

الفعالية التثبيطية للراشح المركز لبكتريا *Lactobacillus casei* داخل الجسم الحي ضد جرثومة
Salmonella typhimurium

حسن علي عبد الرضا

إسراء فاضل حسين*

كلية الطب البيطري - جامعة بغداد - فرع الأحياء المجهرية

كلية الزراعة - جامعة بغداد - قسم الثروة الحيوانية

المستخلص

استهدفت هذه الدراسة معرفة الدور العلاجي للراشح المركز لمترتين لبكتريا *Lactobacillus casei* تجاه جرثومة *Salmonella typhimurium* داخل الجسم الحي ولتحقيق هذا الهدف فقد تضمنت هذه الدراسة محورين هما: المحور الأول: عزل وتشخيص جرثومة *Salmonella typhimurium* من حالات اسهال في العجول، إذ تم لهذا الغرض جمع خمسة عشر عينة براز اسهالي من عجول مصابة بالإسهال من محطة ابقار الفيحاء في الصويرة والحقل الحيواني التابع لكلية الزراعة/جامعة بغداد، إذ زرعت هذه العينات على اوساط انتخابية شملت وسط السالمونيلا-شيكلا الصلب ووسط الزايلوز لايسين ديوكسي كوليت XLD ووسط الماكونكي الصلب ثم حضنت الاطباق على درجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة واعتماداً على الصفات الزرعية والفحوصات المجهرية للخلايا المصبغة بصبغة كرام وبعد اجراء عدد من الفحوصات الكيموحيوية والفحوصات المصلية امكن عزل وتشخيص عذلة واحدة تعود لبكتريا *Salmonella typhimurium* من حالات الاسهال في العجول. المحور الثاني: شمل هذا المحور دراسة الفعالية التثبيطية للراشح المركز لمترتين لبكتريا *Lb. casei* داخل الجسم الحي تجاه جرثومة *Salmonella typhimurium*، تم لهذا الغرض اصابة الحيوانات المختبرية (فئران) بالسالمونيلا وملاحظة التغيرات المرضية والنسجية الحاصلة في الاعضاء الاتية: الامعاء والكبد والطحال، إذ كانت أهم التغيرات المرضية النسجية لتلك الاعضاء هي الاحتقان والنزف مع ارتشاح الخلايا الالتهابية اضافة الى وجود بؤر من النخر التجلطي في الكبد وتشنت اللب الابيض في الطحال. في حين لوحظ تحسن في انسجة تلك الاعضاء للحيوانات المعاملة براشح بكتريا *Lb. casei* المركز لمترتين بعد اصابتها بجرثومة *Salmonella typhimurium*.

Key words: الفعالية التثبيطية، الراشح المركز، *Salmonella typhimurium*.

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences – 45(4)(Special Issue): 384-392, 2014 Hussein & Abdul-Ratha

INHIBITORY EFFECT OF THE DOUBLE CONCENTRATED FILTRATE OF
LBACTOBACILLUS CASEI IN VIVO AGAINST *SALMONELLA TYPHIMURIUM*

E. F. Hussein

H. A. Abdul-Ratha

Coll.of Agric. – Univ. of Baghdad

Coll. of Veterinary Medicine – Branch of Microbiologis

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the therapeutic role of the double concentrated filtrate of *Lb. casei* toward *Salmonella typhimurium* in vivo .To achieve this goal this study included two main aspects as follow: 1. First aspect isolation and identification of *Salmonella typhimurium* from diarrhea infection of calves. For this purpose, 15 samples of faeces from infected calves were collected from Al-Fayhaa cattle station at Sowara and animal field of Agriculture College, University of Baghdad. These faecal samples were inoculated onto selected media including solid salmonella-shigella medium,xylose lysine deoxycholate XLD medium and solid MacConkey medium then incubated at 37°C for 24 hr. According to the growth features and the microscopical examination of gram stained cells, and some biochemical and serological tests, only one isolate of *Salmonella typhimurium* from the diarrhea cases of calves was isolated. 2. The second aspect demonstrate inhibitory effect of the double concentrated filtrate of *Lb. casei* in vivo toward *Salmonella typhimurium*. Mice were infected and the histopathological changes of intestine, liver and spleen were recorded. The most important histopathological changes in these organs were congestion, bleeding and infiltration of inflammatory cells in addition to presence of coagulative necrosis in the liver and depletion of the white pulp in the spleen. Whereas the group of mice treated with double concentrated filtrate of *Lb. casei* after infected with *Salmonella typhimurium* showed improvement in the tissue of intestine, liver and spleen.

Key words: Inhibitory effect, concentrated filtrate, *Salmonella typhimurium*.

*Part of M.Sc. thesis of the first author.

