دور المعزز الحيوي *Lactobacillus gasseri* في التأثير على بعض الاستجابات المناعية في الفئران المصابة ببكتريا *Escherichia coli*

*أزهار جبار بوهان** *أمنة نصيف جاسم** *خالد عبد الرزاق حبيب**

استلام البحث 6، حزيران، 2010
قبول النشر 19، تشرين الاول، 2010

الخلاصة :

جرعت مجموعة من ذكور الفئران البيض BALB /C بالمعزز الحيوي *Lactobacillus gasseri* فقط ومجموعة أخرى بالبكتريا القولونية *Escherichia coli* فقط أما المجموعة الثالثة فجرعت بالاثنين معاً البكتريا القولونية *Escherichia coli* و بكتريا *Lactobacillus gasseri* كمعزز حيوي . أظهرت النتائج حصول زيادة معنوية في الفعالية البلعمية (phagocytosis) بلغت 59.60 % في المجموعة الأولى و 20% في المجموعة الثانية و 35 % في المجموعة الثالثة .أما خضاب الدم (Hemoglobin) فقد ازداد تركيزه و بلغ 12.35 غم / دلتر في المجموعة الأولى و 7.51 غم/ دلتر في المجموعة الثانية و 11 غم/ دلتر في المجموعة الثالثة . في حين بلغت قيمة فرط الحساسية الآجل(Delayed Type Hypersensitivity) 0.76 ملم في المجموعة الأولى و0.20 ملم في المجموعة الثانية بينما بلغ 0.53 ملم في المجموعة الثالثة.

كلمات مفتاحية : **Probiotics , *Lactobacillus gasseri, E.coli* , Hemoglobin, phagocytosis, Delayed Type Hypersensitivity**

المقدمة:

عرفت المعززات الحيوية (Probiotics)أو ما تسمى بجراثيم التعايش التكافلي على أنها متممات غذائية جرثومية حية تعود بالفائدة على الإنسان المضيف من خلال تحسين توازن النبيت الطبيعي المعوي (Intestinal micro flora) [1]. لقد تم استخدام هذه البكتريا الحية كعلاج حيوي للعديد من الأمراض بعدما لوحظ تدني الفعالية العلاجية لعدد كبير من المضادات الحياتية (Antibiotics) و حصول مقاومة الجراثيم لها نتيجة وصف عشرات الملايين من تلك المضادات الحياتية من دون مبرر [2]. تعد بكتريا حامض اللاكتيك أكثر الأنواع الشائعة من الأحياء استخداما في المجالات العلاجية و الغذائية وذلك لامتلاكها العديد من الصفات التي قلما تجتمع في كائنات أخرى كنموها بوجود أو عدم وجود الهواء ,عدم إنتاجها للذيفانات,الأغلبية منها غير مرضية ,تقاوم الأس الهيدروجيني المنخفض ,سريعة النمو ,تعطي الطعم و الرائحة المتميزتين[3], أما العالم الروسي Elie Metchnikoff فقد اشعر البشرية بأهمية العصيات اللبنية *Lactobacillus* مسميا إياها probiotic وهذه الكلمة ترد إلى الكلمة اللاتينيةpro Bios والتي تعني لأجل الحياة (for life) [1]. وفي عام 2001عرفت منظمة الصحة العالمية (WHO) ومنظمة الزراعة و الأغذية (FAO) المعززات الحيوية(probiotics)على إنها خلايا حية قادرة على عبور المناطق العلوية من الجهاز الهضمي و لها القابلية على التكاثر في الأمعاء و التي عند إعطائها بأعداد معينة تضفي تأثيرات صحية على المضيف [4].تتداخل الأنسجة اللمفية المرتبطة في المعي مع البكتريا أو المستضدات الأخرى لتحفز الاستجابة المناعية الخلوية و الخلطية في المعي [5].تعمل المعززات الحيوية على تحفيز الخلايا اللمفية لتنتج محركات خلوية مثل IFNγ و تعزز الفعالية البلعمية ,فقد وجد في الأشخاص الذين تناولوا الحليب الحاوي على بكتريا *Bifido lactis* لمدة ستة أسابيع زيادة معنوية في نسبة IFNγ و الخلايا ذات الانوية متعددة الأشكال (Polymorphonuclear cells (PMNcs)) و القابلية البلعمية مقارنة مع الأشخاص الذين تم أعطائهم الحليب فقط [6] . فمن الأدلة الكثيرة التي أثبتت التأثيرات المفيدة للمعززات الحيوية على الوظيفة المناعية هي زيادة أعداد خلايا البلازما المنتجة للكلوبيولينات المناعية(IgA-producing plasma cells) و الخلايا القاتلة الطبيعية (NK)(Natural Killer Cells) [7,8], كما و تعمل المعززات الحيوية على تحفيز حدوث استجابة غير نوعية في الجهاز المناعي مثل توالد أكثر للخلايا المناعية و تعزيز فعالية البلعمة و زيادة أنتاج sIgA [9] و أيضا وجودها في تجويف المعي و التصاقها بالخلايا

