Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

تاثير مادة متعدد السكريات الدهني المستخلص من بكتريا الزوائف الزنجارية على التعداد الكلي و التفريقي لكريات الدم البيض و على عملية البلعمة الخلوية

مصطفى غانم اسماعيل[١] **اديبة يونس شريف[٢]**

[١,٢] قسم علوم الحياة / كلية العلوم/جامعة الموصل

[٢]shareefadeeba@yahoo.com , [1] Microbiology_alrawy@yahoo.com

الملخص :

تـم اسـتخلاص مـادة متعـدد السـكريات الـدهني باسـتخدام مـادة EDTA مـن *Pseudomonas aeruginosa* (الزوائف الزنجارية) وتم اختبار تأثير السكر المتعدد الدهني Lipopolysaccharide المستخلص من هذه البكتريا في الاستجابة المناعية للفئران البيض السويسرية.

تمت متابعة التغييرات المناعية في الفئران المعاملة بمادة متعدد السكريات الدهني بالمقارنة مع فئران السيطرة غير المعاملة بـ LPS وتم الاعتماد على معايير عديدة شملت دراسة التغيير في التعداد الكلي والتفريقي لكريات الدم البيض والاستجابة المناعية غير المتخصصة (الطبيعية) المتمثلة بمعامل البلعمة. وقد بينت الدراسة الحالية ارتفاعا في معدلات التعداد الكلي لكريات الدم البيض، أما التعداد التفريقي فقد لوحظ حدوث ارتفاع في معدلات الخلايا اللمفاوية والوحيدة وانخفاض في معدل العدلات وتباين في معدلات الحمضات في الفئران المعاملة اما الخلايا القعدة فقد لوحظت فقط في دم الفئران المعاملة بالتركيز ١٠مايكوغرام/٢٠ غرام من وزن الجسم، وزيادة في الاستجابة المناعية غير المتخصصة المتمثلة بزيادة معدلات معامل البلعمة في الفئران المعاملة .

الكلمات الدالة : متعدد السكريات الدهني ، الزوائف الزنجارية ، كريات الدم البيض ، معامل البلعمة

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

The effect of lipopolysaccharide extracted from *Pseudomonas aeruginosa* on Total and Differential WBC and on Phagocytic activity

[1,2]Adeeba Yunis Shareef ، [1]Mustafa Ghanem Ismail

[1,2]Department of Biology / College of Science / Mosul University

[1] Microbiology_alrawy@yahoo.com , [2] shareefadeeba@yahoo.com

ABSTRACT

Lipopolysaccharide(LPS)was extracted from Pseudomonas aeruginosa by EDTA and the effect of the lipopolysaccharide of Pseudomonas aeruginosa was studied on the immune response of mice treated with LPS compared with untreated mice (control) . Total and defferential WBC count of peripheral blood and innate immune response represented by the phagocytic index were the criteria taken in to consideration .

Result showed a significant increase in the total white blood cell count in the blood of mice treated with LPS with an increase in lymphocyte and Monocyte , and a decrease in neutophile and variation in Eosinophile was noticed in Blood films of Lps of treated mice, basophile was observed only in the Blood films of mice treated with concentration of 10 Mg/20g of body weight , An increase in the Non specific immune response was noticed through the increase of the phagocytic index .

