

تأثير استخدام جراثيم البيفيدوباكتريم في الجبنة في النظام الغذائي للهمستر في تعداد جراثيم الكولي فورم

عبير يوسف¹ و ماهر صالح² و محمد قباوي³

¹قسم الصحة العامة والطب الوقائي، كلية الطب البيطري، جامعة حماة، سوريا و²قسم الصحة العامة والطب الوقائي، كلية الطب البيطري، جامعة حماة، سوريا و³قسم الامراض الباطنة، كلية الطب البيطري، جامعة الفرات، سوريا.

*Corresponding author: dr.abeer988@gmail.com

استلام البحث : 21 / 10 / 2020 وقبول النشر : 12 / 11 / 2020

الخلاصة

تعد البيفيدوباكتريم (*Bifidobacterium*) من بين الأنواع الأولى التي تستعمر القناة المعوية، وتلعب دوراً بارزاً في التوازن الجرثومي المعوي، وتستخدم في العلاج والوقاية من الجراثيم الممرضة، وتستخدم كمكملات غذائية بروبيوتيك بالإضافة إلى خصائصها السريرية في منع الإسهال، والوقاية من متلازمة القولون العصبي. يهدف البحث إلى دراسة تأثير البيفيدوباكتريم المعطاة بالجبنة على تعداد جراثيم القولونيات (coliform). استخدم الهمستر السوري في التجربة حيث وزعت الحيوانات عشوائياً في مجموعتين مختلفتين (n=5) المجموعة الأولى: شاهد لم تعطى البيفيدوباكتريم، المجموعة الثانية: أعطيت البيفيدوباكتريم بالجبنة، أجريت التجربة لمدة 4 أسابيع أعطيت خلالها الجبنة للهمستر، ثم جمع البراز عند نهاية كل أسبوع ومدد بمحلول ملحي تركيز 0.9%، ثم زرع على المنابت الانتقائية MRS Agar تمييزي للبيفيدوباكتريم و VRB Agar تمييزي لجراثيم القولونيات. بدأ تعداد البيفيدوباكتريم بالارتفاع عند نهاية الأسبوع 1 واستمر بالارتفاع حتى نهاية الأسبوع 4، بينما بدأ تعداد جراثيم القولونيات بالإنخفاض حتى نهاية الأسبوع 2 ثم بدأ بالارتفاع حتى نهاية الأسبوع 4. وبعد تحليل البيانات إحصائياً تبين أن قيمة الاحتمالية (P < 0.05). الكلمات المفتاحية: جراثيم البيفيدوباكتريم، جراثيم الكولي فورم، همستر، جبنة.

The influence of using Bifidobacterium germs in cheese in the diet of hamster on coliforms germs count

Abeer Yousuf^{1*}, Maher Saleh² and Mohammad Qabbawi³

^{1,2}Department of Public Health and Preventive Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Hama, Syria and ³Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Alfortat, Syria.

*Corresponding author: dr.abeer988@gmail.com

Received: 21 / 10 / 2020; Accepted: 12 / 11 / 2020

Abstract

Bifidobacterium is among the first species to colonize the intestinal tract, and it plays a prominent role in the intestinal microbial balance, and is used in the treatment and prevention of pathogenic bacteria, and is used as a probiotic nutritional supplement in addition to its clinical properties in preventing diarrhea and preventing irritable bowel syndrome. The aim of the research is to study the effect of bifidobacterium given with cheese on the coliform bacterial count. The Syrian hamster was used in the experiment where the animals were randomly distributed into two different groups (n=5). The first group: control did not give bifidobacterium, the second group: Bifidobacterium was given with cheese, the experiment was conducted for 4 weeks during which the cheese was given to the hamster, then the stool was collected at the end of each week and the saline solution was added by concentration 0.9%. Then selectively cultured on MRS Agar for selective isolation of bifidobacterium and VRB Agar is used for selective isolation of coliform bacteria. The count of bifidobacterium began to increase at the end of Week

1 and continued to increase until the end of Week 4, while the count of coliform bacteria began to decrease until the end of Week 2 and then began to increase until the end of Week 4. After analyzing the data statistically, the probability value was found ($P < 0.05$).

