مناعة بروتينات الغشاء السطحي لبكتريا *Campylobacter jejuni* في الأرنب

لمى جاسم حمود وتوت د. أزهار عمران لطيف د. فريال جميل عبد

كلية طب الأسنان/ جامعة بابل كلية العلوم / جامعة بابل كلية العلوم / جامعة بابل

الخلاصة:

استخدمت الأرانب كموديل للدراسة المناعية لبكتريا *Campylobacter jejuni* حيث استخدمت مجموعتان من الأرانب، الأولى اعتبرت الاختبار والثانية سيطرة. حقنت المجموعة الأولى بمستضد بروتين الغشاء السطحي (OMP) والمجموعة الثانية بمحلول الملح الطبيعي ووجد أن حيوانات الاختبار أظهرت عيارات متخصصة للمستضد أكثر من حيوانات السيطرة موضعياً وجهازياً وكانت نسبة الموضعية إلى الجهازية (1:10).

كذلك درست كفاءة الخلايا مشكلة النواة باستعمال طريقة اختزال النايتروبلوتترازوليوم وكانت الفعالية البلعمية مرتفعة في حيوانات الاختبار (0.82,0.84,0.72) مقارنة بحيوانات السيطرة (0.7) جهازياً. و إن عامل تثبيط هجرة الخلايا اللمفاوية وعامل تثبيط هجرة البلعم الكبير كان ايجابيا في حيوانات الاختبار وغير ايجابي في حيوانات السيطرة جهازياً وموضعياً وكذلك استعمل اختبار فرط الحساسية المتأخرة كاختبار في الجسم للتحري عن حدوث المناعة الخلوية وكانت النتيجة ايجابية.

من هذا نستنتج أن مستضد بروتينات الغشاء الخارجي لبكتريا *C.jejuni* عند حقنه في الأرانب يولد استجابة مناعية خلطية وخلوية جهازية وموضعية.

المقدمة :

إن الغشاء الخارجي للبكتريا السالبة لملون كرام الممرضة يتداخل بين الممرض ومضيفه ويلعب دوراً مهماً جداً في علاقة الطفيلي والمضيف. أثبتت العديد من الدراسات في دور بروتينات الغشاء الخارجي للبكتريا الممرضة للجهاز الهضمي من التصاق البكتريا مع خلايا المضيف ودوره في مقاومة مناعة المضيف المتمثلة بعملية البلعمة والمتمم في مصل المضيف بالإضافة إلى دوره في حجز الحديد (Logan and Trust,1982; Kay *et al.*, 1981).

ولهذه البروتينات أهمية لتداخلها مع السموم الداخلية لاحتوائه على عديد السكريد الدهني (LPS) وان بعض البروتينات تعمل كمستضدات مناعية (Logan and Trust,1982). وبهذا فانه يعمل على تحفيز الاستجابة المناعية للمضيف وتحديد النوع المصلي للبكتريا بالإضافة إلى نوع العاثي البكتيري (Blaser &Duncan , 1984). يتميز الغشاء الخارجي لبكتريا *Campylobacter jejune* بأنه ذو وزن جزيئي يتراوح بين KDa (45.000 – 41.000) يتكون من حزمة بروتينية كبيرة منفردة (Walker *et al*.,1986) يمتد هذا البروتين خلال الغشاء ويظهر على سطح الخلية بالإضافة إلى ارتباطه بطبقة الببتيدوكلايكان الموجودة في السطح الداخلي للغشاء الخارجي هذه البروتينات لها القابلية على التغير بالحرارة و الألفة للماء (Goulhen *et al*., 2004). يحتوي الغشاء الخارجي كذلك على القنوات التي تلعب دوراً مهماً في تغذية الممرض، هذه القنوات ذات أقطار واسعة تسمح بمرور الجزيئات الكبيرة مثل الببتيدات وقواعد النيوكليوتيدات الصغيرة إلى التجويف البلازمي. أما بروتينات الغشاء الخارجي فلها دور أيضا في التكوين المستضدي للممرض وهذا مختلف من سلالة لأخرى (Goulhen *et al*., 2004) يحتوي الغشاء الخارجي كذلك على بروتينات أخرى ذات أوزان جزيئية واطئة، تتحرر هذه البروتينات من الغشاء البلازمي بقوة عندما تتعرض لسطح الخلية و لها دور مهم في إمراضية البكتريا وتزيد أيضا من إنتاج السموم الداخلية، إن إفراز احد هذه السموم وهو CDT متعلق بالحويصلات الموجودة في الغشاء السطحي للبكتريا حيث تفرز جميع وحدات هذا السم المتكون من (CDTa, CDTb, CDTc) إلى البيئة المحيطة المتضمنة أنسجة المضيف المصاب (Lindmark *et al*., 2009). وهدف الدراسة الحالية معرفة مناعة مستضدات بروتينات الغشاء السطحي لبكتريا *Campylobacter jejuni* في الأرنب.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