* قسم علوم الحياة كلية العلوم للبنات جامعة بغداد

الطلائية يؤدي إلى إنتاج أنواع مختلفة من الجاذبات الكيميائية (Chemoattractants) و المحركات الخلوية (Cytokines) نتيجة لإشارات تطلق في التجويف للخلايا المناعية المخاطية [10], أما في جانب المناعة الخلطية فقد وجد أن *Lactobacillus GG* تحدث زيادة في إفراز IgM, IgA,IgG من الخلايا اللمفية المحيطية [11].

تعد بكتريا إيشيريكيا القولون أكثر الأنواع البكتيرية شيوعاً في أمراضية الإنسان على الرغم من كونها من النبيت الطبيعي لأمعاء الإنسان والحيوان [12] ,تستوطن هذه البكتريا خلال الساعات الأولى من الولادة أمعاء المولود وتبقي مستوطنة فيها حيث تحافظ على التوازن الحيوي لبيئة الأمعاء طيلة حياة الفرد وتنتج العديد من المواد المفيدة مثل فيتامين K [13] و البكتريوسينات التي تحمي الأمعاء من الممرضات الداخلة إليها مثل إيشيريكيا القولون الممرضة للأمعاء(Enteropathogenic E.coli) EPEC والسالمونيلا (*Salmonella*) والشيجلا (*Shigella*) من خلال تثبيط قدرتها على استيطان المنطقة وتمنعها من الغزو خارج الأمعاء [14] تستوطن بكتريا إيشيريكيا القولون الأمعاء الغليظة(Large intestine) للبائن والطيور وتسبب أخماجاً داخل وخارج الأمعاء Intestinal and extra-intestinal) [15].

المواد و طرائق العمل:

❖ استخدمت بكتريا *Lactobacillus gasseri* المعزولة من الأطفال الرضع كمعزز حيوي و التي شخصت حسب صفاتها الزرعية و المجهرية و الكيموحيوية وفقاً لما ذكره [16, 17]

❖ بكتريا *E.coli* التي تم الحصول عليها من مركز بحوث التقنيات الإحيائية / جامعة النهرين و شخصت في مختبرات الصحة العامة المركزية.

❖ استخدمت فئران بيضاء سويسرية Balb\C ذكور بعمر 4 - 6 أسابيع , و بأوزان تراوحت بين 18-24 غرام , و التي تم الحصول عليها من البيت الحيوان التابع لقسم علوم الحياة /كلية العلوم للبنات /جامعة بغداد و مركز البحوث و الرقابة الدوائية .

❖ تم استخدام المحاليل و المواد الآتية في الاختبارات المناعية محلول هانكس الملحي المتوازن Hank's Blanced Salt Solution (HBSS)حضر وفق طريقة [18], محلول السيفر (ALSever's Solution) حضر وفقا لطريقة [19], معلق الخميرة المقتولة حضر وفقاً لطريقة [20], خلايا الدم الحمر للأغنام [21] (Sheep RBCs).

