



جامعة كربلاء

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

تأثير البكتريا المسببة للالتهاب المجاري البولية على بعض المعايير المناعية

لدى مرضى التهاب المفاصل الرثوي

رسالة

مقدمة إلى مجلس كلية العلوم / جامعة كربلاء
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل

دعاء أنور يحيى عبد علي

بإشراف

أ.د. حيدر هاشم محمد علي

أ.م. د. كوكب عبدالله حسين

ذو الحجة- 1444

أيلول-2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ


الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي هَدَانَا لِهَذَا
وَمَا كُنَّا لِنَهْتَدِيَ لَوْلَا أَنْ هَدَانَا
اللَّهُ


صَدَقَ اللَّهُ الْعَلِيُّ الْعَظِيمُ

سورة الأعراف آية (٤٣)

إقرار المشرف

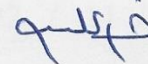
اشهد إن إعداد هذه الرسالة قد جرى تحت إشرافي في جامعة كربلاء بوصفها جزءاً من متطلبات
نيل شهادة ماجستير علوم في علوم الحياة .

التوقيع: 
الاسم: أ.م. د. كوكب عبدالله حسين
السعدي
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
التاريخ : / / 2022

التوقيع: 
الاسم: أ.د. حيدر هاشم محمد علي
المرتبة العلمية : أستاذ
التاريخ : / / 2022


توصية رئيس قسم علوم الحياة


بناءً على التوصيات المشرف، أحيل هذه الدراسة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

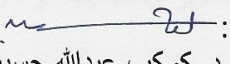
التوقيع: 
الاسم: د . خالد علي حسين
المرتبة العلمية : استاذ مساعد
العنوان : رئيس قسم علوم الحياة
التاريخ : / / 2022

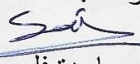
(إقرار لجنة المناقشة)

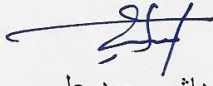
نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين أدناه ، نشهد بأننا قد أطلعنا على الرسالة الموسومة (تأثير البكتريا المسببة للالتهاب المجاري البولية على بعض المعايير المناعية لدى مرضى التهاب المفاصل الرثوي) المقدمة من قبل الطالبة (دعاء أنور يحيى عبدعلي) كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة وبعد إجراء المناقشة العلمية وجد أنها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعليه نوصي بقبول الرسالة بتقدير (امتياز).

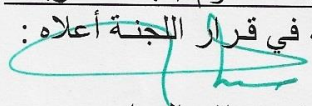
عضو اللجنة
التوقيع: 
الاسم : ستار جبار راهي
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: جامعة كربلاء / كلية الطب
التاريخ: 2022 / 11 / 13

رئيس لجنة المناقشة
التوقيع: 
الاسم : د. فريال جميل عبد
المرتبة العلمية : أستاذ
العنوان : جامعة بابل / كلية العلوم
التاريخ : 2022 / 11 / 14

عضواً ومشرفاً
التوقيع: 
الاسم : د. كوكب عبدالله حسين
المرتبة العلمية : استاذ مساعد
العنوان : جامعة كربلاء / كلية العلوم
التاريخ: 2022 / 11 / 13

عضو اللجنة
التوقيع: 
الاسم : د. ساجدة فليح محسن
المرتبة العلمية : مدرس
العنوان : جامعة كربلاء / كلية العلوم
التاريخ : 2022 / 11 / 13

عضواً ومشرفاً
التوقيع: 
الاسم : د. حيدر هاشم محمد علي
المرتبة العلمية : أستاذ
العنوان : جامعة كربلاء / كلية العلوم
التاريخ : 2022 / 11 / 13

مصادقة عمادة كلية للعلوم / جامعة كربلاء
أصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه :
التوقيع: 

الاسم : د. جاسم حنون هاشم العوادي
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
العنوان : عميد كلية العلوم
التاريخ : 2022 / 3 / 16

إهداء

إلى معلم البشرية الأول محمد (صلى الله عليه واله وسلم).
إلى والدي ووالدتي حفظهم الله .
إلى من كان لي بعد الله خير عون وسند زوجي الغالي .
إلى أختي وأخواني وفاء وعرفانا .
إلى أطفالي زهراتي وفلذات كبدي .
إلى كل من لم يدخر جهداً في مساعدتي
إلى أساتيذني ، واهل الفضل عليّ الذين غمروني بالحب والتقدير والنصيحة والتوجيه
والإرشاد.

أهدي جهدي هذا

الباحثة دعاء

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين و الصلاة والسلام على أشرف الأنبياء و المرسلين سيدنا محمد وعلى آله
الطيبين و صحبه و المنتجبين .

أما بعد:

فإنّي أشكر الله تعالى إذ أعطاني الصحة والصبر والمعرفة لإكمال هذه الرسالة فله الحمد على
جزيل فضله و نعماته .

أود إنّ أتقدم بخالص شكري وتقديري إلى الأستاذ الفاضل الأستاذ الدكتور (حيدر هاشم محمد
علي)، المشرف الأول على الرسالة، الذي اقترح موضوع الرسالة وبذل الجهد في توجيهي
وتشجيعي لإتمام هذا العمل.

ويشرفني إنّ أقدم شكري وتقديري لأستاذتي الفاضلة الدكتورة (كوكب عبدالله السعدي)
لأشرافها على هذه الرسالة ، وما قدمته من نصح وتوجيه ساعد في اخراج هذا النتاج العلمي
وساهم في تجاوز الكثير من الصعاب.

ويطيب لي إنّ اوجه خالص الشكر والتقدير إلى عمادة كلية العلوم وقسم علوم الحياة للمساعدة
التي قدموها لي خلال مدة الدراسة .

جزيل الشكر والامتنان إلى العاملين في مختبر الصحة العامة، وخص بالذكر السيدة (أميرة
محمد جبر) والسيدة نهى ، جعل الله ثمرة ذلك في ميزان حسناتهم .

كما أتقدم بالشكر الجزيل للدكتور (فراس زكي) لمساعدته الكبيرة في جمع العينات، وشكري
لجميع المرضى لتعاونهم معي.

و من العرفان إنّ أقدم شكري وامتناني إلى زملائي طلبة الدراسات العليا لما قدموه من
المساعدة خلال مدة البحث .

و أخيراً خالص تقديري لكل من ساعدني وأعانني في إنجاز هذه الرسالة ، فلهم في النفس
منزلة و إنّ لم يسعف المقام ذكرهم ، فهم أهل للفضل و الخير والشكر

دعاء أنور

الخلاصة

يعد التهاب المفاصل الرثوي (RA) مرض مناعي ذاتي معقد يعاني 1-2% من المجتمع في جميع أنحاء العالم. تساهم عوامل الخطر الوراثية المتعددة والمحفزات البيئية في التهاب المفاصل الرثوي. يُعتقد إنّ العدوى الميكروبية تلعب دورًا مهمًا في بدء واستمرار هذا المرض، ومن أهم عوامل الضراوة التي تنتجها العائلة المعوية هي Curli specific gene A. تهدف الدراسة الحالية إلى معرفة حساسية مرضى التهاب المفاصل الرثوي لعدوى العائلة المعوية والتعرف على تأثير الجين Csg A على بعض العوامل المناعية.

أجريت الدراسة الحالية في محافظة كربلاء، تم جمع (75) عينة دم وإدراج توزعت (55) عينة من المرضى الذين يعانون من التهاب المفاصل الرثوي RA و(20) عينة من الأصحاء، وقسمت مجموعة المصابين بـ RA إلى مجموعتين، مجموعة A (23) يعانون من عدوى في المسالك البولية ومجموعة B (32) غير مصابين بالعدوى. لتحديد تأثير العدوى البكتيرية على مستوى (CD4+Tcell, CD20+Bcell, IL-17, IL-10) في مصل الدم تم استعمال تقنية الأليزا. تم استعمال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) لتحديد وجود CsgA في العينات البكتيرية.

تم تسجيل ثلاثة وعشرين إصابة بأنواع مختلفة من البكتريا التي تصيب المسالك البولية لدى مرضى التهاب المفاصل الرثوي. تم التعرف على العزلات البكتيرية باستعمال الفحوصات الكيموحياتية ونظام Vitek.

أظهرت الدراسة وجود زيادة معنوية في مستوى خلايا CD4+Tcell في المرضى الذين يعانون من التهاب المفاصل الرثوي سواء كانوا يعانون من إصابة بكتيرية (بوجود الجين CsgA) أم لا مقارنة بمجموعة الأصحاء ($P \leq 0.001$) وكذلك وجود زيادة معنوية لمستوى تلك الخلايا بين المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي ممن لديهم إصابة بكتيرية مقارنة بالمصابين بالتهاب المفاصل الذين لا يعانون من إصابة بكتيرية ($P \leq 0.05$). كذلك يوجد زيادة معنوية في مستوى خلايا CD20+Bcell في مرضى التهاب المفاصل الرثوي ($P \leq 0.001$) بدون إصابة بكتيرية مقارنة بمجموعة الأصحاء.

أخيرا أوضحت نتائج الدراسة الحالية إنّ هناك زيادة معنوية في تركيز السايٲوكين المضاد للآلتهاب IL-10 ($P \leq 0.05$) في مرضى الذي يعانون من إلهاب المفاصل الرثوي مع إصابة بكتيرية مقارنة بالمرضى بدون إصابة بكتيرية وكذلك مقارنة مع مجموعة الأصحاء . لم يظهر السيتوكين المؤيد للآلتهاب IL-17 فروق ذات دلالة إحصائية مع مجموعة الأصحاء وجميع مجموعات المرضى .

يمكن الأستنتاج إنّ الألهابات البكتيرية (UTI) في مرضى إلهاب المفاصل الرثوي ولاسيما البكتريا التي تعبر عن الجين CsgA تنشط الأستجابة المناعية المكتسبة (الخلايا البائية B والخلايا التائية T).

قائمة المحتويات

الصفحة	المحتويات	التسلسل
III	الخلاصة	
V	قائمة المحتويات	
XI	قائمة الأشكال	
XIII	قائمة الجداول	
XIV	قائمة المختصرات	
1	الفصل الأول: المقدمة	1-1
4	استعراض المراجع	2-1
4	التهاب المفاصل الرثوي (Rheumatoid Arthritis)	1-2-1
4	وبائية المرض	2-2-1
5	أسباب المرض	3-2-1
5	العوامل الهرمونية	1-3-2-1
6	العوامل الوراثية	2-3-2-1
6	العوامل المعدية	3-3-2-1
6	المظاهر السريرية لالتهاب المفاصل الرثوي	4-2-1
8	آليات تطور التهاب المفاصل الرثوي	5-2-1
10	الدور الممرض للخلايا المناعية في التهاب المفاصل الرثوي	6-2-1
10	الخلايا البلعمية الكبيرة	1-6-2-1
10	الخلايا الليفية	2-6-2-1
11	الخلايا العدلة	3-6-2-1
11	الخلايا اللمفاوية	4-6-2-1

11	الخلايا T	1-4-6-2-1
12	الخلايا B	2-4-6-2-1
13	السيتوكينات	7-2-1
14	السيتوكينات المحفزة للالتهاب	1-7-2-1
15	السيتوكينات ضد الالتهاب	2-7-2-1
15	دور العوامل CD20 & CD4 في التهاب المفاصل الرثوي	8-2-1
18	العلاقة بين التهاب المفاصل الرثوي والتهابات المسالك البولية	9-2-1
19	التهاب المسالك البولية	10-2-1
21	العائلة المعوية	1-10-2-1
21	بكتريا <i>Klebsiella</i>	1-1-10-2-1
22	بكتريا <i>Proteus mirabilis</i>	2-1-10-2-1
22	بكتريا الإشريكية القولونية <i>Escherichia coli</i>	3-1-10-2-1
24	بكتيريا <i>Pseudomonas putida</i>	4-1-10-2-1
24	عوامل الضراوة للعائلة المعوية	2-10-2-1
24	Curli specific gene (CsgA)	1-2-10-2-1
25	Fimbriae	2-2-10-2-1
25	O-antigen (O-polysaccharide)	3-2-10-2-1
26	Capsular polysaccharide k- antigen	4-2-10-2-1
27	الفصل الثاني: المواد وطرائق العمل	
27	الأجهزة والمواد المستعملة	1-2
27	الأجهزة والأدوات المستعملة والشركات المصنعة لها	1-1-2
29	المواد ذات الاستعمال الواحد والشركات المصنعة لها	2-1-2

30	المواد الكيميائية و البيولوجية	3-1-2
31	الايوساط الزراعية	4-1-2
31	عدة إنترلوكين إليزا	5-1-2
32	البوادئ	6-1-2
33	عدة استخلاص الحمض النووي	7-1-2
34	مكونات مزيج ماستر مكس	8-1-2
35	تصميم التجربة	9-1-2
36	طرق العمل	2-2
36	جمع العينات	1-2-2
36	عينات الدم	1-1-2-2
36	العينات الادرار	2-1-2-2
37	تحضير الوسط الزراعي	2-2-2
37	تحديد البكتيريا	3-2-2
37	التعريف المظهري والمجهري	1-3-2-2
37	الاختبارات الكيميائية الحيوية	2-3-2-2
38	التعرف على البكتيريا باستعمال نظام Vitek-2 المضغوط	3-3-2-2
38	استخلاص الحمض النووي	4-2-2
38	طريقة استخلاص الحمض النووي	1-4-2-2
40	الكشف عن جين CsgA باستعمال تفاعل البلمرة المتسلسل (Polymerase chain reaction PCR)	2-4-2-2
41	الترحيل الكهربائي في الهلام (Gel Electrophoresis)	3-4-2-2
41	تحضير هلام الأكاروز بتركيز 0.8%	4-4-2-2

42	بروتوكولات الفحص المناعي المرتبط بالإنتزيم (ELISA) للإنترلوكينات و CD markers	5-2-2
43	التحليل الإحصائي	3-2
44	الفصل الثالث: النتائج والمناقشة	
44	توزيع مجاميع العينات حسب الجنس والعمر	1-3
45	الكشف عن البكتريا	2-3
45	تشخيص عزلات البكتيريا باستعمال Vitek-2	1-2-3
47	الكشف الجيني باستعمال تفاعل البلمرة المتسلسل PCR	2-2-3
49	الأختبارات المصلية المناعية	3-3
49	مستويات العامل CD4+Tcell	1-3-3
49	مستويات CD4+Tcell حسب المجاميع	1-1-3-3
51	مستويات CD4+Tcell حسب الفئات العمرية	2-1-3-3
53	مستويات CD4+Tcell حسب التدخين	3-1-3-3
53	مستويات CD4+Tcell حسب التدخين بين المجاميع A,B,C	1-3-1-3-3
54	مستويات CD4+Tcell حسب المدخنين وغير المدخنين للمجموعة A والمجموعة B	2-3-1-3-3
56	مستويات CD4+Tcell حسب غير المدخنين للمجاميع A,B,C	3-3-1-3-3
57	مستويات CD4+Tcell حسب التأريخ العائلة للمرض	4-1-3-3
58	مستويات CD4+Tcell حسب مدة المرض بين المجموعة A و B	5-1-3-3
60	مستويات العامل CD20+Bcell	2-3-3
60	مستويات العامل CD20+Bcell حسب المجاميع A,B,C	1-2-3-3
61	مستويات CD20+Bcell حسب الفئات العمرية	2-2-3-3

63	مستويات CD20+Bcell حسب التدخين	3-2-3-3
63	مستويات CD20+Bcell حسب المدخنين للمجموعة A,B وغير المدخنين للمجموعة C	1-3-2-3-3
64	مستويات CD20+Bcell حسب المدخنين وغير المدخنين للمجموعة A والمجموعة B	3-3-2-3-3
66	مستويات CD20+Bcell حسب غير المدخنين للمجموع A,B,C	3-3-2-3-3
67	مستويات CD20+Bcell حسب التأريخ العائلة للمرض	4-2-3-3
68	مستويات CD20+Bcell حسب مدة المرض بين المجموعة A و B	5-2-3-3
69	مستويات مصل السايبتوكين	3-3-3
69	مستويات الإنترلوكين 10-(IL-10) حسب المجموع A,B,C	1-3-3-3
70	مستويات الإنترلوكين 10-(IL-10) حسب الفئات العمرية	2-3-3-3
72	مستويات الإنترلوكين 10-(IL-10) حسب التدخين	3-3-3-3
72	مستويات الإنترلوكين 10-(IL-10) المدخنين للمجموعة A,B وغير المدخنين للمجموعة C	1-3-3-3-3
74	مستويات الإنترلوكين 10-(IL-10) حسب المدخنين وغير المدخنين للمجموعة A والمجموعة B	2-3-3-3-3
76	مستويات الإنترلوكين 10-(IL-10) حسب غير المدخنين للمجموع A,B,C	3-3-3-3-3
77	مستويات الإنترلوكين 10-(IL-10) حسب التأريخ العائلة للمرض	4-3-3-3
78	مستويات الإنترلوكين 10-(IL-10) حسب مدة المرض بين المجموعة A و B	5-3-3-3

79	مستويات مصل السايبتوكين	4-3-3
79	مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب المجموع A,B,C	1-4-3-3
81	مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب الفئات العمرية	2-4-3-3
83	مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب التدخين	3-4-3-3
83	مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) للمجموعة A,B وغير المدخنين للمجموعة C	1-3-4-3-3
84	مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب المدخنين وغير المدخنين للمجموعة A والمجموعة B	2-3-4-3-3
85	مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب غير المدخنين للمجموع A,B,C	3-3-4-3-3
87	مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب التأريخ العائلة للمرض	4-4-3-3
88	مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب مدة المرض بين المجموعة A و B	5-4-3-3
90	الفصل الرابع: الاستنتاجات والتوصيات	
90	الاستنتاجات	1-4
91	التوصيات	2-4
92	المصادر	

قائمة الأشكال

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
9	آلية التطور المرضي لالتهاب المفاصل الرثوي	1-1
17	دور الخلايا المناعية T & B cells في تطوير حالات التهاب المفاصل الرثوي	2-1
47	الترحيل الكهربائي لنتائج الدنا المستخلص من العزلات قيد الدراسة في 0.8 % اكاروز و فرق جهد 70 فولت لمدة نصف ساعة	1-3
48	الترحيل الكهربائي لنتائج تفاعل البلمرة المتسلسل للجين <i>csg A</i> (178 زوج قاعدي) لجميع عزلات البكتيريا في 0.8 % اكاروز و فرق جهد 70 فولت لساعة واحدة، المسار M يمثل الدليل الحجمي (100-1500 زوج قاعدي) المسارات 1-9 تمثل عزلات البكتيريا التي تملك جين <i>csg A</i> المسار 10 يمثل الأصحاء السالبة	2-3
50	تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم للمجموعة الأصحاء ومجموعتي مرضى التهاب المفاصل	3-3
52	تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم لثلاث المجاميع من الدراسة حسب الفئات العمرية	4-3
53	تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم للمجموعتين A و B المدخنين ومجموعة C غير المدخنين	5-3
55	تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم للمجموعتين A و B المدخنين وغير المدخنين	6-3
56	تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم لمجموعتي مرضى التهاب المفاصل مع مجموعة الاصحاء غير المدخنين.	7-3
57	تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم للمجموعتين المرضي من لديهم تاريخ عائلة للمرض ومن ليس لديهم تاريخ عائلي	8-3
59	تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم للمجموعتين مرضى التهاب المفاصل من خلال تأثير المدة الزمنية	9-3
60	تركيز خلايا CD20 +Bcell في مصل الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة	10-3
62	تركيز خلايا CD20 +Bcell في مصل الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة وفقا للفئات العمرية	11-3
64	تركيز خلايا CD20 +Bcell في مصل الدم للمجموعتين A و B المدخنين والمجموعة C غير المدخنين	12-3
65	تركيز خلايا CD20 +Bcell في مصل الدم للمجموعتين مرضى التهاب المفاصل غير المدخنين	13-3
66	تركيز خلايا CD20 +Bcell في مصل الدم للمجاميع الثلاث من الدراسة A و B و C غير المدخنين	14-3

67	تركيز خلايا CD20 +Bcell في مصل الدم للمجموعتين مرضى إلتهاب المفاصل من لديهم تاريخ عائلي للمرض ومن ليس لديهم تاريخ عائلي للمرض	15-3
69	تركيز خلايا CD20 +Bcell في مصل الدم لمجموعتي مرضى التهاب المفاصل من الدراسة للمدة الزمنية لمرض التهاب المفاصل	16-3
70	تركيز IL-10 في الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة	17-3
72	تركيز IL-10 في مصل الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة حسب للفئات العمرية	18-3
73	تركيز IL-10 في مصل الدم للمجموعتين A وB. المدخنين والمجموعة C غير المدخنين	19-3
75	تركيز IL-10 في مصل الدم لمجموعتي مرضى التهاب المفاصل من الدراسة المدخنين وغير المدخنين من الدراسة	20-3
76	تركيز IL-10 في مصل الدم للمجاميع الثلاث من الدراسة A وB وC غير المدخنين	21-3
77	تركيز IL-10 في مصل الدم لمجموعتي مرضى التهاب المفاصل من لديهم تاريخ عائلي للمرض ومن ليس لديهم تاريخ عائلي للمرض.	22-3
79	تركيز IL-10 في مصل الدم لمجموعتي مرضى إلتهاب المفاصل الدراسة للمدة الزمنية لمرض إلتهاب المفاصل	23-3
80	تركيز IL-17 في مصل الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة	24-3
82	تركيز IL-17 في مصل الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة حسب الفئات العمرية	25-3
83	تركيز IL-17 في مصل الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة للمجموعتين المرضي A وB المدخنين ومجموعة الأصحاء C غير المدخنين	26-3
85	تركيز IL-17 في مصل الدم لمجموعتي مرضى التهاب المفاصل A و B المدخنين وغير المدخنين	27-3
86	تركيز IL-17 في مصل الدم لثلاث مجاميع من الدراسة A وB وC غير المدخنين	28-3
87	تركيز IL-17 في مصل الدم للمجموعتين المرضي من لديهم تاريخ عائلي للمرض ومن ليس لديهم تاريخ عائلي للمرض	29-3
88	تركيز IL-17 في مصل الدم لمجموعتي مرضى إلتهاب المفاصل الدراسة للمدة الزمنية لمرض التهاب المفاصل	30-3

قائمة الجداول

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
7	مقاييس الجمعية الأمريكية للروماتيزم ACR لتشخيص التهاب المفاصل الرثوي.	1-1
27	الأجهزة المختبرية المستخدمة والشركات المصنعة لها	1-2
29	المواد ذات الاستعمال الواحد	2-2
30	المواد الكيميائية و البايولوجية	3-2
31	الايوساط الزراعية	4-2
31	مكونات عدة إنترلوكين الأليزا	5-2
32	اسم الجين وتسلسل وحجم المنتج من المواد الأولية المستخدمة في هذه الدراسة	6-2
33	مكونات عدة الاستخلاص DNA من البكتريا	7-2
34	مكونات مزيج ماستر مكس Master Mix المستخدم في تفاعل البلمرة المتسلسل	8-2
40	المواد المضافة إلى إنابيب PCR tube المستعمل في تفاعل البلمرة المتسلسل للجين Csg A	9-2
41	أوضاع التضخيم في جهاز تفاعل البلمرة المتسلسل المستعمل في هذه الدراسة للجين Csg A	10-2
44	توزيع العينات إلى مجاميع حسب الجنس	1-3
44	توزيع العينات إلى مجاميع حسب الفئات العمرية	2-3
45	نوع البكتريا وعدد العزلات	3-3

قائمة المختصرات

المعنى	الاختصار
Antigen-Presenting cell	APC
Cluster of Differentiation	CD
Common Lymphoid Progenitors	CLP
Common Lymphoid Progenitors-2	CLP-2
granulocyte macrophage colony stimulating factor	CSF-GM
Curl specific gene A	Csg A
Capsular Polysaccharides	CPS
Dendritic cells	DC
Deoxyribonucleic acid	DNA
Deoxynucleotide triphosphates	DNTP
Epstein-Barr Virus	EBV
Early Lymphoid Progenitor	ELP
Extracellular Polysaccharides	EPS
Early Thymus Progenitors	ETP
FavorPrep™ Blood / Cultured Cell Genomic	FABG
Fibroblast-Like Synoviocyte	FLS
Human Leukocyte Antigen DR	HLA-DR
Horseradish Peroxidase	HRP
Hematopoietic stem cell	HSC
Immunoglobulin-Gamma	IgG
Immunoglobulin M	IgM
Interleukine	IL
Macrophage-like synoviocytes	MLS
metalloproteinases	MMPS
Natural Killer Cells	NK
Prostaglandins	PGE
Prostaglandins2	PGE2
Rheumatoid Arthritis	RA
Receptor activator of nuclear factor κ B	RANK

Recombination Activating Gene	RAG
Rheumatoid Factor	RF
Statistical Package for the Social Sciences	SPSS
Tris Borate EDTA buffer	TBE
T-cell Receptor	TCR
Tumor necrosis factor- alpha	TNF- α
Urinary Tract Infection	UTI
uropathogenic <i>Esherichia coli</i>	UPEC
Ultra Violet	UV
Viral Capsid Antigen	VCA

الفصل الأول

المقدمة واستعراض المراجع

**Introduction & Literature
Review**

الفصل الأول: المقدمة واستعراض المراجع

1-المقدمة

أمراض المناعة الذاتية هي فئة من الاضطرابات التي تعد سبب رئيسي في استهداف الجهاز المناعي الذي يستهدف أنسجة الجسم نفسه، حيث تلعب كل من الوراثة والعوامل البيئية والعدوى دوراً رئيسياً في التسبب في أمراض المناعة الذاتية (Nielsen *et al.*, 2016).

التهاب المفاصل الرثوي (RA) هو أحد الأمراض المناعية الذاتية الألتهايبية الأكثر شيوعاً. يتميز بالتهاب الغشاء الزليلي والالتهاب الجهازى وإنتاج الأجسام المضادة الذاتية (Scott, 2010). يؤثر RA في اغلب الأحيان في المفاصل الصغيرة لليد وكذلك القدم والركبة والكاحل ويستهدف بذلك الغشاء المفصلي (Synovial membrane) الذي هو أما طبقتين او ثلاثة من الخلايا الطلائية يحتوي بداخله السائل الزلالى (Synovial fluid) ، اذ يكون هذا الغشاء في المفاصل المصابة اكثر سماكة مع تجمع كبير للخلايا الالتهابية (الخلايا للمفاوية T ،والخلايا البلعمية الكبيرة) مما يؤدي إلى تلفه (Aletaha *et al.*, 2010 ; Dopkin *et al.*, 2008).

إنّ السائل الزلالى يحتوي في حالة الالتهاب على الخلايا العدلة (Neutrophils) التي تقوم بتدمير الغضروف المفصلي (Synovial cartilage) بواسطة الإنزيمات التي تفرز من هذه الخلايا ، وفي المراحل المتقدمة يتآكل العظم وفي الواقع إنّ هذا التآكل يقود الى إمكانية حدوث العجز والإعاقة التامة (Alemanos & Drosos, 2005).

إنّ اغلب السايوتوكينات الخلية (Cytokines) التي تتواجد في السائل والنسيج المفصلي هي عامل النخر الورمى الفا TNF - α (Tumor necrosis factor - α) هو عبارة عن بروتين تفرزه خلايا الجهاز المناعي في الجسم، بحيث اذا تم افرازه بكمية زائدة، يمكن إنّ يؤدي الى نشوء التهاب المفاصل الرثوي . السايوتوكينات وبالأخص (TNF- α) تعمل على تنشيط الحالة الألتهايبية من خلال تنشيط الخلايا للمفاوية-T (CD4+T) سوف يحفز نشاط الخلايا الالتهابية الوحيدة والخلايا البلعمية الكبيرة (Monocyte, Macrophage) والتي يطلق عليها في نسيج المفصل FLS (Fibroblast Like Synoviocyte) وإنّ تحفيز هذه الوسائط الالتهابية يؤدي الى ظهور الخلايا الهادمة لنسيج الغضروف والعظم في السائل الزلالى .فضلا عن ذلك إنّ هذه الخلايا يتم تحفيزها بواسطة التعبير السطحي للجزيئات (Expression of cell surface molecule) بواسطة خلايا T وبعده تقوم خلايا T (CD4) بتحفيز الخلايا للمفاوية البائية B-cell التي تنتشط

وتتميز لإنتاج البروتينات المناعية مثل العامل الريثاني (Rheumatoid factor-RF) وتتميز لإنتاج البروتينات المناعية مثل العامل الريثاني (Rheumatoid factor-RF) (Klareskog *et al.*, 2006).

الآليات الجزيئية لمرض التهاب المفاصل الرثوي ليست مفهومة تماما. يعتقد أنّ نصف عوامل الخطر لالتهاب المفاصل الرثوي يعزى إلى عوامل وراثية مثل أليلات مستضد الكريات البيض البشرية (HLA) في حين إنّ النصف الآخر من المخاطر هي عوامل بيئية بما في ذلك العدوى والتدخين (McInnes *et al.*, 2011). إقترحت دراسات النموذج السريري والحيواني أنّ العدوى من قبل العديد من الكائنات الحية الدقيقة مثل EBV (Epstein Barr virus), *Proteus mirabilis*, تسهم في حدوث في التهاب المفاصل الرثوي .

الإنترلوكين-10 (IL-10): عبارة عن سيتوكين له تأثيرات متعددة الاتجاهات في تنظيم المناعة والالتهابات. إنّ يقلل من التعبير عن السيتوكينات Th1 ومستضدات معقدات التوافق النسيجي MHC II كما إنّ يعزز بقاء الخلايا البائية وإنتشارها وإنتاج الأجسام المضادة (Moore, 2001).

تسبب العديد من البكتريا التهابات في المجاري البولية ولها العديد من عوامل الضراوة منها عامل الألتصاق adhesion focter والجين (Curl specific gene A) CsgA.

Curlli تعرف بإنّها ألياف اميلويد تشارك في التصاق السطح وتجميع الخلايا وتشكيل الأغشية الحيوية في الإشريكية القولونية وغيرها من البكتيريا العائلة المعوية (Kikuchi *et al.*, 2005). هي الوحدة الفرعية الهيكلية الرئيسية لألياف الضفيرة، وتشكل عدة مئات من الوحدات من البوليمرات المتجانسة الطويلة سواء في الجسم الحي أو في المختبر. يتضمن تسلسل الأحماض الأمينية في CsgA ثلاثة مجالات موصوفة جيدا: ببئيد الإشارة، وتسلسل استهداف الأحماض الأمينية (N22) N-terminal، والمجال الأساسي للأميلويد الطرفي . Curlli هي خيوط غير متجانسة البوليمر غير تساهمية للوحدات الفرعية CsgA و CsgB، موجودة في الألياف من النوع البري في الجسم الحي بنسب تبلغ حوالي 20:1 CsgA: CsgB تنتمي Curlli إلى فئة مرتبة من مجاميع البروتين المستقرة المعروفة باسم الأميلويدات (Van Gerven *et al.*, 2015).

أهداف البحث

- التحري عن دور الإصابة البكتيرية للألتهاب المجاري البولية على مستوى المناعة الخلوية في مرضى إتهاب المفاصل الرثوي ولتحقيق هذا الهدف:
- 1- عزل وتشخيص البكتريا من عينات الإدرار.
 - 2- التعرف على تأثير الجين CsgA (Curli specific gene A) على بعض المعايير المناعية.
 - 3- قياس مستوى الانترلوكينات IL-17 و IL-10 .
 - 4- قياس مستوى CD4 للخلية التائية وCD20 للخلية البائية.

2- استعراض المراجع

1-2-1 التهاب المفاصل الرثوي (Rheumatoid Arthritis)

تم وصف التهاب المفاصل الرثوي (RA) لأول مرة من قبل الطبيب الفرنسي Landré Beauvais سنة 1800، حيث اشتهر باسم "إلتهاب المفاصل المزمن" الذي كان يشبه النقرس في الكثير من الخصائص السريرية. أجريت العديد من الأبحاث على هذا المرض الذي أصبح يعرف باسم النقرس الروماتزمي وفي سنة 1858 أطلق عليه Garrod اسم التهاب المفاصل الرثوي (Kimpel, 2005).

يعرف التهاب المفاصل الرثوي (RA) بأنه مرض مناعي ذاتي مجهول السبب ومزمن والتهابي يتميز بإنتاج الأجسام المضادة الذاتية والذي يؤدي إلى تدمير المفصل ويعد من أكثر الأمراض المفصلية إنتشارا (Sultan *et al.*, 2019) يتميز إلتهاب المفاصل الرثوي بإصابة المفاصل بطريقة متناظرة خاصة الصغيرة منها مثل اليد والقدم تؤدي إلى تآكل وتخريب المفاصل. ينتج عن هذا التخريب إعاقة وظيفية تشكل خطرا على حياة المريض (Cohn de lara, 2006) وما يميز التهاب المفاصل الرثوي التهاب السائل الزلالي وتآكل الغضروف والعظم. مراحل تطور هذا المرض جدا معقدة، يتم خلالها تكاثر الخلايا الزلالية التي تتليف ويتشكل الغشاء الزلالي الملتهب (pannus) ثم تآكل الغضروف والعظم. تتم هذه المراحل المختلفة عن طريق تدخل العديد من الوسائط مثل السيتوكينات والإنزيمات المحللة. تعد السيتوكينات المحفزة للإلتهاب وسائط جدا مهمة في التهاب المفاصل الرثوي (Feledman *et al.*, 1996).

2-2-1 وبائية المرض

بلغ معدل إنتشار (RA) نحو 3% من السكان العالم ، وبلغ معدل إنتشاره في العراق 1% (Kadhim Jwad *et al.*, 2022) حيث لوحظ إصابة النساء بنحو 2-3 أضعاف الرجال قبل سن اليأس وبعده ، وتصبح النسبة متساوية مما تدل على وجود دور للهرمونات الجنسية ، وهو إن نسبة الهرمون الجنسي الذكري (Testosterone) تكون ضعيفة لدى الرجال المصابين بالالتهاب المفاصل وكما إن المرض يقل خلال مرحلة النضوج وإن حدوثه يكون بنسبة قليلة لدى السيدات اللواتي يتناولن حبوب منع الحمل. تحدث ذروة المرض بين 40 - 60 سنة ومن الممكن في حالة نادرة إن يظهر المرض منذ الطفولة ، يعتبر التدخين أحد العناصر التي تعمل على تحري رفع إنتاج العوامل إلتهاب المفاصل مما ساعد على تطور المرض خصوصا عند الرجال (Cush *et al.*, 2014).

كذلك يعد من العوامل الجرثومية (الفيروسات والبكتيريا) من ممرضات RA ويعتبر الأشخاص ذوي المستضدات HLA- DRB1 الأكثر شيوعاً وظهوراً ووجودها دليل على داء رثوي شديد وحاد، كما يتميز المرضى إيجابياً عامل الرثية (Rheumatoid factor) إنّ لديهم أعراض مرضية أشد تؤدي إلى تآكلات عظمية والإصابة لا تتوقف على المفاصل كما هو معروف بل تتعداها إلى أعضاء وهذا يسمى بالظواهر خارج مفصليّة (Ismail , 2009).

3-2-1 أسباب المرض

يعد التهاب المفاصل الرثوي من الأمراض التي يسببها العديد من العوامل، حيث يمكن إنّ يكون انطلاق هذا المرض بسبب عوامل نفسية أو هرمونية أو وراثية أو مناعية أو عوامل محيطية. يبقى المستضد الذي يسبب انطلاق المرض غير معروف. يمكن إنّ يكون هذا المستضد ذو أصل داخلي مثل مستضدات الذات والكولاجين II والعوامل الرثوية أو خارجي مثل بعض العوامل المعدية (بكتيريا أو فيروسات) لكن تبقى الأسباب الحقيقية غير معروفة (Sany, 2003).

1-3-2-1 العوامل الهرمونية

تدخل العوامل الهرمونية في التهاب المفاصل الرثوي وذلك بالاعتماد على العديد من الملاحظات السريرية مثل إصابة النساء بكثرة (Silman, *et al.* 1992) والتغير المفاجئ للمرض خلال المدة التي تسبق سن اليأس إلى جانب ذلك إلى إمكانية خموده خلال مدة الحمل (Sany, 2003). دلت جميع الدراسات السريرية على وجود تداخل وظيفي بين الجهاز المناعي والجهاز الهرموني، حيث تتدخل الهرمونات الجنسية في الاستجابة المناعية مثل estrogen الذي يعتبر كهرمون منظم للاستجابة المناعية الخلوية، إلى جانب ذلك إلى androgens و progesterone التي تعد مثبطات طبيعية للمناعة (Cutolo *et al.*, 2004). لا تؤثر الهرمونات الخارجية التي تستعمل كموانع للحمل أو كعلاج هرموني بديل على مرض التهاب المفاصل الرثوي ولكنها تؤخر ظهوره وتقلل من حدته (Sany, 2003).

2-3-2-1 العوامل الوراثية

تمثل العوامل الوراثية نسبة 30 % من العوامل المسببة لحدوث التهاب المفاصل الرثوي. تتوافق المورثات في حالة التوأم المتماثل المصاب بهذا المرض بنسبة 15-30 % على خلاف التوأم الغير متماثل الذي تقدر نسبة التوافق فيه من 5-10% (Sany, 2003). دلت الدراسات التي أجريت على انتشار هذا المرض عند العديد من العائلات والتوائم على تدخل معقد متعدد الجينات (MacGregor,2000).

إنّ أول مورثة اتضح لها علاقة بالمرض هي HLA-DR (Weyand,1995). حيث لوحظ إنّ من 70 حتى 90 % من المصابين بهذا المرض حاملين للمستضد HLA-DR4 (40-60) % والمستضد HLA- DR 1 (20-30) % (Cofer,2004).

3-3-2-1 العوامل المعدية

تم التعرف منذ وقت بعيد على إنّ العوامل المعدية من أسباب انطلاق مرض التهاب المفاصل الرثوي، حيث تبين من خلال التجارب المختبرية للحيوان إنّ العديد من البكتيريا والفيروسات تسبب انطلاق الالتهاب المفصلي (Maini,1995).

تتدخل العوامل الفيروسية مثل Epstein-Barr virus والبكتيريا مثل *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* والميكوبكتيرية في انطلاق هذا المرض المفصلي . وقد أقترح إنّ إنطلاق هذا المرض يكون نتيجة تشابه بين بعض مكونات العوامل المعدية وبعض مكونات المفاصل (Klinman,2003). يعتبر فايروس ابشتاين بار (EBV) Epstein-Barr Virus هدفاً للأجسام المضادة. تزداد هذه الاستجابة عند المصابين بالمرض مما يؤدي إلى ارتفاع نسبة الاجسام المضادة ضد AEBN (Antigen Epstein-Barr Nuclear) مجموعة من البروتينات النووية المعبر عنها من قبل الفيروس أثناء المرحلة البطيئة من العدوى والاجسام المضادة ضد EA (Early antigen) و (Viral Capsid Antigen) VCA (البروتينات المعبر عنها اثناء مرحلة تضاعف الفيروس) في المصل والسائل الزلالي للمصابين (Roudier,2004).

4-2-1 المظاهر السريرية لالتهاب المفاصل الرثوي

يظهر عند المصابين آلام مفصلية أثناء النوم والحركة إلى جانب ذلك إلى انتفاخ وتصلب للمفاصل ولقد تم وضع مجموعة من المقاييس من قبل المدرسة الأمريكية للروماتيزم ACR

(rheumatology of Colleague American) من أجل تمييز التهاب المفاصل الرثوي عن الامراض المفصلية الاخرى الجدول (1-1)(Peter,2004) وبالرغم من انّ هذه المقاييس لها درجة عالية من الحساسية والخصوصية الا إنّها ليست دقيقة جدا في تحديد التهاب المفاصل الرثوي خاصة في المراحل المبكرة من المرض (Scott,2007).

