى بخلط من الانسجة المصابة بفطر الاكثيوفونوس من أسماك الطرادى المصابة طبيعيا بجرعة 0.2 مل مختلطة بمحلول هانكس مضاف اليها 100 وحدة دولية من البنسلين و 100 ميكروجرام/مل ستربتوميسين (فحصت الانسجة المعدة للحقن بالميكروسكوب للتأكد من أصابتها بفطر الأكثيوفونوس) ، المجاميع الاربعة الثانية أعطت نفس الخليط عن طريق أنبوب المعدة بجرعة 0.5 مل فى نفس التوقيت.

المستخرج المائى لأوراق المورنجا أوليفيرا:

جمعت أوراق المورنجا أوليفيرا من حديقة مركز أبحاث الثروة السمكية بجدة ، غسلت الاوراق جيدا بالماء وجففت فى درجة حرارة الغرفة وطحنت ووضع 50 جرام من مطحون الاوراق فى 500 مل ماء مقطر فى قارورة مخروطية الشكل بسدادة مطاطية سعتها لتر وضعت لمدة أسبوع على الهزاز الاتوماتيكي والنتاج تم ترشيده وتركيزه فى درجة حرارة 40 درجة مئوية.

محاولة العلاج لاسماك الطرادى المصابة طبيعيا بالاكثيوفونوس:

أضيفت للعليقة 5 جزء فى المليون لكل كجم عليقة مستخرج مائى لأوراق نبات المورنجا ، خلطوا جيدا مع مكونات العليقة وطحنوا باستخدام مفرمة اللحوم بقطر 5 مم ، تم تجفيف الخليط فى درجة حرارة الغرفة وتم تكسيرة لقطع صغيرة وخزن فى درجة حرارة -4 درجة مئوية.

التصميم التجريبي لمحاولة العلاج:

عدد 120 سمكة طرادى مستزرعة ، المجموعة الاولى عددها 20 سمكة (مجموعة ضابطة سالبة) و المجموعة الثانية عددها 100 سمكة مصابة بالاكثيوفونوس عن طريق أنبوب المعدة المحتوية على الفطر بجرعة 1مل/سمكة لمرة واحدة ، نسبة النفوق والاعراض المرضية سجلت خلال شهر بعد العدوى ، بعد 30 يوم من العدوى 15 سمكة تم تشريحها والكشف عن الاصابة بالمرض ، الاسماك الحية الباقية (60 سمكة) قسمت الى مجموعتين المجموعة 30 سمكة المجموعة الاولى مجموعة ضابطة موجبة والمجموعة الثانية أعطت عليقة مضاف اليها 5 جزء فى المليون مستخرج مائى لاوراق نبات المورنجا لمدة 60 يوم فى نهاية التجربة كل الاسماك الحية فحصت للاصابة بالمرض.

عينات الدم :

خمسة عينات دم جمعت من كل مجموعة من الاسماك من الوريد الذيلي بأستخدام سرنجة تحتوي على هيبارين (مانع للتجلط) لعمل عد كرات الدم الحمراء والعد الكلى لكرات الدم البيضاء وقياس القدرة الالتهامية ، كما تم أخذ عينات دم من كل مجموعة بدون هيبارين لفصل السيرم وحفظه فى درجة حرارة -20 درجة مئوية ، لتعيين البروتين الكلى والألبومين والجلوبولين وقياس نشاط إنزيم الليزوزيم.

تعيين القدرة الالتهامية:

خمسون ميكروجرام من خميرة الكانديدا ألبيكانز المعرفة جيدا ومحددة التركيز (100مجم/مل) أضيفت الى 1مل من الدم الكامل المجمع (pooled) من الاسماك المعالجة والضابطة ، تم خلط التحضير فى حمام مائى 23-25 درجة مئوية لمدة 3-5 ساعات ، فردت عينة الدم على شرائح زجاجية وجففت وثبتت بالميثانول وصبغت بالجمسا وحسبت القدرة الالتهامية:

القدرة الالتهامية = عدد خلايا الخميرة الملتصقة بكرات الدم البيضاء/ عدد خلايا الالتهام.

