دراسة فعالية التضادية لبكتريا *Bacillus circulans* في نمو بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* خارج الجسم الحي (in vitro) وضد تأثيراتها المرضية داخل الجسم الحي (in vivo) .

بسعاد عبد زيد* ، عدنان وحيد و سعاد محمد*****

*كلية العلوم/ الكوفة ، **كلية الطب/ القادسية ، ***كلية العلوم/ الكوفة.

الخلاصة

تضمن البحث دراسة الفعالية التضادية لبكتريا *B. circulans* في نمو بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* خارج الجسم الحي (in vitro) وقدرتها المرضية في داخله (in vivo). وقد أظهرت النتائج وجود مؤشرات ايجابية للبكتريا *B.circulans* تمثلت في قدرة هذه البكتريا على تثبيط نمو البكتريا المرضية *P.aeruginosa* في الوسط ألزرعي بكفاءة عالية وأكدت هذه النتائج قدرة البكتريا في توفير حماية للحيوانات المعاملة وعلى مدار سبعة أيام من خلال المحافظة على معايير الدم الفسلجية وضمن الحدود الطبيعية في أنسجة الكبد والكلية في الوقت الذي أظهرت فيه انحرافات كبيرة في معايير الدم الفسلجية عن الحدود الطبيعية مع وجود تغايرات نسجية في الأعضاء المدروسة للحيوانات المعاملة بالبكتريا *P.aeruginosa*.

المقدمة

نالت البكتريا أهمية كبيرة بسبب نموها وتكاثرها وقدرتها على تفكيك أنواع مختلفة من المواد الطبيعية الموجودة في الطبيعة (المصلح والحيدري،١٩٨٤)، فمثلا يتضمن جنس *Bacillus* سلالات تشكل جزاء مهما من الإحياء المجهرية الصناعية، لاسيما في إنتاج الإنزيمات، فضلا عن دورها في حقل الإحياء المجهرية، فقد طورت هذه السلالات من خلال استراتيجيات حديثة مؤثرة أهمها تقنيات الهندسة الوراثية إذ ازدادت قدرتها على النمو السريع خلال الدورات التخمرية بأوقات قصيرة وزيادة إنتاج البروتينات الأمر الذي سهل من استخدامها في حقل الصناعات الدوائية والغذائية هو خلو غالبية سلالاتها من القدرة الامراضية (Schallmey et al.,2004).ومن الأنواع العائدة لهذا الجنس ذات أهمية طبية بكتريا *Bacillus cereus* التي تسبب التسمم الغذائي وبكتريا *B.anthracis* المسؤولة عن مرض الجمرة الخبيثة جعلت الكثيرين يتوجسون الخشية من مدى تأثير هذه البكتريا صحيا في الإنسان والحيوان، لذلك هدف هذا البحث لتقييم الكفاءة التثبيطية لبكتريا *B.circulans* في نمو بكتريا *P.aeruginosa* داخل وخارج أجسام الحيوانات ولغرض الاستفادة من هذه البكتريا في مجالات أخرى من خلال تقييم كفاءتها التثبيطية في نمو البكتريا *P.aeruginosa* داخل وخارج أجسام الحيوانات الاختبارية تم تنفيذ عدد من التجارب وكالاتي :-

١- اختبار القدرة التثبيطية لبكتريا *B.circulans* ضد البكتريا *P.aeruginosa* في الوسط ألزرعي

٢- اختبار كفاءة البكتريا *B.circulans* في توفير حماية من التأثيرات المرضية لبكتريا *P.aeruginosa* داخل الجسم الحي وشملت

أ- التأثيرات الفسلجية:

-معدل ترسيب كريات الدم الحمر (E.S.R)

-معدل التعداد الكلي لخلايا الدم البيض(W.B.Cs)

-مكداس الدم (P.C.V)

-تركيز الهيموكلوبين (Hb).

ب- التأثيرات النسجية:

دراسة التأثيرات في أنسجة الكبد و الكلية.