الحيوان المختبري:

تم شراء مجموعة من ذكور الأرانب المختبرية النيوزلندي الأبيض *Orcyctalagus Cuninnculus* بوزن (١.٥ – ٢) كغم للأرنب الواحد.وجرى تكييفها لجو المختبر لأسبوع تحت الظروف القياسية للأكل والشرب والتأهيل. واجري عليها قبل التجربة بعض الفحوص للتأكد من عدم وجود أية إصابة تجعل من الحيوان خارج التجربة (Schnider *et al*.,1990**).**

تحضير مستضد بروتينات الجدار الخارجي(Outer Memberane Protein (OMP: استخدمت طريقة (Carlon *et al*., 1986) وكما يلي:

١. حضرت مزرعة نقية لبكتريا *Campylobacter jejuni* تم عزلها من حالة اسهال على وسط أكار الدم.
٢. بوساطة عروة ناقلة تم نقل (٢ – ٤) مستعمرات في أنبوب يحتوي على (١٠) مل من نقيع الصلب والدماغ السائل (Brain Heart Infusion Broth) المعقم.
٣. حضن الأنبوب في درجة حرارة ٣٧ مْ في جهاز الهزاز (Shaker) (١٠٠) دورة/دقيقة لمدة (١٨ – ٢٤)ساعة.
٤. أخذ(١٠) مل من العالق البكتيري ونبذ بسرعة (١٠٠٠٠) دورة/دقيقة لمدة ١٠ دقيقة بدرجة حرارة ٤مْ.
٥. علق الراسب في ١.٥ مل من محلول دارئ (HEPES) ١٠ عياري المبرد (N-2Hydroxyethylpiperazine-N_2-Ethane sulfonic acid $C_8H_{18}N_2O_4S$) (الوزن الجزيئي ٢٣٨.٣١) شركة Sigma.
٦. نبذ عالق الخلايا بسرعة (٨٠٠٠) دورة/دقيقة لمدة ٢ دقيقة بدرجة ٤مْ.
٧. اخذ الراسب وحفظ بالتبريد أو استخدم حال تحضيره.

وتم استخدام المساعد المناعي. Bio Merux (Complete Freund adjuvant Difco). USA **.**

برنامج التمنيع:

تم حقن ثلاثة أرانب بمستضد بروتينات الجدار الخارجي (OMP) لبكتريا *Campylobacter jejuni* إضافة إلى المساعد المناعي (Al-Thahab,2006 ; Shnawa and Thewaini, 2001) مع ترك ثلاثة أرانب دون حقن كسيطرة حيث حقن في الاسبوع الأول (0.5مل من المستضد مع 0.5 مل من المساعد المناعي) وزع المستضد في مناطق مختلفة (٠.٢٥ مل في العضلة ، ٠.٢٥ مل تحت الجلد ٠.٢٥ مل تحت الرقبة في الجهة اليمنى من الأرنب و ٠.٢٥ مل في العضلة اليسرى) واستمر الحقن على هذا النحو للاسبوع الثاني والثالث على التوالي تركت الأرانب في الاسبوع الرابع دون حقن .في الاسبوع الخامس شرحت الحيوانات بعد تخديرها بثاني أثيل الايثر وأخذ الدم من القلب مباشرة ووضع في أنابيب بدون مانع للتجلط للحصول على المصل وأنابيب ذات مانع للتجلط للحصول على الخلايا البيض. كذلك اخذت الزائدة الدودية (Appendix) والأمعاء الدقيقة (Intestien) والسائل البريتوني، وضعت الزائدة الدودية والأمعاء الدقيقة في أطباق بتري حاوية على محلول الملح الفورماليني لغرض فصل الكلوبيولينات الإفرازية من تلك العينات. تم إجراء اختبار تثبيط الهجرة للخلايا **البيض**inhibition factor **leucocytes**(LIF) وكذلك تم إجراء اختبار التلازن الدموي المباشر (المنفعل). أما السائل البريتوني فقد تم إجراء اختبار العامل المثبط لهجرة الخلايا البلعمية عليه macrophage inhibition factor(MIF) **.**

الاختبارات المناعية:

أ: فصل الأمصال Separation of sera.