نشاط أنزيم الليزوزيم:

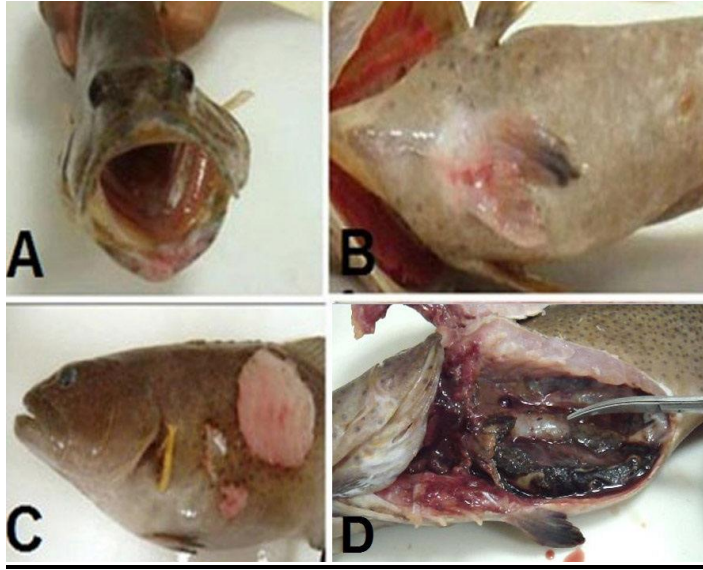
يتعين نشاط انزيم الليزوزيم عن طريق إضافة 10 ميكروليتر من السيرم الى 200 ميكروليتر ميكروكوكس ليوتس (سيجما) فى معلق 0.2 مجم/مل فى 0.05 فوسفات الصوديوم وبفر 6.2 رقم هيدروجينى ، الخليط حُضِن فى درجة حرارة 27 درجة مئوية وقيست الكثافة الضوئية بعد 1 دقيقة وبعد 6 دقائق فى 530 نانوميتر بأستخدام قارئ أطباق الاليزا ، واحد من وحدة نشاط الليزوزيم تعرف على أنها كمية الانزيم الذى يختزل الامتصاص 0.001 لكل دقيقة/مل سيرم ، ويحسب تركيز الليزوزيم من المنحنى العيارى لليزوزيم المعروف تركيزه فى بياض بيض الدجاج (سيجما).

الفحص الهستوباثولوجى:

أجزاء من الاعضاء المصابة ثبتت فى فورمالين 10% ومررت فى تركيزات متصاعدة من الكحول الايثيلى وصبت فى شمع البرافين المنصهر وقطعت بالميكروتوم المنزلق وصبغت بالايوسين والهيما توكسلين وفحصت بالميكروسكوب الضوئى لاي تغيرات سببت بالاصابة بالمرض.

النتائج المتحصل عليها :

الاعراض المرضية لاسماك الطرادى المصابة طبيعيا بالاكثيوفونوس:



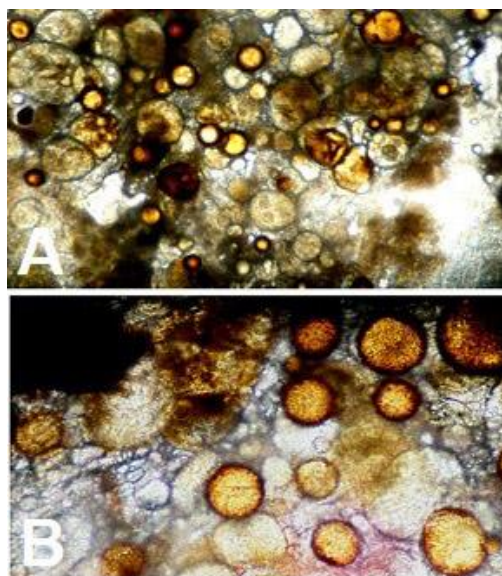
الشكل 1: أسماك طرادى إصابة طبيعية تبين (A) جدوظ العين والإجهاد التنفسي (فتح الفم) (B) انتفاخ في البطن مع قرحة في منطقة الجانب مع فتح الغطاء الخيشومي ، (C) قرحة في الجانب (D) أكياس في الكبد والقلب مع التهاب مصحوب باستسقاء دموي في تجويف البطن.

الاصابة بالمرض تسبب بروز العينين وفقدان فى اللون وقرح وأعراض تنفسية وبعض الاعراض العصبية وفقدان فى الحركة والسباحة فى حركة دائرية ، أنتفاخ البطن وعقيدات صغيرة ترى بالعين المجردة صفراء وبنية اللون فى التجويف البطنى والغشاء البريتونى والاعضاء الدموية مثل الكبد والقلب والطحال والكلى ، أنتفاخ المثانة الهوائية مع تجمع سائل مدمم بالتجويف البطنى وفى حالات الإصابة المتقدمة ترى كل الاعضاء الداخلية مغلفة بغلاف من السبورس والانسجة الضامة. صورة 1 & 2



الشكل 2: يبين اصابة متقدمة بفطر الأكتيوفونوس ichthyophonus فى أسماك طرادى بالأعضاء الداخلية الكبد والمرارة والقلب والطحال والكلى والأمعاء من الأسماك يلفها مع الغمد الليفي من جراثيم الأكتيوفونوس Ichthyophonus.

