



الارتقاء بالبحوث العلمية طريقنا لخدمة المجتمع

تقدير المعايير الفسلجية والمناعية والحيوية للأرناب المصابة ببعض انواع البكتريا المرضية والمعالجة

بيكتريا *Lactobacillus rhamnosus*

بلال علي خشان¹ ، مركز محمد ثلج²

¹كلية الزراعة ، جامعة الأنبار ، رمادي ، العراق

²كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

تم في هذه الدراسة الكشف عن المعايير الفسلجية والمناعية والحيوية للأرناب المصابة بالأنواع البكتيرية *Bacillus cereus*، *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* المعزولة محلياً والمسببة لحالات التسمم الغذائي. سببت المعالجة من خلال الإعطاء الفموي من *Lactobacillus rhamnosus* لمجاميع الحيوانات في حصول انخفاض معنوي عند مستوى الاحتمالية ($p < 0.05$) في قيم كريات الدم البيض WBC والخلايا الليمفاوية والعدلات عند مقارنة قيمها في دم حيوانات السيطرة. بينت نتائج قيم معايير الدم الكيموحيوية في الأرناب المصابة بالأنواع المسببة للتسمم الغذائي المشار إليها أعلاه والمعالجة فمويًا من بكتريا المعزز الحيوي حصول انخفاض معنوي عند نفس المستوى في مستويات الكلوبيولينات المناعية من الأنواع IgA و IgM و IgE. كما أظهرت النتائج في حصول إنخفاض في مستوى الأعداد الكلية من الأنواع البكتيرية المعوية مقابل زيادة الأعداد الكلية من بكتريا حامض اللاكتيك.

معلومات البحث

الكلمات المفتاحية:

Lactobacillus rhamnosus، الأرناب المصابة، المعايير الفسلجية، التسمم الغذائي

الاسم: بلال علي خشان

البريد الإلكتروني:

رقم الهاتف:

المقدمة

أكثر للخلايا المناعية وتعزيز فعالية البلعمة وزيادة إنتاج IgA، اما في جانب المناعة الخلطية فقد وجد ان بكتريا *L. rhamnosus* تحدث زيادة في إفراز IgG, IgA, IgM من الخلايا اللمفية المحيطة [3].

هدف الدراسة

هدفت هذه الدراسة على إختبار فاعلية بكتريا *Lactobacillus rhamnosus* في تعزيز الحالة التغذوية والمناعية مختبريًا وفي داخل الجسم من خلال تحديد المعايير ذات العلاقة.

المواد وطرائق العمل Material and method

عزل وتشخيص العزلات البكتيرية Bacterial Diagnosis

عزل الأنواع المسببة للتسمم الغذائي

عُزل كل من الأنواع حسب الوسط التفريقي الخاص بها بعد إعداد عينات الأغذية الملوثة لها، فقد عزلت *E. coli* من عينة الحليب البقري من مدينة أربيل الملوثة بإستعمال وسط MacConky agar، تم عزل *Staph. aureus* من عينة الكيك المصنعة مختبريًا والمتروكة في حرارة الغرفة لحين ظهور علامات التلف عليها على وسط Mannitol Salt Agar، أما *B. cereus* فقد تم عزلها من عينة

إن التأثير العلاجي لأنواع بكتريا حامض اللاكتيك من خلال إنتاجها الحامض الذي يعمل على تحويل المصادر الكربوهيدراتية إلى الحوامض العضوية مسببًا الإنخفاض في الرقم الهيدروجيني وإزالة كميات كبيرة من المواد الكربوهيدراتية التي تعتبر الخطوة الأولى في التأثير التنشيطي ضد الأحياء المجهرية الأخرى [1].

يعد النوع *L. rhamnosus* من أبرز الأنواع المستعملة كمعززات حيوية المعروفة لما تتمتع به من صفات علاجية متعددة عن غيرها اذا انها تستوطن طبيعيًا في الجهاز الهضمي للإنسان، كما تمتاز في إمكانيتها للبقاء والعبور من خلال المعدة والأمعاء ومقاومة املاح الصفراء والالتصاق بالأغشية المخاطية للأمعاء والمحافظة على توازن النبيت المعوي لدى المضيف [2].

ان الأدلة الكثيرة التي أثبتت التأثيرات المفيدة للمعززات الحيوية على الوظيفة المناعية هي زيادة أعداد خلايا البلازما المنتجة للكلوبيولينات المناعية (IgA-producing plasma cells) والخلايا القاتلة الطبيعية (NK) (Natural Killer Cells) كما تعمل المعززات الحيوية على تحفيز إستجابة غير نوعية في الجهاز المناعي مثل تولد

الصباح بواقع 1 مل والثانية في المساء بواقع 1 مل، مدة الإعطاء الفموي من الأنواع البكتيرية الثلاثة المسببة للتسمم الغذائي لمجاميع الحيوانات قيد الدراسة لحين ظهور علامات التسمم كانت 13 يوم من بكتريا *E.coli* و 10 أيام من بكتريا *Staph. aureus* و 7 أيام من بكتريا *B. cereus*.

2- حُضر العالق البكتيري من بكتريا المعزز الحيوي من خلال تنمية العزلة في 100 مل من الحليب الفرز السائل في فلاسكات حجمية وحُضِن لاهوائياً عند حرارة 37 °م لمدة 48 ساعة، ثم سحب 1 مل من العالق البكتيري ونقل الى 9 مل الحليب الفرز السائل وحُضِن لاهوائياً على 37 °م لمدة 24 ساعة، قورنت النموات البكتيرية مع محلول مكفرلاند عند تركيز 0.5 للحصول على اعداد 10×1.5^8 خلية/مل. جُرعت الحيوانات 2 مل يومياً لكل حيوان وعلى دفعتين الأولى في الصباح بواقع 1 مل والثانية في المساء بواقع 1 مل، ومدة المعالجة كانت 10 أيام لحين ظهور علامات الشفاء التام لمجاميع الحيوانات قيد الدراسة.

نُفذت هذه التجربة بإستعمال 12 حيواناً من إناث الارانب المجهزة من كلية الطب البيطري جامعة تكريت، بعمر 10-12 أسبوع وبأوزان مقاربة. تمت التجربة في البيت الحيوان في كلية الطب البيطري جامعة تكريت، قسمت الحيوانات إلى أربعة مجاميع عشوائياً كل مجموعة منها تضمنت ثلاثة حيوانات :

1. المجموعة الاولى مجموعة السيطرة Group Control أفراد هذه المجموعة تغذت على العليقة المذكورة أعلاه ولم يتم تجريعها بالبكتريا المرضية.