تم فصل الأمصال حسب طريقة (Frei *et al*.,1995)

ب: استخلاص الكلوبيولين المناعي الإفرازي من الزائدة الدودية Appendix والأمعاء الدقيقة Intestien:

استخدمت طريقة (Shnawa and Abid, 2005) في استخلاص البروتين الإفرازي:

جـ: عامل تثبيط هجرة الخلايا البيض Leucocytes Migration Inhibition Factor (LIF):

استخدم هذا الاختبار للكشف عن وجود عامل تثبيط هجرة الخلايا البيض في الدم والمواد الإفرازية للحيوان مع مستضد بروتينات الجدار الخارجي(OMP) لبكتريا *Campylobacter jejuni* المحضرة (Soborg, 1969)

د: تحفيز الخلايا البلعمية:

حفزت الخلايا البلعمية لإنتاج عامل تثبيط هجرة البلعم الكبير باستخدام الكازائين الهاضم (١.٢ غم في ١٠٠ مل ماء مقطر ويعقم بالمؤصدة)، حقن (٥) مل من الكازائين الهاضم في التجويف البريتوني (Bloom and Bennett, 1966).

اجري التحفيز لجميع مجاميع الحيوانات وبعد ٧٢ ساعة جمع السائل البريتوني واستعمل في دراسة تثبيط هجرة الخلايا البلعمية (MIF) .

هـ: اختزال صبغة الـNBT:

اجري هذا الاختبار طبقاً لـ(Park *et al*., 1968, Park and Good, 1970).

و: التلازن الدموي غير المباشر (المنفعل) Passive Haemagglutintion Test:

أجري هذا الاختبار حسب طريقة (Boyden, 1951) .

ي: اختبار الجلد Skin Test:

تم حقن(٠.١) مل من مستضد بروتين الغشاء الخارجي المحضر سابقا بين طبقات الجلد للأرنب لحيوانات التجربة الثلاثة بالإضافة إلى حيوانات السيطرة (غير المحقونة بمستضد بروتين الغشاء السطحي) كما استخدم (٠.١) مل من محلول الملح الطبيعي في الجهة الأخرى لكل حيوان (التجربة والسيطرة) كسيطرة سالبة لمعرفة تأثير مستضد البكتريا في الحساسية (Sensitivity) للأرنب ومدى تأثر المناعة الخلوية للحيوان (Tompkins *et al*., 1973).

النتائج:

نتائج الدراسة كما تظهر في الجدول (١) حيث أعطت الحيوانات تحت الاختبار مستضدية موضعية بمستوى (٢٥٦) وجهازية بمستوى (٢٥٦٠)، أما الحيوانات تحت السيطرة فقد أعطت مستضدية جهازية بمستوى (١٠) وموضعية بمستوى (١) وكانت نسبة الجهازية إلى الموضعية (١٠:١).

جدول (١) المستضدية الموضعية والجهازية المتخصصة ببكتريا *Campylobacter jejuni* في الأرنب.

الحيوانات	معدل عيار المستضد الجهازي عند المعايرة مع ضد بروتين الغشاء الخارجي	معدل عيار المستضد الموضعي عند المعايرة مع بروتين الغشاء الخارجي		نسبة الجهازي إلى الموضعي
	المصل (الجهازي)	الأمعاء الدقيقة	الزائدة الدودية	
مجموعة الاختبار	٢٥٦٠	٢٥٦	٢٥٦	١:١٠
مجموعة السيطرة	١٠	١	١	١:١٠

استعملت طريقة اختزال صبغة الأزرق المتعادل للتترازوليوم لدراسة الفعالية البلعمية للخلايا ذات الأنوية المتعددة الأشكال Polymorphonuclear Neutrophiles (PMN) ويكون التفاعل على أساس عدد الخلايا المتعددة المترسب داخلها حبيبات الفورمازان لكل (١٠٠) خلية عدلة محسوبة بدلالة النسبة المئوية وكانت الفعالية البلعمية عالية في حيوانات الاختبار مقارنة بالسيطرة جدول (٢) حيوانات الاختبار وبوسط حسابي (٠.٧٩) أما حيوانات السيطرة فقد كانت النتيجة للفعالية البلعمية وهي (٠.٧).

جدول (٢) النسبة المئوية للفعالية البلعمية للحيوانات باستخدام NBT .

