المجلة الليبية للعلوم الزراعية
المجلد (21): العددان (1-2): 2016: 1-13
ورقة أصيلة

حدوث بعض البكتيريا الممرضة للإنسان في حليب الإبل الخام المعروض للبيع بمنطقة طرابلس

أمينة بلعيد الزير، نوري الساحلي مادي*، محمد عبد السلام أمبارك

قسم علوم وتقنية الأغذية، كلية الزراعة، جامعة طرابلس

المستخلص

استهدفت هذه الدراسة الكشف عن وجود بعض البكتيريا الممرضة للإنسان: *Escherichia coli O157*، *Salmonella spp.* ، *Staphylococcus aureus* و *Listeria monocytogenes* في 144 عينة حليب إبل خام معروضة للبيع في بعض المحلات الواقعة في نطاق مدينة طرابلس، وذلك خلال الفترة من شهر يوليو إلى شهر أكتوبر لسنة 2012 م. ونظراً لما لمؤشرات التلوث الغائطي من أهمية في التنبؤ باحتمال التلوث بالأحياء الدقيقة الممرضة وخاصة البكتيريا المعوية الممرضة، فلقد تم كذلك تقدير أعداد مجموعة بكتيريا القولون، وبكتيريا القولون المتحملة للحرارة (الغائطية) والكشف عن وجود بكتيريا *Escherichia coli* في عينات الحليب. سجل وجود مجموعة بكتيريا القولون في جميع عينات الحليب; أي: بنسبة 100%، وتراوح العدد الأكثر احتمالاً (MPN Index) لهذه المجموعة ما بين 4.6×10^2 / مل إلى أكثر من 1.1×10^3 / مل، وكانت نسبة حدوث بكتيريا القولون المتحملة للحرارة (الغائطية) 90.27%، حيث تراوح العدد الأكثر احتمالاً لهذه البكتيريا ما بين أقل من 3 إلى أكثر من 1.1×10^3/ مل، بينما بلغت نسبة حدوث بكتيريا *E. coli* ، وهو المؤشر الأكثر تأكيداً على احتمال حدوث التلوث بالبكتيريا المعوية الممرضة 60 %.

تبين نتائج هذه الدراسة أن 92 عينة (63.89 %) من العينات التي أجريت عليها التحاليل البكتيريولوجية، احتوت على نوع واحد أو أكثر من البكتيريا الممرضة المستهدفة; أي: أن هذه العينات تعتبر خارج حدود القبول للمواصفة القياسية الأردنية للحليب الخام "الطازج" والتي نصت على أن يكون الحليب الخام خالياً من الأحياء الدقيقة الممرضة أو سمومها. فلقد سجل حدوث بكتيريا *S. aureus* الموجبة لاختبار التخثر في 56 عينة (38.89 %)، أما بكتيريا *Salmonella* فلم تعزل إلا من عينتين (1.39 %) فقط من إجمالي العينات، بينما لم يسجل وجود بكتيريا *E. coli O157* وبكتيريا *L. monocytogenes* في أي عينة.

ارتفاع أعداد مؤشرات التلوث الغائطي في أغلب العينات، وحدوث نوعين من البكتيريا الممرضة المستهدفة في بعض عينات حليب الإبل الخام من محلات البيع قيد الدراسة، يشير إلى تدنى جودة هذه العينات، الأمر الذي قد يشكل تهديداً خطيراً على صحة المستهلك. لذلك ومن أجل تجنب حدوث حالات العدوى أو التسمم الغذائي، فإنه يجب الالتزام بتطبيق الممارسات الصحية الجيدة، وتفعيل دور الرقابة الصحية المنتظمة على هذه المحلات، وتوعية المزارع بأهمية إتباع الاشتراطات الصحية أثناء عمليات الحلب والمناولة والتخزين والنقل والتسويق وترشيد المستهلك بأهمية المعاملة الحرارية للحليب الخام قبل شربه.

الكلمات الدالة: حليب الإبل الخام، مؤشرات التلوث الغائطي، والبكتيريا الممرضة للإنسان.

***للاتصال: نوري الساحلي مادي. قسم علوم وتقنية الأغذية - كلية الزراعة - جامعة طرابلس - طرابلس - ليبيا.**

هاتف: 218926321238+. البريد الالكتروني: madinuri@yahoo.com

استلمت بتاريخ: 2015/11/01 أجيزت بتاريخ: 2016/6/1

المقدمة

تمثل الإبل إحدى دعائم الثروة الحيوانية للعديد من الدول ذات البيئة الصحراوية، حيث تتميز هذه الحيوانات بقدرتها على الاستفادة من الموارد المتاحة في هذه البيئة القاسية وتحويلها إلى منتجات حيوانية تساهم في تلبية احتياجات الإنسان من ألبان، ولحوم، ووبر.

تشير العديد من الدراسات إلى أن حليب الإبل يتفوق في خصائصه الغذائية (عاشور، 1997 و Bashir and Ali, 2013) والعلاجية (Al-Ziney and Al-Turki, 2007 و El-Fakharany *et al.*, 2008) على العديد من أنواع الحليب الأخرى. وربما يعزى ذلك إلى طبيعة الأعشاب والشجيرات التي تتغذى عليها هذه الحيوانات، والتي يشكل بعضها مصدراً للعديد من المركبات التي تدخل في تصنيع الأدوية. ولقد زادت هذه المعلومات من الوعي بأهمية حليب الإبل، وبالتالي الزيادة في نسبة استهلاكه.

استخدم حليب الإبل في علاج العديد من الأمراض، كالجروح والالتهابات الجلدية (Yagil, 1987)، والتهابات المعدة والأمعاء (شريحة، 2000)، كما استخدم كعلاج إضافي لمرضى السل الرئوي (Tuberculosis) حسب علوان وآخرون (1996)، ولعلاج الاستسقاء واليرقان ومتاعب الطحال والسل الرئوي والربو والأنيميا والبواسير (محمد وعباس، 2011)، وفي تقوية النظام المناعي لدى الأطفال (Shabo *et al.*, 2005). اختبر Fakharany *et al.*, (2008) El-تأثير بروتينين من بروتينات حليب الإبل وهما: الأميليز (Amylase) واللاكتوفيرين (Lactoferrin)، على منع الفيروس الكبدي الوبائي نوع جـ (Hepatitis C Virus (HCV من اختراق خلايا دم الإنسان أو التضاعف داخلها، فوجدوا أنه لم يكن للأميليز أي تأثير، بينما كان للاكتوفيرن تأثيراً واضحاً على منع الفيروس منعاً تاماً من عدوى الخلايا أو التضاعف داخلها.

