تحديد فعالية بعض انواع بكتريا حامض اللاكتيك والكولاجين في المعايير المناعية للجرذان المصابة بالسالمونيلا*

عماش عطية سعيد

جامعة الموصل / كلية الزراعة والغابات/ قسم علوم الاغذية

(قدم للنشر في ٢٠١٨/١١/١٧ ، قبل للنشر في ٢٠١٨/١٢/٤)

ملخص البحث:

هدفت الدراسة الى تحديد تاثير الاعطاء الفموي من بعض انواع بكتريا حامض اللاكتيك (LAB) المعزولة من عينات اللبن الرائب (Yogurt) المحلي مجتمعة او مع الكولاجين (Collagen) كمعالجة لذكور الجرذان السليمة و المستحث اصابتها ببكتريا *Salmonella typhimurium* في بعض معايير الدم الفسلجية والكيموحيوية والمناعية كذلك في تاثيرها في التوازن الميكروبي للنبيت الطبيعي (Microbiota) في امعاء الحيوانات. بينت النتائج ان الاعطاء الفموي للحيوانات المعالجة من عوالق انواع بكتريا حامض اللاكتيك مجتمعة او مع الكولاجين لم تؤثر معنويا ($p<0.05$) في قيم كل من البروتين الكلي والكلوبيولين التي كانت عند ٥,٧٣ و ٣.٢٩ (ملغم/ديسلتر) وكان الانخفاض معنويا في مستويات الكلوبيولينات المناعية IgG, IgA مقارنة مع قيمها في مجاميع السيطرة للحيوانات السليمة.

Abstract:

The study aimed that the effects of the oral doses of some species of Lactic acid bacteria (LAB) from specimens of the local yoghurt. Also given together or with the collagen within some of the physiological, biochemical and immunological standards in the males of mice both healthy and empirically Salmonella-infected were determined. In addition, the effect of the species was determined in the microbial balance of the Microbiota in the intestines of the animals the results confirmed that the oral dosing of these species together or with the collagen caused in the typical increase to ($p<0.05$) in the values of the total protein and the Globulin ,it was 5.73, 3.29(mg/dl) while a typical decrease occurred in the immunological globulins, IgG, IgA as compared to their values in the control groups of animals healthy .

***Keywords*: probiotic ,Lactic acid bacteria, microflora**

* بحث مستل من اطروحة الدكتوراه الموسومة تقييم التغيرات الحيوية والمناعية في الجرذان المعطاة فمويا من بعض انواع بكتريا حامض اللاكتيك والكولاجين للطالب عماش عطية سعيد باشراف أ.د. محمود اسعد عائد و أ.د. كركز محمد ثلج

المقدمة:

ان فاعلية المواد الوظيفية في الأمعاء تعمل في تعزيز نمو المعززات العلاجية فضلا عن ان تحللها يسبب في انتاج مركبات ذات فاعلية في زيادة مناعة الجسم كالفيتامينات وبعض الببتيدات. يعد الكولاجين بانه احد أنواع المواد الوظيفية التي تسبب عند وصولها الى القناة الهضمية في الجسم الى الحالات المشار اليها في أعلاه فضلا عن تعديل نسبة الكولاجين في الجسم الذي يعاني أساسا في نقص نسبته طبيعيا. يتميز الكولاجين بانه احد أنواع البروتينات حيث تصل نسبته الى اكثر من ٣٠% في معظم انواع او مصادر تواجده كالجلد والدم والاحشاء والانسجة الرابطة للعظام(Karamese *et al*,2016)

تسبب بعض المعززات الحيوية في احداث التحفيز المناعي في جسم المضيف الذي يتجلى في زيادة انتاج الكلوبيولينات المناعية وتعزيز فعالية البلعمة Macrophages واللمفوسايت lymphocytes وتحفيز انتاج الانترفيرون-γ (Oelschlaeger,2010). كما ان المعززات الحيوية تمتلك تاثيرات مهمه في إمكانية تثبيط انتاج السموم البكتيرية والمساعدة في ازالتها من الجسم من خلال الية امتزاز Adsorption تلك السموم وهذه الالية تتميز بها بعض السلالات التي يمكنها ان ترتبط مع تلك السموم من خلال جدار خلاياها مما يسبب في تقليل امتصاص تلك السموم في الامعاء (Oelschlaeger,2010) كما ان الفلورا الطبيعية تلعب دوراً هاماً في عمليات الايض للمضيف مثال ذلك امتصاص الكولستيرول وتنظيم ضغط الدم وايض الكلوكوز.

