سلوك بكتريا الـــ Bifidobacteria في بعض خلائط حليب الاطفال وفعاليتها التثبيطية ضد بعض الأنواع البكتيرية المرضية [+]

BEHAVIOUR OF BIFIDOBACTRIA IN SOME BABY MILK FORMALE AND IT'S INHIBITION AGAINST SOME PATHOGENIC BACTRIA

عامر خلف الدروش [*] صبري جثير عبود [**] الهام اسماعيل الشمري [***]

المستخلص:

قدرت الأعداد البكترية والحموضة والرقم الهيدروجيني لأربع خلائط من حليب الأطفال الرضع والتـــي شـــملت Babylack 1(B1) و Babylack 2 (B2)وDielac 2 (2)(Dielac 1 (D 1 بعـــد تلقيحها بعزلتين محليتين (٣و4) من بكتريا الـــ Bifidobacteria بنسبة 2%وقد لوحظ أرتفاع الأعـــداد للعزلتين في خلائط الفئة العمرية الأولى مقارنة مع خلائط الفئة العمرية الثانية اذ تراوحت الأعداد للعزلتين 3و4 في D1وB1 وD 2 وB 2 مابيـــــن ($2,0 \times 10^{12} - 3.2 \times 10^{14}$) , ($5.6 \times 10^{13} - 2.5 \times 10^{16}$) , ($2.4 \times 10^{10} - 1.2 \times 10^{14}$) , ($2.2 \times 10^{12} - 1.2 \times 10^{13}$) , ($1.4 \times 10^{13} - 2.4$) , ($5.0 \times 10^{12} - 9.8 \times 10^{13}$) , ($5.1 \times 10^{12} - 9.8 \times 10^{14}$) , ($1.9 \times 10^{11} - 2.7 \times 10^{15}$) . أما الرقم الهيدروجيني للعزلة (3) في الخلائط B2, D2 , B1 , D1 فقد انخفض مـــن (6.60 , 6.95 , 6.40, 6.60) الى (4.50 , 4.60 , 4.70 , 4.70) على التوالي والحموضة تراوحت مابين (0.35 - 0.08) , (0.30 - 0.09) , (0.40 - 0.10) , (0.38 – 0.08) ، على التوالي في حين تراوح الرقم الهيدروجيني للخلائط الاربعة عند تنميـــة العزلـــة (4) مـــابين (6.60 – 4.00) ، (6.95 – 4.50) ،(6.40 – 4.20) ، (6.60 – 4.70) والحموضة مـــابين (0.08 – 0.45) ، (0.03 – 0.33) ، (0.55 – ٠0.1) ، (0.08 – 0.47) ، على التوالي كما اظهرت الدراسة أمتلاك هاتان العزلتان فعالية تثبيطيـــة ضـــد بكتريا *E.coli* و *S .aureus* ، اذ أنعدم تواجد الاولى في الخليطين D1وB1 ولوحظ أنخفاض أعدادها الى 5و2 خلية / مل في الخليطين D2وB2 بعد أن كان عددها 10^6خلية /مل عند التلقيح ، فـــي حـــين أنعـــدم تواجد بكتريا *S .aurus* في الخلائط D1, B1 , D2 وانخفاض عددها الى 3خلية / مل في B2.

Abstract:

Total bacterial count , total acidity and pH were determined in four baby milk formlae Dielac 2(D 2) , Dielac 1(D 1) , Babylack 2(B2), Babylack 1(B1) after they were in inoculated with two local isolates (3 , 4) of

[+] تاريخ استلام البحث : ٢٠٠٦/١١/٢٠ ، تاريخ قبول النشر : ٢٠٠٨/٢/١٣

[*] استاذ / كلية الزراعة / جامعة بغداد– قسم علوم الاغذية والتقانات الاحيائية

[**] استاذ مساعد / كلية الزراعة / جامعة بغداد– قسم علوم الاغذية والتقانات الاحيائية

