

فعالية بعض انواع بكتيريا حامض اللاكتيك في بعض المؤشرات الحيوية والسمنة في الجرذان

فلاح سالم داود¹ وكرکز محمد ثلج*

* كلية الزراعة / جامعة تكريت / تكريت / العراق

الخلاصة

هدفت الدراسة الى تحديد تأثير الانواع من بكتيريا حامض اللاكتيك في المعايير المتعلقة بتوازن النبيت الطبيعي في الامعاء ومؤشرات حصول السمنة بعد اعطائها فمويا بشكل مجاميع من الانواع البكتيرية مع الحليب الفرز لمدة 42 يوما لاثاث الجرذان النامية. بينت النتائج ان تأثير الاعطاء الفموي من مجاميع الانواع البكتيرية قد سبب في حصول الزيادة المعنوية ($p < 0.05$) في وزن الجسم للحيوانات المختبرية عند الاسبوع السادس مقارنة مع الابتدائي كما تبين ان المجاميع المغذاة كانت اوزانها في الاسبوع الثاني الى السادس اقل معنويا من اوزانها في مجموعة السيطرة . كما اظهرت النتائج ان الاعطاء الفموي من انواع بكتيريا حامض اللاكتيك قد سبب في الانخفاض المعنوي في كل من قيم الكليسيريدات الثلاثية والكوليستيرول والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة وكذلك تركيز الكلوكرز والبروتين الكلي والارتفاع المعنوي في قيمة البروتينات الدهنية عالية الكثافة كما لم تتغير معنويا قيم كل من الالبومين والكوليولين مقارنة مع قيمها في حيوانات مجموعة السيطرة. كما انخفضت معنويا قيم كل من انزيم Alkaline phosphatase (ALP) و Aspartate amino transferase (AST) ولم تنخفض معنويا قيم انزيم Alanine amino transferase (ALT) مقارنة مع قيمها في مجموعة السيطرة. اما قيمة هورمون الكورتيزول الذي يعد مؤشرا لحصول حالات السمنة فقد انخفض معنويا في حالة مجموعة الحيوانات المعطاة من بكتيريا حامض اللاكتيك مقارنة مع مجموعة السيطرة التي كانت عند 16.5 مايكروغرام/ديسلتر. ان الاعطاء الفموي من انواع بكتيريا حامض اللاكتيك قد سببت في الانخفاض المعنوي للاعداد الكلية من انواع البكتيريا المعوية في جميع مناطق الامعاء وازدادت مقابلها الاعداد الكلية لانواع بكتيريا حامض اللاكتيك في المجاميع المذكورة ، مقارنة مع اعدادها الكلية في حيوانات مجموعة السيطرة. يستخلص من الدراسة ان لانواع بكتيريا حامض اللاكتيك المعطاة فمويا تأثيرا في انخفاض وزن الجسم وبالتالي عدم حصول حالات السمنة، فضلا عن تحسين الحالة الصحية للحيوانات المختبرية.

الكلمات المفتاحية:

المعززات الحيوية، وزن الجسم، الكورتيزول، السمنة، الجرذان.

للمراسلة:

فلاح سالم داود

البريد الالكتروني:

Fs-fs690@yahoo.com

رقم الهاتف المحمول:

07702902041

The Efficacy of Some Lactic Acid Bacteria in Some Biological Indicators and Obesity in Rats

Falah S. Dawood and Karkaz M. Thalij

Food Science Department, College of Agriculture, Tikrit University, Tikrit, IRAQ.

ABSTRACT

Key words:
Probiotics, Body weights, Cortisol, Obesity, Rats.

Correspondence:
Falah S. Dawood

E-mail:
Fs-fs690@yahoo.com
Mobile No.:
07702902041

The study was conducted in order to determine their effects some species of lactic acid bacteria on body weight, biological blood parameters, further the balance of gut natural flora, to see its role in obesity after giving orally at bacterial groups forms with skimmed milk to 42 days for female growing rats.

The effect of orally feed from microbial groups were caused significantly increased ($p < 0.05$) in laboratory animals body weights at six week compared with the initial weights. while the body weights of bacterial orally feeding rats groups were decreased significantly at the two to six week compared with the control rats group . The results also showed that oral administration of lactic acid bacteria species were cause significant decrease in each of the triglycerides, serum cholesterol, low density lipoproteins, glucose and total protein concentration and increased of high density lipoproteins value while did not change the albumin and globulin compared with values in the control group animals. The results were show as reduced the activity of Alkaline phosphatase (ALP) and Aspartate amino transferase (AST) while didn't effects on Alanine amino transferase (ALT) compared with the control group values. The value of

¹ البحث مستقل من رسالة ماجستير للباحث الاول

the cortisol hormone, which is an indication to the incidence of obesity has significantly decreased if animals groups given from probiotics compared with the control animals group which at 16.5 µg/dislter. The oral administration of probiotics may cause significant decrease of Enterobacteriaceal species in all areas of gut and opposite increased lactic acid bacteria species counts, compared with animals control group. The conclusion from the study results that's of lactic acid bacteria species given orally had caused a decrease in body weight and thus lack of obesity cases, as well as improve the health status of laboratory animals.

المقدمة:

تشير الدراسات الميدانية الحديثة ان هناك ارتفاعا ملحوظا في معدلات السمنة على مستوى العالم التي لم يحدد حتى الان العامل الرئيس الممسبب لحصولها إلا ان الأسباب التقليدية الموضحة تتمثل في زيادة المتناول من السعرات الحرارية من خلال الوجبات الغذائية وكذلك في قلة الحركة فضلا عن العادات الغذائية السيئة المفرطة في استهلاك كميات كبيرة من السكريات البسيطة والكاربوهيدرات في الوجبات الغذائية (Alice وآخرون، 2013). اضافة الى ما ذكر فقد توضح من الدراسات فاعلية بعض العوامل الداخلية في الإنسان التي تبين ان لها تأثيراً في اصابة الشخص بالسمنة وتراكم الدهون في جسمه لعل اهمها هو تواجد انواع من البكتريا التي ثبت ان لها فاعلية في انتاج بعض المواد التي تسبب تراكم الدهون وزيادة الوزن او في تقليلها. فقد توضح ان النبيت الطبيعي المايكروبي الماخوذ من امعاء الاشخاص البدناء او النحيفين والمعطى لمجموعتي من الجرذان النامية قد سبب نفس حالة مصدرها من السمنة او النحافة في مجموعتي الجرذان (Alan و parkhill، 2013). وقد تبين بان انواع من بكتريا حامض اللاكتيك كانت هي الانواع الاكثر تواجدا في النبيت الطبيعي الذي يسبب النحافة في حالة تواجده في الامعاء (Jeffrey وآخرون، 2009).

