دراسة نسجية حول تأثير الأوزون في أسماك الكارب العادي *Cyprinus carpio* المخمجة عن طريق العالق الجرثومي *Aeromonas hydrophila*

عبدالمطلب جاسم الرديني وانعام بدر فالح وعبد الحسين كريم سلمان
فرع الامراض وامراض الدواجن ، كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد ، العراق
E-mail: alrudainy612003@yahoo.com
قبل للنشر في :2013/6/11

الخلاصة

هدفت التجربة الى دراسة تاثير الأوزون في أسماك الكارب المصابة بجرثومة *Aeromonas hydrophil* حيث استعمل الأوزون المذاب بثلاث تراكيز (0.25 و 0.50 و 0.75 ملغم / لتر) للمعاملات الأولى والثانية والثالثة على التوالي ومعاملة سيطرة غير معرضة الى الاوزون المذاب وبواقع مكررين لكل معاملة . وزرعت أسماك الكارب العادي *Cyprinus carpio* على ثمانية أحواض زجاجية بحجم 70 لتر للحوض الواحد بواقع عشرة أسماك لكل حوض. استحدثت الاصابة بالمرض عن طريق تلويث مياه التربية بالعالق الجرثومي من نوع البكتريا *Aeromonas hydrophila* بجرعة مقدارها 10^7 وحدة مكونة للمستعمرة / 10لتر من ماء الحوض. أوضحت الدراسة الحالية حصول تغيرات مرضية نسجيه مختلفة في اعضاء أسماك التجربة ، ولاسيما في التركيز 0.75 ملغم/لتر التي كانت أشد مقارنة مع التركيزين السابقين، وأظهر التركيز 0.50 ملغم /لتر نتائج معنوية في معالجة الإصابة مقارنة مع بقية التراكيز، بينما أوضحت التغيرات المرضية النسجية لكلى أسماك معاملة السيطرة بدون استعمال الأوزون وجود احتقان ونزف شديدين مع وجود الخزب مصحوب بارتشاح الخلايا الالتهابية فضلا عن حدوث التورم الغيمي للخلايا المبطنة لبعض النبيبات الكلوية .

الكلمات المفتاحية : الاوزون ،الكارب العادي ، العالق الجرثومي.

المقدمة

تعرضت المزارع السمكية في العراق في السنوات القليلة الماضية إلى الإصابة ببعض الأمراض البكتيرية ولاسيما مرض الانتان الدموي النزفيhemorrhagic bacteria septicemia وأنّ جميع الأعمار تكون معرضة للإصابة، وان الأسماك الصغيرة التي لا تتجاوز أعمارها السنة تكون أكثر حساسية للإصابة بالمرض ، وتحدث الإصابة عادة في نهاية فصل الشتاء وبداية فصل الربيع نظراً لانخفاض مناعة الأسماك من جراء نقص التغذية في فصل الشتاء وزيادة درجة حرارة الماء المفاجئة تؤدي دوراً مهماً في ظهور المرض (1). ويعد الإجهاد من العوامل الهيّئة للمرض ،الامر الذي أدّى إلى خسائر مادية كبيرة في الثروة السمكية ، وان استعمال المضادات الحيوية سيؤدي الى خلق اجيال جديدة من الجراثيم المرضية التي تمتلك المقاومة لعمل تلك المضادات وتأثيرها السلبي في جهاز المناعة ، مما يتطلب الأمر إيجاد معالجة فعالة لهذه الامراض بدون اعراض جانبية وبأقل كلفة، لهذا تم التوجه نحو استعمال التقانات الحديثة ومنها تقانة المعالجة بالأوزون وقد أشـــارت الدراسات الى إمكانيـــة استعماله في مجال الاستزراع السمكي (2). وإن هدف التجربة الحالية دراسة آفات مرض الانتان النزفي البكتيري الناتج من تلويث الماء ببكتريا *Aeromonas hydrophila* في أنسجة الأسماك المصابة والمعاملة ولاسيما الغلاصم والعضلات والكبد ، ومدى امكانية الأوزون المذاب في معالجة هذا المرض .

المواد وطرائق العمل

عزلت جرثومة *Aeromonas hydrophila* من أسماك مصابة بمرض الانتان الدموي البكتيري bacterial hemorrhagic septicemia في مختبر الاحياء المجهرية في كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد حيث عزلت من انسجة الكلى والكبد بعد تشريح الاسماك بطريقة معقمة وذلك حسب طريقة Lucky(3). واستعملت 80 سمكة كارب عادي *Cyprinus carpio* بمعدلات اوزان 125غم. قسمت المعاملات التجريبية الى اربع معاملات إذ استعمل الاوزون في المعاملة الثانية بتركيز0.25 ملغم / لتر والثالثة بتركيز 0.50 ملغم / لتر والرابعة بتركيز 0.75 ملغم / لتر، بينما اعتبرت المجموعة الاولى سيطرة غير معرضة الى الاوزون المذاب وبواقع مكررين لكل معاملة اثناء مدة التجربة التي استمرت ثلاثة اسابيع . تم احداث الاصابة البكتيرية بتخميج جميع اسماك التجربة *Aeromonas hydrophila* عن طريق تلويث مياه التربية بالعالق الجرثومي من البكتريا بجرعة مقدارها 10^7 وحدة مكونة للمستعمرة / 10لتر من ماء الحوض(4). سجلت التغيرات المرضية العيانية لأعضاء الغلاصم والعضلات والكبد واخذت عينات تلك الاعضاء وثبتت وصبغت تمهيدا للفحص النسجي (5).