[***] مدرس / كلية الزراعة / جامعة بغداد– قسم علوم الاغذية والتقانات الاحيائية

Bifidobacterium ssp. In concentration 2% .It was noted that the number of these two isolates increased in first baby ages formlae that those of the second ages formlae from (2.0×10^{12} -3.2 $\times 10^{14}$) ($5.6 \times 10^{13} – 2.5 \times 10^{16}$) , ($2.4 \times 10^{10} – 1.2 \times 10^{14}$) , ($2.5 \times 10^{12} – 1.4 \times 10^{13}$) , ($1.4 \times 10^{13} – 2.4 \times 10^{15}$) , ($1.9 \times 10^{11} – 9.8 \times 10^{13}$) , ($5.1 \times 10^{12} – 9.8 \times 10^{14}$) and ($5.0 \times 10^{12} – 2.7 \times 10^{14}$) cfu/ g respectively and the total acidity isolate (3) ranged between (0.08 -0.35) , (0.09 – 0.30) , (0.10 – 0.40) , (0.08 – 0.38) , respectively. Whereas pH was dropped down from 6.60 , 9.50 ,6.40 and 6.60 to 4.50 ,4.60 ,4.70 and 4.70 in formulae D1 , B1 , D2 and B2 respectively. Results of isolate (4) in four formulaes, were (6.60 - 4.00) , (6.95 -4.50) , (6.40 – 4.20) , and (6.60 – 4.70) for pH , while the total acidity were (0.08 – 0.45) , (0.03 – 0.33) , (0.10 – 0.55) and (0.08 – 0.47) respectively . it was found that both of two isolates under study have good inhibition activity against *E.coli* and *S.aureus* as their counts were decreased from 10^6 c.f.u / g to 2 and 5 c.f.u / g in D1 , B1 , D2 and B2 respectively , also *S.aureus* number were decreased to 0 , 0 , 0 and 3 c.f.u / g D1 , B1 , D2 and B2 respectively .

المقدمة:

لقد تم التعرف على بكتريا الـ *Bifidobacterium* خلال القرن الماضي وقد أشارت الكثير من الابحاث الى ماتمتلكه هذه البكتريا من خصائص علاجية تتعلق بصحة الأنسان والحيوان على السواء ، لذا أجريت محاولات متعددة لاستخدامها في الأغذية [١] و [٢] و[٣] و[٤] و[٥] .

تشكل هذه البكتريا الجزء الأكبر من الأحياء المجهرية الموجودة بصورة طبيعية في المنطقة المعوية للناس الأصحاء ، فهي تمثل حوالي 92% – 95 من البكتريا في أمعاء الأطفال الذين يعتمدون الرضاعة الطبيعية ،

وتكون هذه الاعداد في قمتها خلال 3-4 اسابيع من حياة الطفل .

تنتج هذه البكتريا مضادات حيوية وحوامض عضوية مثل الـ acetic acid و lactic acid بنسبة (2:3) وتظهر فعالية تثبيطية للاحياء المجهرية وخصوصا المسببة للاسهال (أي بكتريا السالبة لصبغة كرام) في المنطقة المعوية اضافة لخفضها لنسبة الكلسترول في الدم وتنشيط الجهاز المناعي وذات تأثير مثبط للفعالية السرطانية من خلال أختزال فعالية الانزيمات التي تفرزها الاحياء المجهرية في المنطقة المعوية المشجعة على تكوين الخلايا السرطانية عن طريق تحويل خلايا من نوع Procarcinogens الى carcinogens ومن هذه الانزيمات beta-glucuronidase و nitroreductase و azoredductase كما وتساعد هذه البكتريا على هضم اللاكتوز وخصوصا الذين لايفرز عندهم أنزيم beta-glucuronidase بكميات كافية في الأمعاء الدقيقة[6] و[7] و [8] و[9] و[10] وقد لوحظ بان اعداد هذه البكتريا في الجبن الطري العراقي المضاف له بادئ بكتريا *Bifidobacterium* قد تراوح بين $9 \times 10^5 – 7 \times 10^7$ وان هذه الاعداد تحقق الهدف العلاجي المتوقع [11] رغم أن حليب الأم يعد مثاليا للاطفال الرضع اذ أنه يحد من الاصابة بالاحياء المرضية الداخلية والخارجية الأأن التغذية على حليب القناني تلعب دورا كبيرا في تغذية الرضع من الأطفال ، وقد وجد أن افضل حليب أطفال للرضاعة الصناعية هو الحليب البقري محور البروتين

