تأثير بعض أنواع بكتريا حامض أللبنيك Lactobacillus على بعض المتغيرات الفسلجية والكيموحيوية في دم إناث الجرذان

صلاح صديم صالح الدوري
فرع الاحياء المجهرية/ كليه الطب البيطري /جامعه تكريت.

الخلاصة

تضمن هذا البحث دراسة أمكانيه استخدام نوعين من بكتيريا حامض أللبنيك Lactic acid bacteria (LAB) والتي تعود لجنس Lactobacillus وتم عزلها وتشخيصها محليا, وبيان تأثير التجريع الفموي لعوالقها فتره سبعه أيام على بعض المتغيرات الفسلجيه والكيموحيويه في دم إناث الجرذان. استعملت 6 عزلات ثلاثة منها *Lactobacillus bulgaricus* وثلاثة أخرى *Lactobacillus delbreakii* , تم الحصول عليها من مختبرات كليه التربية/جامعه تكريت, جرعت فمويا بجرعة واحده مفرده بمعدل 2مل يوميا, بإعداد 1.3×10^8 خليه/مل , ولفترة سبعة أيام .أظهرت النتائج عدم حصول أي تغيير معنوي عند مستوى احتمالية $P\geq0.05$ في متغيرات الدم الفسلجية , لاسيما خضاب الدم Hemoglobin (Hb) , وحجم الخلايا المرصوصة Packed cell volume (PCV) , العدد الكلي لخلايا الدم البيض White blood cells (WBCs), في حين ظهور انخفاض معنوي في متغيرات الدم الكيموحيويه, لاسيما مستوى الكولسترول Cholesterol , والكلوكوز Glucose , وعدم ظهور أي تأثير على فعاليه بعض إنزيمات الكبد, مقارنه مع قيم ونتائج مجموعه حيوانات السيطرة.

The effect of some types of the Lactic acid bacteria on some chemical and physiological changes in female rat's blood

Salah Sadaim Salih AL-Doori
Department of Microbiology- College of Veterinary Medicine, Tikrit University

Summary

The effect of oral dosing of bacterial suspension of two types of lactic acid bacteria belonging to the genus lactobacilli that locally isolate on some biochemical and physiological criteria of female rats blood were studied. Three isolates of L. bulgarious and three isolates of L. delbeakli were obtained from the laboratories at the college of education-Breeding/university of Tikrit. Bacterial suspension given as a single oral dose of 2 ml(13×10^8 cell \ ml) for seven day.

The results showed no significant changes $P\geq0.05$ in at the blood physiological variables, especially hemoglobin (Hb) , packed cell volume (PCV) ,and total number of white blood cells (WBCs) , while there were significant reduction in the blood biochemical variables, particularly the level of cholesterol, and glucose, but there was no significant effect on some liver enzymes, compared with the values and the results of a group of control animals.

ألمقدمة

يعد النبت الطبيعي نظام بيئي ذي تنوع واسع من الاحياء المجهريه والوظائف ويشكل الجزء المعوي منه في الإنسان ألنسبه الأكثر, وان المجاميع السائدة فيه هي من عائله Enterobacteriaaceae, فضلا عن الأجناس المختلفة من جراثيم حامض أللبنيك التي منها Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc و Bifidobacterium و غيرها (2,1).

إن من الأجناس البكتيرية وأنوعها التي تركزت عليها الأنظار هي Bifidobacterium و Lactobacillus, كونها من أكثر الأنواع السائدة في النبت المعوي بمنطقتي الأمعاء ألدقيقه والغليظة لجسم الإنسان السليم لمختلف الفئات العمرية ولها دور في المحافظة على التوازن بين الإحياء ألمجهريه النافعة والممرضة فيه, وتنشيط وظيفة الأمعاء لدورها النافع في تحسين عمليه الهضم والامتصاص وامكانيه استخدامها كعلاج للأشخاص الذين يعانون من تحسس لسكر اللاكتوز, وكذلك نجاح استخدامها في معالجه حالات الإسهال المختلفة, ومساهمتها في التقليل من نسبه الاصابه بالسرطان(4,3).