بينت بعض الدراسات العلاقة بين المعززات والاستجابة المناعية، التي تحصل من خلال انتاج البكتريوسينات، استعمار مواقع التداخل, خفض الأس الهيدروجيني للقولون, التنافس على المغذيات المتاحة في القولون, التنافس على مواقع الالتصاق على الخلايا الظهارية, تحفيز الجهاز المناعي اللانوعي (Dwivedi,2018). تستند التاثيرات المفيدة للمعززات الحيوية على قدرتها لتنظيم انتاج مضادات الالتهابات والسايتوكينات المؤيدة الالتهابية (Lescheid,2014). حيث يمكن للتاثيرات المناعية ان تسهم في اطلاق السايتوكينات من الخلايا المناعية, علاوة على ذلك تنظيم الاستجابات المناعية الفطرية والتكييفية وتظهر ادلة الاستجابة المناعية الموجهة نحو كل من انواع الخلايا التائية T المساعدة (Karamese *et al*,2016).

مواد وطرائق العمل

تم تحضير معلق بكتريا حامض اللاكتيك كمزيج من الأنواع المدروسة من مزارع الحفظ للعمل اليومي سابقة الذكر بأعداد ١×١٠^٦ وبأعداد ١.٥×١٠^٨ من بكتريا *S.typhimurium* من خلال المقارنة مع أنابيب محلول McFarland tubes المحضر حسب ماورد في(Baron and Finegold, 1994). استعمل الكولاجين الذي يحمل العلامة التجارية NEOCELL (Type I &3) أمريكي المنشأ لتحضير معلق الكولاجين بتركيز٢٥٠ ملغم/ مل في الماء المقطر. تم الحصول على ١٦ حيوان من ذكور الجرذان نوع (Albino Sprague Dawley –) من كلية الطب البيطري /جامعة تكريت, بأعمار بين ٧–٨ أسابيع ومتوسط أوزانها ١٠٠ غرام, وزعت الجرذان عشوائياً الى ٨ مجاميع بواقع ٤ حيوانات لكل مجموعة في أقفاص مصنوعة من stainless steel. لتربيتها تحت الظروف البيئية الملائمة كما ورد في (NAS–NRC,2002). وزعت المجاميع بعد ان غذيت فموياً من المعلق البكتيري *S.typhimurium* وبعد التأكد من الاصابة تم اعطاء المجاميع فموياً حسب الاتي: ١) مجموعة حيوانات السيطرة التي تركت بدون معاملة بعد الاصابة ٢) مجموعة الحيوانات المعطاة من مركزات بكتريا حامض اللاكتيك **LAB** ٣) مجموعة الحيوانات المعطاة من الكولاجين ٤) مجموعة الحيوانات المعطاة من مركز بكتريا حامض اللاكتيك والكولاجين. استمرت التغذية الفموي يومياً للحيوانات في المجاميع أعلاه بجرعة ١ مل بإعداد١×١٠^٦ خلية / يوم / حيوان من معلق بكتريا حامض اللاكتيك ومعلق الكولاجين بالتراكيز المحددة التي سبق ذكرها. استمرت التجربة مدة ٢١ يوم لحين الشفاء التام للحيوانات.

بعد انتهاء فترة التجربة مباشرة تم تخدير الحيوانات Anesthesia ومن ثم التشريح حيث تم سحب الدم من القلب مباشرة، ووضع الدم في أنابيب غير حاوية على مادة (EDTA) . وضع في كل أنبوبة ٥ مل من الدم وتركت الأنابيب لحين تجلط الدم ثم أجريت لها عملية النبذ المركزي عند سرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة ١٥ دقيقة للحصول على مصل الدم . تم حفظه تحت التجميد عند درجة حرارة (–٢٠ مْ) لحين إجراء التحاليل عليها وكما في (Tietz,2005) .

استخدمت عدة التحليل (Kit) الجاهزة المصنعة من قبل شركة BioLabo الفرنسية لتقدير كمية البروتين الكلي في مصل الدم Serum بالاعتماد على طريقة البايوريت Biuret Method كما في (Yang*et al*,2000). كما استخدمت طريقة

البروموكريسول الأخضرBromocresol green method لتقدير الالبومين في مصل الدم، باستعمال عدة التحليل الجاهزة (Kit) المصنعة من قبل شركة BioLabo الفرنسية كما ورد في (Tietz ,2005) .

تم احتساب تركيز الكلوبيولين المناعي من خلال الفرق بين البروتين الكلي والالبومين وكما جاء في (Tietz ,2005) . وكما في المعادلة التالية: تركيز الكلوبيولين = تركيز البروتين الكلي – تركيز الالبومين.

كما قُدر تركيز الكلوبيولينات المناعية Ig E, Ig M, Ig A, Ig G بطريقة الانتشار المناعي الشعاعي او القطري Radial Immunodiffusion (RID) (Mancini *et al*, 1965) اعتماداً الى تعليمات الشركة المصنعة المرفقة مع عدة التحليل الجاهزة المجهزة من شركة LTA الايطالية.تم تنفيذ التجربة بموجب التصميم العشوائي الكامل (Complete Randamized Design)، واجري تحليل التباين باستخدام النموذج الخطي العام(Model Linear General) .

