جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

التعديل المناعي في الفئران البيض *Mus/Musculus* ضد الإصابة بداء الأكياس العدرية الثانوي المأخوذ من الضأن بإستخدام مزيج بكتيري للأنواع *Lactobacillus acidophilus,* *L. casei rhamnosus*, and *L.casei casei*

سهيلة يعقوب يوسف محمد الرحو

أطروحة دكتوراه

علوم الحياة / علم الحيوان

بإشراف

الأستاذ

الدكتورة أسماء عبد العزيز علي

1441هـ 2019م

Abstract الخلاصة

تحرت الدراسة الحالية عن فاعلية بكتريا Acidophilus plus (*Lactobacillus acidophilus, Latobacillus casei casei, Lactobacillus casei rhamnosus*), في دراسة الاولى من نوعها في العراق, في الفعاليات المناعية للحيوانات التجريبية (الفئران) تجاه الاصابة بداء المشوكات الحبيبي. استخدم تخفيفان من بكتريا Probiotics هما 9×10^6 CFU/ml و CFU / ml 30×10^3 عبر الحقن داخل البريتون في حيوانات التجربة قبل وبعد الاصابة بداء المشوكات الحبيبية. تضمنت المعاملة قبل الاصابة بحقن بكتريا الـ Acidophilus plus مرتين, بفترة فاصلة 72ساعة وفي اليوم السابع, حقنت الحيوانات بالرؤيسات الأولية Protoscoleces داخل البريتون, وتضمنت المعالجة بعد الاصابة حقن الحيوانات بالرؤيسات الأولية اولا" ثم حقنها بالبكتريا بعد 72 ساعة من الاصابة.

أخذت عدة معايير بنظر الإعتبار تضمنت أعداد وأوزان وأقطار الأكياس العدرية والنسبة المئوية لإختزالها في الحيوانات المعاملة, التعداد الكلي والتمايزي لخلايا الدم البيض والتغييرات في أوزان الكبد والطحال ومعامل تضخمهما ثم الاستجابة المناعية الطبيعية (غير المتخصصة) والمناعة المكتسبة (المتخصصة) والتي تضمنت الاستجابة المناعية الخلوية (أهمها إختبار فرط الحساسية المتأخر Delayed Type Hypersensitivity test, DTH) والاستجابة المناعية الخلطية (اختبار الإدمصاص المناعي المرتبط بالإنزيم Enzyme Linked Immunosorbent Assay-IgG ELISA- IgG), بالمقارنة مع المجاميع الضابطة غير المعاملة بالبكتريا, واظهرت نتائج الدراسة مايلي:

1- إختزال معنوي عند مستوى إحتمالية ($P\leq0.05$), ($P\leq0.01$) في أعداد, أوزان وأقطار الأكياس العدرية الثانوية في الفئران المعاملة, تمثلت في ارتفاع النسبة المئوية لإختزال أعدادها بنسبة بلغ أقصاها 98.03% لكلا التخفيفين في الفئران المعاملة ببكتريا الـ Acidophilus plus بعد ستة أشهر من الإصابة.

2- زيادة معنوية ($P\leq0.01$) في نسب التعداد الكلي والتفاضلي بخلايا الدم البيض بلغت اقصاها 11360 cell/cm^3 من الدم عند التخفيف 30×10^3 CFU/ml و9280 cell/cm^3 من الدم للتخفيف 9×10^6 CFU/ml مقارنتها بالمجموعة الضابطة التي كانت 5240 cell/cm^3 بعد ستة

اشهر من الإصابة, وذلك من خلال إرتفاع في أعداد الخلايا اللمفية التي كانت 77.4% عند التخفيف 30×10^3 CFU/ml و77.2% للتخفيف 9×10^6 CFU/ml مقارنتها بالمجموعة الضابطة 58.6%, وبلغت معدلات المعاملات البكتيرية 71.5% للتخفيف 30×10^3 CFU/ml مقارنتها بالمجموعة الضابطة التي كانت 61.5% خلال مدد التجارب, كما لوحظ إنخفاض في معدلات الخلايا العدلة إذ بلغت 16% لكلا التخفيفين بالمقارنة مع المجموعة الضابطة27.8% بعد ستة اشهر من الحقن, وقد لوحظ إنخفاض في الخلايا الوحيدة بلغ اقصاه 5.8% عند التخفيف 30×10^3 CFU/ml و6.4% للتخفيف 9×10^6 CFU/ml بالمقارنة مع المجموعة الضابطة12.8% بعد ستة اشهر من الاصابة، وسجلت معدلات المعاملات البكتيرية إنخفاضا" عند التخفيف 9×10^6 CFU/ml بلغ 8.3% بالمقارنة مع المجموعة الضابطة 10.26%, لم تلاحظ أية فروقات معنوية في أعداد خلايا القعدات والحمضات للمجاميع المعاملة والمجموعة الضابطة.

3- إنخفاض معنوي عند ($P\leq0.01$) و($P\leq0.05$) في معدلات أوزان الكبد ومعاملات تضخمه حيث بلغ أقصاها 1.27غم و 59.8 عند التخفيف 30×10^3 CFU/ml مقارنة بالمجموعة الضابطة التي سجلت 1.89غم و 63.7%, على التوالي, وبلغ اعلى معدل وزن الطحال وتضخمه بلغ 0.188غم 6.5 للتخفيف 9×10^6 CFU/ml بالمقارنة مع المجموعة الضايطة 0.74 و 25.1, على التوالي, بعد ستة اشهر من الحقن.

