# دراسة كيموحيوية عن قابلية اللبن المحضر بواسطة بكتريا *Lactobacillus acidophilus* في الوقاية من الاسهال المحدث بطفيلي البويغات الخبيئة *Cryptosporidium parvam* في ذكور الأرانب

# *A biochemical study on capability of milk that prepared by lactobacillus acidophilus to the prevention of diarrhea induced by Cryptosporidium parvam in male rabbits*

**م.م. ميسون مصطفى جاسم**
**كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة تكريت**
**ا.د. توفيق ابراهيم الالوسي**
**كلية الطب البيطري / جامعة تكريت**
**أ. د. عبدالله حسين عبدالله**
**كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة تكريت**
**Assit. lec. Maysoon Mustapha Jasim**
**Education collage for pure science**
**Proff. Dr Abdullah Hussain Abdulla**
**Proff. Dr. Tawfeeq Ibraheem Al-Alusii**
**Education collage for pure science Veterinary collage**

## الخلاصة

اجريت الدراسة للمدة من شهر نيسان ٢٠١٦ لغايه اذار ٢٠١٧ ، وقد تضمنت دراسة قابلية اللبن اللاكتيكي المحضر بواسطة *Lactobacilli acidophillus*

(البروبايوتك) في الوقاية من طفيلي البويغات الخبيئة *Cryptosporidium parvam* المسبب للإسهال ، وذلك بالاعتماد على عدة معايير شملت الكفاءة العلاجية وبعض المعايير الكيموحيوية شملت البروتين الكلي ، الالبومين ، الكلوبيولين ، الكالسيوم ،الحديد وانزيمات الكبد GPT وGOT ، وقد اظهرت الدراسة قدرة البروبايوتك في منع الاصابة بطفيلي الكربتوسبورديوم اذ وصل عدد اكياس البيض في اليوم الخامس بعد التجريع في مجموعة السيطرة الى ٧٤٠٠ كيس/بيض ، في حين كان العدد في المجموعة الممنعة بالمعزز الحيوي لمده اربعة عشر يوم ٠ كيس /بيض، وفيما يخص الاختبارات الكيموحيوية نرى ارتفاع مستوى البروتين الكلي والالبومين والكلوبيولين في الارانب الممنعة بالمعزز الحيوي مقارنةً بالسيطرة ، فقد بلغوا ٥,٨٢٠ ، ٣,٣١٦ و ٢,٥٠٤ ملغم/ديسلتر ،وعدم تأثر النسب بالتخميج بالطفيلي بعد التمنيع .فضلاً عن انخفاض مستوى انزيمي الكبد GOTوGPT في الارانب الممنعة بالمعزز الحيوي مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة والموجبة اذ بلغا ٢٩,٠٤ و ١٧,٥٨٩ وحدة / لتر على التوالي، وعدم اختلاف هذين المستويين معنوياً عن مجموعة الارانب التي خمجت بعد التمنيع. اما فيما يخص الكالسيوم والحديد فنرى ارتفاع واضح في مستواهما في مجموعة الارانب الممنعة بالمعزز الحيوي مقارنة بالسيطرة السالبة والموجبة ليصل الى ١٣,٢٣٥ و٥٢,٠٦ ملغم/ ديسلتر على التوالي .

**كلمات المفتاح** : m*Cryptosporidium parva*، المعزز الحيوي . البروبايوتك.

## Abstract:

A study was done from April 2016 to March 2017 , it was included the study of lactic milk capability that prepared by lactobacillus acidophilus to prevention from Cryptosporidium parvam which causing a diarrhea، based on several parameters including , therapeutic efficiency and some biochemical parameters such as, the total protein , albumin , globulin، calcium , iron, and hepatic enzymes ( GOT, GPT). The study showed the capability of probiotic to prevent the infection by Cryptosporidium
parvam , so the number of egg sacs at the fifth day after the dosage in the control group was reached to 7400 sac/egg, while in immunized group with bio-promoted for 14 days was 0 sac/egg. As regarding to biochemical parameters , we noticed that the total protein , albumin, and globulin levels in immunized rabbits was high compared with control

group, it were reached to 5.820 , 3.316 , 2.500 mg/dl respectively , and
the proportions were not affected with parasite infections after immunize.As well as , There was a decrease in levels of hepatic enzymes (GOT،GPT) in immunized rabbits , 29.04 , 17.589 unit/ L respectively،compared to negative or positive control group. These two levels didn't different significantly from rabbits group that infected after immunized.As for calcium and iron , we noticed a clear increasing in their levels in immunized rabbits group , it reached to 13.235, 52.06 mg/dl respectively، compared to negative and positive control.

**Key words : Cryptosporidium parvam , bio-promoted , probiotic**

**المقدمة**

داء البويغات الخبيئة cryptosporidiasis هو المَرض الحيواني المَصدر المُسبب للإسهال البشري الأكثر شيوعاً [١] اذ يعد هذا الداء الثاني بَعد فيروس الروتا rotavirus فـــــي أسباب الوفاة عالمياً بين الأطفال دون سن الثانية حيث يسبب إســـهال مـــن معتدل إلى شَديد [٢] ويتسبب في ٥-١٠ مليون حالة وفاه سنوياً [٣] . على الرَغم من إكتشاف طُفيلي الأبواغ عام ١٩٠٧ من قبل العالم Tyzzer إلا أنهُ لم يُكتشف كمُسبب للعدوى للبشر إلا في عام ١٩٧٦ وفي عام ٢٠٠٤ تمت إضافه هذا الطفيل (كربتوسبوريديوم ) لمنظمه الصحة العالمية "لمبادرة الأمراض المهملة" neglected diseases Initiative' والتي تشمل الأمراض التي تؤثر على الناس بشكل رئيسي في الدول النامية [٤].

يَمر الطفيلي بدورة حياة معقدة وبإمكان الإنسان أو الحيوان المُخمج طَرح الملايين من أكياس البيض في البراز وعلى الرغم من أن أكياس البيض غير قادرةٌ على التكاثر خارج المُضيف إلا أنها قادرة على البقاء على قَيد الحياة في البيئة لعدة شهور ومقاومة أشكال التطهير بما في ذلك الكلور[٥] كما أن انتقال وانتشار الخَمج يرتبط بالأخص مع الأشخاص الذين لديهم اتصال مُتكرر مع الحيوانات واستخدام رَوث الحَيوانات وغائط الإنسان كأسمدة عضوية [٦] . إذ يحتوي كيس البيض الخَمج infective oocyst أربع بويغات sporozoites تُطرح مع البراز لتنشر الخَمج وعِند تناولها من قِبل

المُضيف فأن كيس البيض يُحرر ٤ من البويغات التي تتماسك مع الخلايا الظهارية السَطحية للمعدة ، الأمعاء الدقيقة والقولون[٧].
ثُبت علمياً إن الاستخدام المُفرط والمستمر للمُضادات الجَرثومية يؤدي إلى ظُهور عتر جرثومية مقاومة لها لذلك تم الاتجاه نَحو ايجاد طرائق أخرى بديلة عن المُضادات الحَيوية والتي تُستخدم بصورة علاجية أو وقائية أو مُحفزات للنمو وخاصة بالنسبة للمرضى الذين يرغبون في استخدام طرق طبيعية وآمنة في العِلاج [٨] . لذا شَهدت السَنوات الأخيرة توجهاً واسعاً لاستعمال أنواع من بكتريا حامض اللبنيك المعزولة من مصادر بَشرية وحيوانية كمُعززات حيوية (probiotic)، وظُهور جيل جَديد من هذهِ المُعززات الحيوية سِواء بالأشكال الصَيدلانية المعروفة أو على شكل مُنتجات غذائية علاجية في بلدان كثيرة في أوروبا وأمريكا الشمالية والشَرق الأقصى ومحاولة استعمالها في حل الكثير من المشاكل ذات العلاقة بالغِذاء وصحة المستهلك [٩] من هنا جاءت أهداف هذهِ الدراسة والتي تتضمن :
عَزل وتشخيص طفيلي *Cryptosporidum Parvum* من العجول المصابة بالإسهال.
عزل وتشخيص بكتريا حامض اللبنيك *Lactobacillus acidophilus* من اللبن ومن ثم تحضير اللبن اللاكتيكي من هذه البكتريا كمعزز حيوي(بروبايوتك).
دِراسة تأثير الطفيلي وتأثير اللبن المحضر من *L.acidophilus* على طفيلي *C.parvam* بعض المعايير الكيموحيوية : البروتين الكلي ، الالبومين ، الكلوبيولين، الكالسيوم ،الحديد وإنزيمات الكبد GPT وGOT .