يتعرض الحليب إلى التلوث بأنواع مختلفة من الأحياء الدقيقة، وذلك في حالة عدم الالتزام بالاشتراطات الصحية خلال عملية الحلب، والتجميع، والتصنيع، والتوزيع، والتسويق. ويشكل الحيوان نفسه بالإضافة إلى العاملين ومعدات الحلب والمناولة والتصنيع المصادر الأساسية للأحياء الدقيقة المفسدة للحليب والممرضة للإنسان، كما يلعب الوضع الصحي للناقة دوراً هاماً في إنتاج حليب عالي الجودة، وخالي من عوامل المرض البيولوجية. تتعرض النوق للإصابة ببعض الأمراض المعدية والخطيرة التي قد تنتقل إلى الإنسان عند شرب الحليب الخام، وذلك مثل مرض الحمى المالطية (Brucellosis)، حيث تم عزل بكتيريا *Brucella melatensis* (الترهوني،1997) وبكتيريا *B. abortus* (عدوي، 1998) من حليب الإبل الخام؛ ومرض السل الرئوي، حيث تم عزل بكتيريا *Mycobacterium tuberculosis* من عينات أخرى من حليب الإبل الخام (Younan, 2004). وقد تتعرض النوق مثلها في ذلك مثل الأبقار إلى مرض التهاب الضرع (Mastitis).

تعتبر بكتيريا *Staphylococcus aureus* من أهم مسببات التهاب الضرع، حيث تم عزلها من حليب الإبل الخام بالمملكة العربية السعودية والمملكة المغربية وأثيوبيا ومصر والسودان (Shuiep *et al.*, 2007). وتشكل السلالات الموجبة لاختبار التخثر (الممرضة) من بكتيريا *S. aureus* تهديداً خطيراً على صحة الإنسان إذا وجدت في الحليب ما لم يتم معاملته حرارياً قبل شربه. إلى جانب ذلك فقد تتواجد بسبب مرض التهاب الضرع أو بسبب حدوث التلوث الغائطي أعداد كبيرة من بكتيريا *Escherichia coli* التي تضم سلالات ممرضة. وفقاً لشحاتة (1999) و Eley (1992) فإن السلالات الممرضة من بكتيريا *E. coli* تسبب التهابات معوية (Gastroenteritis)، والتهابات المسالك البولية (Urinary Tract Infections)، وأحياناً تسبب تعفن الدم (Septicemia)، والتهاب السحايا الدماغي (Meningitis). وقد يؤدي مرض التهاب الضرع إلى إفراز بكتيريا *Listeria monocytogenes* الممرضة للإنسان، حيث أشارت نتائج إحدى الدراسات (Al-All *et al.*, 2012) إلى عزل هذه البكتيريا من حليب الإبل الخام بمصر. التلوث الغائطي قد يؤدي كذلك إلى حدوث التلوث بالبكتيريا

المعوية الممرضة وخاصة بكتيريا *Salmonella*، حيث سجل وجود هذه البكتيريا في عينات حليب الإبل الخام بالسعودية (Al-Ziney and Al-Turki, 2007) ومصر (El-Demerdash and Al-Otaibi, 2012 و Al-All *et al.*, 2012). وعلى الرغم من المخاطر العديدة والمتنوعة التي يشكلها تواجد الأنواع المختلفة من البكتيريا الممرضة في الحليب، إلا أن العديد من الدراسات حسب (Younan, 2004) تشير إلى أن حليب الإبل لا زال يُستهلك بشكل رئيس في حالته الطبيعية (خام) وبدون أية معاملة حرارية في مناطق مختلفة من العالم، وأنه مع ذلك لم يتم تسجيل أية حالة مرضية مرتبطة بشرب حليب الإبل الخام (Al-Ziney and Al-Turki, 2007).

استهدفت هذه الدراسة الكشف عن وجود بعض البكتيريا الممرضة في عينات من حليب الإبل الخام المعروض للبيع في بعض المحلات الواقعة في نطاق مدينة طرابلس.

المواد وطرائق البحث

تجميع العينات:

جمعت 144 عينة حليب إبل خام، كما تباع في السوق المحلى في عبوات بلاستيكية سعة لتر واحد، وذلك من ثمانية محلات (18 عينة من كل محل) تقع في نطاق مدينة طرابلس وضواحيها خلال الفترة من شهر يوليو إلى شهر أكتوبر لسنة 2012م. نقلت العينات مباشرة في حافظة مبردة بالثلج إلى مختبر الأحياء الدقيقة بمركز بحوث التقنيات الحيوية بمنطقة الطويشة، جنوب مدينة طرابلس ليبيا؛ وذلك لغرض إجراء التحاليل البكتيريولوجية عليها.

التحاليل البكتيريولوجية:

رجت عبوة حليب الإبل الخام جيداً حتى أصبحت العينة متجانسة؛ وذلك لغرض إجراء التخفيفات العشرية باستخدام محلول التخفيف (0.1 % بيبتون) المعقم من صنع شركة Oxoid، وأعدت التخفيفات العشرية حتى التخفيف 10^{-3} (Swanson *et al.*, 2001). استخدمت التخفيفات العشرية لتقدير أعداد بكتيريا *S. aureus*، وأعداد مؤشرات التلوث الغائطي: العدد الأكثر احتمالاً لمجموعة بكتيريا القولون Most Probable Number (MPN)، والعدد الأكثر احتمالاً لبكتيريا القولون المتحملة للحرارة (الغائطية) Thermotolrerant (Faecal) Coliform Bacteria، بالإضافة إلى الكشف عن وجود بكتيريا *Escherichia coli* وبعض البكتيريا الممرضة: *E. coli O157* و *S. aureus* الموجبة لاختبار التخثر، بينما استخدمت عينات الحليب بدون تخفيف للكشف عن وجود البكتيريا الممرضة الأخرى: *Salmonella spp.* و *Listeria monocytogenes*.

