# القابلية التمنيعية لمستضد عديد السكريد المستخلص من بكتريا *Proteus mirabilis* على الاستجابة المناعية في الفئران البيض

**د.حوراء عبد الامير علي الدهان**
**قسم التحليلات المرضية - كلية العلوم /جامعة الكوفة**

**الخلاصة**

تعد بكتريا***Proteus mirabilis*** من المسببات المرضية الشائعة في أصابات القناة التنفسية والسبيل البولي.ولتقيم كفاءة مستضد عديد السكريدالمعزول من هذه البكتريا في احداث استجابة مناعية خلطية و خلوية في الفئران البيض من سلالة BALB/c فقد تم عزل وتشخيص 45عزلة من بكتريا ***Proteus mirabilis*** من عينات الادرار و الجروح والحروق والاذن والقشع والعيون وبنسب (28.8, 23,7, 22, 18.6, 5.1, 1.7)% على التوالي من المرضى المراجعين الى العيادات الاستشارية في مستشفى الحكيم في محافظة النجف الاشرف .وقد اختيرت العزلة المحلية $Pm_1$( لثبوتية صفاتها المستضدية واعطائها نتائج مطابقة للنتائج القياسيةالمعروفة في التفاعلات الكيموحيوية) في استخلاص مستضد عديد السكريد(Ps) Polysaccharide antigen .منعت الفئران بهذا المستضد وفق الجرع 100,50مكغم/مل من مستضد عديد السكريد لمدة 12يوما في العضلة.قيمت قدرة هذه المستضدات على التمنيع عن طريق الاختبارات المناعية داخل جسم الحيوان التجريبي و خارجه والتي شملت :دراسة السمية فرط الحساسية العاجل و الآجل (Arthus & delayed type hypersensitivity test) ، واختبار الخلايا المكونة للويحة (Plaque forming cells assay/PFC). وقد اوضحت نتائج دراسة السمية عدم تأثير مستضد Ps في عيوشية الخلايا البلعمية الصفاقية واللمفاوية عند التراكيز(100,50) مكغم/مل.وقد ازدادت معدلات فرط الحساسية العاجل(ارثس)والآجل مقارنة بمجموعة لسيطرة وبشكل معنوي($P<0.01$) وقد لوحظ ان هنالك فروق معنوية مهمة في اعداد الخلايا المنتجة للاجسام المضادة(PFC) للحيوانات الممنعةمع مجموعة السيطرة.

**المقدمة**

تأتي بكتريا *Proteus mirabilis* بالمرتبة الثالثة بعد *Echerichia coli* و *Klebseilla pneumoniae* كأحد المسببات المرضية الشائعة لاصابات السبيل البولي (UTI/ tract infection Urinery) لاسيما في القسم العلوي منها. وتؤدي الاصابة احيانا الى حدوث التهاب حويض الكلية الحاد(Acute pyelonephritis) (Swierzko *et al*. ,2000). ان تواجد بكتريا *P.mirabilis* في الكلى يسبب التحطيم النسيجي التي يتصف به النوع الحاد والذي يسمى التهاب الكلى والحويض الحاد (Engler *et al*., 1990). بلاضافة الى UTI فهنالك اصابات القناة التنفسية والحروق والجروح واصابات القناة الهضمية الناجمة عن تناول الغذاء الملوث بهذه البكتريا (Thaler and Kennedy, 2000)، وتعد من مسببات التهاب المفاصل الرثواني Rheumatoid arthritis (Ebringer *et al.*,2002) .ان الاصابة بهذه البكتريا اما ان يكون داخلي المصدر (Endogenous) او قد يكون من مصادر خارجية نتيجة التلوث الحاصل في اجهزة المستشفى (Li *et al.*,2004). ترتبط امراضية هذه البكتريا بامتلاكها العديد من عوامل الضراوة الكامنة . مثل انظيم البروتيز Protease واليوريز Urease الذي تنتجه جميع سلالات بكتريا . *Proteus* spp.والذي يعتبر صفة تشخيصية وتفريقية مهمة يتميز بها افراد هذا الجنس عن بعض اجناس العائلة المعوية (Brooks *et al.*,2007).اضافة الى الانظيم الحال للدم Hemolysin وحال الليسيثين (Lecithinase) تنتج بكتريا *P. mirabilis* نوعا من انواع البكتريوسينات Bacteriocins القاتلة يطلق عليها Proticine . وهنالك مستقبلات Receptors معينة موجودة على اسطح الخلية البكتيرية التي لها آلفة تجاه مجاميع معينة موجودة على انسجة الاجزاء العليا للسبيل البولي (Senior,1997). ان الصفة الحامضية لبكتريا *P.mirabilis* ناشئة عن وجود حامض البايروفيك او مجموعة الفوسفات في المحفظة (Capsule ) والتي لها القدرة على الارتباط نحو الايونات الموجبة مثل ($Mg^{+2}$) المتجمعة والتي تطلق من قبل طبقة عديد السكريد الشحمي ( Lipopolysaccharide ) المساهمة في تكوين الحصى (Dumanskie *et al*.,1994).