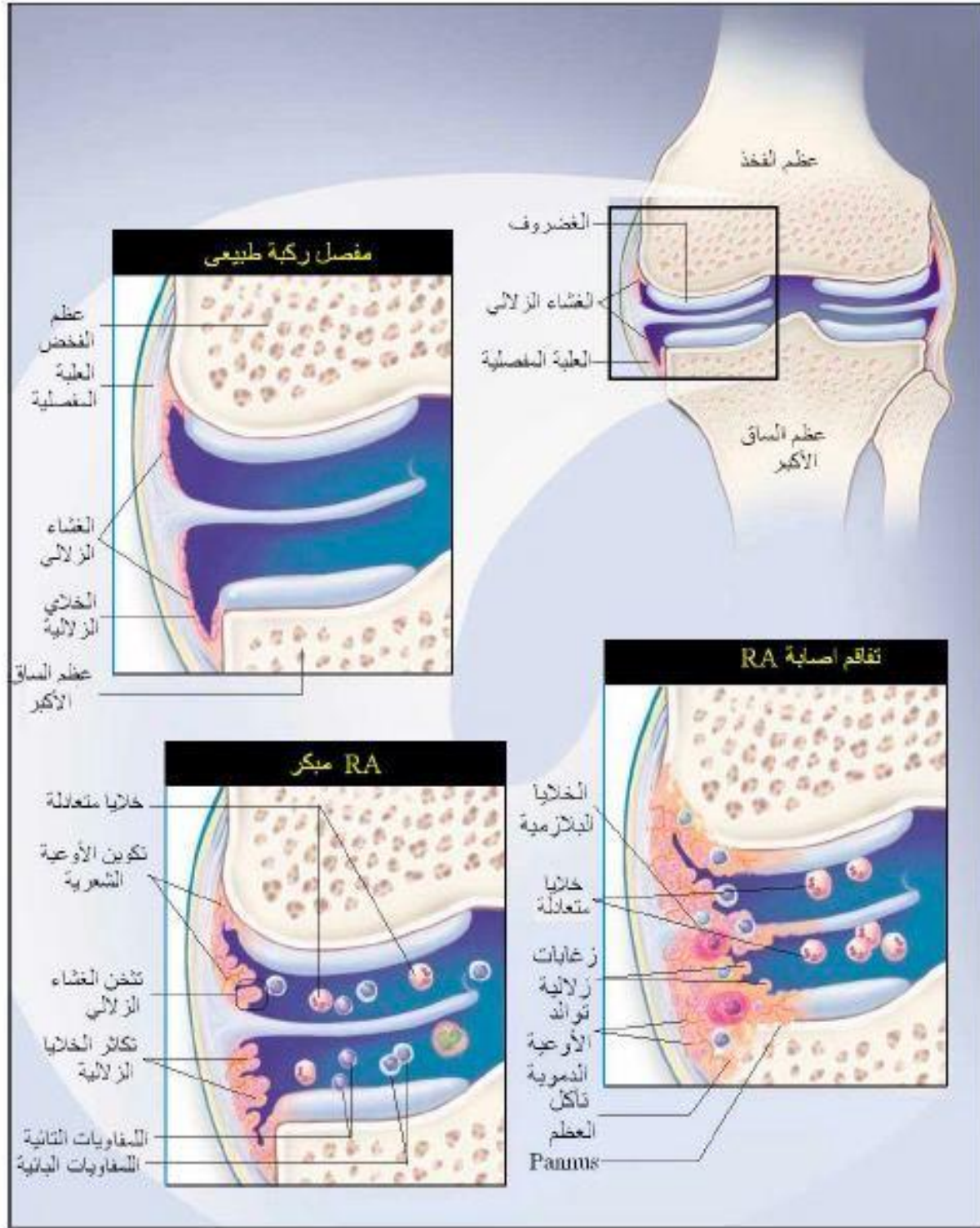
الجدول (1-1): مقاييس الجمعية الأمريكية للروماتيزم ACR لتشخيص التهاب المفاصل الرثوي (Arnett,et al. 1988)

المعايير	تعريف
تصلب صباحي	تصلب مفصلي صباحي يدوم على الأقل ساعة.
التهاب مفصلي	إنتفاخ على الأقل 3 مجاميع مفصلية يتم ملاحظتها من قبل طبيب مختص، ويحتمل إصابة 14 منطقة مفصلية التي تتمثل في: السلاميات القريبة و سلاميات مشط اليد ومفاصل سلاميات مشط القدم والمعاصم والمرافق والركبة والكواحل
التهاب مفصلي يصيب مفاصل اليد	إنتفاخ على الأقل مجموعة مفصلية ومن بينها المعصم و سلاميات مشط اليد وما بين السلاميات القريبة من محور الجسم.
التهاب مفصلي متناظر	التهاب مفصلي يصيب في نفس الوقت أغلب المجاميع المفصلية في جهتي الجسم.
العقد الرثوية	عقد تحت جلدية على مستوى النتوءات العظمية أو المنطقة المتجاورة للمفصل.
العوامل الرثوية	يتم إثبات وجود تراكيز غير عادية من العوامل الرثوية المصلية.
تغيرات في الصور الإشعاعية	تغير في الصور الإشعاعية (RX) على مستوى اليد والمعصم مع وجود تآكل للعظم يتركز على مستوى المفاصل المصابة.

1-2-5 آليات تطور التهاب المفاصل الرثوي

يتدخل العديد من العوامل الوراثية والمحيط والهرمونية والنفسية في تطور الإصابة بالتهاب المفاصل الرثوي التي تؤدي لتنشيط استجابة مناعية فطرية ومكتسبة. يعتبر التجويف الزلالي موقع التفاعلات الالتهابية التي تمس بشكل كبير الغشاء الزلالي. يحتوي الغشاء الزلالي العادي على الخلايا البلعمية الكبيرة و الخلايا الليفية يملك هذا الغشاء عادة بنية خلوية مع طبقة حادة تتكون من خلية واحدة إلى خليتين (Takemura, et al. 2001). من بين الأنسجة التي تظهر بشكل واضح في المراحل المبكرة من الإصابة بالنسيج المتورم الذي يتميز سريريا بمفصل منتفخ ومؤلم (وذمة). كما إن التصوير الإشعاعي للمفصل يدل على تكون أوعية جديدة إلى جانب ذلك إلى تضخم الطبقة البطانية الزلالية. عندما تدخل الإصابة المراحل المتقدمة فإن الطبقة البطانية الزلالية المتضخمة تصبح أكثر وضوحا في بعض الأحيان يصل عمقها إلى 10 خلايا . كما يتميز الغشاء الزلالي بتسرب خلايا وحيدة النواة التي تشمل الخلايا التائية (الخلايا التائية المساعدة بدرجة أكبر) والخلايا البائية والخلايا البلازمية و الخلايا البلعمية الكبيرة بالإضافة إلى الخلايا المتشجرة (Emery, 1999).

تزداد الأوعية الدموية بالغشاء الزلالي ويزداد سمكه مما يؤدي الى تكوين شبيه اللسان pannus التي تؤدي إلى تآكل الغضروف والعظم عن طريق إفراز العديد من الإنزيمات المحللة (Gorman, 2008) كما موضح في الشكل (1-1) تحتوي المنطقة الفاصلة بين الغضروف وشبيه اللسان pannus على نسبة عالية من الخلايا البلعمية والخلايا الليفية النشطة مما يؤدي إلى إنتاج حشوة من إنزيمات MMPs metalloproteinases و cathepsins . يحرض كل من IL-1 و TNF- α التعبير عن جزيئات الالتصاق على الخلايا البطانية كما تزيد من تجمع الخلايا العدلة داخل المفصل. تقوم هذه الأخيرة بإفراز مجموعة من الإنزيمات المحللة Elastases التي تؤدي إلى هدم البروتينات الغليكاز في الطبقات الخارجية للغضروف. تفكك البروتينات يسمح للمعدن المناعية إن تتسرب إلى الكولاجين . تفرز الخلايا الغضروفية وخلايا الليفية الزلالية إنزيمات MMPs الحشوية عندما تحرض ب IL-1 و TNF- α والخلايا التائية المساعدة النشيطة. تؤدي إنزيمات MMPs إلى تحلل الأنسجة الضامة وبذلك تعد من الوسائط المهمة في تخريب المفاصل أثناء الإصابة بالتهاب المفاصل الرثوي (Choy, 2001).



الشكل (1-1) آلية التطور المرضي للتهاب المفاصل الرثوي (Panayi & Choy, 2001).

1-2-6 الدور الممرض للخلايا المناعية في التهاب المفاصل الرثوي

أهم الخلايا التي تتسرب عبر الغشاء الزلالي في حالة الإصابة بالتهاب المفاصل الرثوي هي:

1-6-2-1 الخلايا البلعمية الكبيرة

يتميز الغشاء الزلالي الرثوي بتسرب عدد كبير من الخلايا وحيدة النواة تهاجر هذه الخلايا بعد تخليقها إلى النسيج الزلالي أين يتم تنشيطها وتتحول إلى الخلايا البلعمية زلالية كبيرة (Borgh,2001). تلعب الخلايا البلعمية الكبيرة دورا مركزيا في التهاب المفاصل الرثوي وذلك بسبب عددها الكبير في الغشاء الزلالي الملتهب ومنطقة اتصالالنسيج شبيه اللسان (Pannus) بالغضروف و نظام تنشيطها الواضح أو إستجابتها الناجحة في العلاج ضد التهاب المفاصل (Kinne *et al.*,2000). تنشط الخلايا البلعمية الكبيرة بواسطة معقد التوافق النسيجي الصنف II و إفراز السيتوكينات المحفزة للالتهاب وعوامل المنظمة و النمو IL-1، IL-6، IL-10، TNF- α ، IL-18، IL-13، IL-15، chemokines (IL-8-GSF)، (Metalloproteinases) MMPs (Kinne,2000).

1-2-6-2 الخلايا الليفية

يحتوي النسيج الزلالي العادي من الناحية التشريحية على نوعين مختلفين من الطبقات: الطبقة السطحية (البطانة الزلالية) وطبقة تحتية (تحت البطانة الزلالية) تتصل الطبقة البطانية بشكل مباشر مع مكونات التجويف المفصلي يتراوح سمكها بين 20 و 40 ميكرومتر وعمقها من واحد إلى ثلاث خلايا وتتميز بتنظيم جيد. تتميز الطبقة التحتية بتنظيم أكثر و باحتوائها على أوعية دموية. تحتوي الطبقة البطانية والتحتية على نمطين من الخلايا الأكثر شيوعا هي الخلايا الزلالية شبه - الخلايا البلعمية الكبيرة (MLS : Macrophage-Like Synoviocytes) و(خلايا زلالية النمط A) والخلايا الزلالية شبه- الخلايا الليفية (FLS : Fibroblastes Like- Synoviocytes)، (خلايا زلالية النمط B) التي تمثل ثلثي الخلايا الزلالية (Adam *et al.*,2005). تسبق الزيادة في عدد خلايا الليفية FLS تجمع الخلايا الإلتهابية الأخرى و هذا ما يدل على الدور المهم لهذه الخلايا. تستجيب الخلايا الليفية FLS بإفراز العديد من الوسائط الإلتهابية المختلفة مثل IL-1، IL-6 و TNF- α التي تعد وسائط مهمة في بداية وتطور التهاب المفاصل الرثوي (Deng,2006). كما تقوم بإفراز العديد من الإنزيمات المحللة للحشوة خارج المفصليّة و الإنسجة الضامة (Tolboom,2002).

3-6-2-1 الخلايا العدلة

تعتبر الأكثر عددا في الدم المحيطي . تلعب الخلايا العدلة دور جدا مهم في الالتهاب الحاد، حيث إنها تعد واحدة من بين الخلايا الأولى التي تصل إلى موقع الالتهاب. وبما إنه من الصعب التعرف على الخلايا العدلة في الغشاء الزلالي الملتهب وطبقة نسيج شبيه للسان pannus فإن الدور الحقيقي الذي تلعبه هذه الخلايا لم يتم التعرف عليه بدقة. تفرز الخلايا العدلة النشيطة في السائل الزلالي العديد من الجزيئات التي تعمل على الجذب الكيميائي للخلايا المتعادلة الأخرى من الدم إلى النسيج الزلالي حيث تزيد من تفاعل الالتهاب المفصلي (Deng,2006). كما تنتج هذه الخلايا الجذور الأوكسجينية السامة وحببيبات موجهة ضد الإنظمة البكتيرية مباشرة في السائل الزلالي. يمكن للخلايا المتعادلة إن تحفز تحلل الغضروف عن طريق إفراز العديد من الإنزيمات المحللة مثل كولاغيناز الخلايا العدلة تعد هذه الأخيرة المسؤولة الأولى عن تآكل الغضروف. ينتج عن تحلل الكولاجين مستضد مع النمط II وبذلك تحفز التفاعلات المناعية (Pillinger et al.,20004).

4-6-2-1 الخلايا اللمفاوية

1-4-6-2-1 الخلايا التائية T

تبدأ عملية تطور ونضج الخلايا التائية في الثدييات بالخلايا الجذعية المكونة للدم (HSC) Hematopoietic Stem Cell في كبد الجنين ثم في نخاع العظم حيث يتميز الخلايا الجذعية HSC إلى أسلاف متعددة القدرات. تبدأ مجموعة فرعية من الأسلاف متعددة القدرات نسخ الجين المنشط لإعادة تركيب الجين المنشط Recombination Activating Gene (RAG) وتصبح أسلافاً متعددة القدرات الليمفاوية ثم أسلافاً لمفاوية شائعة (CLP) فقط مجموعة فرعية صغيرة من الخلايا متعددة القدرات تهاجر إلى الغدة الزعترية وتتمايز إلى أسلاف مبكرة من الغدة الزعترية (ETP) لا تحتوي الغدة الزعترية على أسلاف تتجدد ذاتياً ؛ وبالتالي ، يعتمد تكوينها على المدى الطويل على توظيف أسلاف استقرارها طوال حياة الفرد يجب إن تدخل هذه الأسلاف لتتم إعادة برمجتها تدريجياً إلى خلايا T ناضجة وعاملة (Yang ,et al.,2010).

تكتسب الخلايا التائية اثناء عملية النضج مستقبلاً يسمى مستقبل الخلية (TCR) يتعرف على Ag المستضد Antigen معين TCR عبارة عن مركب متعدد البروتينات يتكون من سلسلتين متغيرتين لربط المستضد ، $\alpha\beta$ أو $\gamma\epsilon$ ، والتي ترتبط ببروتينات ملحقة ثابتة (سلاسل $CD3\gamma\epsilon$ و $CD3\delta\epsilon$ و $CD247$) وهذه الإشارة تكتمل بارتباط المستقبل مع المستضد.

هناك العديد من الدلائل على أنّ الخلايا T تلعب دورا مهما في تطور مرض التهاب المفاصل الرثوي، من بين هذه الدلائل نذكر (1) تسرب هذه الخلايا عبر الغشاء الزلالي الملتهب في حالة التهاب المفاصل ، (2) يلعب العامل RANK المفرز من الخلايا T4 النشيطة في المفاصل الملتهبة دورا محوريا في تآكل العظم. (3) دلت الدراسات الوراثية على أنّ التهاب المفاصل الرثوي يتعلق بمستضد معقد التوافق النسيجي القسم (HLA-DR4 II) الذي يتم عليه عرض المستضد البيبتيدي للخلايا T (Deng,2006).

1-2-4-6-2-1 الخلايا البائية B

تحدث المراحل الأولى من تطور الخلية البائية B cell في البيئات الدقيقة المعقدة والتي تأتي منها المحفزات والعوامل المطلوبة لبدء سلسلة من إشارات الخلية. تعمل هذه بدورها على تنشيط عوامل النسخ التي تحفز أو تقمع التعبير عن الجينات المستهدفة المختلفة التي تعدل بقاء الخلية وإنتشارها وتمايزها IL-7. ضروري لتطوير الخلايا البائية ويتم إنتاجه بواسطة خلايا Stroma cell وهكذا يبدأ تطوير الخلايا البائية من خلية جذعية مكونة للدم Haematopoietic Stem Cell (HSC). يتحول هذا إلى Early Lymphoid Progenitor (ELP)، ثم يصبح Common Lymphoid Progenitor (CLP) مشتق من Natural Killer Cells (NK) والخلايا Dendritic Cells (DC) من ناحية ، ومن ناحية أخرى ، Common Lymphoid Progenitor-2 (CLP-2)، المسؤول عن سلالة الخلايا البائية. تعد هذه المرحلة الأولى من الخلايا البائية غير الناضجة (Pieper, 2013) من المتطلبات الأساسية لتطوير الخلايا البائية في نخاع العظام غياب أو كبح إشارة البروتين Notch-1 (N1) ، وهو أمر ضروري لتنمية الخلايا البائية (Cruickshank *et al.*, 2010)

تلعب سيتوكينات ما قبل الالتهاب مثل α , β TNF دورا مهما في تنظيم المركز المنتشرة في الأنسجة اللمفاوية الملتهبة، لهذا السبب فإنّ الخلايا B في الغشاء الزلالي للمفاصل المصابة خلال التهاب المفاصل الرثوي يمكن إنّ تنتظم في بنية لمفاوية (Panayi, 2005). بالرغم من إنّ دور الخلايا T والخلايا العارضة للمستضد APC في التطور المرضي لالتهاب المفاصل الرثوي تمت دراسته بشكل واسع، فإنّ الدور الأساسي للخلايا B لم يتم التعرف عليه بشكل دقيق رغم اليقين بأنّها المسؤولة عن إفراز العوامل الرثية المختلفة. بالمقارنة بالغشاء الزلالي العادي فإنّ الغشاء الزلالي الملتهب يتميز بتسرب اللمفاويات. تنتشر هذه الخلايا في الغشاء الزلالي وتأخذ شكل جريب . تحتوي

هذه الجريبات على تكتلات من الخلايا T المحيطية حول الأوعية الدموية التي تحاط بالخلايا B تعد الخلايا B المكون الأساسي للجريبات المتسربة يمكن إنَّ تمييز هذه الخلايا إلى خلايا بلازمية. حوالي 30% من المصابين يملكون جريبات متسربة (Panayi, 2005). لقد اقترح في البداية على إنَّ السبب الرئيسي لالتهاب المفاصل الرثوي و الخلايا B و يرجع ذلك إلى المستويات المرتفعة من الأجسام المضادة الذاتية عند المصابين بهذا المرض (عوامل رثوية RF: factors : Rheumatoid (Carson, 1991). العوامل الرثوية عبارة عن أجسام مضادة ذاتية موجهة ضد القطعة Fc للغلوبولين المناعي G تظهر RF بنسبة 80 % عند المصابين بمرض التهاب المفاصل الرثوي و بنسبة 1 إلى 10 % عند الأشخاص العاديين وبنسبة تفوق 25 % عند الذين يتجاوز أعمارهم 60 سنة. تظهر العوامل الرثوية IgM و IgG بنسبة 90 % عند المصابين. يمكن الكشف عن هذه العوامل في الدم 10 سنوات بعد بداية المرض (Firestein, 1994).

7-2-1 السيتوكينات

السيتوكينات عبارة عن بروتينات ذات وزن جزيئي منخفض يتم إفرازها من العديد من الخلايا المختلفة (الخلايا اللمفاوية والخلايا البلعمية الكبيرة والخلايا المتشجرة والخلايا الليفية) تملك هذه البروتينات تأثيرات ذاتية أو تجاورية على العديد من الأنسجة (من الجهاز المناعي حتى الجهاز العصبي) عن طريق التفاعل مع المستقبلات المختلفة (Houssiau, 2000). تعد السيتوكينات كوسائط في الاستجابة المناعية والإلتهابية، وهذا ما أدى إلى اقتراح دورها في أمراض المناعة الذاتية خاصة منذ سنة 1983 عند اكتشاف وجود علاقة بين السيتوكينات وزيادة عرض المستضد التي تؤدي إلى تطور المناعة الذاتية (Feldmann et al., 1996). تمت دراسة السيتوكينات عند المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي، حيث وجد إنَّ السيتوكينات المحفزة للالتهاب مثل TNF- α و IL-1 و IL-6 تلعب دورا مهما في تطور مرض التهاب المفاصل الرثوي، كما لوحظ إنَّ التعبير عن هذه السيتوكينات يزداد بزيادة المرض (Voulgari et al., 1999).

الزيادة في التعبير الجيني للوسائط الالتهابية يقل عن طريق إنتاج السيتوكينات المضادة للالتهاب مثل IL-10 و β -TGF والسيتوكينات المثبطة مثل منافسات مستقبل IL-1 (IL-1Ra) و مستقبلات TNF- α الذائبة (السيتوكينات التي يتم إفرازها في السائل الزلالي للمصابين بالتهاب المفاصل الرثوي) (Firestein et al., 1994).

1-7-2-1 السيتوكينات المحفزة للالتهاب

عوامل نخر الورم TNF- α : عبارة عن بروتينات ثلاثية الوحدات ذائبة يبلغ وزنها الجزيئي 17 كيلو دالتون (Christodoulou,2006). يفرز هذا السيتوكين بشكل أساسي من الخلايا وحيدة النواة والخلايا البلعمية macrophage إلى جانب ذلك إلى الخلايا البائية و الخلايا التائية و الخلايا الليفية. لوحظ إنَّ هذا السيتوكين يملك العديد من التأثيرات الذاتية والتجاورية. يحرض TNF- α إفراز العديد من سيتوكينات الالتهاب مثل IL 1 و IL 8 و IL-6 و CSF-GM . يمكن لهذا السيتوكين إنَّ يزيد من حدة الالتهاب عن طريق تحريض خلايا الليفية على إفراز جزيئات الالتصاق التي ترتبط بالبريطات الخاصة على سطح الكريات البيض مسهلا إنتقالها إلى مواقع الالتهاب في الغشاء الزلالي. يلعب TNF- α دورا مهم جدا في التخليق المرضي للالتهاب المفاصل الرثوي، حيث لوحظ إنَّه كماو IL-6 و IL-8 و IL-1 عن التعبير من يزيد TNF- α إنَّ يحفز إنتاج PGE2 و إنزيمات MMPs خاصة إنزيم الكولاجيناز (Wahren-Herlenius,2002).

الإنترلوكين IL-17 (IL-17) : يعد IL-17 من السيتوكينات الخلوية التي تتشابه مع السيتوكينات الأخرى. قد تم التعرف على ستة أفراد من هذه العائلة. تعرف هذه الأفراد من IL-17A حتى IL-17F (Paunovic,2008). (يفرز IL-17 بشكل أساسي من الخلايا CD4+T وايضا الخلايا CD8+ والخلايا القاتلة الطبيعية والخلايا العدلة (Gaston, 2008). يحرض هذا السيتوكين إفراز كل من IL-1 و TNF- α و IL-6 و IL-10 و IL-1 من الخلايا وحيدة النواة. يلعب IL-17 دورا مهما في تآكل العظم والغضروف، حيث يحفز إفراز إنزيمات البروتينات المعدنية MMPs خاصة MMP-9 مما يؤدي إلى تفكك الكولاجين والبروتينات الغليكائية في الغضروف كما إنَّه يخفض من بناء هذه الجزيئات (Arend,2004).

الإنترلوكين IL-17 هو عامل التهابي جديد ، والسيتوكينات تعد مركبات وسطية مهمة بين التهاب RA وإصابة المفاصل في التسبب في التهاب المفاصل الرثوي (Heo et al., 2010). يتفاعل IL-17 مع السيتوكينات الأخرى لتعزيز الاستجابات الالتهابية. أظهر Metawi وآخرون إنَّ IL-17 يتم التعبير عنه بشكل كبير في السائل الزليلي لمرضى التهاب المفاصل الرثوي. إلى جانب ذلك ، يمكنه زيادة تنظيم تعبيرات عوامل تكوين الأوعية المختلفة لتعزيز تكوين الأوعية. ومع ذلك ، يمكن إنَّ تنتقل الخلايا الالتهابية إلى الغشاء الزليلي من خلال الأوعية الدموية الجديدة ، والتي قد تكون أحد الأسباب المهمة لتكرار الالتهاب في مرضى التهاب المفاصل الرثوي (piCKenS Sr, et al., 2010).

2-7-2-1 السيتوكينات ضد الالتهاب

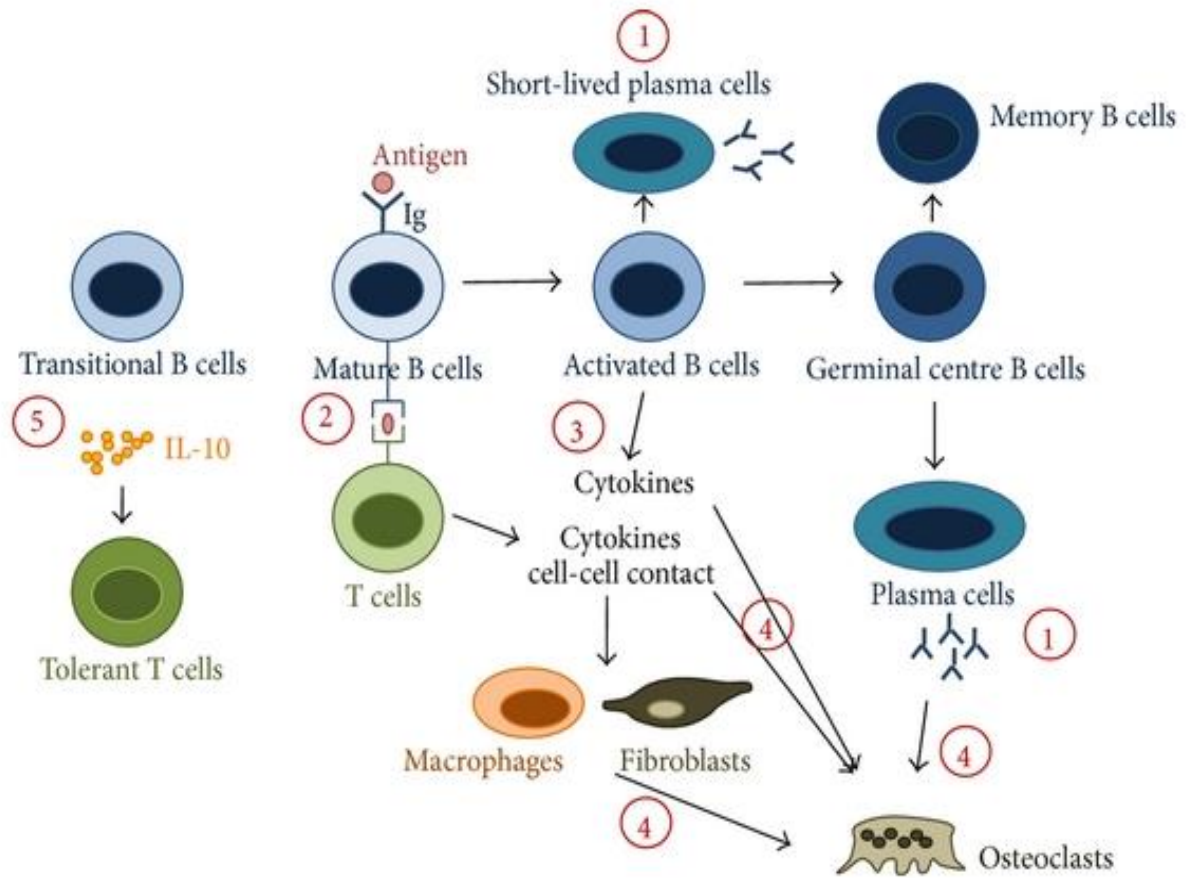
الإنترلوكين (IL-10): عبارة عن سيتوكين ثنائي وحدات يبلغ وزنه الجزيئي 35 كيلودالتون (Katsikis *et al.*, 1994). يملك هذا السيتوكين العديد من التأثيرات المضادة للتهاب والمنظمة للمناعة. يظهر هذا السيتوكين في الدم و السائل الزلالي المفصلي للمصابين (Feldmann, 1996). يفرز هذا السيتوكين من الخلايا وحيدة النواة والخلايا القاتلة الطبيعية والخلايا التائية والخلايا B. يثبط IL-10 إفراز العديد من ساييتوكينات ضد الالتهاب مثل TNF- α و IL-12 و IL-8 و IL-6 و IL-1 β سيتوكينات و IL-2 و γ -IFN و يحفز إنتاج مستقبل IL-1Ra و مستقبلات TNF- α الذائبة، كما يخفض من التعبير عن جزيئات MHC القسم II على سطح الخلايا وحيدة النواة والخلايا المتشجرة. إلى جانب ذلك إلى ذلك فإن IL-10 يخفض إفراز أكسيد النيتروجين NO و جذر فوق الأكسيد و PGE2 من الخلايا البلعمية الكبيرة (Schulze-koops, 2001). وفقاً لدراسة السابقة (Alanara *et al.*, 2010)، يلعب IL-10 وهو سيتوكين مضاد للالتهاب في RA، دوراً وقائياً في التسبب في التهاب المفاصل الرثوي، ويثبط نشاط الخلايا القاتلة الطبيعية ويعزز تمايز الخلايا البائية، وبالتالي إنتاج الجسم المضاد. يعتقد (KirKham *et al.*, 2006) إن IL-17 قد يلعب دوراً رئيسياً في التسبب في أمراض مختلفة من التهاب المفاصل عن طريق إحداث التهاب زليلي وتعزيز تدمير العظام. بينما ثبت إن IL-10 يمنع تورم المفاصل وتشوهها في النماذج الحيوانية RA. أظهر (Carter *et al.*, 2011) إن الخلايا البائية التي تنتج الإنترلوكين 10 تثبط التهاب المفاصل عن طريق تعزيز التنظيم المناعي بالنسبة لتمايز الخلايا التائية المؤيدة للالتهابات.

8-2-1 دور العوامل CD20 & CD4 في التهاب المفاصل الرثوي

تعد CD4 بروتين سكري يعمل كمستقبل مشترك لمستقبل الخلايا T cell (TCR). تم الكشف على CD4 على سطح الخلايا المناعية مثل الخلايا أحادية النواة والخلايا الشجرية. يطلق عليها اسم الخلايا المساعدة لأن أحد أدوارها الرئيسية هو إرسال إشارات إلى أنواع أخرى من الخلايا المناعية والتي تقوم بعد ذلك بتدمير الاجسام المعدية او المسببة للالتهاب (Ehrenstein, 2004). اما CD20 فهو عبارة عن بروتين non-glycosylated بوزن 33-37 كيلو دالتون يحدث التعبير الجيني له على سطح الخلايا البائية B، وينتمي إلى عائلة البروتين (membrane-spanning 4-domain family A) التي تغطي الغشاء (Tedder *et al.*, 1989). يتكون بروتين

CD20 من أربعة نطاقات عبر الغشاء الكارهة للماء four hydrophobic transmembrane domains، ونطاق واحد داخل الخلايا ومجالان خارج الخلية large and small loops with both N- and C- termini الموجودة داخل العصارة الخلوية (Eon Kuek L *et al.*,2016). في الأونة الأخيرة ، تم وصف مجموعة فرعية من خلايا CD20 T ذات النشاط التنظيمي المناعي والمؤيد للالتهابات ؛ ومع ذلك ، لا يزال من الضروري تحديد الأهمية السريرية لهذه المجموعة (Schuh *et al.*,2016)

يوضح الشكل (2-1) دور T & B cells في تطوير حالات التهاب المفاصل الرثوي إنَّ للخلايا T & B cells ادوار متعددة في الاستجابات المناعية وتنظيمها في التهاب المفاصل الرثوي. تؤدي تفاعلات الخلايا T & B إلى تنشيط وتمايز خلايا البلازما المسؤولة عن إنتاج الأجسام المضادة الذاتية كما موضح في الخطوة رقم (1). توفر الخلايا B cells المنشطة المساعدة للخلايا T cells وتحفز تمايزها، استجابتها حيث تنتج السيتوكينات المنشطة للالتهابات (الخطوة رقم 2). يمكن إنَّ تؤثر الخلايا B cells أيضاً على وظائف الخلايا المناعية وغير المناعية الأخرى من خلال إفراز السيتوكينات ، مثل إنترلوكين-1 ، IL-6 ، عامل نخر الورم TNF- α ، و IL-17A (الخطوة رقم 3) ، تعمل السيتوكينات المنشطة للالتهابات ومنشط مستقبلات العامل النووي (RANKL) التي تنتجها الخلايا B cells المنشطة ، T cells ، والضامة ، وخلايا synovial fibroblasts على تمايز وتفعيل الخلايا الأكلة للعظم ، مما يؤدي إلى ارتشاف العظام (الخطوة رقم 4). يُقترح مزيد من المشاركة للخلايا B cells في استئباب العظام من خلال تمييز الأجسام المضادة الذاتية التي تتعرف على Citrullinated Vimentin (وهي مستضدات مهمة في التهاب المفاصل الرثوي وموجودة في السائل الزليلي) قادرة على تعزيز تمايز الخلايا أحادية النواة إلى ناقضات العظم osteoclasts (الخطوة رقم 4). يمكن أيضاً إنَّ تكون الخلايا B cells منظمة للمناعة من خلال توفير IL-10 وآليات أخرى لم يتم توضيحها بعد (الخطوة رقم 5) (Bugatti *et al.*, 2014).



- ① Autoantibody production
- ② Antigen presentation; T-cell activation
- ③ Cytokine secretion
- ④ Osteoclast activation
- ⑤ Immunoregulation

الشكل (2-1) يوضح دور الخلايا المناعية T & B cells في تطوير حالات التهاب المفاصل الرثوي. (Bugatti *et al.*, 2014).

9-2-1 العلاقة بين التهاب المفاصل الرثوي والتهابات المسالك البولية

تعد اضطرابات المسالك البولية من بين الأمراض المصاحبة الهامة في مرضى التهاب المفاصل الرثوي. تكون عدوى المسالك البولية في الأشخاص المصابين بـ RA معقدة لانهم يعانون من نقص المناعة بسبب المرض الأساسي ، وغالباً ما يخضعون للعلاج المثبط للمناعة (Dulawa, 2009). تظهر الدراسات التي أجريت لحد الآن إنّ خطر الإصابة بالعدوى، بما في ذلك التهاب المسالك البولية ، في مرضى التهاب المفاصل الرثوي أكبر منه لدى مجموعة الأصحاء (Doran, et al., 2002). تشمل الأسباب المحتملة لزيادة حدوث عدوى المسالك البولية اليات الدفاع الموضعية (إضطراب الوظيفة الميكانيكية والأفرازية للأغشية المخاطية)، وإضطرابات الجهاز المناعي ، وضعف كفاءة المرضى الذين يعانون من تلف المفاصل (Lewandowski, et al., 1992). ومن الأسباب الرئيسية لالتهاب المسالك البولية العمر والجنس و البكتريا السالبة لصبغة غرام 15 هي *E.coli, Proteus mirabilis , Klebsiella pneumonia, Pseudomonas putida, Acinetobacter baumannii* . في السنوات الأخيرة لوحظ احتمال وجود صلة بين عدوى المسالك البولية وبكتريا *Proteus mirabilis* وتطویر RA (Ebringer, et al., 2010) . في مرضى التهاب المفاصل الرثوي وجود مستويات عالية من الأجسام مضادة لل *Proteus* في مصل مرضى التهاب المفاصل الرثوي مقارنة بالمرضى الأصحاء (Ebringer, et al., 2010) . أو وجود عزلة متزايدة من البكتريا في إدرار المصابين بـ RA

من خلال الدراسات الوراثية والبايولوجية والمناعية تم التوصل إلى إنّ التهاب المفاصل الرثوي هو مرض تنتجه الأجسام المضادة الذاتية ضد إنسجة المفاصل التي أثارها التهاب المسالك البولية الناجم عن بكتريا العائلة المعوية وخصوصا بكتريا *Proteus mirabilis* . العدوى و RA متكافئين لأنه كلاهما يسبب تفاعلات الجهاز المناعي و تحطيم الجسم (Jung and Suh, 2017).

10-2-1 التهاب المسالك البولية

تعد التهاب المسالك البولية واحدة من أكثر مجموعات العدوى شيوعاً في البشر. سريريا، يتم تصنيف عدوى المسالك البولية غير المعقدة أو المعقدة إلى عدوى المسالك البولية السفلية (التهاب المثانة) والتهابات المسالك البولية العلوية (التهاب الحويضة والكلية) Upper urinary tract infection. تعد البكتيريا المعوية أهم سبب للإصابة بالتهاب المسالك البولية في جميع الفئات السكانية، حيث تمثل أكثر من 95 ٪ من جميع التهابات المسالك البولية. من بين هذه الميكروبات، *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* و *Proteus mirabilis* و *Enterococcus faecalis* و *Staphylococcus saprophyticus* تتميز عدوى المسالك البولية المعقدة بانها عدوى المسالك البولية المرتبطة بالعوامل التي تؤثر على المسالك البولية أو دفاع المضيف، بما في ذلك انسداد المسالك البولية، والاحتباس العصبي، وقمع المناعة، والفشل الكلوي، وزرع الكلى، والحمل، وتورط الأجسام الغريبة (Levison and Kaye, 2013).

ويحدث الالتهاب في المجاري البولية عندما تصل بكتريا الجهاز الهضمي الموجودة في فتحة الشرج والقريبة جدا من فتحة أخراج المجرى وقد ينتقل بطرق أخرى حيث يمكن إنَّ تنتقل البكتريا من الدم الى الكليتين أو قد ينتقل من الأمعاء الى المثانة عن طريق الاوعية الدموية للمفاوية. يختلف الناس في مدى قابليتهم للإصابة بالمرض حيث يكون البعض أكثر عرضة للإصابة من غيرهم فضلا عن إنَّ أي خلل في الجهاز البولي يعيق حركة مرور البول أو انسداده يزيد من قابلية الإصابة بسبب إنَّ ركود البول يوفر الفرصة للبكتريا للتكاثر. يشير التهاب المسالك البولية الى وجود الكائنات الحية الدقيقة في المسالك البولية على الرغم من إنَّه قد يكون من الصعب التمييز بين التلوث والاستعمار او العدوى (Verrier et al., 2000)، ويعد التهاب المسلك البولي من الالتهابات الشائعة في المجتمع ويصيب الفئات العمرية كلها فضلا عن اصابة كلا الجنسين ذكورا وإناثا (O'Hara et al., 2000) إن الإصابة بالتهاب المسالك البولية تختلف باختلاف العمر و الجنس و تكون أكثر حدوثا في الإناث مما هي عليه في الذكور في مختلف الأعمار عدا مرحلة الطفولة المبكرة (اقل من ثلاثة أشهر) حيث تكون نسبة حدوثها في الذكور اكثر مما هي عليه في الإناث و تكون هذه النسبة (3-5%) في الإناث و (1%) في الذكور (England et al., 2002). وإنَّ معظم التهابات المسالك البولية يكون سببها البكتريا السالبة لصبغة كرام مثل بكتريا القولون *E. coli*، المتقلبات *P. mirabilis* و *P. vulgaris* وإنواع من الكلبسيلا *Klebsiella spp*، الزائفة الزنجارية *Pseudomonas*، *Serratia aeruginosa*، *Acintobacter* و *Morganella morganii*، كذلك يحدث خمج

المسالك البولية بفعل البكتريا الموجبة لصبغة كرام ومن هذه البكتريا المكورات المعوية *Streptococcus agalacticae* و *Staphylococcus* المكورات العنقودية، *Enterococcus* (Tangho,2004). وأشارت الدراسات الى أنّ بكتريا *P. mirabilis* مسؤولة عن (11.85%) من اصابات المسالك البولية كما بين أنّ نسبة عزل هذه البكتريا كانت في النساء اعلى مما في الرجال . و يمكن إنّ يحدث الخمج في أي جزء من المسالك البولية :الكلية Kidney، الحالب Ureter ، المثانة Bladder ، والاحليل Urethra ، ويصنف بحسب موقع الإصابة الى التهاب حويض الكلى Pyelonephritis، التهاب المثانة Cystitis ، التهاب الاحليل Urethritis وعندما تكون هناك تشوهات تركيبية و وظيفية أو وجود اجسام غريبة مثل بقاء القسطرة البولي Urinary catheter لمدة طويلة أو وجود الحصى Stones فيعد الالتهاب معقدا (Masson et al.,2009).

وقد وجد إنّ *P. mirabilis* تفضل اصابة الجزء العلوي من المسلك البولي مما قد ينتج منه التهاب الكلية والحويض Pyelonephritis (Liaw et al.,2001)، ويصاحب هذا الالتهاب بعض الاعراض مثل الحمى ، والغثيان ، وألم في منطقة البطن ووجد إنّ 51 % من الاطفال المصابين بالتهاب الكلية والحويض يعانون من تلف الأنسجة الكلوية ، وتتراوح شدة التهاب المسالك البولية بين التهابات بكتيرية لا عرضية الى التهابات قاتلة حيث يعد التهاب المسالك البولية سببا مهما لحدوث إنتان الدم (Septicaemia) ومحدثا نسبة عالية من الوفيات ولاسيما عند المسنين حيث يعد من المسببات الرئيسية لتجرثم الدم (Bacteremia) بالبكتريا السالبة الكرام (Mathai et al.,2001).

وقد اثبت إنّ بكتريا *P.mirabilis* مسؤولة عن احداث التهاب المسالك البولية لا سيما في الافراد الذين يعانون من تغيرات تركيبية غير طبيعية في القناة البولية (Poore et al.,2001) . وتعتمد شدة الإصابة ومدتها على عوامل الضراوة التي تمتلكها البكتريا المسببة للمرض من ناحية ومن ناحية اخرى تعتمد على طبيعة الأجهزة الدفاعية لدى المضيف (Bass et al.,2003). ويعد التهاب المسالك البولية من اخطر العوامل التي تؤدي الى تطور القصور الكلوي (Elder et al.,2004).

