حساسية البكتيريا المعزولة من نوعين من أسماك المياه العذبة في محافظة البصرة تجاه بعض المضادات الحياتية

نادرة كاظم السالم[1] وأسيل ناظم كاظم السلمان[2]

1 قسم الأسماك والثروة البحرية، كلية الزراعة، جامعة البصرة، البصرة، العراق

2 فرع الأحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة البصرة، البصرة، العراق

الخلاصة. جمعت 250 عينة من أسماك المياه العذبة (130 عينة من سمكة الكرسين *Carassius auratus* و120 عينة من سمكة الخشني *Liza abu*) من منطقتي نهر خرطراد (كرمة علي) وشرق هور الحمار (حرير) فصليا خلال الفترة الممتدة من شهر تشرين الأول 2011 ولغاية شهر آب 2012. تضمنت البكتيريا المعزولة والمشخصة في أنسجة سمكتي الدراسة: *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus* sp. و *Flavobacterium* sp. و *Aeromonas* sp. و *A. hydrophila* و *Pseudomonas* sp. و *Yersinia* sp. و *Corynebacterium* sp.. هدفت الدراسة الحالية إلى إختبار حساسية عزلات البكتيريا المرضية تجاه عشر مضادات حيوية [Chloramphenicol (C) و Neomycin (N) و Gentamycin (CN) و Tetracyclin (TE) و Cephalothin (KF) و Streptomycin (S) و Nalidixic acid (NA) و Erythromycin (E) و Oxytetracyclin (OT) و Ampicillin (AM)] لمعرفة المضاد الحيوي الأكثر تأثيرا. أسفرت نتائج الدراسة أن للمضاد الحيوي Oxytetracyclin (OT) (70.45 %) أعلى تأثيرا تجاه جميع البكتيريا وبفارق معنوي عن بقية المضادات الحيوية [عدا المضاد الحيوي Chloramphenicol (C) (66.56 %) والمضاد الحيوي Streptomycin (S) (65.52 %) بعدم وجود فارق معنوي]، وأقل تأثيرا المضاد الحيوي Neomycin (N) (4.45 %). وكان لبكتيريا *Flavobacterium* sp. (00. %) أعلى حساسية تجاه جميع المضادات الحيوية وبفارق معنوي عن بقية البكتيريا المرضية عدا بكتيريا *Streptococcus* sp. (47.88 %) وبكتيريا *S. aureus* (47.17 %) بعدم وجود فارق معنوي، وأقل حساسية بكتيريا *Aeromonas* sp. (28.89 %).

المقدمة

تعيش أسماك المزارع السمكية في حيز محدود، مما يعرضها للإصابة بأمراض مختلفة ومنها الأمراض البكتيرية (9). و بين Austin and Austin (9) أن معظم البكتيريا التي تصيب الأسماك تعيش في البيئة المائية مع الأسماك أو في داخلها، مع وجود عوامل الإجهاد المختلفة سواء كانت ميكانيكية (مثل نقل وتداول الأسماك) أو طبيعية (مثل التذبذب في درجات الحرارة ومستويات الأوكسجين الذائب في الماء) أو كيميائية (مثل وجود الملوثات الكيميائية) أو حيوية (مثل زيادة الحمل المايكروبي بالمياه نتيجة التسميد العضوي أو غيره) التي تقلل أو تضعف مناعة الأسماك ومقاومتها وتنشط البكتيريا محدثة المرض. لقد أشار Noga (27) إلى أن عملية علاج الأسماك من العمليات المكلفة اقتصاديا، إذ قد يترتب عن حدوث إصابة مرضيه وبائية بين أسماك احد الأحواض أو المزارع إصابة كل أو اغلب الأسماك بالمرض، لذا يجب أن يكون التركيز على عمليات الوقاية بالدرجة الأولى. وأشار Chelossi *et al.* (14) أن السيطرة على الأمراض البكتيرية التي تصيب الأسماك تتم باستخدام المضادات الحيوية Antibiotics عادة بهدف الوقاية قبل ظهور أعراض المرض عليها أو العلاج عند ظهور المرض وعرفوا المضادات الحيوية على إنها مواد عضويه تنتجها الكائنات الحية المجهرية كالبكتيريا والفطريات أو تصنع كيميائيا منها ما يثبط أو يقلل من نمو البكتيريا وذلك بتأثيره على النمو من خلال

منع التخليق الحيوي لبروتينات الخلية البكتيرية وأحماضها النووية، ومنها ما هو قاتل للبكتيريا وذلك بمنعه تكوين جدار الخلية أو غشائها السايتوبلازمي. وأوضح Alderman and Hastings (4) و Hirsch *et al.* (21) و Chelossi *et al.* (14) أن المضادات الحيوية يتم إعطائها للأسماك أما عن طريق الحقن أو بعمل حمامات مائية للأسماك المصابة أو بإضافتها إلى العليقة التي يتم تغذية الأسماك عليها، ويعد العلاج بالحقن من أكثر الطرق فعالية لسرعة وصول المضاد الحيوي إلى الدم وبالتالي لمكان الإصابة والتعامل مع البكتيريا الممرضة. لقد أشار Saha and Pal (29) أن المضادات الحيوية بحد ذاتها لا تعالج الأسماك، ولكن تقوم بالسيطرة على تجمع البكتيريا داخل جسم السمكة مدة كافية من الوقت ليقوم جهازها المناعي بالقضاء عليها، وأوضحا أن إيجاد الحل الأمثل لعلاج الأمراض البكتيرية يتطلب العمل مع الخبير المختص بصحة الأسماك ليعمل على زراعة البكتيريا في التركيب العضوي وليجري إختبارات الحساسية وعلى الرغم من أن زراعة البكتيريا وإختبارات الحساسية تأخذ يومين أو ثلاثة أيام عموما إلا إنها من أفضل الطرق لانتقاء المضاد الحيوي المناسب الذي سوف يعالج المرض بنجاح وبأقل كلفة مادية.

اختبر Schmidt *et al.* (31) 88 حساسية عزلة تعود لبكتيريا *Flavobacterium psychrophilum* و 134 عزلة تعود لبكتيريا *Yrsinia ruckeri* و 313 عزلة تعود لبكتيريا *Aeromonas* sp. المتحركة (المعزولة من أسماك اربعة مزارع تقع على امتداد نهر دانيش Danish في شرق الدانمارك)، تجاه خمس مضادات كانت عزلات بكتيريا *F. psychrophilum* حساسة لمعظم المضادات الحيوية المدروسة، أما عزلات بكتريا *Y. ruckeri* فكانت حساسة لجميع المضادات الحيوية المفحوصة، وكانت عزلات بكتيريا *Aeromonas* sp. المتحركة مقاومة للمضادات الحيوية. وعزل de Sousa and Silva-Souza (19) البكتيريا من 14 نوع من الأسماك من نهر كونكونهاز Congonhas الواقع في ولاية بارانا Parana state في البرازيل. حيث تم الحصول من 44 % من الأسماك المفحوصة على المجاميع البكتيرية التالية:

Pseudomonas sp. و *Acinetobacter* sp. و *Aeromonas* sp. و *Micrococcus* sp. و *Bacillus* sp. و *Lactobacillus* sp. والعائلة *Enterobacteriaceae*. كما تم إختبار حساسية العزلات البكتيرية تجاه تسع مضادات حيوية حيث كانت البكتيريا السالبة لصبغة كرام الهوائية أكثر مقاومة تجاه المضادات الحيوية المفحوصة. ودرس Kayis *et al.* (23) المسببات المرضية البكتيرية والأمراض الناجمة عنها في 32 مزرعة لسمكة التراوت القزحي للمياه العذبة، وحوضين لأسماك التراوت القزحي البحرية، وأسماك محطة بحوث تقع في منطقة البحر الأسود في تركيا إذ تم تشخيص 40 عزلة بكتيرية بالاعتماد على صفاتها المظهرية في 558 سمكة، كما اختبر الباحثون حساسية العزلات البكتيرية تجاه بعض المضادات الحيوية وبغض النظر عن فصول السنة والموقع الجغرافي، حيث كانت نسبة 50 % أو أكثر من العزلات البكتيرية مقاومة إلى المضادات الحيوية وكانت أكثر المضادات الحيوية فعالية تجاه العزلات البكتيرية Oxolinic acid (OA) و Florfenicol.

