

التقصي عن الجراثيم المتواجدة في حليب الأبقار الخام والجبنة في المنطقة الوسطى من سورية

• طب كرم العوير • د . ناجح هبره ••• كينيتشي ساكوراى

جمعت خمسين عينة جبنة وخمسين عينة حليب من محلات تجارية مختلفة في المنطقة الوسطى من سورية. وكان العدد الكلي للجراثيم في الحليب $< 10^6$ cfu/ml في 96% من عينات الحليب وفي الجبنة $< 10^5$ cfu/g في 98% من عينات الجبنة.

وعزلت المكورات العنقودية الذهبية (11%) والمكورات العنقودية سلبية المختراز (8%) والاشريكية القولونية (7%) والكلبيسيلا (10%).

المكورات العنقودية الذهبية كانت مقاومة للأمبيسلين والبنسلين والكولستين والكاناميسين ومتوسطة الحساسية للتراسكلين والكلورامفينيكول. المكورات سلبية المختراز كانت مقاومة للكولستين وحساسة للكلورامفينيكول. الاشرىكية القولونية كانت مقاومة للبنسلين واللينكوماميسين وحساسة للكلورامفينيكول. الكلبيسيلا كانت مقاومة للبنسلين واللينكوماميسين وحساسة للتراسكلين والكاناميسين والسلفانتراميثيوم. وقد أبدت المكورات العنقودية الذهبية والاشريكية القولونية والكلبيسيلا أنماط مختلفة لمقاومتها للمضادات.

• طالب ماجستير ، قسم الأحياء الدقيقة ، كلية الطب البيطري - جامعة البعث

•• أستاذ مساعد ، قسم الأحياء الدقيقة ، كلية الطب البيطري - جامعة البعث

••• خبير متطوع من الوكالة اليابانية للتعاون الدولي (JICA)

المقدمة

يعد الحليب ومشتقاته من المواد الغذائية الأساسية لصحة الإنسان وخاصة الأطفال في سورية، حيث يؤمن لهم الحليب الاكتفاء الذاتي للغذاء، ومعظم الحليب ومنتجاته وعلى مدار العام يأتي من ضرع البقرة، والحليب أقدم مادة غذائية عرفها الإنسان وتغذى عليها، وإن استهلاكها في المجتمعات المعاصرة يعبر عن أحد أوجه تقدمها الحضاري واهتمامها برفاهيتها الغذائية والصحية، ويعد الحليب أكثر المواد الغذائية المتكاملة حيث يحوي على نوعية جيدة من البروتين والدهن وسكر الحليب والعناصر المعدنية والفيتامينات (Oconnor, et al, 1991). وإن الإنسان لا يستطيع الاستغناء عن الحليب أو منتجاته بالكامل طوال حياته إذ لا بد من أخذها ولو وبكميات قليلة ومناسبة تقريبا لأن هذه المواد الغذائية تمكن الإنسان السوري من ممارسة نشاطاته الحيوية المختلفة (نباغ، ٢٠٠٤)، وهو جزء إلزامي من الوجبة اليومية للأهالي كما هو بالنسبة لنمو الأطفال (Javaid et al, 2009). ويعتبر الحليب الخام وسط مثالي لنمو وتضاعف الجراثيم بأعداد كبيرة (Haridy, 1992 ; Ekici et al, 2004) . والحليب عند حلاقة يحدث له تلوث بالجراثيم ومن خلال طرق متعددة منها عبر قناة وفتحة حلمة الضرع وفي هذه الحالة يحوي الحليب على عدة مئات من الجراثيم وهذا ما يعرف بالتلوث الإفرازي (Ahmed et al, 2001 ; Farzana et al, 2004). أما التلوث بعد الإفرازي فيحدث بعد خروج الحليب من ضرع البقرة بعملية الحلاقة حيث يمكن أن يتلوث الحليب بجراثيم متعددة منها الجراثيم الممرضة وغير الممرضة ويكون مصدر هذا التلوث من الجو المحيط (البيئة) أو من الحيوان أو من تجهيزات الحلاقة أو أثناء جمع ونقل الحليب أو من الحلاب نفسه، (Soomro et al, 2002) . وجد الباحث (Scherrer, 2004) أن الجراثيم تصل إلى الحليب الخام المسوق إما عن طريق طرح مباشر من الحيوانات المصابة بالتهاب ضرع سريري أو تحت سريري أو عن طريق التلوث. وكما أن الجبنة تعتبر وسط مناسب للجراثيم مثل الحليب وإن التلوث الجرثومي للجبنة يحدث في حال صنعت الجبنة من حليب خام ملوث بالجراثيم أو أن التلوث يحدث أثناء تحضير الجبنة، حيث غالباً ما يعتمد في صناعة هذه المنتجات على الطرق التقليدية دون إعطاء أهمية كافية لجودة المواد المستخدمة أو نظافة هذا المنتج. وبالتالي ستتواجد الجراثيم في المنتج النهائي

والمستهلكون سيكونون معرضون لهذه الجراثيم (Smith, 1981). وإن تكرار إصابة الإنسان بالتسمم الغذائي عن طريق الحليب ومشتقاته تؤكد أهمية الحليب ومشتقاته كحوامل للعدوى، حيث تعتبر المكورات العنقودية الذهبية من أهم الجراثيم المسببة للتسمم الغذائي والتي تؤدي إلى اضطرابات هضمية حيث أنه ٨% من التسممات الغذائية التي حدثت في المملكة المتحدة بين عامي ١٩٦٩-١٩٩٠ كان بسبب المكورات العنقودية الذهبية من الحليب ومشتقاته (Le Loir et al, 2003). كما إن المكورات العنقودية سالبة المختراز أضحت تعتبر من المسببات الرئيسية للأمراض المحمولة على الغذاء وهذا ما أكدته (Crass and Bergdoll, 1986) و (Breckinridge and Bergdoll, 1971).