## طرائق العمل

### تحضير المحاليل والدواريء والصبغات

صِبغة الكاربول فوكسين القاعديه وجضرت حسب [١٠] ، صِبغة المَلاكيت الخضراء ، المحلول السكروز المشبع وحضر حسب [١١] ،ومحلول داريء الفوسفات PBS حسب [١٢]، مَحلول ماكفرلاند حَسب ما ورد في [١٣] ، محلول ثابت العكورة القياسي [١٣]، وَسط تخمر السكريات [١٤] ،وسط MRS-CaCO3 [١٥].

## عينة الطفيلي

تم جمع عينات الطفيل *Cryptosporidium parvam* من روث العجول المُصابة بالإسهال مِن (قرية سَمره وقَضاء العلم ) بتاريخ ١/٤/٢٠١٦، وقد تم تشخيص الطفيلي حسب طريقه [١٦]، وكذلك بطريقه التطويف بالمحلول السكري حسب [١٧] ،وتم عَزل الطفيلي وجَمع أكياس البيض حسب [١٨] ، وتم تحديد جرعه الحقن عن طريق حساب عدد الاكياس وتحديد جرعة الحقن عن طريق حساب عدد الاكياس في كمية ٠,٥ مل وحدد الجرعة بمقدار ٤٠٠٠٠ كيس لكل ارنب يتم تجريعه

فمويا ، وتم التحري عن اكياس الطفيلي في براز الارانب المصابة يوميا بعد التخميج للتأكد من حدوث الاصابة بالطفيلي عن طريق تحضير عدة مسحات من براز الارانب المصابة على شريحة زجاجية وفحصها تحت المجهر ومشاهدة الاكياس وحسابها باستخدام طريقة التطويف بالمحلول السكري .

## عينة البكتريا

تم عزل بكتريا *Lactobacillus acidophilus* وزرعها على وسط (MRS ) حسب طريقة [١٩] ء، وتم دراسة الصفات المظهرية للمستعمرات وإجراء الاختبارات المزرعية والبايوكيميائية للبكتريا للتأكد من الصفات التي تمكنها من استخدامها كمعزز حيوي (بروبايوتك) .

### الصفات الزرعية Cultural Characters

استخدمت طريقة التخطيط Striking لتلقيح النماذج البكتيرية على الاوساط الانتقائية لها ثم حضنت الأطباق عند درجة ٣٧مْ لمدة (١٨ -٢٤) ساعة.

### - فحص الكاتليز

نميت العزلات في وسط MRS السائل ثم نقل ١ مل منها إلى أنبوبة اختبار معقمة وأضيف ١ مل من بيروكسيد الهيدروجين $H_2O_2$ (١٠% ح/ح) ولوحظ ظهور الفقاعات.

### - فحص تكوين الأمونيا من الآرجنين

أضيف ٠,٣% من Argenine – monohydrochloride إلى وسط MRS السائل وعقم بالموصدة في درجة حرارة ١٢١مْ لمدة٢٠ دقيقة ثم لقح بالعزلات وحضن لمدة ٧ أيام في درجة حرارة ٣٧مْ ثم اخذ ١ مل من الوسط الملقح ووضع في أنبوبة اختبار وأضيف إليه ١مل من كاشف نسلر ولوحظ تغير اللون.

### - اختبار تَخمر الكاربوهيدرات Sugars fermentation test:

تَم زَرع العزلة وتنميتها بَعد أن تم إستبدال المصدر الكاربوني مِن وسط تخمر السكريات بإحدى السكريات الأتية : Glucose, Fructose، Galactose, Raffinose , Lactose Ribose ،, Maltose و Saccharose وبنسبة ١% وكانت الإضافة للسكريات بَعد تَعقيم الوَسط الأساسي بالمؤصدة إذ تَم تَعقيم السكريات باستخدام أوراق الترشيح Millipor حجم 0.22 ملم ثُم حُضنت العزلات المزروعة لمُدة ٢٤-٤٨ ساعةً. وكان الاستدلال على ايجابية التخمر مِن خِلال تغير

اللون إلى الأصفر ، بَعد الحصول على العزلات تَم تعليمها للتعرف عليها أثناء استخدامها في الاختبارات اللاحقة .

- **اختبار قابلية الالتصاق لعزلات جَراثيم *Lactobacillus***

أُجري هذا الاختبار حسب [٢٠] كالأتي:

أخَذ جزء مِن أمعاء الحيوان وفي الدراسة الحالية استخدمت الأرانب المختبرية وتحت ظروف معقمة فتحت الأمعاء وغسلت مرتين بواسطة ١٠٠ مل مِن محلول الداريء الفوسفاتي (PBS) ذي الأس الهايدروجيني ٧,٢ ، قشطت بطانة الأمعاء بواسطة شريحة زجاجية نظيفة ومعقمة ثم علق بـ ١٠ مل مِن محلول الداريء الفوسفاتي .

تحضير ١٠ مل من مستزرع جراثيم *Lactobacillu sacidophilus* على وسط MRSالسائل ثم رسبت الخلايا الجرثومية بوساطة جهاز المنبذة وبسرعة ٢٥٠٠ دورة/دقيقة ولمدة ١٠ دقائق ، فصل السائل الطافي عن راسب الخلايا الجرثومية وأكمل الحجم نفسه بمحلول الداريء الفوسفاتي.

أُخذ ٠,٤ مل من عالق الخلايا الطلائية ويضاف الى ٠,١ مل من العالق الجرثومي ثم وضع في حمام مائي هزاز لمدة ٣٠ دقيقة وبدرجة حرارة ٣٥°م وبسرعة ٢٠دورة/دقيقة، بعد فترة الحضن أخذت قطرات وتوضع على شريحة زجاجية وتصبغ باستعمال صبغة كرام او صبغة كمزا وتفحص لتحديد الالتصاقية ، تأخذ الخلايا الجرثومية اللون البنفسجي بينما تبدو الخلايا الطلائية بالأحمر.

بعد اجراء الفحوصات المزرعية تم عد البكتريا من خلال استعمال طريقة أنابيب ماكفيرلاند وكما مشار في [١٣] وحفظت البكتريا المعزولة بوسط (MRS) بالتجميد كما جاء في [٢١] ، ومن ثم تحضير اللبن اللاكتيكي من البكتريا المعزولة وحسب طريقة [٢٢] وقد اعطي اللبن اللاكتيكي عن طريق زرقه في الفم مباشره بواسطه محقنه خاصه اعدت لهذا الغرض بواقع مللتر منه مرتان يومياً .

