

العلاقة المناعية بين جرثومتي *Listeria* و *Pseudomonas aeruginosa*

monocytogenes في الفئران

محمد جويد علوان خالد ياسين زغير نغم محمد عيال

كلية الطب البيطري - جامعة بغداد

تأريخ التسليم 23/3/2008

تأريخ القبول 21/4/2009

الخلاصة

من اجل معرفة تاثير المستضد الكلي المتكسر لجرثومة *Listeria monocytogenes* على الاصابه بالزوائف الزنجارية في الفئران .,استخدم (30) من الفئران البيضاء السويسريه بعمر (8-12) اسبوع قسمت الى ثلاث مجاميع بالتساوي,منعت المجموعه الاولبجرعه (0.5)مل من المستضد الكلي المتكسر لجرثومة اللستريا مونوسايتوجين(السترين)(تركيز البروتين 7.6ملغم/مل) تحت الجلد وبجرعتين الفارق بينهما اسبوعين وتم اجراء الفحص الجلدي بعد 27 يوما من اول تمنيع بعد ذلك تم اصابة الحيوانات بالزوائف الزنجارية الحيه الضاربه وبجرعه 0.5مل من العالق الجرثومي الحاوي على 1×10^9 CFU/ml *P.aeruginosa* تحت الجلد.اما المجموعه الثانيه (سيطره موجب) فلقد حقنت بنفس جرعة وطريقة المجموعه الاولى من الزوائف الزنجارية واعدت المجموعه الثالثه سيطره سالبه حيث حقنت بجرعة 0.5مل من المحلول الفسلجي المعقم المتعادل تحت الجلد.

بينت نتائج الفحص الجلدي بان المستضد الكلي المتكسر لجرثومة اللستريا حفز استجابته مناعيه وفرت حمايه مطلقه للحيوانات الممنعه ضد جرعة التحدي بالزوائف الزنجارية تميزت بعدم هلاك اي حيوان من الحيوانات الممنعه وعدم عزل جرثومي او تغيرات مرضيه شديده في الاعضاء الداخليه بعد جرعة التحدي مقارنة بحيوانات السيطره الموجبه حيث هلكت جميع الحيوانات بعد الاصابه بالزوائف الزنجارية وسجل عزل جرثومي كثيف في الاعضاء الداخليه مع تغيرات مرضيه قبيحه شديده حاده.

Immune relationship between *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes*

Mohammed Jawed Alwan

Khalid yassin zagir

Naghah mohammed Al-Jebouri

College of Vet. Med.- Baghdad University

Summary

In order to know the effect of whole sonicated *L. monocytogenes* antigen on mice experimentally infected with *P.aeruginosa*.,30 white mice,8-12 weeks age, were divided randomly into three equal groups..The 1st group was immunized subcutaneously twice with (0.5)ml of whole sonicated *P.aeruginosa* antigen(7.6mg/ml concentration protein) ,with two weeks intervals.The cellular immune responses was checked at (27) days post-immunization The animals of the 1st and 2nd groups were challenged subcutaneously with (0.5) ml of bacterial suspension contain 1×10^9 cfu/ml of virulent *P.aeruginosa* while the 3rd group was inoculated S/C with (0.5)ml of sterile phosphate buffer saline and served as control negative group.. The results showed that the prepared antigen induced a good protection in the immunized animals which was,characterized by survival all immunized animals and no bacterial isolates and pathological changes in the internal organs after infection with *P.aeruginosa* as compared with nonimmunized infected animals,which died after infection, with severe bacterial isolates and sever acute suppurative reaction in their internal organs..

المقدمة

تعد الزوائف الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* من الجراثيم ذات الاهمية الصحية والاقتصادية وتتواجد في مختلف الظروف البيئية وتصيب الانسان ومختلف الحيوانات الحقلية والبريه اضافة الى النباتات(1,2), وهي اكثر انتشارا في البيئه الرطبه كالترابه ومجاري التصريف والمساح والمناطق الرطبه المحيطة بها والتي تحتوي على نسبة عاليه من الكلور(3).

ان جرثومة الزوائف الزنجارية من الجراثيم الانتهازية وتلعب دورا مهما في احداث الاصابات المكتسبه في المستشفيات وتسبب نسبة وفيات عاليه وخاصة لدى الاشخاص المصابين بالحروق وتمتلك العديد من عوامل الضراوه التي لهل دور اساسي في امراضيتها(4) وتأثيرها على جسم المضيف يعتمد على الاختراق(I nvasive) ونتاج اليفان(toxins) (5).

تتميز الزوائف الزنجارية بمقاومتها الوراثية للعديد من المضادات الحيائية وقدرتها على تغيير عوامل ضرورتها بصوره مستمره عند تعرضها للظروف غير الملائمه مما جعلها اكثر خطورة على صحة الانسان والحيوان(6) لذا اهتم الباحثين باستراتيجية التمنيع للسيطره على الاصابه بهذه الجرثومه خصوصا وان الاستجابه المناعيه الخلويه والخلطيه تلعب دورا مهما في مقاومه الزوائف الزنجاريه(7). لقد استخدمت عدة تقنيات لتحفيز الاستجابه المناعيه الخلويه والخلطيه الا ان نتائج هذه الدراسات كانت متباينه بسبب عدم دقة معرفه مستضدات الجرثومه والاليه المناعيه(8). استخدمت الجرثومه المضعفه اوالمقتوله او مركباتها في تحضير اللقاحات الا هذه اللقاحات لم توفر حمايه ضد الاصابه بهذه الجرثومه. استخدم(9)Pier متعدد السكريد الشحمي كلفاح وسجل ارتفاع مستوى الاضداد في الاشخاص المنعجين به الا ان هذا اللقاح لم يوفر حمايه مشتركه بين الضروب المصليه المختلفه للجرثومه, واستخدم مستضد O-side chain لجرثومه الزوائف الزنجاريه في تمنيع الفئران والارانب ولم يوفر مناعه وافيه ضد جرعه التحدي.