تعد الاهداب(Fimbriae ) وبروتينات الغشاء الخارجي (Outer membrane proteins\OMP) من عوامل الضراوة المهمة التي لها دور في التصاق هذه البكتريا بالخلايا الطلائية المبطنة لنسيج المضيف . حيث لوحظ ان تمنيع الفئران بمستضد OMPوFimbriae عند خلطها مع مساعد فروند الكامل Freunds complete ( adjuvant) في داخل العضلة يؤدي الى منع حدوث التهاب الكلى وحماية السبيل البولي من الاستيطان والغزو البكتيري ومحفزا الخلايا البائية B-cells على انتاج O-specific IgG (Moayer *et al*.,1991). يعد عديد السكريد الشحمي (LPS)من المكونات الاساسية لجدار الخلية البكتيرية السالبة لصبغة كرام .ويقع ضمن الغلاف الخارجي للخلية البكتيرية مما يسمح بسهولة فصله وقد يسمى بالذيفان الداخلي (Endotoxin)وهو ثابت بالحرارة ويتراوح وزنه الجزيئي 300-500 كيلو دالتون (Riestchel *et al.*, 1982).واشارت الدراسات

ان مكونات السكر (عديد السكريد) الموجودة في جزيئة LPS تستطيع ان تحفز استجابة مناعية متوسطة بالخلية (Cell mediate immunity/CMI) فضلا عن كونه قادر على تحفيز استجابة مناعية خلطية لكونه مستضد غير معتمد على الخلايا المفاوية التائية (T-independent antigen) (Threadgill *et al.*,1998) .ان لعديد السكريد الشحمي خصوصية للنمط المصلي لبكتريا *P.mirabilis* ،ان الاجسام المضادة المتكونة بتحفيز المستضد المعزول من نمط مصلي معين يحمي من الاصابة ببكتريا النمط المصلي نفسه ولايحمي من الاصابة ببكتريا الانماط المصلية الاخرى (Johnson,1994).وان لهذا المستضد قدرة تمنيعية عاليةعند استخدامه بكميات قليلة جدا .ويحفز الجسم الحي على تكوين اضداد متخصصة لانه يحفز انقسام الخلايا اللمفاوية البائية أي يعمل كمقسم (Mitogen) وكعامل مساعد ومقوي للاستجابة المناعية (Hewett and Roth (Adjuvant)(1993,. ان LPS يحث الخلايا البلعمية على انتاج اوكسيد النايتروجين وعامل التنخر الورمي (TNF) ويعمل على تنشيط المتمم في مسار اللكتين Lectin pathway (Swierzko *et al.* ,2000).

جاءت هذه الدراسة للتعرف على القابلية التمنيعية لعديد السكريد المستخلص من بكتريا *P.mirabilis* على المناعة الخلطيةوالمناعة المتوسطة بالخلية (CMI) من خلال اجراء بعض الفحوصات والمتمثلة بفحص العيوشية (السمية) ، فرط الحساسية العاجل والآجل ( DHS) واختبار الخلايا المكونة للويحة.