**الحيوانات المختبرية**

استعملت في هذهِ الدراسة ذكور الأرانب النيوزلندية البيضاء البالِغة والتي تَم الحصول عليها مِن (مركز البحوث/ اربيل) ، تتراوح اعمارها بين (١٠-١٨) شهراً وذات اوزان (١٠٠٠-١٨٠٠)غم ، حيث وضعت الحيوانات في أقفاص حديدية وفرشت الأرضية بنشارة الخَشب ، مع مراعاة النظافة اليومية للأقفاص وتبديل نشارة الخشب بالإضافة إلى تَعقيم الأقفاص بالمطهرات كل يومين، كما غُذيت الحيوانات بالعليقة الجاهزة بالإضافة إلى تزويدها بالماء طوال فَترة الدراسة .

**تصميم التجربة**

أستعمل فيها ٢١ ارنباً، قسمت الى المجاميع التالية :-

المجموعة الاولى السيطرة ( Control group ( C-ve تركت هذه المجموعة دون معاملة.

_ المجموعة الثانية الخمج Infection group (C+ve) استخدمت هذه المجموعة لملاحظة تأثيرات الإصابة وتطور حالة الإسهال بأكياس طفيلي *Cryptosporidium.*

المجموعة الثالثة أستخدم المعزز الحيوي المحضر لتجريع حيوانات هذه المجموعة. أستمر الإعطاء الفموي للحيوانات لفترة ١٤ يوماً وبمقدار ١ مللتر كل ١٢ ساعه ، تم بعدها إعطاء اكياس طفيلي *Cryptosporidium.* بجرعة مقدارها ٠,٥ مل وبأعداد ٤×١٠$^{٣}$ خليه / مل ثم المراقبة وتحليل البراز لفترة ٥ أيام لمتابعة حدوث المرض أو عدمه . و تم متابعة ومراقبة مجاميع الحيوانات خلال فترة المعاملة وذلك بالفحص او المعاينة للتغييرات في كل من: الحالة العامة للحيوان ، طبيعة الشهية ، طبيعة البراز ، معدل الحرارة ، ومقارنة ذلك مع المعدلات الطبيعية المشار اليها في [٢٣] .وحساب عدد اكياس البيض المطروحة كل ٢٤ساعة

$$\text{عدد أكياس البَيض في الغرام} = \frac{\text{عَدد أكياس البيوض في الحجرتين}}{\text{وَزن نموذج البراز}} \times ٢٠٠$$

وبما أن وَزن النموذج هو ٠،٢غم فأن عَدد أكياس البيض ×١٠٠ ، طريقة [٢٤] المُحورة. وبعد انتهاء المدة المحددة للتجربة خدرت الحيوانات بوساطة الكلوروفورم، ثم سحبت عينات الدم من القلب مباشرة بطريقة الطعنة القلبية لأجراء الفحوصات الدموية والمناعية .

**المعايير المستخدمة في الدراسة :**

تم تقدير تركيز البروتين الكلي والألبومين في مصل الدم باستعمال عدة التحليل Kit الخاصة بشركة BIOLABO SA, France الخاصة بكل منهما ، **و** تم احتساب تركيز الكلوبيولين في مصل الدم من خلال الفرق بين البروتين الكلي والالبومين، وكما جاء في[٢٥].**و** تم تقدير تركيز الكالسيوم في مصل الدم باستعمال عـدة التحليل Kit الخاصة بشركة Specam Ispanian. كما تم تقدير مستوى الحديد في مصل الدم باستعمال الطريقة اللونية Colorimetric method with ferene وباستعمال Kit مجهز من قبل شركة Giesse الايطالية ، كذلك وتم قياس

الأنزيمات GPTو GOT باستخدام العدة الجاهزة Randox، المُنتجة مِن شركة Randox وكما جاء في (Tietz,2005).

**اجراء التحليل الاحصائي**

**النتائج والمناقشة :**

**تشخيص الطفيلي**

تَم تشخيص الطُفيل بصبغة الزيل نلسن المحورة حَيث ظهرت أكياس البيض كروية الشكل حمراء وبراقة متميزة عَن الخلفية الخضراء ذات السايتوبلازم الحبيبي ويضم ٤-٦ مِن البويغات.

**تشخيص البكتريا**

وقَد بدت مُستعمرات جراثيم Lactobacilli مُحدبة دائرية بلون أخضر بسبب وجود الصِبغة Bromo Cresol Green في محتويات الوَسط المحور وحواف مُنتظمة وكان ذلك ما أشارت [٢٦] أن Lactobacillus من أهم الأحياء المجهرية المُستعملة في البروبايتك حيث تساهم بِشكل فعال في التوازن المثالي للأحياء المجهرية المكونة للفلورا المِعوية في القناة الهَضمية وهي أَحد أنواع بكتريا العُصيات اللبنية وتلتصق العُصيات بالطبقة الطلائية المبطنة للقناة الهَضمية ولِـــــهذا فهي تستوطن القناة الهَضمية [٢٧] ، أبدت بكتريا L.acidophillus نَتيجة سالبة لهذا الفَحص والتي تَتفق مَع دراسة [٢٨] في كون النَوع Lactobacillus سالبة لِهذا الاختبار بسبب عدم قابليتها على إنتاج أنزيم البيروكسيديز Peroxidase الذي يَعمل على تَحليل جزيئة بيروكسيد لهيدروجين H2O2 مكوناً الماء H2O وغاز الأوكسجين O2 الذي يَظهر على شكل فُقاعات مُعطياً نتيجة موجبة للفَحص.

ولَم يعطِ اختبار إنتاج الأمونيا مِن الأرجنين نَتيجة موجبة عِند تعريض Lactobacillus. على تحليل الأرجنين وجاءت نتائجنا مُطابقة لنتائج [٢٩] . اما اختبار الكاربوهيدرات فقد اعطت جميع السكريات المستعملة نتيجة موجبة ماعدا سكر الرافينوز والرايبوز أعطت نتيجة سالبة. وقد أبدت العزلة قابلية عالية للالتصاق مِن خِلال الزيادة الكَبيرة في أعداد الجَراثيم المُلتصقة بالخلايا الطلائية. إن المُركب المَسؤول عَن التصاق جراثيم L.acidophilus هو بروتين الطبقة S S-layer protein المتداخل في جِدار الخلية الجرثومية والذي يشترك مَعها في الالتصاق بالمستقبلات الموجودة على جدران الخَلية الطلائية التي تتألف أساساً مِن سكر المانوز [٣٠].

إن وجود هذهِ الطبقة البروتينية واحتوائها عَلى البروتينات السكرية glycoproteins والتي تتألف مِن ٠,٩ – ١,٤% كاربوهيدرات و ٣% مِن الأحماض الأمينية الكارهة للماء يَجعلها تقوم بدور اساسي في عَملية الالتصاق [٣١].

**الدراسة التجريبية:**

**العَلامات السَريرية Clinical Signs**

ظَهرت الإصابة التجريبية في المَجاميع الحَيوانية ( مَجموعة الخَمج) ببدء ظُهور العلامات السَريرية التي تلاحظ مِن خِلال التغيرات في شَهية الحيوان وحالته العامة وطَبيعة البراز وقد كانت نَتائج العلامات السريرية واضحةٌ جداً عِند مجموعة الخَمج المعطاة جرعة مِن أكياس طفيلي الكربتوسبوريديوم فَقد لوحظ تَدهوراً في حالتها الصحية وخمولها وبطئ حركتها ولم تَظهر علامة سريرية مُميزة في المَجاميع المُمنعة مسبقاً بالمُعزز الحيوي وكذلك الحال في حَيوانات مجاميع السَيطرة .

