التأثير النسجي لبكتريا *Aeromonashydrophila* في كبد ذكور الفئران البيض

الاء سعدي عبود * محمد عبد الهادي غالي * كفاح احمد جاسم **

استلام البحث 1، نيسان، 2012
قبول النشر 2، تموز، 2012

الخلاصة :

تم جمع 200 عينة خروج ومن فئات عمرية مختلفة تراوحت ما دون الخمس سنوات الى 40 سنة من مستشـــــفيات بغداد (م .العلوية للاطفال، م . الكندي التعليمي ، م . حماية الاطفال ، م . بغداد التعليمي) وللمدة من شهر ايلول 2009 الى شهر ايـــار 2010.واعتمـــــادا على طريقة العزل والفحوصات المختبرية التشخيصية تم تشخيص بكتريـــا *Aeromonashydrophila* بحسب طريقة نمـــوها على الاوساط الزرعيـــة مثل وسط MacConkey agar ، وسط Blood agar ووســـط Thiosulfate Citrate Bile salt Sucrose (TCBS) . وتم اجـراء فحص الحســــاسيـة للمضـاد التفريـقــي التشخيصي O129 وكانت مقـاومة له وكذلك التشـخيص بالاختبارات الكيميائية الاحيائية . كما اجريت الفحوص التوكيــــدية بنظام Api20E . إذ تم تشخيص 10 عزلات بكتيرية تعود لبكتريا *Aeromonashydrophila* وبنسبة عزل 5% للبالغين والاطفال ، وأجريت مقايـــسة الحالة الدموية (Hemolysin assay) لاختيار العزلة المنــاسبة للدراسة اذ أظـهرت العزلة (2) اعلى فعاليــــة لانزيم الهيمولايسن وكانت 640 وحدة/ مليلتير بأستعمال الـدم البشــــري.

وتم تحديد الجرعة نصف المميتة (LD50) باستعمال التجريع الفموي والتي كانت 10^{10}خلية جرثومية / فأر عند تجريعها فمويا ودراسة تأثيرها في الكبد اذ تم استـعمال 28 ذكرا" من الفئران المختبرية بعمر (8-6) اسابيع وبوزن 20-25 غم ، تم تقسيمها الى اربع مجاميع كل مجموعة حاوية على7 فأر وجرعت ب 0.2 مل لمدة عشرة ايام اذ سجلت النتائج تغيرات نسجية مرضية في الكبد حيث بينت نتائج التجربة بعد مدة 10 يوم ظهور حالات الاحتقان الدموي (congestion) والنزف الدموي (hemorrhage) وحدوث تنكسات (degeneration) وتنخرات (necrosis) . وبينت النتائج انتشاربكتريا *Aeromonashydrophila* بصورة واسعة واصابتها الفئات العمرية كافة مؤدية الى تأثير سلبي في الكبد في الفئران البيض المختبرية .

الكلمات المفتاحية : *Aeromonashydrophila* ، مقايسة الحالة الدموية ، التأثير النسجي في الكبد .

المقدمة:

تعد بكتريا *Aeromonashydrophila* احد انواع عائلة Aeromonadaceaeبعد ان فصلت من عائلة Vibrionaceae لأختلاف الصفات الكيميائية الاحيائية وتهجين DNA واختزال الاحماض الامينية [1] . تتمايز بكونها عصوية او كروية الشكل ، سالبة لصبغة غرام ،لا هوائية اختياريا و لها القابلية على النمو بدرجات حرارة مختلفة تترواح مابين 4-42 م° وهي محللة للـــدم وغير مكونة للسبورات والمحفظة capsule ، وتلتصق بالخـلايا الظهارية للمـــضيف عن طريــق الاهداب الموجودة عليها [2] . توجد في المياه العذبه والمالحة اذ تعد البيئة المائية الموطن الطبيعي لها ولجراثيم اخ-رى مثل الكوليرا اذ تسبب حالات مرضية للانسان مثل الاسهال[3] ، و يتعدى تأثيرها الى حيوانات اخـــــرى مثل الاسماك مسببة تهديدا للثروة السمكية و خسائر اقتصادية كبيرة [4] ،تنتقل عن طريق تناول الطعام والشراب الملوثين بالبكتريا الى الانسان والحيوان مما تؤدي الى اصابته وكذلك تنتقل عن طريق فتحات الجروح للصيادين [5] . تم عزل هذه البكتريا من مياه الانهار والابار والصهاريج وكذلك المياه المعقمة بالكلور [6] وعزلت من مياه نهر دجلة في العراق [7] ومن الاغذية المعلبة والاطعمة البحرية [8]، ومن الحيوانات مثل الارانب والاسماك [9]ومن عينات المرضى المصابين بالاسهال [10] . واستعملت تقنيات مثل PCR للكشف عن الجينات المسؤولة عن الانزيمات او الذيفانات وتحليل جينوم البكتريا من خلال Agarose Electrophoresis Gelفضلا عن استعمال اجسام مضادة وحيدة النسيلة (Specific Monoclonal Antibodies) [11].وتعزى امراضية هذه البكتريا لما تمتلكه من عوامل ضراوة Virulance Factors التي تتضمن عوامل الالتصاق والانزيمات مثل البروتيز

