

الجزء الثاني

التلوث الحيوي للبن ومنتجاته

obeikandi.com

## الفصل الرابع

### مصادر التلوث الحيوي للبن

يتلوث اللبن من مصادر مختلفة تتمثل أساساً في الحيوان، والإنسان، البيئة (المياه - الأواني والأدوات - الذباب والقوارض مخلفات الحيوان والإنسان أى الصرف الصحى - الهواء والأتربة).

#### ١- الحيوان Animal

يفرز اللبن من الغدد اللبنية خالياً من الميكروبات ولكنه قد يتلوث من:

أ- الميكروبات الملوثة للضرع والتي توجد فى قنوات الضرع وخزاناته خاصة على طول قناة الحلمة.

ب - الميكروبات المرضية والتي يفرزها الحيوان المريض مع اللبن ومن أمثلتها ميكروبات السل، الإجهاض المعدى، الحمى الفحمية والقلاعية.

ج - جلد الحيوان والمنطقة الخلفية للضرع والذيل حيث تتلوث هذه المناطق بأعداد كبيرة من الميكروبات سواء من التربة أو فرشة الحيوان أو إفرازاته وهذه تجد طريقها مباشرة إلى اللبن أثناء عملية الحلابه.

لذلك يجب إعطاء الحيوان عناية فائقة منها:

أ- تطهير الحيوان (تطهير grooming) قبل عملية الحلابه مباشرة - حلق الشعر الطويل الموجود على المنطقة الخلفية والضرع - غسل الضرع بماء دافئ ومحلول

معقم sanitizer مثل الهيبو كلوريت ٢٠٠ جزء في المليون من الكلور، وتجفيفه بقماش نظيف وربط الذيل أثناء عملية الحلب. وترتيب الحيوانات بطريقة الذيل إلى الذيل لمنع العدوى بالرداذ.

ب- عدم الحلب في مكان به غبار وعدم تقديم عليقة أثناء عملية الحلب والتخلص من القطرات الأولى من الحليب ومنع أى غذاء يكسب اللبن نكهة غير طبيعية.

ج- فحص الحيوانات دورياً ضد بعض الأمراض (السل - الإجهاض المعدى - التهاب الضرع ....) وعزل أى حيوان تظهر عليه أعراض غير طبيعية وعدم استعمال ألبان الحيوانات المعالجة بالمضادات الحيوية إلا بعد مرور ٩٦ ساعة من آخر جرعة.

د- عزل الحيوانات الجديدة والقادمة إلى إلى القطيع بعيداً حتى التأكد من خلوها من الأمراض المعدية.

## ٢- القائمون بعملية الحلب والتعاملون مع اللبن: Dairy men (milkers & handlers)

بعض هؤلاء الأشخاص قد يكونوا حاملين للمرض carriers بدون ظهور أعراض أو مصابين وتظهر عليهم أعراض المرض (diseases) وقد توجد الميكروبات على أيدي وملابس هؤلاء الأشخاص ويتوقف مدى التلوث من هذه الفئة على عاداتهم ومدى إتباعهم للتقواعد الصحية لذا يجب مراعاة:

أ- منع المرضى أو الحاملين للميكروبات المرضية من التعامل مع الحليب أو أوعيته أو الحيوانات الحلوبة مع فحصهم دورياً ضد الأمراض المعدية وضرورة حصولهم على شهادات صحية تفيد خلوهم من الأمراض.

ب- العناية بالنظافة الشخصية وغسل أيدي الحلابين بالماء والصابون وتجفيفها وأن تكون الأيدي خالية من التقرحات والتزامهم بارتداء ثياب بيضاء نظيفة وأغطية للرأس وأحذية طويلة.

ج- إتمام عملية الحلب في وقت قصير وتفضيل الحلب الألى.

## ٢- المياه Water supply

تستخدم المياه داخل مزرعة الألبان في شرب الأبقار (١٥٠ لتر/ رأس/ يومياً) ونظافتها (٥٠ - ٧٠ لتر / رأس) وتبريد اللبن (٦-٧ لتر / لتر لين) وغسل الأواني وتنظيفها ، لذا فالماء الملوث المستخدم يعتبر من أهم مصادر التلوث لذا يجب .

أ- أن تكون المياه خالية من الميكروبات الضارة والممرضة، قليلة المحتوى البكتيرى خالية من التلوث بالبراز .

ب- خالية من العسر وكبريتيد الهيدروجين حتى لا يحدث تلون باللبن كما أن قلوية الماء أو حموضته تؤثر على أنابيب المياه ومعدات اللبن .

ج- تجنب استخدام المياه السطحية مالم ترشح وتعالج بالكور . مع معاينة أماكن الأبار والينابيع وأن تشيد بطريقة تمنع تسرب المياه السطحية إليها مع مراعاة تنظيف وتطهير مجرى المياه يومياً .

## ٤- أوعية اللبن وأدواته Milk utensils and equipment

وتشمل كل المعدات والأدوات التي فيها يخزن اللبن أو يحلب أو يعامل أو ينقل، وتعد مصدراً هاماً من مصادر تلوث اللبن فهي قد تحمل العديد من البكتريا والخمائر والفطريات ويتوقف ذلك على مدى نظافة تلك الأواني وطريقة تنظيفها وحفظها فبعض الميكروبات يمكنها مقاومة الغسيل بالماء الساخن كما أن حفظ الأواني مفتوحة بعد تنظيفها وتعقيمها في مكان مفتوح يعرضها للتلوث بالعديد من الميكروبات من الأتربة المتساقطة والذباب والقوارض التي قد تتعرض له، لذا يجب العناية بنظافة هذه الأواني ومراعاة:

أ - أن تصنع هذه الأواني من معادن غير قابلة للصدأ، لها قدرة عالية على التحمل ومقاومة للتآكل غير سامه، لا تتأثر بعمليات التعقيم الكيميائي، ذات سطح ناعم داخلي أملس وزوايا مستديرة ليسهل تنظيفها .

ب - العناية بغسلها وتنظيفها وتعقيمها بعد تجفيفها لتجنب تكون أحجار اللبن milk stones (جوامد لبنيه) التي تعتبر بيئة مناسبة لنمو وتكاثر الميكروبات .

## ٥- الذباب والقوارض Flies and rodents

يعد الذباب والقوارض طاعون صناعة الالبان، فمن الذباب ما هو ماص للدماء ينقل الامراض بين الحيوانات، كما تعتبر الذبابة المنزلية والقوارض حاملاً ميكانيكياً ينقل أنواع مختلفة من الميكروبات والطفيليات من الأماكن الملوثة إلى حلمات الأبقار وأواني اللبن واللبن نفسه، وتحمل هذه الحشرات الميكروبات على جسمها وتلوث بها اللبن مباشرة عن طريق سقوطها فيه أو بطريقة غير مباشرة بوضع تلك الميكروبات على الأواني في الماء، ولتقليل التلوث بهذه الحشرات يراعى:

- أ- وضع سلك شبكى على النوافذ لمنع دخولها مع الإهتمام بنظافة الوسط (البيئة) المحيطة بالمحلب (مكان الحلابه).
- ب- إزالة مخلفات الحيوانات أولاً بأول وإبعادها (الروث والسباح) بعيداً عن أماكن الحليب.
- ج - استخدام المبيدات الحشرية المناسبة وإستخدامها سليماً بعيداً عن حجرات تجميع اللبن.

## ٦ - مخلفات الحيوان والإنسان (الصرف الصحي)

### Animal Manure and Human Exeretes (sewage & waste products)

تعد هذه المخلفات مصدراً لملايين الميكروبات مرضية وغير مرضية، إذ تعتبر القناة الهضمية للإنسان والحيوان مسكناً طبيعياً لعدد من الميكروبات التي تجد طريقها إلى التربة والماء ومنها إلى النبات (غذاء الحيوان) والأواني، ويحدث التلوث بهذه الميكروبات المحمولة على مخلفات الحيوان والأنسان إما بطريق مباشر عن طريق يدي الحلابين والمتعاملين مع اللبن، أو بصورة غير مباشرة عن طريق الذباب والأترربة والهواء، خاصة عند جفاف هذه المخلفات لذا يجب مراعاة:

- أ - التخلص الفوري من الفضلات العضوية للحيوانات إما بنثر الروث على الأراضي الزراعية في طبقات رقيقة، أو بتحويلها إلى سماد.

ب- التخلص من فضلات الإنسان عن طريق أنظمه الصرف الصحى فى المناطق التى يتوافر بها الصرف الصحى، أو عن طريق جمعها وحرقها أو معاملتها بمواد مطهرة أو دفنها فى الأرض.

## ٧- الهواء والأترية Air and dust

يحمل الهواء والأترية العديد من الميكروبات منها ما يتحمل الجفاف لدرجات مختلفة مثل *Bacillus*, *Micrococcus* وبعض الخمائر مثل *Torulopsis* وكذلك بعض الفطريات، ومن هذه الميكروبات ما ينتقل عن طريق الرذاذ Droplet وهو ما يعرف بالعدوى المحملة بالهواء Air - born infection مثل ميكروب السل، ومنها ما يحمل بالأترية Dust born infection مثل ميكروب الإجهاض المعدى والمسبب لحمى Q، ولذا يجب العمل على عدم إثارة الغبار والأترية فى حظائر الحليب وقت التغذية والتطهير وأثناء الحلابه مع إستخدام جرادل الحلابه ذات الفتحة الضيقة الجانبية وتصفية اللبن بعد الحلابه.

## ٨- غذاء الحيوان Animal feeds

تحتوى عليقة الحيوان على العديد من البكتريا والخمائر والفطريات، ويتوقف ذلك على نوعية العليقة وتخمرها ومعاملتها لقتل الميكروبات وظروف تخزينها. لذا يجب العناية بإختبار هذه العلائق من حيث جودة التخزين.

وبجانب الإحتياجات السابق بيانها لتقليل تلوث اللبن فى مزارع الإنتاج فانه يجب مراعاة الشروط الصحية عند بناء حظائر الحيوانات مثل:

أ - أن تكون الأرضيه من مادة صلبه غير منفذه للماء سهلة التنظيف، وأن تكون المجارى من النوع المكشوف.

ب - أن تدهن الحوائط والأسقف بالجير لمزيد من الإضاءة مع جعل النوافذ متسعة عالية مغطاه بالسلك.

ج - تخصيص مكان لعملية الحلابه يراعى فيه كل الشروط الصحية من حيث الأرضيه والحوائط والتهويه ومنع دخول الحشرات.

د - إتخاذ كافة الإحتياجات لمنع تلوث اللبن أثناء تجميعه وتصفيته وتبريده ونقله حتى وصوله إلى أماكن معالجته حرارياً أو تصنيعه.

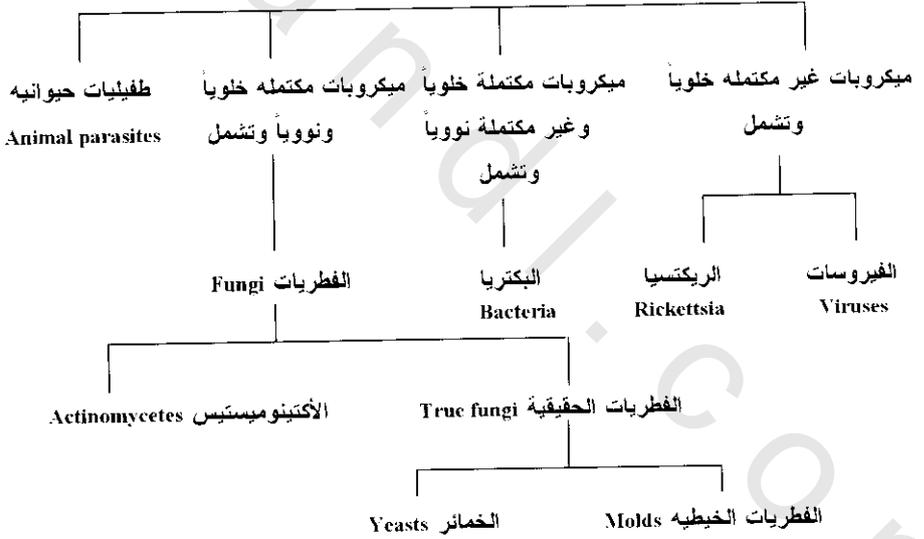
obeikandi.com

## الفصل الخامس

# أنواع الكائنات الحية الملوثة للبن ومنتجاته

## والأمراض الناجمة عنها

يمكن تقسيم الكائنات الحية الملوثة للغذاء عامة إلى:



## ١- الفيروسات Viruses

كائنات حية دقيقة أصغر كثيراً من البكتيريا يتراوح قطرها بين ٢٠ - ١٠٠ nm تمر خلال المرشحات البكتيرية لا ترى بالميكروسكوب العادي، ولكن يمكن رؤيتها بالميكروسكوب الإلكتروني، ليس لها جدار خلوي، ليس بها إنزيمات سوى الإنزيمات المسنولة عن التكاثر، محاطة بغلاف يحتوي على ليبيدات، تحتوي إما على DNA (فيروسات DNA) أو تحتوي RNA (فيروسات RNA) ولكنها لا تحتوي النوعين معاً (DNA, RNA) لا تتكاثر خارج خلايا العائل، إذ أنها توجه نشاط خلية العائل لإنتاج فيروسات جديدة Viral progeny لا تتكاثر في الغذاء رغم وجودها كمكونات غذائية.

## ٢- الريكتسيا Rickettsia

كائنات حية أكبر من الفيروسات وأصغر من البكتيريا تعيش في خلايا الإنسان والحيوان، تشبه البكتيريا في بعض الصفات حيث تحتوي الريكتسيا على DNA, RNA وبعض الأنزيمات، تتكاثر بالانقسام الثنائي، خلاياها محاطة بجدار خلوي cell wall يحتوي على مكونات مماثلة لمكونات جدار خلايا البكتيريا، حساسة للمضادات الحيوية. وتختلف الريكتسيا عن البكتيريا في عدم قدرتها على التكاثر خارج خلايا العائل، وهي في هذا تشبه الفيروسات، ولكنها تختلف عن الفيروسات في أن الفيروسات غير حساسة للمضادات الحيوية.

## ٣- البكتيريا Bacteria

أكبر من الريكتسيا، لا تمر خلال المرشحات البكتيرية، لها جدار خلوي، ترى بالميكروسكوب العادي تحتوي بعض الأنزيمات، تحتوي DNA, RNA معاً، تعيش خارج خلايا العائل (الغذاء) وكذا داخل جسم العائل، تتكاثر بالانقسام الثنائي، حساسة للمضادات الحيوية.

## الفطريات Fungi

هي مجموعة من الكائنات الحية تحصل على غذائها من المواد العضوية المتحللة decaying والنباتات والحيوانات الحية، ليس لها القدرة على التمثيل الضوئي Non photosynthesis إذ ينقصها الكلوروفيل وهي تشمل:

#### أ- الفطريات الحقيقية True fungi وتضم

\* الفطريات الخيطية Molds: وهي كائنات حية عادة متعددة الخلايا multicellular تعطى نموات زغبية او قطنية مختلفة الالوان (أبيض - قاتمة) تسمى بالعفن، وهي خالية من الكلوروفيل وهذا ما يميزها عن الطحالب Algae فالأخيره تكون غذاءها بنفسها من الماء،  $CO_2$  بفعل ضوء الشمس.

\* الخمائر yeasts: وهي عاده وحيدة الخلية unicellular تنمو على سطح الأغذية الحمضية مكونة عفناً له ألوان مختلفه، كما تنمو على المحاليل السكريه فتخمرها، وهي اصغر من الفطريات الخيطيه إلا أنها اكبر من البكتريا.

#### ب- الأكتينوميستيس Actinomycetes

وهي كائنات حية وسط في حجمها ما بين البكتريا والفطريات الخيطية، وهي وحيدة الخلية، تنمو ببطء شديد حيث يتفوق عليها في النمو جميع الأحياء الدقيقة الأخرى، وعادة تفرز في بيئتها مواد ضارة لغيرها تعرف بالمضادات الحيوية.

#### ٤- الطفيليات الحيوانية Animal parasites

كائنات حية تصيب الإنسان عن طريق الفم عادة نتيجة تناول غذاء أو شراب ملوثاً بالطور المعدي، وتسبب له أضراراً صحية، وهي طفيليات داخلية تعيش في القنوات الهضمية والقنوات المؤدية إليها، وهي إما أن تكون:

#### أ - حيوانات أولية وحيدة الخلية Protozoa

مثل الأميبا وتتكاثر في عائلها الأخير بأعداد كبيرة

#### ب- حيوانات لافقارية عديدة الخلايا (ديدان)

multicellular, non-vertebrate (worms) وهذه تتكاثر تزاوجياً (ذكر وأنثى) وتنتج

بيضاً مخصباً يخرج من جسم العائل الأساسي (الإنسان) حيث:

i - إما أن يتكون داخل البويضة يرقة تتسلخ وهي داخل البويضه وتصبح

البويضه ويداخلها اليرقه بعد إنسلاخها هي الطور المعدي الذي يصيب الإنسان

عند تناول غذاءً يحتوى هذه البويضات ذات البرقه المنسلخه ومثال ذلك الإسكارس (من الديدان الإسطوانيه).

ii - وإما أن يتكون الطور المعدى فى عائل وسيط مثال ذلك الدودة الشريطية (من الديدان المفلطحة) حيث أن البيض المخصب الخارج من العائل الأساسى (الإنسان) يلوث الحشائش، وعند تغذية الأبقار (عائل وسيط) على هذه الحشائش ينطلق الجنين من البويضه ويخترق المعدة والأمعاء، ويسير فى الدورة الدمويه ليصل إلى العضلات والقلب ويكون ما يعرف بالدودة المثانية (الطور المعدى) ويصاب الإنسان عند تناوله هذه اللحوم المحتويه على الدودة المثانية (الطور المعدى).

وينشأ عن تلوث اللبن ومنتجاته بالكائنات الحية غير المرغوبة أضرار عديدة منها مايسبب أمراضاً للإنسان ومنها مايسبب فساداً للبلن ومنتجاته.

## الفصل السادس

### سمات (ملامح أو مظاهر) الميكروبات المرضية

للميكروبات المرضية عدة مظاهر أو خواص من أهمها:

١- قدرة الميكروب على إحداث المرض Pathogenicity.

٢- ضراوة (شدة خطورة) الميكروب Virulence.

#### ١- قدرة الميكروب على إحداث المرض Pathogenicity

تعريف المرض:

يعرف المرض بأنه أى تغيير يحدث بجسم الإنسان يبعده عن حالته الطبيعية (تركيبياً أو فسيولوجياً). وهو إما أن يكون:

- مرضاً غير ظاهر: حيث لا يشكو المريض من أعراض واضحة، ولكن يمكن إكتشاف المرض بعلامات أو إختبارات خاصة.

- مرضاً ظاهراً: حيث يشكو المريض من أعراض يحس بها أو علامات مرضيه ظاهرة.

مسببات المرض:

تتعدد مسببات المرض ولكن يمكن إجمالها فى نوعين هما:

- مسببات داخلية (داخل الجسم) ومن أمثلة ذلك: عوامل وراثية - ضعف المناعة - إختلال هرمونى - شيخوخة - إضطراب فى عملية التمثيل الغذائى ... الخ

مسببات خارجية (عوامل بيئية) ومنها:

- عوامل طبيعية: حرارة - رطوبة - إشعاع - ضوضاء ... الخ
- عوامل نفسية وإجتماعية: ضغط الحياة - عدم الأمان والإحساس بالمسئولية - الإدمان .... الخ
- عوامل تغذوية: مثل أعراض سوء التغذية.
- عوامل غير حيوية: مثل السموم الطبيعية بالغذاء، المواد الضارة التي قد تتكون في الغذاء أثناء إعداده وتحضيره وتصنيعه، الملوثات الكيماوية والسموم الناتجة عن مواد عضوية (مبيدات) وغير عضوية (عناصر ثقيلة) وكذا الأمراض الناجمة عن الإشعاعات (التفجيرات الذرية).
- عوامل حيوية: مثل الأمراض الناجمة عن الميكروبات والطفيليات وتعرف هذه الأمراض عادة بالأمراض المعدية infectious diseases

### العدوى Infection

وتعرف العدوى بأنها دخول الميكروب أو الطفيل إلى جسم الإنسان بعد اجتيازه الأنظمة الدفاعية (الحواجز) أى غزو invasion الميكروب لجسم العائل وتكاثره وإفراز سمومه وإحداث المرض، وتنشأ الحالة المرضية كوسيلة من الميكروب أو الطفيل للدفاع عن نفسه والمحافظة على وجوده بجسم العائل.

ويرتبط نشوء المرض وكذا مدة الحضانه incubation period لحد ما بمقدار الجرعة فمن المعروف أنه تحت الظروف المناسبة فإن خلية بكتيرية واحدة يمكن أن تعطى ٢٥ ١٠ خلية في بحر ٦ ساعات (إنقسام كل ٢٠ د) ومن ذلك نرى أنه فى ظرف ساعات قليلة يصل عدد الخلايا إلى آلاف الملايين (تبعاً لحجم الجرعة) وهذه الأعداد تسبب عبئاً فسيولوجياً على أنسجة وأعضاء العائل المصاب، مما يؤدي لظهور أعراض المرض.

### ٢- ضراوة (شدة خطورة) الميكروب Virulence

تتوقف شدة الحالة المرضية الحادثة على مدى ضراوة الميكروب وتقاس ضراوة الميكروب أو يعبر عنها بإحدى المصطلحات التالية:

١- الجرعة المعدية (ID): Infectious dose

وهي عدد البكتيريا المرضية والتي لها القدرة على إحداث العدوى.

٢- الجرعة المهلكة ٥٠٪ (LD<sub>50</sub>): Lethal dose

وهي الجرعة أو المعلق البكتيري الحى الحاوى على عدد من الجراثيم والذى إذا ما حقن (أو أعطى عن طريق الفم) فى مجموعة من حيوانات التجارب فإنه يؤدى بعد فترات محددة إلى موت ٥٠٪ من هذه الحيوانات.

٣- الجرعة المهلكة الصغرى (القائله) (MLD): Minimal Lethal dose

وهي الجرعة أو المعلق البكتيري الحى الحاوى على أقل عدد من الجراثيم اللازمه لقتل ١٠٠٪ من الحيوانات المختبرة، وجدير بالذكر أن هذه الطريقة لاتحبذ الآن، لأنها تحتاج لمهارة عالية، وخشية الوقوع فى الخطأ أثناء القيام بالتجربه، ولوجود عدة عوامل تتداخل مع النتائج منها ما يختص بطبيعة نمو الميكروب.

٤- الجرعة المؤثرة ٥٠٪ (ED<sub>50</sub>): Effective dose

وهي الجرعة أو المعلق البكتيري الحى الحاوى على عدد معلوم من البكتيريا، يمكن لها إذا ما أعطيت لمجموعة معينة من حيوانات التجارب من نفس النوع وذات مواصفات خاصه أن تؤدى إلى ظهور أعراض مرضية على ٥٠٪ من مجموع هذه الحيوانات.

٥- الجرعة المؤثرة ١٪ (ED<sub>1</sub>): Effective dose

وهي الجرعة أو المعلق البكتيري الحى الذى يحتوى عدد معلوم من البكتيريا، يمكن لها إذا ما أعطيت لمجموعة معينة من حيوانات التجارب من نفس النوع وذات مواصفات خاصه أن تؤدى إلى ظهور أعراض المرض على ١٪ من مجموع هذه الحيوانات.

ويلاحظ أن طريقتى الجرعة المؤثرة ٥٠٪، ١٪ تعد أكثر إقتصاداً لعدم موت الحيوانات فيهما

## العوامل المحددة لضرارة الميكروب:

تتأثر مدى ضرارة الميكروب بعوامل منها:

١- العوامل البيئية: كاستخدام المستحضرات المضادة للميكروب، والحرارة العاليه. وتستخدم هذه العوامل كوسيلة لنقص درجة ضرارة الميكروب صناعياً لإستخدامه فى تحضير Vaccines المستخدمه فى الوقايه العلاجيه لعدد كبير من الأمراض المعديه.

٢- النظم الهجومية للميكروب: وتتمثل هذه النظم فى الوسائل التى يهاجم بها الميكروب العائل، وتزيد من قدرته على إحداث العدوى ومنها قدرة الميكروب على إنتاج التوكسينات، وقدرته على إنتاج الكبسولات (محفظه)، وقدرته على غزو أنسجة العائل وإنتاج العاديات.

٣- النظم الدفاعية للعائل: وهى النظم التى يحاول بها العائل دفع الضرر الناشئ عن مهاجمة الميكروب له، أى طرق مقاومته للميكروب وسمومه. ومنها النظم الدفاعية غير المتخصصة، والنظم الدفاعية المتخصصة أى ما يعرف باسم المناعة. ونستعرض فيما يلى أهم النظم الهجوميه للبكتريا والنظم الدفاعية للعائل.

## أولاً : النظم الهجوميه للبكتريا

وتتمثل هذه النظم فى:

### ١- قدرة البكتريا على إنتاج السموم البكتيرييه: Bacterial toxins

تنتج جميع البكتريا المرضيه مجموعه من السموم تعرف بالسموم البكتيرييه أو التوكسينات البكتيرييه وتنقسم التوكسينات البكتيرييه إلى توكسينات خارجيه Exotoxins وأخرى داخلية Endotoxins

### أولاً : التوكسينات الخارجيه Exotoxins وتتميز بالخواص التاليه:

١- سموم تفرز خارج الخلية، وتتميز بسرعة إنتشارها من الخلية إلى الوسط المحيط بها كالغذاء كما فى حالة التسمم البتشيوليني (Botulism) بفعل بكتريا (C. botulinum، أو يفرزها الميكروب فى جسم العائل مثل: الدفتريا (Diphtheria) بفعل بكتريا *Corynebacterium diphtheriae*.

٢- يمكن فصلها بالترشيح من الخلايا البكتيرية (البينة) وقد أمكن فصل العديد منها بصورة نقيه بالترسيب (الترسيب بحمض TCAA - الترسيب الملحي Salting out بكبريتات الأمونيوم) ثم إدمصاصها على مواد مختلفة.

٣- عبارة عن بروتينات مرتفعة الوزن الجزيئي، قد يصل الوزن الجزيئي لبعضها إلى مليون دالتون (السم البتشيوليني A). لبعضها خواص الإنزيمات فتحلل مركبات هامه حيويه في خلايا نسيج العائل مما يؤدي لظهور المرض، وبعضها مواد بروتينية غير أنزيمية إما أن تهدم بأنزيمات الهضم المحلله للبروتين، وبذا لاتؤثر على العائل إذا أخذت عن طريق الفم مثل سم الدفتريا Diphtheriac toxin، وبعضها مواد بروتينية لا تهدم بالأنزيمات الهاضمه مثل التوكسينات التي تنتجها *Pathogenic staphylococci*، *Clo. botulinum* وهذه تحدث تسمماً intoxication عند تناولها عن طريق الفم.

٤- مواد عالية السمية حتى مع الجرعات الصغيرة جداً خاصة إذا كان التوكسين في صورة نقيه فمثلاً (ملليجرام واحد من سم الدفتريا يقتل ١٠٠ خنزير غنياً؛ ملليجرام واحد من السم البتشيوليني يقتل ١٠ فأراً أبيض، بل أن ٣ كجم من السم البتشيوليني A يكفي لقتل جميع سكان الأرض).

٥- تتميز بتخصصها في إصابة عضو أو نسيج معين، فبعضها يؤثر على الجهاز العصبي وتسمى سماً عصبياً nervotoxin مثل السم البتشيوليني، وسم التيتانوس tetanus toxin والأخير تسببه بكتريا *Cl. tetani* وبعضها يؤثر على الجهاز الهضمي ويسمى سماً معوياً enterotoxin مثل سم الكوليرا (*vibro cholerae*) والتسمم الحنقودي Staphylococcal food poisoning الذي تسببه *pathogenic staphylococci* وبعضها يؤثر على الخلايا ويقتلها ويعرف بالسم الخلوي cytotoxin مثل سم الدفتريا والذي يؤثر على الغده الكظرية adrenals وعضلة القلب cardiac muscle.

٦- بعضها حساس للحرارة *heat labile* يتلف ٦٠ - ٨٠ م° / ١٠ - ٦٠ د، كما يتكسر حالاً بالعلی، ولكنها أكثر ثباتاً في الحالة الجافة، كما أن إضافة السكر يزيد من مقاومتها للحرارة. وفي نفس الوقت فهي ضعيفه الثبات تجاه الضوء والأكسجين، ولذا فقد تفقد سميتها بالتخزين لفترات طويله، كما تؤدي الأوساط الحامضية إلى إبطال سميتها وذلك نتيجة حدوث تغير في طبيعتها، كما تفقد سميتها تحت تأثير

الفورمالين، فتوكسين الدفتريا يفقد خاصية السمية في مدة (٣٠ يوم) على حرارة ٣٠ - ٤٠ م في محلول ٠,٣ - ٠,٤ % فورمالين، حيث يتحول التوكسين إلى مادة غير سامه تسمى توكسيد toxid ذات خواص أنتيجينية تستخدم vaccine لوقاية الأشخاص المعرضين للأصابة بالدفتريا، حيث تحفز جسم العائل على إنتاج أجسام مضادة في الدم عالية النشاط highly active antibodies، لها القدرة على معادلة التوكسين فتعمل كمضاد للتوكسين antitoxin.

### ثانياً: التوكسينات الداخلية Endotoxins

وهي تمثل معظم التوكسينات البكتيرية خاصة البكتريا السالبة لصبغة جرام إذ تكون جزءاً من الجدار الخلوي للبكتريا، حيث ترتبط به إما ارتباطاً ضعيفاً، ونحصل عليها بالاستخلاص بالأحماض والقواعد الضعيفة، وإما ارتباطاً قوياً ولإستخلاصها تكسر الخلايا بوسائل ميكانيكية كالمذبذبات فوق الصوتية ultrasonic vibration أو التجريد والتسييح، أو تستخلص بالهضم بالإنزيمات أو الكيماويات.

وتركيبتها إما مواد بروتينية أو معقد من البروتين والفسفوليبيدات والسكريات العديدة وتسمى معقد lipo-polysaccharide protein complex، والمعقد يوجد غالباً في البكتريا السالبة لجرام وكذا بكتريا الحميات المعويه enteric fevers إذ تتكاثر بدرجة كبيرة في أنسجة العائل وتتوغل فيه وتتطلق منها هذه السموم بعد موتها وتحللها.

وهي أقل سمية إذ لا يظهر أثرها السام إلا مع الجرعات الكبيرة. وتفقد سميتها جزئياً تحت تأثير الفورمالين والحرارة، إلا أنها ثابتة حرارياً، فبعضها يقاوم الغليان والتعقيم ١٢٠ م / ٣٠ د. وغالباً لا تكون توكسيد toxid كما أنها ضعيفة التخصص. ومن أعراضها عادة التأثير الراجع للحرارة pyrogenic effect فحقن ٢ x ١٠<sup>-٣</sup> ميكروجرام لكل كجم من وزن الجسم يؤدي لرفع حرارة الجسم خلال ١٥ د، وتعزى قدرة هذه السموم على إحداث حالات الحمى pyrogenicity والتسمم toxicity إلى الجزء lipo-polysaccharide، بينما تعود الخواص الأنتيجينية إلى الجزء البروتيني.

ويمكن اعتبارها أنتيجينات جزئية أو ناقصة partial antigen وتعرف هذه الأنتيجينات باسم Haptens ولاينتج عنها أجسام مضادة antibodies إلا بارتباطها ببعض المواد الأخرى الموجودة بجسم العائل لتعطى أنتيجين جديد يحث الجسم على إنتاج الأجسام المضادة.