مع تعديل تركيب الحوامض الدهنية واضافة الكلوبيولينات المناعية كلاكتوفرين واللايسوزايم وبكتريا الـــ *Bifidobacterium* و *Lactobacilli* [12].

هدفت الدراسة الحالية التعرف على سلوكية أثنين من العزلات المحلية لبكتريا *Bifidobacterium* في اربع خلائط من حليب الاطفال الرضع (B1 , B2 , D1 , D2) وتحديد افضل انواع الحليب لنمو وتكاثر هذه البكتريا وامكانية اضافتها الى خلائط حليب الاطفال مع دراسة فعاليتها التثبيطية مع بعض انواع البكتريا المرضية والتي شملت الـ *E .coli* كمثال للبكتريا السالبة لصبغة كرام و *S. aureus* الموجبة لصبغة كرام .

المواد وطرائق العمل:

أستخدمت أربعة خلائط من حليب الاطفال في أسواق بغداد وهي (Babylack 1(B1 وBabylack 2 (B2)و Dielac 1 (D 1)و Dielac 2 (D 2) في تنمية العزلتين المحليتين 3 و 4 لبكتريا الـــ *Bifidobacterium* (عزلت في مختبرات قسم علوم الأغذية والتقانات الأحيائية – كلية الزراعة - جامعة بغداد) بعد أسترجاعها بنسبة (12%) بالماء المقطر وتعقيمها بالمؤصدة بدرجة حرارة 121م وضغط 15 باوند / انج^{2} لمدة خمس دقائق . لقحت خلائط الحليب المسترجعة والمعقمة بنسبة 2% من العزلتين (4,3) لبكتريا *Bifidobacterium* كلا على أنفراد وحضنت لخمس أوقات مختلفة (٤، ٨ ، ١٦ ، ٢٠ ، ٢٤) ساعة . قدرت الحموضة والرقم الهيدروجيني للخلائط قبل التلقيح وفي نهاية مدة الحضن لكل وقت من الاوقات حسب الطريقة التي أوردها [13].

حسبت أعداد البكتريا في الاوقات المذكورة اعلاه بأستخدام وسط الـ MRS de Man Regosa Sharp Agar وتم التحضين بظروف لاهوائية حسب طريقة أوردها [14] ، درست الفعالية التثبيطية النوعية للعزلات المحلية ضد نوعين من البكتريا المرضية وهي *E .coli* كمثال للبكتريا السالبة لصبغة كرام و *S. aureus* كمثال للبكتريا الموجبة لصبغة كرام باستخدام وسط Muller Hinten وحسب الطريقة التي اوردها [15] كما درست الفعالية التثبيطية الكمية لهذه العزلات ضد نفس البكتريا اذ لقحت الخلائط المسترجعة والمعقمة بـ ١٠^{٦} خلية / مل من كل من البكتريا المرضية كلا على أنفراد و ٢% من العزلتين المحليتين ايضا كلا على انفراد وحسب اعداد البكتريا المرضية المتبقية بعد أنتهاء مدة الحضن التي استمرت ٢٤ ساعة بدرجة حرارة ٣٧ م ، باستخدام وسط الـ Staph 110 بالنسبة لبكتريا الـــ *S. aureus* ووسط Violet Red Bile Salt Agar بالنسبة لبكتريا *E .coli* حسب الطريقة التي اوردها [14].

