عزل بكتريا lactobacillus sp. ودراسة الفعالية التضاديه في نمو بعض انواع البكتريا المعويه

م. سعاد عبد فزاع المياحي

قسم الرياضيات الطبية/كلية علوم الحاسوب وتكنولوجيا المعلومات/ جامعة القادسية

**الخلاصة Abstract**

تضمنت الدراسة معرفة تأثير lactobacillus spp. المعزولة من عينات الحليب البقري الخام والذي يباع في الاسواق المحلية لمدينة الديوانية في البكتريا المرضية المسببة للإسهال .

جمعت ما مجموعه (100) عينة حليب , وتم عزل (12) عزلة من lactobacillus sp. بظروف لاهوائية , تم الكشف عن النشاط البكتيري لlactobacillus sp. المعزولة ضد بعض البكتريا الشائعة المسببة للإسهال مثل *ال Escherichia coli* *Salmonella sp*. , *Shigella sp.,Proteus* *sp* و *Klebsiella sp*. باستخدام اختبار الانتشار بالأقراص وقد اظهرت هذه الاختبارات التأثير التثبيطي الجيد لعزلات بكتيريا lactobacillus sp ضد البكتيريا المرضية محل البحث ويكون افضل تأثير لها عند تركيزCFU/ml $10^{7}$*.*

*كلمات البحث الدالة / التأثير التثبيطي , lactobacillus sp. , البكتيريا المسببة للإسهال .*

**المقدمة :introduction**

شهدت السنوات الاخيرة من القرن الماضي وبدايات القرن الحالي تطورا واضحا في طرق العلاج الحيوي وتوجها واسعا نحو استعمال الاحياء المجهرية ونواتجها الايضية في علاج بعض الحالات المرضية.

تناولت العديد من البحوث في الوقت الحاضر التأثير النافع Probiotic action للسلالات البكتيرية النافعة مثل Lactobacillus والتي اصبحت مهمة لكي تسهل عملية تلبية حاجة السوق لمنتج صحي functional product مقارنة بالمنتجات الموجودة حاليا في الاسواق فقد ذكر ]1 [ان لبكتريا Lactobacillus امكانية تثبيط طيف واسع من البكتيريا المرضية مثل *Shigella dysenteriae , Shigella flexneri , Escherchia coli* , *Salmonella typhi ,Pseudomonas aeruginosa* كما اشار Kajander واخرون2] [الى مقدرة بكتريا lactobacillus في تثبيط انواع عديدة من الاحياء المجهرية المرضية او المسببة لتلف الاغذية وهذا التأثير يأتي من جراء انتاج البكتيريا للعديد من المواد الايضية المثبطة مثل حامض اللبنيك والخليك وبيروكسيد الهيدروجين والبكتريوسينات Bacteriocins.

 عرفت المعززات الحيوية بانها الاحياء المجهرية او مشتقاتها والتي تؤدي عند تناولها الى تأثيرات مفيدة في صحة المضيف ]3 [عن طريق تحسين التوازن الميكروبي للنبيت المعوي والحث على زيادة النمو او زيادة الفعالية الايضية لواحدة او اكثر من البكتريا المفيدة الموجودة في القولون ] 4[, اما المحفزات الحيوية *prebiotics* فهي مواد كربوهيدراتية غير قابلة للهضم تزيد نمو وفعالية المعززات الحيوية ولاسيما البكتريا ولها فعل منظم للنبيت المعوي في القناة الهضمية وتعد مصدر للطاقة التي يمكن ان يؤيض من قبل الفلورا المعوية الطبيعية [ 5].

 بينت دراسة العاني ] 6 [ تضاد العصيات اللبنية المهبلية مع الجراثيم المسببة للإصابات المهبلية حيث تم عزل 32 عزلة من العصيات اللبنية وكانت تاثيراتها بدرجات متفاوتة في بكتريا الاختبار , وكان اعلى قطر تثبيط تجاه البكتريا الموجبة لصبغة غرام في حين كان التاثير اقل في البكتريا السالبة لصبغة غرام .