Keyword : LPS , Pseudomonase aeuroginosa, WBC,phagocytic index

المقدمة

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

تلعب مادة LPS دورا مهما في امراضية الجراثيم السالبة لصبغة كرام[١,٢] ويعد LPS من الأسباب الرئيسية لظهور الأعراض المرضية ولذلك يسمى بالذيفان الداخلي [٣] ويعمل LPS على تحفيز استجابة الجهاز المناعي وهذه الاستجابة تعتمد على شدة الإصابة والتركيب الخاص لمنطقة الدهن A إلا أن شدة الامراضية والضراوة لا تعتمد على هذه المنطقة فقط بل بارتباطها بالسلسلة الجانبية O [٤,٥] . وبعد تحلل الخلايا البكتيرية وتحرر LPS إلى الدورة الدموية والذي يتم تمييزه من قبل نظام المناعة غير المتخصص وأن LPS يعمل على تحفيز الخلايا المتجمعة في مناطق الالتهابات والأنسجة المحطمة وتنتج هذه الخلايا الوسائط الالتهابية بكميات كبيرة مثل السايتوكينات كعامل النخر الورمي ألفا TNF-α والانترلوكين مثل IL-1,IL-8,IL-6 وكذلك IL-12 و IL-18 وإلى جانب السايتوكينات هناك عوامل تنتج أيضا من قبل البلاعم الكبيرة مثل عامل تنشيط الصفائح الدموية Platelet (PAF) وبروستاكلاندينات Prostaglandin وثرومبوكسان THromboxan هذه العوامل مسؤولة عن تنشيط البطانة الوعائية Vascular endothelium والمستويات العالية منها تودي إلى حدوث تحطم الأوعية وبصورة عامة فان وجود كميات كبيرة من LPS يودي إلى تنشيط هذه الوسائط التي ينتج عنها الصدمة السمية التي قد تودي للموت[٦]. إن جهاز المناعة يحمي المضيف من الإصابة عن طريق وجود آليات مناعية غير متخصصة متمثلة بتنشيط العامل المتمم وعملية البلعمة بوساطة الخلايا متعددة أشكال النواة إذ يحدث ارتباط بين الخلية البلعمية والمستضد عن طريق بعض المستقبلات مثل المستقبل الخاص بأحد مكونات المتمم وخاصة الجزء C3b والذي يرتبط على سطح المايكروب ويحدث بعدها ابتلاع للمستضد تليها مرحلة هضم المايكروب [٧].

اهداف البحث

١. تحديد تاثير مادة LPS بوصفها محفزا مناعيا في المعايير الدموية منها تاثير مادة متعدد السكريات الدهني في تعداد خلايا الدم البيضاء و في التعداد التفريقي لها .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

٢. تحديد تاثير مادة LPS على عملية البلعمة .

المواد وطرائق العمل

تم استخدام فئران بيض سويسرية ذكور تتراوح أعمارها بين ٦-٨ أسابيع والتي تم الحصول عليها من جامعة الموصل/كلية الطب، تم تربيتها في أقفاص خاصة وبواقع ٣ فئران لكل قفص، كما تم استخدام عزلات من بكتريا الزوائف الزنجارية التي تم عزلها من إصابات الجروح و الحروق في مستشفى الجمهوري التعليمي في مدينة الموصل و تم استخلاص LPS من البكتريا باستخدام مادة EDTA و تم اجراء العمل في مختبرات جامعة الموصل/كلية العلوم-قسم علوم الحياة ،حقنت الفئران بالسكر المتعدد الدهني للبكتريا عبر تجويف البريتون بالتراكيز (٢٠,١٥,١٠) مايكروغرام\٢٠ غرام من وزن الجسم الحي بثلاث جرع بينهما ٤٨ ساعة وبواقع ثلاث فئران لكل تركيز.

تعداد خلايا الدم البيض White blood cell count

اجري الاختبار حسب طريقة [٨] المحورة إذ سحب نموذج من الدم ووضع في أنبوبة اختبار (EDTA Tube) ورجت عينة الدم بهدوء لمدة ثلاث دقائق ليمتزج الدم جيدا مع مادة EDTA وسحب ٠.٣٨ مل من محلول WBC ووضع في أنبوبة اختبار نظيفة وأضيف إليه ٢٠ مايكروليتر من عينة الدم ورج جيدا لمدة ٢-٣ دقائق. نقل ١٠ مايكروليتر من معلق الدم بوساطة أنبوبة شعرية إلى الشريحة الخاصة بالعد Haemocytometer بعد وضع الساترة الزجاجية عليها على حافتي الشريحة الزجاجية وتركت لمدة دقيقتين حتى تستقر الخلايا لإجراء عملية العد.

وضعت الشريحة الزجاجية تحت المجهر وتم العد على قوة التكبير (x١٠)، حسبت أعداد الخلايا البيضاء كما في المعادلة:-

عدد الخلايا البيضاء في $1mm^3$ = مجموع أعداد الخلايا البيضاء في أربع مربعات x ٥٠.

١. العد التفريقي لخلايا الدم البيض Differential White Blood cell Count

تم إجراء العد عن طريق تثبيت مسحة رقيقة ومتجانسة من الدم، ثم صبغت المسحة بصبغة كمزا وذلك بوضع ٥ قطرات من صبغة كمزا وتركت لمدة دقيقتين ثم خففت الصبغة

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

بإضافة ٥ قطرات من المحلول الدارئ وتركت لمدة ١٥ دقيقة ثم غسلت الشريحة بالماء وتركت لتجف، وتم فحص ١٠٠ خلية بيضاء لكل شريحة[٩].

