



## التغيرات النسجية الناتجة من حقن بكتريا *P.aeruginosa* وإنزيم البروتيز الخام والمنقى جزئياً في الفئران البيض

وفاء طالع رديف\* أمين سلمان بدوي\*\* ظافر فخري الراوي\*

جامعة الانبار - كلية التربية للعلوم الصرفة

جامعة تكريت - كلية الزراعة

### الخلاصة:

درست التأثيرات المرضية النسيجية للعالق البكتيري لبكتريا *P.aeruginosa* وإنزيم البروتيز الخام والمنقى جزئياً في عضوين هما الكبد والكلى للفئران المحقونة وبواقع 0.1 و 0.05 µl b.w، فأظهرت النتائج أن العالق البكتيري وإنزيم البروتيز الخام والمنقى جزئياً أحدثت تغيرات مرضية نسيجية في كل من أنسجة الكبد والكلى، حيث اظهرت المقاطع النسيجية في الكبد بحدوث تغيرات متباينة منها سمك في الوريد المركزي central vein، واحتقان في الاوعية الدموية blood vessels congestion وارتشاح الخلايا احادية النواة mononucleotide cells infiltration، وتتكس فجوي vacuolated degeneration فضلاً عن وجود بؤر نخرية متعددة، بينما أظهرت المقاطع النسيجية للكلى حدوث نزف دموي، سمك جدار الأوعية الدموية، وتكسر في النبيبات وتواجد الألياف وقد نستنتج من الدراسة الحالية بان العالق البكتيري ذو تأثير مرضي اشد من الإنزيم الخام بينما كان تأثير الإنزيم المنقى اقل من الإنزيم الخام.

### معلومات البحث:

تاريخ التسليم: 2017/02/14

تاريخ القبول: 2017/03/14

تاريخ النشر: 29 /10 /2017

DOI: 10.37652/juaps.2016.132601

### الكلمات المفتاحية:

التغيرات النسيجية،

*P.aeruginosa*،

إنزيم البروتيز،

الفئران البيض.

### المقدمة:

الأشخاص المصابين بالسرطان والأشخاص الذين يعانون من أمراض نقص المناعة والمصابين بالايذ (2)، كما تسبب أمراض التهاب الشغاف، إصابات الجهاز العصبي المركزي، إصابات المفاصل والعظام، التهاب المجاري البولية، التهابات الأذن الوسطى والخارجية المزمن، التهاب المجاري التنفسية السفلي، والتهاب الجهاز الهضمي وذات الرئة، فضلاً عن إصابات الأنسجة الرخوة والجلد ومنها التهاب الجلد وتقيح الجلد(3).

تمتلك الـ *P.aeruginosa* العديد من عوامل الضراوة التي تسهم في أمراضيتها منها مقاومتها للبلعمة بسبب امتلاكها للكبسولة وتأثيرها في مناعة الجسم، والمادة المخاطية، والشعيرات التي تعد من عوامل الالتصاق، كما تمتلك مادة الالجيبيت alginit وطبقة متعدد السكريد والعديد من الصبغات التي تنتشر في الوسط الزراعي (4)، وتعتمد قدرتها

تتميز بكتريا *P.aeruginosa* بكونها عصيات سالبة لصبغة كرام موجبة لفحص الاوكسيداز Oxidase والكاتاليز Catalase، متحركة وذلك لامتلاكها لسوط قطبي واحد، هوائية مجبرة (1)، عزلت من التربة، والمياه، وجلد الإنسان والحيوانات وسطح النباتات، وتتميز هذه البكتريا ببساطة احتياجاتها الزرعوية، إذ من الممكن ان نجدها في المحاليل والمعقمات والأملاح. تسبب بكتريا *P.aeruginosa* أمراضا عديدة منها التهاب الجروح inflammation of wounds، والتهاب الحروق inflammation of burns والتهابات العين لا سيما للأشخاص الذين يرتدون عدسات لاصقة والتهابات الجلد وتجرحم الدم وتسبب أمراضا عند

\* Corresponding author at University of Anbar - College of Education for Pure Sciences  
E-mail address:

بسرعة 5000 دورة / دقيقة عند درجة حرارة 4 °م لمدة (15) دقيقة  
واعتبر راشح المزرعة إنزيمياً خاماً (7).

نقي الإنزيم جزئياً بإتباع عدة خطوات أولها الترسيب بكبريتات  
الامونيوم وينسب إشباع مختلفة ( 0-20)(20-40)(40-60)(60-80)  
% واختيرت نسبة الإشباع (40-60)% لتركيز الإنزيم بعدها خطوة  
كروماتوغرافيا التبادل الأيوني، ثم مرر المحلول الإنزيمي المركز من  
الخطوة السابقة على عمود ترشيح هلامي Sephadex-6B وأجري  
استرداده بوساطة محلول Tris-HCl الداريء (PH=8) وتم ملاحظة  
البروتين للجزء المجموعة بقياس الامتصاص لكل واحدة منها، ثم قيست  
الفعالية الإنزيمية، تم جمع الأجزاء الفعالة وقيس الحجم وقدرت فعاليتها  
وتركيز البروتين فيها، ثم اجري تركيزها وتوزيعها في أنابيب مناسبة ملائمة  
لهذا الغرض بواقع 1 مل للأنيوب الواحد ومن ثم تم حفظها بالتجميد  
لإجراء تجارب لاحقة.