الحيوانات	M ± S.D
مجموعة الاختبار	٠.٧٩ ± ٠.٠٦
مجموعة السيطرة	٠.٧ ± ٠

M = المتوسط الحسابي. S.D = الانحراف القياسي.

تم استخدام هاضم الكازائين لتحفيز خلايا البلعم الكبير على إنتاج عامل تثبيط هجرة خلايا البلعم الكبير(MIF)، حقنت الحيوانات في البريتون قبل ثلاثة أيام من إجراء التشريح وجمع السائل البريتوني، أظهرت النتائج في حيوانات الاختبار تثبيط هجرة البلعم الكبير كان معدل التثبيط (٠.١ ±٠.٥) معنوياً أكثر مقارنة بحيوانات السيطرة حيث كان معدل التثبيط لها (٠±٠.٩) جدول (٣).

جدول (٣) النسبة المئوية لعامل تثبيط هجرة خلايا البلعم الكبير (MIF) .

الحيوانات	M±S.D
مجموعة الاختبار	٠.٥±٠.١
مجموعة السيطرة	٠±٠.٩

M = المتوسط الحسابي.

S.D = الانحراف القياسي

درس عامل تثبيط هجرة الخلايا البيض (Leucocytes Migration Inhibition Factor(LIF:

اجري هذا الاختبار على حيوانات الاختبار والسيطرة وشمل كلا من المناعة الجهازية (المصل) والموضعية (أمعاء دقيقة وزائدة دودية) و قد لوحظ أن هناك تثبيطاً معنوياً في حيوانات الاختبار مقارنة بالسيطرة حيث كانت معدل التثبيط جهازيا (المصل) (٠.٣٧) وفي السيطرة (٠.٩) بينما التثبيط الموضعي بالنسبة للأمعاء الدقيقة في حيوانات الاختبار (٠.٥٧) وللسيطرة (٠.٩)أما التثبيط بالنسبة للزائدة الدودية والأمعاء الدقيقة والزائدة الدودية0.5 جدول (٤).

جدول (٤)معدل النسبة المئوية لعامل تثبيط هجرة الخلايا البيض LIF

الحيوانات	M±S.D		
	مصل	أمعاء دقيقة	زائدة دودية
مجموعة الاختبار	٠±٠.٣٧	٠±٠.٠٧±٠.٥٧	٠±٠.١±٠.٥
مجموعة السيطرة	٠±٠.٩	٠±٠.٩	٠±٠.٩

M = المتوسط الحسابي.

S.D = الانحراف القياسي.

. أظهرت نتائج حقن مستضد بروتين الغشاء الخارجي علامات التحسس في الحيوان المختبري المتمثلة بالاحمرار، التنخر والانتفاخ حيث ظهر التنخر بعد مرور ٤٨ ساعة من حقن المستضد بين طبقات الجلد واستمر الى ٧٢ ساعة ، أما قطر منطقة الانتفاخ فتم قياسه بعد مرور ٤٨ ساعة من حقن **المستضد** البكتيري بين طبقات

الجلد حيث تراوح قطر منطقة الانتفاخ في حيوانات الاختبار المحقونة بالمستضد التي اجري عليها برنامج التمنيع المذكور سابقا معدل(٩) ملم أما في حيوانات السيطرة غير المحقونة بالمستضد فقد بلغ معدل القطر (١٤) ملم مقارنة بالحيوانات المحقونة بماء الملح الطبيعي (السيطرة السالبة) فلم تظهر أي من هذه العلامات جدول(٥).

جدول (٥) علامات التحسس الخلوي بمستضد بروتينات الغشاء الخارجي في الأرنب.

الحيوانات	علامات التحسس الخلوي بمستضد بروتينات الغشاء الخارجي			علامات التحسس الخلوي بمحلول الملح الطبيعي(السيطرة السالبة)		
	احمرار	تنخر	معدل قطر منطقة الانتفاخ بالملم	احمرار	تنخر	قطر منطقة الانتفاخ بالملم
مجموعة الاختبار	+	+	٩	-	-	-
السيطرة الموجبة	+	+	١٤	-	-	-

+ : موجبة التحسس. - : سالبة التحسس.