وكما أن العدوى بالمكورات العنقودية الذهبية تتمثل بعوارض سريرية متعددة منها الخمج الجلدي مثل البثرات والحبات الجلدية والقوباء وأيضاً حدوث خراجات وأمراض قد تكون مميتة مثل الالتهاب الرئوي والتهاب السحايا والتهاب شغاف القلب والتنقيف الدموي (Masud et al, 1988 ; Soomro et al, 2002). وتظهر أعراض التسمم الغذائي بجراثيم المكورات العنقودية الذهبية على شكل غثيان وإقياء وتشنجات بطنية وإسهال (Scherrer, 2004). بينما وجد أن الأشريكية القولونية التي تشكل نسبة ٩.٦% تعتبر من الجراثيم الممرضة التي تدخل للجسم عن طريق مشتقات الحليب (Otenhamjer, 2000).

وإن تلوث الغذاء المتكرر بعصيات الأشريكية القولونية يعتبر مؤشر جيد على حدوث تلوث برازي (Dilielo, 1982 ; Soomro et al, 2002 ; Benkerroum et al, 2004).

وكما يعتبر وجود عصيات الأشريكية القولونية في منتجات الحليب دليل على تواجد الكائنات الدقيقة المعوية الممرضة للأمعاء وهذا يشكل خطراً على الصحة العامة، حيث أن الأشريكية القولونية الممرضة للأمعاء تسبب إسهال شديداً وتقي (anonymous 1975 ; Valencia, 2005). بالإضافة إلى أن إصابة الإنسان بجراثيم البروسيلة تأتي غالباً من خلال تناول الحليب ومشتقاته الملوثين بعصيات البروسيلة مسببة له أخماج عديدة مثل التجرثم الدموي وحمى وتغرق ليلي كزبه الرائحة وأرق صداع وضعف وإعياء شديدين وآلام في الصدر والمفاصل وفي عضلات الجسم بالإضافة إلى تأثيرها على الجهاز العصبي وإنها من مسببات الإجهاض المنتشرة عند الأبقار والأغنام والماعز (Altalafhah et al, 2003; Almajali et al, 2007; Buyukcangaz et al, 2007).

هدف البحث:

نظراً لكثرة تكرار الإصابة بالتسمم الغذائي ومرض البروسيلة نتيجة لتناول الحليب أو الجبنه دعت الضرورة الى البحث عن معرفة مسببات هذه الإصابات وطرق نقلها من أجل توعية الناس الى كيفية التعامل مع هذه المسببات والسيطرة عليها لتفادي انتقالها.

المواد وطرائق العمل:

أجري البحث في مختبر البحوث والدراسات العليا في كلية الطب البيطري الذي تتوفر فيه كافة المواد اللازمة لانجاز البحوث العلمية. والبحث أنجز بتطبيق الخطوات التالية:
جمعت مائة عينة (خمسين عينة حليب وخمسين عينة جبنه) وبعدل ٢٥ غرام من الجبنه و٢٥ مل من الحليب الخام من محلات تجارية مختلفة في المنطقة الوسطى من سورية، ووضعت في أوعية زجاجية معقمة ونقلت إلى مختبر البحوث في كلية الطب البيطري وتحت ظروف تبريد ضمن الحافظة، ثم أجريت عليها خطوات العمل التالية :

- أخذ ١٠ غرام من العينة إذا كانت جبنه أو ١٠ مل من الحليب وأضيف لها ٩٠ مل من سترات الصوديوم ٩% ووضعت في أنبوب اختبار حيث تم تجنيسها وبعد ذلك تم إجراء سلسلة تمديدات للعينة بماء البيبتون.
- أخذ ٠.١ مل من كل تخفيف وزرعت على وسط الأجار المدمى بدم الأغنام ٥% و حسب التعداد الكلي للجراثيم.
- اخذ أيضاً ٠.١ مل من كل تخفيف وزرعت على الأوساط الانتقائية ، (وسط مكوني ووسط المانيتول المالح ومنيت البر وسيلة) ثم حضنت الأوساط بظروف هوائية وعلى الدرجة ٣٧°م لمدة ٢٤-٤٨ ساعة، أما وسط البروسيلة فحضنت بدرجة حرارة ٣٧°م بوجود ثنائي أكسيد الكربون بنسبة ٥% ولمدة ٧ أيام، ثم أجري على الأوساط الانتقائية الآتي :
 - ١- حسب التعداد العام للجراثيم النامية على كل وسط انتقائي
 - ٢- حضرت مسحات جرثومية من كل وسط انتقائي وصبغت بصبغة غرام للتعرف الأولي على نوع الجراثيم النامية على الوسط ثم بعدها تقيت الجراثيم.

٣- أجريت الاختبارات الكيمياءحيوية (الكاتالاز، الاوكسيداز، الأكمدة والتخمير، إرجاع النترات، تمييع الجلوتين، إنتاج اليوريا، واختبار المختراز، الاندول واختيار أحمر الميتيل واختبار فوجس بروسكاور، واختبار سيمون مسترات) للجراثيم النامية على كل وسط انتقائي للتأكد من نوع الجراثيم النامية حسب ما ذكره (Cowan and Steel, 1974) .