## بعض الملاحظات:

**ملحوظة (١):** تختلف السموم البكتيرية عن السموم الفطرية mycotoxins فالسموم الفطرية عبارة عن نواتج تمثيل ثانويه للفطريات عند نموها على المواد الغذائية ولذا توجد في جراثيم الفطريات أو في البيئة التي تنمو عليها. وتعتبر السموم الفطرية من أقوى السموم الميكروبية المعروفة وهي تختلف عن السموم البكتيرية في أنها ذات وزن جزيئ صغير أقل من ٥٠٠ دالتون، وهي سموم غير أنتيجينية أي لا تحفز الجسم على تكوين أجسام مضادة، كما أنها أكثر تعقيداً من الوجهه الكيميائيه، وأكثر مقاومة للحرارة بدرجة يصعب معها إتلافها بالحرارة التقليديه المستخدمه في التصنيع والطهي.

**ملحوظة (٢):** الأنتيجينات أو المستضدات antigen أو مولدات المناعة immunogen عبارة عن مواد عضوية كبيرة الوزن الجزيئ، معقدة التركيب إما بروتينات أو معقد من الليبيدات والسكريات العديدة والبروتين lipo-polysaccharide protein complex هذه المواد عند دخولها الجسم عن طريق الفم أو الحقن تحفز الجهاز المناعي إلى إنتاج أجسام مضادة antibodies ويمكن تقسيم الأنتيجينات إلى:

#### أ- أنتيجينات كاملة Complete antigen

وهي المواد التي ينشأ (عنها عند دخولها الجسم مباشرة إلى) إنتاج أجسام مضادة لها القدرة على التفاعل معها سواء داخل الجسم أو خارجه فعند خلط محلول من الأنتيجين بنسبة صحيحة ملائمه مع المصل المضاد فإنه يتكون راسب. والأنتيجينات الكاملة تشمل:

١- بروتينات: مثل الريبونوكليز ribonuclease والليوسوزيم lysozyme ألبومين البيض albumin وألبومين المصل serum albumin.

٢- بكتريا أو مشتقاتها مثل الأنتجين الرئيسي (الجسمي) somatic antigen والأنتجين السوطي flagellar (H) antigen وهو الناتج من السلاسه المتحركه، الأنتجين الكبسولي K(VI) antigen وهو الموجود في الكبسولة المحيطة بالخلية البكتيرية..

٣- الفيروسات ومشتقاتها.

ب - أنتيجينات جزئية Partial antigen (ناقصه):

وتعرف باسم haptens وهذه عبارة عن ليبيدات وكربوهيدرات معقدة عند دخولها الجسم لاينتج عنها أجسام مضادة إلا بارتباطها بمواد أخرى بالجسم.

**ملحوظة (٣):** الأجسام المضادة Antibodies هي مواد بروتينية موجودة فى مصل

الدم، وتعرف بجلوبيولينات المناعة، تنتجها الخلايا المناعية immunity cells (أى الخلايا المولدة للأجسام المضادة) إستجابة لدخول الأنتيجينات إلى الجسم ويتولد منها فى المصل خمسة أنواع هى IgM, IgA, IgG, IgE, IgD وتتوقف كفاءة الأنتيجين (المستضد) على تحفيز الجهاز المناعى على عدة عوامل منها:

١- حجم الأنتيجين: تزيد كفاءة الأنتجين على تحفيز الجهاز المناعى بزيادة حجم الأنتجين فمثلاً الألبومين (وزنه الجزيئى يفوق ٦٠,٠٠٠ دالتون) يعتبر أنتجين قوى بينما الأنجيدتين (وزنه الجزيئى ١٠٣١ دالتون) يعتبر أنتيجين ضعيف.

٢- التركيب الكيماوى للأنتيجين: كلما زاد تعقيد الأنتيجين زاد تحفيز الجهاز المناعى.

٣- درجة الغرابة: كلما زادت درجة غرابة الجسم الغريب (الأنتيجين) زاد تحفيز الجهاز المناعى.

٢- قدرة البكتريا على إنتاج كبسولات capsular material

لبعض البكتريا المرضيه مثل *Bacillus anthracis* (الجمرة الخبيثة والحمى الفحميه)، *Cl. perfringens* (التسمم البرفرنجى perfringens food poisoning)، *Brucella spp* (الحمى المتقطعة tularacmia) القدرة على إنتاج كبسولات حول نفسها داخل جسم العائل (إنسان أو حيوان)، وهذه الكبسولات تحمى البكتريا من البلعme (الإبتلاع) phagocytosis، وكذا من الأجسام المضادة antibodies، فمثلاً وجد أن بكتريا الجمرة الخبيثة ذات الكبسولة (مكبسلة) أشد ضراوة more virulent عن غير المكبسلة، وقد يرجع ذلك لوجود شحنات على هذه الكبسولات مشابهة لتلك الموجودة على الأغشية البلازميه للخلايا البلعمية، مما يؤدى إلى التتافر والأبتعاد عن بعضها، كما أن بعض البكتريا ذات الكبسولة قد تبتلعها الخلايا البلعمية، غير أنها لا تهضمها بل تتكاثر بداخلها وتحطمها وتخرج البكتريا سليمة

لتبتلعها خلية بلعمية أخرى وهكذا وتعرف هذه الظاهرة بالبلعمه غير الكاملة  
Incomplete phagocytes.

### ٣- قدرة البكتريا على غزو الجسم Invasive properties of pathogenic bacteria

تنتج بعض البكتريا المرضيه مواد تزيد من الفعل الموضعي الأولى على الأنسجة، مما يؤدي إلى نخر تلك الأنسجة ومساعدة البكتريا على غزو جسم العائل ومن هذه المواد:

#### أ - محلات كرات الدم الحمراء Haemolytic

ومنها haemolysins  $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ : غير معروف بالضبط دورها على الخلايا الحمراء، فالبعض يعتبرها إنزيمات والبعض الآخر ينكر عليها الخاصة الأنزيميه. ويقدر نشاطها haemolytic activity بقياس درجة التحلل الحادث لبيئة تحتوى كرات الدم الحمراء، والبكتريا المنتجه لـ  $\alpha$  - haemolysin تكون مستعمرات خضراء أو خضراء داكنه على أجار الدم، بينما تتكون مناطق شفاهه حول مستعمرات البكتريا المنتجه لـ  $\beta$  - haemolysin عند نموها على أجار الدم.

#### ب - محلات أنسجة الجسم وتسمى بالعوامل الناشرة Spreading factors

وهي أنزيمات أو مواد لها خواص الأنزيمات تحدث موت موضعي necrosis (نخر) للنسيج العضلي ومنها:

١- hyaluronidase الذى يحلل حمض هياليرونيك hyaluronic acid، والذى يطلق عليه الحاجز الواقى للأنسجة الضامه إذ يمنع نفاذ أى مادة غريبه ومنها البكتريا إلى هذه الأنسجه.

٢- Lecithinase. mucinase. collagenase حيث يقوم الأول والثانى بإتلاف الأنسجه الرابطة (الضامه) connective tissues للعضلات (مثل الكولاجين) ويقوم إنزيم Lecithinase C بإذابة الليشيين الموجود فى غشاء ألياف العضلات Membrane of muscle fibers.

ملحوظه: يوجد ٣ أنواع من Lecithinase هي A فى سم الحيه والعقرب والنحل و B يوجد فى بعض النباتات، C فى كثير من الميكروبات المرضيه مثل Clo. Perfringes وغيرها من البكتريا المسببه للغرغرينا Gas gangrene.

#### ٤ - قدرة البكتريا المرضيه على إنتاج العاديات Bacterial aggressin

العاديات aggressins مواد تنتجها البكتريا المرضيه تعوق بها النظام الدفاعى للعائل مما يساعدها على غزو أنسجة العائل ومن أمثلتها.

أ - coagulase: تفرزه البكتريا العنقوديه *Step.aureus*. إذ يقوم الأنزيم بتحويل الفيبروجين إلى فيبرين يعمل شبكة تحمى الميكروب من الخلايا البلعمية. وفى نفس الوقت فإن تجلط الفيبروجين يشارك فى تجلط البلازما مما يؤدى إلى تلف الأنسجه.

ب - Leucocidins: تقوم بدور يشبه دور الأنزيمات وتقتل الخلايا البلعمية من النوع (monocytes ،macrophages) وتفرزها البكتريا العنقودية وبعض السلالات المرضيه من البكتريا السبقيه *Streptococci*.

ج - Toxins -  $\alpha$ ،  $\beta$ : وهى تشبه فى دورها Leucocidins إذ تقتل الخلايا الدمويه البيضاء العملاقه macrophage leucocidal وتنتجها أيضاً البكتريا العنقوديه وبكتريا *Clo. Perfringens*.

#### ثانياً النظم الدفاعية للعائل (المناعة Immunity)

مقدمه:

المناعة لفظ مشتق من الكلمه اللاتينيه immunis أى خال من العلل، وقد تكون هذه الكلمه اللاتينيه مشتقه من اللغة العربيه من كلمه أمن أى عدم وجود ما يهدد، فاللغه العربيه أقدم من اللاتينيه كما أن كلمه imn فى اللاتينيه يقابلها فى العربيه الألف والميم والنون.

ومن الناحية الطبيه تعنى المناعة مقاومة الجسم للكائنات المرضيه التى يتعرض لها، وكذا مقاومة الجسم لسموم هذه الكائنات.

وسوف نتناول هنا موضوع المناعة من محورين هما: الجهاز المناعى (جهاز المناعة) Immune system وأنواع المناعة.

## أ- الجهاز المناعي Immune system

### تعريف الجهاز المناعي:

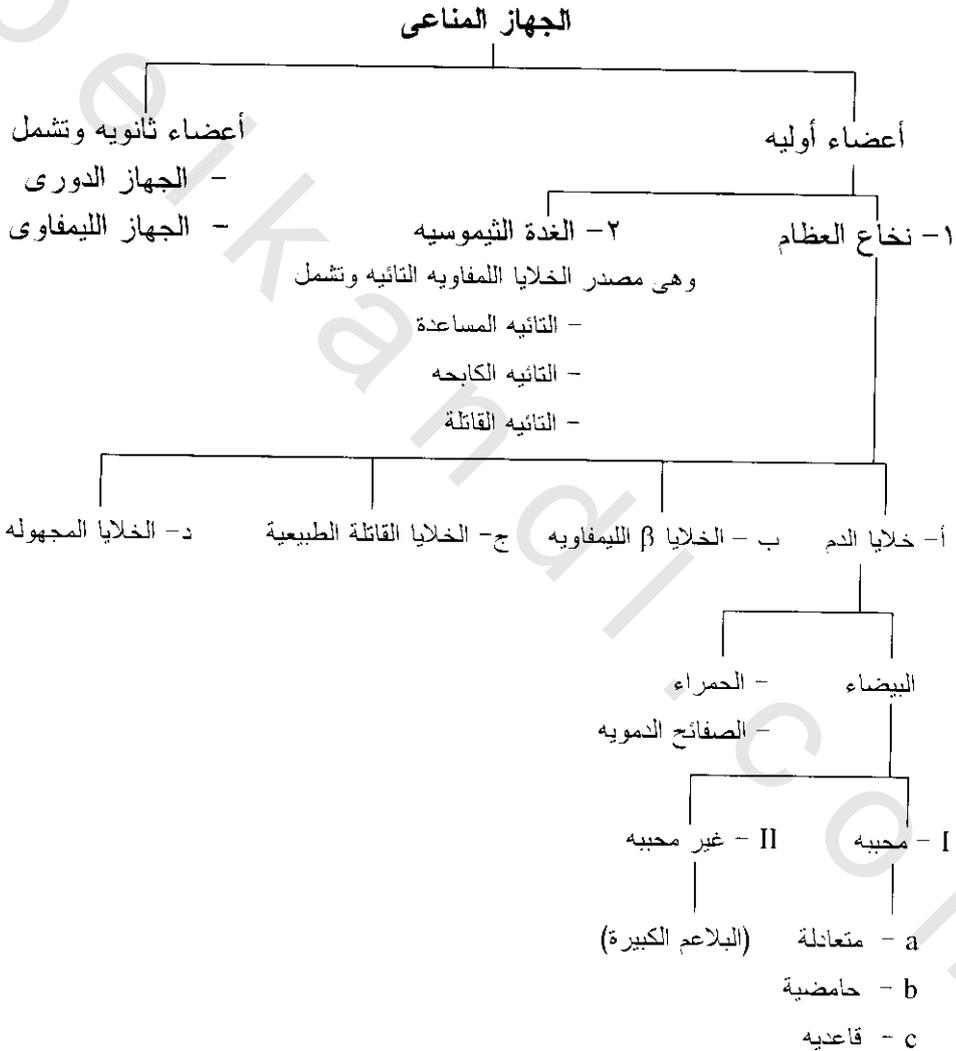
هو الجهاز المسئول عن حماية الجسم من الأمراض، إذ يقوم بالدفاع عن الجسم ويمنع ملايين الكائنات الحية والأجسام الغريبة من إختراق الكائن الحي.

### خصائص الجهاز المناعي:

- 1- التخصص: بمعنى ان الشخص الذى لديه مناعة ضد مرض معين ليس من الضروري أن يكون محصناً ضد مرض آخر.
  - 2- التمييز بين الذات والغير Discrimination between self and non self أى يميز بين الكائنات الغازية وبين مكونات الجسم الطبيعية.
  - 3- الذاكرة Memory: بمعنى ان لجهاز المناعة القدرة على الإحتفاظ بأرشيف كامل لكل الأجسام الغريبة (ميكروبات وغيرها) التى تعامل معها على مدار السنين السابقة، بحيث عند تعرض الجسم لنفس الميكروب مرة أخرى فإن جهاز المناعة سيكون عنده السلاح المناسب للقضاء على هذا الميكروب فى الحال، وهذا ما يفسر أن بعض الأمراض الميكروبيه المعدية لا يصاب بها الإنسان إلا مرة واحدة من عمره مثل مرض الحصبة والكوليرا والغدة النكفية وغيرها.
- فعند دخول أى أنتيجين (جسم غريب) للجسم لأول مرة فإن الجهاز المناعى للإنسان يكون أجساماً مناعية تصل أقصاها خلال مدة معينه فإذا أصيب الإنسان بنفس الأنتيجين مرة ثانية فإن الجهاز المناعى يكون أجساماً مناعية تصل عشرة أضعاف ما حدث فى المرة الأولى وفى مدة أقل وقد تكون الذاكرة مستمرة طول الحياة.
- سبب الإهتمام بدراسة الجهاز المناعى: من أسباب الإهتمام بالجهاز المناعى
- 1- إنتشار مرض نقص المناعة المكتسبه (الإيدز).
  - 2- زيادة أمراض الحساسيه.
  - 3- إمكانية تطويع الجهاز لعلاج بعض الأمراض، وتحسين نتائج زراعة الأعضاء.

## تركيب الجهاز المناعى:

يتكون الجهاز المناعى من أعضاء وخلايا تعمل مع بعضها فى تناسق تام أشبه ما يكون بفريق الموسيقى، فرغم أن كل فرد (خلية) فى الفريق (الجهاز) له عمل محدد، إلا أن الجميع متعاونون، فإذا لم يتقن أحد الأفراد (الخلايا) عمله كانت النتيجة حدوث نشاذ فى العمل وقد يتلف الجهاز. ويوضح التخطيط التالى أعضاء وخلايا جهاز المناعة.



**I- الأعضاء الأولية Primary organs:** وهى تتكون فى المراحل الأولى من نمو الجنين حيث تتحول بعض الخلايا الطلائية إلى خلايا شبه أميبية لاتدخل فى بناء الأعضاء ومنها يتولد نخاع والغدة التيموسية.

### ١- نخاع العظام Bone Marrow

وفيه يتم تصنيع خلايا الدم وخلايا  $\beta$  الليمفاوية  $\beta$  - lymphocytes والخلايا القاتلة الطبيعية والخلايا المجهولة.

أ- خلايا الدم: وتشمل الصفائح الدموية وكرات الدم الحمراء والبيضاء.

ويقع على خلايا الدم البيضاء عبء الدفاع المباشر عن الجسم ضد الميكروبات، عن طريق إلتهامها فهى خلايا ملتهمه phagocytes وتنقسم إلى:

I- خلايا محببه Granulocytes ويطلق عليها أيضاً الخلايا البيضاء مشكلة النواه polymorphonuclear leucocytes وهى من اكثر الخلايا البيضاء إنتشاراً. تتكون من سيتوبلازم محبب ونواة متعددة الفصوص وتشمل:

a. خلايا متعادلة الصبغ Neutrophil: تحتوى نوعين مميزين من الحبيبات، الحبيبات الإبتدائية أو الليسوسومات وهذه تحتوى إنزيمات ميلوبيروكسيديز والهيدروليز الحمضى، والحبيبات الثانويه وتحتوى إنزيمات الفوسفاتيز القلوى والليسوزيم والأمينوبينديز ووظيفتها عملية الإلتهام (البلعمه).

b. خلايا حامضية الصبغ Eosinophil: تحتوى نواة أقل تفصصاً من الخلايا المتعادلة ومن وظائفها الألتهام (بكفاءة أقل من الخلايا المتعادلة)، إبطال مفعول عوامل الإلتهاب المنبعثة من الخلايا القاعديه.

c. خلايا قاعدية الصبغ Basophil: أقل عدداً من النوعين السابقين، نواتها على شكل حرف S، لها قدرة إلتهاميه بسيطة تحتوى سيتوبلازم ذو حبيبات كبيرة تفرز مواد كيمياويه عند تعرضها لإجسام غريبه، وهذه المواد المنبعثه تسبب أعراض الحساسيه (إحمرار - هرش - إنخفاض ضغط الدم).

II - خلايا غير محببه Agranulocytes: وتسمى أيضاً الخلايا أحادية النواه Mononuclears، والنواه دائريه تقريباً ومنها البلاعم الكبيره Macrophage وهى

تحتوى على عدد كبير من الليسوسومات وجزء من الشبكة الأندوبلازميه المحببه (تصنع البروتين)، كما تحتوى نواه واحده كبيرة كلوية الشكل أو منضغطة. وهذه البلاعم إما أن تكون غير بالغة وتوجد فى مجرى الدم وتسمى بالوحيدات، وإما أن تكون بلاعم بالغة وتوجد فى الأنسجة الضامه وتسمى خلايا نسيجيه، كما توجد مبطنه لجيوب الكبد وتسمى خلايا كويفر، وتوجد فى المخ وتسمى Microglia وتوجد فى الرئه وتسمى Alveolar macrophages.

### ومن وظائف البلاعم الكبيرة:

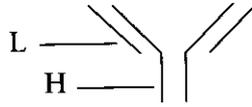
- إلتهام معقدات الأنتيجين والأجسام المضادة Antigen antibody complex.
- تنظيف بقايا أو حطام الخلايا العادية (الغازيه)، أى تنظيف بقايا المعركة، وذلك عن طريق إلتهام وتحليل هذه الخلايا إلى مكوناتها الأصلية مستخدمه فى ذلك إنزيمات التحلل.
- إفراز مركب كيمائى هو إنترلوكين Interleukin الذى ينشط تكاثر وتشكيل خلايا  $\beta$  (cells -  $\beta$ ).

### ب - خلايا $\beta$ الليمفاويه $\beta$ - lymphocytes

تفرز هذه الخلايا فى الدم بعد تصنيعها فى نخاع العظام، وتكون فى صورة غير ناضجة (أى ليست لها القدرة على الإستجابه للأنتيجينات)، وتدور هذه الخلايا  $\beta$  - cells فى الدم واللف وتكمل نموها (نضجها) بعد 1 - 3 أيام وتصبح قادرة على الإستجابة للأنتيجينات، حيث يتكون عليها أثناء عملية النضج نوعاً خاصاً من المستقبلات التى ترتبط بنوع واحد من الأنتيجينات (تخصص)، وتدور خلايا  $\beta$  - cells فى الدم وتستقر فى الأنسجة الضامه والأعضاء الليمفاويه، ومن خصائص هذه الخلايا:

- الحركة النشطة والشكل الدائرى وإحتوائها نواه كبيرة تشغل معظم الخلية.
- مسئوليتها عن المناعة فى الدم Humoral immunity عن طريق إرتباط الأنتيجين على  $\beta$  - cells السابق برمجتها فى نخاع العظام، وبعد هذا الإرتباط تبدأ خلايا  $\beta$  - cells فى الإنقسام لتكون خلايا يتميز بعضها إلى خلايا بلازميه بها شبكة إندوبلازميه.
- عند إصطدامها بالأنتيجين تنشط لتفرز جلوبولينات المناعة (أجسام مضادة).

- وتنتشر هذه الجلوبيولينات في كل أجزاء الجسم، ولها وظائف متعددة، فلكل مجموعة منها موقع متخصص فعال Effector domains وهناك خمس مجاميع رئيسية من هذه الجلوبيولينات، وذلك تبعاً لتتابع الأحماض الأمينية في السلسلة الثقيلة Heavy chain فجزئ الجلوبيولين يظهر تحت المجهر الإلكتروني في شكل Y له ذراعان وعند تحلله يعطى ٤ سلاسل عديدة الببتيدات سلسلتان لهما حجم كبير



ويطلق عليها السلاسل الثقيلة Heavy chain ويبلغ الوزن الجزيئي ٥٠,٠٠٠ دالتون لكل سلسله، أما السلسلتان الأخرتان فهما من النوع الخفيف light chain ويبلغ الوزن الجزيئي لكل سلسله ٢٥,٠٠٠ دالتون. والمجاميع الخمس الرئيسية لجلوبيولينات المناعة هي IgD, IgM, IgG, IgA, IgE كما يلاحظ وجود عدد من تحت المجاميع. والفروق الأساسية بين المجاميع الخمسة فهي فروق في السلسلة الثقيلة المكونة لها ويبين الجدول التالي جدول (٧) أنواع وأهم وظائف هذه الجلوبيولينات.

جدول (٧) أنواع وأهم وظائف جلوبيولينات المناعة

| مجموعة الجلوبيولين | موقعه ووظائفه                                                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| IgD                | يوجد على سطح العديد من خلايا $\beta$ - cells يعمل كمستقبل للمستضدات - يتحكم في نشاط خلايا $\beta$ - cells - متوسط بقائه في مصل الدم ٢ - ٣ يوم.                                                                                                |
| IgM                | يوجد على سطح العديد من خلايا $\beta$ - cells وفي بلازما الدم، يعمل كمستقبل للأنتجينات على سطح $\beta$ - cells - يعتبر مادة لاصقة قوية - يحتل المركز الثاني من حيث التركيز في مصل الدم.                                                        |
| IgG                | هو الجلوبيولين المناعي السائد في بلازما الدم - يمثل حوالي ٧٥% من تركيز الجلوبيولينات - يمكن أن يمر من خلال المشيمة نظراً لصغر حجمه - مسئول عن حماية الرضع من الأمراض لمدة ٦ شهور بعد الولادة - يوجد من ٤ فئات هي $IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4$ |

| مجموعه الجلوبولين | موقعه ووظائفه                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| IgA               | يسمى بالجلوبيولين المناعي الإفرازي secretory immunoglobulin يفرز من خلايا البلازما plasma cells الموجودة في كل من الجهاز الهضمي والتنفسي والبولي والتناسلي فيحمي الأنسجة الطلائية المبطنه لهذه الأجهزة من التصاق البكتريا بأسطحها - يمثل أهميه كبيرة في حماية القنوات المعويه والتنفسيه والبوليه والتناسليه.            |
| IgE               | يوجد بتركيزات منخفضة جدا في مصل الدم - ويفرز من خلايا البلازما plasma cells في الجلد واللوزتين والجهاز الهضمي والتنفسي - مسؤل عن تفاعلات الحساسيه إذ يلتصق بالخلايا القاعديه basophils مما يؤدي إلى إنطلاق المواد المنشطة للأوعيه الدمويه مثل الهستامين histamine الذي يسبب حدوث أعراض الحساسيه (طفح جلدي - هرش - ربو). |

وبجانب خلايا الدم والخلايا البانيه يتولد في نخاع العظام خلايا مناعية أخرى منها:

الخلايا القاتله الطبيعيه Natural killer (NK) cells والخلايا اللمفاويه Killer أو K-cells وقد تسمى أحيانا بالخلايا المجهوله Nullcells.

## ٢- الغدة التيموسيه Thymus gland

تتكون هذه الغدة في الجنين وتكون كاملة التكوين عند الولادة وتصل إلى أقصى حجم لها عند سن البلوغ ثم تضمر بعد ذلك، وتقع هذه الغدة خلف عظمة القص في أعلى منطقة الصدر قرب قاعدة العنق، وفيها يتم تصنيع الخلايا الليمفاويه التائيه Lymphocyte T وسميت بهذا الأسم لأنها تتضج في هذه الغدة بتأثير ما تفرزه هذه الغدة من هرمون Hymosin وتعتبر الخلايا الليمفاويه التائيه هي المسئولة عن مناعة الأنسجة فبعد نضج الخلايا الليمفاويه التائيه في الغدة التيموسيه فإنها تترك الغدة وتدور في الدم وكثيراً ما تستقر في أعضاء أخرى خصوصاً الكبد والطحال spleen والعقد الليمفاويه lymph nodes مثل العقد الموجوده أسفل الإبط: وهي ترشح السائل الأتي من الذراعين، الموجوده أعلى الفخذ وهي ترشح السائل الأتي من الأرجل، الموجوده تحت السطح المبطن للأمعاء وتسمى Peyer's patches وهي ترشح (تطرد) الأنتجينات التي

دخلت مع الغذاء أو التي جاءت من البكتريا النامية في الأمعاء - إلى الخارج لمنعها من دخول الجسم، ولا تفرز الخلايا التائية أجساماً مضادة antibodies ولكنها تساعد الخلايا البائية في تكوينها وينتمى إلى الخلايا التائية عدة أنواع من الخلايا منها:

#### أ- الخلايا التائية المساعدة Helper T (Th) cells

I - تقوم بإفراز عوامل تنبه خلايا أخرى مثل الخلايا القاتلة والخلايا الملتهمه الكبيره ومن هذه العوامل cytokenes السيتوكينات وهى مواد بروتينية تشبه الهرمونات ووظيفتها تنظيم عمل الجهاز المناعى ومن أشهر هذه المواد.

١- الأنترفيرون: ومنها،  $\alpha$ ،  $\beta$ ،  $\gamma$  ويستخدم  $\alpha$  فى علاج بعض أنواع سرطانات الدم وبعض أورام الفيروسات مثل التهاب الكبد المزمن النشط المصاحب للفيروس B أو C ولكن له بعض الأعراض الجانبية التى تحد من قيمته العلاجية مثل زيادة إنزيمات الكبد - هبوط الضغط وعدم إنتظام ضربات القلب - نقص كرات الدم البيضاء - الشعور بالإجهاد.

٢- الإنترولينات: وهومجموعة من أهمها رقم ٢ ويستعمل فى علاج السرطان إذ يعمل على تدمير الخلايا السرطانية دون الإضرار بالخلايا المحيطة بها.

II - تلعب دوراً هاماً فى معظم التفاعلات المناعية، وتعتبر هذه الخلايا هى هدف لفيروس الأيدز ( HIV ) Human Immune Deficiency Virus لذا فإن فقد هذه الخلايا Th cells نتيجة الإصابة بفيروس HIV فإن ذلك يسبب فشل الجهاز المناعى وعدم أداء وظائفه وظهور أعراض مرض الأيدز Acquired immunodeficiency syndrome.

III - وتشمل الخلايا المساعدة: خلايا مساعدة ١ th-1 تفرز انترليوكين، IL2، الانتروفينون، عامل تحلل الأورام، كما تشمل خلايا مساعدة ٢ th-2 وتفرز مجموعات أخرى من الإنترليوكينات 4, 5, 6, 10, 13.

ب - الخلايا التائية المثبته suppressor T (Ts) cells وهى تتخلص من الجزيئات الغريبة عن الجسم.

ج - الخلايا التائية القاتلة killer T cells or cytotoxic T (Tex) cells وهى وحيدة النواه وتعتبر خط الدفاع الأول لمراقبة الأورام والعدوى وتساعد  $\beta$  - cells على التفاعل مع الأنتجن. كما تقوم بعملية القتل بإفراز جزيئات سامه للخلية الهدف، ولها القدرة على تحلل وإذابة جزء كبير من مختلف أنواع الخلايا خاصة السرطانية.

## II - الأعضاء الثانويه أو النسيج الليمفاوى الطرفى: Secondary organs,

periopheral lymphoid tissue وتتكون من:

### ١ - الجهاز اللمفاوى:

واللمف عبارة عن سائل ينتقل من الدم إلى المسافات الموجودة بين وحول الأنسجة وذلك فى أوعيه ليمفاويه رقيقه الجدر ومنها إلى أوعيه أكبر حيث يدخل مرة أخرى إلى الدم والجهاز اللمفاوى هو الجهاز الذى يدور فيه اللمف وأثناء دورانه يتم ترشيحه بواسطة العقد الليمفاويه والطحال اللذين يعتبران مرشحين للدم.

### ٢ - الجهاز الدورى

#### العوامل المؤثره على كفاءة الجهاز المناعى

تتأثر كفاءة الجهاز المناعى بعوامل عديده من أهمها التغذية والضغوط النفسيه والحياه الاجتماعيه وممارسه الرياضه والعادات الصحيه والسلوكيه

#### أولاً: التغذية وعلاقتها بكفاءة الجهاز المناعى

تتناول فى ذلك مكونات الغذاء الرئيسيه ودورها فى زياده كفاءة الجهاز المناعى:

### ١ - الكربوهيدرات

تعتبر الكربوهيدرات من أهم مصادر الطاقة اللازمه لعمل أجهزة الجسم ولكن مع الإعتدال فى تناولها حتى لا يخزن الزائد منها فى الجسم مما يودى الى السمنه والتي ثبت تأثيرها المثبط لجهاز المناعة.

### ٢ - البروتينات

تلعب البروتينات دوراً هاماً فى زياده كفاءة الجهاز المناعى فهى:

أ- تدخل فى تكوين الاجسام المضاده (جلوبيولينات المناعه) والتي تفرزها الخلايا البائيه.

ب-تدخل فى تكوين انوية الخلايا المناعيه وبروتوبلازمها كما انها مسئوله عن تجديد هذه الخلايا.

ج-تدخل فى تكوين المركب البروتينى المكمل والذى له دور مهم فى التخلص من المستضدات ومساعدة الخلايا البلعميه فى إلتهاام الاجسام الغريبه.

لذا فإن نقص البروتينات يؤدى لنقص المناعه الطبيعى عند الفرد والتي تمثل خط الدفاع الاول ضد المواد الضاره والميكروبات.

### ٣- الدهون

يحتاج الإنسان الى الدهون لما تؤديه من وظائف هامه فهى تدخل فى تركيب جدار الخليه وتكوين بعض الهرمونات مثل البروستاجلاندين والذى له اهميه فى تنظيم الإستجابه المناعية والسيطره على ضغط الدم وحالات الإلتهااب، كما يحتاج الإنسان الى الدهون كمصدر للطاقه كما أنها ضروريه فى الغذاء لإذابة وإمتصاص الفيتامينات الذائبه فى الدهن A , D , E , k.

ورغم الفوائد السابقه للدهون والتي لا يحتاج لإدائها سوى قدر بسيط من الدهون فإن الزيادة فى تناولها يعمل على تقليل كفاءه جهاز المناعه لما يلى:

أ- تؤدى لإرتفاع مستوى الكوليسترول فى الدم مما يؤدى الى ضعف المناعه ويجب ان نشير هنا إلى أن دهون الاسماك والكائنات البحريه لاتؤدى الى زيادة نسبة الكوليسترول لاحتوائها على نسبه ضئيله من الاحماض الدهنيه المشبعه بجانب احتوائها على نسبه عاليه من الاحماض الدهنيه الغير مشبعه من النوع اوميگا ٣ وهذه النوعيه من الاحماض الدهنيه تقلل من مستوى الدهون الضاره وتحافظ على سيولة الدم وتمنع تجلطه .

ب- تؤدى زياده الدهون خاصه الغنيه بالاحماض الدهنيه المشبعه الى التقليل من الكفاءه المناعيه فهى تعمل على:

- النفاذ الى داخل الخلايا البلعميه فتفقددها قدرأ من حساسيتها للأجسام الغريبه التى تهاجم الجسم.