النتائج والمناقشة

بدأ ظهور العلامات المرضية في اسماك معاملة السيطرة من اليوم الثامن إلى اليوم العاشر وتميزت بالخمول وكانت سباحتها قرب سطح الحوض، وكانت غير متوازنة تحاول سحب الهواء من فوق سطح الماء، وعدم تقبلها للعلف وببطءٍ في حركة الغطاء الغلصمي مع ظهور الآفات النزفية على بعض سطح الجسم كما لوحظ توسع البطن (صورة، 1) . بلغت نسبة البقاء في إثناء مدة التجربة 50 % وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره (6) الذي أشار إلى أنّ شدة المرض وعلاماته السريرية تعتمد على ضراوة البكتريا وطريقة دخولها الجسم فضلا عن نوع ومستوى الإجهاد والحالة الفسيولوجية للأسماك المخمجة . تميزت التغيرات المرضية العيانية لاسماك السيطرة باحتقان مع وجود بقع نزفيه في بعض الحالات في أنسجة الكلية وفي الكبد وشوهد احتقان مع تضخم بسيط وتغير لون الكبد إلى اللون البني المصـــــفر (صورة، 2) ، فضلا عن احتقان وتضخم الطحال مصحوب ببقع نزفية شوهدت على سطحه ولم تسجل أي تغيرات

مرضية عيانية في العضلات وهذه النتائج تتفق مع دراسة (7) التي سجلت تغيرات مرضية مشابهة لهذه التغيرات المرضية في أسماك الكارب العادي المخمجة تجريبيا ببكتريا *A.hydrophila* .في حين لم تلاحظ علامات سريرية مرضية واضحة وكذلك لم تشاهد تغيرات مرضية عيانية واضحة على الأعضاء الداخلية وفي المعاملات الثانية والثالثة والرابعة ، إذ أظهرت الأسماك الحالة السوية التي تجسدت بالحركة السريعة عند اقتراب الفاحص من الأحواض واقبالها على تناول العلف تناولاً طبيعاً. ومن الأهمية معرفة أنّ عملية تلوث المياه بالعالق الجرثومي قد استهلكت جزءاً من تركيز الأوزون المذاب في الماء للقضاء على الكائن المجهري المسبب للإصابة والباقي استهلك لتحفيز الجهاز المناعي وفعالياته البنائية لتجديد الخلايا المصابة وتسريع عملية الشفاء، ومن ثّمّ فأنّ تركيز الأوزون المستعمل في بدء المعاملة يختلف ويقل عما بدأ به ومن ثم فان الاستجابة لهذا التركيز سوف تختلف طبقا لذلك(8)، وقد جاء هذا منسجماً مع ما توصلت إليه الدراسة الحالية إذ ابدت الاسماك المعالجة القدرة بنسب متقاربة في البقاء على قيد الحياة والتغلب على المرض مقارنة مع معاملة السيطرة ، فقد بلغت نسبة البقاء في المعاملتين الثانية والرابعة في إثناء مدة التجربة 90 % ، في حين لم تسجل اي هلاكات في المعاملة الثالثة .

إنّ الأوزون المذاب لا يقوم بمعالجة المرض فحسب لكنه يعمل على مساعدة الجسم على التوازن واعادة نشاطه وفعالياته وتحفيز الآليات الدفاعية للجسم والتي تعمل مع الأوزون جنباً الى جنب مما يضاعف القوة العلاجية له (9). وقد اثبتت فعالية الاوزون في انحسار الاصابة وتسريع الشفاء لعدد من الحالات المرضية نتيجة الفعل الواسع للاوزون في ابادة عدد كبير من المسببات المرضية الجرثومية ومنع حدوث الاصابات الثانوية ، وعمله على زيادة مستوى غاز الاوكسجين في الأنسجة زيادة كبيرة وتسريع جريان الدم في الأنسجة المصابة والذي ينتج عنه زيادة المغذيات في منطقة الإصابة فضلا عن تعزيز طرح السموم البكتيرية وزيادة مستوى العوامل المناعية التي تزيد من مقاومة الجسم ومن ثّمّ يسرع من عملية الشفاء ، وهذه الآلية ربما توضح قلة ظهور العلامات المرضية وهذا يتفق مع (10) والذي أشار إلى أثر المعالجة بالأوزون في التصدي للامراض البكتيرية وتحجيم آثارها السلبية والتي كانت اقل وجوداً في مجموعة الماء الملوث بالعالق الجرثومي نتيجة الاثرالايجابي للاوزون المذاب في خفض الحمل الجرثومي في مثل هذه المياه وهذا يتفق مع ما توصل إليه (2) .

