



14. Miles, R. D., A. S. Arafa, R. H. Harms, L. W. Carolson, R. L. Reid, and J. S. Crawford, "Effect of living non freeze dried lactobacillus acidophilus culture on performance, egg quality, and gut microflora in commercial layers." *Poult. Sci.*, 1981; **6**: pp. 99-104.
15. حارث محمد ابراهيم، مسح أمراض الدجاج في محافظة بغداد للعام ١٩٨١-١٩٨٢، رسالة ماجستير / كلية الطب البيطري / جامعة بغداد - بغداد - العراق، ١٩٨٢.
16. Silva, M., N. V. Jacobus, C. Deneke, and S. L. Gorbach, "Antimicrobial substance from a human Lactobacillus strain". *Antimicrob Agents Chemother*. 1987; **31**: pp. 1231-1232.
17. De Man , J. C., M. Rogosa, and M. E. Sharpe, A medium for Cultivation of Lactobacilli". *J. Appl. Bact.* 1960; **23**: pp. 130-135.
18. Fuller, R. , "The importance of Lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop". *Br. Poult. Sci.* 1977; **18**: pp. 85-94.
19. Hudson, L., and F. C. Hay, Practical Immunology, 2nd edn. Black Well Scientific Publication, 1980.
20. عبد الجبار عمر قوجة القصبيا، التأثير المضاد لبكتيريا حامض اللبنك على بعض البكتيريا المرضية، رسالة ماجستير كلية الزراعة جامعة بغداد - بغداد - العراق، ١٩٨٨.
21. Fuller, R., "Nature of determinant responsible for the adhesion of lactobacilli to chicken epithelial cell". *J. Gen. Micro.* 1975; **87**: pp. 245-250.
22. Miles, A. A., S.S. Misra, and J. D. Irwin, The estimation of the bactericidal power of the blood. *J. Hygi (Cambridge)*. **38**: 1938, pp. 732-749.
23. Allan, W. H., and L. J. Borland, "The stress Index: A method for indicating the pathogenicity of vaccinal newcastle disease virus when administrated by aerosol. *Avian Path.* 1979; **8**: pp. 401-409.
24. Kleven, S. H., D. D. King, and D. P. Anderson, "Airsaculitis in broilers from mycoplasma synoviae: effect on air - sac lesion of vaccinating with infectious bronchitis and newcastle disease virus". *Avian Dis.*, 1972; **16**: pp. 915-924.
25. Snedecor, C. W., and W. G. Cochran, "Statistical methods" Iowa State University Press. 1967.
26. Fuller, R., and B. E. Brooker, "Lactobacilli which attach to crop epithelium of the fowl". *Am. J. Clin. Nut.* 1974; **27**: pp. 1305-1312.
27. Watkins, B. A., and B. F. Miller, "Competitive gut exclusion of avian pathogens by lactobacillus acidophilus in gnotobiotic chicks." *Poult. Sci.*, 1983; **26**: pp. 1772-1779.
28. Tannock, G. W., O. Szylit, Y. David, and P. Raibaud, "Colonization of tissue surfaces in the

## The Inhibitory Effect of Selected Lactobacilli on *Escherichia Coli*

Received on 29/6/1994	Accepted for Publication on 3/4/1995
Ali K. Samarai* and Majed A. Al-Attar	by editor! يرجى تحرير!
1. $0.17 \pm 0.17$ B	***
2. $1.17 \pm 0.17$ B	***
3. $7.37 \pm 1.17$ B	***
4. $5.27 \pm 1.17$ B	**
5. $2.18 \pm 3.27$ B	**

### Abstract

The inhibitory effect of selected Lactobacilli on *Escherichia coli* was studied using invitro and invivo tests. The invitro studies were done by using the well diffusion technique and growth inhibition in associative growth culture. These tests have shown significant inhibition in *E. coli* growth. The invivo studies were made by giving Lactobacilli and *E. coli* in drinking water at one day of age to group one and two respectively. The third group served as untreated control. At the age of 28 days all chickens were exposed to adverse conditions. As a result of this adverse conditions, all chickens developed airsacculitis, but the lesion scores were significantly lower in those chicks that received Lactobacilli.