 اثبت الباحثان Aenhammer و ] Reuter 7, 8 [لتأثيرالتثبيطي لlactobacillus sp. ضد بعض العزلات البكتيرية مثل *Helicobacter pylori وال Clostridium* .كما اكدت دراسة القصاب [9] الفعالية التثبيطية لعصيات حامض اللبنيك المعزولة من براز الاطفال الرضع ضد البكتيريا المرضية المسببة لإسهال بدرجات مختلفة واظهرت النتائج تفوق العصيات اللبنية المعوية على البكتيريا المسببة للإسهال .

واوضحت دراسة ] 10[ التاثير التثبيطي لبكتريا lactobacillus sp العلاجيه باستعمال النواتج الايضيه لها ضد نمو بعض العزلات المرضيه المعزوله من حيوانات مصابه .

كما بينت الباحثتان ]11 [الفعاليه التثبيطيه الجيده لانواع بكتريا lactobacillus sp ومنها الانواع *lactobacillus paralantarum , lactobacillus paracasei* والمعزوله من حليب الاغنام الخام ضد بكتريا المكورات العنقوديه الذهبيه المعزوله من مصادر بشريه.

واكدت ابحاث ]12 [ التاثير التضادي لبكتريا lactobacillus sp ورواشحها المركزه مره ومرتين ونصف مع بعض المضادات الحيويه ضد عزلات البكتريا العنقوديه الذهبيه المقاومه للمضادات الحيويه والتي اعطت قدره تثبيطيه عاليه تتراوح بين 18-20 ملم في بكتريا الاختبار.

واظهرت دراسة ]13 [ الفعاليه التثبيطيه العاليه لبكتريا lactobacillus sp المعزوله من الخضراوات الطازجه ضد مجموعه من البكتريا المرضيه  *Salmonella* *typhimurium , Echerichia coli , Staphylococcus aureus.*

ومن جهة اخرى يلاحظ ان الانسان يصاب بالعديد من البكتيريا المرضية ومنها البكتيريا المسببة للإسهال الذي اصبح اكثر شيوعا في الوقت الحاضر والتي اصبحت مقاومة للعديد من المضادات الحيوية. وتكمن ضراوة الانواع المسببة للإسهال بامتلاك العديد منها لبعض الشعيرات تمكنها من الالتصاق على خلايا المضيف و انتاجها للذيفان الداخلي كمال تمتلك بعض الانواع البكتيرية على المحفظة التي تحيط بالجدار الخلوي البكتيري والتي هي متعدد السكريد polysaccharides , اذ تسهم في التصاق البكتريا وتثبيط عملية البلعمة [ 14 ]

ومن اجل البحث عن وسائل علاجية بديلة عن المضادات الحيوية فقد شهدت السنوات الاخيرة توجها نحو استعمال بكتيريا حامض اللبنيك المعزولة من مصادر بشرية او حيوانية كمعززات حيوية اذ تمتاز هذه البكتيريا بانها غير مرضية وغير منتجة للسموم فضلا عن انتاجها للعديد من الانزيمات والفيتامينات ولها القدرة على الالتصاق بالأغشية المخاطية للأمعاء وافرازها للعديد من المواد الايضية المثبطة للأحياء المجهرية المرضية ] 15[.

من هناك فقد استهدفت الدراسة الحالية تقييم الفعالية التثبيطية لبكتيريا حامض اللبنيك والمعزولة من عينات الحليب البقري الخام والتي تباع في الاسواق المحلية لمدينة الديوانية تجاه بعض العزلات البكتيريا المرضية المسببة للإسهال والمعزوله من مصادر بشريه .

**طرائق العمل :material and methods**

**\*جمع العينات collection of raw milk samples**

تم جمع 100 عينة حليب بقري خام للفترة من شباط الى ايلول 2014 والتي تباع في الاسواق المحلية لمدينة الديوانية وتم اعتماد طريقة ]16 [وذلك باستخدام قناني معقمة محكمة الغلق حيث تم جمع (15-20) مل من الحليب وتم نقلها الى مختبرات جامعة القادسية داخل صناديق حاوية على الثلج خلال فترة لا تتجاوز الساعة لغرض اجراء الفحوصات اللازمة للحليب.