النتائج والمناقشة

تاثير الاعطاء الفموي من انواع المعززات والكولاجين في معايير البروتين في مصل دم ذكور الجرذان السليمة والمصابة بالسالمونيلا.

ان تاثير الاعطاء الفموي من المعززات الحيوية لوحدها او مع الكولاجين في تركيز معايير البروتين في دم ذكور الجرذان المستحث فيها الاصابة بنوع البكتريا S.typhimurium قد وضحها الجدول (١) . ان تركيز البروتين الكلي Total protein(TP) في مصل دم ذكور الجرذان غير المصابة بالسالمونيلا المعطاة فموياً من المعززات الحيوية والكولاجين قد انخفض معنوياُ ($p<0.05$) في مجموعة المعززات ومجموعة الكولاجين حيث كان ٥,٣٨ و ٥,٦٤ (ملغم/ديسلتر) على التوالي عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة التي كان تركيز البروتين فيها ٥,٨٩ (ملغم/ديسلتر). اما مجموعة الحيوانات المعطاة فمويا من المعززات والكولاجين سوية فانه لم يسجل في هذه المجموعة فرق معنوي رغم انها قد ازدادت حسابيا وكانت عند ٦,٢٤ (ملغم/ديسلتر) مقارنة مع قيمتها في دم حيوانات مجموعة السيطرة.

اما تركيز البروتين الكلي في دم الجرذان المستحث اصابتها بالسالمونيلا المعطاة من المعززات الحيوية او الكولاجين كل على انفراد او سوية، فانه لم يكن يؤثر في حصول فرق معنوي بين مجموعة المعززات ومجموعة الكولاجين التي كانت قيمها عند ٥,٧١ و٥,٨٣ (ملغم/ديسلتر) على التوالي مقارنة مع قيمتها في دم حيوانات مجموعة السيطرة التي كان تركيز البروتين فيها ٥,٧٣ (ملغم/ديسلتر) من جهة

اخرى كان هنالك انخفاض معنوي في مجموعة المعززات والكولاجين معاً ٥,٤٧ (ملغم/ديسلتر) عند مقارنتها بمجموعة السيطرة.

كذلك اظهرت النتائج المبينة في الجدول (١) ان تركيز الكلوبيولين(globulin) في مصل دم الحيوانات السليمة المعطاة من انواع المعززات او المعززات والكولاجين سوية قد ارتفع معنوياً ($p<0.05$) حيث كان ٣,٩٣ و٣,٧٥ (ملغم/ديسلتر) على التوالي عند مقارنتهما مع قيمها في حيوانات مجموعة السيطرة حيث كان تركيز الكلوبيولين فيها ٣,٢٩ (ملغم/ديسلتر), بينما لم يكن هنالك فرق معنوي في تكيزه في مجاميع الحيوانات المصابة بالسالمونيلا بالمقارنة مع مجموعة السيطرة.

اما تركيز الالبومين (Albumin) في دم ذكور الجرذان غير المصابة فقد اظهرت النتائج حدوث انخفاض معنوي بين مجموعة المعززات ومجموعة الكولاجين وكان التركيز فيها ١,٤٥ و٢,٣١ (ملغم/ديسلتر) على التوالي مقارنة مع قيمها في مجموعة السيطرة التي سجلت ٢,٦٠ (ملغم/ديسلتر). ولم يلاحظ حصول فرق معنوي في قيمة تركيز الالبومين في دم حيوانات مجموعة المعززات الحيوية والكولاجين سوية عند مقارنتها مع قيمها في دم حيوانات مجموعة السيطرة. كذلك دلت النتائج الى عدم وجود فرق معنوي في تركيز البومين المصل في دم الحيوانات المصابة بالسالمونيلا المعطاة من المعززات او المعطاة من الكولاجين مقارنة مع قيمها في دم حيوانات مجموعة السيطرة التي سجلت ١,٥٤ (ملغم/ديسلتر). وقدانخفض تركيزه في مصل دم مجموعة الحيوانات المعطاة من المعززات والكولاجين سوية الى ١,٢٠ (ملغم/ديسلتر).

الجدول (١) تاثير الاعطاء الفموي من المعززات الحيوية والكولاجين في تركيز البروتين للجرذان المستحث فيها الاصابة بالسالمونيلا

تركيز مكونات البروتين في الجرذان (ملغم/ مل)

المجاميع	البروتين الكلي	الكلوبيولين	الالبومين	البروتن الكلي	الكلوبيولين	الالبومين
	غير مصابة بالسالمونيلا			مصابة بالسالمونيلا		
السيطرة	5.89[a] ± 0.81	3.29[b] ± 0.37	2.60 [a] ± 0.25	5.73 [a] ± 0.99	4.19 [a] ± 0.88	1.54 [a] ± 0.01
المعززات	5.38[b] ± 0.68	3.93 [a] ± 0.50	1.45[b] ± 0.17	5.71 [a] ± 0.87	4.10 [a] ± 0.69	1.61 [a] ± 0.03
الكولاجين	5.64[b] ± 0.85	3.33[b] ± 0.42	2.31[b] ± 0.31	5.86 [a] ± 0.95	4.31 [a] ± 0.80	1.55 [a] ± 0.02
المعززات والكولاجين	6.24 [a] ± 0.90	3.75[ab] ± 0.39	2.49 [a] ± 0.22	5.47[b] ± 0.78	4.27 [a] ± 0.97	1.20[b] ± 0.01

*الحروف الصغيرة في العمود الواحد تعني عدم وجود فروقات معنوية بينها عند مستوى احتمالية 0.05.