* كليه العلوم للبنات
** مختبر الصحة المركزي

والانوليز والاوكسيدز وغيرها وكذلك الذيفانات وبروتينات الغشاء الخارجي ومتعدد السكريد الشحمي LPS والهيمولايسن والطبقة السطحية S Layar [12] وتسبب الكثير من الحالات المرضية مثل الاسهال واصابات الجروح واصابات الجهاز التنفسي والتهاب اغشية السحايا وانتنان وتجرثم الدم والتهاب البريتون والتهابات العظام وغيرها [13] . اذ تسبب تأثيرات مرضية في اعضاء ونسج الحيوانات مثل الفئران والجرذان والارانب [14] وانواع مختلفة من الاسماك [15] . اذ تسبب تغيرات نسجية تتروح من متوسطة الى شديدة. ويعد الكبد والطحال والرئة اكثر الاعضاء تأثرا بالبكتريا وسمومها [16] . وان هدف الدراسة الحالية هو التعرف على تأثير هذه البكتريا في الكبد.

المواد وطرائق العمل :

الاوساط الزرعية المستعملة: تم تحضير الاوساط المدرجة افي الاتي بحسب تعليمات الشركة المجهزة BDH- England والمثبتة على العبوة وعقمت بجهاز الموصدة تحت ضغط 1 جو و121 مْ لمدة 15 دقيقة وهذة الاوساط هي:- ماء الببتون القاعدي Alkaline peptone water ، اكار الماكونكي MacConkey Agar ، مرق مغذي Nutrient Broth ، الوسط المغذي الصلب Nutrient Agar ، اكار الدم الاساس Blood Agar Base ، مرق نقيع القلب و الدماغ Brain heart infution broth ، اكار T C B S (Thiosulfate Citrate Bile Sucrose) ، اكار مولر -هنتون Muller – Hinton Agar ، وسط سايمون سترات Simmon Citrate medium ، وسط المانتول شبه الصلب Semi solid Manitol ، اكار كليكلر الحديد Kligler Iron agar

جمع العينات : تم جمع 200 عينة اسهال من مستشفيات مختلفة في بغداد وهي (م .العلوية للاطفال، م . الكندي التعليمي ، م . حماية الاطفال ، م . بغداد التعليمي (مدينه الطب)). و من فئات عمرية مختلفة دون الخمس سنوات الى 40 سنة ، خلال المدة الزمنية من شهر ايلول (2009) حتى شهر ايار (2010) . وضعت العينات التي جرى جمعها في اوعية بلاستيكية معقمة وتركت في حاوية مبردة الى حين نقلها للمختبر ، ونشطت العينات على وسط Alkaline peptone water لمدة (4-6) ساعة, وخططت على الاوساط الزرعية التشخيصية الماكونكي واكار الدم وحضنت لمدة 24 ساعة بدرجة 37 م

المحاليل والمواد المستعملة : في الاختبارات التشخيصية والكيميائية الاحيائية واختبار الهيمولايسين والدراسة النسجية : كاشف الاوكسيدز Oxidase reagent حضر بحسب [17] وكاشف الكتليز حضر ومحلول ماكفرلاند القياسي بحسب[18] و مثبت الفورمالين Formalin Fixative حسب [19] ولاصق ماير[20]وصبغة الايوسن[21]وصبغة الهيماتوكسلين[22] و محلول داريء الفوسفات الملحي Phosphate Buffer Saline Solution (PBS)المستعمل للكشف عن الهيمو لايسين حضر بحسب [23] وعالق خلايا الدم الحمر للانسان.

المجاميع التجريبية Experimental Groups

استعمل 56 ذكرا" من الفئران وقسمت الى اربع مجاميع رئيسة وبواقع 14 فأرا" في كل مجموعة ، وتم تجريع الفئران فمويا بالبكتريا ولتخافيف مختلفة

- **المجموعة الاولى** :-جرعت فمويا بجرعة 0.2 مل من التخفيف 1.5×10^8
- **المجموعة الثانية** جرعت فمويا بجرعة 0.2 مل من التخفيف 10^6
- **المجموعة الثالثة** جرعت فمويا بجرعة 0.2 مل من التخفيف 10^4
- **المجموعة الرابعة** عدت هذه المجموعة حيوانات سيطرة Control جرع كل منها 0.2 مل من المحلول الفسلجي . واستمرت عملية التجريع للتخافيف المذكورة مدة 10 ايام متتالية وتضمنت التضحية بالحيوانات واختتمت بتشريح الحيوانات وجمع النماذج المطلوبة لعضو الكبد.

حساب الجرعة المميتة النصفية استعملت (5) مجاميع بواقع (5) فئران لكل مجموعة وجرعت الفئران فمويا بالعالق البكتيري بواقع 0.2 مل لكل من التخافيف الآتية (10^{16},10^{10} , 10^{12} ,10^{14}, 10^8) فيما جرع افراد مجموعة السيطرة محلولا" فسلجيا" . وبعد مرور (7) ايام تم حساب عدد الفئران الحية والميتة نسبة الى العدد الكلي الذي تم تجريعه ، وحسبت الجرعة المميته النصفية لعدد الفئران باتباع طريقة [24].