سجل(10) Hormaeche et al. تصالب مناعي بين الزوائف الزنجاريه وجرثومه *S.typhimorum* في الفئران, وسجل ايضا تصالب مناعي بين جرثومه اللستريا والسالمونيلا(11).

ولاهمية استخدام اللقاحات ضد الزوائف الزنجاريه صممت هذه الدراسه لمعرفة تاثير المستضد المتكسر الكلي لجرثومه *Listeria monocytogenes* على الاصابه بجرثومه الزوائف الزنجاريه في الفئران.

المواد وطرائق العمل

العتره الجرثوميه: تم الحصول على *Pseudomonas aeruginosa* من وحدة الامراض المشتركه-كلية الطب البيطري وتم التأكد منها باجراء الفحوصات الكيموحياتيه الخاصه بها حسب طريقه(12).

الايوساط الزراعيه: استخدمت الاوساط نقيع القلب والدماغ ووسط اكار الدم المغذي ووسط اكار السيدومونس(Oxoid) *Pseudomonas agar* (U.K) وحضرت حسب تعليمات الشركه المنتجه.

تحضير لمستضد اللسترين والمستضد الذائب لجرثومه الزوائف الزنجارية

تم الحصول على *L.monocytogenes* من وحدة الامراض المشتركه/كلية الطب البيطري وحضر هذا المستضد حسب طريقه

Halliburton and Blazkovec(13)

حيث عرضت الخلايا الجرثوميه الى التكسير باستخدام جهاز التكسير بالامواج فوق الصوتيه لمدته 15 دقيقه وبطريقه مبرده با سعمال قطع من الثلج واعيد التكسير مره اخرى ولنفس الفتره وتم قياس البروتين فيه حسب طريقه بايوريت حيث كان التركيز 17ملغم/مل تحضير مستضد اللسترين

تم تحضيره ايضا حسب طريقه(13) Hiallibartion and Blazkovec. وتم قياس البروتين فيه حسب طريقه بايوريت حيث كان التركيز 7.6ملغم/مل

تحضير جرعة الاصابه

تم زرع جرثومه الزوائف الزنجاريه وتتميتها وتنقيتها على الاوساط الزراعيه التي ذكرت اعلاه وتم عد الخلايا الحيه حسب طريقه(14). تصميم التجريه

استخدم (30) من الفئران البيضاء السويسرية من كلا الجنسين تر اوحى اعمارها بين (8-10) اسبوع وتراوحت اوزانها بين (25-32) غم تم الحصول عليها من مركز البحوث والمختبرات الدوائية/وزارة الصحة. قسمت الحيوانات يصوره عشوائيه بالتساوي الى ثلاث مجاميع وكما يلي:

1-المجموعه الاولى منعت حيوانات هذه المجموعه بالمستضد الكلي المتكسر لجرثومة اللستريا وبجرعه 0.5 مل تحت الجلد واعيدت نفس الجرعه وبنفس الطريقه بعد اسبوعين كجرعه تقويه وبعد 27 يوما من اول جرعه تمنيع تم اجراء فحص الحساسيه المتأخر تجاه اللسترين والمستضد الذائب لجرثومة الزوائف الزنجاريه المتكسر. اذ تم حقن راحة القدم اليسرى لحيوانات المجموعه الممنعه والسطره السالبه بجرعه مقدارها 0.1 مل من مستضد اللسترين وحقنت راحة القدم اليمنى لنفس الحيوانات بالمستضد الذائب لجرثومة الزوائف الزنجاريه.

2-المجموعه الثانيه مجموعه سيطره موجبه

3-المجموعه الثالثه مجموعه سيطره سالبه

وبعد (30) يوما من اول جرعه تمنيع تم اصابة المجموعتين والممنعه والسيطره الموجبه بجرعه 0.5 مل من العالق الجرثومي الحاوي على 1×10^9 CFU/ml من الزوائف الزنجاريه تحت الجلد وكذلك تم حقن مجموعه السيطره السالبه بالمحلول الفسيولوجي المتعادل وبجرعه 0.5 مل تحت الجلد.

وبعد (20) يوما من الاصابه قتلت جميع الحيوانات التي لم تهلك واخذت عينات من الاعضاء الداخليه للفحص الجرثومي واخرى للفحص المرضي حيث ثبتت في محلول الفورمالين الداري المتعادل 10% لمدته (72) ساعه وتم اجراء الطرق الروتينيه لتحضير الشرائح النسيجييه وحسب طريقه (15) Luna

النتائج

الفحص الجلدي

يبين الجدول (1) نتائج الفحص الجلدي للفئران الممنعه بعد مرور (27) يوما من التمنيع وبعد 24 و48 ساعه من اجراء الفحص والمقاسه (ملم) حيث كان المعدل الحسابي لفرق نتخن راحة القدم اليمنى تجاه اللسترين 1.52 ± 0.14 او 1.07 ± 0.15 بعد 24 و48 ساعه على التوالي وتجاه المستضد الذائب للزوائف الزنجاريه في القدم اليسرى للحيوانات الممنعه 1.11 ± 1.16 و 0.85 ± 0.10 بعد 24 و48 ساعه من اجراء الفحص على التوالي .

جدول 1: يبين فرق النتخن في راحة القدم للفئران بعد (27) يوما من تمنيعها بالمستضد الكلي المتكسر لجرثومة اللستريا بعد 24 و48

ساعه من اجراء الفحص

رقم الحيوان	فرق النتخن في راحة القدم تجاه مستضد اللسترين		فرق النتخن في راحة القدم تجاه المستضد الذائب للزوائف الزنجاريه	
	24 ساعه	48 ساعه	24 ساعه	48 ساعه
1	1.5	1	0.9	0.7
2	1.1	1	1	0.8
3	1.8	1.5	1.4	1
4	2	1.7	1.7	1.2
5	1.3	0.8	1	0.6
6	2.2	1.8	2	1.5
7	1.8	1.2	1.4	1
8	0.7	0.4	0.5	0.3
9	1.3	0.7	1	0.8
10	1.5	0.6	1.2	0.6

0.85	1.11	1.07	1.52	المعدل
0.10	1.16	0.15	0.14	الخطأ القياسي

نتائج العزل الجرثومي

لم يسجل اي عزل جرثومي من الاعضاء الداخليه للحيوانات الممنعه بينما عزلت جرثومة الزوائف الزنجاريه بكثافة من الاعضاء الداخليه في الحيوانات غير الممنعه والمصابة بهذه الجرثومه (جدول:2) .