إلى جانب التهاب المسالك البولية فهناك التهاب القناة التنفسية والحروق والجروح والاذنين والعينين والأنف والحنجرة التهاب القناة الهضمية (Thaler et al.,2000). و تبين حديثا دور بكتريا *P.mirbilis* بوصفها مسببا لمرض التهاب المفاصل الرثوي إذ لوحظ تكرار عزل البكتريا من ادرار الاشخاص المصابين بهذا المرض وأيضا ارتفاع في مستوى اعداد بكتريا *P.mirabilis* مما يؤكد دور البكتريا في تطور هذا المرض (Rashid et al.,2001). فضلا عن إصابات

أخرى تشترك بها هذه البكتيريا وهي التهاب السحايا لدى الأطفال حديثي الولادة (Neonatal Meningocephalitis) ، والتهاب العظام (Osteomyelitis)(O'Hara et al., 2009)

1-10-2-1 العائلة المعوية Enterobacteriaceae

تضم عائلة المعويات اجناس متعددة يصعب التمييز بينها تحت المجهر .عصيات سالبة بصبغة غرام ، متحركة او غير متحركة ، لتكون سبورات تبلغ حجمها من 3-5 مايكرون طولاً 0.5 – 0.7 مايكرون عرضها ، جميعها مخمرة لسكر الكلوكوز ، سالبة لاختبار الاوكسيديز مع بعض الشواذ موجبة لاختبار الكاتاليز ، وتختزل النترات NO_3 الى نترت NO_2 الموطن الطبيعي لها الامعاء الدقيقة للإنسان والحيوان حتى إن قسما منها مثل *E. Coli* تشكل البكتيريا الطبيعية للأمعاء في حين إن أنواعاً أخرى مثل الـ *Salmonella* والـ *Shigella* تعد مرضية خطرة للإنسان (Reidle et al.,2019) .

1-1-10-2-1 بكتريا *Klebsiella*

يعود جنس *Klebsiella* للعائلة المعوية Enterobacteriaceae وهي بكتريا سالبة لصبغة غرام وبشكل قضبان وغير متحركة لا هوائية إختيارية ذات محفظة Capsule تركيبها متعدد السكريات تجعل البكتريا مقاومة لآليات الجسم الدفاعية واهمها البلعمة Phagocytosis والتي تقوم بها خلايا الدم البيضاء (Polymorphonuclear Cells) داخل جسم المضيف؛ وكذلك عوامل المصل القاتلة، كما تحميها من المضادات الحيوية مما يجعل الإصابات المتسببة عنها صعبة المعالجة، لذا تكون بكتريا *Klebsiella pneumoniae* ذات ضراوة وإمراضية عالية (Obiamiwe, 2011).

تتواجد هذه البكتريا على الجلد والبلعوم والقناة الهضمية كما إن توأجدها في التربة والمياه جعلها موجودة في الفواكه والخضر وكونها ممرض إنتهازي Opportunistic pathogen فهي تسبب إصابات مختلفة لدى مرضى السكري ومرضى الرئة المزمنين من بكتريا *Klebsiella pneumoniae* المسببات للإصابات المنتقلة من المستشفيات (Baxamusu, 2011) Nosocomial Infections. وتنتشر الإصابات بهذا الجنس في مساحات واسعة في أوروبا الشرقية وشمال آسيا وأفريقيا الوسطى وأمريكا اللاتينية لذا فهي ذات إنتشار عالمي واسع. ولأهمية هذه الإصابات وخطورتها وضرورة معالجتها استعملت مجموعة كبيرة من المضادات الحيوية في علاجها منها مجموعة مضادات الأمينوكلايكوسايدات والكاربابينيمات والسيفالوسبورينات والكويبولونات (Sidjabat,2011). كما استعملت المضادات الحيوية خطأ لمعالجة الإصابات

الحادة المتسببة عن العزلات البكتيرية القادرة على تحليل طيف واسع من مضادات ذات البينالاکتام بما فيها البنسلينيات والسيفالوسبورينات والكاربابينيمات ومونوباکتام بسبب إنتاجها لإنزيمات Klebsiella pneumonia carbapenemases (Hirsch and Tam, 2010).

2-1-10-2-1 بكتريا *Proteus mirabilis*

توصف هذه البكتريا بإثها عصيات قصيرة سالبة لصبغة كرام، قطرها يتراوح من (0.1 - 0.3) مايكرومتر و طولها (0.6-0.6) مايكرومتر ومتحركة غير مكونة للسبورات كما إن هذه البكتريا مكونة للكبسولة وتحتوي على مخامل (Fimberiae) وكذلك تحتوي على الاسواط (Flagellae) ، سالبة لفحص الأوكسيديز، منتجة لإنزيم اليوريز، منتجة لغاز كبريتيد الهيدروجين H₂S عند نموها على وسط kligler iron agar وموجبة لفحص احمر المثل (Methyl red) وسالبة لفحص (Vogus Proskaur) وكذلك بأمكانها تكوين (Phenyl Pyruvic acid) عند تنميتها على وسط حاوي على (Phenylalanine) بالاعتماد على إنتاج إنزيم Phenylalanine deaminase (Greenwood et al.,2002) وتكون موجبة لفحص الكاتليز وأنواع بكتريا المتقلبات تعطي فحصا سالبا للأندول ماعدا النوع *P.vulgaris*، وتظهر مستعمرات بكتريا المتقلبات بلون اصفر باهت على وسط أكار ماكونكي لعدم تخمرها سكر اللاكتوز غير إنها تخمر كلا من سكر الكلوكوز والسكروز والكالاکتوز وتمتاز بكونها هوائية (Abbott, et (Corker, et al., 2000) ; al., 2007)

على الرغم من كون هذه البكتريا جزء من النبيت الطبيعي (Normal flora) في القناة المعوية مع باقي أنواع البكتيرية المعوية للأشخاص الاصحاء لكن من الممكن إن تؤدي الى اصابة الأفراد ضعيفي المناعة في الغالب عندما تنتقل اليهم (Kearns et al.,2010) ولكونها بكتريا إنتهازية (Opportunistic) لذا فهي تسبب كثيرا من الاصابات عند وجودها في غير موطنها الطبيعي كخمج المسالك البولية (Masson et al., 2009).

3-1-10-2-1 بكتريا الإشريكية القولونية *Escherichia coli*

تُوجد بكتريا الإشريكية القولونية *E.coli* في الطبيعة وهي عصيات سالبة لصبغة غرام تنتمي إلى عائلة المعوية Enterobacteriaceae وهي بكتريا متعايشة Commensals في أمعاء الإنسان والحيوان، كما توجد في التربة، والمياه، والمواد الغذائية، وتتحول إلى بكتريا انتهازية Opportumstic، وتسبب أمراضا للإنسان كالإسهال Diarrhea، والتهاب المجاري البولية، والتهاب السحايا Meningitis والتهاب الحويصلة الصفراوية (Guentzel, 2010).

تعد *E.coli* من المسببات المرضية الأكثر شيوعا والمسؤولة عن اكثر من 80% من عدوى المسالك البولية (Wojnicz, 2007). هذه البكتيريا هي المسؤولة عن 85% و 51% من عدوى المسالك البولية في المجتمع والمكتسبة بالمستشفى على التوالي (Su, et al., 2008) , سلالات *E.coli* تمتلك عوامل ضراوة متخصصة متضمنه Pilli بالمرضية البولية (UPEC) *E.coli* Uroepithelil cell التي تكون وسيلة ارتباطها بالخلايا الظهارية البولية ومقاومة الفعالية القاتلة للبكتيريا في مصل الإنسان ، أنتاج أنزيم الهيمولايسين Haemolysin، وزيادة كميات مستضد الكبسولة (Emody, et al., 2003).

إنّ سبب إمرضيه بكتريا *E.coli* يعود الى امتلاكها العديد من العوامل الضراوة منها احتواء الجدار الخلوي على شعيرات متعددة الدهون Lipopolysaccaride او المحفظة وتسمى ايضا بالمستضد (K) او (B) التي تكون غير ثابتة بالحرارة heat labile ويتداخل هذا المستضد مع مستضد اخر هو المستضد الجسمي (O) والذي يكون ثابت بالحرارة Thermo stabile كذلك تمتلك هذه الجرثومة الاهداب او المستضد (F) ثابت للحرارة ، ومن اهم العوامل الموجودة على سطح الخلية ، أنواع مختلفة من الزوائد يطلق عليها أعضاء الالتصاق , fimbriae التي لها دور في الالتصاق على سطح خلية العائل ، إلى جانب ذلك قد يكون لها وظائف اضافية اخرى ، منها غزو نسيج العائل (Emody, et al., 2003).

وقد حظيت دراسة أعضاء الالتصاق fimbriae بأهمية في العديد من الابحاث خاصة منذ عام 1998, لأدراك الباحثين لأهمية العلاقة بين اعضاء الالتصاق ، والقدرة المرضية . وجد إنّ هناك أنواع مختلفة من عوامل الالتصاق الـ fimbriae التي لها ارتباط قوي بإمرضيه *E.coli* للجهاز البولي ، مثل , P-fimbriae وفي دراسة جينية عن عضو الالتصاق G adhesine , إنّ تواعده بالخلايا البكتيرية عن طريق شفرة جينية، تتمثل في صورة مجموعة من جينات Prs او Pap وقد تمت هذه الدراسة على 257 عزلة من *E.coli* معزولة من أدرار مرضى مصابين بالتهاب مثانة حاد او متكرر بالبكتيريا (Kaczmarek, et al., 2012) كذلك سجلت أعضاء الالتصاق F1C fimbrial, S Fimbrial المتشابهة جينيا في *E.coli* الممرضة للجهاز البولي (Mladin, et al., 2009).

وفي دراسة جينية اخرى وجد إنّ هناك مجموعة من الجينات يطلق عليها (The pap gene cluster) هي المسؤولة عن امتلاك الخلايا البكتيرية للـ P-fimbriae وأن امتلاك السلالة البكتيرية لتلك الجينات كافي لتصبح السلالة اكثر قدرة على الإمراضية ، وكذلك أكثر سرعة في النمو . لذا فإن

التصاق الخلايا البكتيرية على الغشاء المخاطي للمثانة تعد خطوة حاسمة وخطيرة في أمراضية *E.coli* المسببة لمرض البول البكتيري، وأن امتلاك *E.coli* لأعضاء الالتصاق fimbriae شرط اساسي للتثبيت البكتيري في المجرى البولي للإنسان ولزيادة استجابة العائل للإصابة (Sakran, et al., 2003).

4-1-10-2-1 بكتيريا *Pseudomonas putida*

البكتيريا من جنس *Pseudomonas* تعيش في كل مكان في التربة والمياه وأسطح النباتات والإنسجة الحيوانية. ترجع هذه الظاهرة إلى قدرتها على التأسيس في مجالات مختلفة (Perkins, 2010)، وهي معروفة أساساً بتنوعها الأيضي العالى (Oberhardt, 2008). يشمل هذا النوع من البكتيريا طيفاً واسعاً من الإنزيمات الأيضية، مما يسمح للأنواع بالتكيف مع مختلف المجالات، بما في ذلك الموائل المرتبطة بالتربة والمياه (Wu, 2011).

تم عزل العديد من سلالات هذا النوع من المرضى الذين أصيبوا بعدوى في بيئات المستشفيات. تعد العدوى التي تسببها *P. putida* نادرة ويتم رصدها في الغالب في الأفراد الذين يعانون من ضعف المناعة، مثل أولئك الذين يعانون من neutropenia وحديثي الولادة ومرضى السرطان (Erol, 2014) تظهر معظم العزلات مقاومة لبعض المضادات الحيوية من خلال وجود البلازميدات الحاملة للجينات التي تشفر عوامل مقاومة المضادات الحيوية (Molina, 2014) والتي يمكن نقلها إلى كائنات دقيقة أخرى في بيئات المستشفيات (Yoshino, 2011).

2-10-2-1 عوامل الضراوة للعائلة المعوية

1-2-10-2-1 Curli specific gene (CsgA)

بروتين Curli هو نوع من ألياف الأميلويد التي تنتجها سلالات معينة من البكتيريا المعوية (Barnhart, 2006). من خصائص الأميلويد، إنّ ألياف الضفيرة مجمعات بروتينية عالية الثبات وغير قابلة للذوبان وذات وزن جزيئي مرتفع تعمل هذه على تعزيز سلوك المجتمع الخلوي من خلال تكوين الأغشية الحيوية (Chapman, 2002) تسمح هذه الأغشية الحيوية للبكتيريا السالبة بالاستعمار بشكل أفضل في بيئة معينة، مما يحميها من الجهد التأكسدي والجفاف فتسمح للبكتيريا البقاء على قيد الحياة في الظروف غير الملائمة، أظهرت Curli و الأغشية الحيوية الأخرى أنّها تقلل من الاستجابة المناعية للأفراد المصابين ومضادات الميكروبات (Van Gerven, 2015). ألياف Curli تشفر بواسطة عاملين، عامل csg BAC و csg DEFG (Tursi, 2018).

Fimbriae 2-2-10-2-1

عبارة عن هياكل بروتينية بوليمرية خيطية طويلة تقع على سطح الخلايا البكتيرية. تمتلك Fimbriae خصائص لاصقة وتتدخل في الالتصاق المحدد للخلايا البكتيرية ، على سبيل المثال ، الإنسجة المضيفة. تلعب هذه الخصائص اللاصقة دورًا مهمًا في استعمار إنسجة المضيف عن طريق ارتباط محدد بالمستقبلات الموجودة في أنواع معينة من الخلايا المضيفة. تحدد هذه الخصوصية أي كائن حي وأي نسيج معين تستعمره البكتيريا (Krogfelt, 1991).

تأتي كلمة "fimbriae" من الكلمة اللاتينية التي تعني "خيط" أو "ألياف". هذه العضيات اللاصقة غالبًا ما يشار إليها أيضًا باسم "pili" ، والتي تأتي من الكلمة اللاتينية التي تعني "شعر" أو "بنية شعرية". كلا المصطلحين قيد الاستعمال النشط ، على الرغم من إن مصطلح "fimbriae" يستخدم بشكل أكثر شيوعًا للإشارة إلى العضيات اللاصقة ، إلا إن المصطلح "pili" يتم الاحتفاظ به في الغالب في الملحقات الجنسية (Schmidt, 1994).

O-antigen (O-polysaccharide) 3-2-10-2-1

متعدد السكريات O ، وهو عبارة عن بوليمر مكون من عدد قليل من السكريات المتكررة ، يتراوح كل منها من 2 إلى 7 بقايا من مجموعة واسعة من السكريات ومشتقاتها (Merino, 2016) في كثير من الحالات ، يساهم مستضد O بشكل كبير في تنوع سطح الخلية في البكتيريا سالبة الجرام ، مما يوفر ميزة انتقائية في مكانه المحدد (Wang, 2010) وهو أيضًا عامل ضراوة رئيسي لمرتبطة بالإمراض البكتيري (Caboni, 2015) على وجه الخصوص ، يوفر الاختلاف الكبير في تكوين مستضد O أساسًا لأنظمة التمييز المصلي مع العديد من البكتيريا سالبة الجرام ، والتي تم التعرف عليها كأحد أهم مكونات الخلية في تصنيف السلالات ، وأداة أساسية مستخدمة في تحقيقات التفشي والمسح الوبائي (Qian, 2018).

تتجمع الجينات الرئيسية لتوليف مستضد O بشكل عام في موضع كروموسومي يرسم بين اثنين من الجينات ، وهما مجموعة جينات مستضد (O-AGC) O يتم تصنيف هذه الجينات بشكل عام إلى ثلاث فئات رئيسية: جينات تصنيع سلائف السكر النيوكليوتيدية للسكريات الخاصة بمتعدد السكريات المحدد ؛ جينات glycosyltransferase المرتبطة بتجمعات O-unit وهي محددة للسكريات المانحة والمستقبلية ، وتولد ارتباطًا محددًا بينها ؛ وجينات معالجة O-unit لانتقال الوحدة O والبلمرة (Liu, 2008).

Capsular polysaccharide k- antigen 4-2-10-2-1

هي هياكل موجودة على سطح الخلية لمجموعة واسعة من الأنواع البكتيرية. غالبًا ما تشكل الطبقة الخارجية للخلية ، وبالتالي فهي غالبًا ما تشارك في التوسط في التفاعلات المباشرة بين البكتيريا وبيئتها. بسبب هذه التفاعلات ، تم اعتبارها عوامل ضراوة مهمة للعديد من مسببات الأمراض البكتيرية. يمكن تصنيف السكريات البكتيرية خارج الخلية (EPS) على أنها متعدد السكريات المحفظي Capsular Polysaccharides CPS، حيث ترتبط السكريات ارتباطاً وثيقاً بسطح الخلية ، أو كمعدد سكريات لزجة ، حيث يرتبط السكر بشكل مباشر بالخلية . يصعب التمييز بين هذه الأشكال حيث يمكن إطلاق CPS من الخلية ، مما يعطي مظهر السكريات اللزجة (Roberts,1996).

السكريات المحفظية عبارة عن جزيئات عالية الترطيب تحتوي على أكثر من 95% ماء. غالبًا ما ترتبط بسطح الخلية للبكتيريا عن طريق المرفقات التساهمية إما لجزيئات الفسفوليبيد أو الدهون - أ ، على الرغم من أنّ بعض CPS قد ترتبط بالخلية في حالة عدم وجود مرسة غشائية. يمكن إنّ تكون متعدد السكريات الكبسولية إما بوليمرات متجانسة أو غير متجانسة مكونة من سكريات أحادية متكررة مرتبطة بروابط glycosidic linkages. قد تشارك مجموعات الهيدروكسيل المتعددة الموجودة داخل كل أحادي السكريات في تكوين الرابطة glycosidic linkages ، وبالتالي ، يمكن ضم أي سكرين أحاديين في عدد من التكوينات ، مما يؤدي إلى تنوع هيكلي كبير بين أنواع CPS (Whitfield,2013).

الفصل الثاني

المواد وطرائق العمل

Materials & Methodology

الفصل الثاني: المواد وطرائق العمل

1-2 الأجهزة والمواد المستعملة :

1-1-2 الأجهزة والأدوات المستعملة والشركات المصنعة لها:

تم عرض الأجهزة والأدوات في الجدول (1-2)

الجدول (1-2) الأجهزة المختبرية المستخدمة والشركات المصنعة لها

المنشأ	الشركة المصنعة	الأجهزة
China	Xinel	أنبوب EDTA
China	Als	أنبوب جل (Gel tube)
Germany	memmert	ثلاجة (Refrigerator)
USA	Biomerieux	جهاز VITEK 2
UK	Cleaver scientific	جهاز اظهار الدنا بواسطة الاشعة فوق البنفسجية (UV transilluminator)
USA	Multigene	جهاز التدوير الحراري (Thermo cycler apparatus)
Japan	Kokvsan	جهاز الطرد المركزي (Centrifuge)
Korea	Lab Tech	جهاز المزج ذي الصفيحة الساخنة (Magnetic Stirrer with hot plate)
Germany	Hermle Labnet	جهاز الطرد المركزي المبرد (Cooling centrifuge)
Germany	Memmert	حاضنة (Incubator)
Germany	Julabo	حمام مائي (Water bath)
USA	Biotek	قارئ الأليزا ELISA reader
Korea	Lab Tech	جهاز ماء مقطر (Water Distillator)

Italy	Roma MB	مازج (Vortex)
Germany	Humapette	الماصات الدقيقة (Micropipette) 100-1000 μ L
China	Dragonlab	الماصات الدقيقة (Micropipette) 0.5-10 μ L
China	Nikon	مجهر ضوئي (Microscope)
Belgium	Consort	مزود الطاقة (Power supply)
USA	Genex	مؤسدة (Autoclave)
Germany	Sartorius	ميزان حساس (Sensitive Balance)
Jeio	Tech/Korea	هود بايلوجي (Laminar flow) (cabinet)
UK	Cleaver Scientific	وحدة الترحيل الكهربائي (Gel Electrophoresis)

2-1-2 المواد ذات الاستعمال الواحد والشركات المصنعة لها :

الجدول 2-2: المواد ذات الاستعمال الواحد

المنشأة	الشركة المصنعة	اسم المادة
Jordan	Afco-Dipo	اطباق بلاستيكية (Petri dishes)
England	Sigma	إتابيب ابندروف (Eppendorf tubes)
Jordan	Afco-Dipo	إتابيب مختبرية (tubes) حجم 10مل
England	Sterellin Ltd	رأس الممص Tips
China	Sail Brand	شريحة زجاجية (slides)
China	Sail Brand	غطاء شريحة زجاجية Cover (slides)
England	BDH	Parafilm فيلم بارافين بلاستيكي
China	HDA	قطن طبي (Cotton)
Malaysia	Broche	قفازات مطاطية (Latex Gloves)
Jordan	Afco-Dipo	محاقن معقمة (Sterilized needles)
Jordan	Afco-Dipo	مسحات قطنية معقمة (swabs Sterilized cotton)

3-1-2 المواد الكيميائية و البيولوجية:

المواد الكيميائية والبيولوجية المستخدمة في هذه الدراسة ومنشئها مبينة في الجدول (3-2).

جدول (3-2) المواد الكيميائية و البيولوجية

المنشأ	اسم الشركة	المواد
Korea	Intron	الاكاروز (Agarose)
Netherland	J.T.Baker	ايثانول مطلق (C ₂ H ₅ OH) (Absolute ethanol)
Korea	Primer	بادئ (csgA) Primer
كندا	Bio-Basic	البروموفينول الأزرق
South Korea	Intron	سلم الدنا DNA Ladder (100-1500 pb)
Korea	Intron	صبغة Red safe
England	Bioblabs	صبغة تحميل (DNA Loading dye)
Oman	AFCO	صبغة غرام (Gram stain)
Korea	Favorgen	عدة استخلاص الدنا
India	CDH	كليسيرول (Glycerol)
Canada	Bio basic	لايزوزيم Lysozyme
USA	Promega	Green master mex ماستر مكس
Canada	Bio basic	محلول المنظم (Tris-Borate EDTA buffe)

4-1-2 الأوساط الزرعية

الأوساط الزرعية المستخدمة في هذه الدراسة ومنشؤها موضحة في الجدول (4-2).

جدول (4-2): الأوساط الزرعية

المنشأ	الشركة المصنعة	الأوساط الزرعية
France	Biotech	وسط أكار الدم
France	Biotech	وسط أكار الماكونكي
India	Humedia	وسط منقوع القلب والدماغ السائل

5-1-2 عدة إنترلوكين إيزا (Elabscience/Usa) Interleukin ELISA Kits

جدول (5-2): مكونات عدة إنترلوكين الأليزا

الخزن	التفاصيل	العنصر
8-2م	6مل	محلول الكروموجين A (Chromogen Solution A)
8-2م	6مل	محلول الكروموجين B (Chromogen Solution B)
8-2م	6مل	محلول توقف (Stop Solution)
R.T	2 صحيفة	غشاء لوحة الأغلاق (Closure plate) (membrane)
8-2م	6مل	كاشف HRP المتقارن (HRP-Conjugate reagent)
8-2م	1 صحيفة	Micro ELISA Stripplate
8-2م	6مل	عينة مخففة (Sample diluent)

R.T	1	أكياس مختومة (Sealed bags)
8-2 م	1.5 مل	مخفف القياسي (Standard diluent)
8-2 م	0.5 مل	المحلول القياسي (Stander)
R.T	1	دليل الاستعمال (User manual)
8-2 م	20 مل (30X)	محلول غسل (wash solution)

6-1-2 البوادئ

تم تصنيع البوادئ المستخدمة في هذه الدراسة بواسطة intron (كوريا).

يتم إعطاء الاسم والتسلسل وحجم المنتج في الجدول (6-2).

جدول (6-2) اسم الجين وتسلسل وحجم المنتج من المواد الأولية المستخدمة في هذه الدراسة

المصدر	حجم المنتج (bp)	تسلسل البادئ	اسم البادئ	الجين
(Silva <i>etal.</i> , 2013).	178 bp	ATCTGACCCAACGTGGCTTCG	Forward	CsgA
		GATGAGCGGTCGCGTTGT	Reverse	
		TACC		

7-1-2 عدة إستخلاص الحمض النووي

عدة(سيجما)/البكتيريا الجينومية DNA GenElute ، الولايات المتحدة الأمريكية) تتألف من الكواشف التالية :

جدول(7-2):مكونات عدة الأستخلاص DNA من البكتيريا

الكمية	الكوشف	الخرن
20مل	كاشف تحلل موجبة غرام Gram (positive lysis Solution)	Room temperature
20مل	كاشف تحلل T (Lysis solution T)	
20مل	محلول تحلل C (Lysis solution c)	
50مل	محلول غسل 1 (Wash solution 1)	
20مل	محلول غسل مركز (Wash solution Concentrate)	
35مل	محلول شطف (Elution solution)	
	(10 mM Tris-Hcl, 0.5 mM EDTA, PH 9.0)	
60مل	كاشف تحضير العمود (Column preparation Solution)	
3x10ملغم	إنزيم بروتينيز K (Proteinase K)	
1.7مل	كاشف RNase A	

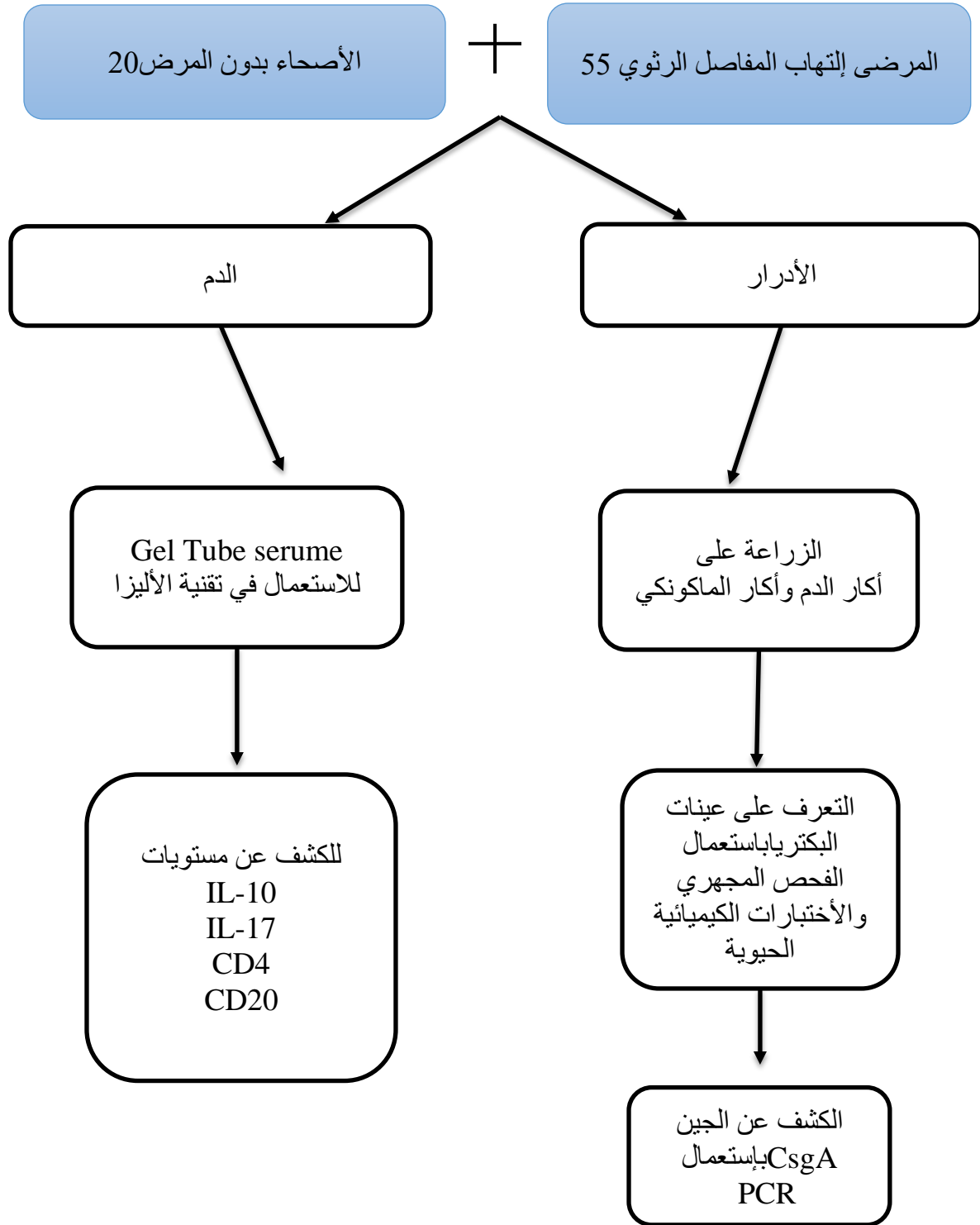
	70	أعمدة ربط الحمض النووي في الأنبوب GenElute Nucleic Acid Binding columns in tube
	كل 70×3	إنابيب تجميع سعة 0.2 لتر capacity Collection tubes

8-1-2 مكونات مزيج ماستر مكس (Bio-lab) / PCR Master Mix / إنجلترا

جدول (8-2): مكونات مزيج ماستر مكس Master Mix المستخدم في تفاعل البلمرة المتسلسل

العنصر	الخزن
Taq DNA polymerase	-20 °C
DNTP (mixture)	
Reaction buffer	
Loading dye and stabilizer	

9-1-2 تصميم التجربة



2-2 طرق العمل Methods

1-2-2 جمع العينات Sample collection

جمعت العينات من مستشفى الإمام الحسين (عليه السلام) التعليمية ومستشفى الزهراء في كربلاء. خلال المدة من كانون الأول 2020 إلى نيسان 2021 ويوضح الاستبيان في ملاحق الرسالة، والعينات شملت عينات دم وإدرار من مرضى التهاب المفاصل الرثوي والأصحاء وبأعمار من (19-81) وتم إستبعاد ممن لديهم أمراض مزمنة وأمراض أخرى والمدخنين في عينات الأصحاء.

1-1-2-2 عينات الدم

1- تم أخذ 5 مل من الدم الوريدي من كل مريض باستعمال محاقن معقمة

2- تم وضع 2 مل من عينة الدم من المرضى والأصحاء أنبوب جل تيوب لتقدير مستويات

IL10,IL17,CD20,CD4

3- تم وضع 3 مل من عينات الدم في أنبوب هلامي وتركت لمدة 20 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة لتتجلط ، ثم تم طرد الأنبوب عند 3000 دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق لتجميع المصل ، وتم تخزين المصل في الثلجة (التجميد) عند درجة-20 لحين الاستعمال.

2-1-2-2 عينات الإدرار

تم جمع (3-5) مل من الإدرار في إنابيب معقمة من كل مريض، ثم زرع العينة على وسط أكار الدم ووسط أكار الماكونكي عن طريق وضع خطوط باستعمال حلقة معقمة وحضانتها مدة 24 ساعة عند 37 درجة مئوية. بعد الحضانة تم عزل البكتريا اعتماداً على الخصائص المجهرية والزرعية ثم التعرف على البكتريا بواسطة نظام فايتك vitek.

في الدراسة الحالية ، تم إجراء نوعين من القياس للمقارنة بين الأفراد الأصحاء والأفراد المصابين بالتهاب المفاصل الرثوي ، وأيضاً بين المرضى أنفسهم ، حيث تم تقسيم المرضى إلى مجموعتين بناءً على نتيجة الزرع (مصاب وغير مصاب).

2-2-2 تحضير الوسط الزراعي

تم عرض جميع الوسائط في الجدول (2-4) والتي تم تحضيرها حسب تعليمات الشركة المصنعة تم إذابة المكونات في الماء المقطر. تم استعمال فرن الميكروويف لإذابة جميع المكونات تمامًا. تم تعقيم الوسائط عن طريق التعقيم عند 121 درجة مئوية ، وأطباق بتري في حالة وسائط الأجار وفي إنابيب لولبية معقمة في حالة وسائط المرق داخل الغطاء الرقائقي. تم تحضير الوسائط عند 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة لضمان التعقيم (Mac Faddin,2000).

3-2-2 تحديد البكتيريا

1-3-2-2 التعريف المظهري والمجهري

تمت دراسة الخصائص المظهرية للبكتيريا من حيث الشكل واللون والتناسق وتم تنقية مستعمرة واحدة للتشخيص المجهري باستعمال المجهر الضوئي بعد صبغها بصبغة غرام ، وذلك للتعرف على أشكال الخلايا والعناقيد.

2-3-2-2 الاختبارات الكيمياء الحيوية

تم إجراء اختبار الكيمياء الحيوية لتحديد البكتيريا وفقاً لـ (Pelczar et al., 1986؛ Shields et al., 2010)

- 1- إختبار الكاتليز (catalase test): اجري هذا الاختبار بمزج مستعمرة بكتيرية بعمر من (18-24) ساعة مع قطرة كاشف بيروكسيد الهيدروجين 3% على شريحة زجاجة نظيفة . ان ظهور الفقاعات دليل على ايجابية الفحص
- 2- إختبار الأوكسيديز (Oxidase test) : تم نقل مستعمرة بكتيرية بعمر (18-24) ساعة بواسطة عود خشبي معقم (stick) الى ورقة ترشيح واضيف لها قطرة من كاشف الاوكسيديز ، مع الاحتكام الى ان تحول لون المستعمرة الى اللون البنفسجي الغامق دليل على ايجابية الفحص.

3-3-2-2 التعرف على البكتيريا باستعمال نظام Vitek-2 المضغوط

تم تحضير المعلق البكتيري وفقاً لتوصية الشركة المصنعة. تم جمع عدد كافٍ من المستعمرات من مزارع نقية منماة لمدة 24 ساعة، تم نقلها وتعليقها في 3 مل من محلول ملحي معقم في إنبوب اختبار شفاف (بوليسترين) 12×75 مم. تم تعديل العكورة إلى 0.5 مكفرلاند. باستعمال مقياس العكرة المسمى Densi-chek. تم استعمال نفس التعليق في GN-ID مع نظام مضغوط Vitek-2. أخيراً ، تم تحميل كاسيت GN-ID إلى غرفة Vitek-2 مع إنابيب عالق العينة (Karagoz *et al.*, 2015).

4-2-2 استخلاص الحمض النووي

تم استخلاص الحمض النووي الكروموسومي من الزرع الفتى النوى في وسط سائل الدماغ عند 37 درجة مئوية ، باستعمال عدة استخلاص DNA الجينومي GenElute Bacterial Sigma-USA.

1-4-2-2 طريقة استخلاص الحمض النووي

1. تم تنمية عزلات من جميع أنواع البكتيريا المعزولة في وسط المغذي السائل Nutrient Broth لمدة 20 ساعة بدرجة حرارة 37 م° ثم سحب 1.5 مل من المزروع البكتيري النامي ووزع في إنابيب ابندروف .
2. أُجريت عملية طرد مركزي للمزروع البكتيري بسرعة 13000 (دورة/ دقيقة) لمدة دقيقة واحدة لترسيب الخلايا إذ أُزيل الجزء الرائق منها ، ثم عُلقَت الخلايا بعدها في 200 µl من محلول FATG ثم مُزجت جيداً و تُركت لخمس دقائق بدرجة حرارة الغرفة.
3. أُضيف 200 µl من محلول FABG إلى معلق الخلايا ثم مُزجت جيداً أعقب ذلك حضن المزيج بدرجة حرارة 70 م° لمدة عشر دقائق في الحمام المائي من اجل تحلل الخلايا .

4. أضيف 5 مايكروليتر من إنزيم RNase الى معلق الخلايا ثم مزج جيدا لمدة خمس دقائق لتحطيم جزيئات الحمض النووي الرايبي RNA
5. أضيف 200 µl من الإيثانول المطلق ثم مُزجت جيدا هذا من جهة، و
6. من جهة أخرى تم وضع أنبوبة الحاوية على الفلتر FABG Column داخل أنبوبة جمع (Collection tube) ثم تم سكب العالق البكتيري مع الاضافات السابقة داخل أنبوبة الفلتر و أُجريت عملية طرد مركزي لمعلق الخلايا بسرعة 13000 (دورة/دقيقة) لمدة 30 ثانية إذ أُزيل الرائق المتجمع في أنبوبة الغسل وبقي DNA الخلايا البكتيرية مع رواسب اخرى عالقة في الفلتر .
7. أضيف 600 µl من محلول الغسل W1 ثم أُجريت عملية طرد مركزي لمدة 30 ثانية وتم التخلص من الراشح.
8. ضيف 400 µl من محلول الغسل الثاني Wash buffer المضاف له الإيثانول المطلق، أعقب ذلك إجراء طرد مركزي للمزيج بسرعة 13000 (دورة/ دقيقة) لمدة 30 ثانية .
9. تم وضع أنبوبة الفلتر داخل أنبوبة بندروف جديدة وتم التخلص من أنبوبة الغسل ثم أُضيف 100 µl من محلول Elution المسخن سابقا في الحمام المائي بدرجة 70 م لعدة دقائق الى أنبوبة الفلتر وتركت لدقائق قليلة من اجل اعطاء الوقت اللازم لفك ارتباط DNA الخلية البكتيرية من الفلتر.
10. أُجريت عملية طرد مركزي لعدة دقائق اذ تم التخلص من أنبوبة الفلتر وتم الاحتفاظ بأنبوبة الابندروف الحاوية على DNA وخرن بعدها بدرجة حرارة -20 م ° لحين الاستعمال .

2-4-2-2 الكشف عن جين CsgA باستعمال تفاعل البلمرة المتسلسل (Polymerase chain reaction PCR):

A-تحضير محلول البادئ الخزين (Stock Primers) :

حُضِرَ محلول البوادئ حسب تعليمات الشركة المجهزة للحصول على تركيز نهائي $100\text{picomoles}/\mu\text{l}$. ثم حفظ بدرجة حرارة -20 م° لحين الاستعمال.

B- إجراء تفاعل البلمرة (PCR Assay):

تم تحضير محلول كل بادئ وبشكل منفصل بتركيز 10 بيكو مول/مايكرو ليتر، وذلك بإضافة 10 مايكرو ليتر من المحلول الخزين لكل بادئ كلا على انفراد إلى 90 مايكرو ليتر من الماء المقطر الايوني (free nuclease water)، ومُزج جيداً وحُفظ في الثلج لحين الاستعمال في حين حُفظت المحاليل الخزينة للبوادئ في درجة -20 م°.

تم اضافة المواد الاتية لكل أنبوبة من إنابيب PCR حسب الجدول(2-9)

الجدول (2-9):المواد المضافة إلى إنابيب PCR المستعمل في تفاعل البلمرة المتسلسل للجين Csg A

المكونات	التركيز	الكمية(مايكرو ليتر)
عينة DNA (DNA sample)	-	3
البادئ F (Primer F)	10 $\mu\text{M}/\mu\text{l}$	1
البادئ R (PrimerR)	10 $\mu\text{M}/\mu\text{l}$	1
ماء منزوع الأيونات (Nuclease free water)	-	7.5
ماستر مكس (Master Mix)	-	12.5
حجم الكلي (Total volume)	-	25

تم برمجة جهاز الـ PCR كما في الجدول الاتي:

الجدول (10-2):أوضاع التضخيم في جهاز تفاعل البلمرة المتسلسل المستعمل في هذه الدراسة للجين *csG A*

الخطوة	العملية
1	دورة واحدة لمدة 2 دقيقة عند درجة حرارة 94 °م للمسخ الأولي لـ DNA القالب .
	30 دورة تضمنت :
2	A 20 ثانية عند درجة حرارة 94 °م لمسح DNA القالب .
	B 20 ثانية عند درجة حرارة 62.6 °م لارتباط البوادي لـ DNA القالب .
	C 30 ثانية عند درجة حرارة 72 °م لاستطالة البوادي المرتبطة .
3	دورة واحدة لمدة (5) دقائق عند درجة حرارة 72 °م للاستطالة النهائية لشريط لـ DNA المتضاعف .

3-4-2-2 الترحيل الكهربائي في الهلام (Gel Electrophoresis) :

• صبغة Red safe : استعملت بالهيئة المجهزة بها من شركة Intron Biotechnology.

• تحضير 0.5 X TBE buffer :

تمت اضافة 950 مليلتر من الماء المقطر الى 50مليلتر من TBE buffer بتركيز(10X) بحسب تعليمات الشركة المجهزة لتحضير 0.5X.

4-4-2-2 تحضير هلام الأكاروز بتركيز 0.8% :

تم وضع مشط التشكيل الجيد في موضعه على صينية الصب. تم إغلاق الأطراف المفتوحة لصينية الصب ببوابات متحركة. تركيز الأكاروز المذاب 0.8% ، مزود بـ 0.5 ملم من صبغة حمراء آمنة ، وصب في صينية الصب حتى أحاط الأكار بالأسنان. كانّ الجل صلّبًا لمدة 20 دقيقة تقريبًا. وبعدها ، تمت إزالة المشط بعناية ثم خفض ببوابات النهاية.

تمتلئ غرفة العازلة بمخزن 0.5 X TBE. تمت إضافة المخزن المؤقت لتغطية الجل. تم وضع الجل في غرفة عازلة.