Keywords: Bifidobacterium, Coliform, Hamster, Cheese.

المقدمة

تعد البيفيدوباكتريم (*Bifidobacterium*) من بين الأنواع الأولى التي تستعمر القناة المعوية، والتي تتراوح بين (25 % و 80 % لدى البالغين و الأطفال الرضع على التوالي)، وبالتالي تلعب دوراً بارزاً في توازن الأمعاء و التطور الطبيعي، بالإضافة إلى خصائصها السريرية مثل منع الإسهال ومتلازمة القولون العصبي، والتخفيف من الإمساك وخفض الكولسترول (Kumar et al., 2012)، وزيادة تعداد البيفيدوباكتريم (*Bifidobacterium*) في الأمعاء يؤدي إلى كبح نمو القولونيات المعوية (coliforms intestinal) (Khedkar et al., 1994)، وقد تم تسجيل انخفاض كبير في تعداد القولونيات عند استخدام المعالجة بالبروبيوتيك (probiotics) المنتمية إلى جنس البيفيدوباكتريم (*Bifidobacterium*) (Del et al., 2012) (Piano)، وبذلك تعد البيفيدوباكتريم مكملات غذائية ميكروبية تؤثر بشكل مفيد في المضيف عن طريق تحسين التوازن الميكروبي في الأمعاء، وهي تحسن مكونات الأغذية الوظيفية حيث استخدمت علاجياً لمنع الإسهال، وتحسن من تحمل اللاكتوز ولها القدرة على منع السرطان (Kaur et al., 2002)، وكذلك تعديل الاستجابات المناعية للمضيف والحماية من الأمراض المعدية عن طريق إنتاج الخلات (Fukuda et al., 2011)، وتخفف من التهاب الأمعاء والإسهال (Trejo et al., 2013)، ولها تأثير إيجابي على امتصاص الغذاء (Kuznetsova et al., 2012)، وأن تكون المجموعة الأكثر وفرة من بين الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في الأمعاء سمة هامة في كبح الميكروبات الأخرى (Saavendra et al., 1994)، لأن آلية التثبيط لها علاقة بإنتاج الأحماض (الخل و اللبن)، بالإضافة إلى أن بعض أنواع البيفيدوباكتريم تفرز مواد مضادة للميكروبات bacteriocin أو قاتلة للجراثيم مع طيف واسع من النشاط تجاه البكتيريا إيجابية الغرام وسلبية الغرام (Gibson and Wang, 1994)، وهي مقاومة للصادات الحيوية (Lim et al., 1993)، كما تنتج مواد بوليمرية تزيد من استعمارها للمنطقة المعوية فتقلل من التصاق الجراثيم في غشاء الجدار المعوي وتنتج مواد مضادة للأكسدة (Kanmani et al., 2013). كما أن جراثيم القولونيات تعد من أبرز الجراثيم المعوية و تستخدم كمؤشر عام للحالة الصحية للمياه والأغذية (Feng et al., 2002).

هدف البحث تقييم فعالية البيفيدوباكتريم *Bifidobacterium* عند إعطائها بالجبنة في الحد من نمو القولونيات.

المواد وطرائق العمل

حيوانات التجربة :

أخذ 10 من الهامستر بنفس العمر (2-3 شهور) والجنس (ذكور) و الوزن من مركز حيوانات أليفة وتم توزيعها بشكل عشوائي في مجموعتين (التصميم العشوائي التام) كل مجموعة تحوي 5 من الهامستر.

التغذية :

فترة تأقلم مدتها أسبوع حيث غذيت المجموعتين على نظام غذائي يحوي علف مركب وبنودرة وخيار ولا يحوي جراثيم البيفيدوباكتريم ونظام اضاءة 12/12 ساعة ودرجة حرارة وسطية 25 م (Chiu et al., 2006).