المقدمة

المواد والطرائق

اولاً- تحضير الراشح المركز لمرتين لبكتريا

Lactobacillus casei

تم انتخاب عزلة *Lactobacillus casei* بعد دراسة فعاليتها التثبيطية تجاه جرثومة *Salmonella typhimurium* في الوسط الصلب، إذ حضر الراشح المركز لمرتين لبكتريا *Lactobacillus casei* وذلك بتتمية العزلة في انابيب اختبار حاوية على وسط MRS السائل ذواس هيدروجيني 6 وبنسبة لقاح 2%، إذ حضنت تلك الانابيب بدرجة حرارة 37م° لمدة 24-48 ساعة وتحت ظروف لاهوائية. بعدها عرضت الى الطرد المركزي 6000 دورة/دقيقة ولمدة 10 دقائق للحصول على سائل الخلايا الحرة للمزروع، ثم رشح هذا السائل من خلال مرشحات Millipore بقطر 0.22 مايكروميتر (7، 12)، ثم تم تركيز الرواشح غير المركزة لمرتين في جهاز التجميد -dryer.

ثانياً- عزل وتشخيص بكتريا *Salmonella**typhimurium* من حالات الاسهال في العجول

جمع العينات

تم جمع 15 عينة براز من عجول مصابة بالإسهال من محطة ابقر الفيحاء في الصويرة والحقل الحيواني التابع لكلية الزراعة -جامعة بغداد باستخدام مسحات قطنية معقمة حفظت في صندوق مبرد حتى يتم نقلها إلى المختبر لغرض الزرع والتشخيص.

عزل البكتريا

زرعت العينات مباشرة في وسط مرق السلينايت وحضنت بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة، وبعدها زرع من وسط السلينايت السائل بطريقة التخطيط على وسط السالمونيلا -شكيلا ووسط XLD ووسط الماكونكي وحضنت بالظروف اعلاه (2).

تشخيص بكتريا *Salmonella typhimurium*

1. الفحوصات الزرع والمجهرية

تم تشخيص البكتريا مبدئياً اعتماداً على الصفات المظهرية التي تشمل حجم المستعمرة ولونها، وشكلها على الاوساط الزرع الصلبة وهي وسط السالمونيلا -شكيلا ووسط XLD

المعززات الحيوية Probiotics هي عبارة عن التغذية المباشرة بالأحياء المجهرية الطبيعية المفيدة المنتخبة سواء كانت بكتريا Bacteria او خمائر Yeasts او اعفان Molds والتي يكون لها تأثير فعال ومفيد للكائن المضيف من خلال خلق توازن جرثومي داخل القناة الهضمية (13)، (8). لقد عد الباحثون بكتريا العصيات اللبنية من اهم وافضل مستحضرات المعززات الحيوية وذلك لما تمتلكه من صفات وخواص في اظهار تأثيراتها المفيدة داخل جسم الكائن الحي ومن اهم هذه الخواص انتاجها للإنزيمات المختلفة والمواد المثبطة الفعالة التي تلعب دوراً مهماً في الوقاية والعلاج للعديد من الامراض كالاضطرابات المعوية وسوء هضم اللاكتوز وعلاج حالات الاسهال البكتيري والفايروسية والتهابات المجاري البولية فضلاً عن دورها في تحفيز الاستجابة المناعية وتأثيرها المضاد للأورام وتحطيمها للسموم المفرزة من قبل الجراثيم المرضية (10، 14). كما تلعب مستحضرات المعززات الحيوية دوراً مهماً في علاج الاسهال لدى العجول اذ يعد هذا المرض من الامراض الخطيرة التي تسبب خسائر اقتصادية كبيرة وتعد بكتريا *Salmonella* و *E.coli* في مقدمة مسببات هذا المرض (11، 3). تنتج بكتريا العصيات اللبنية خلال مساراتها الايضية طيفاً واسعاً من النواتج الايضية التي تلعب دوراً مهماً في تثبيط العديد من الاحياء المجهرية المرضية السالبة والموجبة لصبغة غرام (15)، ويعود نجاح استعمال هذه المواد الايضية لامتلاكها المتطلبات الاساسية للقضاء على البكتريا المرضية ومنها الحوامض العضوية المختلفة والتي تعمل على خفض الاس الهيدروجيني اضافة الى بيروكسيد الهيدروجين وثاني اوكسيد الكربون والمضادات الحيوية المختلفة والبكتريوسينات والداي اسيتايل والاستلديهايد (10)، واعتمادا على ما ذكر فقد استهدفت الدراسة عزل وتشخيص جرثومة *Salmonella typhimurium* من حالات الاسهال في العجول، فضلاً عن دراسة الفعالية التثبيطية للراشح المركز لمرتين لبكتريا *Lactobacillus casei* تجاه جرثومة *Salmonella typhimurium* داخل الجسم الحي (الفئران) وملاحظة التغيرات المرضية والنسجية المختلفة.