إصابة الفئران و معاملتها

لدراسة التأثير التثبيطي لبكتريا حامض اللاكتيك تجاه البكتريا المسببة للإسهال داخل جسم الكائن الحي , تم استخدام الفئران المذكورة سابقا و التي قسمت إلى أربع مجاميع احتوت كل مجموعة منها على 3 فئران و كالآتي :-

- المجموعة الأولى : تضمنت تغذية الحيوانات تغذية اعتيادية.
- المجموعة الثانية :تضمنت تغذية الحيوانات تغذية اعتيادية مع إعطائها 0.2 ملليلتر من عالق بكتريا *E.coli* الحاوي كل ملليلتر منه على 1×10^8 خلية و لمدة 5 أيام .
- المجموعة الثالثة : تضمنت تغذية الحيوانات تغذية اعتيادية مع إعطائها 0.2 ملليلتر من عالق بكتريا *L.gasseri* الحاوي كل ملليلتر منه على 1×10^8 خلية و لمدة 7 أيام .
- المجموعة الرابعة : تضمنت تغذية الحيوانات تغذية اعتيادية مع إعطائها لمدة 4 أيام 0.2 ملليلتر من عالق بكتريا *L.gasseri.* متبوعة بـ5 أيام أخرى أعطي في كل يوم منها 0.2 ملليلتر من بكتريا *E.coli* ثم إعطائها لمدة 4 أيام أخرى 0.2 ملليلتر من بكتريا *L.gasseri* لمعرفة دور البكتريا في حماية الحيوانات من الإصابة ببكتريا *E.coli* و بتركيز 1×10^8 خلية لكل ملليلتر في كل معاملة.

جمع عينات الدم :- تم تخدير الفئران بوساطة الكلوروفورم لغرض جمع عينات الدم بطريقة الوخز القلبي (Cardiac Puncture)وباستخدام محقنة انسولين مغطاة Coated بالهيبارين بتركيز 5000i.u.\u.i.\ml من الداخل كمانع للتخثر جرى سحب الدم من الحيوانات وبمعدل 0.5 – 1 ملليلتر من الدم، لغرض إجراء الفحوصات الدموية اللازمة.

حساب تركيز خضاب الدم Haemoglobin Concentration:

اتبعت طريقة ساهلي(Sahlis' method) في قياس خضاب الدم حيث سحبت عينة من الدم بوساطة الماصة الخاصة ,وأضيفت إلى أنبوبة الاختبار التي احتوت على HCL (0.1) عياري وبعد أن مزجت محتويات الأنبوبة , تركت لمدة 5 دقائق ومن ثم أضيف الماء المقطر قطرة قطرة إلى مزيج الدم والحامض مع موازنة لون المزيج مع لون الأنبوبتين الطرفيتين الخاصة بالجهاز ومن ثم

أخذت قراءتان لكل نموذج واستخرج المعدل [22].

البلعمة Phagocytosis:

لقد تمت دراسة قابلية الخلايا البلعمية على التهام خلايا الخميرة المقتولة وفق الطريقة الآتية [22] :-

مزج 0.25 ملليلتر من الدم مع 0.05 ملليلتر من عالق الخميرة و 0.25 ملليلتر من محلول هانكس HBSS في أنبوبة اختبار معقمة ثم حضنت الأنابيب في الحاضنة 37م° لمدة نصف ساعة، بعد ذلك حضرت مسحة دموية Blood (smear) على شريحة زجاجية وتركت لتجف في درجة حرارة الغرفة،، ثم صبغت بصبغة لشمان لمدة 10 دقائق. وبعد غسل الشرائح بالماء الجاري تركت لتجف في درجة حرارة الغرفة، ثم فحصت باستخدام المجهر الضوئي وتحت قوة التكبير الزيتية 100 X إذ فحصت على الأقل 200 خلية بصورة عشوائية، وحسب معامل البلعمة وفق المعادلة الآتية :-

معامل البلعمة% = عدد الخلايا المتبلعمة / العدد الكلي للخلايا البلعمية X 100

تفاعل فرط الحساسية آلاجل Delayed type-hypersensitivity reaction (DTH):

تم قياس سمك راحة القدمين بالقدمة بعد مرور 24 ساعة على الحقن بمعلق كريات الدم الحمر المغسولة للأغنام sRBCs وحسب معامل التفاعل في المعادلة الآتية :-

معامل تفاعل فرط الحساسية الآجلة = الفرق بين سمك راحة القدمين اليمنى و اليسرى (ملم) [23].

التحليل الإحصائي

أستعمل البرنامج (SAS, 2001) في التحليل الإحصائي لدراسة تأثير المعاملات المدروسة في الصفات المختلفة و قورنت الفروق المعنوية بين كل متوسطين باختبار أقل فرق معنوي (LSD) [24].