أوضح الفحص المجهري لغلاصم أسماك مجموعة السيطرة توصف الظهارة المبطنة للخيوط الغلصمية الثانوية مع احتقان الأوعية الشعرية فضلا عن ارتشاح الخلايا الالتهابية ولاسيما العدلات مع إمكانية مشاهدة المستعمرات الجرثومية Bacterial colonies (شكل،1)، في حين اتسمت التغيرات المرضية النسجية لأكباد الأسماك المصابة وغير المعاملة بتوسع الجيبانيات واحتقانها مع الارتشاح الشديد للخلايا وحيدة النواة في الجيبانيات ولاسيما خلايا البلاعم والخلايا اللمفية مع ضمور خلايا الكبد المجاورة (شكل،2) . وقد أوضحت التغيرات المرضية النسجية للكلى وجود احتقان ونزف شديدين مع وجود الخزب مصحوب بارتشاح الخلايا الالتهابية فضلا عن حدوث التورم الغيمي للخلايا المبطنة لبعض النبيبات الكلوية (شكل، 3).

صورة، 1 : سمكة مخمجة بجراثيم *A. hydrophila* عن طريق الماء الملوث بالعالق الجرثومي ،لاحظ توسع في منطقة البطن Ascitis.

صورة، 2: سمكة مخمجة بجراثيم *A. hydrophila* عن طريق الماء الملوث بالعالق الجرثومي ، احتقان مع تضخم بسيط وتغير لون الكبد الى اللون البني المصفر.

تميزت آفات الغلاصم النسجية لأسماك المعاملة الثانية (اوزون 0.25 ملغم/لتر) بوجود فرط تنسج وتضخم Hyperplasia and hypertrophy واضحين في الظهارة المبطنة للخيوط الثانوية مصحوب بانسلاخ وانفصال الخلايا المبطنة للبعض منها فضلاً عن توسع واحتقان الوريد الجيباني المركزي (شكل، 4)، اتسمت أفات الكبد النسجية في معاملات العالق الجرثومي بعدم انتظام فصيصات الكبد Disorganization hepatic lobule حيث ظهرت معظم الخلايا الكبدية متورمة ومنتفخة Balloning مع ارتشاح خلايا وحيدة النواة ولاسيما الخلايا اللمفية والبلاعم الكبيرة مع احتقان الأوعية الدموية (شكل، 5). اما التغيرات المرضية النسجية للكى فقد أظهرت ارتشاح شديد لخلايا وحيدة النواة ولاسيما خلايا البلازما والخلايا اللمفية وكذلك البلاعم في النسيج الخلالي مع حدوث التنكس الاستسقائي Hydropic degeneration في ظهارة النبيبات الكلوية (شكل، 6).

تميز الفحص النسجي لغلاصم المعاملة الثالثة (أوزون 0.50 ملغم/ لتر) بحدوث تغيرات تكاثرية لكلا الخلايا الظهارية والمخاطية المبطنة للخيوط الثانوية أدى الى أندماج عدد من الخيوط الغلصمية ، فضلاً عن حدوث التنبت ولاسيما في قمم الخيوط الغلصمية والتي ظهرت بنهايات مدورة ومتضخمة Hypertrophied rounded ends (شكل، 7) . تميزت مقاطع الكبد نسيجيا بارتشاح الخلايا

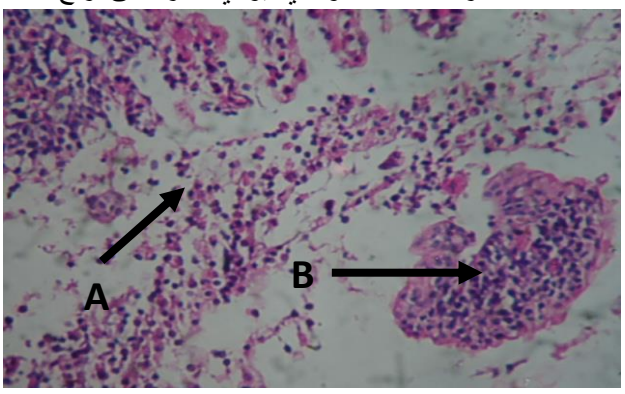
الالتهابية ولاسيما الخلايا اللمفية والبلاعم الكبيرة وهذا مصحوب بتجمع بؤري للبلاعم الميلانية محاط بنطاق ليفي كثيف Thick fibrous band وقد لوحظ أيضاً فرط تنسج للقنوات الصفراوية على الرغم من عدم وجود تغيرات مرضية مهمة في الخلايا الكبدية (شكل، 8) . في حين اتسم الفحص النسجي للكلى بفرط تنسج لمفي Lymphoid hyperplasia في نسيج مكون الدم مصحوب بتوسع النبيبات الكلوية والتي ظهرت بشكل، تراكيب كيسية الشكل، Cystic structures وامتلاء البعض منها بمواد متجانسة حمضية Acidophilic hemogenous substances كما لوحظ ارتشاح محفظة الكلى بخلايا وحيدة النواة مصحوب بحدوث التليف في البعض منها (شكل، 9).