#### قياس فعالية إنزيم البروتيز

استخدمت طريقة Casein hydrolysis method في قياس فعالية  
البروتين المحللة في الراشح (8)، اذ حضن 0.1 مل من المحلول  
الإنزيمي مع 0.9 مل من 1% Casein في درجة حرارة 30 °م لـ 30  
دقيقة، ثم أضيف 2 مل من 5% Trichloroacetic acid لانهاء  
التفاعل وبعد 30 دقيقة أجريت عملية نبذ المزروع بجهاز الـ  
centrifuge عند 5000 دورة / دقيقة لمدة (15) دقيقة ، وتم قياس الامتصاصية  
بالطول الموجي 280 نانوميتر بدرجة 4 م.

تعرف وحدة الفعالية للإنزيم بأنها كمية الإنزيم التي تعطي زيادة 0.001  
في الامتصاصية عند طول موجي (280) نانوميتر لكل دقيقة تحت  
الظروف القياسية، وقدرت الفعالية الإنزيمية اعتماداً على المعادلة الآتية :

$$\text{فعالية الإنزيم ( وحدة / مل )} =$$

$$\frac{\text{الامتصاص عند طول موجي (280) نانوميتر}}{\text{حجم المحلول الإنزيمي}}$$

$$x \text{ زمن التفاعل} \times 0.001$$

حجم المحلول الإنزيمي

تحضير العالق البكتيري

تم انقاء العزلة Wa1 والتي امتازت بانها ذات كفاءة عالية بكفاءتها  
في إنتاج إنزيم البروتيز بالمقارنة مع العزلات الأخرى وتم تمييزها على  
وسط اكار الجيلاتين لـ 24 ساعة وبدرجة 37 °م ثم حضرت منه التركيز

في غزو الأنسجة على إنتاجها للإنزيمات والذيفانات الخارج خلوية ومن  
هذه الإنزيمات هي البروتيز Protease الذي له دور كبير في  
أمراضيتها بسبب اختراقه حواجز الجسم وإتلافه خلايا النسيج، كما ويلعب  
دوراً هاماً في توافر العوامل الغذائية الأساسية للنمو لنمو البكتريا وبالتالي  
تمكينها من اختراق الأنسجة واستقرارها وصولاً إلى الإصابة الكاملة،  
ويمتلك هذا الإنزيم القدرة على تكسير البروتينات التركيبية مثل السكريات  
التركيبية، والكولاجين في الأنسجة (5).

ونظراً لتزايد أهمية بكتريا *P.aeruginosa* كبكتريا مرضية للإنسان  
في السنوات الأخيرة لذا هدفت هذه الدراسة معرفة أمراضية بكتريا  
*P.aeruginosa* وإنزيم البروتيز الخام والمنقى جزئياً المنتج من هذه  
البكتريا المعزولة من اخماج الجروح والحروق وعينات الإدرار وتحديد  
تأثيراتها المرضية النسجية لأعضاء الكلية والكبد للفئران البيض.

المواد وطرائق العمل :

#### عزل وتشخيص البكتريا

جمعت (145) عينة من حالات مرضية مختلفة والتي شملت (35)  
مسحة جروح و(47) مسحة حروق و (63) عينة من الإدرار من  
المستشفى التعليمي ومستشفى النسائية والأطفال في الرمادي، عزلت (85)  
عزلة ذات قابلية مختلفة على إنتاج إنزيم البروتيز، ثم انتخبت العزلة W1  
كونها الأغزر إنتاجاً للإنزيم، وأجريت التحليلات اللازمة لتشخيص البكتريا  
وحسب الطرق القياسية المتبعة لذلك، ولغرض تأكيد التشخيص استعمل  
جهاز الـ Vitek2 (6).

#### الكشف عن إنتاج إنزيم البروتيز واستخلاصه بشكل خام وتنقيته جزئياً

لقت الأطباق الزرع الحاوية على وسط اكار الجيلاتين بالعزلات  
البكتيرية، وتم التلقيح في مركز الطبق وبشكل دائري بقطر 1 سم، ثم  
حضنت الأطباق عند درجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة، ويعد ظهور  
المنطقة الشفافة حول النمو البكتيري دلالة على النتيجة الموجبة، ولغرض  
استخلاص الإنزيم الخاص لقت دوارق مخروطية سعة 250 ملتر حاوية  
على 100 ملتر من وسط الجيلاتين السائل، وحضنت الدوارق في  
حاضنة هزازة 150 رجة / دقيقة عند درجة حرارة 35 °م لمدة 48 ساعة،  
وبعد مدة الحضانة نبذ المزروع البكتيري بجهاز الطرد المركزي المبرد