جدول:2 يبين العزل الجرثومي من الاعضاء الداخليه للحيوانات غير

الممنعه والمصابه بالزوائف الزنجاريه

القلب	الكلية	الرئة	الطحال	الكبد	وقم الحيوان
+++	+++	+++	+++	+++	1
+++	++++	+++	+++	++++	2
+++	++++	++++	+++	+++	3
++	+++	+++	++++	+++	4
++	+++	+++	++++	+++	5
+	++	++	++	++	6
++	+++	+++	+++	+++	7
+++	+++	+++	+++	+++	8
+++	++++	++++	++++	++++	9
+	++	++	++	++	10

+ يمثل عزل جرثومي قليل

++ يمثل عزل جرثومي متوسط

+++ يمثل عزل جرثومي شديد

++++ يمثل عزل جرثومي شديد جدا

التغيرات المرضيه العيانيه والاعراض السريرييه

لم تسجل اعراض سريرييه واضحه على الحيوانات الممنعه بعد جرعة التحدي بالزوائف الزنجاريه ولم يهلك اي حيوان منها بينما لوحظ ارتجاف وانطواء الحيوانات في مكان واحد في مجموعة السيطره الموجبه فضلا عن الاسهال وعدم تناول الغذاء ولقد هلكت جميع الحيوانات بعد 2-3 ايام من الاصابه:

التغيرات المرضيه المجهرية

تميزت التغيرات المرضيه المجهرية في الاعضاء الداخليه للحيوانات الممنعه بفرط تنسج اللب الابيض للطحال (شكل:1) وتكثيف خلوي لمفي حول الوريد المركزي للكبد مع وجود خلايا تعاني من الموت المبرمج واورام حبيبيه قليلة العدد وصغيرة الحجم في متن الكبد (شكل:2) وسجل تجمع الخلايا اللمفيه حول الاوعيه الدمويه والنسيج الخلاي للرئه (شكل:3) والكلنوحول الاوعيه الدمويه بين الالياف العضليه للقلب

حيوانات السيطره الموجبه:

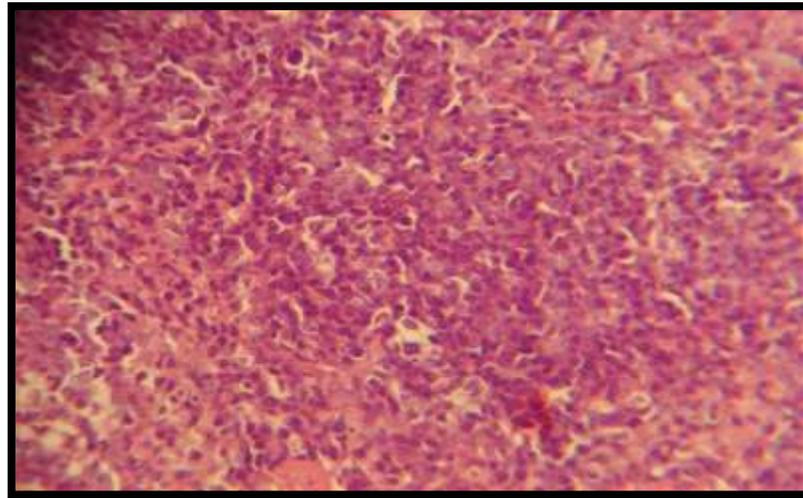
الكلى: اوضح الفحص النسيجي للكلى في الحيوانات غير الممنعه والمصابه بالزوائف الزنجاريه ارتشاح شديد للخلايا الالتهابيه وخاصة العدلات في النسيج الخلاي للكلية مع وجود المستعمرات الجرثوميه فضلا عن وجود تغيرات تنكسيه تميزت بتقجي هيولي الخلايا المبطنه للنببيات الكلويه مع توسف وتهتك تلك الخلايا (شكل:4)

الكبد: بين الفحص المجهرية احتقان الاوعيه الدمويه واحتواء نجاويفها على الخلايا الالتهابيه وخاصة العدلات مع وجود الخثره الدمويه فضلا عن تنخر الخلايا الكبدية واختفائها وحل محلها ارتشاح شديد للعدلات والبلاعم الكبيره (شكل:5) واوضح الفحص النسيجي تنكس خلوي حاد في الخلايا الكبدية تميز بتقجي هيولي الخلايا الكبدية وتورمها مما ادى الى انسداد اوصيق الجيبانيات اضافة الى وجود خلايا تعاني من الموت المبرمج (شكل:6).

