مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 21 (7) 2016
ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

عزل وتشخيص بعض الملوثات المايكروبية والكيمياوية في نماذج الحليب الخام المبرد من بعض مناطق محافظة صلاح الدين

احمد اسماعيل النزال
قسم علوم الاغذية ، كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

المخلص

تم جمع عينات من الحليب الخام من مناطق مختلفة في محافظة صلاح الدين والمسوق الى احد المخازن المبردة والمخصصة 5مْ ولمدة 24–48 ساعة قبل اعادة تسويقه الى معامل الالبان او الى التجار وكان عدد العينات المأخوذة 20 عينة وكما تم اخذ مسحات لضرع الابقار العائدة الى المسوقين لتحديد اسباب التلوث الميكروبي وتم بعد ذلك تشخيص انواع الاحياء المجهرية التي يمكن ان تتواجد في مثل هذه الظروف الخزنية ودراسة خواصها المظهرية والبايوكيمياوية مع التركيز على بكتريا *Listeria monocytogenes*. وتم كذلك تحديد درجة تلوث عينات الحليب ببعض العناصر الثقيلة والتي شملت الكادميوم والرصاص والزنك والنحاس حيث تم عزل وتشخيص انواع تعود الى البكتريا الهوائية والى مجموعة بكتريا القولون Coli form من الانواع المخمرة لسكر اللاكتوز (L.F) وهي بكتريا القولون البرازية *Escherichia coli* والبكتريا *Klebsiella sp.* وغير المخمرة لسكر اللاكتوز (N.L.F) وهي *Enterobacter aerogenosa* وتم عزل بكتريا *Listeria monocytogenes* وكما تم عزل بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylo coccus aureus* وكذلك الخمائر والاعفان وبمعدل عدد كلي بلغ 5.78 ، 4.95 ، 2.75 ، 2.33 ، 5.71 لورغاتم وحدة تكوين مستعمرة / مل على التوالي. كما تم عزل انواع اخرى من البكتريا والتي تعود للجنس *Bacillus sp.* و *Pseudomonus sp.* و *Staph aureus* و *Micro coccus sp.* في نماذج المسحات الخاصة بضرع الحيوان وبواقع 8 مسحات. واظهرت النتائج إن اعلى معدل تركيز للعناصر الثقيلة لكل من عنصر Cd ، Pb ، Zn ، Cu في عينات الحليب الخام 0.18 ، 0.25 ، 2.10 ، 1.05 مايكروغرام / لتر على التوالي. وتم اجراء اختبار حساسية بكتريا *Listeria monocytogenes* تجاه عدد من المضادات الحيوية ، حيث تبين ان هذه البكتريا واظهرت حساسية تجاه كل من *Ampicillin* ، *Chloramphinicol* ، *Erythromycin* ، *Tobbramycin* في حين اظهرت مقاومة للمضادات الحيوية *Naldix acid* ، *Novabiocin* ، *Cefotaxime*.

الكلمات الدالة: حليب خام مبرد، اللستريا، التلوث المايكروبي، العناصر الثقيلة.

المقدمة

يعتبر الحليب الافراز الطبيعي للغدة اللبنية في الحيوانات الثدية وقد هيأة الله لكي يلائم المولود الجديد من العناصر الغذائية الضرورية للنمو حيث كان الانسان منذ اقدم العصور يربي الماشية ويستعمل الحليب ومنتجاته كأهم وجباته الغذائية [1] ويُعرف الحليب على انه السائل الطازج والذي تنتجه بقرة واحدة او اكثر على ان تكون صحية (خالية من الامراض) وذلك من الخلايا اللبنية والذي يكون الحصول عليه بعد عملية الحلب الكاملة على إن لا يتضمن الحليب الناتج خلال 15 يوم قبل الولادة و5 أيام بعد الولادة والذي يطلق عليه باللبأ (السرسوب) [2].

ويُعد الحليب من أفضل الأوساط الغذائية الملائمة لنمو اغلب الاحياء المجهرية وتكاثرها لاحتوائه على معظم العناصر الغذائية من بروتينات ودهون وسكريات وفيتامينات واملاح معدنية وإن القيمة الغذائية للحليب تمكنه من دعم الحياة الجرثومية التي تتنهز الظروف الملائمة لتتكاثر وتسبب تغيرات في تركيبه الكيميائي [3] وبعد اجراء عملية تبريد الحليب وهي الطريقة الفعالة للحد من نمو الاحياء المجهرية فيه وقت الحلب ولحين الوصول إلى المصنع في حالة سليمة، أي إن الغرض من تبريد الحليب هو جعل درجة حرارته غير مناسبة لنمو الاحياء المجهرية الموجودة فيه حيث إن درجة حرارة الحليب عند حلبه تكون حوالي (37مْ) وهي الدرجة الملائمة لنمو معظم الاحياء المجهرية بسرعة وخاصة عند توفرها الظروف البيئية الملائمة لمعيشتها وهي الحليب وكفاءة تبريد الحليب واعتماداً كذلك على نوع الاحياء المجهرية الموجودة فيه فبعض الاحياء المجهرية لها القدرة على النمو في درجات الحرارة المنخفضة والتي بدورها تصل إلى الحليب عن طريق الماء الملوث [4].