جدول (1) اختبارات فسلجية وبابوكيميائية مستخدمة في وصف العزلة

*Pseudomonas aeruginosa* Wa1

النتيجة	نوع الاختبار	ت
+	إنتاج إنزيم اوكسيديز	1
-	صبغة كرام	2
+	إنتاج إنزيم الكاتاليز	3
+	استهلاك السترات	4
-	تحلل نشأ starch hydrolysis	5
+	إنتاج جيلاتينيز	6
-	إنتاج يوريز	7
-	إنتاج كيريتيد الهيدروجين	8
+	اختزال النترات	9
-	اختبار الاندول	10
+	اختبار الحركة	11
+	اختبار المشيل الاحمر	12
+	تحلل كريات الدم الاحمر	13

قابلية البكتريا على إنتاج إنزيم البروتيز:

تم التحري عن قابلية البكتريا على إنتاج الإنزيم على وسط اكار الجيلاتين إذ اختبرت أكفا العزلات البكتيرية التي أعطت أعلى قطر تحلل على الوسط الصلب وتضمنت 12 عزلة اذ تراوح قطر تحلل هذه العزلات بين 1.5 - 5.8 سم جدول (2)، وبالاستناد إلى قيم التحلل اختبرت العزلة Wa1 باكبر قطر تحلل مقداره 5.8 سم.

تم التحري عن قابلية البكتريا على إنتاج إنزيم البروتيز في وسط الجيلاتين السائل وقيست كمية البروتين باستعمال طريقة (10). وحساب الفعالية النوعية (وحدة / ملغم بروتين) للإنزيم، وأعطت العزلة البكتيرية W1 أعلى فعالية إنزيمية وكانت 100.3 وحدة / ملتر وبفعالية نوعية 771.53 وحدة / ملغم بروتين أي إنها أكثر قابلية لإنتاج الإنزيم.

جدول (2) أقطار تحلل البروتين (سم) عند زرع العزلات على وسط

الجلاتين ذي الرقم الهيدروجيني 8.0 ودرجة حرارة 37 °م

ت	رمز العزلة	مصدر العزلة	قطر التحلل سم*
1	Wa1	جروح العمليات القيصرية	5.8
2	Wa2	الجروح	4.5
3	Wa3	الجروح	3
4	Wa4	الحروق	2.8
5	Wa5	الجروح	2.6
6	Wa6	الادرار	3.2
7	Wa7	الادرار	3.5
8	Wa8	الحروق	2
9	Wa9	الحروق	1.5
10	Wa10	الادرار	3
11	Wa11	الجروح	1.8
12	Wa12	الادرار	3.2

1.5 x 10<sup>8</sup> خلية / ملتر باستخدام داريء فوسفات ملحي وبالاعتماد على أنبوب ماكفرلاند القياسي وبقواقع 0.1 ملتر.

تربية وحقن الفئران

استعملت ذكور الفئران السويدية البيضاء السلالة *Mus musculus* بأعمار 8-10 أسابيع، تباينت أوزانها بين 20-25 غم وبعدد 18 فأرة، وقد تم متابعة النظافة لماء الشرب والعلف وعملية التعقيم اللاقفاص البلاستيكية التي وضعت فيها الفئران والاخذ بنظر الاعتبار الدورة الضوئية 12 ساعة في الضوء و 12 ساعة في الظلام.

قسمت الفئران إلى ست مجموعات باستخدام أقفاص مهيئة لهذا الغرض، وتحتوي كل مجموعة على ثلاثة فئران، تم حقن المجموعة الأولى وهي المجموعة السيطرة بداريء الفوسفات الملحي في منطقة البريتون intraperitonealy، المجموعة الثانية حقنت بالعالق البكتيري 0.1 µl، والمجموعتان الثالثة والرابعة حقنت بالإنزيم الخام بحجم 0.1 مل / لكل فأرة و 0.05 مل / لكل فأرة على التوالي، في حين حقنت المجموعتان الخامسة والسادسة بالإنزيم المنقى بشكل جزئية بحجم 0.1 مل / لكل فأرة و 0.05 مل / لكل فأرة على التوالي (Weijer et al., 2003).

قتلت الحيوانات بعد 7 ايام وشرحت لغرض الحصول على الاعضاء المدروسة ( الكبد - الكلية ) وثبتت بعد غسلها بوساطة المحلول الملحي الفسلجي، ثم حضرت منها مقاطع نسيجية مجهرية اعتمادا على الطريقة المذكورة في (9).

النتائج والمناقشة :

التشخيص المجهرى والمزرعي والكيموحيوي

بالاعتماد على الاختبارات المجهرية والبابوكيميائية والزربية، ووفقاً لما ذكر في المصادر (10) تبين أن البكتريا من النوع *P. aeruginosa*، إذ تميزت مستعمراتها بأشكالها الكبيرة الشاحبة غير المخمرة للاكتوز اثناء زراعتها على وسط ماكونكي، في الوقت الذي كانت فيه المستعمرات كبيرة ومسطحة ولونها كريمي ومركزها مرتفع في حالة زرعها على وسط اكار الدم، وأعطت العزلة مدى واسع من التحلل الدموي نوع (β) وكانت حافات المستعمرات غير منظمة تصدر منها رائحة فواكه متخمرة، وأجريت مجموعة من الاختبارات الكيموحيوية جدول ( 1 )، واستعمل جهاز Vitek 2 لغرض تأكيد التشخيص.