تحضير الجبنة : (خلالية وظيفور 2011)

تصفية الحليب وتنقيته من الشوائب

بسترة الحليب (72 م° مدة 15 ثانية)

تبريد الحليب بسرعة إلى درجة حرارة 37 م°

إضافة البيفيدوباكتريم تعداد 10^9 cfu /مل حليب بنسبة 1%

إضافة المنفحة بنسبة 0.25 غ لكل 10 كغ حليب

التحضير في درجة حرارة 37 م° مدة 40 دقيقة بحيث يحدث التخثر

تقطع الخثرة وتترك مدة 15 دقيقة

صرف المصل

وضع الخثرة في قطعة قماش معقم وتكبس حتى يتوقف رشح المصل

تقطع الجبنة إلى قطع صغيرة وزن كل منها 1 غ

تحفظ في درجة حرارة 15 م ° (Sharareh and Memahon, 1992).

المجموعات :

المجموعة الأولى شاهد لم تعطى البيفيدوباكتريم
المجموعة الثانية تعطى الجبنة الحاوية على البيفيدوباكتريم بمقدار 1 غ يومياً لمدة 4 أسابيع .

جمع العينات :

عُقمت الأقفاس قبل 16 ساعة من جمع العينات وجفقت حيث تم جمع عينات البراز مرّة أسبوعياً لكل مجموعة على التوالي وذلك في نفس الوقت للمجموعتين، وضع 1 غ من العينة لكل مجموعة في 9 مل محلول ملحي تركيز 0.9% ، ثم تمت مجانسته ثم أخذ 1 مل من المحلول ومدد بأنابيب تحوي محلول ملحي 9 مل تركيز 0.9% ، ثم أخذ 0.1 مل من كل أنبوب وزرع على المنبت التمييزي للبيفيدوباكتريم MRS Agar (لاهوائياً على 37 م ° مدة 48 ساعة) من أجل التعداد (Juang *et al.*, 2000) ، وكذلك على المنبت التمييزي لجراثيم القولونيات VRB Agar (Yousef and Carlstrom, 2003) (هوائياً على 37 م ° مدة 24 ساعة) .

التأكد من أنها البيفيدوباكتريم و القولونيات :

البيفيدوباكتريم ذات لون غير شفاف و شكل محدب دائري في الظروف اللاهوائية معظم المستعمرات قريبة من السطح و قليل منها تحت السطح و بحجم أصغر وهذا يطابق وصف (Dubey and Mistry, 1996) ، الاختبارات الكيميائية التي استخدمت لتحديد جنس البيفيدوباكتريم هي صبغة غرام لتحديد الخواص الشكلية واختبار الكاتالاز والأوكسيداز (Saubusse, 2007) حيث كانت النتائج ايجابية الغرام لها شكل y وسلبية الكاتالاز و الاوكسيداز .
مستعمرات القولونيات النامية ذات لون أحمر أرجواني ومحاطة بهالة بنفسجية ناتجة عن ترسيب أملاح الصفراء (Hennssy and others 1996) ، لها شكل عصوي سلبية الغرام .

- تم حساب عدد البكتيريا في كل غرام من البراز وتم تحويلها إلى مكافئ لوغاريتمي .

التحليل الإحصائي : حلت النتائج إحصائياً باستخدام اختبار T ستودنت للعينات المستقلة Independent Samples T-Test حيث قيمة الاحتمالية $P < 0.05$ ومستوى المعنوية ألفا 0.05 عند المقارنة بين مجموعة الشاهد ومجموعة الجبنة ضمن نفس الاسبوع .