**طرائق العمل**

- **جمع وزرع العينات**

جمعت خلال هذه الدراسة 140 عينة مرضية شملت عينات الادرار والقشع ،مسحات الحروق والجروح والاذن من المرضى الراقدين في مستشفى الصدر في محافظة النجف الاشرف ، وزرعت جميع هذه العينات على وسط اكارالما كونكي(Oxoid) واكار الدم(Oxoid) وحضنت الاطباق في درجة حرارة 37م˚ ولمدة 24 ساعة وشخصت البكتريا فيما بعد حسب ماجاء في (1995) Atlas و MacFaddin(2000).

- **انتخاب العزلة الكفوءة**

بعد اجراء الفحص المجهري والاختبارات الكيموحيوية للعزلات البكتيرية واعتمادا على الصفات التشخيصية الموصوفة من قبل اختيرت العزلة رقم (1) من بكتريا*P.mirabilis* ($Pm_1$) على انها العزلة الكفوءة والنشطة لاستخلاص مستضد عديد السكريد (Polysaccharide/PS) وبالاعتماد على مقاومتها للمضادات الحياتية وانتاجها العديد من عوامل الضراوة(Brooks *et al.*,2007).

- **استخلاص وتنقية مستضد عديد السكريد ( Extraction & Purification of PS)**

اتبعت طريقة الطائي (1993) لاستخلاص مستضد PS من العزلة النتخبة ($Pm_1$) جفد العالق بوساطة المجفد (Lyophilizer) ووزن ثم حفظ في (-20 م˚ )لحين الاستعمال.قدرت كمية السكر في المستخلص باتباع طريقة(1956). Dubois *et al* .

- **تمنيع الحيوانات المختبرية**

استعملت ذكور الفئران البيضاء من سلالة BALB/c تراوحت اعمارها بين (6-8)اسابيع واوزانها بين (20-25)غم تم الحصول عليها من البيت الحيواني التابع لكلية الطب /الجامعة المستنصرية. قسمت الفئران الى 3 مجاميع ، ضمت كل مجموعة 5 فئران وكان الحقن يوميا ولمدة 12 يوم كما مبين في الجدول (1).

جدول(1)تمنيع الفئران بمستضد عديد السكريد وفئران السيطرة .

| المجموعة | العدد | المادة المحقونة | مكان الحقن |
|---|---|---|---|
| **الاولى** | **5** | **PS(50 مكغم /مل)** | داخل العضلة IM |
| **الثانية** | **5** | **PS(100 مكغم/مل)** | داخل العضلة IM |
| **الثالثة** | 5 | السيطرة(محلول ملحي وضيفي) | داخل العضلة IM |

**لاختبارات**

**ا المناعية**

- **اختبار سمية مستضد عديد السكريد(PS) المنقى على عيوشية الخلايا المناعية (البلعمية واللمفاوية).**

اعتمدت طريقة Nonoyama(1979) لاختبار تأثير مستضد PS على عيوشية الخلايا البلعمية واللمفاوية وذلك بتحضير مستضد PS بتراكيز نهائية (50، 100 ، 250 ، 500 ، )مكغم/ مل في وسط RPMI-1640 في انابيب بلاستيكية معقمة . ثم اضيف 0.5 مل من عالق الخلايا المحضر الى كل انبوب احتوى

على 0.5 مل من PS بالتركيز المطلوب (مع مراعات الحجم النهائي للمزيج) حيث عدت الانبوبة بالتركيز صفر انبوبة سيطرة ، ثم وضعت الانابيب في الحاضنة لمدة ساعة واحدة بدرجة حرارة37 م°.وبعد انتهاء مدة الحضن تم حساب العيوشية كما ورد في (1980)Hudson& Hay وبمعدل ثلاث مكررات للتركيز الواحد .طبقت نفس الخطوات ولكن باستعمال الخلايا البلعمية المحضرة بتركيز ($1\times10^6$) خلية/مل على وفق ماجاء في Weber *et al.*(1982).