الفحص الفطري :



الشكل 3: يبين شريحة رطبة تظهر (أ) التكبير المنخفض لجراثيم الأكتيوفونوس (ب) التكبير العالي يوضح الإنبات البني و الأصفر والجراثيم الغير منبتة مزدوجة الجدران المعزولة عن أغشية التجويف البريتوني في أسماك الطرادى المصابة.

أجزاء صغيرة من الانسجة المصابة فى الاعضاء الداخلية ضغطت بين شريحتين زجاجيتين مع قطرات من المياه وفحصت تحت الميكروسكوب ووجدت الاطوار المختلفة والعقيدات من فطر الاكتيوفونوس ومنها ما دخل فى مرحلة النمو الفطرى (بدنج).

محاولة علاج أسماك الطرادى المصابة طبيعيا:

بالنسبة لاسماك المعالجة بالمستخرج المائى لاوراق نبات المورنجا نسبة الشفاء كانت 80% ونسبة النفوق كانت 6.66% بالمقارنة بالمجموعة الضابطة الايجابية (أسماك مصابة ولم تعالج) ، كانت نسبة الشفاء صفر% ونسبة النفوق 56.6% وذلك من عدد كلى 30 سمكة فى كل مجموعة. (الجدول 1)

الجدول 1. نسبة العلاج ونسبة معدل الوفيات بين أسماك الطرادى المصابة بشكل طبيعي بعد العلاج.

مجموعة السمك	عدد السمك	عدد السمك المعالج	نسبة السمك المعالج	عدد السمك الميت	نسبة النفوق
مجموعة مصابة ولم تعالج	30	0.0	0.0	17	56.6
اسماك المعالجة بالمستخرج المائى لاوراق نبات المورنجا	30	24	80	2	6.66

الدراسات الدموية والمناعية للأسماك بعد العلاج 30 و60 يوم:

الجدول 2: عرض بعض القياسات الفسيولوجية والمناعية بعد بالمستخرج المائي لأوراق نبات المورنجا اوفيرا بعد 30 و 60 يوما:

العناصر	قبل العلاج	30 يوم بعد العلاج	60 يوم بعد العلاج
	مصابة ولم تعالج	المعالجة بنبتات المورنجا	المعالجة بنبتات المورنجا
عدد كرات الدم الحمراء	B 5.3 ±106	B 5.2 ±104	B 5.5 ±110.7
عدد كرات الدم البيضاء	B 0.21 ±4.13	b 0.33 ±6.55	B 0.28 ±5.50
البروتين الكلى	B 0.37 ±3.92	B 0.36 ±4.31	B 0.2 ±4.05
البليومين	B 0.39 ±1.36	B 0.39 ±1.39	B 0.01 ±0.97
جلوبولين	B 0.32 ±2.56	B 5.3 ±2.92	B 0.47 ±3.08
معدل الإلتهام	B 5.6 ±113.5	b 7.2 ±169.0	b 6.2 ±152.3
تركيز الليزوزيم	B 0.26 ±1.75	b 0.31 ±2.92	b 0.26 ±2.25

كل رقم يمثل المتوسط ± الانحراف المعياري والعدد = 5

بمثل تغير معنوي من النتيجة B تم التحليل بإستخدام انوفا عند $p < 0.05$ المجموعة المعالجة بالمستخرج المائي لأوراق نبات المورنجا بها زيادة غير معنوية لكرات الدم الحمراء بعد 30 و60 يوم من العلاج وزيادة معنوية فى العدد الكلى لكرات الدم البيضاء بعد 30 يوم من العلاج كما سجلت زيادة غير معنوية فى تركيز البروتين الكلى والجلوبولين والالبليومين ، وسجلت ايضا زيادة معنوية فى القدرة الالتهامية وتركيز الليزوزيم بعد 30 و60 يوم من العلاج بالمقارنة بالمجموعة الضابطة. جدول 2

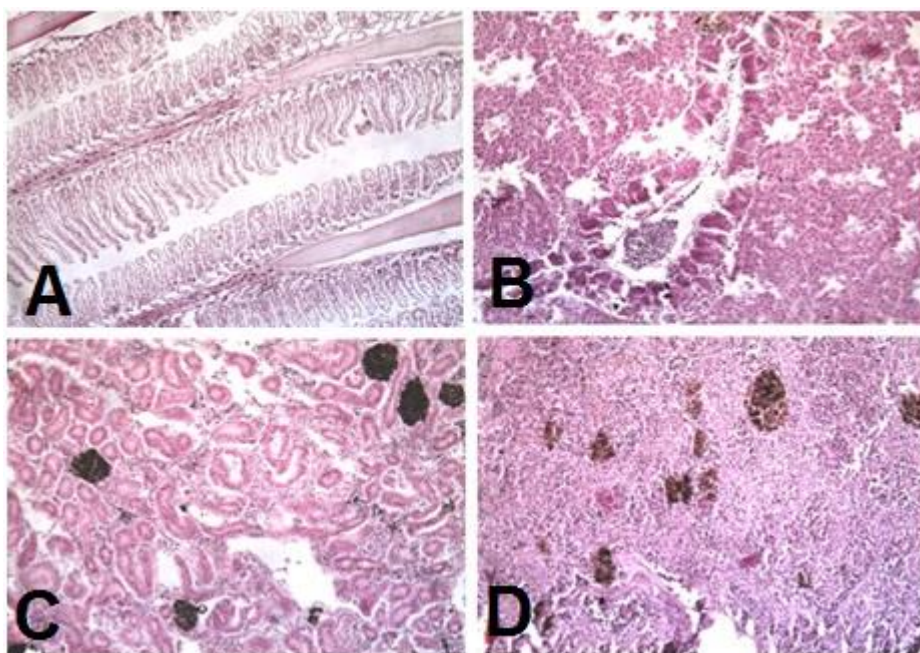
العدوى التجريبية بالاكثيوفونس:

العدوى التجريبية لعدد 120 سمكة فى أربعة مجموعات كل مجموعة 30 سمكة من أنواع الطرادى والقاروص الاسيوى والبطلطى السبيرولس والدنيس الاوروبى وكانت النتيجة أن نسبة الاصابة 100% فى أسماك الطرادى يليها أسماك البطلطى السبيرولس 96.6% يليها أسماك القاروص الاسيوى 46.6% وأقلهم أصابة كانت أسماك الدنيس الاوروبى 36.6% كما بينت الدراسة الحالية أن الاصابة بالاكثيوفونس عن طريق أنبوب المعدة أكثر تأثيرا فى المجاميع الاربعة لفصائل الاسماك جدول 3.

الجدول 3: يوضح الإصابة التجريبية بالإكثيوفونس والفحص بعد 60 يوما:

النسبة	عدد السمك المصاب	طريقة العدوى				عدد السمك	نوع السمك
		عدد المصاب بأنبوب المعدة	انبوب المعدة	عدد المصاب بالحقن بالغشاء البريتوني	الحقن بالغشاء البريتوني		
100	30	15	15	15	15	30	الطرادى
46.6	14	8	15	6	15	30	القاروص الاسيوى
96.6	29	15	15	14	15	30	البلىطى السبىرولس
36.6	11	7	15	4	15	30	الدنىس الاوروبى

الفحص الهستوباثولوجى :



الشكل 4: يبين (A) خياشيم سمك الطرادى المصاب بالإكثيوفونس أظهرت إرتشاح وتجمع خلايا الدم الالتهابية وحيدات النوى تسلل وكذلك توسع الأوعية الدموية وامتلائها مع زيادة خلايا الصفائح الخيشومية الثانوية، (ب) الكبد، خلايا الكبد بها مراحل مختلفة من تغيرات البلى الحيوى مع تمزق كامل للخلايا وتجمع خلايا الدم الالتهابية مع وجود خلايا بكتيرية، كما أظهرت سماكة من جميع القنوات المرارية (C) الكللى بها تورم وتكسر الخلايا الظهارية لبطانة الأنابيب الكلوية مع استبدال جزئي للأنسجة الدموية مع وجود ترسيبات للهيموسيدرين بين أنسجة الكللى و(D) الطحال أظهرت ترسيبات للهيموسيدرين مع احتقان اللب الأحمر والأبيض

أظهرت الدراسة أن التغيرات الهستوباثولوجية كانت عبارة عن أودوما فى الخياشيم وأرتشاح فى الخلايا الالتهابية وحيدة النواه وأتساع فى الاوعية الدموية الخيشومية وأحتقانها مع زيادة فى النمو الصفائح الخيشومية الثانوية ، الخلايا الكبدية كانت تعاني من تغيرات تنكزية مع أرتشاح للخلايا الالتهابية وزيادة سمك الانابيب الصفراوية ، الكلى كانت تعاني أودوما وتنكز لخلايا الابيثليم المبطنة للأنابيب الكلوية مع ترسبات بؤرية للهيموسيدرين مع إحلال جزئى لنسيج الهيموبويوتك ، الطحال كان يعاني من ترسبات الهيموسيدرين واحتقان فى اللب الابيض والاحمر ، فى الحالات المتقدمة للإصابة بالاكثيوفونوس ظهرت الاعضاء الدموية مثل الكبد وكانت تعاني من إحلال كل خلاياه بالسبورس المتكلسة.

