العدوى بمرض الفليكس باكتريوزس (تيناسباكيولوزس) فى أسماك القاروص الاسيوى المستزرعة على شاطئ البحر الاحمر بالمملكة العربية السعودية مع بعض محاولات العلاج باستخدام الاوكسي تتراسيكلين والفلورفينكول

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

ملخص البحث :

أهدفت الدراسة الحالية التحقق من ضراوة ميكروب الفليكس باكتر ماريتمس أثناء الاصابة الطبيعية لأسماك القاروص الأسيوي المستزرعة على شاطئ البحر الاحمر بالمملكة العربية السعودية مع بعض المحاولات العلاجية للمرض باستخدام المضادات الحيوية فلورفينيكول والاوكسى تتراسيكلين ، الاسماك المصابة طبيعيا كانت مخزنة فى أحواض دائرية أسمنتية وترابية على شاطئ البحر الاحمر بمركز أبحاث الثروة السمكية بجدة بالمملكة العربية السعودية ، أعداد كبيرة من أسماك القاروص الأسيوي كانت تعانى من تغير اللون وتقرحات عميقة وأنزفه على الجسم وخاصة منطقة الظهر والذيل ، عدد كلى 180 سمكة مصابة طبيعيا اختيرت لأجراء تجربة العلاج باستخدام الفلورفينيكول والاوكسي تتراسيكلين قسمت الى ثلاث مجموعات كل مجموعة 20 سمكة بثلاث تكرارات ، المجموعة الاولى ضابطة أسماك مصابة طبيعيا بدون علاج ، المجموعة الثانية تعرضت للعلاج بالفلورفينيكول فى العليقة بتركيز 10 مجم/ كجم وزن سمك فى العليقة لمدة 10 أيام متتالية ، أما المجموعة الثالثة تعرضت للعلاج بأوكسى تتراسيكلين بجرعة 75مجم/كجم وزن سمك فى العليقة لمدة 10 أيام متتالية ، أخذت عينات دم في نهاية كل أسبوع لمدة 3 أسابيع بعد العلاج ، نسبة النفوق وتركيز الكورتيزول في السيرم ومعامل الالتهام لكرات الدم البيضاء في الدم سجلت على مدى 3 أسابيع بعد العلاج ، توصلت الدراسة الى ان الاصابة بميكروب الفليكس باكتر ماريتمس ضرورى تشخص وتعالج على وجه السرعة باستخدام الفلورفينيكول لتجنب نفوق الاسماك و الخسائر الفادحة .

مقدمة:

الاصابة بالفليكس باكتريوزس البحرى فى الاسماك يسببه أنواع عديدة من البكتيريا فى عائلة الفلافوباكتيريسى المتواجد منها 15 نوع حاليا . وهى متواجدة كجزء من البيئة في الماء، ومسطحات المد والجزر والطين. بعض الأنواع ممرضة للأسماك مسببات الأمراض، بعضها تم عزلها من الأسماك المريضة وشقائق البحر، ولكن قدرة الضراوة لم تدرس بعد، وبعضها جزء من البكتيريا الطبيعية فى المحار [1].

الفلافوباكتيريسى مسئولة عن خسائر كثيرة حول العالم فى الاسماك البرية والمستزرعة فى المياة العذبة والبحرية ، بالاضافة للتأثير البيئى والاقتصادى السلبى فإن تفشى العدوى بمرض الفلافوباكتيريا من أصعب الامراض المعروفة فى العلاج والسيطرة علية وذلك لما يقرب من 100 عاما من البحث العلمى (2)، هذا الميكروب عرف على أنة مشكلة هامة فى كثير من بلدان العالم فقد تم تسجيلة للمرة الاولى فى شيلى سنة 1993 وقد أصاب ثلاثة أنواع من أسماك السالمون المستزرعة السالمون الاطلنطى والكوهو سالمون والرانبو تراوت (3)، هذه البكتيريا وصفت فى البدايات وقد عزلت سنة 1948 من أسماك الكوهو سالمون النافقة (4).

تيناسباكيولوم ميكروب هوائى صرف ، بكتيريا سالبة الجرام م على شكل عصيات ليس لها أسواط تتحرك بالإنزلاق وقد تلتصق أو لا تلتصق بالبيئة (الأجار). تنتج صبغة صفراء وهى زاكسانزين ولا تنتج صبغات من نوع الفليكسيروبين (5).

تيناسباكيولوم ماريتيمم هو المسبب المرضى ويسبب مرض تقرحي يؤثر على مجموعة متنوعة من أنواع الأسماك البحرية. وعلى مدى سنوات تم استخدام عدد من الأسماء لهذا المرض بما في ذلك مرض كولمناريس المياه المالحة، التهاب الفم البكتيري، نخر التبقع الأسود ومتلازمة تآكل الفم. تشمل العلامات السريرية عادة القرحة ونخر على سطح الجسم، تآكل الفم، الزعانف وتعفن الذيل، وهذا المرض قد يتطور إلى تسمم الدم [6].

وكانت العزلة الأولى في اليابان من اسماك الدنيس الأحمر المستزرعة زريعة 15-60 ملم في الطول، زريعة الدنيس الأوربى أو الدنيس الأسود ودنيس الصخور [7،8]. الأعراض فى الأسماك المصابة تشمل أفواه المتآكلة، الزعانف محروقة، تعفن الذيل، والآفات الجلدية تقرحات سطحية. وكانت معدلات الوفيات 20-30٪.