٢. اختبار عملية البلعمة Phagocytosis

١.٣ تحضير عالق سبورات خميرة الكانديدا

زرعت خميرة Candida albican بعد تشخيصها على وسط السابرويد الصلب لمدة ٢٤ ساعة وبدرجة حرارة ٣٧ م، ثم تم تحضير أنبوب حاوي على موائل السابرويد آكار ولقح هذا الأنبوب بالخميرة النامية، حضن بعدها بدرجة حرارة ٣٧ م ولمدة ٣-٤ أيام، وبعد انتهاء مدة التحضين أضيف ٢ مل من المحلول الملحي الفسلجي (N.S) إلى الوسط ورج الانبوب جيدا ثم أخذ الراشح الذي يمثل عالق سبورات خميرة الكانديدا.

٢.٣ عملية البلعمة

استخدمت الطريقة الموصوفة من قبل [١٠,١١] تعتمد الطريقة على قدرة الخلايا البلعمية على ابتلاع سبورات خميرة الكانديدا (Candida albicans)، يتلخص الاختبار بإضافة (٠.١) سم^3 من عالق سبورات خميرة الكانديدا إلى نفس الحجم من الدم الوريدي مزج الخليط جيدا وحضن بدرجة حرارة ٣٧ م ولمدة ٣٠ دقيقة، حضرت مسحات رقيقة، وصبغت بصبغة كمزا وذلك بإضافة ٥ قطرات من كاشف محلول الصبغة وتركت لمدة دقيقتين ثم خففت الصبغة إذ أضيف إليها ٥ قطرات من المحلول الدارئ وتركت لمدة ١٥ دقيقة ثم غسلت الشريحة بالماء وجففت وفحصت وتم احتساب معامل البلعمة باستخدام المعادلة التالية:-

$$\text{معامل البلعمة} = \frac{\text{عدد البلاعم المبتلعة لسبورات الكانديدا}}{\text{عدد البلاعم الكلي}} \times 100$$

١

النتائج والمناقشة

١. التعداد الكلي لكريات الدم البيض

وأظهرت النتائج ارتفاعا ملحوظا في التعداد الكلي لكريات الدم البيض في الفئران المفعلة بالسكر المتعدد الدهني وفي جميع التراكيز المستخدمة وبلغت أعلى قيمة لها ١٤٧٥٠ خلية/سم^3 عند الحقن بالتركيز ١٥ مكغم/٢٠ غم من وزن الجسم الحي بعد ٧ أيام من التفعيل

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

بالسكر المتعدد الدهني فيما بلغت الأعداد ٨٩٠٠ خلية / سم^3 للحيوانات المعاملة بالتراكيز ٢٠،١٠ مكغم/٢٠ غم من وزن الجسم بالمقارنة مع فئران السيطرة غير المعاملة بمستخلص LPS إذ بلغت أعداد الكريات البيض ٥٤٥٠ وكما موضح في الجدول رقم (١) لذلك يمكن القول ان مادة LPS أظهرت اختلافات في العوامل المدروسة شملت تاثيرها على زيادة اعداد خلايا الدم البيضاء إضافة الى زيادة النسبة المئوية للبلعمة الخلوية مما يدل على ان مادة LPS تعد من عوامل الضراوة في الزوائف الزنجارية الا ان حقن هذه المادة بتراكيز قليلة جدا يودي الى تحفيز استجابة الجهاز المناعي. وقد يعزى الارتفاع في التعداد الكلي لكريات الدم البيض في الفئران المفعلة إلى قدرة LPS على تنشيط الخلايا البلعمية وإفراز المونوكينات Monokines التي تساعد على توالد الخلايا اللمفاوية والتي تعكس الزيادة الحاصلة في التعداد الكلي لكريات الدم البيض [١٢] وهذا يتفق مع ما توصلت إليه [13] من أن السكر المتعدد يؤدي إلى زيادة أعداد البلاعم والخلايا اللمفاوية نتيجة انقسامها وتأثير التفعيل على إفراز المونوكينات، كما أشارت إلى تأثير السكر المتعدد الدهني على مدة بقاء الخلايا اللمفاوية إذ لاحظت زيادة معنوية في مدة بقاء الخلايا اللمفاوية المفعلة والذي أدى إلى ارتفاع التعداد الكلي لكريات الدم البيض.