النتائج و المناقشة:

التأثير على خضاب الدم Effect on Hemoglobin Concentration

أظهرت النتائج المبينة في الجدول (1) وجود فروق معنوية في تركيز خضاب الدم للمعاملات المدروسة عند مستوى ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة, إذ أوضحت نتائج الدراسة الحالية وجود زيادة معنوية في نسبة خضاب الدم في مجموعة الفئران المجرعة بكتريا *Lactobacillus gasseri* عند مستوى ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة, و عدم وجود فروق معنوية في نسبة خضاب الدم في مجموعة الفئران المجرعة بكتريا *E.coli* و بكتريا *Lactobacillus gasseri* عند مستوى ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة. أما مجموعة الفئران المجرعة بكتريا *E.coli* فقد بينت النتائج وجود انخفاض معنوي في نسبة خضاب الدم عند مستوى ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة.

الجدول (1): تأثير بكتريا *L.gasseri* و بكتريا *E.coli* في تركيز الهيموغلوبين (Hb) (غم/د.لتر دم).

المعاملة	معدل مستوى خضاب الدم ± الخطأ القياسي
Control	0.24 ± 9.67
L.gasseri	1.41 ± 12.35
E. coli	0.32 ± 7.51
L.gasseri + *E.coli*	0.69 ± 11.50
قيمة أ.ب.م (LSD)	* 2.443

• ($P<0.05$).

وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره [25] عن استخدام المعززات الحيوية عمل على زيادة نسبة خضاب الدم عند مستوى ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة, أما [26] فأشار إلى أن استهلاك اللبن الحاوي على بكتريا المعززات الحيوية سيؤدي إلى انخفاض نسبة فقر الدم (Anemia) لدى الأطفال المصابين بفقر الدم و ارتفاع في نسبة خضاب الدم . و ايضا تتفق مع ما ذكره [27]بأن الإصابة ببكتريا *E.coli* أدت إلى نقص نسبة خضاب الدم, ذلك أن بكتريا *E.coli* تعتمد في حصولها على الحديد من الـHeme الموجود في دم المضيف, إذ تعمل بكتريا *E.coli* على إفراز إنزيم Hemoglobin Protease(HbP) الذي يعمل على تحطيم الهيموغلوبين و الارتباط مع الـHeme المتحرر.

التأثير في الفعالية البلعمية Phagocytosis للفئران

في الدراسة الحالية بينت النتائج وجود فروق معنوية في معدل معامل البلعمة بين المعاملات المدروسة عند مستوى ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة وكما موضح في الجدول (2). إذ أوضحت النتائج المبينة في الجدول (2) حدوث زيادة معنوية في معامل البلعمة لمجموعة الفئران المجرعة بكتريا حامض اللاكتيك عند مستوى ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة و تساوي معامل البلعمة لمجموعة الفئران المجرعة *E.coli* و بكتريا حامض اللاكتيك عند مستوى ($P<0.05$) مع مجموعة السيطرة وهذه

النتائج تتفق مع ما أشار إليه [28] بأن جميع سلالات *L.gasseri* تستخدم كمعززات حيوية للتأثير على الفعالية البلعمية من خلال تنشيطها للخلايا البلعمية, و ايضا أشار العديد من العلماء إلى إن استخدام المعززات الحيوية مثل بكتريا *L.casei* [29] أو بكتريا *L.acidophilus* الموجودة في اللبن بنسبة 300g\day [30]أو بكتريا *L.rhamnosus* [31] أو بكتريا *L.acidophilus* و *L.rhamnosus* بجرعة تصل إلى (10^9 cfu\day) [32] أو بكتريا *Bifidobacteria* [33] سيؤدي إلى حدوث زيادة في الفعالية البلعمية للفئران أو الأشخاص المجرعين مقارنة مع مجموعة السيطرة, وذلك من خلال تعزيز المناعة الذاتية في الجسم كما أشار[32], أو من خلال إحداث تحويرات في إظهار الاستجابة المناعية الخلوية غير النوعية كما أشار إليها [28] أو كما أكدت دراسات [33] بأن بكتريا حامض اللاكتيك تعمل على تعزيز المناعة الذاتية و المكتسبة لأن السلالات البكتيرية المستخدمة كمعززات حيوية تمتلك خصائص تمكنها من تحوير المناعة في الفئران, أو كما ذكر [34] بأن إعطاء المعزز الحيوي *L.gasseri* للإنسان يؤدي إلى زيادة نسبة الخلايا البلعمية .أما في مجموعة الفئران المجرعة بكتريا *E.coli* فقد بينت النتائج الموضحة في الجدول (2) حدوث نقص معنوي في معامل البلعمة عند مستوى ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة و هذه النتائج تتفق مع ما أشار إليه الباحثين [35] عن كون بكتريا *E.coli* تعمل على تثبيط الفعالية البلعمية لخلايا (Macrophage) و بالتالي تقلل من عملية البلعمة أو كما أشار [36] بأن بكتريا*E.coli* تعمل على تعزيز عملية الموت المبرمج للخلايا البلعمية .