مواد وطرائق العمل

جمع عينات الأسماك والمياه

جمعت 250 عينة من نوعين من أسماك المياه العذبة (الكرسين، *Carassius auratus* والخشني، *Liza abu*) من منطقتي نهر خرطراد (كرمة علي) وشرق هور الحمار (حرير) فصليا خلال الفترة الممتدة من

شهر تشرين الأول 2011 ولغاية شهر آب 2012. تضمنت 130 عينة من سمكة الكرسين و120 عينة من سمكة الخشني، حيث جمعت عينات السمكتين بواقع 3 مرات في الفصل الواحد من كلا منطقتي الدراسة. بعد إتمام عملية صيد الأسماك وضعت الأسماك في أكياس بلاستيكية معقمة وحفظت في حاوية من الفلين تحتوي على قطع الثلج ونقلت بعد ذلك إلى المختبر بأسرع وقت ممكن.

تصنيف عينات الأسماك

صنفت عينات سمكتي الكرسين، *Carassius auratus* والخشني، *Liza abu* بالاعتماد على صفاتها المظهرية وحسب Coad (15).

تحضير عينات الأسماك

فحصت الأسماك لملاحظة الأعراض المرضية عليها، ثم قتلت الأسماك بإتلاف نخاعها الشوكي، وسلخ جلدها وقطعت أقواسها الغلصمية من إحدى الردهات الغلصمية، ثم شرحت الأسماك بالاعتماد على طريقة Amlacher (6)، حيث عمل شق طولي في السطح ألبطني لجسم السمكة من فتحة المخرج وحتى منطقة أسفل الغطاء الغلصمي، كما عمل شق آخر على شكل قوس من فتحة المخرج وحتى أعلى الغطاء الغلصمي، ثم رفعت القطعة الناتجة من جدار الجسم فكشفت الأحشاء الداخلية للسمكة حيث استخرج الكبد والطحال والجزء الأمامي من الأمعاء والكلية وذلك لغرض عزل البكتيريا منها.

عزل وتشخيص البكتيريا

حضر وسط Nutrient agar المستخدم في زرع البكتيريا بإضافة وزن معين من الوسط (حسب مواصفات الشركات المجهزة لها) إلى لتر من الماء المقطر، ثم ضبطت دالته الحامضية باستخدام جهاز قياس الدالة الحامضية نوع Bp3001 ماليزي المنشى، وعقمت بجهاز الموصدة Autoclave نوع 415 برازيلي المنشى، في درجة حرارة 121م° وضغط 15 باوند/انج^2 لمدة 15 دقيقة وتركت لتبرد بدرجة حرارة 45 م° مئوية قبل صبها في أطباق بتري معقمة. عزلت البكتيريا من أنسجة الأسماك (الجلد، الغلاصم، الأمعاء، الكبد، الطحال، الكلية) وذلك بوضع 1 غم من عينة أنسجة الأسماك في أنابيب إختبار معقمة، حاوية على 9 مل من المحلول الفسلجي المعقم Sterilized physiological normal saline، رجت أنابيب الإختبار لمدة دقيقتين ثم تركت ليستقر المزيج لمدة 5 إلى 10 دقائق، ثم اخذ 1 مل من كل أنبوبة إختبار وعمل منه سلسلة من التخافيف العشرية، ثم نقل 0.1 مل من التخفيف المناسب ونشر على وسط الاكار المغذي Nutrient agar ثم حضنت الأوساط في حاضنة Incubator نوع CB53 ألمانية المنشى في درجة حرارة 2±22 م° لمدة 48 إلى 72 ساعة. نقت المستعمرات البكتيرية وذلك بأخذ مستعمرة من كل نوع من المستعمرات البكتيرية المختلفة مظهريا بالشكل واللون والحجم وزرعت على وسط الاكار المغذي ثم حضنت الأوساط في الحاضنة في درجة حرارة 2±22 م° لمدة 48 إلى 72 ساعة. شخصت البكتيريا بإجراء الإختبارات المظهرية والكيموحيوية عليها وبالاعتماد على Cowan and Steel (16) و CruickShank *et al.* (18) و Holt *et al.* (22).

إختبار حساسية العزلات البكتيرية تجاه المضادات الحيوية

اعتمدت في هذا الإختبار طريقة Bauer *et al.* (10) (disk–diffusion technique) لإختبار حساسية العزلات البكتيرية المرضية تجاه 10 مضادات حيوية [Cephalothin (30 KF) و Tetracyclin (10 TE) و Neomycin (30 N) و Gentamycin (30 CN) و Chloramphenicol (30C) و Streptomycin

Nalidixic acid (30 NA) و(10 S) Oxytetracyclin و Erythromycin (15 E) و(30 OT) و Ampicillin (10 AM)] المجهزة من قبل (Bioanalyse-Turkey)، إذ وزع وسط الإختبار (مولر–هينتون اكر Mueller-Hinton agar) في أطباق بتري معقمة، ثم لقحت أطباق بتري بمعلق العزلات البكتيرية وتركت لمدة 30 دقيقة، ثم وضعت أقراص المضادات الحيوية على وسط الإختبار وحضنت في درجة حرارة 2±22 م° لمدة 24 إلى 48 ساعة وقيست مناطق التثبيط وقورنت بجداول Bauer *et al.* (10) و-Bourgogae Bereziu *et al.* (11) و Harley and Prescott (20).

التحليل الإحصائي

حللت النتائج إحصائيا باستخدام التصميم العشوائي الكامل Completly Randomized (CRD) Design وإختبار أقل فرق معنوي معدل Revised Least Significant Differences Test (RLSD) (1)، بواسطة البرنامج الإحصائي (SPSS version 19).

النتائج والمناقشة

عزل وتشخيص البكتيريا

عزلت البكتيريا التالية من أنسجة سمكتي الكرسين *C. auratus* والخشني *L. abu*. وكانت: *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus* sp. و *Flavobacterium* sp. و *Aeromonas hydrophila* و *A.* sp. و *Pseudomonas* sp. و *Yersinia* sp. و *Corynebacterium*. ويوضح الجدول (5) الإختبارات المظهرية والكيموحيوية لتشخيص البكتيريا.

في الدراسة الحالية تم استخدام وسط الاكر المغذي كوسط زرعي أولي لإنماء البكتيريا من عينات سمكتي الكرسين والخشني. فقد بين Arora and Arora (8) أن هناك وسطين زرعيين أو ثلاثة أوساط زرعيه بكتيرية عامة يمكن استخدامها لزرع مدى واسع من البكتيريا المرضية وغير المرضية من الأسماك وبيئتها وهي أوساط زرعيه بسيطة تحتوي على جميع المكونات الضرورية لنمو البكتيريا مثل وسط الاكر المغذي Nutrient Agar (NA). في الدراسة الحالية لقح الوسط ألزرعي (الاكر المغذي) الحاوي على جميع المكونات الضرورية لنمو البكتيريا بالعينات المأخوذة من سمكتي الكرسين والخشني، إذ وفرت جميع الظروف الملائمة لنمو البكتيريا من درجة حرارة (2±22 م°) ودالة حامضية (7.2). حيث لوحظ النمو البكتيري في الأطباق الزرعية بعد فترة حضن تراوحت بين 48 إلى 72 ساعة، بعد ذلك نقيت البكتيريا النامية بأنتخاب المستعمرات البكتيرية المختلفة مظهريا وأعيد زرعها على الوسط ألزرعي مرة أخرى وشخصت بالاعتماد على الإختبارات المظهرية (الإختبارات الأولية) وسلسلة من الإختبارات الكيموحيوية (الإختبارات الثانوية) كما مبين في الجدول (1). فقد بين Buller (13) أن جميع العينات المأخوذة من الأسماك أو من بيئتها التي تعيش فيها والمراد عزل البكتيريا منها لابد أن تلقح في وسط عام لنمو البكتيريا ويجب أن يحضن هذا الوسط في درجة حرارة 25 م° لمدة تتراوح بين 2 إلى 5 أيام، كما أن بعض الأحياء المجهرية تظهر بشكل أوضح باستخدام وسط زرعي اختياري أو مدعم. وبينت WHO (32) أن الإختبارات الكيموحيوية المستخدمة لتشخيص البكتيريا تتم بعدد من الخطوات، إذ يتم استخدام المزارع النقية المنتخبة من النمو البكتيري لتنفيذ الإختبارات الأولية والكيموحيوية، إذ تتضمن الإختبارات الأولية الفحص ألمجهري (صبغة كرام) وإختبارات إنتاج إنزيم الكاتاليز وإنتاج إنزيم الاوكسديز وتحلل الدم والحركة وغيرها ، في حين تتضمن الإختبارات الكيموحيوية (الإختبارات الثانوية)