وقد أشارت العديد من الدراسات إلى إن هذه الأنواع من الجراثيم تسهم في تقليل مستوى الكولسترول والكلوكوز والمجموع الكلي لبروتينات الدم, فضلا عن إن استخدامها كبدائل للمضادات الحيوية في العديد من الإمراض, لاسيما إمراض الجهاز الهضمي (6,5) .

المواد وطرائق العمل

أمكن الحصول على 6 عزلات من جراثيم حامض أللبنيك تعود لجنس Lactobacillus, من مختبرات كليه التربية-جامعه تكريت, أجريت عليها الفحوصات التشخيصية التاكيديه لغرض التأكد من تشخيصها (7-8 -9).

حضرت العوالق الجرثومية بتركيز 1.3×10^8 خليه/مل من خلال استعمال أنابيب ماكفرلاند Macfar land tubes للعد الجرثومي (10). استعملت في هذه الدراسة 18 من إناث الجرذان البيض ألمختبريه البالغة بعمر 2-3 شهر وبمعدل وزن 200غم , تم الحصول عليها من مختبرات كليه الطب-جامعه الموصل, قسمت عشوائيا إلى 3 مجاميع, 6 حيوانات لكل مجموعه, تركت المجموعة الأولى دون معامله واعتبرت مجموعه السيطرة , بينما جرعت المجموعة الثانية بأحد الأنواع الجرثومية, والمجموعة الثالثة بالنوع الأخر. حللت النتائج إحصائيا باستعمال طريقه النموذج الخطي العام General liner model, ضمن برنامج (ASA 2001) الجاهز, واجري عليها اختبار دنكن (11) لتحديد معنوية الفروق عند مستوى احتمالية ($P\geq0.05$) .

النتائج

يبين الجدول (1) النتائج التاكيدية للفحوصات الأختبارية لنوعي جرثومة حامض أللبنيك التي تعود لجنس Lactobacillus ، إذ أمكن الحصول على 3عزلات *Lb.bulgaricus* و 3 اخرى *Lb.delbreakii*.

جدول (1): يبين نتائج الاختبارات التشخيصية التاكيديه لعزلات جرثومة حامض أللبنيك، حسب النوع

الاختبارات / نوع البكتريا	ملون كرام	تكوين الابواغ	الاوكسيديز	الكاتليز	Lactose	Frectose	Mannose	Xyloses	Sucrose	Galactose
Lb . bulgaricus	+	–	–	–	+	+	+	–	+	–
Lb. delbreakii	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–

اظهرت النتائج في الجدول رقم (2) تأثير تجريع العوالق الجرثومية للنوعين على التوالي تجاه المجموعتين الثانية والثالثة ،عدم حصول تغير معنوي في مستوى كل من،(Hemoglobin(Hb،إذ سجلت القيم 12.3و12.4غم/ديسلتر على التوالي ،مقارنه مع مستواه في مجموعة السيطرة ، إذ كانت 12.4غم/ديسلتر.

والحال نفسه مع العدد الكلي لكريات الدم الحمر(Red blood cell(RBC ، إذ لم يحصل فيها تغيير معنوي إذ كانت إعدادها 4.4×10^6 و4.5×10^6 خليه/مل^{3}على التوالي بالمقارنة مع إعدادها في دم مجموعة السيطرة التي كانت 4.5×10^6 خليه/مل^3.

ولم يظهر تغيير معنوي في ألنسبه المؤيه لحجم الخلايا المرصوصة packed cell volume(PCV) للنوعين الجرثوميين ،إذ كانت 39.1٪ و39.0٪ على التوالي مقارنة مع نسبتها في مجموعة السيطرة التي كانت 39.0٪ .

كذلك العدد الكلي لخلايا الدم البيض White blood cell(WBC) فلم يحصل معها أي فرق معنوي ،إلا خلايا الدم البيض العدلات Neutrophils فقد حصل فيها انخفاض معنوي،إذ كانت للمجموعتين الثانية والثالثة على التوالي30.8٪ مقارنه مع قيمها في مجموعة السيطرة التي كانت 34.6٪، كذلك الحال مع الخلايا وحيدة النواة Monocytes والخلايا البيض الحمضية Eosinophils فقد حصل فيهما انخفاض معنوي، مقارنة مع مجموعة السيطرة.