تنقية إنزيم البروتيز

التغيرات النسجية في الكبد والكلية :-

1- الكبد:

أوضحت الدراسة للمقاطع النسجية للكبد وجود تغيرات نسجية في المجاميع المحقونة ببكتريا *P.aeruginosa* المرضية والتي تضمنت سمك في الوريد المركزي central vein، احتقان الاوعية الدموية blood vessels congestion، ارتشاح خلايا احادية النواة mononucleotide cells infiltration، تنكس فجوي vacuolated degeneration مع وجود العديد من البؤر النخرية Necrotic spots شكل (2) مقارنة بالسيطرة (1).

من وظائف الكبد إزالة السمية ويسبب تجهيزه الدموي المزوج فهو معرض للكثير من التغيرات النسجية وتعتمد هذه التغيرات على عدة عوامل مهمة منها تغذية الخلايا الكبدية وكمية ونوعية السموم المفردة من البكتريا (11)، كما يعود سبب النزف الدموي (hemorrhage) بين الخلايا الكبدية والاحتقان الدموي في الاوعية الدموية (congestion) إلى استمرارية نقص الأوكسجين (12). أما وجود البؤر النخرية، وكذلك ارتشاح الخلايا احادية النواة فيشير الى وجود حالة تسمم كبدي hepato toxic قد يعود أيضا الى الاحتقان وفرط الدم الالتهابي ونقص الدم الوارد إلى الخلايا الكبدية، إن حالة تنخر الخلايا عادة يرتبط مع التهاب الكبد الحاد ويحدث كاستجابة للنخر الكبدي من خلال تحفيز على إفراز عوامل الجذب الكيمياوي chemotaxic لجذب الخلايا الالتهابية المتمثلة في البداية بالخلايا العدلة neutrophil ثم بعد ذلك الخلايا للمفاوية lymphocytes والبلعمية macrophages، وقد تنتج هذه التأثيرات نتيجة تداخل المواد المحقونة مع تصنيع البروتينات في الكبد (13). تتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسة قام بها (14) لغرض الكشف عن تأثير بكتريا *P.aeruginosa* في كبد الفئران البيض.

أوضحت النتائج للمجاميع الثانية والثالثة والتي تم حقنها (intraperitonealy) بإنزيم البروتيز الخام (crude enzyme) 0.05 مل/فارة شكل (3) و 0.1 مل / فارة شكل (4)، والمجاميع الرابعة والخامسة حقنت بالإنزيم المنقى (pure enzyme) 0.05 مل / فارة شكل (6) و 0.1 مل/ فارة شكل (5) عبر البريتون وجود سمك في الوريد المركزي central vein، واحتقان الاوعية الدموية blood vessels

نقي إنزيم البروتيز بخطوات عدة تضمنت الترسيب بكبريتات الامونيوم بنسب تشبع (40-60)، وبفاعلية النوعية (414.81) وحدة / ملغم بروتين، وبعدد مرات تنقية (0.54)، وبالحصيلة الإنزيمية (44.65) %، أعقبها استعمال خطوة كروماتوكرافيا التبادل الأيوني باستعمال DEAE-Cellulose حيث بلغت الفعالية النوعية للإنزيم المنقى من العزلة *P.aeruginosa* W1 (638.57) وحدة / ملغم بروتين ومرات تنقية (0.83) وبحصيلة إنزيمية (40.54) %، بعدها اجري الترشيح الهلامي باستعمال العمود Sephadex -6B وحصل فيه على فعالية نوعية مقدارها (1088.36) وحدة / ملغم بروتين وعدد مرات تنقية (1.41) وحصيلة إنزيمية (35.79) %، ويبين الجدول (3) خطوات تنقية الإنزيم.

جدول (3) تنقية إنزيم البروتيز من العزلة *Pseudomonas Wa1 aeruginosa*

الخطوة	إجم	فاعلية انزيمية وحدة / ملتر	ملغم / بروتين	فاعلية نوعية وحدة / ملغم	فاعلية كلية	مرات التنقية	الحصيلة (%)
الإنزيم الخام	150	100.3	0.13	771.53	15049.5	1	100
الامونيوم زرسب بكبريتات (60-40) %	40	168	0.41	414.81	6720	0.54	44.65
الايوني-DEAE Cellulose التبادل	35	174.33	0.27	638.57	6101.55	0.83	40.54
الترشيح الهلامي Sepharose 6B	30	179.58	0.165	1088.36	5387.5	1.41	35.79

من تغيرات مرضية نسيجية تدل على أن الإنزيم قد أحدث نخر نبيبي حاد acut tubular necrosis، حيث ان التغير المرضي هنا يبدأ بتغيرات بسيطة مسبباً تغيراً في الوضعية الفيزيائية لبروتينات الخلية في الخلايا ذات التخصص العالي من الخلايا الظهارية epithelial cell للنبيبات الكولية (Yang et al., 2002).

