

تأثير استخدام جراثيم الشقاء في النظام الغذائي للقداد على تعداد جراثيم القولونيات

د. محمد قباوي^{***} د. ماهر صالح^{*} عبير يوسف^{*}

(الإيداع: 28 شباط 2019 ، 15 آيلول 2019)

الملخص :

تعد جراثيم الشقاء (*Bifidobacterium*) من بين الأنواع الأولى التي تستعمل القناة المعاوية وتلعب دوراً بارزاً في التوازن الميكروبي المعوي وتستخدم في العلاج والوقاية من الجراثيم الممرضة وتستخدم كمكملات غذائية (بروبوتيك) بالإضافة إلى خصائصها السريرية في منع الإسهال والوقاية من متلازمة القولون العصبي. يهدف البحث إلى دراسة تأثير جراثيم الشقاء المعطاة بالحليب في ثلاثة تراكيز مختلفة على تعداد جراثيم القولونيات (coliform). استخدم القداد السوري في التجربة فقد وزعت الحيوانات عشوائياً في أربع مجموعات مختلفة (n=5) المجموعة الأولى: شاهد لم تعط حليب ، المجموعة الثانية: أعطيت الشقاء بتركيز 10^5 cfu/مل حليب ، المجموعة الثالثة: أعطيت الشقاء بتركيز 10^7 cfu/مل حليب ، المجموعة الرابعة: أعطيت الشقاء بتركيز 10^9 cfu/مل حليب . أجريت التجربة مدة 4 أسابيع أعطي خلالها الحليب بالتراكيز المختلفة للقداد ثم جمع البراز عند نهاية كل أسبوع ومدد بمحلول ملحي تركيز 0.9% ثم زرع على المنشاب الانقاضي MRS Agar تميّزي لجراثيم الشقاء و VRB Agar تميّزي لجراثيم القولونيات . بدأ تعداد جراثيم الشقاء بالارتفاع عند نهاية الأسبوع 1 واستمر بالارتفاع حتى نهاية الأسبوع 4 بينما بدأ تعداد جراثيم القولونيات بالانخفاض عند نهاية الأسبوع 2 و استمر بالانخفاض حتى نهاية الأسبوع 4 . وبعد تحليل البيانات إحصائياً تبين أن أفضل تركيز لإعطاء جراثيم الشقاء بالحليب هو تركيز 10^7 cfu/مل حليب حيث ارتفع تعداد الشقاء عند نهاية الأسبوع 4 إلى (8.60 ± 0.32) لغ 10^{10} cfu/غرام براز وانخفض تعداد القولونيات عند نهاية الأسبوع 4 حيث بلغ (105 ± 3.16) غ. وقد بينت الدراسة النسيجية زيادة في زيادة وزنية عند نهاية الأسبوع 4 حيث بلغ متوسط وزن القداد (16 ± 0.05) غ. وكذلك أعطى أفضل طول وثخن الزغابات المعوية وزيادة الخلايا المخاطية والكأسية .

الكلمات المفتاحية : جراثيم الشقاء ، جراثيم القولونيات ، القداد ، حليب .

*طالبة دراسات عليا (ماجستير)، اختصاص صحة عامة وطب وقائي، قسم الصحة العامة والطب الوقائي، كلية الطب البيطري، جامعة حماة، سوريا.

*دكتور، قسم الصحة العامة والطب الوقائي، كلية الطب البيطري، جامعة حماة، سوريا.

*** دكتور، قسم الامراض الباطنة، كلية الطب البيطري، جامعة الفرات، سوريا.

The Influence Of Using Bifidobacterium Germs In The Diet Of Hamster On Coliforms Germs Count

Vet. Abeer Yousuf* Dr. Maher Saleh ** Dr. Mohamed Qabbawi ***

(Received: 28 February 2019, Accepted: 15 September)

Abstract:

Bifidobacterium is one of the first species to colonize the gastrointestinal tract and plays a prominent role in the microbial intestinal balance. It is used in the treatment and prevention of pathogenic microbes and is used as probiotic supplements as well as its clinical properties in the prevention of diarrhea and the prevention of irritable bowel syndrome. The aim of this research was to study the effect of bifidobacterium germs in three different concentrations on the coliform count. Syrian hamster was used in the experiment where the animals were randomly distributed in four different groups ($n = 5$). group 1: no milk was given, group 2: the concentration was given at 10^5 cfu / ml milk, group 3: was given the concentration of 10^7 cfu / ml of milk, group 4: given the concentration of 10^9 cfu / ml milk.

The experiment was conducted for 4 weeks during which the milk was given at different concentrations 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 they are 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 rise at the end of week 1 and continued to rise until the end of week 4 while the count of coliform bacteria began to decrease at the end of week 2 and continued to decrease until the end of the week 4. After the analysis of the data, the best concentration of milk was found to be 10^7 cfu / ml milk, where the count rate at the end of week 4 increased to $8.60 \pm 0.32 \log_{10}$ cfu/g and decreased coliform count at the end of the week 4 ($P < 0.05$), As well as the best increase in weight at the end of the week 4 (105 ± 3.16) g average hamster weight. The histological study showed an increase in the length and thickness of the intestinal villi and increase mucous, and goblet cells.