فلورفينيكول مضاد حيوي واسع المجال و قد تمت الموافقة علية فى الولايات المتحدة الامريكية وذلك من أجل السيطرة على نفوق الاسماك القطية بسبب التسمم الدموي المعوى المسبب بإدواردسيلا

إكتيلارى ، ويستخدم أيضا لعلاج مرض الماء البارد المصاحب للفلافوباكتيريم سيكروفيلى ، الفلورفينيكول مضاد حيوي فعال يستخدم للقضاء على عدد كبير من جراثيم الاسماك [9، 10. 11. 12. 13. 14]. ، الفلورفينيكول تمت الموافقة علية على المستوى العالمى فى مجال الاستزراع السمكى فى 25 دولة 15 منهم يستخدم الفلورفينيكول للقضاء على كثير من البكتيريا بما فيها فلافو باكتيريم كولمنارى (15).

الاوكسى تتراسيكلين يستخدم على نطاق واسع في مجال الاستزراع المائي لمكافحة البكتيريا سالبة الجرام ، التأثير ممتد المفعول للأوكسى تتراسيكلين يستخدم على مدى واسع في الطب البيطري ليعطي تأثير ممتد واسع المجال ضد كثير من البكتيريا كما يؤدى الى تركيزات علاجية عالية في الدم ويؤثر أقل تأثير على الانسجة في الحيوانات المصابة (16). ولذلك الهدف من الدراسة الحالية هو التحقق من التأثير المرضى للاصابة بميكروب الفليكس باكتر فى أسماك القاروص الاسيوى المستزرعة على شاطئ البحر الاحمر بمركز أبحاث الثروة السمكية بجدة بالمملكة العربية السعودية مع بعض المحاولات لعلاج المرض بأستخدام الفلورفينيكول والاوكسى تتراسيكلين .

الطرق والمواد المستخدمة:

الاسماك المصابة طبيعيا :

أمهات أسماك القاروص الاسيوى مخزنة في أحواض ترابية و أسمنتية على طول شاطئ البحر الاحمر بمركز أبحاث الثروة السمكية بجدة ، المملكة العربية السعودية ، أعداد كبيرة من الاسماك كانت تعانى من تغير لون جسمها وتقرحات كبيرة عميقة على الجسم وتأكل في الزعانف وأمتناع عن التغذية والنفوق ، سجلت أوزان الاسماك والأعراض المرضية والاصابات بعد النفوق (17) ، كما أخذت عينات من الاسماك حية للمعمل للفحص البكتيريولوجى بمعمل الميكروبيولوجى بمركز أبحاث الثروة السمكية جدة ، المملكة العربية السعودية.

الفحص البكتيريولوجى :

التعرف على الفلافوباكتيريم:

التشخيص المتوقع:

ملاحظة الأعراض المرضية المميزة على الاسماك ووجود بكتيريا عصوية طويلة رقيقة سالبة الجرام في الاماكن المصابة - المستعمرات الصفراء ، الجافة، الرهيزويد المزروعة على بيئة أنكور - أوردال أجار البحرية أو إف إم إم أجار بعد 3 أيام تحضين في درجة حرارة 25 درجة مئوية - البكتيريا متحركة بواسطة الانزلاق أو الثناء و تفتقر إلى السياط - ميل البكتيريا لتكوين تلال (أكوام التبن) أو أعمدة كما يتبين في التحضيرات المائية من الانسجة المصابة.

التشخيص التأكيدى:

تحضين البكتيريا على بيئة أنكور - أوردال أجار البحرية أو إف إم إم أجار بعد 3 أيام تحضين فى درجة حرارة 25 درجة مئوية -4-5 يوم .

شكل الخلايا تفحص بواسطة الصبغة بصبغة الجرام تحت المجهر. حركة البكتيريا تحت الميكروسكوب فى شريحة رطبة. شكل المستعمرات والصبغات الموجودة والتفاعل مع هيدروكسيد البوتاسيوم 20%. والتفاعل مع صبغة أحمر الكنغو والإختبارات البيوكيميائية. مثل الـ د إن آز و تحلل النشا، وتسييل الجيلاتين كانوا جميعا كما هو موضح من قبل [20]. تم اختبار تدهور الجيلاتين مع الوسط السائل تستكمل مع 0.4٪ الجيلاتين (w.v-1) التي غمرت مع أكسالات الأمونيوم. وأشير تدهور الجيلاتين ، تم تحديد إنتاج حامض من الجلوكوز ، تم تحديد الكازين المائي مع.

عينات الدم :

اختيرت خمسة عينات عشوائية للأسماك من المجموعات التجريبية والمجموعة الضابطة لأخذ عينات الدم من الاسماك بعد تخديرها بزيت القرنفل (0.1-0.6 مجم/لتر) ، عينات الدم تم تجميعها من الوريد الذيلى لكل مجموعة على حدة قبل التجربة ، اليوم السابع ، اليوم 14، واليوم 21 بعد أخر جرعة مضاد حيوي ، عينات الدم تم تقسيمها الى جزأين ، الجزء الاول بدون وضع مضاد للتجلط لفصل السيرم لتعيين تركيز الكورتيزول أما الجزء الثانى أخذت بمضاد للتجلط (10% تراي صوديوم سترات) بسرنجة 1 مل مغسولة بمضاد التجلط وتم تخزينها فى درجة حرارة 4 درجة مئوية ، السيرم المتحصل علية تم حفظة فى -20 درجة مئوية.