جدول (١) التغييرات الحاصلة في معدلات التعداد الكلي لكريات الدم البيض في الفئران المعاملة بتراكيز مختلفة من السكر المتعدد الدهني المستخلص من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* (الزوائف الزنجارية) مقارنة مع فئران السيطرة غير المعاملة بمادة LPS .

التركيز مكغم/٢٠غم من وزن الجسم الحي	معدل خلايا الدم البيضاء
١٠ مكغم	٨٩٠٠
١٥ مكغم	١٤٧٥٠

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

٢٠ مكغم	٨٩٠٠
Control	٥٤٥٠

١. التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض

أظهرت النتائج ارتفاعاً واضحاً في أعداد الخلايا اللمفاوية وكما موضح في الجدول رقم (٢) وان التركيز ٢٠ مكغم/٢٠ غم من وزن الجسم الحي أظهر أعلى ارتفاع بلغ ٦٤% تلاه التركيز ١٠ مكغم إذ بلغت نسبة الخلايا ٥٨% تلاه التركيز ١٥ مكغم/٢٠ غم إذ بلغ نسبة الخلايا ٤٨% وقد يعود هذا الارتفاع إلى قدرة مستخلص LPS على تفعيل البلاعم وإفراز المونوكينات التي تعمل على زيادة الخلايا اللمفاوية[١٤]فضلا عن أن مستخلصLPS قد يعمل على إطالة مدة بقاء الخلايا اللمفاوية[١٣].

ولوحظ حدوث انخفاض في معدلات العدلات في الفئران المعاملة بـ LPS بالمقارنة مع فئران السيطرة غير المعاملة بـ LPS إذ بلغت النسبة ٢٦% عند الحقن بالتركيز ١٠ مكغم/٢٠ غم من وزن الجسم الحي تلاه التركيز ٢٠ مكغم إذ بلغت النسبة ٣٠% ثم التركيز ١٥ مكغم الذي لم يظهر انخفاضا كبيرا، وبلغت نسبتها ٤٨% مقارنة مع فئران السيطرة غير المعاملة إذ بلغت نسبتها ٥١% وكما موضح في الجدول رقم (٢) اتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه[١٤,١٥] إذ لاحظا انخفاضا في أعداد الخلايا العدلة في الفئران المعاملة بالسكر المتعدد الدهني المستخلص من بكتريا Pseudomonas aeruginosa. كما وجد الباحثان ان السكر المتعدد الدهني لبكتريا E.coli (الاشريشيا القولونية) يعمل على إحداث زيادة معتدلة في أعداد الخلايا الحبيبية في الدورة الدموية للجرذان بعد ساعة من حقنها بجرعة ٠.١ مكغم في حين أن الجرع العالية تودي إلى خفض أعدادها دون المعدل الطبيعي.

أما الخلايا الوحيدة النواة فقد أظهرت الدراسة الحالية حدوث زيادة في أعدادها في الفئران المعاملة بمادة LPS مقارنة مع فئران السيطرة إذ ازدادت نسبتها إلى ٦%، ٤% و٤% للتراكيز ٢٠، ١٥ و١٠ على التوالي مقارنة بفئران السيطرة التي بلغت نسبتها ٣%. وقد تعود الزيادة الحاصلة في أعداد الخلايا الوحيدة في مجاميع الفئران المعاملة بـ LPS إلى قدرة LPSعلى زيادة انقسام الخلايا الوحيدة ومن ثم زيادة أعدادها في الدم المحيطي للفئران المعاملة.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