تغير لون الوسط الى اللون الاصفر وانتشار النمو على جانبي منطقة الطعن نتيجة موجبة للفحص.

الفحوصات المصلية

شخصت بكتريا *Salmonella typhimurium* مصلياً في مختبر الصحة المركزي بطريقة التلازن على الشريحة الزجاجية، اذ وضعت قطرة من المحلول الملحي المعقم وقطرة من كل مصل مضاد من المصول Poly valent. O، Group: A-S *Salmonella* antisera Poly valent، *Salmonella* antisera H (Phase 1 and 2) وكلاً على حدة على الشريحة الزجاجية، يتم نقل بواسطة الناقل جزء من المستعمرات ومزج مع قطرات على الشريحة باستخدام عيدان خشبية معقمة. ثم حركت الشريحة حركة دائرية لمدة دقيقة واحدة ولوحظ التلازن بوضوح في حالة الفحص الموجب.

ثالثاً- اختبار الفعالية التثبيطية لراشح بكتريا *Lb. casei* داخل جسم الفئران

الحيوانات المختبرية المستخدمة

استخدمت فئران بيضاء سويسرية ذكور بعمر 7 اسابيع، تم الحصول عليها من قسم التقانة الاحيائية في كلية العلوم- جامعة النهدين.

إصابة الفئران ومعاملتها

لدراسة التأثير التثبيطي لراشح بكتريا *Lactobacillus casei* المركز لمرتين تجاه بكتريا *S. typhimurium* والمسببة للإسهال داخل جسم الكائن الحي (*In-vivo*) اتبعت طريقة (5) إذ تم استخدام فئران بيضاء والتي قسمت الى 3 مجاميع احتوت كل مجموعة منها على (4) فئران وكالاتي:

المجموعة الاولى (م1): غذيت الحيوانات تغذية اعتيادية مع تجريبها لمدة 7 ايام (0.2) مليلتر من محلول الملح الفسلجي.

المجموعة الثانية (م2): غذيت الحيوانات تغذية اعتيادية مع تجريبها لمدة 7 ايام (0.2) مليلتر من بكتريا *Salmonella typhimurium* كل مليلتر منه (1×10^8 CFU).

المجموعة الثالثة (م3): غذيت الحيوانات تغذية اعتيادية مع تجريبها لمدة 7 ايام بكتريا *Salmonella typhimurium* بحجم اللقاح نفسه اعلاه متبوعة بـ(5) ايام اخرى جرعت خلالها في كل يوم (1) مليلتر من الراشح المركز لبكتريا *Lb. casei* (12)

ووسط الماكونكي. فضلاً عن الفحص المجهرى بعد صبغها بصبغة غرام وفحصها تحت المجهر الضوئي.

2. الفحوصات الكيموحيوية

لغرض تشخيص بكتريا *Salmonella typhimurium* اجريت الفحوصات الكيموحيوية الاتية حسب ما ورد في (2):

a. فحص انتاج انزيم اليوريز **Urease Production Test**

زرع وسط اليوريا الصلب المائل بالمزارع البكتيرية بطريقة الطعن والتخطيط على السطح المائل، وحضن بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة، تغير لون الوسط من الاصفر الى الوردى بعد دليلاً على ايجابية الفحص.

b. فحص استهلاك السترات **Citrate Utilization Test**

زرعت العزلات البكتيرية على وسط سترات سايمون الصلب المائل بطريقة التخطيط. وحضنت بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة عدت النتيجة موجبة بتغير لون الوسط من الاخضر الى الازرق.

c. فحص إنتاج الاندول **Indole Production Test**

لقت انابيب حاوية على وسط ماء البيبتون بالمزارع البكتيرية وحضنت بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة، اضيف بعدها عدة قطرات من كاشف كوفاكس، يعد ظهور حلقة حمراء دليلاً على ايجابية الفحص.

d. فحص الاوكسيديز **Oxidase Test**

بنقل مستعمرة نامية من المزروع البكتيري بواسطة عود خشبي الى ورقة ترشيح مبللة بالكاشف *Tetra meythyl-p-phenylen diamin dihydro chloride*. يدل تغير لون ورقة الترشيح الى البنفسجي خلال 30 ثانية على ايجابية الفحص (4).

e. فحص الكاتليز **Catalase Test**

اتبعت طريقة (1996) Harley and Prescott للتحرري عن وجود انزيم الكاتليز اذ وضعت نقلة واحدة (بالناقل الخشبي) من كل عذلة على شريحة زجاجية نظيفة واضيف لها قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين ذات تركيز 3% وملاحظة تكون الفقاعات من عدمه اذ يدل الاول على ايجابية الفحص.