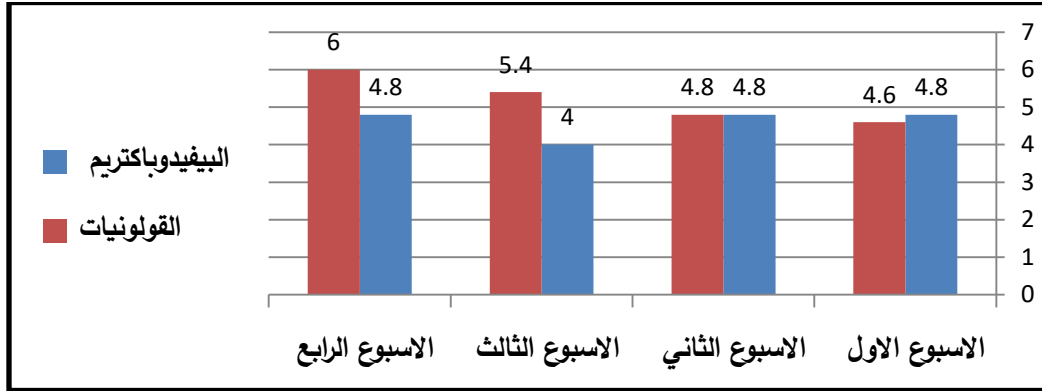
النتائج و المناقشة

الجدول (1) والشكل (1) (المجموعة الأولى) يوضح لغ 10 للمتوسط الحسابي لتعداد القولونيات و البيفيدوباكتريم في 1 غم من البراز ، لم يتم إعطاء البيفيدوباكتريم بالجبنة (شاهد) (n=5) . مجموعة الشاهد التي لم تعطى البيفيدوباكتريم لم يلاحظ أي تغيير في تعداد البيفيدوباكتريم خلال فترة التجربة ، ولوحظ ارتفاع في تعداد القولونيات بمعدل وسطي 1.40 لغ 10 cfu / غم براز عند نهاية الأسبوع الرابع .

الجدول (2) والشكل (2) (المجموعة الثانية) يوضح لغ 10 للمتوسط الحسابي لتعداد القولونيات و البيفيدوباكتريم في 1 غم من البراز عند إعطاء البيفيدوباكتريم بالجبنة (n=5) :

الجدول (1): (المجموعة الأولى) يوضح لغ 10 للمتوسط الحسابي لتعداد القولونيات و البيفيدوباكتريم في 1 غم من البراز ، لم يتم إعطاء البيفيدوباكتريم بالجبنة (شاهد) (n=5)

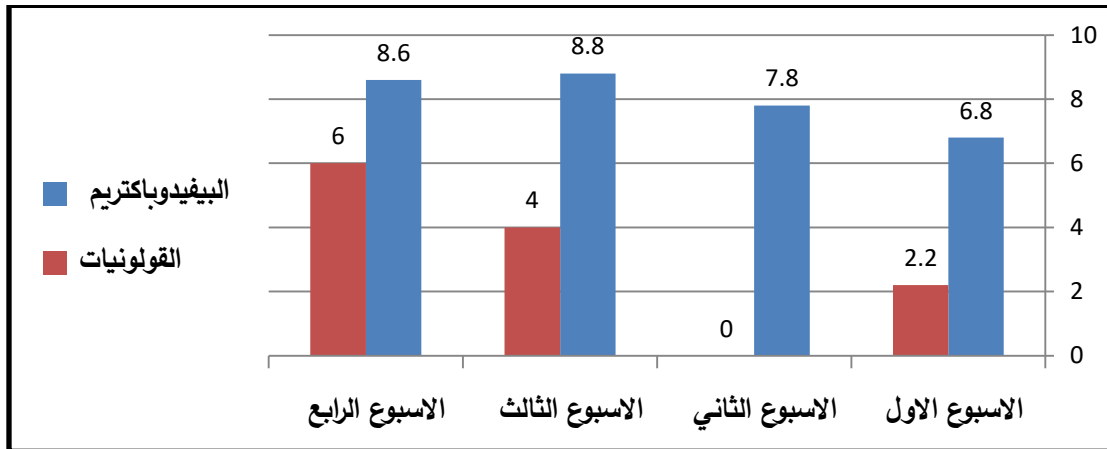
مجموعة الشاهد	الأسبوع الأول	الأسبوع الثاني	الأسبوع الثالث	الأسبوع الرابع
تعداد البيفيدوباكتريم	SD±mean	SD±mean	SD±mean	SD±mean
تعداد القولونيات	4.60±0.43	4.80±0.49	5.40±0.32	6.00±1.58
تعداد البيفيدوباكتريم	4.80±0.49	4.80±0.49	4.00±0.52	4.80±0.49



شكل (2) : تعداد القولونيات و البيفيدوباكتريم في 1 غم من البراز لم يتم إعطاء البيفيدوباكتريم (شاهد)

الجدول (2) (المجموعة الثانية) لغ 10 للمتوسط الحسابي لتعداد القولونيات و البيفيدوباكتريم في 1 غم من البراز عند إعطاء البيفيدوباكتريم بالجبنة (n=5)