(الإختبارات المستخدمة لتشخيص البكتيريا على مستوى النوع غالبا) إختبارات تخمر الكاربوهايدرات أو السكريات (الكلوكوز واللاكتوز والمالتوز والمانيتول والمانوز والسكروز والزايلوز وغيرها) وسحب جذر الكاربوكسيل واختزال النترات وإنتاج كبريتيد الهايدروجين وإنتاج الاندول وإنزيم اليوريا والنمو في درجات حرارية مختلفة والنمو على 10% ملح الطعام وحل الجلابتين وغيرها.

تضمنت البكتيريا المعزولة من أنسجة الجلد والغلاصم والأمعاء والكبد والطحال والكلية لسمكتي الكرسين والخشني والمشخصة في الدراسة الحالية هي *S. aureus* و*Streptococcus* sp. و*Flavobacterium* sp. و*Aeromonas* sp. و*A. hydrophila* و*Pseudomonas* sp. و*Yersinia* sp. و*Corynebacterium* sp. كان 3 منها يعود إلى مجموعة البكتيريا الموجبة لصبغة كرام وهي *S. aureus* و*Streptococcus* sp. و*Corynebacterium* sp.، و5 منها يعود إلى مجوعة البكتيريا السالبة لصبغة كرام وهي *Flavobacterium* sp. و*Aeromonas* sp. و*A. hydrophila* و*Pseudomonas* sp. و*Yersinia* sp.، وهذه النتائج تتفق مع دراسة Zorrilla *et al.* (33) إذ بينوا أن اغلب البكتيريا المعزولة من سمكة Gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) المصابة بالمرض في المياه المالحة في جنوب شرق اسبأنيا هي بكتيريا سالبة لصبغة كرام مثل *Vibrio* sp. و *Pseudomonas* sp. و*P. piscicida* و*F. maritimus* و*Aeromonas* sp. فضلا عن القليل من البكتيريا الموجبة لصبغة كرام. ومع ما وجده Al-Harbi and Uddin (5) في دراستهما أن معظم البكتيريا المعزولة من مياه إحدى البرك المويلحة وأسماكها كانت من البكتيريا السالبة لصبغة كرام.

وبين Moustafa *et al.* (26) عند دراستهم للإصابات البكتيرية في أسماك *Tilapia zilli* و*Mugil capito* و*Solea vulgaris* في بحيرة القارون و *Siganus rivulatus* و *Epinephelus tauvina* و*Oedalechilus labiosus* في خليج السويس، أن البكتيريا السالبة لصبغة كرام كانت سائدة على البكتيريا الموجبة لصبغة كرام، إذ اشتملت البكتيريا المعزولة من الأسماك على الأنواع *V. anguillarum* و*V. alginolyticus* و *P. piscicida* و*P. fluorescens* و*S. fecalis* و *S. aureus* و*A. sorbia* و*A.hydrophila*. كما عزل Akinyemi and Buoro (3) تسعة أجناس وخمسة أنواع من البكتيريا من غلاصم وتجويف الفم وجلد أسماك *L. agennes* و*P. elongates* و *S. barracuda* المستحصل عليها من بحيرة لاكوس في نيجيريا، إذ كان عشرة منها من البكتيريا السالبة لصبغة كرام وهي *Proteus* sp. و*Klebsiella* sp. و*Salmonella* sp. و*Citrobacter* sp. و*Alcaligenes* sp. و*P. aeruginosa* و*Enterobacter* sp. و*Shigeila* sp. و*E. coli* و*Serretia* sp. وأربعة منها من البكتيريا الموجبة لصبغة كرام وهي *S. aureus* و*S. pyogenes* و*Micrococcus* sp. و*B. licheniform*.

تم عزل وتشخيص البكتيريا من أنسجة سمكتي الكرسين والخشني المستحصل عليها من منطقتي نهر خرطراد وشرق هور الحمار من قبل العديد من الباحثين أيضا على مستوى الجنس أو النوع في دراسات مختلفة من أنسجة أنواع مختلفة من الأسماك و/ أو بيئاتها المائية التي تعيش فيها مما يتفق مع الدراسة الحالية على كون تلك البكتيريا (مرضية أو غير مرضية) تصيب الأسماك أو تتواجد في بيئتها المائية. فقد عزلت Saleh (30) أجناس *Alcaligenes* sp. و*Pseudomonas* sp. و*Aeromonas* sp. و*Bacillus* sp.

Streptococcus sp. و *Micrococcus* sp. و والعائلة Enterobacteriaceae من أنسجة صغار أسماك الكارب الاعتيادي المستزرع في أحواض مركز علوم البحار، جامعة البصرة.

وقد شخص de Sousa and Silva Souza (19) البكتيريا المعزولة من 40 نوع من الأسماك وعينات مياه نهر كونكونهاز في البرازيل على أنها *Pseudomonas* sp. و *Acinetobacter* sp. و *Aeromonas* sp. و *Micrococcus sp.* و *Bacillus* sp. و *Lactobacillus* sp. والعائلة Enterobacteriaceae. وقام Kayis *et al.* (23) بعزل 40 عزلة من البكتيريا من سمكة *O. mykiss* المستحصل عليها من المياه العذبة والبحرية في تركيا منها *Aeromonas* sp. و *Pseudomonas* sp. و *F. psychrophilum* و *Y. ruckeri* و *V. fluvials* و *Salmonella* sp. و *E. Amnigenus* و *S. liquefeciens* و *S. sonnei*. كما شخص Ampofo & Clerk (7) أجناس بكتيرية مختلفة من أنسجة سمكة البلطي المستحصل عليها من مزارع سمكية مخصبة بالفضلات العضوية ومن نهر فولتا الواقع في غينيا تضمنت *Edwardsiella* sp. و *Pasteurella* sp. و *Salmonella* sp. و *Corynebacterium* sp. و *Flavobacterium* sp. و *Pseudomonas* sp. و *Bacillus* sp. و *Streptococcus* sp. و *Vibrio* sp.