والمقصود بتبريد المواد الغذائية هو رضع الغذاء في درجة حرارة من (0–10مْ) وهذه الدرجة تكفي لايقاف عوامل الفساد او تقليلها وتقليل نشاطها وتختلف المواد الغذائية في مدة حفظها بالتبريد فبعضها يتحمل التبريد لمدة يوم او يومين كالحليب وبعضها يتحمل الحفظ لمدة شهر او اكثر مثل بعض أنواع الفواكه [5] وتُعد بكتريا Listeria monocytogenes من البكتريا واسعة الانتشار بالطبيعة وهي انتهازية Opportunistic تمتلك العديد من الصفات التي تمكنها من العيش داخل جسم الكائن الحي بعيداً عن تأثير الجهاز المناعي فهي تتواجد داخل الخلايا المناعية او تحتضن في مواقع وبؤر معينة من الجسم وتُعد من مسببات التلوث الغذائي في مجال الصناعات الغذائية المختلفة [6] وتصيب هذه البكتريا كلاً من الانسان والحيوان مسببة مرض Listeriosis والذي يُعد من الامراض الانتقالية ذات التأثير الكبير في الصحة العامة [7] وتحدث الإصابة عن طريق تناول الأغذية الملوثة حيث تنتقل جراثيم Listeria monocytogenes

المبتلعة مع الغذاء من التجويف المعوي Intestinal Lumen وعن طريق مجرى الدم مسببة إصابات جهازية اكثر من الإصابات المعوية ويبدو التهاب السحايا Meningitis المظهر السريري الأكثر حدوثاً عند الإصابة بهذا المرض.

تنتشر جراثيم L. monocytogenes بصورة واسعة في البيئات الريفية لذلك تُعد من اهم ملوثات المواد الغذائية الخام المستخدمة في تصنيع الأغذية الجاهزة كالحليب ومشتقاته وتمتلك هذه البكتريا وسائل حماية جيدة تمكنها من مقاومة تقنيات حماية الغذاء ومنها القابلية على تحمل تراكيز ملحية عالية ومستوى اس هيدروجيني (pH) عالٍ واكثر من ذلك فهي تستطيع البقاء والتكاثر في درجات حرارة منخفضة تصل إلى (4مْ) [8] وكما تنتقل هذه البكتريا من الحيوان إلى الانسان اما عن طريق التماس المباشر من خلال تناول الأغذية الملوثة بالبكتريا وتصاب الحيوانات بها نتيجة التغير المفاجئ في العليقة وتناول الاعلاف فضلاً عن اللبائن والطيور وتُعد خازناً للجرثومة [9] كما إن البكتريا L. monocytogenes من الجراثيم المقاومة للبرودة Psychrotrophic إذ تمتلك القدرة على النمو بدرجة حرارة من 2–4مْ فضلاً عن انها تقاوم الملوحة بنسبة 18–20% وبدرجة حرارة (4مْ) لمدة 8 أسابيع [10] وهدفت هذه الدراسة إلى (التعرف على كثافة ونوع التلوث بالاحياء المجهرية التي يمكن إن تتواجد في عينات الحليب المحفوظة بالتبريد من خلال معرفة العدد الكلي لهذه الاحياء وكذلك عزل بكتريا L. monocytogenes والتعرف على الاحياء المجهرية المتواجدة على ضرع الابقار والتي يمكن ان تنتقل إلى الحليب وتُعتبر احد مصادر تلوثه واخيراً تقدير بعض العناصر الثقيلة والتي يمكن ان تتواجد في الحليب الخام والمبرد والتعرف على تراكيزها).

المواد وطرائق العمل

1. جمع العينات:-

تم جمع العينات والتي تمثل الحليب الخام المحفوظ بالتبريد وعلى درجة حرارة (5مْ) وكان عدد العينات المسحوبة (20) عينة وبواقع (5) عينات من (4) مناطق مختلفة في محافظة صلاح الدين وهي (تكريت وضواحيها ، سامراء ، بيجي ، العلم) وباستخدام قناني معقمة بحجم (500) مل وبعد اخذ العينة توضع في حاوية فلينية تحتوي على الثلج ولحين الوصول الى المختبر.