تعيين تركيز الكورتيزول :

تم تعيين تركيز الكورتيزول فى السيرم تبعا لـ (مارتينز وأخرون 2009).

القدرة الالتهامية :

تعيين القدرة الالتهامية كالاتى:

50 ميكروجرام من خميرة الكنديدا البيكانس معرفة جيدا تركيزها (100مجم/مل) تم أضافتها الى 1مل دم (مجمعة) من المجموعات التجريبية والمجموعة الضابطة وتوضع بعد ذلك فى حمام مائى 23-25 درجة مئوية لمدة 4 ساعات ، عينات الدم تم فردها على شرائح زجاجية ثم جففت فى الهواء الجوى وصبغت بصبغة الجمسا بعد تجفيفها و تثبيتها بالمثانول و تم حساب معامل الالتهام حسب المعادلة :

معامل الالتهام = عدد خلايا الكنديدا الملتهمة / عددخلايا الالتهام فى الدم.

وذلك تبعا لـ (كواهارا واخرون 1991).

التصميم التجريبى للعلاج:

عدد كلى 180 من اسماك القاروص المصابة طبيعيا أوزانها 250-300 جم جمعت عشوائيا من الاحواض المصابة للعلاج ، قسمت الاسماك لثلاث مجموعات بثلاث تكرارات المجموعة الاولى كانت ضابطة (مصابة ولم تتعرض للعلاج) والمجموعة الثانية تعرضت للعلاج بالفلورفينيكول 10مجم/كجم وزن سمك يوضع فى العليقة لمدة 10 ايام متتالية ، أما المجموعة الثالثة تم علاجها بالاوكسى تتراسيكلين 75مجم/كجم وزن سمك فى العليقة لمدة 10 أيام متتالية كل مجموعة وضعت فى تانك فيبر جلاس منفصل ذو سعة 500

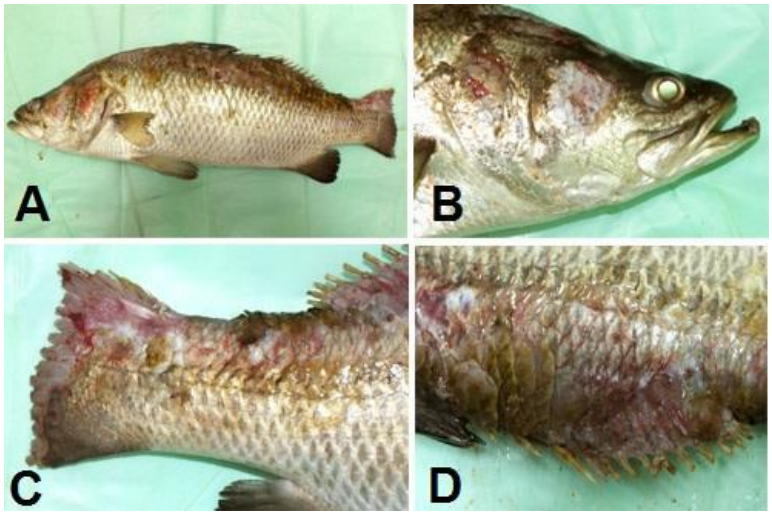
لتر ماء بحرى وتهوية مستمرة درجة حرارة الماء 2±27 درجة مئوية ، الاكسجين المذاب 2±5 مجم/لتر والملوحة 45جم/لتر.

النتائج المتحصل عليها:

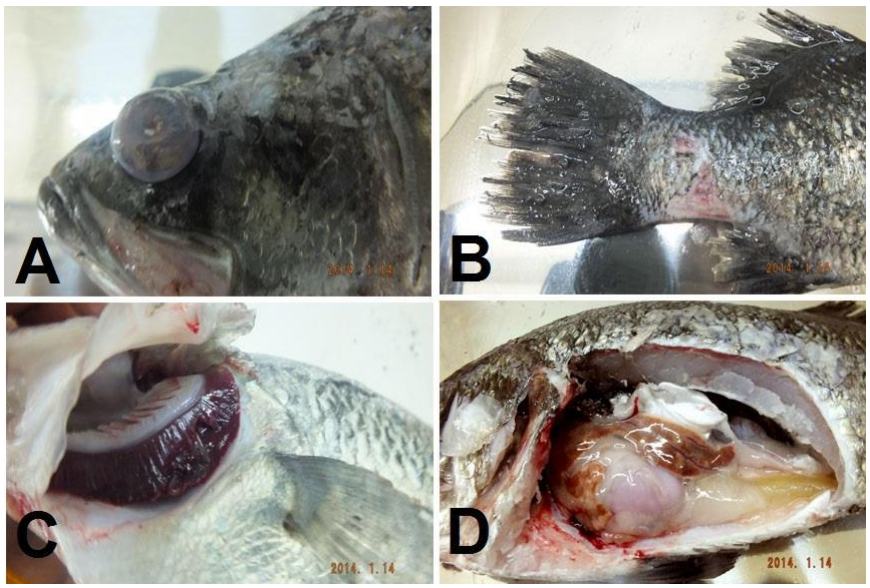
الأعراض والأصابات بعد النفوق:

الأعراض العامة للأسماك المصابة طبيعيا كانت عبارة عن قلة الحركة وفقدان في انعكاس الهرب (صورة 1) وسقوط القشور وقرح عميقة في الجسم وخاصة في المنطقة الظهرية (صورة 2)، فقدان لون الجلد وتأكل الزعانف وخاصة الزعنفة الظهرية والذيلية وبروز العينين (صورة 3) والامتناع عن التعذية ، أما الاعراض بعد النفوق فكانت عبارة عن أحتقان في الخياشيم والتهاب وزيادة في حجم الكبد والحوصلة الصفراوية والطحال والكلى وتجمع سائلي في التجويف البطني (صورة 4).

صورة 1: توضح أسماك قاروص أسيوى تسبح حية في أحواض ترابية تعاني من تقرحات كبيرة وعميقة على الظهر (مرض السرج) والزعنفة الذيلية المتزايد عليها الطحالب الخضراء ترافق مع عيون عاتمة ومدمرة.



صورة 2: توضح أسماك قاروص أسيوى (A & B) بها تساقط القشور مع التقرحات العميقة في المنطقة الظهرية، السويقة الذيلية والزعنفة الذيلية (C & D) الزعنفة الذيلية والمنطقة الظهرية .



صورة 3: توضح أسماك قاروص أسيوى عانت من (A) العمى (B) تساقط القشور جداول و قرحة في السويقة الذيلية مع تآكل الزعانف الذيلية و الظهرية (C) الخياشيم محتقنة ولزجة (D) الكبد ملتهب مع السوائل في تجويف البطن.

الفحص البكتيريولوجى :

البكتيريا المعزولة هي هوائية، إيجابيةال أوكسيديز ، سالبة الجرام، نحيلة، قضيب مرن (0.5 × 2-30 ميكرون. خلايا من المستعمرات القديمة أقصر في الطول ويمكن ظهور خلايا كروية ، وهذه الأخيرة تكون ميتة. لا توجد سياط ولكن الخلايا لديها القدرة على الحركة المنزلقة التي يمكن رؤيتها في إعداد الرطب (قطرة معلقة) المصنوع من مياه البحر. ويحدث النمو على وسط السيتوفاجا التي تحتوي على 70٪ ماء البحر، المعروفة باسم أنكور - أوردال أجار البحرية التي تحتوي على أملاح البحر (AO -M). المستعمرات هي بطيئة النمو، رقيقة، مسطحة، اللون أصفر فاتح و رهيزويد وينمو إلى حوالي 5 ملم بعد 4-5 أيام عند 25 درجة مئوية. وفي النمو المتوسط السائل على شكل طبقة رقيقة من النمو (جليدة) على السطح. النمو لا يحدث بمعزل عن الهواء ويحدث النمو في 15-34 درجة مئوية مع أمثل درجة 28 درجة مئوية. لا يحدث النمو عندما تستكمل AO أجار مع كلوريد الصوديوم. 30٪ على الأقل مياه البحر يجب أن تتواجد لنمو البكتيريا. النمو يحدث أيضا على FMM معطيا مستعمرات ذات لون أصفر خفيف، مسطحة مع حواف غير منتظمة . يحدث نمو جيد على بيئة MA 2216. لا يتم تخمير الجلوكوز، الجالاكتوز والفركتوز و السيلوبيوز والرامنوز. لالمتدهور للأجار، الكيتين والنشا ولكن تتحلل الكازين. المستعمرات تمتص الكونغو وتعطى بقعة حمراء ..

البكتيريا المعزولة تم تعريفها بيوكيميائيا بالطرق العادية فى الانابيب والاطباق المزروعة بالبكتيريا وتوصلت الدراسة الى أن البكتيريا المعزولة فليكس باكتر ماريتمس.

الجدول 1: معدل الوفيات أثناء العلاج من الأسماك المصابة مع فلورفينيكول وأوكسيتيتراسيكلين.

المجموعة	عدد الأسماك المعالجة	عدد الأسماك الميتة	عدد الأسماك الحية	نسبة الوفيات
المجموعة الكنترول (الضابطة)	20	14	6	70
مجموعة فلورفينيكول	20	0	0	0
مجموعة أوكسيتيتراسيكلين	20	2	8	10

نسبة النفوق أثناء العلاج :

نسبة النفوق في المجموعة الضابطة المصابة والتى لم تتعرض للعلاج كانت 70% بينما نسبة النفوق فى المجموعة التي عولجت بالفلورفينيكول صفر% وكانت نسبة النفوق 10% في المجموعة المعالجة بالاوكسى تتراسيكلين.

الجدول 2: تحديد تركيز الكورتيزول ملغ / مل في أسماك القاروص الأسيوى لمدة 3 أسابيع بعد العلاج.