النتائج والمناقشة:

١- الصفات الشكلية لبكتريا الـ *Bifidobacterium* :

ظهر لون المستعمرات لبكتريا *Bifidobacterium* عند تنميتها في وسط الـــ MRS agar ذات لون غير شفاف وذات شكل محدب دائري في الظروف اللاهوائية . معظم المستعمرات قريبة من السطح وقليل منها تحت السطح وبحجم اصغر وهذا يطابق وصف [12]لهذه البكتريا عند تنميتها في وسط الـــ MRS agar في ظروف لاهوائية .

٢- اعداد بكتريا الـ *Bifidobacterium* في خلائط حليب الاطفال :

يوضح جدول (١و٢) ارتفاع اعداد بكتريا الـ *Bifidobacterium* للعزلتين ٣، ٤ في خلائط الحليب D1,B1 على التوالي مقارنة مع B2 , D2 في اوقات الحضن المختلفة وقد يعزى السبب في ذلك الى الاختلاف في نسب مكونات الخلائط وما تحتاجه هذه البكتريا من متطلبات غذائية ، وقد تراوحت الاعداد للعزلتين ٣، ٤ في B1, D1 , D2 ، B2 مابين (٢,٠ × $١٠^{١٢}$ – ٣,٢ × $١٠^{١٤}$) ، (٥,٦ × $١٠^{١٣}$ – ٢,٥ × ١٠^{16}) ، (٢,٤ × $١٠^{١٠}$ – ١,٢ × $١٠^{١٢}$) ، (٢,٥ × $١٠^{١٢}$ – ١,٢ × $١٠^{١٣}$) ، (١,٤× $١٠^{١٣}$– ٢,٤ × $١٠^{١٥}$) ، (١,٥ × $١٠^{١٢}$– ٩,٨ × $١٠^{١٤}$) ، (١,٩ × $١٠^{١١}$– ٩,٨ × $١٠^{١٣}$) ، (٥,٠ × $١٠^{١٢}$– ٢,٧ × $١٠^{١٤}$) cfu/g .ومن النتائج اعلاه يلاحظ اعداد مرتفعة من البكتريا في كل انواع الخلائط والتي تزيد عن الحد الادنى لاعدادها كي تصبح ذات فوائد علاجية اذ أشار [٢و٣و٨و١٦]بانه يجب ان لاتقل اعداد هذه البكتريا عن $١٠^{٥}$– $١٠^{٦}$ خلية / مل او غم كي تقوم بوظائفها العلاجية ، وهذا يدل على ملائمة الخلائط المستخدمة في هذه الدراسة لبكتريا الـ *Bifidobacterium* . يذكر بان اعداد هذه البكتريا وجدت في الجبن الطري العراقي المضاف له هذه البكتريا قد كانت بهذه الحدود[11]، كما اشار [12]الى ان حليب الام هوالافضل لنموبكتريا الـ *Bifidobacterium* خاصة في المنطقة المعوية للاطفال الرضع .وقد ذكر [17] أن نسبة البروتين في خلائط حليب الاطفال للفئة العمرية الاولى والتي استخدمت في الدراسة (B1, D1) قد تراوحت مابين ١,٦– ١,٨ وهي اكثر من احتياجات الطفل في هذه المرحلة كما ذكر [18] ان نسبة البروتين في خلائط حليب الاطفال للفئة العمرية الثانية (B2 ، D2) تصل الى ٢,٥% .