2. المجموعة الثانية جُرعت ببكتريا *E.coli*.

3- المجموعة الثالثة جُرعت *Staph. aureus*.

4- المجموعة الرابعة جُرعت *B.cereus*.

تم مراقبة الحيوانات في المجاميع المجرعة للتأكد من حصول الإصابة بحالة التسمم الغذائي لكل منها، إذ تضمنت التجربة الحيوية ثلاثة مراحل :

الأولى : بعد توزيع الحيوانات المختبرية في الاقفاص تم سحب الدم منها وتقدير معايير الدم المطلوبة في الدراسة.

الثانية : التجريع للحيوانات بأنواع البكتريا المسببة للتسمم الغذائي لكل مجموعة منها ومراقبة حالة الحيوانات المختبرية للوصول الى حدوث الإصابة ثم بعد حالة التأكد من الإصابة سحبت عينات الدم اللازمة لإنجاز الفحوصات المختبرية المطلوبة في الدراسة، لوحظت حالة الحيوانات بشكل يومي للتأكد من الإصابة بالتسمم من خلال حركة الحيوان ونشاطه فضلاً عن متابعة وتسجيل حالات الاسهال للتأكد من الإصابة.

الثالثة : الاعطاء الفموي لها من المعزز الحيوي ووصول حالة الحيوانات الى مرحلة الشفاء التام من تأثير الاعطاء الفموي من الانواع البكتيرية المسببة للتسمم الغذائي، ثم بعدها تم سحب عينات

الرز المطبوخ المتروك لمدة محدودة في ظروف عند حرارة الغرفة لحين حصول التلف على وسط Nutrient Agar. تم عزل كل نوع حسب ما جاء في طريقة [4]. بعد أن عزلت المستعمرات البكتيرية على الأوساط الملائمة لها لوحظ شكل المستعمرات ولونها وابعادها، ثم صبغت بصبغة كرام وفحصت تحت المجهر للتعرف على شكل الخلايا ونوع استجابتها لصبغة كرام حسب طريقة [5].

تشخيص العزلات البكتيرية المسببة للتسمم الغذائي

شخصت كل من الأنواع *B. cereus*، *Staph. aureus*، *E.coli* المنماة على الاوساط الملائمة من خلال العديد من الفحوصات المظهرية والكيميوحيوية واختبارات IMViC حسب ماجاء بطريقة [6] و [7].

تأكيد تشخيص *Lactobacillus rhamnosus*

تم تشييط *L.rhamonsus* المجففة والمجهزة على شكل كبسولات من شركة Merck الألمانية بإستعمال حليب منزوع الدهن Skimmed milk ثم حضنت بحرارة 37 °م لمدة 24-48 ساعة، بعدها نقل 0.1 مل من الحليب الى وسط MRS Agar. أجريت على مستعمرات العزلة النامية على وسط MRS Agar العديد من الفحوصات المزرعية والكيميوحيوية الخاصة التي شملت زراعتها على وسط $MRS-CaCO_3$ بالإضافة الى ذلك تنميتها في مستويات مختلفة من حرارة وكذلك تنميتها بتركيز مرتفعة من NaOH حسب طريقة كل من [8] و [9] و [10].

تحديد *Lactobacillus rhamnosus* كمعزز حيوي

إختبار قابلية البكتيريا على مقاومة أملاح الصفراء Tolerance to bile Salts

أجري اختبار قابلية *L. rhamonsus* المنماة بدرجة حرارة 37 °م تحت ظروف لاهوائية لمدة 48 ساعة على وسط MRS broth على مقاومتها لأملاح الصفراء بتركيز تراوحت من 0.05-1% حسب طريقة [11].

النمو في تراكيز مختلفة من الأس الهيدروجيني

أجري اختبار قابلية *L. rhamonsus* المنماة على وسط MRS broth بدرجة حرارة 37 °م تحت ظروف لاهوائية لمدة 48 ساعة من النمو في تراكيز مختلفة من الاس الهيدروجيني pH أقل من 2-7 حسب ماجاء بطريقة [12].

تحضير الراشح البكتيري

حُضر العالق البكتيري على مرحلتين:

1- حُضر العالق البكتيري لكل نوع من انواع البكتريا المسببة للتسمم الغذائي من خلال تنمية كل عزلة من العزلات في 100 مل من وسط Tryptone Soya Broth في فلاسكات حجمية وبعد التحضين عند حرارة 37 °م لمدة 24-48 ساعة، قُدرت اعداد المستعمرات البكتيرية ومعايرتها باستعمال محلول ماكفرلاند عند تركيز 0.5 لتكون بأعداد 10×1.5^8 خلية/مل، وكانت كمية الجرعة من الانواع البكتيرية لكل مجموعة 2 مل يومياً لكل حيوان اعطيت على دفعتين الأولى في

وحضنت لاهوائيا عند 37 °م لمدة 24-48 ساعة. بعدها حسبت أعداد المستعمرات ذات الشكل الكريمي والمملكة للمناطق الرائقة حولها [14]. تم التأكد من العزلات البكتيرية في اختيار المستعمرات النامية بالفحص الفحص المجهرى والتصبيغ بصبغة كرام وكذلك اختبار الكاتاليز.

التحليل الإحصائي

نفذت التجربة بموجب التصميم العشوائي الكامل (CRD) Complete Randomized Design وأجري تحليل التباين باستعمال النموذج الخطي General linear Model ضمن البرنامج الإحصائي الجاهز [15]. استعمل اختبار دنكن لتحديد معنوية الفروقات في حالة وجودها ما بين المتوسطات المختلفة عند مستوى احتمالية بلغ 0.05.