تأثير المضادات الحيوية على البكتيريا

يمثل الشكل (1) تأثير المضاد الحيوي Cephalothin (KF) تجاه البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني، إذ كانت النسبة المئوية لعزلات البكتيريا الحساسة هي *S. aureus* (61.53%)، *Streptococcus* sp. (75%)، *Flavobacterium* sp. (25%)، *Aeromonas* sp. (0)، *A. hydrophila* (0)، *Pseudomonas* sp. (0)، *Yersinia* sp. (18.75%)، *Corynebacterium* sp. (60%)، sp. (0). يمثل الشكل (2) تأثير المضاد الحيوي Tetracyclin (TE) تجاه البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني، إذ كانت النسبة المئوية لعزلات البكتيريا الحساسة هي *S. aureus* (53.84%)، *Streptococcus* sp. (62.50%)، *Flavobacterium* sp. (75.00%)، *Aeromonas* sp. (33.33%)، *A. hydrophila* (33.33%)، *Pseudomonas* sp. (50.00%)، *Corynebacterium* sp. (50%)، *Yersinia* sp. (0). اما الشكل (3) فيبين تأثير المضاد الحيوي Gentamycin (CN) تجاه البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني، إذ كانت النسبة المئوية لعزلات البكتيريا الحساسة هي: *S. aureus* (38.46%)، *Streptococcus* sp. (50%)، *Flavobacterium* sp. (25%)، *Aeromonas* sp. (5.55%)، *A. hydrophila* (22.22%)، *Pseudomonas* sp. (18.75%)، *Yersinia* sp. (60%)، *Corynebacterium* sp. (100%). أما الشكل (4) فيبين تأثير المضاد الحيوي Neomycin (N) تجاه البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني، إذ كانت النسبة المئوية إذ كانت النسبة المئوية لعزلات البكتيريا الحساسة هي *S. aureus* (23.07%)، *Streptococcus* sp. (12.50%)، *Flavobacterium* sp. (0)، *Aeromonas* sp. (0)، *A. hydrophila* (0)، *Pseudomonas* sp. (0)، *Yersinia* sp. (0)، *Corynebacterium* sp. (0). والشكل (5) يبين تأثير المضاد الحيوي Chloramphenicol (C) تجاه البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني، إذ كانت النسبة المئوية لعزلات البكتيريا الحساسة هي *S. aureus* (69.23%)، *Streptococcus* sp. (62.5%)،

Aeromonas ،(%57) *Flavobacterium* sp. ،(%61.11) sp. *A. hydrophila* ،(%66.66)، *Yersinia* sp.،(%62.50) *Pseudomonas* sp. ،(%50) *Corynebacterium* sp. (100%).

كما بينت نتائج الدراسة الحالية تأثير المضاد الحيـــــوي Streptomycin (S) تجاه البكتـيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني (الشكل، 6) إذ كانت النســـبة المئويـــة لعزلات البكتيريا الحساســة هي *S. aureus* (53.84%)، *Flavobacterium* ،(%75) *Streptococcus* sp. *A.* ،(%50) *Aeromonas* sp. ،(%75) sp. *Pseudomonas* sp. ،(%77.77) *hydrophila* ،(%43.75) *Yersinia* sp. ،(%60) *Corynebacterium* sp. (100%). ويمثل الشكل (7) تأثير المضاد الحيوي Nalidixic acid (NA) تجاه البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني. إذ كانت النسبة المئوية لعزلات البكتيريا الحساسة هي *S. aureus* (38.46%)، *Streptococcus* sp. (62.50%)، *Aeromonas* ،(%50) *Flavobacterium* sp. ،(%55.5) sp. *A.hydrophila* ،(%55.55)، *Yersinia* sp. ،(%50) *Pseudomonas* sp. ،(%60) *Corynebacterium* sp. (0). ويوضح الشكل (8) تأثير المضاد الحيوي Erythromycin (E) تجاه البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني، إذ كانت النسبة المئوية لعزلات البكتيريا الحساسة هي *S. aureus* (53.84%)، *Streptococcus* sp. (25%)، *Aeromonas* ،(%50) *Flavobacterium* sp. ،(0) sp *A .hydrophila* ،(0)، *Pseudomonas* sp. ،(%37.50) *Yersinia* sp. ،(%30)، *Corynebacterium* sp. (0). أما الشكل (9) فيبين تأثير المضاد الحيوي Oxytetracyclin (OT) تجاه البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني إذ كانت النسبة المئوية لعزلات البكتيريا الحساسة هي *S. aureus* (61.53%)، *Streptococcus* sp. (50%)، *Flavobacterium* sp. (100%)، *Aeromonas* sp. (66.6%)، *A. hydrophila* (66.6%)، *Pseudomonas* sp. (68.75%)، *Yersinia* sp. (50%)، *Corynebacterium* sp. (100%).

يمثـل الشـكل (10) تـأثير المضـاد الحيـوي Ampicillin (AM) تجاه البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني، إذ كانت النسبة المئوية لعـزلات البكتيريـا الحساسـة هـي *S. aureus* (15.38%)، *Streptococcus* sp. (37.50%)، *Flavobacterium* sp. (25%)، *Aeromonas* sp. (16.6%)، *A. hydrophila* (11.11%)، *Yersinia* sp. (25.00%)، *Pseudomonas* sp. (10%)، *Corynebacterium* sp. (0).

بين التحليل الإحصائي بأن للمضاد الحيوي Oxytetracyclin (70.40%) أعلى تـأثير تجـاه جميع البكتيريا وبفارق معنوي عند مستوى معنوية 0.05 عن بقية المضادات الحيوية عدا المضاد الحيوي Chloramphenicol (66.56%) والمضاد الحيوي Streptomycin (65.52%) (بعدم وجود فارق معنوي عند مستوى معنوية 0.05)، وأقل تأثير Neomycin (4.45%). كـــــان لبكتيريـــــا *Flavobacterium* sp. (50.00%) أعلـى حساسية تجاه جميع المضادات الحيوية وبفارق معنوي عند مستوى معنوية 0.05 عن بقية البكتيريا المرضـية عـدا بكتيريـا *Streptococcus* sp. (47.88%) وبكتيريـا *S. aureus* (47.17%) (بعـدم وجـود فـارق معنـوي)، وأقـل حساسـية *Aeromonas* sp. (28.89%).

في الدراسة الحالية تم إختبار حساسية ومقاومة البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني من منطقتـي كرمـة علـي وحريـر تجـاه عشـر مضـادات

حيوية، أظهرت الدراسة بأن المضادات الحيوية Oxytetracyclin (OT) و Chloramphenicol (C) و Streptomycin (S) إمتلكت أعلى تأثير تجاه البكتيريا المدروسة، في حين امتلك المضاد الحيوي Neomycin (N) أقل تأثير تجاه البكتيريا وهذا يتفق مع الذي توصل إليه de-Sousa and Silva-Souza (19)، إذ إختبرا حساسية ومقاومة تسع مضادات حيوية تجاه بكتيريا *Pseudomonas* sp. و *Flavobacterium* sp. و *Acintobacter* sp. و *Aeromonas* sp. و *Micrococcus* sp. و *Bacillus* sp. و *Lactobacillus* sp. وعائلة Enterobacteriaceae والبكتيريا الموجبة لصبغة كرام العصوية غير المشخصة، إذ وجدا أن البكتيريا السالبة لصبغة كرام الهوائية المعزولة من الأسماك أو من المياه المتواجدة فيها تكون أكثر مقاومة للمضادات الحيوية Furazolidone و Oxolinic acid و Norfloxacin، وأقل مقاومة للمضادات الحيوية Trimethoprim-sulphamethoxazole و Oxytetracycline و Chloramphenicol. كما تتفق مع دراسة Saha and Pal (29) اللذان إختبرا حساسية 12 مضاد حيوي مختبريا تجاه بكتيريا *Pseudomonas* sp. و *Aeromonas* sp. و *Bacillus* sp. و *Micrococcus* sp. و *Vibrio* sp. و *Moraxella* sp.، إذ وجدا بأن جميع البكتيريا كانت حساسة تجاه المضادات الحيوية Oxytetracycline و Chloramphenicol و Nalidixic acid وكان المضاد الحيوي Oxytetracycline أكثر المضادات الحيوية فعالية تجاه البكتيريا المدروسة ودراسة Kubilay *et al.* (25) إذ اختبروا حساسية ومقاومة بكتيريا *F. columnare* تجاه العديد من المضادات الحيوية مثل Chloramphenicol و Oxytetracyclin و Tobramycin و Oxalicilin و Cotrimoxzol و Kanamycine)، إذ وجدوا أن البكتيريا كانت حساسة للمضادات الحيوية Chloramphenicol و Oxytetracyclin ومقاومة للمضادات الحيوية و Tobramycin و Oxalicilin و Cotrimoxzol و Kanamycine، وإستنتجوا من تجارب إختبار المضادات الحيوية بأن المضاد الحيوي Oxytetracyclin هو أفضل المضادات الحيوية بسبب الإختزال الكبير في هلاكات صغار سمكة التراوت. ودراسة Rahman *et al.* (28)، حيث اختبروا تأثير سبع مضادات حيوية [Chloramphenicol (C) و Oxytetracyclin (OT) و Erythromycin (E) و Streptomycin (S) و Gentamicin (GM) و Cefradine (CE) و Sulphamethethaxazol (SXT)] تجاه ست عزلات من بكتيريا *F. columnare*، إذ وجدوا بأن البكتيريا كانت حساسة للمضادات الحيوية Chloramphenicol و Oxytetracyclin و Erythromycin و Streptomycin وكانت مقاومة للمضادين الحيويين و Gentamicin و Cefradine وكانت متوسطة الحساسية للمضاد الحيوي Sulphamethethaxazol، إذ كان المضاد الحيوي Chloramphenicol أكثر المضادات الحيوية تأثيرا على نمو البكتيريا يليه Erythromycin ثم Oxytetracyclin على التوالي.

