3-2-7 اختبار فعالية الذيفان الكبدي Bioassay of hepatotoxin

تم اختبار فعالية الذيفان الكبدي من خلال اجراء اختبار وظيفة الكبد (Liver function test)، والذي تضمن تقدير تركيز انزيمات الكبد (GPT, GOT, ALP).

قسمت الفئران المخصصة لهذا الاختبار إلى ثلاث مجاميع وبواقع 6 فئران لكل مجموعة، حقنت ثلاث فئران من كل مجموعة بـ 100 مايكروغرام/0.5 مل لكل فأرة من مستخلص الذيفان الكبدي في الوريد (Intravenous)، في حين حقنت الفئران الثلاثة الاخرى بـ 100 مايكروغرام /0.5 مل من مستخلص عديد السكريد الشحمي المحضر في الفقرة. تم سحب الدم من القلب بعد تخدير الفئران بثاني اثيل الاثير وتشريحها، اذ جمع الدم من فئران المجموعة الاولى بعد مرور يومين، ومن المجموعة الثانية بعد مرور خمسة ايام اما المجموعة الثالثة فسحب منها الدم بعد مرور عشرة ايام، كما حقنت ثلاث فئران بمحلول دارئ الفوسفات كسيطرة (kita *et al*., 1990). بعد جمع الدم بالأنابيب المعقمة والخالية من مانع التجلط تركت ليتخثر الدم بعدها نبذت لمدة 5 دقائق بسرعة 3000 دورة/ دقيقة. جمع المصل ووضع في انابيب حفظ العينات (Frei *et al.*, 1995).

تم تقدير تركيز انزيمات الكبد باستخدام جهاز (Reflotron) باستعمال اشرطة (Strips) خاصة لكل انزيم مجهزة من شركة (Roche Diagnostic Ltd, Germany). اذ وضع 25 مايكروليتر من المصل على مكان خاص في الشريط، ثم ادخل الشريط في المكان المخصص في جهاز (Reflotron) ، وبعد مرور 140 ثانية ظهرت القراءة وهي تمثل تركيز الانزيم في المصل.

3-2-8 الدراسة المرضية في الحيوان المختبري

Pathological study in lab animal

3-2-8-1 تحديد الجرعة المهلكة للنصف LD_{50}

3-2-8-1-1 تحديد الجرعة المهلكة للنصف LD_{50} لبكتريا *C. jejuni*

1- تحضير العالق البكتيري

لقح وسط مرق البروسيلا بمزروع نقي من العزلة البكتيرية (3) وحضن في ظروف اليفة الهواء القليل بدرجة 42 مº لمدة 48 ساعة بعدها تم ترسيب الخلايا بالمنبذة بسرعة 6000 دورة/دقيقة لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 4 مº ثم غسلت الخلايا مرتين بمحلول دارئ الفوسفات

وعلقت بعدها بالدارئ نفسه عندها تم مقارنة العكورة المتكونة مع أنبوبة مكفرلاند القياسية رقم 10 التي تحوي عدد تقريبي 3×10^{10} وبعد الحصول على العكورة المناسبة عملت منه سلسلة تخافيف عشرية للحصول على التراكيز الخلوية التالية (10^8،10^9، 10^7 و 10^6) خلية/مل.

2- حقن الفئران بالعالق البكتيري لتحديد الجرعة المهلكة للنصف LD_{50}

قسمت الفئران إلى ٥ مجاميع وبواقع 5 فئران لكل مجموعة وحقنت كل مجموعة بواقع 1 مل لكل فأرة بأحد التراكيز البكتيرية (10^6، 10^7، 10^8، 10^9 و10^{10}) خلية/مل داخل الغشاء البريتوني (Intraperitoneum)، أما مجموعة السيطرة فقد حقنت بمحلول دارئ الفوسفات بواقع 1 مل لكل فأرة، وبعد مرور 6 أيام تم حساب الفئران الميتة والحية ضمن المجموعة الواحدة، وتم إيجاد الجرعة المهلكة للنصف بحسب ما جاء في Reed and Muench (1938).

3-2-8-1-2 تحديد الجرعة المهلكة للنصف LD_{50} للذيفان الكبدي

حُضّر خزين من الذيفان الكبدي وحضرت منه التراكيز التالية (100، 200، 300، 400، 500 و 600) مايكروغرام/ مل بوساطة محلول دارئ الفوسفات، ثم حقن 0.5 مل من كل تركيز وبواقع 5 فئران داخل الغشاء البريتوني(Intraperitoneum)، أما مجموعة السيطرة المتكونة من 5 فئران أيضاً فقد حقنت بـ 0.5 مل من محلول دارئ الفوسفات لكل فأرة، وبعد مرور 5 أيام تم حساب عدد الفئران الميتة والحية ضمن المجموعة الواحدة وتم عندها تحديد الجرعة المهلكة للنصف LD_{50} لمستخلص الذيفان الكبدي بحسب ما جاء في Reed and Muench (1938) .

3-2-8-2 دراسة التأثيرات المرضية لكل من العالق البكتيري والذيفان الكبدي

درست التأثيرات المرضية التي بدت على الفئران المحقونة بـ 10^8 خلية/مل وكذلك الفئران المحقونة بـ 400 مايكروغرام/0.5 مل من الذيفان الكبدي بالمقارنة مع فئران السيطرة، وتضمنت التأثيرات المرضية ما يلي:

3-2-8-2-1 التغيرات المرضية الظاهرية

لوحظت العلامات المرضية البادية على الفئران المحقونة بالعالق البكتيري وتم بعد ذلك تشريح الفئران وعرضت الأحشاء الداخلية إلى الفحص بالعين المجردة لتعيين وجود العلامات المرضية أو غير الطبيعية على الأعضاء مقارنة بفئران السيطرة.

3-2-8-2-2 التغيرات المرضية النسيجية

تمت دراسة التغيرات المرضية في انسجة الاعضاء (الامعاء، الكبد، الطحال). واستخدمت طريقة Humason (1972) لتحضير المقاطع النسيجية لها. اذ ثبتت القطع المأخوذة من الكبد والطحال والامعاء للفئران المعاملة بغمرها مباشرة في محلول 10% فورمالين لمدة 24 ساعة. ثم غسلت بالماء الجاري ومررت في سلسلة من الكحولات المتصاعدة بتركيز (50% و70% و80% و90% و100%) لمدة ساعتين في كل تركيز، وتم ترويقها (Clearing) بالزايلول لمدة ساعة وشبعت بعدها بالبرافين وطمرت فيه لمدة 3 ساعات مع تغيير شمع البرافين مرة كل ساعة. قطعت القوالب إلى شرائح بسمك 6 مايكروميتر باستعمال جهاز المشراح (Microtome) وتم تثبيتها على شرائح زجاجية نظيفة باستخدام مادة الغلسيرين وصبغت بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين الكحولي وذلك بغمر الشرائح في الزايلول لمدة 10 دقائق، ثم سلسلة متدرجة من تراكيز الكحول الاثيلي (Hydration) (70%،90%و100%) لمدة دقيقة في كل تركيز بعدها في ماء مقطر لمدة دقيقة صبغت بعدها بالهيماتوكسلين لمدة 5 دقائق وغسلت بماء الحنفية ثم بكحول محمض بعده بماء الحنفية، أعقبة ماء مقطر. صبغت الشرائح بالايوسين لمدة دقيقة ثم مررت بالكحول الاثيلي (70%،90%و100%) لمدة دقيقتين لكل منها وغمرت بالزايلول لمدة 10 دقائق، جففت الشرائح ووضع كندا بلسم وغطاء الشريحة ثم فحصت بالمجهر الضوئي.

3-2-9 الدراسة المناعية في الارنب لمستضدات بكتريا *C. jejuni*

3-2-9-1 تحضير المستضدات البكتيرية

استخدم مستضد الذيفان الكبدي المحضر في الفقرة (٣-٢-٤) ومستضد عديد السكريد الشحمي المحضر في الفقرة (٣-٢-٥) اما المستضد السطحي للبكتريا السالبة لصبغة غرام المقتول حرارياً (Heat killed bacterial antigen) فقد حضر وفقاً لطريقة Svanborg-Eden وجماعته (١٩٨٥) المحورة من الذهب (٢٠٠٦) كما يلي:-

1. حضرت مزرعة نقية للعزلة البكتيرية على وسط اغار الدم.
٢. اضيف 6 مل من محلول الملح الفورماليني ٠,٥% على سطح الطبق الحاوي على المزرعة البكتيرية ثم جرف النمو من على سطح الطبق بوساطة عروة ناقلة معقمة.
3. جمع المغسول بشكل عالق ومزج باستعمال جهاز المازج لمدة 3 دقائق.
٤. اخذ 5 مل من العالق ونبذ مركزياً بسرعة 4000 دورة/ دقيقة لمدة 5 دقائق.
5. اهمل الرائق وعلق الراسب لغرض غسله بوساطة 5 مل من محلول الملح الفورماليني و نبذ مركزياً بعد ممازجته بسرعة 3500 دورة/ دقيقة لمدة 5 دقائق.

٦. اهمل الرائق وعلق الراسب بـ5 مل من محلول الملح الفورماليني ومزج بجهاز المازج.

7. اخذ 1 مل من العالق ووضع في انبوبة وتم مقارنته مع جهاز قياس العتومة (WHO standard opacimeter) واكمل الحجم في الانبوبة بإضافة محلول الملح الفورماليني الى ان تصبح عتومة العالق مساوية لعتومة الانبوبة القياسية فيصبح التركيز النهائي للعالق المستضدي 10 وحدات دولية. ثم مزج بجهاز المازج لمدة 3 دقائق.

٨. وضع العالق المستضدي في حمام مائي بدرجة حرارة 60 مº لمدة 30 دقيقة.

٩. تم اجراء فحص العقم (Sterility test) على العالق المستضدي بأخذ ملئ عروة الناقل المعقمة من هذا العالق وخططت على وسط اغار الدم، ثم حضنت بدرجة حرارة ٤٢ مº لمدة ٤٨ ساعة، في حالة عدم ظهور النمو البكتيري يكون المستضد المحضر جاهزاً للاستعمال وقد اجري فحص العقم لجميع المستضدات المستخدمة في هذه الدراسة.

3-2-9-2 برنامج التمنيع

حقنت اربعة ارانب لكل مستضد من مستضدات بكتريا *C. jejuni* المحضرة سابقاً (المستضد المقتول، مستضد عديد السكريد الشحمي ومستضد الذيفان الكبدي) اضافة الى المساعد المناعي CFA شركة (Difco/USA) بنسبة 1:1 بحسب طريقة Bradshow (1996) والمحورة من الذهب (2006) كما حقنت ثلاثة ارانب بالمحلول الملحي الطبيعي كسيطرة كما مبين في الجدول (3-4).

جدول (3-4) تصميم التجربة المناعية

المجاميع / المعاملات		المستضد المقتول	مستضد عديد السكريد الشحمي	مستضد الذيفان الكبدي	السيطرة
عدد الحيوانات		٤	٤	٤	٣
التركيز		10وحدات دولية/مل	١,٥ ملغم/كغم	١ملغم/كغم	٠
كمية الجرعة	الاسبوع الاول	١ مل(٠,٥ من المستضد+ ٠,٥ من المساعد المناعي)	١ مل(٠,٥ من المستضد+ ٠,٥ من المساعد المناعي)	١ مل(٠,٥ من المستضد+ ٠,٥من المساعد المناعي)	١ مل من المحلول الملحي الطبيعي
	الاسبوع الثاني	١ مل من المستضد	١ مل من المستضد	١ مل من المستضد	

	الاسبوع الثالث	١ مل من المستضد	١ مل من المستضد	١ مل من المستضد	
موقع الحقن		٠,٢٥ مل في العضلة اليمنى	٠,٢٥ مل في العضلة اليمنى	٠,٢٥ مل في العضلة اليمنى	٠,٢٥ مل في العضلة اليمنى
		٠,٢٥ مل في العضلة اليسرى	٠,٢٥ مل في العضلة اليسرى	٠,٢٥ مل في العضلة اليسرى	٠,٢٥ مل في العضلة اليسرى
		٠,٢٥ مل تحت الجلد	٠,٢٥ مل تحت الجلد	٠,٢٥ مل تحت الجلد	٠,٢٥ مل تحت الجلد
		0.25 تحت الرقبة	0.25 تحت الرقبة	0.25 تحت الرقبة	0.25 تحت الرقبة

الاسبوع الخامس:- تم سحب الدم من الأرانب بوساطة طعنة القلب ووضع نصف كمية الدم في أنابيب نظيفة ومعقمة بدون مانع تخثر للحصول على المصل، إذ تركت الأنابيب في درجة حرارة الغرفة ليتخثر الدم وبعدها وضعت في جهاز النبذ المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 5 دقيقة، ثم تم فصل المصل بوساطة أنابيب باستور المعقمة ووضع في أنابيب جمع العينات التي تم حفظها في التجميد لحين الاستعمال لغرض تقدير عيار الأضداد المناعية الجهازية، وتركيز الاضداد المناعية الجهازية IgG وIgA، وتركيز الحركيات الخلوية الجهازية IL-8 وIL-12. بينما وضع النصف الآخر من الدم في أنابيب نظيفة ومعقمة وذات مانع تخثر للحفاظ على الدم لغرض استعماله في اختبار الفعالية البلعمية واختبار التشكل الزهري وفي اختبار تثبيط هجرة خلايا الدم البيض.

ثم شرحت الحيوانات بعد تخديرها بثاني اثيل الايثر وتم اخذ الاثني عشر ووضع في طبق بتري حاوي على محلول الملح الفورمالييني لغرض فصل الاضداد المناعية الإفرازية من الاثني عشر وذلك لاستعمالها في تقدير عيار الأضداد المناعية الإفرازية، وفصل الخلايا البيض لإجراء اختبار النشاط البلعمي واختبار تثبيط هجرة خلايا الدم البيض وفصل الخلايا اللمفية لإجراء اختبار التشكل الزهري.

3-2-9-3 استخلاص الضد الافرازي من الاثني عشر

استخدمت طريقة Mancini (1965) في استخلاص الضد الإفرازي:

١. وضع العضو في اطباق بلاستيكية نظيفة تحتوي على محلول الملح الفورمالييني ٠,٥% و فتحت طوليا باستخدام مقص نظيف.
٢. نظفت محتوياته بالغسل بالمحلول الملحي الطبيعي.

٣. وضع 10 مل من محلول الملح الفورماليني وجرفت الطبقة المخاطية (Mucosal layer) ثم عمل عالق.
٤. نبذ العالق في جهاز المنبذة بسرعة 3500 دورة/دقيقة لمدة ٣٠ دقيقة.
٥. أخذ الرائق وأضيف اليه حجم مساو من مادة PEG بتركيز 6 %.
٦. ترك مدة ٣٠ دقيقة بدرجة حرارة الغرفة.
٧. نبذ بسرعة 3500 دورة/دقيقة لمدة ٣٠ دقيقة.
٨. أهمل الرائق واذيب الراسب في 1 مل من محلول الملح الفورماليني ٠,٥% لإذابة الاضداد المناعية الإفرازية وحفظ في التجميد لحين الاستعمال.

3-2-9-4 فصل خلايا الدم البيض من الاثني عشر

استخدمت طريقة Skoog and Beck (1956) لفصل خلايا الدم البيض من الاثني عشر كما يلي:

١. أخذ الراسب المتكون في الفقرة (5) اعلاه و أضيف اليه حجم مساو من الدكستران 3%.
٢. ترك مدة 20 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة.
٣. أخذ الرائق ونبذ بسرعة 2000 دورة/ دقيقة لمدة 5 دقائق.
٤. اذيب الراسب في 1 مل من المحلول الملحي الطبيعي وحفظ لحين الاستعمال.
٥. ملأت انابيب شعرية بالمحلول اعلاه ونبذت بجهاز (Haematocrite microcentrifuge) لمدة 10 دقائق للحصول على راسب المواد الافرازية.

3-2-9-5 الاختبارات المناعية

٣-٢-9-٥-١ اختبار التلازن بالانابيب Tube agglutination test

تم إجراء هذا الاختبار باستعمال التخافيف العشارية والثنائية المتسلسلة بين مستضد البكتريا المقتول والاضداد الجهازية والإفرازية المستحصلة من الأرانب الممنعة لتحديد عيار الضد المتخصص (Garvey *et al*., 1977).

٣-٢-9-٥-١-١ اختبار التلازن بالانابيب للأضداد الجهازية

اجري هذا الاختبار وفقاً لطريقة Garvey وجماعته (١٩٧٧) وكالاتي:

١. اخذ ١١ انبوباً زجاجياً نظيفاً ومعقماً، اضيف 0.9 مل من المحلول الملحي الطبيعي الى الانبوبة الاولى بينما اضيف 0.5 مل من هذا المحلول الى بقية الانابيب.

٢. اضيف 0.1 مل من المصل الممنع الى الانبوبة الاولى و مزجت محتويات الانبوبة جيدا.
٣. نقل 0.5 مل من الانبوبة الاولى الى الانبوبة الثانية ومزجت محتويات الانبوبة جيدا ونقل منها 0.5 مل الى الانبوبة الثالثة وهكذا الى الانبوبة الحادية عشر.
٤. نقل 0.5 مل من الانبوبة العاشرة الى الخارج ليصبح تسلسل التخافيف 10:1،20:1، 40:1، 80:1، 160:1، 320:1، 640:1، ١:١٢٨٠، ١: ٢٥٦٠، 1: 5120.
٥. اضيف 0.5 مل من المستضد البكتيري المقتول المحضر بتخفيف 10 وحدات دولية الى الانابيب اعلاه.
٦. مزجت الانابيب جيدا وحضنت بدرجة حرارة 37 مº لمدة 24 ساعة وبعد ذلك لوحظت النتيجة بظهور لزائن متكتلة في قعر الانبوبة فاذا حركت الانبوبة حركة خفيفة ادت الى تطاير هذه اللزائن بشكل ندف مع بقاء الانبوب رائقاً فانه يدل على ايجابية الاختبار، اما اذا تطاير الراسب بشكل متجانس مسبباً عكورة وضبابية للأنبوب فانه يدل على عدم وجود تفاعل ضدي ملزن للمستضدات بعدها تم تسجيل اخر تخفيف اظهر تفاعلا ايجابيا بين الضد المتخصص والمستضد أي العيار (Titer).
٧. الأنبوبة رقم ١١ تمثل سيطرة سالبة ومحتويات هذه الانبوبة ٠,٥ مل من المحلول الملحي الطبيعي و ٠,٥ مل من المستضد البكتيري المقتول.

٣-٢-9-٥-١-٢ اختبار التلازن بالانابيب للأضداد الافرازية

اجري هذا الاختبار وفقاً لطريقة Garvey وجماعته (١٩٧٧) وكالاتي:

١. اخذ ١١ انبوباً زجاجياً نظيفاً ومعقماً، اضيف اليها 0.2 مل من المحلول الملحي الطبيعي.
٢. اضيف 0.2 مل من عالق الاضداد الى الانبوبة الاولى و تم مزج محتوياتها جيدا.
٣. نقل 0.2 مل من محتويات الانبوبة الاولى الى الانبوبة الثانية ومن الثانية الى الثالثة وهكذا الى العاشرة.
٤. نقل 0.2 مل من محتويات الانبوبة العاشرة الى الخارج فاصبح تسلسل التخافيف ١:١، 2:1، 4:1، 8:1، 16:1، 32:1، 64:1، ١:١٢٨، ١: ٢٥٦، 1: 512.
٥. اضيف 0.2 مل من عالق المستضد المقتول الى الانابيب كلها المذكورة اعلاه.
٦. مزجت الانابيب جيدا وحضنت بدرجة حرارة 37 مº لمدة 24 ساعة بعدها سجلت النتيجة.
٧. الانبوبة رقم ١١ تمثل سيطرة سالبة ومحتويات هذه الانبوبة محلول الملح الطبيعي 0.2 مل و0.2 مل من المستضد البكتيري.

٣-٢-9-٥-١-٣ اختبار التلازن الدموي غير المباشر (المنفعل)

Indirect (Passive) heamagglutination test

أجرى هذا الاختبار وفقاً لطريقة Boyden (1951) وعلى النحو الاتي:-

١. جمعت نماذج الدم من الخراف في انابيب زجاجية نظيفة ومعقمة تحتوي على كمية مساوية من محلول السيفر Alselver solution.
٢. حفظت الانابيب اعلاه في الثلاجة بدرجة حرارة 4 مº لحين الاستعمال.
٣. اخذ 3 مل من الدم اعلاه ونبذ لمدة ٥ دقائق بسرعة 2500 دورة/ دقيقة.
٤. غسل راسب كريات الدم الحمر بوساطة المحلول الملحي الطبيعي ثلاث مرات.
٥. اضيف 10 مل من المحلول الملحي الطبيعي الى راسب كريات الدم الحمر ومزج جيدا.
٦. اخذ 3 مل من العالق اعلاه واضيف اليه 3 مل من محلول حامض التانيك بتركيز ٠,٥% ومزج جيدا ثم وضع في حمام مائي بدرجة 37 مº لمدة 10 دقائق.
٧. نبذ المحلول لمدة 5 دقائق بسرعة 2500 دورة/ دقيقة، اهمل الرائق واضيف ٣ مل من المحلول الملحي الطبيعي الى الراسب ومزج جيداً.
٨. اخذ 1 مل من العالق أعلاه واضيف اليه ١ مل من المستضد البكتيري (الذيفان الكبدي او عديد السكريد الشحمي) وترك 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة.
٩. نبذ لمدة 5 دقائق بسرعة 2500 دورة/ دقيقة، ثم غسل الراسب بالمحلول الملحي الطبيعي ثلاث مرات.
١٠. علق الراسب بإضافة ١ مل من محلول الملحي الطبيعي.
١١. عملت التخافيف الثنائية العشارية للأمصال والثنائية للمستخلص الافرازي مع المحلول الملحي الطبيعي بمقدار حجم 0.1 مل من المحلول الملحي الطبيعي و0.1 مل من الامصال او المستخلص الافرازي ويضاف مقدار 0.1 مل من معلق الراسب بطريقة اطباق العيار الدقيق (Microtitration plates).
١٢. حضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 37 مº لمدة 45 دقيقة – ٢٤ ساعة.
١٣. تقرأ النتيجة بملاحظة حلقة الترسيب في قاع الحفرة، اذ تعد الحلقة الكاملة القعر نتيجة سالبة والحلقة المنتشرة نتيجة موجبة.

٣-٢-٩-٥-٢ تقدير تركيز الاضداد النوعية المتخصصة ببكتريا *C. jejuni*

تم تقدير تركيز الاضداد النوعية IgA وIgG الموجودة في امصال الارانب الممنعة بمستضدات بكتريا *C. jejuni* وامصال ارانب السيطرة باستخدام تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم ELISA وذلك باستعمال العدة الخاصة بهذه الاضداد والمجهزة من شركة (Euroimmun, Germany) وعلى النحو الاتي:-

١. تم تخفيف المصل بنسبة ١: ١٠١ وذلك بإضافة ١ مايكروليتر من المصل الى ١ مل من دارئ التخفيف (Dilutent buffer) .