تم ملء الحفر بعينات 10 ميكرو لتر مع 2 مل من محلول التخميل ليتم اختبارها وسلم الحمض النووي كعلامة حجم بالتوازي مع العينة. تم إغلاق الغطاء وتطبيق الجهد (70 فولت) لمدة 20 دقيقة (للحمض النووي الجيني) و 30 دقيقة (لمنتج PCR). تم إيقاف الطاقة عندما كانت صبغة البروموفينول الزرقاء تبعد 5 سم عن الهلام (Sambrook *et al.*, 1989).

تم تصوير هلام Agarose في جهاز transilluminator للأشعة فوق البنفسجية مزود بوحدات هلامية حتى تم وضع هلام agarose فوق جهاز transilluminator فوق الأشعة فوق البنفسجية ، ثم تم تعريض الجل للأشعة فوق البنفسجية 254 نانومتر ، ثم تم التقاط صورة .

5-2-2 بروتوكولات الفحص المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA) للإنترلوكينات و CD

:markers

للكشف عن IL-10 و IL-17 و CD4 و CD20 في عينات المصل ، تم استعمال عدة الأليزا البشرية المتاحة تجارياً.

1. محلول التخفيف : يخفف المحلول القياسي بإنابيب صغيرة أولاً ، ثم ماصة بحجم 50 مايكرو لتر من كل إنبوب من الصفيحة المعدنية جيداً ، كل إنبوب يستخدم حفرين ، إجمالي عشرة حفر
2. في لوحة Microelisa ، نترك حفراً فارغاً كعنصر تحكم فارغ. في عينات الحفر ، 40 ميكرو لتر. تمت إضافة عينة المحلول المنظم للتخفيف وعينة 10 مايكرو لتر (عامل التخفيف هو 5). يتم تحميل العينات على القاع دون لمس جدار الحفر. تخلط جيداً مع الهز الخفيف
3. الحضانة: حضانة 30 دقيقة عند 37 °C بعد مختومة بغشاء لوحة الإغلاق.
4. التخفيف: نخفف منظف الغسيل المركز بالماء المقطر (30 مرة لـ 96 و 20 مرة لـ 48).
5. الغسيل: ننزع بعناية غشاء لوحة الإغلاق ، ونضع وتعد تعبئته بمحلول الغسيل. نتخلص من محلول الغسيل بعد الراحة لمدة 30 ثانية. كرر عملية الغسيل 5 مرات.
6. نصف 50 ميكرو لتر من كاشف HRP-Conjugate لكل حفر باستثناء حفر التحكم الفارغ.
7. الحضانة كما هو موضح في الخطوة 3.
8. الغسل كما هو موضح في الخطوة 5.

9. التلوين: نصف 50 ميكرو لتر من محلول الكروموجين A و 50 ميكرو لتر من محلول الكروموجين B لكل حفر، نخلطها مع الهز برفق ويتم حضنها عند 37 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة. ويجب إن نتجنب الضوء أثناء التلوين.
10. الإنهاء: نضيف 50 ميكرو لتر من محلول التوقف لكل حفر لإنهاء التفاعل. يجب إن يتغير لون الحفر من الأزرق إلى الأصفر.
11. نقرأ الامتصاصية O.D. عند 450 نانومتر باستخدام قارئ لوحة ميكرو ليدر. يتم تعيين قيمة OD لحفر التحكم الفارغة على إنها صفر. ويتم إجراء الفحص في غضون 15 دقيقة بعد نهاية التوقف.

3-2 التحليل الإحصائي

تم إجراء التحليل الإحصائي باستخدام الحزمة الإحصائية البرمجية للعلوم الاجتماعية (SPSS ، الإصدار 22). تم عرض النتائج بشكل (المعدل ± خطأ معياري) (Mean ± S.E). إجراء التحليل الإحصائي لمعرفة الفروقات التي تصل الى المستوى الجوهري باستخدام اختبار T للعينة المستقلة. تمت الإشارة إلى مستويات الاحتمال على النحو التالي (* تعني $P < 0.01$ ، ** تعني $P < 0.001$ و *** تعني $P < 0.0001$) (Newman et al., 1997).

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

Results & Discussion

الفصل الثالث: النتائج والمناقشة (Results and Discussion)

1-3 توزيع مجاميع العينات حسب الجنس والعمر

تم الحصول على 75 عينة (دم وإدرار)، 55 عينة مرضى بالتهاب المفاصل الرثوي بعد تشخيصهم من قبل الطبيب المختص ، 20 عينة لأشخاص الأصحاء في الدراسة الحالية لكلا الجنسين كما في الجدول (1-3).

جدول 1-3: توزيع العينات إلى مجاميع حسب الجنس

الجنس		عدد العينات	المجموعة
الذكر	الأنثى		
7	13	20	أصحاء
1	22	23	مجموعة A
6	26	32	مجموعة B
14	61	75	المجموع

قسمت عينات المرضى إلى مجموعتين اعتمادا على نتائج الزرع (وجود نمو أو عدم وجود نمو) بالأوساط الزرعية ، مجموعة A مرضى مع إصابة بكتيرية ، مجموعة B مرضى بدون إصابة بكتيرية حسب الجدول (2-3)

جدول 2-3: توزيع العينات إلى مجاميع حسب الفئات العمرية

الفئات العمرية			عدد العينات	المجاميع
(81-61)	(60-40)	(39-19)		
2	7	11	20	أصحاء
5	12	6	23	مجموعة A
6	20	6	32	مجموعة B
13	39	23	75	المجموع

2-3 الكشف عن البكتريا

1-2-3 تشخيص عزلات البكتيريا باستعمال Vitek-2

تم التعرف على العزلة البكتيرية بواسطة نظام آلي مدمج مع بطاقة GN/ID مع 64 اختباراً كيميائياً حيويًا تم تحديد النتائج بعد 2-8 ساعات (الملاحق I) حسب الجدول 3-3

جدول 3-3 : نوع البكتريا وعدد العزلات

النسبة المئوية%	عدد العزلات	نوع البكتريا
26.08%	6	<i>Escherichia coli</i>
4.34%	1	<i>Klebsiella pneumonia</i>
4.34%	1	<i>Proteus mirabilis</i>
21.74%	5	<i>Pseudomonas putida</i>
4.34%	1	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
4.34%	1	<i>Acinetobacter baumannii</i>
17.4%	4	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
17.4%	4	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
99.9%	23	المجموع

في الدراسة الحالية 73.33% من مرضى التهاب المفاصل الرثوي {المرضى مع إصابة بكتيرية (مجموعة A) ومرضى بدون إصابة بكتيرية (مجموعة B) } لوحظ الأشخاص لديهم التهاب المسالك البولية وزعت كالآتي:

إنّ نسبة *Escherichia coli* (6) 26.08% ، نسبة *Klebsiella pneumonia* (1) 4.34% ، نسبة *Proteus mirabilis* (1) 4.34% ، نسبة *Pseudomonas putida* (5) 21.74% ، *Pseudomonas fluorescens* (1) 4.34% ، *Acinetobacter baumannii* (1) 4.34% ، *Staphylococcus haemolyticus* (4) 17.4% ، *Staphylococcus epidermidis* (4) 17.4% .

تعد التهابات المسالك البولية من أكثر أنواع العدوى البكتيرية شيوعاً في المجتمع والمستشفيات في الأفراد الذين لا يعانون من تشوهات تشريحية أو وظيفية، تكون عدوى المسالك

البولية محدودة بشكل عام، ولكنها تميل إلى التكرار وتعد *Escherichia coli* من أخطر أنواع البكتيريا التي تسبب مثل هذه الحالات (Foxman 2010, Bien; Sokolova *et al.*, 2012; Manges 2016) والتي اتفقت مع ما سجلت في الدراسة الحالية ونسبة كبيرة من المصابين بهذه البكتيريا والتي شكلت النسبة الأكبر حسب نتائج الدراسة الحالية مقارنة مع أنواع البكتيريا الأخرى التي شكلت النسبة الأقل. وهذه الإصابات كانت مرافقة إلى مرض التهاب المفاصل الرثوي في كثير من الحالات حيث إن المصابين بمرضى التهاب المفاصل كانوا يعانون من الإصابات البكتيرية ومنه بكتيريا *Escherichia coli* كما في نتائج هذه الدراسة والتي اكدت من قبل دراسات أخرى (Jacobsen, Stickler *et al.*, 2008; Ebringer and Rashid 2014).

كما اظهرت إصابات بكتيرية واضحة مع مرض التهاب المفاصل مثل *Escherichia coli* وبكتيريا *Proteus mirabilis* كما أظهرت دراسة (Wilson, Thakore *et al.* 1997) اكدت إن هناك استجابة مناعية كبيرة ل بكتيريا *Proteus mirabilis* بالرغم إن الدراسة الحالية إن نسبتها في الإصابة كانت اقل من حيث عدد الحالات وهذا يؤكد إمراضيتها الكبيرة مقارنة مع الأنواع الأخرى.

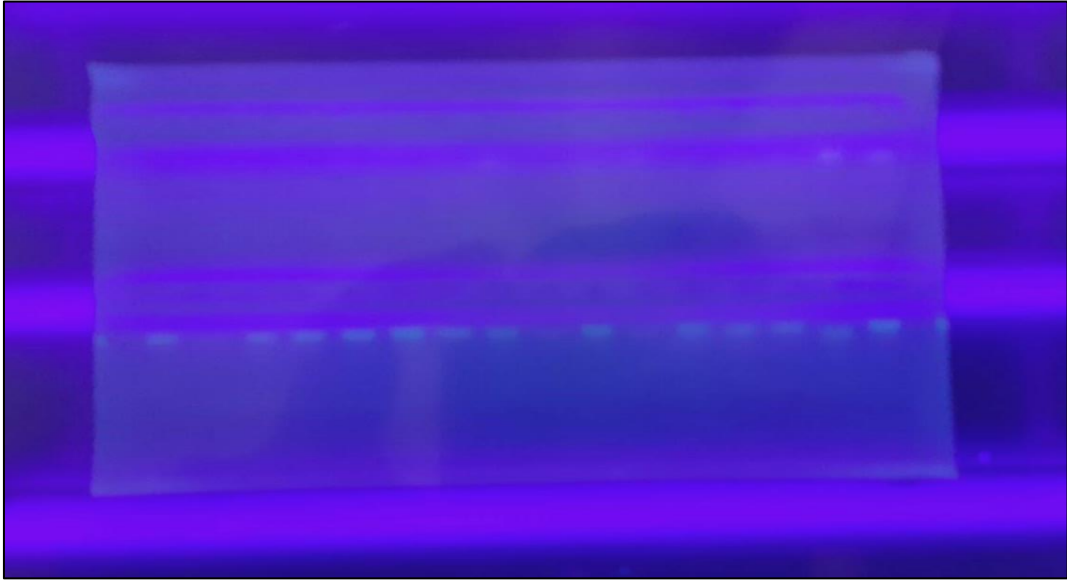
إن نسبة الإصابة ببكتيريا *Pseudomonas putida* 4.34% و كانت *Pseudomonas fluorescens* 21.74% لدى بعض المصابين بمرض التهاب المفاصل الرثوي في هذه الدراسة والتي اتفقت مع دراسات أخرى في عزل هذه البكتيريا (Madhavan, Fishr *et al.* 1973; Cuchacovich, Japa *et al.*, 2002)

كذلك بينت الدراسة الحالية إن هناك أنواع أخرى من البكتيريا كانت مرافقة لمرضى التهاب المفاصل الرثوي شملت *Acinetobacter baumannii* 4.34% ، *Staphylococcus haemolyticus* 17.4% ، *Staphylococcus epidermidis* 17.4% وهذه البكتيريا المرضية سجلت في كثير من المرضى الذين يعانون من مرض التهاب المفاصل الرثوي (Rogers, Fey *et al.* 2009; Rupp and Fey 2010; Lola, Levidiotou *et al.*, 2011; Xie and Lin 2022) وأنواع أخرى لم تسجل في الدراسة الحالية ربما يعود السبب إلى المستوى الثقافي والاجتماعي للعينة المدروسة أو اختلاف العادات الغذائية للعينة الحالية مقارنة بعينات الدراسات السابقة.

2-2-3 الكشف الجيني باستعمال تفاعل البلمرة المتسلسل PCR

• استخلاص الحامض الرايبوزي منقوص الأوكسجين

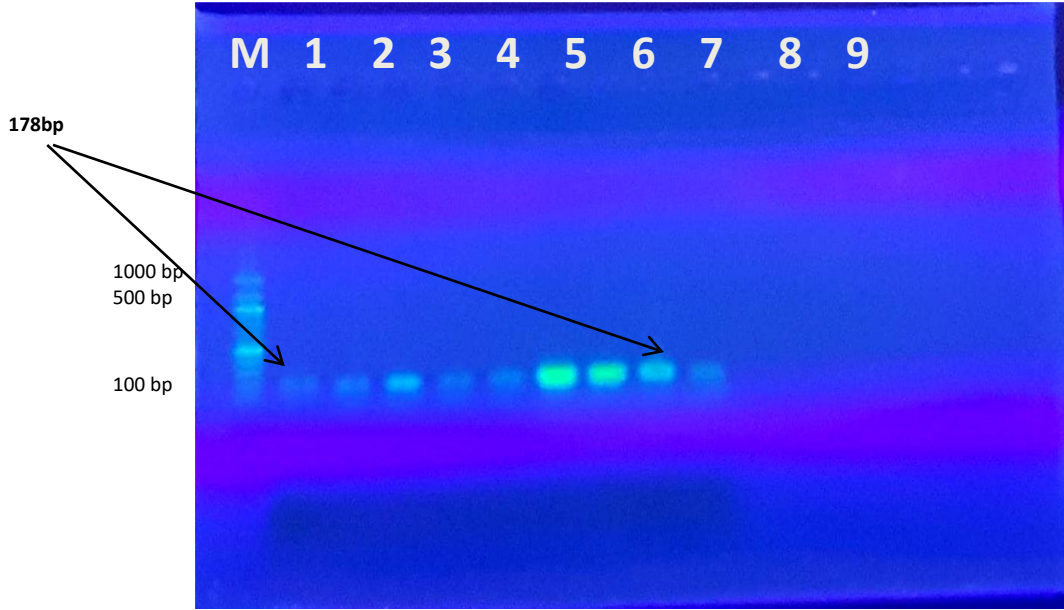
بعد استخلاص DNA بواسطة Favorgen Biotech Corporation ,Taiwan (Genomic DNA Mini Kit) تم إجراء الترحيل الكهربائي للهلام لتأكيد نقاوة الحمض النووي المستخلص. يوضح الشكل (1-3) ظهور حزم واضحة ل DNA المستخلص مما يؤكد نقاوته.



الشكل 1-3: الترحيل الكهربائي لنتائج الدنا المستخلص من العزلات قيد الدراسة في 0.8 % اكاروز وفرق جهد 70 فولت لمدة نصف ساعة

• الكشف عن الجين *csgA*

أظهرت الدراسة الحالية إن جميع العزلات البكتيرية المرضية التي تم عزلها من المجموعة A لمرضى إلتهاب المفاصل الرثوي تمتلك الجين *csgA* بالاعتماد على نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل للجين حيث بلغ حجم الناتج ما يقارب 178 bp كما في الشكل (2-3).



الشكل 3-2: الترحيل الكهربائي لنتائج تفاعل البلمرة المتسلسل للجين *csg A* (178 زوج قاعدي) لجميع عزلات البكتيريا في 0.8 % اكاروز وفرق جهد 70 فولت لساعة واحدة، المسار M يمثل الدليل الحجمي (100-1500 زوج قاعدي) المسارات 1-9 تمثل عزلات البكتيريا التي تملك جين *csg A* المسار 10 يمثل الأصحاء السالبة .

وقد اكدت الدراسة الحالية إن نتيجة PCR لجميع العزلات البكتيرية المرضية كانت موجبة علما إن الجين *csgA* يمتلك قابلية التشفير لبروتين يساعد البكتيريا في تجاوز الدفاع المناعي ويسبب الالتهاب ومن المثير للاهتمام إن الخلايا المناعية المتعددة مثل البلاعم والخلايا التائية تستجيب عن طريق تنظيم السيتوكينات المنشطة للالتهاب بما في ذلك IL-6، IL-23، IL-17، IL-22 عندما تعبر الخلايا الملتفة الحاجز الظهاري (Nishimori *et al.*, 2012).

هناك العديد من الدراسات السابقة التي اثبتت إن الجين *csgA* يقوم بتشفير *curlin* وهو بروتين الوحدة الفرعية الرئيسي لـ *curli* وهو عبارة عن هياكل سطحية ملفوفة رفيعة تشارك به البكتيريا المرضية في إصابة السطح للخلايا النسجية او الأعضاء، وتشكيل الأغشية الحيوية، والارتباط البكتيري بمجموعة متنوعة من التجمعات خارج الخلية وبروتينات المصل (Olsén, Arnqvist *et al.*, 1993; Sharma *et al.*, 2016)

لقد اثبتت الدراسة الحالية إن جين *csgA* قد شخص في البكتيريا المرضية *E. coli* وبحجم 178bp والتي اثبتت في دراسات أخرى لنفس البكتيريا (Hammar, Arnqvist *et al.*, 1995, Sharma, Bearson *et al.*, 2010) كذلك لوحظ إن الجين *csgA* شخص في البكتيريا *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas putida*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus*

و هذا الجين مسؤول بصورة كبيرة عن زيادة إمرضيه البكتريا بعد التثبيت على الخلايا الظهارية او العضو المصاب لجسم الإنسان او الحيوان، وهذا الجين ثبت في هذه البكتريا في العديد من الدراسات للباحثين الذين أكدوا وجود هذا الجين وله دور كبير في إمرضيه هذه البكتريا (Lembré, Vendrely *et al.*, 2014; Upmanyu, *et al.*, 2022).

هناك العديد من الدراسات التي اكدت إنَّ الجين *csgA* الذي يشفر البروتين الاميلويد وله قابلية على مساعدة البكتريا على مقاومة الجهاز المناعي وحماية البكتريا من الاستجابة المناعية والتي شخّصت في العديد من البكتريا التي أظهرت الإصابة في الجسم ومنها إصابة المسالك البولية او المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل (Miller, de Anda *et al.*, 2022) وهذه الدراسات تتفق مع دراستنا الحالية بالرغم إنَّ هناك أنواع بكتيرية أخرى او أنواع أخرى لم يتم تشخيصها في الدراسة الحالية وربما هذه تختلف حسب الأماكن والبيئة التي يعيش بها المرضى او المصابين.

3-3 الأختبارات المصلية المناعية

هناك العديد من الدراسات التي تناولت البحث حول إنترلوكين IL-10 وإنترلوكين IL-17 و CD4 و CD20 وعلاقتها مع مرض التهاب المفاصل الرثوي من خلال دراسة التركيز لهذه العوامل البيولوجية في مصل الأشخاص المصابين (Heo, Joo *et al.* 2010).

لذلك اكتسبت دراستنا الحالية أهمية الكشف عن التراكيز لهذه الإنترلوكينات و CD markers، لما لها أهمية مع هذا المرض إلى جانب ذلك الى تأثير العوامل الأخرى عليها مثل التدخين والعمر والمدة الزمنية للمرض والسجل العائلي للمرضى او عدمه وذلك مع وجود الإصابة البكتيرية المرضية او عدمها بالمقارنة مع الاشخاص الاصحاء.

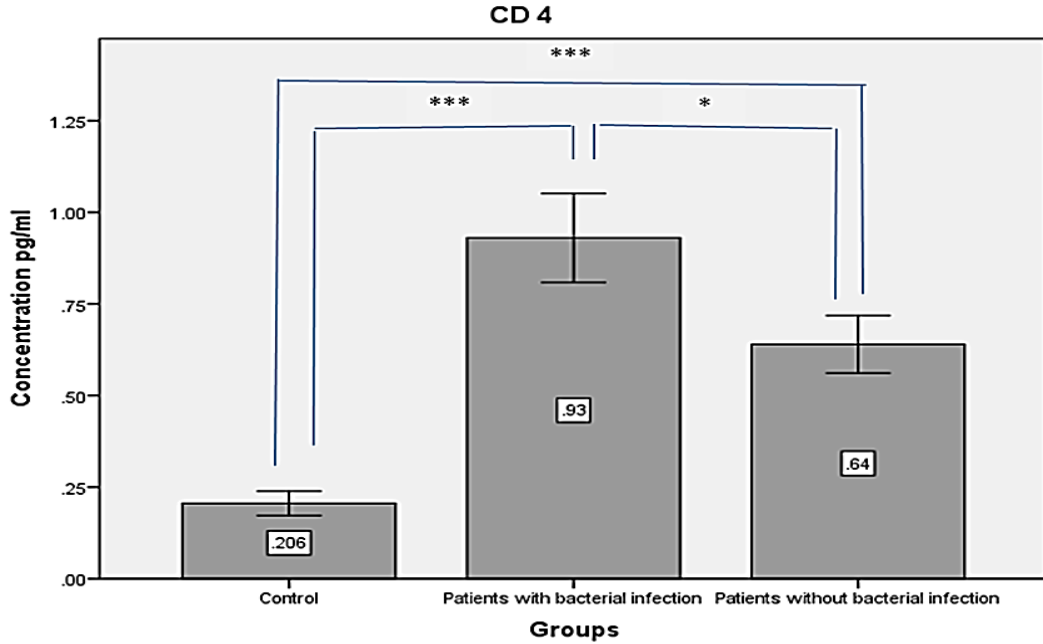
فقد شملت الدراسة للكشف عن تركيز IL-10 و IL-17 و CD4 و CD20 في مصل الدم للمجاميع الثلاث من العينات في حالة وجود الإصابة البكتيرية من عدمها

3-3-1 مستويات العامل CD4+Tcell

3-3-1-1 مستويات CD4+Tcell حسب المجاميع

حيث وجد إنَّ هناك ارتفاع كبير في مستوى CD4 في الدم لدى مجموعتي المصابين بمرض التهاب المفاصل الرثوي ، مع وجود فرق معنوي واضح عند المقارنة بين مجموعة

الأصحاء و المرضى المصابين ببكتريا المرضية معدل (0.93 ± 0.12) وبين مجموعة الأصحاء والمرضى غير المصابين بالبكتريا المرضية (0.64 ± 0.078) ، وهناك فرق معنوي بين مجموعة مرضى التهاب المفاصل المصابين بالبكتيريا المرضية ومجموعة مرضى التهاب المفاصل غير المصابين بالبكتيريا المرضية كما في الشكل 3-3.

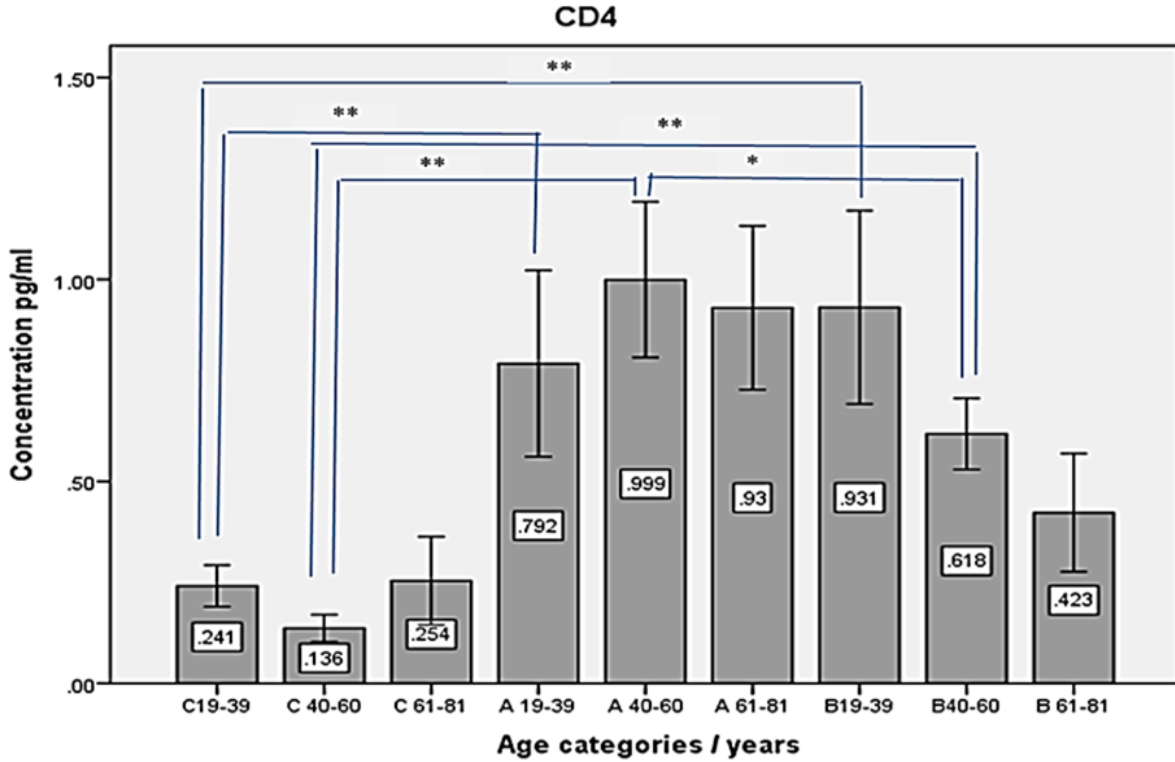


الشكل 3-3: تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم للمجموعة الأصحاء ومجموعتي مرضى التهاب المفاصل C: يمثل مجموعة الأصحاء، A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية و B: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى قيمة المعنوية ك * بين مجموعة الأصحاء ومجموعة المرضى. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال على أنه (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

اتفقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة باحثين (Crum 2004, Girschick, et al. 2008) الذين وجدوا أنّ مرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية يؤدي الى تحفيز خلايا T Cells الى الاستجابة المناعية مما يؤدي الى زيادة تركيز CD4 لمدة معينة ولكن يتم تكيف الجسم بعد ذلك الى مستويات محدودة بواسطة ميكانيكية (MHC class I and II) وتخفضه لمستويات اقل وربما العينات التي تم دراستها حاليا كانت في مستويات مناعية مرتفعة وغير متكيفة لحد الإن لانها تحتاج وقت وتختلف بين الافراد وفقا للجهاز المناعي للمرضى وعوامل أخرى .

2-1-3-3 مستويات CD4+Tcell حسب الفئات العمرية

تمت خلال هذه الدراسة تأثير المجاميع العمرية لمستوى CD4 للمجاميع الثلاثة المصابة بمرض التهاب المفاصل مع إصابة البكتيريا او عدمها والاصحاء الأصحاء، الى الفئة العمرية 39-19 سنة والفئة العمرية 60-40 سنة والفئة العمرية 81-61 سنة، وكانت النتائج الفئة العمرية 39-19 سنة والفئة العمرية 60-40 سنة للمجموعتين المصابتين بالتهاب المفاصل بوجود الإصابة بالبكتيريا وعدم الإصابة ذات فروق معنوية مع كافة الفئات العمرية لمجموعة الاصحاء الأصحاء بمعدل (0.792 ± 0.230) للفئة العمرية 39-19 سنة وبمعدل (0.999 ± 0.192) الفئة العمرية 60-40 سنة وبمعدل (0.93 ± 0.202) الفئة العمرية 81-61 سنة وبمعدل (0.931 ± 0.239) الفئة العمرية 39-19 سنة وبمعدل (0.618 ± 0.087) الفئة العمرية 60-40 سنة ولكن الفئة العمرية 81-61 سنة للمجموعة المصابة بالتهاب المفاصل وغير مصابة بالبكتيريا كانت اعلى من جميع الاعمار لمجموعة الاصحاء الأصحاء ولكنها لم تظهر فروق معنوية بمعدل (0.423 ± 0.146) كما في الشكل رقم 3-4.



C control , A patients with bacterial infection , B patients without bacterial infection

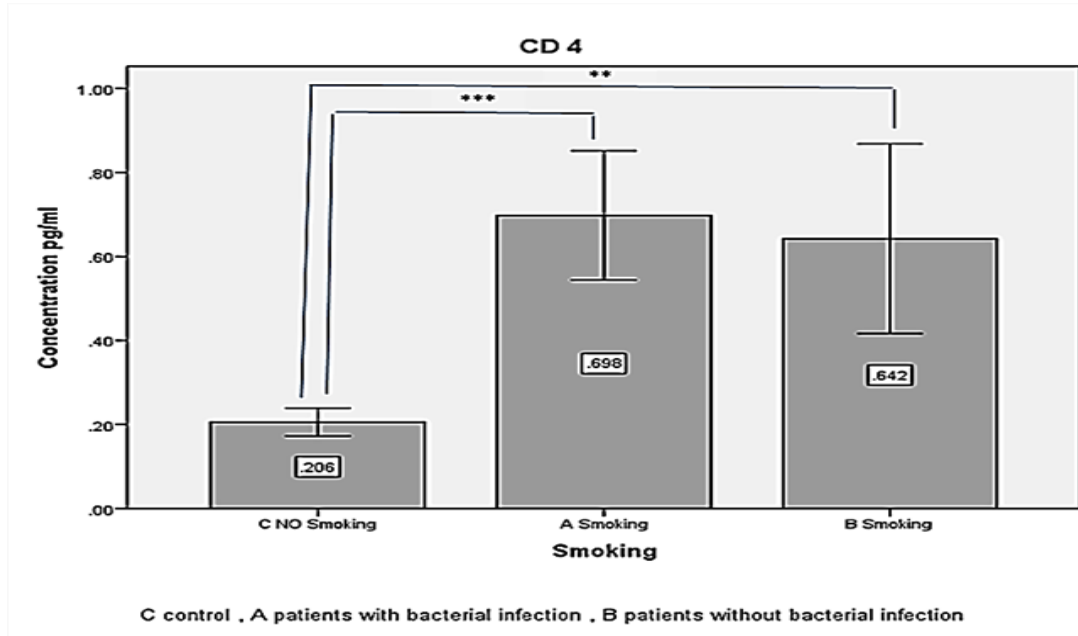
الشكل 3-4: تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم لثلاث المجاميع من الدراسة حسب الفئات العمرية مجموعة الأصحاء C ، مجموعة المرضى A ، ومجموعة المرضى B. تم تحديد قيمة المعنوية بين فئة 19-39 من مجموعة الأصحاء و فئة 19-39 من مجموعة المرضى A ومجموعة المرضى B ، وبين فئة 40-60 للمجموعة الأصحاء و فئة 40-60 من مجموعة المرضى A ومجموعة المرضى B، وبين فئة 60-81 من مرضى المجموعة A و فئة 60-81 من مرضى المجموعة B. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

أظهرت النتائج الحالية ارتفاع واضح في مستوى CD4 وهذا دليل إن هناك استجابة مناعية ضد الإصابات البكتيرية التي نشئت كإصابات ثانوية مع مرض التهاب المفاصل، في حين كان تركيزه أقل مع المصابين بالتهاب المفاصل بدون إصابات بكتيرية وهذا النتائج تنفق مع ما توصل اليه باحثون من تأثير العمر على مستوى CD4 كلما زادت أعمارهم وظهرت إصابات بكتيرية لديهم مع الإصابات بمرض التهاب المفاصل (Zandman et al., 2005; Rea, Gibson et al., 2018).

3-1-3-3 مستويات CD4+Tcell حسب التدخين

1-3-1-3-3 مستويات CD4+Tcell حسب التدخين بين المجموع A,B,C

أظهرت الدراسة إن تأثير التدخين على مستوى CD4 في مصل دم المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية (0.698 ± 0.1537) او بدون اصابة (0.642 ± 0.0225) مرتفع بصورة كبيرة وهناك فرق معنوي كبير مقارنة مع مجموعة الاصحاء غير المدخنين (0.206 ± 0.0326) ، كما في الشكل رقم 3-5 وهذا دليل واضح إن التدخين يحفز ارتفاع CD4 لدى المصابين بمرض التهاب المفاصل استنادا الى نتائج دراستنا الحالية ، في حين لم يكن هناك أي فرق معنوي بين مجموعتي المصابين بمرض التهاب المفاصل والمصابين بالبكتيريا المرضية او عدمها.



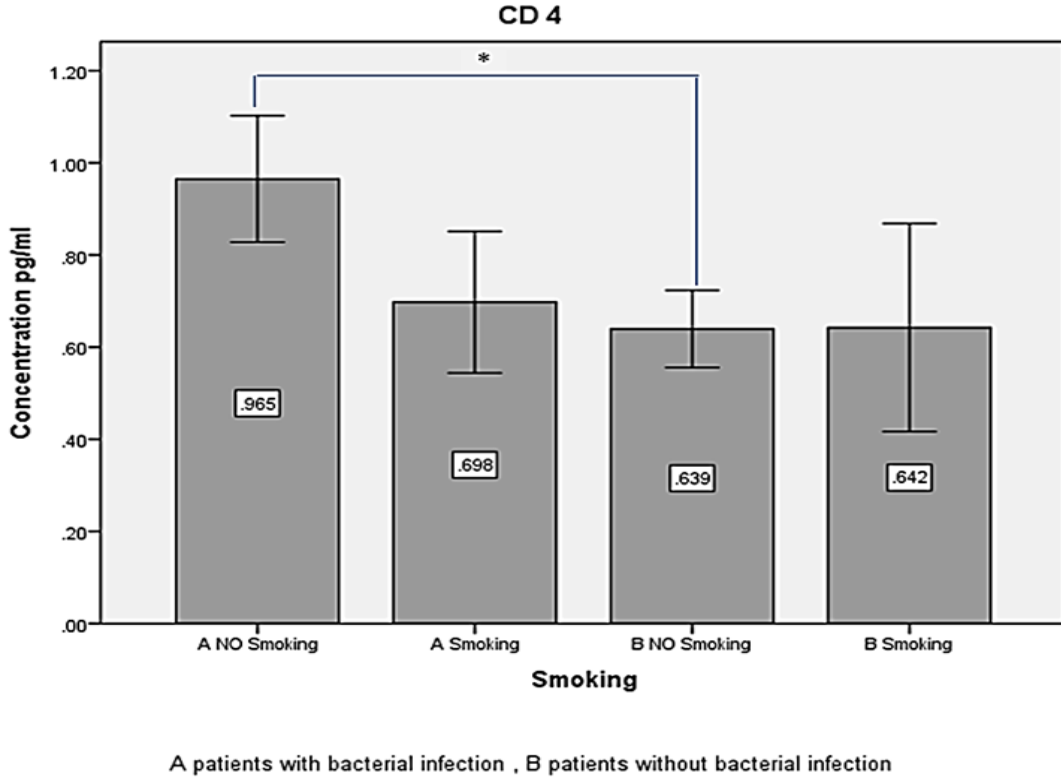
الشكل 3-5: تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم للمجموعتين A وB المدخنين ومجموعة C غير المدخنين. علامة * تعني وجود فرق معنوي. A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية وB: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $0.05 \leq P$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

وهذه النتائج اتفقت مع دراسات عديدة حيث اكدت هذه الدراسات إن التدخين يعتبر من العوامل المؤثرة جدا على مرضى التهاب المفاصل وتضاعف لهم المرض وتزيد من حدة المرض (Källberg et al., 2007; Mok, Rhead et al., 2018).

كذلك اكدت دراسات اخرى إن تركيز ال CD4 كان مرتفع بشكل ملفت لدى المدخنين مقارنة بغير المدخنين الاصحاء (Okuda, Takasugi *et al.*, 1993; Bayry, Sibénil *et al.*, 2007) ولكن لا توجد دراسة أخرى اخذت عامل الإصابة مع التدخين على مرض التهاب المفاصل وارتفاع مستوى CD4 لدى المرضى باعتباره احد المؤشرات المناعية التي ترتفع عند الالتهابات او التعرض للعوامل المرضية وهذا ما اثبتته نتائج الدراسة الحالية التي أكدت زيادة كبيرة وفروق معنوية واضحة.

2-3-1-3-3 مستويات CD4+Tcell حسب المدخنين وغير المدخنين للمجموعة A والمجموعة B

أيضا خلال الدراسة الحالية تمت المقارنة تأثير التدخين بين مجموعة مرضى التهاب المفاصل المصابين بالبكتريا المرضية المدخنين وغير المدخنين ومجموعة المرضى التهاب المفاصل غير المصابين بالبكتريا المرضية المدخنين وغير المدخنين في التأثير على مستوى وتركيز CD4 في مصل دم . اظهرت النتائج إن تركيز CD4 في مجموعة غير المدخنين لمجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية مرتفع (0.965±0.137) بالمقارنة المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية المدخنين والمصابين بمرض التهاب المفاصل مع عدم الإصابة البكتيرية المرضية المدخنين وغير المدخنين. كما لوحظ إن هناك تقارب واضح في تركيز CD4 المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية المدخنين (0.698± 0.153) والمصابين بمرض التهاب المفاصل مع عدم الإصابة البكتيرية المرضية المدخنين (0.642±0.225) وغير المدخنين (0.639±0.078)، كما في الشكل رقم 3-6.

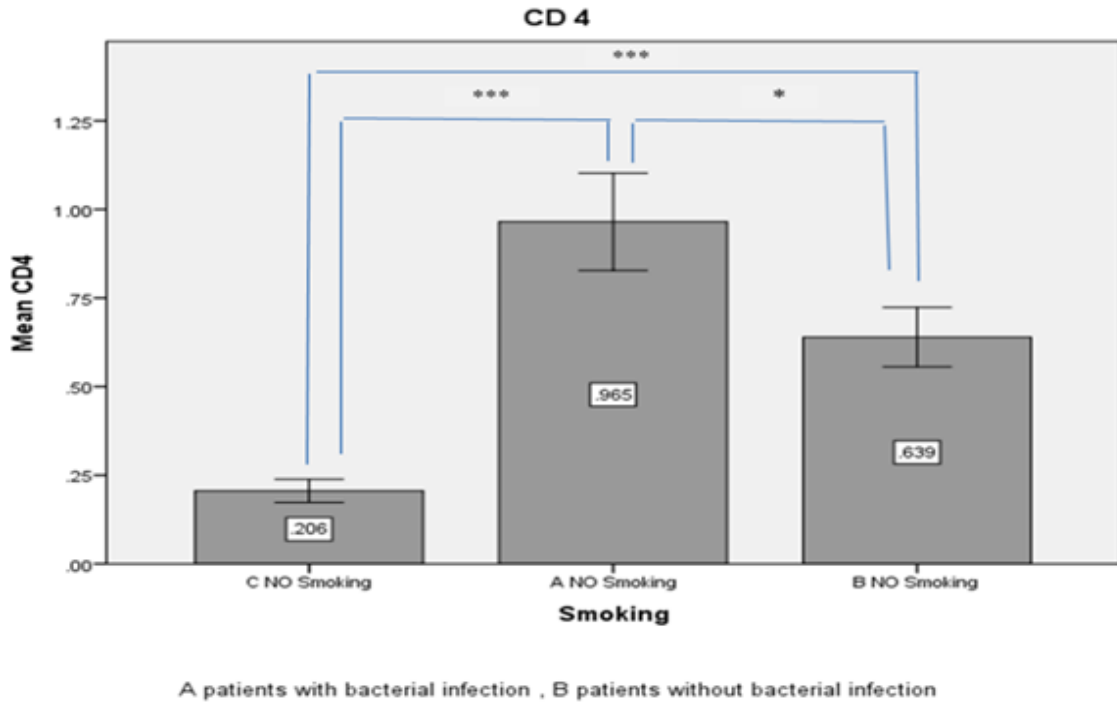


الشكل 3-6: تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم للمجموعتين A وB المدخنين وغير المدخنين .علامة * تعني وجود فرق معنوي. A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية وB: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

إنّ ارتفاع تركيز CD4 لدى مجموعة مرضى التهاب المفاصل المصابين بالبكتريا المرضية المدخنين وغير المدخنين ومجموعة مرضى التهاب المفاصل غير مصابين بالبكتريا المرضية المدخنين وغير المدخنين، وهذه النتيجة لا تتفق مع دراسة لباحثين اخرين (Cope, et al., 2016; Reynisdottir, Olsen et al., 2007; al.,) حيث وجدوا إنّ التدخين يزيد من تركيز CD4 لدى المصابين بمرض التهاب المفاصل ولكنهم لم يتطرقوا الى وجود او غياب الإصابة وأيضا دراستنا الحالية ربما شملت مرضى تكيفوا مع المرض لأنّ CD4 يعتبر من البروتينات التي تزداد في تركيزها عند بداية الإصابة او الالتهاب (Takemura et al., 2001; Weyand, et al., 2001).

3-3-1-3-3 مستويات CD4+Tcell حسب غير المدخنين للمجاميع A,B,C

اشتملت الدراسة الحالية أيضا على المقارنة بين المرضى بمرض التهاب المفاصل بوجود الإصابة او عدمها غير المدخنين مقارنة مع مجموعة الاصحاء غير المدخنين ،حيث وجد إن تركيز CD4 مرتفع بصورة كبيرة ومعنوية ممن لديهم اصابة بكتيرية (0.965 ± 0.137) او عدم وجود إصابة بكتيرية (0.639 ± 0.078) بالمقارنة مع الاصحاء (0.206 ± 0.032) وكذلك وجد فرق معنوي بين المرضى المصابين بالتهاب المفاصل مما لديهم اصابة بكتيرية بالمقارنة مع عدم وجود إصابة بكتيرية.