أن بكتريا *P.aeruginosa* وعوامل الضراوة التي تنتج منها خاصة إنزيم البروتيز تسبب تكسر الجدار الظهاري للنبيبات والتفاصيل الخلية الدقيقة وبشكل خاصة في النبيبات الملوية الدانية، وهذا ما أكدته الدراسة الحالية، وقد يكون للعوامل المذكورة اثر في تغيير مستوى الايونات في الدم، وكذلك الأوكسجين فينتج عنه حالة نقص الأوكسجين الواصل إلى الخلايا مما يؤدي الى احداث نخر تجلطي موضعي في النسيج، والذي يتحفز من خلال إتجاه عوامل النخر الورمي Tumer necrotic factors وافراز مواد كيميائية خاصة لاجتذاب الخلايا الالتهابية المتمثلة بالخلايا المفاوية والبلعمية وبذلك تكون سبب لالتهابات الكلية Nephritis، وهذا ما أوضحتها الدراسة الحالية من خلال التغيرات المرضية ووجود حالة سمية والتهاب الكلية والتأكد على ذلك أيضا بوجود حالة نزف شديد مما يدل على وجود تغيرات في الاوعية الخلية للنسيج من بزيادة النفوذية (5).

وتتوافق نتائج الدراسة الحالية مع (9) ، الذين لاحظوا الانسلاخ البطاني للنبيبات البولية للفئران التي حقنت ببكتريا *P.aeruginosa*، وتكسر قسم من النبيبات، وتكسر بعض الكبيبات، وارتشاح الخلايا الالتهابية.

#### المصادر:

1. 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.
2. الطردة، محمود محمد، الرطوط، أسامة خالد، عثمان، جمال محمد 'أبوديه، محمد. (2009)، أساسيات علم التحضير النسيجي، دار الثقافة، عمان. الأردن.

congestion، وارتشاح خلايا احادية النواة mononucleotide cells Degeneration and infiltration مع وجود حالات تخثر وتكسر Necrosis في الخلايا الكبدية وزادت شدة التغيرات في المجموعة الثانية مقارنة مع باقي المجاميع دلالة على أن الإنزيم الخام ذو تأثير سام على انسجة الكبد أكثر من الإنزيم المنقى وكان التركيز 0.1 مل / لكل فارة ذو تأثير أقوى من 0.05 مل / لكل فارة. تقوم بكتريا *P.aeruginosa* بافراز العديد من الإنزيمات الخارجية ومنها البروتيز و Exotoxin A اللذان يعتبران من العوامل ذات القدرة على تحطيم وتلف الأنسجة والموت عند ما يتم حقنها في الحيوانات المخبرية وتختلف هذه البروتينات اختلافا كبيرا من حيث السمية وهذا يتوقف على طريقة الحقن (15).

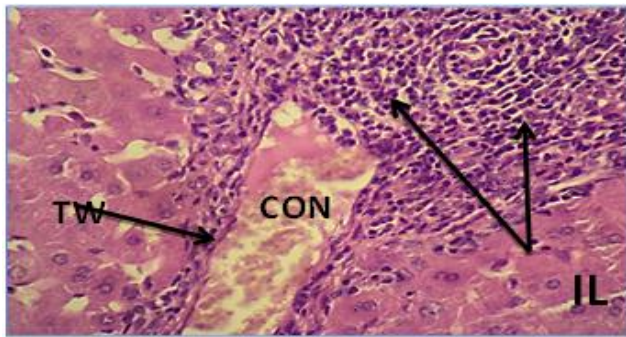
تشير الدراسات إلى أن البروتيازات proteases المنتجة من البكتريا تسبب تلف الأنسجة بدون الاعتماد على حيوية البكتريا أي إنها تسبب تلف الأنسجة بعد قتل البكتريا بالعلاج بوساطة المضادات الحيوية، لهذا يعتبر تثبيط فعالية إنزيمات البروتيز مفيد في حماية الأنسجة من الضرر المتوقع (16)، وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع النتائج التي حصل عليها (17)، كما ذكر (18) أن حقن إنزيم البروتيز بعد استخلاصه من البكتريا يؤدي الى تغيرات نسيجية في كبد الفئران البيض تتمثل بعدم انتظام ترتيب الخلايا الكبدية حول الأوعية الدموية وفقدانها النسق الخلوي وارتشاح سايتوبلازم الخلايا الكبدية وتحطيمها.

#### 2-الكلية

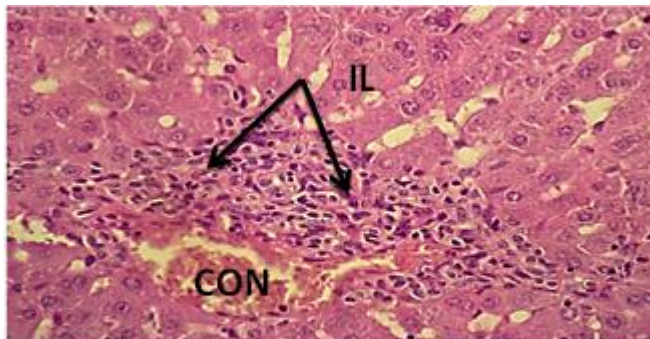
أوضحت نتائج الدراسة للمقاطع النسيجية للكلية وجود افات نسيجية والتي تضمنت حصول تكسر في النبيبات مع نزف دموي، وسك في جدار الأوعية الدموية، وتواجد الألياف الشكل ( 8 ) مقارنة مع السيطرة الشكل ( 7 ) وتتماثل هذه النتائج مع ما وصل إليه ( Rice et al., 2005 )، وأوضحت النتائج للمجاميع الثانية والثالثة والتي تم حقنها بإنزيم البروتيز الخام (crud enzyme) 0.05 مل/ لكل فارة الشكل (9) و 0.1 مل / لكل فارة الشكل ( 10 )، والمجاميع الرابعة والخامسة حقنت بإنزيم البروتيز المنقى (pure enzyme) 0.05 مل / لكل فارة الشكل ( 11 ) و 0.1 مل / لكل فارة الشكل ( 12 ) عبر البريتون ( intraperitonealy ) وجود تكسر في النبيبات البولية، ونزف دموي، وسك في جدار الأوعية الدموية مع وجود الألياف، مما لوحظ في الكلية