f. فحص الحركة وتخمر سكر المانيتول **Motility and Mannitol Fermentation Test**

زرعت العزلات البكتيرية على وسط المانيتول شبه الصلب بطريقة الطعن والتخطيط وحضنت بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة، يعد

دراسة التغيرات المرضية والنسجية

أخذت عينات مناسبة بشكل شرائح من الاعضاء والانسجة مباشرة بعد انتهاء مدة تجريع كل مجموعة وهي : الكبد والطحال والامعاء واستعمل محلول الفورمالين المتعادل الدارئ بتركيز 10% لغرض حفظ العينات وتثبيتها، وبعد تثبيت الانسجة في هذا المحلول تم غسلها بالماء الجاري ثم مررت النتائج

اولا- نتائج عزل وتشخيص بكتريا *Sallmonella typhimurium*

تم الحصول على عزلة واحدة تحمل صفات جرثومة *Sallmonella typhimurium* من مجموع 15 عينة من براز عجول مصابة بالإسهال، وقد تم التشخيص اعتماداً على الصفات الزرعية (الاستنباتية) على الاوساط الزرعية الخاصة بها وكذلك على الفحص المجهرى للخلايا البكتيرية، ومن ثم تشخيصها حتى الجنس والنوع باتباع الفحوصات الكيموحيوية والمصلية، وكانت النتائج كما يأتي:

الصفات الزرعية (الاستنباتية)

ظهرت مستعمرات بكتريا *Sallmonella typhimurium* على وسط الماكونكي الصلب بشكل مستعمرات دائرية كبيرة الحجم ذات لون اصفر شاحب بسبب عدم قدرتها على تخمير سكر اللاكتوز في حين كانت مستعمراتها على وسط XLD كبيرة الحجم حمراء اللون ذات مراكز سوداء. اما على وسط السامونيلا-شيكلا فقد كانت مستعمراتها كبيرة الحجم دائرية شفافة اللون مع تكون اسوداد في مركزها وذلك بسبب قدرتها على إنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين H_2S .

الصفات المجهرية

اظهر الفحص المجهرى لخلايا البكتريا المعزولة بانها سالبة لصبغة كرام وعصوية قصيرة الشكل.

الفحوصات الكيموحيوية

يبين الجدول 1 نتائج الفحوصات الكيموحيوية إذ اظهرت هذه العزلة البكتيرية عند زراعتها على وسط سايمون سترات قدرتها على استهلاك السترات كما اعطت نتيجة موجبة لاختبارات الاندول والكاتليز والحركة فضلاً عن قدرتها على تخمير سكر المانيتول في حين اعطت نتيجة سالبة لانتاج انزيم اليوريز وفحص الاوكسديز.

في جهاز التحرير النسيجي Histokinate، ثم صب عليها شمع البارافين، لتصبح بعد ذلك على هيئة قوالب شمعية، وباستعمال المشرح microtome قطعت النماذج بسمك 4-6 مايكروميتر بعدها صبغت بالهيموتوكسلاين والايوسين Hematoxylin and Eosine (6) وتم فحصها مجهرياً لملاحظة التغيرات النسيجية الحاصلة فيها.

جدول 1. يوضح نتائج بعض الفحوصات الكيموحيوية

لبكتريا *Sallmonella typhimurium*

نوع العزلة	<i>Sallmonella typhimurium</i>
استهلاك السترات	+
انزيم اليوريز	-
فحص الاندول	+
الكاتليز	+
الاوكسديز	-
فحص الحركة وتخمر سكر المانيتول	+

+ نتيجة موجبة، - نتيجة سالبة

ثانيا- نتائج اختبار الفعالية التثبيطية للراشح المركز لمرتين

لبكتريا *Lb.casei* داخل جسم الفئران

المجموعة الاولى (السيطرة): إذ لم تظهر هذه المجموعة أي تغيرات مرضية نسيجية في الاعضاء (الكبد-الطحال-الامعاء).

المجموعة الثانية:

الكبد: يبين الفحص المجهرى وجود تغيرات تنكسية خلوية حادة في الخلايا الكبدية، كذلك لوحظ احتقان الأوردة المركزية مع تجمعات من الخلايا الالتهابية وخاصة البلاعم الكبيرة والخلايا اللمفية حول الأوعية الدموية (شكل 1)، وكذلك لوحظ نزف في متن الكبد واحتقان الجيبانيات مع وجود بؤر من النخر التجلطي للخلايا الكبدية تميز بتغلظ وتشتت واختفاء كروما تين الخلايا الكبدية (شكل 2).

الطحال: يبين الفحص النسيجي تشتت اللب الأبيض للطحال، واحتقان الأوعية الدموية واحتوائها على خلايا التهابية (شكل 3).