٢. أضيف ١٠٠ مايكروليتر من محاليل المعايرة القياسية (Calibrator) ، محاليل السيطرة الموجبة، محاليل السيطرة السالبة والامصال الى الحفر المخصصة لها في الصفيحة المجهزة من الشركة، ثم حضنت الصفيحة لمدة ٣٠ دقيقة في درجة حرارة الغرفة.

٣. غسلت الحفر ثلاث مرات بوساطة جهاز الغسل باستعمال ٤٥٠ مايكروليتر من محلول الغسل (Wash solution) في كل مرة .

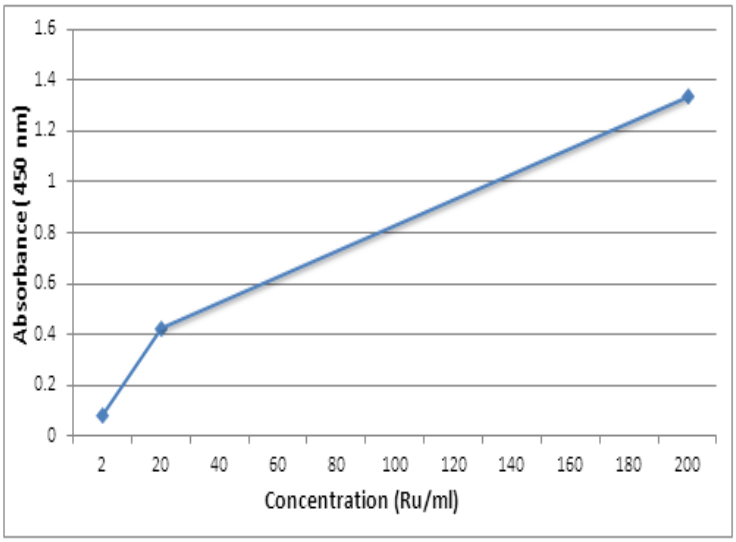
٤. . أضيف 100 مايكروليتر من المحلول الرابط (Enzyme conjugate) لكل حفرة ثم حضنت الصفيحة لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة .

٥. إعادة الخطوة رقم ٢.

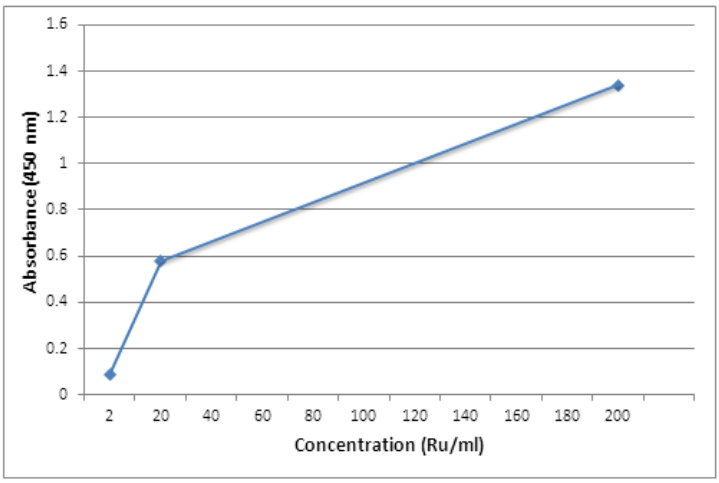
٦. أضيف 100 مايكروليتر من المحلول الأساس (Chromogen/substrate solution) لكل حفرة مع المزج الجيد بالحركة الخفيفة ثم حضنت في مكان معتم لمدة 15 دقيقة.

٧. أضيف ١٠٠ مايكروليتر من محلول التوقف (Stop solution) لكل حفرة مع المزج الجيد بالحركة الخفيفة لمدة 15-20 ثانية.

٨. قرئت الكثافة الضوئية لكل حفرة على طول موجي 450 نانوميتر، إذ يجب قراءة النتائج خلال 30 دقيقة من إضافة محلول التوقف. ويبين الشكل (٣-٣) و (٣-٤) منحنيات المعايرة القياسية لتركيز الاضداد النوعية IgA و IgG.



شكل (3-3) منحني المعايرة القياسي لتركيز الضد النوعي IgA



شكل (3–4) منحني المعايرة القياسي لتركيز الضد النوعي IgG

3–2–9–5–3 اختبار النشاط البلعمي Phagocytic activity test

تم حساب معامل البلعمة (Phagocytic index) باستخدام صبغة NBT وفقاً لطريقة Park وجماعته (1968)، اذ مزج 0.1 مل من محلول الصبغة، مع الحجم نفسه من الدم او العالق الافرازي المحضر وفق الفقرة (3–2–9–4)، وحضن المزيج بدرجة حرارة 37 مº لمدة 30 دقيقة، ثم وضعت قطرة من المزيج على شريحة زجاجية نظيفة لعمل مسحة رقيقة وصبغت بصبغة رايت، وفحصت بالعدسة الزيتية لحساب اعداد الخلايا العدلة التي احتوت على حبيبات الفورمازان (Formazan granules) ذات اللون الازرق الداكن وحسب معامل البلعمة وفق المعادلة الاتية:

$$\text{معامل البلعمة} = \frac{\text{عدد البلاعم المختزلة للصبغة}}{\text{عدد البلاعم الكلي}} \times ١٠٠$$

٣–٢–9–٥–٤ اختبار التشكل الزهري E-Rosette test

اجري هذا الاختبار بحسب طريقة Gengozian وجماعته (2002) وكالاتي:

A– تحضير الخلايا اللمفاوية Lymphocytes preparation

١. اضيف ٢ مل من دم الارنب الموضوع مع مانع التخثر الى ٤ مل من دارئ هيبس الملحي (Hepes-BSS).

٢. اضيف الدم المخفف بالخطوة السابقة وبحذر الى ٢ مل من محلول عزل الخلايا اللمفاوية (Lympho prep 1.084) وعلى جوانب الانبوبة.

٣. نبذ المحلول اعلاه بسرعة ٢٠٠٠ دورة/دقيقة ولمدة ١٥ دقيقة .

٤. تم اخذ الطبقة الوسطى الشفافة والتي تمثل الخلايا البيض باستخدام ماصة باستور وغسلت مرتين بدارئ هيبس الملحي ثم علقت بنفس الدارئ.

B- تحضير تركيز (0.5%) من كريات الدم الحمر للخراف

اخذ ٥ مل من دم الخراف (المحفوظ بمحلول السيفر وبدرجة حرارة ٤ مº)، ونبذ بسرعة 2000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق ثم غسلت الخلايا مرتين بالمحلول الملحي الطبيعي وعلقت بنفس المحلول بتركيز ٠,٥%.

تم اجراء اختبار التشكل الزهري كما يلي :

١. مزج ٠,٢٥ مل من عالق الخلايا اللمفاوية مع ٠,٢٥ مل من عالق كريات الدم الحمر للخراف المحضر في الفقرة اعلاه وحضن المزيج بدرجة حرارة ٣٧ مº لمدة ١٥ دقيقة.

٢. نبذ المزيج بسرعة ١٠٠٠ دورة/دقيقة لمدة ٥ دقائق بعدها حضن بدرجة حرارة ٤ مº لمدة ٢٤ ساعة. بعد انتهاء مدة الحضانة أهمل الراشح وأخذت قطرة من الراسب المتبقي بعد ان رج جيدا ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة ووضع عليها غطاء الشريحة الزجاجية وتم حساب ٢٠٠ خلية لمفاوية. وعدت النتيجة موجبة عند إحاطة الخلية اللمفاوية بثلاثة خلايا من كريات الدم الحمر للخراف أو أكثر وبحسب المعادلة الآتية :

$$\text{النسبة المئوية للخلايا التائية المكونة للتشكل الزهري} = \frac{\text{عدد الخلايا المكونة للتشكل الزهري}}{200} \times 100$$

ولقد اعتمدت الطريقة السابقة نفسها في اختبار التشكل الزهري في المناطق الإفرازية باستعمال راسب المواد الإفرازية الذي تم استخلاصه في الفقرة (٣-٢-٩-٤) بدلاً من الدم.

٣-٢-9-٥-٥ اختبار عامل تثبيط هجرة الخلايا البيض

Leucocytes migration inhibition factor (LIF)

استخدم هذا الاختبار للكشف عن وجود عامل تثبيط هجرة الخلايا البيض في الدم والمواد الافرازية للحيوان مع مستضدات بكتريا *C. jejuni* وفقاً لطريقة Soberg (1969) كما يأتي:-

١. حضر وسط اغار-اغار وصب في اطباق بلاستيكية معقمة وعمل حفر بقطر ٢ سم في طبقة الاغار.

٢. وضعت في كل حفرة انبوبة شعرية حاوية على راسب المواد الافرازية او راسب كريات الدم بعد نبذها بجهاز (Haematocrit microcentrifuge) لمدة 10 دقائق.

٣. اضيف 0.1 مل من المستضد الى حفر الاختبار و 0.1 مل من المحلول الملحي الطبيعي المعقم الى حفر السيطرة.
٤. اضيف 0.1 مل من وسط الايكل الاساس الى جميع الحفر ثم وضعت الاطباق داخل ناقوس زجاجي مع وضع قطعة مبللة وحضنت بدرجة حرارة 37 مº لمدة 24 ساعة.
٥. تم قياس عامل تثبيط هجرة الخلايا البيض بوساطة جهاز (Oculometer) واستخرج معامل التثبيط وفقا للمعادلة الاتية:-

$$\text{معامل التثبيط} = \frac{\text{قطر دائرة الهجرة مع المستضد}}{\text{قطر دائرة الهجرة بدون المستضد}} \times ١٠٠$$

علماً ان النتيجة المعنوية تقع بين ٣٠- ٧٠%.

٣-٢-9-٥-٦ تقدير تركيز الحركيات الخلوية IL-8 و IL-12

تم تقدير تركيز الحركيات الخلوية IL-8 و IL-12 الموجودة في امصال الارانب الممنعة بمستضدات بكتريا *C. jejuni* وامصال ارانب السيطرة باستخدام تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالإنزيم ELISA وذلك باستعمال العدة الخاصة بهذه الحركيات الخلوية والمجهزة من شركة (US Biological, USA) وعلى النحو الاتي:-

١. أضيف 100 مايكروليتر من محاليل المعايرة القياسية والامصال في الحفر المخصصة لها والمغطاة مسبقاً بالأضداد في الصفيحة المجهزة من قبل الشركة، ثم غطيت بالغطاء الخاص بها وحضنت لمدة ساعتين في درجة حرارة الغرفة .

٢. أضيف 50 مايكروليتر من المحلول الرابط الأول (Biotin conjugate) الى كل حفرة مع المزج الجيد بالحركة الخفيفة ثم غطيت الصفيحة وحضنت لمدة ساعة واحدة في درجة حرارة الغرفة .

3. غسلت الحفر خمس مرات باستعمال 350 مايكروليتر من محلول الغسل (Wash solution) في كل مرة.

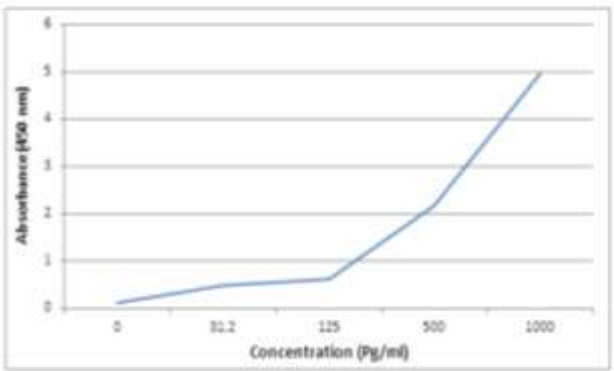
5. أضيف 100 مايكروليتر من المحلول الرابط الثاني (Enzyme-antigen conjugate) الى كل حفرة مع المزج الجيد بالحركة الخفيفة وبعد ذلك غطيت الصفيحة وحضنت لمدة ساعتين في درجة حرارة الغرفة.

6. إعادة الخطوة رقم ٣.

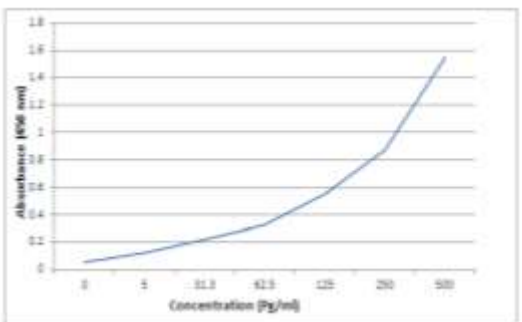
7. أضيف 100 مايكروليتر من المحلول الاساس لكل حفرة مع المزج الجيد بالحركة الخفيفة، ثم حضنت الصفيحة في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة في مكان معتم.

8. أضيف 100 مايكروليتر من محلول التوقف (Stop solution) لكل حفرة مع المزج الجيد بالحركة الخفيفة، ثم حضنت الصفيحة في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة.

9. قراءت الكثافة الضوئية على طول موجي 450 نانوميتر، إذ يجب قراءة النتائج خلال 30 دقيقة من إضافة محلول التوقف. وتبين الأشكال (3–5) و(3–6) منحنيات المعايرة القياسية لتركيز الحركيات الخلوية IL-4 و IL-8.



شكل (3–5) منحنى المعايرة القياسي لتركيز IL-8



شكل (3–6) منحنى المعايرة القياسي لتركيز IL-12

3–2 التحليل الإحصائي

حللت نتائج هذه الدراسة إحصائياً باستعمال البرنامج الإحصائي (SPSS version 17) اذ تم استخدام اختبار تحليل التباين باتجاه واحد (ANOVA one way) كما استخدم اقل فرق معنوي Least significant difference (LSD) للبحث عن وجود الفروق المعنوية بين المعاملات المختلفة وبمستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) وثبتت النتائج بشكل المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري (جودة، ٢٠٠٨).

الفصل الرابع

٤- النتائج Results

4-1 العزل Isolation

شملت الدراسة جمع ٣٤٠ عينة براز من اطفال مصابين بالإسهال تراوحت اعمارهم بين ١-٥ سنوات للمدة من تموز ٢٠١٠ – كانون الثاني ٢٠١١. تمثلت هذه العينات بـ ٢٥٠ عينة براز مائي و٩٠ عينة براز دموي. تم الحصول على ٨ عزلات لبكتريا *C. jejuni* شكلت نسبة ٢,٣٥%، توزعت بين ٦ عزلات وبنسبة 2.4% من عينات البراز المائي وعزلتين فقط بنسبة 2.2% من عينات البراز الدموي كما مبين في الجدول (4-1).

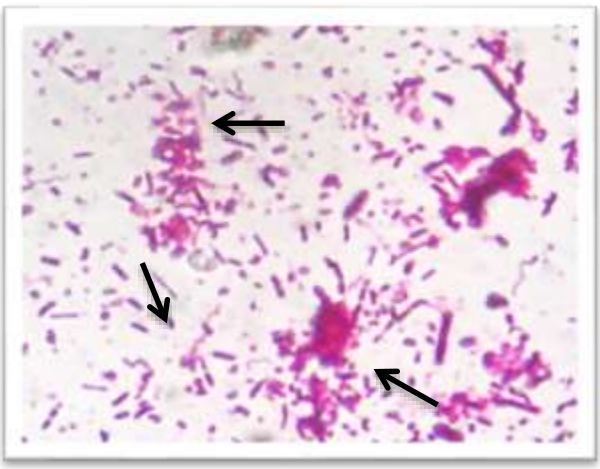
4-2 التشخيص Diagnosis

4-2-1 التصبيغ المباشر لعينات البراز Direct staining method

اظهر الفحص المجهري المباشر لمسحات عينات البراز المصبوغة بصبغة الكاربول فوكسين ١ % أن ١٥ عينة براز كانت موجبة للتصبيغ أي ان مسحة عينة البراز تحوي على عصيات بكتريا *Campylobacter* ذات الشكل المميز الحلزوني او الشبيه بجناح طائر النورس كما موضح في الشكل (٤-١). تمثلت العينات الموجبة للتصبيغ بـ 12 عينة براز مائي موجبة للفحص شكلت نسبة 4.8% و3 عينات براز دموي موجبة للفحص شكلت نسبة 3.3%، بينما اظهر الزرع البكتيري لعينات البراز الموجبة للتصبيغ أن 8 عينات فقط موجبة و7 سالبة للزرع البكتيري كما مبين في الجدول (4-1).

جدول (٤-١) اعداد العينات الموجبة للتصبيغ المباشر والزرع البكتيري ونسبتها المئوية

ت	نوع عينة البراز	عدد العينات الكلي	عدد العينات الموجبة للتصبيغ المباشر	النسبة المئوية %	عدد العينات الموجبة للزرع البكتيري	النسبة المئوية من العدد الكلي %
١	عينات البراز المائي	٢٥٠	١٢	%٤,٨	٦	%٢,٣٥
٢	عينات البراز الدموي	٩٠	٣	%٣,٣	٢	%٢,٢
	المجموع الكلي	٣٤٠	١٥	%٤,٤	٨	%٢,٣



شكل(٤-١) مسحة براز مصبوغة بصبغة الكاربول فوكسين ١% إذ يلاحظ الشكل الحلزوني وجناح طائر النورس لبكتريا *C. jejuni* التكبير 1000x.

4-2-2 الفحص المزرعي لعينات البراز

4-2-2-1 الوصف المزرعي للنمو على وسط العزل الاولي الانتقائي

تم مراقبة النمو على وسط العزل الاولي الانتقائي (*Campylobacter* agar) الحاوي على المضادات الحيوية الانتقائية بعد مدة حضانة 48-96 ساعة في ظروف اليفة الهواء القليل بدرجة حرارة ٤٢ م°. وجدت مستعمرات مختلفة بعضها مستعمرات رمادية، مسطحة، رطبة او شفافة شبيهة بقطرات الماء توحي بانها تعود لبكتريا *Campylobacter* والبعض الاخر مستعمرات مختلفة تعود الى اجناس بكتيرية اخرى قد تكون ملوثة للبراز او موجودة في البراز. تم اعادة زرع المستعمرات المشكوك فيها على وسط اغار الدم المضاف له منشطات النمو لغرض تنقية المستعمرات الى ان تم الحصول على مستعمرات نقية،

رمادية، مسطحة، رطبة أو شبيهة بقطرات الماء وصغيرة كما مبين في الشكل (٤-٢). وعند الزرع المتكرر ظهرت مستعمرات بكتريا *C. jejuni* بلون رمادي كبيرة، مخاطية ولزجة.

4-2-2-2 الوصف المزرعي للنمو باستخدام اوراق الترشيح

اظهرت نتائج الزرع الاولي لعينات البراز باستخدام ورق الترشيح ذي القطر ٠,٤٥ مايكروميتر على وسط اغار الجكليت او وسط اغار الدم بعد مدة حضانة اسبوع في ظروف اليفة الهواء القليل بدرجة حرارة ٤٢ م^{o} نتائج جيدة وذلك بالحصول على مستعمرات نقية، شفافة، شبيهة بقطرات الماء وصغيرة.

4-2-3 الوصف المجهري

أظهرت مسحات بكتريا *C. jejuni* المصبوغة بصبغة غرام الحاوية على الكاربول فوكسين بدلاً من السفرانين وجود اشكال متغايرة من بكتريا سالبة لصبغة غرام حلزونية، او عصوية منحنية، او على شكل حرف S، او على شكل جناح طائر النورس كما موضح في الشكل (٤-٣). وقد لوحظ ان زيادة مدة الحضن عن ٤٨ ساعة أوعند وضع الاطباق الحاوية على النمو في الثلاجة لأكثر من يومين فان اشكال الخلايا تتحول من الشكل الحلزوني الى الكروي.

شكل (٤-٣) اشكال بكتريا *C. jejuni* مصبوغة بصبغة غرام من مزرعة بعمر ٢٤ ساعة، إذ يلاحظ الشكل الحلزوني وجناح طائر النورس التكبير 1000x.

4-2-4 الاختبارات الكيموحيوية

أعطت العزلات جميعها كما موضح في جدول (٤-٢) التي تم الحصول عليها من عينات البراز نتيجة ايجابية لاختباري الاوكسيديز والكاتليز، وقد استدل على ايجابية الاختبار من خلال ظهور اللون البنفسجي للمستعمرات في اختبار الاوكسيديز وتكوين الفقاعات خلال 10-30 ثانية في اختبار الكاتليز. اما نتيجة فحص اليوريز فكانت سالبة لجميع العزلات وهذا يعني عدم قدرتها على انتاج انزيم اليوريز المحلل لليوريا. كما اعطت العزلات جميعها نتيجة سالبة لاختبار تكوين كبريتيد الهيدروجين (H_2S) في وسط اغار ثلاثي السكر والحديد اذ لم يلاحظ وجود راسب اسود ولم يتغير لون الوسط وهذا دليل على عدم قدرتها على انتاج كبريتيد الهيدروجين (H_2S) وعدم قدرتها على تخمير الكاربوهيدرات. وفي اختبار تحلل الهيبيورات فقد اعطت العزلات جميعها نتيجة ايجابية وذلك بتكون اللون البنفسجي الغامق في الوسط. اما اختبار النمو في درجات الحرارة ٢٥، ٣٧ و ٤٢ م° فقد اظهرت العزلات نمواً كثيفاً في درجة حرارة ٤٢ م° ومتوسطاً في درجة حرارة ٣٧ م° ولم يظهر أي نمو عند ٢٥م°. كما اظهرت العزلات جميعها نتيجة موجبة لاختبار اختزال النترات من خلال تكون اللون الاحمر عند اضافة الكاشف. في حين اظهرت عدم قدرتها على النمو بوجود كلوريد الصوديوم بتركيز ١,٥% و٣,٥%. كما اظهرت عدم قدرتها على النمو على وسط اغار الماكونكي. وفي اختبار الحركة أظهرت العزلات جميعها نتائج ايجابية، وقد استدل على ايجابية الاختبار من خلال سرعة انتشار نمو البكتريا خارجا عن خط الطعن، كما اظهرت البكتريا حركة سريعة كحركة انطلاق السهم بوساطة القطرة المعلقة تحت المجهر الضوئي. اما اختبار الحساسية للمضادين الحيويين السيفالوثين وحامض النالدكسيك فكانت العزلات جميعها مقاومة لمضاد السيفالوثين وحساسة لحامض النالدكسيك.