٤- أجري اختبار التراص بالأنابيب لتحديد نمط التخثر الذي تحدثه المكورات العنقودية الذهبية حيث حضنت مستعمرة جرثومية في ٥ مل من خلاصة القلب والدماغ لمدة يوم واحد وبدرجة حرارة ٣٧°م ثم نقلت العينة بسرعة ٣٠٠٠٠٠ دورة/الدقيقة لمدة ٣٠ دقيقة وأخذ السائل الطافي كعينة حيث وزع على ٩ أنابيب بكمية ٠.١ مل في كل أنبوب وبعدها أضيف للأنابيب من ١ إلى ٨ كمية ٠.١ مل من الضد المصلي النوعي ثم أضيف للأنبوب التاسع ٠.١ مل من بلازما دم الأرنب الممدد لـ ٢٠ مرة ووضع في حمام مائي بدرجة حرارة ٣٧°م لمدة ساعة، ثم أضيف ٠.٢ مل من بلازما دم الأرنب على كل الأنابيب الممددة خمس مرات ومزجت ثم حضنت بدرجة حرارة ٣٧°م لمدة ساعة ثم قرأت النتيجة:

❖ حدوث تخثر جميع الأنابيب بما فيها الأنبوب الشاهد (التاسع) ما عدا واحد منها تكون النتيجة ايجابية والموافقة للضد النوعي.

❖ إذا لم يحدث تخثر في عدة أنابيب يمدد وقت الحضانة النهائي إلى ٢ ، ٤ ، ٢٤ ساعة على التوالي و إذا بقيت النتيجة على حالها نقول أن نظام التخثر مركب.

٥- أجري اختبار التراص السريع على شريحة لتصنيف الاشريكية القولونية بإجراء التالي:
١- زرعت الاشريكية القولونية على وسط قاعدة الأجار المدمى وحضنت على الدرجة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة.

٢- من المستعمرات النامية على الوسط السابق أخذ ٣-٥ مستعمرات جرثومية وحقت في أنبوب اختبار يتضمن محلول ملحي معقم على درجة حرارة ١٠٠°م لمدة ٦٠ دقيقة ثم نقل بسرعة دوران ٩٠٠ دورة / الدقيقة ثم استبعد الطافي و أخذ ٠.٥ مل من الراسب ، وأجري اختبار التراص على الشريحة بوضع ٣٠ ميكروليبتر من العينة مع ١٠ ميكروليبتر من النمط المصلي المراد اختباره وقرأت النتيجة بعد دقيقة.

٦- أجري اختبار الحساسية باستخدام وسط أجار مولر-هنتون وبطريقة الانتشار بعد تحضير معلق من كل نوع جرثومي، ثم أخذ من المعلق 0.1 مل وزرع على الوسط بشكل منتظم.

النتائج:

بناءً على الاختبارات الجرثومية التي أجريت على عينات من كل من الحليب والجبنة أظهرت نتائج التعداد العام للجراثيم كما هو مبين بالجدول (١):

جدول (١): العدد الإجمالي للجراثيم في عينات الجبنة والحليب الخام المختبرة من المنطقة الوسطى في سورية

المجموع	الجبنة	الحليب	العدد الإجمالي cfu/g/
٢١	٧	١٤	١٠
٥٣	٢٣	٣٠	١٠ - ١٠
٢٥	١٩	٦	١٠ - ١٠
١	١	٠	١٠
١٠٠	٥٠	٥٠	المجموع

كما بينت النتائج أنه عزلت المكورات العنقودية الذهبية والمكورات العنقودية السالبة لاختبار المختراز و الاشرىكية القولونية والكلبيسيلا كما هو مبين بالجدول (٢):

الجدول (٢): نوع وعدد الجراثيم المعزولة من عينات الجبنة والحليب الخام المختبرة من المنطقة الوسطى في سورية

المجموع	الجبنة	الحليب	نوع الجرثومة
١١	٠	١١	العنقودية الذهبية
٨	٦	٢	المكورات سلبية المختراز
٧	٢	٥	الاشرىكية القولونية
١٠	١	٩	الكلبيسيلا
٠	٠	٠	البروسيلة

وأما بالنسبة لعدد كل نوع جرثومي قد شخص بناءً على فحص الفلم المصبوغ بغرام وعلى الاختبارات الكيميائية كان المعدل كما هو مبين بالجدول رقم (٣) :

جدول (٣): يظهر معدل عدد كل نوع جرثومي في عينات الجبنة والحليب الخام المختبرة من المنطقة الوسطى في سورية

نوع الجرثومة	الجبنة cfu/g	الحليب الخام cfu/ml
العنقودية الذهبية	٢.١ - ١٠ × ٢.٥	١٠ × ٢.٤ - ١٠ × ٢.٨
المكورات سلبية المخترز	١٠ × ٢.٧ - ١٠ × ٥	١٠ × ٧ - ١٠ × ٢
الإشريكية القولونية	١٠ × ٣.٢ - ١٠ × ٢	١٠ × ١ - ١٠ × ٥
الكليبيلا	-	١٠ × ١.٧ - ١٠ × ١.٢

وبإجراء اختبار الحساسية للمكورات العنقودية الذهبية نجدها كانت مقاومة للأمبيسلين والبنسلين والكولستين واللينكومايسين وسبعة منها كانت حساسة للنتراسكلين وخمسة حساسة للكلورامفينيكول كما هو مبين بالجدول رقم (٤). كما تبين وجود خمسة أنماط من مقاومة المكورات العنقودية الذهبية للصادات كما هو موضح بالجدول (٥). أما المكورات العنقودية السالبة للمخترز كانت مقاومة للكولستين وكانت جميعها حساسة للكلورامفينيكول جدول رقم (٦).