تقدير العدد الأكثر احتمالا لمجموعة بكتيريا القولون:

قُدر العدد الأكثر احتمالا لمجموعة بكتيريا القولون باستخدام طريقة العدد الأكثر احتمالاً، حيث نقل 1 مل من التخفيفات (10^{-1}، 10^{-2} و 10^{-3}) إلى أنابيب اختبار (ثلاثة أنابيب لكل تخفيف) تحتوي على الوسط MacConkey broth صنع شركة Liofilchem، والتي تحتوي على أنابيب درهام (Durham tubes) مقلوبة. حضنت الأنابيب عند درجة حرارة 37°م/ 24 - 48 ± 2 ساعة (ISO 7251, 2005)، وقدر العدد الأكثر احتمالا لكل مليلتر من خلال الأنابيب الموجبة (المحتوية على غاز) ومقارنتها بجداول خاصة (Davidson *et al.*, 2004).

تقدير العدد الأكثر احتمالا لبكتيريا القولون المتحملة للحرارة (الغائطية):

قُدر العدد الأكثر احتمالا لبكتيريا القولون المتحملة للحرارة (الغائطية)، وذلك بنقل لقاحات من الأنابيب الموجبة (المحتوية على غاز) عند تقدير العدد الأكثر احتمالا لمجموعة بكتيريا القولون، إلى مجموعتين من أنابيب الاختبار. تحتوى المجموعة الأولى على الوسط Brilliant Green Lactose Bile Broth صنع شركة Liofilchem، بالإضافة إلى أنابيب درهام مقلوبة، بينما تحتوى المجموعة الثانية على الوسط Tryptone Water صنع شركة Liofilchem، وحضنت جميع الأنابيب عند درجة حرارة 44 ± 1°م/ 24- 48 ± 2 ساعة في حمام مائي. أعتمد على إنتاج

الغاز والأندول عند هذه الدرجة كمؤشر لاحتمال وجود بكتيريا القولون المتحملة للحرارة، وقدر العدد الأكثر احتمالا/ مل من خلال عد الأنابيب الموجبة المحتوية على الغاز والمكونة للإندول، ومقارنتها بجداول خاصة (Davidson *et al.*, 2004 و ISO 7251, 2005).

الكشف عن وجود بكتيريا *Escherichia coli*:

عزلت بكتيريا *E. coli* بالتخطيط على الوسط Eosin Methylene Blue Agar صنع شركة Oxoid من الأنابيب الموجبة (المحتوية على الغاز والمكونة للإندول) عند تقدير العدد الأكثر احتمالا لبكتيريا القولون المتحملة للحرارة (الغائطية)، وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 35 ±1°م / 24 ± 2 ساعة. تم تنقية المستعمرات النموذجية على الوسط Nutrient Agar صنع شركة Oxoid وتعريفها باتباع اختبارات IMViC (Indole, Methyl - Red, Voges-Proskauer, Citrate Utilization Tests) الكيموحيوية (Davidson *et al.*, 2004).

الكشف عن بكتيريا *E. coli* O157:

زرعت بكتيريا *E. coli* التي تم عزلها وتعريفها كما في الفقرة السابقة، على وسط Sorbitol MacConkey Agar صنع شركة Oxoid في أطباق بتري، وحضنت عند درجة حرارة 35±1°م/24±2 ساعة، وتم تمييز المستعمرات النموذجية غير المخمرة لسكر السوربيتول، ثم تعريفها باستخدام اختبار تجمع اللاتكس السريع (Rapid Latex Agglutination Test) للكشف عن المجموعة السيرولوجية (Serogroup) بواسطة طقم اختبار *E. coli O157* (*E. coli O157* test kit) صنع شركة Liofilchem (Meng *et al.*, 2001).

الكشف عن بكتيريا *Salmonella*:

أجري الإغناء المبدئي (Per-enrichment) بإضافة 25 مل من كل عينة إلى دورق يحتوى على 225 مل من وسط Buffered Peptone Water صنع شركة Liofilchem، وحضنت عند درجة حرارة 37 ± 1°م/ 18 ± 2 ساعة، تبعها أغناء انتقائي (Selective-enrichment) في وسط Rappaport- Vassiliadis Medium With Soya صنع شركة Liofilchem، وحضنت عند 41.5 ± 1°م/ 24 ± 3 ساعة. تم العزل (Isolation) على وسط انتقائي XLT_4 صنع شركة Liofilchem، و Bismuth Sulfite Agar صنع شركة Oxoid والتحضين عند درجة حرارة 37 ± 1°م/ 24 ± 3 ساعة.

اختيرت المستعمرات النموذجية وصبغت بطريقة جرام، وتم تعريفها باستخدام اختبار الحركة والاختبارات الكيموحيوية وفقاً لنظام تعريف API 20E (Analytical Profile Index) من صنع شركة Biomerieux (Cappuccino and Sherman, 1998 و ISO 6579, 2002).

تقدير أعداد بكتيريا *Staphylococcus aureus* والكشف عن السلالات الموجبة لاختبار التخثر:

قُدرت أعداد بكتيريا *S. aureus* باستخدام طريقة النشر السطحي Surface Spread Method، حيث تم نشر1 مل من التخفيفات العشرية المناسبة على سطح ثلاثة أطباق بتري تحتوى على الوسط Baird Parker Agar Base مضافا إليها Egg Yolk Tellurite Emulsion صنع شركة Liofilchem. حضنت الأطباق عند درجة حرارة 35-37°م/45- 48 ساعة (Lancette and Bennett, 2001). وبعد انتهاء فترة التحضين، تم تمييز وعد المستعمرات النموذجية لبكتيريا *S. aureus* (مستعمرات سوداء محاطة بهالة شفافة أو مستعمرات سوداء كالفحم). صبغت الخلايا المكونة للمستعمرات النموذجية بطريقة جرام للتأكد من شكل الخلايا وطريقة تجمعها من خلال الفحص المجهري، وبعد ذلك أجريت عليها اختبارات Catalase، DNase و Coagulase وتعريفها باستخدام اختبار تجمع اللاتكس السريع (Rapid Latex Agglutination Test) للكشف عن المجموعة السيرولوجية (Serogroup) بواسطة طقم اختبار (Staph latex kit) ،كما ذكر (Lancette and Bennett, 2001 و Cappuccino and Sherman, 1998)، وبذلك تم تقدير أعداد بكتيريا *S. aureus* الموجبة لاختبار التخثر.