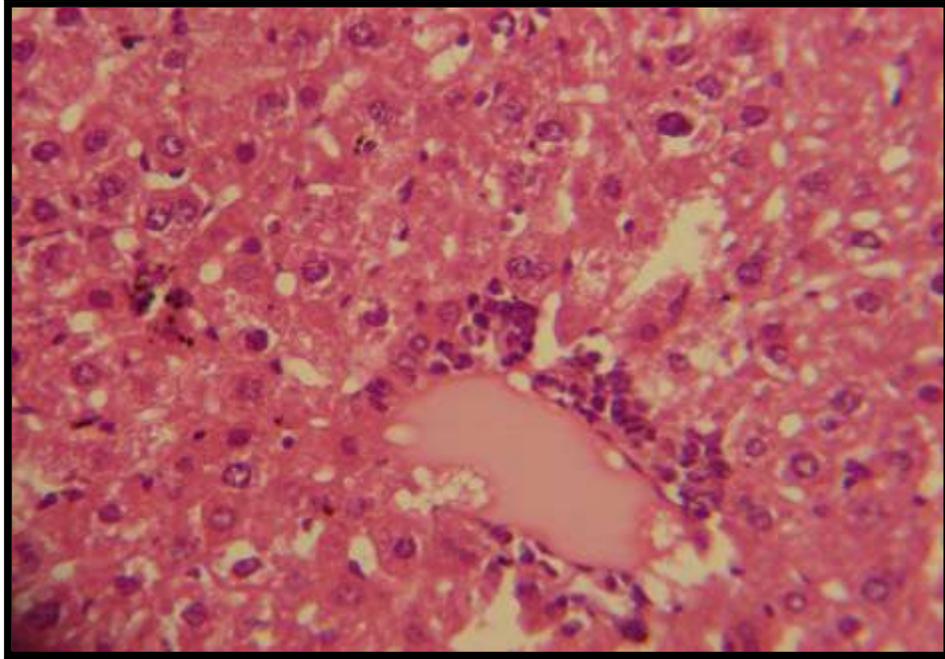
الرئه: لوحظ تنخن الحواجز بين الاسناخ الرئويه لارتشاحها بالخلايا الالتهابيه واحتقان الاوعيه الدمويه مع وجود تجمعات من الخلايا الالتهابيه وخاصة العدلات والبلاعم الكبيره في النسيج الخلاي للرئه (شكل:7).

الطحال: بين الفحص النسيجي تشتت وتنخر اللب الابيض للطحال مع ارتشاح الخلايا الالتهابيه ولاسيما العدلات والبلاعم الكبيره في اللب الاحمر (شكل:8).

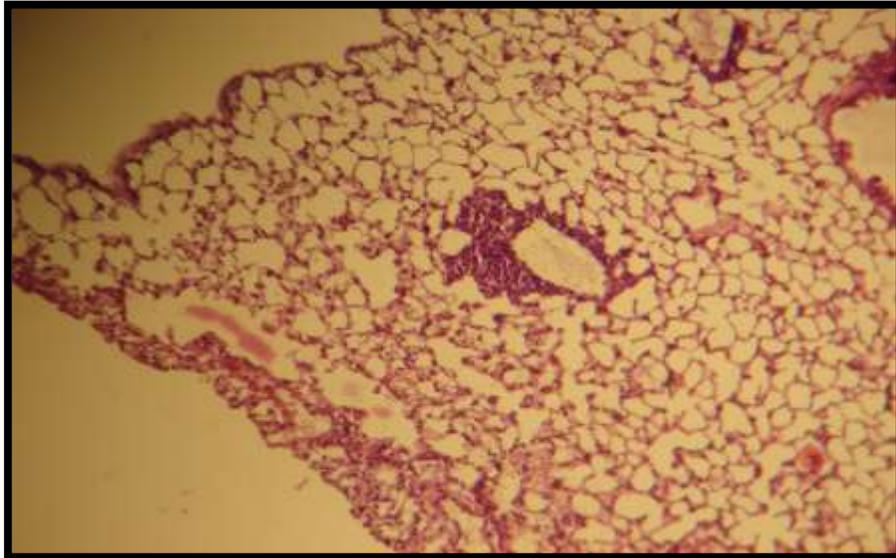
القلب: تميزت التغيرات المرضيه في القلب بارتشاح العدلات والبلاعم الكبيره حول الاوعيه الدمويه المحتقنه بين الالياف العضليه للقلب



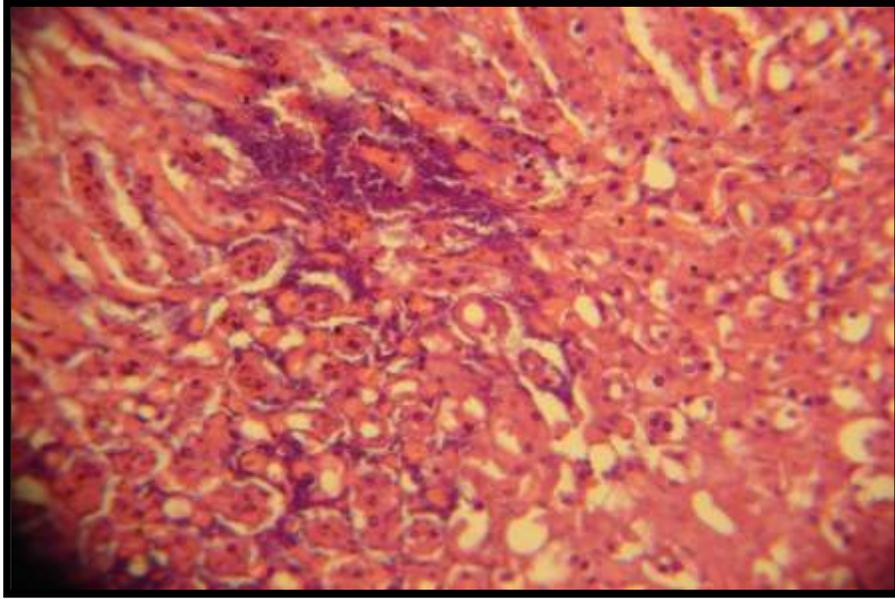
شكل:1مقطع نسيجي في طحال احد الحيوانات الممنعه يوضح فرط تنسج اللب الابيض وتكاثر الخلايا وحيدة النواة حول الجيبانيات (H&E40X)