**\*عزل بكتيريا الـ lactobacillus من عينات الحليب الخام :**

تتلخص عملية العزل بأجراء تخافيف لعينات الحليب بواسطة محلول الملح الفسيولوجي normal saline ويخلط مع وسط MRS Agar ( Biolife ,Italy) بدرجة حرارة ( 45-50) م° ويصب في الاطباق ويحضن بدرجة حرارة 37م° داخل عدة النمو اللاهوائي candle jar لمدة 24-48 ساعة يتم اخذ مقدار ناقل بكتيري واحد one loop full من عينات الحليب الخام وتحقن في 10 مل من وسط MRS broth ( Biolife , Italy) وتحضن بدرجة حرارة 37م°مع ملاحظة ان كل 24 ساعة يتم اجراء صبغة غرام gram stain للعينات وبعد مرور 72 ساعة من الحضن وعندما تصبح العصيات الايجابية لصبغة غرام هي السائدة , يؤخذ حجم من المرق المغذي MRS broth ويخطط على وسط MRS agar ويحضن بدرجة 37م°في ظروف لاهوائية وعند ظهور المستعمرات بشكل نقي على وسط MRS agar سوف يؤخذ Loop full الى وسط المرق المغذي MRS broth لغرض العزل ومن ثم صبغ العزلات النقية بواسطة صبغة غرام وتفحص تحت المجهر والتي شخصت على انها عصيات موجبة لصبغة غرام واجراء الفحوصات البايوكيميائية عليها مثل فحص ال catalase فحص تخمر السكريات وفحص الحركة [ 17 ].

**طريقة حفظ عزلات بكتريا *Lactobacillus :-***

تم تنمية العزلة في وسط MRS broth بلقاح inoculum مقداره 5% ويحضن بدرجة حرارة 37م° لمدة (24-48) ساعة ثم الحفظ في درجة حرارة الثلاجة والتنشيط كل شهر ] 18[.

-اما البكتريا المعوية المسببة للاسهال فقد تم الحصول عليها من مختبرات كلية العلوم –جامعة بغداد والمعزوله من الانسان والتي اعيدت زراعتها على وسط Brain Heart Infusion Broth (BHI) (, England oxoid) ثم حضنت بدرجة حرارة 37م° لمدة 18 ساعة هوائيا ثم خلطت بنسبة 1% من المزرعة الخزين مع 25 مل من وسط (, England oxoid) BHI agar بدرجة 45 م ° لإعطاء اقصى نمو $10^{6}$cfu/ml. بعدها صبت في اطباق بتري معقمة وحفظت في الثلاجة بدرجة 4م°

**\*التأثير التثبيطي لlactobacillus sp. في بعض البكتيريا المرضية المسببة للإسهال :-**

في هذه الدراسة استعملت طريقة الانتشار بالأقراص disk assay method والموضوعة من قبل القصاب ] 19 [ :-

1. تلقح انابيب اختبار تحتوي على 10 مل من MRS broth بالمزرعة البكتيرية وكانت نسبة اللقاح هي 1%.
2. تحضن بدرجة حرارة 37م ° لمدة (72) ساعة لحين وصول البكتيريا للطور اللوغارتمي .
3. فصل خلايا البكتيريا عن وسط النمو باستعمال جهاز الطرد المركزي للحصول على راشح البكتريا .
4. غمس اوراق الترشيح دائرية بقطر 6 ملم من نوع Whatman no: 3 في الجزء الرائق ( وسط نمو البكتريا )
5. وضع اوراق الترشيح المحملة برواشح البكتريا على اطباق مزروعة بالبكتريا المرضية المسببة للإسهال .
6. قياس الهالة الشفافة المتكونة حول الاقراص بعد الحضن لمدة 18 ساعة وبدرجة حرارة 37م°

استعملت معاملات سيطرة في التجارب منها استعمال اقراص من وسط MRS الصلب الخالي من النمو ووضع على سطوح الاطباق المبذورة بالبكتريا قيد الدراسة بالإضافة الى ترك مجموعة من الاطباق المزروعة بالجراثيم قيد الدراسة دون اي اضافات , اعيدت التجارب مرتين وبمكررين لكل عزلة وفي بعض الحالات اعيدت التجارب لمرات عديدة وفي كل مرة يستعمل مكررين للعزلة .