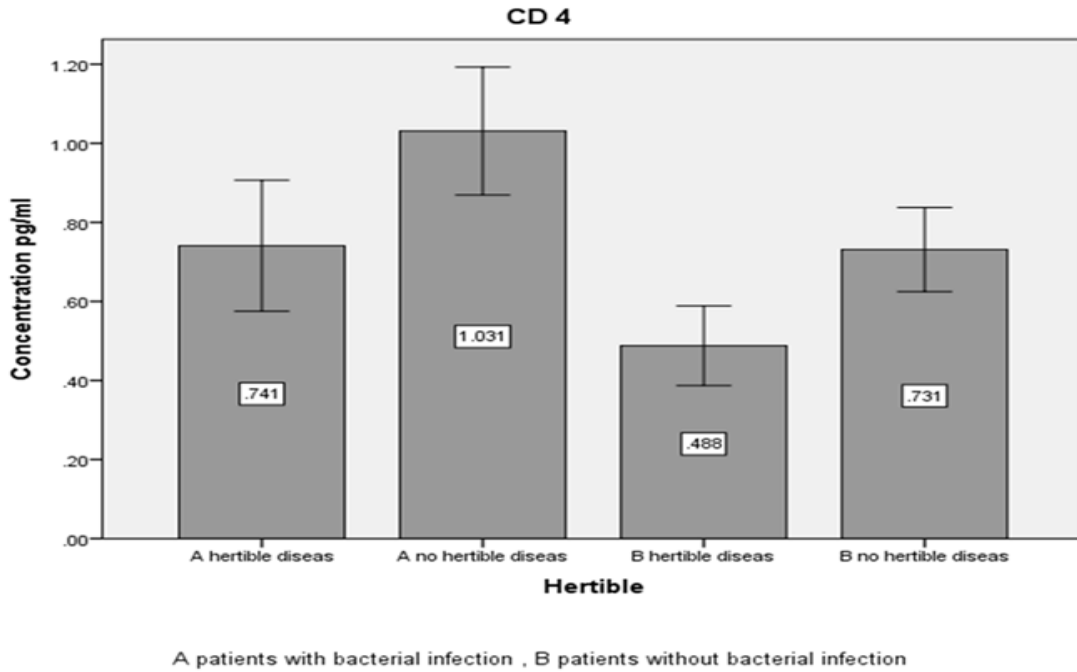


الشكل 3-7: تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم لمجموعتي مرضى التهاب المفاصل مع مجموعة الاصحاء غير المدخنين. C: يمثل مجموعة الأصحاء، A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية و B: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

لقد اكدت العديد من الدراسات (Ahola, Saarinen *et al.*, 2015) إنّ التدخين يعتبر عامل خطورة لمرضى التهاب المفاصل ومؤثر أيضا على فعالية الجهاز المناعي لذلك يؤدي الى مضاعفات خطيرة على مرضى التهاب المفاصل من حيث التأثير على الاستجابة المناعية ومن ضمنها تراكيز CD4 عند مرضى التهاب المفاصل وهذا يتفق مع دراستنا الحالية التي اكدت ارتفاع تركيز CD4 في مصل دم المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل بصورة واضحة خصوصا في حالات الإصابة البكتيرية لدى مرضى التهاب المفاصل.

4-1-3-3 مستويات CD4+Tcell حسب التأريخ العائلة للمرض

تناولت الدراسة الحالية أيضا اخذ معلومات من مرضى إلتهاب المفاصل في حال يوجد تاريخ عائلي للمرض او لا يوجد وتأثيرها على تركيز ومستوى CD4 حيث اظهرت الدراسة الحالية إن تركيز CD4 لدى مجموعة مرضى إلتهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية الذين ليس لديهم تأريخ عائلي للمرض كان مرتفع (1.031 ± 0.16) ولكن بفرق غير معنوي لدى الأشخاص الذين لديهم إصابة بكتيرية مرضية ولديهم تأريخ عائلي للمرض (0.741 ± 0.165). أيضا هناك ارتفاع واضح لدى مجموعة المرضى الغير مصابين بالبكتريا المرضية وليس لديهم تأريخ عائلي (0.731 ± 0.106) كما في الشكل 3-8 وهذا يثبت إن الإصابة البكتيرية ترفع من تركيز CD4.



الشكل 3-8: تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم للمجموعتين المرضى من لديهم تاريخ عائلي للمرض ومن ليس لديهم تاريخ عائلي . A: يمثل مرضى إلتهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية و B: مرضى إلتهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

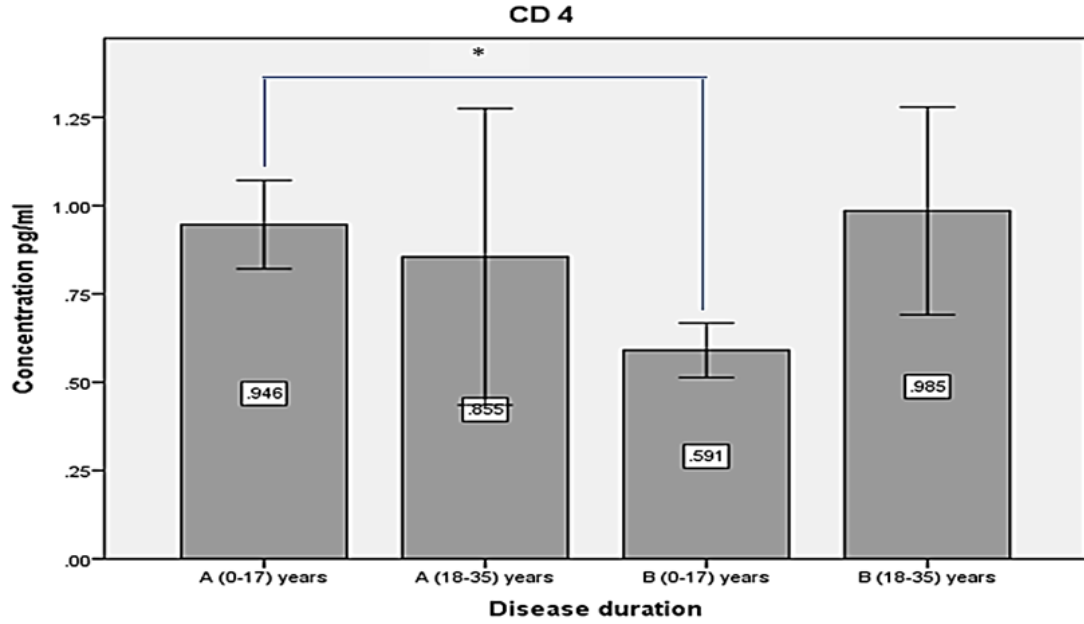
هناك دراسات عديدة اثبتت ارتفاع تركيز CD4 بمرضى المصابين بإلتهاب المفاصل فقط مع المؤشرات المناعية الأخرى خصوصا في الأطفال الذين لدى عوائلهم سجل وراثي مع مرض إلتهاب المفاصل (Hahn, et al., 2007; Hu, et al., 2022) والتي تتفق مع دراستنا الحالية إن هناك تأثير واضح للعامل الوراثي للمرضى المصابين بالبكتريا المرضية بالمقارنة

بالمرضى غير المصابين بالبكتيريا المرضية وقد أدى إلى انخفاض تركيز CD4 مع الذين لديهم سجل عائلي للمرض بوجود أو عدم وجود الإصابة البكتيرية وهذا يؤكد دور العامل الوراثي على تركيز CD4 لدى المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل.

5-1-3-3 مستويات CD4+Tcell حسب مدة المرض بين المجموعة A و B

مدة مرض التهاب المفاصل لدى المرضى أيضا تم الكشف عن تأثيرها خلال هذه الدراسة على تراكيز ومستوى CD4 وتحديد مدى تأثير المدة ودورها خلال مرض التهاب المفاصل حيث تم تقسيم عينات المصابين إلى مجموعتين المدة الأولى 0-17 سنة والثانية 18-35 سنة في كلا المجموعتين مما لديهم إصابة بكتيرية أو عدم وجود إصابة بكتيرية، وقد تبين إن تركيز CD4 مرتفع بصورة واضحة ولكن بصورة غير معنوية لدى المدة 0-17 (0.946 ± 0.125) والمدة 18-35 سنة (0.855 ± 0.419) مما لديهم إصابة بكتيرية وهذا يؤكد دور الإصابة البكتيرية في رفع نسبة تركيز CD4 عند الإصابة بمرض التهاب المفاصل، والدليل على ذلك إن المدة 0-17 لدى مجموعة مرضى التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية كانت ذات فرق معنوي مع مجموعة مرضى التهاب المفاصل بدون الإصابة البكتيرية لنفس المدة (0.591 ± 0.077) .

كذلك مدة 18-35 سنة في مجموعة الغير مصابة ببكتيريا مرضية كان واضح إنّه مرتفع بصورة واضحة غير معنوية (0.985 ± 0.293) بالرغم من غياب الإصابة البكتيرية ، كما في الشكل 3-9.



A patients with bacterial infection , B patients without bacterial infection

الشكل 3-9: تركيز الخلايا CD4+Tcell في مصل الدم للمجموعتي مرضى التهاب المفاصل من خلال تأثير المدة الزمنية لمرض التهاب المفاصل للمدة 0-17 سنة و18-35 سنة. A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية و B: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

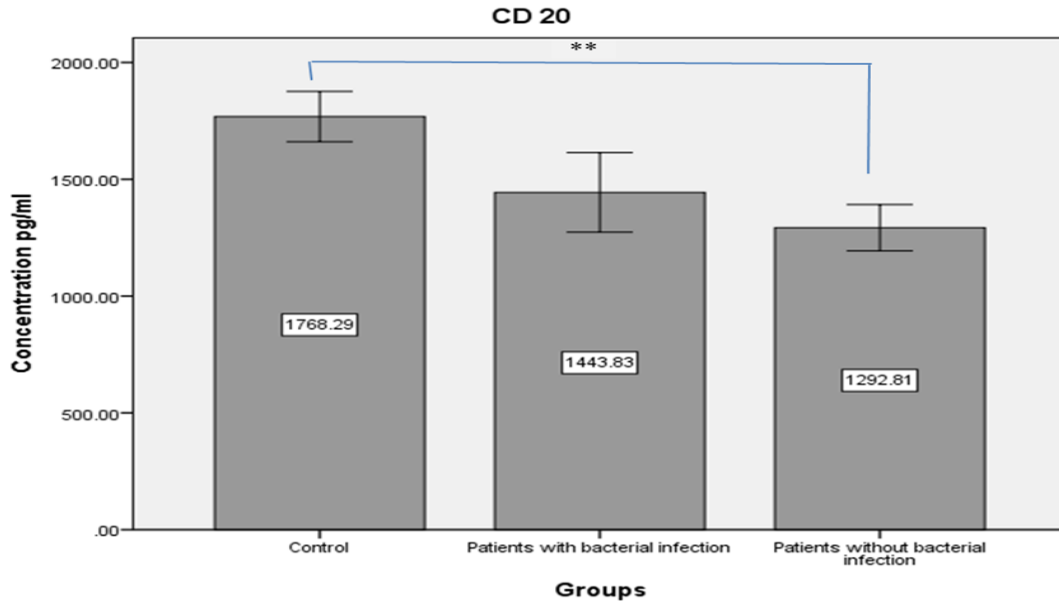
بينت الدراسة الحالية أنّ مدة المرض لمرضى التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية لمدة قصيرة (0-17) لها تأثير معنوي على تركيز CD4 بالمقارنة مع مدة المرض لمرضى التهاب المفاصل بدون إصابة بكتيرية لمدة قصيرة (0-17) ، وهناك أيضا زيادة واضحة لكن غير معنوية على تركيز CD4 لمرضى التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية للفترتين (0-17) و(18-35) و مرضى التهاب المفاصل بدون الإصابة البكتيرية للمدة (18-35) عند المقارنة مع مرضى التهاب المفاصل بدون الإصابة البكتيرية للمدة (0-17).

وهذا يتفق مع دراسات أخرى التي أوضحت أنّ تركيز CD4 يكون مرتفع عند الإصابة البكتيرية لمرضى التهاب المفاصل وكذلك بعدم وجود الإصابة كون CD4 أحد المنظمات للاستجابة المناعية (Croft and Siegel, 2017) ولكن لم تشر الدراسات الى تأثير المدة على تركيز CD4 لدى المرضى كما في الدراسة الحالية.

2-3-3 مستويات العامل CD20+Bcell

1-2-3-3 مستويات العامل CD20+Bcell حسب المجاميع A,B,C

بينت الدراسة إنَّ هناك انخفاض واضح ومعنوي في مستوى CD20 في مصل الدم لدى المجموعتين المصابتين بمرض التهاب المفاصل بوجود الإصابة البكتيرية أو عدمها بالمقارنة مع مجموعة الاصحاء بمعدل (1768.29±108.07) ، وايضا مجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل مع إصابة البكتيريا كانت هناك ارتفاع واضح في مستوى CD20 بالمقارنة مع مجموعة المرضى غير المصابين بالبكتيريا المرضية بمعدل (1443.83±170.15) ، كما في الشكل 10-3.



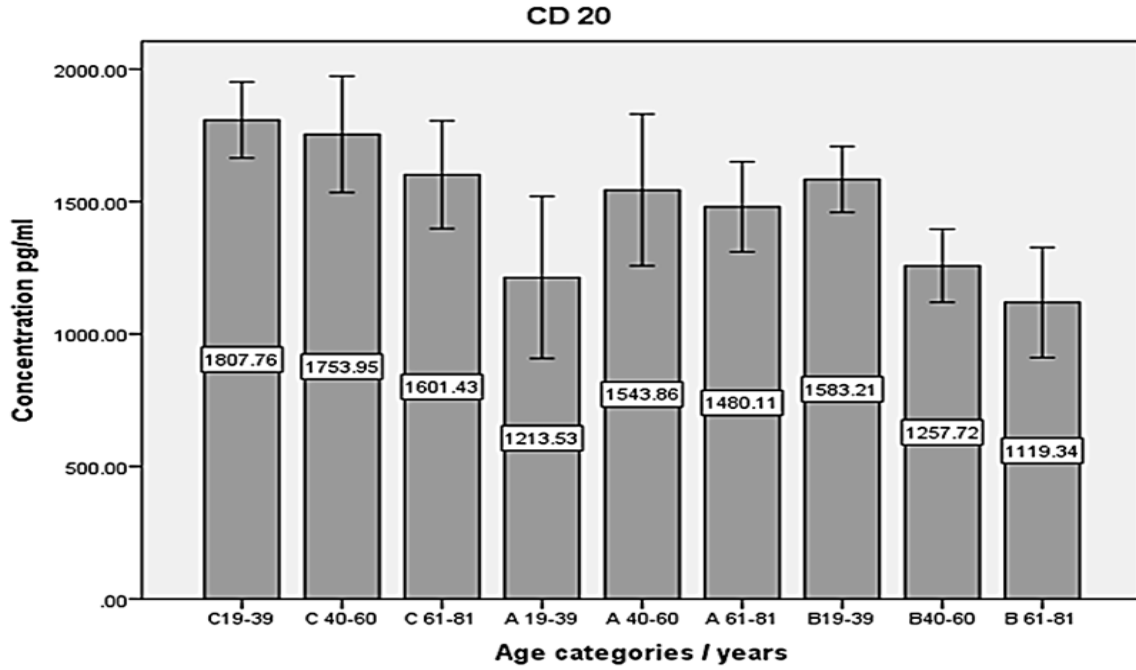
الشكل (10-3): تركيز خلايا CD20 +B cell في مصل الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة. C: يمثل مجموعة الأصحاء، A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية و B: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه باحثين اخرين حيث وجدوا إنَّ هناك علاقة كبيرة بين الإصابات البكتيريا ومرض التهاب المفاصل في تحفيز الخلايا B Cells على زيادة التعبير عن CD20 في المرضى وربما الإصابات البكتيرية هي من تحفز الجسم على مهاجمة بعض اجزاء الجسم مما يؤدي الى ظهور مرض التهاب المفاصل (Westwood, et al. 2006; Wade

and Kyttaris 2021; Calderón-Parra *et al.*, 2022) وهذا يؤكد دور الإصابة في زيادة التعبير عن CD20 لدى مرضى التهاب المفاصل.

2-2-3-3 مستويات CD20+Bcell حسب الفئات العمرية

تم خلال هذه الدراسة دراسة تأثير الفئات العمرية لمستوى CD20 للمجاميع الثلاثة المصابة بمرض التهاب المفاصل مع إصابة البكتيريا او عدمها والاصحاء ، وكانت المجاميع العمرية مقسمة الفئة العمرية 19-39 سنة والفئة العمرية 40-60 سنة والفئة العمرية 61-81 سنة، وكانت النتائج الفئة العمرية 19-39 سنة والفئة العمرية 40-60 سنة والفئة العمرية 61-81 سنة للمجموعتين المصابتين بالتهاب المفاصل بوجود الإصابة بالبكتيريا المرضية وعدم الإصابة بالبكتيريا لمستوى CD20 اقل من مستوى كافة الفئة العمرية لمجموعة الاصحاء ولم تظهر أي فروق معنوية واطهرت المجموعتان المصابتان بالتهاب المفاصل بوجود الإصابة بالبكتيريا المرضية وعدم الإصابة بالبكتيريا لمستوى CD20 تفاوت في مستوى CD20 ولكن لم تظهر أي فروق معنوية حيث كانت بمعدل $143.18 (\pm 1807.76)$ ، (1753.94 ± 219.65) و (1601.42 ± 203.07) لمجموعة الأصحاء ومجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل مع إصابة البكتيريا بمعدل (1213.53 ± 305.75) ، (1543.86 ± 286.330) و (1480.11 ± 169.98) ومجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل مع عدم إصابة بكتيرية بمعدل (1583.21 ± 124.107) ، (1257.72 ± 138.246) و (1119.34 ± 208.090) للأعمار على التوالي، كما في الشكل رقم 3-11.



C control, A patients with bacterial infection, B patients without bacterial infection
 الشكل 3-11: تركيز خلايا CD20 + Bcell في مصل الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة وفقاً للفئات العمرية. C: يمثل مجموعة الأصحاء ، A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم أي إصابة بكتيرية و B: مرضى التهاب المفاصل وليس لديهم أي إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

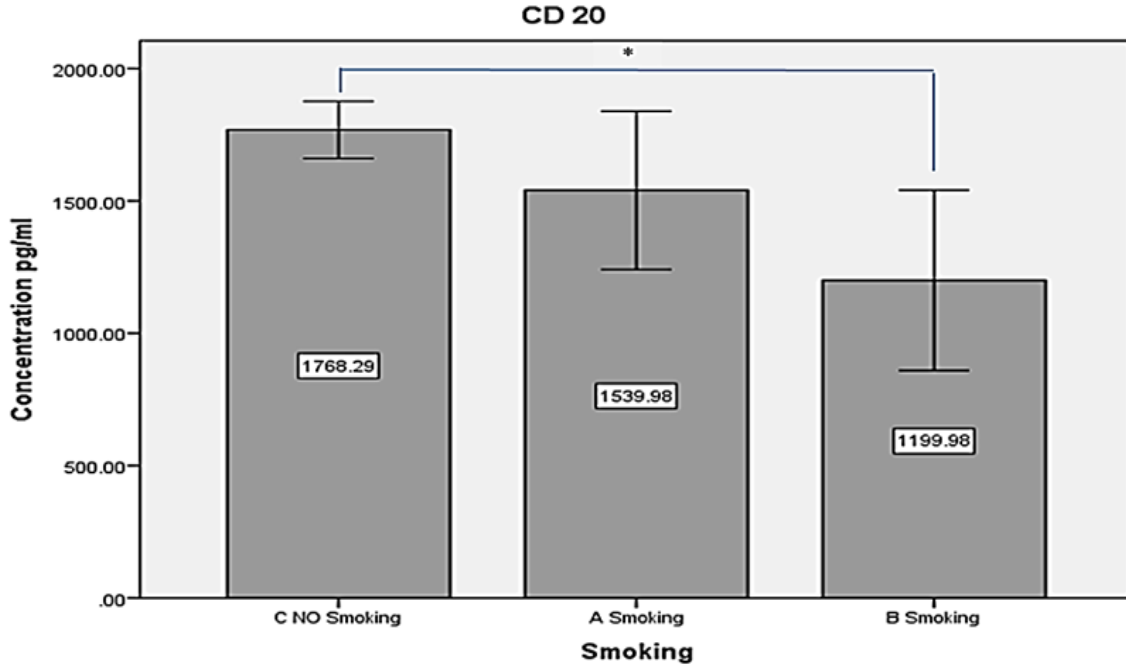
هناك العديد من الدراسات التي أكدت إن استعمال مضادات CD20 لمرضى التهاب المفاصل سوف يقلل من تفاقم المرض وتقليل حدته بسبب التأثير على فعالية B cells ويخفض معدلاتها في المرضى بغض النظر عن الأعمار او المدة الزمنية للأصابة (Owczarczyk et al., 2011)

وهذا يؤكد نتائج الدراسة الحالية بعدم وجود تركيز عالي ل CD20 وإنخفاضه مقارنة مع الاصحاء خلال فترات عمرية مختلفة كون المرضى. والجدير بالذكر لا توجد دراسات واضحة غطت دور CD20 في مرض التهاب المفاصل لدى الفئات العمرية المختلفة وهذا ما يعطي دراستنا أهمية مقارنة بالدراسات الأخرى التي تناولت أمور أخرى في هذا الصدد.

3-2-3-3 مستويات CD20+Bcell حسب التدخين

1-3-2-3-3 مستويات CD20+Bcell حسب المدخنين للمجموعة A,B وغير المدخنين للمجموعة C

أظهرت الدراسة إن تأثير التدخين على مستوى CD20 في دم المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية أو عدم الإصابة منخفض مع مجموعة الاصحاء غير المدخنين وكان هناك فرق معنوي واضح بمعدل (1768.29 ± 108.075) مع مجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل مع عدم الإصابة بالبكتريا كذلك هناك ارتفاع ملحوظ وغير معنوي بين المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية (1539.98 ± 298.84) أو عدم الإصابة بالبكتريا (1199.98 ± 340.43) ، كما في الشكل رقم 12-3 وهذا دليل واضح إن التدخين لا يؤثر على مستوى CD20 لدى المصابين بمرض التهاب المفاصل والمصابين بالبكتيريا المرضية أو عدمها وهذا يؤكد عدم وجود أي تأثير للتدخين على مستوى CD20 ولا يعتبر مؤشر يعتمد به بالنسبة للمرض.



C control , A patients with bacterial infection, B patients without bacterial infection

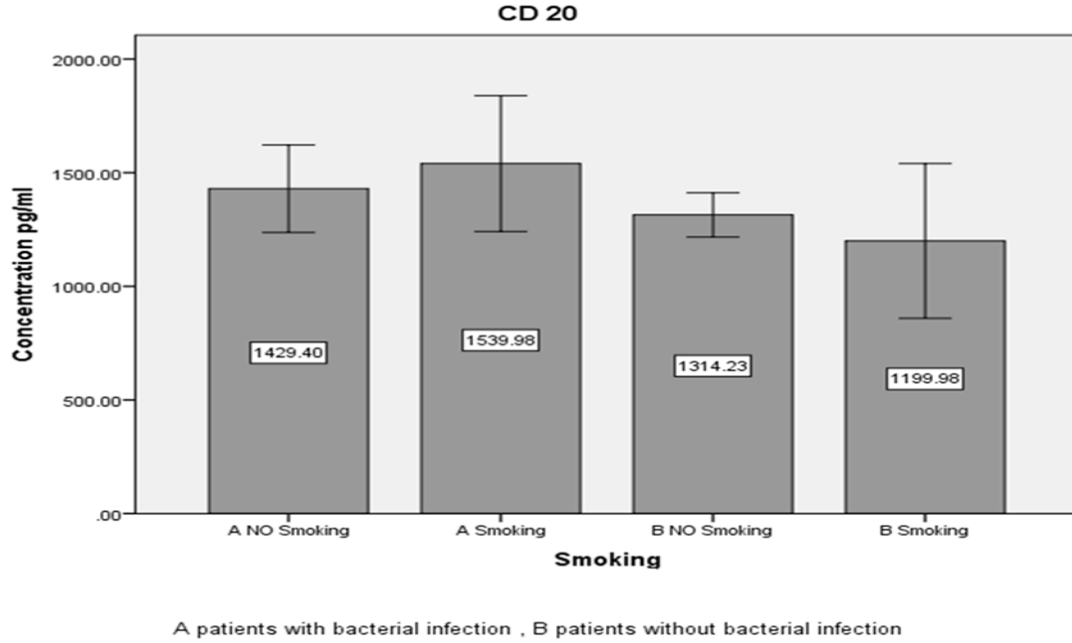
الشكل 3-12: تركيز خلايا CD20 + B cell في مصل الدم للمجموعتين A و B. المدخنين والمجموعة C غير المدخنين. علامة * تعني وجود فرق معنوي. A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم أي إصابة بكتيرية و B: مرضى التهاب المفاصل وليس لديهم أي إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

إنّ نتائجنا الحالية في هذه الدراسة لم تظهر أي ارتفاع لمستوى CD20 في مصل دم المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل بوجود او مع وجود الإصابة وهي تتفق مع دراسة لباحثين (Bechman *et al.*, 2020) فقد استعملوا CD20 كعلاج في تجربتهم ولم يسجلوا له دور مهم وظهور إصابات قليلة في تجربتهم ، لكن لا تتفق مع دراسة باحثين آخرين (Bongartz *et al.*, 2007; Nagasawa *et al.*, 2009)

3-3-2-3 مستويات CD20+Bcell حسب المدخنين وغير المدخنين للمجموعة A والمجموعة B

وجدنا خلال هذه الدراسة بعد المقارنة بين تأثير التدخين في مجموعة المدخنين وعدم التدخين على مجموعة عدم المدخنين في التأثير على مستوى وتركيز CD20 في مصل دم المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية او عدم الإصابة وظهرت النتائج إنّ تركيز CD20 في مجموعة المدخنين المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية كان (1429.40 ± 192.501) مرتفع في مصل الدم مقارنة مع المجاميع

الآخري ولكن لم يسجل هناك اي ارتفاع معنوي واضح في تركيز CD20 مقارنة مع مجموعة المدخنين والمصابين بمرض التهاب المفاصل (1539.98 ± 298.84) ومع غياب او وجود الإصابة البكتيرية لغير المدخنين (1314.23 ± 97.620) او المدخنين (1199.98 ± 340.435) لنفس المجموعة، كما في الشكل رقم 3-13.



الشكل 3-13 تركيز خلايا CD20 +B cell في مصل الدم للمجموعتي مرضى التهاب المفاصل غير المدخنين . علامة * تعني وجود فرق معنوي. A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم أي إصابة بكتيرية و B: مرضى التهاب المفاصل وليس لديهم أي إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

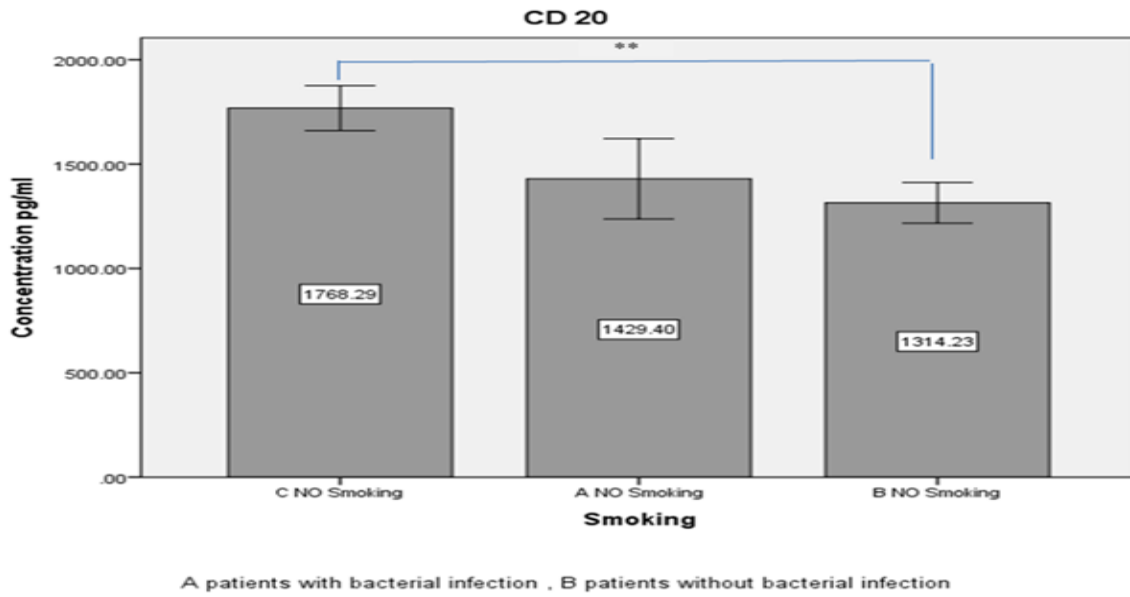
أظهرت الدراسة الحالية إنّ التدخين وعدم التدخين كان متقارب في التأثير على تركيز ل CD20 لدى المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل بوجود او غياب الإصابة البكتيرية، وربما يعود هذا الى كون CD20 يعتبر مؤشر مناعي يرتفع قبل الالتهاب وكون الحالات المرضية كانت متقدمة لم تظهر الفروقات بين المجاميع ، لكن هناك دراسة أخرى (Reparon *et al.*, 2001; Takakubo and Konttinen, 2012) اثبتت إنّ استعمال ادوية مضادة ل CD20 مثل عقار Rituximab في مرضى التهاب المفاصل يقلل من مخاطر ومضاعفات مرضى التهاب المفاصل وهذا يؤكد دور كبير ل CD20 في تحفيز مؤشرات مناعية أخرى او بروتينات قبل او بعد الالتهاب والذي يزيد من حدة المرض. إلى جانب ذلك لذلك أظهرت دراسة (Atkins *et al.* 2006) إنّ التدخين مؤثر على تركيز CD20 لدى مرضى التهاب المفاصل

ويؤدي الى خفض تركيزه ولكن هذه الدراسة أجريت على نسيج المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل وليس مصل الدم.

إلى جانب ذلك الى ما تقدم لا توجد دراسة تتناول الإصابات البكتيرية وتأثيرها على المصابين بمرض التهاب المفاصل واطهرت دراستنا الحالية لا دور يذكر لهذه الإصابات مع اختلاف تراكيز CD20 لدى المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل.

3-3-2-3-3 مستويات CD20+Bcell حسب غير المدخنين للمجاميع A,B,C

وجد إن مرضى التهاب المفاصل غير المدخنين ممن لديهم إصابة بكتيرية او عدم وجود إصابة بكتيرية بالمقارنة مع الأصحاء (1768.29±108.07)، بانخفاض تركيز CD20 بفرق معنوي واضح في مجموعة المرضى عدم وجود الإصابة بكتيرية (1314.23±97.62) ومنخفض مع من لديهم إصابة بكتيرية (1429.40±192.501) بالمقارنة مع مجموعة الأصحاء ، كما في الشكل 3-14



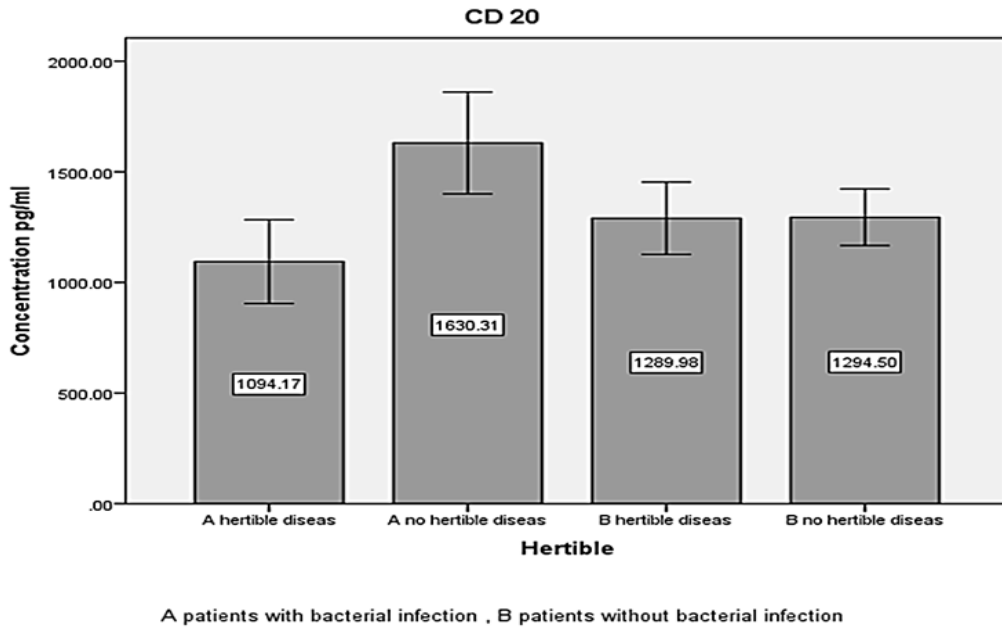
الشكل 3-14: تركيز خلايا CD20 +B cell في مصل الدم للمجاميع الثلاث من الدراسة A و B و C غير المدخنين C: يمثل مجموعة الأصحاء A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية وB: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

أظهرت الدراسة الحالية إن عدم التدخين كان مؤثر على تركيز ل CD20 لدى المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل بوجود او غياب الإصابة البكتيرية، وربما يعود هذا الى كون

CD20 يعتبر مؤشر مناعي يرتفع قبل الالتهاب حسب رأي اغلب الدراسات وكون الحالات المرضية كانت متقدمة لم تظهر الفروقات بين المجاميع .

4-2-3-3 مستويات CD20+Bcell حسب التاريخ العائلي للمرض

لوحظ إن تركيز CD20 لدى مجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل الذين لا يملكون تاريخ عائلي للمرض مرتفع ولكن بفرق غير معنوي لدى الأشخاص الذين لديهم إصابة بكتيرية مرضية (1630.31±230.33) ومتقارب التراكيز في المصابين بمرض التهاب المفاصل ممن كان لديهم تاريخ عائلي للمرض ولديهم إصابة بكتيرية مرضية او عدم وجود إصابة بكتيرية (1289.98±163.310) ، كما في الشكل 3-15 وهذا يثبت إن الإصابة البكتيرية تزيد من تركيز CD20 ولا تأثير للعامل الوراثي بين المرضى او التاريخ العائلي للمرض.



الشكل 3-15: تركيز خلايا CD20 +B cell في مصل الدم للمجموعتي مرضى التهاب المفاصل لديهم تاريخ عائلي للمرض ومن ليس لديهم تاريخ عائلي للمرض. A : يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم أي إصابة بكتيرية وB: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم أي إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

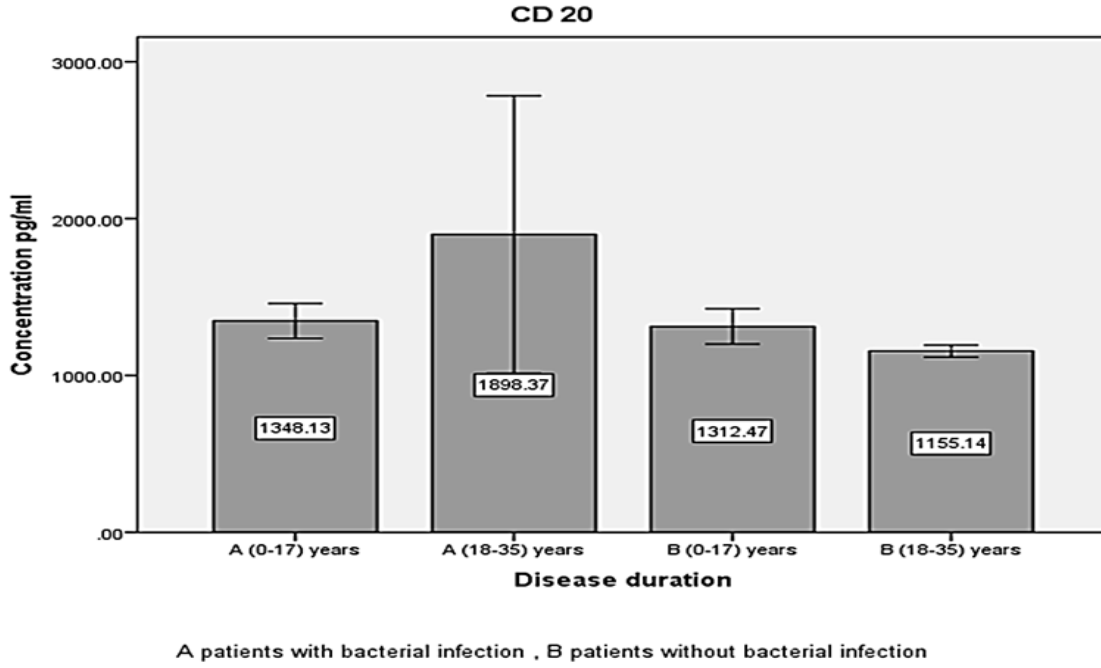
لقد كشفت الدراسة الحالية إنَّ السجل العائلي لدى مرضى التهاب المفاصل بوجود او عدم وجود الإصابة البكتيرية له تأثير محدود وغير معنوي عند المقارنة بين المجاميع في هذه الدراسة هناك اختلاف في تراكيزه وهذا ربما يعود الى كون بعض الدراسات تعد إنَّ CD20 من البروتينات التي ترتفع في الخلايا اللمفاوية قبل الالتهاب او مضادة للالتهاب (Edwards et al.,)

(2019, D'Amico *et al.*, 2005; ومن المعروف إنَّ مرض التهاب المفاصل هو مرض مناعي وهذا قد يؤدي الى تغير وعدم استقرار تراكيز CD20 في مصل دم المصابين بمرض التهاب المفاصل بوجود او عدم وجود الإصابة البكتيرية او السجل العائلي لمرضى التهاب المفاصل. لذلك عند استعمال مضادات بروتين CD20 كعلاج أدى الى انخفاض حدة المرض لدى مرضى التهاب المفاصل في كثير من تجارب الباحثين في دراسات أخرى (Shaw, Quan *et al.*, 2003) وربما هذا يفسر التذبذب في تراكيز CD20 لدى مرضى التهاب المفاصل في الدراسة الحالية.

3-3-2-5 مستويات CD20+Bcell حسب مدة المرض بين المجموعة A و B

مدة مرض التهاب المفاصل لدى المرضى أيضا تم الكشف عن تأثيرها خلال هذه الدراسة وتحديد مدى تأثير المدة ودورها خلال مرض التهاب المفاصل حيث تم تقسيم عينات المصابين الى مجموعتين المدة الاولى 0-17 سنة والثانية 18-35 سنة في كلا المجموعتين مما لديهم اصابة بكتيرية او عدم وجود إصابة بكتيرية، كذلك وجدت الدراسة الحالية إنَّ تركيز CD20 مرتفع ولكن بصورة غير معنوية لدى مدة 18-35 سنة مما لديهم إصابة بكتيرية (1898.37 ± 885.82) وكان متقارب بين باقي المجاميع او الفترات الأخرى المصابة (1348.13 ± 111.24) وغير المصابة ببكتيريا المرضية (1312.47 ± 112.86) للمدة 0-17 سنة و (1155.14 ± 38.07) للمدة 18-35 سنة وهذا يؤكد دور المدة المرضية للمرض تؤدي الى زيادة تركيز CD20 ، كما في الشكل 3-16.

كشفت الدراسة الحالية إنَّ مدة المرض مع الإصابة البكتيرية لمدة طويلة لها تأثير غير معنوي بصورة واضحة على تركيز CD20 بالمقارنة مع المدة الأقل للمصابين بمرض التهاب المفاصل وبوجود او بدون إصابة بكتيرية، وتركيز CD20 لم يسجل سابقا مع تأثير المدة في مرض التهاب المفاصل .