- تفاعل **فرط الحساسية العاجل(آرثس)**

استعملت طريقة (1989) Triolo *et al.* لأجراء هذا الفحص الذي اجري في اليوم(11)من التمنيع وتم الحقن في راحة القدم الخلفي الايمن بـ0.05 مل من كريات الدم الحمراء للخروف(10**%**) وتم الحقن تحت الجلد(Subcutaneous). اما راحة القدم الخلفي الايسر فحقنت بـ 0.05 مل من المحلول الملحي الوظيفي ، وعدت كسيطرة وقد مثل الفرق بين سمك راحة القدم من خلال قياسه بالقدمة (Vernier) الزيادة الحاصلة بعد مرور 4 ساعات من الحقن بـ SRBCs.

- **تفاعل فرط الحساسية الآجل DTH**

أجري هذا الاختبار بالطريقة نفسها التي اجري بها تفاعل آرثس ولكن بأخذ القراءات بعد 24 ساعة من التحفيز بكريات الدم الحمراء للخروف (أي في اليوم 21 من التمنيع).

- **اختبار الخلاياالمكونة للويحة(Plaques forming cells)**

استعملت تقنية(1980)Hudson& Hay لغرض عد الخلايا اللمفاوية البائية المنتجة للضد من بين الخلايا اللمفاوية المعزولة عن طحال االفئران الممنعة وفئران مجموعة السيطرة باستعمال كريات الدم الحمراء للخروف SRBCs ومتممة خنزير غينيا. 1.حضرت اطباق الاكاروز بصب 10 مل من الاكاروزالمحضرباذابة 1.6غم اكاروز في 100 مل من دارئ الفوسفات الملحي، عقم في الموصدة وبعد تبريده الى 45م وزع في اطباق بلاستيكية معقمة.

2.مزج 0.1 مل من 10%SRBCs و0.1 مل من عالق الخلايا اللمفاوية بتخفيف(10:1)من العالق الاصلي مع 2 مل من0.8% من الاكاروز الذائب في درجة حرارة45م.وصب المزيج بسرعة على طبقة الاكاروز السفلية وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م لمدة ساعة واحدة.

3.اضيف امل من مصل خنزير غينيا المخفف بنسبة (10:1)واعيد حضن الاطباق في درجة حرارة 37م لمدة ساعة واحدة.تم حساب الخلايا المكونة للويحات Plaques لكل ($10^6$ ) خلية من خلايا الطحال.

**التحليل الاحصائي (Statistical analysis)**

استعمل اختبار T- test لغرض تحليل النتائج كما واستخدم LSD للبحث عن وجود فروق معنوية بين المعاملات المختلفة وعلى مستوى معنوية 0.01 .وقد ثبتت النتائج بشكل( المعدل ± الانحراف المعياري) .

**النتائج والمناقشة Result & Discusion**

يبين الجدول (2) عزلات بكتريا *P. mirabilis* موزعة حسب العينات المرضية التي عزلت منها ،حيث سجلت عينات الادرار اعلى نسبة لعزل هذه البكتريا (28.8%)مقارنة بالاصابات الاخرى بينما تأتي اصابات الجروح(23.7%) سيما بعد العمليات الجراحية بالدرجة الثانية بعد المسالك البولية . وقد اشار Senior(1999) الى ان النسبة المئوية لحالات التهاب المجاري البولية الناجمة عن الاصابة ببكتريا *P. mirabilis* تراوحت بين 70- 80 %من مجموع الحالات المعزولة في دراسته .

جدول (2) عزلات بكتريا *Proteus mirabilis* موزعة حسب العينات المرضية المعزولة منها

| نوع العينة | عدد العينات الكلي | عدد العزلات | **النسبة المئوية لعزلات *P.MIRABILIS*** |
|---|---|---|---|
| الادرار | **40** | **17** | 28.8 |
| الجروح | **30** | **14** | 23.7 |
| الحروق | **25** | **13** | 22 |
| القشع | **15** | **3** | 5.1 |
| الاذن | **20** | **11** | 18.6 |
| العين | **10** | **1** | 1.7 |
| **المجموع** | 140 | 59 | 100 |

- اختيار العزلة الكفوءة

تم اختيار العزلة $Pm_1$ من بكتريا *P.mirabilis* في استخلاص مستضد عديد السكريد وذلك لمطابقتها للصفات العالمية المعتمدة لبكتريا*P.mirabilis* في تصنيف هذه البكتريا(Holt *et al.*,1994 ) وكذلك ثبوتية مستضداتها .كما اكدت النتائج تجانس مستعمراتها المعزولة على الوسط الصلب وعدم تكتل نموها في الوسط الزرعي السائل واحتفاظها بكل هذه الصفات طيلة مدة البحث.