The number of *E. coli* were significantly lower in the crop, Jejunum, and ceca of chicks given Lactobacilli. This was also accompanied by reduction in the number of *E. coli* on the litter and the trachea. The body weight of chicken given Lactobacilli were significantly higher than the control group. As far as we know, this study may be the first in which the severity of experimentally induced airsacculitis was reduced by given selected Lactobacilli to one - day - old chicks.

1. $0.17 \pm 0.17$ B	2. $1.17 \pm 0.17$ B	3. $7.37 \pm 1.17$ B	4. $5.27 \pm 1.17$ B	5. $2.18 \pm 3.27$ B
1. $0.17 \pm 0.17$ B	2. $1.17 \pm 0.17$ B	3. $7.37 \pm 1.17$ B	4. $5.27 \pm 1.17$ B	5. $2.18 \pm 3.27$ B

\* Department of Poultry and Fish Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Baghdad University, Baghdad, Iraq.

ومن خلال ما تتوفر لدينا من المصادر العلمية والبحوث التي تخص هذا المجال فإننا نعتقد بأن النتائج التي تم التوصل إليها في هذه الدراسة تسلط الضوء على طريق جديدة لتقليل الإصابة بمرض التهاب الأكياس الهوائية في دجاج اللحم من خلال إعطاء جراثيم العصيات اللبنية عن طريق الفم.

فيما يلي نبذة عن تأثير العصيات اللبنية والشركية القولونية في مقاومة الأكياس الهوائية في دجاج اللحم.

جدول رقم (١) العد الجرثومي للعصيات اللبنية والشركية القولونية في القصبة الهوائية في دجاج اللحم بعد تطبيقه للأعوامين (قبل التعريض لعوامل الاجهاز وبعد عمر خمسة أسابيع (بعد التعريض لعوامل الاجهاز).

العصيات اللبنية						العصيات الشركية القولونية
المجموعة الأولى			المجموعة الثانية			المجموعة الثالثة
العضو	الجرثوم	العصيات	العصيات	العصيات	العصيات	العصيات
الأعوام	٨	٧	٨	٩	٧	٩
الاعوام	$10 \times 4.7$	$10 \times 6.3$	$10 \times 4.3$	$10 \times 3.9$	$10 \times 6.1$	$10 \times 3.9$
a	b	b	a	b	a	a
العصيات						
اللبنية						
القصبة						
الهوائية						
الأعوام	٦	٦	٦	٩	٩	٩
الاعوام	$10 \times 3.1$	$10 \times 3.1$	$10 \times 1.4$	$10 \times 2.7$	$10 \times 1.7$	$10 \times 2.5$
a	a	d	b	e	b	e
العصيات						
الشركية						
القصبة						
الهوائية						
القصبة	٤	١	١	٥	٣	٣
الهوائية	$10 \times 1.9$	$10 \times 2.3$	$10 \times 1.9$	$10 \times 0.1$	$10 \times 0.4$	$10 \times 3.7$
c	f	d	e	g	h	

\* الأحرف المختلفة للمقارنات الأفقيّة لنفس الأعمار ولنفس العضو تعني وجود فروق معنوية إحصائياً ( $P < 0.01$ ).

\*\* معدل خمس مكررات للعد الجرثومي لكل مجموعة من مجاميع الأنفراخ.

التثبيطي لعزلات جراثيم العصيات اللبنية من خلال كل من نواتج عمليات الأيض الأولية (الحامض) ونواتج العمليات الأيضية الثانوية (المواد القاتلة للجراثيم) إن هذه النتائج تتفق مع تلك التي توصل لها بعض الباحثين<sup>(١٨,٢)</sup> حيث كان عدد جراثيم العصيات اللبنية أعلى في أفراخ المجموعة الأولى عنه في المجاميع الأخرى ( $P < 0.01$ ) مقارنة مع نتائج المجموعة الثالثة، ويعتقد أن السبب في ذلك يعود إلى امتلاك عزلات جراثيم العصيات اللبنية التي تم استخدامها في هذه التجربة قدرة عالية على الالتصاق بالخلايا الطلائية المبطنة للحوصلة مما أدى إلى زيادة عددها في الحوصلة<sup>(٢٦,١٨,٣٠,٢١,٢٩)</sup> أما نتائج العد الجرثومي في الأعورين والصائم فقد أظهرت هي الأخرى وجود انخفاض في عدد جراثيم الاشركية القولونية في أفراخ المجموعة الأولى عنه في أفراخ المجموعة الثالثة ( $P < 0.05$ ) عند مقارنته مع نتائج المجاميع الأخرى وقد تم ملاحظة مثل هذا التأثير من قبل آخرين<sup>(١٨)</sup>.