كانت التغيرات المرضية النسجية للمعاملة الرابعة (اوزون 0.75 ملغم/ لتر) وكان تأثير هذا التركيز اشد مقارنة مع التركيزين السابقين، فقد اظهر الفحص النسجي للغلاصم فرط تنسج شديد للخيوط الغلصمية مصحوب بحدوث التضخم للبعض منها مما أدى الى حدوث اندماج صفائحي Lamellar Fusion مع ارتشاح خلايا وحيدة النواة في وحول الخيوط الغلصمية الثانوية (شكل، 10) . ولوحظ في الكبد وجود القُنيات الصفراوية المتوسعة وبهيئة تراكيب أسطوانية الشكل، مع ارتشاح عدد قليل لخلايا وحيدة النواة في الباحة البابية (شكل، 11) . وأظهرت التغيرات النسجية لكلى الاسماك ارتشاح خلوي شديد لنسيج الكلى الخلالي مع تنكس شديد في النبيبات الكلوية وتوسع البعض منها كذلك لوحظ تنخر في النبيبات الجامعة Collecting tubules وانسلاخ ظهارتها وتراكم الحطام الخلوي في تجويفها ، فضلاً عن ضمور بعض الكبيبات وانكماشها Shrunk and atrophid (شكل، 12) .

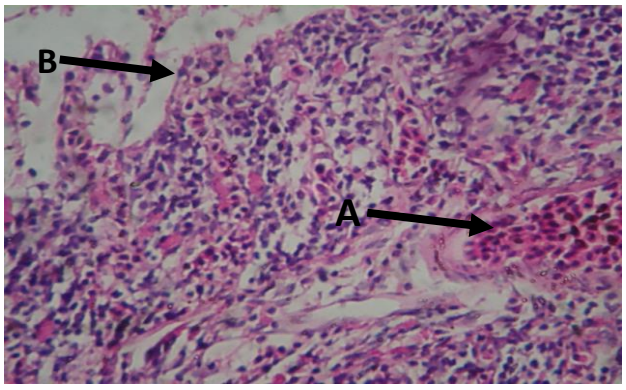
بينت الدراسة المرضية النسجية لأسماك معاملة السيطرة حدوث تغيرات تنكسية شديدة مصحوبة بآفات نخرية Necrotic lesions ولاسيما في الكبد والكلية مع ملاحظة احتقان وتوسع الأوعية الدموية والجيبانيات وحدوث النزف فضلا عن النخر وانفصال الظهارة في الخيوط الغلصمية الثانوية وتعزى هذه التغيرات المرضية الى امتلاك بكتريا *A.hydrophila* العديد من عوامل الضراوة مثل الذيفانات تؤثر تأثيراً مهماً في إحداث النضوح والنزف والتنكس الخلوي فضلا عن تنخر الأنسجة المصابة ، وهذه النتائج تتفق مع (11) الذي اشار الى الدور الفعال لهذه الذيفانات في امراضية البكتريا وإحداث آفات مرضية شديدة في الأعضاء المستهدفة . كما بينت الدراسة الحالية حدوث تغيرات وعائية مصحوبة بخزب ويعزى ذلك الى تأثير الذيفان الحال للدم Hemolysin الذي يزيد من نفاذية الأوعية الدموية ويؤدي إلى تحطم خلايا الدم الحمر وترسب خضاب الهيموسدرين في أنسجة الكلى والكبد وهذا يتفق مع ماتوصلت اليه (12) بعد إجراء الخمج التجريبي ببكتريا *A.hydrophila* في أسماك الكارب العادي ، وقد اشارت دراسة الباحثين (13) إلى أنّ التغيرات المرضية في أنسجة الكبد والكلى والغلاصم تعزى الى الضرر الخلوي الناجم عن غزو البكتريا لهذه الاعضاء تغيّر يسيراً Slight لكنها تتكاثر في هذه الأنسجة ، توافقت هذه النتائج مع الدراسة الحالية اذ شوهدت بعض المستعمرات الجرثومية في بعض المقاطع النسجية للأسماك المخمجة .كما أوضحت نتائج الدراسة الحالية الى أنّ تعرض الأسماك المخمجة بجراثيم *A.hydrophila* الى تراكيز مختلفة من الأوزون المذابة في الماء قد أحدثت تغيرات مرضية مختلفة تراوحت ما بين حدوث فرط تنسج ظهاري في الخيوط الغلصمية مع ارتشاح الخلايا اللمفية والبلاعم الكبيرة وكذلك البلاعم الميلانية ولاسيما في المعاملة الثالثة الى حدوث انسلاخ وانفصال ظهارة الخيوط الغلصمية الثانوية مع ارتشاح خلوي بؤري عند الانتقال إلى المعاملة الرابعة ، وذلك يعزى إلى التاثير الفعال للأوزون في الحد من شدة الخمج الجرثومي حيث يكون تاثيره في البكتريا قاتلا Bacteriocidal وينتج هذا التأثير بسبب قدرته على تحطيم غلاف الخلية البكترية (14).