**الاختبارات المناعية**

- **اختبار سمية عديد السكريد على الخلايا البلعمية الصفاقية والخلايا اللمفاوية**

يوضح الجدول (3) نتائج عيوشية الخلايا البلعمية الصفاقية والخلايا اللمفاوية المعاملة بتراكيز مختلفة من PS (50 ، 100 ، 250 ، 500)مكغم / مل مقارنة بمجموعة السيطرة المعاملة بمحلول داريء الفوسفات الملحي . وقد كانت نتائج النسبة المئوية لعيوشية الخلايا البلعمية الصفاقية المعاملة بالتراكيز اعلاه من PSهي ( 94 ، 93.5، 91.5، 90) على الترتيب مقارنة بالسيطرة (94.2).

والخلايا اللمفاوية المعاملة بالتراكيز السابقة نفسها من PS هي (94 ،92 ، 91 ،90) على الترتيب مقارنة بالسيطرة (95.8).واوضحت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروق معنوية ( $P>0.01$)للتركيزين (50 ، 100) مكغم /مل من PS على عيوشية الخلايا البلعمية الصفاقية والخلايا اللمفاوية مقارنة بالسيطرة .وكذلك وجود فروق معنوية قليلة عند( $P<0.01$)بين التركيزين (250 ،500)مكغم / مل من PS على عيوشية الخلايا البلعمية واللمفاوية مقارنة بمجموعة السيطرة . ولذلك اخترنا التركيزين (50 ،100)في هذه الدراسة بسبب عدم سميتها.ويمكن ان يعزى سبب سمية PS في التراكيز العالية الى عدم نقاوته بصورة تامة واحتوائه على نسبة من البروتينات والشوائب الاخرى التي قد تكون ذات تأثير سمي على الخلايا البلعمية الصفاقية واللمفاوية .

**جدول (3)تأثير مستضد عديد السكريد(PS) على عيوشية الخلايا البلعمية الصفاقية والخلايا اللمفاوية**

| تركيز مستضد PS (مكغم/ مل) | النسبة المئوية للعيوشية (المعدل ± الانحراف المعياري ) | |
|---|---|---|
| | **الخلايا البلعمية الصفاقية** | الخلايا اللمفاوية |
| السيطرة | **3.8±94.2** | 3.9±**95.8** |
| 50 | **4.1±94.0** | 3.1±**94.0** |
| 100 | **3.5±93.5** | 3.0±**92.0** |
| 250 | ***0.5±91.5** | *2.0±**91.0** |
| **500** | *2.1±**90** | *1.5 ±**90** |

*وجود فروق معنوية( $P<0.01$)

**تفاعل فرط الحساسية الآجل DTH**

يوضح الجدول (4) معدلات قيم فرط الحساسيةالعاجل بعد 4 ساعات من التمنيع بمستضد PS حيث لوحظ ارتفاعا معنويا في قيم ارشس للحيوانات الممنعة بالمستضد مقارنة بمجموعة السيطرة المحقونة بمحلول الملحي الوظيفي(NS )والتي بلغت (0.79 و0.97)على الترتيب.اما بشأن فرط الحساسيةالاجل DTH (بعد 24 ساعة من التحفيز SRBCs للفئران الممنعة بمستضد عديد السكريد ) فكانت النتائج(0.739 ، 0.775) للتراكيز 50 و100 مكغم /مل على الترتيب مقارنة بالسيطرة (0.382). وقد اكدت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية مهمة ( $P<0.01$)وان اعلى قيمة لمعدل فرط الحساسية الاجل( DTH) كان عند التركيز 50 مكغم /مل من مستضد PS. ان الزيادة في معدلات فرط الحساسية الآجل( DTH)قد يعود الى كفائة مستضد PS في تحفيز الخلايا البلعمية مما يؤدي الى تحفيز وتحسس الخلايا اللمفاوية لوجود التعاون بين هذه الخلايا والذي يؤدي الى افراز اللمفوكينات (Markham *et al.* ,1991).ومن المعروف عن تفاعل ارثس اعتماده على وجود الاجسام المضادة وتكوين الخزب (Odema)نتيجة لتجمع خلايا الدم (PMNs)لان ذلك يحصل خلال (3-4) ساعات من الحقن ، اما فرط الحساسية الآجل( DTH) فيرتفع بعد (24 -28) ساعة من الحقن وتكون الخلايا التائية الوسيط في هذه التفاعلات اذ ان الخلايا التي تتحسس في هذا التفاعل هي خلايا لمفاوية من نمط ($T_{DTH}$)اذ تزداد اعدادها بصورة كبيرة فضلا عن زيادة ارتشاح خلايا وحيدة النواة(Atlas,1995).