الكشف عن بكتيريا *Listeria monocytogens*:

أجري الإغناء المبدئي بنقل 25 مل من العينة إلى دورق يحتوي على 225 مل من الوسط Buffered Listeria Enrichment Broth Base مضافا إليه Listeria Enrichment Supplement صنع شركة Liofilchem، وحضن الدورق عند درجة حرارة 30 °م/24 ± 2 ساعة، تبعها إغناء انتقائي في وسط Listeria Fraser Broth Base مضافا إليه Listeria Fraser Supplement صنع Liofilchem، وحضنت عند 35-37 °م/ 48 ± 2 ساعة. ومن المزرعة النامية في وسط الإنماء الانتقائي تم العزل على وسط انتقائي Listeria Palcom Agar Base مضافا إليه Listeria Palcom Supplement صنع شركة Liofilchem. حضنت الأطباق عند 37 °م/ 24± 3 ساعة، اختيرت المستعمرات الافتراضية لبكتيريا *L. Monocytogens* وتم تعريفها باستخدام اختبار الحركة وكذلك باستخدام اختبار Listeria Mono Test، حسب Cappuccino and Sherman, 1998) و ISO 11290, 2004).

النتائج والمناقشة

استهدفت هذه الدراسة الكشف عن بعض البكتيريا الممرضة في حليب الإبل الخام التي قد يشكل وجودها في الحليب تهديداً خطيراً على صحة المستهلك، ما لم يتم معاملته حرارياً للقضاء عليها. إضافة إلى ذلك فقد تم تقدير أعداد مؤشري التلوث الغائطي وهما: مجموعة بكتيريا القولون وبكتيريا القولون المتحملة للحرارة (الغائطية)، والكشف عن وجود بكتيريا *Escherichia coli* في عينات الحليب، وذلك لما لهذه المجاميع البكتيرية من أهمية في التنبؤ باحتمالات التلوث بالبكتيريا المعوية وغير ذلك من الأحياء الدقيقة الممرضة. ونظراً لعدم توفر مواصفة قياسية ليبية خاصة بحليب الإبل الخام "الطازج" فقد تم مقارنة النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة مع نتائج دراسات أخرى ومطابقتها ببنود المواصفة القياسية الأردنية للحليب الخام "الطازج" التي تضمنت حليب الإبل إلى جانب حليب الأبقار، والجاموس، والأغنام والماعز (مؤسسة المواصفات والمقاييس الأردنية، 2003).

مجموعة بكتيريا القولون:

تراوح العدد الأكثر احتمالا لمجموعة بكتيريا القولون لعينات حليب الإبل الخام كما هو موضح في جدول (1)، مابين 4.6×10^2/ مل إلى أكثر من 1.1×10^3/ مل. سجل وجود مجموعة بكتيريا القولون في جميع العينات قيد الدراسة; أي: بنسبة 100%، وهي نتيجة لا تتفق مع النتائج التي تحصل عليها (Aly and Abo Al-Yazeed, 2003) بمصر، حيث وجدا مجموعة بكتيريا القولون في 7 عينات فقط من 50 عينة بنسبة (14%) وتراوح العدد الأكثر احتمالا فيها مابين 3.6×10^2 إلى 8.2×10^6 / مل، كما أنه لا يتفق مع نتائج (Al-Ziney and Al-Turki, 2007) بالسعودية، حيث كانت نسبة تواجد مجموعة بكتيريا القولون 45.5 % فقط من إجمالي العينات التي درست.

بكتيريا القولون المتحملة للحرارة (الغائطية):

تراوح العدد الأكثر احتمالا لبكتيريا القولون المتحملة للحرارة (الغائطية) في عينات حليب الإبل الخام ما بين أقل من 3 إلى أكبر من 1.1×10^3 / مل، كما هو مبين في جدول (1). وجود بكتيريا القولون المتحملة للحرارة (الغائطية) يعتبر المؤشر الأكثر تأكيداً على احتمال حدوث التلوث بالبكتيريا المعوية الممرضة مقارنة بمجموعة بكتيريا القولون، حيث يؤشر وجودها إلى حدوث التلوث بمياه الصرف الصحي أو التلوث بالمخلفات الآدمية بشكل مباشر أو غير مباشر (شحاتة والمجذوب، 2003 و Younan, 2004).

ولقد سُجل وجود بكتيريا القولون المتحملة للحرارة (الغائطية) في 130 عينة من العينات قيد الدراسة وبنسبة 90.28%، وهو لا يتفق مع النتائج التي تحصل عليها Al-Ziney and Al-Turki, 2007)، حيث سجل وجود بكتيريا القولون المتحملة للحرارة بنسبة 12% فقط في عينات من حليب الإبل الخام أخذت من المزارع بمحافظة القصيم بالسعودية.

جدول1. المتوسطات العامة ومدى العدد الأكثر احتمالا لمجموعة بكتيريا القولون، وبكتيريا القولون المتحملة للحرارة (الغائطية) وأعداد بكتيريا *S. aureus* الكلية والموجبة لاختبار التخثر في عينات الحليب الخام (144 عينة) قيد الدراسة.