تحتاج بكتريا حامض اللاكتيك لغرض نموها الى العديد من المتطلبات الغذائية التي تكون بشكل مركبات عضوية ولا عضوية كالأحماض الامينية، الاحماض الدهنية، الببتيدات، الكاربوهيدرات، الاملاح والفيتامينات (Weiss و Kandler، 1986). ان من اهم انواع هذه الاحياء المجهرية واكثرها تأثيرا في الاقلال من حصول السمنة فضلا عن قابليتها في التحسين الصحي للعائل التي تتواجد معه هي: *Lactobacillus acidophilus* ، *Lactobacillus casei* ، *Lactobacillus* وبعض الانواع *Lactobacillus fermentum* ، *Lactobacillus reuteri* ، *Lactobacillus langoum* ، *rhamsus* من كل من جنس *Bifidobacterium* و *Leuconostoc* و *Streptococcus* (الدوري ، 2010). بناءً على ما تقدم ولازدياد حالات السمنة عالميا وفي العراق خاصة من دون معرفة الاسباب المؤدية اليها في كثير من الحالات فان الدراسة هدفت الى تحديد كفاءة انواع بكتريا حامض اللاكتيك المشخصة في التأثير في الوزن وبعض المعايير ذات العلاقة في حصول السمنة في الجرذان النامية.

مواد وطرائق العمل:

التجربة الحيوية:

أجريت هذه التجربة باستعمال اناث الجرذان البيضاء نوع Albino rats عند عمر 8 - 10 أسبوع، بمعدل وزن (155-161)غم تم الحصول عليها من كلية الطب البيطري/ جامعة الموصل. نفذت التجربة في مختبرات التغذية في كلية الزراعة جامعة تكريت، إذ اختير 40 حيواناً قسمت إلى ثمانية مجاميع عشوائياً كل منها تضمنت خمسة حيوانات لكل مجموعة وضعت في أقفاص خاصة بتربية الحيوانات وفي غرفة مكيفة من حيث الرطوبة عند 53 ٪ ودرجة الحرارة عند 28°م .

تحضير العالق البكتيري:

حضر العالق البكتيري لكل نوع من انواع بكتريا حامض اللاكتيك من خلال تنمية كل عزلة من العزلات في 100 مل من وسط الحليب الفرز السائل المعقم في فلاسكات حجمية وبعد التحضين لاهوائيا عند 37م° لمدة 48 ساعة . حسب اعداد العزلات البكتيرية وتم معايرتها باستعمال محلول ماكفرلاند عند تركيز 0.5 لتكون عند 1.5×10^8 خلية /مل التي تم اضافتها بحجم 5 مل الى 300 مل من وسط الحليب الفرز Skimmed milk ، وتم تقديمه للحيوانات بصورة حرة .

غذيت الحيوانات المختبرية على الغذاء الاساسي بشكل مفتوح للحيوانات اعتمادا الى ما جاء في (NRS-2002) وتم توزيع الحيوانات المختبرية كما في الجدول 1. وبعد كل اسبوع سجلت الازان لمجاميع الحيوانات للمعاملات المختلفة

جدول 1. توزيع العزلات البكتيرية لكل من مجاميع الحيوانات المختبرية .

رقم المجموعة	الانواع البكتيرية المستعملة
المجموعة الاولى	Control
المجموعة الثانية (A)	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
	<i>Lactobacillus casei</i>
المجموعة الثالثة	<i>Lactobacillus Langoum</i> +A
المجموعة الرابعة	<i>Lactobacillus helveticus</i> +A
المجموع الخامسة	<i>Lactobacillus plantarum</i> +A
المجموعة السادسة	<i>Lactobacillus rutarie</i> +A
المجموعة السابعة	<i>Lactobacillus rhamosus</i> + A
المجموعة الثامنة	<i>Lactobacillus fermentum</i> + A

الحرف (A) يمثل المجموعة الثانية

تم جمع عينات الدم من الحيوانات قيد التجربة خلال أيام التجريع الفموي وذلك بسحب 3 مل من كل حيوان في انابيب لا تحتوي مانع التخثر لا كمال الفحوصات الدموية المطلوبة وجميعها اعتمادا الى ما جاء في Titez وآخرون، (2005). ولتقدير معايير صورة الدهن الكاملة اعتمدت طرائق الاختبارات الأنزيمية اللونية enzymatic colorimetric test والموصوفة في العدة المنتجة من قبل شركة BioLabo (فرنسا) في تقدير مستوى الكوليسترول والكليسيريدات الثلاثية والبروتينات الدهنية عالية الكثافة. وكذلك من عدة الإختبار لنفس الشركة اعلاه في تقدير سكر الكلوكوز والبروتين الكلي والالبومين حيث استعملت المعادلة التالية لحساب تركيز الكلوكوز :

تركيز الكلوكوز (ملغم/100مل) = الإمتصاص الضوئي للعينة / الإمتصاص الضوئي للمحلول القياسي × تركيز المحلول القياسي .

اما تقدير فعالية الانزيمات Aspartate amino transferase (AST) و Alanine amino transferase (ALT) و Alkaline phosphatase (AP) وكذلك هورمون الكورتيزول فقد استعملت العدة المنتجة من شركة Randox (امريكا) .

تقدير النبيت الطبيعي في أمعاء الجرذان:

لتحديد الاعداد الكلية من انواع البكتريا المعوية تم جمع 10 غم من كل جزء من أمعاء الحيوانات وتم حفظها بإستخدام المحلول الملحي الفسيولوجي بحجم 90 مل ، وأجريت التخفيف اللازمة لغاية التخفيف الخامس وسحب 0,1 مل من التخفيف الاخير ونشر على وسط MacConky Agar و Eiosin Methylene blue وحضنت الأطباق مقلوبة عند 37 °م لمدة 24 ساعة بعدها عدت المستعمرات على الطبق لكل عينة (Koneman وآخرون، 2006). اما لتحديد انواع بكتريا حامض اللاكتيك فقد أخذ 0.1 مل من التخفيف المعد في المحلول الفسيولوجي في الخطوة السابقة ونشرت على سطح وسط -MRS CaCO₃ الصلب وحضنت لاهوائيا عند 35 °م لمدة 24-48 ساعة. بعدها حسبت أعداد المستعمرات ذات الشكل الكريمي والممتلئة للمناطق الراققة حولها (Benson ، 2005).

تم تنفيذ التجربة بموجب التصميم العشوائي الكامل (Complete Randomized Design) وأجري تحليل التباين بإستخدام النموذج الخطي العام (General Linear Model) ضمن البرنامج الإحصائي الجاهز SAS (2001)، وفي حالة وجود فروقات معنوية استخدم إختبار دنكن Duncan (1955) لتحديد معنوية الفروقات مابين المتوسطات المختلفة عند مستوى إحتتمالية 0.05 .