المناقشة :

أظهرت نتائج المستضدية الموضعية والجهازية بعد تغطية مصل الأرنب المتخصص بمستضد بروتينات الغشاء الخارجي (OMP) على كريات دم الخروف المدبوغة عيارية عالية للمستضد الجهازي (المصل) (٢٥٦٠) مقارنة بعيارية المستضد الموضعي (الأمعاء الدقيقة، الزائدة الدودية) (٢٥٦) وكانت نسبة الجهازية إلى الموضعية (١٠:١) جدول(١) وهذه مطابقة لـ(Abd, 2000; Al-Thahab, 2006).إن الطرائق المناعية (Chart *et al*., 1996) والوراثية (Karlysher *et al*., 2000) افترضت أن المستضدات المسؤولة عن التلازن الدموي المنفعل Passive Heamo Agglutination (PHA) هي مستضدات ترتبط على سطح كريات الدم الحمر المتحسسة ويكشف عن التلازن الدموي المنفعل.

يقوم الجهاز اللمفاوي بمهاجمة الأحياء المجهرية بعد اختراقها لسطح جسم المضيف ويوجهها مباشرة إلى الخلايا البلعمية ثم إلى الجهاز المناعي. حال حصول الإصابة يطرح الكائن المجهري النامي نواتج التهابية تصل إلى العقد اللمفية التي تبدأ بالانتفاخ وتنقسم الخلايا اللمفية وتضيف خلايا لمفية أخر تصل إلى العقد اللمفية من مجرى الدم.تنقسم الخلايا البلعمية إلى نوعين خلايا البلعم الكبير Macrophage والخلايا اللمفية متعددة الأنوية (PMN) يتعرض الكائن المجهري إلى الخلايا البلعمية من النسيج اللمفاوي، الخلايا البلعمية الموجهة تصل من الأوعية الدموية الصغيرة خلال الالتهاب (Mimis, 1982)**.**ان الزيادة في نسبة خلايا الدم العدلة المختزلة لصبغة (NBT) للفورمازان يمكن استخدامه كدليل للإصابة البكتيرية الحادة وحالات التهابية أخر (McCall *et al*., 1979; Laharrague *et al*., 1984).

جدول (٢) يوضح زيادة فعالية البلعمة في حيوانات الاختبار مقارنة بحيوانات السيطرة هذه النتائج تعتبر طبيعية لأن وجود بكتريا *C.jejuni* في المرضى يؤدي إلى تنشيط فعالية البلعمة للخلايا العدلة حيث تمتلك بكتريا *C.jejuni* متعدد السكريد الشحمي Lipopolysacharied (LPS) وهي سموم داخلية في الجدار الخارجي للبكتريا السالبة لصبغة كرام التي تسبب تفاعلات مرضية ووظيفية في اللبائن.إن تأثير (LPS) ينتج من تفاعل السموم الداخلية مع غشاء الخلية الهدف مثل الخلايا العدلة، الأحادية الأنوية، البلعم الكبير، الخلايا اللمفية البائية، الصفيحات الدموية، الخلايا المولدة للألياف، الخلايا البطانية وهذا ما يؤدي إلى زيادة الفعالية البلعمية للخلايا العدلة (Pawlowska and Tourowski, 1998)، كما إن بكتريا *C.jejuni* تحفز تكوين IL-8 ويعتبر جاذباً كيميائياً يؤدي إلى زيادة فعالية البلعمة للخلايا العدلة (Janssen *et al*., 2008).

يعرف عامل تثبيط هجرة خلايا البلعم الكبير (MIF) بأنه بروتين ينشأ كمنظماً للالتهاب (Bloom and Bennet, 1966; David, 1966) ويلعب دوراً مهماً في السيطرة على كل من المناعة المتخصصة وغير المتخصصة (Calandra *et al*., 2000) وصف في البداية انه مشتق من فعالية الخلايا التائية ولوحظ قديما أن (MIF) يتحرر من أنواع مختلفة من الخلايا داخل الجهاز المناعي. الخلايا اللمفية الوحيدة وخلايا البلعم الكبير والخلايا اللمفية التائية، وتعد الخلايا اللمفية مصدراً كبيراً للـ(MIF) والتي تتحرر نتيجة التعرض للسموم المايكروبية والمستضدات والحركيات الخلوية (Rossi *et al*., 1998; Calandra *et al*., 1994).إن الخلية المناعية نوع Delayed type hypersensitivity (DTH) تعمل على إنتاج عامل (MIF) الذي يؤدي إلى