أما بالنسبة لعزولات الإشريكية القولونية فكانت مقاومة للبنسلين واللينكومايسين وكانت حساسة للكلورامفينيكول ومتوسطة الحساسية للكاناميسين جدول رقم (٧)، حيث وجد أربعة أنماط لمقاومة الإشريكية القولونية للصادات كما هو موضح بالشكل رقم (٨).

بينما الكليبيلا كانت مقاومة للبنسلين واللينكومايسين وكانت حساسة للنتراسكلين جدول رقم (٩) وجد تسعة أنماط لمقاومة الكليبيلا للصادات كما هو موضح بالشكل رقم (١٠).

جدول (٤): نتائج اختبار الحساسية للمكورات العنقودية الذهبية للصادات في العينات المختبرة من المنطقة الوسطى في سورية:

عدد العزولات			الصادات	
مقاوم	متوسط الحساسية	حساس	الرمز	النوع
١١	-	-	PCG	بنسلين
١١	-	-	ABPC	اميسلين
٣	١	٧	TC	تتراسكلين
١٠	-	١	KM	كاناميسين
٣	٥	٣	EM	اريترومايسين
٣	٣	٥	CP	كلورامفينيكول
١١	-	-	CL	كولستين
١١	-	-	LCM	لينكوميسين
٨	-	٣	ST	سلفا ترايميثيوبريم

جدول (٥): أنماط مقاومة المكورات العنقودية الذهبية للصادات في العينات المختبرة من المنطقة الوسطى في سورية:

عدد العزولات	نمط المقاومة للصادات								عددالصادات
	LCM	CL	CP	EM	KM	TC	ABPC	PCG	
٢	LCM	CL	CP	EM	KM	TC	ABPC	PCG	٨
١	ST	LCM	CL	CP	KM	TC	ABPC	PCG	٨
١	-	ST	LCM	CL	EM	KM	ABPC	PCG	٧
٦	-	-	ST	LCM	CL	KM	ABPC	PCG	٦
١	-	-	-	-	LCM	CL	ABPC	PCG	٤

جدول (٦): نتائج اختبار الحساسية للمكورات العنقودية سلبية المخثرات للصادات في العينات المختبرة من المنطقة الوسطى في سورية

عدد العزولات			الصادات	
مقاوم	متوسط الحساسية	حساس	الرمز	النوع
٦	-	٢	PC.G	بنسلين
٦	-	٢	ABPC	امبيسلين
١	-	٧	TC	تتراسكلين
٢	-	٦	KM	كاتاميسين
-	٣	٥	EM	اريثرومايسين
-	-	٨	CP	كلورامفينيكول
٨	-		CL	كولستين
٤	٣	١	LCM	لينكوميسين
٦	-	٢	ST	سلفا ترايميثوبيريم

جدول (٧): نتائج اختبار الحساسية للاشريكية القولونية للصادات في العينات المختبرة من المنطقة الوسطى في سورية:

عدد العزولات			الصادات	
مقاوم	متوسط الحساسية	حساس	الرمز	النوع
٧	-	-	PC.G	بنسلين
٥	٢	-	ABPC	امبيسلين
-	١	٦	TC	تتراسكلين
-	٢	٥	KM	كاتاميسين
٤	٣	-	EM	اريثرومايسين
-	-	٧	CP	كلورامفينيكول
١	-	٦	CL	كولستين
٧	-		LCM	لينكوميسين
-	-	٧	ST	سلفا ترايميثوبيريم

جدول (٨): أنماط مقاومة الاشريكية القولونية للصادات في العينات المختبرة من المنطقة الوسطى في سورية:

عدد العزولات	نمط المقاومة للصادات				عدد لصادات
٢	LCM	EM	ABPC	PCG	٤
١	LCM	CL	ABPC	PCG	٤
٢		LCM	ABPC	PCG	٣
٢		LCM		PCG	٣

جدول (٩): نتائج اختبار الحساسية للكليبسلا للصادات في العينات المختبرة من المنطقة الوسطى في سورية:

عدد العزولات		الصادات		
مقاوم	متوسط الحساسية	حساس	الرمز	النوع
١٠	-	-	PC.G	بنسلين
٤	٣	٣	ABPC	امبيسلين
١	١	٨	TC	تتراسكلين
١	٢	٧	KM	كاناميسين
٥	٤	١	EM	اريترومايسين
٤	-	٦	CP	كلورامفينيكول
٤	-	٦	CL	كولستين
١٠	-	-	LCM	لينكوميسين
٢	-	٨	ST	سلفاترايميثيوبريم

جدول (١٠): أنماط مقاومة الكليبسيلا للصادات في العينات المختبرة من المنطقة الوسطى في سورية:

عدد العزولات	نمط المقاومة للصادات							عدد الصادات
١	LCM	CL	CP	EM	KM	ABPC	PCG	٧
١		ST	LCM	CP	EM	ABPC	PCG	٦
١			LCM	EM	TC	ABPC	PCG	٥
١				LCM	EM	ABPC	PCG	٤
١				LCM	CL	EM	PCG	٤
١				ST	LCM	CL	PCG	٤
١				LCM	CL	CP	PCG	٤
١					LCM	CP	PCG	٣
٢						LCM	PCG	٢

سلفا ترايميثوسوبريم: ST لينكوميسين LCM كولستين: CL كلورامفينيكول: CP
 اريثروميسين: EM كاناميسين: KM تتراسكلين: TC بنسلين PCG امبيسلين ABPC
 وأجري اختبار معرفة نمط التخثر الذي تحدته المكورات العنقودية الذهبية على ١١ عينة ،
 كان النمط IV الأكثر ظهوراً في أربع عينات وظهر النمط VII في عینتين وكل من النمط
 I و III في عينة واحدة لكل منهم بالإضافة إلى ظهور أنماط مركبة من التخثر هي I+IV,
 . IV+VI ,V+VI

عدد العينات	نمط التخثر										
	أنماط التخثر المركبة										
	VI+V	VI+IV	I+IV	VIII	VII	VI	V	IV	III	II	I
١١	١	١	١	٠	٢	٠	٠	٤	١	٠	١

وأجري اختبار تراص سريع لتنميط الاشريكية القولونية باستخدام خمس أنواع مصلية هي (O-18 , O-20 , O-29 , O-128 , O157) حيث تم تحديد وجود الأنماط التالية O-128 O-18 , O-20 واحدة لكل نوع.

المنافسة:

كان العدد الكلي للجراثيم في الحليب $< 10^6$ في 96% من العينات والمواصفات القياسية السورية تشير إلى أن العدد الكلي للجراثيم يجب أن لا يتجاوز 10^6 cfu/g، أما الباحث (Mary et al, 1992) فقد وجد أنه في 63% من العينات كان العدد الكلي للجراثيم لا يتجاوز $10^3 \times$ cfu/g، وكان العدد الكلي للجراثيم $< 10^6$ في 88% من العينات وهذه النتيجة ظهرت في بحث (Farzana et al, 2004) الذي أوضح أن 40% من سبب ظهور هذه النتائج يعود إلى الظروف السيئة لحفظ هذه المواد أو أن الحليب الخام كان ملوث بالجراثيم في الحقل. وكان العدد الكلي للجراثيم في الجبنة $< 10^6$ cfu/g في 98% من عينات الجبنة وأشارت الباحثة (Othman et al, 2008) إلى أن العدد الكلي للجراثيم $10^6 \times 14.13$ cfu/g، أما المواصفات القياسية السورية فتشير إلى أن العدد الكلي للجراثيم يجب أن لا يتجاوز 10^7 cfu/g. وهكذا نجد إن العدد الكلي للجراثيم في الحليب ومشتقاته كان أكبر من الحد المسموح فيه في المواصفات القياسية السورية وأكبر من النتائج التي ظهرت في بحث (Othman et al, 2008);

وقد عزلت من الجبنة المكورات العنقودية سلبية المختراز في 6 عينات والأشريكية القولونية في عينتين والكلبيسيلا في عينة واحدة، ومن الحليب تم عزل المكورات العنقودية الذهبية الايجابية لاختبار المختراز في 11 والمكورات العنقودية السالبة للمختراز من عينتين وعصيات الاشريكية القولونية من 5 عينة و الكلبيسيلا من 9 عينات، (Hahn, 1996) حصل على 39 عزولة من المكورات العنقودية من أصل 40 عينة، أما الباحث (Alisarli et al, 2003). وجد أن 88% من عينات الحليب الخام ملوثة بالعنقوديات أما في هذا البحث فقد وجدنا أن انتشار المكورات العنقودية 26% أي أقل مما ذكر في الباحثين السابقين. (Shinagawa et al, 1988) وجد أن نسبة نسبة المكورات العنقودية الذهبية الايجابية لاختبار المختراز 13.4% وقد وجدنا من خلال هذه الدراسة أن نسبة المكورات العنقودية الذهبية الايجابية لاختبار المختراز 22% مما يدل على ارتفاع

نسبة هذه الجراثيم. الاشرىكية القولونية عزلت بنسبة ١٠% من الحليب الخام أما الباحث (Soomro,A.H.et.al.2003) فقد وجد أن نسبة انتشار الاشرىكية القولونية ٥٧% في عينات الحليب الخام، وإن نسبة المكورات العنقودية الذهبية والاشريكية القولونية المعزولة من الحليب الخام في هذا البحث ٢٢% و ١٠% على الترتيب مشابهة لنتائج البحث الذي أجراه (Mubarack et al, 2010). وإن معدل المكورات العنقودية الذهبية والاشريكية القولونية في هذا البحث كان $10 \times 2.8 \sim 10 \times 2.4$ و $10 \times 5 \sim 10 \times 1$ على الترتيب أما الباحث (Yagoub et al, 2005) فقد وجد أن معدل المكورات العنقودية الذهبية والاشريكية القولونية كانت $10 \times 2 \sim 10 \times 1$ و $10 \times 3 \sim 10 \times 9$ على الرغم من أن عينات الحليب المدروسة في هذا البحث كانت محفوظة بالبرادات مما يدل على أن التلوث يحدث من الحقل وأثناء جمع ونقل وتوزيع الحليب.