بينت نتائج الفحص النسجي للدراسة الحالية حدوث فرط تنسج Hyberplasia في السطوح الظهارية للخيوط الغلصمية وتضخم الخلايا المبطنة للتفرعات الثانوية Secondary bronchioles فضلا عن فرط تنسج في خلايا الكلوريد chloride cells ، وظهور التنبت Clubbing shape في قمم الخيوط الغلصمية الثانوية ولاسيما في أسماك المعاملة الثالثة. إنّ التضخم الكمي الملحوظ واندماج الخيوط الغلصمية الثانوية محتمل يحدث عن طريق الزيادة في التهاب خلايا الخيوط الغلصمية والنضحة الالتهابية حيث وجد ان الأوزون يؤكسد الطبقة الدهنية التي تقع ضمن الغشاء السايتوبلازمي للخلايا الورمية ويحطمها بعملية التحلل الخلوي Cytolysis. ان فرط التنسج والتضخم بدا صفة مميزة في انسجة غلاصم اسماك المعاملة الرابعة وقد توافقت هذه النتيجة مع دراسة (15) التي أشارت إلى أنّ غلاصم الأسماك المعرضة لتراكيز عالية من الأوزون اظهرت غزارة في المخاط excess mucus وفرط التنسج hyperplasia وتوسع الاوعية الدموية aneurysms . وفي دراسة اخرى وجد ان التضخم في الخيوط الغلصمية الثانوية غالبا يشاهد في الاسماك المعرضة لمركبات كيميائية مختلفة في المياه والرواسب ،وأحيانا يؤدي هذا التضخم الى الاندماج الكامل في اثنين أو اكثر من الخيوط الغلصمية الثانوية المتجاورة . لقد تبين من نتائج الدراسة الحالية وجود بعض التغيرات التنكسية في أنسجة الغلاصم والكبد مصحوبة بانسلاخ ظهارة بعض النبيبات الكلوية وتراكم الحطام الخلوي بتجويفها وكان ذلك متفقا مع (16) الذي أشار الى حدوث بعض التفاعلات الالتهابية في انسجة الغلاصم من جراء التعرض للاجهاد بسبب الاتصال المباشر للانسجة الظهارية بالتلوث المائي ، وهذا ماأكدته دراسة (17) التي اشارت الى أنّ أغلب الخيوط الغلصمية للأسماك المعرضة إلى المركبات الكيميائية المختلفة اظهرت التورم الالتهابي على هيئة التنبت Clubbing في العديد من الخيوط الثانوية مع الاحتقان في جيبانيات الغلاصم ، وخلصت الدراسة إلى أنّ التعرض المزمن لمثل هذه المركبات الكيميائية قد تسبب في تورم وانتفاخ الخلايا نحو قواعد الخيوط الثانوية. بينت نتائج الدراسة الحالية وجود تغيرات تكاثرية وفرط تنسج Hyperplastic and proliferative changes مع توسع وتكاثر قنوات الصفراء في انسجة الكبد وفرط تنسج ظهارتها فضلاً عن فرط تنسج لمفي في جهاز مكون الدم في أنسجة الكلى والطحال مصحوب بتجمع البلاعم الميلانية والخلايا

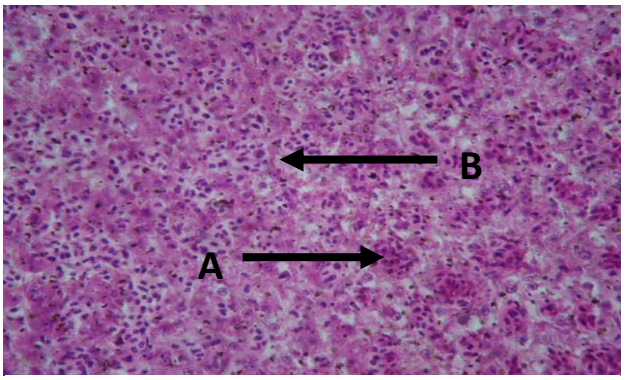
اللمفية في أنسجة الكبد والكلى لاسيما في المعاملة الثالثة ويعزى ذلك الى كون الأوزون يسبب زيادة في إنتاج الطاقة المتمثلة بالمركب ATP والذي يؤدي بأثره الى رفع معدل الايض البنائي للجسم مما يسرع من عملية شفاء الجسم وتجديد الخلايا التالفة او المتضررة فيه (18).



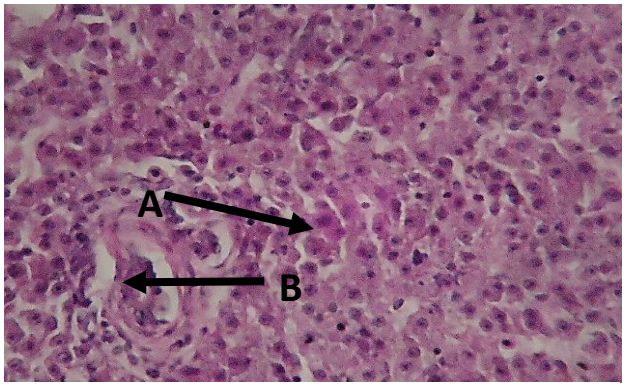
شكل،1: مقطع نسجي لغلاصم سمكة السيطرةA يوضح ارتشاح الخلايا الالتهابية لاسيما العدلات مع توسف الظهارة المبطنة لبعض الخيوط الغلصمية الثانوية B مشاهدة المستعمرات الجرثومية (H & E 20x).