جدول (٤-٢) الاختبارات الكيموحيوية لبكتريا *C. jejuni*

الاختبار	النتيجة
الاوكسيديز	+
الكاتليز	+
اليوريز	-
تحلل الهيبيورات	+
اختزال النترات	+
تكوين كبريتيد الهيدروجين	-
النمو في درجات الحرارة	

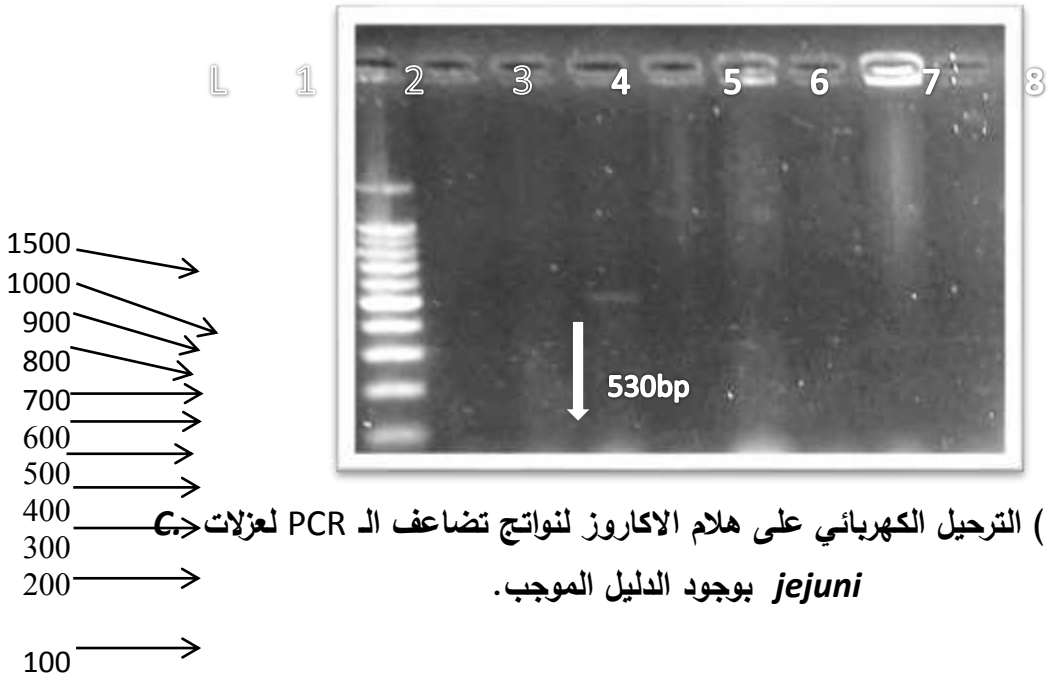
٢٥ م°	–
٣٧ م°	+
٤٢ م°	+
القدرة على تحمل الملوحة	–
النمو على وسط الماكونكي	–
اختبار الحركة	+

4-2-5 التشخيص المصلي لبكتريا *C. jejuni* باستخدام Hi *Campylobacter* Latex test kit

جرى تأكيد تشخيص العزلات البكتيرية التي تم الحصول عليها باجراء فحص اللاتكس باستخدام المصل الضدي الخاص ببكتريا *C. jejuni*، اذ اعطت العزلات جميعها نتيجة ايجابية وذلك بظهور التلازن خلال 1-2 دقيقة.

٤-٣ التحري الجزيئي عن الذيفان الكبدي في عزلات بكتريا *C. jejuni*

تم التحري عن وجود الجين *ht*B المسؤول عن الذيفان الكبدي (Hepatotoxin) في عزلات بكتريا *C. jejuni* المعزولة من حالات الاسهال عند الاطفال باستخدام تقنية التفاعل السلسلي لانزيم بلمرة الدنا PCR وذلك باستعمال البادئ المتخصص بالجين. اظهرت نتائج الدراسة ان عزلة واحدة فقط وهي العزلة رقم (3) المعزولة من حالة اسهال مائي كانت تحمل جين *ht*B بحجم 530 زوج قاعدي كما موضح في الشكل(4-4)، في حين لم يظهر هذا الجين في بقية عزلات بكتريا *C. jejuni*.



شكل (٤-٤) الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز لنواتج تضاعف الـ PCR لعزلات *C. jejuni* بوجود الدليل الموجب.

- ٣: جين *htB* الموجود في عزلة بكتريا *C. jejuni* رقم ٣ بحجم ٥٣٠ زوج قاعدي.
- ١،٢،٤،٥،٦،٧،٨: عدم وجود الجين في العزلات.
- ١،٢،٣،٤،٥،٦ : عزلات بكتريا *C. jejuni* المعزولة من حالات الاسهال المائي.
- ٧،٨: عزلات بكتريا *C. jejuni* المعزولة من حالات الاسهال الدموي.
- L: الدليل الموجب DNA ladder 100 bp .

4-4 التحليل الكيميائي للذيفان الكبدي وعديد السكريد الشحمي

اجري تقدير كمية البروتينات في مستخلص الذيفان الكبدي وعديد السكريد الشحمي بحسب طريقة Bradford (1976) وبالاستعانة بالمنحنى القياسي لبروتين المصل البقري، اتضح ان تركيز البروتينات في مستخلص الذيفان الكبدي الخام هو 9500 مايكروغرام/مل، وفي مستخلص الذيفان الكبدي بعد الترسيب بكبريتات الامونيوم هو 7740 مايكروغرام /مل، اما عديد السكريد الشحمي فكان تركيز البروتين 94 مايكروغرام/مل. كذلك قدر تركيز الكاربوهيدرات بحسب طريقة Dubois وجماعته (١٩٥٦) وبالاستعانة بالمنحنى القياسي لسكر الكلوكوز وجد ان تركيز الكاربوهيدرات في مستخلص الذيفان الكبدي الخام هو 320 مايكروغرام/مل وفي مستخلص الذيفان الكبدي بعد الترسيب بكبريتات الامونيوم هو 99 مايكروغرام/مل اما في عديد السكريد الشحمي فكان 332 مايكروغرام/مل كما مبين في الجدول (4-3).

جدول (4–3) تركيز البروتين والكاربوهيدرات في مستخلص الذيفان الكبدي وعديد السكريد الشحمي

التركيز (مايكروغرام/مل) / المستخلص	البروتين	الكاربوهيدرات
الذيفان الكبدي الخام	9500	320
الذيفان الكبدي بعد الترسيب بكبريتات الامونيوم	7740	99
عديد السكريد الشحمي	94	332

4–5 اختبار فعالية الذيفان الكبدي

حقنت الفئران بتركيز 100 مايكروغرام/0.5 مل لكل فأرة من مستخلص الذيفان الكبدي وتم تقدير تركيز الانزيمات الكبدية (GOT ، GPT وALP) في امصال الفئران بعد مرور يومين، خمسة ايام و10 ايام. وبإجراء التحليل الإحصائي لوحظ وجود فروق معنوية بمستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) في متوسط تركيز الانزيمات الكبدية (GOT و GPT) في امصال الفئران المحقونة بالذيفان الكبدي مقارنة مع تلك المحقونة بعديد السكريد الشحمي والسيطرة المحقونة بمحلول دارئ الفوسفات كما مبين في الجدول (4–4). اذ نلاحظ من الجدول وجود زيادة معنوية واضحة في متوسط تركيز انزيم GOT اذ بلغ في اليوم العاشر بعد الحقن 132.09 IU/ml حيث شكلت هذه الزيادة فارقاً معنوياً عند مقارنتها مع متوسط تركيز الانزيم في مصل الفئران المحقونة بعديد السكريد الشحمي البالغ 18.02 IU/ml والسيطرة البالغة 59.23 IU/ml. كما نلاحظ من الجدول وجود زيادة معنوية في متوسط تركيز انزيم GPT اذ بلغ في اليوم العاشر بعد الحقن 95.84 IU/ml وشكلت هذه الزيادة فارقا معنوياً عند مقارنتها مع متوسط عديد السكريد الشحمي البالغ 14.9 IU/ml والسيطرة البالغة 27.5 IU/ml. اما متوسط تركيز انزيم ALP في امصال الفئران المحقونة بالذيفان الكبدي فقد اظهر فارقاً غير معنوياً بعد يومين من الحقن اذ بلغ 75.56 IU/ml عند مقارنته مع متوسط عديد السكريد الشحمي البالغ 70.9 IU /ml والسيطرة البالغة 69.4 IU/ml. ثم ازداد متوسط تركيز انزيم ALP اذ بلغ في اليوم العاشر بعد الحقن 99.57 IU/ml مما اكسبه فارقاً معنوياً عند مقارنته مع السيطرة البالغة 69.4 IU/ml لكن هذه الزيادة اظهرت فارقاً غير معنوياً مقارنة مع متوسط عديد السكريد الشحمي البالغ 92.59 IU/ml.

جدول(4-4) متوسط تركيز انزيمات الكبد بوحدات (IU/ml)

الانزيمات الكبدية / الوقت (يوم)		2	5	10
GOT	الذيفان الكبدي	88.87 ± 7.82	120.32 ± 4.6	132.09 ± 10.86
	عديد السكريد الشحمي	19.36 ± 1.6	22.48 ± 2.26	18.02 ± 5.25
	السيطرة	59.53 ± 1.34	60.43 ± 3.13	59.23 ± 2.15
GPT	الذيفان الكبدي	56.7 ± 1.4	77.1± 2.47	95.84 ± 6.55
	عديد السكريد الشحمي	10.046 ± 1.55	19.53 ± 1.53	14.9 ± 0.7
	السيطرة	27.9 ± 2.6	27.9 ± 2.6	27.5 ± 2.6
ALP	الذيفان الكبدي	75.56* ± 5.05	85.13* ±9.28	99.57* ± 0.79
	عديد السكريد الشحمي	70.9 *± 4.04	80.78* ± 4.35	92.59* ± 6.21
	السيطرة	69.4* ± 1.96	69.4 ± 1.96	69.4 ± 1.96

- تمثل الارقام المتوسط الحسابي لثلاث عينات ±الانحراف المعياري.

*** تعني وجود فروق غير معنوية.**

4-6 الدراسة المرضية في الحيوان المختبري

Pathological study in lab animal

4-6-1 الجرعة المهلكة للنصف LD_{50}

4-6-1-1 تحديد الجرعة المهلكة للنصف LD_{50} لبكتريا *C. jejuni*

عند حقن 5 تراكيز متدرجة من العالق البكتيري للعزلة البكتيرية (3) داخل الغشاء البريتوني للفئران، وجد ان الجرعة المهلكة لنصف عدد الفئران من هذا العالق هي حوالي 3.16 × 10^8 خلية/مل، وهي واقعة بين التركيزين 10^8 و 10^9 خلية/مل وبنسبة مئوية للهلاكات 28.75 و 71.43% بعد مرور 6 ايام كما مشار اليه في الجدول (4-5).

تم حساب النسبة المئوية للأموات بالاعتماد على القانون التالي:-

$$\text{النسبة المئوية للأموات} = \frac{\text{العدد التراكمي للميتة}}{\text{عدد التراكمات}} \times 10 \cdot$$

$$\text{المسافة النسبية} = \frac{\text{50\% – النسبة المئوية للفئران الميتة في التراكيز الادنى من 50\%}}{\text{النسبة المئوية للفئران الميتة بالتراكيز الاعلى من 50\%– الفئران الميتة في التراكيز الادنى من50\%}}$$

$$= \frac{28.57 - 50}{28.57 - 71.43}$$

$$= ٠,٥$$

اللوغاريتم السالب لـ LD_{50} = المسافة النسبية + اللوغاريتم السالب لتركيز الخلايا الادنى من 50%

$$= ٨ + ٠,٥$$

الجرعة المهلكة لـ50 = $10^{0.5} \times 10^8 = 3.16 \times 10^8$ خلية/مل

جدول (٤-٥) نتائج الجرعة المهلكة للنصف LD_{50} لبكتريا *C. jejuni*

تركيز الخلايا/مل	عدد الفئران			العدد التراكمي للفئران		مجموع الأعداد التراكمية	النسبة المئوية للفئران الميتة %
	المعاملة	الميتة	الحية	الميتة	الحية		
10^{10}	5	5	0	10	0	10	100
10^9	5	3	2	5	2	7	71.43

10^8	5	2	3	2	5	7	28.57
10^7	5	٠	٥	0	10	10	0
10^6	5	0	٥	0	15	15	0

4-6-1-2 تحديد الجرعة المهلكة للنصف LD_{50} للذيفان الكبدي

عند حقن 6 تراكيز متدرجة من الذيفان الكبدي داخل الغشاء البريتوني للفئران، وجد ان الجرعة المهلكة لنصف عدد الفئران هي حوالي 866 مايكروغرام/مل ، وهي واقعة بين التركيزين 400 و 500 بعد مرور 5 ايام كما مشار اليه في الجدول (4-6).

المسافة النسبية = (النسبة المئوية للفئران الميتة في التراكيز الادنى من 50% − 50%) / (النسبة المئوية للفئران الميتة بالتراكيز الاعلى من 50% − النسبة المئوية للفئران الميتة في التراكيز الادنى من50%)

$$= \frac{40 - 50}{40 - 70}$$

=٠,٣٣

المسافة النسبية لـ50% = المسافة النسبية × (التركيز الاعلى من 50% − التركيز الادنى من 50%)

= ٠,٣٣ × (٤٠٠−٥٠٠)= ٣٣

الجرعة المهلكة لـ50 = المسافة النسبية + التركيز الادنى من 50%

الجرعة المهلكة لـ50 = 33+400= 433 مايكروغرام/0.5 مل

=866 مايكروغرام/مل

جدول (٤-٦) نتائج الجرعة المهلكة للنصف LD_{50} للذيفان الكبدي

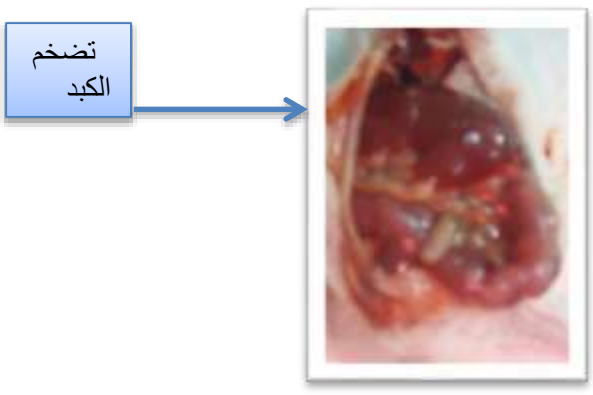
تركيز الذيفان الكبدي (مايكروغرام/ 0.5 مل)	عدد الفئران			العدد التراكمي للفئران		مجموع الأعداد التراكمية	النسبة المئوية للفئران الميتة %
	المعاملة	الميتة	الحية	الميتة	الحية		
٦٠٠	٥	٤	١	١١	١	١٢	٩١,٦٧

500	٥	٣	٢	٧	٣	11	٧٠
٤٠٠	5	٢	٣	٤	٦	١٠	٤٠
300	5	١	٤	٢	١٠	١٢	١٦,٦٧
200	5	١	٤	١	١٤	١٥	٦,٦٧
١٠٠	5	٠	٥	٠	١٩	١٩	٠

2-6-4 التغيرات السريرية

تم متابعة الحيوانات المختبرية بعد حقنها بعالق الخلايا البكتيرية للعزلة (3) بتركيز $١٠^{٨}$ خلية/مل، وقد لوحظ خمول الفئران ووجودها بشكل محتشد، كما لوحظ حدوث الإسهال في القليل من الفئران في اليوم الثالث بعد الحقن. وبعد تشريح الفئران المصابة بالاسهال لوحظ حدوث تغيرات مظهرية واضحة في امعائها تمثلت كما مبين في الشكل (٤- A٥) بتوسع الامعاء ورقة غشائها. اما بقية الفئران فقد تم تشريحها في اليوم السابع بعد حقن العالق البكتيري، اذ لوحظ حدوث تغيرات مظهرية واضحة في معالم اعضاء هذه الحيوانات، تتلخص هذه التغيرات كما مبين في الشكل (٤-B٥) بتغير لون الكبد والطحال، وزيادة حجمهما عن الطبيعي. وتضخم الكبد المقرون بتكون بقع لونية بيضاء مصفرة في بعض الفصوص الكبدية. إن هذه التغيرات تعطي مؤشراً حول وجود آفات مرضية شديدة تمت دراستها بشكل جيد في الفحص المجهري للمقاطع النسيجية.

A



B

شكل (٤-5) مقطع في فأرة

A- في اليوم الثالث بعد حقن $١٠^{٨}$ خلية/مل من عالق *C. jejuni*

B-في اليوم السابع بعد الحقن C- سيطرة محقونة بمحلول دارئ الفوسفات

4-6-3 التغيرات المرضية النسيجية Histopathological changes

أثبتت نتائج الدراسة النسيجية وجود تأثيرات مرضية في أعضاء الفئران ناجمة عن أخماجها ببكتريا *C. jejuni* مقارنة بالذيفان الكبدي.

كانت التغيرات النسيجية في الامعاء شديدة بتأثير البكتريا مقارنة بالذيفان الكبدي، ففي الفئران التي بدت عليها حالة الاسهال في اليوم الثالث بعد حقن $١٠^{٨}$ خلية/مل من عالق بكتريا *C. jejuni* لوحظ تحطم في الزغابات مع توسف (Desqumation) وانسلاخ وسقوط الخلايا الظهارية المبطنة للزغابات الى داخل تجويف الامعاء وامتلاء الزغابات بالخلايا الالتهابية نتيجة الارتشاح (الشكلين 4-6 و4-7). ولوحظ في اليوم السابع بعد حقن العالق حدوث حالة الضمور (Atrophy) في الزغابات ونخر شديد ضمن النسيج الظهاري للزغابة (الشكل ٤-8). في حين لم يلاحظ أي تغيرات على امعاء الفئران المحقونة بالذيفان الكبدي اذ كانت مماثلة للسيطرة تقريباً (الشكلين 4-9 و4-10).

C

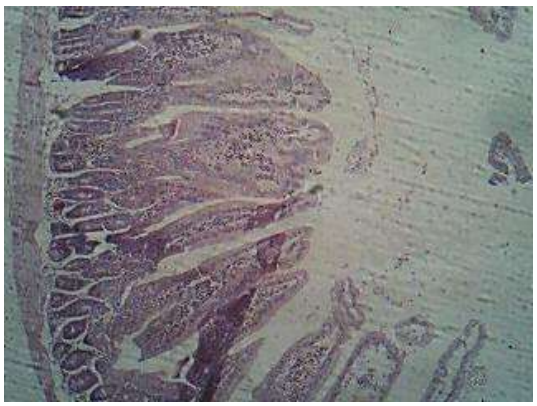
كما أظهرت المقاطع النسيجية لكبد الفئران المحقونة ببكتريا *C. jejuni* العديد من التغيرات النسيجية تمثلت بوجود الاحتقان الدموي(Congestion (CO المصحوب بهجرة الخلايا الدفاعية (Migration (M، وتجمع عدة بؤر من الخلايا الالتهابية Inflammation foci (IF) ضمن المتن الكبدية (Liver parenchyma) (الشكلين ٤-١١ و٤-١٢). كما لوحظ وجود علامات تنكس استسقائي Hydropic degeneration (HD) في الخلايا الكبدية مثل تفجي (Vacuolating (VA الخلايا اوحدوث تجوف في سايتوبلازم الخلايا الكبدية وتغلظ النواة واصطباغها بصبغة داكنة (Pyknotic) (الشكل 4-١٣). اما المقاطع النسيجية المأخوذة من كبد الفئران المحقونة بالذيفان الكبدي فقد لوحظ التغيرات ذاتها المبينة في الفئران المحقونة بالعالق البكتيري متمثلة بوجود علامات التنكس الاستسقائي وتجمع الخلايا الالتهابية فضلاً عن حدوث نخر شديد Severe necrosis (SN) في الخلايا الكبدية (الشكلين ٤-١٤ و٤-١٥). ولم تلاحظ التغيرات المذكورة في كبد فأر السيطرة (الشكل ٤-١٦).

تميزت الآفة المرضية النسيجية لطحال الفئران المحقونة بالعالق البكتري بتوسع اللب الاحمر (Red pulp enlargement) (شكل ٤-17)، مع النزف الشديد المنتشر في مناطق عديدة في نسيج الطحال وهذا يسمى بالتهاب الطحال النزفي (Hemorrhagic splenitis) (الشكل ٤-18). اما التغيرات المرضية في طحال الفئران المحقونة بالذيفان الكبدي فتمثلت بالنزف الدموي وتغلغل الخلايا الالتهابية (الشكل ٤-19). في حين لم تلاحظ التغيرات المذكورة في طحال فئران السيطرة.

شكل (٤-6) مقطع عرضي في الامعاء الدقيقة لفأرة بعد ثلاثة ايام من حقن ^{٨}١٠خلية/مل من عالق بكتريا *C. jejuni* يوضح: توسف وسقوط الزغابات المعوية في تجويف الامعاء الدقيقة (H & E. 50x).

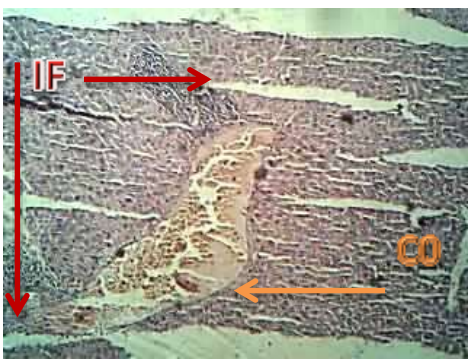
شكل (4-7) مقطع عرضي في الامعاء الدقيقة لفأرة محقونة بـ 10^{8}خلية/مل من عالق بكتريا *C. jejuni*، يوضح: IF تجمع الخلايا الالتهابية (H&E. 200x).

شكل (٤-8) مقطع عرضي في الامعاء الدقيقة لفأرة بعد سبعة ايام من حقن ^{٨}١٠ خلية/مل من عالق بكتريا *C. jejuni*، يوضح: ضمور الزغابات المعوية (H&E. 50x).

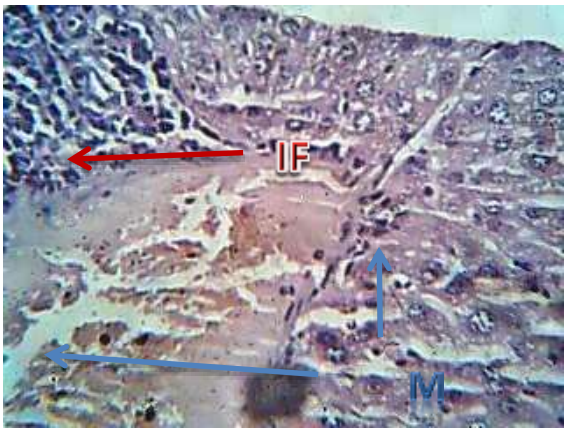


شكل (4-9) مقطع عرضي في أمعاء فأرة محقونة بالذيفان الكبدي، يوضح الزغابات المعوية طبيعية (H&E. 50x) .