- إضعاف قدره السيتوكينات على نقل الاشارات بين الخلايا نتيجة إختلال تركيب جدار الخلايا.
- إضعاف عملية انقسام الخلايا الليمفاويه التائيه المساعده وبالتالي ضعف انتاج الاجسام المضاده فى حاله هجوم الاجسام الغريبه الضاره.
- ج- تعتبر الدهون مصدرأ من مصادر الشقوق الحرة المسببه لعمليات الأكسدة وإحداث تفاعلات كيميائيه داخل الخلايا الحيه فهى تعمل على حدوث طفرات تؤدى إلى الإصابه بالسرطان وإلى ضعف الجهاز المناعى.
- ويجب التنويه هنا إلى أن هذه التفاعلات الضارة يمكن تجنبها بواسطة تناول نوعيات معينه من الفيتامينات والعناصر المعدنيه مثل فيتامين  $B_2, E, C, A$  بيتاكاروتين ومن المعادن السيلينيوم فهذه المواد تتحد مع الشقوق الحرة الضارة وتحولها إلى مركبات غير ضارة وبالتالي توقف عملية الأكسدة لذا تسمى هذه المركبات مضادات الأكسدة ولهذه المضادات دوراً حيوياً فى زيادة كفاءة جهاز المناعة وتعتبر من أقوى مكسبات المناعة فلها القدرة على مقاومة المرض والعدوى والسرطان.

#### ٤- الفيتامينات ومن أهمها فى هذا الشأن:

##### أ- فيتامين A ( أ )

أحد مضادات الأكسدة التى تقى الجسم من الأمراض، كما أنه يعمل كمنشط عام للجهاز المناعى، ويعمل على زيادة الخلايا القاتلة الطبيعيه والتى تعمل على مقاومة تكوين الأورام، كما يعمل الفيتامين على منع تكوين الكوليسترول فى جدر الشرايين التاجيه ونقص هذا الفيتامين يؤدى إلى ضمور الغدة التيموسيه وبالتالي نقص وظائف الخلايا المناعيه. ويؤثر على مستوى الجسم المناعى IgA.

##### ب- فيتامين $B_2$ ( ب ٢ ) الريبوفلافين

له فعل مضاد للأكسدة ونقصه يؤدى إلى إنخفاض عدد الخلايا التائيه والبائيه وقدرة الخلايا المناعية على الإنقسام خاصة الخلايا القاتلة الطبيعيه والهامه فى مواجهة العدوى والسرطان، كما يؤدى نقصه إلى إضطراب فى العقل وضعف

القلب. وبجانب ما سبق للفيتامين دور أساسى فى تمثيل النشويات وإطلاق الطاقة، ويدخل فى تركيب إنزيم بيروفيك ديهيدروجينيز pyruvic dehydrogenase الذى يقوم بنزع  $CO_2$  من حمض البيروفيك لتكوين أستيل كواينزيم A والذى له دور فى دورة كريبس kreb's cycle.

### ج- فيتامين C (ج) يمكن تلخيص أهميته فيما يلى

- يقلل من الأكسدة التى تحدث داخل الخلايا لذا فهو من أهم مضادات أكسدة الخلايا التى يمكن الحصول عليها من خلال الطعام.
- يزيد من مقاومة الجهاز المناعى للفيروسات مثل فيروس الأنفلونزا والبكتريا والخلايا السرطانية إذ أنه يزيد من نشاط الخلايا البلعمية والخلايا الليمفاوية وتكوين الأجسام المضادة.
- يزيد من قدرة الجسم المناعية فيقلل من الإحساس بالتعب المصاحب لنزلات البرد.
- ضرورى لتكوين الأنسجة خاصة النسيج الضام فله دور واضح فى تصنيع الكولاجين. كما يؤثر على نشاط عدد من الأنزيمات منها الكتاليز Catalase الأستريز esterase الأرجينيز arginase.

### د- فيتامين E (هـ)

وجوده فى الغذاء يساعد على المحافظة على كفاءة جهاز المناعة عند كبار السن خاصة الخلايا الليمفاوية التائية المساعدة والتى لها أهميه فى مقاومة الإصابة بالأمراض وقتل الفيروسات والميكروبات.

### هـ- فيتامين D (د)

يحفز الخلايا الليمفاوية والخلايا البلعمية المسنولة عن المناعة المكتسبة، كما أنه عامل أساسى للمناعة التى تقى الطفل من التعرض لمرض شلل الأطفال.

### ٥- العناصر المعدنية:

من أمثلة المعادن التى تعمل على زيادة كفاءة الجهاز المناعى.

أ- الزنك: يحافظ على الغدة التيموسية من الضمور والإنكماش لذا نقصه يؤثر فى إنتاج الخلايا المناعية التائية والخلايا القاتلة الطبيعية وبالتالي يؤثر فى دور هذه الخلايا فى مقاومة الخلايا السرطانية.

ب- الحديد: نقصه يؤدى إلى نقص قدرة الخلايا البلعمية فى قتل الميكروبات، قلة فاعلية الخلايا القاتلة الطبيعية والخلايا المساعدة.

ج - السيلينيوم: ينشط أنزيم الجلوتاثيون بيروكسيداز الذى يعتبر من أهم الإنزيمات المضادة للأكسدة ، كما أن الفيتامين ينشط إنتاج البروتين الدفاعى أنترفيرون والخلايا البائية لذا فهو ضرورى لصحة وسلامة الجهاز المناعى .

## ٦- الأعشاب وزيادة كفاءة الجهاز المناعى

بجانب ما لمكونات الغذاء الأساسيه من تأثير على جهاز المناعة فإن هناك بعض الأعشاب تلعب دوراً كبيراً فى ذلك ومن أمثلة هذه الأعشاب:

### ١- الثوم:

يزيد من نشاط الخلايا البلعمية والخلايا القاتلة الطبيعية والتي تعمل على قتل ومقاومة الخلايا السرطانية كما أنه يحمى القلب من ارتفاع الكوليسترول فيجنبه الإصابة بتصلب الشرايين والذبحة الصدرية كما أن الثوم يحتوى مادة اليسين Alicin وبها مضاد حيوى ضد العدوى البكتيرية والفطرية.

### ٢- الزنجبيل:

يزيد من نشاط الخلايا القاعدية والتي لها أهمية فى تدفق الدم للأجزاء المصابة كما أنها تفرز الهيبارين عندما يصاب الفرد بالتهاب والغرض من ذلك هو منع تجلط الدم لتسهيل حركة الخلايا، كما يقلل الزنجبيل من إنتاج البروستاجلاندين المسبب لحدوث الإلتهاب ويزيد من كفاءة وفاعلية الأنترفيرون مما يزيد من فاعلية مقاومة فيروس الإنفلونزا.

### ٣- القرنفل:

يعمل على مقاومة الأورام السرطانية من خلال زيادة نشاط الخلايا القاتلة الطبيعية والخلايا البلعمية الكبيرة والتي تعمل على تجديد الخلايا السرطانية وبالتالي مقاومة نشاطها ثم إتهامها. وللقرنفل فاعلية فى قتل البكتريا والطفيليات.

#### ٤- العرقسوس:

يعمل على زيادة السيتوكينات بالأخص الأنترفيرون الفعال ضد الفيروسات والإصابه بالتهاب الكبد الوبائي.

#### ٥- الجنسنج:

عشب صيني يحتوى مواد تنشط الجهاز المناعى خاصة الخلايا التائيه وتزيد من قدرة الخلايا البلعميه على القيام بدورها.

ثانياً: العادات الصحية السلوكيه السلبيه وعلاقتها بكفاءة الجهاز المناعى

هناك بعض العادات الصحية والسلوكية السلبية والتي تعتبر مدمرات للجهاز المناعى ومن هذه العادات:

#### ١- التدخين

يؤدى التدخين إلى ضعف القدرة المناعية خاصة ضعف الخلايا البلعمية الكبيرة، ضعف القدرة على إنتاج بروتينات السيتوكينات (موصلات الأوامر المناعية كيميائياً) وضعف الخلايا المتعادلة فى التصدى للأجسام الغريبه كل هذا يؤدى لجعل المدخن أكثر عرضة للإصابة بالأمراض خاصة أمراض الجهاز التنفسى ومنها سرطان الرئه والمرئ كما يؤدى التدخين إلى أمراض القلب وعدم إنتظام ضرباته وزيادة الإصابة بتصلب الشرايين والشعور بالأرق والصداع والدوخه.

#### ٢- المخدرات

للمخدرات بأنواعها المختلفة من عقاقير منشطة، بانجو ومورفين وكوكايين، هيروين وحشيش، تأثير سلبى على أجهزة الجسم خاصة الجهاز المناعى، فتؤدى لضعف الجهاز المناعى بصفة عامة والخلايا البلعمية الكبيرة والقاتله الطبيعية بصفة خاصة، مما يعرض الإنسان للإصابة بالأمراض المعدية الفتاكه مثل السرطان والإيدز.

#### ٣- الخمر

تتسبب شرب الخمر فى إنخفاض نشاط الخلايا الليمفاويه والبلعمية والخلايا القاتلة الطبيعية مما يؤدى إلى ضعف القوة الدفاعية للجهاز المناعى ويعرض مدمن الخمر للإصابه بسرطان الكبد والفم والمرئ.

#### ٤ - العقاقير

تعمل بعض العقاقير الطبيه على تثبيط الجهاز المناعى ومن أمثلتها الكورتيزون فهو يودى عند سوء إستخدامه لتثبيط المناعة رغم أهميته فى علاج بعض أمراض الحساسيه والربو والروماتويد.

#### ٥ - المضادات الحيويه

يودى إستخدام بعض المضادات الحيويه ولفترة طويلة إلى ضعف وتثبيط الجهاز المناعى ومن أمثلتها كلينداميسين الذى يعمل على ضعف الموصلات الكيمائيه (السيتوكينات) وبالتالي عدم تمكن الخلايا المناعية من قتل الميكروبات.

#### ثالثاً: الضغوط أو المؤثرات النفسيه

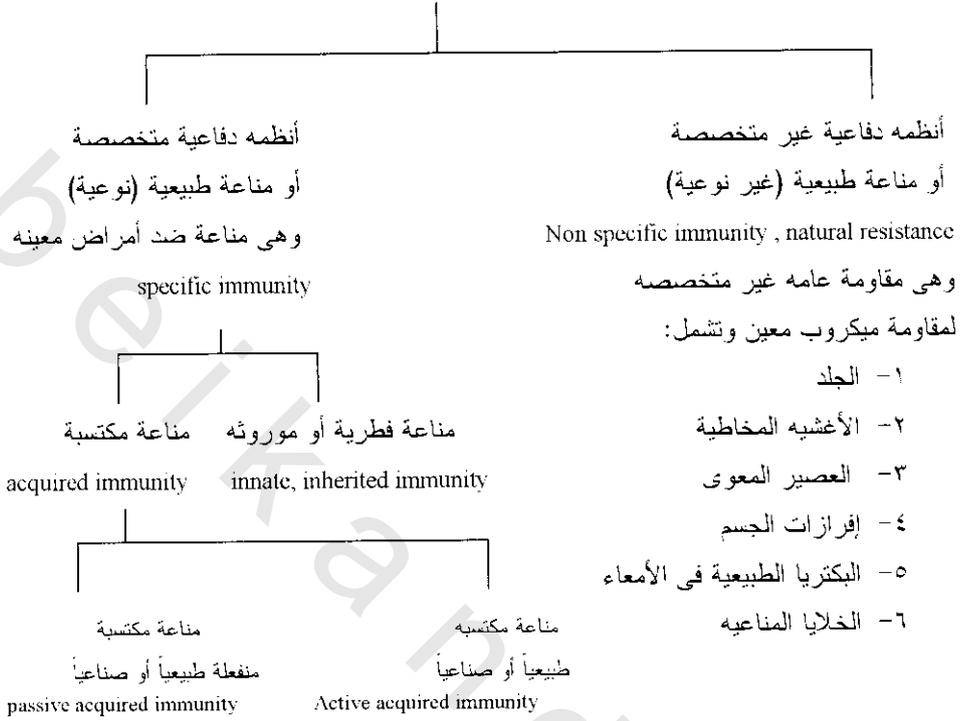
تؤدى الضغوط النفسية إلى ضعف الجهاز المناعى لما تحدثه من تغيرات فى هذا الجهاز منها:

إنخفاض مستوى الموصلات الكيمائيه (السيتوكينات) بين الخلايا وكذا الإنخفاض العام فى الإستجابة المناعية مع خلل وضعف فى وظيفة الخلايا التائيه المساعدة والخلايا البلعمية والخلايا القاتله الطبيعیه.

لذا يجب على الإنسان إتباع مجموعة من الوسائل التى تساعده فى مقاومة الضغط النفسى ومن هذه الوسائل:

- الإسترخاء التام لإراحة الجسد والأعصاب، وأخذ حمامات من الماء الدافئ.
- الإختلاط بالأخرين والضحك والفكاهه تزيد من كفاءة الجهاز المناعى.
- ممارسة الرياضه المعتدله بانتظام تزيد من كفاءة الجهاز المناعى عن طريق رفع قدرة الخلايا الليمفاويه على الإنقسام وزيادة كفاءة الخلايا القاتله الطبيعیه على إتهام وتكسير الخلايا السرطانية والأجسام الغريبه.
- العبادة حيث تشير الدراسات إلى أن الصلاة تزيد المناعة ضد الأمراض وقد يرجع ذلك إلى ما يعرف بسلطان العقل على الجسم من خلال الهرمونات الطبيعیه التى يطلقها الدماغ فى الجسم.

## ب- أنواع المناعة (أنواع النظم الدفاعية)



### ١- الأنظمة الدفاعية المتخصصة Specific immunity

ولهذه الأنظمة دور وقائى أو مناعى ضد أمراض معينة وتعد خط الدفاع الثانى وتنقسم المناعة التابعه لهذه الأنظمة إلى:

- ١- مناعة فطرية أو موروثه: Innate, inhereted immunity ومن أمثلتها:
  - وجود مناعة داخل الجنس الواحد: وهي تختلف باختلاف النوع أو السلالة فمثلاً الأمريكيون السود مقاومون للملاريا بينما ليس لديهم القدرة على تحمل اللاكتوز Lactose intolerance عكس الأمريكيون البيض.
  - وجود مناعة فى أجناس معينة دون الأخرى: ومن أمثلة ذلك عدم إصابة الإنسان بطاعون البقر، وعدم إصابة البقر بالحصبة أو الزهري فهذه الأمراض معدية للجنس البشرى (الإنسان) وغير معدية للحيوان.

٢- مناعة مكتسبة Acquired immunity وهى إما أن تكون:  
أ- مناعة مكتسبة فعالة active وتحدث بفعل أنتجين وتقلل من معدل حدوث المرض وهى إما أن تكون:

▪ مناعة مكتسبة طبيعية: وتحدث عقب الإصابة بالمرض وبعد الشفاء منه كما هو الحال عند الإصابة بالحصبة - التيفود - الحمى القرمزية، وهذه المناعة قد تكون مكتسبة طول الحياة أو لمدة محددة.

▪ مناعة مكتسبة فعالة صناعية: وتحدث نتيجة إستخدام vaccins كاللقاح ضد التيفود أو الجدري أو الكوليرا أو الدفتريا.

ب- مناعة مكتسبة منفعة passive وتحدث بفعل الأجسام المضادة الأتيه من مصدر خارجى وهى إما أن يكون:

▪ مناعة مكتسبة منفعة طبيعية: ومن أمثلتها إنتقال الأجسام المضادة إلى الجنين عن طريق المشيمه أو عن طريق لبن الأم المحتوى على بروتينات المناعة (جلوبيولينات المناعة) وهذه المناعة مدتها قصيرة فى المولود فبعد ستة أشهر تقريباً يفقد الطفل لهذه المناعة ويحدث له كثير من العدوى (حصبه - دفتريا ...).

▪ مناعة مكتسبة منفعة صناعية: ومن أمثلتها نقل بروتينات مناعية واقية للعلاج، كما هو الحال عند نقل نخاع عظام bone marrow إلى شخص يعانى من نقص المناعة مما يجعله قادراً على إنتاج الأجسام المضادة.

## ٢- الأنظمة الدفاعية غير المتخصصة Non n specific immunity

وهذه الأنظمة تقوم بمقاومة أى ميكروب فهى غير متخصصة لميكروب أو مرض معين وتعتبر خط الدفاع الأول ومنها:

### • الجلد:

للجلد النظيف: للإنسان السليم فعل مميت أو مضاد bactericidal لعدد من البكتريا مثل المسببه paratyphoid fever وكذا بكتريا salmonella of enteric fever

وبكتريا haemolytic streptococcus فغسل الأيدي لايساعد فقط على إزالة الميكروبات ميكانيكياً من سطح الجلد ولكنه يزيد أيضاً من قدرة الجلد المضادة للبكتريا، وذلك بما تفرزه الغدد العرقية الموجودة بالجلد من أحماض عضويه (دهنية - لاكتيك) تخفض الـ pH (3 - 5) مما يثبط من نمو البكتريا على سطح الجلد، وكذا بما تفرزه هذه الغدد من بعض الإنزيمات مثل الليسوزيم lysozyme الذى يحلل جدر الخلايا البكتيرية.

#### • الأغشية المخاطية:

مثل تلك المبطنه للأنف والحلق والمسالك التنفسية والقناة الهضمية فهى تحجز الكثير من البكتريا.

#### • إفرازات الجسم:

مثل اللعاب والدموع إذ تحتوى هذه الإفرازات على مواد مضادة للميكروبات من أمثلة:

- إنزيم الليسوزيم lysozyme: وهو يوجد فى الدموع واللعاب (وكذا الدم واللبن وسوائل الأنسجة والأعضاء) وهو إنزيم يشبه ribonuclease ولىسوزيم دور فى هدم الخلايا البكتيرية التى تنفذ إلى الأغشية المخاطية كما أنه يحمى قرنية العين، ووجوده فى اللعاب له أهمية فى مقاومة الميكروبات، وقد نلاحظ ذلك من قيام الحيوان المجروح بلمس جرحه بلسانه.

- Inhibin: وهو يوجد أيضاً فى اللعاب وله تأثير bacteriostatic على بكتريا الدفتريا.

- Interferon: وهو بروتين تفرزه بعض الأنسجة وله فعل مميت للفيروسات.

كما أن حموضة وقلوية بعض هذه الإفرازات تثبط نمو الكثير من البكتريا.

#### • العصير المعوي Gastric juice

حيث يبلغ الـ pH لهذا العصير ~2 نتيجة لما تفرزه المعدة من حمض Hcl وللعصير المعوي خواص bactericidal وتتوقف هذه الخواص على:

عدد الميكروبات التى دخلت القناة الهضمية فتزيد قدرة هذا العصير bactericidal مع قلة هذه الأعداد.

معدل تفريغ المعدة Ratc of gastric emptying: فتزيد قدرة العصير bactericidal مع بطء تفريغ المعدة إذ يساعد ذلك علي تعريض الميكروبات فترة أطول لهذه العصارة.

السعة التنظيمية buffering لمحتويات المعدة من الغذاء: كلما كان الغذاء ذو سعة تنظيمية قليلة، فأن ذلك يساعد علي توافر الظروف الحمضية بالمعدة مما يزيد من قدرة العصير bactericidal المثبطة.

مقدرة الغذاء علي حماية الميكروبات: يزيد دور العصير bactericidal مع قلته مقدرة الغذاء علي حماية الميكروبات.

#### • البكتريا الطبيعية بالأمعاء

من المعروف أن الجنين قبل ولادته يعيش في ظروف معقمة، ويتعرض الطفل عند ولادته للتلوث بالميكروبات من امه من البيئه ويستوطن كثير من هذه الميكروبات القناة المعوية بسرعة ومن البكتريا التي عزلت من امعاء الاطفال عند الولادة الطبيعية مباشرة بكتريا تابعة لبعض الأجناس مثل جنس Bifidobacteria, Enterobacteria, lactobacillus.

ويترواح عدد البكتريا في أمعاء ومعدة الوليد بعد الولادة مباشرة من ٣ : ٥ خلايا، أما بعد الولادة القيصرية فعادة لا تحتوي أمعاء الوليد أية بكتريا بعد السولاده مباشرة، وبعد ٢ - ٥ أيام تظهر بكتريا البفيدو Bifidobacteria في براز الأطفال، فأفراد هذا الجنس أول من يستوطن القناة الهضمية (القولون)، وتصل نسبتها ٩٩% من البكتريا السائدة في البراز بعد الأسبوع الأول من الولادة، وذلك في أطفال الرضاعة الطبيعية نظراً لوجود مواد أولية مناسبة لنمو أفراد هذا الجنس في لبن الأم مثل N- acetyl glucose amine وهذه المواد لاتوجد في غير لبن الأم. ومع تقدم عمر الطفل وزيادة المواد الصلبة في الغذاء يقل عدد البفيدو، ويزداد في المقابل عدد البكتريا الأخرى، إذ يوجد في القناة الهضمية أكثر من ٤٠٠ نوع من البكتريا بعضها ضار، وبعضها له أدوار إيجابية في وقاية الجسم والدفاع عنه ضد الميكروبات المرضيه ومن هذه الأدوار:

- منع الميكروبات الضارة المهاجمة Invasive harmful bacteria من تكوين مستعمرات في القناة الهضمية وذلك عن طريق إحتلال الفلورا الطبيعية Indigenous flora للأماكن المتاحة للبكتريا المرضيه وذلك بسده لمواقع الالتصاق Adhesion sites أو أماكن الإستقبال الخاصة بهذه البكتريا المرضية وهذا ما يسمى بمقاومة الفلورا الطبيعية المقيدة لإستيطان البكتريا الضارة colonization resistance وبذلك تكون البكتريا المقيدة (الفلورا الطبيعية) حاجزاً barrier يحمى الأنسجة المخاطية للجهاز الهضمي، هذا بجانب أن الفلورا الطبيعية تنافس الميكروبات الضارة في الغذاء.
- إنتاج مواد مضادة للبكتريا الغازيه المهاجمه Invasive bacteria مثل بعض الأحماض العضوية (لاكتيك - خليك) وغاز فوق أكسيد الأيدروجين وأحماض دهنية طيارة وبكتريوسينات bacteriocins ومكونات نشطة بيولوجياً تعرف بأسم Biocins وقد ثبت أن لهذه المواد الأخيرة تأثيراً مضاداً لنمو الخلايا السرطانيه Antitumorigenic وتأثيراً مضاداً للكوليسترول Anticholesterolemic.
- تحسين الوظائف المناعية لأسطح الأغشية المخاطية حيث تقوم الميكروبات الطبيعية في الأمعاء بتنبيه الجهاز المناعي الذى يحث الخلايا المناعية لإنتاج الجلوبيولين المناعى.
- تقوم بتكسير (تفكك) Deconjugation أملاح الصفراء اللازمه لنمو الميكروبات المهاجمه الضارة.

#### • الخلايا المناعية Immunity cells

سبق الحديث عنها.

ونتناول فيما يلى أهم وظائف هذه الخلايا.

#### وظائف الخلايا المناعية

- ١- إنتاج الأجسام المضادة خاصة جلوبيولينات المناعة Immuno globulins Antibodies ويقوم بهذا الدور مجموعة من الخلايا المناعية فى صورة مشتركة مع بعضها هى الخلايا التائية المساعدة (Th cells) والخلايا البائية (B- cells) والخلايا التائية الكابحة (Ts cells) كما يلى:

الخلايا التائية المساعدة (Helper T (Th cells): يوجد على سطح هذه الخلايا مستقبلات تستقبل الأنتجين الداخلى إلى الجسم، وتكون معه معقد Antigen receptor complex، وتقوم بتسليم هذا المعقد إلى الخلايا البائية B-cells والتي تسمى بالخلايا المولدة للأجسام المضادة.

الخلايا البائية B-cells: تستقبل المعقد الناتج من الخلايا التائية المساعدة (Th cells) وبعد إستقبالها لهذا المعقد تنقسم الخلايا البائية B-cells لتعطي ما يعرف بالخلايا البلازمية والتي يتحرر منها جلوبيولينات المناعة (أهمها IgM, IgA, IgG, IgE) والذى يتحكم فى هذا التحرر هو الخلايا التائية الكابحة (Ts cells).

الخلايا التائية الكابحة (Suppressor T (Ts cells): تعتبر كصمام يسيطر (يتحكم) فى تحرير جلوبيولينات المناعة من الخلايا البلازمية.

أما عن الخلايا للمفاويه القاتلة (Killer cells (K cells) أو الخلايا المجهولة Null cells فموضوع وظائفها غير معروف بالضبط.

**وفيما يلى بإختصار خطوات تكوين جلوبيولينات المناعة:**

الأنتجين تستقبله الخلايا التائية المساعدة وتكون معقد، المعقد تستقبله الخلايا البائية وتنقسم وتعطي خلايا بلازمية، الخلايا البلازمية تكون جلوبيولينات المناعة، جلوبيولينات المناعة المتكونه يتحكم فى إفرازها الخلايا التائية الكابحة.

تعمل الأجسام المضادة فى أربع إتجاهات عن طريق أربع آليات هى:

#### أ- التعادل (التحييد) Neutralization

حيث ترتبط الأجسام المضادة مع الفيروسات فتمنع الفيروسات من الإرتباط بمستقبلات أغشية الخلايا وبذا تمنع الفيروس من دخول الخلية كما تقوم الأجسام المضادة بالإحاطة بالبروتين السام وتجعله غير فعال وبعد ذلك تقوم الخلايا الإلتهامية Macrophages بابتلاع الفيروسات والسموم التى تم تحييدها.

#### ب- التجمع Agglutination

حيث يقوم الجسم المضاد بربط أكثر من أنتجين فى وقت واحد، حيث تتكتل هذه الأنتجينات مع بعضها ثم يتم إزالتها بواسطة الخلايا الألتهامية Macrophages ومثال ذلك IgM يستطيع ربط عشرة أنتجينات فى وقت واحد.

### ج- الترسيب Precipitation

حيث يقوم الجسم المضاد بتحويل الأنتجينات الذائبة (مثل البروتينات الذائبة) إلى صورة غير ذائبة ومن ثم يتم ترسيبها وإلتهامها.

### د- التنشيط المكمل Complement activation

وهو عبارة عن مجموعة البروتينات. حيث يقوم معقد الأنتجين مع الجسم المضاد Antigen - antibody complex بتنشيط هذا النظام المكمل فيتكون مركب يهاجم الغشاء Membrane - attach complex وهذا المركب المهاجم ينغمس فى غشاء الخلية فيرسب محتوياتها وتتضخم وتنفجر.

### ٢- مقاومة البكتريا:

ويقوم بهذا الدور الخلايا البلعمية او الإلتهاميه والتي منها البلعم الكبير (الملتهم) Macrophage وتوجد خلاياه فى الدم والأنسجة، والبلعم الصغير Microphage وتوجد خلاياه فى الدم بصفة خاصه وتعتبر عملية البلعمه Phagocytosis أقدم صورة معروفة من صور الدفاع عن طريق هدم أى مادة غريبه تدخل الجسم. وتحدث هذه العملية فى اربعة مراحل:

**المرحلة الأولى والثانية:** حيث ينتج الميكروب الداخل للجسم مواد تثير الخلايا البلعمية، فتغير من التوتر السطحي لسيتوبلازم هذه الخلايا وتكسبها الحركة الأميبية، كما أن هذه المواد لها تأثير إنتحائى كيمائى موجب Positive chemotoxis مما يساعد على إدمصاص الميكروب على سطح الخلية البلعمية.

**المرحلة الثالثة والرابعة:** حيث ينغمس الميكروب داخل سيتوبلازم الخلية البلعمية والتي تقوم بهدم الميكروب.

### ٣- مقاومة الخلايا السرطانية:

ويقوم بهذا الدور كل من الخلايا القاتلة الطبيعية (NK) cells Natural killer والخلايا التائية القاتله (cytotoxic T Tex) cells، ودور الخلايا القاتلة الطبيعية غير معروف بالضبط ولكن يقال أنها تمثل خط الدفاع الأول فى مقاومه الخلايا السرطانية، أما عن دور الخلايا التائية القاتله، فإن الخلايا السرطانية تعتبر كأنتجين

يحفز الخلايا التائية القاتله على إنتاج أجسام مضادة Antibodies نوعيه (خاصه  
خلاف جلوبيولينات المناعة) تقاوم الخلايا السرطانية (ويعرف هذا النوع من المناعة  
باسم المناعة الخلويه Cell mediated immunity).

## الفصل السابع

### التلوث بالبكتريا المرضية

### والبكتريا المسببة للتسمم الغذائي

#### مقدمة:

تنشأ الأمراض البكتيرية من اللبن ومنتجاته نتيجة تناول منتجات لبنية تحتوى أعداداً كافية من البكتريا المرضية، أو تحتوى كميات كافية من سمومها، ولذا فالأمراض الناتجة أو المنقولة عن طريق تلك المنتجات قد تكون نتيجة عدوى.

ويطلق عليها Milk borne diseases infection (الأمراض البكتيرية) أو نتيجة سموم هذه البكتريا؛ وتسبب هذه السموم ما يعرف بالتسمم الغذائي Food poisoning، وقد يكون التسمم الغذائي الحادث نتيجة تناول كميات كافية من السم أفرزتها البكتريا فى اللبن ومنتجاته قبل تناوله ويسمى هذا بالتسمم المحمول بالغذاء Milk borne intoxication، أو يكون التسمم قد حدث نتيجة إفراز البكتريا لسمومها داخل جسم العائل ويسمى بالعدوى المحمولة بالغذاء Milk borne infection.

١- ظروف حدوث العدوى عن طريق اللبن ومنتجاته: (الأمراض البكتيرية) Milk borne diseases infection

- فى هذه الحالة يكون اللبن ومنتجاته مجرد حامل غير نشط للبكتريا inactive carrier المسببة للمرض دون أن يدعم نشاط البكتريا؛ مثله فى ذلك مثل الأدوات الشخصية للمريض.

- ويشترط ضرورة وجود البكتريا باللبن أو منتجاته على أن تكون ظروف هذه المنتجات ملائمة لوجود البكتريا بصورة حيه، رغم أنه قد تنمو أو لا تنمو بالغذاء، وغالباً ما يكون أعداد البكتريا الملوثة للمنتجات منخفضة جداً، وقد تصل خلية واحدة / جم غذاء.
- أن يكون لهذه البكتريا القدرة على المعيشة فى القناة الهضمية أو العضو المصاب وقادرة على مهاجمة العائل، وأن يكون العائل حساساً لهذه البكتريا.
- وعادة ما تنتقل البكتريا إلى الدم وتسبب إرتفاعاً فى درجة الحرارة، وتتميز الأمراض البكتيرية الناتجة عن العدوى بالطول النسبى لفترة الحضانة (أسابيع قليلة) ومن أمثلة هذه الأمراض:

| أمراض مصدرها الإنسان                        | أمراض مصدرها الحيوان                             |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| السل ويسببه <i>Mycobacterium spp.</i>       | حمى باراتيفود ويسببه <i>Salmonella paratyphi</i> |
| الدفتريا ويسببه <i>Corynebacterium spp.</i> | الحمى المتموجة ويسببه <i>Brucella spp.</i>       |
| الحمى القرمزية ويسببه <i>St. pyogenes</i>   | الكوليرا ويسببه <i>Vibrio cholerae</i>           |
| حمى التيفود ويسببه <i>Salmonella typhi</i>  | أمراض ناتجة عن <i>St. agalactia</i>              |

## ٢- ظروف حدوث التسمم المحمول بالغذاء Milk borne intoxication

ويحدث هذا النوع من التسمم والذي يعرف بالتسمم الحقيقى، نتيجة مباشرة لتناول منتجات لبنية محتوية على سموم. ناتجة عن نمو البكتريا بأعداد كافية (١٠<sup>٦</sup> - ١٠<sup>١٠</sup> خلية / جم غذاء)، وقد يوجد السم فى الغذاء عند تناوله رغم موت البكتريا المسببه له، ويصيب التوكسين (السم) الإنسان عن طريق القناة الهضمية ولذا يسمى enterotoxines و لحدوث هذا النوع من التسمم يجب:

- أ- إحتواء الغذاء على البكتريا المنتجة للتوكسين.
- ب- ملائمة الغذاء لنمو البكتريا وإفراز التوكسين.
- ج- تناول غذاء يحتوى على التوكسين بكمية كافية.
- د- حساسية المستهلك لفعل التوكسين.