بقاء خلايا البلعم الكبير في موقع تفاعل فرط الحساسية المتأخر حيث نلاحظ من النتائج جدول (٣) زيادة هذا العامل في حيوانات الاختبار مقارنة بالسيطرة فحيوانات الاختبار كان متوسط عامل تثبيط هجرة البلعم الكبير (٠.١ ± ٠.٥) مقارنة بالسيطرة (٠.٩) وهذا يتفق مع (Basir, 2009).إن دراسة (MIF) في الأرنب قد وضحت في ثلاث مجاميع من الأرانب واحدة اعتبرت سيطرة والمجموعة الأخرى اختباراً. لا يوجد تثبيط لهجرة خلاليا البلعم الكبير في حيوانات السيطرة حيث كانت النتائج بوسط حسابي (٠.٩) أما حيوانات الاختبار فكانت نتائج (MIF) وبوسط حسابي (٠.١ ± ٠.٥) وهذا مطابق لـ(Tompkins *et al*., 1973; Abd, 2006). وقد أشارت بعض الدراسات إلى زيادة في (MIF) حيث أظهرت تلك الدراسة ارتفاع الاستجابة المناعية الذاتية والمتخصصة نتيجة الحقن في طبقات الجلد (Intradermal) (Janssen *et al*., 2008).

يعرف عامل (LIF) بأنه مدورات لمفاوية تثبط هجرة الخلايا متعددة الأنوية (PMN) في الاختبار ينتج عن تحسس الخلايا اللمفاوية التائية (T-cell) للمستضدات (Rocklin, 1974) كما إن الخلايا البائية يمكن أن تحرر عامل LIF استجابة لتحفيز المستضدات والمشطرات (Chess *et al*., 1975).إن سموم بعض البكتريا اللاهوائية تعمل كمثبط قوي للهجرة (Baugh and Bucala, 2002). ومن خلال نتائج الدراسة جدول (٤) نلاحظ انه لا يوجد تثبيط لهجرة الخلايا البيض في حيوانات السيطرة غير المحقونة بمستضد بروتين الجدار الخارجي (OMP) لبكتريا *C.jejuni*. أما في حيوانات الاختبار فقد لوحظ تثبيط موضعي معنوي لهجرة الخلايا البيض بالنسبة للزائدة الدودية والأمعاء الدقيقة وبوسط حسابي (٠.٠٧ ± ٠.٣٣) للأمعاء الدقيقة و(٠.١ ± ٠.٥) بالنسبة للزائدة الدودية وهذه النتائج كانت مطابقة لـ(Tompkins *et al*., 1973; Abd, 2006). يعرف فرط الحساسية المتأخر (Delayed Hypersensitivity) بأنه استجابة مناعية متوسطة بالخلايا التي تتكون بعد (٢٤ - ٤٨) ساعة وينتج عنه درجات مختلفة في تحطيم الأنسجة يعتمد على شدة الاستجابة، تتميز بترشيح الخلايا الوحيدة النواة وخلايا البلعم الكبير إلى منطقة التقرح.تلعب الخلايا التائية دوراً مهماً في تخليق الاستجابة المناعية لمواجهة الأحياء المجهرية حيث تكون قادرة على إفراز المدورات اللمفية (انترفيرون كاما) الذي يزيد من فعالية مدى واسع من الخلايا منها الخلايا القاتلة (NK-cell) والخلايا البلعمية.

وقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية جدول (٥) في اختبار الجلد للأرنب التي أجريت بمستضد بروتين الجدار الخارجي لبكتريا *C.jejuni* نتائج موجبة بالنسبة لحيوانات السيطرة والاختبار وتمثلت بالاحمرار والتنخر والتصلب، ولكن في حيوانات السيطرة كان قطر منطقة الانتفاخ الذي تراوح بين (١٤)ملم من قطر منطقة الانتفاخ في حيوانات الاختبار (٩)ملم يمكن تفسيره أن حيوانات الاختبار المحقونة سابقا بالمستضد عند حقنها مرة أخرى بنفس المستضد بين طبقات الجلد كانت قد كونت خلايا ذاكرة لذلك فاستجابتها كانت اقل من حيوانات السيطرة التي كان تعرضها للمستضد لأول مرة عند حقنه تحت طبقات الجلد فكانت حساسيتها أكثر وهذا جاء مطابقاً لـ(Tompkins *et al*., 1973; Doan *et al*., 2008).وقد يعزى هذا الى ان بروتينات الغشاء الخارجي للبكتريا السالبة لصبغة غرام فهو يعمل كمحفزا مناعيا immunomodulators (Crocquet-Vades *et .al*.,2001)نستنتج من هذه الدراسة ان بروتينات الغشاء السطحي لبكتريا *Campylobacter jejuni* تحفز الاستجابة المناعية بنوعيها الخلطية والخلوية في الأرنب.