**\*تحديد التركيز المثبط الادنى Mimimal Inhibitory Concentration (MIC ) والتركيز القاتل الادنى Mimimal Bacteriocidal Concentration ( (MBC لlactobacillus sp. :-**

حسب ما جاء في ] 20Baron & Finegold[ حضرت عدة تخافيف لرواشح lactobacillus sp. في (5) مل من المرق MRS broth لقحت الانابيب بمقدار (50 مايكرولتر) من العالق البكتيري الذي بعمر 18-24 ساعة والحاوي على (3-5) خلية / مل ثم حضنت الانابيب لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 م° مع خلط Shaking الانابيب بين الحين والاخر قرأت النتائج بمقارنتها مع السيطرة رقم (1) والسيطرة رقم (2) وحددت قيمة ال MIC بانها اقل تركيز من المادة المضادة التي تمنع عكورة واضحة للعين المجردة في الوسط الزرعي ولتحديد التركيز القاتل الادنى MBC يؤخذ 20 مايكروليتر من المرق MRS broth للأنابيب التي لا تحتوي على نمو بكتيري واضح ويعاد زراعتها على MRS agar وتحضن لمدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37م° وحدد التركيزالقاتل الادنى على اساس اقل تركيز من المادة المضادة تمنع ظهور نمو البكتريا وحدد بوجود نمو –ve وعدم وجود نمو +ve .

-**التحليل الاحصائي Statistical Analysis**

تم باستخدام نظام spss لتحليل النتائج احصائيا ( IL, USA,version 16 , Chicago, Spss Inc).

**النتائج والمناقشه RESULTS AND DISCUSSION :**

تم الحصول على 12 عزلة من العصيات اللبنية من عينات الحليب البقري الخام والتي تباع في الاسواق المحلية لمدينة الديوانية وهذا مقارب لما توصل اليه Premalatha , و Dhasarathan ] 21 [ حيث تم عزل 19 عزلة من عصيات حامض اللبنيك من مجموع 150 عينة حليب بقري خام واختبار فعاليتها ضد البكتريا المسببة لالتهاب الجروح في الهند . وتم اجراء الفحوصات المظهرية والمجهرية والفسيولوجية بعد تنمية وزراعة العينات على الوسط المخصص لتنمية العصيات اللبنية MRS ( Deman , Rogosa and Sharp medium) فكانت المستعمرات صغيرة بيضاء الى شفافة شكلها عصوي , محدبة, ناعمه براقة , غير منتظمة وموجبة لصبغة غرام ,لاهوائية اختياريا, لا تكون سبورات وكانت سالبة لفحص الكاتاليز وهي صفة مميزة لها حيث ينقص هذه المجموعة من الاحياء التراكيب الخاصة للارتباط بالحديد مثل porphyrin وبذلك تكون مجبرة على العيش بطريقة التخمر]22[.

 جدول رقم (1) : الاقطار التثبيطيه لعزلات الدراسه لبكتريا lactobacillus spفي نمو البكتريا المعويه

|  |  |
| --- | --- |
| عزلات البكتريا الممرضة  | اقطار منطقة التثبيط |
| *1-Ecschereichia coli*  | 17± 2.1 |
| *2-Salmonella sp.* | 19 ±1.8 |
| *3-Shigella sp.* | 18±2.8 |
| *4-Proteus sp.* | 17±2.9 |
| *5-Klebsiella sp.* | 9±2.0 |
| سيطرة رقم (1) | -ve |
| سيطرة رقم (2) | -ve |

سيطرة رقم (1) اقراص من وسط MRS خالي من النمو

سيطرة رقم (2) نمو البكتريا الممرضة على وسط MRS كل منها بدون اضافات

يتضح من الجدول رقم (1) التأثير التثبيطي لlactobacillus sp. على جميع العزلات للبكتريا المسببة للإسهال وبدرجات مختلفة وكان اعلى قطر تثبيط على بكتريا *Salmonella sp.* حيث كان mm 19 بينما بكتريا ال *Shigella sp*. وكان mm18 بعدها كل من بكتريا ال *E. coli*  وال Proteus وكان 17 mm لكل منهما وكان اقل قطر تثبيط 9mm يعود الى بكتريا ال *Klebsiella* وهذا يتفق مع دراسة القصاب ] 9[ حيث تم عزل العصيات اللبنية المعوية من براز الاطفال الرضع و تأثيرها على البكتريا المسببة للإسهال حيث اظهرت الدراسة تأثير عصيات حامض الللبنيك المعزولة من محتويات امعاء الاطفال الرضع حديثي الولادة في البكتريا المرضية المسببة للإسهال وكان اعلى قطر تثبيط 26 mm في بكتريا ال  *Salmonella* ويليه بكتريا ال*Escherichia* *coli*  بقطر تثبيط 18 mm ثم بكتريا ال *Shigella sp* بقطر تثبيط 17 mm.