في حين حصل ارتفاعا معنويا في إعداد الخلايا اللمفيه Lymphocytes ، إذ كانت نسبها 62.9٪ و63.0٪ على التوالي للمجموعتين الثانية والثالثة ، مقارنة مع نسبها في مجموعة السيطره التي كانت 57.0٪ .

إما في حالة متغيرات الدم الكيموحيويه ، لاسيما تقدير مستوى الكولسترول Cholesterol وسكر الكلوكوزGlucose (الجدول 3) ، فقد أظهرت النتائج انخفاضا معنويا عند مستوى احتماليه $P\geq0.05$ ، إذ ظهرت قيمة دهون الكولسترول 90.0 و92.5 ملغم/ ديسلتر،على التوالي لمجموعتي ألمعامله ، مقارنه مع قيمته في حيوانات مجموعة السيطرة التي كانت 96.0 ملغم/ ديسلتر.

كذلك الحال مع تقدير مستوى الكلوكوز إذ كانت قيمته في المجموعتين 82.5 و83.2 غم/ ديسلترمقارنة مع قيمته في مجموعة السيطرة التي كانت 86.6 غم/ ديسلتر ، ولم يظهر أي تأثير على فعالية بعض إنزيمات الكبد في مجموعتي ألمعامله ، مقارنه مع مجموعة السيطرة كما هو موضح في جدول رقم (3).

جدول (2): يبين نتائج تأثير التجريع الفموي من أنواع جرثومة حامض أللبنيك على المتغيرات الفسلجي في صفات الدم لإناث الجرذان.

B.	E.	M.	L.	N.	W.B. C×10^6 /mm^3	% p.c.v	R.B.C× 10^6/mm^3	***Hb gm/dl	أعداد خليه/مل	المعايير ألمقاسه نوع البكتريا	
٪											
1.2 a	1.8 a	5.4 b	57.0 a	34.6 a	6.7 a	39.0 a	4.5 a	* 12.4 ** a	دون معامله	**مجموعة السيطرة**	1
1.2 a	1.4 a	3.7 b	62.0 a	30.8 b	6.5 a	39.1 a	4.4 a	12.3 a	10^8×1.3 خليه/مل	***Lb. bulgaricus***	2
1.3 a	1.3 b	3.8 b	63.0 a	30.8 b	6.6 a	39.0 a	4.5 a	12.4 a	10^8×1.3 خليه/مل	***Lb. delbreakii***	3

*** تمثل ألنتائج معدل ستة مكررات.**

**** ألحروف ألمختلفة في ألعمود ألواحد تعني وجود اختلافات معنوية عند احتماليه P≥0.05**

***** Hb: Hemoglobin, RBC: Red blood cell, PCV: Packed cell volum, WBC: White bloodcell, N: Neutrophils, L: Lymphocytes, M: Monocytes, E: Eosinophils B: Basophils**

جدول (3): يبين نتائج تأثير التجريع الفموي من أنواع جرثومة حامض أللبنيك على المتغيرات ألكيموحيويه وفعالية بعض أنزيمات ألكبد في إناث ألجرذان .

بعض أنزيمات ألكبد			ألكلوكوز Glucose mg/dl	ألكوليسترول Cholesterol mg/dl	أعداد خليه/مل	المعايير ألمقاسه نوع البكتريا	
Aspartate Amino Transferoase U/L AST	Alanine Transferoase U/LALT	Alkaline Phosphotase IU/L ALP					
38.1 a	**37.5 a**	**18.6 b**	**88.6 a**	***96.0 * *a**	**دون معامله**	**مجموعة السيطرة**	**1**
37.8 a	**36.7 a**	**18.5 b**	**82.5 b**	**90.0 b**	**108×1.3 خليه/مل**	**Lb. bulgaricus**	**2**
38.0 a	**37.4 a**	**18.9 ab**	**83.2 b**	**92.5 b**	**108×1.3 خليه/مل**	**Lb. delbreakii**	**3**