النتائج والمناقشة

عزل وتشخيص بكتريا *Escherichia coli*

عزلت بكتريا *E. coli* من عينات الحليب البقري المحلي من أسواق مدينة أربيل مختبرياً وكانت الصفات المظهرية لهذه العزلات مطابقة لصفات بكتريا *E. coli* النامية على وسط MacConkey Agar ظهرت المستعمرات على الوسط باللون الوردي وذلك لقدرة هذا النوع البكتيري على تخمير سكر اللاكتوز الموجود في الوسط الزرعي [16]. ولزيادة التأكيد الأولي على النوع البكتيري فقد التقطت منها مستعمرة منفردة ونميت على وسط EMB Eosin methylene blue وكان ظهور المستعمرات ببريق أخضر لماع معدني الذي يؤكد أولياً النوع البكتيري *E. coli*.

أجريت لمستعمرات هذه البكتريا المنمأة على وسط MacConky agar العديد من الفحوصات المظهرية والكيموحيوية ومنها التصبيغ بصبغة كرام واختبارات IMViC كما في الجدول (1).

جدول (1) نتائج الاختبارات التشخيصية المظهرية والكيموحيوية لعزلة *Escherichia coli*

نوع الاختبار	اسم الاختبار	نتيجة الاختبار
الاختبارات المظهرية	المستعمرات	مستعمرات صغيرة دائرية الشكل لزجة لمساء الحافة
	التصبيغ بصبغة كرام	-
	الشكل الخلوي تحت المجهر الضوئي	عصوية
	الحركة	+
الاختبارات الكيموحيوية	السنترات	-
	الاندول	+
	المثيل الأحمر	+
	فوكاس بروكسر	-
	الأوكسيديز	-
	الكاتاليز	+
	تميع الجيلاتين	-

العلامة (+) تعني موجبة الاختبار ، العلامة (-) تعني سالبة الاختبار

الدم من مجاميع الحيوانات لإنجاز الفحوصات والاختبارات المختبرية اللازمة في الدراسة.

جمع عينات الدم Blood sample collection

سُحبت عينات الدم من الحيوانات في المراحل الثلاثة لمعاملة الحيوانات المختبرية التي تضمنت المرحلة الأولى قبل البدء بعملية الاعطاء الفموي لكل أفراد المجاميع المذكورة أعلاه والثانية عند ظهور الأصابة بالتسمم، أما المرحلة الثالثة كانت بعد المعالجة بالمعزز الحيوي. سحبت عينات الدم حسب طريقة [13].

الاختبارات المدروسة

الاختبارات الدموية Haematological examination

تم قياس العدد الكلي لخلايا الدم البيض (WBC) والخلايا الليمفاوية Lymph والخلايا الحبيبية Gran% باستخدام جهاز Complete Blood Count (CBC).

تقدير كلويولينات المناعية

من مصل دم الحيوانات قدرت الكلويولينات المناعية من الأنواع (IgA, IgM, IgE) باستعمال جهاز ELISA (Enzyme Linkage Immunue System Assay) حسب طريقة [13].

تقدير العدد الكلي الأحياء المجهرية

A- تقدير العدد الكلي لبكتريا القولون في الأمعاء

وزن 10 غم من كل جزء من أمعاء الحيوانات وتم اضافتها الى 90 مل من المحلول الملحي الفسيولوجي، أجريت التخفيف اللازمة لغاية التخفيف الخامس وسحب 0.1 مل من التخفيف الأخير ونشر على وسط MacConky Agar وحضنت الأطباق مقلوبة عند 37 °م لمدة 24 ساعة بعدها عدت المستعمرات على الطبق لكل عينة [14].

B- تقدير العدد الكلي لبكتريا حامض اللاكتيك

سُحِبَ 0.1 مل من التخفيف المعد في المحلول الفسيولوجي في الخطوة السابقة ونشرت على سطح وسط MRS-CaCO₃ الصلب

تشير نتائج الاختبارات في الجدول أعلاه إلى أن العزلة قيد الاختبار تحمل الصفات النموذجية المميزة لبكتريا *E. coli* حسب ما جاء في [17] و [18] و [19].

عزل وتشخيص *Staphylococcus aureus*: عزلت بكتريا *Staph. aureus* من عدد من عينات منتج الكيك المصنع مختبرياً والكيموحيوية وكما في الجدول (2).

حسب الطرائق التقليدية بعد تركه لمدة محدودة في ظروف عند حرارة الغرفة لحين حصول التلف بإستعمال وسط Mannitol Salt Agar حيث ظهرت المستعمرات النامية على الوسط بلون أصفر ذهبي على وسط Mannitol Salt Agar العديد من الفحوصات المظهرية والكيموحيوية وكما في الجدول (2).

جدول 2. نتائج الاختبارات التشخيصية المظهرية والكيموحيوية لعزلة *Staphylococcus aureus*

نوع الاختبار	اسم الاختبار	نتيجة الاختبار
الاختبارات المظهرية	المستعمرات	دائرية لمساء ذهبية اللون
	التصبغ بصبغة كرام	+
	الشكل الخلوي تحت المجهر الضوئي	كروية مرتبة بشكل عنائيد
الاختبارات الكيموحيوية	الكتاليز	+
	الأوكسيديز	-
	اليوريز	+
	التخثر	+
	تحلل الدم	+
	السترات	+

العلامة (+) تعني موجبة الاختبار ، العلامة (-) تعني سالبة الاختبار

وقد اكدت جميع نتائج الفحوصات أن هذه العزلة قيد الاختبار تحمل الصفات النموذجية المميزة لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية حسب ما جاء في [20] و [21] و [22].

عزل وتشخيص *Bacillus cereus*

تم عزل بكتريا *B. cereus* من عدد من عينات منتج الرز المطبوع المتروك لمدة محدودة في ظروف عند حرارة الغرفة لحين ظهور علامات التلف وذلك بتنمية العزلات على وسط Nutrient Agar إذ أجريت لمستعمرات هذه البكتريا المنماة على وسط Nutrient Agar العديد من الفحوصات المظهرية والكيموحيوية المبينة في الجدول (3).