أظهرت الدراسة الحالية أن بكتيريا *Streptococcus* sp. و *Flavobacterium* sp. و *S. aureus* إمتلكت أعلى حساسية تجاه جميع المضادات الحيوية المدروسة، في حين إمتلكت بكتيريا *Aeromonas* sp. أقل حساسية تجاه المضادات الحيوية. فقد وجد de-Sousa and Silva-Souza (19) في دراستهما أن سلالات البكتيريا السالبة لصبغة كرام تكون أكثر مقاومة للمضادت الحيوية من سلالات البكتيريا الأخرى الموجبة لصبغة كرام. وبين Saha and Pal (29) أن بكتيريا Pseudomonads و Aeromonads

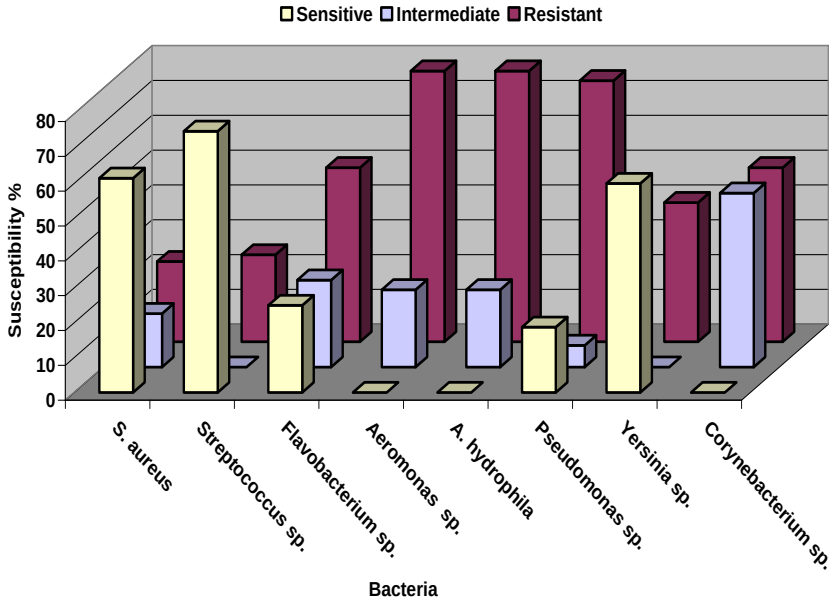
كانت مقاومة للمضادات الحيوية Penicillin و Ampicillin و Arythromycin، في حين كانت حساسة فضلا عن بكتيريا *Bacillus* sp. و *Micrococcus* sp. و *Moraxella* sp. و *Vibrio* sp. تجاه المضادات الحيوية Oxytetracyclin و Nalidixic acid و Chloramphenicol. ووجد Akingogunla *et al.* (2) أن بكتيريا *Streptococcus* sp. و *E. coli* و *Yersinia* sp. و *Enterobacter* sp. و *S. aureus* و *Enterococcus* sp. و *V. cholerae* و *Proteus* sp. و *Shigella* sp. و *Salmonella* sp. و *Campylobacter* sp. تكون حساسة جدا للمضادات الحيوية Ceftazidime و Cefoxitin و Cefoperazone مقارنة مع المضاد الحيوي Cephalothin.

أن الاختلاف في حساسية أو مقاومة البكتيريا تجاه المضادات الحيوية قد يرجع إلى الاختلاف في تركيب الجدار الخلوي بين البكتيريا فضلا عن الاختلاف في عمل المضادات الحيوية المختلفة على الأجزاء والتراكيب الخلوية المختلفة في البكتيريا (17). كما قد يعزى إلى مابينه Schmidt *et al.* (31) في دراستهم عند مراقبة حساسية 88 عزلة من بكتيريا *F. psychrophilum* و 134 عزلة من بكتيريا *Y. ruckeri* و 313 عزلة من بكتيريا *Aeromonas* المتحركة تجاه خمس مضادات حيوية [Oxolinic acid (OXA) و Sulfadiazine-trimethoprim (S-T) و Amoxicillin (AMX) و Oxytetracycline (OT) و Florfenicol (FLO)] لمدة سنة واحدة في اربعة مزارع لتربية الأسماك، إذ وجدوا أن عزلات بكتيريا *F. psychrophilum* حساسة لمعظم المضادات الحيوية المدروسة، أما عزلات بكتيريا *Y. ruckeri* فكانت حساسة لجميع المضادات الحيوية، وكانت عزلات بكتيريا *Aeromonas* sp. المتحركة مقاومة للمضادات الحيوية. إذ عزى سبب إمتلاك بعض أنواع العزلات البكتيرية مدى ضيق من المقاومة تجاه المضادات الحيوية وإمتلاك أنواع أخرى من البكتيريا مدى واسع من المقاومة تجاه نفس المضادات الحيوية يكون غير واضح بشكل جيد، وان دراسة الأساس الجيني للعزلات البكتيرية المقاومة للمضادات الحيوية قد يوضح ميكانيكية مقاومة العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية، إذ وجدوا بأن هناك انتشار أفقيا (بين أجيال البكتيريا المتعاقبة) للجينات المقاومة قد يحدث للعديد من محددات المقاومة للمضادات الحيوية والمرتبطة مع العناصر الجينية المنتقلة (R plasmids) والذي تم توضيحه أيضا في العديد من الدراسات الأخرى في مزارع تربية الأسماك والمياه المحيطة بها (24، 12، 2).

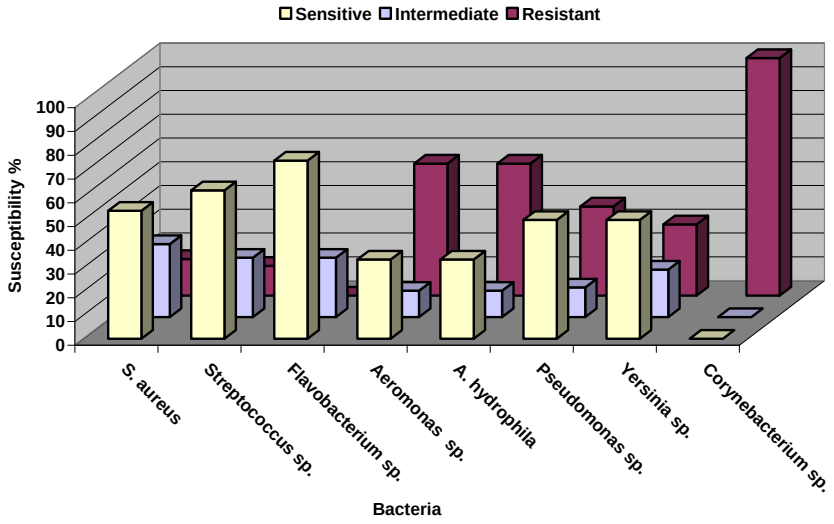
جدول (1) الإختبارات المظهرية والكيموحيوية لتشخيص البكتيريا.