جدول (2): تأثير بكتريا *L.gasseri* و بكتريا *E.coli* في معدل معامل البلعمة (Phagocytosis %).

المعاملة	معدل معامل البلعمة % ± الخطأ القياسي
Control	35.80 ± 0.86
L.gasseri	59.60±1.36
E. coli	20.20 ± 0.80
L.gasseri + *E.coli*	35.00 ± 2.23
قيمة أ.ف.م (LSD)	4.302 *

*($P<0.05$).

التأثير على تفاعلات الحساسية الآجلة Delayed Type Hypersensitivity(DTH)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود فروق معنوية في قابلية الفئران على إظهار استجابة مناعية ضد المعاملات المدروسة وكما مبين في الجدول (3). إذ بينت النتائج المدروسة وجود زيادة معنوية في قيمة تفاعل فرط الحساسية الآجلة Delayed Type Hypersensitivity)(DTH)في مجموعة الفئران المجرعة بكتريا حامض اللاكتيك عند مستوى ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة, و عدم وجود فروق معنوية في قيمة تفاعل فرط الحساسية الآجلة Delayed Type Hypersensitivity) (DTH) في مجموعة الفئران المجرعة بكتريا *E.coli* و بكتريا حامض اللاكتيك عند مستوى ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة. وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره [37] عندما ذكر إن إعطاء بكتريا حامض اللاكتيك يعطي تأثيرات ايجابية على تفاعلات فرط الحساسية الآجلة و خاصة *L.fermentum* و التي تستخدم كأساس في تحضير المعززات الحيوية المحورة للمناعة,بالإضافة لما ذكره [38] عن دور المعززات الحيوية في تحفيز الفعالية الوظيفية للخلايا المناعية و خاصة خلايا T-Cell Mediated Immunity و ايضا تأثيرها في تنشيط التعبير للجين المسؤول عن تكوين المحركات الخلوية و الذي يحفز إنتاج IFN gamma , TNF alpha, IL-6 &IL-12 , و الذي أكد [39] بأن حدوث أي زيادة في مستوياتها يؤدي إلى قلة في أمد الإصابة ببكتريا *E.coli* , أما [40]فقد أكد حدوث زيادة معنوية في نسب خلايا CD4:CD8-T Cell لمجاميع الفئران المجرعة لبن حاوي على بكتريا حامض اللاكتيك, أما [41] فأكد البحوث السابقة عندما أشار إلى إن المعززات الحيوية تعمل على زيادة إنتاج IFN gamma , TNF alpha & IL-2 و زيادة في نسب خلايا CD4:CD8-Tcell, و ايضاً ما أشار إليه [42] عن إعطاء المعززات الحيوية *L.paracasei* للفئران البيض أدى إلى حدوث زيادة معنوية في قيمة تفاعل فرط الحساسية الآجلة مقارنة مع مجموعة السيطرة. أما مجموعة الفئران المجرعة بكتريا *E.coli* فقد بينت النتائج حدوث نقص معنوي في قيمة تفاعل فرط الحساسية الآجلة Delayed Type Hypersensitivity (DTH)عند مستوى ($P<0.05$) مقارنة مع مجموعة السيطرة,وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره [43] و الذي أشار إلى إن بعض عوامل الضراوة التي تفرزها بكتريا *E.coli* تعمل على تثبيط استجابة T-Cell و نقص في قيمة تفاعل فرط الحساسية الآجلة, و ايضا ما بينه [44] بأن الذيفانات المنتجة

من قبل بكتريا *E.coli* عند إعطاءها عن طريق الفم أدت إلى تثبيط الاستجابة في قيمة تفاعل فرط الحساسية الآجلة.