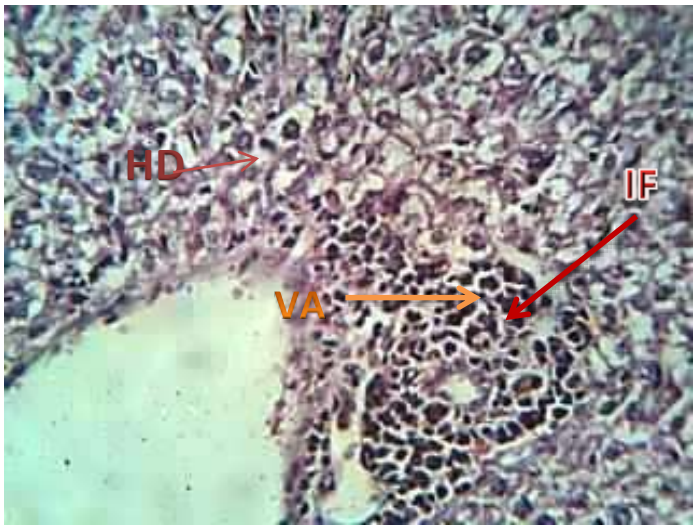
شكل(٤-10) مقطع عرضي في أمعاء فأرة محقونة بمحلول دارئ الفوسفات كسيطرة (H&E. 50x).



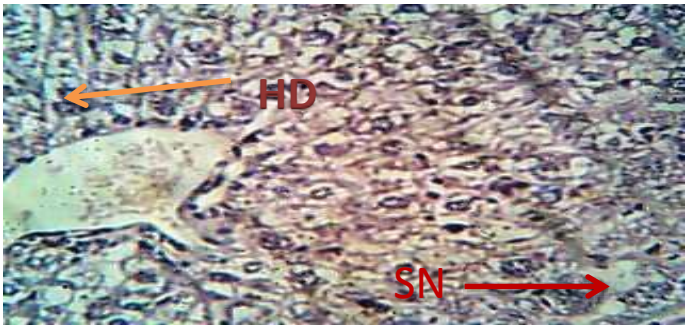
شكل (4–11) مقطع عرضي في كبد فأرة بعد ثلاثة ايام من حقن 10^8 خلية/مل من عالق بكتريا *C. jejuni*، يوضح: IF تجمع الخلايا الالتهابية ضمن المتن الكبدي، CO: احتقان دموي (H&E. 50x).



شكل (٤–12) مقطع عرضي في كبد فأرة بعد ثلاثة ايام من حقن 10^8 خلية/مل من عالق بكتريا *C. jejuni*، يوضح: IF تجمع الخلايا الالتهابية ضمن المتن الكبدي، M: هجرة الخلايا الالتهابية ضمن الوعاء الدموي (H&E. 200x).

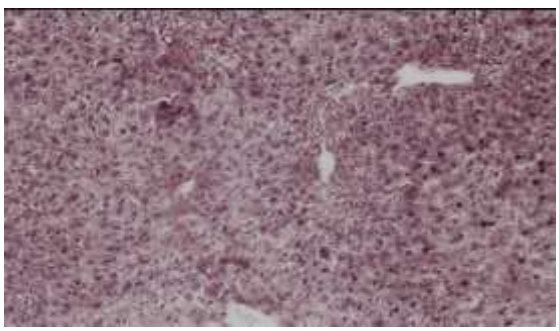


شكل (4–13) مقطع عرضي في كبد فأرة بعد سبعة ايام من حقن 10^8 خلية/مل من عالق بكتريا *C. jejuni*، يوضح: IF تجمع الخلايا الالتهابية ضمن المتن الكبدي،HD تنكس استسقائي في الخلايا الكبدية، VA تفجي الخلايا (H&E. 200x).



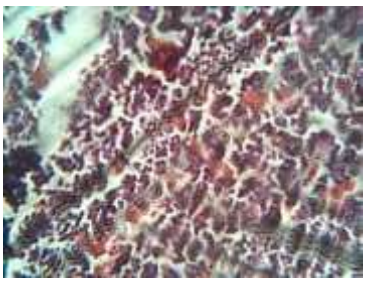
شكل (4–14) مقطع عرضي في كبد فأرة محقونة بالذيفان الكبدي، يوضح: HD تنكس استسقائي في الخلايا الكبدية، مع ظهور حالة النخر SN على طول النسيج الكبدي (H&E.200x).

شكل (4–15) مقطع عرضي في كبد فأرة محقونة بالذيفان الكبدي، يوضح: IF تجمع الخلايا الالتهابية (H&E. 200x).



شكل (4–16) مقطع عرضي في كبد فأرة محقونة بمحلول دارئ الفوسفات كسيطرة (H&E. 100x.

شكل (4–17) مقطع عرضي في طحال فأرة بعد ثلاثة ايام من حقن 10^8 خليـة/مل من عالق بكتريا *C. jejuni*، يوضح توسع اللب الاحمر (H&E. 50x).



شكل (4–18) مقطع عرضي في طحال فأرة بعد سبعة ايام من حقن 10^8 خليـة/مل من عالق بكتريا *C. jejuni*، يوضح النزف الدموي (H&E. 200x).

شكل (٤–19)) مقطع عرضي في طحال فأرة محقونة بالذيفان الكبدي، يوضح النزف الدموي وتغلغل الخلايا الالتهابية (H&E. 200x).

4–7 الدراسة المناعية في الحيوان المختبري

4–7–1 المناعة الخلطية Humoral immunity

4-7-1-1 المستضدية Antigenimia الجهازية والموضعية المتخصصة بمستضدات بكتريا *C. jejuni*

أعطت نتائج اختبار التلازن بالانابيب مع مصل الدم والاضداد الافرازية المعزولة من الاثني عشر لاربعة ارانب ممنعة بالمستضد المقتول مستضدية جهازية بمتوسط ١٢٨٠ ومستضدية موضعية بمتوسط 112. كما اجري اختبار التلازن الدموي مع مصل الدم والاضداد الافرازية المعزولة من الاثني عشر لأربعة ارانب ممنعة بالذيفان الكبدي واربعة اخرى ممنعة بعديد السكريد الشحمي وكانت نتائج الدراسة كما مبين في الجدول (٤-7)، اذ اعطت الحيوانات الممنعة بمستضد عديد السكريد الشحمي مستضدية جهازية بمتوسط ٢٢٤٠ في حين بلغ متوسط المستضدية الموضعية ١٩٢. اما الحيوانات الممنعة بمستضد الذيفان الكبدي فقد اعطت مستضدية جهازية بمتوسط 960 ومستضدية موضعية بمتوسط ٩٦، وقد كانت لهذه النتائج فروق معنوية بمستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) عند المقارنة مع حيوانات السيطرة التي اعطت مستضدية جهازية بمتوسط ١٠ ومستضدية موضعية بمتوسط ١.

جدول (٤-7) متوسط عيار الاضداد الجهازية والموضعية المتخصصة بمستضدات بكتريا *C. jejuni*

عيار الاضداد / مستضدات التمنيع	الجهازية(المصل)	الموضعية(الاثني عشر)
المستضد المقتول	1280±0	112 ±32
مستضد عديد السكريد الشحمي	2240±640	192 ±73
مستضد الذيفان الكبدي	960±369	96 ±36
السيطرة	10±0	1±0

- تمثل الارقام المتوسط الحسابي لاربع عينات ±الانحراف المعياري.

٤-٧-١-٢ تركيز الاضداد النوعية IgG وIgA المتخصصة ببكتريا *C. jejuni*

تم تقدير تركيز الاضداد النوعية IgG وIgA المتخصصة ببكتريا *C. jejuni* الموجودة في امصال الارانب الممنعة بمستضدات البكتريا وامصال ارانب السيطرة باستخدام تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم ELISA وذلك باستعمال العدة الخاصة بهذه الاضداد.

يتضح من الجدول (٤-٨) وجود زيادة معنوية في متوسط تركيز الاضداد النوعية IgG وIgA الموجودة في امصال الارانب الممنعة بالمستضد المقتول ومستضد عديد السكريد الشحمي عند المقارنة مع امصال ارانب السيطرة، اذ بلغ متوسط تركيز الضد IgG ٨٩,٢٣ Ru/ml في امصال الارانب الممنعة بالمستضد المقتول و ٩٧,٢٩ Ru/ml في امصال الارانب الممنعة بمستضد عديد السكريد الشحمي. اما متوسط تركيز الضد IgA فقد بلغ 56.22 Ru/ml في امصال الارانب الممنعة بالمستضد المقتول و 62.56 Ru/ml في امصال الارانب الممنعة بمستضد عديد السكريد الشحمي، ولوحظ من خلال هذه النتائج وجود فروق معنوية بمستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) عند المقارنة مع نتائج ارانب السيطرة البالغ فيها متوسط تركيز الضد IgG 5.63 Ru/ml ومتوسط تركيز الضد IgA 5.85 Ru/ml.

جدول (٤-٨) متوسط تركيز الاضداد النوعية IgG وIgA بوحدات (Ru/ml) المتخصصة ببكتريا *C. jejuni*

تركيز الاضداد / مستضدات التمنيع	IgG	IgA
المستضد المقتول	89.23±9.8	56.22±4.71
مستضد عديد السكريد الشحمي	97.29±8.1	62.56±7.51
مستضد الذيفان الكبدي	9.24±1.9*	7.63±1.3*
السيطرة	5.63±0.22	5.85±0.91

- تمثل الارقام المتوسط الحسابي لاربع عينات ±الانحراف المعياري.

*** تعني وجود فروق غير معنوية.**

اما نتائج متوسط تركيز الاضداد النوعية IgG وIgA الموجودة في امصال الارانب الممنعة بمستضد الذيفان الكبدي فكانت غير معنوية عند المقارنة مع نتائج ارانب السيطرة. اذ بلغ متوسط تركيز الضد النوعي IgG 9.24 Ru/ml ، اما متوسط تركيز الضد النوعي IgA فقد بلغ 7.63 Ru/ml.

4-7-2 المناعة الخلوية Cellular immunity

4-7-2-1 المناعة الخلوية غير المتخصصة Cellular non specific immunity

4-7-2-1-1 اختبار النشاط البلعمي Phagocytic activty test

استخدم اختبار اختزال الصبغة (Nitrobluetetrazolium reduction test) لدراسة الفعالية البلعمية للخلايا العدلة، وقد اظهرت النتائج وجود ارتفاع معنوي في متوسط الفعالية البلعمية الجهازية والموضعية في ارانب الاختبار الممنعة بمستضدات بكتريا *C. jejuni*. كما اظهرت النتائج ان متوسط الفعالية البلعمية الموضعية اعلى من الجهازية، فقد بلغ متوسط الفعالية البلعمية الجهازية في الارانب الممنعة بالمستضد المقتول 52.1 في حين بلغ متوسط الفعالية البلعمية الموضعية ٥٩,٣. اما الارانب الممنعة بمستضد عديد السكريد الشحمي فقد بلغ متوسط الفعالية البلعمية الجهازية ٥٧,٥ في حين بلغ متوسط الفعالية البلعمية الموضعية ٦٤,٦. اما متوسط الفعالية البلعمية الجهازية في الارانب الممنعة بمستضد الذيفان الكبدي فقد بلغ ٤١,٤ في حين بلغ متوسط الفعالية البلعمية الموضعية ٤٨,٥ وقد كانت لهذه النتائج فروق معنوية بمستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) عند المقارنة مع ارانب السيطرة والتي بلغ فيها متوسط الفعالية البلعمية الجهازية 34.2 والموضعية ٤١,٥ وكما مبين في الجدول (٤-٩).

جدول (٤-٩) متوسط الفعالية البلعمية الجهازية والموضعية

الفعالية البلعمية / مستضدات التمنيع	الجهازية	الموضعية
المستضد المقتول	52.1 ±1.3	59.3± 2.1
مستضد عديد السكريد الشحمي	57.5 ±2.6	64.6 ± 1.6
مستضد الذيفان الكبدي	41.4± 2.1	48.5 ± 1.9
السيطرة	34.2± 1.3	41.5 ± 2.1

- تمثل الارقام المتوسط الحسابي لاربع عينات ±الانحراف المعياري.

٤-٧-٢-١-٢ اختبار التشكل الزهري E-Rosette test

استخدم اختبار التشكل الزهري لدراسة المناعة الخلوية من خلال التحري عن عدد الخلايا اللمفاوية التائية النشطة. وقد اظهرت النتائج حدوث زيادة معنوية في متوسط النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية التائية الجهازية والموضعية المكونة للتشكل الزهري. كما اظهرت النتائج

ان متوسط النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية التائية الموضعية المكونة للتشكل الزهري كان اعلى من الجهازية. ففي الارانب الممنعة بالمستضد المقتول بلغ متوسط النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية التائية الجهازية المكونة للتشكل الزهري ٤٦,٤ في حين بلغ متوسط النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية التائية الموضعية المكونة للتشكل الزهري 53.7. اما الارانب الممنعة بمستضد عديد السكريد الشحمي فقد بلغ متوسط النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية التائية الجهازية المكونة للتشكل الزهري ٥٢,١ في حين بلغ متوسط النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية التائية الموضعية المكونة للتشكل الزهري ٦٠,٧ . وفي الارانب الممنعة بمستضد الذيفان الكبدي بلغ متوسط النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية التائية الجهازية المكونة للتشكل الزهري ٣٩,٣ في حين بلغ متوسط النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية التائية الموضعية المكونة للتشكل الزهري ٤٥,٥. وقد كانت لهذه النتائج فروق معنوية بمستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) عند المقارنة مع ارانب السيطرة والتي بلغ فيها متوسط النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية التائية الجهازية والموضعية المكونة للتشكل الزهري ٢٤,٦ و ٢٦,٥ على التوالي وكما مبين في الجدول (٤-١٠).

جدول (٤-١٠) متوسط النسبة المئوية للخلايا اللمفاوية التائية الجهازية والموضعية المكونة للتشكل الزهري

الخلايا المكونة للتشكل الزهري / مستضدات التمنيع	الجهازية	الموضعية
المستضد المقتول	46.4 ±1.3	53.7 ±1.6
مستضد عديد السكريد الشحمي	52.1 ± 1.6	60.7 ± 2.2
مستضد الذيفان الكبدي	39.3 ±1.9	45.5 ±1.7
السيطرة	24.6 ± 1.8	26.5± 0.7

ـ تمثل الارقام المتوسط الحسابي لاربع عينات ±الانحراف المعياري

4-7-2-2 المناعة الخلوية المتخصصة

4-7-2-2-١ اختبار عامل تثبيط هجرة الخلايا البيض

Leucocytes migration inhibition factor test

أجري هذا الاختبار ليشمل كلاً من المناعة الجهازية والموضعية. وقد اظهرت نتائج هذا الاختبار وجود تثبيط معنوي في ارانب الاختبار الممنعة بمستضدات بكتريا *C.jejuni*. فقد اظهرت الارانب الممنعة بالمستضد المقتول تثبيطاً جهازياً بمتوسط 56.1 وتثبيطاً موضعياً بمتوسط 48. اما الارانب الممنعة بعديد السكريد الشحمي فقد بلغ متوسط التثبيط الجهازي

٤٩,٦ ومتوسط التثبيط الموضعي ٤٢، في حين اظهرت الارانب الممنعة بمستضد الذيفان الكبدي تثبيطاً جهازياً بمتوسط 66.1 وتثبيطاً موضعياً بمتوسط ٥٦,٦. وعند مقارنة هذه النتائج مع نتائج ارانب السيطرة التي اعطت تثبيطاً جهازياً بمتوسط 89.5 وتثبيطاً موضعياً بمتوسط ٨٨ وجد ان هناك فروقا معنوية بمستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) وكما مبين بالجدول (٤-١١).

جدول (٤-١١) متوسط النسبة المئوية لعامل تثبيط هجرة الخلايا البيض الجهازية والموضعية

معامل التثبيط / مستضدات التمنيع	الجهازية	الموضعية
المستضد المقتول	56.1 ± 1.2	48 ±1.6
مستضد عديد السكريد الشحمي	49.6 ± 0.8	42 ±1.1
مستضد الذيفان الكبدي	66.1 ± 1.2	56.6 ±1.6
السيطرة	89.5 ± 2.9	88 ± 1.7

- تمثل الارقام المتوسط الحسابي لاربع عينات ±الانحراف المعياري

4-7-3 تركيز الحركيات الخلوية

تم تقدير تركيز IL-8 و IL-12 الموجودة في امصال الارانب الممنعة بمستضدات بكتريا *C. jejuni* وامصال ارانب السيطرة باستخدام تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالانزيم ELISA وذلك باستعمال العدة الخاصة بهذه الحركيات الخلوية.

4-7-3-1 تقدير تركيزالـ IL-8

نلاحظ من الجدول (4-12) وجود ارتفاع معنوي في متوسط تركيز IL-8 في امصال الارانب الممنعة بمستضدات بكتريا *C. jejuni* عند المقارنة مع امصال ارانب السيطرة، فقد اعطت امصال الارانب الممنعة بمستضد عديد السكريد الشحمي اعلى متوسط لتركيز IL-8 اذ بلغ 152.41 Pg/ml، في حين بلغ متوسط تركيز IL-8 في امصال الارانب الممنعة بالمستضد المقتول 138.55 Pg/ml، بينما بلغ في امصال الارانب الممنعة بمستضد الذيفان الكبدي 88.86 Pg/ml . ولوحظ من خلال هذه النتائج وجود فروق معنوية بمستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) عند المقارنة مع متوسط تركيز IL-8 في امصال ارانب السيطرة البالغ ٤٩,٧١ Pg/ml.

جدول (٤-١٢) متوسط تركيز IL-8 بوحدة (Pg/ml)

مستضدات التمنيع	المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري
المستضد المقتول	138.55±22.93
مستضد عديد السكريد الشحمي	152.41±16.43
مستضد الذيفان الكبدي	88.86 ±9.5
السيطرة	49.71±13.74

- تمثل الارقام المتوسط الحسابي لاربع عينات ±الانحراف المعياري.

4-7-3-2 تقدير تركيزالـ IL-12

يتضح لنا من الجدول (4-13) وجود ارتفاع معنوي في متوسط تركيز IL-12 في امصال الارانب الممنعة بمستضدات بكتريا *C. jejuni* عند المقارنة مع ارانب السيطرة، فقد اعطت امصال الارانب الممنعة بمستضد عديد السكريد الشحمي اعلى متوسط لتركيز IL-12 اذ بلغ 60.17 Pg/ml، في حين بلغ متوسط تركيز IL-12 في امصال الارانب الممنعة بالمستضد المقتول 52.46Pg/ml ، بينما بلغ في امصال الارانب الممنعة بمستضد الذيفان الكبدي 34.73 Pg/ml . ولوحظ من خلال هذه النتائج وجود فروق معنوية بمستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) عند المقارنة مع متوسط تركيز IL-12 في امصال ارانب السيطرة والبالغ ١١,٣٢ Pg/ml.

جدول (٤-١٣) متوسط تركيز IL-12 بوحدة (Pg/ml)

مستضدات التمنيع	المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري
المستضد المقتول	52.46±7.8
مستضد عديد السكريد الشحمي	60.17±5.1
مستضد الذيفان الكبدي	34.73±3.9
السيطرة	11.32±1.4

الاستنتاجات

و

التوصيات

الاستنتاجات Conclusions

١. تعد طريقة الترشيح طريقة كفوءة لعزل وتنقية بكتريا *C. jejuni* في المختبرات البحثية.

٢. ان الذيفان الكبدي الذي تنتجه بكتريا *C. jejuni* هو العامل الرئيس المسبب لالتهاب الكبد.

٣. إن كل من عالق بكتريا *C. jejuni* والذيفان الكبدي ذو فعالية مهلكة لفئران التجربة.

٤. اتضح من خلال الدراسة المرضية النسيجية (Histopathology) لأعضاء الفئران المحقونة بأن العالق البكتيري كان شديداً في تأثيره في الأعضاء (الكبد، والأمعاء والطحال) مقارنة بالذيفان الكبدي الذي كان تأثيره شديداً في الكبد.

٥. ان مستضدات بكتريا *C. jejuni* المحضرة في هذه الدراسة قد حفزت الاستجابة المناعية بنوعيها الجهازية والموضعية (الخلوية والخلطية) في الحيوان المختبري (الارنب).

٦. ان حقن مستضدات بكتريا *C. jejuni* المحضرة في هذه الدراسة في الارنب ادى الى ارتفاع تركيز الاضداد النوعية المتخصصة بهذه البكتريا اضافة الى ارتفاع تركيز الحركيات الخلوية السابقة لالتهاب.

٧. ان التحفيز المناعي لمستضدات عديد السكريد الشحمي والمستضد المقتول كانت اكثر مقارنة بمستضد الذيفان الكبدي.

التوصيات Recommendations

١. التوسع في دراسة بكتريا *C. jejuni* من الناحية الوراثية لتحديد الجينات التي تشفر الى عوامل الضراوة المختلفة التي تمتلكها البكتريا باستعمال التقنيات الوراثية مثل تقنية PCR وغيرها.

٢. الحاجة إلى تحضير لقاحات خاصة ببكتريا *C. jejuni* لما تسببه هذه البكتريا من مضاعفات قد تكون مهلكة، ومحاولة دراسة الوقاية (Protection) التي توفرها عوامل الضراوة او البكتريا عند استخدامها كلقاح.

Arabic References

المصادر العربية

الخفاجي، نور سلمان كاظم (2010). دراسة بكتريولوجية ومناعية لبكتريا *Citrobacter freundii* في الارنب. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بابل.

الذهب، أزهار عمران لطيف (٢٠٠٦). خمج السحايا المتخفي وبعض أوجه المناعة الموضعية والجهازية. اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة بابل.

السعدي، حلى يونس فاضل (٢٠٠٢). دراسة التأثيرات المرضية لمتعدد السكريد الشحمي المستخلص من بكتريا *Aeromomas hydrophila* المعزولة من عينات سريرية محلية. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.

القريشي، غادة محمد صالح (٢٠٠١). دراسة التفاعل المصلي التصالبي المعكوس بين جرثومتي *Campylobacter jejuni* وضمات الكوليرا غير المتلازنة (NAG) بوساطة اختبار التلازن الدموي المنفعل. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.

المتيوتي، صدام سالم ياسين (٢٠٠٥). تأثير السكر المتعدد الدهني المستخلص من بكتريا *Escherichia coli* في الاستجابة المناعية للفئران البيض ضد الإصابة بداء الأكياس العدرية الثانوي. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل.

الهاشمي، أنعام سامي نور حيدر (2002). مرضية جرثومة *Citrobacter freundii* وذيفاناتها المعزولة من بعض حالات الإسهال عند الرضع بمدينة الموصل، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.

جودة، محفوظ احمد (٢٠٠٨). التحليل الاحصائي الاساسي باستخدام SPSS. دار وائل للنشر، الطبعة الاولى، عمان.