References : **المصادر:**

Abd, F. G. (2006). Study of Some Immunological Aspects in Human and Rabbit *E.coli* K1 Vaginosis. Ph.D, thesis. Babylon University. Iraq.

Abd, F. G. (2000). Comparative Study Between Local and Systemic Humoral Immune Response in Typhoid Patients. M.Sc, thesis. Babylon University. Iraq (In Arabic).

Al-Thahab, A. A. L. (2006). Cryptic Meningitis and Some Aspects of its Local and Systemic Immunity. Ph.D, thesis. Babylon University. Iraq (In Arabic).

Baugh, J. A. and Bucala, R. (2002). Macrophage migration inhibitory factor. Crit. Care Med. 30: S27-S53.

Basir, S. F. (2009). Text Book of Immunology. PHI Learning private limited.

Blaser, M. J., and Duncan, D. J. (1984). Human serum antibody response to *Campylobacter jejuni* infection as measured in an enzyme-linked immunosorbent assay. Infect. Immun. 44: 292 - 298.

Bloom, B. R. and Bennet, TB. (1966). Mechanism of a reaction in vitro assotiated with delayed - type hypersensitivity. Science; 153: 80 - 82.

Boyden, S. V. (1951). Fixation of bacterial products by erythrocyte treated with tannic acid and subsequent haemagglutination by anti - protein serum J. Exp. Med: 107.

Calandra, T.; Bernhagen, J.; Mitchell, R. and Bucala, R. (1994). The macrophage is an important and previously unrecognized sourse of macrophage migration inhibitory factor (MIF). J. Exp. Med. 179: 1895 -1902.

Calandra, T., *et al*. (2000). Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor. Nat. Med. 6: 164 - 170.

Carlone, G. M.; Thomas, M.; Rumschlag, H. and Sottnek, F. (1986). Rapid micro procedure for isolation detergent insoluble OMP. From Hib Clin. Microb. J. 24(3): 330 - 332.

Chart, H.; Frost, A. J.; Oza, A.; Thwaites, R. T.; Gillanders, S. A. and Rowe, B. (1996). Heat - stable serotyping antigens of *Campylobacter jejuni* are probably capsule and not long chain lipopolysaccharide. J. Appl. Bacteriol. 81: 635 - 640.

Chess, L.; Rocklin, R. E.; MacDermott, R. P.; David, J. R. and Schlossman, S. F. (1975). Leucocyte inhibitory factor (LIF): production by purified human T and B lymphocytes. J. Immunol. 115: 315 - 7.

*Crocquet-Valdes,P.A. ;Diaz-Montero,C.M.; Feng,H.M.;Barrett,A. and Walker,D.H.(2001).Immunization with apportion of rickettsial outer membrane protein A stimulates protective immunity against spotted fever rickettsiosis ,Vaccine .20:979.

David, J. R. (1966). Delayed hypersensitivity in vitro: its mediation by cell - free substances formed by lymphoid cell - antigen interaction. Proc. Nati. Acad. Sci. USA. 56: 72 - 77.

Doan, T., Melvold, R., Viselllli, S. and Waltenbaugh, G. (2008). Lippincott's Illustrated Reviews: Immunology. Wotters Kluwer/ Lippincott Williams and Wilkins.

Frei, J.; Heuck, C.; Riesen, W. and Laug, IT.(1995). Production of basic diagnostic laboratory reagent. WHO regional publication, Eastern Mealitterranean series.

Goulhen, F.; DE, E.; Pages, J. M. and Bolla, J. M. (2004). Functional refolding of the *Campylobacter jejuni* MOMP porin by groel from the same species. Biochem. J. 378: 851 - 856.

Janssen, R.; Krogfelt, K. A.; Cawthraw, S. A.; Pelt, W. V.; Wagenaar, J. A. and Owen, R. J. (2008). Host - Pathogen interaction in *Campylobacter* infection: the host perspective. American Society for Microbiology. P: 505 - 518.

Karlysher, A. V.; Linton, D.; Gregson, N. A. and Wren, B. W. (2000). Genetic and biochemical evidence of a *Campylobacter jejuni* capsular polysaccharide that accounts fir Penner serotype specificity. Mol. Microbiol 35: 529 - 541.

Kay, W. W.; Buckley, J. T.; Ishiguro, E. E.; Phipps, B. M.; Monette, J. P. L. and Trust, T. J. (1981). Purification and disposition of a surface protein assotiated with virulence of *Aeromonas salmonicida*. J. Bacteriol. 147: 1077 - 1084.