المواد وطرائق العمل

الإحياء المجهرية المستعملة:

١- عزلة البكتريا *B.circulans* : تم الحصول عليها من مختبر بحوث الإحياء المجهرية – قسم علوم الحياة – كلية العلوم –جامعة الكوفة ،وقد كانت مشخصة تشخيصا أوليا وتم التأكد بعد إجراء الاختبارات اللازمة التي شملت الخصائص المظهرية والمجهرية والفحوصات الكيموحيوية.

٢- بكتريا *P.aeruginosa* : تم الحصول عليها من مختبر مستشفى الحكيم العام في النجف ألأشرف، وقد

كانت مشخصة تشخيصا أوليا وتم إجراء ألاختبارات اللازمة للتأكد منها وهذه الاختبارات شملت الخصائص المظهرية والمجهرية والفحوصات الكيموحيوية.

*** الاختبارات التشخيصية التأكيدية لنوعي البكتريا**

تم تنشيط نوعي البكتريا بنقل عدد من المستعمرات لكل نوع من البكتريا إلى أنابيب حاوية على وسط سائل، حضنت الأنابيب لمدة ٢٤ ساعة عند درجة حرارة ٣٧°م، ثم نقل ٠.١ من المزروع البكتيري إلى أنابيب حاوية على ٩ مل من محلول الملح الفسلجي وأجريت له سلسلة من التخافيف واخذ من التخفيف 10^{-6} ٠.١ مل ونشر في إطباق بتري حاوية على الوسط ألزرعي الصلب الملائم وحضنت عند درجة حرارة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة. وبظهور النمو البكتيري لنوعي البكتريا تم دراسة الخصائص المزرعية والمجهرية بعد أن تم تصبيغ الخلايا البكتيرية بملون غرام.

الاختبارات الكيموحيوية

تم إجراء سلسلة من الاختبارات الكيموحيوية لنوعي البكتريا وكالاتي:

-اختبار الاوكسيديز(Oxidase test) وضعت بضعة قطرات من كاشف الاوكسيديز المحفز على ورقة ترشيح ثم نقلت كمية قليلة من المستعمرة بوساطة العروة (Loop) فوق ورقة الترشيح، وعد تلون المستعمرات بلون بنفسجي بعد (١٠) ثوان دليل على النتيجة الموجبة (Macfaddin, 2000).

- اختبار الكاتليز (Catalase test): وضعت كمية من مزرعة بكتيرية بعمر (٢٤) ساعة بوساطة Loop في شريحة زجاجية نظيفة ومن ثم مزجت ببضع قطرات من محلول H_2O_2 بتركيز (30%)، إن تكون فقاعات هوائية على الشريحة الزجاجية يعد دليلا على النتيجة الموجبة (Macfaddin, 2000).

-اختبار تحلل الدم (Blood hemolysis test): لقح وسط الدم الصلب بالبكتريا ثم حضنت الأطباق عند درجة حرارة(٣٧°م) ولمدة (٢٤) ساعة، إن ظهور مناطق خضر حول المستعمرات يعد دليلا على التحلل من نوع (ألفا) أي (تحلل جزئي) أما ظهور مناطق شفافة حول المستعمرات النامية فهو تحلل من نوع (بيتا) (Beta hemolysis) أي (تحلل كامل) (Collee et al.,2000)

-اختبار استهلاك السترات (Citrate utilization): خُطِّطَ وسط السترات بالبكتريا وحُضِّنَ عند درجة حرارة (٣٧°م) ولمدة (٢٤) ساعة وكانت النتيجة موجبة بتحول لون الوسط من الأخضر إلى الأزرق (Collee et al.,1996).

- اختبار الحركة (Motility test): لقحت الأنابيب الحاوية وسط الحركة بالبكتريا (بوساطة الطعن) حضنت الأطباق عند درجة حرارة(٣٧°م) ولمدة (٢٤) ساعة، إن انتشار النمو البكتيري خارج حدود الطعن دليل على قابلية البكتريا على الحركة (Collee et al.,1996).