كان الاعطاء الفموي من بكتريا المعززات باعداد١×١٠^٦ خلية / مل / حيوان. ومن السالمونيلا للاصابة ١.٥×١٠^٨ خلية / مل / يوم . واعطي الكولاجين بتركيز ٢٥٠ ملغم / مل /حيوان

اتفقت هذه النتائج مع (Oke *et al*,2014) الذي وجد ان تغذية حيوانات التجربة (الديك الرومي) على المعززات الحيوية قد خفضت بشكل معنوي بروتين مصل دم هذه الحيوانات , واتفقت مع (الدوري , ٢٠١٠) الذي اشار الى حدوث انخفاض معنوي في مستوى البروتين الكلي في مصل دم اناث الجرذان بعد تجريعها الفموي من النواتج الايضية لانواع من بكتريا حامض اللاكتيك.

كذلك اشارت بعض المصادر الى وجود انخفاض في مستوى البروتين الكلي في مصل دم صغار الخنازير حديثة الفطام لكن بصورة غير معنوية عند تغذيتها على عليقة احتوت على المعززات الحيوية بينما كان الانخفاض معنوياً في مستوى الالبومين (Dlamini *et al*, 2017) .

ان الارتفاع المعنوي في تركيز الكلوبيولين في مصل دم الحيوانات المختبرية المعطاة فموياً من المعززات الحيوية قد اتفقت مع (Phad,

2014) الذي وجد في دراسته ان اعطاء المعززات كعلاج حيوي للاشخاص الاصحاء ادى الى زيادة في مستوى الكلوبيولين وانخفاض مستوى الالبومين , وربما يعود سبب ارتفاع الكلوبيولين الى زيادة انتاج الاجسام المضادة (antibodies) داخل الجسم عند تواجد الممرضات بسبب تحفيز الجهاز المناعي من قبل انواع بكتريا حامض اللاكتيك (Obiajuru *et al*,2017 و Bishop *et al*,2005).

لم تتفق نتائج دراستنا مع ما توصل اليه (محمد ,٢٠٠٨) الذي وجد حصول ارتفاع في مستوى البروتين الكلي (TP) في مصل دم الارانب عند استخدامه لبكتريا *L.acidophilus* في الوقاية من بكتريا السالمونيلا.

تاثير الاعطاء الفموي من المعززات الحيوية والكولاجين في مستويات الكلوبيولينات المناعية في دم الجرذان المستحث اصابتها بالسالمونيلا.

ان تاثير الاعطاء الفموي من انواع المعززات الحيوية والكولاجين او الاثنين معاً في مستويات الكلوبيولينات المناعية IgA, IgG ,IgE وIgM في دم ذكور الجرذان السليمة والمصابة بالسالمونيلا قد وضحها الجدول (٢).

تبين من النتائج ان تركيز كلوبيولين كاما (IgG) قد انخفض معنوياًعند ($p<0.05$) في حالة الاعطاء الفموي من المعززات او الكولاجين منفردة او سويا في دم الحيوانات السليمة والمصابة التي بلغت (٠,٩١ ,٠,٩٠ و٠,٩٤) (٠,٩٦ , ١,٠٤ و٠,٩٨) ملغم/ديسلتر على التوالي عند المقارنة مع مجموعتي السيطرة التي كان التركيز فيهما عند ٠,٩٨ و١,٩٠ (ملغم/ديسلتر) على التوالي. كذلك انخفض معنوياً تركيز كلوبيولين الفا (IgA) في مصل دم دم الحيوانات السليمة والمصابة المعطاة فموياً من المعززات الحيوية او الكولاجين او المعززات والكولاجين سوية حيث كانت التراكيز (٠,٤٥ , ٠,٤٣ و٠,٤٤) (٠,٦٠ ,٠,٥٠ و٠,٤٥) (ملغم/ديسلتر) على التوالي.