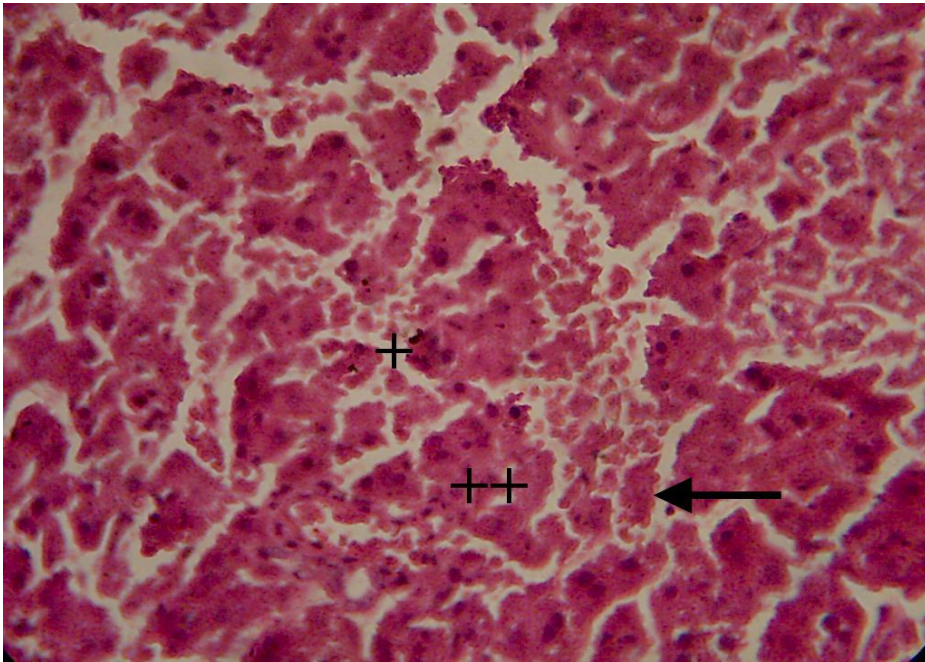
الأمعاء: لوحظ احتقان الأوعية الدموية وارتشاح الخلايا الالتهابية، ولاسيما الخلايا البلعمية واللمفية في الصفيحة الأساسية للأمعاء والمنطقة تحت الظهارية (شكل 4).

الأوردة المركزية للكبد (شكل 7) وكذلك لوحظ فرط تنسج اللب الأبيض للطحال، وتكاثر الخلايا وحيدة النواة حول الجيبانيات.

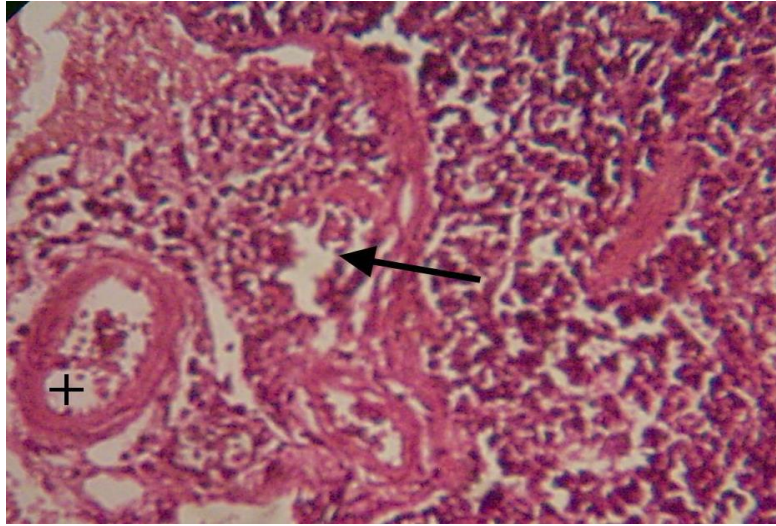
المجموعة الثالثة: يبين الفحص المجهرى عدم وجود تغيرات مرضية مهمة في الأمعاء باستثناء فرط تنسج الخلايا الكاسية (شكل 5 و6) كما لوحظ أيضا تجمع الخلايا اللمفية حول