أما الخلايا الحمضة فقد أظهرت الدراسة الحالية تباين في معدلاتها في الدم المحيطي للفئران المعاملة بمادة متعدد السكريات الدهني حيث حدث ارتفاع في معدلاتها في كل من التركيزين ١٠مكغم و٢٠ مكغم /٢٠ غم من وزن الجسم الحي من LPS إذ بلغت ٦% و٤% لكل منهما على التوالي ،بينما حدث انخفاض واضح في معدلاتها عند التركيز ١٥ مكغم من مادة Lps إذ كانت النسبة صفر % مقارنة بفئران السيطرة إذ بلغت ٣% وكما موضح في الجدول رقم (٢) وجاءت هذه النتائج موافقة لما وجده الباحث [١٦] حيث انعدم وجود الحمضات في الدم المحيطي عند التركيز ١٥ مكغم من LPS بينما حدثت زيادة في معدل الحمضات في باقي التراكيز وهذا يتفق مع ما توصل إليه [١٧، ١٨] الذين لاحظا زيادة طفيفة في نسب الخلايا الحمضة في الفئران المعاملة بمعدلات مناعية.

كما لوحظ ظهور الخلايا القعدة Basophile في التركيز ١٠ مكغم/٢٠ غم من LPS وبنسبة ١% في حين انعدم ظهورها في بقية التراكيز وفي فئران السيطرة وكما موضح في الجدول رقم (٢) وقد يعود سبب وجودها إلى حث الالتهاب الحاد في موقع تمركز المستضد إذ تخدم القعدات بشكل مشابه للخلايا البدينة [١٩].

جدول (٢) يوضح التغييرات الحاصلة في معدلات التعداد التفاضلي لكريات الدم البيض في الفئران المعاملة بمادة متعدد السكريات الدهني المستخلص من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* مقارنة مع فئران السيطرة غير المعاملة بمادة LPS .

التركيزمكغم /٢٠ غم من وزن الجسم الحي	المعدل

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

Basophile	Eosinophile	Neutrophile	Monocyte	lymphocyte	
%١	%٦	٢٦ %	% ٤	٥٨ %	١٠
-----	-----	٤٨ %	%٤	٤٨ %	١٥
-----	%٤	٣٠ %	%٦	٦٤ %	٢٠
-----	%٣	٥١ %	%٣	٤١ %	Control

١. **عملية البلعمة Phagocytosis**

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاعا واضحا في معدلات معامل البلعمة للفئران المعاملة بمادة متعدد السكريات الدهني ولجميع التراكيز المستخدمة وبلغ أقصى ارتفاع عند التركيز ١٥ مكغم إذ بلغت نسبة البلعمة ٥٢% تلاها التركيز ٢٠ و١٠ مكغم /٢٠ غم من وزن الجسم إذ بلغت نسبة هذه العملية ٣٦% و٣٢% على التوالي مقارنة بفئران السيطرة غير المعاملة إذ بلغت نسبة عملية البلعمة ٢٣% وكما موضح في الجدول رقم (٣). إن الذيفان الداخلي المتمثل بـ Lipid A يعمل على تنشيط الخلايا البلعمية مما يزيد من قدرتها البلعمية، فضلا عن أن الذيفان الداخلي يعد منشط متعدد النسيلة لخلايا B متعددة النسيلة (Polyclonal B-cell activation) مما يزيد من إنتاج الأجسام المضادة كما أنه يحث إنتاج عوامل المضيف مثل IL-1 وTNF-B وعامل النخر الورمي- الفا (TNF-α) من خلايا البلاعم الكبيرة والذي يودي إلى ارتفاع المناعة المتوسطة بالخلية [٢٠].

وقد يعزى أيضا الارتفاع في معدلات معامل البلعمة في الفئران المعاملة بـ LPS إلى قدرة LPS على تحفيز مكونات نظام المتمم وخاصة C3b و C5a الذين يشاركان في عملية

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

الابسنة Opsonization وجذب العدلات إلى موقع الخمج وهذا ما أكده [٢١] إذ لاحظوا حدوث زيادة في معدلات البلعمة في الفئران المعاملة بـLPS. وإن [٢٢] أوضحوا أن حقن مادة LPS يؤدي إلى تنشيط الخلايا العدلة.

جدول (٣) التغييرات الحاصلة في معدلات معامل البلعمة في الفئران المعاملة بتراكيز مختلفة من السكر المتعدد الدهني المستخلص من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* عند مقارنتها مع فئران السيطرة غير المعاملة بـ Lps .