المناقشة:

الأكثيوفونوس هو مرض فطرى يصيب أسماك المياه العذبة والمالحة ويصيب كل الأنواع. العامل الاساسى المسبب للمرض هو فطرا لأكثيوفونوس هوفرى و يتميز المرض بخشونة أو حبيبات فى الجلد و حبيبات بيضا أو رمادية - بيضاء فى الأعضاء الداخلية ومختلف أجزاء الجسم. الأكثيوفونوس شبه فطر يسبب مزمن نظامى حبيبي. المرض متوطن فى العديد من التجمعات السمكية البحرية البرية فى المياه الباردة وقد سجل فى أكثر من 80 فصيلة من الاسماك البحرية [3,2,1]. حدثت أوبئة فى الرنجة الأطلسية والسمك المفلطح أصفر الذيل فى شمال غرب المحيط الأطلسي، الحدوق وسمك موسى فى شمال شرق المحيط الأطلسي، و رنجة المحيط الهادئ وسمك المذخور فى شرق المحيط الهادئ، وسمك القد فى بحر البلطيق [36,35]. لذا فمن المحتمل أن يكون سببا هاما من أسباب وفيات المزمنة فى بعض حشي أعداد الأسماك البحرية [2, 23].

وتهدف هذه الدراسة إلى تحديد القدرة الإمرضية، وتسجيل نسبة الإصابة والاعراض المرضية والاصابات بعد النفوق ومحاولة علاج أسماك الطرادى المصابة طبيعيا بمرض الاكثيوفونوس ودراسة قابلية الإصابة بالمرض لأسماك القاروص الاسيوى والبلطى السبيرولس والدنيس الاوربى فى جدة بالمملكة العربية السعودية كما استهدفت الدراسة تسجيل التغيرات الهستوباثولوجية لأسماك الطرادى المصابة طبيعيا بالمرض.

وفيما يتعلق العلامات الإكلينيكية والاصابات بعد النفوق يرتبط التعرف على المرض والكشف عن الاكثيوفونوس من العلامات الإكلينيكية ترتبط ارتباطا وثيقا بمستوى العدوى والإمرضية فى العائل والنسيج المصاب. وبما أن هذا يختلف بشكل كبير بين الأنواع

المختلفة، فعلامات واضحة للمرض قد تختلف اختلافا كبيرا بين الأسماك المختلفة [37]. وتشمل هذه التشوهات والتغيرات المرتبطة فشل الأجهزة مثل الخمول والهزال، وتشوهات اللون، وتراكم السوائل، واضطرابات الجهاز العصبي وزيادة في معدل الوفيات.

بالنسبة للأسماك المعالجة بالمستخرج المائي لأوراق نبات المورنجا كانت 24 سمكة بنسبة الشفاء كانت 80% بالمقارنة بالمجموعة الضابطة الايجابية (أسماك مصابة ولم تعالج) ، كانت نسبة الشفاء صفر% ونسبة النفوق 56.6% . لم يتم اعادة عزل أي فطر من أعضاء أسماك الطرادى بعد العلاج بالمورنجا. ذكرت معظم الأبحاث أنه لا يوجد علاج معروف لهذا المرض . العدوى تتم في الأسماك المستزرعة عادة نتيجة استخدام الأسماك البحرية الملوثة كعلف. ولذلك ينبغي توخي الحذر عند استخدام الأسماك النية (القمامة) كأعلاف للأسماك لقابليتها لنقل هذا المرض [38].

مؤخرا، يكتسب استخدام النباتات الطبية في علاج المرض زخما بسبب فعالية العلاج بالأعشاب من حيث التكلفة ، الحد الأدنى من الآثار الجانبية وصديق للبيئة. ولذا فمن الضروري جدا إستمرار البحث عن مصادر للمضادات الجرثومية الجديدة. النباتات هي مصادر بديلة أكثر أمانا من مضادات الميكروبات [39، 40، 41].

المورنجا أوليفيرا أكثر الأنواع المزروعة على نطاق واسع من عائلة أحادية العامة، Moringaceae وموطنها الأصلي في مساحات شبه الهيمالايا في الهند وباكستان وبنغلاديش وأفغانستان [42] والذي يستخدم على نطاق واسع لعلاج العدوى البكتيرية، والعدوى الفطرية، ومضاد للالتهابات ولذلك فإنه يصلح أن يكون فعال في علاج الاكثيوفونس في الطرادى، بالإضافة إلى أن [18، 20، 43] و [21] الذين أفادوا أن مستخلص المورنجا أوليفيرا يعمل بمثابة مضاد للبكتيريا ومضاد للفطريات وأضاف أن استخدام هذه النباتات في الطب الشعبي تمثل بديلا اقتصاديا وآمنة لعلاج الأمراض المعدية.