Keywords: Bifidobacterium, coliform, hamster, milk.

* Student Graduate Studies Master of Public Health and Preventive Medicine, Department of Public Health and Preventive Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Hama, Syria.

** Doctor, Department of Public Health and Preventive Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Hama, Syria.

*** Doctor, Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Alforat, Syria.

1-المقدمة:

تعد جراثيم الشقاء (*Bifidobacterium*) من بين الأنواع الأولى التي تستعمر القناة المعاوية والتي تتراوح بين (25 % و 80 % لدى البالغين والأطفال الرضع على التوالي) وبالتالي تلعب دوراً بارزاً في توازن الأمعاء والتطور الطبيعي، بالإضافة إلى خصائصها السريرية مثل منع الإسهال ومتلازمة القولون العصبي، والتحفيز من الإمساك وخفض الكوليسترول (Kumar *et al.*, 2012)، زيادة تعداد جراثيم الشقاء (*Bifidobacterium*) في الأمعاء يؤدي إلى كبح نمو القولونيات المعوية (*coliforms intestinal*)، وقد تم تسجيل انخفاض كبير في تعداد القولونيات عند استخدام المعالجة بالبروبيوتيك (*probiotics*) المنتسبة إلى جنس الشقاء (*Bifidobacterium*) (*Del et al.*, 2012) (*Piano*، وبذلك تعد جراثيم الشقاء 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 الاستجابة المناعية للمضيف والحماية من الأمراض المعدية عن طريق إنتاج الخلاط (*Fukuda et al.*, 2011)، وتحتفظ 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 جراثيم الشقاء 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 بوليميرية تزيد من استعمارها للمنطقة المعاوية فتقلل من التصاق الجراثيم في غشاء الجدار المعاوي وتنتج مواد مضادة للأكسدة (*Kanmani et al.*, 2013). كما أن جراثيم القولونيات تعد من أبرز الجراثيم المعوية و تستخدم كمؤشر عام للحالة الصحية للمياه والاغذية (*Feng et al.*, 2002).

2-الهدف من هذه الدراسة :

تقييم فعالية جراثيم الشقاء *Bifidobacterium* في الحد من النمو الزائد للقولونيات *coliforms*. ومعرفة أفضل تركيز من جراثيم الشقاء *Bifidobacterium* في الحد من نمو للقولونيات . وحساب الوزن عند حيوانات القداد.

3-مواد وطرق البحث :**حيوانات التجربة :**

تم شراء 20 من القداد بنفس العمر (1-2 شهر) والجنس (ذكور) و الوزن من مركز حيوانات أليفة وتم توزيعها بشكل عشوائي في 4 مجموعات (التصميم العشوائي التام) كل مجموعة تحوي 5 من القداد.

التغذية : فترة تأقلم مدتها أسبوع حيث غذيت المجموعات الاربعة على نظام غذائي يحوي علف مركب مكون من المواد الأولية التالية :

المادة العلفية	نسبة المادة العلفية المستعملة في العليقة %
شعير	62
ذرة صفراء	17
كسبة قطن مقصورة %44	2
كسبة صويا%48	3
نخالة	15
فوسفات ثنائية الكالسيوم	0.4
ملح طعام	0.5
فيتامينات وأملاح	0.1
المجموع	100

وبندورة وخيار و لا يحوي جراثيم الشقاء ونظام اضاءة 12/12 ساعة ودرجة حرارة وسطية 25 م (Chiu et., a/2006) تحضير الحليب : تم تحضير التراكيز الثلاثة لجراثيم الشقاء التي تم الحصول عليها من وكيل مخبر هانسن (السمان) في دمشق ، أضيفت 110 غ حليب مسحوب الدسم الى 1000 مل ماء مقطر حتى تمام المجانسة ثم عقمت بدرجة حرارة 121 م وضغط 2 باسكال مدة ربع ساعة ثم برد الى درجة حرارة 37 م ، أخذ 99 مل من الحليب المعقم وأضيف له 1 غ من الجراثيم المجددة (عينة ام) ومنزج بشكل جيد وحضن على درجة حرارة 37 م مدة 16 ساعة بعدها وضع بالبراد على درجة 2 م مدة 3 ساعات ثم مزج بشكل جيد (kuan.,et a/ 2004)

سلسلة التميديد : أخذ امل من العينة الام وأضيف الى انبوب يحوي 9 مل من الحليب الذي حضر سابقا ثم أخذ 1مل من الانبوب السابق واضيف الى انبوب يحوي 9 مل حليب وهكذا حتى التميديد رقم 10.

طريقة الزراعة : أخذ 0.1 مل من كل تميديد وزرع على المثبت التمييزي لجراثيم الشقاء MRS Agar حيث حصن لا هوائي على درجة حرارة 37 م لمدة 48 ساعة (Juang et al. 2000) ، بعدها تم العد من اجل الحصول على التراكيز الثلاثة المطلوبة وحفظت الانابيب بدرجة حرارة 2 م ، أعطي الحليب للقادم بمقدار(1- 2 مل) من كل تركيز يوميا وذلك لمدة 4 اسابيع .