- اختبار تخمر السكريات (Sugar fermentation test): لقحت أنابيب وسط السكريات المختلفة بالمزروع البكتيري وحضنت بدرجة حرارة(٣٧°م) على مدى (٢٤) ساعة وتعد النتيجة موجبة عند تحول لون الوسط من اللون الأحمر إلى اللون. أما دلالة النتيجة الموجبة على إنتاج الغاز فهي تكون فقاعات غازية في أنبوبة درهام (Macfaddin,2000).

-اختبار(Lecithinase): تم تحضير (١٠٠ مل) من الوسط ألزرعي المغذي Nutrient agar حسب تعليمات الشركة المصنعة وعقمت بالمؤصدة بدرجة حرارة (١٢١م) وضغط (١ جو) و لمدة (٢٠) دقيقة، (Collee et al.,1996). بعدها برد الوسط في حمام مائي إلى درجة (٤٥°م) ثم سحب (٥ مل) من مح بيضة عقمت قشرتها بواسطة كحول أثيلي، باستخدام إبرة معقمة ووضعت مع الوسط ألزرعي، ورجت محتوياتها جيداً بعدها صبت في أطباق بتري وتركت لتبرد ثم لقحت بمزرعة بكتريا *B. circulans* عمرها (٢٤) ساعة وحضنت الأطباق بدرجة حرارة (٣٧°م) ولمدة (٢٤) ساعة، في حال إيجابية الاختبار تتكون مناطق رائقة في الوسط (Macfaddin,2000).

- اختبار الاندول Indol production test: لقحت الأنابيب الحاوية على وسط ماء الببتون بالبكتريا ثم حضنت بدرجة حرارة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة بعدها اضيفت بضعت قطرات من كاشف كوفاكس إلى كل أنبوبة، إن ظهور حلقة

حمراء على الوسط دلالة على النتيجة الموجبة (Macfaddin,2000).

-اختبار أنتاج إنزيم اليوريز Urease production test: خطط وسط اليوريا المائل بالبكتريا وحضن عند درجة حرارة ٣٧°م لمدة ١-٧ أيام، إن تغيير لون الوسط من الأصفر إلى الأحمر دلالة على النتيجة الموجبة (Macfaddin,2000).

-اختبار الفوكس بروسكاور Voges- proskauer test: لقح الوسط (MR – VP) بالبكتريا وحضنت الأنابيب عند درجة حرارة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة، بعدها تم إضافة كاشف الفوكس بروسكاور، إذ أضيف ٠.٦ مل من كاشف A و٠.٢ مل من كاشفB، إن تغيير لون الوسط إلى الأحمر بعد مرور ٢-٥ دقائق دليلا على ايجابية الاختبار (Macfaddin,2000).

تقييم الكفاءة التثبيطية للبكتريا *B.circulans* في نمو البكتريا *P.aeruginosa* داخل وخارج الجسم:

١- اختبار فعالية البكتريا *B.circulans* في نمو بكتريا *P.aeruginosa* باستعمال طريقة أقراص الاغار .اعتمدت طريقة (Kuman et al.,1994)

٢-اختبار فعالية البكتريا *B.circulans* في التأثيرات المرضية لبكتريا *P.aeruginosa* داخل أجسام الجرذان.

تم تهيئة ١٢جرذ قسمت إلى أربع مجموعات وبواقع ثلاث حيوانات لكل مجموعة عوملت كالأتي:

١- المجموعة الأولى حقنت تحت الصفاق بـ ١ مل من عالق البكتريا *P.aeruginosa* لمدة أسبوع.

٢- المجموعة الثانية حقنت تحت الصفاق بـ ١ مل من عالق البكتريا *B.circulans* لمدة أسبوع.