Corynebacterium sp.	*Yersinia* sp.	*Pseudomonas* sp.	*A. hydrophila*	*Aeromonas* sp.	*Flavobacterium* sp.	*Streptococcus* sp.	*S. aureus*	العينة
Diplobacillus	Ovoid or rod	Rods	Rods	Rods	Rods	Spherical to ovoid	Spherical	1
+	-	-	-	-	-	+	+	2
-	d	+	-	d	d	d	-	3
+	+	+	d	+	+	-	+	4
	-	+	+	+				5
			+					6
+		-		+	+	+	+	a
+		-	+	+	+			b
	+		+				+	c
	+						+	d
	+or-							e
	-						+	f
							+	h
								7
	-							8
-		-		+or-				9
			+or-				+	10
	-			+			+	11
-		-	+	-	-	-	-	12
+			-					13
				+	+or-		+or-	14
	+or-		+		+or-		-	15
					+or-			16
	+			+			+	17
	-		+					18
	+or-							19
				+				20
			+					21
								22
								23
								24

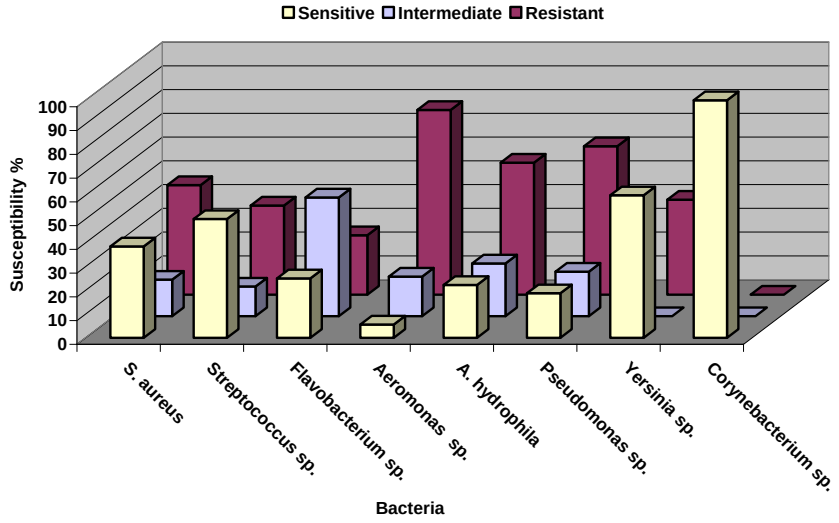
1= شكل الخلية، 2= التصبيغ بصبغة كرام، 3= إختبار الحركة، 4= إختبار إنتاج إنزيم الكاتاليز، 5= إختبار إنتاج إنزيم الاوكسيديز، 6= إختبارات الأكسدة والتخمر (a= تخمر سكر الكلوكوز، b= تخمر سكر اللاكتوز، c= تكوين الحامض من سكر المالتوز، d= تكوين الحامض من سكر المانيتول، e= تكوين الحامض من سكر السكروز، f= تكوين الحامض من سكر اللاكتوز، h= تكوين الحامض من سكر الكلوكوز)، 7= إختبار النمو في درجات حرارية مختلفة، 8= إختبار حل الجلابتين، 9= إختبار تكوين الغاز، 10= إختبار إنزيم التجلط، 11= إختبار تميؤ الارجنين، 12= تكوين السبورات، 13= صبغة ألبرت، 14= إختبار تحلل النشا، 15= إختبار إنتاج الاندول، 16= إختبار إنتاج كبريتيد الهيدروجين، 17= إختبار اختزال النترات 18= إختبار سحب جذر الكاربوكسيل من الحامض الاميني اللايسين، 19= إختبار إنزيم اليوريا، 20= إختبار إنزيم حل الكازائين، 21= إختبار فوكس بروسكاور، 22= إختبار المثيل ريد، 23= النمو في 6% من كلوريد الصوديوم، 24= إختبار تحلل الاسكلين



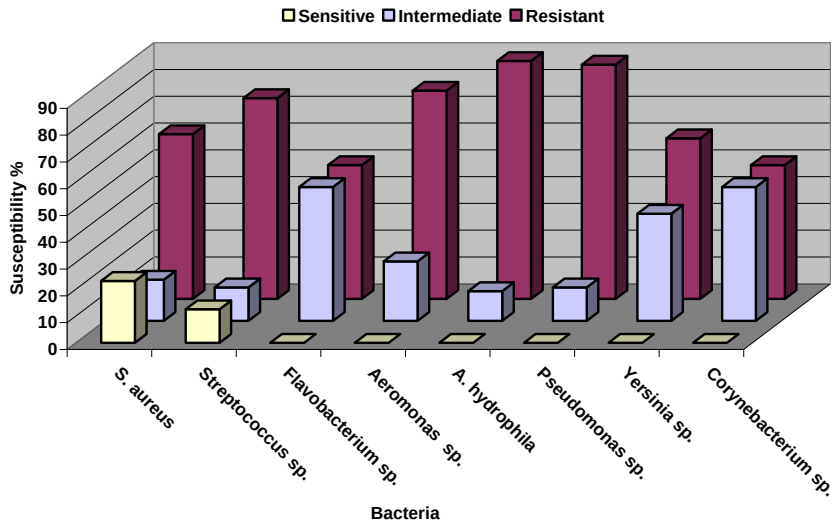
شكل (1). تأثير المضاد الحيوي Cephalothin (KF) على البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشنى من نهر خرطراد وشرق هور الحمار.



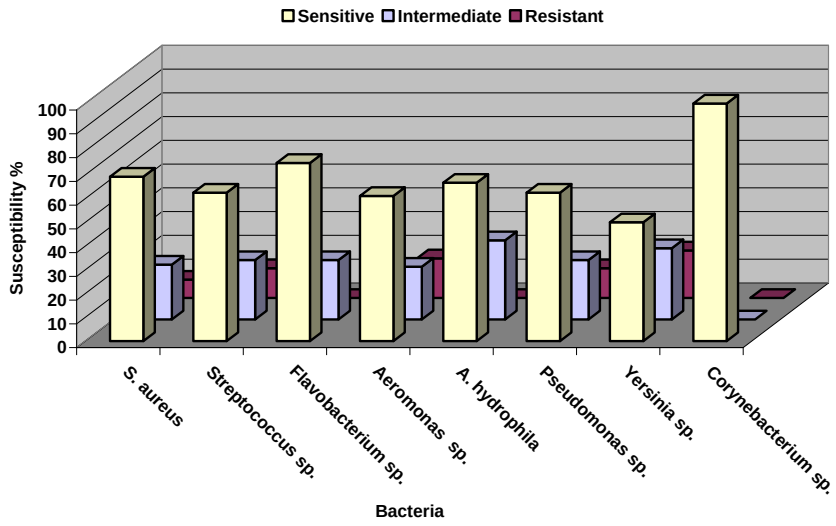
شكل (2). تأثير المضاد الحيوي Tetracyclin (TE) على البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني من نهر خرطراد وشرق هور الحمار.



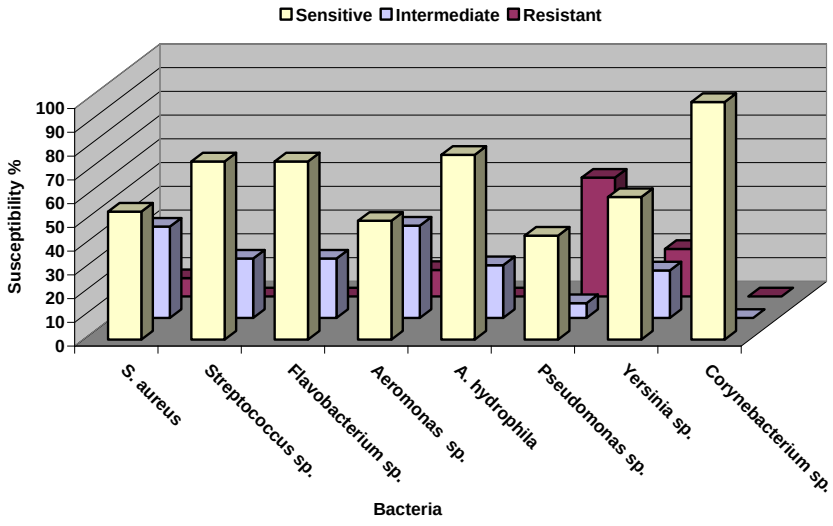
شكل (3). تأثير المضاد الحيوي Gentamycin (CN) على البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني من نهر خرطراد وشرق هور الحمار.