الشكل 3-16: تركيز خلايا CD20 +B cell في مصل الدم لمجموعتي مرضى التهاب المفاصل من الدراسة للمدة الزمنية لمرض التهاب المفاصل للمدة 0-17 سنة و 18-35 سنة لدى المصابين او غير المصابين بالبكتيريا المرضية . A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية و B: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

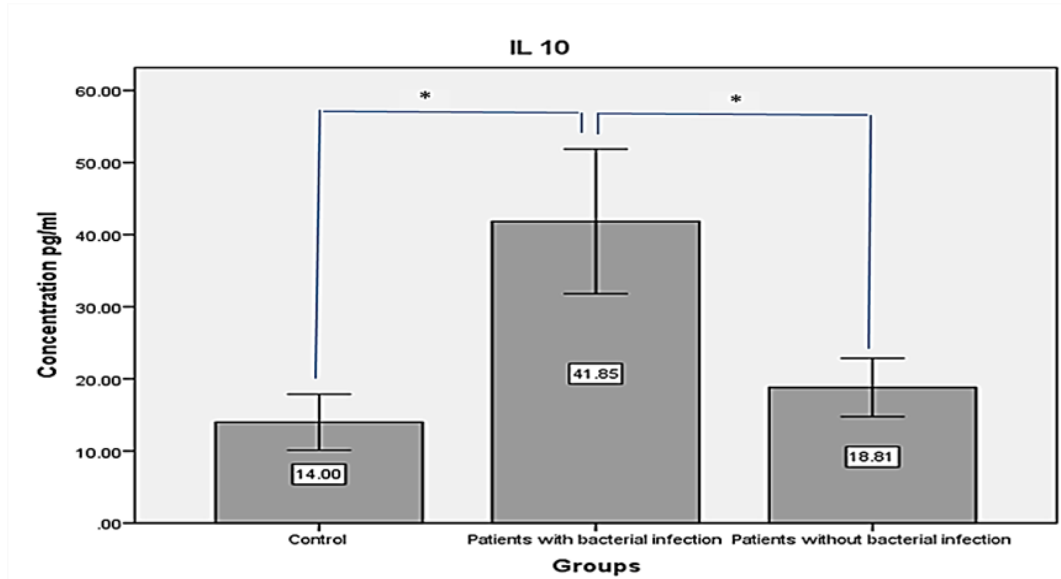
وهذه الدراسة اخذت بنظر الاعتبار اثر المدة وهي تتفق مع دراسات أخرى بصورة غير مباشرة اثبتت كون CD20 يعتبر من البروتينات المناعية التي يزداد تركيزها ويتغير وفقا للاستجابة المناعية قبل وبعد الإصابة (Vossen, Ardon *et al.*, 2019) لذلك إن طالت مدة الإصابة بمرض التهاب المفاصل مع إصابة سوف تكون الاستجابة اكبر مع زيادة تركيز CD20 في مصل دم المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل خصوصا مع الإصابات البكتيرية.

3-3-3 مستويات مصل السايوتوكين

3-3-3-1 مستويات الإنترلوكين 10 (IL-10) حسب المجاميع A,B,C

خلال هذه الدراسة تم تحديد مستوى IL-10 حيث ارتفع وبشكل معنوي لدى مجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل بوجود الإصابة البكتيرية بمعدل (41.85 ± 10.03) مقارنة مع مجموعة الأصحاء والأصحاء ومجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل فقط، في حين إن مجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل اظهرت ارتفاعا ولكن هذا الارتفاع لم يصل الى

المستوى المعنوي عند المقارنة مع مجموعة الأصحاء الأصحاء بمعدل (18.81 ± 4.04) كما هو موضح في الشكل رقم (3-17)



الشكل 3-17: تركيز IL-10 في الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة. C: يمثل مجموعة الأصحاء، A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية و B: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

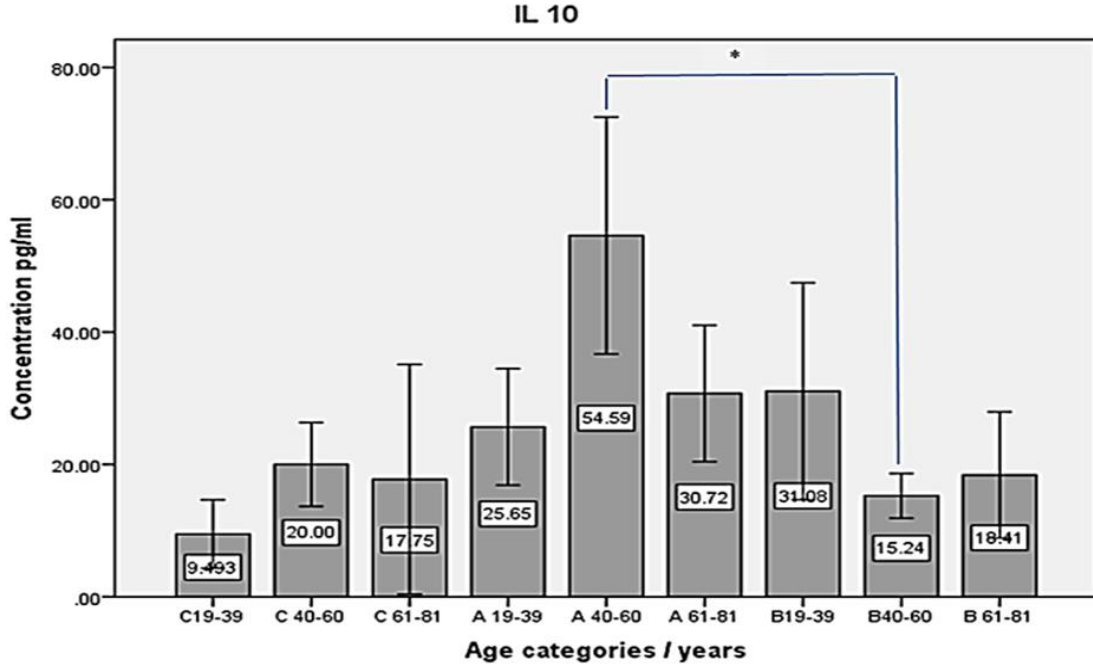
تشير هذه النتيجة الى أنّ هذا الإنترلوكين يرتبط بالإصابات البكتيرية حيث يرتفع عند وجودها وكذلك يرتفع مع وجود المرض ولكن بشكل طفيف، وهذه النتيجة تتوافق مع نتائج دراسات اخرى

(Hata *et al.*, 2004; Glocker *et al.* 2011) التي اكدت أنّ التهاب المفاصل في المفاصل مع الإصابات البكتيرية تظهر ارتفاع واضح في مستوى وتركيز IL-10 والأصحاء عليه يقلل من شدة المرض (Bazzoni *et al.*, 2010) وقد يكون له دور كبير في مضاعفة الأمراض لدى المصابين بهذا المرض مع الإصابات البكتيرية المرضية.

3-3-3-2 مستويات الإنترلوكين-10 (IL-10) حسب الفئات العمرية

يعتبر IL-10 من المؤشرات المناعية المهمة والتي لها دور رئيسي في تنظيم المناعة وله العديد من التأثيرات المناعية في جهاز المناعة و ينتج من خلايا اخرى ايضا عن طريق T cells النوع الثاني ويكون مرتفع في المرضى خصوصا بوجود الإصابة المرضية (Cush *et al.* 1996; Van Roon *et al.* 1995) وقد ظهر ذلك واضحا في النتائج الحالية لهذه الدراسة وفي

كل الفئات العمرية ولا يتعلق ذلك بالعمر وفقا لدراستنا الحالية ، فقد لوحظ إنّ تأثير الفئات العمرية على مستوى IL-10 للمجوعتين المصابة بمرض إلتهاب المفاصل مع إصابة البكتيريا او عدمها ومجموعة الاصحاء، وكانت الفئات العمرية مقسمة الفئة العمرية 19-39 سنة والفئة العمرية 40-60 سنة والفئة العمرية 61-81 سنة، حيث بينت النتائج تأثير مستوى IL-10 للفئة العمرية 19-39 سنة والفئة العمرية 40-60 سنة والفئة العمرية 61-81 سنة واطهرت النتائج إنّ الفئة العمرية 40-60 سنة كإنّ مرتفعة جدا معنويا بمعدل (17.91 ± 54.59) بالمقارنة مع جميع الاعمار الأخرى المصابة بمرض إلتهاب المفاصل مع إصابة البكتيريا للفئة العمرية 19-39 سنة وللفئة العمرية 61-81 سنة او عدمها ومجموعة الاصحاء ولم تظهر المجاميع الأخرى أي فروقات معنوية ابتداء من مجموعة الأصحاء بمعدل (5.15 ± 9.93) ، (6.33 ± 20) و (17.36 ± 17.75) للفئات العمرية تباعا ومجموعة المصابين بمرض إلتهاب المفاصل مع إصابة البكتيريا بمعدل (8.78 ± 25.65) ، و (10.30 ± 30.72) للفئة العمرية 19-39 سنة وللجنة العمرية 61-81 سنة تباعا وكذلك مجموعة المصابين بمرض إلتهاب المفاصل مع عدم وجود إصابة بكتيرية بمعدل (16.38 ± 31.08) ، و (3.36 ± 15.24) و (9.51 ± 18.41) للفئة العمرية تباعا كما في الشكل رقم 3-18.



C control , A patients with bacterial infection , B patients without bacterial infection

الشكل 18-3: تركيز IL-10 في مصل الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة حسب للفئات العمرية. علامة * تعني وجود فرق معنوي. C: بمثل مجموعة الأصحاء، A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية وB: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال ($P < 0.05$) تعني $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ تعني ***).

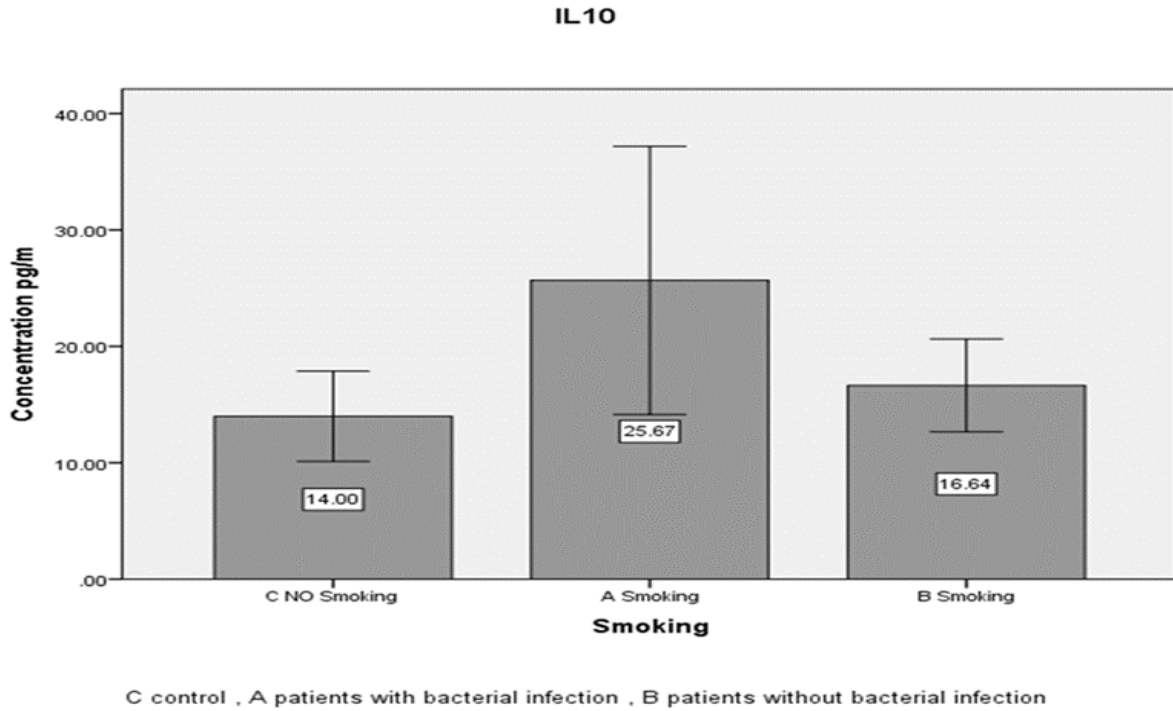
تثبت النتيجة اعلاة إن IL-10 يكون مرتفع بوجود الإصابة او عدمها خلال الإصابة في التهاب المفاصل كون هذا الإنترلوكين له عدة وظائف مناعية أخرى وعلى حدة مرض التهاب المفاصل وتأثيره على أعضاء الجسم كما لوحظ في دراسات أخرى (Lenertl *et al.*, 2005; Levast *et al.*, 2015; An, Yan *et al.*, 2018)

3-3-3-3 مستويات الإنترلوكين 10 (IL-10) حسب التدخين

3-3-3-3-1 مستويات الإنترلوكين 10 (IL-10) المدخنين للمجموعة A,B وغير المدخنين للمجموعة C

اشتملت الدراسة الحالية أيضا على المقارنة بين المرضى بمرض التهاب المفاصل غير المدخنين بوجود الإصابة او عدمها مقارنة مع مجموعة الاصحاء غير المدخنين على تراكيز IL-10 حيث تم أيضا تحديد العلاقة ودورها خلال مرض التهاب المفاصل حيث المجموعتين المرضية بالمقارنة مع الاصحاء غير المدخنين .

أظهرت الدراسة إن تأثير التدخين على مستوى IL-10 في دم المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية (25.67 ± 11.51) او عدم الإصابة بالبكتيريا (16.64 ± 3.99) مرتفع بالمقارنة مع مجموعة الأصحاء غير المدخنين (14 ± 3.87) إن هناك ارتفاع واضح لكنه غير معنوي في تركيز IL-10 في مجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل والبكتيريا المرضية مع عدم الإصابة بالبكتيريا ، كذلك هناك ارتفاع ملحوظ وغير معنوي بين المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية او عدم الإصابة بالبكتيريا كما في الشكل رقم 3-19 وهذا يدل إن التدخين يؤثر بشكل غير معنوي او (بصورة غير معنوية) على مستوى IL-10 لدى المصابين بمرض التهاب المفاصل والمصابين بالبكتيريا المرضية او عدم الإصابة لكنه لا يعتبر مؤشر بيولوجي مرتبط مع المرض.



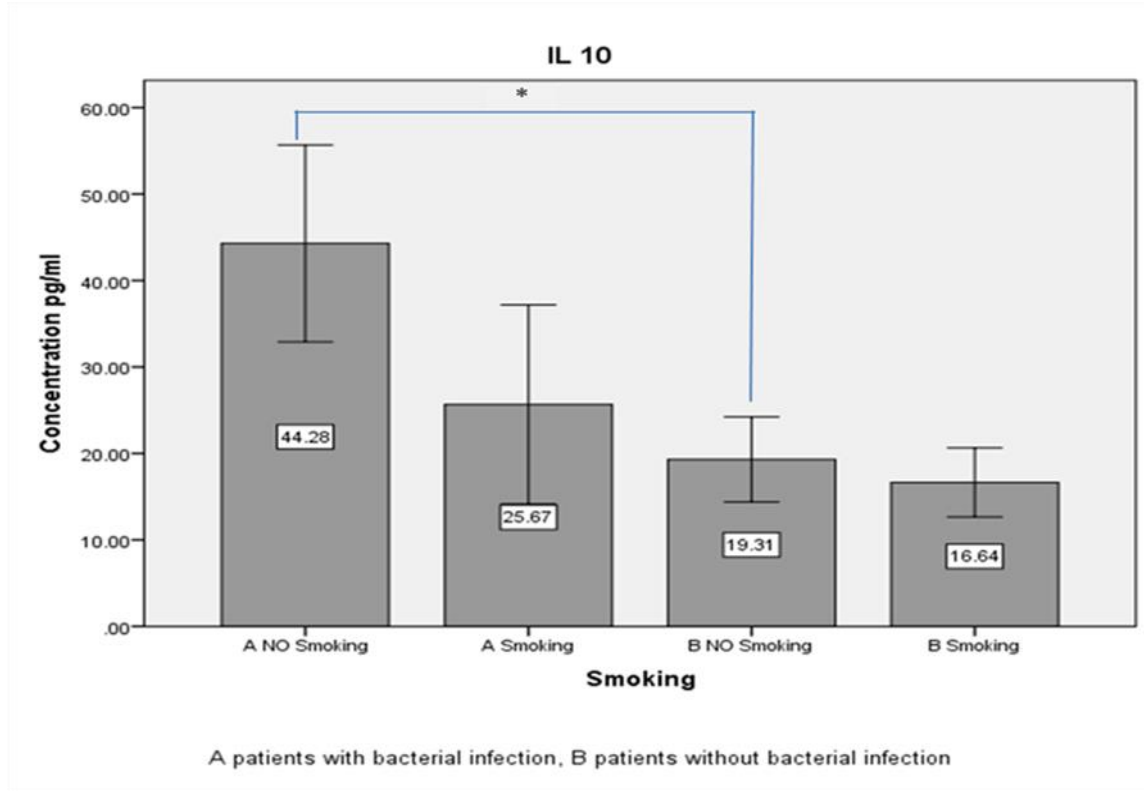
الشكل 3-19: تركيز IL-10 في مصل الدم للمجموعتين A و B المدخنين والمجموعة C غير المدخنين. علامة * تعني وجود فرق معنوي. A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم أي إصابة بكتيرية و B: مرضى التهاب المفاصل وليس لديهم أي إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

هناك دراسة علمية اثبتت إن التدخين يسبب اجهاد عملية الاكسدة على المرضى المصابين بمرض التهاب المفاصل وهذا بدوره سوف يزيد من عملية الالتهاب باستمرار في الجسم وبالتالي سوف يؤدي الى زيادة إنتاج المؤشرات المناعية منها زيادة تركيز IL-10 الذي يعتبر مضاد للالتهاب (Baka et al., 2009) وهذه النتيجة تفسر ارتفاع تركيز IL-10 في مصل المرضى

المصابين بالتهاب المفاصل لدراستنا الحالية والتي أظهرت إنّ هناك زيادة كبيرة في مجموعة المرضى المصابين بالتهاب المفاصل والمدخنين بوجود الإصابة البكتيرية بسبب الالتهاب الحاصل أيضا وارتفاع قليل مجموعة المرضى المصابين بالتهاب المفاصل والمدخنين بغياب الإصابة البكتيرية مقارنة بمجموعة الاصحاء. إلى جانب ذلك الى ذلك فقد اثبتت دراسة سابقة من قبل الباحثين (Matsunaga, Klein *et al.*, 2001) إنّ النيكوتين عند مرضى التهاب المفاصل سوف يزيد من فرصة الإصابة بالبكتيريا خصوصا بكتريا السل الرئوي وبالتالي سوف يزيد من فرصة ارتفاع تراكيز المسارات المناعية ومنها IL-10 والذي ظهر مرتفع بشكل كبير في هذه الدراسة وهذا يتفق مع دراستنا الحالية. مهما يكن فقد وجد في دراسة أخرى (Qu, Hou *et al.* 2019) اثبتت عدم ارتفاع تركيز IL-10 في مصل دم المصابين لمرضى التهاب المفاصل المدخنين ولكن هؤلاء الباحثين لم يتطرقوا الى وجود إصابة بكتريا مع المرضى او عدمها.

2-3-3-3-3 مستويات الإترلوكين-10 (IL-10) حسب المدخنين وغير المدخنين للمجموعة A والمجموعة B

من الأمور المهمة في هذه الدراسة أيضا وجد إنّ تركيز IL-10 في مصل دم المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية او عدم الإصابة بالبكتيريا والعلاقة مع تأثير التدخين للمرضى في مجموعة المدخنين وعدم التدخين على مجموعة غير المدخنين حيث وجد إنّ تركيز IL-10 في مجموعة غير المدخنين المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية كان مرتفع في مصل الدم (44.28 ± 11.38) مقارنة مع المجاميع الاخرى وقد سجل إنّ هناك ارتفاع معنوي واضح في تركيز IL-10 مقارنة مع مجموعة المدخنين المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية (25.67 ± 11.51)، ومجموعتي غير المدخنين (19.31 ± 4.92) والمدخنين (16.64 ± 3.99) المصابين بمرض التهاب المفاصل مع غياب الإصابة البكتيرية، كما في الشكل رقم 20-3 .

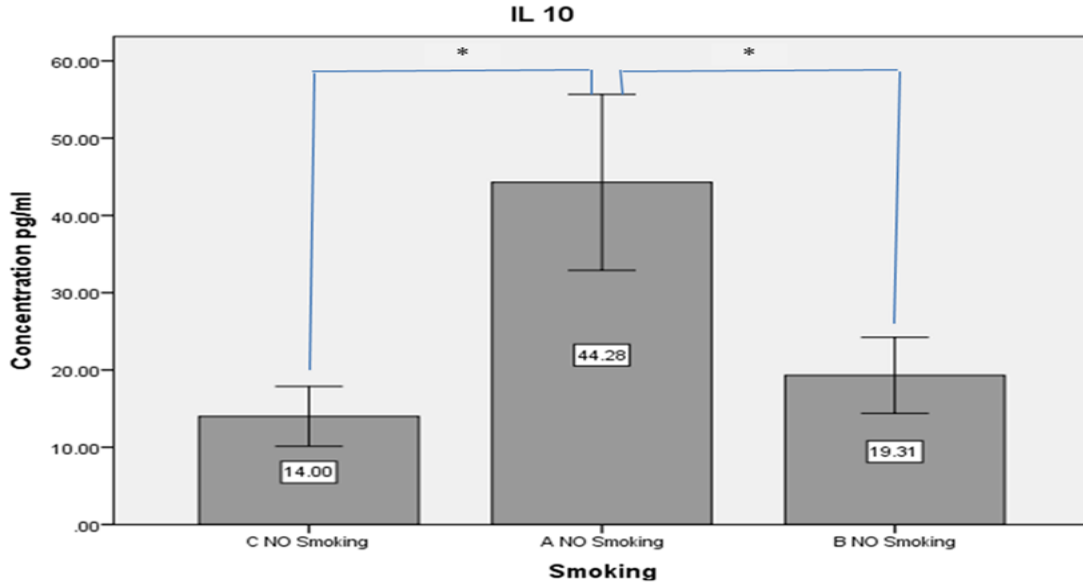


الشكل 3-20: تركيز IL-10 في مصل الدم لمجموعتي مرضى التهاب المفاصل من الدراسة المدخنين وغير المدخنين . علامة * تعني وجود فرق معنوي. A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم أي إصابة بكتيرية وB: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم أي إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

أظهرت الدراسة عدم تأثير التدخين بصورة واضحة على مجموعة مرضى التهاب المفاصل على تركيز IL-10 في المجاميع المصابة بالتهاب المفاصل غير المدخنين والذي يعتبر عامل خطورة على مرضى التهاب المفاصل (Sandhya et al., 2016) ولكنه كان له تأثير واضح في المجاميع المصابة بالتهاب المفاصل والبكتريا وغير المصابة في المجاميع الأخرى وهذا يتفق مع نتائج الباحثين كون IL-10 يعتبر مسار مناعي مضاد للالتهابات (Kelly et al., 2001; Steen et al., 2020) لذلك يرتفع عند ظهور أي إصابة.

3-3-3-3 مستويات الإنترلوكين 10 (IL-10) حسب غير المدخنين للمجاميع A,B,C

كما لوحظ إن تركيز IL-10 مرتفع لدى مرضى إلتهاب المفاصل غير المدخنين مقارنة مع الاصحاء الأصحاء وكان مرتفع بصورة معنوية مما لديهم اصابة بكتيرية مقارنة مع مجموعة بدون اصابة بكتيرية (44.28±11.38) ومجموعة الاصحاء (14± 3.878) كما في الشكل 3-21. وهذا يدل إن الإصابة البكتيرية لدى مرضى إلتهاب المفاصل يزيد من تركيز IL-10.



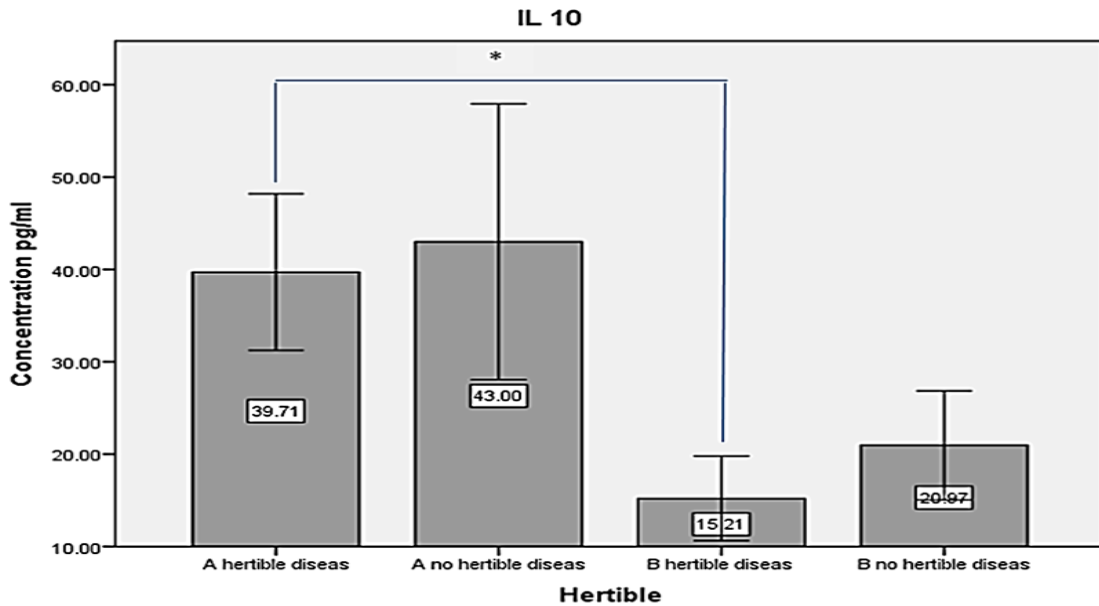
A patients with bacterial infection , B patients without bacterial infection

الشكل 3-21: تركيز IL-10 في مصل الدم للمجاميع الثلاث من الدراسة A و B و C غير المدخنين. C: بمثل مجموعة الأصحاء، A: يمثل مرضى إلتهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية و B: مرضى إلتهاب المفاصل ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

كما وجد إن تركيز IL-10 كان مرتفع بفروق معنوية واضحة مع الإصابة البكتيرية و منخفض في مجموعة المرضى المصابين بإلتهاب المفاصل مع غياب الإصابة البكتيرية ومجموعة الاصحاء وهذا يدل إن IL-10 مرتبط بصورة مباشرة مع الإصابة البكتيرية مرض إلتهاب المفاصل فقط لذلك ظهر هناك ارتفاع واضح في تركيز IL-10 وهذه الدراسة تتفق مع الباحثين (Hutchins *et al.*, 2013) الذين اثبتوا إن IL-10 هو المضادات للالتهابات ويرتفع في حالة الإصابة البكتيرية .

4-3-3-3 مستويات الإنترلوكين 10 (IL-10) حسب التأريخ العائلة للمرض

تناولت الدراسة الحالية ابضا اخذ معلومات من مرضى إلتهاب المفاصل في حال يوجد تاريخ عائلي للمرض او لا يوجد وتأثيرها على تركيز ومستوى IL-10 . كان تركيز IL-10 لدى مجموعة المصابين بمرض إلتهاب المفاصل والذين يوجد لديهم تاريخ عائلي للمرض (39.71±8.47) او لا يوجد (42.99±14.93) ولديهم إصابة بكتيرية مرضية مرتفعة بصورة كبيرة ومعنوية مقارنة مع المجموعتين المصابتين بمرض إلتهاب المفاصل ولديهم تاريخ عائلي للمرض (15.21±4.59) او لا يوجد (20.07±5.89) مع عدم وجود إصابة بكتيرية مرضية، كما في الشكل 3- 22 وهذا يثبت إن الإصابة البكتيرية تزيد من تركيز IL-10 ولا تأثير للعامل الوراثي بين المرضى.



A patients with bacterial infection , B patients without bacterial infection

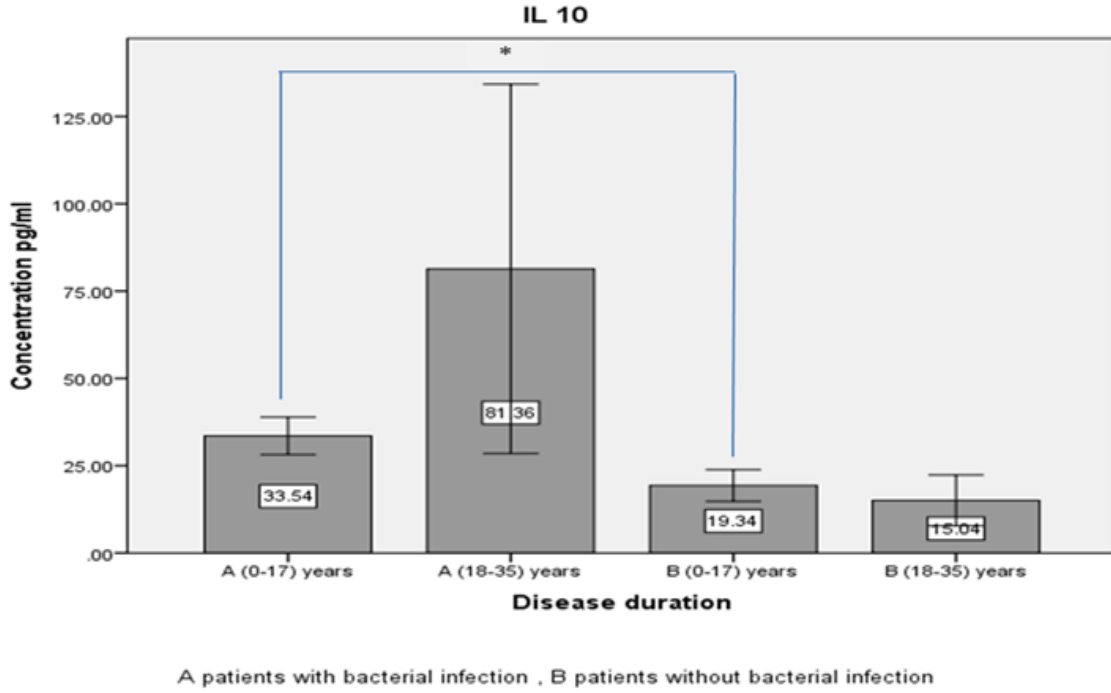
الشكل 3-22: تركيز IL-10 في مصل الدم لمجموعتي مرضى التهاب المفاصل من لديهم تاريخ عائلي للمرض ومن ليس لديهم تاريخ عائلي للمرض. A: يمثل مرضى إلتهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية وB: مرضى إلتهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

الجدير بالذكر إن هذه النتائج أظهرت ارتفاع كبير ومعنوي لتركيز IL-10 في مصل دم المصابين بمرض إلتهاب المفاصل بوجود الإصابة البكتيرية وهذا يؤكد دوره الواضح في الاستجابة المناعية لأنه يعتبر من المسارات المناعية المضادة للالتهاب ولكن لم يظهر هناك أي تأثير واضح للسجل العائلي ، علما إن هذه النتائج متفقة تماما مع دراسات أخرى لباحثين

(Noack *et al.*, 2017). حيث أظهرت ارتفاع كبير لتركيز IL-10 في مصل دم المصابين بمرض التهاب المفاصل بوجود سجل عائلي وعدم وجود ولكنه لم تتطرق الى وجود الإصابة او عدمها، وهذه الدراسة تعد إضافة لهذه الدراسات كونها اثبتت إن الإصابة لها دور كبير في رفع مستوى IL-10 مصل دم المصابين بمرض التهاب المفاصل وليس السجل العائلي.

5-3-3-3 مستويات الإنترلوكين-10 (IL-10) حسب مدة المرض بين المجموعة A و B

مدة مرض التهاب المفاصل لدى المرضى أيضا تم الكشف عن تأثيرها خلال هذه الدراسة على تركيز IL-10 وتحديد مدى تأثير المدة ودورها خلال مرض التهاب المفاصل حيث تم تقسيم عينات المصابين الى مجموعتين المدة الاولى 0-17 سنة والثانية 18-35 سنة في كلا المجموعتين مما لديهم إصابة بكتيرية او عدم وجود إصابة بكتيرية، إلى جانب ذلك وجدت الدراسة الحالية إن تركيز IL-10 مرتفع وبصورة معنوية خلال المدة 18-35 سنة مما لديهم إصابة بكتيرية (81.36 ± 52.87) وغير معنوي مع المدة 18-35 سنة ممن ليس لديهم إصابة بكتيرية وكان متقارب بين باقي المجاميع الأخرى وبدون أي فارق معنوي في المجموعة غير المصابة بالبكتريا للمدة 0-17 سنة (19.34 ± 4.53) و المصابة ببكتيريا مرضية للمدة 0-17 سنة والمدة 18-35 سنة (15.04 ± 7.286) وهذا يؤكد دور المدة المرضية للمرض تؤدي الى زيادة تركيز IL-10 ، كما في الشكل 3-23.



الشكل 3-23: تركيز IL-10 في مصل الدم لمجموعتي مرضى التهاب المفاصل الدراسة للمدة الزمنية لمرض التهاب المفاصل للمدة 0-17 سنة و18-35 سنة لمجموعتي مرضى التهاب المفاصل. A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية وB: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

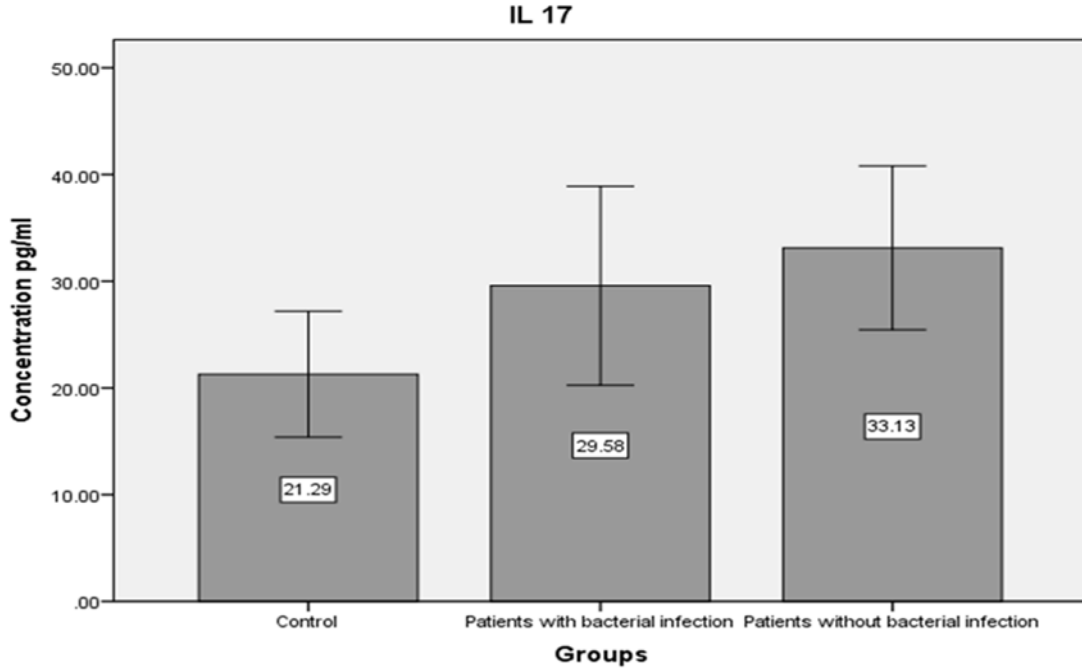
لوحظ إن تركيز IL-10 كان مرتفع بفروق معنوية واضحة مع زياد المدة مع الإصابة البكتيرية ولكن كان منخفض في مجموعة المرضى المصابين بالتهاب المفاصل مع غياب الإصابة البكتيرية وهذا يدل إن IL-10 مرتبط بصورة مباشرة مع الإصابة البكتيرية وليس المدة فقط وإنه مع طول المدة يتعرض المصابين بمرض التهاب المفاصل لإصابات بكتيرية مرضية أكثر لذلك ظهر هناك ارتفاع واضح في تركيز IL-10 وهذه الدراسة تتفق ضمناً مع الباحثين (Keystone, Wherry *et al.*, 1998; Hutchins, Diez *et al.*, 2013) الذين اثبتوا إن IL-10 هو المضادات للالتهابات ويرتفع في حالة الإصابة البكتيرية.

4-3-3 مستويات مصل السايبتوكين

1-4-3-3 مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب المجاميع A,B,C

كذلك تناولت هذه الدراسة تحديد مستوى IL-17 حيث كان على ارتفاع واضح ولكن غير معنوي بين المجاميع الثلاث لدى مجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل بعدم وجود الإصابة البكتيرية (33.13 ± 7.66) ومجموعة الاصحاء ومجموعة المصابين بمرض التهاب

المفاصل مع الإصابة بمعدل (29.58±9.32) ، مهما يكون كان مستوى IL-17 مرتفع في مجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل بوجود الإصابة البكتيرية اقل من مجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل بدون إصابة بكتيرية ومجموعة الاصحاء بمعدل (33.13±7.66) كما هو موضح في الشكل رقم 3-24.



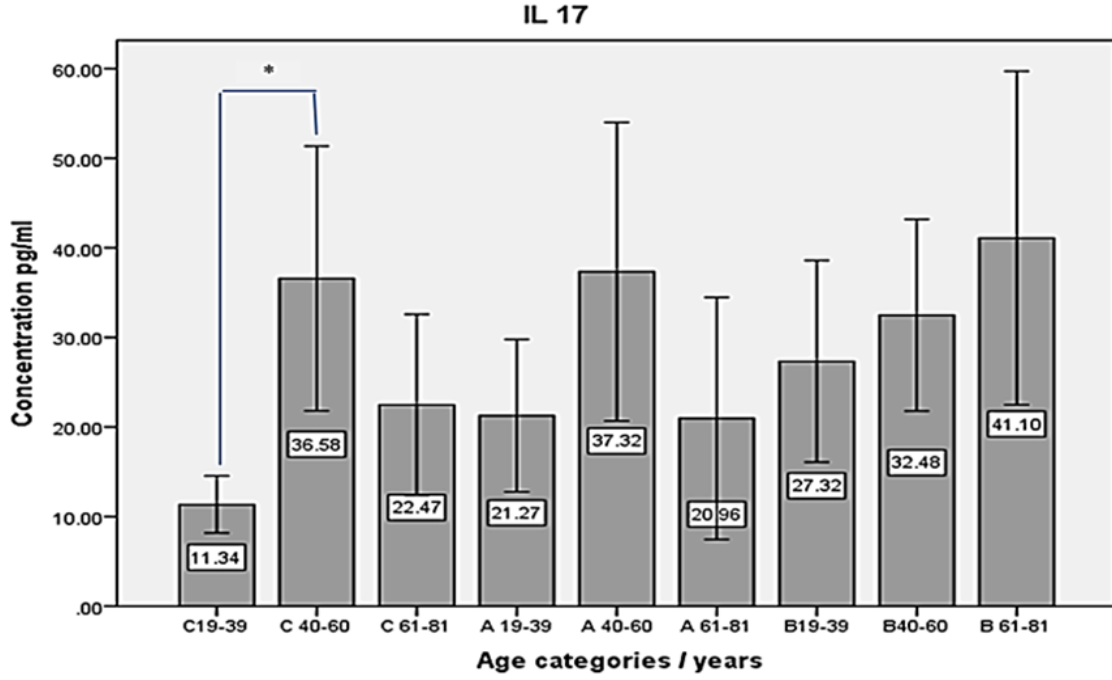
الشكل 3-24: تركيز IL-17 في مصل الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة. C: يمثل مجموعة الأصحاء، A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية و B: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

الجدير بالذكر إن IL17 يعتبر قبل الالتهاب pro-inflammatory ويكون منخفض بعد الإصابة لأنه يتأثر بمستوى المدرارات المناعية المضادة للالتهابات (McKenzie *et al.*, 2006, Gaffen, 2009; Gaffen *et al.*, 2014; Schinocca *et al.*, 2021)

وهذا يؤكد النتائج التي توصلت اليها الدراسة الحالية حيث إن IL-17 كان مرتفع في المرضى غير المصابين و اقل قليلا في مجموعة المرضى المصابين مع إصابة البكتيرية والاصحاء لأنه تأثر المؤشرات المناعية المضادة للالتهابات Cytokines .

2-4-3-3 مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب الفئات العمرية

كذلك لوحظ إن تأثير الفئات العمرية على مستوى IL-17 للمجموعتين المصابة بمرض التهاب المفاصل مع إصابة البكتيريا او عدمها ومجموعة الأصحاء، وكانت الفئات العمرية مقسمة الفئة العمرية 39-19 سنة والفئة العمرية 60-40 سنة والفئة العمرية 81-61 سنة، وكانت النتائج للفئة العمرية 39-19 سنة والفئة العمرية 60-40 سنة والفئة العمرية 81-61 سنة على مستوى IL-17 واطهرت النتائج إن الفئة العمرية 60-40 سنة في مجموعة الأصحاء مرتفعة جدا معنويا بمعدل (36.58 ± 14.77) وفي باقي الاعمار الأخرى لنفس المجموعة والتي سجلت كما يلي (11.34 ± 3.18) للفئة العمرية 39-19 سنة و (22.47 ± 10.10) في الفئة العمرية 81-61 سنة، ولم تظهر باقي الفئات العمرية أي فروقات معنوية للمجموعتين المصابتين بالتهاب المفاصل مع إصابة البكتيريا المرضية بمعدل (21.27 ± 8.50) ، (37.32 ± 16.66) و (20.96 ± 13.50) للفئات العمرية تباعا او عدمها بمعدل (27.32 ± 11.25) ، (32.48 ± 10.70) و (41.10 ± 18.61) للفئات العمرية في المجموعة، كما في الشكل رقم 3-25. وهذه النتيجة تدل إنه لا تأثير لمستوى IL-17 في المجموعتين المصابتين بالتهاب المفاصل بوجود الإصابة بالبكتيريا المرضية وعدمها كما في الشكل 3-25.