4- زيادة معنوية ($P\leq0.01$) في الإستجابة المناعية الطبيعية والخلوية والخلطية في الفئران المعاملة متمثلة في معدلات معامل البلعمة, فرط الحساسية المتأخر (قياس سمك وسادة القدم), ومعدلات قياس مستوى الضد IgG بتقنية ELISA, إذ بلغ أعلى معدل لمعامل البلعمة 68.4% للتخفيف 30×10^3 CFU/ml مقارنة بالمجموعة الضابطة44.8%, بينما بلغ اعلى معدل لسمك وسادة القدم بعد ثلاث ساعات 1.4 ملم للتخفيف 9×10^6 CFU/ml مقارنة بالمجموعة الضابطة 0.64 ملم, وبلغ معدلات مستوى الضد IgG 29.37 mg/dl للتخفيف 9×10^6 CFU/ml مقارنة بالمجموعة الضابطة 32.3mg/dl بعد ستة اشهر من الحقن.

ABSTRACT

The current study investigated the effect of Acidophilus plus probiotic (*Lactobacillus acidophilus, Latobacillus casei casei, Lactobacillus casei rhamnosus*), the first conducted study in the Iraq , of the immune response in BALB/c mice against infection with the secondary hydatid disease. Two dilutions of the probiotic bacteria (9×10^6CFU/ml, 30×10^3CFU/ml) were used , by intraperitoneally injection animals (pre and post infection) of *Echinococcus granulosus* protoscoleces.

The preinfection to the injection of the acidophilus plus bacteria included two consecutive runs, with an interval of 72 hours and on the seventh day, the animals were injected with the protoscolesces intrapretoneally. The postinfecion done by injection of animals with the protoscolesces the first and then injected with probiotics bacteria after 72 hours of infection**.**

Many criteria were taken into consideration including, numbers, weights, diameters and percentage reduction of hydatid cysts of treated mice, the total and differential count of leukocytes (WBCs), change in weight of liver, spleen and their organ index. The innate immunity (not specific immunity) and adaptive immunity (specific immunity) which divided in to cellular immune response (Delayed Type Hypersensitivity test, DTH) and humoral immune response, (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay- IgG, ELISA- IgG), in comparison with the control groups (non-treated with probiotics), The results elucidated:

1- A significant declines in cysts including their diameter, weight, digit accompanied by maximum increasing in the reduction percentage of hydatid cysts numbers (98.03%) in treated mice with Acidophilus plus at both dilutions six months post infection.

2- A significant increase in the total and differential count of leukocytes in treated mice, the highest rates 11360 cell/cm^3 blood for dilution 30×10^3 CFU/ml and 9280 cell/cm^3 blood for dilution 9×10^6CFU/ml when compared with the control group 5240 cell/cm^3, six months post infection, in concomitant with the increase of lymphocytes number 77.4% for 30×10^3 CFU/ml and 77.2% for 9×10^6CFU/ml, respectively, when compared with the control group 58.6%, the average of bacterial treatment was up to 71.5% for dilution30×10^3CFU/ml in comparison with the control group 61.5% along the experiments period, a significants decline in neutrophils count 16% for both dilutions in comparison with the control group 27.8% six months post infection, and the bacterial treatment rates in neutrophil was 20.8% for dilution 9×10^6CFU/ml, in comparison with the control group 27.3%, during six months experiments. An observed decrease in monocytes count up to 5.8% in the dilution 30×10^3 CFU/ml when compared with the control group 12.8%, the treatment bacterial rates was 8.3% in contrast with the control group 10.26%, no significant differences were observed in the basophils and eosinophils count in both treated and control groups.

3- A significant decrease in rates of liver weight and organ Indices, up to 1.27gm, 59.8 at the dilution 30×10^3 CFU/ml in contrast with the control group 1.89gm, 63.7, respectively, the rates of spleen weights and organ index were 0.188 gm, 6.5 for dilution 9×10^6 CFU/ml in comparison with the control group 0.748gm, 25.1, respectively, six months post infection.

4- A significant increase of innate, cellular and humoral immunity in treated mice which represented by phagocytic index , delayed type hypersensitivity (foot pad thickness), and antibody IgG level. The

maximum phagocytic index was 68.4% for dilution 30×10^3 CFU/ml in comparison with the control group 44.8%, while the highest rate of foot pad thickness was 1.4mm, 3hour post injection at the for dilution 9×10^6 CFU/ml in comparison with the control group 0.64mm, the maximum IgG antibody level was 29.3 mg/dl for dilution 9×10^6 CFU/ml versus with the control group 32.3 mg/dl six months postinfection.

University of Mosul

College of Education For Pure Sciences

Immunomodulation in Albino Mice *Mus/Musculus* Against Infection with Secondary Hydatid Disease From Sheep by Using Bacterial Mixture species *Lactobacillus acidophilus, L. casei rhamnosus,* and *L. casei casei*

A Thesis Submitted

By

Suhayla Yakoob Yousif Mohammad Al-Rahho

To

The Council of Education for Pure Sciences University of Mosul In Partial of Requirements For The Degree of Ph.D. In

Zoology

Supervised By

Professor

Dr. Asma'a AbdulAziz Ali

2019 A. D. **1440 A. H.**