اليوم / المجموعة	قبل العلاج	اليوم السابع*	اليوم الرابع عشر*	اليوم الواحد والعشرين*
المجموعة الكنترول (الضابطة)	1.6±32 أ	1.5±31 أ	1.8±37 أ	1.7±33 أ
مجموعة فلورفينيكول	1.88±37 ب	25.8±517 ب	10.5±211 ب	2.5±41 ب
مجموعة أوكسيتيتراسيكلين	1.7±35 ج	35.7±714 ج	30.4±607 ج	5.6±113 ج

* بعد العلاج :

الجدول 3: تحديد مؤشر الإلتهام٪ في أسماك القاروص الأسيوى لمدة 3 أسابيع بعد العلاج.

اليوم / المجموعة	قبل العلاج	اليوم السابع*	اليوم الرابع عشر*	اليوم الواحد والعشرين*
المجموعة الكنترول (الضابطة)	5.6±111.2 أ	5.4±107.0 أ	5.6±112.0 أ	5.0±101.0 أ
مجموعة فلورفينيكول	5.8±113.5 ب	7.2±114.0 ب	5.88±117.0 ب	6.2±125.3 ب
مجموعة أوكسيتيتراسيكلين	5.5±109.7 ج	2.7±33.7 ج	3.1±37.0 ج	5.0±73.9 ج

تركيز الكورتيزول ومعامل الالتهام في أسماك القاروص المعالجة لمدة 3 أسابيع بعد العلاج:

تركيز الكورتيزول أزداد زيادة معنوية فى المجموعة التى عولجت بالفلورفينيكول لمدة أسبوعين بعد العلاج بعد ذلك عاد التركيز الى الطبيعى فى الاسبوع الثالث بعد العلاج ، تركيز الكورتيزول أزداد زيادة معنوية فى المجموعة التى عولجت بالاوكسى تتراسيكلين لمدة 3 اسابيع متواصلة بعد العلاج بينما نسبة معامل الالتهام فى المجموعة التى عولجت بالفلورفينيكول لاتختلف فى نسبتها قبل العلاج لكن بعد الاسبوع الثالث زادت النسبة عن قبل العلاج على العكس تماما فى المجموعة التى عولجت بالاوكسى تتراسيكلين بينت نقص معنوى واضح فى نسبة معامل الالتهام لمدة 3 اسابيع بعد العلاج.

المناقشة:

أهدفت الدراسة الحالية التحقق من ضراوة ميكروب الفليكس باكتر ماريتمس أثناء الاصابة الطبيعية لأسماك القاروص الأسيوي المستزرعة على شاطئ البحر الاحمر بالمملكة العربية السعودية.

البكتيريا المعزولة تم تعريفها بيوكيميائيا بالطرق العادية فى الانابيب والاطباق المزروعة بالبكتيريا وتوصلت الدراسة الى أن البكتيريا المعزولة فليكس باكتر ماريتمس.

الأعراض الإكلينيكية العامة في الأسماك المصابة كانت ممثلة بالحركة البطيئة، فقدان انعكاس الهروب، الجلد غروي وباهت ، والاختناق، مع تجمع الأسماك بالقرب من سطح الماء. تقرح الجلد في المنطقة الظهرية من الجسم. بهتان لون الجلد، تآكل الزعانف الظهرية [25]. من الغذاء والموت. وكشف فحص الجثة بعد الوفاة أن الازدحام من الخياشيم، والتهاب وتضخم الكبد والطحال والكلى مع تراكم السوائل الدموية المصلية في التجويف البريتوني مما يتزامن مع النتيجة المتحصلة من [26.27].

العلامات الإكلينيكية الرئيسية الملاحظة توضح القدرة الإمراضية لبكتيريا الفليكس باكتر ماريتمس. فهى بكتيريا سالبة الجرام تؤثر على الأسماك الصغيرة والكبيرة. الخياشيم عادة ما تكون العضو الأكبر تضررا ، باحتقان الأوعية الدموية المغذية للخياشيم مع تفكك خلايا الإبيثيليم على سطح الصفائح من الأنابيب الشعرية. قد تكون هناك مناطق متفرقة من النزيف. في الأسماك البالغة تؤثر البكتيريا على الخياشيم، الجلد و / أو الجهاز العضلي. وقد تم توثيق تلاشى لون الجلد وتغيرات في العضلات ، تقرحات سطحية مع تآكل الجلد خاصة على الجناح الخلفي، وتآكل الزعانف الفك السفلى [28]. ويمكن أن يعزى الاختناق وضعف الجهاز التنفسي لخلايا الإبيثيليم المتضررة من الشعيرات الخيشومية الخاصة بالصفائح الخيشومية الثانوية التي تسببها العدوى ببكتيريا الفليكس باكتر ماريتمس لأنه يعتبر الجهاز المستهدف للبكتيريا (26.4).