C control, A patients with bacterial infection, B patients without bacterial infection

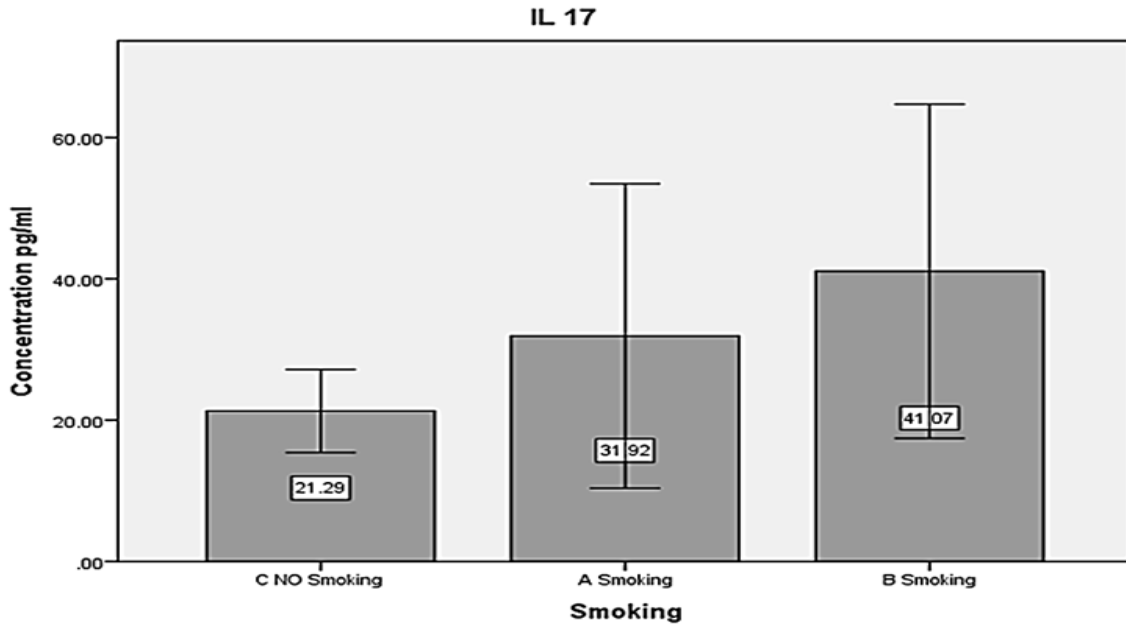
الشكل 3-25: تركيز IL-17 في مصل الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة حسب الفئات العمرية. علامة * تعني وجود فرق معنوي. C: بمثل مجموعة الأصحاء، A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية، B: مرضى التهاب المفاصل وليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال ($P \leq 0.05$) تعني $P \leq 0.01$ ، $P \leq 0.001$ تعني ***).

أظهرت النتائج الحالية أنّ هناك تذبذب في تراكيز IL-17 ولا توجد أي فروقات معنوية بين المجاميع وفئاتها العمرية وهذا يؤكد عدم تأثير العمر كثيرا على تركيز IL-17 بوجود الإصابة او عدمها وعند اخذ معدلات تركيز IL-17 لجميع الاعمار مجتمعة للمصابين بمرض التهاب المفاصل بوجود الإصابة او عدمها كانّ هناك ارتفاع واضح لتركيز IL-17 في مصل المرضى المصابين وهذه النتيجة تتفق مع باحثين آخرين حيث وجدوا أنّ هناك ارتفاع واضح لتركيز IL-17 للمصابين بمرض التهاب المفاصل مع وجود الإصابة البكتيرية او عدمها (Ziolkowska et al. 2000; Kohno et al., 2008; Genovese, Greenwald et al., 2014; Li, Chou et al., 2019; Robert and Miossec, 2019)

3-4-3-3 مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب التدخين

1-3-4-3-3 مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) المدخنين للمجموعة A,B وغير المدخنين للمجموعة C

كذلك وجدت دراستنا إن تأثير التدخين على مستوى IL-17 في دم المصابين بمرض التهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية (31.92 ± 21.541) او عدم الإصابة (41.07 ± 23.63) مرتفع بصورة واضحة ولكن غير معنوية بالمقارنة مع مجموعة الاصحاء الأسماء غير المدخنين (21.29 ± 5.89)، ولكن لوحظ إن هناك ارتفاع غير معنوي في تركيز IL-17 في مجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل مع عدم الإصابة البكتيرية المرضية ، كما في الشكل 3-26 وهذا يدل إن التدخين لا يؤثر بصورة معنوية على مستوى IL-17 لدى المصابين بمرض التهاب المفاصل والمصابين بالبكتيريا المرضية ولا يعتبر مؤشر بيولوجي بتأثير بالمرض.



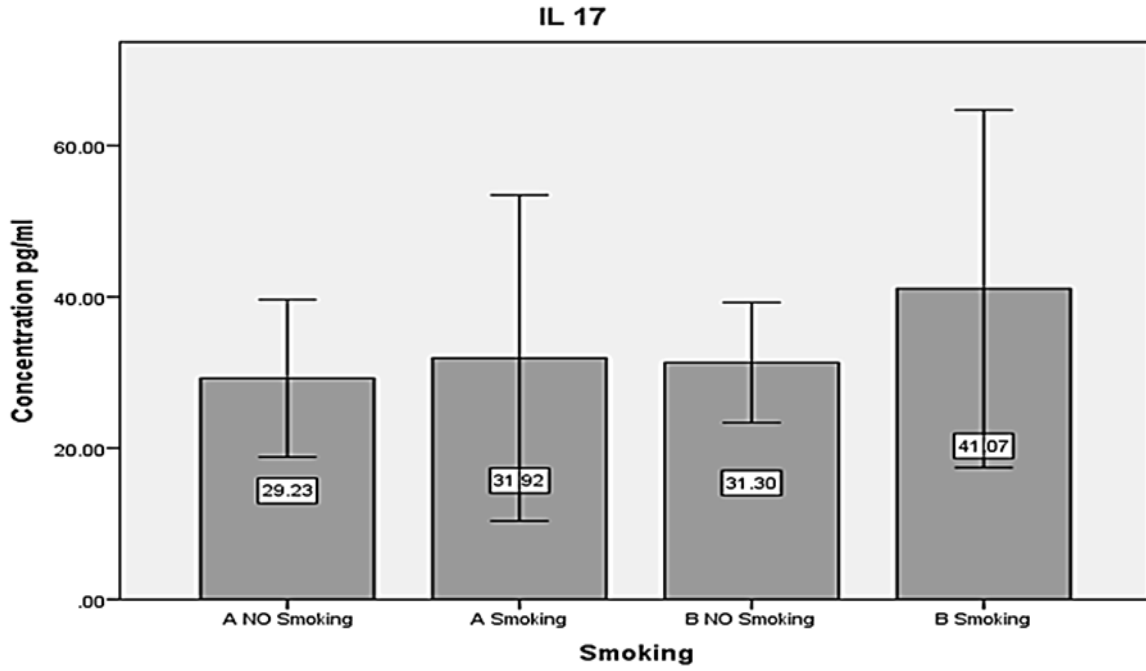
C control , A patients with bacterial infection , B patients without bacterial infection

الشكل 3-26: تركيز IL-17 في مصل الدم لثلاثة مجاميع من الدراسة للمجموعتي المرضى A وB المدخنين ومجموعة الأصحاء C غير المدخنين . علامة * تعني وجود فرق معنوي. C: يمثل مجموعة الأصحاء A : يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم أي إصابة بكتيرية وB: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم أي إصابة بكتيرية. (تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

إنّ الدراسة الحالية قد وجدت إنّ تركيز IL-17 كإنّ مرتفع في مجموعة مرضى إلتهاب المفاصل المدخنين بوجود او غياب الإصابة البكتيريا ويعتبر IL-17 من المسارات المناعية التي ترتفع بعد الإصابة (Wong *et al.*, 2000, Lochner *et al.*, 2008, Hot, Lenief *et al.*, 2012) وهذه النتائج تتفق مع دراسة حديثة (Sag *et al.*, 2017, Qu, Hou *et al.*, 2019) التي اكدت أيضا ارتفاع تركيز لدى مجموعة المرضى المصابين بإلتهاب المفاصل المدخنين، لكنها لم تشر الى الإصابات البكتيريا كما في الدراسة الحالية

3-3-4-3 مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب المدخنين وغير المدخنين للمجموعة A والمجموعة B

كذلك اشارت الدراسة الحالية إنّ تركيز IL-17 في مصل دم المصابين بمرض إلتهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية (31.92 ± 21.54) او عدم الإصابة بالبكتيريا (41.07 ± 23.63) عند المرضى في مجموعة المدخنين مرتفع التركيز بالمقارنة مع مجموعة غير المدخنين المصابين بمرض إلتهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية المرضية (29.23 ± 10.40) او عدم الإصابة بالبكتيريا (31.30 ± 7.95) ، كما في الشكل رقم 3-27 . لكن لم يظهر أي فرق معنوي وكان تركيز IL-17 مرتفع في مصل الدم مجموعة غير المدخنين والمصابين بمرض إلتهاب المفاصل مع غياب الإصابة البكتيرية، كما في الشكل رقم 3-27.



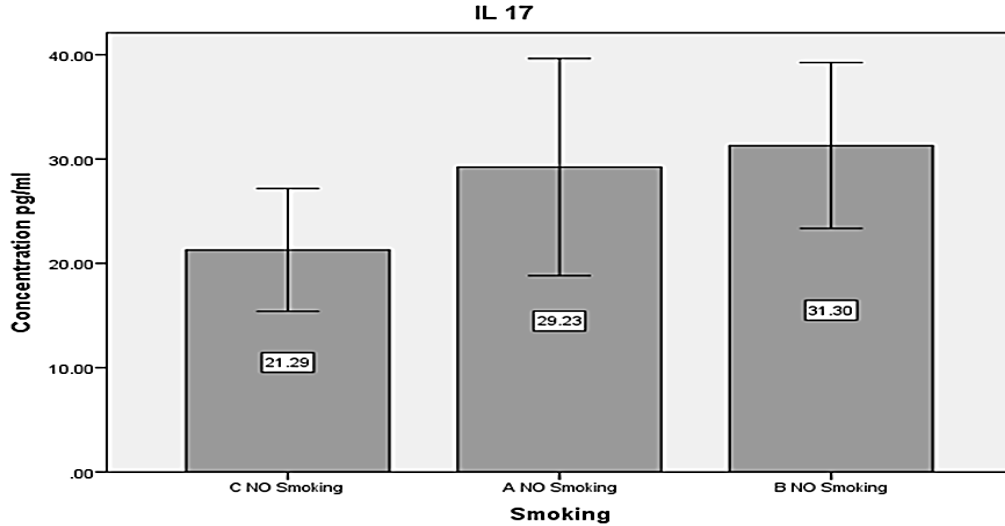
A patients with bacterial infection, B patients without bacterial infection

الشكل 3-27: تركيز IL-17 في مصلى الدم لمجموعتي مرضى التهاب المفاصل A و B المدخنين وغير المدخنين. علامة * تعني وجود فرق معنوي. A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم أي إصابة بكتيرية و B: مرضى التهاب المفاصل وليس لديهم أي إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

عند مقارنة تركيز IL-17 في المجاميع المصابة بالتهاب المفاصل للمدخنين وغير المدخنين بوجود أو غياب الإصابة البكتيرية إن تركيز IL-17 كان مرتفع في مجموعة مرضى التهاب المفاصل المدخنين بوجود أو غياب الإصابة البكتيرية

3-3-4-3-3 مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب غير المدخنين للمجاميع A,B,C

كما لوحظ إن تركيز IL-17 مرتفع بصورة غير معنوية لدى مرضى التهاب المفاصل غير المدخنين ممن ليس لديهم أي إصابة بكتيرية (31.30 ± 7.95) بالمقارنة مع مجموعة الأصحاء (21.29 ± 5.89) وأكثر قليلا من مجموعة ممن لديهم إصابة بكتيرية (29.23 ± 10.40)، وهذا يدل إن مرض التهاب المفاصل يؤثر على مستوى وارتفاع تركيز IL-17 ، كما في الشكل 3-28.



A patients with bacterial infection, B patients without bacterial infection

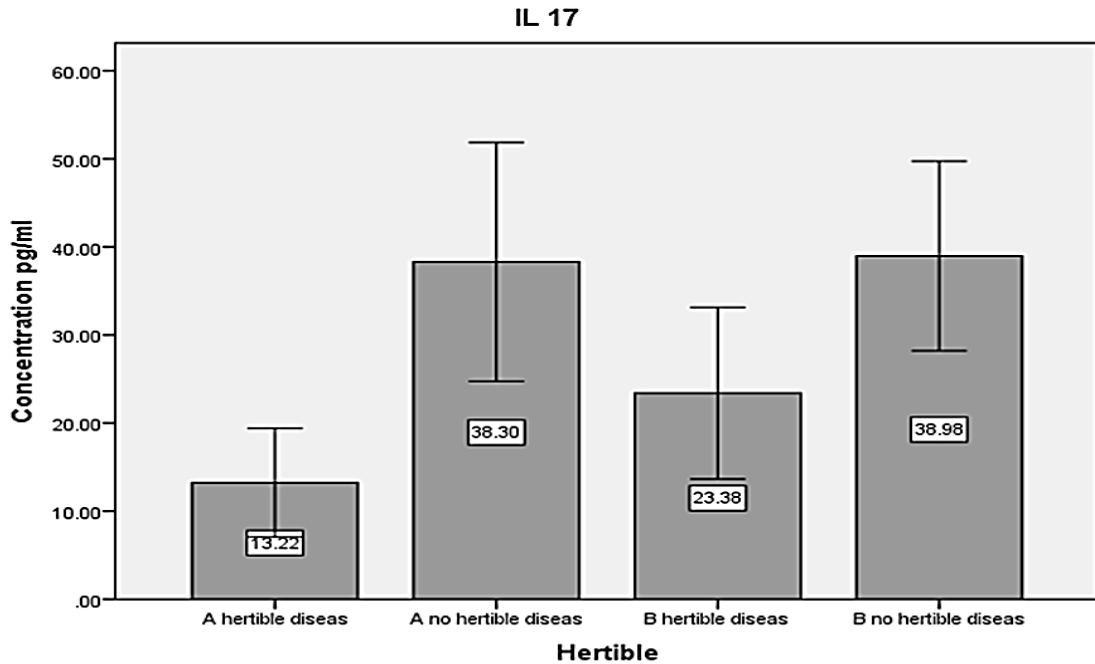
الشكل 3-28: تركيز IL-17 في مصل الدم لثلاث مجاميع من الدراسة A و B و C غير المدخنين. يمثل مجموعة الأصحاء، A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية و B: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

وجد في الدراسة الحالية إن تركيز IL-17 في المجاميع المصابة بالتهاب المفاصل غير المدخنين مع غياب الإصابة مرتفع قليلا مقارنة مع مجموعة المصابين بالتهاب المفاصل مع الإصابة البكتيرية ومجموعة الاصحاء او الأصحاء بفروقات غير معنوية وكون IL-17 من المؤشرات المناعية التي ترتفع بعد الإصابة (Wong *et al.*, 2000; Lochner *et al.*, 2008; Hot *et al.*, 2012) قد يفسر إن هناك صلة كبيرة بين هذا المؤشر المناعي ومرض التهاب المفاصل.

كما إن هذه النتائج كما ذكر سابقا تتفق مع دراسة حديثة (Sag *et al.*, 2017 ; Qu, Hou *et al.*, 2019) التي اكدت أيضا ارتفاع تركيز لدى مجموعة المرضى المصابين بالتهاب المفاصل المدخنين. بالجدير بالذكر إن الدراسات السابقة لهذه الدراسة لم تشر الى الإصابات البكتريا كما في الدراسة الحالية.

4-4-3-3 مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب التأريخ العائلي للمرض

كذلك كان تركيز IL-17 لدى مجموعة المصابين بمرض التهاب المفاصل وليس لديهم تاريخ عائلي للمرض ولديهم إصابة بكتيرية مرضية (38.30 ± 13.55) او عدم وجود إصابة بكتيرية مرضية (38.98 ± 10.76) مرتفع بصورة كبيرة ولكن غير معنوي مقارنة مع المجموعتين المصابتين بمرض التهاب المفاصل ولديهم تاريخ عائلي للمرض مع وجود إصابة بكتيرية مرضية (13.22 ± 6.18) او عدم وجود إصابة بكتيرية مرضية (23.38 ± 6.18)، كما في الشكل 29-3 وهذا يثبت إن مرض التهاب المفاصل ممن ليس لديهم تاريخ عائلي للمرض يزيد من تركيز IL-17 ولا تأثير للعامل الوراثي بين المرضى او الإصابة البكتيرية.



A patients with bacterial infection, B patients without bacterial infection

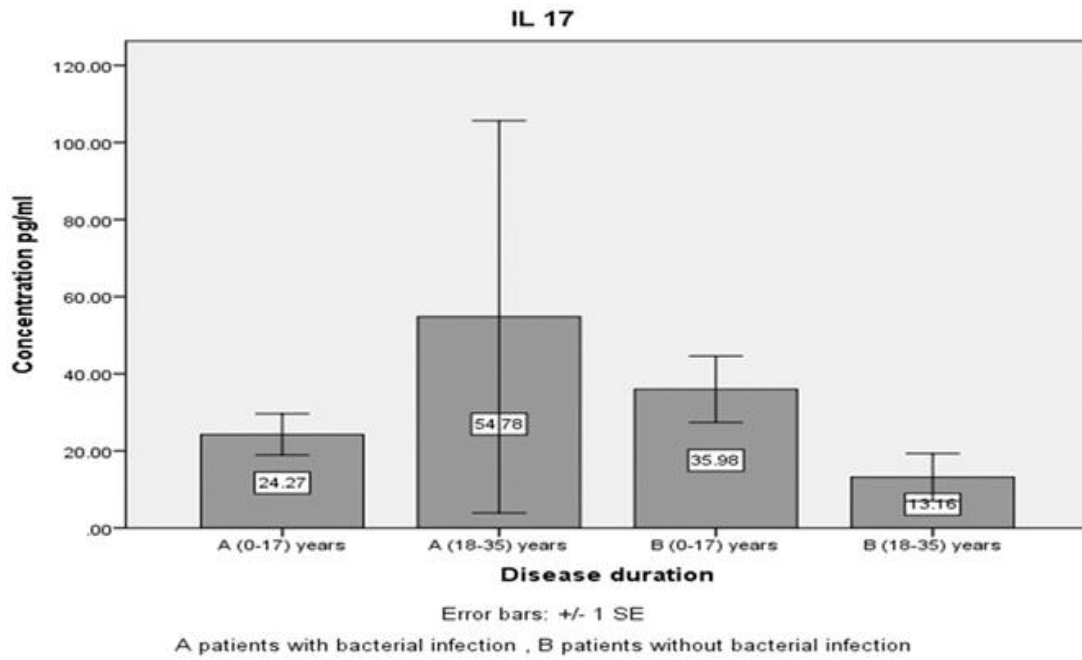
الشكل 29-3: تركيز IL-17 في مصلى الدم للمجموعتي المرضى من لديهم تاريخ عائلي للمرض ومن ليس لديهم تاريخ عائلي للمرض. A: يمثل مرضى التهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية وB: مرضى التهاب المفاصل و ليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

لقد بينت نتائج هذه الدراسة إن تركيز IL-17 كان مرتفع بصورة واضحة ولكنه غير معنوي في مجموعتي مرضى التهاب المفاصل من ليس لديهم سجل عائلي بالمرض مقارنة مع من لديهم سجل مرضي مع المرض بوجود او غياب الإصابة البكتيرية وهذا يدل إن السجل الوراثي للمرض اظهر تغير محدود غير معنوي في خفض تركيز IL-17 في مصلى دم المصابين بمرض التهاب المفاصل، ولا توجد دراسات أخرى اثبتت أي تأثير للسجل العائلي على تركيز IL-17

لدى مرضى إلتهاب المفاصل كما في الدراسة الحالية ولكن أظهرت الدراسات أخرى (Noack *et al.*, 2017; Fauny *et al.*, 2020; Li and Tsokos, 2021; Schinocca *et al.*, 2021). إنَّ IL-17 له دور كبير ويكون مرتفع لدى مرضى إلتهاب المفاصل وأيضا في الإصابات البكتيرية المرضية والفطريات وغيرها .

3-3-4-5 مستويات الإنترلوكين-17 (IL-17) حسب مدة المرض بين المجموعة A وB

وجدت الدراسة الحالية إنَّ تركيز IL-17 مرتفع ولكن بصورة غير معنوية لدى مدة 18-35 سنة مما لديهم إصابة بكتيرية (54.78 ± 50.87) وكان متفاوت بين باقي المجموع الأخرى المصابة (24.27 ± 5.37) والغير مصابة بكتيريا مرضية 0-17 سنة (35.98 ± 8.61) و18-35 سنة (13.16 ± 6.18) وهذا يؤكد دور المدة المرضية للمرض بوجود الإصابة البكتيرية تؤدي الى زيادة تركيز IL-17 ، كما في الشكل 3-30.



الشكل 3-30: تركيز IL-17 في مصل الدم لمجموعتي مرضى إلتهاب المفاصل الدراسة للمدة الزمنية لمرض التهاب المفاصل للمدة 0-17 سنة و18-35 سنة. A: يمثل مرضى إلتهاب المفاصل ولديهم إصابة بكتيرية وB: مرضى إلتهاب المفاصل وليس لديهم إصابة بكتيرية. تمت الإشارة إلى مستوى الاحتمال (* تعني $P \leq 0.05$ ، ** تعني $P \leq 0.01$ ، *** تعني $P \leq 0.001$).

وجدت الدراسة الحالية إنَّ تركيز IL-17 كان مرتفع بفروق غير معنوية واضحة مع زياد المدة والإصابة البكتيرية او مرتفع قليلا مع قلة المدة مع غياب الإصابة البكتيرية وكان منخفض في مجموعة المرضى المصابين بإلتهاب المفاصل مع غياب الإصابة البكتيرية وهذا يدل إنَّ

إرتفاع تركيز IL-17 يتغير باستمرار وغير ثابت كونه من المؤشرات لمناعية التي ترتفع قبل او عند بدا الإصابة (Siloşi et al., 2016) وهذا يتفق مع دراستنا الحالية لأنه طول المدة قد يتعرض المصاب بالتهاب المفاصل بإصابات كثيرة تغير تركيز IL-17 في مصل دم المصابين بمرض إلتهاب المفاصل وأيضا بداية الإصابة ترفع من تركيزه ولا توجد دراسة أوضحت تأثير المدة على تركيز IL-17 بصورة مباشرة لدى المرضى المصابين بمرض إلتهاب المفاصل.

الفصل الرابع الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions & Recommendations

الفصل الرابع: الاستنتاجات والتوصيات

1-4 الاستنتاجات

الاستنتاجات التي توصل إليها البحث

- 1- تؤثر الإصابة البكتيرية للمجري البولية لمرضى التهاب المفاصل الرثوي على المعايير المناعية المدروسة.
- 2- ظهور الجين CsgA بشكل واضح في العزلات البكتيرية .
- 3- توجد إختلافات محورية في مستويات خلايا CD4+T و CD20+B و IL-10 نتيجة لتأثير الإصابة بالبكتريا ووجود مرض مناعي ذاتي (RA) .
- 4- لم تسجل فروق في مستوى مضادات الإنترلوكين -17 (IL-17) بين المصابين بالتهاب المفاصل والأصحاء.

2-4 التوصيات

- 1- دراسة معايير مناعية أخرى مثل CD8
- 2- قياس بروتينات لها علاقة بمرض الروماتزم الرثوي ويمكن إن تنثر بشكل او باخر نتيجة الإصابات البكتيرية.
- 3- البحث والتقصي عن جينات بكتيرية اخرى يمكن إن تكون لها علاقة مباشرة بتفاقم المرض.

الفصل الخامس

المصادر

References

References

المصادر والمراجع

- Abbott, S. L. (2007). *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, Murray, P. R., et al. 2007. 2007.
- Adam, M., Abramson, S. B. and Pillinger, M. H. (2005). The fibroblast-like synovial cell in rheumatoid arthritis: a key player in inflammation and joint destruction. *Clin. Immunol.* 115, 118-128. 2005. 2005.
- Ahola, K., Saarinen, A., Kuuliala, A., Leirisalo-Repo, M., Murtomaa, H., & Meurman, J. H. (2015). Impact of rheumatic diseases on oral health and quality of life. *Oral diseases*, 21(3), 342-348.
- Alamanos, Y. & Drosos, A. ; (2005) . Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev.* ; 4 : 130 - 136.
- Alanara t, KarStila K, moilanen t, Silvennoinen o, iSomaKi p. Expression of IL-10 family cytokines in rheumatoid arthritis: elevated levels of IL-19 in the joints. *Scand J Rheumatol* 2010 and 118-126., 39:. 2010. 2010.
- Aletaha, D. ; Neogi, T. ; Silman, A. J. ; Funovits, J.; Felson, D. T. ; Bingham III, C. O.& Hawker, G. (2010). rheumatoid arthritis classification criteria. *Arthritis and Rheumatism*; 62(9), 2569-2581.
- An, Q., et al. (2018). "Enhanced neutrophil autophagy and increased concentrations of IL-6, IL-8, IL-10 and MCP-1 in rheumatoid arthritis." *International immunopharmacology* 65: 119-128.
- Arend, W. P., Gabay, C. (2004). Cytokines in the rheumatic diseases. *Rheum Dis Clin North Am.* 30, 41-67. 2004. 2004.
- Arnett, F. C., Edworthy, S. M., Bloch, D. A. McShane, D. J., Fries, J. F., Cooper, N. S., Healey, L. A., Kaplan, S. R., Liang, M. H., Luthra, H. S. (1988). The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis . *Arthritis Rheum.* 31(3), 315-24.
- Atkins, S. R., et al. (2006). "Morphologic and quantitative assessment of CD20+ B cell infiltrates in rheumatoid arthritis–associated nonspecific interstitial pneumonia and usual interstitial pneumonia." *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology* 54(2): 635-641.

- Baka, Z., Buzás, E., & Nagy, G. (2009). Rheumatoid arthritis and smoking: putting the pieces together. *Arthritis research & therapy*, 11(4), 1-13.
- Balandya, E., et al. (2016). "Alteration of lymphocyte phenotype and function in sickle cell anemia: Implications for vaccine responses." *American journal of hematology* 91(9): 938-946.
- Barnhart MM, Chapman MR (2006). "Curli biogenesis and function". *Annual Review of Microbiology*. 60: 131–47. 2006. 2006.
- Bass, P. F., et al. 2003. 2003.
- Baxamusu B. N., (2011), "Klebsiella pneumoniae Treatment Buzzle", (2000-2011, 2012) Buzzle.com. 2011. 2011.
- Bayry, J., et al. (2007). "Rescuing CD4+ CD25+ regulatory T-cell functions in rheumatoid arthritis by cytokine-targeted monoclonal antibody therapy." *Drug discovery today* 12(13-14): 548-552.
- Bazzoni, F., et al. (2010). "Understanding the molecular mechanisms of the multifaceted IL-10-mediated anti-inflammatory response: lessons from neutrophils." *European journal of immunology* 40(9): 2360-2368.
- Bechman, K., et al. (2020). "O26 Non-serious infections in patients with RA: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register for Rheumatoid Arthritis." *Rheumatology* 59(Supplement_2): keaa110. 025.
- Benomar, S., et al. (2021). "Plasmid-encoded H-NS controls extracellular matrix composition in a modern *Acinetobacter baumannii* urinary isolate." *Journal of bacteriology* 203(21): e00277-00221.
- Bien, J., et al. (2012). "Role of uropathogenic *Escherichia coli* virulence factors in development of urinary tract infection and kidney damage." *International journal of nephrology* 2012.
- Boden, Ismail. (2009.) The effect of the methanolic extract of the shandoura plant (*Ajuqaivacl*) on collagen-induced arthritis type II in patients with Rattan, Master's Thesis, Narol: 15-30.
- Bongartz, T., et al. (2007). "Citrullination in extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis." *Rheumatology* 46(1): 70-75.

- Borghet, A. V., Raus J. G. and Stinissen, P. (2001). The Autoimmune Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis: Role of Autoreactive T Cells and New Immunotherapies. *Semin Arthritis Rheum.* 31, 160-175. 2001. 2001.
- Bugatti, S., Vitolo, B., Caporali, R., Montecucco, C., & Manzo, A. (2014). B cells in rheumatoid arthritis: from pathogenic players to disease biomarkers. *BioMed research international*, 2014.
- Caboni, M., Pédrón, T., Rossi, O., Goulding, D., Pickard, D., Citiulo, F., et al. (2015). An O antigen capsule modulates bacterial pathogenesis in *Shigella sonnei*. *PLoS Pathog.* 11:e1004749. 2015. 2015.
- Calderón-Parra, J., et al. (2022). "Incidence, Clinical Presentation, Relapses and Outcome of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection in Patients Treated With Anti-CD20 Monoclonal Antibodies." *Clinical Infectious Diseases* 74(10): 1786-1794.
- Cámara-Almirón, J., et al. (2018). "Beyond the expected: the structural and functional diversity of bacterial amyloids." *Critical reviews in microbiology* 44(6): 653-666.
- Carol Eustice , "An Overview of Rheumatoid Arthritis" www.verywellhealth.com, Retrieved 16-5-2019.
- Carson, D. A., Chen, P. P. and Kipps, T. J. (1991). New roles for rheumatoid factor. *J Clin Invest.* 87(2), 379-83. 1991. 1991.
- Carter na, vaSConCelloS r, et al. Mice lacking endogenous IL-10-producing regulatory B cells develop exacerbated disease and present with an increased frequency of Th1/Th17 but a decrease in regulatory T cells. *J Immunol* 2011 and 5569-5579., 186:. 2011. 2011.
- Chapman MR, Robinson LS, Pinkner JS, Roth R, Heuser J, Hammar M, et al. (February 2002). "Role of *Escherichia coli* curli operons in directing amyloid fiber formation". *Science.* 295 (5556): 851–5. 2002. 2002.
- Charles A. Janeway Jr., Travers Paul *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease* (third ed.), Garland Publishing, New York (1997). 1997. 1997.
- Choy, E. H. S., Panayi, G. S. (2001). Cytokine pathways and joint inflammation in Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med.* 344, 907- 916. 2001. 2001.

- Christodoulou, C., Choy, E. H. (2006). Joint inflammation and cytokine inhibition in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Med.* 6, 13-19. 2006. 2006.
- Cofer, (2004). *Rhumatologie, connaissances et pratique.* Ed. Mason. Pp. 43-47. 2004. 2004.
- Cohn de lara, A. (2006). *Rumatologie, orthopédie et traumatologie soins infirmiers.* Ed. Masson. Pp. 248. 2006. 2006.
- Cope, A. P., et al. (2007). "The central role of T cells in rheumatoid arthritis." *Clinical and experimental rheumatology* 25(5): S4.
- Corker, C., et al. 2000. 2000.
- Croft, M., & Siegel, R. M. (2017). Beyond TNF: TNF superfamily cytokines as targets for the treatment of rheumatic diseases. *Nature Reviews Rheumatology*, 13(4), 217-233.
- Cruickshank MN, Ulgiati D. The role of notch signaling in the development of a normal B Cell repertoire. *Immunol Cell Biol.* 2010 and 88:117–24. 2010. 2010.
- Crum, N. F. (2004). "Bacterial pyomyositis in the United States." *The American journal of medicine* 117(6): 420-428.
- Cuchacovich, R., et al. (2002). "Detection of bacterial DNA in Latin American patients with reactive arthritis by polymerase chain reaction and sequencing analysis." *The Journal of Rheumatology* 29(7): 1426-1429.
- Cush, J. J., & Kavanaugh, A. (2014). pregnancy and rheumatoid arthritis—do not let the perfect become the enemy of the good. *Current Opinion in Rheumatology*, 26(3), 299-301.
- Cush, J. J., et al. (1995). "Elevated interleukin-10 levels in patients with rheumatoid arthritis." *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology* 38(1): 96-104.
- Cutolo, M., Sulli, A., Capellino, S., Villaggio, B., Montagna, P., Seriolo, B., & Straub, R. H. (2004). Sex hormones influence on the immune system: basic and clinical aspects in autoimmunity. *Lupus*, 13(9), 635-638.
- D'Amico, E., Zanghì, A., Gastaldi, M., Patti, F., Zappia, M., & Franciotta, D. (2019). Placing CD20-targeted B cell depletion in multiple sclerosis

- therapeutic scenario: Present and future perspectives. *Autoimmunity Reviews*, 18(7), 665-672.
- Davis, M. M. (2008). A prescription for human immunology. *Immunity*, 29(6), 835-838.
- Deng, G., Lenardo, M., (2006). The role of immune cells and cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Drug Discov Today Dis Mech.* 3, 163-167. 2006. 2006.
- Deng, G., Lenardo, M., (2006). The role of immune cells and cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Drug Discov Today Dis Mech.* 3, 163-167. 2006. 2006.
- Dobkin, P. L. ; Filipski, M. ; Looper, K. ; Schieir, O. & Baron, M. (2008). Identifying target areas of treatment for depressed early inflammatory arthritis patients. *Psychother. and psychosomat.*, 77, 298 - 305.
- Doran MF, Crowson CS, Pond GR, et al. Frequency of infection in patients with rheumatoid arthritis compared with controls: a population-based study. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2287-2293.
- Duława J. Zakażenia układu moczowego. W: *Wielka interna – nefrologia*. Myśliwiec M (red.). Medical Tribune Polska, Warszawa 2009; 330-342
- Ebringer A, Rashid T, Wilson C. Rheumatoid arthritis, Proteus, anti-CCP antibodies and Karl Popper. *Autoimmun Rev* 2010; 9: 216-223.
- Ebringer A, Rashid T. Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease triggered by Proteus urinary tract infection. *Clin Dev Immunol* 2006; 13: 41-48
- Ebringer, A. and T. Rashid (2014). "Rheumatoid arthritis is caused by a Proteus urinary tract infection." *Apmis* 122(5): 363-368.
- Edwards, J. C., Leandro, M. J., & Cambridge, G. (2005). B lymphocyte depletion in rheumatoid arthritis: targeting of CD20. In *B Cell Trophic Factors and B Cell Antagonism in Autoimmune Disease* (Vol. 8, pp. 175-192). Karger Publishers.
- Ehrenstein, M. R., Evans, J. G., Singh, A., Moore, S., Warnes, G., Isenberg, D. A., & Mauri, C. (2004). Compromised function of regulatory T cells in

- rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF α therapy. The Journal of experimental medicine, 200(3), 277-285.
- Elder, J.S.(2004) .Urinary disorders in infants and children,In: Nelson Textbook of Pediatrics, Behrman, R.E., Kleigman, R.M. and Jenson, H.B.(eds), 17th ed. , Saunders, New Delhi. 1785-1789. 2004. 2004.
- Emery, P., Zeidler, H. and Kvien, T.K.(1999) Celecoxibversus diclofenac in long-term management of rheumatoid arthritis: randomised double-blind comparison. Lancet. 354, 2106-2111. 1999. 1999.
- Emody, L., Kerenyi, M. and Nagy, G.(2003). Virulence factors of uropathogenic Escherichia coli. Int J Antimicrob Agents and 2:29–33., 22 Suppl. 2003. 2003.
- Emody, L., Kerenyi, M. and Nagy, G.(2003). Virulence factors of uropathogenic Escherichia coli. Int J Antimicrob Agents and 2:29–33., 22 Suppl. 2003. 2003.
- England, A.C.and England,T.K.(2002).Pediatrics ,Urinary tract Infection and Pylonephritis.Emed.Com,Inc.J.Med, 2 (6). 61 Forbes, B. A. and Sahm, D. F. and Wessifld, A. S. (2002) . Diagnostic Microbiology. 10th ed. Bailey and Scotts'. Mosby. U.S.A., 1: 509. 2002. 2002.
- Eon Kuek L, Leffler M, Mackay GA, Hulett MD. The MS4A family: counting past 1, 2 and 3. Immunol Cell Biol. 2016 and 94(1):11-23. 2016. 2016.
- Erol, S., Zencirovlu, A., Dilli, D., Okumuks, N., Aydin, M., Göl, N., et al. (2014). Evaluation of nosocomial blood stream infections caused by Pseudomonas species in newborns. Clin. Lab. 60, 615–620. 2014. 2014.
- Farmer, J. D., Packard, N. H., & Perelson, A. S. (1986). The immune system, adaptation, and machine learning. Physica D: Nonlinear Phenomena, 22(1-3), 187-204.
- Feldmann, M., Brennan, F. M. and Maini, R. N., (1996b). Role of cytokines rheumatoid arthritis. Annu Rev Immunol. 14, 397-440. 1996. 1996.
- Firestein, G. S., Boyle, D. L. Yu, C. et al. (1994). Synovial interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1 balance in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 37, 644-52. 1994. 1994.

- Foxman, B. (2010). "The epidemiology of urinary tract infection." *Nature Reviews Urology* 7(12): 653-660.
- Gaffen, S. L. (2009). "The role of interleukin-17 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis." *Current rheumatology reports* 11(5): 365-370.
- Gaffen, S. L., et al. (2014). "The IL-23–IL-17 immune axis: from mechanisms to therapeutic testing." *Nature Reviews Immunology* 14(9): 585-600.
- Gaston, J. S. H. (2008). Cytokines in arthritis-the 'big numbers' move centre stage. *Rheumatology*. 47, 8-12. 2008. 2008.
- Genovese, M. C., et al. (2014). "A phase II randomized study of subcutaneous ixekizumab, an anti–interleukin-17 monoclonal antibody, in rheumatoid arthritis patients who were naive to biologic agents or had an inadequate response to tumor necrosis factor inhibitors." *Arthritis & rheumatology* 66(7): 1693-1704.
- Girschick, H. J., et al. (2008). "Bacterial triggers and autoimmune rheumatic diseases." *Clinical and experimental rheumatology* 26(2): S12.
- Glocker, E. O., et al. (2011). "IL-10 and IL-10 receptor defects in humans." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1246(1): 102-107.
- Gorman, C. L., and Cope, A. P. (2008). Immune-mediated pathways in chronic inflammatory arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 22, 221-238. 2008. 2008.
- Greenwood, D. and R. C. B. Slack and J. F. Peuthere (eds) (2002). *Medical Microbiology. A guide to microbial infections, pathogenesis , immunity , laboratory diagnosis and control*. 16th ed. Edinburl, London , New York , Philadephia , Sydney , Toronto. 2002. 2002.
- Guentzel, M.N. (2010). *Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter, and Proteus*. In: *Baron's Medical Microbiology* (Baron S et al., eds.), 4th ed., Univ of Texas Medical Branch. (via NCBI Bookshelf) ISBN 0-9631172-1-1. . 2010. 2010.
- Hahn, B. H., et al. (2007). "The pathogenesis of atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases: roles of inflammation and dyslipidemia." *Journal of autoimmunity* 28(2-3): 69-75.