Laharrague, P. F.; Corberand, J. X.; Fillola, G.; Gleizcs, B. J.; Fontanilles, A. M. and Gyrard, E. (1984) In vitro effect of the slime of *Pseudomonas aeruginosa* on the function of human polymorphonuclear neutrophils. Infect. Immun. 44 (3): 760 - 762.

Lindmark, B.; Rompikuntal, P. K.; Vaitkevicius, K.; Song, T.; Mizunoe, Y.; Uhlin, B. E.; Guerry, P. and Wai, S. N. (2009). Outer membrane vesical - mediated release of (CDT) from Campylobacter jejuni. BMC Microbiology 1471 - 2180.

Logan, S. M. and Trust, T. J. (1982). Outer Membrane Characteristic of *Campylobacter jejuni*. Infect. and Immun. P. 898 - 906.

McCall, C. E.; DeChatelet,; Butler, R. and Brown, D. (1974). Enhanced phagocytic capacity the biologic basis or the elevated histochemical nitro blue tetrazolium reaction. J. Clin. Invest. 54: 1227 - 1234.

Mimis, C. A. (1982). The pathogenesis of Infectious Disease 2nd ed. Academic Press (London Ltd.).

Park, B. H. and Good, R. A. (1970). NBT test stimulated. Lancet 2: 616.

Park, B. H.; Fikring, S. M. and Smith Wick, E. J. (1968). Infection and nitroblue tetrazolium reduction by neutrophils. A diagnostic aid. Lancet 2: 532 - 534.

Pawlowska, E. and Tourowski, G. (1998). Relationship between LPS *E.coli* and intralipid in the iffluence of perphiral blood neutrophils examined by the NBT reduction tests. Med. Sci. Monit. 4 (1): 57 - 63.

Rocklin, R. E. (1974). Products of activated lymphocytes: leucocyte inhibitory factor (LIF) distanct from migration inhibitory factor (MIF). J. Immunol. 112: 1461 - 6.

Rossi, A. G. *et al.* (1998). Human circulating eosinophils secrete macrophage migration inhibitory factor (MIF). Potential role in asthma. J. Clin. Invest. 101: 2869 - 2874.

Schnider, E.; Volcker, G. and Hsude, W. (1990). Age and set dependent on phospholipids concentration in human erythrocyte. I. Z. Med. Labo. Diag. 31, (2): 86 - 89.

Shnawa, I. M. S. and Thewaini, Q. N. A.(2001). Benzlmidazol carbamate pesticide pollution immunology: 1 - the benomyl dose dependent humoral immune suppression of rabbits immunized with egg albumin combination. J. Bab. Univ. 6 (3): 401 - 406.

Shnawa, I. M. S. and Abid, F. G. (2005). The role of carbohydrate binding complement compenents. The lactins in plotting the immunophyltic tree of vertebrate. Al-Qady. Sci. J. of Vet. Med. 4 (1): (1-5).

Soborg, M., (1969). In vitro migration inhibition of peripheral blood leucocytes in delayed type hypersensitivity. Acta. Medica. Scand 184: 13 - 25.

Tompkins, W. A.; Schultz, R. M. and Rama Rao, V. S. (1973). Depressed cell - mediated immunity in newborn rabbits bearing fibroma virus induced tumors. Infect. Immunol. 7 (4): 613 - 619.

Walker, R. I.; Caldwell, M. B.; Lee, E. C.; Guerry, P.; Trust, T. J. and Ruiz - Palacios, G. M. (1986). Pathophysiology of *Campylobacter* enteritis. Microbiol. Rev. P: 81 - 94.

Immunity of Outer Membrane Protein of *Campylobacter jejuni* in Rabbits.

Abstract :

Two groups of rabbits were used, first group was with outer membrane protein (test group) and second with normal saline (control group). Specific antibodies titer were higher in test group than control group in both local and systemic and the ratio of local to systemic antibodies was (10:1)Phagocytosis was studied by using nitrobluetetrazolium dye reduction (NBT) on test group were (0.82,0.84,0.72) comparison with control was (0.7) in systemic respectively.Cell meiated immunity was evaluated by using (LIF). (LIF) was significant in test group and non significant in control group both local and systemic immunity.

Delayed type hypersensitivity test was used in vivo and was significant in control group than test group with (OMP) antigens.It can conclude that (OMP) of *C.jejuni* induce immune response humeral and cellular local and systemic.