2.عزل وحساب عدد الملوثات المايكروبية:

بعد وصول العينات إلى المختبر تم اجراء الفحوصات البكتريولوجية وكما ورد في [11] حيث استخدم الوسط الزرعي Nutrient agar لتقدير العدد الكلي للبكتريا الهوائية Total Plate Count (TPC) وذلك بنقل (1مل) من التخفيف الثالث (10^{-3}) إلى طبق بتري بواسطة ماصة معقمة ثم صب الوسط بعد تبريده إلى درجة حرارة (45مْ) وحركت الاطباق بهدوء للتجانس والتوزيع بشكل جيد وتركت لحين تصلب الوسط ثم حضنت على درجة حرارة (37مْ) لمدة (24ساعة) وبعدها حسبت عدد المستعمرات النامية بالاطباق واستخدم الوسط الزرعي MacConkey agar للكشف عن بكتريا القولون والبكتريا الاخرى السالبة لصبغة كَرام والوسط الزرعي Manitol salt agar للكشف عن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية وذلك بوضع (0.1) مل من التخفيف المناسب على الوسط المسبق الصب ونشر على السطح بشكل جيد وحضنت الاطباق على درجة حرارة (37مْ) لمدة (24ساعة) وحسبت المستعمرات النامية على الوسط لتقدير عدد بكتريا القولون وبكتريا المكورات العنقودية الذهبية واجري اختبار اخمن (Eijkman test) لتشخيص بكتريا القولون البرازية وذلك بتلقيح الانابيب الحاوية على الوسط الزرعي MacConkey broth من المستعمرات النامية على الوسط MacConkey agar وحضنها في الحاضنة في درجة حرارة (44مْ) لمدة (24) ساعة ويُعد الاختبار موجباً لوجود بكتريا E.coli في حالة تغير اللون من البنفسجي إلى الأصفر فضلاً عن تكوين غاز بكمية تساوي (10/1) حجم انبوبة درهام ، اما فيما يخص تقدير العدد الكلي للخمائر والاعفان فقد تم استخدام طريقة صب الاطباق Pour-plate method وباستخدام الوسط الزرعي المعقم Saubburid agar و Maitextract agar إذ اخذ (1مل) من التخفيف المناسب بواسطة ماصة معقمة إلى طبق من اطباق بتري الفارغة والمعقمة ويضاف لها مباشرة (15مل) من الوسط الزرعي بدرجة حرارة (45مْ) ثم يمزج الوسط ويترك ليتصلب ثم حضنت الاطباق على درجة حرارة (28مْ) لمدة (72ساعة) وبعدها تم حساب المستعمرات النامية بالاطباق.

3.عزل *Listeria monocytogenes*:

تم اخذ (50مل) من عينات الحليب واضيفت إلى (200مل) من الوسط الاغنائي الخاص باللستريا (Treptocase soy broth) وحضنت في الحاضنة على درجة حرارة (30مْ) لمدة (24) ساعة بعدها اخذ (1مل) من العينة ونشر بواسطة الناشر الزجاجي على وسط Lesteria selective agar media أو ما يسمى بالوسط Oxford agar (OXA) وحضر مختبرياً على وفق ما جاء في (12).

4. الفحوصات الكيموحيوية:

حيث تم اجراء اختبارات IMVIC والتي تشمل اختبار الاندول (Indol test) واختبار المثيل الأحمر (Methyl red test) واختبار الفوكس–بروسكاور (Voges proslaur - test) وكاشف احمر المثيل (Methyl red reagent) واختبار استهلاك السترات (Citrate test) وكما اجري اختبار تخمر السكريات Carbohydrate fermentation medium بتحضير محاليل السكريات (ماينتول ، مالتوز ، ارابيتوز ، المراينوز ، الزايلوز) على وفق ما ورد في (12).

5. تشخيص بكتريا *Listeria monocytogenes*:

من خلال دراسة الصفات المظهرية والمجهرية باجراء الفحص المجهري واختبار النمو على درجة حرارة (4مْ) ودراسة الخصائص المظهرية والزرعية واخيراً اختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية.

6. المواد والاوساط الزرعية المستعملة في اختبار الحساسية للمضادات الحيوية:-

وذلك باستخدام الوسط Muller Hinton Agar والوسط Muller Hinton broth واما بالنسبة للمضادات الحيوية المستعملة في الدراسة فقد شملت المضادات التالية وبشكل أقراص:-

Erythromycin , Chloramphinicol (15Mg) , Ampicillin (10Mg) , Naldixic acid (30Mg), Tobbramycin (10Mg) & (15Mg) . Cefotaxime (10Mg) , Novabiocin (30Mg)

7. تقدير المعادن الثقيلة في عينات الحليب الخام والمبرد:

وذلك عن طريق استخدام جهاز الامتصاص الذري (LCO) Atomic Absorption type-E وحسب الطريقة المتبعة في [11] لتقدير نوعية ونسب المعادن المطلوب الكشف عنها وهي: (الكادميوم Cd ، الزنك Zn ، الرصاص Pb ، النحاس Cu)

8. أخذ العينات:

تم اخذ عينات بشكل مسحات لضرع الابقار السليمة من حقول المنتجين حيث يسوق الحليب المأخوذ من هذه الابقار إلى مخزن التبريد وبعد ذلك تم نقلها إلى الوسط Thioglycolate broth ثم حضنت على درجة (37مْ) لمدة (24) ساعة وبعد انتهاء فترة الحضن تم اخذ (0.1مل) من الوسط ونقلت إلى الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة وبطريقة التخطيط (Streak) وكان عدد المسحات المأخوذة (8) مسحات ولابقار مختلفة وللمناطق الأربعة المسوق منها الحليب.

النتائج والمناقشة

بين الجدول (1) معدل الاعداد الكلية من انواع الاحياء المجهرية الملوثة لعينات الحليب الخام المبرد المأخوذ من مصادر مختلفة ، إذ بينت النتائج إن أعلى الاعداد الكلية للبكتريا الهوائية وجدت في الحليب الخام المأخوذ من منطقة سامراء ، إذ بلغ العدد الكلي للبكتريا الهوائية (5.78 cfu/ml) واقل عدد كلي للبكتريا الهوائية وجدت في الحليب المأخوذ من منطقة العلم إذ بلغ (5.32 cfu/ml) ، اما أعلى اعداد للبكتريا السالبة لصبغة كَرام فقد وجدت في العينات المأخوذة من منطقة بيجي إذ بلغت (4.95 cfu/ml) وأقل الاعداد البكتيرية للبكتريا السالبة لصبغة كَرام وجدت في الحليب المأخوذ من منطقة سامراء (4.15 cfu/ml) وبينت الدراسة إن اعلى الاعداد الكلية للخمائر والأعفان وجدت في الحليب الخام المأخوذ من منطقة العلم إذ بلغت (5.71 cfu/ml) وأقل الاعداد للخمائر والاعفان للحليب الخام المأخوذ من منطقة بيجي إذ بلغت (5.30 cfu/ml).

وبينت الدراسة الاعداد الكلية لبكتريا L. monocytogenes وجدت في العينات المأخوذة من منطقة بيجي إذ بلغت (2.75 cfu/ml) واقل الاعداد الكلية لهذه البكتريا وجدت في العينات المأخوذة من منطقة تكريت والتي بلغت (2.35 cfu/ml) في حين إن اعلى اعداد لبكتريا Staph . aureus بلغ (2.33 cfu/ml) لنماذج الحليب من منطقة بيجي اما أقل الاعداد لهذه البكتريا فقد بلغت (1.95 cfu/ml) في نماذج الحليب المأخوذة من منطقة تكريت.

اتفقت النتائج مع ما ذكره [13] عند دراسته للنوعية المايكروبية للحليب الخام المأخوذة من الابقار والقشطة الطازجة إذ وجد إن الحمولة المايكروبية للحليب الخام متمثلة بالبكتريا الهوائية بلغ في المتوسط (2.1×10^3، 4×10^8) ولبكتريا القولون (3) إلى (1.5×10^3) واتفقت النتائج أيضاً مع [14] عند دراستهم لمايكروبايولوجية التخمر التقليدي للحليب في جنوب افريقيا إذ وجدوا إن العدد الكلي للبكتريا الهوائية في الحليب الخام (8.6×10^5) واتفقت النتائج ايضاً مع [15] عند دراستهم للنوعية المايكروبية للحليب الخام لأربع مناطق في نايجريا إذ وجدوا إن متوسط العدد الكلي للبكتيريا الهوائية (1.1×10^8 ، 9.8×10^7 cfu/ml) وإن متوسط العدد الكلي لبكتريا القولون (9.5×10^6 ، 5.4 cfu/ml) وإن متوسط العدد الكلي للخمائر والأعفان (9.2×10^7-6.4 cfu/ml) وإن متوسط العدد الكلي للخمائر والاعفان (10$^7\times$9.2-6.4 cfu/ml) وذكرت [16] عند دراستها لبعض الملوثات المايكروبية للحليب الخام ومنتجاته المتداولة من اسواق مدينة الديوانية إن متوسط العدد الكلي للبكتريا الهوائية للحليب الخام (10$^7\times$8.1-5.1 cfu/ml) وإن متوسط العدد الكلي لمجموعة بكتيريا القولون (10$^6\times$7.0-4.9 cfu/ml) وإن متوسط العدد الكلي للخمائر والأعفان هو (10$^3\times$3.5-3.3 cfu/ml).