إن معدل المكورات العنقودية الذهبية والاشريكية القولونية المعزولة من الجبنة في هذا البحث هي $10 \times 2 \sim 10 \times 3.2$ و $10 \times 7.6 \sim 10 \times 1$ (Othman et al, 2008) وجدت أن معدل المكورات العنقودية الذهبية والاشريكية القولونية هي 12.92×10 و 21.77×10 على الترتيب، (Mary et al, 1992) وجد أن الاشرىكية القولونية كانت موجودة في جميع العينات إلا أن في ٧١% من العينات كانت أقل من 100 cfu/g . المكورات العنقودية الذهبية كانت مقاومة للأمبيسلين والبنسلين والكولستين والكاناميسين وإن مقاومتها للبنسلين كانت مطلقة (١٠٠%) لم تكن مشابهة لنتائج (Gooraninejad et al, 2007). وكان نمط مقاومة المكورات العنقودية الذهبية للصادات متغير حيث أنها كانت مقاومة لسنة أو سبعة أو ثمانية صادات وظهر النمط المتغير لمقاومة الصادات في ٩٠% من العزولات وقد أوضح (Shitandi et al, 2004) أن ٣.٩% من المكورات العنقودية الذهبية كانت مقاومة لخمس أنواع من الصادات هي (البنسلين والنتراسكلين والارينثروميسين والسلفا تريميثوبريم والكلورامفينيكول) وعلى نحو آخر فإن المكورات العنقودية الذهبية طورت عدة مقاومات للصادات في عدة مناطق من العالم (WHO, 2000) مشكلة خطورة على صحة الإنسان يتهم بها إعطاء أدوية بشكل عشوائي للحيوانات الحلوب. وأغلبية الصادات تعطى لعلاج التهاب الضرع والتي يكون المستهدف من العلاج المكورات العنقودية الذهبية (Odongo and Ambani 1989) لذا

يجب أن يعطى توجبه مناسب للمزارعين المشرفين على الأبقار الحلوب الذي يكون مسئول عن جعل الحليب عالي النوعية.

المكورات العنقودية سلبية المختراز كانت مقاومة للكولستين إلا أن جميع عزولاتها كانت حساسة للكلورامفينيكول، وإن مقاومة المكورات العنقودية سلبية المختراز للنتراسكلين في ١٤% من العينات مشابه للنتيجة التي أشار إليها (Gooraninejad et al, 2007). عزولات الاشريكية القولونية كانت مقاومة للينسلين واللينكوميسين وكانت حساسة للكلورامفينيكول والسلفا ترايميثوبريم ومتوسطة الحساسية للكاناميسين، هذه النتيجة مشابهة لنتائج (Yagoub et al, 2005 ; Sumathi et al, 2008) وإن نمط المقاومة لعدة صادرات مشابه لنتيجة (Ahmed et al, 2001).

الكليسيلا كانت مقاومة للينسلين واللينكوميسين وكانت حساسة للنتراسكلين. لكن عزولات من الكليسيلا كانت حساسة للنتراسكلين وهي نتيجة مخالفة لنتائج كل (Nam et al, 2009 ; Ribeiro et al, 2008). (Ahmed et al, 2001) أشار إلى أن الكليسيلا كانت مقاومة لأربعة صادرات هي (الأمبيسلين، الأوكسي تتراسكلين، الستربتومايسين والنتراسكلين) أما في دراستنا فقد وجدنا أن الكليسيلا أظهرت تسعة أنماط من مقاومتها للصادات وهو دليل على الاستخدام العشوائي للصادات في الأبقار الحلوب. وأجري اختبار معرفة نمط التخثر الذي تحدثه المكورات العنقودية الذهبية على ١١ عينة، كان النمط IV الأكثر ظهوراً في أربع عينات، إن أنماط التخثر II و VII و III تم عزلها في المكورات العنقودية الذهبية المسببة لأمراض التسمم الغذائي (Terayama et al, 1997)، وفي هذا البحث نجد أنه تم العثور على نمطي التخثر VII و III ، بالإضافة لأنماط تخثر أخرى. أما الباحث (Shimizu et al, 2000) أشار إلى أن النمط VII كان أكثر انتشاراً في التسممات الغذائية بالمكورات العنقودية الذهبية بين عامي (١٩٨٠-١٩٩٥). الباحث (Shinagawa et al, 1988) وجد أن نسب انتشار أنماط التخثر II و VII و III هي ٢٢.٥% و ٢٧.٥% و ١٨.٣% على الترتيب ، وفي بحثنا هذا وجدنا أن نسبة انتشار أنماط التخثر VII و III هي ٩% و ١٨.٢% أما نمط التخثر II فلم ينمط .

الاستنتاجات و التوصيات:

أفضت هذه الدراسة إلى:

أولاً- عزل الأشريكية القولونية والمكورات العنقودية بنوعيهما الايجابي والسلبى لاختبار المختراز والكليبيسيلا.

ثانياً - اتضح أن العدد الكلى للجراثيم كان أكبر من الحدود المسموح بها، لذا لابد من تطبيق إجراءات صارمة تشمل مايلي :

- ١- غسل اليدين والضرع قبل عملية الحلابة إذا كانت الحلابة يدوية أو غسل أجهزة الحلابة الآلية بماء نظيف قبل عملية الحلابة.
- ٢- تبريد الحليب مباشرة بعد حلابته ووضعها في خزانات نظيفة وباردة للحد من التكاثر الجرثومي.
- ٣- العمل على نشر وعي صحي ضمن الأفراد الذين يعملون بهذا المجال لمخاطر تلوث (من مكان العمل) والأدوات المستخدمة واللمس بالأيدي.
- ٤- ضرورة تشديد الرقابة الصحية على طرق نقل و توزيع الحليب والجبنة و العمل على إجراء تحليل دوري لعينات مأخوذة من السوق.
- ٥- العمل على زيادة وعي المستهلك لتجنب تناول الحليب والجبنة قبل عملية غلي كافية.