بالنسبة لتأثير أوكسيتيتراسيكلين والفلورفينيكول في علاج العدوى ببكتيريا الفليكس باكتر ماريتمس في اسماك القاروص الأسيوى، يتضح من النتائج أن أوكسيتيتراسيكلين كان فعالا للغاية ضد العدوى ببكتيريا الفليكس باكتر ماريتمس في جرعة من 75 ملغ / كغ من السمك لمدة 10 يوما. هذه النتائج اتفق تقريبا مع نتائج قدمها [23] من ناحية أخرى استخدام الفلورفينيكول في جرعة من 10 ملغ / كغ من حجم السمك لمدة 10 يوما كان فعالا للغاية في علاج العدوى ببكتيريا الفليكس باكتر ماريتمس في اسماك القاروص الأسيوى المصاب ، فإن النتائج تتفق تقريبا مع نتائج موثقة من قبل [15] الذي أفاد أن بالاتفاق

مع الدراسات التي أجريت سابقا لإصبعيات سمك السلور، لم تكن هناك إصابات جسيمة مرئية يرتبط مع العلاج بالفلورفينيكول [29. 30]. وهذه البيانات تظهر مقارنة لوفيات النسبية لسمك السلور المصابين بفلافوباكتر كولمنارز ويعالج بالفلورفينيكول ، انه آمن ويقلل بشكل ملحوظ من معدل وفيات، ويجب أن تكون ذات قيمة للسيطرة على المرض في سمك السلور المستزرعة. كما يوصف الروميت مع الأوكسي تتراسيكلين (31). ومع ذلك، هناك تقارير عن مقاومة البكتيريا للروميت (31) و الأوكسي تتراسيكلين (32).

فيما يتعلق بمقارنة تأثير المضادان الحيويان على ببكتيريا الفليكس باكتر ماريتمس كان بإمكاننا أن نجرى اختبار حساسية في المختبر ولكن في هذه الدراسة التي قطعناها على أنفسنا تقديم علاج تجريبي على اسماك القاروص الأسيوى، المصابة طبيعيا لتحديد تأثير من المضادات الحيوية على الاستجابة المناعية الطبيعية والبكتيريا معا في نفس الوقت. اليوم، أكثر الكائنات المسببة للأمراض أصبحت مقاومة للمضادات الحيوية [33]. علينا أن نتذكر دائما أن العلاج الكيميائي والمضادات الحيوية هي المعاملة الأخيرة للسيطرة على أمراض الأسماك ، حيث أن معظم المواد الكيميائية المستخدمة للعلاج يمكن أن تؤثر على العوامل المسببة للأمراض وكذلك الأسماك [34].

بالنسبة لتأثير العلاج بالمضادات الحيوية على مستوى الكورتيزول في الدم ومعدل الإلتهام، كشفت هذه الدراسة أن تركيز الكورتيزول في الدم زاد زيادة كبيرة في المجموعة التي تلقت العلاج بالفلورفينيكول حتى 2 أسابيع بعد العلاج ولكن بعد 3 اسابيع عادت بشكل طبيعي كما كان من قبل العلاج. وكان تركيز الكورتيزول في المجموعة التي عولجت بواسطة أوكسي تيتراسيكلين أعلى بكثير لمدة 3 أسابيع بعد العلاج من تلك النسبة قبل العلاج. فيما يتعلق بالنسبة المئوية من ومعدل الإلتهام في المجموعة التي عولجت بالفلورفينيكول لا تختلف كثيرا عن النسبة قبل العلاج بينما بعد 3 أسابيع ظهرت زيادة عن النسبة قبل العلاج. في المقابل، المجموعة التي تلقت العلاج مع أوكسي تتراسكلين لوحظ انخفاض كبير في معدل الإلتهام لمدة ثلاثة أسابيع بعد العلاج النتائج التي أكدتها [34] الذي أفاد أن دراستها كشفت ارتفاع كبير في مستوى الكورتيزول خلال فترة العلاج أوكسي تيتراسيكلين. و[35] الذي أفاد أن أوكسي تيتراسيكلين كان له تأثير قمعي على معايير نظام المناعة المتخصص وغير المتخصص، مثل تعداد كريات بيضاء، نواتج التأكسد الجذري (نشاط النيتروبلوتترازوليم)، البروتين الكلي في البلازما ومستويات الغلوبولين المناعي، ونشاط الإلتهام.

زيادة مستوى تركيز الكورتيزول في المجموعة التي عولجت بواسطة أوكسي تيتراسيكلين. وهو هرمون يفرزه الجسم من أنسجة الغدة الكظرية كاستجابة للإجهاد. وتشير الدراسات على الأسماك المختلفة أن مستويات الكورتيزول تزداد بسرعة وبشكل كبير عند إجهاد الأسماك. الكورتيزول، مثل الادرينالين، يمكن أن تنتج أيضا العديد من التغيرات الفسيولوجية. إذا استمرت لفترات طويلة، ويمكن لهذه التغيرات أن تؤدي إلى اختلالات التمثيل الغذائي، مثل الزيادة في انهيار البروتين وارتفاع هرمونات الغدة الدرقية، والذى يؤدى زيادة الضغط على الجسم، مما يؤدي إلى استنفاد الكيمياء الحيوية [36 و 34].