الجدول 3. تأثير بكتريا *L.gasseri* و بكتريا *E.coli* في اختبار الحساسية الآجلة Delayed Type Hypersensitivity(ملم)

المعاملة	معدل تفاعل فرط الحساسية(ملم) ± الخطأ القياسي
Control	0.03 ± 0.43
L.gasseri	0.03±0.76
E. coli	0.05 ± 0.20
L.gasseri + *E.coli*	0.03 ± 0.53
قيمة أ.ف.م (LSD)	* 0.133

*(P<0.05).

المصادر :

1. النمر, مروان صالح محمد. الملتحمات الحيوية ك مضـــادات المضـــادات الحياتيـــة الملطفـــة لوظـائف الإنسـان, Iraqi J. Biotech., Vol.5,No.1:1-19

2. Roberfroid, M.B.2000. Prebiotics and Probiotics :are they functional foods ? Am.Clin. Nutr.; 71 (suppl.6): 1682S-7S, and discussion 1688S -1690S.

3. Runar, S. 1998. Biology of nisin : a genetical approachh instute of biotechnology and department of bioscience, division of geneties. University of Helsinki (personal communication) FEMS Microbiol. Lett. 16 : 75 – 79 .

4. FAO/ WHO 2001. Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria.

5. Simmering, R. and Blaut, M.2001. *Pro- and prebiotics The tasty guardian angels?* Appl Microbial Biotechnol, 55: 19-28.

6. Newberry, R.D.; Stenson, W.F. and Lorenz, R. G. 1999. *Gyclooxygenase-2-dependent arachidonic acid metabolites are essential modulators of the intestinal immune response to dietary antigen.* Nat Med, 5: 900-906.

7. Reid, G. ; Jass, J. ; Sebulsky, M.T. and McCormick, J.K. 2003. "Potential uses of probiotics in clinical practice". *Clin. Microbiol. Rev.* 16 (4): 658–672.

8. Ouwehand , A.C. ; Salminen , S. and Isolauri , E. 2002. Probiotics an overview of beneficial effects . Antonie –Van – Leeuwenhock, 82 (1-4) : 279 – 289.

9. Bengmark, S.1998. *Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora*. Gut,42: 2-7.

10. Eckmann, L.; Kagnoff, M.F. and Fierer, J.1995. *Intestinal epithelial cells as watchdogs for the natural immune system.* Trends Microbiol, 3: 11820.

11. Kaila, M. ; Isolauri, E. ; Soppi, E. ; Virtanen, E.; Laine, S. and Arvilommi, H. 1992. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human Lactobacillus strain. *Pediatr Res.*;32:141–144.

12. Brehner, D.J.; Davis, B.R.; Steigerualte, A.G.; Riddle, C.F.; Mouhorter, A.C.; Allen, S.D.; Farmer, J.J.; Saitoh, Y. and Fanning, G.R. 1982. Atypical biogroups of *Escherichia coli* found in clinical specimens and description of *Escherichia hermannil* sp. nov. *J. Clin. Microbiol.,* 15: 703-713.

13. Al-Shehabi, A.A. 1998. *Human Pathogenic Microorganisms,* 1st ed. Jordon Book. Centre company. pp: 332-341.

14. Vidotta, M.C.; Kobayshi, R.K. and Dias, A.M. 1991. Unidentified serogroups of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) associated with diarrhoea in infants in Londria parane, Brazil.

detergent Frequently used to prepare perfluoro carbon Emulsions . Int . J . immuno phar mac . 11:41-48 .

24. SAS .2001. SAS/STAT User's Guide for Personal Computers. Release 6.12 SAS Institute Inc. , Cary , N. C. , USA.

25. Baillon, M.L. ; Marshall-Jones, Z.V. and Butterwick RF.2004. Effects of probiotic Lactobacillus acidophilus strain DSM13241 in healthy adult.Waltham Centre for Pet Nutrition, Waltham-on-the-Wolds, Melton Mowbray, Leicestershire, LE14 4RT, UK.Am J Vet Res.;65(3):

26. Mohammad, M.A. ; Molloy, A.; Scott, J. and Hussein, L.2006. Plasma cobalamin and folate and their metabolic markers methylmalonic acid and total homocysteine among Egyptian children before and after nutritional supplementation with the probiotic bacteria Lactobacillus acidophilus in yoghurt matrix. Int J Food Sci Nutr. 57(7-8):470-480.