وكذلك يتفق مع ما توصلت اليه دراسة العاني [6 ] حيث تم عزل العصيات اللبنية من نساء سليمات ومريضات بالتهاب المهبل وتأثيرها في البكتريا المسببة لالتهاب المهبل حيث اظهرت العصيات اللبنية المهبلية تأثيرها التثبيطي القوي تجاه البكتريا المسببة لالتهاب المهبل *وهي Staphylococcus aureus ,non –Haemolytic Streptococci , Neisseria gonorrhea , Candida albicans , Pseudomonas sp.*

 كما يظهر في الجدول ان وسط MRS في سيطرة رقم (2) لا تؤثر او تثبيط اي نوع من العزلات وهذا يعني ان العزلات لا تتأثر بالخلات acetate التي تعد عامل انتخابي selective agent في وسط MRS ] 23 [.

جدول رقم (2) : قيم التراكيز المثبطة الدنيا MIC والقاتلة الدنيا MBC لlactobacillus sp. في 5 انواع من البكتريا المرضية المسببة للإسهال

|  |  |
| --- | --- |
| عزلات البكتريا الممرضة | التأثير التضادي لlactobacillus sp. |
| MIC | MBC |
| 1. *E. coli*
 | $$10^{7}$$ | +ve |
| 1. *Salmonella sp.*
 | $$10^{6}$$ | +ve |
| 1. *Shigella sp.*
 | $$10^{6}$$ | +ve |
| 1. *Pr0teus sp.*
 | $$10^{7}$$ | +ve |
| 1. *Klebsiella sp.*
 | $$10^{6}$$ | -ve |

+ve = لا يوجد نمو بكتيري

-ve = يوجد نمو بكتيري

اظهرت نتائج الجدول (2) ان lactobacillus sp. كان لها تأثير تثبيطي واضح على جميع العزلات الممرضة الخمسة للبكتيريا المسببة للإسهال .

كما اوضحت النتائج ان lactobacillus sp. كان لها تأثير تثبيطي وقاتل على جميع العزلات و تأثير تثبيطي فقط على عزلات بكتريا ال *Klebsiella* حيث كانت قيمة ال MIC هي cfu/ml $10^{6}$ .

كما اوضحت النتائج ان عصيات حامض اللبنيك كان لها تأثير تثبيطي وقاتل على جميع العزلات و تأثير تثبيطي فقط على عزلات بكتريا ال Klebsiella حيث كانت قيمة ال cfu/ml mic 10^6 وهذا مقارب لما توصل اليه ] 24 [ Ayad et al و] Lei and Jocobsen 25 [ . حيث تم عزل عصيات حامض اللبنيك من اللبن الرائب وتأثيرها في بعض البكتريا المرضية E.coli , Salmonella sp, Staph.aureus وكان تأثير عصيات حامض اللبنيك تثبيطي وقاتل لبعض الانواع البكتريه المعزوله وتثبيطي فقط في انواع اخرى ,ويقترح بعض الباحثين ] 26[ Trachoo and Boudreax ان للبكتريا المرضية عدة ميكانيكيات للتأثير على صحة الانسان اهمها التصاقها للغشاء المخاطي للأمعاء, انتاجها للسموم . امتلاكها لطبقة المحفظة capsule والتي تمنع عملية البلعمة phagocytosis بالإضافة الى توزيع الكائنات داخل بيئة الامعاء وبمستويات مختلفة يؤدي الى نمو بعض الاحياء المرضية وامكانية انتقالها الى الاعضاء الداخلية والذي بدوره ينتج الامراض المختلفة .