هذا المرض ذات أهمية اقتصادية، في كل من الأسماك المستزرعة والبرية ومصادر الأسماك، أسماك المياه البحرية والعذبة، ولها مجموعة واسعة العوائل والتوزيع الجغرافي. لقد كان هذا المرض هدفا لعدة مراجعات شاملة [44، 45]. و تعتبر الأسماك العائل المضيف [46] وتم تسجيل المرض في 35 نوعا من الأسماك البحرية و 48 من أنواع أسماك المياه العذبة. وفي الآونة الأخيرة، [4] لوحظ أن أكثر من 80 نوعا من الأسماك

عرضة للإصابة. ولذا تشير الكتابات إلى انخفاض الخصوصية بين الطفيل والعائل في الأسماك [1]. ونتيجة لذلك، يتم تسجيل أنواع أسماك جديدة كعائل للمرض ولذلك فإن قائمة الأسماك المضيضة هي على الأرجح ذات أهمية علمية صغيرة، وأنها قد تعكس فقط إلى حد كبير أنواع الأسماك التي تم فحصها بالقدر الكافي [47، 48].

فيما يتعلق بنقل المرض، نتيجة لتواجد المستودع الطبيعي من العدوى على نطاق واسع في المياه البحرية ومصببات الأنهار وسهولته النسبية التجريبية للانتشار الأفقي للمرض بين معظم الأنواع من الأسماك تشير إلى أن التجمعات السمكية البرية والمستزرعة في هذه المناطق ستكون في خطر للعدوى. ومع ذلك، من الناحية العملية، لم تكن هناك أي سجلات تشير إلى إصابة الأسماك المستزرعة بسبب قربها من الأسماك البرية المصابة، كما هو الحال في الأسماك الأوروبية [49].

بالنسبة لتأثير العلاج على الحالة الفسيولوجية والمناعية، بينت هذه الدراسة أن المجموعة التي تلقت العلاج بالمستخلص المائي للمورينجا أوليفيرا يؤدي إلى زيادة غير كبيرة من كرات الدم الحمراء بعد 30 و 60 يوما بعد العلاج. هناك زيادة كبيرة في العدد الإجمالي لكرات الدم البيضاء المجموعة التي تلقت العلاج بالمستخلص المائي للمورينجا أوليفيرا في الفترة 30 أيام بعد العلاج في حين أظهرت في 60 يوما زيادة غير كبيرة مقارنة مع المجموعة الحاكمة (الكنترول). هناك في زيادة معنوية في البروتين الكلي والألبومين والجلوبولين بين المجموعات الثلاث. المجموعة التي تلقت العلاج بالمستخلص المائي للمورينجا أوليفيرا زيادة كبيرة في مؤشر المناعة (phagocytic index) طول فترة الفحص 30 و 60 يوما مقارنة بالمجموعة الحاكمة. النتيجة تتفق تقريبا مع ما حصل عليه [50] الذي أفاد أن المورينجا أوليفيرا تعزز القياسات الدموية، البيوكيميائية والمناعية للأسماك المعالجة.

الليزوزيم هو إنزيم محلل للجراثيم موزع على نطاق واسع في جميع أنحاء الجسم ويشكل جزءا من آليات الدفاع غير المتخصصة في معظم الحيوانات. في السلمون، تم الكشف عن الليزوزيم في مصل الدم والإفرازات والأغشية والأنسجة المخاطية الغنية بكريات الدم البيضاء، وعلى رأسها الكلى والأمعاء [51]. على ما يبدو، المصادر الرئيسية لليزوزيم هي خلايا المونوسيت / الماكروفاج والنيوتروفيل. ومع ذلك، فقد كشفت الدراسات الحديثة تواجد هذا الإنزيم في حبيبات الخلايا الحبيبية الحمضية في الأمعاء [52]. طريقة عمل الإنزيم كمبيد للجراثيم ينطوي على تحليل وهضم الببتيدوغليكان

المتواجد في جدران الخلايا البكتيرية مما يؤدي إلى تحلل الخلايا. وارتبط الـليزوزيم في البداية بالدفاع ضد البكتيريا إيجابية الجرام، ولكن تم الكشف على أنه يحلل البكتيريا سالبة الجرام أيضا، علاوة على ذلك، يعرف هذا الإنزيم على تنشيط الأوبسين في نظام الكومبلمنت والخلايا البلعمية [53].

وفيما يتعلق بالتغيرات الهستوباثولوجية لأسماك الطرادى المصابة طبيعيا كانت عبارة عن أودوما في الخياشيم وارتشاح في الخلايا الالتهابية وحيدة النواه وتوسع في الاوعية الدموية الخيشومية واحتقانها مع زيادة في النمو الصفائح الخيشومية الثانوية ، بالنسبة للكبد كان هناك اتساع في الأوردة الرئيسية. الخلايا الكبدية كانت تعاني من مراحل مختلفة من التغيرات التكرزية تصل إلى تكسر الخلايا مع ارتشاح للخلايا الالتهابية وزيادة سمك الانابيب الصفراوية ، الكلى كانت تعاني من تورم وأودوما وتنكز لخلايا الابيثليم المبطنه للأنابيب الكلوية مع إحلال جزئي لنسيج الهيموبيوتك بترسبات بؤرية للهيموسيدرين ، الطحال كان يعاني من ترسبات للهيموسيدرين و احتقان اللب الأحمر والأبيض، والنتيجة الحالية أكدت بواسطة [6، 7,33].