جدول(١): اعداد بكتريا *Bifidobacteria* للعزلتين ٣و٤ عندتنميتها في خلائط حليب الاطفال للفئة العمرية الاولى خلال فترات مختلفة من الحمل*

نوع الحليب	رقم العزلة	وقت الحضن /ساعة	عدد بكتريا *Bifidobacteria* خلية/مل
D1	3	4 8 16 20 24	٢,٠ × $١٠^{١٢}$ ٢,٤ × $١٠^{١٣}$ ١,٠ × $١٠^{١٤}$ ٢,٥ × $١٠^{١٤}$ ٣,٢ × $١٠^{١٤}$
B1	3	4 8 16 20 24	٥,٦ × $١٠^{١٣}$ ٢,٤ × $١٠^{١٤}$ ١,٢ × $١٠^{١٥}$ ١,٠ × $١٠^{١٥}$ ٢,٥ × $١٠^{١٦}$
D1	4	4 8 16 20 24	١,٤ × $١٠^{١٣}$ ١,٥ × $١٠^{١٤}$ ١,٥ × $١٠^{١٤}$ ١,٢ × $١٠^{١٥}$ ٢,٤ × $١٠^{١٥}$

B1	4	4 8 16 20 24	$١٠^{١١} \times ١,٩$ $١٠^{١١} \times ٥,٢$ $١٠^{١٢} \times ٦,٧$ $١٠^{١٣} \times ٨,٥$ $١٠^{١٣} \times ٩,٨$

*** تمثل الارقام معدل لثلاث مكررات**

جدول(٢): أعداد بكتريا Bifidobactria للعزلتين ٣و٤ عند تنميتها في خلائط حليب الاطفال للفئة العمرية الثانية خلال فترات مختلفة من الحضن

نوع الحليب	رقم العزلة	وقت الحضن /ساعة	عدد بكتريا Bifidobacteria خلية/مل
D2	3	4	$١٠^{١٠} \times ٢,٤$
		8	$١٠^{١١} \times ٥,٩$
		16	$١٠^{١٢} \times ٨,٢$
		20	$١٠^{١٢} \times ١,٢$
		24	$١٠^{١٢} \times ١,٢$
B2	3	4	$١٠^{١٢} \times ٢,٥$
		8	$١٠^{١١} \times ١٠,٠$
		16	$10^{11} \times 1.5$
		20	$10^{12} \times 1.2$
		24	$10^{12} \times 1.2$
D2	4	4	$١٠^{١٢} \times ٥,١$
		8	$١٠^{١٢} \times ٩,٧$
		16	$١٠^{١٣} \times ٢,٥$
		20	$١٠^{١٤} \times ١,٦$
		24	$١٠^{١٤} \times ٩,٨$
B2	4	4	$١٠^{١٢} \times ٥,٠$
		8	$١٠^{١٣} \times ٢,٥$
		16	$١٠^{١٤} \times ١,٨$
		20	$١٠^{١٤} \times ٢,٦$
		24	$١٠^{١٤} \times ٢,٧$

- **تمثل الارقام معدل لثلاث مكررات**

٣- الرقم الهيدروجيني والحموضة :

تراوح الرقم الهيدروجيني الابتدائي لخلائط حليب الاطفال الاربعة مابين (٦,٤٠ – ٦,٩٥) ، حيث لوحظ أنخفاضه بالنسبة للعزلة (٣) في الخلائط D1 و B1 و D2 و B2 (٦,٦٠ ، ٩,٩٥ ، ٦,٤٠ ، ٦,٦٠) الـــى (٤,٥٠ ، ٤,٦٠ ، ٤,٧٠ ، ٤,٧٠) على التوالي (شكل ١) في حـين تراوحـت الحموضة مابين (٠,٠٨ – ٠,٣٥) (٠,٠٩– ٠,٣٠) (٠,١٠– ٠,٤٠) (٠,٠٨ – ٠,٣٨) علـى التوالي ، (الشكل ٢) في حين تراوح الرقم الهيدروجيني للخلائط الاربعة عند تنميـة العزلـة (٤) مابيـــن (٠,٠٨– ٠,٤٥) ، (٠,٠٣ – ٠,٣٣) ، (٠,١٠ – ٠,٥٥) ، (٠,٠٨ – ٠,٤٧) علـى التوالي ، شكل (٤) ويعود سبب الانخفاض في الرقم الهيدروجيني وارتفاع الحموضة الى زيادةالاعداد البكتيرية بزيادة مدة الحضن مما يؤدي الى استهلاك السكر وتحويله الى حامض بنوعيه الـــ Lactic acid و Acetic acid .