جدول 3. نتائج الاختبارات التشخيصية المظهرية والكيموحيوية لعزلة *Bacillus cereus*

نوع الاختبار	اسم الاختبار	نتيجة الاختبار
الاختبارات المظهرية	المستعمرات	كبيرة الحجم ، جافة ، بيضاء مائلة للرمادي، حافاتها غير منتظمة الشكل
	التصبغ بصبغة كرام	+
	موقع السبور	مركز الخلية او إلى الجانب قليلاً
	شكل الخلايا تحت المجهر الضوئي	عصوية طويلة او معتدلة الطول
الاختبارات الكيموحيوية	الكتاليز	+
	الأوكسيديز	+
	الستينيز	+
	تحلل الدم	+

العلامة (+) تعني موجبة الاختبار ، العلامة (-) تعني سالبة الاختبار

تأكيد تشخيص *Lactobacillus rhamnosus*

أجريت على مستعمرات العزلة النامية على وسط MRS Agar العديد من الفحوصات المظهرية والمزرعية والكيموحيوية الخاصة بها:

اكدت جميع نتائج الفحوصات أن هذه العزلة قيد الاختبار تحمل الصفات النموذجية المميزة لبكتريا *B. cereus* حسب ما جاء في [24] و [25] و [26].

الفحوصات المظهرية والمزرعية

ظهرت المستعمرات النامية بعد تنميتها على وسط MRS، بأنها دائرية الشكل محدبة ذات حافات محددة لمساء وأحياناً مسطحة تحتوي على منطقة شفافة في وسطها ذات لون أصفر باهت أو الأبيض المائل إلى الأصفر، حددت الصفات الظاهرية لخلاياها تحت المجهر الضوئي لبيان خصائصها الظاهرية وأستجابتها للتصبيغ بصيغة كرام وتكوينها للأبواغ، إذ كانت موجبة لصيغة كرام، غير مكونة للأبواغ، خلاياها مترتبة بشكل سلاسل، أشكالها غالباً عصوية قصيرة أو كانت منحنية في بعض الأحيان، وأتخذت أشكال مفردة أو ثنائية، كما وتم زراعتها على وسط $MRS-CaCO_3$ وأظهرت النمو والقدرة على الإستفادة من $CaCO_3$ مكونة هالات شفافة أحاطت بالمستعمرات النامية على سطح الوسط وهذا دليل على ان البكتريا لها القدرة على تحليل $CaCO_3$ بفعل الحوامض العضوية التي تنتجها مثل حامض اللاكتيك، بالإضافة الى ذلك تباين نموها في مستويات مختلفة من الحرارة إذ تبين قدرتها للنمو في حرارة 25 - 45 °م بينما لم تكن قادرة على النمو عند حرارة 10 °م [12] و [27] و [28].

أظهرت العزلة بانها ليس لها القدرة على النمو بتراكيز مرتفعة من NaOH عند 4.5 ، 5.5 ، وهذا اتفق مع ماذكره [29].

كما وجد نمو لهذه البكتريا في قعر أنبوبة الاختبار الزجاجية على شكل راسب في وسط MRS broth وهي من الصفات التشخيصية المظهرية الخاصة بها حيث ان هذه النتيجة إتفقت مع ماوجده [29].

الاختبارات الكيموحيوية

اظهرت الفحوصات الكيموحيوية للعزلة قيد الدراسة كما في الجدول (4) كما جاء في [30].

جدول 4. الاختبارات الكيموحيوية لبكتريا *L. rhamnosus*

الاختبارات	اسم الاختبار	نتيجة الاختبار
الكيموحيوية	الكتاليز	-
	الاوكتيديز	-
	تميع الجيلاتين	-

العلامة (+) تعني موجبة الاختبار، العلامة (-) تعني سالبة الاختبار

تحديد *Lactobacillus rhamnosus* كمعزز حيوي

النمو في تراكيز مختلفة من الأس الهيدروجيني

أظهرت نتائج اختبار النمو في مستويات مختلفة من الأس الهيدروجيني بأن بكتريا *L. rhamnosus* تمتلك القدرة على النمو عند أس هيدروجيني تراوح ما بين 3-7 بعد تحضينها عند حرارة 37 °م لمدة 24-48 ساعة لكنها لم تمتلك قدرة النمو عند 2 فما دون من الأس الهيدروجيني. اتفقت هذه النتيجة مع دراسة كل من [31] و [29] و [28].

النمو في تراكيز مختلفة من أملاح الصفراء

أظهرت نتائج الاختبارات بأن بكتريا *L. rhamnosus* تمتلك القدرة في تحمل تراكيز مختلفة من املاح الصفراء وأن نتيجة اختبار هذه

البكتريا وضحت في أنها غير قادرة على النمو عند كل من التركيز 0.4 و 0.5 و 1 % من تراكيز أملاح الصفراء وأنها قد تمكنت من النمو في التركيز 0.05 و 0.1 و 0.2 و 0.3 % من أملاح الصفراء. هذه النتائج إتفقت مع ماوجده [29]. كما أشار [32] أن كل أنواع بكتريا حامض اللاكتيك التي تمتلك القدرة على النمو بوجود تراكيز من أملاح الصفراء بين 0.15 - 0.3 % تعد مناسبة لإستعمالها كمعزز حيوي من خلال الفم.

تأثير الإطعام الفموي من *Lactobacillus rhamnosus* في العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض في الدم الأرناب المصابة بأنواع بكتريا التسمم الغذائي

يبين الجدول (5) تأثير الإطعام الفموي بالمعزز الحيوي في معايير العدد الكلي والتفريقي لخلايا الدم البيض White Blood Cells (WBCs) والأعداد النسبية لخلايا العدلات Neutrophils واللمفية Lymphocytes في صورة دم الأرناب المصابة بأنواع البكتريا المسببة للتسمم الغذائي. بينت النتائج حصول ارتفاع معنوي عند المستوى ($p < 0.05$) في العدد الكلي لخلايا الدم البيض في مجاميع الأرناب المصابة بأنواع بكتريا *Staph. aureus* ، *B. cereus* بعد الإصابة التي كانت 8.26 و 7.42 و 9.76 ($\times 10^6$ خلية / ملم³) على التوالي. أن الإطعام الفموي من المعزز الحيوي سبب في تعديل أعدادها لتكون متقاربة معنويًا مع أعدادها في دم حيوانات مجموعة السيطرة التي كانت 7.36 و 6.17 و 6.15 ($\times 10^6$ خلية / ملم³) على التوالي عدا أعدادها في مجموعة الحيوانات المصابة بالنوع *B. cereus* التي انخفضت فيها وكانت 5.40 ($\times 10^6$ خلية / ملم³). أما الأعداد النسبية للخلايا العدلات فأنها ارتفعت معنويًا بعد الإصابة في مجموعة الحيوانات المصابة بالأنواع البكتيرية المسببة للتسمم الغذائي المشار إليها أعلاه التي كانت عند 43.56 و 46.40 و 42.52 % على التوالي مقارنة مع مجاميع السيطرة التي كانت 33.90 و 36.20 و 34.60 % على التوالي. اما بعد المعالجة بالمعزز الحيوي فقد كان الإنخفاض المعنوي ملحوظًا والتي كانت 35.80 و 33.93 و 32.56 %. حصل انخفاض معنوي في نسبة الأعداد النسبية للأنواع اللمفية في دم مجاميع الحيوانات بعد الإصابة بالأنواع *Staph. aureus* ، *B. cereus* وكانت 48.9 و 56.7 و 49.77 % على التوالي مقارنة مع نسبتها في دم مجاميع حيوانات السيطرة التي كانت 65.1 و 67 و 66.83 %. اما بعد المعالجة بالمعزز الحيوي فقد ارتفعت معنويًا وكانت 66.2 و 68.6 و 62.56 % إذ أصبحت متقاربة مع نسبتها في دم مجاميع السيطرة.