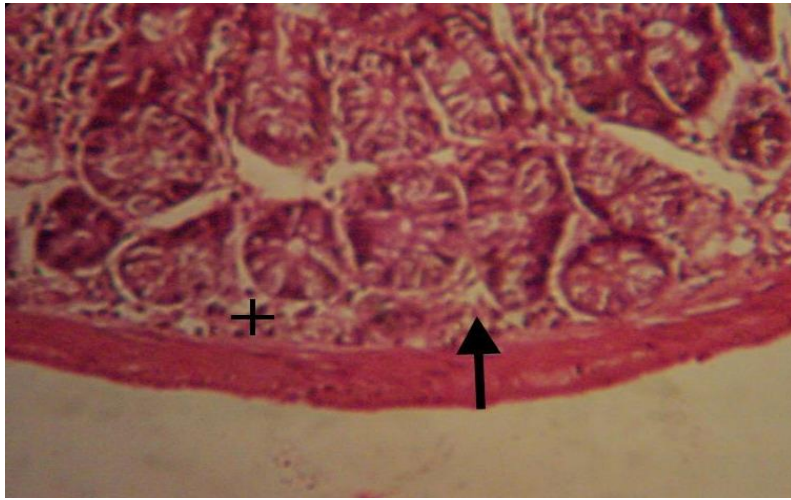
شكل 1. مقطع نسجي في كبد احد الحيوانات بعد 7 ايام من اصابتها بجرثومة *Salmonella typhimurium* لوحظ تجمع الخلايا الالتهابية قرب الوريد المركزي ← مع تغيرات تنكسية في الخلايا الكبدية + (H&E 40X).



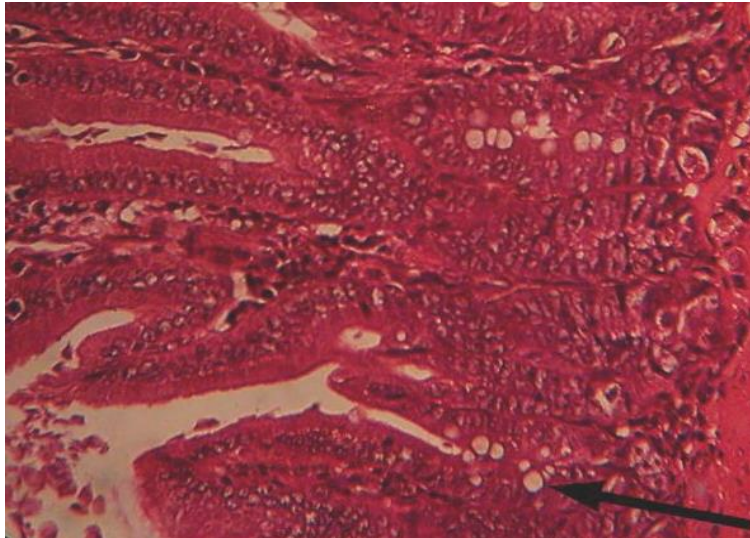
شكل 2. مقطع نسجي في كبد احد الحيوانات بعد 7 ايام من اصابتها بجرثومة *Salmonella typhimurium* يبين النزف واحتقان الجيبانيات + مع تغلض واختفاء انوية بعض الخلايا الكبدية ++ (H&E 40X).



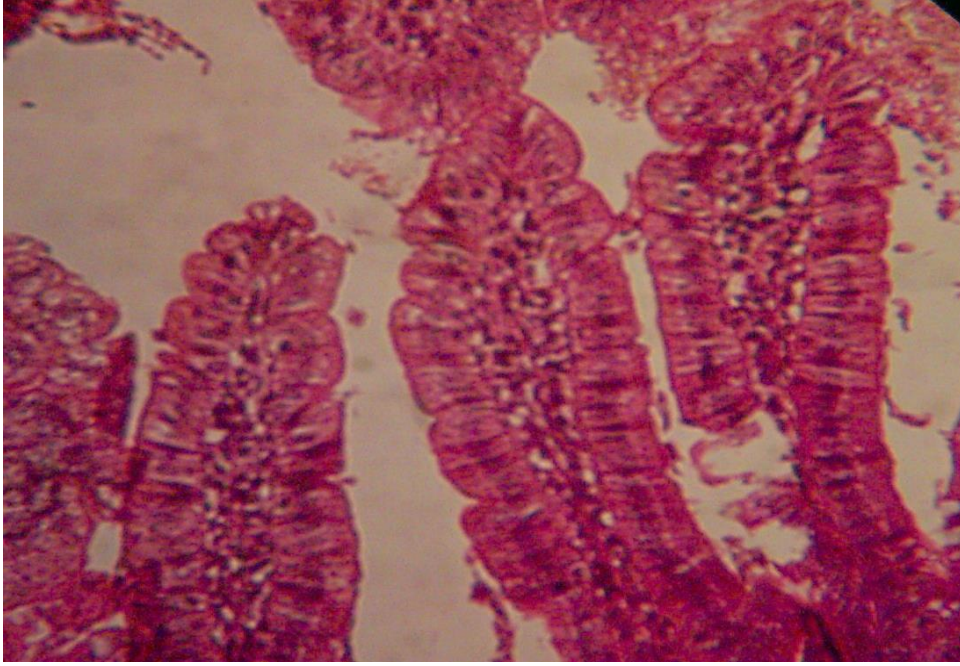
شكل 3. مقطع نسجي في طحال احد الحيوانات بعد 7 ايام من اصابته بجرثومة *Salmonella typhimurium* يوضح تشتت اللب الابيض ← واحتقان الاوعية الدموية واحتواء تجاويها على الخلايا الالتهابية + (H&E 40X)