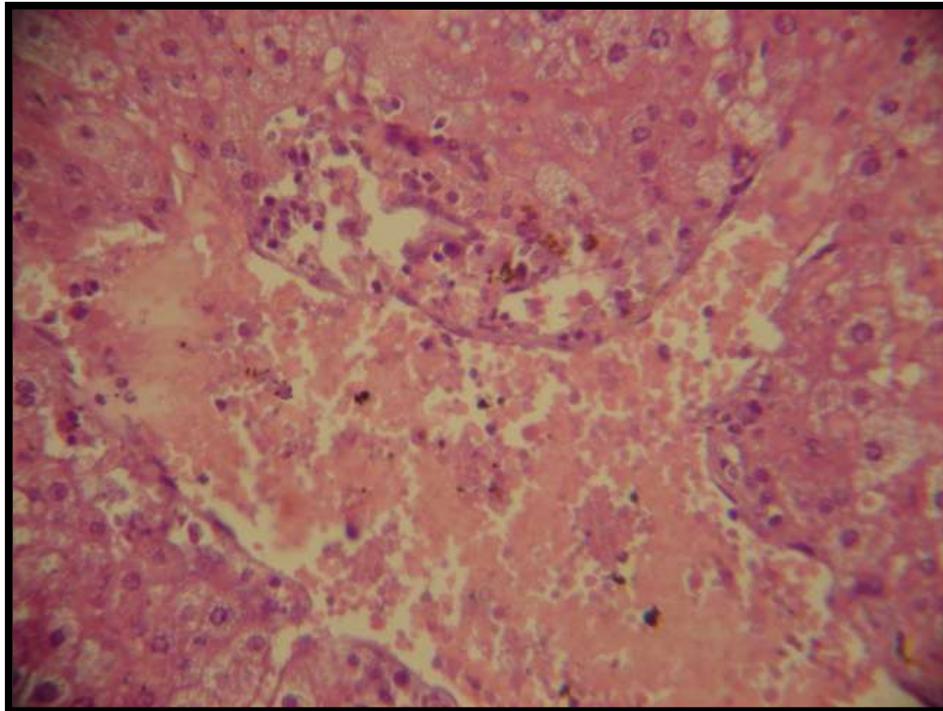
شكل:2 مقطع نسجي في كبد احد الحيوانات الممنعه يبين تجمع الخلايا وحيدة النواة حول الوريد المركزي وتكاثر خلايا كفر اضافة الى وجود خلايا تعاني من الموت المبرمج فضلا عن وجود اورام حبيبيه صغيرة الحجم في متن الكبد(H&E40X)



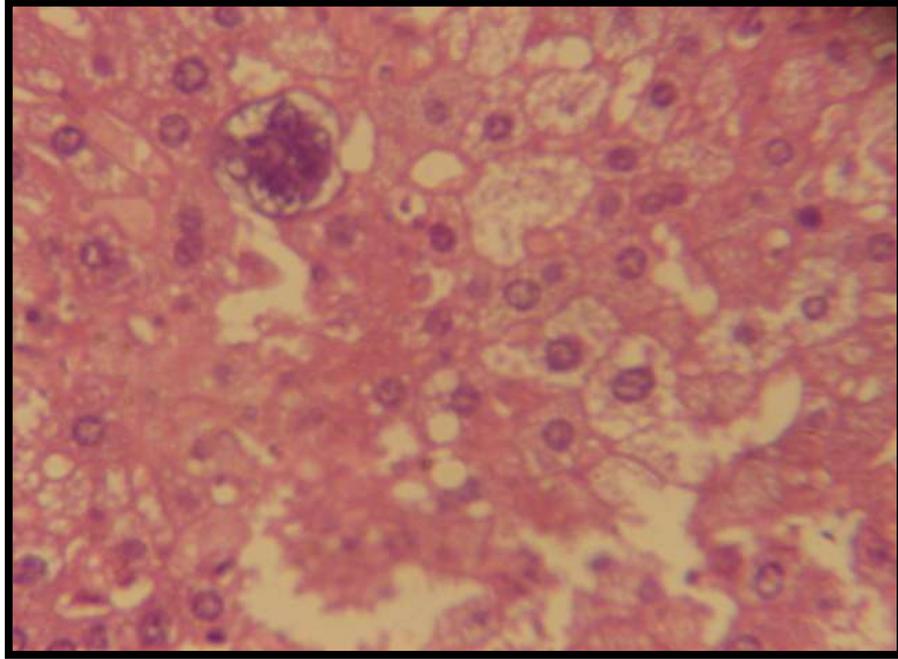
شكل:3 مقطع نسجي في رئة احد الحيوانات الممنعه لاحظ تجمع الخلايا وحيدة النواة حول الاوعية الدمويه والممرات الهوائيه(H&E20X)



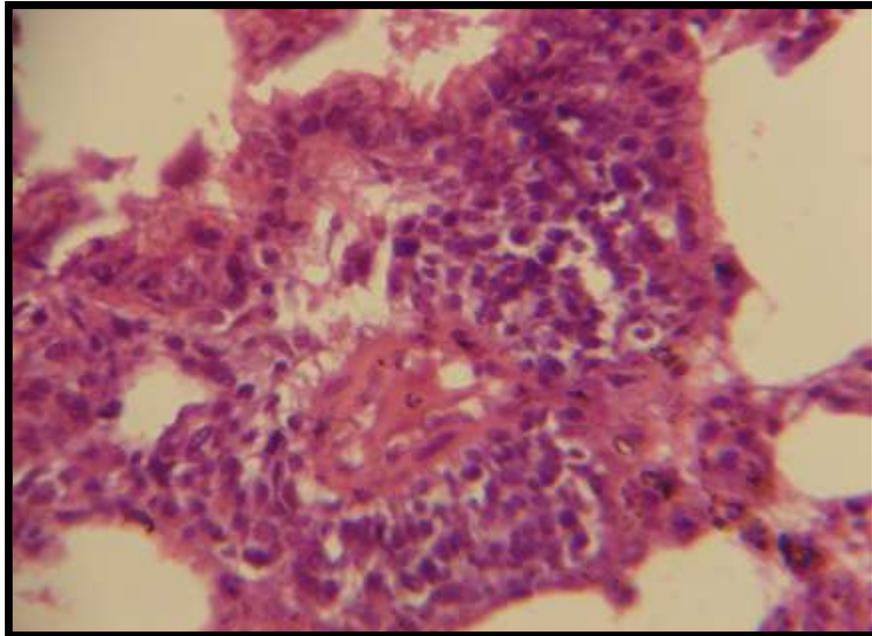
شكل:4 مقطع نسجي في كلى احد حيوانات السيطره الموجيه يوضح ارتشاح العدلات في النسيج الخلالي للكلى مع وجود المستعمرات الجرثومية(H&E20X)