٣- تم حقن المجموعة الثالثة تحت الصفاق بعالق البكتريا *P.aeruginosa* وبمعدل ١ مل لكل حيوان Collee (et al.,1996). وتركت لمدة ٢٤ ساعة بعد ذلك حقنت تحت الصفاق بـ ١ مل من عالق البكتريا *B.circulans* كل ٤٨ ساعة لمدة أسبوع.

٤- المجموعة الرابعة حقنت بمحلول الملح الفسلجي وبواقع ١مل/ حيوان لغرض المقارنة.

وتم متابعة الحيوانات لمدة أسبوعين ثم ضحى بالحيوانات بعد إن خدرت باستعمال الكلوروفورم وشرحت، واستأصل كل من الكبد والكلية لكل حيوان ثم غسلت جيدا بالمحلول الملحي الفسلجي بعدها ثبتت بالفورمالين ١٠% لحين إجراء الفحوصات الفسلجية والنسجية.

الاختبارات الفسلجية للدم

أ- معدل ترسيب كريات الدم الحمر (E.S.R) حسب طريقة(Brown (١٩٧٦.

ب- معدل التعداد الكلي لخلايا الدم البيض(W.B.Cs) حسب طريقة(١٩٧٦)Brown.

ج- مكداس الدم (P.C.V) حسب طريقة (١٩٧٦)Brown.

د- تركيز الهيموكلوبين (Hb).اعتمدت طريقة(١٩٩٢) سود.

الفحص النسيجي

حضرت المقاطع النسيجية للأعضاء المستأصلة (كلية والكبد) وقد اتبعت طريقة (Bancroft and Stevens,1982).

النتائج والمناقشة

١- تشخيص بكتريا *B. circulans*:

١-الوصف المزرعي لمستعمرة بكتريا *B. circulans*:

ظهرت مستعمرات بكتريا *B. circulans* المنماة في الوسط المغذي (Nutrient agar) بشكل مستعمرات دائرية كبيرة ملساء ناعمة ذات حافة مستديرة و لون أبيض تبني ومائلة إلى التبني الداكن بتقادم عمر المستعمرة أي بعد (٤٨-٧٢) ساعة و تراوح قطر المستعمرة بين(٢-٥ ملم)، وهذا يتطابق مع ما جاء به (Collee et al.,1996) وكما مبين في الجدول(١).

٢-الوصف ألمجهري لبكتريا *B. circulans* :

أظهرت نتائج الفحص ألمجهري للشرائح المثبتة والمصبوغة بملون غرام لمستعمرة بكتريا *B. circulans* أنها بكتريا موجبة لملون غرام عصوية الشكل و تمتلك سبوراً بيضوياً مركزي الموقع، وهي عصيات مفردة لا تتجمع إلا نادراً بشكل سلاسل وهذه الصفات متطابقة تماماً مع ما ورده (Collee et al.,1996; Macfaddin,2000) وكما مبين في الجدول(١).

٣- التشخيص التأكيدي لبكتريا*P.aeruginosa*

كانت نتائج الاختبارات التشخيصية التأكيدية (الخصائص الزرعية والمجهرية والاختبارات الكيموحيوية) لعزلة البكتريا *P.aeruginosa* مطابقة لما ذكره (Collee et al.,1996; Macfaddin,2000) وكما مبين في الجدول(١).

جدول(١)

الاختبارات التشخيصية لنوعي البكتريا *B. circulans* و *P.aeruginosa*.

ت	نوع الاختبار	*B. circulans*	*P.aeruginosa*
١	ملون غرام	+	–
٢	إنتاج الاندول	+	–
٣	فحص فوكس بروسكاور	–	–
٤	إنزيم الكاتليز Catalase	+	+
٥	إنزيم تحلل اليوريا urease	–	–
٦	إنزيم الاوكسيديز oxidase	+	+
٧	الحركة	+	+
٨	كلوكوز	+	+
٩	سكروز	+	–
١٠	مالتوز	+	+
١١	فركتوز	+	+
١٢	مانيتول	–	–
١٣	Lecithinase	–	+
١٤	استهلاك السترات	+	+
١٥	تكوين السبور	+	–