الصفات الشكلية لجراثيم الشقاء : *Bifidobacterium*

ذات لون غير شفاف عند تتميتها في وسط MRS agar وذات شكل محدب دائري في الظروف اللاهوائية معظم المستعمرات قريبة من السطح وقليل منها تحت السطح وبحجم اصغر وهذا يطابق وصف (Dubey and Mistry,1996) ، الاختبارات الكيمياحيوجية التي استخدمت لتحديد جنس الجراثيم اللبنية الشقاء هي صبغة غرام لتحديد الخواص الشكلية واختبار الكاتالاز والأوكسيداز (Saubusse, 2007) حيث كانت النتائج ايجابية الغرام لها شكل u وسلبية الكاتالاز والاوكسيداز .

مجموعات التجربة: المجموعة الاولى لم تعطى جراثيم الشقاء بالحليب (شاهد)، المجموعة الثانية أعطيت جراثيم الشقاء بالحليب بتركيز 10^5 cfu / مل ، المجموعة الثالثة أعطيت جراثيم الشقاء بالحليب بتركيز 10^7 cfu / مل، المجموعة الرابعة أعطيت جراثيم الشقاء بالحليب بتركيز 10^9 cfu / مل .

جمع العينات : جمعت عينات البراز مرة اسبوعيا لكل مجموعة على التوالي وذلك في نفس الوقت للمجموعات الاربعة ، وضع 1غ من العينة لكل مجموعة في 9 مل محلول ملحي تركيز 0.9% تمت مجانسته ثم أخذ 1مل من محلول الطافي و مدد بأنابيب تحوي محلول ملحي تركيز 0.9% سعة 9 مل و أخذ 0.1 مل من كل أنبوب و زرع على المثبت التبييزي لجراثيم الشقاء MRS Agar (لاهوائيا على 37°C مدة 48 ساعة) (Juang et al., 2000) والمنبت التمييزي لجراثيم القولونيات VRBA Agar (Yousef and Carlstrom, 2003) (HiMedia, India) (هوائي على 37°C مدة 24 ساعة) ، فقد تم بعد مستعمرات القولونيات النامية ذات اللون الاحمر الارجوانى والمحاطة بهالة بنفسجية ناتجة عن ترسيب املاح الصفراء (Hennsy and others 1996)

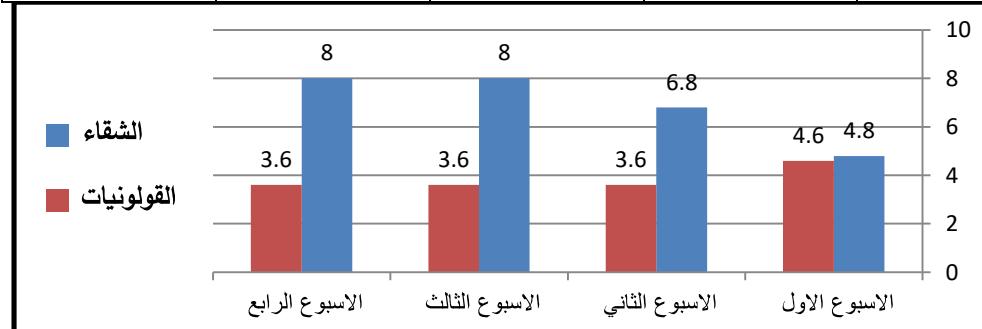
وزن القداد : بعد فترة التأقلم كان متوسط وزن القداد بين (70-80) غ و تم حساب الوزن مرة اسبوعيا خلال تجربة اعطاء الحليب و عند نهاية كل اسبوع .

التحليل الاحصائى : حللت النتائج احصائيا باستخدام اختبار تحليل التباين وحد الاتجاه One-Way ANOVA حيث قيمة الاختلالية $P < 0.05$ عند المقارنة بين المجموعات المختلفة ضمن نفس الاسبوع .

4-النتائج : بعد تحليل البيانات احصائيا تبين ان افضل تركيز لإعطاء جراثيم الشقاء بالحليب هو تركيز 10^7 cfu/مل حليب حيث ارتفع تعداد الشقاء عند نهاية الاسبوع 4 الى (8.60 ± 0.32) لغ₁₀ cfu/غ براز وانخفض تعداد القولونيات عند نهاية الاسبوع 4 ($P < 0.05$) ، وكذلك اعطى افضل زيادة وزنية عند نهاية الاسبوع 4 حيث بلغ متوسط وزن القداد (105 ± 3.16) غ كما هو مبين بالجدوال التالية :