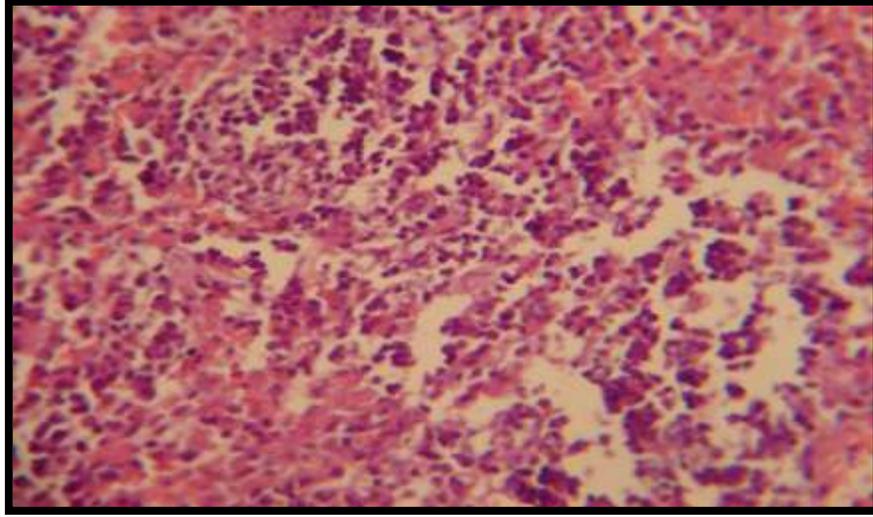
شكل:5مقطع نسجي في كبد احد حيوانات السيطره الموجيه يوضح تحتقان الاوريه الدمويه واحتواء نجاويها على الخلايا التهابيه فضلا عن تتخر الخلايا الكبديه وارتشاح الخلايا الالتهابيه في متن الكبد(H&E40X)



شكل:6مقطع نسجي في كبد احد حيوانات السيطره الموجبه يبين التغيرات التنكسيه الحاده مع وجود خلايا تعاني من الموت المبرمج (H &E40)



شكل:7مقطع نسجي في رئة احد حيوانات السيطره الموجبه يوضح تثخن الحواجز بين الاسناخ الرئويه مع وجود تجمعات من الخلايا الالتهابيه في النسيج الخلاي للرئه (H&E40X)



شكل:8 مقطع نسجي في طحال احد حيوانات السيطره الموجهه يبين تشتت وتخر اللب الابيض للطحال مع ارتشاح الخلايا الالتهابيه في اللب الاحمر (H&E40X)

المناقشه

بينت نتائج الدراسه بان المستضد الكلي المتكسر لجرثومة اللستريا حفز استجابته مناعيه خلويه في الحيوانات الممنعه وان الفحص الجلدي الموجب تجاه مستضد الزوائف الزنجاريه الذائب يشير الى التصالب المناعي بين هذه الجرثومه و جرثومه اللستريا او ان مستضد اللستريا حفز استجابته مناعيه غير متخصصه وفرت حمايه جيده ضد جرعة التحدي بالزوائف الزنجاريه وتوافقت هذه النتيجة مع نتائج العزل الجرثومي ونتائج التغيرات المرضيه حيث لم يسجل عزل جرثومي من الاعضاء الداخليه للحيوانات الممنعه بعد جرعة التحدي لقد توافقت نتائج هذه الدراسه مع ماذكر من قبل الزامل (16) حيث لاحظ بان تمنيع الفئران بالمستضد الطافي لجرثومه اللستريا او الجرثومه المقتوله بالفورمالين حفز استجابته مناعيه خلويه وخليطيه ضد الزوائف الزنجاريه ولم يسجل عزل جرثومي من الاعضاء الداخليه للحيوانات الممنعه. ان المستضد الكلي المتكسر لجرثومه *L.monocytogenes* يحتوي على كل مستضدات الجرثومه حيث ان جرثومه اللستريا من الجراثيم موجبة صبغة الكرام وان جدار الخلية لهذه الجراثيم يلعب دورا مهما في تفاعلها مع انسجة المضيف (17). يتألف جدار خلية الجرثومه الموجهه لصبغة كرام من الببتايدوكلايكان المرتبط مع حامض التايلك ومتعدد السكريد والبروتين. *peptidoglycan linked with teichoic acid, polysaccharides and proteins* وهذه المستضدات تلعب دورا مهما في تحفيز الاستجابته المناعيه للمضيف (18).

ولقد اوضحت العديد من الدراسات السابقه بان هذه المستضدات تحفز الخلايا المفيه التائيه النوع CD4+Tcell للكناثر والتمايز الى Th1 Tcells (19) وكذلك تحفز الخلايا المفيه النوع CD8+ Tcell للكناثر والتمايز الى الخلايا المفيه السامه (20) وهذه الخلايا المتحسسه تفرز العديد من تامدورات الخويه ومنها *interferon-gamma (IFN-y)* الذي ينشط ويحفز البلاعم الكبيره ويزيد من قابليتها على التهام وقتل مسببات المرضيه وعرض مستضداتها على بروتين الشد السطحي النوع MHC-Class II (21) ان جرثومه الزوائف الزنجاريه هي جراثيم سالبه صبغة كرام ويتألف جدارها من ثلاث طبقات وهي الطبقة الداخليه او غشاء الهيولي *cytoplasmic membrane* والطبقة الببتايدوكلايكان والغشاء الخارجيه *peptidoglycan and outer membrane* الذي يتألف من متعدد السكريد الشحمي (22). ان المناعه الخلطيه والتي تعتمد على الاضداد ضد سلسله *O side chain* منعدد السكريد الشحمي تلعب دورا مهما في مقاومة الاصابه بالزوائف الزنجاريه اضافة الى المناعه الخلويه (23) حيث ان الزوائف الزنجاريه في احدى مراحل امراضيتها تخترق خلايا جسم المضيف مسببه الموت المبرمج (*apptosis*) وتعد جراثيم ضمن الخليه حيث تلعب البلاعم النشطه دورا مهما في قتلها اضافة الى دور الخلايا المفيه السامه وهذا يفسر وجود خلايا تعاني من الموت المبرمج في كبد الحيوانات الممنعه اوغير الممنعه بعد الاصابه بالزوائف الزنجاريه اضافة الى وجود اورام حبيبيه صغيره في كبد احد الحيوانات الممنعه بعد جرعة التحدي.