وتظهر أعراض التسمم بعد تناول الغذاء الملوث بثلاث ساعات على شكل غثيان وقئ وإسهال دون إرتفاع فى درجة حرارة العائل.

ومن أمثلة هذه الحالات من التسمم:

|                                            |                            |
|--------------------------------------------|----------------------------|
| <i>Clo. botulinum</i>                      | التسمم البوتشبوليني ويسببه |
| <i>Clo. perfringens</i>                    | التسمم البرفرنجي ويسببه    |
| <i>Stap. Aureus</i>                        | التسمم العنقودى ويسببه     |
| <i>Bacillus cereus</i> (D)                 | تسمم باسيلي إسهالى ويسببه  |
| <i>Bacillus cereus</i> (E)                 | تسمم باسيلي قئى ويسببه     |
| <i>Enterotoxigenic E. coli</i> (E T F C)   | تسمم إيشيريشى معوى         |
| <i>Enterohaemorrhage E. coli</i> (E H E C) | تسمم إيشيريشى دموى         |

### ٣- ظروف حدوث التسمم البكتيرى عن طريق العدوى المحمولة بالغذاء Milk borne infection

ينشأ هذا النوع من التسمم نتيجة مباشرة لتناول غذاء يحتوى أعدادا كبيرة من البكتريا الحية أو جراثيمها (١٠:١٠٠ خلية / جم غذاء) وعادة لا يوجد السم فى الغذاء عند تناوله، ولحدوث هذا النوع من التسمم يجب:

أ- إحتواء الغذاء على البكتريا بأعداد كبيرة.

ب- قدرة البكتريا على إستيطان القناة الهضمية، والنمو والتكاثر وإفراز التوكسين فى القناة الهضمية. ويلاحظ أن أعراض هذا التسمم تظهر بعد تناول الغذاء بيوم: ٣ أيام، ومن أعراض هذا التسمم القئ والإسهال مع إحتمال إرتفاع الحرارة إذا إنتقل الميكروب إلى الدم. ومن أمثلة هذه الحالات من التسمم:

|                                 |                                |
|---------------------------------|--------------------------------|
| <i>Salmonella spp.</i>          | التسمم السلمونيلى يسببه        |
| <i>Shigella spp</i>             | التسمم الشيجيلى يسببه          |
| <i>Listeria monocytogenes</i>   | التسمم الليستيرى يسببه         |
| <i>Campylobacter jejuni</i>     | التسمم الكامببولى بكتيرى يسببه |
| <i>Yersinia enterocolitica</i>  | التسمم اليرسينى يسببه          |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i>  | التسمم الفيروبوسى يسببه        |
| <i>Enteropathogenic E. coli</i> | التسمم إيشيريشى مرضى يسببه     |
| <i>Enteroinvasive E. coli</i>   | التسمم إيشيريشى غزوى يسببه     |

## أمثلة لبعض الأمراض البكتيرية والتسمم الغذائى والبكتريا المسببة

### ١- أمراض ناتجة عن بعض البكتريا التابعة لعائلة *Mycobacteriaceae*

#### مرض السل *Tuberculosis*

مقدمة:

يعتبر مرض السل من أقدم الأمراض المعدية التى تصيب الإنسان والحيوان، وحالياً يصيب هذا المرض حوالى ثلث سكان العالم، إذ بدأ يظهر بصورة مخيفة بعد إختفائه، وقد يعزى ذلك لظهور سلالات مقاومة للعقاقير المستخدمة فى علاجه وكذا سوء التغذية. وهناك علاقة بين الإصابة بالسل والإصابة بمرض الإيدز (نقص المناعة المكتسبة) *Acquired immune deficiency syndrome AIDS*

ويوجد نوعان من المرض أحدهما يصيب الرئة *Pulmonary type* والآخر يصيب أعضاء أخرى خلاف الرئة *non-pulmonary type*.

#### البكتريا المسببة للمرض : *Causative bacteria*

أنواع من البكتريا التابعة لجنس *Mycobacterium* وهو الجنس الوحيد التابع لعائلة *Mycobacteriaceae* والتابعة لرتبة *Actinomycetales* ويوضح الجدول التالى (٨) أهم هذه الأنواع وعوائلها.

جدول (٨) أنواع البكتريا التابعة لجنس *Mycobacterium* وعوائلها

| النوع                  | العائل                               | النوع                      | العائل            |
|------------------------|--------------------------------------|----------------------------|-------------------|
| <i>M. tuberculosis</i> | الإنسان                              | <i>M. microti</i>          | فأر الغيط         |
| <i>M. bovis</i>        | الماشية - الإنسان                    | <i>M. leprae</i>           | الإنسان           |
| <i>M. avium</i>        | الطيور - الخنازير<br>- نادرا الإنسان | <i>M. paratuberculosis</i> | الأغنام - الماشية |
| <i>M. ulcerans</i>     | الإنسان                              | <i>M. marinum</i>          | السماك - الإنسان  |

وتعتبر الأنواع الثلاثة الأولى، والتي تصيب الإنسان والماشية والطيور أكثر هذه الأنواع إنتشاراً. ويبين الجدول (٩) مدى حساسية الإنسان والحيوانات الحلوبية والطيور لهذه الأنواع الثلاثة.

جدول (٩) مدى حساسية الإنسان والحيوانات الحلوبية والطيور لميكروب السل .

| حساسية الأجناس المختلفة للأصابة |        |         |         |         | نوع الميكروب                        |
|---------------------------------|--------|---------|---------|---------|-------------------------------------|
| الطيور                          | الماعز | الأغنام | الأبقار | الإنسان |                                     |
| +                               | ++++   | -       | +       | +++     | <i>M. tuberculosis</i> النوع الأدمى |
| -                               | +      | +       | +++     | ++      | <i>M. bovis</i> النوع البقرى        |
| +++                             | -      | ±       | ++      | +       | <i>M. avium</i> النوع الطيرى        |

إمكانية الإصابة ++

شديدة الإصابة +++

عدوى مميته ++++

عدم الإصابة -

الإصابات فى حالات معينة ±

نادر الإصابة +

ونشير فيما يلى إلى خواص أهم هذه الأنواع

#### أ- النوع الطيرى *Mycobacterium avium*

يصيب الطيور، وأحياناً الماشية، ونادراً ما يصيب الإنسان. وتتضمن الإصابة النوعين الرئوى وغير الرئوى. وتحدث إصابة الإنسان نتيجة تناول دجاج أو بيض ناتجاً من دجاج مصاب، وغير جيد الطهى، والحرارة المثلى لنمو الميكروب ٤٢ - ٤٤ °م والميكروب رفيع محبب، ومستعمراته ناعمة ونصف مستديرة.

#### ب- النوع البقرى *Mycobacterium Bovis*

يصيب البقر وكثيراً من الحيوانات الأليفة، إلا أن الجاموس والماعز والدجاج أقل عرضة للإصابة. كما يصيب الميكروب الإنسان عن طريق تناول المنتجات اللبنية الملوثة، ويمثل حوالى ١٠٪ من حالات إصابة الإنسان. وقد تنتقل العدوى عن طريق الهواء.

والحرارة المثلى للميكروب ٣٧ - ٣٧,٥ °م، وخلاياه قصيرة وسميكة ١ : ١١,٥ ميكرون، ومستعمراته صغيرة ناعمة نصف مستديرة غير منتظمة مع سطح محدب، والميكروب أقل نمواً وأصعب زراعة عن النوع البشرى (الأدمى). ولايكون الميكروب صبغات، كما أنه يصيغ بصورة منتظمة أو غير منتظمة.

ويوجد الميكروب فى العقد الليمفاوية والرئة والكبد والضرع والعظام والمفاصل وبعض الأنسجة الأخرى وقد ثبت أن ٧٠٪ من الأبقار المصابة تفرز لبناً ملوثاً، حيث يفرز فى ألبان الحيوانات المصابة بالتهاب الضرع السلى Tuberculous mastitis، كما ينتقل الميكروب إلى اللبن بطريق غير مباشر من خلال المنطقة الخلفية Flanks للحيوان والضرع والحلمات والجلد والفرشة والمخلفات البرازية كما فى حالة السل المعوى Tuberculosis enteritis والسل الكبدى Tuberculous hepatitis، أو إفرازات الرحم فى حالات إتهاب الرحم السلى Tuberculous metritis أو البول فى حالة السل الكلوى Tuberculous nephritis وكذلك عن طريق عدوى الرزاذ Droplet infection فى حالة إصابة الحيوان بالسل الرئوى أثناء العطس.

ومن الأهمية تبليغ السلطات الصحية. وتحديد الحيوانات المصابة وعزلها والتخلص منها، فإذا كانت الإصابة اقل من ١٠٪ تذبح الحيوانات المصابة، ويتم الكشف على لحومها فإذا كانت مصابة بعدم، وإذا كانت جيدة تستهلك أما إذا كانت الإصابة أكثر من ١٠٪ فإذا كانت الحيوانات المصابة غير حاملة فتعامل البانها حرارياً وتباع الحيوانات فى أسواق خاصة، وإذا كانت الحيوانات المصابة حاملة، فتعزل حتى الولادة، ثم تذبح ويتم الكشف على لحومها، وتعزل الحيوانات المولودة وتغذى صناعياً وتختبر دورياً ضد المرض.

ومن الضرورى إجراء الإختبارات الدورية خاصة للحيوانات الحلوب ويجب العناية بتطهير مساكن الحيوانات بالفورمالين والجير المطفى والمساحيق المطهرة، أما اللبن فحتمياً يجب معاملته بالحرارة (البسترة أو الغلى أو التعقيم) وبالنسبة للأفراد المتعاملين مع الحيوانات والمتعاملين مع اللبن فيجب الكشف عليهم دورياً بالأشعة الصدرية وإختبار Mantoux tuberculon test مانتوكس للسل.

### ج- *M. Tuberculosis* (النوع الأدمى)

وهو يمثل ٩٠٪ من حالات إصابة الإنسان بمرض السل، والإصابة من النوع الرئوى وعادة يصيب الأغنام أو الطيور الأليفة، ويصل الميكروب إلى اللبن مباشرة من الحلاب والمتعاملين مع اللبن ومنتجاته ونادراً ما يصيب الماشية ولكن لا تظهر الإصابة على الماشية بمجرد إصابتها، فقد تعطى الماشية نتيجة سلبية لإختبار tuberculin لمدة ٢ - ٣ شهور بعد الإصابة بهذا الميكروب وتعطى إختباراً موجباً

بعد هذه المدة، وهذه الماشية المشكوك فيها يجب وضعها تحت الرقابة وإختبارها دورياً.

### ومن خواص بكتريا *M.Tuberculosis*

ميكروب عصوى رفيع مستقيم ومنحنى قليلاً طوله ٥,٠ : ٤ μ ميكرون منه الخيطى rod-like والمتفرع branching (نادراً) والمحبب granular form وهو موجب لجرام، هوائى حتماً، غير متحرك، غير متجرتم ليس له حافظة non capsulated وتحت الميكروسكوب الإلكتروني تظهر حبيبات وتجاويف (حويصلات vacuoles) فى طرفى الخلية، وسيتوبلازم الخلايا متجانس فى المزارع الحديثة، محبب فى المزارع القديمة كما تنتج بعض السلالات صبغات صفراء فى المزارع القديمة ويحتاج الميكروب لنموه على البيئات البسيطة ٣ : عدة أسابيع على ٢٠ - ٤٠°م إذ أنه بطئ النمو والـ pH الملائمة ٧,٤ - ٨.

### المقاومة Resistance

من أكثر البكتريا غير المتجرتمة مقاومة للحرارة والظروف البيئية الأخرى، وقد يرجع ذلك لإحتواء البكتريا على تركيز عالٍ من الليبيدات (٢٥ - ٤٠%) كما أن الميكروب مقاوم للحرارة والفورمالين وكثير من المواد الحافظة، حساس لضوء الشمس، وكان يستخدم لمعرفة جودة البسترة نظراً لمقاومته للحرارة.

### الخواص التخمرية Fermentation properties

يحتوى الميكروب على مجموعة من الإنزيمات المحللة للبروتين، والتي لها المقدرة على تحلل البروتين فى البيئة القلوية والحامضية، كما يحتوى إنزيمات dehydrogenases تعمل على الأحماض الأمينية، وعديد من الكربوهيدرات، وينتج بجانب ذلك مجموعة أخرى من الإنزيمات مثل Lecithinase, urease, glycerophosphatase والتي تحلل الليثيسين واليورينا والفوسفاتيدات.

### إنتاج السموم Toxin production

ينتج الميكروب مجموعة من السموم الداخلية، تنطلق من الخلية عند موتها وتحللها، وهى شديدة السمية، فالجرعة المميته منها ٠,٠٠١ مجم بالنسبة لخنزير غانا،

ومن هذه السموم Tuberculin والذي يسبب وفاة ٥٠% من خنزير غانا عند حقنه بمعدل ٠,١ مل ( $LD_{50} = 0.1ml$ )

### التركيب الأنتيجيني (مولدات المضادات) Antigenic structure

لايختلف التركيب الأنتيجيني لميكروب السل البقري أو الأدمى، إذ يشمل التركيب الأنتيجيني لكل على agglutinins, apsonins, precipitins, tuberculin ويقال أن tuberculin هو الأنتجين المنشط لإنتاج الأجسام المضادة، وهو مركب ذو وزن جزيئي كبير ويتكون من بروتينات وليبيدات وكميات كبيرة من الفوسفوليبيدات والسكريات الليبيديه lipopolysaccharides ويعتبر koch سنة ١٨٩٠ أول من فصل مادة التوبركيولين (tuberculin) من مزرعة للميكروب نام على بيئة glycerin broth عمرها ٥ - ٦ أسابيع وذلك بتعقيم المزرعة بالبخار  $100^{\circ}C$  / ٣٠ د وتبخيرها على  $70^{\circ}C$  لعشر حجمها الأصلي والترشيح خلال مرشح خزفي porcelain filter.

### مصادر العدوى (sources of infection) sources of the causative organism

تنتقل العدوى عن طريق الهواء والغذاء والماء والتعرض لبصاق المصابين، مما يساعد على إنتشار المرض إزدحام الأماكن وعدم التهوية، إذ يمكن للميكروب أن يبقى حياً في الماء لأكثر من سنه، والماء المقطر لعدة أسابيع، والتربة لأكثر من ستة أشهر وفي البصاق الجاف لمدة شهرين وفي العصارة المعدية لمدة ست ساعات، فهو كما سبق من الميكروبات المقاومة للظروف البيئية. ويعتبر اللبن ومنتجاته الملوثة مصدراً من مصادر العدوى إذ يبقى الميكروب حياً في الجبن مثلاً لمدد تختلف باختلاف نوع الجبن وكثيراً ما تزيد مدة بقاء الميكروب حياً في الجبن الطرية عالية الرطوبة ونصف الجافة عن المدة اللازمه لتسوية هذه الجبن.

### مدة الحضانة: Incubation period

تختلف مدة الحضانة من ٤ - ٦ أسابيع من بدء الإصابة حتى ظهور العلامات الأولى للمرض، وقد تمتد عدة سنوات لتصبح الرئة مصابة.

### أعراض المرض: Symptoms

تحدث الإصابة عن طريق الجهاز التنفسي، الجهاز الهضمي وعند الإصابة عن طريق الجهاز التنفسي تظهر الأعراض على الرئتين، أما عند الإصابة عن طريق الجهاز

الهضمي فتتركز الإصابة في العقد الليمفاوية للمساريقا mesenteric lymphnodes وبتقدم المرض ينتشر خلال أنسجة وأعضاء الجسم المختلفة مثل الرئتين؛ وتتمثل أعراض إصابتها في آلام بالصدر، الرشح البللورى والسعال والعرق الليلي كما تصاب الأمعاء (إسهال وإحتمال إنسداد الأمعاء) والكلى (تبول دموى) والمخ (قئ وتشنجات).

وبجانب الأعراض الخاصة بكل عضو مصاب فهناك أعراض عامة لمريض السل تتمثل في فقد الشهية و فقر الدم ونقص الوزن والشعور بالإرهاق وارتفاع الحرارة وزيادة سرعة دقات القلب.

### المناعة Immunity

قد توجد مناعة طبيعية لدى بعض الأفراد وهي مرتبطة بعوامل وراثيه، كما يحصل الأشخاص السابق إصابتهم، أو الأشخاص المخالطين للمرضى على مناعة نسبيه أو كامنه يصبح الميكروب بعدها نشطاً تحت تأثير الإصابة بالأمراض الأخرى. فقد يكمن الميكروب في العقد الليمفاوية لعدة سنوات وقد تستمر طول الحياة ووجود الأنتجينات في مصل دم المريض لايعطى دليلاً كافياً على شدة المناعة وهناك مناعة صناعية عن طريق لقاح Bacillus Calmette Guorin (BCG) بالحقن تحت الجلد، ويقال أن الأطفال الذين يتراوح عمرهم ما بين ٣ - ١٢ سنة لديهم مقاومة نسبيه، بينما الأطفال الأقل من ٣ سنوات والأكبر من ١٢ سنه أكثر عرضة للإصابة، وتزداد العرضة للإصابة بالتعب وسوء التغذية.

### الوقاية والعلاج Prophylaxis

تتمثل المعالجة الوقائية في التشخيص المبكر للمرض، الكشف الدورى على المرضى والأشخاص بعد شفائهم، والمحصنين باللقاح (BCG). وقد إكتشف هذا اللقاح عام ١٩١٦ على يد العالمين A. Calmette and Ch.Guorin وهو عبارة عن سلالة بكتيرية ضعيفة معزولة من البقر. كما يجب الكشف الدورى على العاملين بالقطاع الغذائى وإعطائهم الأدوية الوقائية، مع عزل المرضى وإعطائهم الأدوية والعلاج الخاص بمقاومة المرض والميكروب، وكذلك يراعى الكشف الدورى على الحيوانات وعلاجها، والعناية بالمعاملة الحرارية للبن ومنتجاته وتجنب تعرضها للتلوث بعدها، والعناية بالنظافة الشخصية للعاملين في مجال الأغذية وأن يكونوا خاليين من المرض ومعهم شهادات صحية تثبت ذلك وألا يكونوا مخالطين لمرضى السل.

## ٢- الأمراض الناتجة عن بعض البكتريا التابعة لعائلة *Corynebacteriaceae*

مقدمة:

يتبع هذه العائلة عدة أجناس منها *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Cellulomonas*, *Arthroobacter* ويعتبر جنس *Corynebacterium* أكثرها أهمية للإنسان والحيوان من الناحية المرضية، وله ثلاثة أنواع *C. diphtheria*, *C. pyogenes*, و *C. bovis* ويعتبر *C. diphtheria* أكثر أهمية للإنسان إذ يسبب له مرض الدفتريا *Diphtheria*. وقد أكتشف الميكروب المسبب لهذا المرض سنة ١٨٨٣ وأمكن عزله من مزرعة نقية سنة ١٨٨٤ وفصل السم *cxotoxin* الذى ينتجه سنة ١٨٨٨؛ كما عرف مضاد سم له *antitoxin* سنة ١٨٩٠ وفى ١٩٢٣ أمكن الحصول على سم ضعيف *diphtheria toxoid* يستخدم للتطعيم ضد الدفتريا ونتيجة إنتشار التطعيم ضد الدفتريا فقد إنخفضت معدلات الإصابة بها فى معظم أنحاء العالم، ورغم ذلك فما زالت الدفتريا وباء فى الدول النامية؛ إذ تخلصت منه الدول المتقدمة وسوف نتناول هنا مرض الدفتريا وخواص الميكروب المسبب له.

### الميكروب المسبب للمرض: *Causative bacteria*

*Corynebacterium diphtheria*: من أصل بشرى، يصيب البشر ومن خواصه:

### الخواص المورفولوجية والمزرعية *Morphological and cultivation properties*

ميكروب عصوى أو منحنى قليلاً، طوله ١٨ ميكرون عرضه ٠,٣، ٠,٨، ٠,٨ ميكرون، متعدد الأشكال فى تجمعات، يظهر عادة ذو إنتفاخ مثل مضرب الكرة فى نهاية الخلية، موجب لصبغة جرام، غير متجرتم وغير متحرك ولايكون كبسولات (حافظه)، هوائى أو هوائى إختيارى، الـ pH المثلى ٧,٢ - ٧,٦، الحرارة المثلى ٣٤ - ٣٧ م° ولاينمو على أقل من ١٥ م° أو أعلى من ٤٠ م°، والمستعمرات صغيرة غير مندمجة وتظهر كمظهر الجلد الخشن المحبب *Shagreen leather* رمادية اللون لايسيل الجيلاتين ولايغير لبن عباد الشمس.

## المقاومة Resistance

يقاوم الميكروب الظروف البيئية لحد ما، إذ يمكنه أن يحيا لمدة شهرين على حرارة الغرفة، ويعيش لمدة طويلة في الأغشية المخاطية للمرضى والتي تعتبر مصدراً أساسياً للعدوى، ويقتل الميكروب على ٦٠ م°، ومحلول ١٪ فينول في خلال عشر دقائق.

## الخواص التخمرية Fermentation properties

ليس له القدرة على تجبن اللبن أو تحلل اليوريا أو إنتاج الأندول، لكن له القدرة على إختزال النترات إلى نترت وكذا إختزال K.tellurite، ولذا تعطى المستعمرات التي تنمو على بيئة tellurite agar لوناً أسوداً أو رمادياً وتختلف قدرة الميكروب على تحلل (تخمر) المالتوز، النشا، الدكستريين، الجالاكتوز، الجلوسرين ولكنه يخمر الجلوكوز، الليفلوز ويمكنه إنتاج H<sub>2</sub>S ولكن ببطء

**إنتاج السموم Toxin prodction:** ينتج الميكروب سمّاً خارجياً extracellular toxin في الجهاز التنفسي وهو شديد السمية ويمتص في الدورة الدموية، ليدخل في مجموعة من التفاعلات ينتج عنها مضاعفات مختلفة، مثل الهبوط في القلب والشلل لبعض الأطفال وأحياناً الوفاة، ويحتوى التوكسين على كمية كبيرة من النيتروجين الأمينى، وتتميز السلالات السامة من الميكروب بإرتفاع نشاط إنزيم dehydrogenase عن السلالات غير السامة والتي ليس لها هذا النشاط إذ تنتج هذه السلالات الأخيرة antitoxin تعادل به تأثير السم ويقال أن جرعات صغيرة من السم تسبب تعفن الدم (تسمم toxæmia) في خنزير غينيا، وسم الدفتريا غير ثابت إذ أنه يتلف بالحرارة والضوء والهواء، ولكنه مقاوم لحد ما للذبذبات فوق الصوتية ultrasonic vibrations كما يتحول السم toxin إلى سم ضعيف toxoid بخلطه مع ٠,٣ - ٠,٤ ٪ فورمالين على ٣٨ - ٤٠ م° لمدة ٣ - ٤ أسابيع، كما أن toxoid أكثر مقاومة للعوامل الفيزيقيه والكيموايه عن التوكسين.

وللميكروب القدرة على إنتاج إنزيم hyaluronidase وبذا يمكن للميكروب غزو أنسجة العائل.

### التركيب الأنتجيني Antigenic structure:

أكد كثير من العلماء وجود antigens (0) وهو عبارة عن Polysaccharides يوجد في الطبقة الخارجية لجدار الخلية، ويطلق عليها أنتيجينات جسمية somatic polysaccharides antigens وهي ثابتة حرارياً thermostable.

### مصادر العدوى Sources of infection

يعتبر المرضى وكذا حاملي الميكروب من أهم مصادر العدوى، إذ يوجد الميكروب في إفرازات الأغشية المخاطية للأنف والحنك، ولذا تنتقل العدوى بالمخالطة، وكذا من الأدوات التي يستخدمها المريض أو حاملي المرض. ويوجد حوالي 3 - 5% من الناقلين والأصحاء حاملين للميكروب وقد يظل المريض حاملاً للميكروب 6 شهور بعد شفائه، ورغم أن انتقال المرض عن طريق اللبن قليل جداً، إلا أن العدوى قد تنتقل عن طريق إستهلاك اللبن الخام أو المتلجج القشدية الملوثة بالميكروب. كما يوجد الميكروب في الجروح الموجودة على حلقات وضرع الماشية ومنها ينتقل إلى اللبن، وقد لوحظ أن الإصابة بميكروبات مرضية أخرى تابعة لجنس Staphylococci, Streptococci وكذا بعض السلالات غير المرضية من جنس Corynebacterium قد تكون عاملاً مساعداً في الإصابة بمرض الدفتريا.

مدة الحضانه Incubation period: ٢ : ١٠ أيام

### أعراض المرض Symptoms:

ارتفاع الحرارة مع صعوبة البلع والتنفس، نتيجة لإلتهاب اللوزتين والبلعوم والحنجرة وتكون أنسجة ميته وإفرازات في هذه الأماكن. ورغم أن المرض يصيب أماكن متعددة كالجلد والعين والأذن والأعضاء التناسلية، إلا أن دفتريا الحلق تمثل ٩٠% من الحالات المرضية، يأتي بعدها دفتريا الأنف في المستوى الثاني.

وفي حالة شدة المرض يؤثر التوكسين على الجهاز العصبي السطحي Peripheral nervous system كما يؤثر على الكلى والأوعية الدموية وعضلة القلب إلى مرحلة قد تؤدي لتوقف القلب فجأة.

## المناعة Immunity:

عادة يكتسب الطفل مناعة طول الحياة بعد شفائه، إذ لا تتعدى حالات عودة الإصابة Diphtheria reinfection عن ٦ - ٧٪ من حالات الإصابة وتزيد مقاومة الجسم للمرض بتقدم العمر.

ويتوقف مدى قدرة الجسم على المناعة على محتوى الدم من antitoxin ويجرى لذلك إختبار يعرف بإختبار شيك Schick test وهو إختبار يظهر مدى تعرض الجسم للمرض أو مناعته ويجرى الإختبار بحقن السم toxin تحت الجلد intracutaneously في الساعد بمعدل ٠,٢ مل (وهي كمية تعادل ٤٠/١ من MTD اللازمه لقتل خنزير غانا). ويدل التفاعل الموجب positive على الحساسيه للمرض، وعلامته ظهور بقعة حمراء منتفخة (متورمه) قطرها ٢ سم في مكان الحقن بعد ٢٤ - ٤٨ ساعة، ويكون التفاعل موجباً إذا أحتوى الدم على antitoxin. أما الإختبار السالب فيدل على عدم الحساسيه للدفتريا ويقال أن ٨٠ - ٩٠٪ من الأطفال حديثى الولادة وكذا الأشخاص فوق ١٧ سنة غير حساسين للدفتريا بينما الأطفال من سن ١ - ٤ سنوات فهم الفئة الأكثر حساسيه (٩٠٪).

## الوقاية والعلاج prophylaxis and treatment

بجانب الإبتعاد عن المصابين والعناية بالنظافة الشخصية والعناية ببسكرة اللبن... الخ فللوقاية يراعى التحصن بالطعم الثلاثى (الدفتريا والتيتانوس والسعال الديكى) فى سن ٣ شهور ثم فى سن ١٨ شهر ثم فى سن ست سنوات وأخيراً فى سن عشر سنوات بالطعم الثنائى الذى يحوى طعم الدفتريا والتيتانوس وذلك لتحسين الحالة المناعية للجسم إذ يعمل التطعيم على تنشيط إنتاج الـ antitoxin.

### ٣- الأمراض الناتجة عن البكتريا السبحية Streptococci diseases

مقدمه:

تتبع هذه البكتريا عائله Streptococcaceae ومن اهم اجناسها جنس Streptococcus، ويشمل هذا الجنس اربعة مجموعات تبعاً لتقسيم شرمان. ويوضح الجدول التالي (١٠) هذه المجموعات الأربعة وبعض خواصها.

جدول (١٠) مجموعات جنس Streptococcus وخواصها تبعاً لتقسيم شرمان Sherman

| النمو في المرق Broth   |                   |                         | إنتاج الأمونيا<br>من الأرجينين | تصلب التسخين<br>٣٠° / ٦٠° | النمو |       | تغلل الدم<br>hemolysis | المجموعة                               |
|------------------------|-------------------|-------------------------|--------------------------------|---------------------------|-------|-------|------------------------|----------------------------------------|
| أس<br>هيدروجيني<br>٩,٦ | منح طعام<br>٦,٥ % | ٠,١ %<br>أزرق<br>مثيلين |                                |                           | ١٠° م | ٤٥° م |                        |                                        |
| -                      | -                 | +                       | ±                              | ±                         | -     | +     | γ                      | اللبنية<br>Lactic streptococci         |
| -                      | -                 | -                       | -                              | ±                         | +     | -     | γ or α                 | فيريدان<br>viridan streptococci        |
| -                      | -                 | -                       | -                              | -                         | -     | -     | β, α                   | الصد بريه<br>pyogenic streptococci     |
| +                      | +                 | +                       | +                              | +                         | +     | +     | β, α or γ              | أنتروكوكس<br>Enterococcus streptococci |

ولما كانت أفراد المجموعة الأولى (اللبنية) Lactic streptococci مفيدة وتدخل في العديد من الصناعات الغذائية، ولا ضرر صحي منها، كذلك فإن أفراد المجموعة الثانية (فيريدان) Viridan streptococci ذات تأثير ضعيف من حيث الأضرار التي قد تسببها للإنسان والحيوان. لذا سوف يقتصر الحديث هنا عن بعض الأمراض الناشئة عن التلوث ببعض أفراد المجموعتين الأخيرتين وتشمل:

أ- أمراض ناشئة عن التلوث بأفراد من المجموعة Pyogenic ومنها مرض الحمى القرمزية وأمراض ناتجة عن *St. agalactia*.

ب- تسمم غذائي ناشئ عن التلوث بأفراد من مجموعة Enterococcus ومنها التسمم الناتج عن التلوث ببكتريا Enterococcus faecalis.

أ- أمراض ناشئة عن التلوث بأفراد من المجموعة الصديدية Pyogenic ومنها

i - مرض الحمى القرمزية Scarlet fever

ويسمى أيضاً حمى الطفح أو إلتهاب الحنجرة المتبقع Septic sore throat

البكتريا المسببه للمرض Causative bacteria

هي Streptococcus pyogenes ومن خواصها:

الخواص المورفولوجية والمزرعية:

ميكروب كروي فى سلاسل، موجب لجرام غير متجرثم غير متحرك، لا يكون كبسولات، شحيح الإحتياجات الهوائية.

ويوجد الميكروب فى شكل سلاسل فى أزواج، أو سلاسل قصيرة وذلك على الشريحة المحضرة من مزرعة صلبة أما الشريحة المحضرة من الـ broth فتظهر الميكروبات فى صورة تكتلات. كما أن الميكروب يكون نمواً ضعيفاً على بيئة meat n peptone agar ولكن يعطى نمواً جيداً على بيئات Sugar n blood and serum agar or broth وتكون النوات على البيئة الصلبة فى صورة مستعمرات محببه مميزة الحدود قطرها ٠,٥ : ١ مم شفافة رمادية أو بيضاء والحرارة المثلى للنمو ٣٧ م° (٢٠-٤٠ م°).

المقاومه Resistance

يمكن للميكروب أن يعيش لمدة طويلة على درجات حرارة منخفضة، فقد وجد أنه يمكن أن يبقى حياً فى الزبدة لمدة حوالى ستة شهور، وفى الجبن لمدة ١٨ أسبوع بالتخزين فى الثلاجة، كما أنه مقاوم للجفاف ويبقى حياً لمدد طويلة فى الصديد والبصاق إلا أنه يقتل على ٧٠ م° وكذا بعد ١٥ د فى محلول ٣-٥٪ فينول.

الخواص التخمرية Fermentation properties

يخمر الجلوكوز، المالتوز، اللاكتوز، السكروز مع إنتاج أحماض، ويجبن اللبن ويذيب الفيبرين، إلا أنه لا يحلل البروتين ولايسيل الجيلاتين ولايخترل النترات.