L.S.D= 411.65

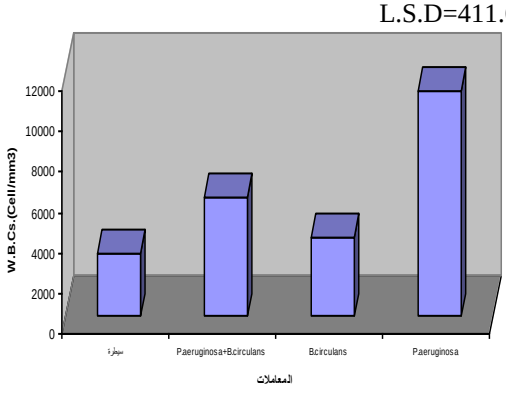
اختبار كفاءة بكتريا *B.circulans* في تثبيط نمو بكتريا *P.aeruginosa* باستخدام طريقة أقراص الاكار في الوسط ألزرعي.

برهنت النتائج على قدرة بكتريا *B.circulans* في تثبيط نمو بكتريا *P.aeruginosa* فقد بلغ معدل أقطار التثبيط (١٣) ملم .فقد تكون بكتريا *B.circulans* قد أنتجت بعض المركبات التي عملت على تثبيط البكتريا *P.aeruginosa* فقد أكد Todar (٢٠٠٥) إن بكتريا *B.circulans* قادرة على إنتاج المضادات الحياتية مثل المضاد الحياتي circulin ذو التأثير في أنواع أخرى من البكتريا .

التأثيرات الفسلجية لدى الحيوانات (الجرذان) المصابة ببكتريا *P.aeruginosa* والمعاملة ببكتريا*B.circulans* .

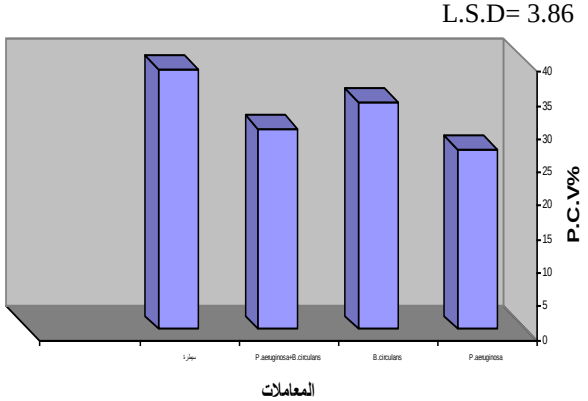
أشارت النتائج (شكل ١)إلى وجود ارتفاع معنوي في التعداد الكلي لخلايا الدم البيض عند الجرذان المعاملة بعالق البكتريا *P.aeruginosa* (١١٢٠٠) خلية/ملم^3 بالمقارنة مع السيطرة(٣١٠٠) خلية/ملم^3، هذا يشير إلى وجود التهابات بكتيرية شديدة في أنسجة الجسم المختلفة نتيجة لإفراز البكتريا سموما مختلفة التي تؤثر في خلايا نسيج الدم والأعضاء الأخرى لإفرازها السموم المؤثرة على كريات الدم البيض أو عملت البكتريا على التقليل من الفعالية الالتهامية للخلايا العدلة إذ تمتاز بكتريا *P.aeruginosa* بتكوينها الطبقة المخاطية التي تساهم في حماية البكتريا من الجفاف والحرارة ومقاومة الخلايا البلعمية، وتساعدها على الالتصاق بسطوح الخلايا الطلائية (Baron,١٩٨٦). أما بالنسبة للمجاميع الثانية والثالثة فقد كانت هناك فروق معنوية فيما بينهما (٣٩٠٠و٥٢٠٠) خلية/ملم^3 على التوالي مقارنة مع معاملة السيطرة التي بلغت ٣١٠٠ خلية/ملم^3 ، ويؤكد هذه النتيجة هو عدم حصول حالة تجرثم الدم (Bactermia) أو أي تأثيرات مرضية في الأعضاء والأنسجة للحيوانات المعاملة.