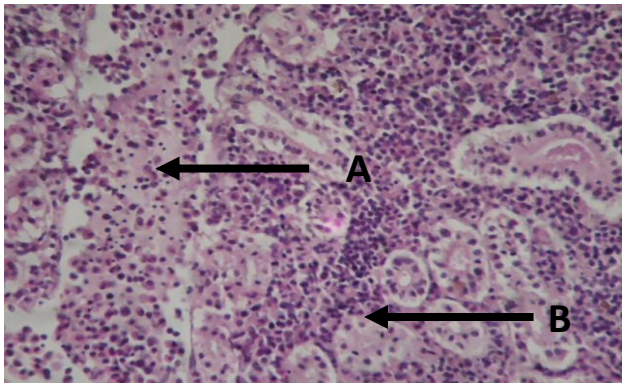
شكل،4: مقطع نسجي لغلاصم سمكة المعاملة الثانية A يوضح توسع واحتقان الوريد المركزي الجيباني مع وجود الخزب B فرط تنسج للظهارة المبطنة للخيوط الغلصمية الثانوية (H & E 40x) .



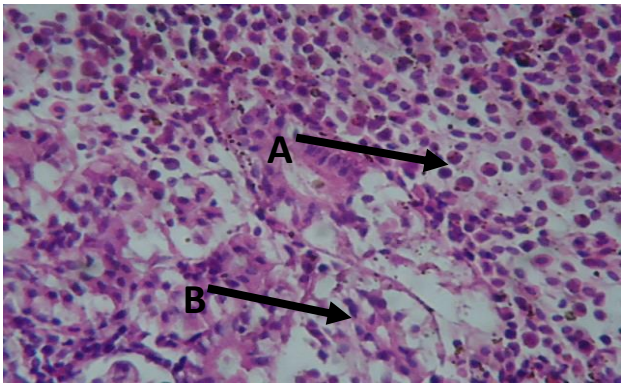
شكل،2: مقطع نسجي لكبد سمكة السيطرة A يوضح توسع الجيبانيات واحتقانها B ارتشاح الخلايا اللمفية في بعض الجيبانيات (H & E 20x) .



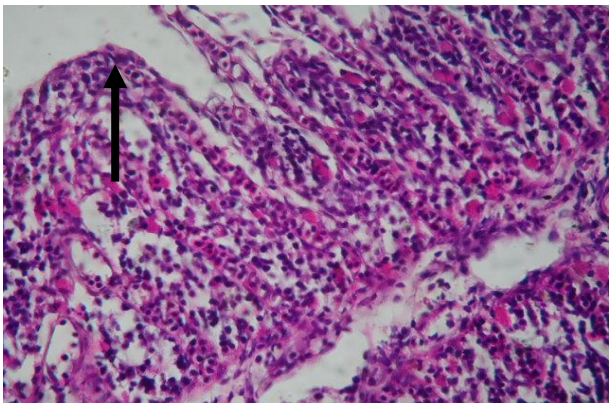
شكل،5: مقطع نسجي لكبد سمكة المعاملة الثانية A يوضح تورم وانتفاخ الخلايا الكبدية B ارتشاح خلايا وحيدة النواة واحتقان الاوعية الشعرية (H & E 40x).



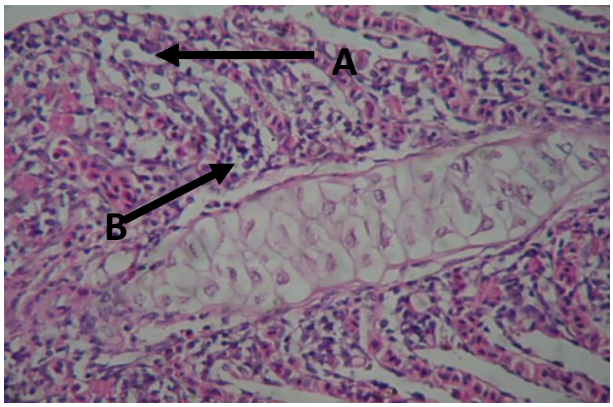
شكل،3: مقطع نسجي لكلية سمكة السيطرة A يوضح احتقان ونزف شديد لمتن الكلية B حدوث التورم الغيمي لبطانة بعض النبيبات الكلوية (H & E 20x).