النتائج والمناقشة:

تأثير المعززات الحيوية في معايير الوزن للجرذان:

يوضح الجدول 2. تأثير التغذية بانواع بكتريا حامض اللاكتيك في أوزان الحيوانات، فقد حصل انخفاض معنوي في أوزان اناث الجرذان المجرعة من انواع بكتريا حامض اللاكتيك خلال مدة التجربة البالغة 42 يوماً ، إذ كان مجموع الزيادة في وزن الجسم لمجاميع الحيوانات المضاف الى ماء الشرب المتناول انواع بكتريا حامض اللاكتيك في المجاميع 6-8 هي عند 186.00 - 187.00 غم مقارنة مع الزيادة في وزن جسم الحيوانات مجموعة السيطرة التي كانت 196.00. اتفقت النتائج اعلاه مع ما ذكره Zommara وآخرون (2006) الذين وجدوا ان اضافة انواع بكتريا حامض اللاكتيك قد يسبب في حصول الزيادة الوزنية في مجاميع الحيوانات المختبرية ولكن بصورة اقل مما في حالة حيوانات مجموعة السيطرة وقد يعزى سبب الزيادة الوزنية في مجاميع الحيوانات المختبرية المضاف الى الماء المتناول منها انواع بكتريا حامض اللاكتيك بتحفيز الشهية وإنتاج الإنزيمات الهضمية وتحسين التوازن الميكروبي في الأمعاء وقدرتها في خفض كمية اللبيدات المتوفرة في الامعاء من الكليسيريدات الثلاثية او الكوليسترول والتي يكون لها الدور الاكبر في حصول الزيادة الوزنية في الكائنات الحية وذلك من خلال ارتباطها مع المركبات وازاحتها خارج الجسم فضلا عن قدرتها في تحويلها الى مركبات اخرى من الستيرويدات مقارنة مع حيوانات مجموعة السيطرة التي تتمكن استغلال وايض اللبيدات الموجودة في الغذاء بشكل كامل متحولة الى طبقات شحمية في الجسم مما يسبب في زيادة وزن الجسم (Midilli وآخرون 2008 ، Tollba و Mahmoud ، 2009).

جدول 2 . تأثير المعززات الحيوية المعطاة مع ماء الشرب في معايير الوزن للجردان بعد اعطائها لمدة 42 يوم.

معدلات الزيادة الوزنية للحيوانات (غم) حسب الاسابيع						ارقام المجاميع
الاول	الثاني	الثالث	الرابع	الخامس	السادس	
154.0a ± 6.76	163.50a ± 2.88	176.75a ± 2.87	185.00a ± 4.39	189.50a ± 5.80	196.00a ± 1.82	1
155.0 a ±5.91	158.75c ± 6.94	164.25d ± 3.30	173.00bc ± 2.58	177.50c ± 6.75	183.75bc ± 3.30	2
155.75 a ± 4.05	158.50c ± 4.79	160.75e ± 2.21	165.75d 3.40 ±	177.00c ± 3.36	181.75c ± 3.86	3
157.25 a ± 5.95	160.00b ± 7.30	166.25bc ± 2.98	166.25d ± 5.37	173.00d ± 2.58	179.50d ± 3.41	4
156.00 a ±7.48	160.25b ± 6.18	170.25b ± 6.34	171.00c ±3.36	183.50b ± 2.64	183.50b 3.73±	5
156.25 a ±5.74	161.00ab ± 6.97	168.50c ± 1.73	172.50c ± 7.76	183.75b ± 3.86	187.00b ± 1.82	6
157.50 a ± 8.76	155.00c ± 4.39	171.00b ± 3.36	176.75b ± 6.23	179.75c 64. 4 ±	184.00b ± 5.94	7
157.00 a ±7.05	160.50b 3.87±	172.25b ± 2.98	177.50b ± 3.15	182.25b ± 3.50	186.00b ± 4.16	8

- 1-مجموعة السيطرة 2-مجموعة الحيوانات المجرعة من *Lb.acidophilus* + *Bif. bifidum* + *Lb.cacei* 3- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. langoum* 4- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. helveticus* 5- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. plantarum* 6- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. rautaurie* 7- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. ramosus* 8- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. fermentum*
- e_a: الاحرف المختلفة في العمود الواحد تشير الى الاختلافات المعنوية بين المعدلات عند مستوى احتمالية 0.05
- المعدلات محسوبة لخمسة مكررات من الحيوانات. ± تشير الى St. Error

التأثير في معايير صورة الدهن:

يوضح الجدول 3. تأثير الاعطاء الفموي مع ماء الشرب من انواع بكتريا حامض اللاكتيك في مستوى معايير صورة الدهن من الكليسيريدات الثلاثية والكوليسترول والبروتينات الدهنية عالية وواطئة الكثافة في دم الجردان. بينت النتائج حصول انخفاض معنوي ($p < 0.05$) في مستوى كل من الكليسيريدات الثلاثية والكوليسترول في مجاميع الجردان المعطاة انواع بكتريا حامض اللاكتيك مقارنة مع قيمها في مجموعة السيطرة وقد كانت اعلى نسبة انخفاض معنوي في قيمة الكليسيريدات قد حصلت في مجموعة حيوانات المجموعة 6 و 3 التي كانت عند 77.00 و 78.25 ملغم/ديسيلتر على التوالي مقارنة مع قيمها في مجموعة السيطرة التي كانت 104.25 ملغم/ديسيلتر. اما اكثر مجاميع الحيوانات المختبرية التي انخفض معها مستوى الكوليستيرول فقد كانت في مجموعة الحيوانات 3 اذ بلغت قيمة الكوليستيرول عند 73.75 ملغم/ديسيلتر مقارنة مع مجموعة حيوانات السيطرة التي بلغت 105.50 ملغم/ديسيلتر. اما المجاميع 2، 4، 5، 6، 7، 8 فقد كانت قيمته عند 79.00 ، 84.25 ، 87.75 ، 79.00 ، 89.00 ، 88.50 ملغم/ديسيلتر على التوالي.