إن خلايا الدم البيض WBC تؤدي دورًا حيويًا في حماية الجسم من الأمراض الناتجة عن الإصابة بالبكتريا والفيروسات والفطريات، إذ إن إرتفاع أعداد خلايا الدم البيض يرتبط عادةً بالعدوى الميكروبية أو وجود أجسام أو مستضدات غريبة في جهاز الدوران واضطرابات الجهاز المناعي والتوتر وغيرها. كما أن نتائج الإرتفاع المعنوي في أعداد الأنواع اللمفية من خلايا الدم البيض بعد المعالجة بالمعزز

الحيوي كان دليلاً على الزيادة في إنتاجها في الجسم بسبب حث الجهاز المناعي من قبل بكتريا المعزز الحيوي المعطاة فموياً في المجاميع المصابة بالبكتريا المسببة للتسمم الغذائي، إذ يعد ذلك مؤشراً

جدول 5. تأثير بكتريا المعزز الحيوي في الاعداد الكلية والتفريقية لكريات الدم البيض في الأرانب المصابة بأنواع البكتريا المسببة للتسمم الغذائي.

الاعداد الكلية والتفريقية لخلايا الدم البيض			المعاملات	البكتريا المسببة للتسمم الغذائي
Lym. %	Net. %	WBCs ($\times 10^6/\text{mm}^3$)		
65.1a 0.15±	33.90 b 1.45±	7.36 b 0.87±	السيطرة	<i>E.coli</i>
48.9 b 0.8±	43.56 a 0.99±	8.26 a 0.88±	بعد الإصابة	
66.2 a 0.37±	35.80 b 1.66±	7.13 b 1.16±	بعد المعالجة	
67.0 a 0.72±	36.20 b 1.01±	6.17 b 0.58±	السيطرة	<i>Staph. aureus</i>
56.7 b 0.92±	46.40 a ±2.15	7.42 a ± 0.91	بعد الإصابة	
68.6 a 1.06±	33.93 b ±1.19	5.86 b ± 1.57	بعد المعالجة	
66.83 a 0.51±	34.60 b 2.35±	6.15 b 0.60±	السيطرة	<i>B. cereus</i>
49.77 b 0.43±	42.52 a 1.82±	9.76 a 1.41±	بعد الإصابة	
62.56 b 1.10±	32.56 b 1.82±	5.40 c 2.43±	بعد المعالجة	

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

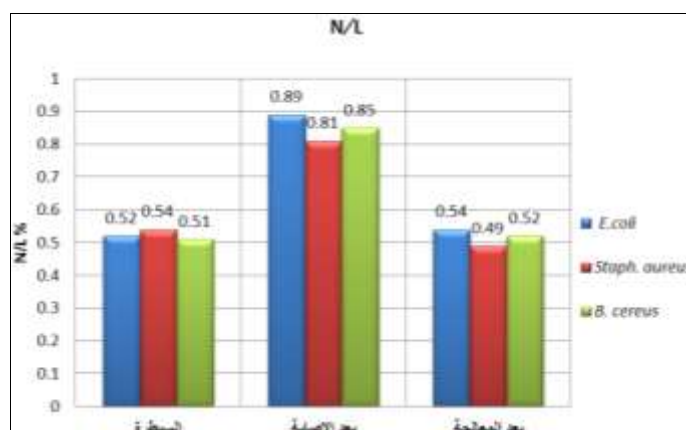
✓ المعدلات محسوبة لثلاثة مكررات من الحيوانات. ± تشير الى الخطأ القياسي.

✓ WBC . White Blood Cell Lym . Lymphocytes Net. Netrophlies

تعديل قيمتها التي أصبحت 0.54 و 0.49 و 0.52% لتكون قريبة من قيمتها في دم مجاميع حيوانات السيطرة. أن الإجهاد الحاصل لحيوانات التجارب بسبب معاملتها عند إعطاء جرع معينة سبب في رفع قيمة Netrophlies/Lymphocytes هذا قد يعود الى تثبيط البكتريا وإيقاف تنشيط الخلايا للمفاوية عند المعالجة ببكتريا المعزز الحيوي، هذا ما يؤدي الى رفع القيمة. كما أن الإجهاد يمكن أن يحفز الغدة الكظرية على إفراز هرمونات مثل الإسترون الذي له تأثير مباشر لتحليل الخلايا للمفاوية التي تسبب زيادة في نسبة Netrophlies/Lymphocytes وهذه النتائج تطابق ما وجده [35] و [36].