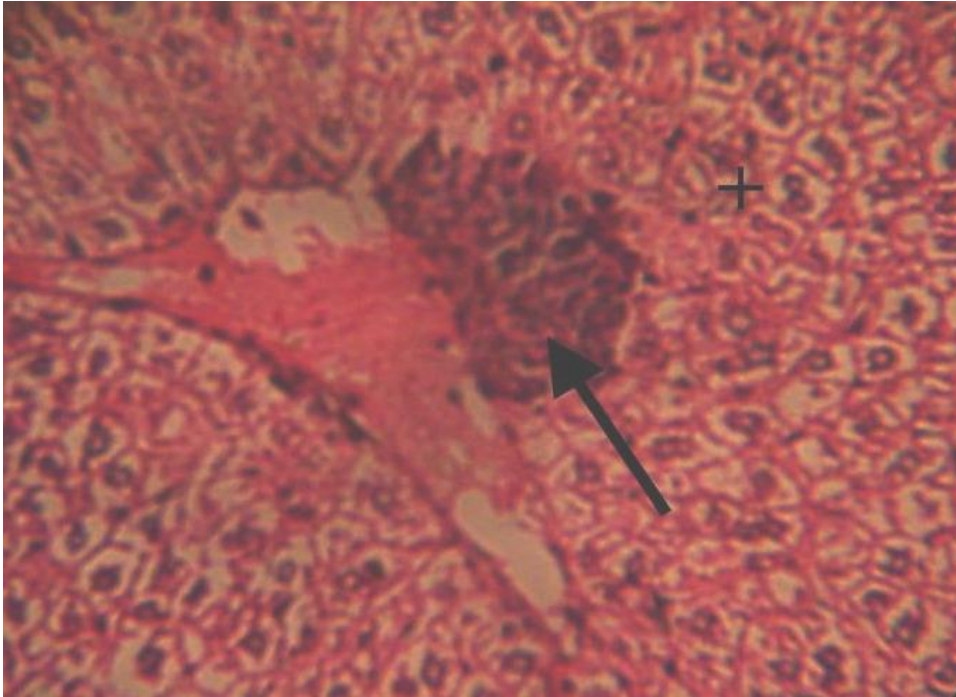
شكل 4. مقطع نسجي في امعاء احد الحيوانات بعد 7 ايام من اصابته بجرثومة *Salmonella typhimurium* لاحظ احتقان الاوعية الدموية ← وارتشاح الخلايا الالتهابية وحيدة النواة في الصفيحة الاساسية حول الغدد المعوية + (H&E 40X)



شكل 5. مقطع نسجي في امعاء احد الحيوانات المعاملة براشح بكتريا *Lb.casei* بعد 7 ايام من اصابته بجرثومة *Salmonella typhimurium* لاحظ عدم وجود تغيرات مرضية مهمة باستثناء فرط تنسج الخلايا الكأسية ← (H&E 40X)



شكل (6) مقطع نسجي في امعاء احد الحيوانات المعاملة براشح بكتريا *Lb. casei* بعد 7 ايام من اصابتها بجرثومة *Salmonella typhimurium* يبين عدم وجود تغيرات مرضية في الزغابات المعوية (H&E 40X).



شكل 7. مقطع نسجي في كبد احد الحيوانات المعاملة براشح بكتريا *Lb. casei* بعد 7 ايام من اصابتها بجرثومة *Salmonella typhimurium* لاحظ تجمع الخلايا اللمفية حول الوريد المركزي للكبد ← مع زيادة خلايا كفر + (H&E 40X)

المناقشة

Causing by *Salmonella enteritidis* in Mice. M.Sc. Thesis, Coll. of Veterinary Medicine, Univ. of Baghdad.

2. Brooks, G. F., S. Janet, B. Stephen and A. M. Jawetz. 2004. Melnik and Adelberg's Microbiology. Twenty-Third Edi. International Edition.

3. Hamilton-Miller. J. M. T. 2004. Probiotics and prebiotics in the elderly postgraduate. Medical J. 40: 42-51.

4. Harley, J. P. and L. M. Prescott. 1996. Exercises in Microbiology. 3rd Edi. WCB/MC Graw Hill, USA.

5. Hudault, S., L. Vanessa, B. Marie-Francois and L. S. Alain. 1997. Antagonistic Activity Exerted in Vitro and in Vivo by *Lactobacillus casei* (strain GG) Against *Salmonella typhimurium* C5 infection Appl., H; D and environmental Micro Biology. p. 513-518.