المراجع العربية

دباغ أحمد رمزي، ٢٠٠٤- فساد الأغذية، منشورات جامعة حلب - كلية الزراعة، صفحة

٢٧٠

الاشتراطات الخاصة بالأحياء الدقيقة الواجب تحققها في المنتجات الغذائية المراجعة الثانية (٢٠٠٧) ، هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية.

Referances

- Ahmed,A. ,Jameel,N.Ansari,A and Khatoon,H. (2001) .** multiple antibiotic resistances among gram negative bacteria isolated from milk of Karachi. Pakistan journal of Pharmaceutical science .914). Pp 25-31.
- Al-majali,A. ; Majok ,A ; Amarin,N. ;Al-rawashdeh,O. ; (2007).** Prevalence of, and risk factors for brucellosis in Awassi sheep in Southern Jordan,Small Ruminant Research, 73, 300-303.
- Al-talafhah,A. ; Lafi,sh. ; Altarazi,Y. (2003).** Epidemiology of ovine brucellosis in Awassi sheep in Nor-thern Jordan. Preventive veterinary Medicine, 60,297-306.
- Anonymous(1975)**E. coli Enteritis. LancetPp:1131-1132
- Alisarli,M.,Sancak,Y.C ,Akkaya,L. and Elibol,C.(2003).** Investigation of staphylococcus aureus isolation and thermo nuclease activity and enterotoxin formation in some dairy desserts . Turk.j.Anim,Sci,27,1457-1462.
- Benkerroum, N. ;Bouhal, Y.;EI Attar, A.(2004).** An Occurrence of Shiga toxin-producing E. coli 0157:H7 in selected dairy and meat products marketed in the city of Rabat, Morocco, J. Food. Prot., 676, 1234-1237
- Breckinridge,JC.;Bergdoll,M.S.: (1971).**Outbreak of food borne gastroenteritis due to A coagulasnegative enterotoxin prod-ucing staphylococcus. New Engl. J. Med.,Pp 284, 541-543.
- Buyukcangaz,E. and Aysin,S. (2007).** The first Isolation of Brucella melitensis from bovine aborted fetus in Turkey. J.BIOL.ENVIRON.SCI, 1(3), 139-142.
- Cowan and Steel (1974).** Manual for the identification of medical bacteria Second edition revised by T.S. Cowan, Cambridge Unv ersity PRES.

- Crass, B. A. and Bergdoll M. S. (1986).** Involvement of coagulase - negative Staphylococci in toxic shock syndrome. *J. Clin. Microbiol.*, 23, 43-45.
- Dilielo, L.R. (1982).** *Methods in Food and Dairy Microbiology* AVI publishing Co. Inc. Westport Connt. USA, , 39.
- Ekici, K. , Bozkurt, Haridy, M.S.A., 1992.** Yeast flora of raw milk in El-Minia city, Egypt. *Cryptogamie Mycol*, 13: 321-326. **H. and Isleyici, O. (2004).** Isolation of some pathogens from raw milk of different milch animals . *Pakistan journal of nutrition* (3) . Pp 161-162
- Farzana, K. Hussain, N.S. and Jabeen, F. (2004).** Antibiotic resistance pattern against various isolates of staphylococcus aureus from raw milk samples. *Journal of research (science)*, Bahauddin Zakariya university, Multan, Pakistan. 15(2).june.145-151.
- Javaid, S.B. ; Gaadahi, J.A .; Khaskeli, M. ; Bhutto, M.B , and Panhwar, A.H. (2009).** Physical and chemical quality of market milk sold at Tandojam, Pakistan . *pak. Vet. J.* 29(1), 27-31
- Hahn, G. (1996).** Pathogenic bacteria in raw milk situation and significance in bacteriological quality of raw milk Brussels (Belgium) . *Int. Dairy Federation*, 312-407.
- Haridy, M.S.A., 1992.** Yeast flora of raw milk in El-Minia city, Egypt. *Cryptogamie Mycol*, 13: 321-326.
- Gooraninejad, S. , Ghorbanpoor, M. and Salati, P.A. (2007).** Antibiotic susceptibility of staphylococcus isolated from bovine subclinical Mastitis. *Pakistan journal of Biological sciences*. 10(16). 2781-2783.
- Konuma, H. (1988).** Incidence and population of enterotoxigenic staphylococcus aureus in raw milk from milking to milk plant. *Jpn. j. Vet. Sci.* 50(5):1060-1064.
- Le Loir, Y.; Baron, F.; Gatier, M. (2003)** Staphylococcus aureus and food poisoning *Genet. Molecular Res.*, 2, 63-76.
- Lipman, L., Nijs, A.D., and Gastra, W. (1995).** Isolation and identification of fimbriae and enterotoxin production by Escherichia coli strains from cow with clinical mastitis. *Veterinary microbiology*. Vol 47, 1-2.
- Mary, C. Rea., Cogan, T.M. and Tobin, S. (1992)** Incidence of pathogenic bacteria in raw milk in Ireland . *Journal of Applied Bacteriologia*, 73, 331-336.