تحضير اللقاح الجرثومي تمت تنمية العزلة البكتيرية المختارة على وسط نقيع الدماغ – القلب Brain heart infusion broth وحضنها لمدة 24 ساعة وزرعها على وسط اكار الدم blood agar وثم اخذ loop full واحدة من المزروع البكتيري ووضع في المحلول الملحي الفسلجي ومعادلته مع ما في انبوب ماكفرلاند القياسية إذ إن 0.5 من محتوى انبوب ماكفرلاند تعادل$\times 10^8$ 1.5وعلى اساس ذلك تم اجراء التخافيف الاخرى (10^6,10^4).

تحضير المقاطع النسجية :- حضرت المقاطع النسجية لعضو الكبد باستعمال طريقة شمع البرافين [25] . ثم التصوير المجهري .

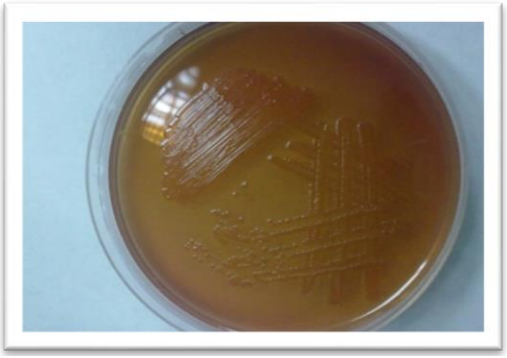
النتائج والمناقشة :

تم الحصـــول على 10 عزلات بكتـيرية من بكتريا *Aeromonashydrophila*من مجموع 200 عينة اسهال لفئات عمرية مختلفة و بنسبة عزل 5% وكما في جدول (1) :-

جدول (1) علاقة الفئات العمرية بعزل بكتريا *Aeromonashydrophila*

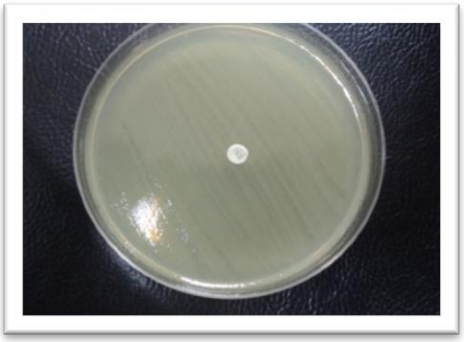
الفئات العمرية	عدد العينات	عدد العزلات	النسبة المئوية
5 سنوات فما دون	50	5	10%
5 - 10 سنة	40	1	2.5%
10 - 15سنة	30	لا يوجد	0%
15- 20 سنة	25	2	8%
20 - 25 سنة	20	لا يوجد	0%
25 - 30 سنة	15	1	6.6%
30 - 35 سنة	10	لايوجد	0%
35 - 40 سنة	10	1	10%
المجموع	**200**	**10**	**5%**

اظهرت النتـائج ان الاطـــفال هم الاكثـــر عرضـة للاصابة بحـــالات الاسهـال وتباينـــت عينات الاسهال من اسهال مائي الى اسهال دمـــوي مع مخاط . وبلغـــت عدد العزلات لبكـــتريا *Aeromonashydrophila* المعزولة من الاطفال 5 عـزلات من 50 عينة اسهال اي بنسبة 10% . و تعد هـــذه النسبـــة مقـاربة لما سجـل في استـــراليا [26] اذ عزلت من الاطفال المصابين بنسبة % 10.9. واعلى مما سجل في ايران اذ بلغت نســبة العزل من الاطفال 3.9% [27] وكذلك في جيبوتي اذ حصل نسبة3.3%. [28] . اما محليا فجاءت النسبة مقـاربة لما حصل عليه [29] والتي بلغت 11.5% فيما حصل [30] على نسبة عزل 4. 6 % من الاطفال ولم يستطع عزلها من البالغين . تم عزل بكتريا *Aeromonashydrophila* في هـــذه الدراسة من عينات خروج البالغين للفئات فوق سن 15 سنة . عزلت بكتـــريا *Aeromonashydrophila*من عينات الخروج لجميع الفئـــات العمرية و بنسبة 5% وهذه النتيـــجة جاءت مقاربة لما توصلت اليه [31] حيث وصلت نسـبة العزل الى 6.6% من حالات الاسهال في بغداد . اما السبب في تباين النسبة المئوية للعزل بين باحث وآخر في عينات الخروج المرضـية فيعود ذلك الى اختـــلاف وقت جمع العينة و الوعي الصحي والنظافة وكذلك تغير المواسم وانخفـــاض وارتفاع درجات الحرارة وحجم العينـــة المدروسة واختلاف الاعمار والموقع الجغرافي وكذلك اختلاف مصادر العزل . بعدها تم تشخيص البكتريا تشخيصا اوليـــا بعد زرعها على وســـط اكار الماكـونكي MacConkey agar ووسط اكار الدم blood agar و اكـــار TCBS اذ تظهر مستعمرات بكتريا *Aeromonashydrophila*على وســـط الماكونكي شـــاحبة صغيـــرة وغير مخمرة لسكر اللاكتوزكما في شكل (1) ، أما على وسط اكار الدم فتـــظهر المستـــعمرات كبيرة الحجم رصاصـية اللون تحيط بها هالة شفـــافة كبيرة كاملة التحـــلل β- hemoysis (شكل 2)، في حين تظهر على وسط TCBS بشكل مستعـــمرات صغيرة جدا صفـراء باهتة دلالة على تخمر سكر السكروز (شكل 3)وبهذا تكون بكتريا *Aeromonashydrophila* مشابهة لبكتريا الكوليرا *Vibriocholera*. ولتميز العزلات عن الجنس الاخير اجري لها اختبار الحســاسـية لقـرص التشـخيص والتفريق 150mg/ml(O129) اذ تظهر بكتريا *Aeromonashydrophila* مقاومتها لهذا العامل في حين تظهر الكوليرا حساسية لها شكل (4)