اما بالنسبة لتركيز كلوبيولين ابسلون وميو(M , E) في مصل دم الحيوانات السليمة فقد دلت النتائج على عدم حصول فرق معنوي بين تراكيزها . بالمقابل كان هناك ارتفاع معنوي في تركيز (Ig E) في مصل دم الحيوانات المصابة المعطاة فموياً من المعززات الحيوية التي سجلت ٠,٣٥ (ملغم /ديسلتر) عند مقارنتها مع مجموعة حيوانات السيطرة التي كانت ٠,٣٢ (ملغم /ديسلتر). بينما لم يكن هنالك فرق معنوي بين مجموعتي الحيوانات المعطاة من الكولاجين ومن المعززات والكولاجين معاً.

كذلك اشارت النتائج الى وجود ارتفاع معنوي في تراكيز (Ig M) في دم الحيوانات المصابة بالسالمونيلا المعطاة فموياً من انواع المعززات او الكولاجين او المعززات والكولاجين سويا حيث وصلت تراكيزها الى ٠,٢٩ , ٠,٣٨ و٠,٢٥ (ملغم /ديسلتر)على التوالي مقارنة مع ٠,٢٠ (ملغم /ديسلتر) الذي كان يمثل مجموعة السيطرة.

ان الاعطاء الفموي من بكتريا حامض اللاكتيك بجرعة $١٠^{٩}$ من وحدات تكوين المستعمرات يومياً لم يؤثر معنوياً على انتاج السايتوكينات او اجمالي الكلوبيولينات المناعية في الامعاء والمصل في الفئران (Tajada-Simon *et al*, 1999) .

بينما تناول المعززات الحيوية كخليط ادى الى انخفاض مستويات السايتوكينات في الوقت نفسه ادى الى زيادة في مستويات Ig G وIg A اعتماداً الى الجرعة المعطاة حيث تناسبت الزيادة طردياً مع الجرعة (Karamese *et al*, 2016) , هذا قد يفسر عدم حصول زيادة في تراكيز الكلوبيولينات في نتائج الدراسة الحالية والذي قد يكون بسبب انخفاض الجرعة المعطاة $١٠^{٦}$/ و. ت. م /يوم حيث اشارت اغلبية الدراسات الى ان تحفيز الفعالية في جميع الاحوال تعتمد على الجرعة , اذ ان استعمال مايقارب $١٠^{١١}$/ و. ت. م /يوم من العصيات اللبنية Lactobacillus ادى الى زيادة معنوية في عملية الالتهام في حين لا تحصل زيادة عند استعمال جُرع اقل من $١٠^{٧}$–$١٠^{٩}$ / و. ت. م /يوم (الخفاجي , ٢٠٠٨) .

الجدول (٢) تاثير الاعطاء الفموي من المعززات الحيوية والكولاجين في تركيز الكلوبيولينات المناعية للجرذان المستحث فيها الاصابة بالسالمونيلا

المجاميع	تركيز انواع الكلوبيولينات المناعية							
	غير مصابة بالسالمونيلا				مصابة بالسالمونيلا			
	Ig G Mg/dl	Ig A Mg/dl	Ig E IU/ml	Ig M Mg/dl	Ig G Mg/dl	Ig A Mg/dl	Ig E IU/ml	Ig M Mg/dl
السيطرة	0.98[a] ± 0.01	0.48[a] ± 0.01	0.35[b] ± 0.01	0.22[a] ± 0.01	1.90[a] ± 0.06	0.62[a] ± 0.07	0.32[b] ± 0.04	0.20[c] ± 0.01
المعززات	0.91[c] ± 0.01	0.45[b] ± 0.03	0.32[b] ± 0.02	0.23[a] ± 0.01	0.96[b] ± 0.03	0.60[a] ± 0.04	0.35[a] ± 0.02	0.29[b] ± 0.01
الكولاجين	0.90[c] ± 0.02	0.43[b] ± 0.01	0.30[b] ± 0.02	o.20[a] ± 0.01	1.04[b] ± 0.06	0.50[b] ± 0.08	0.30[b] ± 0.05	0.38[a] ± 0.01
المعززات والكولاجين	0.94[b] ± 0.01	0.44[b] ± 0.01	0.28[b] ± 0.01	0.20[a] ± 0.01	0.98[b] ± 0.04	0.45[b] ± 0.05	0.31[b] ± 0.05	0.25[c] ± 0.01

*الحروف الصغيرة المتشابهة في العمود الواحد تعني عدم وجود فروقات معنوية بينها عند مستوى احتمالية 0.05 .كان الاعطاء الفموي من بكتريا المعززات باعداد١×١٠^٦ خلية / مل / حيوان. ومن السالمونيلا للاصابة ٥ .١×١٠^٨ خلية / مل / يوم . اعطي الكولاجين بتركيز ٢٥٠ ملغم/مل/حيوان.

اشار الباحث Paineau وآخرون (2008) الى ان استخدام سلالات *B.lactis* و*l.acidophilus* بجرعة ١٠^٩ / و. ت. م / يوم خفضت معنوياً مستويات Ig G المصل.