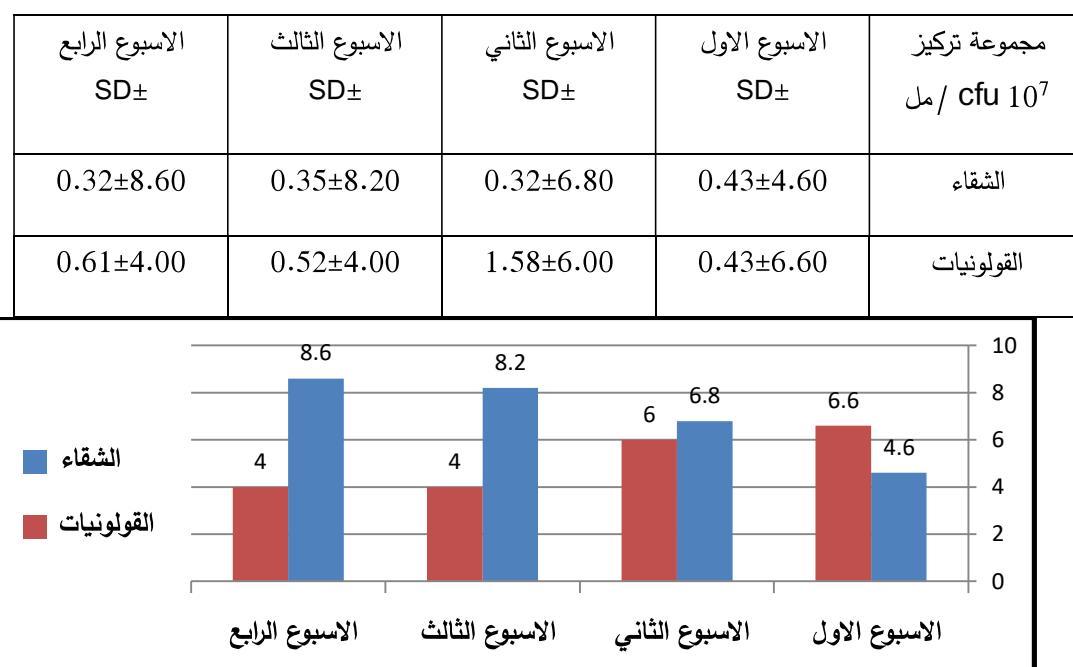
الجدول رقم (1) : متوسط لغ₁₀ لتعداد القولونيات والشقاء في 1غ براز عند إعطاء جراثيم الشقاء بتركيز 10^5 cfu / مل (n=5)

الاسبوع الرابع SD±	الاسبوع الثالث SD±	الاسبوع الثاني SD±	الاسبوع الاول SD±	مجموع تركيز مل / cfu 10^5
0.67 ± 8.00	0.67 ± 8.00	0.37 ± 6.80	0.49 ± 4.80	الشقاء
0.82 ± 3.60	0.78 ± 3.60	0.80 ± 3.60	0.39 ± 4.60	القولونيات



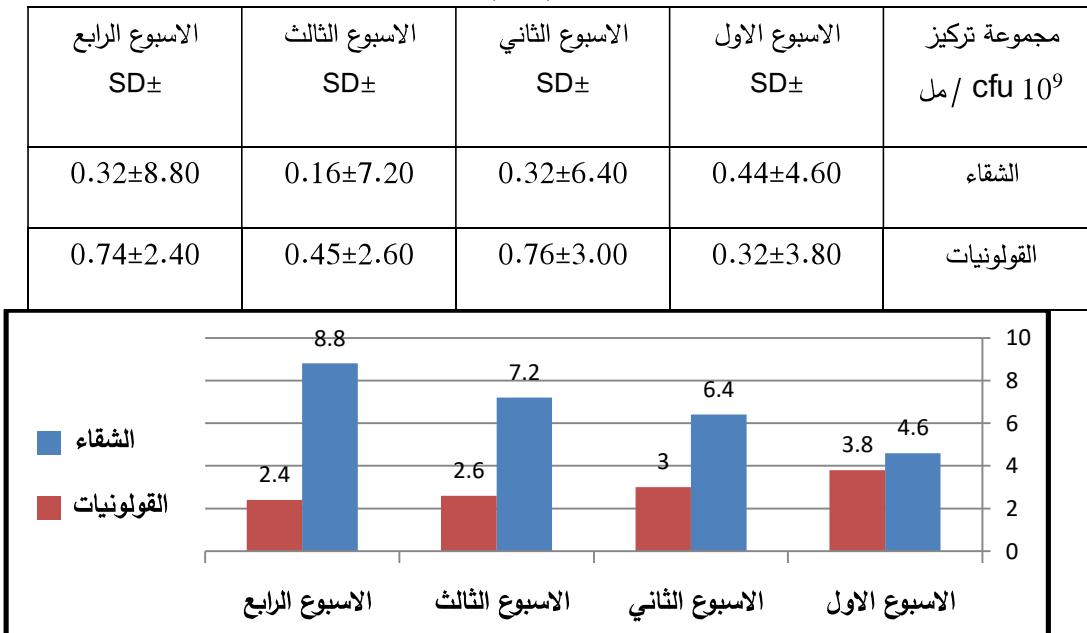
المخطط رقم (1): تعداد القولونيات والشقاء في 1غ براز عند إعطاء جراثيم الشقاء بتركيز 10^5 cfu / مل

الجدول رقم (2): متوسط لغ₁₀ لـتعداد القولونيات و الشقاء في 1 غ براز عند إعطاء جراثيم الشقاء بتركيز 10^7 / cfu مل :