## إنتاج السموم Toxin production

ينتج الميكروب سموماً خارجيةً exotoxin بعضها حساس للحرارة كما ينتج إنزيمات مختلفة النشاط ومن هذه السموم والإنزيمات:

أ- محلات الدم haemolysin ومنها streptolysin, haemolysin, B - hemolytic وهى تقوم بتكسير كرات الدم الحمراء (عند حقنها فى الأرناب) وتسبب إتهاب الحلق واللوز، إتهابات روماتيزمية، وتلف للأنسجة الضامة بالمفاصل، وأنسجة القلب فيسبب الحمى الروماتيزمية. Rheumatic fever (كبر القلب وإتهاب المفاصل المؤقت).

ب- Leukocidin: وتهدم كرات الدم البيضاء وتتلطف على ٧٥ م°. ج - Necrotoxin: وهو يسبب موت موضعى فى الأرناب عند حقنه بالعضل أو فى أى نسيج آخر خاصة خلايا الكبد.

د - Lethal toxin: سبب موت الأرناب والفئران عند حقنه فى الوريد. هـ - Erythrogenic toxin: يسبب إتهابات فى الإنسان حيث يسبب طفحاً أحمر على الجلد، وهو ثابت حرارياً تقريباً.

و- إنزيمات منها: proteinase, amylase, lipase, nucleotidase, diphosphopyridine, fibrinolysin, desoxyribonuclease, Ribonuclease, hyaluronidase وهى إنزيمات تسهل إختراق الميكروب خلال أنسجة وأعضاء الحيوان المصاب.

وبجانب السموم الخارجية يوجد لدى السلالات توكسينات داخلية endotoxins تتميز بمقاومتها للحرارة، ولاينتج الميكروب توكسينات معوية enterotoxin تسبب تسمماً غذائياً.

### مصادر العدوى: Sources of causative organisms:

يصل الميكروب إلى اللبن مباشرة نتيجة إفرازه بكمية كبيرة فى حالات إتهاب الضرع، كما تنتقل العدوى عن طريق إفرازات الأنف، الحلق، الأدوات الملوثة بهذه الإفرازات، الهواء وعن طريق إستهلاك اللبن الخام والأغذية المتداولة بحاملى الميكروب. ويدخل الميكروب الجسم عن طريق الجلد والجروح، الأغشية المخاطية، وكذا عن طريق الأمعاء مع الغذاء وبنفاذه فى أنسجة الجسم.

مدة الحضانة Incubation period : ٢ : ٧ أيام.

### أعراض المرض: Symptoms

بنفاذ الميكروب خلال الجلد والأنسجة فإنه يؤدي إلى التهاب فى الغدد الليمفاوية الخاصة بالزور، وأحياناً يسبب خراجاً حول اللوزتين مع ارتفاع الحرارة بصورة غير منتظمة، وظهور طفح جلدى دموى erythema على الرقبة والصدر.

وفى حالات العدوى الشديدة، أو إستمرار العدوى تحدث بعض المضاعفات منها التهاب صديدى بالأذن الوسطى و التهاب بالقلب والكلى، وتسمم دموى. والمرضى معدى ويصيب الأطفال من عمر ٢-١٢ سنة ويسبب الفشل الكلوى المؤقت Streptococcal glum erulonephritis.

### المناعة Immunity

يمكن التحصين حقناً بالـ antitoxin فهذا التحصين يعطى مناعة مستمرة تقريباً من المرض، أما المناعة المكتسبة بعد الإصابة فهي منخفضة أو مدتها قصيرة حيث تحدث نكسات من التهاب الزور

### الوقاية والعلاج: prophylaxis

إستبعاد اللبن الناتج من حيوانات مصابة والذى يظهر عليه صفات غير طبيعية abnormal معاملة اللبن ومنتجاته معاملة حرارية كافية ودرجة حرارة أعلى من ٦٠ م° كافية للقضاء على الميكروب، حفظ اللبن على حرارة منخفضة (٧ م°) مع تجنب تلوث اللبن ومنتجاته بالمواد البرازية.

العناية بالصحة الشخصية للعاملين فى مجال الألبان والأغذية والفحص الدورى، عزل المرضى وعلاجهم، إستخدام المضادات الحيوية بعد العمليات الجراحية، تطهير الأدوات والمعدات المستخدمة فى تداول اللبن ومنتجاته.

### ii - أمراض ناتجة عن St. agalactia

يوجد من هذا الميكروب سلالات آدمية وأخرى حيوانية، يختلف كل منهما عن الآخر فى بعض الصفات مثل إنتاج الصبغات، وتخمر اللاكتوز، وإنتاج إنزيم  $\beta$ -lactosiatase (السلالات الأدمية +، -، - على الترتيب وعكس ذلك فى السلالات الحيوانية).

وتسبب السلالات الحيوانية إتهاب الضرع عند الماشية، ومما يساعد على إنتشار هذا المرض بين قطعان الماشية إستخدام ماكينات الحلابة إذ تساعد على نقل الميكروب إلى اللبن والحيوانات الأخرى نتيجة إستخدام أكواب الحلمات الملوثة من حيوان مصاب.

وتسبب السلالات الأدمية حالات مرضيه عند الإنسان عند تعاطيه اللبن ناتجة من حيوانات مصابة بهذه السلالات أو عن طريق الحلابين والكلافين الحاملين لهذه السلالات، وتحدث الأصابة عن طريق الجهاز الهضمى ومن أعراض الأصابة الأتهاب الرئوى، إتهاب المفاصل، إتهاب الجهاز التناسلى للأنثى، كما يحدث تسمم دموى لدى الأطفال حديثى الولادة.

ب- التسمم الغذائى الناتج عن مجموعة البكتريا السبحية البرازية *Enterococcus faecalis*

البكتريا المسببه: *Causative bacteria*

نوعاً من بكتريا تابعة لمجموعة *Enterococcus streptococci* ومنها:

*Faecal streptococci* أو ما يطلق عليها مجموعة *Str. Faecium*, *Str. Faecalis*

ومن خواص أفراد هذه المجموعه:

الخواص المورفولوجية والمزرعية:

تتميز افراد هذه المجموعة بإن خلاياها بيضاوية فى أزواج أو سلاسل قصيرة، قطر خلاياها ٠,٥ - ١ ميكرون، بعض أفرادها عالية الحركة، وتعطى على البيئة الصلبة نموات رقيقة ناعمه، وفى البيئة السائلة تعطى تعكير وترسيب، كما تنتج صبغات صفراء.

المقاومه *Resistance*

تقاوم ٦٠ م° / ٣٠ د ويمكنها النمو فى بيئة مرق ٦,٥% ملح طعام pH ٩,٦ وحرارة من ١٠ - ٤٥ م°.

ولها القدرة على النمو على بيئة آجار الدم المحتوية ٤٠٪ صفراء أو ما يعادلها من أملاح الصفراء، وهذا كله يميز أفراد هذه المجموعة عن بقية أفراد مجموعات هذا الجنس، وتقاوم الجفاف وتركيز من ملح الطعام حتى ١٠٪.

### الخواص التخمرية Fermentation properties

تخمر الجلوكوز، المالتوز، اللاكتوز، المانيتول مع إنتاج حمض، كما تختزل وتجن عباد الشمس في وجود ٠,١٪ أزرق الميثيلين، وتنتزع CO<sub>2</sub> من الحمض الأميني تيروسين، وتنتج الأمونيا من الأرجنين، ومنها أنواع محللة للدم مثل *Str. faecalis var. zymogenes* وأخرى تسيل الجيلاتين مثل *Str. faecalis var. liquefaciens*.

### إنتاج السموم Toxin production

تسبب الأنواع التابعة لهذه المجموعة نوعاً من التسمم الغذائي، إذ تنتج نواتج تمثيل سامه إنزيمية في اللبن ومنتجاته مثل إنزيم (TNax) *thermonuclease* وقد أمكن التحقق من ذلك بحيوانات التجارب.

### مصادر العدوى:

تعيش أفراد هذه المجموعة في القناة الهضمية للإنسان والحيوانات ذات الدم الدافئ، وتوجد في أمعاء الأطفال بأعداد أكبر من *E.coli* ويعتبر اللبن الخام ومنتجاته والبيض واللحوم خاصة المشوية على الفحم واللبن المبخر من مصادر العدوى بهذه البكتيريا، وعزلها من الغذاء يدل على تلوثه بمواد برازية. وقد حدث تسمم منها عن طريق الجبن واللبن المبخر.

مدة الحضانه: ٦ - ١٢ ساعة

أعراض المرض: غثيان وأحياناً قي وتقلصات وآلام في البطن، وفترة المرض ١ - ٢ يوم وعموماً فهي تشبه أعراض التسمم العفودي ولكن بدرجة أخف.

الوقاية:

منع تلوث اللبن ومنتجاته بالغايط ومعاملتها حرارياً.

## ٤- التسمم الغذائي والأمراض الناتجة عن بعض البكتيريا التابعة لعائلة

### Bacillaceae

من الأجناس التابعة لهذه العائلة، والتي يسبب بعض أنواعها تسمماً غذائياً:

١- جنس *Clostridium* ومن أنواعه:

أ- *Clo. botulinum* ويسبب التسمم البتيوليني،

ب- *Clo. Perfringens* ويسبب التسمم البرفرنجي.

٢- جنس *Bacillus* ومن أنواعه *Bacillus cereus* ويسبب التسمم الباسيلي

### أولاً: التسمم الناتج عن جنس كوليستريدم *Clostridium*

أ- التسمم البتيوليني (المنباري) (*Botulinum food poisoning (botulism)*)

مقدمة:

يعتبر التسمم البتيوليني من أخطر أنواع التسمم الغذائي، إلا أنه أقل إنتشاراً في العالم، وكلمة *botulism* مشتقة من الكلمة اللاتينية *batulus* بمعنى سجق؛ إذ كان السجق من أوائل الأغذية التي كانت سبباً في حدوث المرض.

البكتيريا المسببة للمرض *Causative bacteria*

بكتريا *Clo. botulinum* هي مسببة التسمم البتيوليني، ويوجد من هذه البكتيريا ثمانية أنواع (مصلية) سيرولوجية Serological types هي G. F. E. D. C<sub>1</sub> B. A وجميعها سامة للإنسان عدا G. D. C فهي لا تسبب تسمماً للإنسان، ولكن تسمم الطيور والماشية، ويبين الجدول (١١) بعض خواص هذه الأنواع.

جدول (١١) خواص الأنواع السيرولوجية لبكتريا *Clo. botulinum*

| النوع | الخواص                                                                                                                                                                                 |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A     | أكثر الأنواع سمية للإنسان، جميع سلالاته محللة للبروتين وتسبب عفونه تؤدي لظهور رائحة كريهة في الأغذية البروتينية، جراثيمه مقاومة للحرارة، ينتج توكسين يتلف بالتسخين (٨٠ م° / ٥ - ٦ د°). |

| النوع                           | الخواص                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| B                               | أقل سمية للإنسان، بعض سلالاته محلله للبروتين مسببة عفونه ورائحة كريهه، أما غير المحلله فلا تسبب عفونه، جراثيمه مقاومة للحرارة مثل نوع ٨، وينتج توكسين يتلف بالتسخين (٩٠ م°/١٥ د)، وقد يحدث شفاء في حالة حدوث التسمم به حتى عند وجود كمية محسوسة منه في الدم. |
| C <sub>1</sub> , C <sub>2</sub> | غير محلل للبروتين، لا يستطيع تحلل أو تجبن بياض البيض egg white.                                                                                                                                                                                              |
| D                               | مثل C.                                                                                                                                                                                                                                                       |
| E                               | سام للإنسان (مصدره الأسماك ومنتجاتها) وجميع سلالاته غير محلله للبروتين، جراثيمه أقل مقاومة للحرارة.                                                                                                                                                          |
| F                               | سام للإنسان، بعض سلالاته محلله للبروتين وتسبب عفونه ورائحة كريهه في الأغذية البروتينيه وبعضها غير محلل للبروتين.                                                                                                                                             |
| G                               | غير معروف تماما.                                                                                                                                                                                                                                             |

## مصادر العدوى:

التربة وأمعاء الإنسان وبعض الحيوانات. ويصل إلى اللبن من البراز والتربة والعليقة.

## الخواص المورفولوجية والمزرعية Morphological and cultivation properties

عصوى (طوله ٣ : ٨ ميكرون وعرضه ٠,٣ - ٠,٥ ميكرون)، وأحياناً يوجد في أشكال قصيرة. للخلية ٤ - ٣٠ سوط، متحرك في درجة حرارة ٢٠ - ٢٥ م°، لاهوائى حتماً لذا يسبب متاعب في الألبان المعلبة canned milk، كما يسبب الإنتفاخ المتأخر في الجبن. والميكروب موجب لصبغة جرام، متجراثم حيث يكون جراثيم طرفية أو قريبه من طرف الخلية لتعطى للخلية مظهر مضرب البيض.

الحرارة الملائمه للنمو (١١ - ٤٨ م°)، وتختلف درجة الحرارة المثلى باختلاف السلالة، فهي ٣٥ م° للسلالات المحلله للبروتين، ٢٦ - ٢٨ م° للسلالات غير المحلله للبروتين.

والأس الأيدروجيني (pH) له قريبه من التعادل (٧,٤ - ٧,٦) والنشاط المائى aw ٠,٩٣ ينمو على جميع البيئات العادية ويختلف شكل النمو باختلاف نوع البيئة، فعلى

بيئة آجار الدم تعطى مستعمرات غير منتظمة خيطيه محاطة بمنطقة تحلل، وفي مزارع الأجار ذات الوخذ العميق agar stab تشبه المستعمرات كرات القطن، وتكون تجمعات متراكمه compact clusters بها خيوط تشبه الأسواط، وعلى بيئة الجيلاتين تكون مستعمرات شفافة محاطه بمساحات صغيرة متميعة Liquefaction.

### الخواص التخمرية Fermentation properties

النوعان A, B يحلان البروتين في البيئة السائلة، تسيل الجيلاتين، تنتج H<sub>2</sub>S وأمونيا وأمينات طيارة وكيتونات وكحولات وأحماض (خليك - لاكتيك - بيوتريك) وتحدث ببتنة peptinization للبن مع تكوين غاز، وتخمر الجلوكوز والليفولوز، المالتوز، الجلسرين مع إنتاج حمض وغاز.

### إنتاج السموم Toxin production

جميع سلالات *Clo. botulinum* تنتج سموماً خارجية وهي توكسينات عصبية neurotoxins قوية جداً تؤدي إلى الوفاة، وتتكون هذه التوكسينات في الغذاء، وتمتص أساساً في الأمعاء، وعندما يصل التوكسين مجرى الدم فإنه يدخل الجهاز العصبي الطرفي، ويمنع إفراز acetylcholine المسئول عن نقل الإشارات أو الرسائل العصبية، مما يؤدي إلى تقلص العضلات (الليفية العضلية) فيسبب شلل العضلات، ويكون الشلل واضحاً في حالة التسمم الشديد، وتحدث الوفاة نتيجة شلل الجهاز التنفسي في خلال ٣ - ٦ أيام، ويمكن الحصول على التوكسين في صورة متبلورة وهو من أشد التوكسينات سمية، والتوكسين يتميز عن توكسينات التيتانوس والدفتريا بأنه يقاوم العصارة المعدية ويمتص سليماً، والتوكسين الذي ينتجه النوع A يكفي منه ١ مجم لقتل ١٠ فأراً، والجرعة اللازمة لتسمم الإنسان ٠,١ µg، والتوكسين يشبه في نشاطه نشاط الإنزيمات، إذ يؤدي لحدوث تحللات في جسم الحيوان، ينشأ عنها مجموعة من المواد السامة، ينتج عنها علامات التسمم الخاصة بهذا الميكروب.

والتوكسين عبارة عن جلوبولين لا يتغير بالتبلور، ويتكون من سلسلة ببتيديه منفردة مكونه من ١٩ حمض أميني، وزنها الجزيئي ١٥٠,٠٠٠ دالتون.

وبالنسبة لأنواع السامه للإنسان ( A , B , E , F ) يلاحظ أن:

| السلاطات المحلله للبروتين BEF                                                                                                                                  | السلاطات المحلله للبروتين ABF                                                                                                                                        |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| فإن سلسله السم الببتيديه تفرز كامله فى البيئه (١٥٠,٠٠٠ دالتون)، وتسمى فى هذه الحاله توكسينات غير نشطه، وتصبح نشطة وسامه بمعاملتها بأنزيمات البروتينيز الخارجيه | تنتج إنزيمات (بروتينيز) داخلية تحلل التوكسين الناتج (١٥٠,٠٠٠ دالتون) إلى:<br>- سلسله ثقيله وزنها الجزيئى ١٠٠,٠٠٠ دالتون<br>- سلسله خفيفة وزنها الجزيئى ٥٠,٠٠٠ دالتون |

وتتأثر التوكسينات بالحرارة، حيث يتم تكسيرها وتحللها بالحرارة thermolabile.

وللتوكسين صفات أنتيجينية، فعندما يصل إلى الدم يدفع الجسم إلى إنتاج أجسام مضادة (مضادات توكسينيه) نوعيه تناسب نوع التوكسين المحقون، وتحضر التوكسينات toxoids لبعض الأنواع لإستخدامها لقاحاً للعاملين فى مجال الأغذيه، حيث أنها (التوكسينات) تحفز الجسم على إنتاج مضادات للتوكسين تعادل التوكسين الميكروبي المتكون بجسم العائل.

ويتأثر إنتاج التوكسين فى الغذاء بعوامل منها:

- تركيب الغذاء أو بيئة النمو: فتشجع البيئات المحتويه على لبن أو كازين على إنتاج التوكسين.
- الأس الأيدروجينى pH: تشجع قلته الحموضه (إرتفاع pH) إنتاج التوكسين، فقد وجد أنه على pH ٤,٥ يمتنع إنتاج التوكسين فى معظم الأغذيه.
- الرطوبة: يتوقف إنتاج التوكسين بإنخفاض رطوبة الغذاء عن ٣٠٪.
- ملح الطعام: يمتنع نمو الميكروب وإنتاج التوكسين فى وجود ٦ - ٨٪ ملح طعام.
- الحرارة: الحرارة المثلى لنمو السلاطات المحلله للبروتين وإنتاج التوكسين ٣٥ م° أما الحرارة المثلى لنمو السلاطات غير المحلله للبروتين فهى ٢٦ - ٢٨ م°.

ملحوظه:

يضم التسمم البتيولينى أربعة أنواع:

١- التسمم الكلاسيكى المحمول بالغذاء: classical food borne botulism

يحدث نتيجة تناول سماً مكوناً بالغذاء

٢- التسمم الجرحي: Wound botulism

يحدث نتيجة إفراز السم في الجرح الملوث ويعتبر ذلك النوع أقل شيوعاً.

٣- التسمم غير المحدد Undetermined botulism

يحدث في الأفراد الأكبر من عام، ولا يكون الغذاء أو الجرح مصدراً لحدوثه، حيث يفرز السم في الأمعاء بصورة مشابهة لبوتولينوم الرضع أي عقب نمو وتكاثر الميكروب.

٤- تسمم الرضع Infant botulism

ويحدث نتيجة إفراز السم في القناة المعوية للرضع عقب نمو وتكاثر الميكروب .

ويعتبر النوع الكلاسيكي وهو يصيب الكبار adult botulism

وتسمم الرضع البتولينيني infant botulism أكثرها شيوعاً. ويختلف كل منهما عن

الأخر من حيث كيفية الإصابة وأعراض الإصابة.

أ- من حيث كيفية الإصابة:

في البالغين تحدث الإصابة نتيجة تناول غذاء يحتوي توكسين سبق إفرازه في الغذاء بواسطة الميكروب أي *in vitro* إذ أن الحموضة في معدة البالغين لا تسمح بنمو الجراثيم وإنتاج التوكسين، كما أن المنافسة الميكروبية في الأمعاء تحد من نمو *Clo. botulinum*. أما في الأطفال فيحدث التسمم نتيجة تناول جراثيم الميكروب التي تستوطن الأمعاء وينتج التوكسين *in vivo* عقب إنبات الجراثيم، إذ أن حموضة معدة الأطفال قريه من التعادل فتشجع نمو الميكروب وإنتاج التوكسين، هذا بجانب عدم وجود فلورا طبيعيه كافية لمنافسة الميكروب، إلا أن الرضاعة الطبيعيه للطفل قد تحمي الطفل من نمو الميكروب في معدته، إذ أن لبن الأم يحتوي أجساماً مضادة تعمل على تجمع الميكروب *agglutination* وبالتالي قد تؤخر من ظهور أعراض المرض، ويلاحظ أن الأطفال الأكبر سناً أقل تعرضاً للإصابة نظراً لإكتمال الفلورا الطبيعيه في أمعائهم، والتي تعوق نمو الميكروب وإنبات الجراثيم وإنتاج التوكسين.

## ب- من حيث أعراض الأصابة

تتمثل الأعراض عند الباغين في اضطراب الجهاز الهضمي غثيان - قي - إسهال ثم إمساك - صداع - صعوبة البلع - صعوبة الكلام - جفاف الفم والحلق - إنتفاخ اللسان - شلل العضلات الإرادية وينتشر الشلل إلى الجهاز التنفسي والقلب وتحدث الوفاة لفشل الجهاز التنفسي وتحدث الوفاة في حالة التسمم الشديد في بحر ٣ - ٦ أيام من تناول الغذاء المحتوى على التوكسين.

أما أعراض الأصابة في الأطفال فتتمثل في الضعف وعدم القدرة على الرضاعة، فقد السيطرة على الرأس والأمسك. وفي المراحل الشديدة من المرض توجد أعداد كبيرة من الجراثيم في براز الأطفال، وعندما تتحسن حاله المرضيه تقل هذه الأعداد، وعادة يصاب الطفل الرضيع (أقل من سنه) بأعراض الموت الفجائى sudden death ويطلق عليه cold death نتيجة شلل عضلات التنفس.

## التركيب الأنتيجينى Antigenic structure

يتمثل أساساً في الجسمى somatic (0) antigen والأنتيجين السوطى flagella or

(H) antigen

## مصادر العدوى: Sources of infection

يعتبر الماء والهواء من أهم مصادر هذا الميكروب خاصة المستنقعات الوحليه (ذات الوحل)، كما يوجد في أمعاء الأنسان والحيوان، ويرتبط التسمم بالأغذية التى توفر ظروفاً غير هوائيه كالمعلبات، وفي دراسة عن الأغذية المسئوله عن حالات التسمم البتيولينى وجد أن الخضروات تمثل ٥٦٪ من حالات التسمم، الأسماك ومنتجاتها ١٤٪، الفواكه ١٠٪، اللحم ٣٪، اللبن ومنتجاته ٢٪ ومن ذلك نرى أن اللبن ومنتجاته ليست مصدر خطورة لهذا الميكروب، إذ أن اللبن السائل ليس وسطاً ملائماً لنموه لأن الميكروب لا هوائى، كما أن الألبان المتخمرة ليست وسطاً ملائماً لنموه، إذ أن الميكروب لا يتحمل (pH المنخفضه) ولكن قد يسود الميكروب في المنتجات اللبنيه المعلبه مثل الألبان المركزة والجبن المطبوخ.

## المقاومة Resistance

تقتل الخلايا الخضرية على  $80^{\circ}\text{م} / 30$  د بينما الجراثيم يمكنها مقاومة الغليان لمدة 6 ساعات،  $115^{\circ}\text{م} / 40$  د،  $120^{\circ}\text{م} / 3$  : 22 د، وتبقى الجراثيم في القطع الكبيرة من اللحم، وكذا المعلبات حتى بعد التعقيم ( $120^{\circ}\text{م} / 15$  د)، ويمكنها البقاء في محلول فينول 5% لمدة 24 ساعة، وتعيش في المزرعة البكتيرية لمدة عام، والتركيز المرتفع من الملح أو السكر يمنع نمو الميكروب أما بالنسبة للتوكسين فهو غير مقاوم للحرارة إذ يوقف الغليان / 15 د مفعول السم بينما يظل الميكروب مقاوماً للحرارة كما أن السم غير ثابت عند pH أعلى من 6,8، ويتلف في الجبن بمعاملتها بأشعة جاما ( $7,3$  ميغاراد Mrad)، ويظل السم في الغذاء فترة طويلة عند الحفظ على حرارة منخفضة.

## مدة الحضانه incubation period:

12 : 96 ساعة ومعدل الوفاة mortality rate عالي جداً.

## أعراض المرض Symptoms:

تحدث العدوى بواسطة سم خارجي، يمتص في الأمعاء وينتقل إلى الدم ويؤثر على نخاع العظام والأوعية الدموية والقلب، وكان يعتقد أن التسمم البتيولينى ذو طبيعة سمية فقط، ولكن ثبت أنه يؤثر على عديد من أعضاء الجسم، وقد سبق الحديث عن الأعراض ومقارنة بينها عند البالغين والأطفال.

## المناعة Immunity:

الأصابة بالمرض (بالتسمم) لاتعطى مناعة لرجوعه The illness does not give immunity for reoccurrence.

## الوقاية والعلاج: prophylaxis

تجنب تعاطى اللحوم والأسماك المشوية، وكذا الأغذية المعلبة المنتفخة العلبه وكذا المجمدة (خام أو مطبوخة) التي تم تسييحها وحفظها على حرارة الغرفة، مع غلى الغذاء المشكوك فيه لفترة لاتقل عن 15 د، حيث يتم تكسير وتحلل التوكسين. وفى

حالات حدوث تسمم يمكن عمل غسيل للمعدة بمحلول قلوى مثل برمنجنات البوتاسيوم أو محلول الصودا (كربونات صوديوم) فمن المعروف أن السم غير ثابت على pH أعلى من ٦,٨ مع إعطاء مضاد للسم polyvalent botulism antitoxin للأنواع A B E F (٥٠٠,٠٠٠ : ١٠٠٠,٠٠٠ وحدة) ويكرر الحقن بنفس الجرعة خلال ٥ - ١٠ ساعات إذا لم يحدث تحسن، وكل الأشخاص الذين تناولوا طعاماً حدث منه ولو حالة تسمم واحدة يعطوا جرعة من مضاد السم (٢٥٠٠٠ : ٥٠٠,٠٠٠ وحدة) كوقايه وقد يحقن المضاد مع محلول ملحي sline وجلوكوز وفيتامين C، الثيامين. وقد يصل معدل الوفاة إلى ١٠٪.

### ب- التسمم البرفرنجي *perfringens food poisoning* (التسمم الهدبي)

مقدمه:

أكتشف الميكروب المسبب للمرض عام ١٨٩٢، وأمكن عزله من ٧٠ - ١٠٠٪ من الأشخاص المصابين بالغرغرينا الغازيه *gas gangrene* أثناء الحربين العالميتين الأولى والثانية فالميكروب يوجد في أمعاء الحيوانات والإنسان، ويمكنه أن يعيش لسنوات في التربة في صورة متجرثمه، والتسمم الناتج عنه هي إصابه غذائيه فعند تناول الغذاء الملوث بالميكروب ينمو الميكروب في الأجزاء العليا من الأمعاء وينتج سمّاً معويّاً *enterotoxin* (سم داخلي).

### البكتريا المسببه للمرض *Causative bacteria*

هو *Clostridium perfringens* يوجد ستة أنواع من الميكروب A, B, C, D, E, F تختلف في خواصها السيرولوجيه ونوكسيناتها، ومن أهم هذه الأنواع الممرضه للإنسان النوعان A, C وفيما يلي أهم خواص أنواع هذه البكتريا (جدول ١٢).

جدول (١٢) خواص الأنواع السيرولوجيه لبكتريا *Clo. Perfringens*

| النوع | الخواص                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ٨     | سام للإنسان، كما يسبب الغرغرينا عندما ينفذ إلى الجسم عن طريق غير الفم أي عن طريق غير طريق الأمعاء. <i>parenteral rout</i> . يفرز توكسين من النوع α وهو سم معوي يسبب جميع حالات التسمم الغذائي، ويحدث وفاة لكبار السن والضعفاء، والسم غير مقاوم للحرارة يتلف على ٦٠ م° / ١٠ د، يقاوم إنزيم التربسين، كيموتربسين، البايابين |

| النوع | الخواص                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| B     | مسئول عن الدوسنتاريا في الخرفان وبعض الحيوانات الأخرى                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| C     | يسبب نزيفا دمويا haemorrhagic ونزيفا معويا enterotoxaemia فى الماعز والغنم، ونادرا ما يصيب الإنسان ولكنه أكثر سمية من النوع A حيث يفرز نوعان من السموم $\beta$ و $\alpha$ . ويتميز السم $\beta$ بأنه أكثر مقاومه للحرارة، ويسبب تليف المعاء، وتصل معدل الوفاة ٣٥ - ٤٥٪، كما أنه يحدث تغيرات كبيرة فى ضغط دم الحيوانات المختبرة قد تنتهى بتوقف القلب، وتغيرات فى أنويه الخلايا الدمويه وحيدة النوايا monocytes. |
| D     | يسبب تسمما معويا enterotoxaemia فى الإنسان والحيوان                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| E     | يسبب تسمما معويا enterotoxaemia فى الخرفان والعجول                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| F     | مسئول عن إلتهاب الأمعاء وموت أنسجتها                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

### الخواص المورفولوجية والمزرعية Morphological and cultivation properties

- الميكروب عصوى طوله (٤ - ٨  $\mu$  ميكرون) وعرضه (١ - ١,٥  $\mu$  ميكرون)، بنهايات مستديرة.
- متجرتم يعطى جراثيم بيضاويه مركزيه أو قريبه من المركز.
- تعطى المزارع الحديثه جرام موجب والمزارع القديمه جرام سالب.
- أقل حاجة للظروف اللاهوائيه Less anaerobic عن غيره من البكتريا المسببه للغرغرينا.
- لاينمو على أقل من ١٥°م، ولا أكثر من ٥٠ م والحرارة المثلى ٣٥ - ٣٧°م.
- الأس الأيدروجينى (pH) الأمثل ٦ - ٨، ويمكنه النمو على ٥ - ٩ (pH).

ينمو على البيئات الطبيعية التى تستخدم فى نمو البكتريا اللاهوائيه، وفى مزارع الأجار ذات الوخذ العميق تعطى مستعمرات تشبه القرص أو حبات العدس، وعلى بيئة أجار الدم المحتويه جلوكوز تعطى مستعمرات رمادية ناعمه تشبه القرص ذات مركز مرتفع.

### المقاومه Resistance

الميكروب مقاوم للتجميد (- ١٥ إلى - ٢٠°م) ومقاوم نسبياً للحرارة، والخلايا الخضريه أكثر حساسيه لفوق أكسيد الأيدروجين والفينول المستخدم فى التطهير ويمكن تثبيط نموها بتركيز ٦٪ ملح طعام والجراثيم تقاوم الغليان لمدة ٨ - ٩ د.

## الخواص التخمرية Fermentation properties

يجبن سيرم الدم والبيومين البيض، وفي بيئة اللحم ينتج أحماضاً مثل البيوتريك والخليك وكمية كبيرة من الغازات ( $H_2$ ,  $CO_2$ ,  $SH_2$ ,  $NH_3$ ) وينتج أمينات طيارة والأدهيدات وكتونات، ويخمر الجلوكوز، الليفلوز، الجالاكتوز، المالتوز، السكروز، اللاكتوز، الجليكوجين مع إنتاج حمض وغاز، ولايخمر المانيتول، ويسيل الجيلاتين ببطء، ويختزل النترات لكنه لا يكون إندولا أو يكونه في صورة آثار.