تم اجراء دراسة لتحديد ما اذا كانت (LAB) تتداخل مع جيوب بايرPeyer's patches او الخلايا الطلائية Epithelial cells حيث تم معاملة هذه البكتريا كمستضد Antigen مما يحفز هذه الخلايا على انتاج اجسام مضادة Antibodies مضادة لـ LAB , هذه الاجسام تم تحديدها في السوائل المعوية بواسطة اختبار ELISA اذ لوحظ ان الانواع البكتيرية *l.casei* , *l.plantarum* , *s.thermophilus* و *l.rhamnosus* استحثت انتاج اجسام مضادة خاصة Epitopes ضد Ig A , هذا يعني ان تلك الاحياء (LAB) تم معاملتها كمستضدات Antigens من قبل الخلايا المناعية المرتبطة بالغشاء المخاطي للامعاء (Perdigon *et al*,2001).

هنالك بعض الادلة الواقعية التي اشارت الى وجود آلية مهمة من خلالها تقوم المعززات الحيوية بتزويد الجسم بالفوائد الصحية من خلال تعديل الوظائف المناعية ومع ذلك من اجل فهم كيفية ان هذه البكتريا تُحسّن صحة الانسان لا تزال غير معروفة الى حد كبير (van Hemert *et al*, 2010), حيث فسّر de Vrese وآخرون (2005) تعديل الاستجابة المناعية من قبل بكتريا المعززات الى وجود بعض مكونات الخلية المهمة ما بين بروتوبلاست الخلية والجدار الخلوي مثل حامض lipoteichoic والسكر المتعدد polysaccharide مع معقدات الببتوكلايكان.

ثبت في دراسة حديثة ان لببتيدات الكولاجين دور في منع استجابات الحساسيةAllergic responses عن طريق انحراف التوازن بين خلايا T المساعدة من نوع ($CD4^+$) نحو خلايا T المساعدة نوع (T reg, Th1) , لذلك تبدو هذه الببتيدات عوامل واعدة للوقاية من امراض الحساسية والالتهابات (Nishikimi *et al*, 2018).

الاستنتاجات:-

١- امتلكت العزلات من المعززات الحيوية قدرة تثبيطية واضحة تجاه بكتريا *S.typhimurium* المسببة لالتهاب الامعاء داخل وخارج جسم الكائن الحي.

٢- إن تأثير الاعطاء الفموي من عزلات بكتريا حامض اللاكتيك والكولاجين أدى إلى تحسين قيم المعايير المناعية والكيموحيوية.

التوصيات:-

١- تطبيق استعمالات المعززات الحيوية مع محفزات حيوية تعمل بشكل متآزر لأضفاء الفوائد الصحية المرجوة منها .

٢- اجراء دراسات حول المعززات الحيوية الجاهزة ذات العلامات التجارية المتوفرة في الأسواق وتاكيد تشخيصها ودراسة تاثيراتها .

المصادر

الخفاجي، زهرة محمود (٢٠٠٨) الأحياء العلاجية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي _ جمهورية العراق.

الدوري, صلاح صديم صالح (٢٠١٠), عزل وتشخيص بعض انواع بكتريا حامض اللاكتيك العلاجية ودراسة تاثيرها على بعض المتغيرات الفسلجية والكيموحيوية في الجرذان نوع Albino (اطروحة دكتوراه), كلية التربية – جامعة تكريت.

زعقوق, سمير عطية محمد (٢٠٠٦) التحاليل المعملية وتفسيراتها, جامعة الازهر –القاهرة.الدار العربية للنشر والتوزيع.

محمد, محمد مجباس. (٢٠٠٨) . إستخدام العصيات اللبنية المحبة للحموضة *Lactobacillus acidophilus* كمعزز حيوي للوقاية من الخمج بجرثومة *Salmonella typhimurium* في الأرانب. رسالة ماجستير, كلية الطب البيطري, جامعة القادسية.

Aboderin, F.I and V. O. Oyetayo (2006). Haematological studies of Rats Fed different doses of probiotic, lactobacillus plantarum, isolated from fermenting corn slurry. Pakis. J. Nutri. 5(2):102-105.

Awad WA, Gareeb K, Abdel-Rahheem S, Bohm J (2009). Effects of ditary inclusion of probiotic and symbiotic on growth performance, organ weights and intestinal histomorphology of broiler chickens. Poultry Science.88.49-56.

Azizpour K., Kessel K.V., Oudega R and Rutten F (2017). the effect of probiotic lactic acid bacteria (LAB) strains on platelet activation : A flow cytometry-Based study. J. Prob Health, 5:185. Doi:10.4172/2329-8901.1000185.

Baron, E. J. and Finegold, S. M. (1994)." Diagnostic Microbiology" 9th ed., The C. V., Mosby Company, U.S.A.

Bishop, M.L.; Fody, E.P. and Schoeff, L. (2005). Clinical Chemistry. Lippincott Williams and Wilikins. A Wolters Kluwer Company.