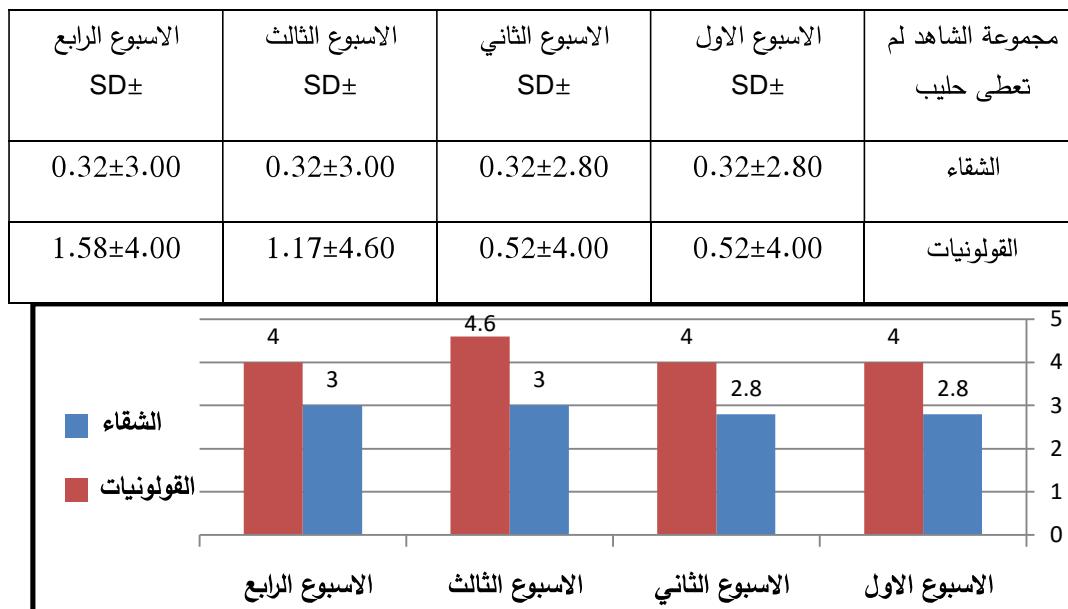
المخطط رقم(2): تعداد القولونيات و الشقاء في 1 غ براز عند إعطاء جراثيم الشقاء بتركيز 10^7 /cfu /مل

الجدول رقم (3): متوسط لغ₁₀ لـتعداد القولونيات والشقاء في 1 غ براز عند إعطاء جراثيم الشقاء بتركيز 10^9 / cfu مل : (n=5)



المخطط رقم(3): تعداد القولونيات والشقاء في 1 غ براز عند إعطاء جراثيم الشقاء بتركيز 10^9 /cfu /مل

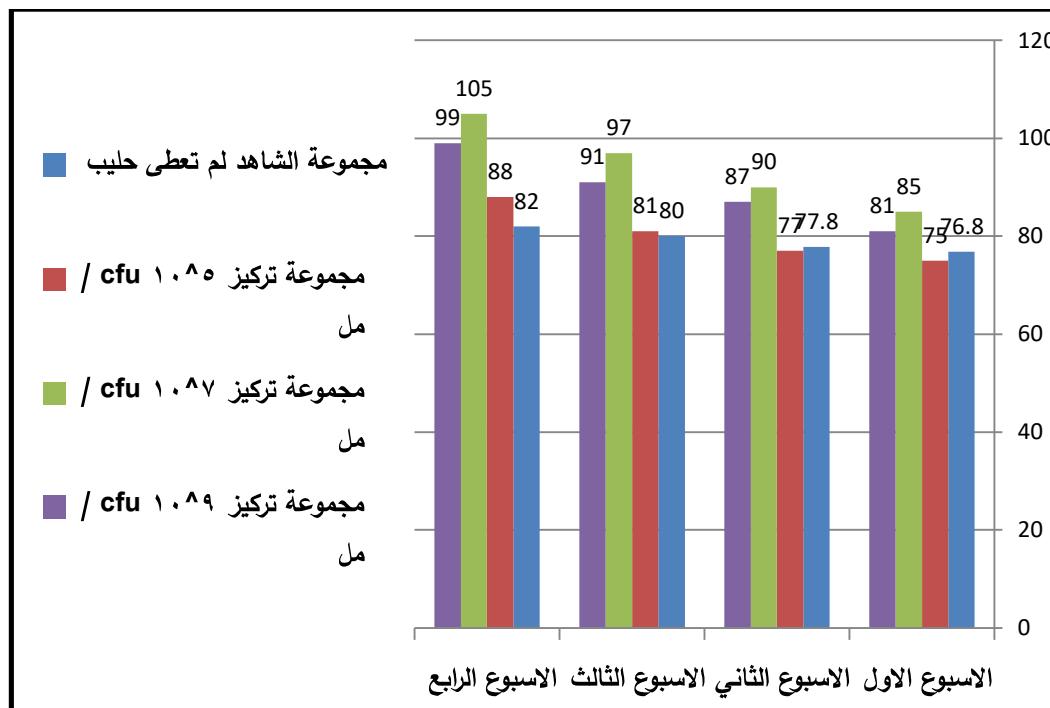
الجدول رقم (4): متوسط لـ 10 لتجداد القولونيات و الشقاء في 1 غ براز لم يتم إعطاء جراثيم الشقاء بالحليب (شاهد) : (n=5)