## إنتاج السموم Toxin production

عند تناول غذاء به أعداد كبيرة من الخلايا الخضرية الحية ( $10^6 - 10^8$ ) خليه خضرية/ جم) فإن هذه الخلايا تتكاثر داخل الأمعاء وتكون جراثيم، وأثناء تكوين الجراثيم يتكون السم داخل الجراثيم ثم تتحلل جدر الجراثيم داخل الأمعاء لينطلق منها السم. ويلاحظ أن السم لا يتكون أثناء تكوين الجراثيم خارج جسم العائل. ومن ذلك نرى طبيعة التسمم الغذائي البرفرنجي يختلف عن التسمم البنشيويني والتسمم العنقودي، إذ أنه في التسمم البرفرنجي تتكون الجراثيم داخل جسم العائل *in vivo* ويتكون السم داخل هذه الجراثيم ثم تتحلل جدر الجراثيم وينطلق السم إلى الأمعاء، أما في التسمم البنشيويني والتسمم العنقودي يفتقرن التسمم بتواجد التوكسين في الغذاء *in vitro* الذي يتناوله الإنسان، والسم يعرف باسم  $\alpha$  toxin وهو أهم أنواع السموم التي ينتجها الميكروب، وهو بروتين إنزيمي معقد وزنه الجزيئي 35,000 دالتون، له تأثيرات عديدة فهو مميت، محلل للدم haemolysis كما أنه يسبب موت موضعي للأنسجة necrotic كما أنه توكسين عصبي ويحتوى عدة أنزيمات منها:

Collagenase, prateinase, lecithinase, desoxyribonuclase, gelatinase.

hyaluronidase ومادة تحلل الفيبرين fibrinolysin لذا كان لهذا السم عدة تأثيرات بيولوجية منها:

١- يحدث إضطراباً للخلايا الطلانية والأمعاء، حيث يثبط إمتصاص الجلوكوز ويزيد من إفراز الماء وأيونات  $Na^+$ ,  $Cl^-$  مما يؤدي لزيادة كبيرة في حركة السوائل وتجمعها في تجويف الأمعاء وبالتالي حدوث الأسهال، ويفرز التوكسين في براز المصاب (٣ - ١٦  $\mu g$  / جم براز).

٢- يتسبب فى الموت الموضعى necrotic للأنسجة وذلك نتيجة للعمل المشترك لكل من Collagenase, lecithinase, hyaluronidase حيث يتلف Collagenase, lecithinase, hyaluronidase الأنسجة الرابطة للعضلات، ويقوم إنزيم lecithinase بتحلل الليثسين الموجود فى أغشية العضلات وكذا فى الخلايا الدمويه الحمراء الموجودة فى النسيج الضام وهذا كله يودى إلى زيادة نفاذيه الأوعيه الدمويه الصغيره وبالتالي حدوث الغرغرينا، كما تسبب هذه التغيرات تقلص العضلات الملساء مثل عضلات القصبات الهوائيه والرئتين والقلب والرحم والقناة الهضمية، وتشويش المراكز العصبية disturbance of the nerve centers ويحدث إختناق نتيجة هدم كرات الدم الحمراء.

#### مصادر العدوى: Sources of infection

تعتبر التربه وامعاء الإنسان والحيوان من أهم مصادر العدوى، كما تعتبر الأغذية المعبأه والخضروات والأسماك واللحوم أكثر الأغذية شيوعاً فى هذا التسمم خاصة اللحوم التى تم طهيها ثم تركت تبرد ببطء مع حفظها بعض الوقت قبل تناولها.

#### مدة الحضانه: incubation period:

٨ - ٢٤ ساعة بعد تناول الطعام الملوث.

#### أعراض المرض Symptoms:

آلام فى البطن - إسهال - غثيان - إجهاد لكبار السن والأطفال، وقد تكون الأعراض مصحوبه بحمى وقئ مما يسبب الوفاة أحياناً بين المرضى كبار السن والضعفاء نتيجة الجفاف، وتستمر الأعراض فترة قصيرة (حوالى يوم) وقد يصل معدل الوفاة إلى ٣٠ - ٤٠٪.

#### الوقاية والعلاج: prophylaxis

- ١- التبريد السريع للحوم المطهية (٥,٥ م° أو أقل) لمنع نمو الجراثيم والتكاثر.
- ٢- إعادة التسخين الكامل للأغذية المحفوظه بالتبريد لدرجة حرارة أعلى من ٦٥ م° قبل إستهلاكها للقضاء على ما قد يوجد من خلايا خضرية.

- ٣- بسترة اللبن على حرارة ٨٥ °م ومنع تلوثه بعد البسترة.
- ٤- النظافة الشخصية للعاملين في مجال إعداد وتداول الأغذية وتطهير الأواني بالمطهرات المناسبة.
- ٥- التحصين باستخدام التوكسيد toxoid المحضر من مزارع *Clo. Perfringens*.

## ثانياً أمراض وتسمم ناتج عن جنس *Bacillus*

### أ- التسمم الغذائي الباسيلي *Bacillus cereus* food poisoning

#### البكتريا المسببة للمرض *Causative bacteria*

*Bacillus cereus*: وهو منتشر في الطبيعة ويمكن عزله من عديد من المنتجات اللبنيه.

#### الخواص المورفولوجية والمزرعية *Morphological and cultivation properties*

عصوى متجرتم (جراثيم بيضاوية أو إسطوانية)، هوائى أو لاهوائى إختيارياً مقاوم للحرارة، المدى الحرارى له ١٠ - ٥٠ °م والحرارة المثلى ٢٨ - ٣٥ °م. مدى الـ pH ٤,٤ - ٩,٣، aw ٠,٩١٢. لاينمو فى وجود ١٠٪ ملح، الجراثيم مقاومة للحرارة، متحرك موجب لجرام.

#### الخواص التخمرية *Fermentation properties*

يخمر الجلوكوز لاهوائياً ويكون حمضاً، يحلل الجيلاتين والدم B- haemolysis يعطى إختباراً موجياً للكاتليز. وليس له القدرة على تكوين الحمض من المانيتول أو اللاكتوز، لاينتج الأندول. غالباً ما يختزل النترات.

#### إنتاج السموم *Toxin production*

يفرز السم فى الغذاء عند محتوى الجرام من الغذاء  $10^6 - 10^7$  CFU وتنتج السلالات المسببة للتسمم نوعين من السموم:

١- توكسينات خلويه Cytotoxins منها:

Lecithinase (phospholipase c), hemolysin, protease, B - lactomase, cereolysin.

٢- **توكسينات معويه Enterotoxins:** وهي عبارة عن ببتيد وزنه الجزيئي ٥٠,٠٠٠ دالتون وهي المسئولة عن أعراض التسمم الغذائي وهي نوعان:

| توكسين معوي مسبب للقيء                                                                                                       | توكسين معوي مسبب للإسهال                                                                                                                      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ١- يحدث عقب تناول غذاء ملوث بالتوكسين، بمعنى أن التوكسين يكون في الغذاء ولم يقضى عليه أو على الميكروب المنتج له بعملية الطهي | ١- يحدث عقب تناول غذاء ملوث بالجراثيم حيث تنمو الجراثيم في القناة الهضمية وتنتج التوكسين                                                      |
| ٢- مقاوم للحرارة (١٢٠ م° / ٩٠ د) ومقاوم للتحلل بالبسيسين أو التريسين.                                                        | ٢- غير مقاوم للحرارة، ويتحلل بالتريسين                                                                                                        |
| ٣- أنتيجينات الأسواط (H) المسئولة عن التسمم القوي H.1, H.3, H.8                                                              | ٣- أنتيجينات الأسواط (II) المسئولة عن التسمم الأسهالي H.1, H.2, H.8                                                                           |
| ٤- أقصى إنتاج للتوكسين على حرارة ١٥ م° - ٥٠ م°                                                                               | ٤- أقصى إنتاج للتوكسين على حرارة ١٨ م° - ٤٣ م°                                                                                                |
| ٥- مدة الحضانه ١ - ٦ ساعات                                                                                                   | ٥- مدة الحضانه ١٨ - ١٦ ساعة                                                                                                                   |
| ٦- أعراض الإصابة: غثيان - نادرا ما يحدث إسهال أو ارتفاع في الحرارة، ويحدث الشفاء خلال ٢٤ ساعة، ولا يحدث مضاعفات              | ٦- أعراض الإصابة: غثيان - ألم في البطن مع تقلصات وإسهال مائي شديد مع ارتفاع الحرارة، ونادرا ما يحدث قي ويحدث الشفاء خلال ٢٤ ساعة، دون مضاعفات |

### التركيب الأنتيجيني Antigenic structure

الأنتيجين السوطي flagella or (H) antigen

### مصادر العدوى: Sources of infection

الأرز المطبوخ - البطاطس الهروسة، الجبن المطبوخ، الألبان المكتفة، القشدة المبسترة، فقد أظهرت بعض الدراسات وجوده في ٣٥٪، ١٥٪ من عينات اللبن الخام و١٠٠٪ مبستر على التوالي، كما عزله البعض من لبن UHT ومصدره في اللبن الخام هو التلوث بالجراثيم من حلمة وجدل الحيوان، وكذا التلوث من التربة، ومن ألبان الحيوانات المصابه بالتهاب الضرع، إذ يسبب الميكروب مرض إلتهاب الضرع.

## الوقاية:

تبريد اللبن ومنتجاته أثناء التخزين والعناية أثناء النقل، تجنب التلوث من الجو، العناية بالشروط الصحية.

## ب- مرض الحمى الفحمية Anthrax

### مقدمه :

هذا المرض من الأمراض المعدية الحادة في الماشية، وينتقل من الحيوان إلى الإنسان عن طريق دخول الميكروب جسم الإنسان عبر الخدوش والجروح عند ملامسة الحيوانات المصابة أو جلودها أو دماها. ويعد هذا المرض من الأمراض التي يجب التبليغ عنها للسلطات الصحية. ويوجد نوعان من هذا المرض الأول يصيب الجلد cutaneous type ومدة حضائه ١٢ - ٢٤ ساعة، والثاني يصيب الرئة pulmonary type ويسبب الوفاة.

### الميكروب المسببه للمرض Causative bacteria

Bacillus anthracis: والأنواع الخضرية تتأثر بالبيطرة، أما المتجرثمه فيمكنها البقاء فيه ٢٤ عاماً وتباد بتسخين اللبن على ٩٠ م° / ٤٥ د أو بحرارة البخار ١٠٠ م° / ١٠ د.

### مصادر العدوى: Sources of infection

عن طريق اللحم meat borne نادراً ما ينتشر عن طريق اللبن، إذ أنه عند شدة إصابة الحيوان فإن الحيوان نادراً ما يفرز لبنه، وقد يموت الحيوان قبل وصول الميكروب إلى الضرع، وإن حدث أن أفرز الحيوان لبناً فإن اللبن الناتج يكون متغيراً بصورة تجعله غير صالح للإستهلاك، كما تقل كمية اللبن فجأة ولكن قد ينتقل جزء من هذا اللبن إلى ألبان ناتجة من حيوانات سليمة مما يسبب العدوى للإنسان.

### التشخيص: Diagnosis

فحص براز الشخص المصاب والحقن في خنزير غانا حيث يصاب يستعفن الدم septicemia الذي يعقبه الموت.

## الوقاية:

عدم استخدام لبن الحيوان المصاب - قتل الحيوانات المصابة - تطهير مخلفات الحيوانات المصابة - العناية الصحية وفي حالة حدوث أى حالة مرضية بين الحيوانات يتم وضع القطيع تحت الملاحظة الطبية لمدة أسبوعين على الأقل من تاريخ ظهور المرض، واثناء تلك الفترة يستبعد أى حيوان تظهر عليه أعراض المرض والتي تتميز بفقد الشهية، وإرتفاع درجة الحرارة. ولا بد من تحصين الحيوانات ضد المرض، مع التخلص من اللبن وعدم استخدامه لمد تتراوح من ٣ - ٣٠ يوماً بعد التحصين، ولذا يستحسن التحصين في فترة جفاف الحيوان.

٥- التسمم الغذائي الناشئ عن بعض البكتريا التابعة لعائلة *Micrococcaceae*

يتبع هذه العائلة ٣ أجناس *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Planococcus* وأفراد العائلة موجبه لصبغة جرام، كرويه منفردة أو فى أزواج أو أربع خلايا أو مجعته أو فى كتل غير منتظمة أو فى سلاسل؛ ومعظم الأجناس تكون صبغات حمراء وقرمزية صفراء وبرتقاليه غير ذائبه فى الماء.

وتسبب بعض الأنواع التابعة لهذ العائلة تسممات غذائية منها التسمم الغذائى العنقودى والبكتريا المسببة له *Staphylococcus aureus* وهى إحدى البكتريا التابعة لجنس *Staphylococcus*. وفيما يلي بعض خواص هذا الميكروب.

الخواص المورفولوجية والمزرعية *Morphological and cultivation properties*

الميكروب كروي (٠,٥ - ١,٥ µm) يوجد فى أزواج أو سلاسل قصيرة أو عناقيد، حيث تتكاثر خلاياه فى أكثر من إتجاه لتعطى تجمعات غير منتظمة ثلاثيه الأبعاد، موجب لجرام، غير متحرك، وغير متجرثم، هوائى ولاهوائى إختيارياً ولكن يفضل الظروف الهوائية، ينمو فى حرارة ما بين ٧ - ٤٢ م° (٣٧ م°) والـ pH ما بين ٤ - ١٠ (٦ - ٧)، خلاياه أصغر من *Micrococcus*، ينتج العديد منها صبغات ما بين الرمادى إلى صفراء أو برتقاليه، ويتأثر ذلك بظروف النمو، والمستعمرات ناعمة لامعة حجمها ٤ - ٦ مم، وفى بيئة المرق *broth* يتغير النمو من عكارة إلى راسب دقيق سهل نشره.

## الخواص التخمرية Fermentation properties

يحلل البروتين الحيواني (كازين - جيلاتين - فيبرين) دون إنتاج روائح غير مقبولة، يختزل النترات ويكون الأمونيا من الأرجنين، موجب للكتاليز، ينتج الحمض هوائياً أو لاهوائياً من عديد من السكريات، ومعظم النواتج النهائية من تمثيل الجلوكوز هي  $CO_2$  والخلات تحت الظروف الهوائية، واللاكتات تحت الظروف اللاهوائية ويحتاج الميكروب مصدراً عضوياً نيتروجينياً (أحماض أمينية) وفيتامينين أو أكثر للنمو في البيئة الصناعية.

## إنتاج السموم Toxin production

ينتج الميكروب سموماً تفرز خارج الخلية extracellular وهي نوعان:

أ- سموم خلوية cytotoxin: ومنها

Staphylosins ( $\alpha, \beta, \gamma, \delta$  haemolysins), fibrinolysin, lecithinase, coagulase, thermostable nuclease (TNase), leucocidin, necrotizing factor, lethal factor.

ب- سموم معوية Enterotoxin

تنتجها الخلايا في جميع مراحل النمو، وهي أكثر سموم هذه البكتريا أهمية. وهي عبارة عن بروتينات قاعدية بسيطة من سلسله فرديه منخفضة الوزن الجزيئ (٢٦٠٠٠ - ٢٩٠٠٠ دالتون)، والصورة النقية من هذه السموم مادة بيضاء زغبية fluffy هيجروسكوبيه قابلة للذوبان في الماء والمحاليل الملحية. والجرعة السامه ١٠٠ - ١٠٠٠ ng تبعاً لنوع السم. وهذه السموم توكسينات عصبية تؤثر على الجهاز العصبي المركزي، وتثير مراكز القي في المخ، ولا تؤثر على الأغشية المبطنه للقناة الهضمية، وهي سموم مقاومه للإنزيمات المحلله للبروتين (الرنين - البيسين - التريسين - الكيموتريسين - البايابين) مما يساعد على مرور التوكسين في القناة الهضمية والوصول إلى المواقع التي تؤثر عليها.

والسموم المعويه التي تنتجها هذه البكتريا ثابتة حرارياً لا تتلف بالغليان حتى ١٥ د، لذا لها القدرة على مقاومة المعاملات الحرارية للبن ومنتجاته. وهي تسبب

التهاباً بالمعدة والأمعاء. وتظهر هذه الأعراض في بحر ١ - ٦ ساعات من تناول طعام ملوث بالسّم.

ويتأثر إنتاج هذه التوكسينات بعدة عوامل من أهمها:

- نوع الغذاء: فإحتواء الغذاء على كمية كبيرة من البروتينات شجع إنتاج التوكسين.

- درجة الحرارة: فأنسب درجة حرارة لإنتاج التوكسينات ٤٠ م° (١٦ - ٤٦ م°).

- العدد الكلي للبكتريا في الغذاء: إذ تتكون هذه السموم بصورة أسرع في الألبان منخفضة العدد الكلي من الميكروبات إذ أن اللبن الأقل جودة نظراً لإحتوائه على كمية كبيرة من البكتريا فإنها تنافس *St. aureus* على الغذاء كما أنها تؤدي إلى زيادة الحموضه وهذه عوامل تعوق إنتاج التوكسينات المعويه.

أنواع التوكسينات المعويه التي تنتجها بكتريا *St. aureus*.

يوجد ثمانية أنواع مختلفة من هذه التوكسينات ذات خواص أنتيجينية مختلفة ويوضح الجدول التالي (١٣) هذه الأنواع

جدول (١٣) أنواع التوكسينات المعويه التي تنتجها بكتريا *St. aureus*

| النوع | خواصه                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A     | تنتجها السلالات المعزولة من الإنسان، وينتج بكميات كبيرة، ويعتبر أكثر التوكسينات شيوعاً في التسمم الغذائي، وهو يتكون من سلسلة ببتيديه (٢٣٩ - ٢٩٦ حمض أميني) وزنه الجزيئي ٣٤٠٠٠ دالتون والنم الحام يفقد نشاطه بالتسخين ١٠٠ م° / ١٣٠ د أما المستحضر النقي منه فيفقد نشاطه كلية بالتسخين لمدة دقيقة واحدة. يحكمه كروموسوم وينتج أثناء مرحلة النمو اللوغارتمي logarithmic.                                                                                                                                             |
| B     | يتميز بأرتفاع سميته وينتج في مرحلة الثبات من نمو الميكروب. ولايسبب حالات تسمم كبيرة حيث يفقد فاعليته نتيجة تفاعله مع بعض مكونات الغذاء مثل البوتاسيوم والكلور والفلور، هو يتكون أيضاً من سلسلة ببتيديه (٢٣٩ - ٢٩٦ حمض أميني) وزنه الجزيئي ٣٠٠٠٠ دالتون طرفها الأميني حمض الجلوتاميك وطرفها الكربوكسيلي حمض الليسين، وهو مقاوم للملح ١٠٪. ومقاوم للحرارة فالمستحضر النقي منه يفقد نشاطه كلية على ١٠٠ م° / ٨٥ د، لذا فبسترة اللبن غير كافية لهدم هذا التوكسين، يحكمه بلازميد وينتج أساساً في نهاية Stationary phase |

| النوع      | خواصه                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| C1, C2, C3 | وجميعها تنتج في نهاية مرحلة الثبات من نمو الميكروب Stationary phase ويحكمها بلازميدات وجميعها مقاومة للملح (١٠٪)، ومقاومة نسبياً للحرارة ٩٠ م° / ٣٠ د، وتختلف هذه المجموعة في وزنها الجزيئي ودرجة i.e.p<br>C1 وزنه الجزيئي ٣٤١٠٠ دالتون، i.e.p ٨,٦ pH<br>C2 وزنه الجزيئي ٣٤٠٠٠ دالتون، i.e.p ٧,٠ pH |
| D          | ينتج في مرحلة النمو اللوغاريتمي للميكروب وبكمية كبيرة ويلى توكسين ٨ في شدة سميته ويحكمه كروموسوم                                                                                                                                                                                                    |
| E          | يتكون من سلسلة ببتيديه (٢٣٩ - ٢٦٩ حمض أميني)                                                                                                                                                                                                                                                        |
| F          | أقل السموم الثمانية إنتشاراً. وحديثاً أمكن عزل I, II, G والمعلومات عنها محدودة                                                                                                                                                                                                                      |

### مصادر العدوى: Sources of infection

يعتبر الإنسان هو المصدر الأول لتلوث اللبن بهذا الميكروب، إذ يوجد الميكروب على الجلد وفي الأنف والجروح، كما أن حيوانات اللبن المصابه بالتهاب الضرع تحمل الميكروب في ضرعها إذ أنه مسئول عن هذا المرض. وعموماً فإن اللبن ومنتجاته واللحوم ومنتجاتها والأسماك والسلطات ومواد حشو المخبوزات من أكثر الأغذية المسببه للتسمم ويحدث التسمم عندما يتواجد الميكروب في الغذاء بمعدل ١٠<sup>٦</sup> خلية / مل أو جم أو أكثر.

### المقاومه Resistance

يتحمل نشاطاً مائياً منخفضاً (٠,٨٣ - ٠,٨٦ aw) ويقاوم العديد من المضادات الحيويه مثل البنسلين، ويقضى على الميكروب بتعرض الغذاء لإشعة جاما (٠,٣٧ - ٠,٤٨ Mrad) يتحمل الملوحة ينمو جيداً في ١٠٪ NaCl ونسبياً حتى ١٥٪ NaCl.

### أعراض التسمم Symptoms

زيادة إفراز اللعاب - غثيان - قيء - تقلصات في البطن - إسهال وقد يوجد دم ومواد مخاطية في البراز - صداع - تقلصات في العضلات - حمى - عرق - قشعريرة - إجهاد - ضعف النبض - إنخفاض ضغط الدم - صعوبة التنفس - الوفاة

نادرة في هذا التسمم. وتستمر الأعراض ٢٤ - ٤٨ ساعة ونادراً بضعة أيام، وعموماً يشفى المريض بدون مضاعفات.

المناعة Immunity: لا تنشأ مناعة عن الإصابة بالميكروب.

مدة الحضانه incubation period: ١- ٦ ساعات بمتوسط ٣ ساعات وقد تم تسجيل أقصر فترة حضانه (٣٠ د) وأطول فترة (٨ ساعات).

### الوقاية والعلاج: prophylaxis

- ١- عزل الحيوانات المصابه بالتهاب الضرع وإستبعاد ألبانها.
- ٢- منع الأشخاص المصابين (عمال - كلافين) من التعامل مع اللبن وكذا المصابين بجروح أو قروح أو خراجات.
- ٣- رغم أن الحرارة كافية للقضاء على الميكروب إلا أنها لا تهدم السم المعوى enterotoxin وعليه يجب معاملة اللبن حرارياً في بحر ساعات قليلة من إنتاجه، كما يجب التبريد الكافي للبن بعد الأنتاج مباشرة إلى ١٠ م° أو أقل وحفظه لحين بسترته فهذا يعوق من تكاثر البكتريا وبالتالي من إنتاج السم. كما أن سرعة تخمر اللبن من العوامل التي تقلل من فرصة نمو هذا الميكروب وإنتاج السم.
- ٤- في معظم الحالات لا يعطى علاج ماعدا في الحالات الشديدة حيث يعطى المريض محاليل ملحيه وذلك لإستعادة التوازن الملحي ومعالجة الجفاف.

## ٦- التسمم الغذائي الناتج عن بعض أفراد البكتريا التابعة لعائلة

### Enterobacteriaceae

مقدمه:

قد يطلق على هذه العائلة إسم enterobacteria إذ من أفرادها ما يستوطن القنساء الهضمية للإنسان والحيوانات الأخرى، ولكن منها أيضاً ما يرتبط بالنباتات والحبوب والتربه والماء، حيث توجد في صورة بكتريا تعفنيه أو متطفلة أو تعيش معيشة تكافلية. وتتميز أفراد العائلة بأنها سالبه لجرام - عصويه صغيرة - متحركة أو غير

متحركة، تخمر الجلوكوز وتنتج حمض أو حمض وغاز. والأفراد التابعه لهذه العائله هوائيه أو لاهوائيه إختيارياً بمعنى أنها:

أ- تحت الظروف الهوائيه فإنها تحصل على الطاقة اللازمه لها من المركبات العضويه مثل الكربوهيدرات عن طريق التنفس.

ب- أما تحت الظروف اللاهوائيه فإنها تحصل على الطاقة من تخمر السكريات عن طريق glycolytic pathway، وتتقسم التخمرات الناتجه تحت هذه الظروف إلى:

(أ) تخمر حمضى acid fermentation حيث تتخمر السكريات لتعطى حمض البيروفيك فقط.

(ب) تخمر حمضى مختلط: حيث ينحل جزء من حمض البيروفيك ليعطى خليطاً من أحماض عضويه وكحول إيثايل وهيدروجين وثانى أكسيد الكربون فقط mixed acid fermentation.

(ج) تخمر بيوتيني butanediol fermentation: حيث يتكون مركب 2- butanediol 3 بجانب المركبات السابقه فى (ب).

وبجانب الإختبارات الكيموحيويه والفسولوجيه المستخدمه فى تقسيم والتعرف على أجناس هذه العائله توجد الأختبارات السيرولوجيه seriological tests والتي تستخدم فيها الأنتيجينات للتعرف على أنواع البكتريا، ومن أنتيجينات هذه العائله:

أ- الأنتيجينات الجسميه (o) antigens: وهى عبارة عن سكريات عديدة polysaccharides توجد على الطبقة الخارجيه لجدار الخليه.

ب- الأنتيجينات الكبسوليه (k) antigens: وهى عبارة عن سكريات عديدة polysaccharides يطلق عليها capsular polysaccharides.

ج- الأنتيجينات السوطيه (H) antigens وهى عبارة عن مواد بروتينيه توجد على أسواط الخلية وتسمى أنتيجينات سوطيه flagella proteins.

وتضم هذه العائله ١٢ جنساً هى Escherchia, Enterobacter, Salmonella, Shigella, Yersinia, Klebsiella, Serratia, Proteus, Hafnia, Citobacter, Ewinia, Eduardsiella.

وجميع الأجناس السابقة عدا الجنس الأخرين يمكن إعتبارها مرتبطة باللبن ومنتجاته. ويبين الجدول التالي (١٤) أهم الفروق بين الأجناس الثمانية الأولى التابعة لهذه العائلة.

جدول (١٤) أهم الفروق بين الأجناس الثمانية الأولى التابعة لهذه العائلة

| أوجه الاختلاف                                                                                                                                                                                 |                                        |                |                                 | الجنس             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|----------------|---------------------------------|-------------------|
| أهم الأنواع وما تسببه من مرض أو عيوب                                                                                                                                                          | العائل<br>Habitat                      | نوع<br>التخمير | نوع العدوى<br>التي ينقلها اللبن |                   |
| <i>E. coli</i> : دليل على التلوث بالميكروبات المرضيه - الإسهال الصيفي - إصابة القناة البولية - بعضها تنتج توكسينات معويه                                                                      | أمعاء<br>الثدييات                      | M. A           | تسمم غذائي حقيقي                | <b>Escherchia</b> |
| <i>S. paratyphi</i> حمى التيفوئيد وباراتيفوئيد <i>S. enteritidis</i> تسبب تسمم غذائي يعترف بأسم <i>Salmonellasis</i> وهو يصيب المعدة والأمعاء ، وهو أقل خطورة من الحمى إلا أنه أكثر إنتشارا . | أمعاء<br>الثدييات                      | M. A           | عدوى الغذاء -<br>أمراض          | <b>Salmonella</b> |
| <i>S dysenteria</i> يسبب <i>Shigellasis</i> ( الدوسنتاريا الباسيلية )                                                                                                                         | أمعاء<br>الثدييات                      | M. A           | عدوى الغذاء                     | <b>Shigella</b>   |
| <i>Y. enterocolitica</i> أمراض الإسهال -<br><i>Y. pestis</i> الطاعون                                                                                                                          | أمعاء<br>الثدييات                      | M. A           | عدوى الغذاء                     | <b>Yersinia</b>   |
| متطفل على الإنسان والحيوان - يسبب أمراض القناة البولية - إسهال عند الأطفال                                                                                                                    | أمعاء<br>الثدييات<br>- تربيته -<br>ماء | M. A           | غير معروف<br>بالضبط             | <b>Proteus</b>    |
| <i>K. pneumoniae</i> تعفن الدم خاصة عند الأطفال <i>septicemia</i> أمراض الرئه خاصة عند الذين يعانون من التسمم الكحولي المزمن <i>chronic alcoholism</i>                                        | أمعاء<br>الثدييات -<br>تربيته - ماء    | B. N           | غير معروف<br>بالضبط             | <b>Klebsiella</b> |

| أوجه الاختلاف                                                                                |                         |                |                                 | الجنس        |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------|---------------------------------|--------------|
| أهم الأنواع وما تسببه من مرض أو عيوب                                                         | العائل<br>Habitate      | نوع<br>التخمير | نوع العدوى<br>التي ينقلها اللبن |              |
| <i>S. marscescens</i> بكتريا تعفنيه -<br>تصيب القناة البولية والتنفسية -<br>تكون صبغات حمراء | ماء - غذاء<br>-<br>تريه | B . N          | غير معروف<br>بالضبط             | Serratia     |
| <i>E. aerogenes</i> دليل التلوث -<br>إصابة القناة البولية                                    | براز                    | B . N          | غير معروف<br>بالضبط             | Enterobacter |

M . A : Mixed fermentation

B . N : Butanediol fermentation

ونتناول فيما يلي أهم الأمراض والتسمم الغذائي الناتج عن بعض أفراد البكتريا التابعة للأجناس الأربعة الأولى المذكوره بالجدول.

#### أ- التسمم الغذائي الناشئ عن بعض الأفراد التابعة لجنس *Escherchia*

مقدمه:

تمثل البكتريا التابعة لهذا الجنس جزءاً من الفلورا الطبيعية في الأمعاء الغليظة في الإنسان والحيوان ومعظم السلالات التابعة لهذا الجنس الموجودة في الأمعاء سلالات غير مرضيه، إلا أن بعض السلالات تستطيع أن تسبب عدوى معويه، وعدوى القناة البولية، وبعضها يسبب تسمماً غذائياً وأحياناً تسمماً دموي، ويلاحظ أن الأنواع المرضيه غالباً ما تستوطن الجزء العلوى من القناة الهضمية، بينما الأنواع غير المرضيه فغالباً ما تستوطن الجزء السفلى من الأمعاء ومن أنواعها:

*E. intermedia* , *E. freundi* , *E. coli*

ويعتبر *Escherchia coli* أهم البكتريا التابعة لهذا الجنس وهو أحد أفراد مجموعة الكوليفورم.

#### الخواص المورفولوجية والمزرعية Morphological and cultivation properties

بكتريا عصوية، فردية، سالبة لجرام، متحركة، غير متجرثمه، النطاق الحرارى لها ٤٠ - ١٠ م° (المثلى ٣٧ م°) ونطاق الأس الأيدروجينى (٤,٥ - ٨,٥) والمثلى (٧

– ٧,٥ pH)، تنمو على البيئات العادية على حرارة الغرفة ، ويكون النمو مرئياً بعد يومين من الزرع، والبكتريا التي مصدرها حيوانات الدم البارد تنمو على ٢٢-٣٧ °م ولا تنمو على ٤٢-٤٣ °م وتكون عكارة وراسب أسود عند نموها في مرق اللحم meat broth وتعطى مستعمرات قليلة التحذب رمادية نصف شفافه عند نموها على بيئة أجار بيتون اللحم كما يختلف لون المستعمرات باختلاف البيئة، فهي تعطى مستعمرات حمراء على بيئة ploskirev's medium ومستعمرات حمراء مع لمعان معدني على بيئة Endo's medium ومستعمرات ذات لون أزرق قاتم على بيئة Leven's.

### الخواص التخمرية Fermentation properties

لاتيسيل الجيلاتين، تنتج الإندول،  $H_2S$ ، تخثر اللين مع إنتاج حمض وغاز، تختزل النترات إلى نترت، تخمر السكريات مع إنتاج حمض وغاز، فتخمر الجلوكوز، الجالاكتوز، الرامينوز raminose الأرابينوز. الزيلوز Xylose، الليفولوز levulose والمانيتول. وأحياناً تخمر السكروز والرافينوز والجلسرين، وبالنسبة لإنتاج الأندول (+) وأحمر المثيل (+)، VP (-) وإستخدام السترات (-).

vp = voges ñ pros kauer reaction

### المقاومه: Resistance

يمكنها تحمل الظروف البيئية الخارجيه عدة شهور، تقتل بجميع وسائل التطهير كما يقضى عليها بالحرارة ٥٥ °م / ساعة، ٦٠ °م / ١٠ د. والكشف عنها يستخدم للتعرف على مدى العناية بالتطهير أو التلوث من مصادر برازيه ويعبر عن ذلك بما يعرف بأسم

coli titre: وهو أقل كميته من الماء (المادة الغذائيه) المحتويه على خلية واحدة

Coli index: وهو عدد خلايا *E. coli* الموجودة في لتر أو كجم من المادة الغذائيه.