٤- دراسة الفعالية التثبيطية ضد البكتريا المرضية :

يوضح الشكل (٥) الفعالية التثبيطية النوعية للعزلات ٣ و ٤ ضدالبكتريا المرضية *E .coli* و *S. aureus* اذ يلاحظ امتلاك هذه العزلات فعالية تثبيطية واضحة ضد هذه البكتريا من خـلال ملاحظـة المنطقة الشفافة حول القرص الحاوي على راشح هذه العزلات . وقد أشار [7] الى أمتلاك العديد مـن أنواع بكتريا الـ *Bifidobacterium* فعالية تثبيطية عالية ضد بكتريا *E .coli* المرضية .

كما اوضحت [19] قدرة هذه البكتريا على أنتاج antimicrobial من نـوع broad spectrum اذ انهـا ذات تـأثير مثـبط لبكتريـا *E .coli* ، *C.perfringens* ، *Salmonella* ، *Listeria* ، *Campylobacter* ، وعصيات الكوليرا *Vibrio cholerae* .

في تجارب أخرى [20] ظهر بـأن رواشـح مزرعـة الحليـب الحاويـة علـى بكتريـا الـــ *Bifidobacterium* كانت ذات قدرة تثبيطية واضحة ضد ٨ أنواع من البكتريا المرضية أو المـسببة لتلف الاغذية ، كذلك لوحظ التأثير التثبيطي لبكتريـا الـــ *Bifidobacterium* ssp. ضـد بكتريـا *P.mirabilis* في حين يتقارب هذا التأثير ضد ألتأثير ضد كل من بكتريا *E .coli* و *S. aureus* قياسيا بتاثيرها المحدود عاى بكتريا *K. oxytoca* [٢١].

٥- دراسة الفعالية التثبيطية الكمية للعزلات ضدالبكتريالمرضية :

يوضح الجدول (٣و٤) الانخفاض الواضح في أعداد البكتريا بنوعيهـا عنـد تواجـدهما مـع بكتريـــــــا الـ *Bifidobacterium* ، اذ يلاحظ انعدام بكتريا الـ *E .coli* فـي الحليـب D1 عند أستخدام العزلتين ٣و٤ وانعدامهما ايضا عند أستخدام العزلة ٤ في الحليب B1 في حـين يلاحـظ انخفاضها في الخلائط B1 و D2 و B2 عند استخدام العزلتين ٣و٤ من $١٠^{٦}$ خلية / مل الـى (٥ ، ٢٤ ، ٢٠ ، ٥ ، ٢) خلية / مل على التوالي، في حين يلاحظ عدم تواجد بكتريا الـ*S. aureus* عنـد استخدام العزلتين ٣و٤ في خلائط الحليب D1 B1 وايضا عند تواجدهما عند استخدام العزلـة ٤ فـي الحليب D2 وانخفضت اعدادها من $١٠^{٦}$خلية / مل الى ١٠و١٥ في الخليطـين D2 و B2 باسـتخدام العزلة رقم ٣ . ويلاحظ من النتائج المستحصل عليها امكانية امتلاك العزلة ٤ فعاليـة تثبيطيـة ضـد النوعين من البكتريا مقارنة بالعزلة ٣ (الشكل ٥).

ان لتغلب اعداد بكتريا الـــ *Bifidobacterium* على اعداد البكتريا المرضية له دور فعال في حماية الطفل الرضيع من مصادرها .