وتوت، لمى جاسم حمود (٢٠١٠). دراسة بكتريولوجية ومناعية لبكتريا *Campylobacter jejuni* المسببة لالتهاب الامعاء في الاطفال. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بابل.

المصادر الاجنبية English References

Abimiku, A. G. and Dolby, J. M. (1987). The mechanism of protection of infant mice from intestinal colonization with *Campylobacter jejuni*. J. Med. Microbiol. 23: 339-344.

Abimiku, A. G.; Dolby, J. M. and Borriello, S. P. (1989). Comparison of different vaccines and induced immune response against *Campylobacter jejuni* colonization in the infant mouse. Epidemiol. Inf. 102: 271-280.

Abram, M.; Vuckovic, D.; Wraber, B. and Doric, M. (2000). Plasma cytokine response in mice with bacterial infection. Mediators of Inflammation, 9: 229–234.

Abuoun, M.; Manning, G.; Cawthraw, S. A.; Ridley, A.; Ahmed, I. H.; Wassenar, T. M. and Newell, D. G. (2005). Cytolethal distending toxin negative *Campylobacter jejuni* strains and anti - CDT neutralizing antibodies are induced during human infection but not during colonization in chickens. Infect. Immun. 73:3053 - 3062.

Aguero-Rosenfeld, M. E.; Yang, X. H. and Nachamkin, I. (1990). Infection of adult Syrian hamsters with flagellar variants of *Campylobacter jejuni*. Infect. Immun. 58: 2214-2219.

Akira, S.; Uematsu, S. and Takeuchi, O. (2006). Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 124, 783-801.

Al-Banna, N.; Raghupathy, R. and Albert, M. J. (2008). Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine levels parallel histopathological changes in an adult mouse lung model of *Campylobacter jejuni* infection. Clin. Vaccine Immunol.21(3):123-129.

AL-Bashan, M. M. and Al-Banki, A. (2010). Studies on ventilation evaluation in four broiler and layer hen houses at Deir Ezzour governorate with special reference to campylobacteriosis. J. Damish. Agricul. Sci. 26(1):147-164.

Albert, M. J.; Haridas, S. and Adler, B. (2008). Major outer membrane proteins from many *Campylobacter* species cross - react with cholera toxin. Clin. Vac. Immun. P: 859 - 862.

AL-Delaimi, M. S. and AL-Hadithi, R. (2008). Pathogenesis of *Campylobacter jejuni* infection with emphasis on ultrastructural changes. Dohuk Med. J. 2 (1):17-30.

AL-Juboori, A. N. K. (2010). Pathogenesis of *Campylobacter jejuni* enteritis histopathological and electron microscopy changes. XXVI world buiatrics congress, Santigo, Chile, 521:94-101.

Ali, S. M. (2006). Diagnosis of *Campylobacter* enteritis by direct microscopical examination. J. Dohuk Univ. 11 (1):158-163.

Ali, S. M.; Sharif, J. M.; Khasru, M. N. and Rashid, J.A. (1999). Isolation and identification of *Campylobacter* from diarrheal cases in children of Sulaimany region and the sensitivity tests of the discovered isolates. J. Dohuk Univ. 2(3): 383-396.

Allos, B.M. (2001) *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. Clin. Infect. Dis. 32: 1201-1206.

Al-Mahmeed, A.; Senok, A.C.; Ismaeel, A.Y.; Bindayna, K.M.; Tabbara, K.S. and Botta, G.A. (2006). Clinical relevance of virulence genes in *Campylobacter jejuni* isolates in Bahrain. J. Med. Microbiol. 55: 839 - 843.

Al-Salamy, A. K. A.(2005). A comparative study on the specific mucosal and systemic immune responses to two *Shigella* species in rabbits. Ph.D. Thesis. Babylon University. Iraq.

Al-Salloom, F. S.; Al-Mahmeed, A.; Ismaeel, A; Botta, G. A. and Bakhiet, M. (2003). *Campylobacter* - stimulated INT407 cells produce dissociatiated cytokine profiles. J. Infect. 47: 217 - 224.

Al-Sibahee, S. M. A. (2010). Pathological effects of the cytotoxin extracted from a locally isolated *Campylobacter jejuni*. Ph.D. thesis. Baghdad University. Iraq.

Altekruse, S. F.; Stern, N. J.; Fields, P. L.; and Swerdlow, D. L. (1999). *Campylobacter jejuni*—an emerging foodborne pathogen. Emerg. Infect. Dis. 5: 28-35.

Ampelas, M.; Perz, C.; Jourdan, J.; Nalet, B.; Raynaud, A.; Emberger, J. M. and Michel, H. (1982). Hepatite *Campylobacter coli*. Nouv. Press Med.11: 593-595. (Cited by Kita *et al*., 1986).

Andersen-Nissen, E.; Smith, K.D.; Strobe, K.L.; Barrett, S.L.; Cookson, B.T.; Logan, S.M. and Aderem, A. (2005) Evasion of toll-like receptor 5 by flagellated bacteria. Proc. Nati. Acad. Sci. 102: 9247-9252.

Andrews, S. C.; Robinson, A. K. and Rodriguez-Quinones, F. (2003). Bacterial iron homeostasis. FEMS Microbiol. Rev. 27: 215-237.

Ashgar, S.S.; Oldfield, N.J.; Wooldridge, K.G.; Jones, M.A.; Irving, G.J.; Turner, D.P. and Ala'Aldeen, D.A. (2007) CapA, an autotransporter protein of *Campylobacter jejuni*, mediates association with human epithelial cells and colonization of the chicken gut. J. Bacteriol. 189: 1856-1865.

Aspinall, G. O. ; Fujimoto, S. ; McDonald , A. G. ; Pang, H.; Kurjancyk, L.A. and Penner, J. L. (1992) Serological diversity and chemical structure of *Campylobacter jejuni* low molecular weight LPS. J. Bacteriol. 174:1324-1332.

Autenrieth, I. B.; Schuster, V.; Ewald, J.; Harmsen, D. and Kreth, H.W. (1996). An unusual case of refractory *Campylobacter jejuni* infection in a patient with X-linked agammaglobulinemia: Successful combined therapy with maternal plasma and ciproftoxacin. Clin. Infec. Dis. 23:526-531.

Autenrieth, I. B.; Schwarzkopf, A.; Ewald, J. H.; Karch, H. and Lissner, R. (1995). Bactericidal properties of *Campylobacter jejuni* - specific immunoglobulin M antibodies commercial immunoglobulin preparations. Antimicrob. Agen. Chemother. 39: 1965 - 1969.

Babakhani, F. K.; Bradley, G.A. and Joens, L.A. (1993). Newborn piglet model for campylobacteriosis. Infect. Immun. 61: 3466-3475.

Bacon, D. J. ; Aim, R. A. ; Hickey, T. E. ; Ewing, C. P. and Batchdor, R.A. (2002). DNA sequence and mutational analyses of the P.vir plasmid of *Campylobacter jejuni* 81-716. Infect. immun. 70: 6242 -50.

Bakhiet, M.; Al Salloom, F. S.; Qareiballa, A.; Bindayna, K.; Farid, I. and Botta, G. A. (2004). Induction of alpha and beta chemokines by intestinal epithelial cells stimulated with *Campylobacter jejuni*. J. Infect. Dis. 48: 236 - 244.

Bang, D. D.; Scheutz, F.; Gradel, K. O.; Nielsen, E. M.; Pedersen, K.; Engberg, J.; Gerner-Smidt, P.; Handberg, K. and Madsen, M. (2003). Detection of seven virulence and toxin genes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from different sources and cytolethal distending toxin production suggest potential diversity of pathogenic properties among isolates. Gen. Lett. 2: 62–72.

Baqar, S.; Applebee, L. A. and Bourgeois A. L. (1995). Immunogenicity and protective efficacy of a prototype *Campylobacter* killed whole-cell vaccine in mice. Infect. Immun. 63:3731–3735.

Baqar, S.; Bourgeois, A. L.; Applebee, L. A.; Mourad, A. S.; Kleinosky, M. T.; Mohran, Z. and Murphy, J. R. (1996). Murine intranasal challenge model for the study of *Campylobacter* pathogenesis and immunity. Infect. Immun. 64: 4933-4939.

Baqar, S.; Bourgeois, A. L.; Schultheiss, P. J.; Walker, R. I.; Rollins, D. M.; Haberberger, R. L. and Pavlovskis, O. R. (1995). Safety and immunogenicity of a prototype oral whole-cell killed *Campylobacter*

vaccine administered with a mucosal adjuvant in non-human primates. Vaccine, 13: 22–28.

Baqar, S.; Rice, B.; Lee, L.; Bourgeois, A. L.; Din, A. N.; Rribble, D. R.; Heresi, G. P.; Mourad, A. S. and Murphy, J. R. (2001). *Campylobacter jejuni* enteritis. Clin. Infect. Dis. 33: 901 - 905.

Bar, W. (1988). Role of murine macrophages and complement in experimental *Campylobacter* infection. J. Med. Microbiol. 26: 55-59.

Bar, W.; Becker, K. and Hewel, C. (1989). Systemic spread of *Campylobacter jejuni* after intravenous infections. FEMS. Microbiol. Lett. 47:263-270.

Bell, J. A.; Charles, J. L.; Murphy, A. J.; Rathinam, V.A.K; Plovanich-Jones, A. E.; Stanley, S. L.; Wolf, J. E.; Gettings, J. R.; Whittam, T. S. and Mansfield, L. S. (2009). Multiple factors interact to produce responses resembling spectrum of human disease in *Campylobacter jejuni* infected C57BL/6 IL-10-/- mice. BMC. Microbiol. 9:57-79.

Bell, J. A. and Manning, D. D. (1990). A domestic ferret model of immunity to *Campylobacter jejuni*-induced enteric disease. Infect. Immun. 58: 1848-1852.

Bendtzen, K. (1978). Biological properties of lymphokines. Allergy, 3:105-119.

Birkholz, S.; Knipp, U.; Nietzki, C.; Adamek, R.J. and Opferkuch, W. (1993). Immunological activity of lipopolysaccharide of *Helicobacter pylori* on human peripheral mononuclear blood cells in comparison to lipopolysaccharide of other intestinal bacteria. FEMS. Immunol. Med. Microbiol. 6:317–324.

Biswas, D.; Itoh, K. and Sasakawa, C. (2003). Role of microfilaments and microtubules in the invasion of INT-407 cells by *Campylobacter jejuni*. Microbiol. Immunol. 47:469-473.

Black, R. E.; Levine, M. M.; Clements, M. L.; Hughes, T. P. and Blaser, M. J. (1988). Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. J. Infect. Dis. 157: 472–479.

Blais, B.W. and Phillippe, L.M. (1999). Growth of *Campylobacter jejuni* in various media under different atmospheric conditions. J. Autom. Microbiol. 7: 291–300.

Blaschitz, C. and Raffatellu, M. (2010). Th17 cytokines and the gut mucosal barrier. J. Clin. Immunol. 30:196–203.

Blaser, M. J. (1997). Epidemiologic and clinical features of *Campylobacter jejuni* infections. J. Infect. Dis. 176:103-105.

Blaser, M. J.; Black, R. E.; Duncan, D. J. and Amer, J. (1985). *Campylobacter jejuni*-specific serum antibodies are elevated in healthy Bangladeshi children. J. Clin. Microbiol. 21: 164-167.

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.

Blaser, M. J.; Duncan, D. J.; Osterholm, M. T.; Istre, G. R. and Wang, W. L. (1983a). Serologic study of two clusters of infection due to *Campylobacter jejuni*. J. Infect. Dis. 147:820-823.

Blaser, M. J.; Duncan, D. J.; Warren, G. H. and Wang, W.L. (1983b). Experimental *Campylobacter jejuni* infection of adult Mice. Infect. Immun. 29: 908-919.

Blaser, M.J. and Engberg, J. (2008). Clinical aspects of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections. In *Campylobacter.* Nachamkin, I.; Szymanski, C.M. and Blaser, M. J. (eds). Washington, DC: ASM Press, P. 99-121.

Blaser, M. J. and Perez-Perez, G. I. (1992). Humoral immune response to lipopolysaccharide antigens of *Campylobacter jejuni*. Curr. Stat. Fut. Tren. 230-235.

Blaser, M. J.; Sazie, E. and Williams, L. P. (1987). The influence of immunity on raw milk-associated *Campylobacter* infection. JAMA. 257: 43–46.

Blaser, M. J.; Taylor, D. N. and Echeverria, P. (1986). Immune response to *Campylobacter jejuni* in a rural community in Thailand. J. Infect. Dis. 153: 249-254.

Bolton, F.J. and Coats, D. (1983). Developments of blood-free medium screening tests on basal medium and supplements and the ability of selected supplements to facilitate aerotolerance. J. Appl. Bacteriol. 54:115-125.

Bolton, F.J.; Mutchinson, D.N. and Coats, D. (1984). Blood-free selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. J. Clin. Microbiol. 19 (2): 169-171.

Boosinger, T. R. and Powe, T. A. (1988). *Campylobacter jejuni* infections in gnotobiotic pigs. Am. J. Vet. Res. 49: 456-458.

Borleffs, J. C.; Schellekens, J. F.; Brouwer, E. and Rozenberg, A. M. (1993). Use of an immunoglobulin M-contianing preparation for treatment of two

hypogamaglobulinemic patients with persistent *Campylobacter jejuni* infection. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 12: 772 - 775.

Boyden, S. V. (1951). Fixation of bacterial products by erythrocyte treated with tannic acid and subsequent haemagglutination by anti-protein sera. J. Exp. Med. 3: 107-120.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.

Bradshaw, L. J. (1996). Laboratory immunology . 2nd ed., Saunders college publishing, Washington, USA.

Brandtzaeg, P. (1981). Transport models for secretory IgA deficiency. Gastroentrol. Clin. N. Am. 20: 397 - 439.

Burr, D. H.; Caldwell, M. B.; Bourgeois, A. L.; Morgan, H. R.; Wistar, R., Jr. and Walker, R. I. (1988). Mucosal and systemic immunity to *Campylobacter jejuni* in rabbits after gastric inoculation. Infect. Immun. 56: 99-105.

Butzler, J. P. (2004). *Campylobacter* from obscurity to celebrity. Clin. Microbiol. Infect. 10: 868-876.

Catteau, M. (1995). The genus *Campylobacter*, P. 325-334. In Bourgeois, C. M. and Leveau, J.Y.(ed.), Microbiological control for foods and agricultural products. VCH Publishers Inc. New York.

Cawthraw, S. A.; Feldman, R. A.; Sayers, A. R. and Newell, D. G. (2002). Long-term antibody responses following human infection with *Campylobacter jejuni*. Clin. Exp. Immunol. 130: 101 - 106.

Chang, C. and Miller, J. F. (2006). *Campylobacter jejuni* colonization of mice with limited enteric flora. Infect. Immun. 74:5261–5271.

Chang, N. and Taylor, D. E. (1990). Use of pulsed-field agarose gel electrophoresis to size genomes of *Campylobacter* species and to construct a *SalI* map *Campylobacter jejuni* UA580. J. Bacteriol. 172(9): 5211-5217.

Cheesbrough, M. (1991**)**. Medical laboratory manual for tropical countries. ELBS, University press Cambridge, Great Britain, P. 2248-249.

Chen, M. L.; Ge, Z.; Fox, J. G. and Schauer, D. B. (2006). Disruption of tight junctions and induction of proinflammatory cytokine responses in colonic epithelial cells by *Campylobacter jejuni*. Infect. Immun. 74:6581-6589.

Chowdhury, M. N.; Al-Eissa, Y. A. (1992). *Campylobacter* gastroenteritis in children in Riyadh. Saudi Arabia. J. Trop. Pediatr. 38: 158-161.

Clark, A. G. and Bueschkens, D. H. (1988). Horizontal spread of human and poultry- derived strains of *Campylobacter jejuni* among broiler chicks held in incubators and shipping boxes. J. Food Prot. 51: 438-443.

Coering, R.V.; Dockrell, H.M.; Mims, C .; Zuckerman, M.; Wakelin, D.; Roitt, I. M. and Chiodini, P. L.(2008). Mims, Medical microbiology. 4th ed. Mosby, Elsevier.

Coker, A. O.; Isokpehi, R. D. and Thomas, B. N. (2002). Human campylobacteriosis in developing countries. Emerg. Infect. Dis. 8: 237-244.

Collee, J.G.; Barrie, P.M.; Andrew, G.F. and Simmons, A. (1996). Tests for the identification of bacteria. P. 131-149. In: Mackie and McCarthey; practical medical microbiology, 14th ed. Livingstone, New York.

Collins, C. H.; Lyne, P. M.; Grange, J. M. and Falkinham, J. O. (2004). Microbiological method. 8th ed. P.76-287. Arnold member of the Hodder headline group. London.

Collins, S.; Loughlin, E.; Rourke, J.; Li, Z.; Lee, A. and Howden, M. (1992). A cytotonic, cholera toxin-like protein produced by *Campylobacter jejuni*. Comp. Biochem. Physiol. 103: 299-303.

Comas, A. R.; Herrero, F. J. E.; Kauseman, K. and Martinez, A. B. (2009). Hepatitis in the course of an acute gastroenteritis caused by *Campylobacter jejuni*. An. Pediatr. 71 (1) :80-83.

Corry, J. E.; Post, D. E.; Colin, P. and Laisney, M. J. (1995). Culture media for the isolation of *Campylobacter*. Int. J. Food Microbiol. 26: 43-76.

Daikoku, T.; Kawaguchi, M.; Takama, K. and Suzuki, S. (1990). Partial purification and characterization of the enterotoxin produced by *Campylobacter jejuni*. Infect. Immun. 58: 2414-2419.

Dalpke, A.; Frank, J.; Peter, M. and Heeg, K. (2006). Activation of toll-like receptor 9 by DNA from different bacterial species. Infect. Immun. 74: 940-946.

Damborg,P.; Olsen, K. E. P.; Nielsen, Eva, M. and Guardabassi, L. (2004). Occurrence of *Campylobacter jejuni* in pets living with human patients infected with *Campylobacter jejuni*. J. Med. Microbiol. 42(3): 1363–1364.

Dasti, J. I. (2007). Identification and characterization of *Campylobacter jejuni* factors relevant for the infection process. Ph.D. thesis. George August University. Germany.

Day, W.A.; Sajecki, J.L.; Pitts, T.M. and Joens, L.A. (2000). Role of catalase in *Campylobacter jejuni* intracellular survival. Infect. Immun. 68: 6337-6345.

Dehaas, C. J.; Van leeunwen, E. M. M.; Van Bommel, T.; Verboef, J.; Vankessel, K. P. M. and Van Strijp, J.A. (2000). Serum amyloid protein component bound to gram negative bacteria prevent lipopolysaccharide mediated classical pathway complement activation. Infect. Immun. 68(4): 1753-1759.

Dekeyser, P.; Gossuin-Detrain, M.; Butzler, J. P. and Sternon, J. (1972). Acute enteritis due to related *Vibrio*: first positive stool cultures. J. Infect. Dis. 125:390-392.

De Melo, M.A. and Pechère, J. C. (1990). Identification of *Campylobacter jejuni* surface proteins that bind to eucaryotic cells *in vitro.* Infect. Immun. 58: 1749-1756.

De Zoete, M. R.; Keestra, A. M.; Roszczenko, P. and van Putten. J.P. (2010). Activation of human and chicken toll-like receptors by *Campylobacter* Spp. Infect. Immun. 78:1229–1238

Dibb, C. R.; Strieter, R. M.; Burdick, M. and Kunkel, S.L. (1992). Expression of interleukin-8 by lipopolysaccharide-stimulated bone marrow-derived mononuclear cells. Infect. Immun. P. 3052-3058.

Ding, T.; Sun, J. and Zhang, P. (2007). Immune evaluation of biomaterials in TNF-α and IL-1β at mRNA level. J. Mater. Sci. 18:2233–2236.

Dingle, K. E.; Colles, F. M.; Roszczenko, P. and Mills, D. C. (2002). Molecular characterization of *Campylobacter jejuni* clones: A basis for epidemiologic investigation. Emerg. Infect. Dis. 8: 949 - 955.

Dobryan, M. ; Tracz, M. K.; Jasmine, A. ; Amera, G. ; Kinga, k. G.; and Diane, E. T. (2005). P.vir and bloody diarrhea in *Campylobacter jejuni* enteritis. Emerg. Infect. Dis.11(6):838-846.

Dodd, C. E.; Sharman, R. L.; Bloomfield, S. F.; Booth, I. R. and Steward, G.S. (1997). Inimical processes: Bacterial self destruction and sub–lethal injury. Trend. Food. Sci. Tech. 8: 238–241.

Doyle, M. P. and Roman, D. J. (1982). Response of *Campylobacter jejuni* to sodium chloride. Envir. Microbiol. 43(3): 561-566.

Dufour, D. R.; Lott, J. A.; Note, F. S. and Gretch, D. R. (2000). Diagnosis of hepatic injury. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring. Clin. Chem. 46:2050-2068.

Dubois, M.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. A. and Smith, F. (1959). Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Anal. Chem. 28: 350-356.

Eckmann, L. (2005). Defence molecules in intestinal innate immunity against bacterial infections. Curr. Opin. Gastroenterol. 21: 147-151.

Edwards, L. A.; Nistala, K.; Mills, D. C.; Stephenson, H. N.; Zilbauer, M.; Wren, B. W.; Dorrell, N.; Lindley, K. J.; Wedderburn, L. R. and Bajaj-Elliott, M. (2010). Delineation of the innate and adaptive T-cell immune outcome in the human host in response to *Campylobacter jejuni* infection. Plos one, www.plosone.org. 5:1-9.

Ekdahl, K.; Normann, B. and Andersson, Y. (2005). Could flies explain the elusive epidemiology of campylobacteriosis? Infect. Dis. 5: 11-15.

Elvers, K. T.; Wu, G.; Gilberthorpe, N. J.; Poole, R. K. and Park. S. F. (2004). Role of an inducible single-domain hemoglobin in mediating resistance to nitric oxide and nitrosative stress in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. J. Bacteriol. 186:5332–5341.

Escherich, T. (1886). The intestinal bacteria of the neonate and breast-fed infant. Rev. Infect. Dis. 11: 352-356. (Cited by Kist, 1986).

Eyigor, A.; Dawson, K. A.; Langlois, B. E. and Pickett, C. L. (1999). Cytolethal distending toxin genes *in Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates: detection and analysis by PCR. J Clin. Microbiol. 37, 1646–1650.

Fauchere, J. L.; Veron, M.; Lellouvh-Tubiana, A. and Pfister, A. (1985). Experimental infection of gonobiotic mice with *Campylobacter jejuni*: Colonization of intestine and spread to lymphoid and reticculo-endothelial organs. J. Med. Microbiol. 20: 215-224.

Field, L. H.; Headley, V. L.; Payne, S. M. and Berry, L. J. (1986). Influence of iron on growth, morphology, outer membrane protein composition, and synthesis of siderophores in *Campylobacter jejuni*. Infect. Immun. 54: 126-132.