التأثير في قيمة Netrophlies/Lymphocytes

أن تأثير الإعطاء الفموي لمثلتر واحد من بكتريا المعزز الحيوي في قيمة Netrophlies/Lymphocytes للحيوانات المصابة بأنواع بكتريا *E.coli* ، *S. aureus* ، *B. cereus* قد وضحاها الشكل (1). أظهرت نتائج التحليل الإحصائي عند مستوى الإحتمالية ($p < 0.05$) حصول ارتفاع معنوي في قيمة Netrophlies/Lymphocytes بعد الإصابة بأنواع بكتريا *E.coli* ، *Staph. aureus* ، *B. cereus* المسببة للتسمم الغذائي التي كانت 0.89 و 0.81 و 0.85% على التوالي مقارنة مع قيمتها في مجاميع حيوانات السيطرة التي كانت 0.52 و 0.54 و 0.51%. أدت المعالجة ببكتريا المعزز الحيوي في



شكل 1. تأثير بكتريا المعزز الحيوي في النسبة بين N/L في دم الأرانب المصابة بالبكتريا المسببة للتسمم الغذائي

لنوع IgE فقد حصل أيضاً ارتفاع معنوي في تركيزه بعد الإصابة بالنوع *E. coli* والنوع *Staph. aureus* الذي كان 0.37 و 0.33 (mg/dl) على التوالي مع زيادة تركيزه بعد المعالجة ببكتريا المعزز الحيوي والذي كان 0.41 و 0.45 مقارنة مع تركيزه في مصل دم مجاميع حيوانات السيطرة الذي كان لكلاهما هو 0.29 (mg/dl). إن الجرعات المنخفضة من المعزز الحيوي قد تكون مفيدة كعلاج مساعد للقاحات بقدر ما تعزز الاستجابات المناعية المكتسبة الموروثة، في حين أن الجرعات العالية قد تكون مفيدة في الوقاية من العدوى، إذ إنها تعمل على الاستجابات الخلوية الفورية وغير المحددة. توافقت الدراسة الحالية مع ماوجده [37] اللذين أكدوا بأن المعززات الحيوية من بكتريا حامض اللاكتيك قادرة على تنشيط الاستجابة في الجهاز المناعي في الإنسان والحيوان، وأن اختلاف نوع الاستجابة المتولدة يعتمد على العديد من العوامل، منها الإجهاد وكمية الجرعة من المعزز الحيوي ومدة المعالجة.

التأثير في الكلوبولينات المناعية

أظهر الجدول (6) تأثير الإعطاء الفموي من بكتريا المعزز الحيوي على تركيز الكلوبولينات المناعية في مصل دم الأرانب المصابة بأنواع البكتريا *E. coli* ، *Staph. aureus* ، *B. cereus*. بينت نتائج التحليل الإحصائي عند ($P < 0.05$) حصول ارتفاع معنوي في تركيز الكلوبولينات نوع IgA بعد إصابة الحيوانات بأنواع البكتريا المسببة للتسمم الغذائي *E. coli* ، *Staph. aureus* ، *B. cereus* الذي كان تركيزه 0.56 و 0.53 و 0.50 (mg/dl) على التوالي، أما بعد المعالجة ببكتريا المعزز الحيوي فقد أستمّر الارتفاع المعنوي بالتركيز وأصبح 0.69 و 0.60 و 0.54 (mg/dl) على التوالي مقارنة مع تركيزه في دم حيوانات السيطرة. أما النوع IgM فقد حصل كذلك ارتفاع معنوي بتركيزه بعد الإصابة بالبكتريا المسببة للتسمم الغذائي وأستمرّ الارتفاع المعنوي بالتركيز بعد المعالجة بالمعزز الحيوي مقارنة مع تركيزه في مجاميع حيوانات السيطرة. أما بالنسبة

جدول 6. تأثير بكتريا المعزز الحيوي في تركيز الكلوبولينات المناعية في دم الأرانب المصابة بأنواع البكتريا المسببة للتسمم الغذائي.

تركيز أنواع الكلوبولينات في الدم			المعاملات	البكتريا المسببة للتسمم الغذائي
IgE mg/dl	IgM mg/dl	IgA mg/dl		
0.29 b ± 1.13	0.20 b ± 1.22	0.45 c ± 2.31	السيطرة	<i>E. coli</i>
0.37 a ± 2.56	0.25 a ± 1.39	0.56 b ± 1.38	بعد الإصابة	
0.41 a ± 0.71	0.28 a ± 0.13	0.69 a	بعد المعالجة	
0.29 b ± 1.41	0.20 b ± 0.88	0.45 c ± 2.01	السيطرة	<i>Staph. aureus</i>
0.33 b ± 1.98	0.28 a ± 2.03	0.53 b ± 1.20	بعد الإصابة	
0.45 a ± 0.50	0.30 a ± 0.68	0.60 a ± 0.99	بعد المعالجة	
0.29 a ± 2.27	0.20 ab ± 1.54	0.45 b ± 1.94	السيطرة	<i>B. cereus</i>
0.31 a ± 1.59	0.22 a ± 1.63	0.50 a ± 1.76	بعد الإصابة	
0.32 a ± 1.91	0.25 a ± 2.06	0.54 a ± 0.89	بعد المعالجة	

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

✓ المعدلات محسوبة لثلاثة مكررات من الحيوانات. ± تشير الى الخطأ القياسي.

✓ c_a :الاحرف المختلفة في العمود الواحد تشير الى الاختلافات المعنوية بين المعدلات عند مستوى احتمالية 0.05
✓ المعدلات محسوبة لثلاثة مكررات من الحيوانات. ± تشير الى الخطأ القياسي.

اتفقت نتائج هذه الدراسة مع ماجده [29] الذي أشار ان الاعداد الكلية لأنواع البكتيريا المعوية قد انخفضت معنوياً في جميع المجاميع الجرذان المعاملة بالإعطاء الفموي من انواع بكتريا حامض اللاكتيك وازدادت معنوياً مقابلها الاعداد الكلية لا نوع بكتريا حامض اللاكتيك في المجاميع قيد الدراسة، مقارنة مع اعدادها الكلية في حيوانات مجموعة السيطرة التي كانت الاعداد الكلية لانواع البكتيريا المعوية هي السائدة معنوياً.

أكدوا [39] بأن منتجات الايض من بكتريا *L. rhamnosus* LS-8 قد حطمت الأنواع البكتيرية المرضية من *Staph. aureus* و *E. coli* من خلال انتاجها مادة 4,6-dimethyl-1,2,5- triazepane-3,7-dione ($C_6H_{11}N_3O_2$) التي تمتلك تأثير مضاد لكل من السلالات المرضية السالبة لصبغة كرام، إضافة الى ما أشاروا اليه بأن هذه هي المرة الأولى لتتقوية مجموعة جديدة من المواد المضادة للميكروبات من بكتيريا حامض اللاكتيك التي يمكنها تثبيط كل من الميكروبات الموجبة والسالبة لصبغة كرام بما في ذلك بعض مسببات الأمراض المقاومة للأدوية، ربما يمكن لهذه البكتيريا الدور في تقليل استخدام المضادات الحيوية من خلال تغيير ميكروبات الأمعاء.