جدول 1. معدل الاعداد الكلية من أنواع الاحياء المجهرية الملوثة لعينات الحليب الخام المبرد المأخوذ من مصادر مختلفة Loglo cfu/ml

ت	عينات الحليب الخام المبرد	العدد الكلي للبكتريا الهوائية cfu/ml	اعداد البكتريا السالبة لصبغة كَرام cfu/ml	اعداد الخمائر والاعفان cfu/ml	اعداد بكتريا اللسترية cfu/ml	اعداد بكتريا staph.aureas cfu/ml
1	تكريت	5.65	4.80	5.32	2.35	1.95
2	العلم	5.32	4.82	5.71	2.68	2.20
3	سامراء	5.78	4.15	3.36	2.59	2.13
4	بيجي	5.75	4.95	5.30	2.75	2.33

واظهرت النتائج الحصول على (3) عزلات من بكتيريا L . monocytogens وبنسبة 15% من مجموع العينات المفحوصة اثنان منها من عينات منطقة بيجي والاخرى من منطقة العلم ولم يتم الحصول على عزلات لهذه البكتيريا من عينات تكريت وسامراء واما الاعداد الاخرى التي تم الحصول عليها فهي تعود إلى انواع لجنس اللستريا وذكر [16] عند دراستهم لطرق عزل وتشخيص بكتريا L . monocytogens من الحليب ومنتجاته المأخوذة من محل بيع المفرد في مدينة اديس أبابا من اثيوبيا أنه تم عزل هذه البكتيريا من (103) عينة وبنسبة (43.5%) كانت تعود لعينات المثلجات اللبنية و (16%) لعينات الجبن واتفقت النتائج مع ما ذكره [17] عند دراستهم

لانتشار بكتريا L . monocytogens من الحليب الخام المأخوذ من قطعان الماشية في العاصمة النيجيرية وحساسيتها تجاه المضادات الحيوية ، إذ عولت هذه البكتيريا وبواقع (4) عزلات من (67) عينة مختبرة وبنسبة (3–5 %).

وبين [18] عند دراستهم في التحري عن بكتريا L . monocytogens في الحليب الخام وذكر [14] في دراسته تواجد بكتيريا L . monocytogens في الحليب الخام للمجترات في محافظة البصرة ولمجموع (300) عينة من حليب الابقار والاغنام والجاموس ومن مناطق مختلفة في مدينة البصرة وبينت النتائج إن عدد عزلات L . monocytogens كانت (22) عزلة وبنسبة (17.3%) وإن حليب الابقار كان الاكثر اصابة من حليب بقية المجترات الأخرى.

تنتشر بكتيريا اللستريا في البيئة إذ تتواجد في التربة والغائط وشبكات الماء والمجاري وفي النباتات والاعلاف والحيوانات وبتلوث الحليب من هذه الاوساط البيئية بصورة مباشرة وغير مباشرة [19] وإن جرثومة اللستريا وبسبب الجينات التي تحملها والتي لها القدرة على النمو في درجات الحرارة المنخفضة والتي تصل إلى (–5مْ) ولقد تم التحري عن قدرة عزلات بكتريا L . monocytogens على النمو بدرجات حرارية مختلفة إذ لوحظ إن جميع العزلات لها القدرة على النمو في درجات حرارة (4 و 37مْ) وهذه النتائج جاءت مطابقة لما ذكره [20] حيث اكدوا إن النمو في درجة حرارة (4مْ) أو أقل يعد اختباراً تشخيصياً للجرثومة.

واظهرت نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية إن بكتريا L . monocytogens قيد الدراسة والمعزولة من عينات الحليب الخام والمبرد تزداد حساسيتها تجاه المضاد الحيوي Ampicillin و Chloramphinicol و Erythromycin و Tobbramycin وهي مقاومة او غير حساسة للمضادات الحيوية في جرثومة L.monocytogens والمعزولة من مصادر غذائية مختلفة واتفقت النتائج ايضاً مع[33] عند دراستهم لتواجد بكتريا L.monocytogens في الحليب الخام إذ وجد إن الجرثومة حساسة تجاه Chloramphinicol و Erythromycin و Tobbramycin و Nitrofurantion وكما اتفقت مع نتائج [17] عند دراستهم لتأثير المضادات الحيوي لبكتريا L . monocytogens المعزولة من الحليب الخام المأخوذ من قطعان الماشية في العاصمة النايجيرية واتفقت الدراسة بخصوص مقاومة جرثومة L . monocytogens للمضاد الحيوي Naldix acid مع ما ذكره [22] حيث اكدوا إن هذا المضاد الحيوي يستعمل في بعض الاوساط الاختبارية لعزل البكتيريا التي تكون مقاومة لهذا المضاد الحيوي والذي يعمل على تثبيط البكتريا السالبة لصبغة كَرام في تأثيره لعملية تخليق الحامض النووي DNA الخاص بها وكما موضح في الجدول (2) وفيما يخص نتائج الاختبارات الكيموحيوية لانواع البكتريا المعزولة من عينات الحليب الخام والمبرد فقد ذكرت في الجدول (3).