الأسبوع الرابع SD±mean	الأسبوع الثالث SD±mean	الأسبوع الثاني SD±mean	الأسبوع الأول SD±mean	المجموعة التي أعطيت الجبنة
8.60±0.32	8.80±0.32	7.80±0.47	6.80±0.32	تعداد البيفيدوباكتريم
6.00±1.58	4.00±0.52	0.00±0.00	2.20±0.47	تعداد القولونيات



شكل (2) : تعداد القولونيات و البيفيدوباكتريم في 1 غم من البراز عند إعطاء جراثيم البيفيدوباكتريم بالجبنة

تأثير البيفيدوباكتريم المعطاة بالجبنة على تعدادها بالبراز: المجموعة التي أعطيت البيفيدوباكتريم بالجبنة رفعت تعداد البيفيدوباكتريم بمعدل وسطي 2 لـ 10^{10} cfu / غ براز عند نهاية الأسبوع الثالث و رفعت تعداد البيفيدوباكتريم بمعدل وسطي 1.80 لـ 10^{10} cfu / غ براز عند نهاية الأسبوع الرابع ، وذلك لقدرتها على البقاء بعد الابتلاع والوصول للأمعاء وزيادتها بالبراز كما بيّن الباحث (Larsen *et al.*, 2011) ، أيضاً قدرتها على تحمّل أملاح الصفراء وحموضة المعدة والبقاء على قيد الحياة أدى إلى ارتفاع تعدادها كما بيّن الباحث (Dianawati, *et al.* 2016) ، كما أن تأثيرها التنافسي على مواقع الالتصاق في الأغشية المخاطية للأمعاء أدى إلى زيادة عددها كما بيّن الباحث (Heyman & Menard, 2002) وقدرتها على منع استعمار الجراثيم الممرضة وذلك بإفراز المواد المثبّطة مثل الماء الأوكسجيني والأسيتات أدى إلى ارتفاع عددها كما بيّن الباحثون (George *et al.*, 2018) وهذا وافق الباحث (Ho-Eun *et al.*, 2018) الذي أعطى البيفيدوباكتريم بالجبنة مما أدى زيادة تعدادها بالبراز .

تأثير البيفيدوباكتريم المعطاة بالجبنة على تعداد جراثيم القولونيات : المجموعة التي أعطيت البيفيدوباكتريم بالجبنة خفّضت تعداد القولونيات بمعدل وسطي 2.20 لـ 10^{10} cfu / غ براز عند نهاية الأسبوع الثاني بعدها ارتفع تعداد القولونيات بمعدل وسطي 3.8 لـ 10^{10} cfu / غ عند نهاية الأسبوع الرابع ، وهذا وافق الباحث (chen *et al.*, 1999) فقد بيّن أنّ البيفيدوباكتريم المعطاة باللين حرّضت نمو الجراثيم الممرضة المكبوتة (القولونيات) خلال فترة إعطائها وبالتالي زيادة تعداد البيفيدوباكتريم والقولونيات معا" لكّنه بيّن أنّ البيفيدوباكتريم البرازية كانت هي السائدة .

أو أنّ طريقة الحفظ بالتجميد (-15م°) أدت إلى تثبيط البيفيدوباكتريم مما أدى إلى ارتفاع تعداد القولونيات أما الباحث الذي حفظ الجبنة الحاوية على البيفيدوباكتريم بدرجة حرارة (+4م°) فقد أثرت بشكل إيجابي وخفّضت تعداد القولونيات (etal., 2018) (Ho-Eun Park) ، فالبيفيدوباكتريم تفرز مواد مثبّطة للجراثيم كالحموض العضوية (اللين والخل) و أكسيد الهيدروجين و البكتيريوسين كما بيّن الباحث (Schierack *et al.*, 2009) الأمر الذي أدى إلى انخفاض تعداد القولونيات كما بيّن الباحثون (George *et al.*, 2018) .