جدول (4) معدلات فرط الحساسية العاجل و الآجل في الفئران الممنعة بمستضد عديد السكريد

| تركيز مستضد PS(مكغم/مل) | فرط الحساسية العاجل بعد4 ساعات المعدل ± الانحراف المعياري | **فرط الحساسية الآجل بعد4 2ساعات المعدل ±الانحراف المعياري** |
|---|---|---|
| السيطرة | **0.078±0.38** | 0.008 ± 0.382 |
| 50 | ***0.136±0.79** | *0.120 ± 0.739 |
| **100** | *0.399±0.97 | *0.312 ±0.775 |

*وجود فروق معنوية( P<0.01)

- **تعداد الخلايا المكونة للويحات(PFC)**

تـم حسـاب اعـداد الخلايـا المنتجـة للجسـم المضـاد النـوعي ضـد كريـات الـدم الحمـراء للخروفs(SRBC) باستخدام تقنيةتكويناللويحات الدموية حيث يرتبط الجسم المضاد النوعي بكريات الدم الحمر للخروف وبوجود المتمم مما يؤدي التحلل هذه الكريات تركة مساحة خالية تسمى باللويحة. يبين الجدول( 5) ان اعلى قيمة للPFC لكل مليون خلية طحال كانت عند التركيز50 **مكغم/مل**(115.7)مقارنة مع السيطرة(1109.4). أوضح Steven et al.(1977) ان PS يزيد من اعداد الخلايا المنتجة للاجسام المضادة لاعداد خلايا الطحال ذاتها مقارنة بالزيادة في عدد الخلايا الكلي.

جدول (5)تاثير مستضد PSعلى اعداد الخلايا المكونة للويحات

| **تركيز مستضد PS(مكغم/مل)** | **الخلايا المولدة للويحة/10 $^{6}$من خلايا الطحال المعدل±الانحراف المعياري** |
|---|---|
| السيطرة | 2.00±1109.4 |
| 50 | 2.8±1115.7 |
| **100** | 2.4±1095.4 |

**References**


**Atlas, R.M.(1995).** Principles of Microbiology. 1 st ed.Mosby.NewYork, USA. Bannet, J.V.(1974).Nosocomial infections due to *Pseudomonas* .J.Infect.Dis.,130:4-7.

**Bantroch, S. ; Buhler, T**. and Lam. J.S.(1994).Appropriate coating methods and other conditions for enzyme linked immunosorbent assay of smooth , rough, and neutral lipopolysaccharides of *Pseudomonas aeruginosa* .Clin. Diag. Lab. Immune. 1:55-62.

**Brooks,G.F.,Butel,J.S. and Morse,S.A**.(2007).*Proteus* in :Jawetz,Melenik and Adelbergs Medical Microbiology.(21st)ed.Middle East ed.Beirut.Lebanon.Chapter 16

**Brown,C.A.;Brown,I.W. AND Siljivic**,V.S.(1978).Enhancement of the antibody response in vitro by BCG in developments in biological standardization.38:154 Edited Griffith ,A.H. and Regamey,R.H Paris,London,New York, Sydney.

**Bures, J.; Horak, V.; Buresova**, E.; Fixa, B.; Lomarkova, O.; and Hartman,M.(1986).Colicinogeny in chronic inflammatory bowel disease .Scand.J.Gastroenterol., 21:819-823.