ان الالية الدفاعية ضد جرثومة الزوائف الزنجارية تعتمد على الاستجابة المناعية الخلوية والخلطية(24) حيث تعمل الاضداد على طهي الجرثومة وتساعد عملية البلعمة من قبل الخلايا البلعمية وان الخلايا اللمفية التائية لها عمل تازري للخلايا اللمفية البائية لتكاثرها وتمايزها لخلايا البلازما المنتجة للجسام المضادة(25). وهذه الحقائق تسند نتائج الدراسة الحالية التي اشارت الى عدم وجود عزل جرثومي من الاعضاء الداخلية للحيوانات الممنعة مع عدم وجود تغيرات مرضية مهمة مقارنة بحيوانات السيطرة الموجبه مما يشير الى ان مستضد اللسنريا حفز استجابة مناعية خلوية وخلطية ضد الزوائف الزنجارية.

لقد اعتمدت فكرة التلقيح ضد الزوائف الزنجارية على تحفيز استجابة مناعية خلطية ضد O-antigen portion of LPS للجرثومة ولكن هذه الاستجابة تعمل على طهي الضروب المصلية المحضرة منها المستضد فقط(26) ولقد سجل 10 ضروب مصلية تسبب الاصابات السريرية وهذه الضروب تختلف في التركيب الكيميائي لسلسلة O-side chain (27) مما دفع الباحثين لاجاد لقاحات مركبة ضد الزوائف الزنجارية. لقد بين, Antonio et al.(27), بان تمنيع الفئران بلقاح مركب من جراثيم *Salmonella enterica serovar typhimurium expressing Pseudomonas aeruginosa O antigen*. وفر حمايه جيده ضد جرعة التحدي بالزوائف الزنجارية. ان فرط تنسج اللب الابيض للطحال وارتشاح الخلايا اللمفية في الاعضاء الداخلية للحيوانات الممنعة بعد جرعة التحدي يمكن ان يكون بسبب تحسس للخلايا اللمفية للمستضدات الجرثومية في الطحال وانتقالها الى بقية الاعضاء الداخلية ويشير الى نمو استجابة مناعية خلوية ضد الزوائف الزنجارية وتوافقت هذه النتائج مع ما ذكر من قبل بعض الباحثين حيث اكدوا بان فرط التنسج اللمفي يشير الى الاستجابة المناعية الخلوية (28و29).

ان العزل الجرثومي الكثيف من الاعضاء الداخلية للحيوانات غير الممنعة والمصابه بالزوائف الزنجارية اضافة الى هلاك جميع الحيوانات المصابه والتغيرات المرضية الشديده في اعضائها الداخلية يشير الى ضراوة العترة الجرثومية المستخدمة في هذه الدراسة. تمتلك جرثومة الزوائف الزنجارية على العديد من عوامل الضراوه مثل S exoenzyme حيث يسبب هذا العامل نحطم خلايا الاعضاء الداخلية وانتاج المدورات الخلوية المسؤله عن ارتشاح العدلات وتسبب الصدمه septic shock مثل tumor necrosis factor alpha,interleukin-1,Nitric oxid and interleukin-8 (30و31) كذلك فان هذا الانزيم له عمل داخل الخلية الهدف ويسبب تحللها وله عمل خارج الخلية حيث بحسس الخلايا اللمفية التائية ويسبب لها الموت المبرمج (32و33).

نستنتج من هذه الدراسة بان المستضد الكلى المنكسر لجرثومة *L.monocytogenes* حفز استجابة مناعية جيده ضد الاصابه بالزوائف الزنجارية في الفئران ويمكن استخدام هذه المستضدات في تحضير اللقاحات المركبه ضد الزوائف الزنجارية. 11- الجبوري, نغم محمد عيال. تأثير التمنيع بجراثيم الليستريا مونوسايبتوجينيس على الجراثيم الداخل خلوية الاخرى. رساله ماجستير - كلية الطب البيطري-جامعة بغداد. 2002.

REFERENCES

- 1-Botzenhart,Kand Ruden,G.Hospital infectious caused by *Pseudomonas aeruginosa*.In:Doring,G.e al., eds.Basic Redearch and Clinical aspects of *Pseudomonas aeruginosa*.Antibiot.Chemother.39:1-15,1987.
- 2-Frazier,WC. And Wasthoff,DC.Food microbiology.3rd ed.P49.TATA McGraw-Hill Publishing Company.
- 3-Botzenthart,K. and Doring,G.Ecology and epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa*.In:Campa,M,et al,eds.*Pseudomonas aeruginosa* as an opportunistic infection.New York/Plenum Press .PPI-18.
- 4-Vasil,ML,Graham,LM;Ostroff,RM and Vasil.LM.Phospholipase C;molecular iology and contribution to the pathogenesis od *P.aeruginosa*.Antibiot.Chemo.44:34-47.1991.
- 5-Vasil,ML.and Iglewski,BH.Comparative toxicity of difersal toxin and *Pseudomonas* exotoxin-alpha.Evidence for different cell receptors.J.Gen.Microbiol.108:333-337.1978.
- 6-Govan,JR and Deretic,V.Microbial pathogenesis in cystic fibrosis:mucooid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*.Microbiol.Rev.60:539-574.2000.
- 7-Bleves,SR.;Soscia,CD;Nogueira,OP and Filloux,AB.Q uorum sensing negatively control typeIII secretion regulone expression in *Paedomonas aeruginosa* .J.Bacteriol 187:3898-3902.2005.
- 8-Todar,K.Posting date,Todars online textbook of bacteriology.University of Wisconsin-Madison Department of bacteriology.2002.
- 9-Pier,GB.Promises and Pitfalls of *Paedopmonas aeruginosa* lipopolysacchride as a vaccine antigen.Carbohydrate Res.338;2549-2556.2003.
- 10-HormaechemCE;Mastroni,JA;Garrison,RC.;Demacro,HS.and Stocker,BA.Protection against oral challenge three months after i.v.immunization of BALB/Cmice with live *S.typhimurioum* and *S.enteritidis*