- Masud, T.; Ather, H. I.; Azhar, C.M.; Amim S. M., (1988).** Microbiological studies on indigenous dahi with special reference to public health. *Aust. J. Dairy Technolo.*, Pp:8–13
- Mubarack,M.H. ,Doss,A. and Balachander,S.(2010).** Microbial quality of raw milk samples collected from different villages of Coimbatore District, Tamilnadu, south India. *Indian journal of Science and technology.*3(1), 61-63
- Nam, H. N.; Lim, H. M.;Kang, S. K.;Kim, J. H. M.; Moon,J. S., - Ki, J. M., Joo, Y. S., and Jung, S. C. (2009).** Prevalence and antimicrobial susceptibility of gram-negative bacteria Isolated from bovine mastitis between 2003 and 2008 in Korea. *J.Dairy Sci.*92.2020-2026.
- Óconnor, C.B. and Teipathi. B.R.(1991).** Teipathi.An introduction to milk .Audiotuorial module 1.1LCA(International Livestock center for Africa),Addis Ababa, Ethiopia .
- Odongo,O.and ambani,A.(1989).** Microorganisms isolated bovine milk samples submitted to veterinary diagnostic laboratory ,Kabete,Kenya. *Bull Anim Health Prod Afr.*37.195-196.
- Otenhamjer,M (2000).** incidence of pathogenic E.coli strain in milk and milk products .actaveterenaria n. Belgrade – yugoslavia.vol 6.
- Othman, R. M.;Abdul Alwahid, A. T.;Japer, N. N. (2008).** The Microbiological quality of some raw milk products, *jornal of alBasraa* vol 1.
- Shimizu,A. ,Fujita,M. and Takagi,M, .(2000).** Characterization of Staphylococcus aureus coagulase from Starhlococcal Food Poisoning Outbreaks in Japan.American society for Microbiology
- Sasaki,A.(2000).**Characterization of staphylococcus aureus coagulase type VII isolated from staphylococcal food poisoning outbreaks (1980-1995) in Tokyo by pulsed-field gel electrophoresis.Japan.*J Clin microbial*, 38(10),3746-3749.
- Scherrer,D;(2004).**phenotypic and genotypic characteristic of Staphylococcus aureus isplated from raw bulk-tank milk saples of cow and sheep. Zurich.CH-8057 Switzerland.
- Shingawa,K. , Tanabayashi,K. ,Kogure,Y. ,Matuzaka,N. and Smith,P.W.(1981).**Milk pasteurization fact Number57,U.S .Department of Agriculture Research service,Washington,D.C

- Soomro, A. H.; Arain, M. A.; Khaskheli, M. and Bhutto, B. (2002).** Isolation of Escherichia Coli from Raw milk and Milk Products in relation to public health sold under market conditions at Tandojam, Pakistan Journal of Nutrition 1(3).151-152.
- Soomro, A. H.; Arain, M. A.; Khaskheli, M. and Memon, B. (2003).** Isolation of Staphylococcus aureus from milk product sold .Online Journal of Biological Science,3(2003)1,91-94.
- Terayama, T. , Usioda, H. , Inaba, M. and Sakai, A. (1977).** Coagulase types of staphylococcus aureus from food poisoning outbreaks and a kind of incriminated foods. Ann Rep Tokyo Metr Res Lab P H.28,1-4.
- Ribeiro, M. G.; Motta, R. G.; Paes, A. C.; Allendorf, S. D.; Salerno, T., Siqueira, A. K.; Fernandes, M. C.; Lara, G. H. B. (2008).** Per acute bovine mastitis caused by Klebsiella pneumonia Arq .Bras. Med .Zootec. V60. n2.485-488
- Valencia, p .H. (2005).** Understanding E coli. Poisoning , Independent Articles and Advice.
- World Health Organization, (2000).** Overcoming resistance. page 67 in report on infectious disease. Geneva, Switzrland
- Yagoub, O.S. , Awadalla, E.N and Elzubeir, M.E. (2005).** Incidence of some potential pathogens in raw milk in Khartoum (Sudan) and their susceptibility ao antimicrobial agents. Journal of Animal and Veterinary Advanced,4(3), 356-359.

*Investigation of bacteria in bovine raw milk and cheese
in middle region of Syria*

Vet.: Karam Alawer *

Asis. Prof. : Najeh Habbra**

Dr.: Kenichi Sakurai***

summary

Fifty milk samples and fifty cheese samples were collected from different shops in middle region of Syria Total bacterial counts (TBC) $\geq 10^6$ cfu/ml were obtained 96% of milk samples and $\geq 10^5$ cfu/g were obtained 98% of cheese samples.

Staphylococcus aureus, Coagulase negative Staphylococcus, Escherichia coli, Klebsiella spp were isolated from (11%) , (8%) , (7%), (10%) respectively.

Staphylococcus aureus was resistant to Penicilin, Ampicilin, Colistin and Kanamycin and was sensitive to Tetracycline, and Chloramphenicol. Coagulase negative Staphylococcus was resistant to Penicilin and sensitive to Chloramphenicol. All E. coli were resistant to Penicilin, and Colistin and sensitive to Chloramphenicol . Klebsiella spp were resistant to Penicillin, Ampicilin, and Lincomycin. and were sensitive to Tetracycline , Kanamycin and Sulfamethoxazol and Trimethoprim Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella spp were confirmed 5,4,9 different multi drug resistant pattern.