L.S.D=411.65



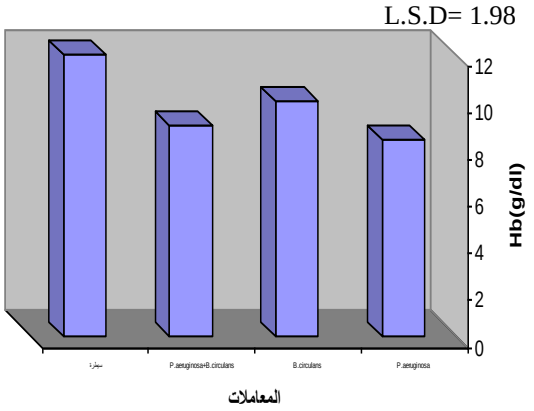
شكل (١) : تاثير المعاملات الاربعة في معدل التعداد الكلي لخلايا الدم البيض (W.B.Cs Cell/mm3).

أوضحت النتائج (شكل٢) وجود فروق معنوية المجموعة(١) المعاملة بالبكتريا *P.aeruginosa* ومجموعة السيطرة(٤) في قيم مكداس الدم (P.C.V) حيث كانت(٣٩,٢٧) على التوالي بسبب السموم والإنزيمات التي تفرزها البكتريا *P.aeruginosa* التي قد عملت على تحليل خلية الدم أو أنها أثرت في مجموعة الإنزيمات المهمة في تكوين سلسلة الهيموكلوبين ومن أهم تلك الإنزيمات Hemeoxygenase وان توقف عمل هذا الإنزيم يعمل على تحطيم خلايا الدم وتحويلها إلى مادة Bilirubin وهذا يشير إلى حدوث حالة فقر الدم لدى الحيوانات المعاملة بالبكتريا المرضية فقط (Nowak and Handford,2004).أما المجموعة الثانية والثالثة فقد أظهرتا فرقا معنويا بينها والمجموعة الأولى مقارنة بمجموعة السيطرة (٤)(٣٠,٣٤) وهما ضمن المدى الطبيعي مقارنة مع المجموعة (١) ومجموعة السيطرة(٤)وهذا يدل على إن البكتريا*B.circulans* قللت من التأثيرات المرضية للبكتريا *P.aeruginosa* .



شكل (٢): تأثير المعاملات في معدل مكداس الدم P.C.V% للحيوانات المعاملة.

أشارت النتائج في الشكل(٣) إلى وجود انخفاض معنوي في تركيز الهيموكلوبين الكلي للدم (Hb) فقد كانت(٨.٤) g/dl بالنسبة للحيوانات المعاملة بعالق البكتريا *P.aeruginosa* ومجموعة السيطرة، إذ إن البكتريا *P.aeruginosa* تعمل على إفراز إنزيمات وسموم تسبب تحطيم غشاء كرية الدم أو تغير النفاذية وبالتالي أثرت في تكوين خلايا الدم الحمر من خلال التأثير في انقسام أمهات خلايا الدم الحمر المتواجدة في نخاع العظم (Nowak and Handford,2004).ولم يلاحظ وجود فرق معنوي في معدل قيم الهيموكلوبين لدى الحيوانات المعاملة بعالق البكتريا *B.circulans* فقط مقارنة مع مجموعة السيطرة.



شكل (٣) : تأثير المعاملات في معدل الهيموكلوبين Hb(g/dl).