جدول .2. يبين حساسية جرثومة Listeria monocytogenes للمضادات الحيوية

المضادات الحيوي	رمزه	التركيز مايكروغرام/قرص	النتيجة
Ampicillin	Am	10	S
Chloramphinicol	Ch	15	S
Erythromycin	E	15	S
Tobbramycin	Tob	10	S
Naldixic acid	NA	30	R
Cefotaxim	Ctx	10	R
Novabiocin	F	30	R

S: Sensitive
R: Risestance

واتفقت نتائج الاختبارات الكيموحيوية مع ما ذكره [23] وتبعاً للنتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة فأنه من غير المستجد إن تتواجد هذه الانواع من البكتريا في الحليب الخام باعتباره وسطاً ملائماً لنموها وكما إن مكونات الحليب مثل الدهون وخاصة قصيرة السلسلة تعمل على عزل البكتريا عن تأثيرات انخفاض الحرارة مما جعل تبريد الحليب ليست ذات تأثير كبير على هذه الانواع من البكتريا [4] ولقد اكدت هذه النتائج إن عملية جمع وخزن الحليب في هذه المخازن وعلى درجة حرارة (5مْ) لم يكن لها تأثير كبير في تقليل الاعداد المايكروبية فيه وانما يبقى الاعتماد على المعاملات الحرارية (البسترة والتعقيم) والتي يتم اجراؤها في معامل الالبان هي المعول عليها والتي تعتبر الخطوة الاولى من خطوات تصنيع منتجات الالبان.

جدول .3. نتائج الاختبارات الكيميوحيوية للجراثيم المعزولة من الحليب الخام المبرد

نوع الاختبار / انواع البكتريا	Gram Stain	Oxidose	Indol	Methylred	Vogas proskauer	Simmon citrate	Urease
Listeria monocytogenes	+	-	-	+	+	-	-
E. coli	-	-	+	+	-	-	-
Enterobacter aerogenosa	-	-	-	-	+	+	-
Klebsiella sp.	-	-	+	-	+	+	+
Staph.aureus	+	-	-	+	+	+	+

اما بالنسبة لنتائج عملية الزرع المايكروبايولوجي للمسحات المأخوذة من ضرع الابقار المنتجة للحليب فقد ظهر وجود انواع مختلفة من البكتريا العصوية Bacillus sp. وبكتريا المكورات العنقودية الذهبية Staph . aureus و Micrococcus sp. و Pseudomonus sp. بالاضافة إلى انواع اخرى تعود إلى بكتيريا اخرى تعود إلى بكتريا القولون وذلك من خلال الاعتماد على الفحص المجهري المباشر

والزرع على الاوساط الزرعية التفريقية الخاصة بهذه الانواع من البكتريا ويعتبر تواجد هذه الأنواع البكتيرية طبيعياً على جلد الحيوان وخصوصاً الضرع والذي يكون بتماس مع ايدي الحلابين والتي تعتبر بدورها مصدراً للتلوث إضافة إلى الجو المحيط بحظائر الحيوانات حيث تنتشر البكتريا العصوية الهوائية بكثرة في الهواء [24].

واخيراً وفيما يخص التلوث ببعض العناصر الثقيلة فقد تم الحصول على النتائج المذكورة في الجدول (4) إذ بينت النتائج إن أعلى تركيز لعنصر الكادميوم في الحليب المأخوذ من منطقة سامراء إذ بلغ (0.18 ملغم/لتر) واتفقت هذه النتائج مع ما ذكره [25 ، 26] أما عنصر الرصاص كان اعلى تركيز له (0.25 ملغم/لتر) للحليب المجهز من منطقة بيجي وهو أعلى مما حدده [27] في الحليب ومنتجاته وهو (0.02 ملغم/لتر) ولكن النتائج اتفقت مع ما ذكره [25 ، 28 ، 29]

وقد بينت النتائج إن أعلى تركيز لعنصر الزنك في عينات الحليب الخام (2.1 ملغم/لتر) وجد في العينات المأخوذة من منطقة سامراء وقد اتفقت النتائج مع [30 ، 31] واما النحاس فقد بينت النتائج إن أعلى تركيز له وجد في العينات المأخوذة من منطقة سامراء وهو (1.05 ملغم/لتر) وهو اعلى مما حدده [27] في الحليب ومنتجاته وهو (0.4 ملغم/لتر) وقد اتفقت النتائج مع ما ذكره [31] ولكنها اختلفت مع نتائج [29].