من هذه الدراسة تم التوصل إلى أن مرض الاكثيوفونس في قطاع أسماك الطرادى (البدر الأحمر) هو مرض مزمن يؤثر على الأسماك في كل الأعمار ولا يعالج بسهولة، ولكن كان العلاج باستخدام بالمستخلص المائي لأوراق نبات المورينجا أوليفيرا فعالا، المورينجا أوليفيرا هو من النباتات الطبية الجيدة التي تستخدم كإضافات أعلاف للأسماك أيضا، تشير الدراسة إلى أن المستخلص المائي لأوراق نبات المورينجا أوليفيرا له تأثير كبير على القياسات الدموية، المناعية و البيوكيميائية لأسماك الطرادى. تساعد هذه الدراسة إلى تحديد الحدود الآمنة للمستخلص المائي من المورينجا أوليفيرا لعلاج الاكثيوفونس في أسماك الطرادى ويمكن استخدامه كبديل للمضادات الجرثومية في علاج الكائنات المسببة للأمراض في تربية الأحياء المائية.

- [1] McVicar AH. Ichthyophonus infections of fish. In: Roberts, R.J. (ed.) Microbial Diseases of Fish. Academic Press, London, pp. 243–269. 1982.
- [2] McVicar AH. Ichthyophonus and related organisms. Pages 661-687 in P. T. K. Woo and D. W. Bruno, editors. Fish Diseases and Disorders Volume 3, Viral, Bacterial and Fungal Infections. CABI Publishing, New York. 1999.
- [3] Hershberger PK, Stick K, Bui B, C. Carroll, Fall B, Mork C, Perry J A, Sweeney E, Wittouck J, and Kocan R M. Journal of Aquatic Animal Health 2002; 14:50-56.
- [4] Spanggaard B, Gram L, Okamoto N and Huss HH. Journal of Fish Diseases 1994; 17, 145–153.
- [5] Jones S R M and Dawe S C. Journal of Fish Diseases 2002; 25, 415–421.
- [6] Nadia AE and Hoda M LA. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture 2008.
- [7] Feist SW, Stentiford GD, Kent M.L., Ribeiro AS, Lorange P. Marine Environmental Research 2015; 106 42-50.
- [8] Hjeltne B, and Skagen D. 1992; ICES CM 1992/H: 27. 10 p.
- [9] Karaseva TA, Serdyuk AV, Donetskov VV, and Shamray TV. 1993; ICES CM 1993/H: 12. 12p.
- [10] Sindermann C J, and Chenoweth JF. 1993; ICES CM 1993/F: 41. 38p.
- [11] Karaseva TA, and Donetskov VV. Diseases of Fish and Shellfish. 10 th Internat. Confer. EAFP. Dublin. September 2001; O-031.
- [12] Neish, GA, and Hughes GC. Fungal diseases of fishes. In Diseases of fish. Edited by S.F. Snieszko and HR Axelrod. T.F.H. Publications, Neptune. 1980; 6, pp. 61–153.
- [13] Zubchenko AV and Karaseva TA. Technical Report No. 4 2002; 90-92.
- [14] Mughal MH, Ali G, Srivasta PS and Iqbal M. Harmdad Med. 1999; 42:37 – 42.
- [15] Pal SK, Mukherjee PK and Saha BP. Phytother Res. 1995a 9:463 – 465.
- [16] Dahot MU. Pak. J. Biochem. 1988; 21:1 –24.
- [17] Mehta LK, Balaraman R, Amin AH, Baffa PA and Gulati OD. J. Ethnopharmacol. 2003; 86:191 – 195.
- [18] Nickon F, Saud ZA, Rehman MH and Haque ME. J. Biol. Sci. 2003; 22:1888– 1890.
- [19] Ruckmani K, Kavimani S, Anandan R, Jaykar B. J. Pharm. Sci. 1998; 60:33-35.
- [20] Rahman MM, Islam Sheikh MM, Shamima AS, Soriful Islam M, Rahman MA, Mizanur Rahman M. and Alam M F. J.Nat.Sci. 2009; 8(2) 219-227.
- [21] Abalaka ME, Daniyan SY, Oyeleke SB, Adeyem SO. Journal of Microbiology Research 2012; 2(2): 1-4.
- [22] Innes WT. Exotic aquarium fishes 19th Ed. Aquarium Incorporated New Jersey .pp.7, 12, 24-25. 1966.
- [23] Faisal M, Torky H and Richenbach-Klinike HH. J. Egypt. Vet. Med. Ass. 1985; 45(1) 53-60.
- [24] Rand GT and Cone DK. J. Wildl Dis. 1990; 26:323-328.
- [25] Spanggaard B, Huss HH and Bresciani J. Journal of Fish Diseases 1995; 18, 567-577.