برهنت النتائج (شكل ٤) وجود ارتفاع معنوي في معدل ترسيب كريات الدم (E.S.R) لدى الحيوانات المعاملة بعالق البكتريا *P.aeruginosa* إذ بلغت (٩) hr/mm مقارنة مع معاملة السيطرة (٣.٦)hr/mm وذلك بسبب قدرة البكتريا *P.aeruginosa* على إنتاج سموم أو إنزيمات أثرت على خلايا الدم مسببة ارتفاع قيمة(E.S.R) أو أنها عملت على

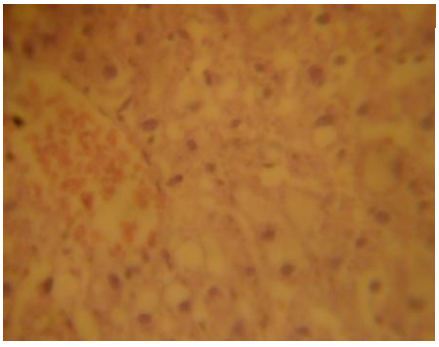
التقليل من لزوجة سائل الدم أو من خلال طرحها السم الخارجي الذي يعمل على تثبيط عملية تخليق البروتينات. أما نتيجة المجموعة المعاملة ببكتريا *B.circulans* فقط فكانت hr/mm(٥) وهي ضمن الحدود الطبيعية.

فبكتريا *B.circulans* بإنتاجها لهذا الإنزيم تساعد على التهام بكتريا *P.aeruginosa* من قبل الخلايا البلعمية احد مكونات الجهاز المناعي لجسم الحيوان.

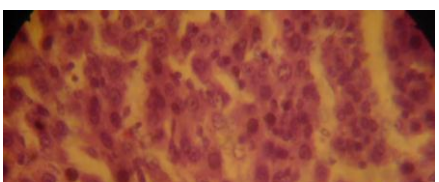
شكل (٤) : تأثير المعاملات في معدل ترسيب كريات الدم الحمر E.S.R (mm/hr).

التغيرات النسجية لدى الحيوانات المصابة ببكتريا *P.aeruginosa* والمعالجة ببكتريا *B.circulans*:

أظهرت نتائج الفحوصات النسجية لأعضاء الكبد والكلية للحيوانات المعاملة بالبكتريا *P.aeruginosa* وجود تغيرات نسجية ففي الكبد لحظت وجود تجمع لخلايا لمفية بين الخلايا الكبدية كذلك حصول تحلل في سايتوبلازم الخلايا الكبدية فضلا عن حدوث احتقان في الأوعية الدموية (شكل ١ –A). أما في الكلية فقد لحظ وجود احتقان في الأوعية الدموية فضلا عن حصول انكماش أو ضمور في تركيب بعض الكبيبات (شكل ٢ – A) ولم يلحظ وجود تغيرات نسيجية في الكبد والكلية لحيوانات المجموعتين (٣,٢) وكذالك مجموعة السيطرة (٤) (شكل ١ -D-C-B) و(شكل ٢ -D-C-B) ويمكن تفسير عدم تأثر أنسجة أعضاء الحيوانات المعاملة بالبكتريا المرضية والبكتريا *B.circulans* هو قدرة البكتريا *B.circulans* على توفير حماية للحيوانات المعاملة فضلا عن عدم قدرتها على إحداث إصابات بكتيرية داخل الجسم. حيث أن بكتريا *B.circulans* تفرز إنزيم Alginase الذي يقوم بتحليل مادة Alginate المكون الرئيسي للمادة المخاطية التي تفرزها بكتريا *P.aeruginosa*حولها لتحميها من عملية البلعمة وبالتالي



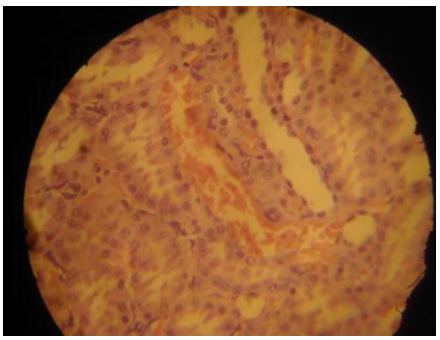
A

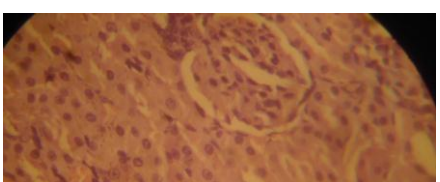


B

شكل (١):مقطع في نسيج الكبد لجرذ ابيض تم حقنه بـ
(A) بكتريا P.aeruginosa حصول تحلل في سايتوبلازم الخلايا الكبدية.
(B) بكتريا B.circulans.
(C)P.aeruginosa + B.circulans.
(D) معاملة السيطرة.