*** تمثل ألنتائج معدل ست مكررات.**

**** ألحروف ألمختلفة في ألعمود ألواحد تعني وجود اختلافات معنوية عند مستوى احتماليه P≥0.05.**

المناقشة

أن عدم حصول تغير معنوي في خضاب ألدم وعدد كريات ألدم ألحمر وحجم ألكريات قد يكون ألسبب ناتجا من ألفعل ألتضادي للنواتج ألأيضية لجراثيم حامض أللبنيك ضد أي من ألأنواع ألجرثوميه ألمتواجدة بصوره دائمة في أمعاء ألحيوانات , ويمكن أن يعود ألسبب ألي عدم وجود أنتاج لخلايا ألدم ألحمر في نخاع ألعظم , وقد اتفقت هذه ألنتائج مع دراسة (12,13).

كما لوحظ ارتفاع أعداد ألخلايا أللمفية , قد يكون سببه عائدا لعمل جراثيم حامض أللبنيك على تحفيز T&B lymphocyte من خلال زيادة أنتاج ألأنترولوكسين (14), كذلك فأن هذه ألجراثيم ألعامله كمعززات حيوية فأنها تسهم في رفع ألمناعة , ربما يعود ألى سببين,ألأول هو قابلية جراثيم ألمعزز ألحيوي على أطالة ألفترة ألتي ترتفع فيها مستويات ألأجسام ألمضادة في ألجسم ,والسبب ألثاني هو تعزيز ألأستجابه ألمناعية ألجهازيه لأنتجينات الخاصة (15) .

بينما انعكست ألحاله بالنسبة للخلايا ألعدلات وألحمضيه , بانخفاض معنوي قد يعود ألسبب ألي زيادة ألأجسام ألمضادة ألذي قابله انخفاض في ألخلايا ألعدلات وألحمضيه وكذلك فأن استخدام جراثيم حامض أللبنيك تعمل كناقل مناعي ذو تأثير مشترك لعملية ألبلعمه بواسطة Neutrophils وألاجسام ألمضادة Antibodies (16).

أما ألانخفاض في مستوى كولسترول ألدم ,ربما يكون نتيجته حصول آليات متعددة تتخذها جراثيم حامض أللبنيك في خفض مستويات ألكولسترول منها ,أن نواتج ألتخمر لهذه ألجراثيم تعمل على تثبيط أنزيمات بناء ألكولسترول مسببه بذلك خفض أنتاجه ,أو من خلال ارتباط هذه ألجراثيم مع ألكولسترول , مسببه تثبيط أعادة امتصاصه ألي داخل ألجسم (17).

كما وقد يكون انخفاض مستوى كلوكوز ألدم عائد ألي تركيز سكر ألكلوكان Glucan في عوالق جراثيم حامض أللبنيك والذي يعد من ألسكريات ألمتعددة ألتي تنتجها هذه ألجراثيم كناتج أيضي يعمل على ألارتباط بجزيئات الكلوكوز مسببا قلة امتصاصه من قبل ألأمعاء مما يؤدي ألي زيادة في طرحه مع ألفضلات(18),وقد يكون احتواء عليقه ألحيوانات

على نسبه من ألبروتين قد تصل ألي 20٪ وبوجود هذه ألنسبه يمكن أن تؤدي ألي زيادة نسبة ألبروتينات ألسكرية ألتي تسهم وتأثر في خفض ألسكر(19).

كذلك لم يحصل تغير معنوي في فعالية بعض أنزيمات ألكبد مثل AST, ALP وALT , ربما يعود السبب ألي عدم وجود تأثيرات سمية على وظيفة ألكبد من جراء استخدام جراثيم حامض أللبنيك في غذاء ألجرذان , والتي أعدته بعض ألدراسات كونها معززات حيوية آمنه (20,21) .

المصـــــــــــــادر

1- McFarland, L. (2000).Normal flora: diversity and functions. Ecol. Dis., 193-207

2- Moore, WE. (1974). Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese Hawaiians. Apple Microbial., 27:961-979.