27. Ben, R. ; Otto Silvy, J.M. ; van Dooren, Jan, H. ; Nuijens, Joen Luirink, and Bauke Oudega .1998. Characterization of a Hemoglobin Protease secreted by the Pathogenic E.coli Strain EB1. *JEM* vol. 188no. 61091-1103.

28. Kitazawa, H. ; Ino, T. ; Kawai, Y. ; Itoh, T. and Saito, T.2002. A novel immunostimulating aspect of Lactobacillus gasseri: induction of "Gasserokine" as chemoattractants for macrophages. Int J Food Microbiol. 77(1-2):29-38.

29. Jain, S.; Yadav, H. and Sinha, P.R.2008. Stimulation of innate immunity by oral administration of dahi containing probiotic Lactobacillus casei in mice.Animal Biochemistry *J. Med. Microbiol.,* 99(9): 823-826.

15. den Broeck, W.V.; Cox, E.; Oudega, B. and Goddeeris, B.M. 2000. The F4 fimbrial antigen of *E. coli* and its receptors. *Veterinary Microbiology,*71: 223-244.

16. Holt , J.G. ; Krieg , N.R. ; Sneath , P.H.A.; Staley , J.T. and Williams,S.T.1994 . Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9thed Williams and Wilkins Company Baltimore, Maryland . U.S.A. .

17. Carri , F.J.; Chill , D. and Maida , N. 2002 . The lactic acid bacteria : A literature survey . Critical Reviews in Microbiology, 28(4) .

18. Hudson, L. and Hay, F.C.1980. Practical Immunology.2nd Ed. Blackwell Scientific Publications. Oxford, London.pp:16.

19. Garvey, J.S.; Cemer, N.E. and Sussdorf, D.H. 1977. Methods in Immunology.Alaboratory text for Instruction and Research.3^{ed} (Ed.)W.A.Benjamin,Inc.Canada.

20. Metcalf ,J.A.; Gallin, J.I. Nanseef, P. W.M.& Root ,R.K. 1986. Laboratory manual of Neutrophil function. Raven press,New Yourk .pp:84-90.

21. Mendes,N.F;Tolani,M.E.;Silveria, N.P.;Cillersten,R. and Metzgar, R.S. 1973. Technical aspects of the rosette tests used to detect human complement receptor(B)and sheep erythrocyte binding(T)lymphocytes.J.Immunol . 11:860-867.

22. Sood,R.1985.Heamatology for students and Practitioners.Laypee Brothers,India.

23. Triolo , A . J .; Osterholm , J . L . and Kratky , M . T. 1989-Enhancement of the Arthus reaction and Suppression of Delayed – Type Hyper sensitivity (DTH) By pluronic F68 , a

35. Dong, N. ; Liu, L. and Shao, F.2010. A bacterial effector targets host DH-PH domain RhoGEFs and antagonizes macrophage phagocytosis. EMBO J. (18).

36. .2010. AssociationStravodimos, K.G. ; Singhal, P.C. ; Sharma, S. ; Reddy, K. and Smith AD.1999. Escherichia coli promotes macrophage apoptosis.Department of Urology, Long Island Jewish Medical Center, New Hyde Park, New York, USA. J Endourol. 1999 May;13(4):273-277.

37. Ielyns'ka, N.O. ; Kur'iata, N.V. ; Filippova, T.O. and Ivanytsia, V.O.2003. Influence lactobacilli on the functional activity of macrophages and delayed hypersensitivity reaction in miceOdessa National University, 2 Dvoryanska St., Odessa, 65026, Ukraine.Mikrobiol Z.;65(4):23-28.

38. Nikolaeva, T.N. ; Zorina, V.V. ; Pospelova, V.V. ; Babaiants, A.A. and Lakhtin, V.M.2005. The effects of the microbial components of the probiotic Acilact on the cell-mediated immunity factors under experimental conditions. RussianVestn Ross Akad Med Nauk.;(12):40-46.

39. Long, K.Z. ; Rosado, J.L. ; Santos, J.I. ; Haas, M. ; Al Mamun, A. ; DuPont, H.L. ; Nanthakumar, N.N. and Estrada-Garcia, Ts between mucosal innate and adaptive immune responses and resolution of diarrheal pathogen infections. Infect Immun. 78(3):1221-1228.