6. Luna, L. G. 1968. Manual of Histological Staining Methods of Armed Forces Institute of Pathology. 3rd Edi. Morgaa-Hill book com. New York.

7. Martines-Gonzales, B., E. Eriotou, S. Michopoulos, G. Kolantzopoulos, E. Taskalidou and A. Mentis. 2004. *In vitro* and *in vivo* inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus casei* Strain Shiraton. Appl. Environ Microbial. 70(1): 518-526.

8. Miles, R. D. and S. M. Bootwalla. 1991. Direct-Fed Microbials in Avian. Indirect-Fed Microbial in Animal Production: A Review of Literature. Nat feed Ingred. Assoc., West Desmoines, IA. pp. 117.

9. Minja, M., V. V. Sampasa, P. Jaana, V. Kari and K. A. Masashi. 1998. Lactobacilli and Streptococci Induce Interleukin-12, IL-18 and Gamma Interferon Production in Human Peripheral Blood Mononuclear Cell. Infection and Immunity. 66(12): 6058-6062.

10. Mishra, C. and J. Lambert. 1996. Production of anti-microbial substances by probiotics. Asia Pacific J. Clinical Nutr. 5(1): 20-24.

11. Murry, A. C., J. R., Hinton, and H. Morrison. 2004. Inhibition of growth of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Clostridia perfringens* on chicken feed media by *Lactobacillus Salivarius* and *Lactobacillus plantrum*. International J. of Poultry Sci. 3(9): 603-607.

اولا- عزل وتشخيص بكتريا *Sallmonella typhimurium* من حالات الاسهال في العجول

بالنسبة للعزل الجرثومي من حالات الاسهال في العجول فمن بين 15 عينة براز اسهالي فقد تم الحصول على عزلة واحدة تحمل صفات جرثومة *Salmonella typhimurium*، ويعد هذا النوع من اهم الانواع والاكثر شيوعاً من ناحية العزل في العجول، اذ تحصل الاصابة بهذه الجرثومة عن طريق الفم وتنتشر العلامات السريرية بعد مرور 12-24 ساعة وتتمثل بالإسهال والحرارة وقد تنتشر الحالة الى حدوث Bactermia (2).

ثانيا- اختبار الفعالية التثبيطية للراشح المركز لمرتين لبكتريا *Lactobacillus casei* داخل جسم الكائن الحي

إن التغيرات المرضية التي ظهرت في الأعضاء الداخلية للحيوانات المصابة بجرثومة *Salmonella typhimurium* والتي تمثلت بالاحتقان والنزف وارتشاح الخلايا الالتهابية إضافة إلى وجود بؤر من النخر التجلطي في الخلايا الكبدية، وتشنتت اللب الأبيض للطحال جاءت مطابقة لما اكده Al-Hashmee (1). إن عدم وجود تغيرات مرضية واضحة في الأعضاء الداخلية التي فحصت في الحيوانات المعاملة يشير إلى دور راشح بكتريا العصيات اللبنية في منع ارتباط الجرثومة بالمستقبلات الخاصة بها في ظهارة الأمعاء، وذلك بسبب احتواء هذا الراشح على الحوامض العضوية المختلفة التي ادت الى خفض الاس الهيدروجيني داخل الامعاء وبالتالي عدم تكاثر جرثومة *Salmonella typhimurium* وغزوها للنسيج، وهذا يتوافق مع ما ذكره Mishra و Lambert (10). إن تكاثر النسيج اللمفي في الطحال وارتشاح الخلايا اللمفية حول الأوعية الدموية في الكبد يشير إلى إن راشح بكتريا العصيات اللبنية حفز استجابة مناعية ضد الإصابة إذ أن تحفيز النسيج اللمفي يدل على الاستجابة المناعية (8). ادى تجريع الفئران براشح بكتريا *Lb.casei* الى احداث تحسن واضح في حالة الحيوان الصحية وقلل من التغيرات المرضية النسجية التي تحدثها جرثومة *Salmonella typhimurium*.

المصادر

1. Al-Hashmee, L. G. 2005. A Study of Some Immunological and Histological Changes

12. Piard, J. C., F. Delorme, G. Giraffa, J. Commissaire, and M. Desmazeaud. 1990. Evidence for bacteriocin produced by *Lactobacillus lactis* CN RZ 481. Neth. Milk, Dairy J. 44:143-158.
13. Reid, G., M. E. Sanders and H. R. Gaskins 2003. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. J. Clin Gastroenterol. 6: 10-18.
14. Reid, G. 2001. Probiotics. Am. J. Clin. Nutr. 73(2): 437-443.
15. Rolf, R. D. 1991. Population dynamics of the intestinal tract. in: Colonization Control of Human Bacterial Enteropathogenes in Poultry. L. C. Blankenship (edr.). Acad. Press, Inc., Sandiego, CA USA. p. 59-75.