11. Max, R.A.; Mwangi C. and G.G. Bakari. (2014). The effect of crude root extract of *synadenium glaucescens* on selected bacteria infections in albino mice. *J. Med. Plants. Res.* 8(26): 915-923.
12. Rice, J.C.; Peng, T.; Spence, J.S.; Wang, H.; Goldblum, R.M. and Nowicki, B. J. (2005). Pylonephritic *E. coli* Expressing P Fimbriae Decrease Immune Response of the Mouse Kidney. *J. m. Soc. Nephrol.* 16:3583-3591.
13. Roelofs, K.; Bruijn, E. R. A. and Van Galen, G.P. (2006). Hyper active monitoring during motor – initiation in conversion paralysis : An event – related potential study. *biological physiological*, 71:316-325.
14. Sakta, J.; Shimokubo, T.; Tamura, K.; Nakamura, S.; Kangawa, K.; Matsuo, H. and Eto, T. (1993). Molecular cloning and biological activities of rat adrenomedullin, a hypotensive peptide. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 195, 921-927.
15. Schumann, J., Sabine A., Renate B., Michael L. and Gisa T. (1998). Acute Hepatotoxicity of *Pseudomonas aeruginosa* Exotoxin A in Mice Depends on T Cells and TNF. *J Immunol*; 161:5745-5754
16. Sewnath, M.E.; Olszyna, D.P.; Birjmohun, R.; ten Kate, F.J.; Gouma, D.J.; van Der and Poll, T. (2001). IL-10-deficient mice demonstrate multiple organ failure and increased mortality during *Escherichia coli* peritonitis despite an accelerated bacterial clearance. *J. Immunol.* 166:6323-31.
17. Traidej, M.; Caballero, A.R.; Marquart, M. E.; Thibodeaux, B.A. and O'Callaghan, R.J. (2003). Molecular analysis of *Pseudomonas aeruginosa* protease IV expressed in *Pseudomonas putida*. *Investigative Ophthalmology and Visual Science.* 44: 190-196.
3. الطائي، محمد إبراهيم نادر (2005). دراسة كيموحيوية لإنزيم البروتيز المنتج من العزلة المحلية لبكتريا *Aeromonashydrophila*. اطروحة دكتوراه. كلية العلوم. جامعة بغداد.
4. Barequet, I.S.; Ben Simon, G.J.; Safrin, M.; Ohman, D.E., and Kessler, E. ( 2004a ). *Pseudomonas aeruginosa* Las A protease in treatment of experimental Staphylococcal Keratitis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 48(5): 1681-1687.
5. Bradford M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein –dye binding. *Annu. Biochem.* 72:248-254.
6. Chopra, A. K. and Mathur, D. K. (1985). purification and characterization of heatstable protease from *Bacillus stearothermophilus* RM – 67. *J. Dairy sci.* 68 : 3202 – 3211.
7. Kenneth Todar University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. (2004). Todar's online Textbook of Bacteriology
8. Kumar, L., Sanjay C. and Kusum H. (2014). Zingerone Suppresses Liver Inflammation Induced by Antibiotic Mediated Endotoxemia through Down Regulating Hepatic mRNA Expression of Inflammatory Markers in *Pseudomonas aeruginosa* Peritonitis Mouse Model. *J. PloS.* 9(9):1-12.
9. Liu, L., W. A. Bassett, and T. Takahashi (1974). Isothermal compressions of a spinel phase of  $Co_2SiO_4$  and magnesian ilmenite, *J. Geophys. Res.*, 79, 1171-1174.
10. MacFaddin, J. F. (2000). *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria.* 3rd ed., P.78-825. The Williams & Wilkins Baltimore, USA.