جدول 3. تأثير المعززات الحيوية في بعض معايير صور الدهن في الجرذان بعد الاعطاه فمويا مع ماء الشرب لمدة 42 يوم

معايير صورة الدهن (ملغم / 100مل)				ارقام المجاميع
HDL	LDL	الكوليستيرول	الكليسيريدات الثلاثية	
44.50c ± 1.29	38.65a 6.79 ±	105.50a ±5.00	104.25a ± 5.90	1
48.75bc ± 7.67	26.20b ± 9.79	99.00ab ±5.22	94.75b 2.98±	2
55.75ab ± 7.36	8.00c ± 5.67	73.75d ±2.98	78.25d ± 4.03	3
49.75bc ± 2.50	23.65b ± 3.36	84.25cd ±3.59	90.25bc ±2.21	4
59.50a ± 3.10	7.95c ± 2.70	87.75c ±5.73	85.00c ± 1.41	5
55.25ab ± 3.09	5.95c ± 1.34	79.00cd ±12.19	77.00d ± 5.35	6
50.25bc ± 7.54	25.70b ± 5.78	89.00bc ±10.51	93.75b ± 3.77	7
51.25abc ± 7.27	22.55b ± 5.87	88.50bc ±3.41	92.50b ± 2.08	8

- 1-مجموعة السيطرة 2-مجموعة الحيوانات المجرعة من *Lb.acidophilus* + *Bif. bifidum* + *Lb.cacei* 3- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. langoum* 4- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. helveticus* 5- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. plantarum* 6- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb.rutaurie* 7- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb.rhamosus* 8- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb.fermentum*
- e_a :الاحرف المختلفة في العمود الواحد تشير الى الاختلافات المعنوية بين المعدلات عند مستوى احتمالية 0.05
- المعدلات محسوبة لخمسة مكررات من الحيوانات. ± تشير الى std. error

اتفقت النتائج مع ما ذكره كل من عبدالله (2010) و السعدي (2010) الذي اكدو على أن بكتريا حامض اللاكتيك تعمل على خفض مستوى الكوليسترول في الدم اذ أن هذا الانخفاض قد يتأثر بعوامل أخرى مثل السلالة البكتيرية أو المدعمات المستخدمة وغيرها وان سبب الانخفاض في الكوليسترول في ان انواع بكتريا حامض اللاكتيك يمكن ان تنتج انزيمات تقوم بتحليل الدهن ويقوم بعضها بهدم الكوليسترول للاستفادة منه كمصدر للكربون. كما أكد عبدالله (2010) و Brashears وآخرون (1998) إن المعززات الحيوية لها القابلية على إزالة الكوليسترول من الوسط الغذائي خلال النمو بوجود أملاح الصفراء ولها القابلية على نزع الارتباط لأملاح الصفراء الذي يساعد على ترسيب الكوليسترول عند pH 5.5 فيعمل الكبد على معالجة النقص بأملاح الصفراء عن طريق تحويل الكوليسترول إلى أملاح صفراء وهذا سيؤدي إلى خفض مستوى الكوليسترول. كما ان إنتاج سكر الكلوكان من قبل البكتريا العلاجية والذي يعمل على زيادة لزوجة الامعاء الدقيقة مؤدياً الى زيادة إفراز أحماض الصفراء مما يسبب في قلة المتحول من هذه الاحماض لتكوين الكوليسترول مسببا في خفضه في بلازما الدم و (Higashikawa وآخرون ، 2009). كذلك تبين من النتائج في الجدول (3) حصول ارتفاع معنوي ($p < 0.05$) في قيم البروتينات الدهنية مرتفعة الكثافة (HDL) High Density Lipoprotein في مجاميع الحيوانات المعطاه فمويا مع ماء الشرب من انواع بكتريا حامض اللاكتيك ، وان أكثر ارتفاع في قيمتها كان في افراد المجموعة رقم 5 التي بلغت عند 59.50 ملغم/ديسلتر مقارنة مع قيمتها في مجموعة حيوانات السيطرة التي كانت 44.50 ملغم /ديسلتر وكانت قيم HDL في المجاميع الاخرى 2 ، 3 ، 4 ، 6 ، 7 ، 8 ، 48.75 ، 55.75 ، 49.75 ، 55.25 ، 50.25 ، 51.25 ملغم/ديسلتر على التوالي . اما مستوى قيم البروتينات الدهنية المنخفضة الكثافة Low Density Lipoprotein (LDL) فقد انخفضت معنويا في مجاميع الحيوانات مقارنة مع قيمها في مجموعة السيطرة التي كانت عند 38.65 ملغم/ ديسلتر. النتائج المشار اليها اتفقت مع ماذكرة Xiao وآخرون (2003) و Hana وآخرون (2009)

وعبدالله (2010) في ان استهلاك انواع بكتريا حامض اللاكتيك قد سببت في زيادة تركيز HDL وانخفاض LDL. ان المعايير المشار اليها من HDL و LDL تتاثر في مستوى الكليسيريدات الثلاثية والكوليستيرول في داخل الخلايا.

التأثير في مستوى الكلوكوز:

ان الاعطاء الفموي من انواع بكتريا حامض اللاكتيك في مستوى سكر الكلوكوز في دم الحيوانات، بعد تغذيتها لمدة 42 يوما وقد وضحاها الجدول 4. تبين من النتائج حصول انخفاض معنوي ($p < 0.05$) في تركيز سكر الكلوكوز في جميع مجاميع الحيوانات المعطاة فمويا من انواع بكتريا حامض اللاكتيك مقارنة مع مجموعة السيطرة. اذ ان مستوى مستوى سكر الدم في مجاميع الحيوانات 2، 3، 4، 5، 6، 7، 8 كان عند 88.75، 87.75، 85.75، 89.00، 86.00، 85.75، 87.25 ملغم/ديسلتر على التوالي مقارنة مع قيمتها في حيوانات مجموعة السيطرة التي كانت عند 107.57 ملغم/ديسلتر.

جدول 4. تأثير المعززات الحيوية في بعض المعايير الكيموحيوية في الجرذان بعد الاعطاء فمويا مع ماء الشرب لمدة 42

يوما.

ارقام المجاميع	معايير الكلوكوز والبروتين (ملغم/ديسلتر)			
	الكلوبولين	الالبومين	البروتين الكلي	الكلوكوز
1	3.80a ±0.39	3.32a ±0.26	7.12a ±0.33	107.57a ±4.03
2	3.15a ±0.37	3.42 a ± 0.22	6.57b ±0.25	88.75b ±7.27
3	3.17a ±0.20	3.42a ±0.40	6.60b ±0.21	87.75b ±3.30
4	3.17a ±0.37	3.67a ±0.20	6.85ab ±0.20	85.75b ±3.94
5	3.65a ±0.26	3.55a ±0.28	7.20a ±0.31	89.00b ±2.58
6	3.65a ±0.26	3.32a ± 0.30	6.97ab ± 0.29	86.00b ±85.75
7	2.97a ±0.43	3.62a ± 0.22	6.60b ±0.21	85.75b ±5.12
8	3.27a ± 0.33	3.32a ±0.25	6.80ab ±0.25	87.25b ±3.59

- 1-مجموعة السيطرة 2-مجموعة الحيوانات المجرعة من *Lb.acidophilus*+ *Bif. bifidoum*+*Lb.cacei* 3- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. langoum* 4- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. helveticus* 5- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. plantarum* 6- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb.rutaurie* 7- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb.rhamosus* 8- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb.fermentum*

• e_a: الاحرف المختلفة في العمود الواحد تشير الى الاختلافات المعنوية بين المعدلات عند مستوى احتمالية 0.05

• المعدلات محسوبة لخمسة مكررات من الحيوانات. ± تشير الى Std. error.