إن هذه النتائج جاءت مخالفة لما ذكره بعض الباحثين<sup>(٢)</sup> ويعتقد أن السبب في ذلك يعود إلى استخدامهم أفراخ حالية من الجراثيم (Gnotobiotic chicks) وأن دراستهم تمت تحت ظروف معقدة بشكل كامل، أي عدم وجود أي نوع من أنواع الجراثيم أو الأحياء المجهرية الأخرى في الجهاز الهضمي مما قد يؤدي إلى غياب حالة التوازن والتنافس بين الأحياء المجهرية للنبت المعوي الطبيعي<sup>(٣١)</sup>.

أما نتائج العد الجرثومي لجراثيم الاشركية القولونية على الفرشة في مجاميع التجربة كافة فقد أظهرت بشكل واضح أنه هناك انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في عدد هذه الجراثيم على الفرشة في غرفة أفراخ المجموعة الأولى مقارنة مع المجاميع الأخرى.

عند مقارنة نتائج العد الجرثومي لجراثيم الاشركية القولونية لكافة المجاميع في التجاريتين نلاحظ أن هناك انخفاضاً في عدد هذه الجراثيم في محتويات أجزاء الجهاز الهضمي التي تمت دراستها، الأمر الذي أدى إلى تقليل عددها في نزق الأفراخ نتج عنه قلة في الحملة الجرثومية في فرشة أفراخ المجموعة الأولى عن المجاميع الأخرى.

إن أهم طريق للإصابة بالتهاب الأكياس الهوائية هو طريق استنشاق غبار الفرشة الملوثة بجراثيم الاشركية القولونية الآتية من نزق الطيور إذ أن هذه الجراثيم تدخل إلى الجهاز التنفسي فتلتصق أولاً بالظهارة الطلائية للقصبة الهوائية ومنها إلى الأجزاء السفلية للجهاز التنفسي ثم إلى مجرى الدم<sup>(٣٠,٧,٣)</sup> وعند استعراض نتائج العد الجرثومي في القصبة الهوائية لأفراخ مجاميع التجربة الثلاثة لأجل المقارنة نلاحظ أن هناك

## قياس الوزن

تم مقارنة نتائج معدل الوزن لأفراخ المجموعة الأولى مع معدل أوزان الأفراخ في المجموعة الثالثة بعمر ٧ أسابيع وقد ظهر وجود زيادة وزنية معنوية ( $P < 0.01$ ) في أوزان أفراخ المجموعة الأولى ابتداءً من الأسبوع الثاني وحتى نهاية التجربة (جدول رقم ٢). كما أن معدل الانحدار الخطي (Regression coefficient analysis) للزيادة الوزنية لأفراخ المجموعة الأولى أظهر وجود تناسب في هذه الزيادة الوزنية طوال فترة التربية وأنها كانت معنوية من الناحية الإحصائية ( $P < 0.05$ ) عند مقارنتها مع معامل الانحدار الخطي للزيادة الوزنية الأسبوعية الطبيعية متمثلة بمجموعة المراقبة إذ بلغت الزيادة الوزنية الأسبوعية لأفراخ المجموعة الأولى ٢٤٥ غم بينما كانت ٢٢٥ لأفراخ مجموعة المراقبة.

## رسائلها العلمية

### الدراسة التجريبية الثانية العد الجرثومي في الحصول

كان عدد جراثيم الأشركيا القولونية في الحصولة بعمر خمسة أسابيع منخفضا ( $P < 0.05$ ) في أفراخ المجموعة الأولى عند مقارنته مع أفراخ المجموعة الثالثة. أما عدد جراثيم العصيات اللبنيّة فكان مرتفعا ( $P < 0.05$ ) في حوصلة أفراخ المجموعة الأولى عنه في أفراخ المجموعة الثالثة جدول رقم (٣). أما العد الجرثومي لجراثيم الأشركية القولونية في الحصولة بعمر أسبوعين فكان منخفضا ( $P < 0.05$ ) في المجموعة الأولى عنه في المجموعة الثانية.