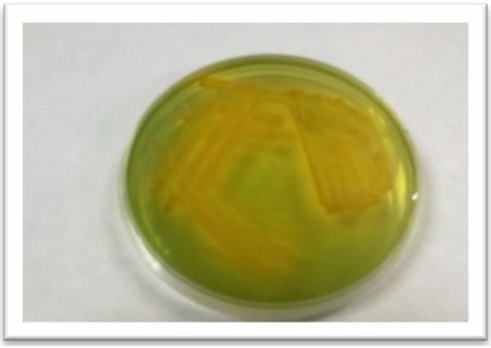


شكل (1) نمو البكتريا على اكار الماكونكي

شكل (2) نمو البكتريا على اكار الدم



شكل (3) نمو البكتريا على اكار TCBS



شكل (4) مقاومة البكتريا للقرص التفريقي 0129

ثم اجري لها الاختبارات الكيميائية الاحيائية وكما موضح بالجدول

التسلسل	الاختبار	النتيجة
1	اختبار انزيم الاوكسيدز Oxidase test	+
2	اختبار انزيم الكاتليز Catalase test	+
3	اختبارالاندول Indol test	+
4	اختبار انزيم اليوريز Urease test	-
5	أختبار استهلاك السترات Citrate test	-
6	اختبار الحركة Motility test	متحركة
7	اختبار Kliglar iron agar test	A*/k No Gas No H2S

ووصولا لنوع البكتريا ولغرض اجراء الفحوص التوكيدية تم اجراء التشخيص بعدة Api20E اذ اظهرت النتائج ايجابياتها وسلبياتها للاختبارات الكيميائية الاحيائية (Api20 E) كما في الشكل (5)

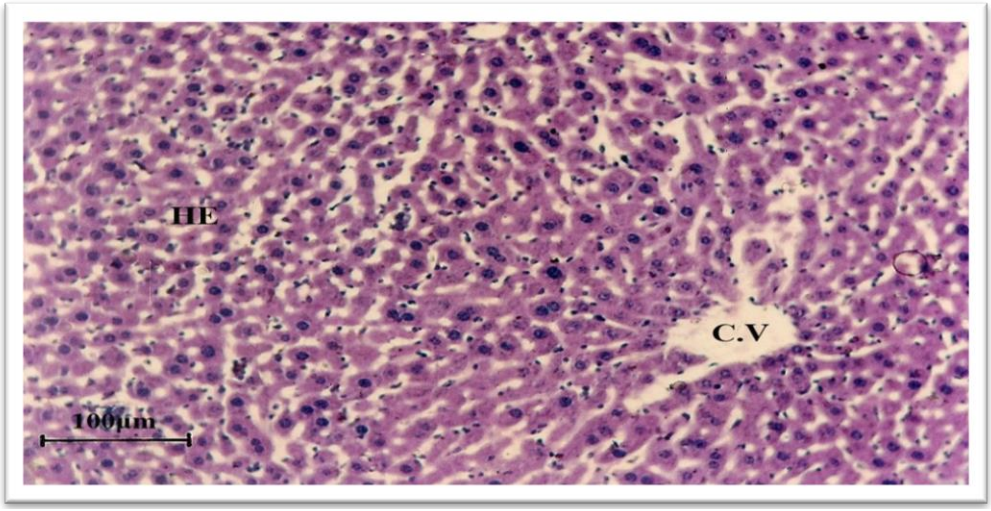
شكل (5) الاختبارات الكيميائية الاحيائية للبكتريا Api 20 E

اختبرت قابلية العزلات المحلية للـ *Aeromonashydrophila*على انتاج الهيمولايسين من خلال زرعها على وسط أكار الدم ، اذ أظهرت النتائج قدرتها جميعا" على إظهار مناطق تحلل تحيط بالمستعمرة البكتيرية النامية والتي تشير الى الفعالية الانزيمية لهذه العزلات. يكمن تأثير الهيمولايسين في قدرته على تحليل الأغشية لكريات الدم الحمر وتحطيمها وتحرير الهيموكلوبين منها الذي يعد أحد مصادر الحديد والذي تحتاجه البكتريا في النمو والتكاثر. يفرز الهيمولايسين في الطوراللوغارتمي ويتحلل في طورالثبات اعتمادا" على نتائج تحلل أكار الدم من عزلات الـ *A. hydrophila*تم اجراء طريقة مقايسة الحالة الدموية (Hemolysin assay) باستعمال الدم البشري. التي أظهرت ان أعلى فعالية لانزيم الهيمولايسين كانت 640 وحدة/ مليلتر عند استعمال الدم البشري (شكل 6) وهذه الفعالية في قيمة الهيمولايسين يمكن ان تعود الى نوعية خلايا الدم الحمر المستعملةلاجراء مقايسة الحالة الدموية التي تختلف فيما بينها من ناحية عدد وحجم وشكل الخلايا ومحتواها من الهيموغلوبين (Hb) ومقدار الـ PCV [32].