يمكن ان يكون سبب الانخفاض الحاصل في مستوى الكلوكوز راجع الى تأثير المركبات الايضية الناتجة عن الايض الخلوي للانواع البكتيرية المستعملة وهذا قد يؤثر في تثبيط الامتصاص المعوي للكلوكوز (Abe واخرون ، 2009) كما ان انخفاض مستوى السكر يمكن ان يعود الى وجود مركب glucan في النواتج الايضية لهذه الانواع المايكروبية الذي يعمل على الارتباط بجزيئات الكلوكوز مسبباً قلة امتصاصها من قبل الأمعاء وزيادة طرحها مع الفضلات (Tietz، 2005) .

التأثير في مستوى البروتين الكلي والالبومين والكلوبيولين في دم الجرذان:

يبين الجدول 4. تأثير الاعطاء الفموي من المعززات الحيوية لانتواع بكتريا حامض اللاكتيك في مستوى كل من البروتين الكلي والالبومين والكلوبيولين في مصل دم الحيوانات. ان انخفاض تركيز البروتين في مصل الدم قد حصل بصورة معنوية في مجاميع انواع الحيوانات لاسيما المجاميع 2 ، 3 ، 7 ، اذ كانت عند 6.57 ، 6.60 ، 6.60 ملغم / ديسلتر على التوالي مقارنة مع تركيز في مجموعة حيوانات السيطرة التي كانت 7.12 ملغم/ديسلتر. اما قيم كل من الالبومين او الكلوبيولين. فانها لم تتغير معنويا في جميع مجاميع الحيوانات المعطاة فمويا من بكتريا حامض اللاكتيك مقارنة مع قيمها في حيوانات مجموعة السيطرة . ان انخفاض تركيز البروتين يمكن ان يكون راجعا الى قدرة انواع بكتريا حامض اللاكتيك في انتاج الكلوكان الذي يمكن ان يكون سببا في ازاحة الاحماض الامينية او الانزيمات من الامعاء مسببا في انخفاض تكوين البروتين عن مستواة في دم الحيوانات.

التأثير في مستوى إنزيمات الكبد:

يبين الجدول 5. ان مستوى إنزيمات الكبد في مصل دم الجرذان المعطاة فمويا مع مياه الشرب من انواع بكتريا حامض اللاكتيك خلال مدة التجربة البالغة 42 يوماً .

جدول 5. تأثير المعززات الحيوية في نشاطية بعض انزيمات الدم في الجرذان بعد اعطاها مع ماء الشرب فمويا لمدة 42 يوما.

نشاطية بعض الانزيمات في دم الجرذان (IU/L)			ارقام المجاميع
ALP	AST	ALT	
49.50a ± 2.64	30.00a ± 2.16	106.0a ± 4.54	1
42.75b ± 2.50	23.75bc ± 3.09	101.5a ± 5.97	2
35.25c ± 3.30	21.50c ± 2.38	102.2a ± 4.34	3
33.25c ± 2.75	27.75ab ± 2.21	100.75a ± 7.27	4
45.75ab ± 4.34	24.00bc ± 3.36	96.7 b ± 6.99	5
27.00d ± 1.82	23.75bc ± 2.75	92.5 b ± 4.04	6
34.75c ± 6.34	24.25bc ± 0.95	102.2 a ± 5.73	7
44.00ab ± 3.36	23.50c ± 2.38	101.7 a ± 4.03	8

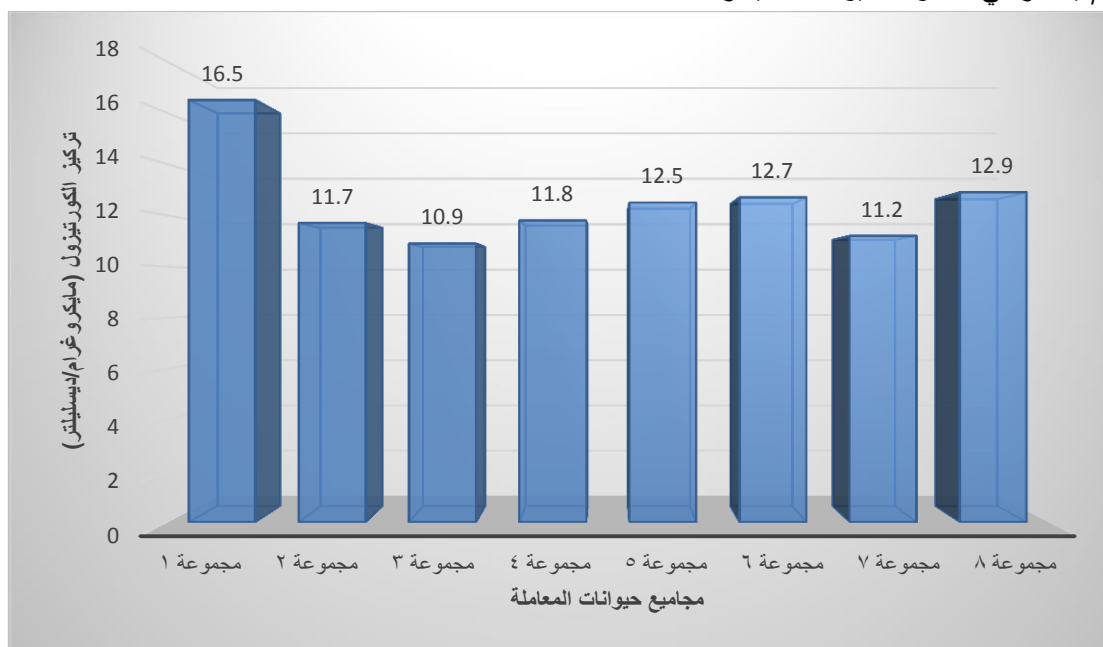
- 1-مجموعة السيطرة 2-مجموعة الحيوانات المجرعة من *Lb.acidophilus* + *Bif. bifidum* + *Lb.cacei* 3- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. langoum* 4- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. helveticus* 5- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + .
- 6- *Lb. plantarum* 7- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. rautaurie* 8- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. ramosus* 7- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. fermentum* 8- مجموعة الحيوانات المجرعة في (2) + *Lb. fermentum*
- e_a :الاحرف المختلفة في العمود الواحد تشير الى الاختلافات المعنوية بين المعدلات عند مستوى احتمالية 0.05.