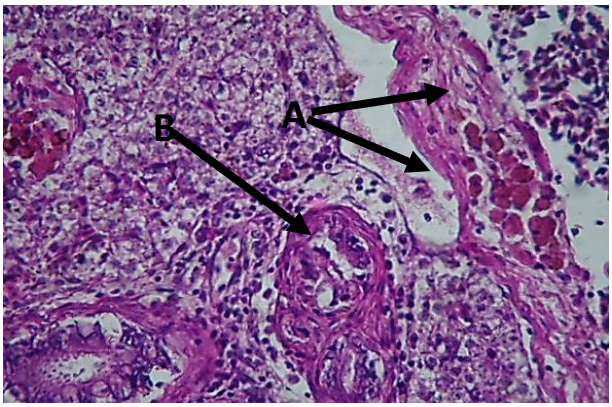
شكل،6: مقطع نسجي لكلية سمكة المعاملة الثانية A يوضح ارتشاح شديد لخلايا وحيدة النواة B تنكس استسقائي لبطانة النبيبات الكلوية (H & E 40x).



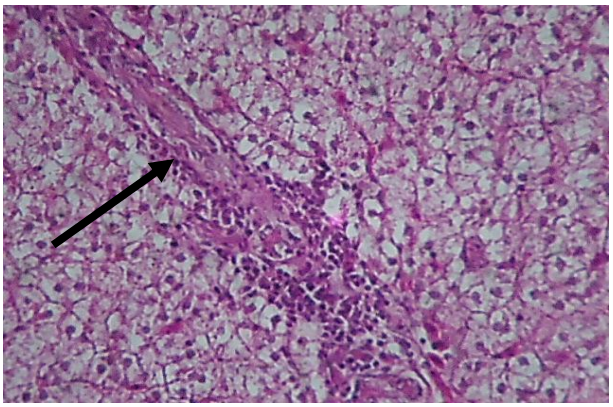
شكل،7: مقطع نسجي لغلاصم سمكة المعاملة الثالثة يوضح تغيرات تكاثرية في ظهارة الخيوط الغلصمية الثانوية مصحوبة باندماج لبعض الخيوط الغلصمية (H & E 40x).



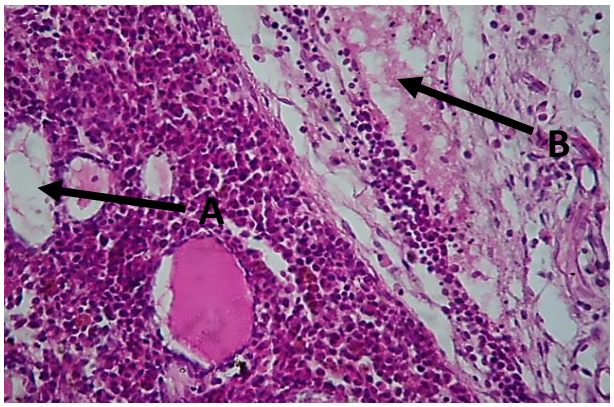
شكل،10: مقطع نسجي لغلاصم سمكة المعاملة الرابعة A يوضح اندماج صفائحي للخيوط الغلصمية جراء فرط تنسج شديد B ارتشاح خلايا وحيدة النواة (H & E 40x).



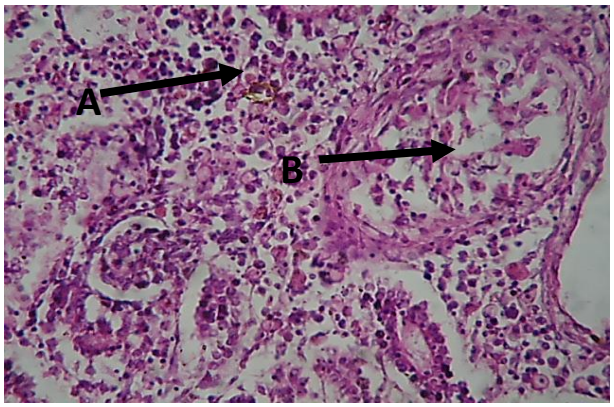
شكل،8: مقطع نسجي لكبد سمكة المعاملة الثالثة A يوضح تجمع بؤري لخلايا البلاعم الميلانية في الباحة البابية B تليف وارتشاح الخلايا اللمفية مع فرط تنسج للقنوات الصفراوية (H & E 40x).



شكل،11: مقطع نسجي لكبد سمكة المعاملة الرابعة يوضح توسع القنيبات الصفراوية مع ارتشاح خلايا وحيدة النواة في الباحات البابية (H & E 40 x).



شكل،9: مقطع نسجي لكلية سمكة المعاملة الثالثة A يوضح توسع النبيبات الكلوية بهيئة تراكيب كيسية الشكل B ارتشاح المحفظة بخلايا وحيدة النواة مع احتقان الاوعية الدموية (H & E 40x).



شكل، 12: مقطع نسجي لكلية سمكة المعاملة الرابعة A يوضح ارتشاح خلوي شديد في النسيج الخلالي B نخر وانسلاخ ظهارة النبيبات الجامعة (H & E 40x).