جدول .4. معدل تراكيز العناصر الثقيلة لعينات الحليب الخام المبرد

المنطقة المأخوذة منها عينات الحليب	تركيز العناصر الثقيلة mg/lit			
	Cd	Pb	Zn	Cu
تكريت	0.02	0.12	1.15	0.05
العلم	0.05	0.15	1.85	0.25
سامراء	0.18	0.05	2.10	1.05
بيجي	0.12	0.25	1.75	0.15

المصادر

1.عبود ، اكرم ريشان ، سناء داؤد الصواف ، ضاري عليوي حمد (1991) صحة الغذاء ، دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل.

2.صالح ، عبدالوهاب مهدي ، محمود عبدالعزيز (1984) صحة الالبان ، مطابع جامعة الموصل ، كلية الزراعة والغابات.

3.Wilson , T.M (1995) Microbiological control of soft cheese , F. Dai , Sui , Abs . 40-465.

4.Fields , M. L. (1982) Fundementals of food Microbiology PP : 275-284.

5.حسن ، محمود احمد (2002) (اطعمتك هكذا تحفيظها) ، عالم الغذاء ، العدد (51).

6.Schlech, W. F., Lavigne, III PM, Bortolussi, R. A., Allen, A. C., Haldane, E. V., Wort, A. J., Hightower, A. W., Johanson, S. E., King, S. M., Nichollas , E. S. and Broome, C. V. (1983) Epiclimic Listeriosis eridence for transmission by food New Journal of Medicine, 308, 203-206.

7.Ellin , M. (2001) Virulence charachteristics of Listeria monocytogenes , food research inistiute, PP: 3-5.

8.Mclanchlin, J. (1996) The relationship between Listeria and Listeriosis. Food control , 7 : 187-194.

9.Bale, and C. V. Broome (1991) Analysis of clinical and food-born isolates of Listeria monocytogenes in the United states by mutilocus enzyme electrophoresis and application of the method to epidemiological investigation. Appl. Environ. Micro. 56 : 2133-2141.

10.Seeliger, H. P. R. and Jones , D. (1986) Listeria. In: Bergeys Manual of systematic Bacteriology, Vol. 2, P : 1235-1245. Edited by P. H. A. Sneath, N. S., Nair, N. E., Sharp and J. G., Holt Baltimore: Williams and Wilkins.

11.A.O.A.C (2005) Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of analysis Microbiological food testing .Ch., 17. USA.

12.Collee, J. G., Fraser, A. G., Marteny, M. (1996) Practical Medical Microbiology. 14th ed., Churchill Livingston, Inc., New York. PP. 97-123.

13.Meshref , Arafa (2013) Bacteriological quality and safety of raw cows milk and fresh creem. Slov. Vet. Res. (1) : 21-30.

14.Beakes, Elisabeth, M., Baster, Bernie, H., Mostert, Johannes, F. (2001). The Microbiology of south African traditional fermented milk International Journal of Food Microbiology. 63 , 189-197.

15.Edward , K. C., Inya, I. M. (2013) The microbial quality of raw milk from four locations in Abia state, Nigeria. IOSR. Journal of Pharmacy and Biological Science. Vol, 5, Issus 3 : PP : 30-33.

16.الخزاعي ، عروبة متعب (2006) دراسة بعض الملوثات المايكروبية للحليب ومنتجاته المتداولة في اسواق مدينة الديوانية ، رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري ، جامعة القادسية.

17.Molla Bayleyegn, Yilma Romon, Alemagehu (2004) Listeria monocytogenes and other Listeria species in retail meat and milk Proclucts in Addis Ababa , Ethiopia. Ethiop J. health. Vol 18, P 3.

18.Yakuba, Y. Salihu, M. D., Falke, O. O., Hbubaker, M.B. Junaidu, A. V., Magaji, A. A., Glumbe, M. L., Aliya, R. M. (2012) Prevalence and antibiotic susceptibility of Listeria monocytogenes in raw milk from cattle herds within sokoto metropolis , Nigeria. Sokoto journal of veterinary science .Vol. 10 PP : 2.

19.عباس ، باسل عبدالزهرة و غازي فالح جبر (2012) دراسة تواجد جراثيم L. moncytogenes في الحليب الخام للمجترات في محافظة البصرة ، كلية الطب البيطري ، جامعة البصرة ، المجلة الطبية البيطرية العراقية ، المجلد (26) العدد (1).

20. Mclanchlin, J. and Rees, CED (2008) Genus Listeria In: Bergeys manual of systematic Bacteriology 2nd ed. The low Gtc gram positive bacteria, Vol 3, eds. Devos, P. Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W. Rainey F. A., Schleifer, K. H. and Whitman W. B., Williams, and Williams, Baltimore, M. D. USA.