### إنتاج التوكسين Toxin production

بعض السلالات المرضيه تكون سموماً داخلية endotoxin وتظهر بعد (٢ يوم)، كما تكون سموماً خارجيه عصبيه غير ثابتة حرارياً تتجمع في مزارع المرق broth culture بعد ٢ : ٤ أيام ولبعض السلالات خاصيه تحلل الدم haemolytic.

## التركيب الأنتيجيني Antigenic structure

يوجد لها ٣ أنواع من الأنتيجينات وهي:

- أنتيجينات جسميه مقاومه للحرارة ويتبعها حوالى ١٦٤ سلالة سيروولوجيه.
- K(Vi) أنتيجينات كبسولييه غير مقاومه للحرارة ويتبعها حوالى ١٠٠ سلالة سيروولوجيه.
- H أنتيجينات الأسواط غير مقاومه للحرارة ويتبعها حوالى ٥٦ سلالة سيروولوجيه.

### ميكانيكيه العدوى:

تقسم سلالات *E. coli*: المرضيه المعويه تبعاً لميكانيكيه العدوى إلى:

- أ- مجموعة مسؤولة عن التسمم بالتوكسين (التسمم المحمول بالغذاء) Food intoxication ويبينها الجدول (١٥) وهذه تشمل:
  - ١- التسمم الإيشريشى المعوى *Enterotoxigenic E. coli*
  - ٢- التسمم الإيشريشى الإسهال الدموى *Enterohemorrhagic E. coli*
- ب- مجموعة مسؤولة عن التسمم بالعدوى (العدوى المحمولة بالغذاء) Food toxic infection ويبينها الجدول (١٦) وهذه تشمل:
  - ١- التسمم الإيشريشى الغزوى *Enteroinvasive E. coli*
  - ٢- التسمم الإيشريشى المرضى *Enteropathogenic E. coli*

جدول (١٥) المجموعة المسؤولة عن التسمم بالتوكسين (تسمم غذائى حقيقى) food intoxication

| الخاصيه | التسمم الإيشريشى المعوى<br>Enterotoxigenic <i>E. coli</i> (ETEC) | التسمم الإيشريشى الإسهال الدموى<br>Enterohemorrhagic <i>E. coli</i> (EHEC)                                                        |
|---------|------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| المصدر  | من أصل حيوانى القناه الهضميه للحيوانات                           | غالباً من أصل آدمى، وقد عزل من ألبان حيوانات سليمة وأخرى مصابه بالتهاب الضرع، وينمو على حرارة الصيف مما يسبب إصابة الرضع بالأسهال |

| الخاصية              | التسمم الإيشريشي المعوي<br>Enterotoxigenic E. coli (ETEC)                                                                                                                                                                                        | التسمم الإيشريشي الإسهال الدموي<br>Enterohemorrhagic E. coli (EHEC)                                                                                                                                                                                                                                           |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| مدة الحضانه والأعراض | ١٢-٧٢ ساعة. والأعراض إسهال مائي حاد، ألم في البطن، غثيان أحيانا، ونادرا ما يحدث قي وتستمر الأعراض ١-٧ أيام حيث يتم الشفاء، أما الأطفال فقد تستمر الأعراض عدة أسابيع مع حدوث جفاف خاصة الأطفال الذين يعانون من سوء التغذية، له أعراض مثل الكوليرا | ٢-١٢ يوم والأعراض إسهال مصحوب بدم غزير، وألم شديد في البطن يشبه الزائدة الدودية، وقد يحدث قي. وتعرف حاله بنزيف القولون الدموي (HC) haemorrhagic colitis وقد تستمر الأعراض ٨ أيام، وقد تتطور بعض الحالات (١٠٪) إلى ما يعرف بمرض البول الدموي Uraemic والذي يسبب إضرارا خطيرة للكلية تحتاج فيها لغسل أو زرع كلي |
| إنتاج التوكسين       | ينتج توكسينات معويه enterotoxin مقاومه أو غير مقاومه للحرارة أو الأئين معا. ومسئوله عن إسهال الرضع والمسافرين، ويحفز إفرازات الأنسجة المعويه، ومعظم السلالات تنتج كلا النوعين ولكن بعضها ينتج نوعا واحدا (أنظر الفرق بين نوعي التوكسين)          | تنتج توكسينات خلويه cytotoxin واحد أو أكثر من هذه التوكسينات، حيث ترتبط هذه التوكسينات بالجليكوبروتين الموجود على سطح خلايا العائل وتنشط تخليق البروتين مما يؤدي لموت الخلايا، وهي حساسه للحرارة، وتصيب القولون أكثر من الأمعاء الدقيقة، وتسبب نزيف القولون الدموي                                            |

أ- التوكسين الغير مقاوم للحرارة (LT) Heat labile

عبارة عن بروتين وزنه الجزيئي (٨٥ × ١٠<sup>٣</sup> D)، غير مقاوم للأحماض، يساعد الميكروب على الارتباط بالخلايا الطلائية المبطنه للأمعاء الدقيقة، ويؤدي لنشاط إنزيم adenylyate cyclase مما يؤدي لزيادة مستوى cyclic adenosine monophosphate (CAMP) مما يؤدي لزيادة إفراز الإلكترووليتات وزيادة السوائل في تجويف الأمعاء، وحدوث إسهال غزير وفقد الماء والألكترووليتات.

ب- التوكسين المقاوم للحرارة (ST) Heat stable

عبارة عن معقد من الكربوهيدرات والبروتين، وزنه الجزيئي (٣ × ١٠<sup>٣</sup> D)، مقاوم للأحماض، يساعد البكتريا على الارتباط بالخلايا الطلائية ويؤدي لنشاط إنزيم guanylate cyclase

وبالتالى زيادة (CGMP) cyclic guanosin monophosphate مما يؤدي لزيادة إفراز السوائل فى تجويف الأمعاء، وحدوث إسهال مائى غزير وفقد الماء والإلكتروليتات.

جدول (١٦) المجموعة المسؤولة عن التسمم بالعدوى Food toxic n infection

| التسمم الإيشريشى المرضى<br>Enteropathogenic E. coli<br>(EPEC)                                                                                                                 | التسمم الإيشريشى الغزوى<br>أو العدوائى المعوى (الإجتياحى)<br>Entero invasive E. coli (EIEC)                                  | الخاصيه          |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| ترتبط بالأغشيه المخاطيه للأمعاء الدقيقه دون إختراقها، وتسبب اضطرابات فى خملات الأمعاء وإسهال مائى دموى. ولحدوث هذا التسمم يجب ألا يقل عدد البكتريا عن $10^6 - 10^8$ / جم غذاء | تخترق (تغزو) الخلايا الطلايه فى الأمعاء الدقيقه والقولون، وتتكاثر فيها وتسبب موت الخلايا، ولهذا التسمم أعراض مثل الدوسنتاريا | ميكانيكيه العدوى |

وتتشابه أفراد المجموعة المسؤولة عن التسمم بالعدوى مع المسؤولة عن التسمم المرضى فى عدم إنتاجها لتوكسينات مقاومه أو غير مقاومه للحرارة. كما تتشابه فى مدة الحضانه والأعراض. فمدة الحضانه ١٢ - ٧٢ ساعة. أما الأعراض فهى حمى - قشعريرة - ألآم فى العضلات مغص وإسهال مائى غزير، قد يحدث شفاء تلقائى بعد عدة أيام من العدوى، ما عدا فى الحالات الشديده من الإسهال حيث يكون المريض فى حاجة إلى محلول جفاف دون حاجة لصور أخرى من العلاج.

#### مصادر العدوى ببكتريا E. coli عامة:

يعتبر التلوث بالبراز أهم مصادر تلوث الغذاء، وقد تكون الماشيه هى مصدر عدوى اللبن، إذ أمكن عزلة السلالة 0157 من براز الماشيه. ويحدث التسمم الغذائى نتيجة التلوث حيث تنمو وتتكاثر عند حفظ الغذاء على حرارة مناسبه لنموها، لذا يراعى حفظ الغذاء على حرارة لا تزيد عن  $7^{\circ}\text{C}$ ، ولا ينتقل الميكروب عن طريق الغذاء (الأمعاء) فقط بل وعن طريق الفناه التنفسيه (تراب - رذاذ) وتحدث أصابه الأطفال عادة فى السنه الأولى من العمر، وتتوقف حاله المرضيه على ظروف

الجسم، فالأطفال المبتسرون وكذا الأطفال فى الأشهر الأولى من العمر أكثر عرضة للأصابة بالسلالات المرضيه عن غير المرضيه.

### المناعة:

عند حدوث الإصابه من سلاله معينه، قد يكتسب الجسم مناعة ضد الأصابه بهذه السلاله، ونظراً لتعدد السلالات السيرولوجيه فإن المناعة الحادته من سلاله معينه لاتمتد من نوع لآخر، لذا فإن إعادة العدوى أمر محتمل.

الوقايه والعلاج: النظافه - تجنب تلوث الغذاء بالمواد البرازيه - حفظ الأغذيه بالتبريد.

ملاحظات: لبعض السلالات غير المرضيه قدرة على أن تضاد antagonistic power سلالات مرضيه وتستخدم هذه الخاصيه كعلاج وإنتاج تحضيرات وقائيه. وللسلالات غير المرضيه كغيرها من بكتريا الأمعاء القدرة على تخليق بعض الفيتامينات (K<sub>2</sub>, E . مجموعة V.B) ولبعضها القدرة على إخماد بكتريا السل.

ب - الأمراض والتسمم الغذائى الناشئ عن بعض الأفراد التابعه لجنس *Salmonella*

### الخواص العامه لجنس *Salmonella*

١- الخواص المورفولوجية والمزرعية Morphological and cultivation properties

ميكروب عصوى سالب لجرام متحرك غير متجرثم هوائى أو هوائى إختيارى، ينتج H<sub>2</sub>S تخمر الجلوكوز والمالتوز والمانيتول مع إنتاج حمض وغاز، ولا تخمر اللاكتوز أو السكروز، لايسيل الجيلاتين، سالب الأكسيديز - سالب الأندول - موجب لأحمر المثيل - سالب vp - موجب إختزال النترات، وموجب للكتاليز.

### ٢- المقاومه Resistance

يقاوم الميكروب الظروف البيئيه حيث:

أ- له مدى واسع من الحرارة: فيمكنه النمو على حرارى من ٥,١ : ٤٧ °م فهو مقاوم للبرودة ولكن لايتكاثر على حرارة أقل من ٧,٥ °م والحرارة المثلى ٣٧ °م.  
ب- له مدى واسع من pH : من ٤,١ : ٩ والـ pH المثلى ٦,٥ - ٧,٥ وتختلف درجة الـ pH الملائمه تبعاً لنوع الحمض فهى ٥,٤ ، ٤,٤ ، ٤,٠ ، ٤,٠ لأحماض الخليك واللاكتيك والستريك ، HCL على التوالى.

ج - يقاوم الميكروب الحرارة العالية نسبياً (٦٠ - ٧٥ °م) وتزداد مقاومه بأنخفاض aw ويمكن للميكروب النجاه من عملية التجفيف بالرداذ، ويمكن القضاء عليه بحرارة ٦٦ °م / ١٢ د أو ٥٠ - ٥٦ °م / ١٥ - ٦٠ د حيث يقتل حوالى ٩٩٪، ولكن يبقى منه أفراد حيه تنشط مرة اخرى عند حفظ الطعام بعد طهيه على درجة حرارة الغرفة، ولايظهر بالأغذية الملوثة بالسالمونيلا تغيرات حسيه (لون - طعم - رائحة).

د- ثابت نسبياً فى التركيز العالى من الملح (٨٪) ولبعض الأحماض فهو يقاوم حمض الخليك لمدة ١٨ ساعة، ويمكن أن يبقى حياً على حرارة الغرفة لمدة ٧٥ - ٨٠ يوماً.

هـ- إلا أن الميكروب يثبط بنترتيت الصوديوم (١٦٠٠ جزء / مليون على 6 pH) كما أنه حساس بدرجة كبيرة للأشعة المؤينه، وذلك إذا ما قورن بالميكروبات الأخرى، فالجرعة المؤثرة عليه للتخلص منه أقل من الجرعة المعقمه radappertization (٤٥ - ٥٠ كيلوجراى) وهذه الجرعة لاتؤثر كثيراً على جودة الغذاء بجانب إنخفاض تكلفتها إقتصادياً.

### ٣- التركيب الأنتيجينى Antigenic structure

يمكن تقسيم جنس Salmonella لأكثر من ألفين ٢٠٠٠ نوع سيرىولوجياً منها ما لايقبل عن ١٠٠ نوع توجد بأماكن مختلفه من العالم ومختلفه فى خطورتها.

### ٤- أهم الأنواع التابعة لجنس Salmonella

يمكن تقسيم الأنواع التابعة لجنس Salmonella إلى ثلاثة مجموعات:

أ- مجموعة تصيب الإنسان بصفه رئيسيه ولا تصيب الحيوان *S. typhi*  
*S. paratyphi*، *S. typhosa*) وتسبب حمى التيفود والباراتيفود للإنسان.

- ب- مجموعة تصيب الحيوان بصفه رئيسيه وتسبب إلتهاب الضرع *S. bovine*.  
ج - مجموعه غير متخصصه: تسبب أمراضاً للإنسان وحيوانات أخرى دون تفصيل.

وعموماً فالعديد من أنواع السالمونيلا وسلالاتها ممرضه للإنسان و/ أو الحيوان وينشأ عنها فى الإنسان حمى معويه أو تسمم غذائى.

### أولاً : الحميات المعويه التى تسببها السالمونيلا Enteric fevers

#### أ- حمى التيفود Typhoid fever الحمى التيفيه

الميكروب: *Salmonella typhi (typhosa)*

إنتاج التوكسين: **Toxin production**: يفرز الميكروب توكسين خلوى cytotoxin يسبب أضراراً للأغشيه المخاطيه للأمعاء .

#### مصادر العدوى Sources of infection:

الماء والأغذيه الملوته كاللبن ومنتجاته حيث يمكن للميكروب أن يعيش فيها لمسده طويله، المرضى، حاملى الميكروب. وتعتبر القناه الهضميه للإنسان والحيوان أهم مصدر للسالمونيلا، وتنتقل العدوى للجهاز الهضمى حيث يعيش الميكروب فى الأمعاء الدقيقه، وينتقل منها إلى الدم حيث يستقر فى بعض الأعضاء، ويسبب إرتفاعاً فى درجة الحرارة، والميكروب يتطفل على الإنسان وعدد من الحيوانات ويستطيع أن يعيش فى الأيس كريم (- ٢٠ م°) لمدة سنتين ولكن يتناقص العدد بدرجة كبيره.

مدة الحضانه **Incubation period**: ١- ٣ أسابيع وقد تصل إلى خمسه أسابيع تبعاً للجرعه.

#### أعراض المرض Symptoms:

الإسبوع الأول: رعشه وإرتفاع مفاجئ فى الحرارة - فقد شهيه - صداع.  
الإسبوع الثانى: إنتفاخ البطن - إسهال عفن مختلط بالدم - تضخم الطحال - إتساخ اللسان - طفح - هذيان.

الإسبوع الثالث والرابع: هبوط في الحرارة إلى المعدل الطبيعي، وإما يشفى المريض أو ترتفع الحرارة مرة أخرى (نكسه) وتظهر المضاعفات التالية: نزيف معوي - التهاب رئوي - التهاب العظام - إصابة الكبد والمرارة.

### العلاج والوقايه prophylaxis and treatment

التطعيم للأشخاص المعرضين للإصابه أو العدوى، العلاج بالمضادات الحيويه للمرضى.

### ب - حمى الباراتفود paratyphoid fever

الميكروب: *Salmonella paratyphi*

وهذا النوع من الحمى ينتشر بصورة وبائيه فى آسيا وشمال وجنوب أفريقيا وأمريكا الجنوبيه، ويوجد من الميكروب ثلاثة انواع سيرولوجيه A , B , C

- *S. paratyphi* A : شائع فى اسيا والشرق الأوسط وأفريقيا

- *S. paratyphi* B : نسبياً فى أوروبا وأمريكا الشماليه.

- *S. paratyphi* C : أساساً فى المناطق الحارة وشبه الحارة

### مصادر العدوى Sources of infection:

مثل التيفود *S. typhi* فيما عدا *S. paratyphi* B فمصدره الإنسان فقط (المريض أو حامل الميكروب) ومن النادر عزله من الحيوانات، تحتاج ١٠ - ١٠<sup>٦</sup> ميكروب / مل لإحداث العدوى.

مدة الحضانه Incubation period : ١ - ١٠ أيام.

أعراض المرض Symptoms: مثل حمى التيفود إلا أن الأعراض والمضاعفات بدرجه أخف.

العلاج والوقايه prophylaxis and treatment: كما فى حمى التيفود.

## ثانياً: التسمم الغذائي الناتج عن السلمونيلا Salmonellosis

### مقدمه

يعتبر ميكروب السلمونيلا مسئولاً عن حالات خطيرة من التسمم الغذائي، إذ يمثل هذا النوع من التسمم (السلمونيلى Salmonellosis) حوالي ٩٠٪ من حالات التسمم في العالم، ويحدث هذا النوع من التسمم غالباً في حالات التغذية الجماعية نتيجة تناول أغذية ملوثة بالميكروب.

### الميكروب:

ومن الأنواع التابعة لجنس Salmonella والمسببه للتسمم الغذائي مايلي:

*S.dublin, S. typhimurium, S. thompson, S. heidelberg, S. newport, S. enteritidis, S. choleraesius.*

### مصادر العدوى Sources of infection:

الروث وقد يكون الميكروب مستوطناً بالضرع، ويعتبر اللبن الخام ومنتجاته مصدراً هاماً للعدوى. فقد حدثت ٥,٠٠٠ حالة تسمم في المملكة المتحدة عام ١٩٨٦ نتيجة لبن مبستر وقد تم عزل ميكروب *S. typhimurium* من عبوات اللبن التي لم يتم فتحها وكذلك من المصابين ويعتقد أن الميكروب قد يصل إلى اللبن المبستر نتيجة التلوث بلبن خام. كما حدثت حالات تسمم من الجبن تشدر في كندا عام ١٩٨٤، ومن اللبن المجفف عام ١٩٨٥ في المملكة المتحدة. ويعتبر البيض غير المطبوخ من أكثر الأغذية الناقلة للسالمونيلا لذا فالأغذية المصنعة بإضافة البيض (ولم تطهى بدرجة كافيته) ولم يتم بسترتها مثل الأيس كريم خاصة المصنع منزلياً والجاتوهات المحتويه على القشده والتي لم تطهى بدرجة كافيته وكذا القشده المخفوقه كلها أغذية قد تحتوى على السالمونيلا في صورة حيه.

### إنتاج التوكسين Toxin production:

يفرز الميكروب توكسين معوى بكميات كبيرة في مرحلة الثبات من مرحلة النمو وأنسب درجة لإفراز التوكسين ٣٧ °م والتوكسين مقاوم للحرارة حتى ٧٠ °م

ويرجع دور التوكسين في أنه يسبب زيادة فى إفراز cyclic adenosine (CAMP) monophosphate والأخير مسئول عن زيادة معدل إفراز السوائل فى تجويف الأمعاء عن معدل إمتصاصها وبذلك تتراكم السوائل فى الأمعاء وتحدث إسهالاً والسم عبارة عن سم داخلى وهو بروتين مصاحب لجدار الخلية، وتظهر أعراض الإصابة نتيجة تحرر السم من جدار الخلية بفعل pH المعدة المنخفض وإنزيم البروتينيز.

#### مدة الحضانه Incubation period:

٥ - ٧٢ ساعة وقد تمتد إلى ١٢ يوم.

#### أعراض المرض Symptoms:

يحدث التسمم فى ظرف ساعات قليلة نتيجة هدم كميه كبيرة من الميكروب الماخوذ مع الطعام فى القناة الهضمية إذ لحدوث التسمم يجب أن تتواجد أعداد من الخلايا  $10^8 - 10^{10}$  / جم غذاء إذ أن التوكسين الذى تنتجه الميكروب توكسين داخلى endotoxin وليس خارجى exotoxin وتتوقف شدة التسمم الحادث على عوامل منها: سلالة الميكروب وشدة ضراوته، وأعداده ومدى حساسيه المستهلك للتوكسين الذى ينتجه الميكروب. ومن أعراض التسمم غثيان - قي - آلام فى البطن - إسهال مفاجئ مائى كريبه الرائحه - صداع وبرودة - إجهاد وضعف العضلات وعادة تظل الأعراض ٢ - ٣ أيام يعقبها شفاء دون مضاعفات، أما فى الحالات الشديدة فقد تحدث مضاعفات مثل الفشل الكلوى ولكن بنسبه قليله، وحوالى ٠,٢ - ٥% من المصابين قد يصبحون حاملين للميكروب، وقد تحدث وفاه خلال ٢ - ٦ أيام وتختلف معدلات الوفاه باختلاف السن والسلاله:

أ- أقل من سنه ٦%، ب- ١ - ٥ سنوات ٢%، ج- أكثر من ٥ سنوات ١٥%

كما أن معدل الوفيات يصل ٢١% فى حالة الإصابة بميكروب *S. choleraesuis*، ٢٥% فى حالة الإصابة بميكروب *S. dublin*.

#### ٦- الوقايه والعلاج

١- معالجة المياه المستخدمه.

٢- عدم السماح للمصابين بالتعامل مع اللبن ومنتجاته.

- ٣- العناية بالنظافة الشخصية.
- ٤- الكشف الدورى على المتعاملين بتصنيع الغذاء المعد للإستهلاك العام.
- ٥- عزل الأفراد المصابين.
- ٦- إتباع الإشتراطات الصحيه بحزم فى أماكن التصنيع والتخزين.
- ٧- العلاج بالمضادات الحيويه فى الحالات الشديدة للعدوى فى عائلة المريض وتبريد اللبن جيداً ومعاملته بالحرارة، ومنع تلوثه بعد المعاملة الحراريه، وحفظ اللبن ومنتجاته على حرارة أقل من معدل النمو. ويبين الجدول (١٧) مقارنة بين الأمراض والتسمم السلمونيلى الناتجين عن بكتريا *Salmonella*.

جدول (١٧) مقارنة بين الأمراض الناجمة عن بكتريا *Salmonella* والتسمم السلمونيلى  
Salmonellosis

| الميكروب     | Typhoid & paratyphoid الأمراض                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | التسمم الغذائى Salmonellosis                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|              | <i>S. typhi</i> , <i>S. paratyphi</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | <i>S. typhimurium</i> , <i>S. enteritidis</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| مصادر العدوى | الإنسان والحيوان بصورة مباشرة أو غير مباشرة ويعتبر الميكروب متطفلا على الإنسان وعدد من الحيوانات، وغالبا ما يكون أعداد البكتريا الملوثة للغذاء منخفضه والبكتريا لا تنمو ولا تتكاثر بالغذاء ولكن يشترط أن يكون الغذاء مناسباً لبقاء البكتريا حيه، وأن يكون لها القدرة على الحياه فى القناة الهضمية ومهاجمه العائل ويوجد الميكروب بالدم | الروث أو من السلمونيليا المستوطنه فى الضرع حيث تنمو وتتكاثر فى الغذاء ولكي تحدث التسمم لابد من وجود أعداد كبيرة ١٠ <sup>٦</sup> - ١٠ <sup>١٠</sup> / جم فى الغذاء قبل تناوله ورغم زياده أعداد البكتريا فى الغذاء فإنها لا تحدث تغيراً ملحوظاً فى خواص الغذاء الحسيه (مظهر - طعم - رائحه) ولا يوجد الميكروب فى الدم ولكن يستوطن القناة الهضمية للعائل |
| التوكسين     | تفرز البكتريا توكسين خلوى cytotoxin يسبب أضراراً بالغه للأغشيه المخاطيه للأمعاء، وينتقل منها إلى الدم ليستقر فى بعض الأعضاء                                                                                                                                                                                                           | تفرز توكسين معوى enterotoxin يشجع على زياده CAMP والمسئول عن زياده معدل إفراز السوائل فى تجويف الأمعاء عن معدل امتصاصها مما يودى إلى تراكمها فى الأمعاء وحدث الإسهال                                                                                                                                                                                 |
| مدة الحضانه  | ١ - ٣ أسبوع فى التيفود<br>١ - ١٠ أيام فى البار اتيفود                                                                                                                                                                                                                                                                                 | قصيرة ٥ - ٧٢ ساعه                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

| الميكروب | Typhoid & paratyphoid الأمراض                                                                                                                                                                                                                                                                      | التسمم الغذائي Salmonellosis                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| المقاومه | <i>S. typhi</i> , <i>S. paratyphi</i>                                                                                                                                                                                                                                                              | <i>S. typhimurium</i> , <i>S. enteritidis</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|          | يمكنها أن تعيش في الثلج عدة أشهر، وفي التربة الملوثة ببراز وبول المرضى ١-٣ أشهر، وفي الماء لعدة أسابيع وفي الخضروات والفاكهه ٥-١٠ أيام، حساسه للحرارة تموت على ٥٦°م في ٤٥-٦٠د، كما تموت في ظرف دقائق عند تعرضها للمحاليل المطهرة، إحتواء الماء على كلورين ٠,٥ : ١ مجم / لتر يعطى حمايه من البكتريا | تقاوم الحرارة نسبيًا (٦٠ - ٧٥ °م) كما تقاوم التركيزات العاليه من الملح وبعض الأحماض ويمكن أن تبقى في محلول ٨-١٠٪ حمض خليك لمدة ١٨ ساعة وتبقى حيه ٧٥ - ٨٠ يوم في حرارة الغرفه، ويبقى سمها الداخلي نشطا في قطع اللحم الكبيرة لمدة طويله (حتى بعد طهيها ويلاحظ أن الأظعمه الملوثة بالبكتريا لا يحدث بها أي تغيرات حسيه (لون - رائحه - طعم) |

### ج - الأمراض والتسمم الغذائي الناشئ عن بعض أنواع البكتريا التابعة لجنس

#### Shigella

مقدمه:

ينشأ عن تلوث الغذاء الملوث ببعض أنواع البكتريا التابعة لجنس *Shigella* حدوث تسمم غذائي يسمى التسمم الغذائي الشيجيللي *Shigellosis*.

ويعتبر هذا النوع من أسرع الأمراض عدوى، ويكثر إنتشاره بين الأطفال خاصة الرضع (سنه أو أكثر قليلاً) ويعرف باسم الدوسنتاريا (الزحار) الباسيلييه bacillary dysentery or enteron colitis وهو يصيب الأمعاء الغليظه بصفه رئيسيه ونادر الحدوث في غير الجهاز الهضمي.

#### الخواص المورفولوجية Morphological

بكتريا عصويه - سالبه لصبغة جرام - غير متجرتم - ليس لها أسواط (غير متحرك) وهذا مايفرق بينه وبين بكتريا التيفود والباراتيفود وغير مخمر للاكتوز وموجب للكتاليز.

### الخواص المزرعية Cultural

لاهوائى إختياري، الـ pH المثلى ٦,٧ - ٧,٢، المدى الحرارى ١٠ - ٤٠ °م والحرارة المثلى ٣٧ °م ولاينمو على ٤٥ °م يعطى مستعمرات صغيرة (١ - ١,٥ مم) نصف شفافه مثل بكتريا التيفود، ويكون عكارة فى بيئة مرق اللحم.

### الخواص التخمرية Fermentation

يخمر الجلوكوز مع إنتاج الحمض، ولايخمر اللاكتوز ولايسيل الجيلاتين ولكن يحلل النترات والبروتين دون إنتاج  $H_2S$ .

### المقاومه Resistance

يمكنه البقاء فى البيئه (تربه - ماء - أطعمه) لمدة ٥ - ١٠ أيام ، يموت بتعرضه لضوء الشمس أو محلول ١٪ فينول فى ظرف ٣٠ د، كما يموت بالمعامله بمحاليل الكلورامين، كلوريد الكالسيوم. غير مقاوم للحرارة فيموت على ٦٠ °م / ١٠ د، قد يكتسب مقاومه للمضادات الحيويه والأشعه المتأينه فبعضها يتحمل حتى مليون راد والأنواع التى تعرض للأشعاع يكون معدل نموها ٣٣٪ من الأنواع العاديه.

### أهم الأنواع التابعه للجنس والمسئوله عن التسمم

أ- *Sh. sonnei*: رغم أنه أكثر الأنواع شيوعاً (يسبب ٧٠٪ من حالات التسمم) إلا أنه أقل ضراوة إذ يسبب إسهالاً متوسطاً أو معتدلاً دون حمى ويقاوم التبريد - ٢٠ °م / ٦٠ يوم.

ب- *Sh. flexnezi*: مسئول عن حالات أشد خطورة ويسبب حوالى ٢٥٪ من حالات التسمم ويقاوم التبريد - ٢٠ °م / ١٢٠ يوم.

ج- *Sh. boydi*: مسئول عن حالات شديدة الخطورة.

د- *Sh. dysenteriae*: أشد الأنواع ضراوة (خطورة).

### مصادر العدوى

نادراً ما يكون الحيوان مصدراً للعدوى، فالمصدر الأساسى للعدوى هو الإنسان المريض أو حاملى العدوى وكذا الأشخاص المصابين بالدوسنتاريا الحادة أو المزمنه،

ويحدث التلوث من برازهم. كما تعتبر الأغذية مرتفعة الرطوبة كاللبن ومنتجاته من مصادر العدوى ويتلوث اللبن عادة من المعدات والمياه والذباب، وقد ظهرت حالات تسمم من تناول لبن غير مبستر، ويعتبر *Sh. sonnei*, *Sh. dysenteriae* أكثر الأنواع إنتشاراً، وتتكاثر في اللبن على حرارة ١٥ م° فأعلى، ويزداد معدل التكاثر وكذا حيويته الميكروب في اللبن المبستر (بعد تلوثه) عن اللبن الخام وذلك نظراً لغياب الميكروبات المنافسة.

### إنتاج التوكسين Toxin production

تنتج توكسين خارجي exotoxin وهو توكسين معوي يسمى Shiga toxin وهو مادة بروتينية وزنه الجزيئي ٧٠,٠٠٠ - ٥٠,٠٠٠ دالتون والتوكسين غير مقاوم للحرارة يتلف على ٩٠ م° / ٣٠ د، ويرتبط التوكسين بالجليكوبروتين الموجود على سطح خلايا العائل ويثبط من تخليق البروتين نتيجة إتلاف الريبوسوم مما يؤدي إلى موت الخلايا cytotoxin. كما يؤثر التوكسين على الجهاز العصبي والغشاء المخاطي للأمعاء مما يحفز إفرازات الأنسجة المعويه:

cyclic adenosine monophosphate. (cAMP, cGMP) cyclic guanosine monophosphate.

مما يؤدي إلى تراكم السوائل في تجويف الأمعاء وحدوث الإسهال، وقد أمكن إستخلاص هذا التوكسين exotoxin من المزارع القديمة للميكروب وذلك بإستخدام حمض ثالث كلوريد الخليك. وبحقن هذا السم في وريد الأرنب فإنه يسبب شلل الأطراف الخلفية والأسهال وإنهيار صحة الحيوان. ويقال أن بعض السلالات تنتج سمّاً داخلياً endotoxin.