يتضح من الدراسة الحالية القدرة التثبيطية الواضحة لراشح بكتريا حامض اللبنيك تجاه البكتريا المرضية المعويه وقد يعزى سبب ذلك لانتاج بكتريا حامض اللبنيك حوامض عضوية ولا عضوية مثل حامض اللاكتيك والخليك وان التأثير التثبيطي لهذين الحامضي يعود الى شكلها غير المتفكك ( undissocition) من خلال قدرتها على اختراق واعاقة نقل المواد الغذائية اضافة الى كونهما حوامض عضوية ضعيفة وجزئية التفكك في المحاليل المائية وامتلاكها خاصية الذوبان في الدهون مما يجعلها سريعة الانتشار وبصورة حرة خلال الغشاء البلازمي الى السايتوبلازم [27 ] . اضافة الى دور بكتريا حامض اللبنيك في خفض الاس الهيدروجيني وجهد الاكسدة والاختزال والتنافس على المغذيات بالاضافه الى انتاج المضادات والبكتريوسينات ] 29,28 [. وكما موضح في الصوره التاليه:-



كما ان الاختلاف في عمليات التثبيط قد يعود الى ان انتاج المواد المثبطة من قبل بكتريا حامض اللبنيك يحتاج الى مستلمات على سطوح الخلايا التي تؤثر فيها ثم بعد ذلك تمارس عملها بعمل ثقوب في الاغشية الخلوية مؤدية الى خروج المكونات الصغيرة من الخلايا ثم الموت [30].

الاستنتاجات :-

تمتلك عصيات بكتريا lactobacillus sp وراشحها قدرة تثبيطية واسعة تجاه البكتريا المعويه المرضية المسببة للإسهال وهذا يفتح الباب لاستخدامها كمعززات حيوية لعلاج الاسهال .

**المراجع :**

1. Boestroo, M .H.; Wit , J .C; Kusters , B .J . and Robouts , F.n. (1993): Inhibition of Growth of yeasts in fermented salad . j. food Microbiology **. 17**: 311-320.
2. Kajander , K.;Hatakka , K.;Poussa , T.and Korpela ,R .(2005):Valios probiotics mixture for irritable bowl syndrome .valio food & functions **1**:16-17.
3. Reid , G .(2008.Probiotics and Prebiotics – progress and challenges . J. Int . Dairy .**18** : 969 -975.
4. Liong , M. T. (2011) : ): Probiotics , Biology , Genetics and health Aspects . springer – Verlag . Berlin Heidelberg.
5. Hamdan ,I .y. and Mikolojcik . E.M. (1973): Growth viability and Antimicrobial activity of lactobacillus acidophilus . J. Dairy Sci . **56** : 638.
6. العاني , لمياء يعقوب (2000).تضاد العصيات اللبنيه المهبليه مع الجراثيم المسببه للاصابات المهبليه . المؤتمر العلمي السابع لبحوث التعليم التقني
7. Aenhammer , T.R. ( 2000) : Probiotic bacteria : today and tomorrow . J.Nuture ., **130** : 415-416.

8-Reuter , G. (2001) : Probiotics – Possibiltities and limitations of tTheir applications for men and animals , Berl . munch . Toerarztl , Wochenschr ., **114** : 410-419.

9-القصاب, عبد الجبار عمر (1992):عزل العصيات اللبنيه المعويه من الاطفال الرضع وتاثيرها على البكتريا المرضيه المسببه للاسهال ز مجلة العلوم الزراعيه العراقيه.1:23.

10- حميد ,علي حسين(2005):استعمال النواتج الايضيه لبكتريا حامض اللاكتك العلاجيه لتثبيط نمو عزلات مرضيه معزوله من حيوانات مصابه ,المجله الطبيه البيطريه العراقيه ,المجلد 29,العدد2 . 11-Mami , A. and Jamela,M.(2008):antimicrobial activity of lactobacillus species isolated from Algerian raw goats milk against Staphylococcus aureus . world J .of dairy and food science,3(2):39-49.

12-الرضا,حسين علي(2009):مقارنة التاثير التثبيطي لبكتريا حامض اللبنيك وراشحها مع بعض المضادات الحيويه ضد جرثومة المكورات العنقوديه .مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفه ,المجلد الثالث ,العدد

13-Reza ,K. and Mahdiyah ,M.(2012):antimicrobial activity of lactobacillus strains isolated from fresh vegetables,middle-east journal of scientific research .11(9):1216-1219.