شكل (٢):مقطع في نسيج الكلية لجرذ ابيض تم حقنه بـ
(A)بكتريا P.aeruginosa وجود احتقان في الاوعية الدموية.
(B) بكتريا B.circulans.
(C)P.aeruginosa+B.circulans.
(D) معاملة السيطرة.





A

المصادر

[١] سود، رمنيك (١٩٩٢). تقنية المختبر الطبي: طرائق وتفسيرات. ترجمة د.صالح خميس، د.عبدالرزاق جبار، د.باقر عبيس.وزارة التعليم العالي والبحث العلمي بغداد ـ العراق.

[٢] المصـــلح، رشـيد محجـوب والحيـدري، نظـام كـاظم (١٩٨٤).علـم احيـاء التربـة المجهريـة، مطـابع التعلـيم العالي. جامعة بغداد.

[3] Baron, S. (1986). Medical Microbiology. 2nd. ed. Addison-Wesley Publishing Company California-U.S.A.

[4] Brown, B.A. (1976). Hematology: Principles and procedures.2nd.ed.,Lea and Febiger, Philadelphia.

[5] Bancroft, J.D. and Stevens, A. (1982). Theory and practicice of histological techniques. Churchill Living stone, New York. 117.

[6] Collee, J.G., Fraser, A.G.; Marmion, B.P.and Simmons, A. (1996). Practical Medical Microbiology .14th ed. Churchill Livingstone, USA.

[7] Hansen, J.B; Doubet, R.S. and Ram,J. (1984). Alginase Enzyme Production by *Bacillus circulans.* Applied And Environmental Microbiology. Apr. 1984. P 704-709.

[8] Gordon, R.E. (1977). some taxonomic observations on the genes *Bacillus*. In:Briggs JB ed. Biological regulations of vectors: The saprophytic and aerobic bacteria and fungi.: Washington, DC,US Department of Health, Education and welfare, pp67-82 (publication NIH77-1180).

[9] Kuman, H; Tamachika ,Matunaga, T.; Ogawa, M.and Ohmori, H. (1994). Asandwich cup method for the penetration assay of antimicrobial agents through *Pseudomonas* exopolysaccharides Microbial. Immunol., 38:615-619.

[10] Macfaddin, J.F (2000). Biochemical test for identification of medical bacteria .The Williams and wilkins Co.USA.

[11] Nowak; T; J. and Handford, A.g. (224). Textbook of pathophysiology.3rd .ed. McGraw Hill. USA.

[12] Richard, A. H.and Neal, L.S. (1998). Alginatw lyase promotes diffusion aminoglycosides through the extracellural polysaccharide of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* .Antimicrob - Agents-Chemother., 42 (4) : 974-977.

[١٣]Schallmey, M.; Ajay, S. and Owen, P. (2004). Developments in the use of *Bacillus* species fpr industrial production. Can. J. Microbiol. 50:1-17.

Abstract

This study was designed to investigate the inhibitory activity of *B. circulans* on the growth of *P.aeruginosa* and their pathogenecity in vivo and in vitro. The results showed positive results for the *B. circulans* represented by the ability of this bacteria on inhibiting the growth of *P. aeruginosa* on culture media in highly efficiency ,study also showed ability of *B. circulans* to provide the protection for the treated animals for the duration of seven days, where it showed no significant changes on the physiological blood parameters, and the absence of histological changes in liver and kidney tissues ,whereas there was significant changes in physiological blood parameters and histological changes in liver and kidney tissues as compared with normal values in treated animals with *P. aeruginosa*.