شكل (6) اختبار الهيمولايسن

التغيرات النسجية في الكبد

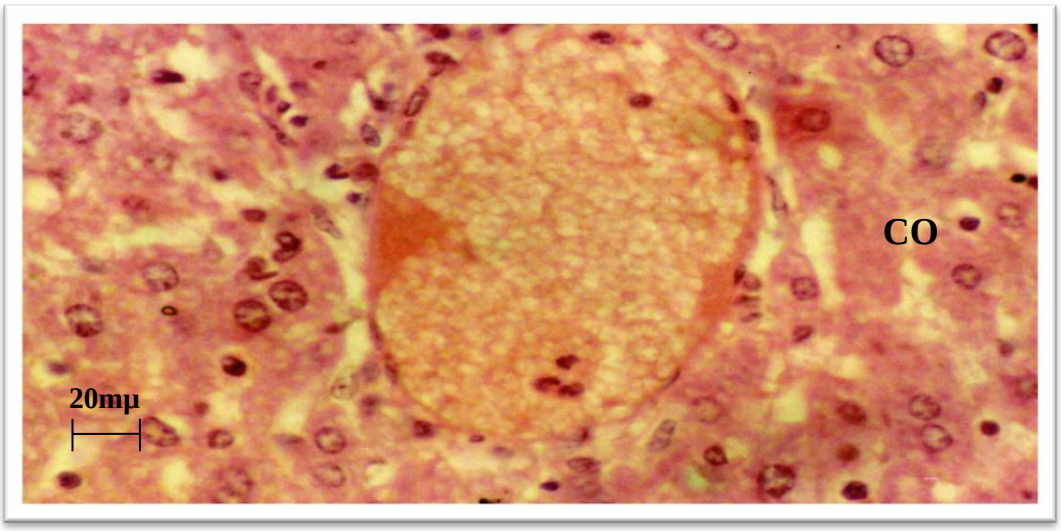
بين الفحص المجهري للدراسة الحالية أن نسيج الكبد مؤلف من فصيصات Lobules . يتألف الفصيص من وريد مركزي Central vein (CV) يحتل مركز الفصيص وتمتد منه حبال كبدية Hepatic cordsمتكونة من صفين من الخلايا الكبدية(HE) Hepatocytes والتي تترتب بشكل شعاعي حول الوريد . تحصر بينها أوعية دموية شعرية تدعى بالجيبانيات الدموية Sinusoids كما موضح بالشكل (7)



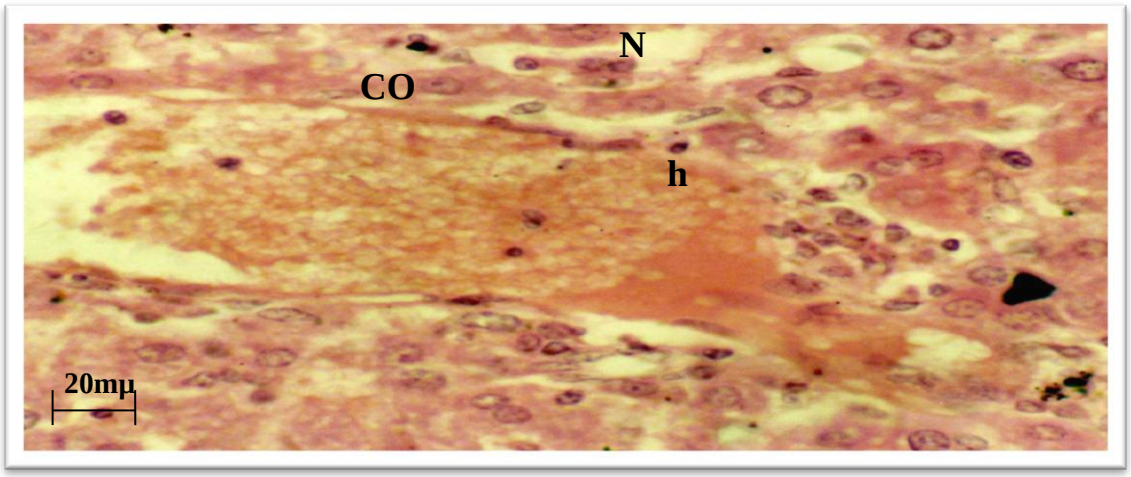
شكل (7) مقطع نسيجي يوضح الشكل الطبيعي للكبد