المعيار	المتوسط	الحد الأدنى	الحد الأعلى
العدد الأكثر احتمالا لمجموعة بكتيريا القولون/ مل	-	4.6×10^{2}	$< 1.1\times10^{3}$ *
العدد الأكثر احتمالا لبكتيريا القولون المتحملة للحرارة/ مل	.	$3 >$	$< 1.1\times10^{3}$ *
الأعداد الكلية لبكتيريا *S. aureus* **(و. ت. م/ مل)****	3.9×10^{5}	1.2×10^{3}	7.9×10^{6}
أعداد بكتيريا *S. aureus* **الموجبة لاختبار التخثر (و. ت. م/ مل)****	1.9×10^{4}	2×10^{1}	4.0×10^{5}

* تقديري ** وحدة تكوين مستعمرة / مليلتر

بكتيريا *E. coli* :

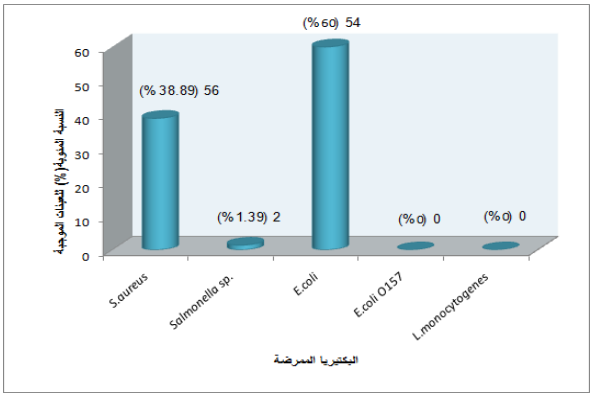
وجدت بكتيريا *E. coli* في 54 عينة من أصل 90 عينة من عينات حليب الإبل الخام قيد الدراسة وبنسبة 60 %، كما هو مبين في شكل (1)، وهي نسبة تفوق النسبة (12 %) التي سجلت في دراسة (Al-Ziney and Al-Turki, 2007) بمحافظة القصيم بالعربية السعودية والنسبة (29.5 %) التي سجلت في دراسة Shuiep *et al.*, (2007) بمدينة الخرطوم بالسودان. وتعتبر بكتيريا *E. coli* المؤشر الأكثر تأكيداً على احتمال حدوث التلوث الغائطي بشكل مباشر أو غير مباشر، حيث تمثل أمعاء الإنسان موطنها الأصلي، وبالتالي فهي تستخدم كمؤشر قوي على احتمال تلوث الحليب بالبكتيريا المعوية المرضة، إضافة إلى أن هذا النوع البكتيري في حد ذاته يضم بعض السلالات المرضة.

البكتيريا الممرضة:

يوضح شكل(1) النسب المئوية لحدوث البكتيريا الممرضة التي استهدفت في هذه الدراسة، وهي: *E. coli* O157 و Salmonella و *S. aureus* الموجبة لاختبار التخثر، و *L. monocytogenes*.

بكتيريا *Escherichia coli* O157:

لم يسجل أي تواجد للسلالة *E. coli O157* الممرضة ضمن مستعمرات بكتيريا *E. coli* التي عزلت من عينات الحليب الخام قيد الدراسة. تتفق هذه النتائج مع نتائج دراسة (El-Demerdash and Al-Otaibi, 2012) بمنطقة العريش بمصر، حيث لم يسجل وجود لهذه البكتيريا في عينات حليب الإبل الخام بهذه المنطقة، بينما تختلف مع نتائج Al-All *et al.*, (2012) الذين تمكنوا من عزل *E. coli O157* من 4 عينات من أصل 185 عينة حليب إبل خام من مناطق سيناء، وأسوان والمحافظات الشرقية لمصر.



شكل 1. أعداد و(نسب) عينات حليب الإبل الخام التي سجل بها تواجد للبكتيريا الممرضة قيد الدراسة.

بكتيريا *Salmonella*:

عزلت بكتيريا *Salmonella* من عينتين فقط من عينات حليب الإبل الخام الممثلة لواحد فقط من المحلات الثمانية التي شملتها الدراسة، وبنسبة 1.38%، كما هو مبين في شكل (1). تنتمي هذه البكتيريا إلى عائلة البكتيريا المعوية

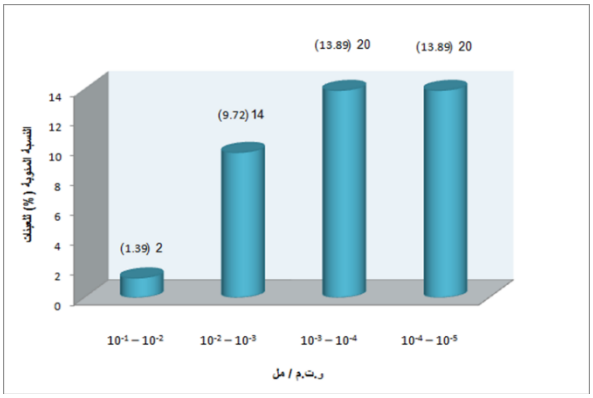
(*Enterobacteriaceae*) وهي نفس العائلة التي تنتمي إليها بكتيريا *E. coli* وبقية أعضاء مجموعة بكتيريا القولون. وجود بكتيريا *Salmonella* في الحليب الخام قد يكون سببه التلوث المباشر أو غير المباشر للحليب بالفضلات الآدمية أو روث الحيوانات المصابة كما أشار شحاتة (1999) و Eley (1992)، أو نتيجة لإصابة الحيوان بعدوى بكتيريا *Salmonella* (شحاتة، 1999).

ومن الأسباب التي يمكن أن تكون قد ساهمت في تلوث عينات الحليب التي سحبت من هذا المحل احتمالية غش العينات بماء ملوث بخلايا البكتيريا الممرضة والتي من بينها بكتيريا *Salmonella*.

حدوث بكتيريا *Salmonella* في العينات التي شملتها الدراسة وبنسبة 1.38%، يعتبر أقل من النسبة (24%) التي أشار إليها Al-Ziney and Al-Turki, (2007) بمنطقة القصيم في السعودية، وأقل من النسبة (2.703%) التي وردت في دراسة Al-All *et al.*, 2012) بمناطق سيناء، وأسوان والمحافظات الشرقية لمصر، بينما كانت أعلى من النسبة (0.4 %) التي توصل إليها El-Demerdash and Al-Otaibi, (2012) بمنطقة العريش بمصر.