27.Anastasion, Aiello, Caggiano, Macchiato. Maria, polo. Catlelanni, Ragosta, Paino. M. I. Cortesi (2006) Heavy metals concentration in dairy products from sheep milk collected in two regions of southern Italy. Acta vet. Scand 47, 69-74.
28.E. C. (2001) European communities commission Regulation No. 466/2001 of 8 march 2001, official Journal of European Communities, 1 . 77 / 1.
29.Farid Sajid , Bloch Musa Kaleem (2012) Heavy metal ions in milk samples collected from animals feed with city effuelent irrigated fodder. Greener journal of Physical science, Vol. 2 (2) PP : 036-043.
30 Jigam, A.A. Danda, B. Jimoh, T. Yusuf, H., Umar, Z. (2011) Determination of copper, Zink, Lead, and some biochemical parameter in fresh cow milk from different Location in Niger state, Nigeria, African, J. Food Sci, 5 (3) 156-160.
31.Datta, S. Akter , A. Shah , J. J. Fatma , K. Islam, T. H. Bandyo padhyay (2012) Microbiological susptibility. Aric food anal. Bacterial; Vol 2, PP-3.
32.Hashmi, M. I. Mustafa, S. and Tariq, S. A. (2002) Heavy metals concentration in North Borneo. Food chem. 79: 151-156.
21.Khelef, N. Lecuit, M. Buchrieser, C., Cabanas, D., Dussurget, O., Cossart, P. (2006) Listeria monocytogenes and the Genus Listeria prokaryotes, 4: 404-476.
22.Mauro Center (2007) Domenico Poludi, Vineezo dorio, Alberto Vergara, Adriana lanieri. Antimicrobial Suscptibility of Listeria monocytogenes isolated from food and food-processing environment. Anna fac. Medic. Vet diparma. PP : 157-164.
23.Prescott, L. M. Harley, J. P. and Klein , D. A. (2002) Microbiology, 3rd ed. The McGraw Hill Comp. Inc , USA.
24.Arun, K.B.(2008) Food-born microbial pathogenes mochanisms and pathogenesis. PP : 165-168 , DOI : 10 . 1007, 1978-0-387-74537-4-9.
25.Naster, E. W. Roberts, C. S. Pearsall, N. N. and Mccrthy B. J. (1986).
26.Jianfeng ping, Jian Wu, Yibin Ying (2012) Determination of trace heavy metals in milk using an ionic liquid and bismuth oxide nanoparticals modified carbon paste electrode, College biosystem enginerring and food science, Zhejiang University Hangzhou, 310058, china, Chinese Science Balletin, Vol (57), No (15) 1781-1787.

Isolation and Diagnoses of Some Microbial and Chemical Pollutants in Raw Milk Samples Which Collected From Some Regions in Salah al-din Province

Ahmed Ismael AL-Nazal
Food Science Dep. , College of Agriculture , Tikrit University , Tikrit , Iraq

Abstract
Samples of raw milk were collected from different regions in salah al-din province which marketing to one of ice houses and appropriation to the collection and cooling of raw milk storage at (5 C^{o}) for 24-48 hours before rew marketing to the dairy plants or dealers, the number of samples which taken were (20) Samples. Swabs were taken from the udder of cows belonging to suppliers to determine the causes and incidence of microbial contamination. It was after that diagnosis types of micoorganisms that can found in such circumstances of storage and study their properties with focus on Listeria monocytogenes.
It was farther determine the degree of contamination of milk samples with some heavy metals, Which including, cadmium, Lead , Zinc , Copper.
Many types of bacteria were isolated and dignosed belongs to aerobic bacteria and coli from group of lactose fermented species, E. Coli and Klebsiella sp. And non lactose fermented which is Enterobacter aerogenosa, L. monocytogenes and staphylococcus aureus bacteria isolated, as well as yeast and molds , and the rate of total number reached: 5.78, 5.95, 5.71, 2.53, 2.33 $\log^{10}$ cfu/ml. Isolation function are also given other types of bacteria which belongs to Bacillus sp. , Pseudomonus sp., Staph. Aureus , and Micrococcus sp. In 8 swab samples.
The results showed that the highest concentration of heavy metals of Cd, Pb, Zn, Cu in raw milk samples was 0.18, 0.25, 2.10, 1.05 mg/lit respectively. A sensitivity test of L. monocytogenes toward a number of antibiotics was found that this bacteria sensitive towards both of Ampicillin, Chloramphinicol, Erythromycin, and Tobbramycin. But it is resistant to antibiotics, Naldixic acid, Novabiocin , and cefotaxime.
Key Word: Cooling raw milk , Listeria monocytogenes, Microbial Contamination , Heavy metals.