المخطط رقم (4): تعداد القولونيات و الشقاء في 1 غ براز لم يتم إعطاء جراثيم الشقاء بالحليب (شاهد)

الجدول رقم (5): متوسط وزن القداد / غ عند إعطاء جراثيم الشفاء بالتراكيز الثلاث المختلفة بالحليب (n=5) :

الاسبوع الرابع SD±	الاسبوع الثالث SD±	الاسبوع الثاني SD±	الاسبوع الاول SD±	وزن القداد / غ
4.47±82.00	4.47±80.00	2.28±77.80	2.95±76.80	مجموعة الشاهد لم تعطى حليب
2.74±88.00	2.74±81.00	2.55±77.00	3.16±75.00	مجموعة تركيز مل / cfu 10^5
3.16±105.00	3.16±97.00	3.16±90.00	2.24±85.00	مجموعة تركيز مل / cfu 10^7
2.74±99.00	2.74±91.00	2.74±87.00	2.74±81.00	مجموعة تركيز مل / cfu 10^9



المخطط رقم (5): متوسط وزن القداد / غ

الدراسة النسيجية:

تم تشريح حيوانات التجربة (animal dissecting) مخبر التشريح المرضي في كلية الطب البيطري بجامعة حماة حضرت عينات الأمعاء للدراسة النسيجية وفق الطريقة الروتينية، وصبغت المقاطع النسيجية بصبغة الهيماتوكسيلين وايزين H & E (Taiyb and Jaread 1995)، وعند مقارنة الزغابات المعوية لمقاطع النسيجية المأخوذة من الصائم والللفائي تبين أن الزغابات المعوية في الصائم كانت أطول وأكثر تقارباً من الزغابات المعوية في الللفائي. وقد لوحظ أن طول الزغابات المعوية للعينات المأخوذة من المجموعة المغذاة بالحليب كانت أطول وأثخن وأكثر تقارباً مع بعضها البعض، إضافةً إلى زيادة مساحة سطح الزغابات المعوية مما يدفع بالاعتقاد بأنها ساهمت في زيادة معدل مساحة سطح الامتصاص ضمن الأمعاء الأمر الذي قد يؤدي إلى زيادة معدل امتصاص المواد الغذائية عبر الأمعاء، وكذلك لوحظ فرط تسخّج في الخلايا الكأسية للأمعاء والموجودة ضمن الصفيحة المخصوصة للأمعاء، وكذلك لوحظ زيادة كمية التروية الدموية الشريانية مقارنةً مع مجموعة الشاهد.

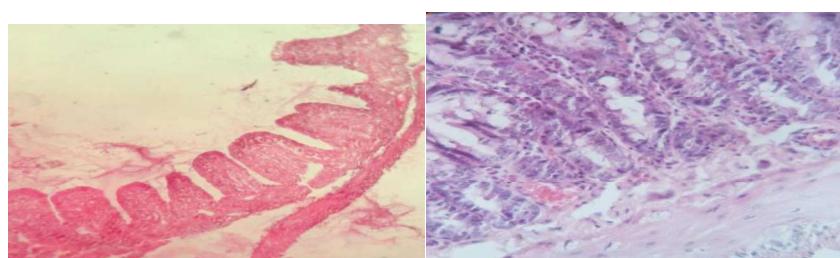
• قياس طول الزغابات المعوية:

تم قياس متوسط أطوال الزغابات المعوية في مجموعات التجربة (مجموعة الشاهد، مجموعة الحليب) وذلك باستخدام عدسة المجهر ذات المسطرة، وعند مقارنة أطوال الزغابات المعوية في المقاطع النسيجية لكل من الصائم والللفائي في مجموعة الشاهد، تبين أن متوسط طول الزغابات المعوية في مقاطع الصائم بلغ (233.55) ميكرون، أما بالنسبة لمقاطع الللفائي فقد بلغ متوسط طول الزغابات المعوية (110.29) ميكرون.

أما بالنسبة لمجموعة الحليب فقد لوحظ زيادة أطوال الزغابات المعوية بشكل كبير عن أطوال الزغابات المعوية لدى مجموعة الشاهد، فقد بلغ متوسط طول الزغابات المعوية في مقاطع الصائم لدى مجموعة الحليب (530.41) ميكرون، بينما بلغ متوسط طول هذه الزغابات في مقاطع الللفائي (302.11) ميكرون.

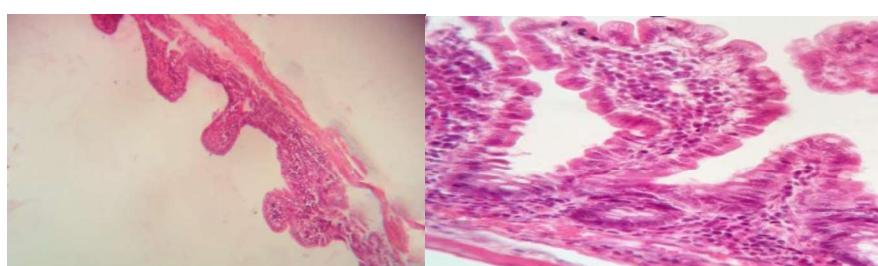
صور مقاطع نسيجية من الأمعاء :