لوحظ انخفاض في شَهية حَيوانات الخَمج تدريجياً ، بَينما زادت الشَهية لمَجاميع الوِقاية وقَد أكد [٣٢] إن استخدام المُعززات الحَيوية في تصنيع العلف يَعمل على زيادة شهية الحيوانات الحَقلية، كما لاحظ الباحث [٣٣] زيادةٌ في شهية الأرانب المُمنعة بجراثيم العصيات اللبنية المُحبة للحموضة .

أظهرت نتائج فحص طَبيعة البراز بالعين المُجردة لمجموعة الخَمج في الأيام الأولى تَغيير حالته مِن الصلبة إلى أكثر ليونة ثُم عِند تطور الإصابة كان يبدو البراز سائلاً دليلاً على حدوث الإسهال بشكل قاسي مِما يشير إلى شدة ضراوة الطفيلي . ولوحِظ في أحد الحيوانات تدهور حالتها الصحية ونفوقها .

عِند قياس الدرجات الحرارية لحيوانات التجربة لوحظ ارتفاع واضح منذ اليوم الثالث مِن التجربة في مَجموعة الخَمج إذ بلغ ٣٩,٤ م° مقارنة باليوم الأول الذي كانت فيه جَميع المجاميع ذات دَرجات حرارية تتراوح بَين ٣٦ – ٣٧,٥ م° ، واستمر الارتفاع في حيوانات مجموعة الخَمج .ولوحِظ خمول وهدوء وبطئ في حَركة حيوانات مجموعة الخَمج ويُعد ذلِك علامة مرضية [٣٤].

**نتائج دراسة التَمنيع بواسطة المعزز الحيوي على مُعدل طرح أكياس بيض طفيل الكربتوسبوريديوم في الأرانب:**

ولَم يلاحظ ظهور العلامات السَريرية للإصابة بالمرض في مجموعة الوقاية جدول (١) على الرغم مِن تجريعها فموياً الجرعة الخمجية مِن أكياس طفيلي الكربتوسبوريديوم ويدل ذلِك على إن استخدام المُعزز الحيوي المُحضر بواسِطة بكتريا *L.acidophilus* للوِقاية مِن الإصابة كان ذا أثر فعال في منع أكياس الطفيلي مِن إحداث المرض حيث نلاحظ عَدد الأكياس المطروحة في اليوم الأول بَعد التجريع يصل إلى ٦٨٠ كيس/ بيض ويبدأ العَدد بالإخفاض والتلاشي وإن هذا الفعل الوقائي قد يكون سببهُ منع هذهِ الجراثيم مِن الالتصاق بالخلايا الطلائية المبطنة للأمعاء [٣٥] مِن خِلال غَلق مناطق المستقبلات الموجودة في بطانة الأمعاء وهذا الفعل يَعود للخلايا الحية مِن جراثيم LBA وهيَ إحدى آليات الاستبعاد التنافسي [٣٦] . أو نتيجة فعل حامضي اللبنيك والخليك اللذين يعُدان المنتَج الرئيس لهذهِ البكتريا ،وأيضاً قد يَعود الفعل الوقائي إلى قدرة جراثيم LBA على تقوية النبيت المعوي مما

يؤدي إلى زيادة المقاومة للأمراض [٣٧]، وإلى قابليتها على توفير بيئة داخلية غير مُلائمة لنمو المُسببات المرضية مِن خلال تقليلها للأس الهايدروجيني فتجعل الوسط حامضياً وغير ملائم لنمو الأحياء المَرضية [٣٨] أو لِمجموع العوامل أعلاه متآزرة .وأن هذهِ الدراسة مشابهة لدراسة [٣٩] وقد أثبت مِن خِلال دراسة تأثير اللبن اللاكتيكي المُحضر بواسطة بكتريا *L. casei* والمُنتجة للبكتريوسين على الإصابة بطفيلي الأميبا الحالة للنسيج في الفئران البَيضاء، أن لِهذا اللبن تأثير إيجابي في جعل البيئة المِعوية قادرة على مقاومة الإصابة بِهذا الطفيلي .

**جدول (١) أثر التَمنيع بالمُعزز الحيوي على معدل طرح أكياس البيض في الأرانب**

| | عدد أكياس البيض بعد التجريع في اليوم الاول للعلاج | الكفاءة % | عدد أكياس البيض بعد التجريع في اليوم الثاني للعلاج | الكفاءة % | عدد أكياس البيض بعد التجريع في اليوم الثالث للعلاج | الكفاءة % | عدد أكياس البيض بعد التجريع في اليوم الرابع للعلاج | الكفاءة % | عدد أكياس البيض بعد التجريع في اليوم الخامس للعلاج | الكفاءة % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| المعزز الحيوي | ٦٨٠ b | ٩٠,١ % | ٣٦٠ b | ٩٥,٩ % | ١٤٠ b | ٩٧,٠ % | ٤٠ b | ١٠٠ % | ٠٠ b | ١٠٠ % |
| السيطرة الموجبة | ٨٦٢٠ a | | ٨٨٦٠ a | | ٤٨٢٠ a | | ٧٠٢٠ a | | ٧٤٠٠ a | |

**الاحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية ٠,٠٥**

كما يَجب أن نذكر أن أكياس طفيلي *c.parvum* تتحفز بالبيئة القاعدية لتجويف الأمعاء الدَقيقة ليتحلل جدارها بفعل انزيم التربسين Trypsin وتَحدث عملية الإفلات مِن الكيس Excystation كأول خطوة لإمكانيتها إحداث الإصابة والتي تَنتهي بالتضاعف في خبايا الطبقة المخاطية للأمعاء الغليظة وحدوث التفاعل الأيضي مَع البكتريا المعوية [٤٠] ، وبالإضافة لهذهِ الحقيقة وكما هو معلوم أن بكتريا Lactobacilli تنتج أنواع مُتعدد مِن الأحماض العضوية التي ترفع مِن مستوى حموضة الأمعاء Intestinal pH [٤١].

والذي يمكن أن يفسر عدم تَحقق الإصابة بالطفيلي لِعدم توفر البيئة الملائمة لإفلات الأكياس الرباعية، كما أن لبكتريا Lactobacilli والمُنتجة للبكتريوسين خاصة دوراً في تَعزيز الجانب المناعي للمُضيف، فقد أشار [٤٢] إلى قدرة بكتريا المُعززات

الحيوية Probiotic bacteria وخصوصاً الجنس Lactobaclli على أستحثاث إنتاج السايتوكينات Cytokines والكيموكينات Chemokines مِن الخلايا الطلائية للأمعاء في الفئران وبما أن هذهِ السايتوكينات والكيموكينات مرتبطة بالاستجابة المناعية للمُضيف فبالتالي ستؤدي إلى تحسنها وزيادتها مِما يعني زيادة مقاومة الأنسجة المعوية لأغلب المُمرضات التي تهاجمها.