vaccines is serogroup-dependent and only partially determined by main LPS Oantigen. *Vaccine*.14:251-259.

12-Holt,JG;Kreig,NP.;Sneash,PH.;Staley,JT.and Williams,ST.Gram negative aerobic microphilic rods and cocci.In:Bergy manual of determinative bacteriology,9th eds Williams and Wilkins,USA.PP168-171.1994.

13-Halliburton,BL. And Blaskovec,ASA.Delyaed hypersensitivity and acquired cellular resistance in guinea pigs infected with *L.monocytogenes*.*Infect.Immun*.11:54-56.1975.

14-Miles,AA;Misra,SS. And Irwin,JO.The estimation of bactericidal power of blood.*J.Hyg*.38:732-749.1938.

15-Luna,LG.Manual of gistologic staining methods of the armed forces Institute of pathology.3rd ed .Mcgrow.Hill.Book company.New York.1968.

16-Al-zamily,KY.The role of Listeria monocytogenes antigens in immune response against *Pseudomonas aeruginosa* infection in mice.A thesis of MSc submitted to the council of the College of Vet.Med.Uni.Baghdad.2007

17-MarraffiniLA;DedentAC and SchneewindO ,Sortase and the art of anchoring protein to the envelopes of gram-positive bacteria.*Microbiol.Mol,Biol.Rev*.70,192-221,2006.

18-BackSY;LimAY, LeeDH;MinKH and KimCM,Incidence and characterization of Listeria monocytogenes from domestic and imported food in Korea.*J.Microbiol.Immun.Infect*.,63,186-190,2007.

19-Dunji,B;Ayub,DM.;Gakamsky,MF;Israel,PJ.and Siegfried,W.Efficient induction of cytotoxic CD8+T cells against exogenous proteins:establishment and characterization of a T cell line specific for the membrane protein ActA of *L.monocytogenes* .*Jimmunol*.38:26302639.2000.

20-Macatonia,S;Hsieg,CS;Murphy,KM. and Ogarra,A.Dendritic cells and macrophages are required for the development of CD4+ Tcells from alpha and beta TCR transgenic mice IL-12 substitution for neoplasm to stimulate IFN. Produced I,IFN- γ -dependent. *Int.Immunol*.5;1119-1122.1993..

21-Kawamura,L;Tsukada,H.;Yoshikawa,H.Fujii,G. and Mitsayama,M.It is producing ability a possible marker for the protective T-cell against Mycobacterium bovis BCG in mice .*J.Immunol*.148;2887-2893.1993.

22-MuthariaLM;NicasTI and HancockREW,Outer membrane protein of *Pseudomonas aeruginosa* serotyping strains.*J.Infect,Dis*.46:770-778,1982.

23-CryzSJ;LangJR;SadoffJC;GermanierR and FurerE,Vaccine potential of *Pseudomonas aeruginosa* O-polysaccharide-toxinA conjugate.*Infect,Immun*.55:1547-1551,1987.

24-Jang,LJ.;Kim,IS;Pak,WJ;Yeo,KS. And Kim,HS.Human immune response to *P.aeruginosa* outer membrane protein vaccine. *Vaccine*.17:158-168-1999

25-Dunkley,ML.;Clancy,RL;Cripps,AW.Anle of CD4+ T cells from orally immunized rats in enhanced clearance of *P.aeruginosa*.*Immunol*.83:362-369.1994.

26-Hatano,KS;Boisot,D;Desjardins,DC;Wrigjt,J.;Brisker,B. and Pier,GB.Immunogenic and antigenic properties of a heptavalent high molecular weight O-polysaccharide vaccine derived from *P.aeruginosa*.*Infect.Immun*.62:3608-3616.1994.

27-Antonio,D;Jayasimha,R. and Joanna,BG.Oral vaccination of BALB/c Mice with *S.enterica serovar typhimurium* expressing *P.aeruginosa* O antigen promotes increased survival in an acute fatal pneumonia model.*Infect.Immun*.72:7012-7021.2004.

28-Alwan,M.J.Study of some aspects of Nocardiosis in animals in Iraq.Ph.D.Thesis,University od Baghdad.1996

29-Nazar,MS.Study on immunopathological changes caused by *L.monocytogenes* in mice and lambs Ph.Thesis,Uni.Bagdad.2006

30-Cripps,AW;DunkleymML;Clancy,RL. And Kyd,J.Vaccine strategies against *P.aeruginosa* infection in the lung.*Behring Int.Mitt*.98:262-268.1997.

31- Schweizer,HP.Efflux as a mechanism of resistance to antimicrobial in *P.aeruginosa* and related bacteria *Genet.Mol.Res*.2:48-54.2003.

32-Sato,H and Frank,DW.ExoU is a potent intracellular phospholipase .*Mol.Microbiol*.53:1279-90.2005.

33-Yahr,TL.;Vallis,AJ.;Hancock,MK.and Frank,DW.Exoy,an adenylate cyclase secreted by *P.aeruginosa* typeIII system.*Proc.Natl Acad Sci.USA*.95:13899-904.1998.