الاستنتاجات

1. إنّ استخدام البيفيدوباكتريم Bifidobacterium في الجبنة له تأثير إيجابي مثبّط على نمو جراثيم القولونيات coliforms وذلك عند حفظها في درجة حرارة مناسبة .
2. إنّ حفظ الجبنة الحاوية على البيفيدوباكتريم بالتجميد يثبط فعاليتها .
3. إنّ جراثيم القولونيات ممكن أن تصبح انتهائية عند إعطاء البيفيدوباكتريم المضعفة .

التوصيات

1. استخدام البيفيدوباكتريم في العلاج والوقاية من الجراثيم الممرضة .
2. استخدام البيفيدوباكتريم في علاج التهاب الأمعاء بالقولونيات كعلاج داعم ومساعد .
3. إضافة البيفيدوباكتريم لمنتجات الألبان لما لها من تأثير حيوي إيجابي على الصحة العامة وصحة الأمعاء .
4. استخدام البيفيدوباكتريم في علاج العديد من حالات الإسهال وخاصة الناجمة عن القولونيات .
5. عمل دراسات بحثية لمعرفة تأثير طريقة الحفظ على فعالية البيفيدوباكتريم بالجبنة .

المصادر

- الخلايلة نزيه و طيفور أنطون (2011) تصنيع جبن مطبوخ قابل للمد مدعم ببكتيريا بروبيوتيك . مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية المجلد (27) العدد 2 الصفحات: 329-342 .
- Chen, R. M., Wu, J. J., Lee., S. C. Huang. A. H., And Wu H. M.(1999). Increase Of Intestinal Bifidobacterium And Suppression Of Coliform Bacteria With Short-Term Yogurt Ingestion. Dairy Sci 82:2308–2314.
- Chiu-Hsia Chiu . Tzu-Yu Lu . Yun-Yu Tseng and Tzu-Ming Pan .(2006). The Effects Of Lactobacillus-Fermented Milk On Lipid Metabolism In Hamsters Fed On High-Cholesterol Diet. Appl Microbiol Biotechnol 71: 238–245.
- Del Piano M., Anderloni A., Balzarini M., Ballarè M., Carmagnola S., Montino F., *et al.*(2012).The Innovative Potential Of Lactobacillus Rhamnosus LR06, Lactobacillus Pentosus LPS01, Lactobacillus Plantarum LP01, And Lactobacillus Delbrueckii Subsp. Delbrueckii LDD01 To Restore The "Gastric Barrier Effect" In Patients Chronically Treated With PPI: A Pilot Study. J Clin Gastroenterol. ;46 Suppl:S18-26.