التغيرات النسجية المرضية في الكبد

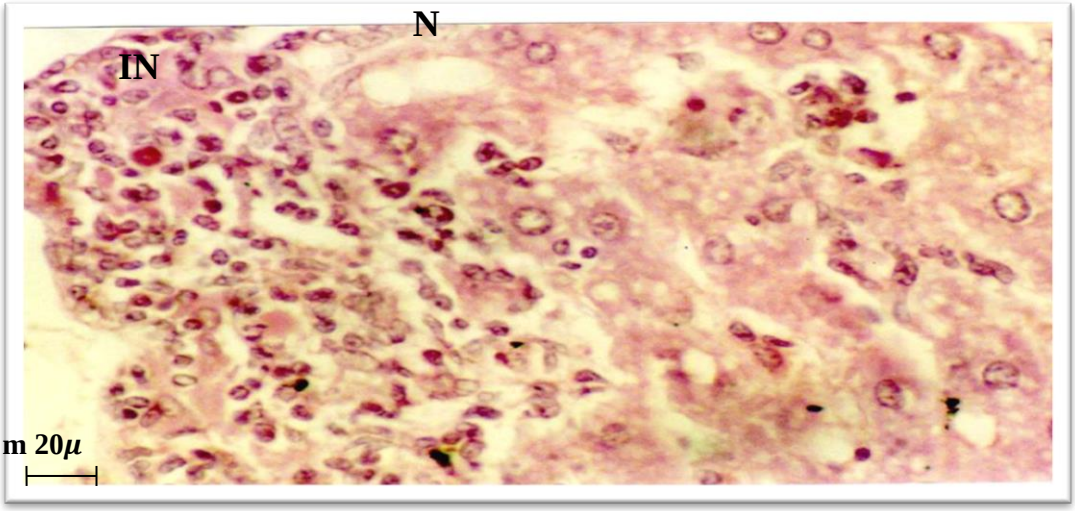
أظهرت نتائج الفحص المجهري للمقاطع النسجية للكبد في الفئران المعاملة بالتركيز 10^4 خلية جرثومية / فأر حصول احتقان دموي كما في الشكل (8) ، اما التركيز المخفف 10^6خلية جرثومية / فأر فقد تسبب في نزف دموي واحتقان وكذلك حدوث تنخرات كما في الشكل (9) . وأدى التركيز المخفف 10^8خلية جرثومية / فأر الى حدوث تنخر في الخلايا الكبدية وكذلك تنكس فضلا عن وجود ارتشاح الخلايا الالتهابية (IN) Infiltrationكما في الشكل (10).



شكل (8)مقطع يبين حصول احتقان دموي حاد (CO) في الكبد عند تجريع الفئران بالتركيز المخفف 10^4 خلية جرثومية / فأر لمدة 10 يوم (صبغة H&E)



شكل (9)حدوث نزف دموي hemorrhage (h) وكذلك احتقان دموي (co) وتنخر(N) في الكبد عند تجريع الفئران بالتركيز المخفف 10^6خلية جرثومية / فأر لمدة 10 يوم (صبغة H&E)



شكل (10) حدوث تنكس خلوي Degenaration (D) وتنخر خلوي (N) وكذلك ارتشاح الخلايا الالتهابية احادية النوى (IN) في الكبد عند تجريع الفئران بالتركيز المخفف 10^8خلية جرثومية / فأر لمدة 10يوم (صبغة H&E)

وتتفق نتائج دراستنا مع ما توصلت له [33] من حصول النزف الدموي (hemorrhag) واحتقان دموي في الاوردة المركزية (congestion) الذي يحدث نتيجة التأثيرات المستمرة لنقص الاوكسجين ، وقد اشار [34] الى ان عضو الكبد هو اكثر الاعضاء تأثرا ببكتريا *Aeromonashydrophila* وكذلك الرئة . وتتفق النتائج التي تم الحصول عليها مع ما توصلت اليه [35]من حصول تنخرات وتنكسات في الكبد , واكد [36] ان حدوث تنخر في خلايا الكبد الذي يؤدي الى حدوث فرط التنسج (hyperplasia) والضخامة (hypertrophy) استجابة تعوضية اذا تكبر الخلايا وتصبح متعددة النوى فضلا عن حدوث انتفاخ (swelling) في خلايا الكبد و حدوث تنخرات قد يعود الى امتلاك البكتريا عوامل الضراوة وخاصة السموم البكترية التي تؤدي الى انتفاخ خلايا الكبد وحدوث ضرر بأنسجة الكبد واضعاف فعالية وظائفه . وان حدوث التنخر في الكبد قد يرجع الى ما تفرزه البكتريا من سموم وانزيمات خارج خلوية ، وقد اشار ايضاالى ان حـــــــــدوث الاصابة في الكـــــــبد تؤدي الى زيادة افراز انزيمات الكبد alanine (ALAT) ، (ASAT) aspartate aminotransferase نتيجة التغيرات في نفاذية اغشية الخلايا خلال الاصابة . وقد يرجع ذلك الى حدوث التنخر والتنكس و ارتشاح الخلايا التي ترتبط مع حدوث زيادة في افراز انزيمات الكبد.وان الحقن بالسم الداخلي فقط بعد استخلاصه يؤدي الى تغيرات نسجية في الكبد مما يؤثرفي وظيفته من خلال تحطم النسيج الوعائي الكبدي كما ان حقن انزيم البروتيز ايضا بعد استخلاصه يؤدي الى تأثيرات على كبد الفئران تتمثل بالتوزيع العشوائي للخـلايا

الكبدية حول الاوعية الدموية ، وفقدانها الشكل السداسي المركزي وارتشاح سايتوبلازم الخلايا الكبدية [37]

المصادر :

1- Jawetz ,Melnic .J . L and Adelbergs. E .G .F .Carrol , K . C .Butel , J . Morse , S . A .2007 . Medical Microbiology .24ed . MC- Graw hill .New York . Ch:18 p :273.