العزلة -٣- ضد *E.coli*

العزلة -٣- ضد *S.aureus*

العزلة –٣– ضد *E.coli*

العزلة –٤– ضد *S.aureus*

الشكل (٥): الفعالية التثبيطية النوعية للعزلتين ٤،٣ ضد البكتريا المرضية *E.coli, S.aureus*

جدول رقم (٤): الفعالية التثبيطية الكمية للعزلة (٤) ضد البكتريا المرضية الـ *E .coli* و الـ *S. aureus* والتي لقحت بمعدل $١٠^{٦}$خلية / مل *

نوع الحليب	العدد المتبقي من البكتريا المرضية بعد ٢٤ ساعة حضن	
	E .coli	*S. aureus*
D1	لايوجد	لايوجد
B1	لايوجد	لايوجد
D2	٥	لايوجد
B2	٢	٣

*** تمثل الارقام معدل لثلاث مكررات**

جدول رقم (٤): الفعالية التثبيطية الكمية للعزلة (٣) ضد البكتريا المرضية الـ *E .coli* و الـ *S. aureus* والتي لقحت بمعدل $١٠^{٦}$خلية / مل *

نوع الحليب	العدد المتبقي من البكتريا المرضية بعد ٢٤ ساعة حضن	
	E .coli	*S. aureus*
D1	لايوجد	لايوجد
B1	٥,٠	لايوجد
D2	٢٤	١٠
B2	٢٠	١٥

*** تمثل الارقام معدل لثلاث مكررات**

<u>الاستنتاجات:</u>

١- بالامكان تنمية العزلتين المحليتين ٣و٤ من بكتريا الـــ *Bifidobacterium* علـــى حليـــب الاطفـــال Babylack و Dielac للفئة العمرية الاولى والثانية .

٢- الحصول على اعداد عالية من هذه البكتريا عند تنميتها على كلا نوعي الحليب وخاصـــة حليـــب الفئـــة العمرية الاولى بما يضمن توفير الصفات العلاجية لها .

٣- امتلاك هاتان العزلتين فعالية تثبيطية ضد البكتريا المرضـــية المرضـــية الـــ *E .coli* و الـــ *S. aureus*.

التوصيات:

١- يوصى باضافة هذه البكتريا الى خلائط حليب الاطفال للاستفادة مما تمتلكه من فوائد علاجية مهمـــة لصحة الطفل خصوصا الذين يعتمدون بصورة اساسية على الرضاعة الصناعية .

٢- محاولة اضافتها الى خلائط اغذية الاطفال الاخرى .

المصادر:

1- Denis, R.., J. Beger, and G. Reuter. "Characterization of dairy – relat Bifidobacterium ssp. based on their P – galactosis electrophoretic patterns". *International journal of food microbiology*, 23, 55 – 70, 1994.

2- Blanchette, L., D. Roy. , G. Belanger, and S. F. Gautheir . "Production of cottage cheese using dressing fermented by Bifidobacteria." *J. Dairy Sci*., 79: 8 -15, 1996.

3- Rajiv , I.D.and N. P.Shan . "Viability of yoghurt and probiotic bactria in yoghurt made from commercial starter cultures". *Int. Dairy Journal*, 7: 31-41, 1997.

4- Dave, R.I. and N.P. Shah. Evaluation media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus debrueckii ssp. bulgaricus , Lactobacillus acidophilus ,* and *Bifidobacterium* . J. Dairy Sci., 79: 1529 – 1536, 1996.

٥- الدرة ، عمر عادل عبود، الدروش، عامر خلف عزيز والعبيدي، فارس عبد علـــي ." تـــأثير الألبـــان المتخمرة في مستوى الكولسترول لدم الفئران ١-التأثير على المستوى الطبيعي للكوليـــسترول". *مجلـــة العلوم الزراعية العراقية*-٣٦(٢): ١٦٥- ١٧٢، ٢٠٠٥.