40. Dewan, P.; Kaur, I. ; Chattopadhya, D. A. ; Faridi, M.M. and Agarwal, K.N.2007. A pilot study on the effects of curd (dahi) & leaf protein concentrate in children with protein energy malnutrition (PEM).Department of Paediatrics, University College of Division, National Diary Research Institute, Karnal, Haryana, India.J Med Food. 11(4):652-656.

30. Klein, A. ; Friedrich, U. ; Vogelsang, H. and Jahreis, G.2008. Lactobacillus acidophilus 74-2 and Bifidobacterium animalis subsp lactis DGCC 420 modulate unspecific cellular immune response in healthy adults.Eur J Clin Nutr. 62(5):584-593.

31. Gill H. 2009. Probiotic supplementation to enhance natural immunity in the elderly: effects of a newly characterized immunostimulatory strain Lactobacillus rhamnosus HN001 (DR20™) on leucocyte phagocytosis *Nutrition Research*, Volume 21, Issue 1, Pages 183-189.

32. Ibrahim, F.; Ruvio, S.; Granlund, L.; Salminen, S., Viitanen, M. and Ouwehand ,A.C.2010. Probiotics and immunosenescence: cheese as a carrier.Functional Foods Forum, University of Turku, Turku, Finland. FEMS Immunol Med Microbiol.

33. Yang, H. ; Liu, A. ; Zhang, M. ; Ibrahim, S.A. ; Pang, Z. ; Leng, X. and Ren, F.2009. Oral administration of live Bifidobacterium substrains isolated from centenarians enhances intestinal function in mice. Curr Microbiol. 59(4):439-445.

34. Olivares, M. ; Paz Díaz-Ropero, M. ; Gómez, N. ; Sierra, S. ; Lara-Villoslada, F. ; Martín, R. ; Miguel Rodríguez, J. and Xaus, J.2006. Dietary deprivation of fermented foods causes a fall in innate immune response. Lactic acid bacteria can counteract the immunological effect of this deprivation. J Dairy Res. 73(4):492-498.

immune responses in aged mice. Rejuvenation Res.;11(5):957-964.

44. Balfour Sartor, R.2007. Bacteria in Crohn's disease: mechanisms of inflammation and therapeutic implications.Department of Medicine, Division of Gastroenterology and Hepatology, University of North Carolina, Chapel Hill, NC 27599, USA. J Clin Gastroenterol.;41 Suppl 1:S37-43.

45. Julia Scerbo, M.; Bibolini, M.J. ; Barra, J.L. ; Roth, G.A. and Monferran, C.G.2008. Expression of a bioactive fusion protein of Escherichia coli heat-labile toxin B subunit to a synapsin peptide. Protein Expr Purif.59(2):320-326.

41. Medical Sciences, New Delhi, India. Indian J Med Res. 2007 Sep;126(3):199-203.

42. de Moreno de LeBlanc, A. ; Chaves, S. ; Carmuega, E. ; Weill, R. ; Antóine, J. and Perdigón, G.2008. Effect of long-term continuous consumption of fermented milk containing probiotic bacteria on mucosal immunity and the activity of peritoneal macrophages. Immunobiology. 213(2):97-108.

43. Vidal, K. ; Benyacoub, J. ; Moser, M. ; Sanchez-Garcia, J. ; Serrant, P. ; Segura-Roggero, I. ; Reuteler, G. and Blum, S.(2008). Effect of Lactobacillus paracasei NCC2461 on antigen-specific T-cell mediated

The Role of probiotic *Lactobacillus gasseri* in immunological response of mice infected with *Escherichio coli*

Azhar J. Bohan ***Amna Nsyif Jasim*** ***Khalid A. Habib****

*Department of Biology, College of Women Science, University of Baghdad

Abstract:

Male albino mice (Balb\C) were treated with Probiotcs bacteria *L.gasseri* only , another group were treated with *E.coli* only whereas the third group treated with both *L.gasseri* and *E.coli*. Results revealed that phagocytosis was increase significantly, the percentages were 59.60% , 20% and 35% in first , second and third group respectively. Hemoglobin was increase the value was 12.35 g\d in the first group , 7.51 g\d in the second group and 11 g\d in the third group. DTH was 0.76mm in the first group , 0.20mm in the second group and 0.53mm in the third group.