2- Murray , P . R . Baron , E . and Faller , M .A . 2000 Manual of Clinical microbiology . 7thed . USA . ch 32 PP:507-516.

3- Nester , E . W . Anderson , D . G . Roberts , C . E . and Nester , M . T . 2007 . Microbiology . A Human Perspective . fifth edition . Ch :10 . p 252-254 .

4- اللوزي ، نوري . 2005 . دراسة حول امراض الاسماك في الوطن العربي . الباب الخامس الامراض المشتركة بين الانسان والاسماك . المنظمة العربية للتنمية الزراعية . 166 -167 .

5- Rahim , Z . Khan , S . I . and Chopra , A . K . 2004 . Biological Characterization of Aeromonas SPP Isolated from Environment . Epidemio and Inf J . 132(4): 627-636 .

6-Bhowmik , P .Bag , P .K . Hajra , T .K . Rituparna.D .Sarkar, P. andRamamurthy , T . 2009 Pathogenic Potential of *Aeromonashydrophila* isolated from surface waters in Kolkota . Indiain . J. Med Microbial . 58: 1549-1558.

7- عجيل , هشام صادق علي . 2008 دراسة تأثير مستخلص النمو الخام لبكتريا *Aeromonashydrophila* في خطوط خلايا سرطانية وطبيعية . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة الكوفة .

8- Koca , C . and Sarimenmeto , B . 2009 . Isolation and Identification of motile Aeromonas SPP in turkey meat . AnkaraUnvi Vet FakDerg . 56 : 95-98

9- Jiravanichpaisal, P . Roos , S . Easman ,L . Liu , H .and Soderhall , K .2009.Ahighly Virulent pathogen *Aeromonashydrophila* from fresh water Cray fish PacifastacusLeniusclus .J.Invertebr . pathol . 101(1):56-66 .

10-Aslani, M . M. and Hamzeh , H .S . 2004. Characterization and Distribution of virulence factors in *Aeromonashydrophila* strain isolated from fecal samples of Diarrheal and asypotmatic healthy persons in Ilam ,Iran . Iranian Biomedical J.8(4):199- 203 .

11- Mailafia , S . and Nok , A . J . 2010. Comparisim of DNA restriction patterns of *Aeromonashydrophila* isolated from human by Agarose Gel Electerophoresis (AGE) . ASIAN .J .EXP .BIOL . 1(1) : 80-83 .

12-Sha , J . Erora , T . E . Alyea , R . Wang , Sh . Olano , J . P . Pancholi , V . and Chopra , A . K . 2009 . Surface – Expressed EnolaseContribtes to the Pathogenicity of Clinical isolate of *Aeromonashydrophila* . J.Bacteriol . 191(9):3095-3107.

13-Sabashumar , R . Thayumanara , T . Vivekananadhan ,G .N . and Lakshmanaperumakay , P.2006 Occurrence of *Aeromonashydrophila* in acute gasteroenterioitis among children . Indaien J Med Res . 123 :61-66 .

14- Abdel Gwad , A. M . and Abdel Rahman , A.A . 2004 isolation and significance of *Aeromonashydrophila* group infarmed rabbit at assiut governorate. ASSUniv. Bull Environ . Res. 7(1): 85-93.

15-Adanir , D . O . R . and Turutogle , H . 2007 . Isolation and Antibiotic Susceptibility of *Aeromonashydrophila* in a Carp (Cyprinmcarpio) Hatchery Farm . Bull Vet InstPulawy . 51 : 361-364 .

16- Belal , S . K .N . Hassan , N . and Mansour , A .2009Histopathological and Studies for Evaluation of *Aeromonashydrophila* – inducedPulmonary Structural Changes with Emphasis on the Possible Protective Effect of Inositol Hexaphosphate . Advan. Biol. Res.3(5-6):222-230 .

17- Merker , R . I . 1998 . Media and Reagent in FDA Bacteriological Analytical Manual 8th ed . Revision , A . U . S . Food and Durg Administration , Center for food Safety & Applied Nutrition . Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International. Washington , U.S.A .

18- Benson , H . J . 2002 . Microbiological application :Laboratory manual in general microbiology , 8th ed . McGraw – Hill Co ., Inc ., NewYork

19- الحاج ، حميد احمد . 1998 . التحضيرات المجهرية الضوئية (التقانات المجهرية) الاسس النظرية والتطبقية . الطبعة الاولى . مركز الكتب الاردني . عمان– الاردن

20- Moussa , T . A . ; EL-Asser , A . B . and AL-Banhawy , M . A . (1984) . Principle of Histochemistry . DARA AL-Maaref . Cario 17 .