Finegold, S. M.; Martin, W. J.; Scott, E. G.(1978). Macfarlands nephelometer standards. Bailey and scott's. P. 825-26.

Florin, I. and Antillon, F. **(**1992). Production of enterotoxin and cytotoxin in *Campylobacter jejuni* strains isolated in Costa Rica. J. Med. Microbiol. 37:22–29.

Forbes, B. A.; Sahm, D. F. and Weissfeld, A. S. (2007). Bailey and scott's diagnostic microbiology. 12th ed. Mosby. London.

Forsberg B. C.; Patzold M. G. and Cooke, M. (2007). Diarrhea case management in low and middle in some countries – an unfinished agenda. Bulletin of WHO, 85(1):265-270.

Fox, J. G. (1997). The expanding genus of *Helicobacter*: pathogenic and zoonotic potential. Semin. Gastrointest. Dis. 8: 124-141.

Fox, J. G.; Ackerman, J. I.; Taylor, N.; Claps, M. and Murphy, J. C. (1987). *Campylobacter jejuni* infection in the ferret: an animal model for human campylobacteriosis. Am. J. Vet. Res. 48: 85-90.

Fox, J. M.; Rogers, A. B.; Whary, M. T.; Ge, Z.; Taylor, N. S.; Xu, S.; Horwitz, B. H. and Erdman, S. E. (2004).Gastroenteritis in NF-κB-deficient mice is produced with wild-type *Camplyobacter jejuni* but not with *Camplyobacter jejuni* lacking cytolethal distending toxin despite persistent colonization with both strains. Infect. Immun. 72(2): 1116-1125.

Franco, D. A. (1988). *Campylobacter* species: considerations for controlling a foodborne pathogen. J. Food. Prot. 51: 145–153.

Frei, J.; Heuck, C.; Riesen, W. and Laug; I. T. (1995). Production of basic diagnostic laboratory reagents. WHO regional publication, Eastern mealitterranean series.

Friis, L. M.; Pin, C.; Pearson, B. M. and Wells, J. M. (2005). *In vitro* cell culture methods for investigating *Campylobacter* invasion mechanisms. J. Microbiol. Meth. 61:145-160.

Funda, D. P.; Tuckova, L.; Farre, M. A.; Iwase, T.; Moro, I. and Hogenova, H. (2003). CD14 is expressed and released as soluble CD14 by human intestinal epithelial cells *in vitro*: lipopolysaccharide activation of epithelial cells revisited. Infect. Immun. 69:3772–3781.

Gallardo, F.; Gascdn, J.; Ruix, J.; Corachan, M.; de Anta, M. J. and Vil, J. (1998). *Campylobacter jejuni* as cause of traveler's diarrhea: clinical features and antimicrobial susceptibility. J. Travel. Med. 5:23-26.

Garrity, G. M.; Bell, J. A. and Lilburan, J. (2005). Class V. Epsilonproteobacteria. P. 1145–1160. In Garrity, G. M (ed.). Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd ed. Vol. 2. Williams and Wilkins.

Garvey, J. S.; Cremev, N. E. and Sussdrof, D. H. (1977). Methods in immunology. 3th ed. Addison-Wesley publishing company. P.53-267.

Gengozian, N.; Hall, R.E.; and Whitehurst, C.E. (2002). Erythrocyte-rosetting properties of feline blood lymphocyte and their relationship to monoclonal antibodies to T lymphocytes. J. Expert. Biol. Med. 9: 771-778.

Ge, Z.; Schauer, D. B. and Fox, J. G. (2008). In vivo virulence properties of bacterial cytolethal distending toxin. Cell. Microbiol. 10(8): 1599–1607.

Gillespie, S. H. and Hawkey, P. M. (2006). Principles and practice of clinical bacteriology. John Wiley and Sons Ltd. P. 485-493.

Gillespie, I. A.; Brien, S. J.; Frost, J.A.; Tam, C.; Tompkins, D.; Neal, K. R.; Syed, Q. and Farthing, M. J. (2006). Investigating vomiting and or bloody diarrhea in *Campylobacter jejuni* infection. J. Med. Microbiol. 55: 741-746.

Godschalk, P. C.; Kuijf, M. L.; Li, J.; Michael, F.; Ang, C.W.; Jacobs, B.C.; Karwaski, M. F.; Brochu, D.; Moterassed, A.; Endtz, H. P.; van Belkum, A. and Gilbert, M. (2007). Structural characterization of *Campylobacter jejuni* lipooligosaccharide outer cores associated with Guillain-Barre and Miller Fisher syndromes. Infect. Immun. 75: 1245-1254.

Goodwin, C. S.; Armsrong, J. A.; Chilver, T.; Peters, M.; Collins, M. D.; McConnell, W. and Harper, W.E. (1989). Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter pylori* Com. Nov.; and *Helicobacter mustelae* Com. Nov. respectively. Int. J. Syst. Bacteriol. 39: 379-405.

Goossens, H. and Butzler, J. (1992). Isolation and identification of *Campylobacter* Spp. P. 93–109. In: Nachamikin, I., Blaser, M. J. and Tompkins, L. S. (ed). *Campylobacter jejuni* current status and future trends. American society for microbiology, Washington DC.

Goossens, H.; Boeck, M.; Coignau, H.; Vlaes, L.; Borre, C. and Butzler. J. P. (1986). Modified selective medium for isolation of *Campylobacter* Spp. from feces: comparison with Preston medium, a blood-free medium and filtration system. J. Clin. Microbiol. 24:840-843.

Gorski, A. J.; Dupont, B.; Hansen, J. A. and Good, R. A. (1975). Leukocyte migration inhibitory factor (LMIF) induced by concanavalin A: standardized microassay for production *in vitro*. Proc. Nat. Acad. Sci. 72(8): 3197-3200.

Grant, C. C.; Konkel, M. E.; Cieplak, W. and Tompkins, L.S. (1993). Role of flagella in adherence, internalization, and translocation of *Campylobacter jejuni* in nonpolarized and polarized epithelial cell cultures. Infect. Immun. 61: 1764– 1771.

Granucci, F. and Ricciardi-casta-gnoli, P.(2003): Interaction of bacterial pathogens with dendritic cells during invasion of mucosal surfaces. Cur. Opin. Microbiol. 39:237-238.

Griffiths, P. L. and Park, R. W. (1990). *Campylobacter* associated with human diarrheal disease. J. Appl. Bacteriol. 69: 281-301.

Guerrant, R. L.; Wanke, C. A.; Pennie, R. A.; Barrett, L. J.; Lima, A. A. M. and Brien, A. D. **(**1987). Production of a unique cytotoxin by *Campylobacter jejuni*. Infect. Immun. 55: 2526**–**2530.

Guerry, P. (2007). *Campylobacter* flagella: not just for motility. Trends Microbiol. 15: 456-461.

Guerry, P.; Ewing, C. P.; Hickey, T. E.; Prendergast, M. M. and Moran, A. P. (2000). Sialylation of lip oligosaccharide cores affects immunogenicity and serum resistance of *Campylobacter jejuni*. Infect. Immun. 68: 6656-6662.

Hadi, Z. J. (2008). Detection of extended-spectrum beta-lactamases of *Escherichia coli* and *Klebsiella* Spp. isolated from patients with significant bacteriuria in Najaf. M.Sc. Thesis. Medicine College. Kufa University. Iraq.

Hagensee, M. E.; Benyunes, M.; Miller, J. A. and Spach, D. H. (1994). *Campylobacter jejuni* bacteremia and Guillain-Barre syndrome in a patient with GVHD after allogeneic BMT. Bone Marrow Transplantation, 13: 349-351.

Hailman, E.; Lichenstein, H. S.; Wurfel, M. M.; Miller, D. S.; Johnson, D. A.; Kelley, M.; Busse, L. A.; Zukowski, M. M. and Wright, S. D. (1994). Lipopolysccharide (LPS)-binding protein accelerate the binding of LPS to CD14. J. Exper. Med. 179: 269-77.

Hammarstrom, V.; Smith, C. I. and Hammarstrom, L. (1993). Oral immunoglobulin treatment in *Campylobacter jejuni* enteritis. Lancet, 341: 1036.

Hanninen, M. L. (1989). Effect of endotoxin on colonization of *Campylobacter jejuni* in infant mice. J. Med. Microbiol. 30: 199-206.

Hanning, I.; Jarquin, R. and Slavik, M. (2008). *Campylobacter jejuni* as a secondary colonizer of poultry biofilms. J. Appl. Microbiol. 105:1199-1208.

Hickey, T. E.; Baqar, S.; Bourgeois, A. L.; Ewing, C. P. and Guerry, P. (1999). *Campylobacter jejuni*-stimulated secretion of interleukin-8 by INT407 cells. Infect. Immun. 67: 88-93.

Hickey, T. E.; Majam, G. and Guerry, P. (2005). Intracellular survival of *Campylobacter jejuni* in human monocytic cells and induction of apoptotic death by cytholethal distending toxin. Infect. Immun. 73: 5194-5197.

Hickey, T. E.; McVeigh, A. L.; Scott, D. A.; Michielutti, R. E.; Bixby, A.; Carroll, S. A.; Bourgeois, A. L. and Guerry, P. (2000). *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin mediates release of interleukin-8 from intestinal epithelial cells. Infect. Immun. 68: 6535-6541.

Hitchcock, P. J.; Leive , L.; Endtz, H. P. and Bergman, M. P. (1986). Lipopolysacharides nomenclature: past present and future. J. bacterial. 66 (3): 699- 705.

Ho, D. D.; Ault, M. J.; Mark, J.; Mary, A. A. and Glen, H. M. (1982). *Campylobacter* enteritis: early diagnosis with gram's stain. Arch. Intern. Med. 142: 1858- 860.

Hodgson, A. E.; Mcbride, B. W.; Hudson, M. J.; Hall, G. and Leach, S. A. (1998). Experimental *Campylobacter* infection and diarrhea in immunodeficient mice. J. Med. Microbiol. 47: 799-809.

Hofreuter, D.; Novik, V. and Galan, J. E. (2008). Metabolic diversity in *Campylobacter jejuni* enhances specific tissue colonization. Cell Host and Microbe, 4: 425–433.

Hossain, A.; Stewart-Tull, D. E. and Freer, J. H. (1993). Heat-labile and heat-stable haemolysins of *Campylobacter jejuni*. FEMS. Immun. Med. Microbiol. 6:331-339.

Huang, S.; Sahin, O. and Zhang, Q. (2007). Infection-induced antibodies against the major outer membrane protein of *Campylobacter jejuni* mainly recognize conformational epitopes. FEMS. Microbiol. Let. 272: 137-143.

Hu, L.; Bray, M. D.; Osorio, M. and Kopecko, D. J. (2006a). *Campylobacter jejuni* induces maturation and cytokine production in human dendritic cells. Infect. Immun. 74: 2697-2705.

Hu, L. and Hickey, T. E. (2005). *Campylobacter jejuni* induces secretion of proinflammatory chemokines from human intestinal epithelial cells. Infect. Immun. 73: 4437–4440.

Hu, L. and Kopecko, D. J. (1999). *Campylobacter jejuni* 81-176 associates with microtubules and dynein during invasion of human intestinal cells. Infect. Immun. 67: 4171-4182.

Hu, L.; McDaniel, J. P. and Kopecko, D. J. (2006b). Signal transduction events involved in human epithelial cell invasion by *Campylobacter jejuni* 81-176. Microb. Patholog. 40: 91-100.

Hu, L.; Tall, B. D.; Curtis, S. K. and Kopecko, D. J. (2008). Enhanced microscopic definition of *Campylobacter jejuni* 81-176 adherence to, invasion of, translocation across, and exocytosis from polarized human intestinal caco-2 cells. Infect. Immun. 76: 5294–5304.

Humason, C. L. (1972). Animal tissue techniques. 3th ed. Freeman company. P. 641.

Humphrey, C. D.; Montag, D. M. and Pittman, F. E. (1985). Experimental infection of hamsters with *Campylobacter jejuni*. J. Infect. Dis. 151: 485-493.

Humphrey, T. J. (1990). The synergistic inhibition of *Campylobacter jejuni* by rifampicin and hydrogen peroxide. Let. Appl. Microbiol. 1(2): 97-100.

Hyde, R. M. (2000). Immunology. 4th ed., Lippincott Williams and Wilkins, USA.

Iovine, N. M.; Pursnani, S.; Voldman, A.; Wasserman, G.; Blaser, M. J. and Weinrauch, Y. (2008). Reactive nitrogen species contribute to innate host defense against *Campylobacter jejuni*. Infect. Immun. 76: 986-993.

Ivanova, E.; Kenarova, B. and Gumpert, J. (1993). Adjuvant activity of *E. coli* WF+ stable L-form cytoplasmic membrane. Acta. Microbiol. Bul. 29: 154-60.

Ishigame, H.; Kakuta, S.; Nagai, T.; Kadoki, M. and Nambu, A. (2009). Differential roles of interleukin-17A and -17F in host defense against

mucoepithelial bacterial infection and allergic responses. Immun, 30: 108–119.

Ismaeel, A. Y.; Jamsheer, A. E.; Yousif, A. Q.; Al-Otaibi, M. A. and Botta, G. A. (2002). Causative pathogens of severe diarrhea in children. Saudi. Med. J. 23:1064–1069.

Jackson, C. J.; Fox, A. J.; Jones, D. M.; Wareing, D. R. and Hutchinson, D. N. (1998). Associations between heat-stable (O) and heat-labile (HL) serogroup antigens of *Campylobacter jejuni*: evidence for interstrain relationships within three O/HL serovars. J. Clin. Microbiol. 36: 2223-2228.

Jain, D.; Prasad, K. N.;Sinha, S. and Husain, S. (2008): Differences in virulence attributes between cytolethal distending toxin positive and negative *Campylobacter jejuni* strains. Med. Microbiol. 57:267–272.

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. Amer. Soc. Microbiol. P: 505 - 518.

Jeffrey, J.S.; Hunter, A. and Atwill, E.R. (2000). A field–suitable, semisolid aerobic enrichment medium for isolation of *Campylobacter jejuni* in small numbers. J. Clin. Microbiol. 38:1668–1669.

Jin, S.; Song, Y. C.; Emili, A.; Sherman, P. M. and Chan, V. L. (2003). JlpA of *Campylobacter jejuni* interacts with surface-exposed heat shock protein 90alpha and triggers signalling pathways leading to the activation of NF-kB and p38 MAP kinase in epithelial cells. Cell. Microbiol. 5: 165-174.

Johanesen, P. A. and Dwinell, M. B. (2006). Flagellin-independent regulation of chemokine host defense in *Campylobacter jejuni*-infected intestinal epithelium. Infect. Immun. 74: 3437-3447.

Johnson, W. M. and Lior, H. **(**1986). Cytotoxic and cytotonic factors produced by *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Campylobacter laridis*. J. Clin. Microbiol. 24: 275–281.

Johnson, W. M. and Lior, H. **(**1988). A new heat-labile cytolethal distending toxin (CLDT) produced by *Campylobacter* Spp. Microb. Pathog. 4:115–126.

Johnstone, A. and Thorpe, R. (1982). Chemistry in practice. Black well scientific publication. P. 70.

Jones, D. M.; Sutcliffe, E. M. and Curry, A. (1991). Recovery of viable but nonculturable *Campylobaeter jejuni.* J. Gen. Microbiol. 137: 2477-2482.

Jones, F. S.; Orcutt, M. and Little, R. B. (1931). *Vibrios* (*Vibrio jejuni*, n.sp.) associated with intestinal disorders of cows and calves. J. Exp. Med. 53: 853-863. (Abstract).

Jones, M. A.; Totemeyer, S.; Maskell, D. J.; Bryant, C. E. and Barrow, P. A. (2003). Induction of proinflammatory responses in the human monocytic cell line THP-1 by *Campylobacter jejuni*. Infect. Immun. 71: 2626-2633.

Kakuda, T. and Dirita, V. J. (2006). Cj 1496c encodes a *Campylobacter jejuni* glycoprotein that influences invasion of human epithelial cells and colonization of the chick gastrointestinal tract. Infect. Immun. 74: 4715-4723.

Kalischuk, L. D. and Buret, A. G. (2010). A role for *Campylobacter jejuni* induced enteritis in inflammatory bowel disease. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 298: 1–9.

Kalischuk, L. D.; Inglis, G. D. and Buret, A. G. (2009). *Campylobacter jejuni* induces transcellular translocation of commensal bacteria via lipid rafts. Gut Pathogens, 1:1-10.

Kanipes, M. I.; Tan, X.; Akelaitis, A.; Li, J.; Rockabrand, D.; Guerry, P. and Monteiro, M. A. (2007). Genetic analysis of lipooligosaceharide core biosynthesis in *Campylobacter jejuni* 81-176. J. Bacteriol. 72: 252-255.

Kapperud, G.; Lassen, J.; Ostroff, S. M. and Aasen, S. (1992). Clinical features of sporadic *Campylobacter* infections in Norway. Scand. J. Infect. Dis. 24: 741-749.

Karlyshev, A.V.; Champion, O. L.; Churcher, C.; Brisson, J. R.; Jarrell, H.; Gilbert, M.; Brochu, D.; Michael, F.; Li, J.; Wakarchuk, W. W.; Goodhead, I.; Sanders, M.; Stevens, K.; White, B.; Parkhill, J.; Wren, B. W. and Szymanski, C. (2005). Analysis of *Campylobacter jejuni* capsular loci reveals multiple mechanisms for the generation of structural diversity and the ability to form complex heptoses. Microbiol. 55: 90-103.

Kasrazadeh, M. and Genigeorgis, C. (1987). Origin and prevalence of *Campylobacter jejuni* in ducks and duck meat at farm and processing plant level. J. Food Prot. 50:321-326.

Katarzyna, E.; Jagusztyn-Krynicka; Laniewski and wyszynska, A. (2009). Update on *Campylobacter jejuni* vaccine development for preventing human campylobacteriosis. Expert. Rev. Vaccines. 8(5): 625-645.

Katelaris, P. H.; Lowe, D. H.; Norbu, P. and Farthing, M. J. (1991). Field evaluation of a rapid, simple and inexpensive urease test for the detection of *Helicobacter pylori*. J. Gastroenterol. Hepatol. 7: 569-571.

Keo, T.; Collins, J.; Kunwar, P.; Blaser, M. J. and Iovine, N. M. (2011).*Campylobacter* capsule and lipooligosaccharide confer resistance to serum and cationic antimicrobials. Virulence, 2(1): 30-40.

Ketley, J. M. (1997). Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. Microbiol. 143: 5-21.

Ketley, J. M. (1995). Virulence of *Campylobacter* species: a molecular genetic approach. J. Med. Microbiol. 42: 312-327.

Kiehlbauch, J. A.; Albach, R. A.; Baum, L. L. and Chang, K. P. (1985). Phagocytosis of *Campylobacter jejuni* and its intracellular survival in mononuclear phagocytes. Infect. Immun. 48:446–451.

Kim, N. W.; Bingham, H.; Khawaja, R.; Louie, H.; Rani, E.; Neote, K. and Chan, V. L. (1992). Physical map of *Campylobacter jejuni* TGR9011 and localisation of 10 genetic markers by use of pulsed-field gel electrophoresis. J. Bacteriol. 174(11): 3494-3498.

King, E. O. (1957). Human infections with *Vibrio fetus* and a closely related *Vibrio*. J. Infect. Dis. 101: 119 - 128. (Abstrat).

Kinga, W. and Jacek, O. (2010). Molecular characterization of *Campylobacter* Spp..isolated from poultry faeces and carcasses in Poland. Acta. Vet. 80: 19–27.

Kist, M. (1986). Who discovered *Campylobacter jejuni/coli*? A review of hitherto disregarded literature. Zentralbl. Bacteriol. Microbiol. Hyg. 261: 177-186.

Kita, E.; Nishikawa, F.; Kamikaidou, N.; Nakano, A.; Katsui, N. and Kashiba, S. (1992). Mononuclear cell response in the liver of mice infected with hepatotoxigenic *Campylobacter jejuni*. J. Med. Microbiol. 37:326–331.

Kita, E.; Katsui, N. ; Emoto, M.; Yanagase, Y. and Kashiba, S. (1986). Hepatic lesions in experimental *Campylobacter jejuni* infection of mice. J. Gen. Microbiol. 132:3095-3103.

Kita, E.; Oku, D.; Hammuro, A.; Nishikawa, F.; Emoto, M.; Yagyu, Y.; Katsui, N. and Kashiba, S. (1990). Hepatotoxic activity of *Campylobacter jejuni*. J. Med. Microbiol. 33:171–183.

Klipstein, F. A. and Engert, R. F. (1984). Properties of crude *Campylobacter jejuni* heat-labile enterotoxin. Infect. Immun. 45: 314-319.

Klipstein, F.A.; Engert, R.F.; Short, H. and Schenk, E.A. (1985). Pathogenic properties of *Campylobacter jejuni*: assay and correlation with clinical manifestations. Infect. Immun. 50(1): 43-49.

Kobe, B. and Deisenhofer, J. (1995). A structural basis of the interaction between leucin rich repeat and protein ligands. Nature. 374: 183 -186.

Konkel, M. E.; Hayes, S. F.; Joens, L. A. and Cieplak, J. W. (1992). Characteristics of the internalization and intracellular survival of *Campylobacter jejuni* in human epithelial cell cultures. Microb. Pathog. 13:357–370.

Konkel, M. E.; Kim, B. J.; Rivera-Amill, V. and Garvis, S. G. (1999a). Identification of proteins required for the internalization of *Campylobacter jejuni* into cultured mammalian cells. Adv. Exp. Med. Biol. 473: 215-224.

Konkel, M. E., Kim, B. J., Rivera-Amill, V. and Garvis, S. G. (1999b). Bacterial secreted proteins are required for the internaliztion of *Campylobacter jejuni* into cultured mammalian cells. Mol. Microbiol. 32: 691-701.

Konkel, M. E.; Monteville, M. E.; Klena, J. D. and Joens, L. A. (2003). *In vitro* and in *vivo* models used to study *Campylobacter jejuni* virulence properties. P. 195-210. In Torrence, M. E. and Isaacson, R. E. (ed). Microbial Food Safety in Animal Agriculture, Iowa state press, Ames, IA.

Konkel, M. E.; Montevile, M.; Rivera-Amill, V. and Joens, L. A. (2001). The pathogenesis of *Campylobacter jejuni*-mediated enteritis. Curr. Issues Int. Microbiol. 2: 55-71.

Kopecko, D. J.; Hu, L. and Zaal, K. J. (2001). *Campylobacter jejuni* microtubule dependent invasion. Trends Microbiol. 9:389-396.

Kotb, M. and Calandra, T. (2003). Cytokines and chemokines in infectious diseases handbook. Humana press. Totowa, New Jersey.