بكتيريا *Staphylococcus aureus* الموجبة لاختبار التخثر:

تراوح التوزيع التكراري لأعداد بكتيريا *S. aureus* الموجبة لاختبار التخثر (الممرضة) في عينات الحليب الخام قيد الدراسة ما بين 10^{1} إلى أقل من 10^{5} و.ت.م/ مل، كما هو موضح من خلال شكل (2). وتبين النتائج المدونة في جدول (1) أن مدى أعداد بكتيريا *S. aureus* الموجبة لاختبار التخثر تراوحت مابين 2×10^{1} و.ت.م/ مل إلى 4.0×10^{5} و.ت.م/ مل وكان المتوسط العام 1.9×10^{4} و. ت. م/ مل، والذي يمثل 4.87 % من الأعداد الكلية لبكتيريا *S. aureus*. وبمقارنة هذه النتائج بنتائج دراسة (Benkerroum *et al.*, 2003) في المغرب التي تراوحت فيها أعداد *S. aureus* الموجبة لاختبار التخثر ما بين 1.1×10^{4} إلى 5.5×10^{5} و.ت.م/ مل، وبمتوسط 1.3×10^{5} و.ت.م/ مل، نجد أنها أعلى من الأعداد التي سجلت في هذه الدراسة، أما عند المقارنة مع نتائج دراسة (Demerdash and Al-Otaibi, 2012) في العريش بمصر والتي تراوحت فيها أعداد *S. aureus* الموجبة لاختبار التخثر ما بين 2.1×10^{2} إلى 7.2×10^{3} و.ت.م / مل وبمتوسط 1.2×10^{3} و.ت.م / مل، فنجد أنها أقل مما جاء في هذه الدراسة.



شكل 2. التوزيع التكراري لأعداد بكتيريا *S. aureus* الموجبة لاختبار التخثر في عينات حليب الإبل الخام المعروض للبيع في المحلات قيد الدراسة.

وجدت بكتيريا *S. aureus* الموجبة لاختبار التخثر في 56 عينة من عينات حليب الإبل الخام وبنسبة 38.89 %، وفي جميع المحلات قيد الدراسة، كما هو مبين في شكل (1). وتعتبر هذه النسبة أقل من النسبة (75 %) التي أشار إليها عكاشة وآخرون (2001) في حليب الإبل الخام بمنطقة وادي الشاطئ بليبيا، وكذلك النسبة (70 %) التي أشار إليها (Al-Ziney and Al-Turki, 2007) في حليب الإبل الخام بمنطقة القصيم بالسعودية، وأقل من النسبة (41%) التي سجلت في دراسة Shuiep *et al.*, (2007) في عينات حليب إبل خام في الخرطوم بالسودان. ومن جهة أخرى فأن نسبة حدوث بكتيريا *S. aureus* التي سجلت في هذه الدراسة تعتبر أعلى من النسبة (33.33 %) التي سجلت في دراسة Khedid *et al.*, 2003) بالمغرب، وكذلك النسبة (36.8 %) التي سجلت في دراسة (Omer and Eltiny, 2008) بدولة الإمارات العربية المتحدة في حليب الإبل الخام.

على الرغم من أن بكتيريا *S. aureus* تعتبر منافس ضعيف للمجموعات البكتيرية الأخرى مثل بكتيريا حمض اللاكتيك ومجموعة بكتيريا القولون التي يحتمل تواجدها في الحليب الخام، إلا أن وجودها بأعداد أولية عالية مع توفر ظروف التخزين المناسبة لنموها قد يعطى الفرصة لتكاثرها وزيادة أعدادها على حساب المجموعات البكتيرية الأخرى، وإمكانية إفراز السم المعوي (Enterotoxin)، الأمر الذي يشكل تهديداً مباشراً على صحة المستهلك. حدوث بكتيريا *S. aureus* في حليب الإبل الخام، ربما يعود إلى تلوث الحليب من مصادر آدمية كالأيدي، وتجاويف الأنف والفم، والدمامل والجروح وخاصة في حالة الحلب اليدوي، أو من مصادر حيوانية كالجلد وسطح الضرع والحلمات، إضافة إلى احتمال وجود البكتيريا كمسبب لالتهاب ضرع الحيوان، كما أشار (Gilmour and Rowe,1990، وشحاتة، 1999).

بكتيريا *Listeria monocytogenes*:

لم يتم عزل بكتيريا *L. monocytogenes* من عينات حليب الإبل الخام قيد الدراسة. تتفق هذه النتيجة مع نتائج دراسة كل من Omer and Eltiny, (2008) بالإمارات، و Aly and Abo al-Yazeed, (2003) في جنوب سيناء بمصر، و El-Demerdash and Al-Otaibi, (2012) في العريش بمصر، بينما تمكن Al-All *et al.*, (2012) من عزلها من عينتي حليب إبل خام وبنسبة 1.08 % في مناطق سيناء، وأسوان والمحافظات الشرقية بمصر، كما لم تتجاوز نسبة وجودها 1%; أي: في عينة واحدة من أصل 100 عينة حليب أبل خام من مزارع خاصة تقع جنوب مدينة القاهرة بمصر (Osman *et al.*, 2014). تبين النتائج في جدول (2) أن 92 عينة من العينات التي شملتها الدراسة بنسبة 63.89% احتوت على نوع واحد أو أكثر من البكتيريا الممرضة التى تم الكشف عنها; أي أن هذه العينات تعتبر خارج حدود القبول للمواصفة القياسية الأردنية (مؤسسة المواصفات والمقاييس الأردنية، 2003) بحيث يكون الحليب الخام خالياً من الأحياء الدقيقة الممرضة أو سمومها.

الخلاصة

على الرغم من الفوائد التغذوية والعلاجية لحليب الإبل وتعدد التقارير التي تشير إلى وجود مواد مضادة للنمو الميكروبي في هذا النوع من الحليب، والتي ورد في إحداها أنه لم تسجل حالات مرضية لها علاقة بحليب الإبل الخام، إلا أن نتائج هذه الدراسة بينت ارتفاع مستوى التلوث بمؤشرات التلوث الغائطي وحدوث نوعين من البكتيريا الممرضة المستهدفة في حليب الإبل الخام.

فلقد بلغت نسبة حدوث مجموعة بكتيريا القولون، وبكتيريا القولون المتحملة للحرارة (الغائطية)، و *E. coli* في عينات الحليب، 100، و 90.27، و 60 % على التوالي.