21-- Kiernan , J . A .1999 . Histological and Histochemical Methods , Theory and Practice . 3rd ed . Butter Worth –Heinermann . Oxford , PP:114 .

22- Luna , H . and Lee , G . 1968 . Manual of histologic stainig methods the armed forces institute of pathology . 3rd ed . The blakistondivition McGraw-Hill . New York .

23- Cruickshank, R. ; Duguid, J. P.; Marmion , B. P. and Swain, R. H. A. 1975. Medical Microbiology. 12th ed. Vol. 2. Churchill living stone. Edinburgh.

24- Reed , L . J . and Muench , H 1983 . Asimple method of estimating fifty percent and point . AMJ . HYg 27: 493-497 .

25-Bancroft, J.D . and Steven , A .1982. Theory and practices of histological technique .2nd ed .Churchill Livingstone .London ., pp:662.

26- Freitas, A.C.; Souza, S.M.S.; Maceto, L.C.; Pinto, E.G. and Pereira, S.S.1998. Aeromonas species associated with gasteroenteritis in children :Prevalence, Characteristics and virulence properties. Rev. Microbiol. 29:152-157.

27-Aslani , M . M . and Alikhani , M . Y . 2004 . The Role of *Aeromonashydrophila* in Diarrhea . Iranian J.Publ Health . 33 (3) : 54-59 .

28- Mikhail ,I. ; Fox .;Haberger ,R. ; Ahmed ,M. and Abbate ,E .1990. . Epidemiology of bacterial pathogens .Associated with infections diarrhea in Djibouti . J .Clin .Microbiol .28 :956 -961 .

29- الطائي , محمد ابراهيم نادر . 2005 دراسة كيموحيوية لانزيم البروتيز المنتج من العزلة المحلية لبكتريا Aeromonashydrophila . اطروحة دكتوراه . كلية العلوم . جامعة بغداد .

30- ابراهيم ، رواء خليل .2002. دراسة بعض عوامل الضراوة لبكتريا Aeromonashydrophila المعزولة من حالات مرضية .رساله ماجستير . كلية العلوم .جامعة بغداد .

31- المجمعي ، ايمان جواد كاظم .2002 دراسة بيئية وفسلجية لجرثومة Aeromonashydrophila ودور السم المعوي في امراضيتها . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة بغداد .

32- Ghenghesh , Kh . S . Ahmed , S . F . El – Khalek , S . R . Gendy , A .and Klena , J . 2008. Aeromonas –Associated in infection in Developing Counteris . J. Infected Developing Counteris. 2(2): 81-98 .

33- السعدي , حلى يونس فاضل 2002 دراسة التأثيرات المرضية لمتعدد السكريد الشحمي المستخلص من بكتريا

Aeromonashydrophila المعزولة من عينات سريرية محلية . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة بغداد.

34- Brenden , R . A . and Huizinga , H . W .1986 . Pathophysiology of Experimental *Aeromonashydrophila* infection in Mice . J Med Microbiol . 21 : 311-317 .

35-العكيدي , رنا سعدي عبود . 2002 دراسة بعض الصفات والتأثيرات المناعية للذيفان المعوي المعزول من بكتريا *Aeromonashydrophila*. رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة بغداد .

36 - Macsween , R . N . M . 1980 . Liver , Biliary tract and Exocrine pancreas In:Anderson , J .R . (ED) .Muirs textbook of Pathology .11th ed .Edward Arnold (publishers) . Ltd. London.pp661-722.

37-الطائي , محمد ابراهيم نادر . 2005 دراسة كيموحيوية لانزيم البروتيز المنتج من العزلة المحلية لبكتريا *Aeromonashydrophila*. اطروحة دكتوراه . كلية العلوم . جامعة بغداد

The Histological Effect of *Aeromonashydrophila* on liver of male albino mice

Alaa Sadie Abbood*Mohammed Abdel –HadiGali*
Kefah Ahmad Jassim**

*College of Sciences for Women
** Central Public Health Laboratory

Abstract:

Two hundred of stool samples from different age groups(less than 5 to 40 years) were collected from Al-Elwea , Al-Kendy , Children welfare and Baghdad Teaching hospital from September 2009 to May 2010 . Using the isolation methods & diagnostic laboratory tests, *Aeromonashydrophila* was isolated according to the growth on MacConkey , blood &TCBS agar . The sensitivity test for diagnostic antibiotic O129 was done , also by biochemical test using api20E . The percentage of isolation for *Aeromonashydrophila* was 5% for all patients . The hemolysin assay was also done to select the proper isolate for the study . The isolate 2 showed high activity for hemolysin at its 640 unit/ ml by using human blood . The LD50 was detected and found it was 10^{10} bacterium / mouse when orally administrated in this study using 28 male of albino mice age 6-8 weeks and weight 20-25 g were divided into 4 group (7 mice / groups and were orally administrated with 0.2 ml of inoculums 10^4 , 10^6 , 10^8 bacterium / mouse) for 10 days . These results show pathological changes in liver after 10 days . The changes include congestion ,hemorrhage , degeneration & necrosis . Tha bacteria *Aeromonashydrophila* had a wide spread & can infect all age groups & it had a negative effect on liver