Kuijf, M. L.; Samsom, J. N.; van Rijs, W.; Bax, M.; Huizinga, R.; Heikema, A. P.; van Doorn, P. A.; van Belkum, A.; van Kooyk, Y.; Burgers, P.C.; Luider, M.; Endtz, H. P.; Nieuwenhuis, E. E. C. and Jacobs, B. C. (2010). TLR4-mediated sensing of *Campylobacter jejuni* by dendritic cells is determined by sialylation. J. Immuniol. 185; 748-755.

Kwan, P. S.; Birtles, A.; Bolton, F. J.; French, N. P.; Robinson, S. E.; Newbold, L. S.; Upton, M. and Fox, A. J. (2008). Longitudinal study of the molecular epidemiology of *Campylobacter jejuni* in cattle on dairy farms. Appl. Environ. Microbiol. 74: 3626-3633.

Kwapiniski, J. B.(1972). Methodology of immunochemical and immunological research. John Wiely and Sons. NewYork, London.

Ladron de Guevara, C.; Gonzalez, J. and Pefia, P. (1994). Bacteraemia caused by *Campylobacter* Spp. J. Clin. Pathol. 47: 174-175.

Lamb-Rosteski, J. M.; Kalischuk, L. D.; Inglis, G. D. and Buret, A. G. (2008). Epidermal growth factor inhibits *Campylobacter jejuni* induced claudin-4 disruption, loss of epithelial barrier function, and *Escherichia coli* translocation. Infect. Immun. 5: 3390–3398.

Lara-Tejero, M. and Galan, J. E. (2001). CdtA, CdtB, and CdtC form a tripartite complex that is required for cytolethal distending toxin activity. Infect. Immun. 69:4358-4365.

Learen, D. B.; Brestel, E. P. and Seetharama, S. (1987). Hypochlorite scavengings by *Pseudomonas aeruginosa*. Infect. Immun. 55: 1813-1818.

Lecuit, M.; Abachin, E.; Martin, A.; Poyart, C.; Pochart, P.; Suarez, F.; Bengoufa, D.; Feuillard, J. and Lavergne, A. (2004). Immunoproliferative small intestinal disease associated with *Campylobacter jejuni*. N. Engl. J. Med. 350: 239–248.

Lee, A.; Orourke, J.; Barrington, P. and J. Trust, T. (1986). Mucus colonization as a determinant of pathogenicity in intestinal infection by *Campylobacter jejuni*: a mouse cecal model. Infect. Immun. 51: 536-546.

Lee, A.; Smith, S.C. and Coloe, P. J. (2000). Detection of noval *Campylobacter* cytotoxin**.** J. Appl. Microbiol. 89: 719-725.

Lewis, S. M.; Bain, B. J. and Bates, I. (2001). Dacie and Lewis practical hematology. 9th ed. Churchill Livingstone. London.

Lippert, E.; Karrasch, T.; Sun, X.; Allard, B.; Herfarth, H.; Threadgill, D. and Jobi, C. (2009). Gnotobiotic IL-102/2; NF-kBEGFP mice develop rapid and severe colitis following *Campylobacter jejuni* infection. Plos one, www.plosone.org. 4:1-10.

Li, Y. P.; Ingmer, H.; Madsen, M. and Bang, D. D. (2008). Cytokine responses in primary chicken embryo intestinal cells infected with *Campylobacter jejuni* strains of human and chicken origin and the expression of bacterial virulence associated genes. BMC. Microbiol. 8: 107-117.

Lin. Y.; Chan, C. S. and Hale, J. (1986).Two dimensional thin chromatography for specific detection of Hippurate hydrolysis by microorganism. J. Clin. Microbiol. 23: 118-123.

Lior, H. (1984). New extending biotyping scheme for *Campylobacter jejuni, Campylobacter coli* and *Campylobacter laris*. J. Clin. Microbiol. 20: 636-640.

Louwen, R.; Heikema, A.; van Belkum, A.; Ott, A.; Gilbert, M.; Ang, W.; Endtz, H. P.; Bergman, M. P. and Nieuwenhuis, E. E. (2008). The sialylated lipooligosaccharide outer core in *Campylobacter jejuni* is an important determinant for epithelial cell invasion. Infect. Immun. 76: 4431-4438.

Luchi, M. and Morrison, D. (2000). Comparable endotoxic properties of lipopolysaccharides are manifest in diverse clinical isolates of gram negative bacteria. Infect. Immun. 68(4): 1899-904.

MacCallum, A. J.; Hardy, S. P. and Everest, P. H. (2005). *Campylobacter jejuni* inhibits the absorptive transport functions of caco-2 cells and disrupts cellular tight junctions. Microbiol. 151: 2451-2458.

MacCallum, A. J.; Harris, D.; Haddock, G. and Everest, P. H. (2006). *Campylobacter jejuni* infected human epithelial cell lines vary in their ability to secrete interleukin-8 compared to *in vitro*-infected primary human intestinal tissue. Microbiol. 152, 3661-3665.

Macfaddin, J. F. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd ed. LippincottWilliams and Wilkins. New York. P.78-825.

Mahajan, S. and Rodgers, F. G. **(**1990). Isolation, characterization and host-cell-binding properties of a cytotoxin from *Campylobacter jejuni*. J. Clin. Microbiol. 28: 1314–1320.

Maisawa, M. ; Itohi, L.; Hirayama, K. and Takahashi, E. (1995). Detection of alpha and beta haemolytic like activity from *Campylobacter jejuni*. J. Clin. Microbiol. 33: 72-73.

Malin, M.; Suomalainen, H.; Saxelin, M. and Isolauri, E. (1996). Promotion of IgA immune response in patient with crohn's disease by oral bacteriotheraby with *Lactobacillus* GG. Ann. Nutr. Metab. 40:137-145.

Mancini, G.; Carbonaro, A. O.; Heremans, J. F.(1965). Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodifution. Immunochemistry, 2:235-54.

Mandell, G. L.; Benntt, J. E. and Dolin, R. (2000). Principle practice of infectious diseases, 5th ed. Churchill Livingstone, Great Britain, P. 2276-2278.

Maniatis, T. E.; Fritch, and Jambrock. (1982). Molecular cloning laboratory manual. Gold Spring Harbor Laboratory, New York.

Manjarez, H. A.; Gavilanes, S.; Chavez, B.; Navarro, O. and Cravioto, A. (2000). Antigen detection in Enteropathogenic *Escherichia coli* using secretory immunoglobulin A antibodies isolated from human breast milk. Infec. Immun. 68:5030-5036.

Mansfield, L. S.; Bell, J. A.; Wilson, D. L.; Murphy, A. J.; Elsheikha, H. M.; Rathinam, V. A. K.; Fierro, B. R.; Linz, J. E. and Young, V. B. (2007). C57BL/6 and congenic interleukin-10-deficient mice can serve as models of *Campylobacter jejuni* colonization and enteritis. Infect. Immun. 75:1099-1115.

Marques, A. M.; Estanol, I.; Alsina, J. M.; Fuste, C.; Siman-pujol, D.; Guinea, J. and Congregade, F. (1986). Production and properties of the extracellular polysaccharide synthesized by *Pseudomonas* Sp. strain Eps-5028. Appl. Envirom. Microbiol. 52: 1221-1223.

Martin, P. M.; Mathiot, J.; Ipero, J.; Kirimat, M.; Georges, A. J. and Georges-Courbot, M. C. (1989). Immune response to *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in a cohort of children from birth to 2 years of age. Infect. Immun. 57: 2542-2546.

McCardell, B. A.; Madden, J. M. and Stanfield, J. T. (1986a). A mouse model for the measurement of virulence of species of *Campylobacter*. J. Infect. Dis. 153: 177-183.

McCardell, B. A.; Madden, J. M. and Stanfield, J. T. (1986b). Effect of iron concentration on toxin production in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. Can. J. Microbiol. 32: 395-401.

McCarthy, N. and Giesecke .J. (2001). Incidence of Guillain-Barre syndrome following infection with *Campylobacter jejuni*. Am. J. Epidem. 153(6):610-619.

McFadyean, J. and Stockman, S. (1913). Report of the departmental committee appointed by the board of agriculture and fisheries to enquire into epizootic abortion Appendix to part II. Abortion in sheep: Majesty's stationery office. London. P.1-64. (Cited by Butzler, 2004).

McSweegan, E. and Walker, R. I. **(**1986). Identification and characterization of two *Campylobacter jejuni* adhesins for cellular and mucous substrates. Infect. Immun. 53:141–148.

Megraud, F.; Boudraa, G. ; Bessaoud, K.; Bensid, S.; Dabis, F.; Soltana, R. and Touhami, M. (1990). Incidence of *Campylobacter* infection in infants in western Algeria and the possible protective role of breast feeding. Epidemiol. Infect. 105: 73-78.

Mellits, K. H.; Mullen, J.; Wand, M.; Armbruster, G.; Patel, A.; Connerton, F. L.; Skelly, M. and Connerton, I. F. (2002). Activation of the transcription factor NF-*k*B by *Campylobacter jejuni*. Microbiol.148: 2753–2763.

Metcalf, J. A.; Gallin, J. I.; Nauseef, W.M. and Root, R.K. (1986). Laboratory manual of neutrophil function. Raven press, NewYork. P.100-103.

Migaki, G. and Capen, C.C. (1984). Animal model in biomedical research. P. 667-695. In Fox, J. G. Cohen, B. J.and Loew, F. M. (ed). Laboratory animal. Academic press, Inc., Orlando, Fla.

Miller, O. A. and Lastovica, A. J. (2008). Evaluation of three commercial latex agglutination tests for identification of *Campylobacter* Spp. J. Clin. Microbiol. 46(10): 3546–3547.

Mills, S. D.; Aspinall, G. O.; McDonald, A G.; Raju, T. S.; Kurjanczyk, L. A. and Penner, L. (1992). Lipopolysaccharide antigens of *Campylobacter jejuni*. P. 223-229. In: Nachamkin, I.; Blaser, M. J. and Tompkins, L. S. (ed). *Campylobacter jejuni:* current status and future trends. American Society for Microbiology, Washington DC.

Mizuno, S.; Maki, S.; Honda, T.; Miwatani, T. and Arita, K. (1985). Appearance in patients' sera of antibodies against purified antigen of *Campylobacter jejuni* and its relation to the bacterium-excreting period. J. Infect. Dis. 151: 742-748.

Mixter, P. F.; Klena, J. D.; Flom, G. A.; Siegesmund, M. and Konkel, M. E.(2003). *In vivo* tracking of *Campylobacter jejuni* by using a novel recombinant expressing green fluorescent protein. App. Envirom. Microbiol. 69(5): 2864–2874.

Mohammad, T. K. (2000).Comparative study on the spiral and coccoid forms of *Campylobacter jejuni* isolated from diarrheal cases in children. M. Sc. thesis. College of Science. University of Baghdad. Iraq.

Monteville, M. R. and Konkel, M. E. (2002). Fibronectin-facilitated invasion of T84 eukaryotic cells by *Campylobacter jejuni* occurs preferentially at the basolateral cell surface. Infect. Immun. 70: 6665-6671.

Monteville, M. R.; Yoon, J. E. and Konkel, M. E. (2003) Maximal adherence and invasion of INT 407 cells by *Campylobacter jejuni* requires the cadF

outer-membrane protein and microfilament reorganization. Microbiol. 149: 153-165.

Moore, M. A.; Blaser, M. J.; Perez-Perez, G. I. and Brien, A. D. (1988). Production of a shiga-like cytotoxin by *Campylobacter*. Microb. Pathog. 4: 455-462.

Moore, J. E.; Barton, M. D. and Blair, I. S. (2006). The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. Microb. Infect. 8: 1955-1966.

Morooka, T.; Umeda, A. and Amako, K. (1985). Motility as intestinal colonization factor for *Campylobacter jejuni*. J. Gen. Microbiol.131: 1973-1980.

Moran , A. P. (1997). Structure conserved characterization of *Campylobacter jejuni* LPS. J. Infect. Dis. 176: 15-21.

Moran, A. P. (2010).The role of endotoxin in infection: *Helicobacter pylori* and *Campylobacter jejuni*. Subcell. Biochem. 53: 209-240.

Moran, A. P. and Upton, M. E. (1987). Factors affecting production of coccoid forms by *Campylobacter jejuni* on solid media during incubation. J. App. Bacteriol. 62:527–537.

Moran, A. P.; Zahringer, U.; Seydel, U.; Scholz, D.; Stotz, P. and Rietschel, E. T. (1991). Structural analysis of the lipid A component of *Campylobacter jejuni* CCUG 10936 (serotype 0:2) lipopolysaccharide. Europ. J. Biochem. 198: 459-469.

Myers, R. L. (1995). Immunology. a laborotry manual, 2nd ed. Wm. C. Brown publishers. P. 83.

Nachamkin, I. and Yang, X. H. (1989). Human antibody response to *Campylobacter jejuni* flagellin protein and a synthetic N-terminal flagellin peptide. J. Clin. Microbiol. 27: 2195-2198.

Nachamkin, I., Yang, X. H. and Stern, N. J. (1993). Role of *Campylobacter jejuni* flagella as colonization factors for three-day-old chicks: analysis with flagellar mutants. Appl. Envirom. Microbiol. 59: 1269-1273.

Naikare, H.; Palyada, K.; Panciera, R.; Marlow, D. and Stintzi, A. (2006). Major role for feoB in *Campylobacter jejuni* ferrous iron acquisition, gut colonization, and intracellular survival. Infect. Immun. 74: 5433-5444.

Nemelka, K. W.; Brown, A.W.; Wallace, S. M.; Jones, J.; Asher, L. V.; Pattarini, D.; Applebee, L.; Gilliland, T. C.; Guerry, P. and Baqa, S. (2009). Immune

response to and histopathology of *Campylobacter jejuni* infection in ferrets. Com. Med. 59(4):363-371.

Ness, V. and Hofstad, T. (1987). Chemical composition and biological activity of lipopolysaccharides prepared from type strains of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli.* Act. Patho. Microbiol. Immun. Scand. 92: 217-222.

Newat, C. and Jirog, S. (2009). PCR detection of four virulence-associated genes of *Campylobacter jejuni* isolates from thai broilers and their abilities of adhesion to and invasion of INT-407 cells. J. Vet. Med. Sci. 71(6): 839–844.

Newell, D. G.; McBride, H.; Saunders, F.; Dehele, Y. and Pearson, A. D. (1985). The virulence of clinical and environmental isolates of *Campylobacter jejuni*. J. Hyg. 94: 45-54.

Newell, D. G.; Frost, J. A.; Duim, B. ; Dehele, Y. and Pearson, A.D. (2000). New developments in the subtyping of *Campylobacter* species. P. 27- 44. In: Nachamkin, I. and Blaser, M. J. (ed). *Campylobacter*. 2nd ed. ASM. press, Washington, DC.

Ng. L. K.; Sherburne, R.; Tylor, D. E. and Stiles, M. E.(1985).Morphological form and viability of *Campylobacter* species studied by electron microscopy. J. Bacteriol. 164: 338-43.

Nuaman, I. T. (2002). Modulation of immune response in BALB/c mice against infection with hydatid disease by polysaccharide extracted from *Pseudomonas aeruginosa*. M. Sc. Thesis. Mosul University.

Nuijten, P.J., van Asten, F.J., Gaastra, W., and van der Zeijst, B.A. (1990) Structural and functional analysis of two *Campylobacter jejuni* flagellin genes. J. Biol. Chem. 265: 17798-17804.

On, S. L.W. (1996). Identification methods for *Campylobacter*, *Helicobacter*, and related organisms. Clin. Microbiol. Rev. 9: 405–422.

Park, B.H.; Fikrig, S.M.; and Smithwick, E.M.(1968). Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils. Lancet, 2: 532-534.

Palyada, K.; Threadgill, D. and Stintzi, A. (2004). Iron acquisition and regulation in *Campylobacter jejuni*. J. Bacteriol. 186: 4714-4729.

Pancorbo, P. L.; Gallego, A. M.; de Pablo, M.; Alvarez, C.; Ortega, E.; de Cienfuegos, G. (1994). Inflammatory and phagocytic response to experimental *Campylobacter jejuni* infection in mice. Microbiol Immunol. 38(2):89-95.

Pancorbo, P. L.; de Pablo, M. A.; Ortega, E.; Gallego, A. M.; Alvarez, C. and de Cienfuegos, G. A. (1999). Evaluation of cytokine production and phagocytic activity in mice infected with *Campylobacter jejuni.* Curr. Microbiol. 39: 129–133.

Pang.T.; Wong, P.Y.; Puthucheary, S.D.; Sihotang, K. and Chang, W.K. (1987). *In-vitro* and *in-vivo* studies of a cytotoxin from *Campylobacter jejuni*. J. Med. Microbiol. 23: 193-198.

Park,C. H.; Hixon, D. L.; Polhemus, A. S.; Risheim, C. C. and Cook, C. B. (1983). A rapid diagnosis of *Campylobacter* enteritis by direct smear examination. A. J. C. P. 388-390.

Pei, Z.; Burucoa, C.; Grignon, B.; Baqar, S.; Huang, X. Z.; Kopecko, D. J.; Bourgeois, A. L.; Fauchere, J. L. and Blaser, M. J. (1998). Mutation in the peblA locus of *Campylobacter jejuni* reduces interactions with epithelial cells and intestinal colonization of mice. Infect. Immun. 66: 938-943.

Pei, Z. and Blaser, M. J. (1993). PEB1, the major cell-binding factor of *Campylobacter jejuni*, is a homolog of the binding component in gram-negative nutrient transport systems. J. Biol. Chem. 268:18717–18725.

Penner J. L. (1988). The genus *Campylobacter*: a decade of progress. Clin. Microbiol. Rev. 1: 157- 172.

Penner , J. L and Aspinall, G. O. (1997). Diversity of LPS structures in *Campylobacter jejuni*. J. Infect. Dis. 176:35-38.

Perez-Perez, G. I.; Hopkins, J. A. and Blaser, M. J. (1986). Lipopolysaccharide structure in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and *Vibrio cholerae* are immunologically related to *Campylobacter* Spp. Infect. Immun. 51: 204-208.

Pesci, E. C.; Cottie, D. L. and Pickett, C. L. **(**1994). Genetic, enzymatic, and pathogenic studies of the iron superoxide dismutase of *Campylobacter jejuni*. Infect. Immun. 62:2687–2694.

Pitkanen, T.; Ponka, A.; Pettersson, R. and Kosunen, T. U. (1983). *Campylobacter* enteritis in 188 hospitalized patients. Arch. Intern. Med. 143: 215-219. (Abstract).

Plunkett, M. L.; Sanders, M. E.; Selvara, J. P.; Dustin, M. L.; and Springer, T. A. (1987). Rosetting of activated T lymphocytes with autologus erthrocytes. J. experim. Med.165: 664-676.

Poll, T. V.; Malefut, R.W.; Coyle, S. M. and Lowry, S. F. (1997). Anti-inflammatory cytokine responses during clinical sepsis and experimental

endotoximia: sequential measurements of plasma soluble IL-1 receptor type, 1L-10 and 1L-13. J. Infect. Dis. 175: 118-122.

Poly, F. and Guerry, P. (2008) Pathogenesis of *Campylobacter*. Curr. Opin. Gastroenterol. 24: 27-31.

Pope, J.E.; Krizova, A.; Garg, A.X.; Thiessen-Philbrook, H. and Ouimet, J.M. (2007). *Campylobacter* reactive arthritis: a systematic review. Semin Arthritis Rheum. 37: 48-55.

Pospiech, T. and Neumann, J. (1995). In Genomic DNA isolation T. Kiesereds. John Innes Center. Norwich NR4 7UH.U.K. (Cited by Hadi, 2008).

Prescott, J. F.; Barker, T. K.; Manninen, K. I. and Miniats, O. P. (1981). *Campylobacter jejuni* colitis in gnotobiotic dogs. Can. J. Comp. Med. 45: 377-383.

Purdy, D.; Buswell, C.M.; Hodgson, A.E.; McAlpine, K.; Henderson, I., and Leach, S.A. (2000). Characterisation of cytolethal distending toxin mutants of *Campylobacter jejuni*. J. Med. Microbiol. 49: 473–479.

Rathinam, V. A.; Appledorn, D.M.; Hoag, K.A.; Amalfitano, A. and Mansfield, L.S.(2009). *Campylobacter jejuni*-induced activation of dendritic cells involves cooperative signaling through toll-like receptor 4 (TLR4)-MyD88 and TLR4-TRIF Axes. Infect. Immun. 77:2499–2507.

Rathinam, V. A.; Hoag, K. A. and Mansfield, L. S. (2008). Dendritic cells from C57BL/6 mice undergo activation and induce Th1-effector cell responses against *Campylobacter jejuni*. Microbe. Infect. 10: 1316-1324

Ratledge, C. (2007). Iron metabolism and infection. Food Nutr. Bull. 28:515–23.

Reddy, K. R. (2010). Microbiology and parasitology. 4th ed. Paris, Medical puplisher. New Delhi.

Reddy, K. R. and Thomas, E. (1982). *Campylobacter jejuni* enterocolitis and hepatitis. Gastroenter. 82: 1156. (Abstract).

Reed, J. and Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty percent end points. Am. J. Hyg. 27: 493-497.

Rizal, A.; Kumar, A. and Vidyarthi, A.S. (2010): Prevalence of pathogenic genes in *Campylobacter jejuni* isolated from poultry and human. J. Food Safety. 12: 29-34.

Rocklin, R. E. (1974). Products of activated lymphocytes: leukocyte inhibitory factor (LIF) distinct from migration inhibitory factor (MIF). J. Immun. 112 (4): 1461-1466.

Rochling, F.A. (2001). Evaluation of abnormal liver tests. Clin. Cornerstone. 3:1-12.

Roilides, E.; Walsh, T. J.; Pizzo, P. A. and Rubin, M. (1991). Granulocyte colony stimulating factor enhances the phagocytic and bactericidal activity of normal and defective human neutrophils. J. Infect. Dis.163:579–83.

Roitt, I.; Brostoff. J.; and Male, D. (2001). Immunology. 6th ed . Harcourt publisher limited. Mosby. London.

Rollins, D. M., and Colwell, R. R. (1986). Viable but nonculturable stage of *Campylobacter jejuni* and its role in survival in the natural aquatic environment. Appl. Enviro. Microbiol. 52: 531–538.

Rozynek, E.; Dzierzanowska-Fangrat, D.; Jozwiak, P.; Popowski, J.; Korsak, D. Dzierzanowska, D. (2005). Prevalence of potential virulence markers in Polish *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates obtained from hospitalized children and from chicken carcasses. J. Med. Microbiol. 54:615-619.

Rubin, E. and Reisner, H. M. (2009). Essentials of rubins pathology. 5thed., Lippincott William and Wilkins. New York. P.2-162.