### العد الجرثومي في الأمعاء (الصائم)

أظهر العد الجرثومي بعد خمسة أيام أي قبل إعطاء جراثيم الأشركية القولونية عن طريق الفم وجود انخفاض في معدل عدد جراثيم الأشركية القولونية ( $P < 0.05$ ) جدول رقم (٣) في أفراخ المجموعة الأولى عن أفراخ المجموعة الثالثة. أما بعد أسبوعين أي بعد إعطاء جراثيم الأشركية القولونية فلواحظ وجود انخفاض ( $P < 0.05$ ) في معدل عدد جراثيم الأشركيا القولونية في أفراخ المجموعة الأولى عن معدل عددها في

النَّقَائِصُ

**الدراسة المخبرية**

الدراسة المختبرية

#### ١- قدرة العصيات اللبنانيّة على تثبيط نمو الاشتراكية القولونيّة

أظهرت بعض العزلول من جراثيم العصبيات اللبنية قدرة على تثبيط نمو جراثيم الاشركية القولونية محبريا، حيث تراوح قطر الهالة التثبيطية من ١٨-٢١ ملم في العزلتين S و T على التوالي وصفر و ٢ ملم في العزلتين S8 و R على التوالي ولم يظهر أي تثبيط لنمو جراثيم الاشركية القولونية بعد معادلة حامضية السائل الطافي باستخدام مادة هيدروكسيد الصوديوم (IN).

## ٢ - التطبيق في وسط النمو المشترك

ظهر وجود قدرة تثبيطية عالية لبعض العزلات من جراثيم العصيات اللبنية مقارنة مع معدل النمو الطبيعي لجراثيم الاشركيا القولونية في وسط النمو المشترك والمحضر من العلية المقدمة للأفراخ الذي بلغ  $10 \times 3.8$ <sup>٧</sup> أما عدد جراثيم الاشركيا القولونية في هذا الوسط بوجود العصيات اللبنية عزلة S و T فكان  $10 \times 1.8$  و  $10 \times 9$ <sup>٠</sup> على التوالي وبهذا تكون النسبة المئوية للتحفيظ لهااتين العزلتين هما ٩٩.٥٪ و ٩٧.٦٪ أما العزلة S فكانت النسبة التثبيطية ٧٦٪. رافق تثبيط جراثيم الاشركية القولونية هبوطاً في الأس الهيدروجيني في الوسط المشترك حيث بلغ ٤.٨ و ٥ لكل من العزلة S و T على التوالي.

### ٣ - قابلة التصاق، العصبات اللبنة بالخلايا الطلائية للحوصلة

أظهرت النتائج اختلافاً واضحأً في قابلية العصيات اللبنية على الالتصاق بالخلايا الطلائية للحصولة حيث ظهرت العزلتان S و T قابلية التصاق جيدة وبأعداد كبيرة إلى هذه الخلايا، بينما أظهرت العزلتان R و S8 التصاقاً ضعيفاً جداً لهذه الخلايا ونتيجة لذلك فقد أهملت هاتان العزلتان على الرغم من امتلاك العزلة R قدرة تشطط عاليّة.

**مخطط رقم (١) تصميم التجربة الأولى التي تم اجراؤها للتعرف على القدرة التثبيطية لجراثيم العصيات اللبنية ضد جراثيم الاشراكية القولونية في جسم الأفراخ، في حالات التربية الطبيعية وفي حالات الاجهاد وعلاقة ذلك بالتهاب الأكياس الهوائية في أفراخ اللحم.**

**تصميم التجربة الأولى**

المجموعة الثالثة***	المجموعة الثانية**	المجموعة الأولى*
عدد الأفراخ (١٢٥)	عدد الأفراخ (١٢٥)	عدد الأفراخ (٢٥٠)