3- Tador, K. (2008). On line textbook of bacteriology. The normal bacterial flora of human. 4,304:p.1421.

4- Sangeetha, N.; Felix, AJ. and Nalini, N.(2009) . Silibinin modulates biotrasforming microbial enzymes and prevents 1; 2-dimethylhydrazine induced preneoplastic changes in experimental colon cancer .European J. of cancer prevention, 18(5):385394.

5- Conte, MP.; Schippa, S.; Zamboni, I.; Penta, M.; Chiarini, F.; Seganti, L.; Osborn, J.and Falconieri, P. (2006). Gut-associated bacterial microbiota in pediatric patient with inflammatory Bowel Disease .BMJ. J., 55(12):1760-7.

6- Habeeb, ZS.; AL-Shawi, AM. And Fathi, MM. (2004). Diagnostic study of Salmonella typhimurium in patients and cattle. Iraqi J.Vet.Med. 28(1):4-14.

7- Atlas, M.; Parks, C. and Brown, AE . (1995).Laboratory manual of experimental microbiology. 1st ed.Mosby-Year Book .Inc.USA.

8- Harrelt, JP. and Prescott, LM. (1996). Laboratory Excurses Microbiology. 3th ed. McGrow- Hill Boston ,p:484.

9- Holt, JG.; Krig, NR.; Sneath, PH.; Staely, JT. and Williams, S. (2005). Berge's Manual of Systematic Bacteriology. 9th ed. USA.

10- Baron, EJ. Peterson,LR. and Fingold, S. (1994). MBaily and Scott´s Diagnostic microbiology. 9th ed. Mosby St. Louis.

11- Duncun, DB . (1955). Multiple range ndF. teat. Biometric., 11:42.

12- Thongsong, SK.; Thongsong, B. and Chavananikul, V. (2008). Blood haenatological-cholestrol 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.

13- Dekkers, PE.; Hove, P.; Velde, AA.; Daventer, SJ. and Poll, T. (2000). Up reguiation of moncyte urokinase plasminogen activator receptor during human endotoxemia Infection and Immunity. 68(4):2156-2160.

14- Muhsen, RK. (2007). " The use of Lactobacillus acidophilus as a probiotic in the prevention And treatment of Salmonella typhimurium infection in puppies. PhD Thesis. College of Veterinary Medicine. University of Baghdad.

15- Haghighi, HR.; Gong, J.; Gyles, CL.;Hayes, MA.; Sanei, B.; Parvizi, P.; Gisavi, H.; Chambers, JR. and Sharif, S. (2005). Modulation of antibody-mediated immune response by Probiotics In chickens. Clin. Diagn. Lab. Immunol., 12:1387-1392.

16- Ferencik, M.; Mikes, Z.; Ebringer, L.; Jahnova, E. and Ciznar, I. (2000), Immunostimulatory and Other beneficial. Health effects of lactic acid bacteria. Bratisl-leklisty., 01(1): 3-51.(Abstr.).

17- Lee, DK.; JangSeeak, EH.; Kim, MJ.; Lee, KS. (2009). Lactic acid bacteria affect Serum cholesterol levels, harmful fecal enzymes activity, and fecal water content Lipids in health and disease. (8):p.477-491.

18-Tietz, N. (2005). Fundamentals of clinical chemistry. W.B. Saunders, Philadelphia, pp: 723-750.

19- Badole, SL. and Bodhankar, SL. (2007)."Intraction of aqueous extract of Pleu pulmonary's (Fr.)Quel-Champ with Acarbose in alloxan induced diabetic mice. J. Appl., 5:157-166.

20- Anderson, AD.; Mcnaught, CE.; Jain, PK. and Macfie,J. (2004). Randomised trial of symbiotic therapy in elective surgical patients. Gut., 53,241-245.

21- Delaney, C.; Frazer, S.; Zheng, T.; Hess, R.; Ostergren, K. and Kierzek, K. (2003). Evaluation of the toxicity of concentrated barley β-glucan in a 28-day feeding Study in Westar rats. Food Chem. Toxic, 41:477-487.