**Chipley,J.R.(1974).Release** of lipopolysaccharide,phospholipidsand enzymes from *Salmonella enteritidis* by ethylene diamine tetra acetic acid. Microbios.10:139- 150.

**Dubois, M.; Gilles**, K.L.; Hamilton, J.K.; Rebens, P.A.; and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal.Hem., **28**:350-356.

**Dumanski,A.J.;Hedelin**,H.;Edin-Liljegren,A.;eauchemin,D.;and lean,R.J.C.(1994).Unique ability of the *Proteus mirabilis* capsule to enhance mineral growth in infectious urinary calculi.Infect.Immun.,62:2998-3003.

**Ebringer,A.C.;Wilson,C.** and Tiwana,H.(2002).Is rheumatoid arthritis a form of reactive arthritis .J.Rheumatol.,March:1-11.

**Engler,H.D.; Troy,K.and** Bottone,E.J.(1990).Alkaline proteinases of microbiological origin(survey).Appl.Biochem.Microbiol.,14:511-523.

**Hewett,J.A. and Roth,R.A.(1993**).Hepatic and extrahepatic pathology of bacterial lipopolysaccharide.Pharm.Rev.,45:382-411.

**Holt, J.G.; Krieg, N.R.;** Sneath, P.H.; Staley, J.T.; and Williams, S.T. (1994). Bergy's Manual of Determination Bacteriology .9th ed. William and Wlkins Co.Baltimore,London .

**Hudson, L.; and Hay**, F.C.(1980).Practical Immunology .2nd ed. Blackwell. Scient.Public, Oxford ,London .

**Johnson, A.G.(1994).**Molecular adjuvants and immunomodulators new approaches to immunization. Clin. Microbiol. Rev., **7**:277 – 289.

**Li,X.C. ;Lockaten**,D.E.;and Johnson,M.C.(20004).Development of an intranasal vaccine to prevent UTI *Proteus mirabilis* .Infect.Immmune.72:66-75.

**MacFaddin, J.F.(2000**).Biochemical Tests for Identification Medical Bacteriology .3rd ed.,Lippincott Williams and Wilkins Co.,Baltimore London .

**Markham,R.B.; Pier,G.B.** and Schreiber,J.R.(1991).The role of cytophilic $IgG_3$ antibody in T-cell mediated resistance to infection with the extracellular bacterium, *Pseudomonas aeruginosa* . J.Immunol.146:316-320 .

**Mendes, N.F.; Tolan**i, M.E.; Silveria, and *et al.* (1973). Technical aspects of the rosette tests used to detect human complement receptor (B) and sheep erythrocytes esbinding(T lymphocytes. J.Immun., **111**:860-867.)

**Moayer,N.C.M.;Collins,B** and

**Hanley,P.O.(1991).**Efficacy of a *Proteus mirabilis* outer membrane protein vaccine in preventing experimental Proteus pyelonephritis in a BALB/c mouse model Infect.Immun.,59:3778-3786.

-Nonoyama, S.; Kojo, H.; Mine, Y.; Nishida, M.; Goto, S.; and Kuwahara, S. (1979). Inhibitory effect of *Pseudomonas aeruginosa* on the phagocytic and killing of rabbit polymorphonuclear leykocyte inhibition .Infect. Immun ., **24**:399-403.

**Riestchel, E.T.; Galanos,C.;** Luderitz, V. and Westphal,O.(1982).Chemistry and biology of lipopolysaccharide and their lipids A component .In.Immunopharmacology of Leukocyte function (Webb,D.R. ed Marcel Decker Inc., New York pp.183-229.

**Roitt, I.M.(1988).Essential** Immunity .6th ed. Blackwell Scientific Publications. London .

**Senior,B.W.(1997).The** ability of Proteus mirabilis strain to invade the bloodstream is independent of its proticine production/ proticine sensitivity type.J.Med.Microbiol.,46:407-412.

**Senior,B.W.(1999).Investigation** of the types and characteristics of the proteolytic enzymes formed by diverse strain of Proteus species J.Med.Microbiol.,48:623-628.