وكشفت الدراسة الحالية ارتفاع كبير في مستوى الكورتيزول خلال فترة العلاج بالأوكسي تيتراسيكلين. الكورتيزول يمكن أن تتداخل مباشرة مع الطريقة العادية لعمل الجهاز المناعي. مما يعطل النظام الذي يؤدي إلى الأمراض المرتبطة بالإجهاد، والالتهابات البكتيرية بشكل خاص. على وجه التحديد، ومن المعروف أن االكورتيزول يتداخل مع عملية المناعية المعروفة باسم الإلتهام. وهو ما يعني في الواقع "خلية الأكل"، يشير إلى أن بعض خلايا الدم البيضاء التي "تلتهم" البكتيريا أو غيرها من المواد الغريبة التي تدخل الجسم. هذه العملية غالبا ما تكون خط الدفاع الأول عندما تدخل البكتيريا عن طريق الجلد والأغشية المخاطية أو عن طريق الجروح [37]. خلايا الدم البيضاء، وتسمى البلاعم (معنى أكلة كبيرة)، نتيجة الإشارات الكيميائية تتحرك للانتقال إلى المنطقة حيث تمكنت البكتيريا من اختراق الجسم. وبمجرد وصول هذه الخلايا الملتهمة في مكان الحادث، وتحيط بالبكتيريا الغازية وتبتلعها[34].

تنحدر الاستجابة المناعية عند إستخدام أوكسيتيتراسيكلين. الذى يمكن أن يقمع الاستجابة المناعية في سمك الشبوط والتراوت. وهكذا ينبغي أن تكون استخداماته محدودة لأنه يزيد من مقاومة البكتريا للعلاج ويتداخل مع الاستجابة المناعية، ونتائج هذه الدراسة تتفق مع [38] الذي أفاد أن التتراسكلين يسبب استنزاف النظام المناعي، كذلك [39] ذكر أن بعض المضادات الحيوية منعت خلايا الدم البيضاء من مهاجمة وقتل البكتيريا. وقد وصف المؤلف أن المضادات الحيوية من فئة التتراسيكلين قد تكون أسوأ الأنواع المثبطة. الأدبيات الآخري تعزز من التأثير السلبي للتتراسيكلين على الاستجابة المناعية. أيضا [36] قام بتقييم تأثير المضادات الحيوية على قمع وظيفة الخلايا اللمفاوية في المختبر. وخلصوا إلى أن الدوكسيسيكلين تسبب انحدار كبير لاستجابة لكل من الخلايا اللمفاوية البائية والتائية. ان هذا التأثير لا يمكن عكسه. تم تثبيطكلى لإنتاج الأجسام المضادة بواسطة الخلايا الليمفاوية المحتضنة لمدة 6 أيام مع الدوكسيسيكلين. التتراسكلين يعمل عن طريق تثبيط تخليق البروتين، وفقا لهؤلاء الباحثين هذه الآلية نفسها تبرر التأثير سلبي على إنتاج الأجسام المضادة. كما أشار [37]، وتأثير الهدم في المرضى الذين يتلقون جرعات عادية من التتراسيكلين قد يلغي تماما تأثير التغذية الوريدية عن طريق تثبيط استخدام الأحماض الأمينية لتخليق البروتين. وبالإضافة إلى ذلك الدوكسيسيكلين يحول دون الاستجابة الكيميائية أيضا [36]. أيضا تمشيا مع تلك النتائج [38. 39] أظهرت أن تركيزات منخفضة من التتراسيكلين تأخر الانقسام لكريات الدم البيضاء ، وهو ما يعني أن هذه الأدوية تؤثر على عدد الخلايا المتاحة لضمان الاستجابة المناعية الخلوية. وبالإضافة إلى ذلك من [32] الذي أفاد أن OTC كما كان له تأثير قمعي على مقاييس المناعة المتخصصة والغير متخصصة .

جهاز المناعة في الجسم هو آلية دفاع طبيعية ضد العدوى. وهو يتيح للجسم مكافحة الغزو من قبل البكتيريا والفيروسات والخمائر والفطريات الخ. تناول المضادات الحيوية يقلل من مستوى العدوى البكتيرية، ولكن ما زالت تحتاج النظام المناعي للانتهاء تماما من مكافحة العدوى. وبمجرد أن يتم عدوى الجسم بعدوى معينة، يحارب العدوى من دون استخدام المضادات الحيوية، فإن الجهاز المناعي يطور '

خلايا الذاكرة T . في المرة القادمة إذا أصيب الجسم بنفس العدوى، فإن خلايا الذاكرة T "تتذكر" الإصابة السابقة ويتصاعد استجابة مناعية فورية لمحاربتها [40]. مع استخدام المضادات الحيوية ونعطي مسؤولية مكافحة العدوى للمضادات الحيوية بدلا من نظام المناعة في الجسم. ولذا مع الوقت ، ومع الإفراط في استخدام المضادات الحيوية فإن الجهاز المناعي يمكن أن يصبح أقل فعالية. مع تناول المضادات الحيوية، يضعف الجهاز المناعي ، وهذا يعني أن الجسم أكثر عرضة للإصابة من قبل أخذ المضادات الحيوية.

الختام، الإصابة ببكتيريا الفليكس باكتر ماريتمس في أسماك القاروص الأسيوى المستزرع بالبحر الأحمر يجب تشخيصها وعلاجها في أسرع وقت ممكن لتجنب وفيات الأسماك وخسائر اقتصادية كبيرة، وذلك ينصح باستخدام الفلورفينيكول لأنه أفضل من العلاج أوكسيتيتراسيكلين (مثبط المناعة) في علاج العدوى البكتيرية فى الأسماك لأن استخدامه نافذ المفعول، أكثر آمنة، وذات آثار جانبية لا تذكر على الأسماك.