يتبين من النتائج عدم حصول تغير معنوي ($p > 0.05$) في مستوى نشاطية انزيم ALT ماعدا حصول الانخفاض في مجموعتي حيوانات 5 ، 6 ، اللتان كانت عند 96.7 و 92.5 وحدة دولية /لتر اما النشاط الانزيمي لكل من AST و ALP قد انخفضت معنويا في حيوانات مجاميع الجرذان المعطاة فمويا مع ماء الشرب من انواع بكتريا حامض اللاكتيك حيث كانت نشاطية الانزيم AST في مجاميع الحيوانات 2 ، 3 ، 4 ، 5 ، 6 ، 7 ، 8 عند 23.75 ، 21.50 ، 27.75 ، 24.00 ، 23.75 ، 24.25 ، 23.50، وحدة دولية/لتر مقارنة مع قيمها في مجموعة السيطرة عند 30.00 وحدة دولية/لتر وان قيم نشاطية انزيم ALP كانت

عند 42.75 ، 35.25 ، 33.25 ، 45.75 ، 27.00 ، 34.75 ، 44.00 وحدة دولية/ لتر على التوالي مقارنة مع قيمتها في مجموعة حيوانات السيطرة التي كانت 49.5 وحده دولية /لتر. ويمكن ان يعزى سبب ذلك إلى دور انواع بكتريا حامض اللاكتيك في تحسين المؤشرات الأيضية في الكبد ومن ثم تحسين وظائفه من خلال تحسين العمليات الايضية فيه، هذه النتائج توافقت مع ما وجدته (Minellia واخرون 2004). تعد إنزيمات ALT ، AST ، ALP من الدلائل الحساسة لمعظم الأمراض المتعلقة بحالة الكبد الصحية كتلف او التهاب او تضخم الكبد إذ ان زيادة إفرازها في الدم يعد مؤشرا على حصول الخلل في خلايا الكبد .

تأثير التغذية بالمعززات الحيوية في مستوى نشاط هرمون الكورتيزول:

بين الشكل 1. تأثير الاعطاء الفموي من انواع بكتريا حامض اللاكتيك لمدة 42 يوما في مستوى هورمون الكورتيزول في دم الجرذان . بينت النتائج ان الاعطاء الفموي من انواع بكتريا حامض اللاكتيك قد سببت في انخفاض مستوى الهورمون في دم الجرذان اذ انخفض مستواه الى 10.9 مايكروغرام/ديسلتر في المجموعة الثالثة من الحيوانات وعند 12.9 مايكروغرام/ديسلتر في مجموعة الحيوانات الثامنة مقارنة التي كانت معطاة من انواع بكتريا حامض اللاكتيك مقارنة مع قيمة الهورمون عند 16.5 مايكروغرام/ديسلتر في مجموعة حيوانات السيطرة.



شكل 2. تأثير المعززات الحيوية في فعالية هورمون الكورتيزول في دم الجرذان بعد اعطاها مع ماء الشرب لمدة 42 يوما.

- 1-مجموعة السيطرة 2-مجموعة الحيوانات المجرة من *Lb.acidophilus* + *Bif. bifidum* + *Lb.cacei* 3- مجموعة الحيوانات المجرة في (2) + *Lb. langoum* 4- مجموعة الحيوانات المجرة في (2) + *Lb. helveticus* 5- مجموعة الحيوانات المجرة في (2) + *Lb. plantarum* 6- مجموعة الحيوانات المجرة في (2) + *Lb. rautaurie* 7- مجموعة الحيوانات المجرة في (2) + *Lb. ramosus* 8- مجموعة الحيوانات المجرة في (2) + *Lb. fermentum*
- المعدلات محسوبة لخمس مكررات من الحيوانات. $\pm$ تشير الى std. error.

يعد هورمون الكورتيزول بأنه احد الهرمونات الستيرويدية الذي يفرز من قشرة الغدة الكظرية استجابة لعمليات الاجهاد التي تحصل على الكائن الحي، يشارك في تنظيم مستوى ضغط الدم وفعالية الشرايين القلبية والكثير من الفعاليات الايضية (Stevens واخرون، 2008). يتم تنظيم مستوياته في الدم من خلال السيطرة على افرازه من قبل الغدة الكظرية. وقد تبين بان زيادة افرازه تؤدي في حصول مايسمى اعراض كوشنك (Cushing syndrome) الذي ترافقه دائما حصول حالات السمنة من خلال زيادة التمثيل الايضي في خلايا الجسم وتجمع الدهون وتراكمها لاسيما في منطقة الردف والبطن. اما حالات انخفاض الحاد فان الناتج عنها هو حصول متلازمة Addisons التي يرافقها حصول حالات نقص الوزن الحاد (Tao Le واخرون ، 2009).

تأثير التغذية بالمعززات الحيوية في مستوى في توازن الانواع البكتيرية في امعاء الجرذان:

يبين الجدول 6. تأثير الاعطاء من المعززات الحيوية لانواع بكتريا حامض اللاكتيك في حالة التوازن المايكروبي لبكتريا حامض اللاكتيك وبكتريا المعوية في الاثنى عشري للفانفي الامعاء الغليظة بينت النتائج ان الاعداد الكلية لانواع البكتريا المعوية قد انخفضت معنويا ($p < 0.05$) في جميع المجاميع الجرذان المعاملة بالاعطاء الفموي من انواع بكتريا حامض اللاكتيك وازدادت معنويا مقابلها الاعداد الكلية لانواع بكتريا حامض اللاكتيك في المجاميع المذكورة ، مقارنة مع اعدادها الكلية في حيوانات مجموعة السيطرة التي كانت الاعداد الكلية لانواع البكتريا المعوية هي السائدة معنويا . فقد كانت الاعداد الكلية لانواع البكتريا المعوية في جزء الاثنى عشري من الامعاء للمجاميع المعاملة بالمعززات الحيوية 2 ، 3 ، 4 ، 5 ، 6 ، 7 ، 8 ، هي عند 5.03 ، 5.17 ، 5.36 ، 5.56 ، 5.34 ، 5.33 ، 5.19 ، لو و ت م / مل على التوالي وقابلها زياده الاعداد الكلية من انواع بكتريا حامض اللاكتيك التي كانت عند 6.19 ، 6.19 ، 6.36 ، 6.07 ، 6.15 ، 6.26 ، 6.24 ، لو و ت م / مل على التوالي مقارنة مع اعدادها من الاعداد الكلية المعوية وبكتريا حامض اللاكتيك التي كانت عند 6.26 ، 5.26 ، لو و ت م / مل على التوالي وحصل الحال نفسه في زيادة انواع بكتريا حامض اللاكتيك معنويا في كل من اجزاء الامعاء للحيوانات في الفانفي والامعاء الغليظة وانخفاض الاعداد الكلية لبكتريا المعوية فيها معنويا مقارنة مع اعدادها الكلية في مجاميع السيطرة للحيوانات في نفس منطقة الامعاء. ان انخفاض الاعداد الكلية من انواع البكتريا المعوية وازدياد الاعداد الكلية من انواع بكتريا حامض اللاكتيك يمكن ان يرجع الى قابلية انواع بكتريا حامض اللاكتيك إفرازها لحامض اللاكتيك وكذلك إنتاج بيروكسيد الهيدروجين والبكتريوسين فضلاً عن قابليتها على الالتصاق في الأمعاء (Preethi وآخرون، 2014) وهذه في مجموعها تكون كعوامل تثبيط للإقلال من البكتريا المرضية. حيث تقوم بكتريا حامض اللاكتيك LAB عند وجودها في القناة الهضمية بإنتاج حامض اللاكتيك (Lactic acid) الذي يؤدي الى خفض الأس الهيدروجيني داخل القناة الهضمية والذي بدوره يثبط نمو الأحياء المجهرية المرضية ويشجع الأحياء المجهرية النافعة اذا ان حامض اللاكتيك يعد بانه ، هو من أهم النواتج النهائية لعملية التخمر تنتجها انواع LAB خلال عمليات الأيض الهدي للكاربوهيدرات لأجل الحصول على الطاقة فضلاً عن بعضها ينتج حامض الخليك والبروبيونك (Kandler و Weiss 1986) . كما ان قدرة انواع بكتريا حامض اللاكتيك في إنتاج بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 (Adams و Necolaides ، 1997) الذي له فعل مثبط للبكتريا المرضية و اذ يعمل على أكسدة الدهون الموجودة في جدار الخلية البكتيرية مسبب في زيادة نفاذية الجدار الخلوي لها (Kong و Davison 1980) . فضلاً عما ذكر فإن أنواع بكتريا حامض اللاكتيك لها القابلية في إنتاج بعض المضادات للأنواع البكتيرية الأخرى لاسيما المرضية مثل Bacteriocin، ويعود الفعل التثبيطي لهذه المواد إلى قدرتها على الإدمصاص مع المستقبلات الموجودة على الجدار الخلوي للأنواع البكتيرية مسبباً تأثيرات مظهرية وأيضية تؤدي بالتالي إلى موت الخلية (Mishra و Lambert 1996) وإن من أهم صفات بكتريا حامض اللاكتيك هي قدرتها على الالتصاق والغرس في جدران الأمعاء بالإضافة إلى مقاومة الأرقام الهيدروجينية الواطئة والتركيز العالية لأملح الصفراء (yoon وآخرون ، 1984) . وتعد عملية الالتصاق من الخطوات الأولى للكائنات المجهرية الممرضة لإحداث الإصابة لذلك فان تكمن أهمية الدور التنافسي لانواع لبكتريا حامض اللاكتيك في الالتصاق للتقليل من خطر المسببات المرضية (Beachy، 1981).

جدول 6. تأثير الاعطاء الفموي مع ماء الشرب من المعززات الحيوية في توازن النيبب الطبيعي لامعاء الجرذان بعد اعطائها لمدة 42 يوما.

ارقام المجاميع	النوع البكتيري	اعداد الانواع البكتيرية في امعاء الجرذان (لو (و ت م / غم)		
		اثني عشري	لفانفي	الامعاء الغليظة
1	بكتريا حامض اللاكتيك	5.26d ±0.36	5.19e ±0.23	5.53f ±0.47
	البكتريا المعوية	6.26a ±0.16	6.25b ±0.83	5.93d ±0.98
2	بكتريا حامض اللاكتيك	6.19a ±0.23	6.15b ±0.30	6.55c ±0.22
	البكتريا المعوية	5.07a ±0.15	5.07f ±0.15	5.31h ±0.22
3	بكتريا حامض اللاكتيك	6.19a ±0.23	6.17b ±0.30	6.69b ±1.02
	البكتريا المعوية	5.17e ±0.34	5.35d ±0.45	5.41g ±0.50
4	بكتريا حامض اللاكتيك	6.36a ±0.53	6.41a ±0.34	6.77 b ±0.51
	البكتريا المعوية	5.36d ±0.29	5.46c ±0.32	5.57f ±0.51
5	بكتريا حامض اللاكتيك	6.07b ±0.15	6.19b ±0.23	6.98a ±0.71
	البكتريا المعوية	5.56c ±0.49	5.24d ±0.32	5.19g ±0.23
6	بكتريا حامض اللاكتيك	6.15a ±0.17	6.22b ±0.28	6.62b ±0.28
	البكتريا المعوية	5.34d ±0.69	5.60b ±0.71	5.77e ±0.49
7	بكتريا حامض اللاكتيك	6.26a ±0.19	6.50a ±0.61	6.66b ±0.76
	البكتريا المعوية	5.33d ±0.66	5.31d ±0.44	5.51f ±0.83
8	بكتريا حامض اللاكتيك	6.24a ±0.32	6.11c ±0.23	6.51c ±0.43
	البكتريا المعوية	5.19e ±0.23	5.49c ±0.61	5.52f ±0.61

- 1-مجموعة السيطرة 2-مجموعة الحيوانات المجرة من *Lb.acidophilus* + *Bif. bifidum* + *Lb.cacei* 3- مجموعة الحيوانات المجرة في (2) + *Lb. langoum* 4- مجموعة الحيوانات المجرة في (2) + *Lb. helveticus* 5- مجموعة الحيوانات المجرة في (2) + *Lb. plantarum* 6- مجموعة الحيوانات المجرة في (2) + *Lb.rutaurie* 7- مجموعة الحيوانات المجرة في (2) + *Lb.rhamosus* 8- مجموعة الحيوانات المجرة في (2) + *Lb.fermentum*
- h_a: الاحرف المختلفة في العمود الواحد تشير الى الاختلافات المعنوية بين المعدلات عند مستوى احتمالية 0.05
- المعدلات محسوبة لخمسة مكررات من الحيوانات. ± تشير الى St. Error

المصادر:

- الدوري ، صلاح صديم صالح (2010). عزل وتشخيص بعض أنواع بكتريا حامض ألاككتيك ألعلاجية ودراسة تأثيرها على بعض المتغيرات الفسلجية والكيموحيوية في أالجرذان نوع Albino ، اطروحة دكتوراه ، كلية التربية جامعة تكريت ، العراق .
- السعدي ، زينب نشأت (2010). دراسة قابلية بكتريا *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium bifidum* في الوقاية والعلاج من التهاب الأمعاء المحدث بالـ *Salmonella typhimurium* في الجرذان . أطروحة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة تكريت ، العراق .
- عبدالله ، خزعل شعبان (2010). تأثير عمليات التبريد والتجميد والتجفيد على بكتريا حامض اللاكتيك العلاجية المستخدمة في إنتاج اللبن العلاجي باستخدام بعض المثبتات". اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة والغابات ،جامعة الموصل ، العراق.