Bregman, A. A.(1987). Laboratory investigation in cell biology 2nd., John Weily and Sons, New York.

Coles, E.H. (1986). Veterinary clinical pathology 4th edition .W.B. sounders co.USA.

Cotter, P.F (2015). An examination of the utility of heterophil-lymphocyte ratiosin in assessing stress of caged hens. Poultry science 94: 512-51.

Dangana, A., Ajobiewe, J and Nuhu, A (2010). Haematological changes associated with Salmonells typhi and Salmonella paratyphi in humans. Int. J. Biomed. Hlth. Sci. Vol. 6,4.

De Olivera B., Sakata K., Issy M., Gerola R and Salmao R (2011). Cytokines and pain. Rev Bras Anestesiol, 61(2):255-265.

de Vrese, M., Rautenberg, P., Laue, C., Koopmans, M., Herremans, T. & Schrezenmeir, J. (2005). Probiotic bacteria stimulate virus-specific neutralizing antibodies following a booster polio vaccination. Eur J Nutr. 44 (7): 406-413.

Dlamini, Z.C., Langa, R.L.S., Aiyegoro,O.A and Okoh, A.I (2017). Effects of probiotics on growth performance, blood parameters, and Antibody stimulation in piglets. S. Afr. J. Anim. Sci. vol. 47(6): 766-775.

Dwivedi M, (2018). Role of probiotics in Immune regulation. Acta Scientific Microbiology. 1(1): 29-30.

Franz, C.M.A.P., Stiles, M.E., Schleifer, K.H., Holzapfel, W.H., (2003). Enterococci in foods-a conundrum for food safety. International Journal of Food Microbiology 88, 105-122.

Gill, H.S and Cross, M.L. (2002). Probiotics and immune function. In Nutrition and Immune Function; Calder, P.C., Field, C.J., Gill, H.S., Eds.; CABI Publishing: Wallingford, UK,; pp. 251–272.

Gu Q and Li P (2016). Biosynthesis of vitamins by probiotic bacteria. http://dx.doi.org/10.5772/63117.

Hashim, P., Mohd Ridzwan, M. S., Bakar, J. and Mat Hashim, D.(2015). Collagen in food and beverage industries International Food Research Journal 22(1): 1 – 8.

Hossin M.W, Ali M.A, Chowdhury S.D, Hague M.A, Kabir S.M.L (2005). Effect of yoghurt and protexin

fayoumi) cockerels. J. Appl. Anim. Res. Vol.41, No.4, 417-426.

Kim H., Jung B.J., Jeong J., Chun H and Chung D.K (2014). Lipoteichoic acid from *lactobacillus plantarum* inhibits the expression of platelet activating factor receptor induced by *staphylococcus aurous* Lipoteichoic acid or *Esherichia coli* Lipopolysaccharide in Human monocyte-like cells. J. Microbiol. Biotechnol. 24(8):1051-1058.

Lescheid D.W (2014). Probiotics as regulators of inflammation : A review. Functional Foods in health and disease 4(7) : 299-311.

Liu J, Wang Y, Song S, Wang X, Qiny Y(2015). combined oral administration of bovine collagen peptides with calcium citrate inhibits bone loss in ovariectomized rats.PloS one 10(10): e0135019.

Luna, L. G. (1968). "Manual of histological staining methods" third edition, McGraw-Hill Book company, New York.

boost on gut micro flora and broiler performance. The agriculturists 3.24-29.

Islam MW, Rahamn MM, Kabir SML, Kamruzzaman SM and Islam MN (2004). Effects of probiotics supplementation on growth performance and certain haemato-chemical parameters in broiler chickens. Bangladesh Journal of veterinary Medicine. 2, 39-43.

Karamese M., Aydin H., Sengul E., Gelen V., Sevim C., Ustek D and Karakus E (2016). the immunostimulatory effect of lactic acid bacteria in rat model. Iran. J. Immunol 13(2):220-228.

Karamese M., Aydin H., Sengul E., Gelen V., Sevim C., Ustek D and Karakus E (2016). the immunostimulatory effect of lactic acid bacteria in rat model. Iran. J. Immunol 13(2):220-228.

Khan, H. S., Abdul Rehman., Sardar, R and Khawaja, T (2013). the effect of probiotic supplementation on the growth performance, blood biochemistry and immune response of reciprocal F1 crossbred (Rhode Island Redx

Obiajuru, I.O.C., Ikpeama C.A and Elo-Ilo J.C (2017). Microbiological Assessment and storage Quality of expressed breast milk. Int. J. Med. Pharm. Drog. Res. 1(2):5-9.

Oelschlaeger, T.A. (2010). Mechanisms of probiotic actions—A review. Int. J. Med. Microbiol., 300, 57–62.[CrossRef] [PubMed]

Oke, F. O., Onasanya, G.O., Adedire, A.O., Oduguwa, O.O., Obadire, S.O and Osofowora A.O (2014). Effects of feed probiotics on serum biochemistry and carcass characteristics of tropically bred exotic Turkey. J. Agri. Vet. Sci. vol 7(11): 53-59.