الاسبوع الأول	إعطاء جراثيم العصيات البنية عن طريق الفم	إعطاء جراثيم الاشراكية القولونية عن طريق الفم	قياس وزن الأفراخ في كافة مجاميع التجربة بشكل أسبوعي ابتداء من الأسبوع الأول وحتى الأسبوع السادس والسابع
			إجراء عملية العد الجرثومي في القصبة الهوائية والأعورين
			التقييم ضد مرض النبikoاسيل عن طريق الرش
			تقدير درجة الآفات المرضية العيانية للأكياس الهوائية وإجراء عملية العد الجرثومي في القصبة الهوائية والأعورين
			تعريف المجاميع للأمونيا وتقدير درجة الآفات
الخامس			
السادس			
السابع			

\* المجموعة الأولى (تمثل مجموعة الأفراخ التي تم اعطاؤها جراثيم العصيات اللبنية عن طريق الفم بواسطة ماء الشرب).

\* المجموعة الثانية (تمثل مجموعة الأفراخ التي تم اعطاؤها جراثيم الاشراكية القولونية عن طريق الفم بواسطة ماء الشرب).

\*\*\* المجموعة الثالثة (تمثل مجموعة الأفراخ التي لم تتطأ أي نوع من أنواع الجراثيم وهي تمثل مجموعة المقارنة).

بحدوث حالة التهاب الأكياس الهوائية ومنهج هذه التجربة مبين في مخطط رقم (١).

العد الجرثومي

تم إجراء العد الجرثومي حسب طريقة Miles et.al (٢٢) حيث عدت جراثيم العصيات اللبنية وجراثيم الاشركية القولونية في القصبة الهوائية والأعورين حيث أجري العد الجرثومي على خمسة أفراد تم ذبحها بعمر أسبوعين وخمسة أسابيع أخذت من كل المجاميع.

دراسة الآفات المرضية العيانية للأكياس الهرانية

تم تقدير الآفات المرضية العينانية لأفراخ التجربة حسب طريقة Kelven et. al. (٢٤) وذلك بتشريح خمسة أفراخ من كافة المجاميع، وأجري هذا الفحص في اليوم الرابع والستادس، بعد تعرض الأفراخ لعوامل الإجهاد.

قياس الون

استخدم الميزان الاعتيادي ذو الكفين لقياس أوزان عشرة من الأفراخ أحدث بصورة عشوائية من المجموعة الأولى والثالثة أسبوعياً وحتى الأسبوع السابع.

**الدراسة التجريبية الثانية**

أجريت هذه الدراسة للتعرف على القدرة التثبيطية لجراثيم العصيات اللبنية في أجزاء أخرى من الجهاز الهضمي وعلاقة ذلك بأعداد جراثيم الأشركية القولونية عن طريق الفم.

## تحضير الجرائم لاعطائها للأفراح

- استخدمت نفس الطريقة المذكورة في التجربة الأولى.

## العملية رقم ٣٢

### تحضير الجراثيم لغرض إعطائها للأفراخ

١ - جراثيم العصيات اللبنية  
استخدم وسط شورية الحليب المتبخر بنسبة ٢٪ (١٪) تم زرع العترة S والعترة T بـ ٢٥٠ مل من هذا الوسط وحضن لمدة ٢٤ ساعة بدرجة حرارة ٣٧°C بعد ذلك مزج المستزرعان ثم أضيف اليهما ماء الحنفية المغلي والمبرد ليصبح الحجم النهائي ١٠٠٠ مل.

أخذت عينة من المزيج لغرض إجراء العد الجرثومي، بعدها وضع المزيج في مناشر الماء البلاستيكية وأعطي إلى أفراخ المجموعة الأولى بعمر يوم واحد بعد تعطيتها لمدة ٤ ساعات مخطط رقم (١).

### ٢ - جراثيم الاشريكية القولونية

ندع ٥٠٠ مل من الشورية المعدية بجراثيم الاشريكيا القولونية لمدة ٢٤ ساعة بعدها أضيف إليه ماء الحنفية المغلي والمبرد ليصبح الحجم النهائي ١٠٠٠ مل وقدم لأفراخ المجموعة الثانية بعد عمر يوم واحد بعد تعطيتها لمدة ٤ ساعات أيضاً (مخطط رقم ١) ثم أخذت عينة بعد التخفيف لغرض إجراء العد الجرثومي لها (٢٢).