تأثير الإعطاء الفموي بالمعزز الحيوي في مستوى توازن الأنواع البكتيرية في أمعاء الأرانب

يبين الجدول (7) تأثير الإعطاء الفموي من بكتريا المعزز الحيوي في مستوى توازن الأنواع البكتيرية في مجاميع الأرانب المصابة بالأنواع البكتيرية *Bacillus cereus*، *Staph. aureus*، *Escherichia coli*. بينت نتائج التحليل الإحصائي عند ($P < 0.05$) حصول انخفاض معنوي في أعداد البكتيريا المعوية في مجاميع الحيوانات المصابة بالأنواع البكتيرية المشار إليها وكانت أعدادها 6.81 و 5.87 و 5.69 (لو و ت م/ مل) على التوالي مقارنة مع اعدادها في أمعاء مجموعة السيطرة التي كانت 7.89 (لو و ت م/ مل). وقد حصل مقابل ذلك إرتفاع معنوي في أعداد بكتريا المعزز الحيوي في أمعاء نفس المجاميع المعطاة من المعزز الحيوي حيث كانت أعدادها 7.66 و 6.93 و 7.12 (لو و ت م/ مل) على التوالي مقارنة مع اعدادها في مجموعة السيطرة التي كانت 6.59 (لو و ت م/ مل).

تنتج بكتيريا حامض اللاكتيك مختلف المركبات المضادة للميكروبات ومنها البكتريوسينات، حامض اللاكتيك، بيروكسيد الهيدروجين، حامض البنزويك، الأحماض الدهنية، ثنائي الأسيتيل، وغيرها من المركبات ذات الأوزان الجزيئية الواطئة [38].

جدول 7. تأثير بكتريا المعزز الحيوي في مستوى توازن الأنواع البكتيرية في أمعاء الأرانب المصابة بأنواع البكتيريا المسببة للتسمم الغذائي.

النوع البكتيري (لو و ت م/ غم)	المجموعات	
	البكتريا المعوية	بكتريا المعزز الحيوي
	7.89 a 0.28±	6.59 b 0.47±
السيطرة		
	6.81 b 0.21±	7.66 a 0.11±
<i>E.coli</i>		
	5.87 c 0.23±	6.93 b 0.29±
<i>Staph. aureus</i>		
	5.69 c 0.50±	7.12 a 1.04±
<i>B. cereus</i>		

المصادر

- 1- Maxton,A.; Benjamin,J.C.; Ram,G.D.; Bailey,S.B. and Ramteke,P.W.:(2013). Antibacterial activity of isolated human intestinal microbiota *Lactobacillus* strains against methicillin resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* Vol. 7(18), pp. 1802-1808, 30 DOI: 10.5897/AJMR12.1517 ISSN 1996-0808 ©2013 Academic Journals.
- 2- Hibberd, P. L., Kleimola, L., Fiorino, A. M., Botelho, C., Haverkamp, M., Andreyeva, I., ... & Snyderman, D. R. (2014). No evidence of harms of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 in healthy elderly—a phase I open label study to assess safety, tolerability and cytokine responses. *PloS one*, 9(12), e113456.

- 3 - بوهان، أزهار جبار، جاسم، أمّنة نصيف، حبيب، خالد عبد الرزاق.(2011). دور المعزز الحيوي *Lactobacillus gasseri* في التأثير على بعض الإستجابات المناعية في الفئران المصابة ببكتريا *Escherichia coli*. مجلة بغداد للعلوم. المجلد (8) العدد 1: 373-380.

- 4- Thongaram, T. (2016). *In vitro* evaluation of selected probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from the traditional fermented vegetable. Conference Proceedings . Paper presented at International Scientific Conference on Probiotics and Prebiotics , Budapest . In Kysucke Nove Mesto, ISBN - 978-80-89589-14-2.