## ١-اثر التمنيع في تقدير تركيز البروتين الكلي

يبدو مِن قياس نسبة البروتين الكلي جدول (٢) في مجاميع الحيوانات قَيد الدراسة إرتفاعاً معنوياً في مجموعة الأرانب الممنعه بالمُعزز الحيوي إذ بلغ المستوى في هذهِ المَجموعة ٥,٨٢٠ ملغم/ دسيلتر مقارنة مَع قيمته في مجموعة السيطرة ٥,١٦٦ ملغم/ دسيلتر، بَينما لم يكن هناك تغيرا معنوياً في مستوى البروتين الكلي للمجموعة الممنعة مقارنةً بالمجموعة المُخمجة بَعد التمنيع وبلغت ٥,٧٥٥ ملغم/ ديسلتر ، وكانت نتائج الدراسة الحالية مقاربة لِدراسة [٤٣] إذ إرتفع مستوى البروتين الكلي في دَم ذكور الجرذان المُجرعة فموياً بجراثيم *L.acidophilus*، ومع دراسة كل مِن [٣١،٤٤] الذين أشارا إلى إن إعطاء جراثيم حامض اللبنيك ونواتجها يؤَدي إلى ارتفاع معدل البروتين الكلي في مَصل الدم. وقد يَعود السبب في ارتفاع معدل البروتين إلى إنتاج البروتين أحادي الخلية مِن الخلايا الجرثومية الذي يؤَدي إلى زيادة البروتين الكُلي فضلاً عَن تأثير الفيتامينات التي تنتجها جراثيم حامض اللبنيك لاسيما حامض الفوليك Folic acid وَمجموعة فيتامينات B التي يمكن أن تُسبب زيادة في الفعاليات الأيضية لتخليق الأحماض الأمينية [٢٥] .

وقد أشارت بعض الدراسات الى ان بروتين اللبن الرائب اسهل هضماً من مثيله في الحليب الطازج ، وذلك بسبب عملية الهضم الاولي للبروتين التي تقوم بها بكتريا حمض اللكتيك ،ومما يؤكد صحة هذا الامر زيادة محتوى اللبن الرائب من الاحماض الامينية الحرة Free amino acids ، وخاصة البرولين والكلايسين ، اذ وجد ان محتوى اللبن الرائب من هذه الاحماض الامينية يتضاعف تباعاً مع زيادة مدة التخزين المبرد ، مما يعني ان الانزيمات الهاضمة للبروتين والببتيدات يتم افرازها من الخلايا البكتيرية [٤٥].

## ١- أثر التَمنيع في تقدير تركيز الألبومين

وعِند استعراض نتائج قياس مُعدل الألبومين في الجدول ( ٢ ) لمَ يلاحظ إرتفاع معنوي لقيمه في المَجموعة المُمنعة بجرعة المُعزز الحيوي مقارنة بمجموعة

السيطرة إذ بلغت قيم الألبومين ٣,٣١٦ ملغم/دسيلتر، مما شكل فرقاً معنوياً عن المجموعة المخمجة التي انخفض فيها مستوى الالبومين إلى ٢,٥٠٥ ملغم / ديسلتر ، ولكِن نرى أن قيمه الالبومين لم تختلف معنويا في حاله إعطاء جرعه مِن أكياس طفيل الكربتوسبوريديوم بَعد التمنيع عن مجموعه الأرانب الممنعه اذ بلغت القيمة ٣,٣٢٦ ملغم / ديسلتر وكما مبين إنها تختلف معنوياً عن مجموعة الأرانب المخمجة (السيطرة الموجبة). وجاءت الدراسة الحالية مطابقة لِدراسة [٤٦] التي تنص على عدم تغير قيم الالبومين معنوياً في جميع مَجاميع الحيوانات المعطاة فموياً مُعززاً حيوياً فيه بكتريا حامض اللكتيك مُقارنة مع حيوانات مَجموعة السيطرة. وجاءت دراسة اخرى [٤٧] تنص بانخفاض قيم الألبومين في مصول الفئران المُجرعة بالمُعززات كألية تعويضية مع ارتفاع تركيز الكلوبيولين للمحافظة على الضغط الأزموزي.

**جدول (٢) أثر التمنيع بواسطة المُعزز الحيوي على مستوى البروتين الكلي والألبومين والكلوبيولين في الأرانب**

| المتغيرات الكيموحيوية / نوع المعاملة | البروتين الكلي mg/dl | | | الالبومين mg/dl | | | الكلوبيولين mg/dl | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | mean | ± | SD | mean | ± | SD | mean | ± | SD |
| سيطرة | ٥,١٦٦ b | ± | ٠,١٥١ | ٣,٢٤ a | ± | ٠,٢٥٢ | ٢,٠٢٢ b | ± | ٠,٣٦٣ |
| مجموعة الخمج | ٤,٦٠١ c | ± | ٠,١١٨ | ٢,٥٠٥ b | ± | ٠,٢٨٦ | ٢,١٤٣ b | ± | ٠,٢٥٢ |
| الوقاية بالمعزز | ٥,٨٢٠ a | ± | ٠,٠٥٠ | ٣,٣١٦ a | ± | ٠,١٧٥ | ٢,٥٠٤ a | ± | ٠,١٧٢ |
| التخميج بعد الوقاية | ٥,٧٥٥ a | ± | ٠,٢٤٦ | ٣,٣٢٦ a | ± | ٠,٢٠١ | ٢,٥٤٨ a | ± | ٠,١٧٢ |

**الاحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية ٠,٠٥**

**٢- اثر التمنيع في تقدير تركيز الكلوبيولين**

ويبين الجدول نفسه (٢) ارتفاع في قيمه الكلوبيولين في مجموعة الأرانب الممنعة بالمُعزز الحيوي وبلغت ٢,٥٠٤ ملغم/ ديسلتر ، مقارنه مع الحيوانات السيطرة السالبة والمخمجة التي بلغت ٢,٠٢٢ و٢,١٤٣ ملغم / ديسلتر على التوالي ، ونرى عَدم اختلاف النتيجه بَعد تخميج الأرانب الممنعة مقارنة بالأرانب الممنعة وكانت النتيجة ٢,٥٤٨ ملغم/ ديسلتر .وهذهِ النتيجة اتفقت مع [٤٨] الذي أشار إلى ارتفاع قيم الكلوبيولين في دم الكلاب الممنعة بـ *L.acidophilus* ، إن الزيادة المعنوية في تركيز كل من البروتين الكلي والكلوبيولين في دم الحيوانات المختبرية المجرعة بخلايا حامض اللبنيك قد اتفقت معOyetayo [٤٩] إذ وجدا في دراستهما عِند إستخدام *fermentum* في الجرذان يؤَدي إلى زيادة في مستوى البروتين الكُلي والكلوبيولين وانخفاض الألبومين وربما يَعود سبب ارتفاع الكلوبيولين إلى زيادة إنتاج الأجسام المُضادة بسبب تحفيز جهاز المناعة مِن قِبل جراثيم حامض اللبنيك وهذا ما أشار إليهNwanze [٥٠] مِن إن زيادة البروتين الكلي يُسبب زيادة نوعية في الكلوبيولين مع زيادة راشح الخلايا لاسيما الكلوبيلينات المَناعية. كما سَجلت الرفاعي [٤٧] زيادة الكلوبيولين في الجرذان المعاملة بالمُعزز الحيوي وقد يُعزى سبب الزيادة في تركيز الكلوبيولين إلى التحفيز في الجهاز المناعي وإنتاج الأجسام المُضادة إذ تعمل المعززات الحيوية على زيادة كاماكلوبيولين.

**٣- تأثير التَمنيع على تركيز الكالسيوم**

يظهر مِن خِلال النظر إلى الجدول (٤) تركيز الكالسيوم والحديد، نلاحظ وجود فروقات إحصائية على مستوى ٠,٠١ في قيم تراكيز الكالسيوم إذ انخفض تركيز الكالسيوم في مجموعة الأرانب المخمجة ليصل إلى ١٢,١٣١ ملغم / ديسلتر مقارنه بمجموعة السيطرة التي بلغت ١٢,٥٤٠ ملغم / ديسلتر ، أما تركيز الكالسيوم في مجموعة الحيوانات المُمنعه والتي خُمجت بَعد التمنيع فإن تركيز الكالسيوم أرتفع معنوياً مقارنة بمجموعة السيطرة السالبة إذ بلغا ١٣,٢٣٥ و ١٣,١٢٧ ملغم / ديسلتر على التوالي ، وهذا مطابق تقريبا لِدراسة [٥١] والذي بين فيها ان البروبايوتك ( المعزز الحيوي ) يَعمل على تحسين بسيط لِسمك قِشرة البَيض المنتج مِن الطيور المعاملة بالبروبايوتك .