- Hammar, M. R., Arnqvist, A., Bian, Z., Olsén, A., & Normark, S. (1995). Expression of two csg operons is required for production of fibronectin-and congo red-binding curli polymers in Escherichia coli K-12. *Molecular microbiology*, 18(4), 661-670.
- Hata, H., et al. (2004). "Distinct contribution of IL-6, TNF- α , IL-1, and IL-10 to T cell-mediated spontaneous autoimmune arthritis in mice." *The Journal of clinical investigation* 114(4): 582-588.
- Heo Yj, joo Yb, oh hj, et al. IL-10 suppresses Th17 cells and promotes regulatory T cells in the CD4+ T cell population of rheumatoid arthritis patients. *Immunol Lett* 2010 and 150-156., 127:. 2010. 2010.
- Hirsch E. B. and Tam V. H., (2010), "Detection and Treatment Options for Klebsiella pneumonia Carbapenemases (KPCs): an Emerging Cause of Multidrug Resistant Infection", *J. Antimicrob. Chemother.*, 1125 -1119 :6(65. 2010. 2010.
- Horneff, G., et al. (1991). "Treatment of rheumatoid arthritis with an anti-CD4 monoclonal antibody." *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology* 34(2): 129-140.
- Hot, A., et al. (2012). "Combination of IL-17 and TNF α induces a pro-inflammatory, pro-coagulant and pro-thrombotic phenotype in human endothelial cells." *Annals of the rheumatic diseases* 71(5): 768-776.
- Houssiau, F. A. (2000). Les cytokines: Quelle importance en rhumatologie ?. *Louv mad.* 119, S359-S360. 2000. 2000.
- Hsieh, L.-F., et al. (2021). Rheumatologic rehabilitation. *Braddom's Physical Medicine and Rehabilitation*, Elsevier: 606-626. e601.
- Hu, Y., et al. (2022). "Lung Involvement in Children with Newly Diagnosed Rheumatic Diseases: Characteristics and Associations."
- Hutchins, A. P., Diez, D., & Miranda-Saavedra, D. (2013). The IL-10/STAT3-mediated anti-inflammatory response: recent developments and future challenges. *Briefings in functional genomics*, 12(6), 489-498.
- Jacobsen, S. á., et al. (2008). "Complicated catheter-associated urinary tract infections due to Escherichia coli and Proteus mirabilis." *Clinical microbiology reviews* 21(1): 26-59.

- Jung, J. Y., and Suh, C. H. (2017). Infection in systemic lupus erythematosus, similarities, and differences with lupus flare. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 32(3), 429.
- Kaczmarek, A., Budzynska, A. and Gospodarek, E. (2012). Prevalence of genes encoding virulence factors among *Escherichia coli* with K1 antigen and non-K1 *E. coli* strains. *J Med Microbiol. and 10*:1360–5., 61(Pt. 2012. 2012.
- Kadhim Jwad, R., Jabbar Kadhim, D., Hadi Munshed Alosami, M., & G. Shareef, L. (2022). Medication-related burden among Iraqi patients with rheumatoid arthritis: An observational study. *F1000Research* , 11 , 1047.
- Källberg, H., et al. (2007). "Gene-gene and gene-environment interactions involving HLA-DRB1, PTPN22, and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis." *The American Journal of Human Genetics* 80(5): 867-875.
- KARAGÖZ, A., ACAR, S., and KÖRKOCA, H. (2015). Characterization of *Klebsiella* isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) and determination of antimicrobial resistance with VITEK2 advanced expert system (AES). *Turkish Journal of Medical Sciences*, 45(6), 1335-1344.
- Katsikis, P. D., Chu, C., Brennan, F. M., Maini, R. N. and Feldmann, M. (1994). Immunoregulatory Role of Interleukin 10 in Rheumatoid Arthritis. *J Exp Med*. 179, 1517-1527. 1994. 1994.
- Kearns, D.B. (2010). A field guide to bacterial swarming motility. *Nat. Rev. Microbiol and 634-644*, 8(9):. 2010. 2010.
- Kelly, A., et al. (2001). "The anti-inflammatory cytokine, interleukin (IL)-10, blocks the inhibitory effect of IL-1 β on long term potentiation: a role for JNK." *Journal of Biological Chemistry* 276(49): 45564-45572.
- Keystone, E., Wherry, J., & Grint, P. (1998). IL-10 as a therapeutic strategy in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 24(3), 629-639. ISO 690
- Kikuchi, T., Mizunoe, Y., Takade, A., Naito, S., and Yoshida, S. (2005). Curli fibers are required for development of biofilm architecture in *Escherichia coli* K-12 and enhance bacterial adherence to human uroepithelial cells. *Microbiol. Immunol.* 49, 875–884. doi: 10.1111/j.1348-0421.2005.tb03678.x

- Kimpel D. (2005). Introduction to special topics issue on rheumatoid arthritis. *Pathophysiology : the official journal of the International Society for Pathophysiology*, 12(3), 149–151.
- Kinne, R.W., Brauer ,R. and Stuhlmuller, B.(2000) Palombo-Kinne, E., and Burmester, GR., Macrophages in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. 2*, 189-202. 2000. 2000.
- Kirkham bw, laSere mn, et al.Synovial mem- brane cytokine expression is predictive of joint damage progression in rheumatoid arthritis: a two-year prospective study. *Arthritis Rheum 2006 and 1122-1131.*, 54:. 2006. 2006.
- Klareskog , L.; Stolt, P. ; Lundberg, K. ; Kallberg, H. Bengtsson, C. & Grunewald, J.(2006). A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLADR(shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arth. and Rheuma.*;54(1):38-46.
- Klinman, D. (2003). Does activation of the innate immune system contribute to the development of rheumatoid arthritis?. *Arthritis Rheum. 48*, 590-593. 2003. 2003.
- Ko, Y. H., et al. (2019). "Host-pathogen interactions in urinary tract infections." *Urogenital Tract Infection 14*(3): 71-79.
- Kohno, M., et al. (2008). "Interleukin-17 gene expression in patients with rheumatoid arthritis." *Modern Rheumatology 18*(1): 15-22.
- Krogfelt, K.A. (1991)Bacterialadhesion:genetics,biogene- sis, and role in pathogenesisof fimbrial adhesinsof Es- cherichia coli. *Rev. Infect. Dis. 13*, 721-735. 1991. 1991.
- Lembré, P., et al. (2014). "Identification of an amyloidogenic peptide from the Bap protein of *Staphylococcus epidermidis*." *Protein and peptide letters 21*(1): 75-79.
- Lenert, P., et al. (2005). "TLR-9 activation of marginal zone B cells in lupus mice regulates immunity through increased IL-10 production." *Journal of clinical immunology 25*(1): 29-40.
- Levast, B., et al. (2015). "The role of IL-10 in microbiome-associated immune modulation and disease tolerance." *Cytokine 75*(2): 291-301.

- Levison, M. E., and Kaye, D. (2013). Treatment of complicated urinary tract infections with an emphasis on drug-resistant gram-negative uropathogens. *Current Infectious Disease Reports*, 15(2), 109-115.
- Lewandowski B, Kita K, Tytman K i wsp. Patologia układu moczowego w reumatoidalnym zapaleniu stawów. *Reumatologia* 1992; 30: 95-103.
- Li, Y. C., et al. (2019). "Interleukin-6 and interleukin-17 are related to depression in patients with rheumatoid arthritis." *International Journal of Rheumatic Diseases* 22(6): 980-985.
- Liaw, S.J., Lai, H.C., et al. 2001. 2001.
- Liu, B., Knirel, Y. A., Feng, L., Perepelov, A. V., Senchenkova, S. N., Wang, Q., et al. (2008). Structure and genetics of Shigella O antigens. *FEMS Microbiol. Rev.* 32, 627–653. 2008. 2008.
- Lochner, M., et al. (2008). "In vivo equilibrium of proinflammatory IL-17+ and regulatory IL-10+ Foxp3+ RORγt+ T cells." *The Journal of experimental medicine* 205(6): 1381-1393.
- Loyola-Rodriguez, J. P., et al. (2010). "Rheumatoid arthritis and the role of oral bacteria." *Journal of oral microbiology* 2(1): 5784.
- M. R. Ehrenstein, J. G. Evans, A. Singh et al., "Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNFα therapy," *Journal of Experimental Medicine*, vol. 200, no. 3, pp. 277–285, 2004. 2004. 2004.
- Macfaddin, J.F.(2000).biochemical tests for identification of medical bacteria.1sted Williams and Wilkins Baltimore,USA . Manual of clinical Microbiology, ASM, Washington D.C , pp.222-237.
- MacGregor, A. J., Snieder, H., Rigby, A. S., Koskenvuo, M., Kaprio, J., Aho, K., et al. (2000). Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis Rheum.* 43, 30-37. 2000. 2000.
- Madhavan, T., et al. (1973). "Pseudomonas putida and septic arthritis." *Annals of Internal Medicine* 78(6): 971-972.

- Maini, R. N., Chu, C. Q. and Feldmann, M. (1995). Aetiopathogenesis of rheumatoid arthritis. Pp. 25-46. In: B. Henderson, Edwards, J. C. W. and Pettipher E. R. Mechanisms and models in rheumatoid arthritis. Academic Press Ltd., London. 1995.
- Majithia, V. & Geraci, S.A. (2007). Rheumatoid Arthritis: Diagnosis and Management. American Journal of Medicine; 120 (11), 936-939.
- Manges, A. (2016). "Escherichia coli and urinary tract infections: the role of poultry-meat." Clinical Microbiology and Infection 22(2): 122-129.
- Masson, P., Matheson, S. and Webster, A.C. and Craig, J.C. (2009). Meta-analyses in prevention and treatment of urinary tract infections. Infect. Dis. Clin. North. Am., 23(2): 355-385. 2009.
- Mathai, D., Jones, R. N. and Pfaller, M. A. (2001) . Epidemiology and frequency of resistance among pathogens causing urinary tract infection in 1,510 hospitalized patients : areport from the sentry antimicrobial surveillance program (North America) Dia. 2001.
- Matsunaga, K., et al. (2001). "Involvement of nicotinic acetylcholine receptors in suppression of antimicrobial activity and cytokine responses of alveolar macrophages to Legionella pneumophila infection by nicotine." The Journal of Immunology 167(11): 6518-6524.
- McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. N Engl J Med. 2011; 365:2205– 2219. [PubMed: 22150039]
- McKenzie, B. S., et al. (2006). "Understanding the IL-23–IL-17 immune pathway." Trends in Immunology 27(1): 17-23.
- Merino, S., Gonzalez, V., and Tomás, J. M. (2016). The first sugar of the repeat units is essential for the Wzy polymerase activity and elongation of the O-antigen lipopolysaccharide. Future Microbiol. 11, 903–918. 2016.
- Miller, A. L., et al. (2022). "Amyloid-containing biofilms and autoimmunity." Current Opinion in Structural Biology 75: 102435.
- Miller, A. V. and S. K. Ranatunga (2012). "Immunotherapies in rheumatologic disorders." Medical Clinics 96(3): 475-496.
- Mladin, C., et al. 2009. 2009.

- Mok, A., et al. (2018). "Hypomethylation of CYP 2E1 and DUSP 22 Promoters Associated With Disease Activity and Erosive Disease Among Rheumatoid Arthritis Patients." *Arthritis & rheumatology* 70(4): 528-536.
- Molina, L., Udaondo, Z., Duque, E., Fernández, M., Molina-Santiago, C., Roca, A., et al. (2014). Antibiotic resistance determinants in a *Pseudomonas putida* strain isolated from a hospital. *PLoS ONE* 9:e81604. doi: 10.1371/journal.pone.0081604. 2014. 2014.
- Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A (2001-01-01). "Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor". *Annual Review of Immunology*. 19 (1): 683–765.
- Nagasawa, Y., et al. (2009). "Inflammatory cells in lung disease associated with rheumatoid arthritis." *Internal Medicine* 48(14): 1209-1217.
- Newman, J. A., Bergelson, J., and Grafen, A. (1997). Blocking factors and hypothesis tests in ecology: is your statistics text wrong?. *Ecology*, 78(5), 1312-1320.
- Nielsen, P. R., Kragstrup, T. W., Deleuran, B. W., and Benros, M. E. (2016). Infections as risk factor for autoimmune diseases—a nationwide study. *Journal of Autoimmunity*, 74, 176-181.
- Nimmo G. R., Walsh T. R., Binotto E., Htin A., Hayashi Y., Li ., Nation R. L., George N., Paterson D. L., (2011), "Carbapenem Resistance in *Klebsiella pneumoniae* due to the New Delhi Metallo-B- Lactamase", *Clin. Infect. Dis.* 52(4): 481- 484. 2011. 2011.
- Nishimori, J. H., Newman, T. N., Oppong, G. O., Rapsinski, G. J., Yen, J. H., Biesecker, S. G., ... and Ganea, D. (2012). Microbial amyloids induce interleukin 17A (IL-17A) and IL-22 responses via Toll-like receptor 2 activation in the intestinal mucosa. *Infection and Immunity*, 80(12), 4398-4408.
- Noack, M., & Miossec, P. (2017, June). Selected cytokine pathways in rheumatoid arthritis. In *Seminars in immunopathology* (Vol. 39, No. 4, pp. 365-383). Springer Berlin Heidelberg.

- O'Hara, C. M., Brenner, F. M. and Miller, J. M. (2000) . Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia* and *Morganella*. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(4): 534-546. 2000. 2000.
- Oberhardt, M. A., Puchałka, J., Fryer, K. E., Martins dos Santos, V. A., and Papin, J. A. (2008). Genome-scale metabolic network analysis of the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *J. Bacteriol.* 190, 2790–2803. doi: 10.1128/JB.01583-07. 2008. 2008.
- Obiamiwe U., (2011), “Klebsiella Infections”, Medscape reference. 2011. 2011.
- Okuda, Y., et al. (1993). "Bronchoalveolar lavage fluid analysis in rheumatoid arthritis." *Ryumachi.[Rheumatism]* 33(4): 302-309.
- Owczarczyk, K., Lal, P., Abbas, A. R., Wolslegel, K., Holweg, C. T., Dummer, W., ... & Behrens, T. W. (2011). A plasmablast biomarker for nonresponse to antibody therapy to CD20 in rheumatoid arthritis. *Science translational medicine*, 3(101), 101ra92-101ra92.
- Pachucki, R. J., et al. (2020). "Persistent bacteriuria and antibodies recognizing curli/eDNA complexes from *Escherichia coli* are linked to flares in systemic lupus erythematosus." *Arthritis & rheumatology* 72(11): 1872-1881.
- Panayi, G., S. (2005). B cells: a fundamental role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis?. *Rheumatology*. 44 (Suppl. 2), ii3–ii7. 2005. 2005.
- Paunovic, V., Carroll, H. P., Vandebroek, K. and Gadina, M. (2008). Signalling, inflammation and arthritis Crossed signals: the role of interleukin (IL)-12, -17, -23 and -27 in autoimmunity. *Rheumatology*. 47, 771-776. 2008. 2008.
- Pelczar, M. J. JR., Chan, ECS and Krieg, NR (1986). *Microbiology*, 5.
- Perkins, S. D., Woeltje, K. F., and Angenent, L. T. (2010). Endotracheal tube biofilm inoculation of oral flora and subsequent colonization of opportunistic pathogens. *Int. J. Med. Microbiol.* 300, 503–511. doi: 10.1016/j.ijmm.2010.02.005. 2010. 2010.
- Peter, D. K, and Eric, L. M. (2004). Clinical Features and Differential Diagnosis. In: William E. C., David, P. S., Barton, H. F. *Rheumatoid Arthritis* . Ed Front of Book. 12-25. 2004. 2004.

- Pickens Sr, volin mv, manDelin am, 2nD, KollS jK, pope rm, Shahrara S. IL-17 contributes to angio- genesis in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 2010 and 3233-3241., 184:. 2010. 2010.
- Pieper K, Grimbacher B, Eibel H. B Cell biology and development. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 and 131:959–71. 2013. 2013.
- Pillinger, M. H., Burg, N. D., Abramson, S. B. (2004). Neutrophils and Small Molecule Mediators. Pp. 161-173. In: William E. C., David, P. S., Barton, H. F. *Rheumatoid Arthritis* . Ed Front of Book. 2004. 2004.
- Poore, C.A., Coker, C. and Dattelbaum, J.D. and Mobley, H.L.T. (2001). Identification of the domains of UreR, an Ara C-linke transcriptional regulator of the urease gene cluster in *Proteus mirabilis* .*J. Bacteriol*. 183 (15): 4526-4535. 2001. 2001.
- Qian, C., Du, Y., Li, H., Wu, P., Wang, L., Wei, Y., et al. (2018). Development of rapid and simple experimental and in silico serotyping systems for *Citrobacter*. *Future Microbiol*. 13, 1511–1522. 2018. 2018.
- Qu, C., et al. (2019). "Diagnostic values of serum IL-10 and IL-17 in rheumatoid arthritis and their correlation with serum 14-3-3 η protein." *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 23(5): 1899-1906.
- Rashid T, Tiwana H, Wilson C, Ebringer A. Rheumatoid arthritis as an disease caused by *Proteus* urinary tract infections: a proposal for a therapeutic protocol. *Isr Med Assoc J* 2001; 3: 675-68
- Rashid, T., Tiwana, H. and Wilson, C.and Ebringer ,A.(2001). Rheumatoid arthritis as an autoimmune disease caused by *Proteus* urinary tract infections: A proposal for a therapeutic protocol. *IMA J*. 3:675–680. 2001. 2001.
- Rea, I. M., et al. (2018). "Age and age-related diseases: role of inflammation triggers and cytokines." *Frontiers in immunology*: 586.
- Reidle, S., Morse, S. A., Meitzner, T., and Miller, S. 2019. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology* , Twenty-Eight Edition. The McGraw-Hill education, Inc. USA
- Reparon-Schuijt, C. C., et al. (2001). "Presence of a population of CD20+, CD38– B lymphocytes with defective proliferative responsiveness in the synovial compartment of patients with rheumatoid arthritis." *Arthritis & Rheumatism*:

- Official Journal of the American College of Rheumatology 44(9): 2029-2037.
- Reynisdottir, G., et al. (2016). "Signs of immune activation and local inflammation are present in the bronchial tissue of patients with untreated early rheumatoid arthritis." *Annals of the rheumatic diseases* 75(9): 1722-1727.
- Robert, M. and P. Miossec (2019). "IL-17 in rheumatoid arthritis and precision medicine: from synovitis expression to circulating bioactive levels." *Frontiers in medicine* 5: 364.
- Roberts, I. S. (1996). The biochemistry and genetics of capsular polysaccharide production in bacteria. *Annual review of microbiology*, 50, 285-316.
- Roeleveld, D. M. and M. I. Koenders (2015). "The role of the Th17 cytokines IL-17 and IL-22 in Rheumatoid Arthritis pathogenesis and developments in cytokine immunotherapy." *Cytokine* 74(1): 101-107.
- Roudier, J. (2004). venement initiaus dans la poltarthrite rhumatoide early evenement in arthritis rheumatoid. *rev rhum.* 71, 10s-13s. 2004. 2004.
- Sag, S., Kamanlı et al. (2017). "The relationship of pentraxin-3 levels with IL-17, fetuin-A, insulin in patients with Behcet's disease." *Dermatologica sinica* 35(4): 195-200.
- Sakran, W., Miron, D. and Halevy, R. and Colodner, R. (2003). Community acquired-urinary tract infection among hospitalized children in northern Israel: pathogens, susceptibility patterns and urinary tract anomalies *Harefuah.* 142: 249-52. 2003. 2003.
- Sambrook, J.; Fritsh, E. F. and Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning* 2; 14-9 . New York; Cold spring harbor laboratory press.
- Sandhya, P., Danda et al. (2016). "Does the buck stop with the bugs?: an overview of microbial dysbiosis in rheumatoid arthritis." *International Journal of Rheumatic Diseases* 19(1): 8-20.
- Sany, J. (2003). *Polyarthrite rhumatoïde de l'adulte: conception actuelle.* John Libbey Eurotext.
- Schinocca, C., et al. (2021). "Role of the IL-23/IL-17 pathway in rheumatic diseases: an overview." *Frontiers in immunology* 12: 637829.

- Schmidt, M.A. (1994) Nonfimbrial adhesins of *Escherichia coli*. In: *Fimbriae: Adhesion, Genetics, Biogenesis, and Vaccines* (Klemm, P., Ed.), pp. 85-96. CRC Press, Boca Raton. 1994.
- Schuh E, Berer K, Mulazzani M. Features of human CD3+CD20+ T cells. *J Immunol*. 2016 and 197(4):1111-1117. 2016.
- Schulze-koops, H. and Kalden, J.R. (2001). The balance T1/T2 cell in rheumatoid arthritis. *Beste Practice and Research Clinical Rheumatology*. 15, 677- 691. 2001.
- Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2010; 376:1094–1108. [PubMed: 20870100]
- Scott, D. L. and Kingsley, G. H. (2007). *Inflammatory Arthritis in Clinical Practice*. Editeur Springer. Pp. 1-31. 2007.
- Sharma, V. K., Kudva, I. T., Bearson, B. L., & Stasko, J. A. (2016). Contributions of EspA filaments and curli fimbriae in cellular adherence and biofilm formation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7. *PLoS One*, 11(2), e0149745.
- Shaw, T., et al. (2003). "B cell therapy for rheumatoid arthritis: the rituximab (anti-CD20) experience." *Annals of the rheumatic diseases* 62(suppl 2): ii55-ii59.
- Shields, P., & Cathcart, L. (2010). Oxidase test protocol.
- Sidjabat H.,(2011) Use the "Insert Citation" button to add citations to this document.
- Silman, A. J. and Pearson, J. E. (2002). Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*. 4, S265-72. 2002.
- Siloși, I., Boldeanu, M. V., Cojocaru, M., Biciușcă, V., Pădureanu, V., Bogdan, M., ... & Siloși, C. A. (2016). The relationship of cytokines IL-13 and IL-17 with autoantibodies profile in early rheumatoid arthritis. *Journal of immunology research*, 2016.
- Silva, V. O., Espeschit, I. F., and Moreira, M. A. S. (2013). Clonal relationship of *Escherichia coli* biofilm producer isolates obtained from mastitic milk. *Canadian Journal of Microbiology*, 59(5), 291- 293.

- Steen, E. H., Wang, X., Balaji, S., Butte, M. J., Bollyky, P. L., & Keswani, S. G. (2020). The role of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in tissue fibrosis. *Advances in wound care*, 9(4), 184-198.
- Su, C.(2008). Female lower urinary tract infection. JTUA., et al. 2008. 2008.
- Sultan, A. A., Mallen, C., Muller, S., Hider, S., Scott, I., Helliwell, T., & Hall, L. J. (2019). Antibiotic use and the risk of rheumatoid arthritis: a population-based case-control study. *BMC medicine*, 17(1), 154.
- Takakubo, Y. and Y. T. Kontinen (2012). "Immune-regulatory mechanisms in systemic autoimmune and rheumatic diseases." *Clinical and Developmental Immunology* 2012.
- Takemura, S., Braun, A., Crowson, C., Kurtin, P. J., Cofield, R. H., O'Fallon, W. M., Goronzy, J. J. and Weyand, C. M. (2001). Lymphoid neogenesis in rheumatoid synovitis. *J Immunol*. 167(2), 1072-80. 2001. 2001.
- Takemura, S., et al. (2001). "T cell activation in rheumatoid synovium is B cell dependent." *The Journal of Immunology* 167(8): 4710-4718.
- Tangho, E. A. and Mcaninch, J. W. (2004) . Bacterial infection of the genitourinary tract in *General Urology* .Smith (Edi).United State of American:MC Graw-Hill Companies Inc., 203-227. 2004. 2004.
- Tedder TF, Klejman G, Schlossman SF, Saito H. Structure of the gene encoding the human B lymphocyte differentiation antigen CD20 (B1). *J Immunol*. 1989 and 142(7):2560-2568. 1989. 1989.
- Thaler, E.R., and Kennedy, D.W. (2000) . Cited in human ,H.D. and Dupont, H.L. Gradner,L.B. Griffin,J.W. *Textbook of internal Medicine*. 4thed. Wolters kluwer company.USA. 2000. 2000.
- Tolboom, T. C., Pieterman, E., Van Der Lan, W. H., Toes, R. E., Hui Derkoper, (2002). Invasive properties of fibroblast-like synoviocytes: correlation with growth characteristics and expression of MMP-1, MMP-3, and MMP-10. *Ann Rheum Dis*. 61(11), 975-80. 2002. 2002.
- Tursi SA, Tükel Ç (December 2018). "Curli-Containing Enteric Biofilms Inside and Out: Matrix Composition, Immune Recognition, and Disease Implications". *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 82 (4). 2018. 2018.

- Upmanyu, K., et al. (2022). "Factors mediating *Acinetobacter baumannii* biofilm formation: opportunities for developing therapeutics." *Current Research in Microbial Sciences*: 100131.
- Van Gerven, N., Klein, R. D., Hultgren, S. J., and Remaut, H. (2015). Bacterial amyloid formation: structural insights into curli biogenesis. *Trends in Microbiology*, 23(11), 693-706.
- van Roon, J. A., et al. (1996). "Prevention and reversal of cartilage degradation in rheumatoid arthritis by interleukin-10 and interleukin-4." *Arthritis & Rheumatism* 39(5): 829-835.
- Verrier, J. K. (2000) . Screening after urinary tract infection in childhood. *Arch Dis Child* and 123-124., 2:. 2000. 2000.
- Vidal, O., et al. (1998). "Isolation of an *Escherichia coli* K-12 mutant strain able to form biofilms on inert surfaces: involvement of a new *ompR* allele that increases curli expression." *Journal of bacteriology* 180(9): 2442-2449.
- Vossen, A. R. J. V., Ardon, C. B., van der Zee, H. H., Lubberts, E., & Prens, E. P. (2019). The anti-inflammatory potency of biologics targeting TNF- α , IL-17A, IL-12/23 and CD20 in hidradenitis suppurativa: an ex vivo study. *Hidradenitis Suppurativa*, 57.
- Voulgari, P. V., Kolios, G., Papadopoulos, G. K., Katsaraki, A., Seferiadis, K. and Drosos, A. A. (1999). Role of Cytokines in the Pathogenesis of Anemia of Chronic Disease in Rheumatoid Arthritis. *Clin Immunol.* 92, 153-160. 1999. 1999.
- Wade, S. D. and V. C. Kyttaris (2021). "Rituximab-associated hypogammaglobulinemia in autoimmune rheumatic diseases: a single-center retrospective cohort study." *Rheumatology International* 41(6): 1115-1124.
- Wahren-Herlenius, M., Harrisn E. H., Larsson P. and Klareskog, L. (2002). Cytokines in Human Rheumatoid Arthritis and Murine Models. Pp. 274-294. In: Kuchroo, V. K., Sarvetnick, N., Hafler, D. A., Nicholson, L. B. *Cytokines and Autoimmune Diseases*. 2002. 2002.
- Wang, L., Wang, Q., and Reeves, P. R. (2010). The variation of O antigens in gram-negative bacteria. *Subcell. Biochem.* 53, 123–152. 2010. 2010.

- Westwood, O. M., et al. (2006). "Rheumatoid factors: what's new?" *Rheumatology* 45(4): 379-385.
- Weyand, C. M., et al. (2001). "The role of T cells in rheumatoid arthritis." *Autoimmunity*: 183-195.
- Weyand, C. M., MacCarthy, T. G., Goronzy, J. (1995). Correlation between disease phenotype and genetic heterogeneity in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest.* 95, 2120. 1995. 1995.
- Whitfield, C., & Valvano, M. A. (1993). Biosynthesis and expression of cell-surface polysaccharides in gram-negative bacteria. *Advances in microbial physiology*, 35, 135-246.
- Whitfield C. 1988 Bacterial Extracellular Polysaccharides. *Can. J. Microbiol.* 1988. 1988.
- Wilson, C., et al. (1997). "Correlation between anti-Proteus antibodies and isolation rates of *P. mirabilis* in rheumatoid arthritis." *Rheumatology International* 16(5): 187-189.
- Wojnicz, D. (2007). Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from children with chronic pyelonephritis. *Adv Clin Exp Med.* 16(5):651. 2007. 2007.
- Wong, C., et al. (2000). "Elevation of proinflammatory cytokine (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 cytokine (IL-4) concentrations in patients with systemic lupus erythematosus." *Lupus* 9(8): 589-593.
- Wu X, Monchy S, Taghavi S, Zhu W, Ramos J, van der Lelie D: Comparative genomics and functional analysis of niche-specific adaptation in *Pseudomonas putida*. *FEMS Microbiol Rev* 2011, 35(2):299-323. 2011. 2011.
- Yang Q, Jeremiah Bell J, Bhandoola A. T Cell lineage determination. *Immunol Rev.* 2010 and 238:12–22. 2010. 2010.
- Yoshino, Y., Kitazawa, T., Kamimura, M., Tatsuno, K., Ota, Y., and Yotsuyanagi, H. (2011). *Pseudomonas putida* bacteremia in adult patients: five case reports and a review of the literature. *J. Infect. Chemotherm.* 17, 278–282. 2011. 2011.

-
- Zandman-Goddard, G., et al. (2005). "Infections and SLE." *Autoimmunity* 38(7): 473-485.
- Ziolkowska, M., et al. (2000). "High levels of IL-17 in rheumatoid arthritis patients: IL-15 triggers in vitro IL-17 production via cyclosporin A-sensitive mechanism." *The Journal of Immunology* 164(5): 2832-2838.
- Zogaj, X., et al. (2003). "Production of cellulose and curli fimbriae by members of the family Enterobacteriaceae isolated from the human gastrointestinal tract." *Infection and immunity* 71(7): 4151-4158.

الاستبيان للمرضى الذين يعانون من التهاب المفاصل الرثوي بوجود الإصابة البكتيرية
وعدم وجود الإصابة البكتيرية الاصحاء

1-رقم العينة

2-العمر

3-الجنس

4-هل المريض مدخن ام لا

5-السكن

6-مسقط الراس

7-المهنة

8- هل المرض وراثي أم لا

9- الدواء

bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:17 CST

Patient Name: 62, aml atya

Location:

Lab ID: ab641

Patient ID: 741

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Pseudomonas putida*

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 7.77 hours	Status: Final
Selected Organism	97% Probability Bionumber: 0001011101500352	<i>Pseudomonas putida</i>
ID Analysis Messages		

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHISa	+	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	+	62	ELLM	-	64	ILATa	+			



هناء عباس رضا

بكالوريوس احياء مجهرية
جامعة بغداد / كلية العلوم

bioMérieux Customer

مختبر النقاء الطبي التخصصي
Al Naqaa specialist clinical laboratory

احمد محمد علي شاكر
ماجستير كيمياء حيوية سريرية
جامعة بابل / كلية الطب

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:10 CST

Patient Name: 61,

Location:

Lab ID: ab636

Patient ID: 736

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : Acinetobacter baumannii complex

Source: Urine

Collected:

Comments:

Identification Information	Analysis Time: 7.82 hours	Status: Final
Selected Organism	95% Probability Bionumber: 0001011103400352	Acinetobacter baumannii complex
ID Analysis Messages		

Biochemical Details

2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	+	39	5KG	-
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHISa	+	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	+	62	ELLM	-	64	ILATa	+			



" أهم شي سلامتكم "



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:19 CST

Patient Name: 66, jannat sajet

Location:

Lab ID: ab650

Patient ID: 750

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae*

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 4.03 hours	Status: Final
Selected Organism	99% Probability Bionumber: 2607734653564010	<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>
ID Analysis Messages		

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	+	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	+	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	+	15	OFF	+
17	BGLU	+	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	+	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	+	29	TyrA	-	31	URE	+	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	+	39	5KG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	+
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	-	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:15 CST

Patient Name: 50, khelfa

Location:

Lab ID: ab637

Patient ID: 737

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Pseudomonas putida*

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 7.80 hours	Status: Final
Selected Organism	97% Probability Bionumber: 0001011103500352	<i>Pseudomonas putida</i>
ID Analysis Messages		

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	+	39	5KG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHISa	+	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	+	62	ELLM	-	64	ILATa	+			



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:16 CST

Patient Name: 65,

Location:

Lab ID: ab638

Patient ID: 738

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Proteus mirabilis*

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 3.88 hours	Status: Final
Selected Organism	99% Probability Bionumber: 0015000240042210	<i>Proteus mirabilis</i>
ID Analysis Messages		

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	+	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	-	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	+	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	-	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	+
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	-	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BCUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:17 CST

Patient Name: 60, montaha

Location:

Lab ID: ab642

Patient ID: 742

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Pseudomonas fluorescens*

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 7.77 hours	Status: Final
Selected Organism	94% Probability Bionumber: 0001011101000352	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
ID Analysis Messages		

Biochemical Details

2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	-	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHISa	+	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	+	62	ELLM	-	64	ILATa	+			



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:15 CST

Patient Name: 61,

Location:

Lab ID: ab636

Patient ID: 736

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Acinetobacter baumannii* complex

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 7.82 hours	Status: Final
Selected Organism	95% Probability <i>Acinetobacter baumannii</i> complex	
ID Analysis Messages	Bionumber: 0001011103400352	

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	+	39	5KG	-
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHISa	+	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	+	62	ELLM	-	64	ILATa	+			



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 17, 2021 06:13 CST

Patient Name: 13, marwa kathum

Location:

Lab ID: ab652

Patient ID: 752

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : Staphylococcus haemolyticus

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 4.80 hours	Status: Final
Selected Organism	96% Probability Bionumber: 010002407760271	Staphylococcus haemolyticus
ID Analysis Messages		

2	AMY	-	4	PIPLC	-	5	dXYL	-	8	ADH1	+	9	BGAL	-	11	AGLU	-
13	APPA	-	14	CDEX	-	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	-
20	LeuA	-	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	-	26	PyrA	+	27	BGUR	-
28	AlaA	-	29	TyrA	-	30	dSOR	+	31	URE	-	32	POLYB	-	37	dGAL	-
38	dRIB	+	39	ILATk	+	42	LAC	+	44	NAG	+	45	dMAL	+	46	BACI	+
47	NOVO	-	50	NC6.5	+	52	dMAN	+	53	dMNE	-	54	MBdG	-	56	PUL	-
57	dRAF	-	58	O129R	+	59	SAL	-	60	SAC	+	62	dTRE	+	63	ADH2s	+
64	OPTO	+															



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 17, 2021 06:13 CST

Patient Name: 19,

Location:

Lab ID: ab653

Patient ID: 753

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Staphylococcus epidermidis*

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 4.80 hours	Status: Final
Selected Organism	99% Probability <i>Staphylococcus epidermidis</i>	
ID Analysis Messages	Bionumber: 030000074620211	

Biochemical Details																	
2	AMY	-	4	PIPLC	-	5	dXYL	-	8	ADH1	+	9	BGAL	+	11	AGLU	-
13	APPA	-	14	CDEX	-	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	-
20	LeuA	-	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	-	26	PyrA	-	27	BGUR	-
28	AlaA	-	29	TyrA	-	30	dSOR	-	31	URE	+	32	POLYB	+	37	dGAL	+
38	dRIB	-	39	ILATk	-	42	LAC	+	44	NAG	-	45	dMAL	+	46	BACI	+
47	NOVO	-	50	NC6.5	+	52	dMAN	-	53	dMNE	-	54	MBdG	-	56	PUL	-
57	dRAF	-	58	O129R	+	59	SAL	-	60	SAC	+	62	dTRE	-	63	ADH2s	-
64	OPTO	+															



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 17, 2021 06:14 CST

Patient Name: 51, reyam

Location:

Patient ID: 754

Lab ID: ab654

Physician:

Organism Quantity:

Isolate Number: 1

Selected Organism : *Pseudomonas putida*

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 8.70 hours	Status: Final
Selected Organism	96% Probability Bionumber: 0001001101500352	<i>Pseudomonas putida</i>
ID Analysis Messages		

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	-	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHISa	+	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	+	62	ELLM	-	64	ILATa	+			



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:17 CST

Patient Name: 56, faliha hassan

Location:

Patient ID: 743

Lab ID: ab643

Physician:

Organism Quantity:

Isolate Number: 1

Selected Organism : *Pseudomonas putida*

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 8.00 hours	Status: Final
Selected Organism	97% Probability	<i>Pseudomonas putida</i>
ID Analysis Messages	Bionumber: 0001011101500352	

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAIap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	(+)	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHISa	+	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	+	62	ELLM	-	64	ILATa	+			



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:16 CST

Patient Name: 68, reem oon

Location:

Lab ID: ab639

Patient ID: 739

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Pseudomonas putida*

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 7.78 hours	Status: Final
Selected Organism	97% Probability Bionumber: 0001011103400352	<i>Pseudomonas putida</i>
ID Analysis Messages		

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	+	37	MNT	+	39	5KG	-
40	ILATk	(-)	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHISa	+	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	+	62	ELLM	-	64	ILATa	+			-



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:18 CST

Patient Name: 44, alyia hussain

Location:

Lab ID: ab645

Patient ID: 745

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Escherichia coli*

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 3.83 hours	Status: Final
Selected Organism	99% Probability <i>Escherichia coli</i>	
ID Analysis Messages	Bionumber: 0401610450406610	

2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	(-)
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	+
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:18 CST

Patient Name: 74,

Location:

Lab ID: ab646

Patient ID: 746

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Escherichia coli*

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 4.80 hours	Status: Final
Selected Organism	95% Probability <i>Escherichia coli</i>	
ID Analysis Messages	Bionumber: 0401610540406610	

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	+
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:18 CST

Patient Name: 63, shukria

Location:

Lab ID: ab647

Patient ID: 747

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : Escherichia coli

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 4.80 hours	Status: Final
Selected Organism	95% Probability Escherichia coli	
ID Analysis Messages	Bionumber: 0401610040004610	

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	-	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	+
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:19 CST

Patient Name: 25,

Location:

Lab ID: ab649

Patient ID: 749

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : Escherichia coli O157

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 9.92 hours	Status: Final
Selected Organism	91% Probability Bionumber: 0405610550506250	Escherichia coli O157
ID Analysis Messages	Confirm by serological tests Highly pathogenic organism	

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	EGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	(-)	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	(+)	62	ELLM	-	64	ILATa	(-)			



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:19 CST

Patient Name: 25,

Location:

Lab ID: ab649

Patient ID: 749

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : *Escherichia coli* O157

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 9.92 hours	Status: Final
Selected Organism	91% Probability Bionumber: 0405610550506250	<i>Escherichia coli</i> O157
ID Analysis Messages	Confirm by serological tests Highly pathogenic organism	

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	EGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	(-)	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	SKG	-
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	(+)	62	ELLM	-	64	ILATa	(-)			



bioMérieux Customer:

Microbiology Chart Report

Printed Jan 16, 2021 12:18 CST

Patient Name: 43, zeayla abd

Location:

Lab ID: ab644

Patient ID: 744

Physician:

Isolate Number: 1

Organism Quantity:

Selected Organism : Escherichia coli

Source: Urine

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 3.10 hours	Status: Final
Selected Organism	99% Probability Bionumber: 0005610444006611	Escherichia coli
ID Analysis Messages		

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	-	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAlap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	-	31	URE	-	32	dSOR	+
33	SAC	-	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	+
40	ILATk	-	41	AGLU	-	42	SUCT	-	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	-
46	GlyA	-	47	ODC	+	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	+	57	BGUR	+
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	+	64	ILATa	-			



Summary

Rheumatoid arthritis (RA) is a complex autoimmune disease that affects 1-2% of the population worldwide. Multiple genetic risk factors and environmental triggers contribute to the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Microbial infection is thought to play an important role in the initiation and persistence of this disease, and one of the most important factors of virulence originating in the Enterobacter family is the specific Curli species A.

The current study was conducted in Karbala governorate, (75) blood and urine samples were collected, (55) samples were collected from patients with rheumatoid arthritis RA and (20) samples were from healthy people, and the group with RA patients was divided into two groups, group A (23) suffering from urinary tract infection, group B (32) uninfected urinary tract infection to determine the effect of bacterial infection on the level of (CD4 + Tcell, CD20 + Bcell, IL-17, IL-10), Use the bacterial sequencing (PCR) technique to determine the presence of CsgA in the bacteria.

Twenty three infections with different types of bacteria that infect the urinary tract were recorded in patients with rheumatoid arthritis. Bacterial isolates were identified using Viteck biochemistry test.

The study showed a significant increase in the level of CD4 + T cells in patients with rheumatoid arthritis, whether they suffer from a bacterial infection (with the presence of the CsgA gene) or not, compared to the healthy group ($P \leq 0.001$), as well as a significant increase in the level of these cells among those with rheumatoid arthritis. Rheumatoid arthritis patients who had a bacterial infection compared to those with arthritis who did not suffer from a bacterial infection ($P \leq 0.05$). There is also a significant increase in the level of CD20 + Bcell cells in patients with

rheumatoid arthritis ($P \leq 0.001$) without bacterial infection compared to the healthy group.

Finally, the results of the current study showed that there was a significant increase in the concentration of the anti-inflammatory cytokine IL-10 ($P \leq 0.05$) in patients with rheumatoid arthritis bacterial disease compared to patients without bacterial diseases well as compared with the healthy group. The pro-inflammatory cytokine IL-17 did not show significant differences with healthy controls and all groups of patients.

Conclusion that bacterial infection (UTI) in patients with rheumatoid arthritis, especially bacteria that express CsgA gene, activate the adaptive immune response (B and T cells).

The current language of the study is to know the sensitivity of rheumatoid arthritis to entero bacter infection and to identify the effect of the Csg A gene on some immune factors.



University of Kerbala
College of Science
Department of Biology

**The effect of Urinary Tract bacterial infection on
some immunological parameters in Rhumatoid
Arthritis**

A thesis

**Submitted to the council of the College of Science \ University of
Kerbala In partial of fulfillment of requirements for degree of
Master of Science in Biology**

By

Doaa Anwar Yahya Abd Ali

Prof. Haider Hashem Muhammad Ali

Dr. Kukab Abdullah Hussein Al Saadi

1444 A.H

2022 A.D