## عوامل الاجهاض

### ١ - التلقيح بلقاح مرض النيوكاسل.

تم تلقيح أفراخ التجربة بلقاح النيوكاسل عترة لاسوتا عن طريق الرش ويعمر ثلاثة أسابيع ويجرعة تعادل ثلاثة أضعاف الجرعة الاعتيادية (٢٣).

### ٢ - تعریض أفراخ التجربة لغاز الأمونيا

استخدام محلول الأمونيا بتركيز ٢٥٪ وذلك بوضع ٤ بـ مل لكل متر مكعب من حجم عرف التربية للمجاميع الثلاث وبعد تلقيح الأفراخ بلقاح مرض النيوكاسل ولمدة أربعة أيام متتالية بواقع مرتين في اليوم (صباحاً ومساءً). (٢٤)

### ٣ - الازدحام وسوء التهوية

تم تربية الأفراخ بصورة مزدحمة تراوحت بين ١٥ - ١٨ فروجاً في المتر المربع

### جراثيم الاشركية القولونية<sup>(٢)</sup>

لجراثيم الاشركية القولونية دور مهم في إحداث خسائر كبيرة لصناعة الدواجن من أهمها الخسائر الناتجة عن اصابات الجهاز التنفسي وخاصة التهاب الأكياس الهوائية<sup>(٣،٤،٥)</sup> إن هذه الجراثيم موجودة في القناة الهضمية للدواجن<sup>(٦)</sup> حيث تطرح مع النزق على الفرشة ويمكن أن تلوث الهواء في حظائر تربية الدواجن بمقدار ١٠ - ١٠٠ جرثومة لكل غرام من غبار الحظيرة<sup>(٧)</sup>.

تشير الدراسات إلى أن إصابة الأكياس الهوائية تحدث عن طريق استنشاق هذه الجراثيم<sup>(٨)</sup> وأن الأنواع المصلية الضارة من هذه الجراثيم التي تتواجد في محتويات الأمعاء تمتلك قابلية كبيرة على الاستقرار في القصبة الهوائية<sup>(٩)</sup> حيث تدخل إلى الدم ثم شعاف القلب<sup>(٩)</sup>.

إن استخدام المضادات الجرثومية في السيطرة على جراثيم الاشركية القولونية يمكن أن يؤدي إلى خلق أجيال من الجراثيم مقاومة لهذه المضادات الجرثومية<sup>(١٠)</sup> لذلك فقد توجهت الدراسات الحديثة في العالم نحو استخدام العلاج الحيوي (Probiotic) أو ما يسمى بالتعديمة المباشرة بالأحياء المجهرية (Direct feed Micro-organisms, DFM.S).

ومن أهم الجراثيم المستعملة هي جراثيم العصيات اللبنية<sup>(١١،١٢)</sup> (Lactobacilli) تمتلك بعض جراثيم العصيات اللبنية قدرة على تثبيط جراثيم الاشركية القولونية الموجودة في الجهاز الهضمي<sup>(١٣)</sup> وقد أدت الدراسات الأولية إلى إجراء العديد من البحوث حول ما يسمى بالاستبعاد التنافسي (Competitive exclusion) من قبل جراثيم العصيات اللبنية ضد أنواع الجراثيم الأخرى مثل السالمونيلا الموجودة في القناة الهضمية. وقد استعملت بنجاح في اختزال أعداد الاشركية القولونية في دجاج اللحم<sup>(٢)</sup> والدجاج البياض<sup>(١٤)</sup>.

ونظراً لأهمية جراثيم الاشركية القولونية وما تسببه في دجاج اللحم من أمراض وخاصة مرض التهاب الأكياس الهوائية<sup>(١٥)</sup> لذلك تم التخطيط لهذه الدراسة لمعرفة تأثير اعطاء جراثيم منتخبة من العصيات اللبنية عن طريق الفم إلى أفراخ اللحم بعمر يوم واحد على أعداد جراثيم الأشركية القولونية في الجهاز الهضمي للأفراخ وعلى الفرشة وتأثير ذلك على حدوث مرض التهاب الأكياس الهوائية فيها.