وبينما سجل حدوث البكتيريا الممرضة، *S. aureus* الموجبة لاختبار التخثر في 56 عينة (38.89%) من العينات التي سحبت من جميع المحلات، اقتصر حدوث *Salmonella* على عينتين سحبتا من محل واحد فقط، ولم يسجل أي تواجد للبكتيريتين الممرضتين الأخرين *E. coli O157* و *L. monocytogenes* في كل العينات.

ارتفاع مستوى التلوث بمؤشرات التلوث الغائطي وحدوث نوعين من البكتيريا الممرضة المستهدفة في بعض عينات حليب الإبل الخام قيد الدراسة، يؤشر إلى تدنى جودة أغلب هذه العينات والذي قد يعود إلى عدم الالتزام بتطبيق الاشتراطات الصحية خلال عمليات الإنتاج، والنقل، والمناولة.

لذلك يجب العمل على إعداد مواصفة قياسية ليبية خاصة بحليب الإبل الخام، والالتزام بتطبيق الممارسات الصحية الجيدة، وتفعيل دور الرقابة الصحية على محلات بيع الحليب الخام مباشرة إلى المستهلك.

والاهتمام بتوعية المزارع بأهمية إتباع الاشتراطات الصحية أثناء عمليات الحلب والمناولة والتخزين والنقل والتسويق وترشيد المستهلك بأهمية المعاملة الحرارية للحليب الخام قبل استهلاكه وأهمية ذلك لتجنب حدوث حالات العدوى أو التسمم الغذائي.

جدول 2. أعداد و(نسب) عينات حليب الإبل الخام قيد الدراسة التي تجاوزت الحدود القصوى المسموح بها من البكتيريا الممرضة حسب المواصفة القياسية الأردنية الخاصة بالحليب الخام "الطازج".

المعيار	عدد (%) العينات	الحد الأقصى المسموح به حسب المواصفة القياسية الأردنية* (و.ت.م/ مل)
البكتيريا الممرضة	92 (63.89)	صفر

* تشمل حليب الإبل، الأبقار، الجاموس، الأغنام والماعز .

المراجع

الترهونى، أ. 1997. أهم أمراض الإبل فى ليبيا. حلقة عمل عن واقع إنتاج وبحوث الإبل فى ليبيا. سرت، ليبيا.

شحاتة، ع. س. والمجذوب، أ. 2003. مراقبة الجودة الميكروبيولوجية فى مزارع ومصانع الألبان. الطبعة الأولى. 213 - 381. مكتبة النهضة المصرية. القاهرة، مصر.

شحاتة، ع. س. 1999. أمراض ناتجة عن الغذاء. الطبعة الأولى. 48 - 56، 76 - 104 ، 124 - 136، 140 - 142. المكتبة الأكاديمية. القاهرة، مصر.

شريحة، ع. م. 2000. الإبل فى الوطن العربى تربية وإنتاج. 421،424 ، 432 ، 448، 467،471، منشورات جامعة طرابلس. طرابلس، ليبيا.

عدوى، أ. ط. 1998. الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان، الجزء الأول. الطبعة الأولى. 266. الدار المصرية اللبنانية. القاهرة، مصر.

علوان، ع. عاشور، أ. عمرو، م. العجيلى، ع. وأبو نوارة، م. 1996. استخدام حليب الإبل كعلاج إضافي لمرضى الدرن الرئوي. ندوة الأمن الغذائي الثانية. عقدت بتاريخ 16- 18 أكتوبر 1996.طرابلس، ليبيا.

عاشور، أ. 1997. مكونات حليب الإبل التغذوية ومقارنتها بحليب الحيوانات الأخرى. حلقة عمل عن واقع إنتاج وبحوث الإبل في ليبيا. سرت، ليبيا.

عكاشة، أ. ا. الجبورى، ح. ل. وميلاد، م. ع. 2001. دراسة النوعية الميكروبية والكيميائية للحليب المنتج فى منطقة وادى الشاطئ. المؤتمر الوطنى للتقنيات الحيوية. عقد بتاريخ، 21-24 أبريل 2001. طرابلس. مركز بحوث التقنيات الحيوية. طرابلس، ليبيا.

محمد، ح. ع. وعباس، ب. 2011. بيئة الإبل وأمراضها. الطبعة الأولى. 71. 79. دار جامعة السودان للنشر والطباعة. جامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا. السودان.

مؤسسة المواصفات والمقاييس الأردنية. 2003. المواصفة القياسية رقم 4. الحليب ومنتجات الحليب- الحليب الخام(الطازج). مؤسسة المواصفات والمقاييس الأردنية. عمان، الأردن.

AL-Ziney, M. G. and AL-Turki, A. I. 2007. Microbiological quality and safety assessment of camel milk (*Camelus dromedaries*) Saudi arabia (Qassim Region). Applied Ecology and Environmental Research. 5(2):115 -122.

Aly, S. A. and Abo al-yazeed, H. 2003. Microbiological studies on12 Camel milk in north Sinai, Egypt. Journal of Camel Practice and Research. 10 (2):173 -178.

Al- All, A. A. Gouda, A. S. A. Dardir, H.A. and Ibrahim, A. K. 2012. Prevalence of some milk borne bacterial pathogens threatening camel milk consumers in Egypt. Global Veterinaria. 8(1):76 – 82.

Eley, A. R. 1992. Infective bacterial food poisoning.*In:*"Microbial food pois*oning".* Eley, A. R.(Ed). 1st .ed. 15 - 55pp. Chapman and Hall. London, United Kingdom.

Gilmour, A. and Rowe, M. T. 1990. Micro – organisms associated with milk. *In*" Dairy microbiology".Vol.1. Robinson, R. K. (Ed). 2nd ed. 37 - 75pp. Applied Science Publishers. London,

ISO 6579. 2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs Horizontal method for the detection of *Salmonell spp.* Geneve, Switzerland.

ISO 11290. 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*.Geneve. Switzerland.

ISO 7251. 2005. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli*-Most probable number technique. Genève, Switzerland.

Khedid, K.; Faid, M. and Soulaimani, M. 2003. Microbiological characterization of One humped camel milk in Morocco Journal of Camel Practice and Research. 10 (2):169 -172.

Lancette, G. A. and Bennett, R. W. 2001. Staphylococcus aureus and Staphylococcal enterotoxins.*In:*" Compendium of methods for the microbiological examination of foods". Downes, F. P. (Ed). 4th. Ed. 387- 403pp. American Public Health Association. Washington, DC. USA.