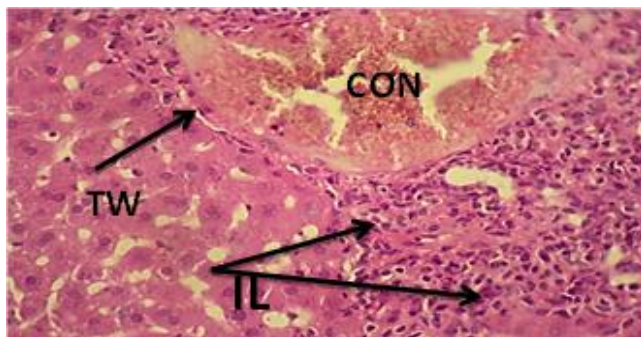




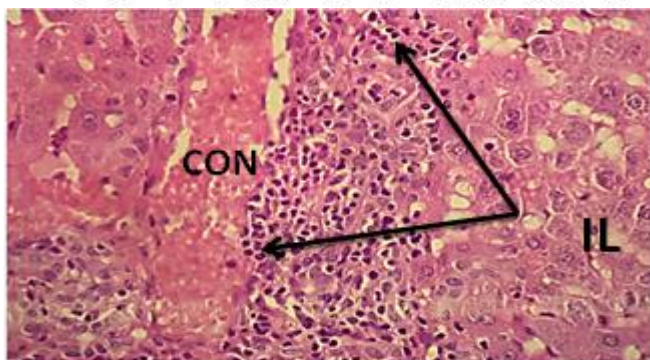
الشكل (2): كبد المجموعة المعقونة بالعناق البكتيري، تين سمك الوريد المركزي (TW) و وجود لتهقان دموي (COH) ولتهشاح لخلايا الكبدية (IL) #H&E X400



الشكل (3): كبد المجموعة المعقونة بالازيم خام (0.05) من إكل فارة تين الالتهقان الدموي (COH) في الوريد المركزي، ولتهشاح لخلايا الكبدية (IL) #H&E X400

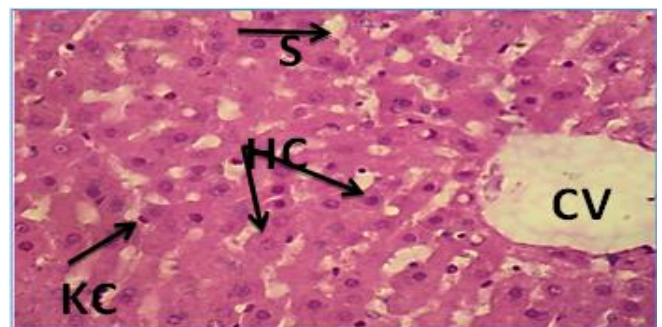


الشكل (4): كبد المجموعة المعقونة بالازيم الخام (0.1) من إكل فارة تين سمك جدار الوريد المركزي (TW) مع وجود لتهقان دموي (COH) ولتهشاح لخلايا الكبدية (IL) #H&E



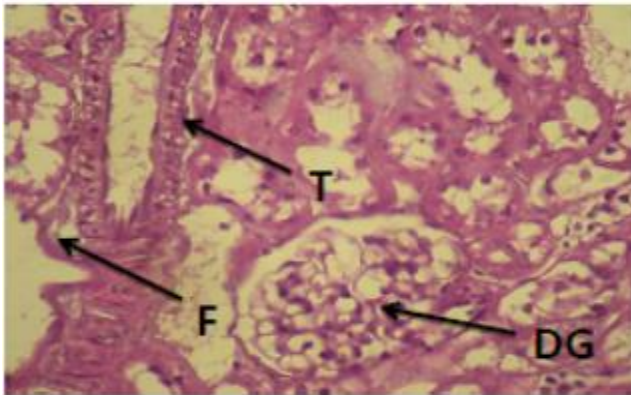
الشكل (5): كبد المجموعة المعقونة بالازيم مسقى (0.1) من إكل فارة تين لتهقان دموي (COH) في الوريد المركزي ولتهشاح لخلايا الكبدية #H&E X400

18. Tseng, C. C.; Wu, J. J.; Liu, H. L.; Sung, J. M. and Huang, J. J. (2002). Roles of host and bacterial virulence factors in the development of upper urinary tract infection caused by E.coli. Am. J. Kidney Dis. 39:744-752.
19. Weijer, S.; Sewnath, M.E.; DeVos, A.F.; Florquin, S.; Gouma, D. J. & Takeda, S. (2003) Interleukin -18 facilitates the early antimicrobial host response to E.coli peritonitis. Infect. Immun. 71:5488-5497.
20. Yang, J.; Shultz, R. W.; Mars, W. M.; Wegner, R.E.; Nejak, K. and Liu, Y. (2002). Disruption of tissue – type plasminogen activator gene in mice reduce renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. J. Clin. Invest. 110: 1525-1538
21. Yang, Y.; Sugimoto, J.D.; Halloran, M.E.; Basta, N.E.; Chao, D.L.; Matrajt, L.; Potter, G.; Kenah, E. and Longini, I. J. (2009). The transmissibility and control of pandemic influenza A. (H1N1) virus. Science express report, 1-6.