14-الخفاجي , زهرة محمود .(1987) : الفعاليات الحيوية للبكتريا . جامعة بغداد - مطابع جامعة الموصل .

15-Alegria , A. S.; Tauveron , E. ; Lopez . B. and Chevalier , I. (2010): Bacterions Produced by Lactobacilli Strains isolated from traditional cheeses ,ADE of raw ,milk . INT. J. food microbial ., **143**: 61066.

16-Bsddie , R.; Nickerson ,SC . ( 2002): Reduction of mastitis caused by experimental challenge with staphylococcus aureus and streptococcus Agalactae by use of quaternary ammonium and halogen mixture . DIP . J. dairy SCI. **85**: 285-262.

17-Holt , J.C. and kreig, N. R. ( 1986 ) : Bergy's ,annual of systematic bacteriology vol :**2** Williams and Wilkins . London .

18-Hunger , w. and Peiterson , N . ( 1992) . New technical Aspects of the preparation of starter culture . Bullentin of DF . **277**: 17-21.

19-القصاب , عبد الجبار عمر وجه (1988) : التأثير المضاد لlactobacillus sp. العصوية على بعض البكتريا المرضية , رسالة ماجستير .

20-Baron , E. J. and Finegold , S. M (1990) : Baily and Scotts diagnostic microbiology ( 8th ed) .C.T. Mosby , U.S.A.

21-Premalattha , ,. And Dh asarthan , P.( 2011) : Probiotic action of lactobacillus isolated from the milk sample against some human pathogens , research . J . of IMM . **4** (1) : 31-37.

22-Holt . J. C. ; Krieg , N.R. ; Sneath , P .H.A.; Staley , J.T. and Williams .S .T. (1994): Bergy;s manual of determinative bacteriology 9th ed . Williams and Wilkins Baltimore .,Oryland . U.S.A .

23-Klaenhammer , T.R. .( 1993): Genetic of Bacteiocines produced by lactic acid bacteria.fems microbial.rev **12**:84-86.

24-Ayad ,E.H. ; Nashat , S. and EI- soda , M. (2012), Selection of Lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products . food microbial . **21**: 715- 725.

25-Lei , V. and Jacobsen , M . (2004). Microbiological characterization and probiotic potential of Koko and Koko sour water African spontaneously fermented millet Porridgy and drink. J. Appl . **96** : 384-397 .

26-Trachoo. N. and Boudreax , C. (2006) : Therapeutic potential of bacteria . J.Bio. SCI ., **6** : 202 -208.

27-Mishra,C. and Lambet,J.C.(1996):production of antimicrobial substances by probiotics .Asia . pacific .J. clin . nutr.**51**:20-24.

28-Kour kouts ,Y. ; bosnea - , l. ; T aboulcos , l .and kancuaki , M . (2006) : probiotic cheese production

29-الدليمي , جيهان عبد الستار (2005) : استخدام بكتريا حامض اللاكتك المعزولة من الانسان والمصادر الغذائية في تثبيط نمو بعض البكتريا المسببة للإسهال . اطروحة دكتوراه /كلية العلوم / الجامعة المستنصرية .

30-Jawwet S , E ; Melnick , L. and Adelberg , E.(2013). Review of Medical microbiology . (20th ed ) pp. **127** .221: 247-249.

Isolation of lactobacillus sp. And study antibacterial activity on some enteric bacterial growth

By

Suaa'd A. Faza'a Al- miahy

Medical Mathematic department / computer and

,Mathmatic science college / al- Qadisyia University

**Abstract**

This study included to investigate the action of *Lacto bacilli* which isolated from raw cow milk were collected from local markets in Al- Diwaniyia province ,and study the effect of these bacteria 0n diarrhea causing bacteria .

A total of (100) samples , of study and isolated (12) sample from lactobacillus sp , for the antimicrobial activity of the isolated lactobacillus sp were used against on some diarrhea causing bacteria ( *Escherichia coli ,Salmonella sp. ,Shigella sp ., Proteus sp . and Klebsiella sp.)* using disk assay method .

In conclusion , lactobacillus sp appear antimicrobial activity in vitro against the tested indicator bacteria and have better antimicrobial activity at cancentration of $10^{7}$cfu/ml.

Key words/ inhibitory effect ,lactobacillus sp , diarrhea causing bacteria.