Abe, Fumiaki; Yaeshima, Tomoko and Iwatsaki, Keiji (2009). Safety evaluation of Two Probiotic Bifidobacterial Strains Bifidobacterium breven M_16V and Bifidobacterium infantis M_16, by oral toxicity tests using rats. Bio. Sci. Microflora 28(1); 7-15

- Adams, M. R. and Nicolaidis, N. (1997).** "Review of the sensitivity of different borne pathogens to fermentation" *Journal of Food. Control*, 8(5):277-239.
- Alan W. W. and Parkhill J. (2013).** Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science*. Vol. 341 (6150), pp. 1069-1070.
- Alice P. Liou, A.P. ; Paziuk, M. ; Luevano, Jr., J.M. ; Machineni, S. ;Turnbaugh, P.J and Kaplan L. M. (2013).** Conserved Shifts in the Gut Microbiota Due to Gastric Bypass Reduce Host Weight and Adiposity. *Sci Transl Med*, Vol. 5, 178-191.
- Beachy, E. (1981).** Bacterial Adherence: Adhesion-Receptor Interactions mediating the attachment of bacteria to the mucosal surfaces" *Journal of Infection Diseases*, 3(143):325-345.
- Benson H J. (2005).** Microbiological application: Laboratory manual in general microbiology. 8th ed. McGraw Hill. New York.
- Brashears, M. M.; S. E. Gilliland and L. M. Buck (1998).** Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus casei*. *J. Dairy Sci.* 81: 2103.
- Duncun, B. D. (1955).** Rang and multiple F-test .*Biometric* 11:1-42.
- Hanaa A. EL-Shafie; I. Nagwa Yahia; A. Hanem Ali; A. Fatma Khalil; M. Ebtsam El-Kady and A. Yomni Moustafa (2009).** Hypocholesterolemic Action of *L. plantarum* NRRL-B-4524 and *L.paracasei* in Mice with Hypercholesterolemia Induced by Diet
- Higashikawa, F.; Noda, M.; Awaya, T.; Nomura, K.; Oku, H. and Sugiyama, M. (2009).** Improvement of constipation and liver function by plant_derived lactic acid bacteria : A double-blind , randomized trial . *Science Dived* 5. Doi; 10. 1016/j.nut
- Jeffrey S. Flier J.S. and Mekalanos, J.J. (2009).** Gut Check: Testing a Role for the Intestinal Microbiome in Human Obesity. *Sci Transl Med*, Vol. 11 (6) pp. 6-7.
- Kandler, O. & Weiss, N. (1986).** Genus *Lactobacillus*: *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*. Vol.2. 1208-1234.
- Koneman EW, Winn WC, Allen SD, Janda WM, and SchreckenbergerPC. (2006).** Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, USA.
- Koneman, E. W. ; Allen, S. D. ; Janda, W. M. ; Schreckenberger, P. C.and Winn, W. C. (2006).** *Diagnostic Microbiology*" 4th ed., J. B. Lippincott Company , Philadelphia.
- Kong , S. and Davison , A.J.(1980).** The role of interaction between O₂, H₂, e- and O₂- in freeradical damage to biological system. *Arch.Biochem. Biophys.*,204:13-29.
- Midilli, M. ; Alp, M. ; Kocabağlı, N. ; Muğlalı, Ö.H. ; Turan,N. ; Yılmaz, H. & Çakır, S. (2008).** Effects of dietary probiotic and prebiotic supplementation on growth performance and serum IgG concentration of broilers. *South African J. Ani. Sci.* 38(1).
- Minellia, E.B. ; Beninia, A. ; Marzottob, M. ; Sbarbatic, A. ; Ruzzenented, O. ; Ferrarioe, R. ; Hendriksf, H. & Dellaglio, F. (2004).** Assessment of novel probiotic *Lactobacillus casei* strains for the production of functional dairy foods. *Inter. Dairy J.* 14:723–736.
- Mishra, C.and Lambert J. (1996).** Production of anti-microbial substances by probiotics. *Asia pacific Journal of clinical nutrition*;S (1): 20-24
- National Research Council Recommended(NAS-NRC). (2002).** Dietary Allowance.15th ed. Washington. D.C National Academy. Press.
- Preethi S., Sandhya K., Esther Lebonah D., Venkata Prasad Ch., Sreedevi B., K. Chandrasekhar, J. Pramoda Kumari (2014).** Toxicity of bisphenol a on humans: a review. *International Letters of Natural Sciences* 22:32-46.
- Stevens, R.C.; Soelberg, S.D. ; Neara, S. and Furlong, C.E. (2008).** Detection of cortisol in saliva with a flow-filtered, portable surface plasmon resonance biosensor system *Anal Chem*, 80 (17): 6747–6751
- Tao Le et al.(2009).** first aid USMLE step
- Tietz, N. D., (2005).** Fundamentals of clinical chemistry. W.B. Saunders, Philadelphia. pp. 723-750.

- Tollba, A.A.H. & Mahmoud, R.M. (2009).** How to control the broiler pathogenic intestinal flora under normal or heat stress. J. Egypt. Poult. Sci. 29(2):565-587.
- Winn, J. W. ; Allen, S. ; Janda, W. ; Koneman, E. ; Procop, Schreckenberger, P. and Woods, G. (2006).** Konemans Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology” 6th ed., Lippincott Williams and Wilkins, U.S.A
- Xiao, J. Z.; S. Kondo; N. Takahashi; K. Oshida; A. Hiramatsu; S. Kokubo and A. Hosono (2003).** Effect of Milk Products Fermented by Bifidobacterium longum on blood Lipids in Rats and Healthy Adult Male Volunteers. J. Dairy Sci. 86: 2452-2461
- Yoon, Y.H.; Jeong, E.B. and Yooy, K.B. (1984).** Adhesion of Lactic Acid bacteria to Epithelial Cells. Korean J. Dairy Sci 6: 142 – 150 .
- Zommara M. A.; A. M. El-Boz; M. A. Rashed and A . A. Manosur (2006) .** Health promoting effection mixed zabady and Bifidoibacteria fermented milks fed rate. Egy. J. Dairy Sci. 343(1):47-57