Ruiz – Palacios, G. M.; Calva, J. J.; Pickering, L. K.; Lopez, V. Y.; Volkow, P.; Pezzarossi, H. and West, M. S. (1990). Protection of breast fed infants against *Campylobacter* diarrhea by antibodies in human milk. J. Pediatr. 116: 707 - 713.

Ruiz - Palacios, G. M.; Escamilla, E. and Torres, N. (1981). Experimental *Campylobacter* diarrhea in chickens. Infect. Immun. 34: 250 - 255.

Ruiz-Palacios, G. M., Escamilla, E., Torres, N. and Tamayo, J. (1983).Cholera-like enterotoxin produced by *Campylobacter jejuni*. Lancet. 2:250-250.

Ruiz-Palacios, G. M.; Lopez-Vidal, Y.; Torres, J. and Torres, N. (1985). Serum antibodies to heat-labile enterotoxin of *Campylobacter jejuni*. J. Infect. Dis. 152: 413–416.

Russell, R. G. M.; O'Donnoghue, M.; Blake, D. C.; Zulty, J. and DeTolla, L. J. (1993). Early colonic damage and invasion of *Campylobacter jejuni* in experimentally challenged infant *Macaca mulatta*. J. Infect. Dis. 168: 210–215.

Russell, R. G.; Blaser, M. J.; Sarmiento, J. I. and Fox, J. (1989). Experimental *Campylobacter jejuni* infection in *Macaca nemestrina*. Infect. Immun. 57: 1438-1444.

Sambrook, J. and Rusell, D. W. (2001). Molecular cloning: a laboratory manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor laboratory press, NY. (Cited by Hadi, 2008)

Sandford, P. A. (1979). Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry. Exocellular Microbiol. Polysaccharide, 36:266-333.

Sanyal, S.C.; Islam, K. M. N.; Neogy, P. K. B.; Ioslam, M.; Speelman, P. and Huq, M. I. (1984). *Campylobacter jejuni* diarrhea model in infant chickens. Infect. Immun. 43 (3): 931-936.

Schainberg, H.; Borish, L.; King, M.; Rocklin, R. E. and Rosenwasser, L. J. (1988). Leukocyte inhibitory factor stimulates neutrophil-endothelial cell adhesion. J. Immun. 141(9): 3055-3060.

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

Schnitzer, J. E.; Oh, P.; Pinney, E. and Allard, J. (1994). Filipin-sensitive caveolae-mediated transport in endothelium: reduced transcytosis, scavenger endocytosis, and capillary permeability of select macromolecules. J. Cell. Biol. 127: 1217-1232.

Scott, D. A. (1997). Vaccines against *Campylobacter jejuni*. J. Infect. Dis. 176:183–188.

Sebald, M. and Veron. M. (1963). Base DNA content and classification of *Vibrio*. Ann. Inst. Pasteur. 105: 897-910. (Abstract).

Sethi, S. K., Khuffash, F.A. and Al-Nakib, W. (1989). Microbial etiology of acute gastroenteritis in hospitalized children in Kuwait. Pediatr. Infect. Dis. J. 8: 593-599.

Shalaby, M. R.; Palladine, M. A.; Itirabayshi, S. E.; Eessalu, T. E.; Lewis. G. D.; Shepared, H. M. and Aggarwal, B. B.(1987). Receptor binding and activation of polymorphonuclear neutrophil by tumor necrosis factor-alfa. J. Leuk. Biol. 14:169.

Siegesmund, A. M.; Konkel, M. E.; Klena, J. D. and Mixter, P. F. (2004). *Campylobacter jejuni* infection of differentiated THP-1 macrophages

results in interleukin-1 beta release and caspase-1-independent apoptosis. Microbiol. 150: 561-569.

Sikić, P. M.; Rubesa, M. R.; Klancnik, A.; Brumini, G.; Abram, M. and Smole, M. S. (2009). Survival of stress exposed *Campylobacter jejuni* in the murine macrophage J774 cell line. Int. J. Food Microbiol. 129:68-73.

Silobreic, V.; Sabioncello, A.; Mzuran, R.; Dekaris, D.; and Lovrencic, M. (1975). A comparison of the inhibition of leukocyte migration and monocyte spreading as *in vitro* assays for tuberculin hypersensitivity in man. Clin. Exp .Immun. 20: 239-247.

Sjogren, E.; Lindblom, G. B. and Kauser, B. (1987). Comparison of different procedures, transport media, and enrichment media for isolation of *Campylobacter* species from healthy laying hens and humans with diarrhea. Clin. Microbiol. 25(10): 1966-1968.

Skidmore, B. J.; Chiller, J. M.; Morrison, D. C.; and Weigle, W. O. (1975). Immunogenic properties of bacterial lipopolysaccharide: correlation between the mitogenic, adjuvant, and immunogenic activitites. J. Immunol. 114: 770 – 775.

Skirrow, M. B. (1977). *Campylobacter* enteritis: a new disease. Br. Med. J. 2: 9–11. (Abstracr).

Skirrow, M. B. and Benjamin, J. (1980). *Campylobacter*; cultural characteristics of man and animals. J. Hyg. 85: 427-432.

Skirrow, M. B. and Blaser, M. J. (2000). Clinical aspects of *Campylobacter* infection. P.69-88. In Nachamkin, I. and Blaser, M. J. (ed.). *Campylobacter*, 2nd ed. ASM Prees, Washington, DC.

Skoog, W. A. and Beck, W.S. (1956). Studies on the fibrinogendextran and phytohemagglutinin methods of isolating leucocytes blood. J. Hematol. 11: 466.

Simor, A. E.; Karmali, M. A.; Jadavji, T. and Roscoe, M. (1986). Abortion and perinatal sepsis associated with *Campylobacter* infection. Rev. Infect. Dis. 8: 397-402.

Smith, J. L. (2002). *Campylobacter jejuni* infection during pregnancy: long-term consequences of associated bacteremia, Guillain-Barre syndrome, and reactive arthritis. J. Food. Prot. 65: 696-708.

Smith, T. and Taylor, M. S. (1919). Some morphological and biological characters of Spirilla (*Vibrio* foetus n.sp.) associated with disease of fetal membranes in cattle. J. Exp. Med. 30: 299–312. (Abstract).

Snelling, W. J.; Stern, N. J.; Lowery, C. J.; Moore, J. E.; Gibbons, E.; Baker, C. and Dooley, J. S. (2008). Colonization of broilers by *Campylobacter jejuni* internalized within *Acanthamoeba castellanii.* Arch. Microbiol. 189: 175-179.

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

Soborg, M. (1986). *In vitro* migration of peripheral human leukocytes in cellular hypersensitivity. Acta. Med. Scand. 184: 135-139.

Stanfield, J.T.; McCardell, B.A. and Madden, J.M. (1987). *Campylobacter* diarrhea in an adult mouse model. Microbiol Pathogenesis, 3:155-165.

Steele, T. W. and Mcdermott, S. N. (1984).The use of membrane filters applied directly to the surface of agar plates for the isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. Path. 16: 263-265.

Stewart-Tull, D. E. S.; Coote, J. G.; Thompson, D. H.; Candlish,D.; Wardlaw, A. C. and Candlish, A. (2009). Virulence spectra of typed strains of *Campylobacter jejuni* from different sources: ablinded *in vivo* study. J. Med. Microbiol. 58: 546–553.

Stewart-Tull, D. E. S.; Ng, F. K. P. and Wardlaw, A. C. (1984). Factors affecting the lethality of *Campylobacter jejuni* in mice. J. Med. Microbiol. 18:27-37.

Strid, M. A.; Engberg, J.; Larsen, L. B.; Begtrup, K.; Molbak, K. and Krogfelt, K. A. (2001). Antibody responses to *Campylobacter* infections determined by an enzyme linked immunosorbent assay: 2-year follow up study of 210 patients. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 8: 314 – 319.

Stukus, P. E. (1997). Investigative microbiology: a laboratory manual for general microbiology. Harcourt Brace and company. P. 439-442.

Sultan-Dosa, A. B., Bryner, J. H. and Foley, J. W. (1983). Pathogenicity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains in the pregnant guinea pig model. Am. J. Vet. Res. 44: 2175-2178.

Suttle, A. W.(2006). Histopathology of the spleen. Toxicol. Pathol. 34: 466–503.

Svanborg-Eden, C.; Kulhary, R.; Martid, S. (1985). Urinary immunoglobulin in healthy individuals and children with acute pyelonephritis. Scand. J. Immunol. 21, 305-313.

Svedham, A ; Kaijser, B. and Sjorgven, E. (1981). The occurance of *C. jejuni* in fresh food and survival under different condition. J. Hyg. Camb. 87: 421-425.

Tam, C. C.; Rodrigues, L. C. and O'Brien, S. J. (2003). Guillain-Barre syndrome associated with *Campylobacter jejuni* infection in England 2000-2001. Clin. Infect. Dis. 37: 307-310.

Taylor, D. E. (1992). Genetics of *Campylobacter* and *Helicobacter.* Ann. Rev. Microbiol. 46: 35-64.

Taylor, D. N.; Echeverria, P.; Pitarangsi, C.; Seriwatana, J.; Bodhidatta, L. and Blaser, M. J. (1988). Influence of strain characteristics and immunity on the epidemiology of *Campylobacter* infections in Thailand. J. Clin. Microbiol. 26: 863-868.

Thomas, J. K.; Goldsby, R. A. and Osborne.(2000). Immunology .4th ed. W. H. Freeman company. New York.

Totten, P. A.; Patton, C. M.; Tenover, F. C.; Taylor, D. E. and Keelan, M. (1989). Prevalence and characterization of hippurate-negative *Campylobacter jejuni* in King Country. Washington. J. Clin. Microbiol. 25: 1747 - 1752.

Tough, D. F.; Sun, S. and Sprent, J. (1997). T cell stimulation *in vivo* by lipopolysaccharide. J. Exp. Med. 185: 2089–2094.

Tribble, D. R.; Baqar, S.; Scott, D.A.; Carmolli, M. P.; Porter, C.; Pierce, K.K.; Sadigh, K.; Guerry, P.; Larsson, C. J.; Rockabrand, D.; Ventone, K. H.; Poly, F.;. Lyon, C. E.; Dakdouk, S.; Fingar, A.; Gilliland, Jr. T.; Daunais, P.; Jones, E.; Rymarchyk, S.; Huston, C.;Darsley, M. and Kirkpatrick, B.D. (2009). *Campylobacter jejuni* strain CG8421: a refined model for the study of campylobacteriosis and evaluation of *Campylobacter* vaccines in human subjects. Clin. Infect. Dis. 49:1512–1519.

Tribble, D. R.; Baqar, S.; Scott, D.A.; Oplinger, M. L.; Trespalacios, F.; Rollins, D.; Walker, R. I.; Clements, J. D.; Walz, S.; Gibbs, P.; Burg III, E. F.; Moran, A. P.; Applebee, L. and Bourgeois, A. L. (2010). Assessment of the duration and protection in *Campylobacter jejuni* experimental infection in human. Infect. Immun. 78:1750-1759.

Tu, Q. V.; McGuckin, M. A. and Mendz, G. L. (2008). *Campylobacter jejuni* response to human mucin MUC2: modulation of colonization and pathogenicity determinants. J. Med. Microbiol. 57: 795-802.

Unicomb, L. E.; Dalton, C. B.; Gilbert, G. L.; Becker, N. G. and Patel, M. S. (2008). Age-specific risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in regional Australia. Foodborne Pathog. Dis. 5: 79-85.

van Alphen, L. B.; Bleumink-Pluym, N. M.; Rochat, K. D.; van Balkom, B. W. Wosten, M. M. and van Putten, J. P. (2008). Active migration into the subcellular space precedes *Campylobacter jejuni* invasion of epithelial cells. Cell. Microbiol. 10: 53-6.

Vandamme, P. (2000). Taxonomy of the family Campylobacteraceae. P.3-26. In: Nachamkin I. and M. J. Blaser. (ed). *Campylobacter*. 2nd ed, ASM. Press, Washington DC, USA.

Vandamme, P. and Ley, J. (1991). Proposal for a new family, Campylobacteraceae. Int. J. Syst. Bacteriol. 41: 451– 455.

van Damme, J.; Rampart, M.; Coning, R.; Decock, B.; Van Osselaer, N.; Willems, J. and Billiau, A. (1992). The neutrophil-activating proteins interleukin 8 and beta-thromboglobulin: in vitro and in vivo comparison of NH2-terminally processed forms. Eur. J. Immunol. 20:2113-2118.

Vandepitte, J. and Verhaegen, J. (2003). Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. 2nd ed. WHO, Switzerland, P. 42- 43.

van Deun, K.; Pasmans, F.; Ducatelle, R.; Flahou, B.; Vissenberg, K.; Martel, A.; Van den Broeck, W.; Van Immerseel, F. and Haesebrouck, F. (2008). Colonization strategy of *Campylobacter jejuni* results in persistent infection of the chicken gut. Veter. Microbiol. 130: 285-297.

Vanichkin, A.; Patya, M.; Gazit, A.; Levitzki, A. and Novogrodsky, A. (1996). Late administration of a lipophilic tyrosine kinase inhibitor prevents lipopolysaccharide and *Escherichia coli* -induced lethal toxicity. J. Infect. Dis. 173. 927-933.

van Looveren, M.; Daube, G.; De Zutter, L.; Dumont, J. M.; Lammens, C., Wijdooghe; M., Vandamme, P.; Jouret, M., Cornelis, M. and Goossens, H. (2001). Antimicrobial susceptiblities of *Campylobacter* strains isolated from food animals in Belgium. J. Antimicro. Chemoth. 48:235-240.

van Rhijn, I.; Van den Berg, L. H.; Ang, C. W.; Admiraal, J. and Logtenberg, T. (2003). Expantion of human gamadelta T cells after *in vitro* stimulation with *Campylobacter jejuni*. Int. Immun. 15: 373 - 382.

van Vliet A. H. M. and Ketley J. M .(2001). Pathogenesis of enteric *Campylobacter* infection J. Appl. Microbiol. 90: 45-56.

Veron, M. and Chatelian. R. (1973). Taxonomic study of the genus *Campylobacter* Sebald and Veron designation of the neotype strain for the type species *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Veron. Int. J. Syst. Bacteriol. 23: 122-134.

Vinzent, R.; Dumas, J. and Picard, N. (1947). Septicemie grave eu cours de la grossesse, due a' un vibrion. Avortement consecutif. C. R. Acad. Med. 131: 90. (Abstract).

Vuckovic, D.; Abram, M. and Doric, M. (1998). Primary *Campylobacter jejuni* infection in different mice strains. Microb. Pathog. 24:263–268.

Walan, A.; Gren, C. D.; Kilihlstrom, E.; Stendahl, O. and Lock, R.(1992). Phagocyte killing of *Campylobacter jejuni* in relation to oxidative activation. Acta. Path. Microbiol. Immun. Scand. 100: 424-430.

Walker R. I. (2005). Considerations for development of whole cell bacterial vaccines to prevent diarrheal diseases in children in developing countries. Vaccine. 23:3369–85..

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. 50: 81-94.

Walker, R. I.; Schmauder-Chock, E. A.; Parker, J. L. and Burr, D. **(**1988). Selective association and transport of *Campylobacter jejuni* through M cells of rabbit peyer's patches. Can. J. Microbiol. 34**:**1142–1147.

Walmsley, S. L. and Karmaly, M. A. (1989). Direct isolation of atypical thermophilic *Campylobacter* Species from human feces on selective agar medium. J. Clin. Microbiol. 27: 668- 670.

Wang, W. L.; Luechtefeld, N. W; Blaser, M. J. and Reller, L. B. (1982). Comparison of campypak II with standard 5% oxygen and candles jars for growth of *Campylobacter jejuni* from feces. J. Ciln. Microbiol. 16 (2): 291-294.

Wassenar, T. M. (1997). Toxin production by *Campylobacter* Spp. Clin. Microbiol. Rev. 10: 466-476.

Wassenaar, T. M. and Newell, D. G. (2000). Genotyping of *Campylobacter* Spp. Appl. Envirom. Microbiol. 66: 1 - 9.

Wassenaar, T. M.; Bleumink-Pluym, N. M. and van der Zeijst, B. A. (1991). Inactivation of *Campylobacter jejuni* flagellin genes by homologous

recombination demonstrates that *flaA* but not *flaB* is required for invasion. EMBO. J. 10: 2055-2060.

Wassenaar, T.M.; Engelskirchen, M., Park, S. and Lastovica, A. (1997). Differential uptake and killing potential of *Campylobacter jejuni* by human peripheral monocytes/macrophages. Med. Micrbiol. Immunol. 186: 139-144.

Watson, R. O. and Galan, J. E. (2008). *Campylobacter jejuni* survives within epithelial cells by avoiding delivery to lysosomes. Pathog. 4: 14-20.

Weshsler- Reya, R. J. and Monroe, G. (1996). LPS prevent apoptosis and induce responsiveness to antigen receptor cross linking in immature B-cell. J. Immun. 89 (3): 356-362.

Williams, M. D.; Schorling, J. B.; Barrett, L. J.; Dudley, S. M.; Orgel, I.; Koch, W. C.; Shields, D. S.; Thorson, S. M.; Lohr, J. A. and Guerrant, R. L. (1989). Early treatment of *Campylobacter jejuni* enteritis. Antimicrob. Agents Chemother. 33: 248-50.

Winn, J. R.; Stephen, A.; William, J.; Felmer, K.; Gray, P.; Paul, S. and Gail, W. (2006). Konema`s color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Washington, P. 393-405.

Wooldridge, K. G. and Ketley, J. M. (1997). *Campylobacter*-host cell interactions. Trends Microbiol. 5: 96-102.

Wooldridge, K. G.; Williams, P. H. and Ketley, J. M. (1996). Host signal transduction and endocytosis of *Campylobacter jejuni*. Microb. Pathog. 21: 299-305.

Young, K.T.; Davis, L.M. and Dirita, V.J. (2007) *Campylobacter jejuni:* molecular biology and pathogenesis. Nat. Rev. Microbiol. 5: 665-679.

Zheng, J.; Meng, J.; Zhao, S.; Singh, R. and Song, W. (2008). *Campylobacter*-induced interleukin-8 secretion in polarized human intestinal epithelial cells requires *Campylobacter*-secreted CDT and TLR-mediated activation of NF-κB. Infect Immun. 6:222-228.

Zilbauer, M.; Dorrell, N.; Boughan, P. K.; Harris, A.; Wren, B. W.; Klein, N. J. and Bajaj-Elliott, M. (2005). Intestinal innate immunity to *Campylobacter jejuni* results in induction of bactericidal human beta-defensins 2 and 3. Infect. Immun. 73: 7281-7289.

Zilbauer, M.; Dorrell, N.; Elmi, A. ; Lindley, K. J.; Schüller, S.; Jones, H. E.; Klein, N. J.; Wren, B. W. and Bajaj-Elliott, M. (2007). A major role for

intestinal epithelial nucleotide oligomerization domain 1 (NOD1) in eliciting host bactericidal immune responses to *Campylobacter jejuni*. Cell. Microbiol. 9: 2404-2416.

Zilbauer, M.; Dorrell, N.; Wren, B. W. and Bajaj-Elliott, M. (2008). *Campylobacter jejuni*-mediated disease pathogenesis: an update. Trans Soc. Trop. Med. Hyg. 102: 123-129.

Summary

Three handred and fouty stool samples were collected from children in the age 1-5 years old. These were included 250 watery stool samples and 90 bloody stool samples. The samples were collected from Babylon hospital for maternity and children and General AL-Qasim hospital in Babylon province from July 2010 to January 2011.

Only 8 isolates of *Campylobacter jejuni* (2.35%) were isolated from all diarrheal samples, 6 isolates (2.4%) were isolated from watery stool samples and 2 isolates (2.2%) from bloody stool samples. Two methods for isolation were used: one was using selective media *Campylobacter* agar and second was filter papers with pore size 0.45µm. The isolates were identified depending on their morphological properties and biochemical tests. Serological diagnosis was done by rapid latex agglutination test using Hi*campylobacter* latex kit to confirm the diagnosis.

htB gene which responsible for hepatotoxin *in C. jejuni* was detected by PCR technique. The results showed that *htB* gene was found in only one isolate that isolated from watery diarrheal stool. Then hepatotoxin was extracted from isolate containing *htB* gene and tested using liver function test in swiss mice female type Balb/c mice (*Mus musculus*) which showed that intravenuos injection of 200 µg/ml of

hepatotoxin led to significant increase in concentration of liver enzymes GOT, GPT in mice sera in compared with control.

It was found that the LD_{50} for half the number of swiss mice female was 3.16×10^8 cell/ml using the bacterial suspension and 866 µg/ ml using hepatotoxin. The macroscopic examination of mice' viscera injected with *C. jejuni* showed an accumulation of fluid in intestine which were distended; also there was obvious hepatomegaly with yellow spots. The microscopic examination of stained tissue sections of organs obtained from mice injected with *C. jejuni* and hepatotoxin, revealed that the bacterial cells have severe effects in the tissues obtained from (liver, intestine and spleen), in compared with hepatotoxin, but the later had sever effect in liver. Histopathological effects included congestion, multiple foci of inflammatory cell and necrosis in liver, and the atrophy of white pulp with enlargement of red pulp and hemorrhage in spleen. Desquamation and destruction of villi, infiltration of inflammatory cells within the lamina propria and villi atrophy were observed in small intestine.

C. jejuni antigens were prepared (heat killed antigen, lipopolysacchariedand hepatotoxin). Immunization of local rabbits (*Oryctologus cuniculus*) by these antigens in addition to Complete Freunds'adjuvant was done. After the immunization period, blood and intestinal biopsies were collected from these animals. Then some of mucosal and systemic immune response parameters (cellular & humoral) in test rabbit immunized with *C. jejuni* antigens and control rabbit immunized with normal saline solution.

The results showed significant rise in cellular mucosal and systemic immune response using NBT, E-rosette and LIF tests in test rabbit compared with control. Cellular mucosal was higher than cellular systemic response. The humoral immune response was also studied using direct agglutination test and passive haemagglutination test, and showed significant rise at both systemic and mucosal in compared with control.

C. jejuni specific IgG and IgA concentration and cytokines IL-8 and IL-12 concentrations were determined in sera of test and control rabbit groups using enzyme linked immunoassorbent assay (ELISA). *C. jejuni* specific IgG and IgA concentrations were significant higher in test groups than control except for hepatotoxin group. The cytokines concentration was significant higher in test groups than control.

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education and Scientific Research

Babylon University -College of Science

Study of Pathological and Immunological Effects of *Campylobacter jejuni* Hepatotoxin on Laboratory Animals

A Thesis

Submitted to the Council of the College of Science, University of Babylon in Partial Fulfillment for the Requirements of the Degree of Doctor of Philosophy in Biology - Microbiology

By

Alaa Fahim Abbas Al-Juboori

M.Sc. Microbiology

University of Babylon

Supervised by

Assist. Prof. Dr. Azhar Ammran Latif Al-Thahab

2012 A.C. **1433 A.H.**