**الملخص العربي**

في هذه الدراسه تم عمل خمسة طفرات من بكتريا الادواردسيلا بيسيسيدا وتم إختبارهم كلقاحات حيه مضعفه لوقايه سمك قرموط القنوات من مرض الادواردسيلوزس . ولعمل هذه الطفرات تم حذف خمسة جينات من الجينات الهيكليه المكونه لنظام افراز النوع الثالث عبر التبادل الأليلي. وقد تم دراسه الصفات المظهريه للطفرات وكذلك تحديد فتره بقائها بالأنسجة والإستجابه المناعيه لها وضراوتها وقدرتها علي الصد ضد مرض الاديواردسيلوزس المسبب بالادواردسيلا بيسيسيدا في سمك قرموط القنوات. كما تم تقييم طريقة أخرى للوقايه من مرض الاديواردسيلوزس باستخدام لقاح أعد مسبقا (ESC-NDKL1) للوقايه من التسمم الدموي المعوي في سمك قرموط القنوات والمسبب ببكتريا الادواردسيلا إكتالوري.

ولعمل هذه الطفرات تم استخلاص الحمض النووي من بكتيريا الادواردسيلا بيسيسيدا وكذلك تم تصميم خمسة أزواج من البرايمرات من أجل تفاعل البلمره التسلسلي لعمل الطفرات الخمسة.

ولتقييم الصفات المظهريه للطفرات المنشأه تم أولا قياس نموها ومقارنته بالسلاله البريه من بكتريا الادواردسيلا بيسيسيدا،وقد تبين أن النمو لم يتأثر بشكل كبير. وعند دراسه الصفات العامة للطفرات المنشأه والسلاله البريه ظهركلاهما كعصويات قصيره سلبيه الجرام وموجبه لتفاعل السيتوكروم أوكسيديز وسلبية للكاتاليز. هذا وقد أظهرت تفاعلات الإيه بي آي توينتي إي نفس الأنماط للطفرات المنشأه والسلاله البريه. وعند دراسة مقدرة الطفرات المنشأه والسلاله البريه علي تكوين بيوفيلم، تبين عدم مقدرة كليهما علي تكوين بيوفيلم خلال أول يومين من التحضين، أما في اليوم الثالث فكلاهما كان لديه القدره علي تكوين بيوفيلم. وبمقارنة قدرة الطفرات المنشأه والسلاله البريه علي تكسير كرات الدم الحمراء سجلت أقل قيمه للتكسيربعد ساعتين من التحضين بينما وصلت النسبه ل 100% بعد 6 ساعات من التحضين. وكانت هناك اختلافات ملحوظه فقط بعد 4 ساعات من التحضين مع الطفرتين *Ep*Δ*esaM* و *Ep*Δ*escT .* وعند استخراج البروتينات من الطفرات المنشأه والسلاله البريه ظهرت حزمه من البروتينات عند الوزن الجزيئي 150 كيلو دالتون في السلاله البريه و الطفرات*Ep*Δ*ssaV* و *Ep*Δ*yscR* و *Ep*Δ*esaS*. ولكنها كانت مفقوده في الطفرتين *p*Δ*escT* و *Ep*Δ*esaM.* و أظهرت السلاله البريه وجودا مهيمنا من بروتين الفلاجلين علي العكس من الطفرات المنشاه.