1. مجموعة الشاهد (الصائم) تكبير 400X :



2. مجموعة الحليب (الصائم) تكبير 400X :

3. مجموعة الشاهد (الللفائي) تكبير 400X :



5-المناقشة :**تأثير جراثيم الشقاء المعطاة بالحليب على تعدادها بالبراز:**

ارتفع تعداد الشقاء بالبراز وذلك لقدرتها على البقاء بعد الابتلاع والوصول للأمعاء وزيادة أعدادها بالبراز كما بين الباحث (Larsen *et al.*, 2011) ، أيضا قدرتها على تحمل املاح الصفراء ومحوضة المعدة والبقاء على قيد الحياة أدى إلى ارتفاع تعدادها كما بين الباحث (Dianawati., *et al.* 2016)، كما أن تأثيرها التناصفي على موقع الالتصاق في الأغشية المخاطية للأمعاء أدى إلى زيادة عددها كما بين الباحث (Heyman & Menard, 2002).

تأثير جراثيم الشقاء المعطاة بالحليب على تعداد جراثيم القولونيات :

لوحظ انخفاض في تعداد القولونيات في المجموعة التي أعطيت الحليب بتركيز 10^7 مل وهذا يعود إلى تركيزها المرتفع في بداية التجربة فجراثيم الشقاء تعمل على إعادة التوازن الميكروبي للأمعاء كما بين الباحث (Collado *et al.*, 2007) ، أيضا تفرز الشقاء مواد مثبتة للجراثيم كالمحض العضوية (اللين والخل) و أكسيد الهيدروجين و الباكتريوسين كما بين الباحث (Schierack *et al.*, 2009) الامر الذي أدى إلى انخفاض القولونيات كما بين الباحثون (George Kerry (2009) ، و تعمل الشقاء على رفع الاستجابة المناعية وبالتالي مقاومة الجراثيم الممرضة كما بين الباحث (*et al.*, 2018) عن طريق تعزيز إنتاج الأضداد وخاصة IgA ، ورفع تركيز السيتوكينات Cytokines Strompfova *et al.*, 2007 عن طرق ترميز إنتاج الأضداد وخاصة IgA ، ورفع تركيز السيتوكينات (chen *et al.*, 1999) . أما الباحث (Trebichavsky and Splichal, 2006) فقد بين ان جراثيم الشقاء المعطاة باللين حرضت نمو الجراثيم الممرضة المثبتة (القولونيات) خلال فترة إعطائهما وبالتالي زيادة تعداد الشقاء والقولونيات معاً لكنه بين أن جراثيم الشقاء البرازية كانت هي السائدة .

تأثير جراثيم الشقاء المعطاة بالحليب على الزيادة الوزنية :

فسرت الزيادة الوزنية بعد إعطاء جراثيم الشقاء بالحليب بسبب تأثيرها على النسيج الظهاري للأمعاء حيث أدت إلى طول وثخن الزغابات المغوية وبالتالي زيادة سطح الامتصاص وزيادة الاستفادة من المواد الغذائية البسيطة كما بين الباحث (Smirnov *et al.* ., 2005) ، كما أنها تحسن من كفاءة هضم الطعام (Abdelrahman and Hunaiti 2008) . كذلك عودة التوازن الميكروبي بالأمعاء (Collado *et al.*, 2007) وتحفيز الاستجابة المناعية وزيادة الأضداد وخاصة IgA ، ورفع تركيز السيتوكينات Cytokines (Trebichavsky and Splichal, 2006) أدى إلى زيادة الوزن .

الدراسة النسيجية :

تبين أن الزغابات المغوية في الصائم كانت أطول وأكثر تقاربًا من الزغابات المغوية في الفائقي، وهذا وافق الباحث Yang وزملاؤه (2009) ، ايضا ساهمت جراثيم الشقاء في زيادة معدل مساحة سطح الامتصاص ضمن الأمعاء الأمر الذي قد يؤدي إلى زيادة معدل امتصاص المواد الغذائية عبر الأمعاء كما بين الباحث (Smirnov *et al.* ., 2005) ، ربما تعود زيادة طول الزغابات المغوية بالمقارنة مع الشاهد إلى التحفيز الكيميائي للحموض الدهنية قصيرة السلسلة الناتجة عن تأثير البروبوتيك الحاوية على جراثيم الشقاء في المواد الغذائية وهذا ما أشار اليه (Fuller , 1977) مما أدى إلى زيادة الوزن . وكذلك لوحظ فرط تنفس في الخلايا الكأسية والبدنية الموجودة ضمن الصفيحة المخصوصة للأمعاء، وزيادة الخلايا المخاطية وكذلك لوحظ زيادة كمية التروية الدموية الشريانية (التبيغ) وهذا وافق الباحث (Vinderola . *et al.*, 2007)

6- الاستنتاجات :

1. إن استخدام جراثيم الشقاء *Bifidobacterium* له تأثير ايجابي على تثبيط جراثيم القولونيات .
2. إن أفضل تركيز لاستخدام جراثيم الشقاء هو 10^7 cfu / مل .
3. إن استخدام جراثيم الشقاء له تأثير ايجابي على الزيادة الوزنية .