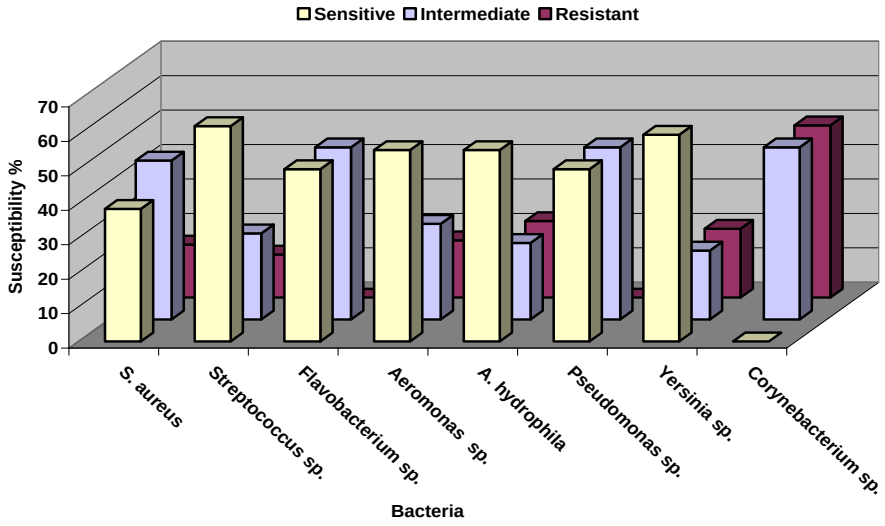
شكل (4). تاثير المضاد الحيوي Neomycin (N) على البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني من نهر خرطراد وشرق هور الحمار.



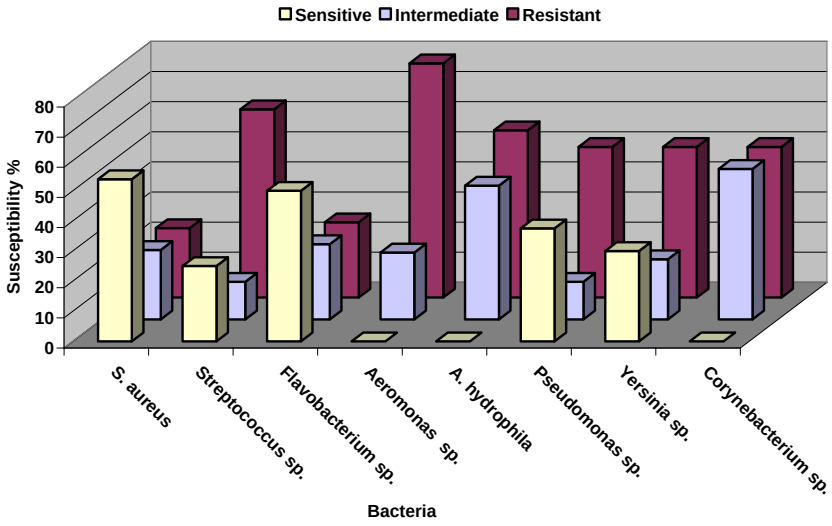
شكل (5). تأثير المضاد الحيوي (C) Chloramphenicol على البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني من نهر خرطراد وشرق هور الحمار.



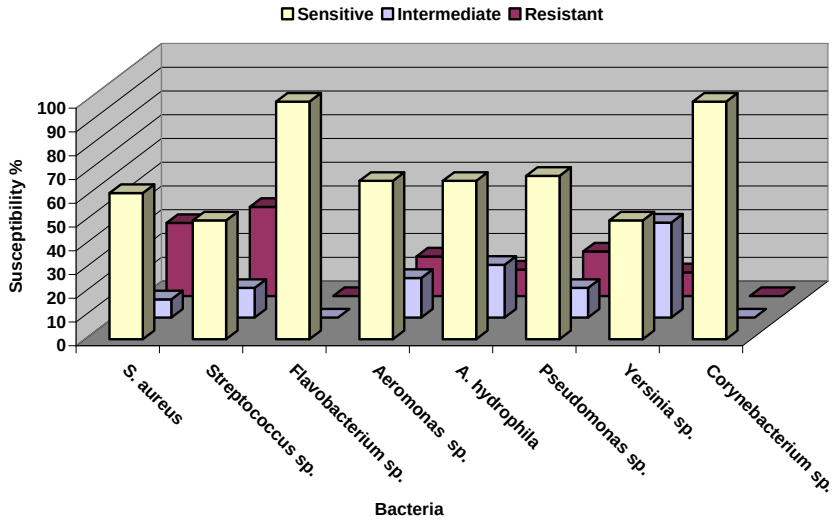
شكل (6). تأثير المضاد الحيوي (S) Streptomycin على البكتيريا المرضية المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني من نهر خرطراد وشرق هور الحمار.



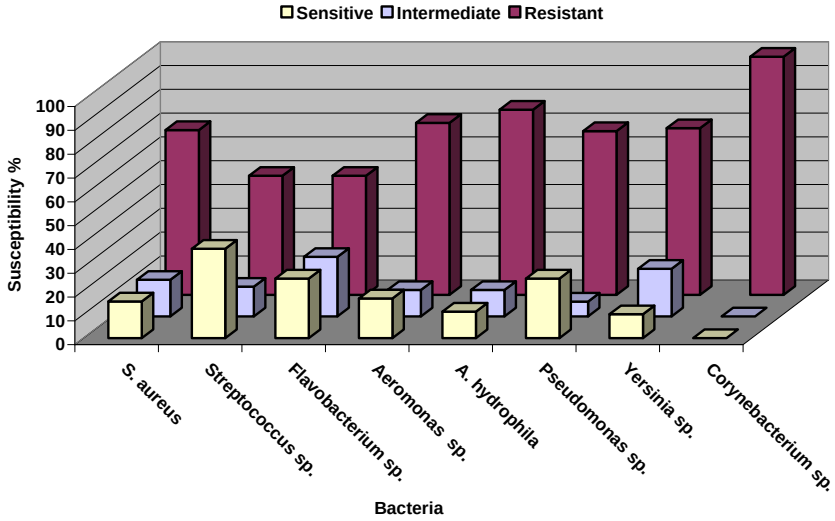
شكل (7). تاثير المضاد الحيوي Nalidixic acid (NA) على البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني من نهر خرطراد وشرق هور الحمار.



شكل (8). تأثير المضاد الحيوي Erythromycin (E) على البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني من نهر خرطراد وشرق هور الحمار.



شكل (9). تأثير المضاد الحيوي Oxytetracyclin (OT) على البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني من نهر خرطراد وشرق هور الحمار.



شكل (10). تأثير المضاد الحيوي Ampicillin (AM) على البكتيريا المعزولة من سمكتي الكرسين والخشني من نهر خرطراد وشرق هور الحمار.

المصادر

1. الراوي، خاشع محمود وخلف الله، عبد العزيز (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. مطبعة دار الكتب، الموصل، العراق، 488 صفحة.

2. Akinjogunla, O. J.; Inyang, C. U. and Akinjogunla, V. F. (2011). Bacterial species associated with anatomical parts of fresh and smoked bonga fish (*Ethmalosa fimbriata*): Prevalence and susceptibility to cephalosporins. Res. Microbiol., 6: 87-97.

3. Akinyemi, A. A. and Buoro, O. O. (2011). Occurrence of bacteria found in gills, skin, and buccal cavity of *Lutjanus agennes*, *Pseudotolithus elongatus* and *Sphyraena barracuda* from lagoon, Nigeria. Fish Aquat. Sci., 6 (5): 555-562.