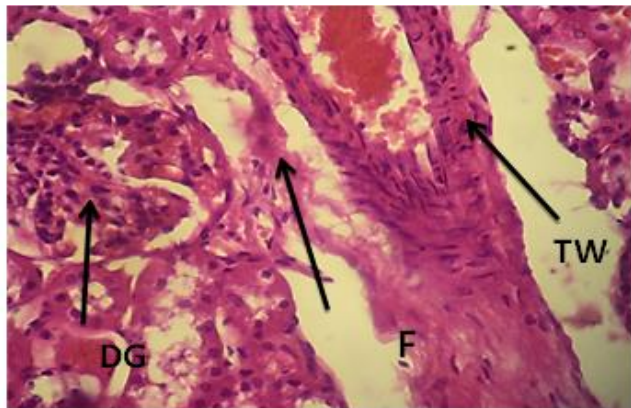


الشكل (1): كبد مجموعة السيطرة بين الوريد المركزي (CV) وخلايا الكبدية (HC) والجليكوجين (S) وخلايا كثر (KC) #H&E X400

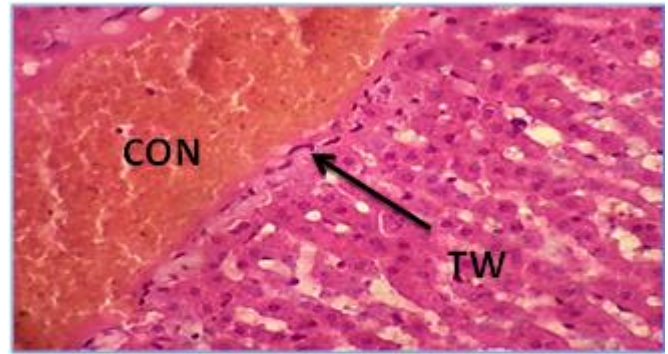




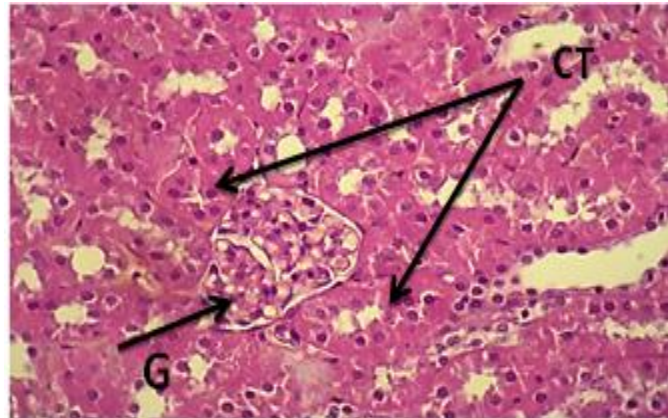
الشكل (9): كلبي المجموعة المسقونة بالانزيم الخام (0.05) مل / لكل فارة تبين تكسر الكبيبات (DG) مع سمك الاوعية الدموية (TW) ووجود الاليف (F) H&E X400



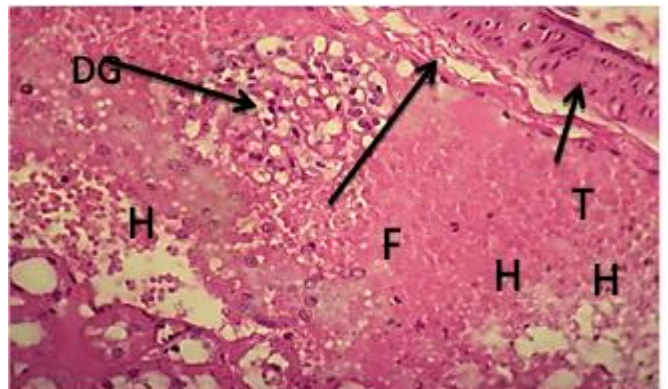
الشكل (10): كلبي المجموعة المسقونة بالانزيم الخام (0.1) مل لكل فارة تبين تكسر الكبيبات (DG) مع لثقل دموي (CON) وسمك جدار الاوعية الدموية (TW) مع وجود الاليف (F) H&E X400



الشكل (6): كبد المجموعة المسقونة بالانزيم مقلي (0.05) مل / لكل فارة تبين سمك جدار الوريد المركزي (TW) ووجود احتقان دموي (CON) H&E X400



الشكل (7): مقطع مستعرض كلبي مجموعة السيطرة توضح كل من الكبيبات (G) والنيبت للثوية (CT) H&E X400



الشكل (8): كلبي المجموعة المسقونة بالعلق البكتيري (0.1) مل تبين تكسر الكبيبات (DG) مع نزف دموي (H) وسمك جدار الاوعية الدموية (TW) مع وجود الاليف (F)



## **Histological Variation Resulting From The Injection Of Bacteria *P.Aeruginosa* And Crud Protease Enzyme And Partially Purified In White Mice**

**Wafaa T. Radef   Ammen S. Badwi   Dhafer F. Al-Rawi**

### **Abstract :**

Studied the effects Histopathological of stuck bacterial *P.aeruginosa* and enzyme protease crude and Partially purified in the liver and kidney of rats injected and by 0.1 and 0.05  $\mu$ l b.w, results Showed that bacterial Stuck and crude enzyme protease and partially purified caused variations satisfactory textile in each of the liver tissue, kidney Where Histological sections showed in the liver occurrence of variations differing including thickness in the central vein central vein, and vascular congestion blood vessels congestion and infiltration unilateral cell nucleus mononucleotide cells infiltration, and degeneration vacuolar vacuolated degeneration as well as the presence of foci of multiple necrotic, while the Histological sections of the college showed bleeding bloody, thickness of the wall of blood vessels, and break in the tubule and the presence of the fiber has been concluded from the current study that patients with stuck bacterial effect of most of the crude enzyme, while the effect of the enzyme purified less than a crude enzyme.