Ooe H., Kato M., Hyodo K., Nakashima K., Ashigai H., Kato K., Sasaki T., Fukushima Y., Giddings J.C and Yamamoto J (2014). Antithrombotic effects of different strains of lactic acid bacteria. Health, 6, 2433-2443. http://dx.doi.org/10.4236/health.2014.618280.

Paineau D., Carcano D., Leyer G., Darquy S., Alyanakian M.A., Simoneau G., Bergmann J.F., Brassant D., Bornet F and

Mancini, G., Carbonaro, O and Heremans, J.F (1965). Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry, 2: 235-254.

National Research Council Recommended (NAS-NRC) (2002). "Dietary Allowance "15th ed., Washington D.C., National Academy Press.

Nishikimi M., Koyama Y., Ishihara S., Kobayashi S., Tometsuka C., Kusubata M., Kuwaba K., Hayashida O., Hattori S and Katagiri K (2018). Collagen-derived peptides modulate $CD4^+$ T-cell differentiation and suppress allergic responses in mice. Immunity,Inflammation and disease 6(2):245-255

Nurliyani, E.H and Marsetyawan, H.S (2011). Leukocytes count and lymphocytes proliferation of dinitrochlorobenzene sensitized rat supplement gout milk. Int. J. Biol. Biomolec. Agric. Food. Biotechnol. Eng. 5:357-361.

phagocytosis and neutrophil activiation. Infection and Immunity 67, 6067-6075.

Rozdzinski, E., Marre, R., Susa, M., Wirth, R., Muscholl-Silber-horn, A (2001). Aggregation substance-mediated adherence of Enterococcus faecalis to immobilized extracellular matrix proteins. Microbial pathogens 30, 211-220.

Salahuddin, M., H. Akhter, S. Akter, M.A. Miah and N. Ahmed (2013). Effects of probiotics on hematology and biochemical parameters in mice. Bangl. Vet. Vol. 30, No.1,20-24.

Schottelius, B. A. ; Thomson, J. D. and Schottelius, D. D.(1988). "Physiology laboratory manual "4th., Mosby copany, Saint Louis.

Song H., Zhang L., Luo Y., Zhang S and Li B (2017). effects of collagen peptides intake on skin aging and platelet release in chronologically aged mice revealed by cytokine array analysis.

Ouwehand A.C (2008). effects of seven potential probiotic strains on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized controlled trial. FEMS Immunol Med Microbial, 53:107-113.

Perdigon G., Fuller R and Raya R (2001). lactic acid bacteria and their effect on the Immune system. Curr. Issus Intest. Microbiol. 2(1): 27-42.

Phad A., (2014). probiotics : Biotherapeutic agents in the Human Health. JADD, vol 1(1):9-29.

Rabbani-Khorasgani M., Hosseini S.M., Mokarian F., Mahdavi H and Roayaei M (2015). effect of supplements : probiotics and probiotic plus honey on blood cell counts and serum Ig A in patients receiving pelvic radiotherapy. J. Res. Med. Sci. 20(7)679-683.

Rakita, R.M., Vanek,N.N., Jaquez-palas, K., Mee, M., Mariscalco, M.M., Dunny, G.M., Snuggs,M., Van Winkle, W.B., Simon, S.I b(1999). Enterococcus faecalis bearing aggregation substance in resistant to killing by human neutrophils

Tejada-simon M.V., Ustunol Z and Pestka J (1999). effects of lactic acid bacteria ingestion on basal cytokine mRNA and immunoglobulin levels in the mouse. J. Food Prot. 62(3): 287-291.

Thongsong, S.K.; Thongsong, B. and Chavananikul, V. (2008). Blood haematological-cholesterol profile and antibody titer response of Broilers with added probiotic containing both bacteria and yeast or an antibiotic in drinking water. Thai J.Vet. Med. 38(4); 45-56.

Tietz, Y. (2005)." Clinical biochemistry " 6th ed., McGraw-Hill, New York, p.825.

Van Hemert S., Meijerink M., Molenaar D., Bron P., de Vos P., Kleerebezem M., Wells J and Marko M (2010). Identification of *lactobacillus plantarum* genes modulation the cytokine response of human peripheral blood mononuclear cells. BMC Microbial. 10 :293.

Yang, R. ; Johnson, M. C. and Ray, B. (2000)." Novel Method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria" Journal of Applied and Environmental Microbiology, P.3355-3359.

Yeaman, M. R., and Yount, N. Y. (2003). Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. Pharmacological reviews 55, 27-55.

Zabriskie, J. B (2009). Essential clinical Immunology. ISBN-13 978-0-511-46529-1. Information on this title : htt://WWW-Cambridge. Org/9780521516815.