- 5- Da Silva, N.; Taniwaki, M. H.; Junqueira, V. C.; Silveira, N.; Do Nascimento, M. D. S. and Gomes, R. A. R. (2013). Microbiological Examination Methods of Food and Water: A Laboratory Manual. CRC Press.
- 6- Davidson, P.M.; Roth, L.A. and Gambrel-Lenarz, S.A. (2004). Coliform and other indicator bacteria. In: Standard Methods for the Examination of Dairy Products. Wehr, H.M. and Frank, J.F (Ed). 17th edition. Washington, American Public Health Association. (Chapter 8). pp. 187-226.
- 7- Sandle, T. (2014). BIOCHEMICAL AND MODERN IDENTIFICATION TECHNIQUES-Enterobacteriaceae, Coliforms, and Escherichia Coli. In: Encyclopedia of Food Microbiology. Batt, C. A. and Tortorello, M. L. (Ed). Second Edition. Vol (1). Academic Press – Elsevier. pp 232-237.
- 8- Buck L. M. and Gilliland S. E. (1994). Comparisons of freshly isolated strains of *Lactobacillus acidophilus* of human intestinal origin for ability to assimilate cholesterol during growth J. Dairy Sci. 77: 2925-2933.
- 9- Baron, E.J.; Peterson. L.R. and Finegold, S.M. (1994). Baily and Scoffs Diagnostic Microbiology. 9th ed. Mosby. Co. U.S.A., P. 753 – 759.
- 10- 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.
- 11- Gilliland, S.E; Nilson, C.R. and Maxwell, C (1984). Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. Appl. Environ. Microbiol. 49: 37-381.
- 12- Holt, J.C.; Krieg, N.R.; Stanley, J.T. and Williams, S.T. (1994). Bergy's Manual of Determinative Bacteriology, 9th Ed. William and Wilkins. Baltimore Maryland, USA.
- 13- Tietz, Y., (2005), Clinical Biochemistry, 6th ed., McGraw –Hill, New York. 825.
- 14- Harrigan, W.F. and McCance, M.F. (1979). Laporatory Methods in Food and Dairy Microbiology. Academic Press, London.
- 15- SAS. (2012). Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.
- 16-Benson, H.J. (2002). "Microbiological Application Labratory Manual in General Microbiology". 8th Ed. McGraw-Hill Companies – Pasadena.
- 17- Baron, E.J. and Fingold, S.E. (1994). Diagnostic Microbiology.9th. Ed. the C.V. Mosby Company. Baltimore.
- 18- Teuber, M. (1995). The Genus *Lactobacillus*. In: The Genera of Lactic acid Bacteria Edited by (Wood, B.J.B. and Holzapfoll-, W.H.Blackie, A).
- 19- Koneman, E. W.; Allen, S. D.; Janda, W. M.; Schreckenberger, P. C.; and Winn, W. C. (1997). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott Raven Publishers. Philadephia., PP. 577 – 620.
- 20- Leboffe, M. J. and Pierce, B. E. (2011). A photographic Atlas for the Microbiology Laboratory. Morton Publishing Company.
- 21- Jaber, N. N. (2011). Isolation and biotyping of *Staphylococcus aureus* from white cheese in basrah local markets. Basrah Journal of Veterinary Research, 10(2): 55-66.
- 22- Gillaspy, A. F. and Iandolo, J. J. (2014). *Staphylococcus*- Introduction. In: Encyclopedia of Food Microbiology. Batt, C. A. and Tortorello, M. L. (Ed). Second Edition. Vol (3). Academic Press – Elsevier. pp 482-486.
- 23- Macfaddin, J.F. (2000). Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria, "3rd ed" William and Wilkins. Company, Baltimore, USA.
- 24- Beecher, D. J., and Macmillan, J. D. (1991). Characterization of the components of hemolysin BL from *Bacillus cereus*. Infection and immunity, 59(5), 1778-1784.
- 25- Duguid, J. P. (1996). Genus *Bacillus*. In: "Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmion, B.P. and Simmons, A. (14thed.)", Practical Medical Microbiology, Vol. 1. Mackie and McCartney. 131–149.
- 26- Logan, N. A. and De Vos, P. (2009). Genus *Bacillus*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition, Vol.3, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, pp:21-128.
- 27- Bello, F. D.; Walter, J.; Hammes, W. P. and Hertel, C. (2003). Increased complexity of the species composition of lactic acid bacteria in human feces revealed by alternative incubation condition. Microbiology and Ecology , 45(63):p.455-463 .
- 28- Alrabadi, N. I.; Al-Jubury, E. M.; Thalij, K. M., and Hajeej, J. M. (2018). *Lactobacillus rhamnosus* Ability of Aflatoxin Detoxification.
- 29- الدوري, فلاح سالم داود احمد . (2015). تقدير فعالية بعض انواع المعززات الحيوية وتأثيرها في بعض المعايير الفسلجية والسمنة لأنثاء الجرذان. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة تكريت.
- 30- سلمان, جيهان عبد الستار؛ مير, دجلة عبد الله علي. (2013). التأثير التثبيطي لراشح بكتريا *Lactobacillus rhamnosus* في نمو بكتريا *Staphylococcus aureus* وتكوينها الغشاء الحيوي. مجلة علوم المستنصرية. المجلد (24) العدد: 6: 17-24.
- 31- Ali, A. A. (2011). Isolation and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional drinking yoghurt in Khartoum state, Sudan. Current Res Bacteriol., 4(1):16-22.
- 32- Boke, H.; Aslim, B. and Gulcin, A. (2010). "The role of resistance to bile salts and acid tolerance of exopolysaccharides produced by yogurt starter bacteria" Journal of Biological Science, Belgrade, 62(2):323-328
- 33- Yunus, A. A. (2017). Effect of probiotic (RE3) supplement on growth performance, diarrhea incidence and blood parameters of N'dama calves (Doctoral dissertation).

- 34- Abudabos, A. M.; Murshed, M. A.; Qaid, M. M., and Abdelrahman, A. G. (2016). Effect of probiotics on serum biochemical and blood constituents in chicken challenged with *Salmonella enterica Subsp Typhimurium*. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 15(3), 461-467.
- 35- Thongsong, S.K.; Thongsong, B. and Chavananikul, V. (2008). Blood hematological-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.
- 36- Beski, S. S. M., and Al-Sardary, S. Y. T. (2015). Effects of dietary supplementation of probiotic and synbiotic on broiler chickens hematology and intestinal integrity. International Journal of Poultry Science, 14(1), 31.
- 37- Soto, L. P.; Astesana, D. M.; Zbrun, M. V.; Blajman, J. E.; Salvetti, N. R.; Berisvil, A. P., ... and Frizzo, L. S. (2016). Probiotic effect on calves infected with *Salmonella dublin*: haematological parameters and serum biochemical profile. Beneficial Microbes, 7(1), 23-33.
- 38- von Mollendorff, J. W.; Vaz-Velho, M., and Todorov, S. D. (2016). Boza, a traditional cereal-based fermented beverage: a rich source of probiotics and bacteriocin-producing lactic acid bacteria. In Functional Properties of Traditional Foods (pp. 157-188). Springer, Boston, MA.
- 39- Zhang, L.; Wang, L.; Yi, L.; Wang, X.; Zhang, Y.; Liu, J.,... and Lü, X. (2017). A novel antimicrobial substance produced by *Lactobacillus rhamnosus* LS8. Food Control, 73, 754-760.

Determination of the Physiological, Immunological and Biological Parameters of Rabbits Infected with Some Pathogenic Bacteria and Treatment with *Lactobacillus rhamnosus*

Bilal A. Khashan¹, Karkaz M. Thalij²

¹ College of Agriculture, Anbar University, Ramadi, Iraq

² College of Agriculture, University of Tikrit, Tikrit, Iraq

Abstract

In this study, the physiological, immunological and biological parameters of rabbits infected with bacterial species *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* were isolated locally and caused by food poisoning. The oral dose treatment of *Lactobacillus rhamnosus* for all infected animals with toxicity bacteria caused a significant increase at $P < 0.05$ in significant decrease in white blood cell WBC, lymphocyte and neutrophils were compared with control.

In addition, the results of biochemical blood parameters in infected rabbits with Food toxicity species which indicating above oral dose by probiotic bacteria were recorded a significant decrease at same levels of immunological globulin (IgA, IgM, IgE).

The results of oral dose probiotic bacteria showed that a significant account of Enterobacteriaceae in intestines of growing and infected rabbits, on the contrary the significant increase in total accounts of probiotic bacteria compared with a total accounts of it in control.

Keywords: Immunological; Physiological; *Lactobacillus rhamnosus*; toxicity bacteria