المراجع:

[1] Buller NB (2014) Bacteria and Fungi from Fish and Other Aquatic Animals, 2nd Edition A Practical Identification Manual.

[2] Loch Thomas P, Mohamed Faisal. J of Advanced Research 2015; (6) 3, 283-300.

[3] Avendanon H R, Armel H, Rute I, Jean F B, Marcos G, Pierre N, Eric D. Veterinary Microbiology 2014; (170) 3-4, 298-306.

[4] Austain B. and D. Austain (2012) . Bacterial fish pathogens diseases of farmed and wild fish, Praxis Publishing Ltd, Chichester, UK, Germany.

[5] Suzuki M, Nakagawa Y, Harayama M., Yamamoto S. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 2001;51(Pt 5), 1639–1652.

[6] Avenda o-Herrera R, Toranzo AE, Magari OB. *Diseases of Aquatic Organisms* 2006; 71(3), 255–266.

[7] Masumura K, Wakabayashi H. Fish Pathology 1977;12(3), 171–177.

[8] Wakabayashi H, Hikida M, Masumura K. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1986**;** 36(3), 396–398.

[9] Fukui H, Fujihara Y, Kano T. Fish Pathology 1987; 22:201–207.

[10] Inglis V, Richards R. Journal of Fish Diseases 1991;14:641–650.

[11] Samuelson O, Hjeltnes B, Glette J. Journal of Aquatic Animal Health 1998;10:56–61.

[12] Nordmo R, Riseth M H, Varma K, Sutherland I, Brokken E. Journal of Fish Diseases 1998; 21:289–297.

[13] Bruun M, Schmidt A, Madsen L, Dalsgaard I. Aquaculture 2000; 187:201–212.

[14] Schmidt A, Bruun M, Dalsgaard I, Pedersen K, Larsen J. Applied and Environmental Microbiology 2000 ; 66:4908–4915.

[15] Gaunt PS, Dana G. Journal of Aquatic Animal Health 2010; 22: 115–122.

[16] Rigos G, Pantelis K, Nikos P. J. Vet. Anim. Sci. 2010; 34(5): 441-445.

[17] Noga E J ("Fish disease Diagnosis and Treatment". 2nd Edition Mosby-yearbook, Inc. watsworth publishing Co., USA. 2010 ; pp. 366.

[18] Anacker RL, Ordal E J. Journal of Bacteriology 1959; 78(1), 25–32.

[19] Bernardet JF, Nakagawa Y,Holmes B. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 2002; 52(Pt 3), 1049–1070.

[20] Reichenbach H, Kleinig H, Achenbach H. Arch Microbiol. 1974; 101:131–144.

[21] Martinez PM., Luis Rafael MC, Ramos E, Rogelio M. Pan-American Journal of Aquatic Sciences 2009; 4 (2): 158-178.

[22] Kawahara E, Ueda T, Nomura S. Gyobyo Kenkyu, Japan, 1991; 26 (4): 213-214.

[23] Kachigan S. Statisical Analysis: Aconceptual introduction, Radius Press. 1991, 8 (16).

[24] Woo, P.T.K. Fish Diseases and Disorders CAB, Int. Wallingford, Oxon, UK. ,1995.

[25] Michel C, Messiaen S, Bernardet JF. J. Fish Dis. 2002; 25, 253–263.

[26] Gaunt P, Endris R, Khoo L, Leard A, Jack S, Santucci T, Katz T, Radecki S, Simmons R. Journal of Aquatic Animal Health 2003 ;15: 239–247.

[27] Gaunt P, Endris R, Khoo L, Howard R, McGinnis A, Santucci T, Katz T. Journal of the World Aquaculture Society 2004; 35:257–267.

[28] Hawke J, Thune R. Journal of Aquatic Animal Health 1992; 4:109–113.

[29] Farmer B. Improved methods for the isolation and characterization of Flavobacterium columnare. Available: etd.lsu.edu/ , 2004.

[30] Chandarana H, Baluja S, Chanda SV. Turk. J. Biol. 2005; 29:83-97.

[31] Amnah AHR. Report and Opinion 2012;4(5): 5-11.

[32] Yonar ME, Serpil MY, Sibel S. Fish and Shellfish Immunology 2011; 31(2), *318-325.*

[33] Patiño R, Redding JM, Schreck CB. Gen Comp Endocrinol. 1987; 68 (3):431-9.

[34] Zagury F, Trindade R. Advances in Pork Production 2006; 17, pp.161.

[35] Challem J. The Nutrition Reporter Newsletter. 1996.

[36] Banck G, Forsgren A. Antimicrobial Agents and Chemoterapy, 1979; 16 (5), 554-560.

[37] Korkeila J. J. Clin. Invest. 1971; 52, 1673-1679.

[38] Grondel JL, Angenent GC, Egberts E. Vet Immunol Immunopathol 1985a; 10 (4): 307- 16.

[39] Grondel JL, Gloudemans AG, van Muiswinkel WB. Vet Immunol Immunopathol 1985b; 9 (3): 251-60.

[40] Gladki A, Kaczanowski S, Szczesny P, Zielenkiewicz P. BMC Bioinformatics 2013; 14: 36.