4. Alderman, D. J. and Hastings, T. S. (1998). Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance potential for consumer health risks. Int. J. Food. Sci. Technol., 33:139-155.

5. Al-Harbi, A. H. and Uddin, N. (2005). Bacterial diversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in brackish water in Saudia Arabia. Aquaculture, 250: 566-572.

6. Amlacher, E. (1970). Textbook of fish diseases (Engl. Transl.). T. F. H. publisher, Jersey City, 302 pp.

7. Ampofo, J. A. and Clerk, G. C. (2010). Diversity of bacteria contaminants in tissues of fish cultured in organic waste-fertilized ponds: Health implications. Open Fish Sci. J., 3:142-146.

8. Arora, D. R. and Arora, B. (2011). Textbook of Microbiology 3 rd edition, CBS publishers and distributors Pvt. Ltd., New Delhi, India, 770 pp.

9. Austin, B. and Austin, D. A. (1987). Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish. Halsted Press, New York, 364 pp.

10. Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; Sherris, J. C. and Turch, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by astandard single disc method. Am. Clin. Pathol., 45: 493-496.

11. Bourgogne-Berezin, E.; Joly-Guillou, M. L. and Towner, K. J. (1996). *Acinetobacter*, microbiology, epidemiology, infiction, management. CRC Press, Boca Raton, New York. 330 pp.

12. Bruun, M. S.; Schmidt, A. S.; Madsen, L. and Dalsgaard, I. (2000). Antimicrobial resistance patterns in Danish isolates of *Flavobacterium psychrophilum*. Aquaculture, 187: 201–212.

13. Buller, N. B. (2004). Bacteria from fish and other aquatic animals a practical identification manual. Biddles Ltd., King's Lynn, UK, 361 pp.

14. Chelossi, E.; Vezzulli, L.; Milano, A.; Branzoni, M.; Fabiano, M.; Riccardi, G. and Banat, I. M. (2003). Antibiotic resistance of benthic bacteria in fish farm and control sediments of the Western Mediterranean. Aquaculture, 219 (1-4): 83-97.

15. Coad, B. W. (2010). Freshwater Fishes of Iraq. Pensoft Publishers,

rainbow trout (*Oncorhynchus mykissin*) the southern Black Sea region of Turkey a survey. Aquaculture, 61 (4): 339-344.

24. Kim, E. H.; and Aoki, T. (1998). Sequence analysis of the florfenicol resistance gene encoded in the transferable R-plasmid of a fish pathogen, *Pasteurella piscida*. Microbiol. Imm., 9: 665–669.

25. Kubilay, A.; Altun, S.; Diler, O. and Ekici, S. (2008). Isolation of *Flavobacterium columnare* from cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry in Turkey. Fish Aquat. Sci., 8: 165-169.

26. Moustafa, M.; Mohamed, L. A.; Mahmoud, M. A.; Soliman, W. S. and El-gendy, M. Y. (2010). Bacterial infections affecting marine fishes in Egypt. J. Am. Sci., 6 (11): 603-612.

27. Noga, E. J. (2000). Fish disease diagnosis and treatment, 1999. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 367 pp.

28. Rahman, M. M.; Ferdowsy, H.; Kashem, M. A. and Foysal, M. J. (2010). Tail and fin rot disease of carp and climbing perch in Bangladesh. Biol. Sci., 10 (8): 800-804.

29. Saha, D. and Pal, J. (2002). In vitro antibiotic susceptibility of bacteria isolated from EUS-affected fishes in India. Appl. Microbiol., 34 (5): 311-316.

30. Saleh, A. A. (1997). Evalution of bacterial contentin carp (*Cyprinus carpio* L.) and their immune response against *Aeromona hydrophila*. MSc. Thesis, Biology Department, Science Sofia-Moscow. 166 figures, 2 tables, 16 Colour plates (55 photos), 294 pp.

16. Cowan, S. T. and Steel, K. J. (ed.) (1975). Manual for the identification of medical bacteria 2nd, Cambridge University Press, Cambridge, London. 124pp.

17. Coyle, M. B. (2005). Manual of antimicrobial susceptibility testing. American Society for Microbiology, Washington 98195, 241 pp.

18. Cruickshank, R.; Duguie, G. P.; Marmion, B. P. and Swain, R. H. A. (1975). Medical microbiology. Vol. 2, 12th ed. Churchille, Livingstone, Edinburgh, London, 406 pp.

19. de Sousa, J. and Silva-Souza, A. T. (2001). Bacterial community associated with fish and water from Congonhas river, Sertaneja, Parana, Brazil. Braz. Arch. Biol. Technol., 44 (4): 122-131.

20. Harley, J. P. and Prescolt, L. M. (1996). Microbiology. 3rd ed. Mc Graw, Hillpp, 483 pp.

21. Hirsch, R.; Ternes, T.; Haberer, K. and Kratz, K. L. (1999). Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. Sci. Total Environ., 225: 109-118.

22. Holt, J. G.; Krieg, N. R.; Sneath, P. H.; Staley, J. T. and Williams, S. T. (eds .) (1994). Bergeys manual of determinative bacteriology. 9th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 787 pp.

23. Kayis, S.; Capkin, E.; Balta, F. and Altinok, I. (2009). Bacteria in

laboratory identification and antimicrobial susceptibility testing of bacterial pathogens. Publication no. WHO/CDD/83.3 rev 1. World Health, Organization: Geneva, Switzerland. 359 pp.

33. Zorrilla, M.; Chabrillon, A. S.; Rosales, P. D; Manzanares, E. M; Balebona, M. C. and Morinigo, M. A. (2003). Bacteria recovered from diseased cultured gilthead sea bream, *Sparus aurata* L. in southwestern Spain. Aquaculture, 218: 11-20.

College, University of Basrah, Iraq, 68 pp.

31. Schmidt, A. S.; Bruun, M. S.; Dalsgaard, I.; Pedersen, K. and Larse-Jens, L. (2000). Occurrence of antimicrobial resistance in bacteria associated with four Danish fish pathogenic and environmental rainbow trout farms. Appl. Environ. Microbiol., 66 (11): 4908- 4915.

32. World Health Organization (WHO) (2003). Manual for the

The Bacteria Susceptibility Isolation from Two Freshwater Fishes in Basrah Governorate Against some Antibiotics

Nadirah K. Al-Salim[1] and Aseel Nadhim K. Al-Salman[2]

1 Department of Fisheries and Marine Resources, College of Agriculture, University of Basrah, Basrah, Iraq
2 Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine, University of Basrah, Basrah, Iraq

Abstract. A total of 250 samples of freshwater fishes (130 *Carassius auratus* and 120 *Liza abu*) were collected seasonally from October, 2011 to August, 2012 from two regions {Garmat Ali (Kharatrad river) and Harrier (west of Hor Al-Hammar marsh)}. The isolated and characterized bacteria in the study fishes included *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Flavobacterium* sp., *Aeromonas* sp., *A. hydrophila*, *Pseudomonas* sp., *Yersinia* sp., *Corynebacterium* sp. The aim of present study is test of the pathogenic isolates susceptibility against [Cephalothin (KF), Tetracyclin (TE), Gentamycin (CN), Neomycin (N), Chloramphenicol (C), Streptomycin (S), Nalidixic acid (NA), Erythromycin (E), Oxytetracyclin (OT), Ampicillin (AM)] to know the most antibiotic activity. The oxytetracyclin (OT) (70.45%) had the highest effect on all pathogenic bacteria with a significant difference from that of other antibiotics on pathogenic bacteria. The exception was in the effect of chloramphenicol (C) (66.56%) and streptomycin (S) (65.52%) with no significant difference. Whereas, the neomycin (N) had the lowest effect on all pathogenic bacteria.The *Flavobacterium* sp. (50%) was the most sensitive pathogenic bacteria to all antibiotics with a significant difference from that of other pathogenic bacteria. The exception was in the sensitivity of *Streptococcus* sp. (47.88%), and *S. aureus* (47.17%) with no significant difference. While, the *Aeromonas* sp. (28.89%) was the most resistant pathogenic bacteria to all antibiotics.