ولتقييم الطفرات المنشأه مقارنة بالسلاله البريه للادواردسيلا بيسيسيدا في أسماك قرموط القنوات الحيه ، تم تحديد الجرعه نصف المميته للسلاله البريه من بكتيريا الادواردسيلا بيسيسيدا ( 3.3 X 105 CFU/fish). كما تم أيضا تحديد فترة بقاء الطفرات المنشأه والسلاله البريه في الانسجه عن طريق حقن الاسماك بالطفرات المنشأه المضيئه والسلاله البريه المضيئه ثم تصويرها بعد 2,5 و 4 و6 و 12و24و 36 ساعه من الحقن. وكانت نسبة البقاء في الاسماك المحقونه بالطفرات المنشأه أقل بكثير من تلك التي حقنت بالسلاله البريه في نقطه زمنية واحدة على الأقل*. وبالإضافه لما سبق* تم قياس الاستجابة المناعية للأسماك بعد تعريضها للطفرات المنشأه والسلاله البريه من الادواردسيلا بيسيسيدا عن طريق الغمر بإستخدام إختبارالإليزا. وأظهرت الأسماك المعرضه للطفرات المنشأه مستوى أعلي من متوسط عيار الأجسام المضادة عن الاسماك التي عرضت للسلاله البريه من الادواردسيلا بيسيسيدا (32متوسط عيار الاجسام المضاده). أما في الاسماك المعرضه للطفره( *Ep*Δ*ssaV* )كانت النسبه(60متوسط عيارالاجسام المضاده) *والاسماك المعرضه للطفره (Ep*Δ*yscR* *)* *كانت* *النسبه* (50متوسط عيارالاجسام المضاده)*والاسماك المعرضه للطفره ((Ep*Δ*escT* *كانت النسبه* (44متوسط عيار الاجسام المضاده) *وأخيرا الاسماك المعرضه للطفره (Ep*Δ*esaM*  *)كانت النسبه* (36متوسط عيارالاجسام المضاده).

 *كذلك* أجريت تجربه لتقييم الضراوة عن طريق الحقن البريتوني للأسماك بجرعتين من الطفرات المنشأه والسلاله البريه. وكانت نسبة النفوق في ثلاث مجموعات من تلك التي تم حقنها بجرعات عاليه من الطفرات المنشأه الآتيه ((*Ep*Δ*ssaV, Ep*Δ*yscR* and *Ep*Δ*esaS* أقل من تلك التي سجلت في الاسماك التي تم حقنها بجرعه عاليه من السلاله البريه. وقد أظهرت الأسماك النافقه المحقونه بالسلاله البريه علامات التسمم الدموي.

ولتقييم كفاءة الطفرات المنشأه علي حماية الأسماك ضد الإداوردسيلوزس الذي تسببه الادواردسيلا بيسيسيدا تم تحصين الأسماك بالطفرات المنشأه عن طريق الغمر والحقن البريتوني. وقد أظهرت النتائج أن التحصين عن طريق الغمر يعطي مستوي منخفض للحمايه حيث كانت نسب الوفيات التراكميه للطفرات *Ep*Δ*ssaV, Ep*Δ*esaM , Ep*Δ*yscR, Ep*Δ*esaS* *Ep*Δ*escT* 74 و 615 و 63 و 80 و 70٪ على التوالي بينما كانت في المجموعات غير المحصنه 99٪. على العكس من ذلك، فإن الأسماك المحصنه بالطفرات المنشأه عن طريق الحقن البريتوني أظهرت نسب عاليه من الحمايه سواء بالجرعه العالية أوالمنخفضة حيث لم تحدث وفيات في مجموعات الاسماك التي تم حقنها بجرعات عاليه من الطفرات المنشأه (*Ep*Δ*esaM Ep*Δ*yscR*  و *Ep*Δ*escT* ).

وكطريقه أخري لحمايه أسماك قرموط القنوات من الإداوردسيلوزس الذي تسببه الادواردسيلا بيسيسيدا تم تحصين الأسماك بلقاح ESC-NDKL1 *الذي يستخدم لوقايه* أسماك قرموط القنوات من التسمم الدموي المعوي عن طريق الغمر لمده ساعه. وقد أظهرت النتائج أن الأسماك المحصنه بها نسبه عاليه من الأجسام المضاده المرتبطه بالعديد من *البروتينات الفعاله الموجوده في* الادواردسيلا بيسيسيدا .هذا بالإضافه لعدم نفوق الاسماك المحصنه عند حقنها ببكتريا الادواردسيلا بيسيسيدامقابل نفوق 40٪ من الأسماك الغير محصنه.