Bashir, O. M. and Ali, M. S. 2013. Camel milk composition and its health and benefits (Abstract). The scientific conference of camel research and production.78-79pp. 17-18 April 2013. Sudan university. Sudan.

Benkerroum, N. Boughdadi, A. Bennani, N. and Hidane, K. 2003. Microbiological quality assessment of Moroccan camel's milk and identification of predominating lactic acid bacteria. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 19:645-648.

Cappuccino, J. G. and Sherman, N. 1998. Microbiology: a laboratory manual. 5th.ed. 151-165, 179 -184, 417- 421pp. Benjamin/ Cummings Science. New York, USA.

Davidson, P. M. Roth, L. A. and Gambrel - Lenarz, S. A. 2004. Coliform and other Indicator bacteria. *In:* "Standard methods for the examination of dairy products". Wehr,H. M.and Frank, J. M. (Ed).17thed. 187- 205pp. American Public Health Association. Washington, DC. USA.

El-Demerdash, H. A. and Al-Otaibi, M. M. 2012. Microbiological evaluation of raw camel milk and improvement of its keeping quality. American- Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Science. 12(5):638-645.

El-Fakharany, E. M. Tabll, A. El-Wahab, A. A. Haroun, B. M. Redwan, E. 2008. Potential activity of camel milk-amylase and Lactoferrin against Hepatitis C Virus infectivity in HepG2 and Lymphocytes. Hepatitis Monthly. 8(2): 101-109.

quality of camel (*Camelus dromedarius*) milk in Khartoum State, Sudan. Bulletin of Animal Health and Production in Africa. 55(2):112-117.

Swanson, K.M. Petran, R. L. and Hanlin, J. H. 2001. Culture methods for enumeration of microorganisms. *In*: "Compendium of methods for the microbiological examination of foods". Downes, F. P. and Ito, K. (eds.). 4th. Eds. 53-61pp. American Public Health Association. New York,USA.

Yagil, R. 1987. Camel milk: a review. International Journal of Animal Science. 2:81.

Younan, M. 2004.Milk hygiene and udder health. *In:* "Milk and meat from the camel: Handbook on products and processing". Farah, Z. and Fischer, A. (Ed.). 67 – 76 pp. Vdf Hochschulverlag. Zurich, Switzerland.

Meng, J. Feng, P. and Doyle, M. P. 2001. Pathogenic *Escherichiacoli In:*" Compendium of methods for the microbiological examination of foods". Downes, F. P. (Ed). 4th. Ed. 331 - 341pp. American Public Health Association. Washington, DC. USA.

Omer, R. H. and Eltinay, A. H. 2008. Microbial quality of camel's raw milk in Central & Southern Regions of United Arab Emirates. Emirates Journal Food Agriculture. 20(1):76-83.

Osman, K. M. Samir, A. Orabi, A. Zolnikov, T. R. 2014. Confirmed low prevalence of *Listeria* mastitis in she-camel milk delivers a safe, alternative milk human consumption. Acta Trpica. 130: 1-6.

Shabo, Y. Barzel, R. Margoulis, M. and Yagil, R. 2005. Camel milk for food allergies in children. Immunology and Allergies Journal.(7):796-798.

Shuiep, E. S. EL-Zubeir, I. E. EL-Owni, O. A. and Mussa, H. H. 2007. Assessment of hygienic

THE LIBYAN JOURNAL OF AGRICULTURE
Volume (21): No. (1-2): 2016: 1-13

Original Article

The Incidence of Human Pathogenic Bacteria in Fresh Camel Milk Marketed Within Tripoli City Area

Amina. B. Ezzir, Nuri S. Madi*, Mohammed A. Embarek

Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tripoli

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the incidence of human pathogenic bacteria: *Escherichia coli O157, Salmonella spp., Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in 144 fresh camel milk samples displayed for sale in some shops located within Tripoli city area, during the period from July to October 2012. Due to the importance of faecal indicators in predicting possible contamination with pathogenic microorganisms, particularly intestinal pathogenic bacteria, the counts of total coliform group and thermotolerant (faecal) coliforms were also determined and the presence of *Escherichia coli* was detected in the milk samples.

Presence of the total coliform group was recorded in all milk samples, i.e. 100 %, and the most probable number (MPN index) of this group ranged between 4.6 $\times 10^2$/ml to more than 1.1 $\times 10^3$/ml. The incidence percentage of the thermotolerant (faecal) coliforms in the milk samples was 90.27 %, and the MPN Index for these bacteria ranged between less than 3 to more than 1.1 $\times 10^3$/ml, while the incidence percentage of *E. coli* which represent the most dependable faecal indicator was 60 %.

The obtained results indicate that 92 (63.89 %) out of the total samples included in this study, contained one or more of the targeted pathogenic bacteria. Thus, these samples are considered beyond the acceptable limits for the Jordanian standard specification for fresh milk, which, states that fresh milk should be free of pathogenic microorganisms and their toxins. The incidence of coagulase positive *S. aureus* was recorded in 56 samples (38.89 %), and *Salmonella* was isolated from only two samples (1.39 %) out of the total samples while, the presence of *E. coli O157* and *L. monocytogenes* were not detected in any sample.

The high counts of faecal indicators in most of the samples, and the incidence of two types of the targeted pathogenic bacteria in some samples of the fresh camel milk obtained from the selling shops included in this study, reflect the poor quality of these samples which might pose a serious threat to human health. Therefore,

***Corresponding Author: Nuri S. Madi. Food Science and Technology Dep., Fac. of Agric., Univ. of Tripoli.**

Phone. +218926321238. E-mail: madinuri@yahoo.com

Received: 1/11/2015 **Accepted: 01/6/2016**

in order to avoid the occurrence of food infections and intoxications, good hygienic practices should be applied, and the role of regular sanitary inspection in these shops should be activated. Improving farmers awareness regarding the importance of the hygienic requirements during milking, handling, storage, transportation and marketing processes is required, in addition to educating consumers concerning the importance of heat treatment of fresh milk before drinking.

Key Words: Fresh camel milk, faecal indicators, and human pathogenic bacteria.