معامل البلعمة	
التركيز (مكغم /٢٠ غم من وزن الجسم الحي)	**معدل البلعمة**
١٠	% ٣٢
١٥	% 52
٢٠	% ٣٦
Control	% ٢٣

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 12, Issue 3, June 2017
ISSN 1992 – 0849

المصادر

[1].I.Leroge and J.Vanderleyden .(2002) O-antigen structural variation: mechanisms and ossible roles in animal/plant-microbe interactions. FEMS Microbiol. Rev 26:17–47.

[٢].C.Alexander and E.T. J .Rietschel .(2001). Endotoxin *Res*, 7, 167-202.

[3].P.J.Hitchcoch, L.Leive, P.H.Makela, E.T.Rietsches, D.C.Morrison (1986). Lipopolysaccharide nomenclature-past, present and future. *J. Bacterial*.; 166 (3): 699-705.

[4].A.X.Wang and P, J.Quinn.(2010). Lipopolysaccharide: Biosynthetic Pathway and Structure Modification.Progress in Lipid Research . 49 ;97-107.

[5].C.E.Bode, W.Brabetz; H.Brade.(1998).Cloning and Characterizatio of 3-Deoxy-DManno-Octalusonic Acid (Kdo). Transferase Genes (Kdta) From Acinetobacter Baumanni and Acinetobacter Hemolyticus . Eur.J. *Biochem*. 254: 404-12.

[6].G.Yuan, Z.Gong , X.Sun, S.Zheng, X.Li.(2006).Tea Polyphenols Inhibit Expression of iNOS and TNF- and Prevent Lipopolysaccharide-Induced Liver Injury in Rats.Hepatobiliary Pancrreat Dis. Int .5: 262-267.

[7].T.Doan, R.Melvold, S.Viselli, C.Waltenbaugh. (2008). Immunology. (2008). Lippincott Williams and Wilkins a Wolters Kluwer business . Philadelphia. pp.37-38.

[8].S. M.Lewis and B. J.Bain. (2001). Dacie and Lewis Practical Haematology. Harcount publishers limited. 9th edn. 320 p.

[9].S.B.Mckenzie. (1996). Textbook of Haematology. 2nd ed edn., Williams and Wilkins, A Waverly Company .U.S.A. pp. 605-607.

[10].H.Al-Hadithy, I. E.Addison, A.H.Goldston. (1981b). A rapid whole–blood technique for assessment of neutrophil phagocytosis and killing .*Clin.lab.Haematol*.,3:85-88.

[11].D.M.Weir.(1979). Application of immunological method . hand book of experimental immunology ,3rd ed ,Vol.3, London,Blackwell scientific publications.

[12].H.Ryu and C. J.Kim. (2000). *Vet. Sci*., 1(2): 87-95 .

[13].M.Fattah.(1990). No-specific activation of mice peritoneal macrophage with Rhizobium polysaccharides. M.Sc. Thesis, Coll. Sci. Univ. AL-Mustansiryia.

[14].A.A.Ali and I.T.Abdulla. (2003). Riv. Parassitol., XX (LXIV) -1:11–16

[15]. A.A.Ali and I.T.Abdulla. (2004). Riv. Parassitol., XXI (LXV) -1: 3-10.

[16]. A.A.Ali Ph.D. (1999). Thesis, Coll. Edu., Univ. Mosul. (In arabic).

[17]. B.H.H.Al-Sabawi Ph. D. (2001). Thesis, Coll. Sci Univ. Mosul, Iraq (in Arabic).

[18]. A.F.M.Al-Taei Ph. D. (1996) Thesis, Coll. Sci. Univ. AL-Mustansiriya, Iraq (in Arabic).

[19]. I.Tizzard. (1986). Veterinary Immunology. An Introduction. W.B. Saunders Co., St. Lois:241-247.

[20]. W.Levinson and E.Jawetz. 2000. Medical microbiology and immunology 6th ed . Lange medical Books / Mc Grow Hill Medical Publishing Division . U.S.A.

[21]. L.Hritcu, M.Stefan, C.Misaila, A.Ciobica, G.Dumitru. (2011). effects of bacterial lipopolysaccharide exposure on immune responsiveness in a rodent model of parkinson's disease. *Arch. Biol. Sci*., Belgrade, 63 (1), 99-105,.

[22]. V.M.Vector, M.Miano, N.Guayerbas, M.Del Ro, S.M.Medina, De La Fuente .(1998). Effects of endotoxic shock in several functions Of murine peritoneal macrophages. *Moll Cell Biochem* 189, 25-31.