المصادر

1. Winton, J. (2001). Fish health management. In:Wedemeyer GA, editor. Fish hatchery management. 2nd ed. Bethesda, MD. Ame. Fish. Soc., PP: 559 - 639.
2. Summerfelt, S. T.; Bebak, J.; Fletcher, J.; Carta, A. and Creaser, D. (2008). Description of the surface water filtration and ozone treatment system at the northeast fishery center. In:Amaral, S.V.; Mathur, D. and Taft, E.p.,(eds). Advance in fish. Bioengin. Amer. Fish. Soc., Symposium, 61, Bethesda, MD., Pp: 97 – 121.
3. Lucky, Z. (1977). The diagnosis of bacterial disease by infection experiments. In: Hoffman, G. L. (Ed), Methods for diagnosis of disease. Amerind, New Delhi, Pp: 68-71.
4. Kuge,T.; Takahashi, K. and Barcs, K.(1992). *Aeromonas hydrophila* acausative agent of mass mortality in cultured Japanese catfish larvae (*Silurus asotus*). Gyobyo Kenkyu,, 27(2): 57-62.
5. Luna, L.G. (1968). Manual of histological staining methods of Armed Forces Institute of Pathology .McGraw- Hill, Inc. printed,USA., PP:32-47.
6. Littler, T. (2007). Frequency of Aeromonas spp. detection in rainbow trout and recirculation aquaculture systems and the storage stability of fillets. Msc Thesis, Davis College Agriculture, Virginia University.
7. Fukunaga, K.; Nakazono, N.; Suzuki, T. and Takama, K. (1999). Mechanism of oxidative damage to fish red blood cell by ozone. JUBMB Life, 48: 631 – 634.
8. Haensler, R. (2003).The use of ozone in medicine of action .2nd ozone congress, European Cooperation of the Medical Ozone Societies. Munich, Germany.
9. Pressman, S. (1998). The story of ozone. 1st ed., A Free book on the internet. Available http://www.Terra.es/Personal/beiyin/history/ oz.htm.
10. Sunnen, G.V.(2000). The utilization of ozone for external medical applications ozone. International J., 27: 75 – 81.
11. Uma, A.; Rebecca, G.; Meena, S. and Saravanabra, K.(2010). PCR detection of putative Aerolysin and Hemolysin gene in an *Aeromonas hydrophila* isolation from infected koi carp (*Cyprinus carpio*). Tamilnada J., 6(1):31-33.
12. الحمداني، حسين علي (1990). دراسة أمراضية الأيروموناس هيدروفيلا في الخمج التجريبي لأسماك الكارب الأعتيادي وتقييم كفاءة بعض المضادات الجرثومية في علاجها. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري،جامعة بغداد : 75 صفحة .
13. Miyazaki, T. and Jo, Y. (1985). A Histopathological study of motile Aeromonad disease in Ayu. Fish Pathology, 20(1):55-59.
14. Caring Medical and Rehabilitation Serices (CMRS) (2010).Ozone therapy. Available: www.Caringmedical.com/therapies/ozonetherapy.asp.
15. Bullock, G.L.; Summerfelt, S.T.; Noble, A.; Weber, A.; Durant, M. and Hankins, J. (1997). Ozonation of circulating rainbow trout culture System: I. Effects on bacterial gill disease and heterotrophic bacteria. Aquaculture, 158:43 – 55.
16. Mallat, J. (1985). Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: A statistical review. Can. J. Fish Aquat. Sci., 42: 630 – 648.
17. Kumar, S. and Pant, S. (1984). Organal damage caused by Aldicarb to a freshwater teleost *Barbus conchonins* Hamilton.Bull. Environ. Contam. Toxicol., 33 : 50 – 55 .
18. Sorge, R. H. (2004).Introduction to ozone therapy. Ozone Sci. and Eng., 8: 47 – 55.

Study the effect of ozone on histopathological changes of contaminated water with *Aeromonas hydrophila* in *Cyprinus carpio*

Abdulmotalib J. Al-Rudainy; Enaam B. Faleh and Abdulhussien K. Salman

Department of pathology and poultry disease, College of Veterinary Medicine, Baghdad University, Iraq

Summary

The aim of this study was to evaluate the effects of ozone on cyprinus carpio infected with *Aeromonas hydrophila*. Eighty common carp cyprinus carpio were used and they divided into four groups. Ozone dissolved in three concentrations (0.25, 0.50 and 0.75 mg / L) for the first,second and third treatment respectively , while control group is not exposed to ozone dissolved by repeating each treatment. Introduced infection by contaminating water using bacteria *Aeromonas hydrophila* with dose of 10^7 CFU/ 10 liters of water aquarium, ten fish common carp *Cyprinus carpio* were demonstrated in the eight each aquarium numbered eight with size 70 liters per one. The current study showed various histopathological changes in the tissues of experimental fish mainly at concentration 0.75 mg / L, which is more severe compare with the two other concentration. The result of treated infected fish 0.50 mg / L significantly response to treat compare with other with concentrations of ozone. While control treatment which are free of ozone showed histopathological changes in kidneys presence of congestion and severe bleeding with a accompanied inflammatory cells as well as a swelling cloud of cells lining the renal tubular .

Keywords: ***Cyprinus carpio*, Ozone, *Aeromonas hydrophila*.**