وقد يكون سبب ذلِك إلى قدرة بكتريا *L.acidophilus* على إنتاج حامض اللبنيك وبالتالي تَحسين معامل امتصاص كل مِن الفسفور والكالسيوم والحديد في القناة الهضمية للطيور المُعاملة. يُعد اللبن الرائب مَصدراً مميزاً للكالسيوم ، ونتيجة

لانخفاض قيمة دَرجة الحموضة pH في اللبن الرائب، تَتميز عناصر الكالسيوم والمغنيسيوم بوجودها على الشكل الأيوني الحر وَ غير المرتبط، مِما يحسن مِن امتصاصها والاستفادة مِنها. كما تسهم زيادة الحموضة في مَنع حمض الفايتيك مِن تثبيط أو تقليل امتصاص الكالسيوم، الذي يرتبط في الظروف العادية بالكالسيوم ويقلل مِن وفرته الحيوية وامتصاصه. كما أشارت بَعض الدراسات التي أجريت على الحيوانات إلى تَحسن الوفرة الحيوية للكالسيوم المَوجود في اللبن الرائب وزيادة امتصاصه واستعمالهُ في بناء العظام بشكل أكبر مقارنةً بالكالسيوم الموجود في الحليب غير المُخمر[٤٥].

## ٤- تأثير التَمنيع على تركيز الحديد

يُبين الجدول (٤) نتائج قيم الحديد في مصول مجاميع الأرانب حيث نلاحظ وجود ارتفاع معنوي في قيمه الحديد في الأرانب التي جرعت فموياً بالمعزز الحيوي لِمدة أسبوعين إذ بلغت ٥٢,٢٣ ملغم / ديسلتر مقارنةً بمجموعة السيطرة التي تبلغ ٥١,٨٠ ملغم / ديسلتر، ونرى أن القيمة لم تَتغير في مجموعة الأرانب التي جرعت بالطفيلي بَعد التَمنيع وبلغت ٥٢,١٦ ملغم / ديسلتر مقارنه للأرانب التي مُنعت بالمعزز الحيوي ، ولكِنها ارتفعت مقارنةً بالسيطرة السالبة ، أما المجموعة المخمجة فإن قيمة الحديد انخفضت انخفاضاً معنوياً كبيراً بلغ ٢٩,٤٨ ملغم / ديسلتر مشكلةً بذلك فارقاً احصائياً واضحاً عن بقية المجاميع بسبب وجود الطفيلي في الأمعاء الذي يمنع امتصاص الحديد بصورة جيدة .

**جدول (٤) أثر التمنيع بواسطة المُعزز الحيوي على تركيز الكالسيوم والحديد في مصول الأرانب**

| المتغيرات الكيموحيوية / نوع المعاملة | الكالسيوم (mg/dL) | | | الحديد (mg/dL) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | mean | ± | SD | mean | ± | SD |
| سيطرة | ١٢,٥٤٠ b | ± | ٠,٣٧٩ | ٥١,٨٠ b | ± | ٢,٦٧ |
| مجموعة الخمج | ١٢,١٣١ c | ± | ٠,٦٩٧ | ٢٩,٤٨ c | ± | ٣,٣٦ |
| الوقاية بالمعزز | ١٣,٢٣٥ a | ± | ٠,٦٠٧ | ٥٢,٠٦ a | ± | ٢,٧٢ |
| التخميج بعد الوقاية | ١٣,١٢٧ a | ± | ٠,٦٥١ | ٥٢,١٦ a | ± | ١,٨٣ |

**الاحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية ٠,٠١**

إن المُعززات الحيوية المُحضرة ببكتريا *Lactobacilli* تساعد على تأسيس أمعاء مسكونه بالأحياء المفيدة والمضادة للأحياء المؤذية ، إضافة إلى ذلِك فإن بعض الجراثيم المستخدمة في المُعزز الحيوي تعمل على تحلل المادة الغذائية إلى وحدات صَغيرة سهلة الامتصاص في الجسم وتفرز بعض الأنزيمات والمواد المفيدة الأخرى مثل البروتينات والأحماض الأمينية . كما أن له الأثر الفاعل في زيادة هضم وامتصاص العناصر الغذائية والمَعدنية [٥٢].

**٥- تأثير التَمنيع على بعض أنزيمات الكَبد :**

**١-قياس مستوى الأنزيم Glutamic Oxaloacetic Transminase (GOT)**

يوضح الجدول ( ٣ ) مستويات أنزيمات الكبد حيث لوحظ تأثير التَمنيع بالمُعزز الحيوي المُحظر بجراثيم حامض اللبنيك في وظائف الكبد مِن خِلال قياس مستوى هذهِ الأنزيمات المتحررة إلى دم الحيوانات المُمنعة . حيث نلاحظ أن أعلى مستوى وصل في هذهِ المَجاميع هو مجموعه الخَمج (السيطرة الموجبة) وصل إلى ٤٨,٩٤ وحدة/لتر ، وهذا يدل على فَعالية الطفيلي وحدوث الإلتهاب ، في حين نرى إنخفاضاً ملحوظاً وكبيراً في مَجموعتي الأرانب المُمنعة والمخمجة بَعد التمنيع وصل الى ٢٩,٠٤ و ٢٨,٩٦ وحدة / لتر مُشكلة انخفاضا إحصائيا عن مَجموعة الخَمج ومجموعة السيطرة السالبة التي تبلغ ٣٢,٩٤ وحدة/ لتر ، أن عدم ارتفاع المستوى بَعد تجريع الطفيلي للأرانب فموياً دلالة على عَدم إصابة الأرانب بالخَمج ، وهذهِ النتائج اتفقت مع السعدي [٢٦] إذ لاحظت انخفاضا في قيم أنزيمات الكَبد GOT في الجرذان الممنعه ببكتريا حامض اللاكتيك ، قَد يَعود سبب انخفاض مستوى الإنزيمات في المَجموعة المعاملة بالمُعزز الحيوي إلى إن هذهِ الجرع تحتوي على نسبة لا بأس بها مِن البروتينات والسكريات المُتعددة إضافة إلى الفيتامينات التي تَمتلك تأثيراً مُنشطاً للكبد ودوراً مهماً في خفض قيم فَعالية هذهِ الإنزيمات[٥٣] .

**٢- قياس مستوى أنزيم Glutamic Pairophec Transminase(GPT)**

وحصلنا على نتائج مستوى انزيم الكبد GPT مُشابهة إحصائيا لنتائج مستوى الأنزيم GOT ، إذ انخفض الانزيم GPT على مستوى إحصائي ٠,٠٥ في مجموعتي الأرانب المُمنعة والأرانب التي خُمجت بَعد التمنيع وصل المستوى إلى ١٧,٥٨ و

١٨,٣٢ وحدة/ لتر على التوالي مقارنةً بمجموعة السيطرة السالبة التي وصل مستواه إلى ٢١,٣٧ وحدة / لتر ، أما مجموعة الخَمج فَشكلت أعلى مستوى يَصل إليه الأنزيم في هذهِ المجاميع وكان ٤١,٩٥ وحدة / لتر ، جدول (٣).