- [26] Fatope MO, Ibrahim H and Takeda Y. *Int J. Pharmacog* 1993; 31 (4): 240-254.
- [27] Dorier A, and Degrange C. *Trav. Lab. Hydrobiol. Piscicult. Univ. Grenoble*, 1960/1961; 7–44.
- [28] Stoskopf M. *Fish Medicine*. Pp.116.128.129.W.B.Saunders company. 1993.
- [29] Hibiya T. *An Atlas of Fish Histology: Normal and Pathological Features*. Kondansha Ltd., Tokyo, Japan, ISBN-13: 9783437303883, Pages: 147. 1982.
- [30] Kawahara E., Ueda T and Nomura S. *Gyobyo Kenkyu*, Japan, 1991; 26 (4): 213-214.
- [31] Ellis AE. Lysozyme assays. In: Stolen J.S., Fletcher T.C., Anderson D.P., Roberson B.S., Van Muiswinkel W.B. (eds.): *Techniques in Fish Immunology*. SOS Publications.101-103. 1990.
- [32] Roberts RJ. *Fish Pathology Fourth Ed.*, W.B. Saunders, An imprint of Harcourt Publishers. 2012.
- [33] Snedecor GW and Cochran WG. *Statistical methods 8th Ed.* Iowa state. Univ-press-Ames-Iowa. U.S.A. 1982.
- [34] Noga EJ. Water mold infections of freshwater fish: Recent advances . *Annual Review of Fish Diseases* 1993c; 3 : 291 – 304 .
- [35] Yanong RPE. Fungal diseases of fish . *Veterinary Clinics North America, Exotic Animal Practice* 2003; 6 : 377 – 400 .
- [36] Noga, EJ. *Fish disease Diagnosis and Treatment*. Mosby-yearbook, Inc. watsworth publishing Co., USA. 4th edition 2010.
- [37] McVicar, A.H. and McLay, H.A. (1985). Tissue response of plaice, haddock, and rainbow trout to the systemic fungus *Ichthyophonus*. In: Ellis, A.E. (ed.) *Fish and Shellfish Pathology*. Academic Press, London, pp. 329–346.
- [38] Nagasawa Kazuya and Erlinda R. C. Lacierda (2004). *Diseases of Cultured Groupers, Southeast Asian Fisheries Development Center Aquaculture (AQD) Tigbauan 5021, Iloilo, Philippines*.
- [39] Pretorius CJ, and Watt E. J. *Ethnopharmacol.* 2001; 76:87-91.
- [40] Sharif MDM and Banik GR. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 2006; 2 (6): 268-273.
- [41] Doughari JH, Pukuma MS and De, N. *African Journal of Biotechnology* 2007; 6 (19), pp. 2212-2215.
- [42] Fahey JW. *Trees for Life Journal* 2005; 1:5.
- [43] Devendra BN, Srinivas N, Prasad Talluri VSSL and Swarna P. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2011; 2(3): 13-18.
- [44] Rand, T.G. (1990). *Studies on the biology of Ichthyophonus hoferi Plehn and Mulsow, 1911 from Nova Scotian yellowtail flounder, Limanda ferruginea (Storer)*. PhD thesis, University of New Brunswick, Canada.
- [45] Rand TG. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 1992; 72, 669–674.
- [46] Reichenbach-Klinke, H. and Elkan, E. (1965). *The Principal Diseases of Lower Vertebrates*. Academic Press, London, 600 pp.

- [47] Woo, P. T. K. (1995). Fish diseases and disorders. CAB, Int. Wallingford, Oxon, Uk.
- [48] Marty GD, Hulson PJF, Miller SE, Quinn TJ, Moffitt SD and Merizon RA. Diseases of Aquatic Organisms 2010; 90:1-14.
- [49] McVicar, A.H. (1990). Epidemiology/epizootiology: a basis for control of disease in mariculture. In: Perkins, F.O. and Cheng, T.C. (eds) Pathology in Marine Science. Academic Press, San Diego, pp. 397–405.
- [50] Kavitha C, Mathan R, Satyanarayanan SK, Srinivasan AL. Experimental and Toxicologic Pathology 2012; 64: 681–687.
- [51] Lie O, Evensen O, Sorensen A, Froysadal E. Disease of Aquatic Organisms 1989; 6, 1–5.
- [52] Sveinbjornsson B, Olsen R, Paulsen S. Journal of Fish Disease 1996; 19, 349–355.
- [53] Magnadottir B. Fish and Shellfish Immunology 2006; 20, 137–151.