7- التوصيات :

نوصي باستخدام جراثيم الشقاء في العلاج والوقاية من الجراثيم الممرضة .

8-المراجع :

1. Abdelrahman, M.M. and. Hunaiti .D.A(2008): The effect of dietary yeast and protected methionine on performance and trace minerals status of growing Awassi lambs.Livest. Sci. 115: 235–241.
2. Al-Taiyb, N. and Jaread, B. (1995) *Histochemistry Basics*, King Saud University, Saudi Arabia (1st ed), pp. 316.
3. 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.
4. Chiu-Hsia Chiu . Tzu-Yu Lu . Yun-Yu Tseng .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.
5. Collado MC, Meriluoto J, and Salminen S(2007) : Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus. *Lett Appl Microbiol*; 45: 454–60.
6. 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.
7. Dianawati D, Mishra V, and Shah NP. 2016 Viability, Acid and Bile Tolerance of Spray Dried Probiotic Bacteria and Some Commercial Probiotic Supplement Products Kept at Room Temperature. *J Food Sci.*
8. DuBey, U.K.and V.Mistry. (1996) “Growth characteristics of *Bifidobacteria* in infant formula”. *J.Dairy Sci.*, 79: 1146–1155.
9. Feng P.,Weagent SD and Grant MA.(2002). Bacteriological AnalyticaManualOnline.[www.lib.ncsu.edu/pubweb/www/ETDdb/web_root/collection/available/etd-04102005-213953/ unrestricted/ etd.pdf](http://www.lib.ncsu.edu/pubweb/www/ETDdb/web_root/collection/available/etd-04102005-213953/).

10. 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.
11. Fuller, R., (1977): The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. *Br. Poult. Sci.* 18:85–94.
12. George Kerry R, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin HS, Das G. (2018) .Benefaction of probiotics for human health: A review. *J Food Drug Anal* 26:927–939.
13. Gibson G.R and Wang X. (1994). Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. *J. Appl. Bacteriol.*, 77, 412–420.
14. Hennessy and others .(1996) . A national outbreak of salmonella enteritidis infections from ice cream. The investigation team. *N Engl. J. med.*, May 16;334(20):1324–5.
15. Heyman M and Menard. (2002). Probiotic microorganisms: how they affect intestinal pathophysiology. *CMLS. Cell. Mol. Life. Sci.* vol. 59, pp:1–15.
16. Juang IL, Pan TM, Huong HP, Huang CJ (2000) The effect of oligosaccharide beverage on microflora in rats. *Chin J Nutr* 25:232–242.
17. 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.
18. Kaur IP., Chopra K., and Saini A.(2002). Probiotics potential pharmaceutical applications. *Eur J Pharm Sci.*,15(1), 1–9.
19. 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.
20. Kuan-Yuan Wang, Shui-Nin Li, Chiang-Shin Liu, Daw-Shyong Perng, Yu-Chung Su, Deng-Chyang Wu, Chang-Ming Jan, Chun-Huang Lai, Tsu-Nai Wang, and Wen-Ming Wang (2004) *Am J Clin Nutr* ;80:737–41.
21. 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.
22. Kuznetsova GG., Trushina ÉN., Muatafina OK., Cherkashin AV., Batishcheva Slu., 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.
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.
24. Lim K.S., Huh C.S., and Back Y.J. (1993). Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria. *J. Dairy Sci.*, 76, 2168–2174.
25. 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.
26. 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, universite blaise pascal. France.
27. 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. *toyoii* on immune parameters of pregnant sows. *Vet Immunol Immunopathol*, 127:26–37.
28. Smirnov, A., Perez, R., Amit-Romach, E., Sklan, D. and Uni, Z. (2005): Mucin dynamics and microbial populations in chicken small intestine are changed by dietary probiotic and antibiotic growth promoter supplementation. *J Nutr*, Vol. 135, No. 2, pp. (187–92).
29. Strompfova, V., Marcinakova. M , Simonova M., Gancarcikova .S, Jonecova .Z, Scirankova .L, Koscova .J, Buleca. V, Cobanova .K, and Laukova. A. (2007): *Enterococcus faecium* EK13—an enterocin α-producing *Bacillus cereus* var. *toyoii* enhanced systemic immune response in piglets. *Vet Immunol Immunopathol*,118:1–11.
30. Trebichavsky I. and. Splichal I.(2006): Probiotics manipulate host cytokine response and induce antimicrobial peptides. *Folia Microbiol. (Prada)*. 51:507–510.
31. 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.
32. Vinderola G, Matar C, Perdigon G. (2007): Milk fermentation products of *L. helveticus* R389 activate calcineurin as a signal to promote gut mucosal immunity. *BMC Immunol*; 8: 19.
33. Yang, H., Liu, A., Zhang, M., Ibrahim, S.A., Pang, Z., Leng, X. & Ren, F. (2009): Oral administration of live *Bifidobacterium* substrains isolated from centenarians enhances intestinal function in mice. *Curr Microbiol*, Vol. 59, No. 4, pp. (439–445).
34. Yousef, A. E., and Carlstrom, C. (2003). *Food Microbiology* by Jhon Wiley& Sons, Inc.
All rights reserved.