**جدول (٣) أثر التمنيع بواسطة المُعزز الحيوي على مستوى انزيمات الكبد GOT و GPT في الأرانب**

| المتغيرات الكيموحيوية / نوع المعاملة | GOTانزيم الكبد U / L | | | GPTانزيم الكبد U / L | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | mean | ± | SD | mean | ± | SD |
| سيطرة | ٣٢,٩٤٣ b | ± | ٠,٩٣ | ٢١,٣٧٦ b | ± | ٠,٩٤ |
| مجموعة الخمج | ٤٨,٤١٠ a | ± | ٢,٣٠ | ٤١,٩٥ a | ± | ٤,٩١ |
| الوقاية بالمعزز | ٢٩,٠٤ c | ± | ٢,٢٦ | ١٧,٥٨٩ c | ± | ٠,٧١ |
| التخميج بعد الوقاية | ٢٨,٩٦٥ c | ± | ١,٥٩ | ١٨,٣٢٧ c | ± | ١,٠٧ |

**الاحرف المختلفة في العمود الواحد تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية ٠,٠٥**

وانطبقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة داود و ثلج [٤٦] حيث سجلا انخفاضا مَعنوياً واضحاً في مستويات أنزيمي الكبد GOT و GPT في الجرذان المُعطاة فموياً نوعاً مِن بكتريا حامض اللاكتيك مَع ماء الشرب ، ويمكن أن يُعزى سَبب ذلِك إلى دور أنواع بكتريا حامض اللاكتيك في تَحسين المؤشرات الأيضية في الكبد ومِن ثم تَحسين وظائفه مِن خِلال تحسين العمليات الأيضية ، وهذهِ النتائج توافقت مَع [٥٤] تُعد أنزيمات GOT وGPT مِن الدلائل الحساسة لِمعظم الأمراض المُتعلقة بحالة الكبد الصحية كتلف أو التهاب الكبد إذ إن زيادة إفرازها في الدم يُعد مؤَشراً على حصول الخلل في خلايا الكبد.

## المصادر :

**(1) Checkley W, White AC, Jaganath D, Arrowood MJ, Chalmers RM, Chen X,et al.(2015).** A review of the global burden, novel diagnostics, therapeutics, and vaccine targets for cryptosporidium. Lancet Infect Dis;15:85–94.

**(2) Shirley ,D.A.; Moonah, S.N.; Kotloff, K.L. (2012**). Burden of disease from cryptosporidiosis. Curr Opin Infect Dis 25(5):555–563**.**

**(3) Nemes ,Z .(2009).** Diarrhea from the infectologist's point of view. Orv Hetil 150(8):353–361

**(4) Speich B, Croll D, Furst T, Utzinger J, Keiser J.( 2016)** Effect of sanitation and water treatment on intestinal protozoa infection: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis;16:87–99.

**(5) Ehsan AM, Geurden T, Casaert S, Parvin SM, Islam TM,Ahmed UM, Levecke B, Vercruysse J, Claerebout E. (2015).**Assessment of zoonotic transmission of Giardia and *Cryptosporidium* between cattle and humans in rural villagesin Bangladesh. PLoS One, 10(2), 1–11.

**(6) Ya Yang, Yi-Biao Zhou*, Peng-Lei Xiao, Yan Shi ,( 2017)** Prevalence of and risk factors associated with *Cryptosporidium* infection in an underdeveloped rural community of southwest China, Yang et al. Infectious Diseases of Poverty, DOI 10.1186/s40249-016-0223-9

**(7) Bowman, D.D., Lynn, R.C. and Eberhard, M.L. (2003**). Georgis parasitology for veterinarians. 8th. ed. Saunders, St. Louis, pp: 98-100.

**(8) Maria Jose Saez-Lara; Carolina Gomez-Llorente; Julio Plaza-Diaz; Angel Gil (2015).** "The Role of Probiotic lactic acid bacteria and Bifidobacteria in the Prevention and Treatment of Inflammatory Bowel Disease and Other Related Diseases: A Systematic Review of Randomized Human Clinical Trials". Biomed Res Int (Systematic review). : 15. doi:10.1155/2015/505878. PMC 4352483 . PMID 25793197

**(9) Singhi SC, Kumar S (2016).** "Probiotics in critically ill children.". *F1000Res* (Review). **5**:407. doi:10.12688/f1000research.7630.1. PMC 4813632. PMID 27081478

**(10) Baxby, D.; Blundell, N. and Hart, C.A. (1984)**: The development and performance of simple sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* occysts infaces. J. Hyg. Camb., 192: 317-323.

**(11) John , D . T . & Petri , J . W . A . ( 2006).**Markell and Voge's Medical Parasitology.9ed. Chapter 14: examination of stool specimens. Saunders Elsevier.401-402.

**(12) Myers, R. L. (1995).** Immunology A Laborotry Manual ,2nd Edition. Wm.C.Brown publishers . p 83.

**(13) Baron**, **E.J.; Peterson, L.R. and Finegold, S. M. (1994**): Bailey and Scotts diagnostic Microbiology. 8th ed. Mosby Year book. Inc. America. 792.

**(14) Harrigan, W.F. and McCance, M.F. (1979).** Laporatory method in food and dairy microbiology. Academic press. London.

**(١٥) القصاب . عبدالجبار عمر قوجة. ( ١٩٨٨).** التأثير المضاد لبكتريا حامض اللبنيك العضوية على بعض البكتريا المرضية ، رسالة ماجستير ، قسم الصناعات الغذائية ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد .

**(16) Henriksen, S.A. and Pohlenz, J.F.J. (1981).** Staining of *Cryptosporidia* by a modified Ziehl-Neelsen Technique. Acta Vet. Scand. 22: 594-596.

**(17) Anderson , B.C.(1981).**Petterns of shedding of *cryptosporidial* oocyst in Indah calves.J.Am.Vet .Med. Assoc.,178 (9):982-984.

**(18) Arrowood , M.J. and sterling , C.R.(1987).** Isolation of *Cryptosporidium* oocyst and Sporozoite using discontinuous sucrose and isopoycnic percoll gradients .J.parasitol.,73:314-319.

(**19) Savage, D.C. (1984).** Adherence of the normal flora in: attachment of organism to the gut mucosa.voll.Boedeker, E.C.; Bocaraton crc press.pp. 3-10.

**(20) Fuller, R. (1975).** Nature of the determenat responsible for adhesion of *Lactobacillus* to chicken crop epithelial cell Journal of general microbiology; 87(2):245-150.

(21) **Contreras, B.G.L.; Vuyst, L.; Devreese,B.; Busanyova,K.; Raymaeckers,J.; Bosman,F.; Sablon,E. and Vandamme,E.J. (1997).** Isolation purification and aminoacids sequence of lactocin A, One of two bacteriocins produced by *Lactobacillus amylovorus* L, MG-P 13139. Appl.environ.microbiol. 63(1):13-20.

(٢٢) **- جندل ، جاسم محمد (٢٠٠٧).** مبادئ الالبان. المكتبة الوطنية

**(23) Mohammed, F.K. (2000).** Laboratory Guide in Toxicology, 1st Ed, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq.

**(24) Ghazal , A.M.(1974).**Experimental epidemiology of dwarf tapeworm *Hymenolepis nan var* . fraterna fection in the mouse .ph.D. Thesis,Univ.Bristol.

**(25) Tietz, N. ed., (2005).** Fundamentals of clinical chemistry. W.B. Saunders, Philadelphia. pp. 723-750.

26( **السعدي - ) زينب ,** (٢٠١٠) ، دراسة قابلية بكتريا ***Lactobacillus acidophilus*نشأت** فـي الوقايـة والعـلاج من إلتهـاب الأمعـاء المحدث بالـ ***Bifidobacterium bifidum***و

في الجرذان ، اطروحة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة تكريت *Salmonella typhimurium* ،العراق .