- Dianawati D^{1,2}, Mishra V², and Shah NP³. (2016). Viability, Acid And Bile Tolerance Of Spray Dried Probiotic Bacteria And Some Commercial Probiotic Supplement Products Kept At Room Temperature. *J Food Sci. Jun;81(6):M1472-9*.
- Dubey, U.K. And V. Mistry. (1996). "Growth Characteristics Of Bifidobacteria In Infant Formula". *J. Dairy Sci., 79: 1146-1155*.
- Feng P., Weagent Sd And Grant Ma. (2002). *Bacteriological Analytical Manual Online. Wwww.Lib.Ncsu.Edu/Pubweb/Wwww/Etddb/Web_Root/Collection/Available/Etd-04102005-213953/ Unrestricted/ Etd.Pdf*.
- Fukuda S., Toh H., Hase K., Oshima K., Nakanishi Y., And Yoshimura K. (2011). Bifidobacteria Can Protect From Enteropathogenic Infection Through Production Of Acetate. *Nature. ,469, 543-547*.
- George Kerry R, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin HS, and Das G. (2018). Benefaction Of Probiotics For Human Health: A Review. *J Food Drug Anal 26:927-939*.
- Gibson G.R And Wang X. (1994). Regulatory Effects Of Bifidobacteria On The Growth Of Other Colonic Bacteria. *J. Appl. Bacteriol., 77, 412-420*.
- Hennessy And Othres .(1996) . A National Outbreak Of Salmonella Enteritidis Infections From Ice Cream. The Investigation Team. *N Engl. J. Med., May 16;334(20):1324-5*.
- Heyman M And Menard. (2002). Probiotic Microorganisms: How The Affect Intestinal Pathophysiology. *CMLS. Cell. Mol. Life. Sci, Vol. 59, Pp:1-15*.
- Ho-Eun Park, Ye Jin Kim, Kyung-Hyo Do, Jae Kwang Kim, Jun-Sang Ham and Wan-Kyu Lee, (2018). Effects of Queso Blanco Cheese Containing Bifidobacterium longum KACC 91563 on the Intestinal Microbiota and Short Chain Fatty Acid in Healthy Companion Dogs Korean *J. Food Sci. An. December 38(6):1261-1272*.
- Juang IL, Pan TM, Huong HP, and Huang CJ (2000). The Effect Of Oligosaccharide Beverage On Microflora In Rats. *Chin J Nutr 25:232-242*.
- Kanmani P., Satish Kumar R., Yuvaraj N., Paari KA., Pattukumar V., And Arul V. (2013). Probiotics And Its Functionally Valuable Products-A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr. ;53(6), 641-58*.
- Kaur IP., Chopra K., And Saini A. (2002). Probiotics Potential Pharmaceutical Applications. *Eur J Pharm Sci., 15(1), 1-9*.
- Khedkar J.N., Sannabhadtti S.S., And Dave J.M. (1994). Inhibitory Effect Of Bifidobacterium Adolescentis (Hb1) On Faecal Coliform Counts. *J. Dairying, Foods And Home Science, 13 (3-4), 187-191*.
- Kumar. C.L.P., Saroja.Y.S., Kumar. D.J.M And Kalaichelvan. P.T. (2012). Bifidobacteria For Life Betterment. *World Applied Sciences Journal 17 (11), 1454-1465*.
- Kuznetsova GG., Trushina ÉN., Muatafina OK., Cherkashin AV., Batishcheva Siu., Semenikhina VF., And Sheveleva SA. (2012). The Influence Of Probiotic Fermented Milk Product On Colon Microbiota, Hematological Parameters And Cell Immunity In Rats. *Vopr Pitan. ;81(3), 18-23*.
- Larsen N¹, Vogensen FK, Gøbel R, Michaelsen KF, Abu Al-Soud W, Sørensen SJ, Hansen LH, and Jakobsen M. (2011). Predominant Genera Of Fecal Microbiota In Children With Atopic Dermatitis Are Not Altered By Intake Of Probiotic Bacteria Lactobacillus Acidophilus NCFM And Bifidobacterium Animalis Subsp. Lactis Bi-07. *FEMS Microbiol Ecol. 75(3):482-96*.



- Lim K.S., Huh C.S., And Back Y.J. (1993). Antimicrobial Susceptibility Of Bifidobacteria. J. Dairy Sci., 76, 2168-2174.
- Saavendra J.M., Bauman N.A., Oung I., Perman J.A., And Yolken R.H. (1994). Feeding Of Bifidobacterium Bifidum And Streptococcus Thermophilus To Infants In Hospital For Prevention Of Diarrhoea And Shedding Of Rotavirus. Lancet., 344, 1046-1049.
- Saubusse, M. (2007) .Effet De Barrière Des Populations Microbiennes Des Laits Crus Vis-À-Vis De Listeria Monocytogenes Dans Un Fromage À Pâte Pressée Non Cuite. These, Université Blaise Pascal. France.
- Schierack, P., Filter .M, Scharek . L, Toelke. C, Taras .D, Tedin .K., Haverson K, Lubke-Becker .A, And Wieler .L.H(2009).Effects Of Bacillus Cereus Var. Toyoi On Immune Parameters Of Pregnant Sows. Vet Immunolimmunopathol, 127:26-37.
- Sharareh, H. And J.Memahon, D. J. (1992). Survival Of (Lactobacillus Acidophilus, Bifidobacterium Bifidum In Ice-Cream For Use As Probiotic Food, Journal Of Dairy Cience,75,1415-1422.
- Trejo FM., De Antoni GL., and Pérez PF.(2013). Protective effect of bifidobacteria in an experimental model of Clostridium difficile associated colitis. J Dairy Res., 23, 1-7.
- Yousef, A. E., And Carlstrom, C. (2003). Food Microbiology By Jhon Wiley& Sons, Inc. All Rights Reserved.