6- Sharaeh, H. and D.J. McMahon. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use a probiotic food. J. Dairy Sci . , 75: 1415-1422, 1992.

7- Salam, A .I. and B.Antony . "Inhibition of *E .coli* by *Bifidobacterium"J. of Food Protection.* (56) pp: 713 – 715, 1993.

8- Dinakar, P. and V. Mistry. "Grwoth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar cheese". *J.Dairy Sci*., 77: 2854 -2864, 1994.

9- Lankaputhra, W.E.V. and N.P. Shah."Survival of *Lactobacillus acidophilus* And *Bifidobacterium bifidum* ssp. in presence of acid and bile salts". *Cultural dairy products journal,* 3013, 1995.

10- Wan – Kyu L., L. Sange- Myeong , L.Soo-Jin , B.Hyoung –Suk and B.Young – Jin ." Effect of *Bifidobacterium longum* Hy 8001. Administration on human fecal bacterial enzymes and microflora". In *(sixth symposium on Lactic acid Bactria , Genetics Metabolism and Application* . (Book of Abstract), 1999.

١١- الدروش ، عامر خلف ، الراوي ، اكرم ثابت ، الـشمري ، الهـام اسـماعيل . " اسـتخدام بكتريـا Bifidobacteria في تصنيع الجبن الطري العراقي " . *مجلة البصرة للعلوم الزراعيـة* ٦/ (٢) ، ٢٠٠٣ .

12- DuBey, U.K.and V.Mistry. "Growth characteristics of *Bifidobacteria* in infant formula". *J.Dairy Sci*., 79: 1146-1155, 1996.

13- Bradly, R.JR. , D.M.Barbano , R.G.Semerad , D.E. Smith and B.K.Vinesill . *Chemical and Physical methods*. 1993.

14- Harrigan, W.F. and M.E. MaCance. *Laboratory method in food and dairy microbiology* .Academic Press, London, New york, San Francisco. 1976.

15- Finer, K.R.and J.J. Finer. "Use of Acrobacterium expressing green flourescent protein to evaluate colonization of sonication - assisted *Acrobacterium* – mediated transformation treated soybean cotyledons". *The Society For Applied Microbiology, Letters In Applied Microbiology*, 30, 402-405, 2000.

16- Nagendra, P., E.V. Warnakulasuriya, L.B.Margarat, and S .A. K. William. "Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yogurt during refrigeration". *Int .Dairy Journal*. 5: 515-521, 1995.

١٧- عبود ، صبري جثير ، " دراسة بعض الخصائص الفيزوكيمائية لخلائط حليب الاطفال "، *مجلة العلوم الزراعية العراقية* ، المجلد ٣٢، العدد ١ ، ٢٠٠١.

18- Van Woderen, B.F. *Changing in sight in to human proteins: some implication: nutrition abstracts and reviews* (series A) 57: 129. 1987.

19- Gibson, G.R. "Regulatory effects of *Bifidobacteria* on the growth of other colonic Bactria". J. *Appl. Bacteriol*, 77: 4, 412-420, 1994.

20- حميد ، علي حسين علي ، *استعمال النواتج الايضية لبكتريا حامض الاكتيك العلاجية لحفـظ منتجـي* الجبن الطري *والقشطة* ، رسالة ماجستير ، قسم علوم الاغذية والتقانات الاحيائية ، كلية الزراعـة ، جامعة بغداد ، ٢٠٠٤.

21- الدروش، عامر خلف, الخالدي، سيرين شحدة وسمعان، سمير فتح الله. "دراسة الفعالية التضادية لانواع بكتريا حامض الاكتيك ورواشح الالبان المحلية تجاه عزلات من البكتريا المرضية". *المؤتمر الرابـع حول افاق البحث العلمي والتطوير التكنولوجي في الوطن العربي*–دمشق، الجزء الاول: ١٥٥–١٥٧، ٢٠٠٦.