**Stevenson,M.M.; Kondratieva,**T.K.; Apt,A.S.;Tam,M.F. and Skamene, E.(1995).In vitro and in vivo T-cell responses in mice during bronchopulmonary infection with mucoid *Pseudomonas aerugino* .Clin.Exp.Immunol.,99:98-105.

**Steven ,F.;Steven,S.;Nowotny,A**. and Friedman,H.(1977).Immunocyte stimulation in vitro by non toxic bacterial LPS derivatives.J.Immun.119:855-860.

**Swierzko,A.S.** ; Kirikae,T. ; Kirikae,F. ;*et al.* (2000).Biological activities of lipopolysaccharides of *Proteus* Spp.and their interactions with polymyxin-B. ; and 18-KDa cataionic antimicrobiol protein (cap 18) derived peptide.J.Med.Microbiol. 49:127-138.

**Thaler,E.R.;and Kennedy**,D.W.(2000).Cited in human,H.D.;Dupont,H.L.Gradner,L.B. Griffin,J.W. Textbook of internal Medicine.4 th ed .Wolters kluwer company.USA.

**Threadgill,D.S.; McCormick,L.L**.; McCool,T.L.; Greenspan,N.S. and Schreiber,J.R.(1998).Mitogenic Synthetic polynuclerotides suppress the antibody response to bacterial polysaccharide. Vaccine,16:76-82.

**Trautmann,M.** ; Held,T.K. ; Susa,M. ; Karajan,M.A. ; Wuif,A. ; Cross,A.S. and Marre,R.(1998).Bacterial lipopolysaccharide (LPS)specific antibodies in commercial human immunoglobulin preparation: superior antibody content of an IgM.enriched product.Clin.Exp.Immunol.,111:81-90.

**Triolo,A.J.Osterholm**,J.L.and Kratky, M.T.(1989).Enhancement of the Arthus reaction and suppression of Delayed –type hypersensitivity (DTH) by pluronic F68, edetergent frequently used to prepare perfluorocarbon emulsions.Int.J.Immunopharmac.,11:41-48.

**Weber, B.; Nickol,M.M.** ; Jagger,K.S. and Saelinger, C.B.(1982).Interaction of *Pseudomonas* exoproduct with phagocytic cell. Can.J.Microbiol.,28:679-685.

**Woods,D.E.; Lam,J.S.;** Paranchych,W.; Speert,D.P. ; Campbell,M.and Godfrey,A.J.(1997).Correlation of *Pseudomonas aerugino* virulence factors from clinical and environmental isolates with pathologenicity in neutrpenic mouse.Can.J.Microboil.,43:541-51.

**الطائي ، مكارم عادل خليل** (1992).دور سلالات الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* في احداث ما يشبه متلازمة شوجرن في الفئران السريرية ،رسالة ماجستير ، كلية العلوم / الجامعة المستنصرية .

## Effect of PolysaccharideAntigens Extracted from *Proteus mirabilis* on immune response in mice

Hawraa A.A. Ad-Dahhan,Ph.D.

Department of Pathological analysis , College of Science, Kufa University

*Proteus mirabilis* is a common pathogenic agent in respiratory and urinary tract infections. To evaluation of the effectiveness of polysaccharide antigen isolated from *Proteus mirabilis* on induce humeral & cell mediated immunity were isolated from urine, wounds,burns, ear, sputum and eye in( 28.8 , 23.7 , 22 , 18.6 , 5.1 , 1.7)% respiratory from patients referred to the consultants clinics in Al-Hakim general hospital in Najaf covernorate .$Pm_1$isolate was selected in this study (which have stable antigenicity &typical biochemical characters) from polysaccharide antigen extraction.Mice immunized daily administration of( 50,100) µg/ml of (PmAg) intramuscular dose for 12 days.The ability of these antigens for immunization were determined by certain parameters included :toxicity,Arthus& delayed type hypersensitivity test (DTH) ,plaque forming cells assay. PsAg had no effect on peritoneal macrophages and lymphocyte viability at concentration (50 ,100) µg/ml .Averages of Arthus reaction & TH were significantly increased as compared with High significant differences have been noticed in the control group at ($P<0.01$) antibody producing cells numbers in immunized group as compared with control.