❖ **(27) Miles, R.D. and S.M. Bootwala. (2006).** Directfeed Microbials in animal production "avian". PP., 117-146. In: Direct - fed Microbials in animal production – A review of Literature. National feed ingredients Association. West Des Moines, IA.

**(٢٨) نظام الدين ، بهاء نظام عيسى 002)** . تشخيص وانتقاء بكتريا *Bifidobacterium)* العلاجية لاستخدامها في تصنيع مثلج قشدي . أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة. جامعة بغداد.

**(٢٩) Nawaf, M.G. (2005).** The use of Lactobacillus acidophilus as a probiotic for the prevention and treatment of experimental rat enteritis.Msc.th. College of medicine, Tikrit University.

**(30) Bernet, M.F.; Brassart, D.; Nooser, J.R. and sevin, A (2009).** Cultured human intestinal cell lines and inhibits enterovirulent bacteria. Downloaded forom gut. Bmj. Com; 35: 483-489.

**(31) Bezkorovainy, A. (2001).** Probiotics: determinats of Survival and growth in the gut. J.C lin. Nut. 73(2): 3995-4055.

❖ **(32) Abas, I.; Kutwy, H.C.; Kagraman, R.; Toker, N.Y.; OZcelik, D.; Ates, F. and Kacalci,A. (2007) .**Effect of organic acids and bacterial direct-fed microbial on fatting performance of kivircik male yearling lambs.Pakistan journal of nutrition ;6(2): 149-154.

**٣(3 ) محمد ، محمد مجباس. (٢٠٠٨).** إستخدام العصيات اللبنية المحبة للحموضة *Lactobacillus acidophilus* كمعزز حيوي للوقاية من الخمج بجرثومة *Salmonella typhimurium*.جامعة القادسية، *كلية الطب البيطري ، رسالة ماجستير. في الأرانب*

**(34) Apanavicius,C.J.;Powell,B.M.; Vester ,B.M.; Lilienthal,L.K.; Po pe,L.L. ; Fastinger, N.D.; Walling,M.A.; Tappenden,K.A. and Swanson,K.S. (2007).** Fructose supplemention and infection after food intake, fever and epithelial sloughing from salmonella challenge in weaning puppies. AJ.Nutr. 137:1923-1930.

**(35) Mack, D.R.; Ahrne, S.; Hyde, L.; Wei, S. and Holling_ Swarth, M.A. (2003).** Exteacellular MVC3 nucin secretion follows adherence of lactobacillus strain to intestinal epithelial cell in vitro .Gut. 52:827-833.

**(36) Pretzer,G.; Snel,J. ; Molenaar ,D.; Wiersma,A. ; Bron,P .A. ; Lambert,J.; Devos,W.M.; Vandermeer,R.; Smits,M.A. and Kleerebezem,M. (2005).** Biodiversity-based identification and functional characterization of the mannose-specific adhesion of *Lactobacillus plantarum*. Joumal of bacteriology. 187(17):6128-6136.

**(37) Stanton, C.; Gardiner, G.; Meehan, H.; Collins, K.; Fitzgerald, G.; Lyncg, P.B. and Ross, R.P. (2001).** Market potential for probiotics. American Journal of clinical nutrition. 73(2):4765-4835.

(38) **DeVuyst, L. and Leroy, K. (2007).** Bacteriocins from lactic acid bacteria: Production, Purification, and food applications. J. Mol. Microbiol Biothehnon; 13: 194-199.

**(٣٩) نجرس، اسامة ناظم : محمود ،اسماء عيسى : محمد ،مروة جاسم (٢٠١٧)** ، دراسة تأثير على الإصابة *Lactobacillus casei* اللبن اللاكتيكي المحضر بواسطة بكتريا في الفئران البيضاء ، كلية العلوم التطبيقية. جامعة سامراء. *Entamoeba histolytica* بطفيلي العراق .

**(40) Kenner, B. M. and Rosen, T. A. (2006).** Contaneous ameiasis in a child and review of the literature. Pediaty. J. Dermatol., 23(3):231-234.

**(41) Jens Walter (2015).** Ecological Role of Lactobacilli in the Gastrointestinal Tract: Implications for Fundamental and Biomedical Research. Applied and Enviromental Microbiology.Vol(81), Issue(23).

**(42) Yujun Jianga,b.; Xuena Lüa; Chaoxin Manb; Linlin Hana; Yi Shanb; Xingguang Qua; Ying Liua; Shiqin Yanga; Yuqing Xuea and Yinghua Zhang.(2012)**.*Lactobacillus acidophilus* Induces Cytokine and Chemokine Production via NF-κB and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathways in Intestinal Epithelial Cells. Clin. Vaccine Immunol. vol. 19 (4): 603-608.

**(43) Tsai, C.C.; Chen, M.; Liu, T.; Chau, C.G. and Tsen, H.Y. (2004).** Evaluation of the toxicity of *L.acidophilus* LAP 5 in a 28-day feeding study in Wistar rats. J. of food safety. 24: 268-280.

(٤٤) **العمري، أسعد جاسم عبد.(٢٠٠٨)**. دراسة تأثير إستخدام المعزز الحيوي (Probiotic) كمحفز مناعي مع لقاح البروسيلا Rev-1 في الحملان. رسالة ماجستير. كلية الطب البيطري. جامعة بغداد.

(٤٥) **فارس ،عزت (٢٠١٤).** اللبن الرائب مستودع البكتريا النافعة .قسم التغذية .كلية الصيدلة والعلوم الطبية . جامعة البترا . الاردن.

(٤٦) **ثلج ،كركز محمد و داود ،فلاح سلوم (٢٠١٦)** فعالية بعض انواع بكتيريا حامض اللاكتيك في بعض المؤشرات الحيوية والسمنة في الجرذان، مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية – المجلد (١٦)- العدد (١) .

(٤٧) **الرفاعي ،عهود مزاحم شاكر محمود (2009)** مقارنة تشخيص طفيلي داء الابواغ الخبيئة بأستخدام اختبار الاليزا وصبغة كاربول فوكسين مع محاولة الكشف عن تأثير بعض المستخلصات النباتية على الطفيلي .رسالة ماجستير . كلية التربية للبنات . جامعة تكريت.

**(48) Muhsen, R.K. (2007).** The use of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic in the prevention and treatment of *Salmonella*

*typhimurium* infection in puppies' .PH.D. Thesis. College of Veterinary Medicine. University of Baghdad.

(49) **Oyetayo, V.O. and Oyetayo, F.L. (2005).** Potential of probiotics as biotherabiotic agent targeting the innat immune system. African Journal of Biotechnology, 4(2):123-127.

(50) **Nwanze, P. I.; Khan, A. U.; Ameh, J. B. and Umoh. J. V. (2006).** Nutritional studies with *Lentinus squarrosulus* (Mont) Singer and *Psathyrella atroumbonata* Pegler: I. Animal assay. Afri. J. Biotechnology.5 (5): 457-460.

(51) **Haddadin , M.S.Y. ; Abdulrahim , S.; E-Hashlamoun and Robinson, R. (1996).**The effect of *Lactobacillus acidophilus* on the production and chemical compostion of hens eggs . Poultry Sci. ,75:491-494.

(52) **Semaskaite, A. and Gruzauskas,R. (2006)** " Effects of lactic acid bacteria,produced from strain Pediococcus acidil actic and prepiotic fructo oligo saccharides on growth performance and digestive processes of broiler chickens"200-202.

(53) **Jia, Lin and Zhang, Mei-Hua. (2005).** Comparison of Probiotics and lactulose in the treatment of minimal hepatic encephalopathy in rats. World J. Gastroenterol. 11(6): 908-911.

(54) **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.