### طريقة العدوى والإصابه Sources of infection

تحدث العدوى عن طريق الفم بتناول الأغذية الملوثة، ورغم أن الجرعة الفعاله المسببه للعدوى منخفضة ١٠٠ خليه أو أقل إلا أن للبكتريا المقدرة على التكاثر في تجويف القناة الهضمية في الغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة والقولون وكذا في الطبقة تحت المخاطية. ونتيجة غزو الميكروب لهذه الأغشية يحدث أن تتسرب خلايا الدم الحمراء إلى تجويف الأمعاء مما يؤدي إلى حدوث براز دموي، ويلاحظ أنه من النادر

أن تصل البكتريا إلى الدم. ولكن يحدث التسمم نتيجة إمتصاص السم خلال الأغشية المخاطية في الجزء الأخير من الأمعاء الدقيقة والقولون.

### مدة الحضانه والمناعه Incubation period and immunity

تتراوح فترة الحضانه ١٢ - ٥٠ ساعه وتتراوح مدة المرض ٣ - ١٤ يوم وقد يستمر المريض حاملاً للميكروب ١- ٢ سنه ويلاحظ أن المناعه التي يكتسبها الشخص السابق إصابته بالميكروب مناعه ضعيفه ولمدة قصيرة ، لذا قد يحدث المرض عدة مرات وقد يكون مزمناً.

### أعراض الإصابة Symptoms

تتراوح أعراض الإصابة من دوسنتاريا خفيفه إلى شديدة تظهر فجأة مع مغمص وقئ وميل متواصل للتبرز مع كميات قليلة من البراز المختلط بالدم والصدید والمخاط، وإرتفاع الحرارة (٤٠ م°) خاصة عند الأطفال، ويشعر المصاب بالصداع والغثيان والضعف، وعادة ما يتم الشفاء بدون علاج في ظرف ١ - ٢ أسبوع إلا أنه عند الأطفال وكبار السن والضعفاء قد يتطور إلى جفاف ووفاة ما لم يتم العلاج.

### العلاج Treatment

بإعطاء المضادات الحيوية المناسبه، وإستخدام محاليل الجفاف لتعويض السوائل والأملاح المفقودة والعناية بإعطاء أغذيه عاليه الطاقه غنيه بالفيتامينات مما يساعد على سرعة الشفاء وزيادة المناعه.

### الوقايه Prophylaxis

- ١- سرعة التعرف وتشخيص المرض وعزل ومعالجه المرضى بالمضادات الحيويه. وعند إنتشار المرض يفضل إعطاء لقاح خاص للمسافرين.
- ٢- إتخاذ الإجراءات الصحيه كمعامله المياه بالكور وإتخاذ الاحتياطات اللازمه للصرف الصحى الأمن، وكذا إتخاذ الإجراءات الصحيه فى معامل البسترة وأماكن بيع التجزئه للبن ومنتجاته ومنع جميع المخالطين للمرضى من علاقتهم باللبن وأدواته.

## د - الأمراض والتسمم الغذائي الناشئ عن بعض أنواع البكتيريا التابعة لجنس

### Yersinia

#### مقدمه:

رغم إنخفاض العدد الكلى للبكتيريا فى اللبن فى السنوات الأخيرة نتيجة تحسن ظروف الإنتاج وإتباع وسائل التبريد إلا أن ذلك صاحبه زيادة ملحوظه فى أعداد البكتيريا المقاومه للبرودة (Psychrotrophic) cold - tolerant نتيجة حفظ اللبن على حرارة منخفضة بمجرد إنتاجه بالمزرعه وحتى نقله للمصنع. وقد لفتت بعض هذه البكتيريا أنظار العلماء لما تسببه من خطورة، ومن هذه البكتيريا أنواع تابعه لجنس Yersinia تسبب نوعاً من التسمم الغذائى يعرف بأسم التسمم اليرسينى Yersinosis.

#### الأنواع التابعه لجنس Yersinia

تبلغ الأنواع التابعه لهذا الجنس إحدى عشر نوعاً منها:

*Y. enterocolitica* , *Y. kristensenii* , *Y. frederikensii* , *Y. intermedia* , *Y. bercoveri* , *Y. mollaretii* , *Y. pseudotuberculosis* , *Y. pestis* , *Y. ruckerii*

ويعتبر *Y. enterocolitica* أهم أنواع هذا الجنس فهو يمثل ٨١٪ من الأنواع المعزوله من الإنسان المصاب ويعتبر الخنزير هو المصدر الرئيسى لهذا الميكروب، إذ يوجد ضمن الفلورا الطبيعى فى تجويف الفم للحيوان السليم وقناته الهضميه، وتكثر الإصابة منه بطريقة وبائيه نتيجة تناول لحم الخنزير دون طهى كما يوجد فى الجو المحيط بمعامل الألبان ويعتبر من أكثر الميكروبات المعويه إنتشاراً.

وقد تم التعرف على الميكروب سنه ١٩٣٩ وكان يسمى *Bacterium*

*enterocoliticum* وسمى فيما بعد *Yersinia enterocolitica* لمكتشفه العالم الفرنسى A. J. E. Yersin وبدأ الإهتمام بهذا الميكروب فى أواخر الستينات وأوائل السبعينات نظراً لزيادة الحالات المرضيه الناشئه عنه (التسمم اليرسينى Yersinosis) فى أنحاء العالم كما يتضح من الجدول (١٨).

جدول (١٨) الحالات الوبائية الناشئة عن *Y. enterocolitica* في الفترة من ١٩٦٥ - ١٩٩٠

| السنة | الحالات الوبائية (تسمم يرسيني) ومكان حدوثها                                                                                                                                                                                        |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ١٩٦٥  | ٢٣ حالة تسمم يرسيني على مستوى العالم                                                                                                                                                                                               |
| ١٩٧٤  | ٤٠٠ حالة تسمم يرسيني على مستوى العالم                                                                                                                                                                                              |
| ١٩٧٦  | ٢٢٠ حالة تسمم يرسيني في ولاية نيويورك ومعظمهم من أطفال المدارس نتيجة شرب لبن الشيكولاته                                                                                                                                            |
| ١٩٧٩  | ٢٠٠٠ حالة تسمم يرسيني حدثت بمدينة واحدة بالدنمارك                                                                                                                                                                                  |
| ١٩٨١  | ٨٧ حالة تسمم يرسيني حدثت في واشنطن (أصاب ٢٠ شخصاً من سن ٢ شهر إلى ٧٤ سنة نتيجة تناول خثرة فول صويا tofu وكان مصدر التلوث هو الماء المستخدم في تحضير هذه الخثرة وكان للسلاسله (الميكروب) المعزولة من المصابين أثر مميت على الفئران. |
| ١٩٨٢  | ١٧٢ حالة تسمم يرسيني في الولايات المتحدة نقلت إلى المستشفى.                                                                                                                                                                        |
| ١٩٩٠  | ظهرت حالات تسمم يرسيني وبائي في جورجيا لتناول سجق الخنزير.                                                                                                                                                                         |

#### مصادر العدوى Sources of infection

عزل الميكروب من اللبن الخام في أنحاء عدة من العالم حيث وجد أن ١٠ - ٨٠٪ من العينات التي تم فحصها تحتوي هذا الميكروب، كما عزل من اللحوم والدواجن والخضروات والبيض والمصدر الأساسي هو التلوث بالبراز والمياه، كما عزل من منتجات لبنية منها اللبن المجفف والأيس كريم والقشدة والجبن خاصة المصنعة من لبن خام وغير المسواه.

#### الخواص المورفولوجية Morphological properties

ميكروب عصوي أو كروي صغير (٠,٥ : ١ × ١ : ٢ um) سالب لجرام - غير متجرتم - لا يكون كبسولات تتعدد صور الميكروب تبعاً للبيئة ودرجة الحرارة ما بين الكروي أو العصوي سواء في صورة فردية أو سلاسل أو خليط من هذه الصور.

#### الخواص المزريه Cultural

يكون مستعمرات صغيرة على بيئة الأجار المغذي قطر المستعمرة ١ مم عند النمو على ٢٥ م°، وفي سن الدبوس pin point عند النمو على ٣٧ م°، وله نطاق

واسع من الحرارة (- ٢ : ٤٥ م°) والمثلثي (٢٢ - ٢٩ م°) وبعضها ينمو على صفر: ٤ م° وهو متحرك على حرارة أقل من ٣٠ م° وليس متحرك عند ٣٧ م°، وللميكروب مدى واسع من الـ pH ٤,٥ - ٩ والمثلثي من ٧ - ٨.

### المقاومة Resistance

مقاوم للبرودة والتجميد (- ١٨ م° / ٩٠ يوم) ونظراً لمقاومته للبرودة فهو يمثل خطورة صحية في الأغذية المبردة ويمكن أن يتحمل ملوحيه (٧٪ ملح طعام)، ولكن يقضى عليه بالبسترة وكذا بالتسخين ٦٠ م° / ١ - ٣ د ولكن يمكن للخلايا المشوهة نتيجة عملية البسترة أن تستعيد نشاطها بعد ١٠ أيام من التخزين في الثلج (١٠ م°) ونظراً لأن المدة المسموح بها في حفظ اللبن المبستر تقل عن ١٠ أيام لذا فإن الخلايا المشوهة لاخطر منها عند تخزين اللبن المبستر في الثلج إذ لايمكنها أن تستعيد نشاطها في المدة المصرح بها لحفظ اللبن المبستر، وينخفض عددها في اللبن الزبادي إذا حدث له تلوث بعد التصنيع وذلك بتخزين الزبادي لمدة ٣ - ٤ أيام تبعاً لأنواع البادئ المستخدم في تحضيره وبعد ٦ أيام في لبن الأسيدوفلس ويفسر إنخفاض أعداد *Y. enterocolitica* إذا لوثت الألبان المتخمرة بعد تصنيعها على قدرة بكتريا حمض اللاكتيك المستخدم في صناعة هذه الألبان على تثبيط هذه البكتريا (*Y. enterocolitica*) لما تنتجه بكتريا البادئ من أحماض عضوية، وبكتريوسينات،  $H_2O_2$ ، كحول إيثانول بجانب خفض pH.

### الخواص التخمرية Fermentation يبينها جدول (١٩)

جدول (١٩) الخواص التخمرية لبكتريا *Y. enterocolitica*

| الإختبار                        | النتيجة | الإختبار                | النتيجة |
|---------------------------------|---------|-------------------------|---------|
| VP (voges ñ proskauer reaction) | +       | Oxidase activity        | -       |
| Urease                          | +       | Arginine dihydrolase    | -       |
| Triple sugar iron test          | +       | Lysine decarboxylase    | -       |
| Sucrose fermentation            | +       | Rhamnose fermentation   | -       |
| Maltose fermentation            | +       | Rafifinose fermentation | -       |

## إنتاج التوكسين Toxin production

١- ينتج الميكروب توكسين معوي enterotoxin، ويسود هذا في السلالات المرضية clinical والسلالات المنتجة للتوكسين تنتج بكميات ملموسة عند نموها في بيئة pH ٧ - ٨ ولأكثر من ٢٤ ساعة وعلى ٢٥ °م وليس على ٣٧ °م أو ٤ °م، وفي البيئة الصناعية يتحسن إنتاج التوكسين بالتهويه ويثبط بالتركيز المرتفع من الحديد، وللميكروب القدرة على إنتاج التوكسين في الغذاء الملوث، وكذا في أنسجة الجسم عند غزو الميكروب لها، كما يمكن فصل التوكسين من البيئة الصناعية وكذا الغذاء الملوث، ويعطى التوكسين المفصول إختباراً موجياً للفئران الرضیعة. ومن خواص هذا التوكسين.

أ- توكسين معوي مقاوم للحرارة (ST) heat stable enterotoxin يتحمل ١٢١ °م / ٣٠ د.

ب- مقاوم للـ pH من ١ : ١١ ولحموضة المعدة.

ج - مقاوم للتخزين ٤ °م / ٧ شهور والعمليات التصنيعية العادية والتحلل بإنزيمات البروتينيز والليباز.

د - يذوب في الميثانول وينشط إنزيم guanylate cyclase.

مما يساعد على إفراز cyclic guanosine monophosphate (CGMP) الذي له دور في حدوث الإسهال.

ويوجد من هذا التوكسين نوعان تبعاً لنقطة التعادل الكهربائي i. e. p والوزن الجزيئي: الأول ST-1 نقطة تعادله ٣,٩ ووزنه الجزيئي ٢ × ١٠<sup>٣</sup> دالتون والثاني ST-2 نقطة تعادله ٣,٠ ووزنه الجزيئي ٥ × ١٠<sup>٣</sup> دالتون.

٢- ولكن يبدو أن التوكسين المعوي الذي تفرزه ليس ضرورياً لإحداث الضرر بالإنسان إذ وجد أن بعض السلالات المرضية تنتج ST بينما البعض الآخر لاينتجه. ويرجع الضرر في الحالة الأخيرة إلى إنتاج الميكروب إنزيماً خارجياً extracellular يعرف بإنزيم C phospholipase فقد أمكن لسلاله معزولة من لبن جاموسى خام عند نموها على ٢٢ °م أو ٣٧ °م إنتاج هذا الإنزيم، وكان أقصى إنتاج عند pH ٥ - ٨,٥، حرارة ٣٧ °م وعندما كان الميكروب في طور الثبات stationary phase وقد أمكن تنقية الإنزيم جزئياً بكبريتات الأمونيوم (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> والترشيح خلال سيفادكس ١٠٠ والإنزيم النقي يفقد نشاطه على ٧٠ °م.

## أعراض الإصابة Symptoms

١- ألم شديد يشبه أعراض الزائدة الدودية وتعرف بأسم أعراض الزائدة الدودية الكاذبه.

٢- إسهال ويعزى الإسهال إلى أن الميكروب يفرز توكسين معوى داخل الأنسجة التي يغزوها، يعمل هذا التوكسين بجانب التوكسين الواصل مع الغذاء إلى تنشيط إنزيم guanylate cyclase

وبالتالي زيادة مستوى cyclic guanosine monophosphate (CGMP) مما يؤدي لزيادة إفراز السوائل في تجويف الأمعاء وحدوث الإسهال المائي الغزير.

٣- في الإصابات الشديدة تحدث حمى وإلتهاب الأغشية الليمفاوية lymphadenitis والمفاصل arthritis والأمعاء gastroenteritis والمساريقا mesentric وأغشية القلب، كما قد تتكون خرايج abscesses في الكبد والطحال، وقد يحدث إتهاب للجلد erythema

وأحياناً العيون eye infection وعرض سرجرين Sjogren's syndrom وهو مرض يصيب السيدات متوسطات العمر ويشمل إتهاب قرنية وملتحمة العين والبلعوم والمفاصل وجفاف الحلق

وعموماً تختلف أعراض الإصابة وشدتها باختلاف السلالة، والجرعه وعمر وظروف العائل وعوامله الوراثيه، فالأطفال أكثر حساسيه لأصابه خاصة في العام الأول من عمرهم إذ قد يصابوا بما يعرف بتعفن الدم septicacmia. كما أن الإسهال وإلتهاب المفاصل أكثر الأعراض عند المصابين ما بين سن ٢٠ - ٦٠ سنة، أما إتهاب الجلد فهو أكثر الأعراض عند الأشخاص الذين عمرهم يزيد عن ٦٠ سنة.

ملحوظه: ينتج عن الإصابة تكوين أجسام مضادة قوية بمصل المصاب يعتمد عليه في التشخيص المعملى بطريقة ELISA.

مدة الحضانه: ٢- ٣ أيام.

الوقايه: تجنب التلوث بالبراز - منع الحاملين للميكروب من التعامل مع اللبن ومنتجاته - إتباع الوسائل الصحيه السليمه.

## ٧- الأمراض والتسمم الناتج عن بعض أفراد البكتريا التابعه لعائلة Brucellaceae

### خواص العائلة:

أفرادها عبارة عن خلايا صغيرة تتراوح بين الكروى إلى العصى، سالبه لجرام، توجد منفردة أو فى أزواج أو سلاسل قصيرة أو مجموعات، متحركه أو غير متحركه، تنتج عدة أنواع من المستعمرات (النمو) فى البيئة السائله تتراوح بين الناعمه إلى الخشنه إلى المخاطيه. بعض أنواعها تغزو الأنسجه فتحدث العدوى عن طريق نفاذ الميكروب للأغشيه المخاطيه أو الجلد، ووجود  $CO_2$  يشجع نموها.

وتحتوى العائلة عدة أجناس منها *Brucella* , *Pasteurella* , *Bordetella* ويعتبر جنس *Brucella* من أهم الأجناس لما يسببه بعض أفراده من مرض Brucellosis.

### جنس *Brucella* ومرض البروسيلة Brucellosis

#### البكتريا المسببه Causative organisms

يبين الجدول التالى (٢٠) أهم أنواع بكتريا *Brucella* المسببه لمرض Brucellosis وبعض خواصها والمرض الناتج عن الإصابة بهذه البكتريا يسمى فى الحيوان بأسم الإجهاض المعدى أو السارى أو مرض بانج Bang's or contagious abortion disease وعندما يصاب الإنسان عن طريق الحيوان يسمى المرض بالحمى المتموجه undulant fever أو الحمى المالطيه malta fever، أو حمى البحر الأبيض المتوسط mediteranean sea fever.

ومن أهم الأنواع المسببه لهذه الأمراض *Br. melitensis* , *Br. suis* , *Br. abortus* إذ تستطيع هذه الأنواع بجانب إصابتها لبعض الحيوانات أن تصيب الإنسان حيث تفرز فى ألبان الحيوانات المصابه، وقد وجد أن أخطرها للإنسان *Br. melitensis*، والذى ينتقل إلى الإنسان عادة من الماعز الموجود فى الأقطار المحيطة بالبحر المتوسط وفى جنوب أفريقيا والهند والصين، ويعتبر من الأمراض المهنيه التى تصيب الأطباء البيطريين والمزارعين وعمال المجازر وهو من الأمراض التى يجب التبليغ عنها للسلطات الصحيه.

### الخواص المورفولوجية والمزرعية Morphological

بكتريا عصوية قصيرة أو ببيضاويه ellipsoidal، توجد فرديه وأحياناً فى أزواج أو مجاميع صغيرة أو سلاسل قصيرة هوائية. لكن كثيراً من السلالات تحتاج لنموها جواً يحتوى ٥ - ١٠٪  $CO_2$ ، وفى البيئات الصلبه يمكن رؤية المستعمرات بعد يومين من التحضين وبعد ٤ أيام تكون المستعمرات مستديرة ١ - ٢ مم ذات حواف شفافة ناعمه محدبه بيضاء (لؤلؤ) أو لون عسلى ويغمق اللون بقدّم المزرعه. وفى المزارع السائله يكون النمو ضعيفاً مالم ترج المزرعه ويكون النموات ناعمة smooth فى البداية وتتغير عند إعادة التجديد subculture إلى خشنه rough وأحياناً مخاطية mucoid.

جدول (٢٠) أهم أنواع بكتريا Brucella المسببه لمرض Brucellosis وبعض خواصها

| النوع          | الشكل المورفولوجى للمستعمرات | نشاط الأوكسيديز | نشاط اليوريز | متطلبات $CO_2$ | إنتاج $H_2S$ | الحساسية للصبغات |          | العائل                                                                             |
|----------------|------------------------------|-----------------|--------------|----------------|--------------|------------------|----------|------------------------------------------------------------------------------------|
|                |                              |                 |              |                |              | الفوكسين القاعدى | الثيونين |                                                                                    |
| Br. abortus    | ناعم                         | +               | +            | أو -           | أو -         | +                | +        | يصيب أساساً الماشيه ويمكن أن يصيب الجاموس والماعز والغنم والجمال والإنسان والحيوان |
| Br. suis       | ناعم                         | +               | +            | -              | -            | -                | +        | يصيب مدى واسع من العوائل عن الأنواع الأخرى                                         |
| Br. melitensis | ناعم                         | +               | +            | -              | -            | +                | +        | شديد العدوى للغنم والماعز والماشيه وهو أكثر الأنواع إصابه للإنسان                  |
| Br. neotomae   | ناعم                         | -               | -            | +              | -            | -                | -        | يصيب فقط الفئران البريه desert wood rat                                            |
| Br. ovis       | خشن                          | -               | -            | -              | -            | -                | +        | يصيب الغنم فقط ولا يصيب حيوانات أخرى وكذا لا يصيب الإنسان                          |

| العائل                                                                                               | الحساسية<br>للصبغات |          | إنتاج H <sub>2</sub> S | متطلبات CO <sub>2</sub> | نشاط اليوريز | نشاط الأكسيديز | الشكل المورفولوجي للمستعمرات | النوع     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|----------|------------------------|-------------------------|--------------|----------------|------------------------------|-----------|
|                                                                                                      | الفوكسين القاعدي    | الثيونين |                        |                         |              |                |                              |           |
| يسبب التهاب الخصيه في ذكور الكلاب والإجهاض والتهاب الرحم في إناث الكلاب ولم يشر إليه في حيوانات أخرى | -                   | +        | -                      | -                       | +            | +              | خشن                          | Br. canis |

#### الخواص المزرعية Cultural

الحرارة المثلى ٣٦ - ٣٨ م°، ولكن معظم السلالات يمكنها النمو في مدى ٢٠ - ٤٠ م° والـ pH ٦,٦ - ٧,٤ والمثلى ٦,٨ الميكروب سالب لجرام غير متجرحم وغير متحرك لا يخمر اللاكتوز ولا يكون غاز من الكربوهيدرات ولايسيل الجيلاتين ويحلل اليوريا.

#### المقاومه Resistance

لهذه الميكروبات القدرة على مقاومة الظروف البيئية القاسية فيمكن أن تبقى عدة شهور في التربة وفي البراز ومياه الصرف والسماد والمعدات والملابس، كما يمكنها مقاومة الجفاف وتطول مدة بقائها في الحرارة المنخفضة خاصة التجميد فهي تستطيع البقاء في الأيس كريم عدة سنوات. والبكتريا حساسه لحد ما للأشعة المؤينه ionizing radiation فتقتل بجرعات التعقيم العاديه من الأشعة كما تقتل ببعض المطهرات مثل الفينول ١٠ جم / لتر، الفورمالهيد، الزيلين ١مل / لتر يعامل بها الأيدي وبعض أجزاء الحيوان. وتقل قدرة هذه المواد المطهرة بوجود المواد العضويه وإنخفاض درجة الحرارة. والميكروب حساس لبعض الصبغات مثل basic fuchsin, thionin ويستخدم

ذلك كإختبار روتيني للتعرف على الميكروب، كما أنه حساس للعديد من المضادات الحيوية مثل:

Tetracyclins, rifampin, gentamicin, kanamycin, erthromycin, ampicillin, streptomycin, chloramphenicol.

والبكتريا حساسه للفاج phage إذ يوجد أكثر من ٤٠ نوع من الفاج متخصصه في تحلل *Brucella spp*.

ولا يتكاثر الميكروب في اللبن ويتحمل الحموضة الطبيعية وينتقل إلى المنتجات اللبنية مثل الزبد والجبن الطرى والمثلجات اللبنيه التي تصنع من لبن غير معاملة حرارياً فقد أثبتت بعض الدراسات (Chapman & Sharpe, 1981) أن الميكروب يعيش أثناء تصنيع الجبن ويبقى حياً لعدة شهور، كما أن زيادة الحموضة تمنع نموه ولكن من المحتمل ألا تقضى عليه كلية لأيام عديدة. كما وجد أن المعاملة الحرارية وزيادة الحموضة والتسوية للجبن تمنع نمو الميكروب الموجود بها خاصة إذا تم تخزينها لمدة ثلاثة شهور على الأقل ولكن لايعتمد على ذلك. وتتوقف مدة بقاء البكتريا في المنتج اللبني باختلاف نوع الميكروب ونوع وعمر المنتج ودرجة الحرارة ، pH والرطوبة وظروف التخزين (جدول ٢١).

جدول (٢١) مدة بقاء البكتريا في بعض المنتجات اللبنيه (*Brucella*)

| المنتج اللبني | نوع الميكروب          | مدة البقاء | الحرارة م | pH | المنتج اللبني         | نوع الميكروب          | مدة البقاء   |
|---------------|-----------------------|------------|-----------|----|-----------------------|-----------------------|--------------|
| لبن           | <i>Br. Abortus</i>    | ٥ - ١٥ ث   | ٧١,٧      |    | أنواع مختلفة من الجبن | <i>Br. abortus</i>    | ٦ - ٥٧ يوم   |
|               | <i>Br. abortus</i>    | ٢٤ ساعة    | ٢٥ - ٣٧   | ٤  | أنواع مختلفة من الجبن | <i>Br. melitensis</i> | ١٥ - ١٠٠ يوم |
|               | <i>Br. abortus</i>    | ١٨ شهر     | صفر       |    | فيتا                  | <i>Br. melitensis</i> | ٤ - ١٦ يوم   |
| قشدة          | <i>Br. abortus</i>    | ٦ أسابيع   | ٤         |    | ركفور                 | <i>Br. Abortus</i>    | ٢٠ - ٦٠ يوم  |
|               | <i>Br. melitensis</i> | ٤ أسابيع   | ٤         |    | ركفور                 | <i>Br. melitensis</i> | ٢٠ - ٦٠ يوم  |

| المنتج اللبني    | نوع الميكروب       | مدة البقاء     | الحرارة م | pH        | المنتج اللبني | نوع الميكروب          | مدة البقاء    |
|------------------|--------------------|----------------|-----------|-----------|---------------|-----------------------|---------------|
| المتلجات اللبنيه | <i>Br. abortus</i> | ٣٠ يوم         | صفر       |           | كمبرت         | <i>Br. abortus</i>    | أقل من ٢١ يوم |
| الزبد            | <i>Br. abortus</i> | ١٤٢ يوم        | ٨         |           | تشدر          | <i>Br. abortus</i>    | ٨ شهور        |
| شرش              | <i>Br. abortus</i> | أقل من ٤ أيام  | ١٧ - ٢٤   | ٤,٣ - ٥,٩ | أبيض          | <i>Br. melitensis</i> | ٨ - ١ أسابيع  |
| شرش              | <i>Br. abortus</i> | أكثر من ٦ أيام | ٥         | ٥,٤ - ٥,٩ |               |                       |               |

وبعكس المنتجات اللبنيه فإن مدة مقاومة الميكروب فى اللحم أقصر نظراً للتخمير الحمضى للحم فيما عدا حالات التجمد حيث يمكن أن يعيش الميكروب عدة سنوات وعليه فإن اللحم أقل مصدر للعدوى من المنتجات اللبنيه غير المعامله حرارياً.

#### مصادر العدوى Sources of ifection

رغم أن اللبن ليس بيئة جيدة لنمو الميكروب إلا أنه يمكن أن يعيش فى اللبن ومنتجاته التى لم تعامل جيداً بالحرارة، لذا يعتبر اللبن ومنتجاته غير المعامله حرارياً والناثجه من حيوانات مصابه هى المصدر الرئيسى للعدوى، كذلك لحوم الحيوانات المريضة دون طهى جيد، وكذا التلوث من إفرازات الحيوانات المصابه، إذ يوجد الميكروب فى بول ودم الحيوانات المصابه وكذا فى أجنحتها أثناء الولادة، كما يوجد فى رحم إناث الحيوانات الحوامل وفى الغدد اللبنيه للحيوانات الحلابه مما يؤدى إلى إفرازه باللبن. كما ينتقل الميكروب عن طريق إستنشاق الهواء المحتوى عليه فى الحظائر والمجازر، وكذا عن طريق ملامسة الحيوانات المصابه ورغم السيطرة على المرض فى الحيوانات الأليفة فى معظم بلدان العالم إلا أن هناك بعض البلدان الحارة مازال المرض منتشراً بينها.

مدة الحضانه: ١ - ٣ اسابيع وهى متغيرة وقد تكون أطول من ذلك.

#### أعراض الإصابة

من أعراض الحمى المتقطعة (undulant fever) إرتفاع الحرارة وإنخفاضها بشكل متموج فى نفس اليوم - عرق غزير - قشعريرة - صداع - فقدان الشهيه - ألم فى

العضلات - التهاب العصب الوركي أو عرق النسا sciatica التهاب المفاصل والحلق - طفح جلدي - تضخم الطحال - نقص عدد الكرات البيضاء وتحدث العدوى عن طريق الجهاز التنفسي والهضمي وتشمل العدوى بصفة عامة مرحلة تسمم الدم يعقبها إصابة الأجهزة التناسلية (التهاب الخصية في الذكور و التهاب الرحم في الإناث) وإصابة الأغشية المبطنه للأمعاء (المعدة الثانية في الحيوانات المجترة) وتتركز العدوى في الحيوانات الحوامل وفي المشيمة والأجنة وغالباً ما يؤدي ذلك إلى الإجهاض.

#### الحساسيه والمناعه:

معظم الناس لديهم مناعة طبيعيه، وعادة إصابة الشخص بالمرض تحميه من الإصابة للمرة الثانية.

#### الوقايه والعلاج:

نظراً لإنخفاض كفاءة العلاج الكيماوى وزيادة تكلفته، فإن ذبح الحيوانات الموجه سيرولوجياً تعتبر إحدى طرق التحكم في منع إنتشار المرض. وتكون الإبادة إقتصاديه إذا كان معدل الإصابة أقل من ١٪ وفي حالة إبادة القطيع فلا يمكن إحلاله إلا بعد ٢ - ٣ شهور لذا يجب الكشف الدورى على الحيوانات وتحصينها ضد المرض خاصة الحيوانات الصغيرة ٣ - ٦ شهور وذلك بإستخدام لقاح S14 للماشيه.

عزل الحيوانات المصابه وإعدامها لو إستدعت الحاله وحرقتها ودفنها دفناً عميقاً وعدم إستهلاك ألبن الحيوانات المصابه. كما يجب القيام بمعامله اللبن بالحرارة الكافية للقضاء على الميكروب مهما كان الغرض من إستخدام اللبن.

وعلاج المصابين بالمضادات الحيويه وفي حالة عدم العلاج تختفى الأعراض تدريجياً ثم تعود بعد أسبوعين والإنتكاسه شائعة حتى بعد العلاج بالمضادات الحيويه، حيث يدخل المرض حالة تحت الحادة والتي تتميز بالحمى المتقطعة و التهاب الخصيه والأجهاد وألم الظهر، وتستمر هذه الحاله تحت الحادة ١٢ - ١٦ شهر، ولكن ٢٠٪ من المرضى تتحول حالتهم إلى الحاله المزمنه والتي تستمر لعدة سنوات.

## ٨- الأمراض والتسمم الناتج عن بعض أفراد عائلة Pseudomonadaceae

مقدمه:

تتميز أفراد هذه العائلة بأنها عصويه مستقيمه أو منحنيه - سالبه لجرام متحركه بأسواط قطبيه وما يميز هذه العائله عن عائله Enterobacteriaceae أن عائله Pseudomonadaceae موجبه الأكسيديز، وهى مؤكسدة وتنمو بسرعة على سطح البيئه وتوجد فى التربه والماء ومتطلبات نموها بسيطه وتضم العائله أربعة أجناس هى Pseudomonas, Xanthomonas, Zooglea, and Yluconobacter.

ويعتبر جنس Pseudomonas أكثرها أهميه ومن الأنواع التابعه لهذا الجنس:

*Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *Ps. putida*, *Ps. fragi*, *Ps. putrefaciens*

ومعظم الأنواع التابعه لهذا الجنس تسبب تغيرات حسيه غير مرغوبه فى المنتجات اللبنيه فمعظمها ينتج صبغات مختلفه، كما تنتج أفراد هذا الجنس إنزيمات ثابتة حرارياً منها lipases, proteases حتى على درجات الحرارة المنخفضه مما يسبب فساد اللبن ومنتجاته خاصة لبن UHT كما أن بعضاً منها يسبب تسمماً غذائياً للإنسان ويسبب إلتهاياً لضرع الحيوان ومن أمثله ذلك *Ps. aeruginosa* وهو يعطى صبغه زرقاء مخضرة (Pyocyanin تعطى لوناً أزرق عند إستخلاصها بالكلوروفورم).

وقد أمكن عزل هذا الميكروب من اللبن الخام وغيره من المنتجات اللبنيه وأمکن التأكد من فعله المرضي عن طريق حيوانات التجارب وتشير بعض الأبحاث Nasrital (1992) تواجد الميكروب فى اللبن الخام بمتوسط ١٠<sup>٥</sup> / مل.

أعراض المرض:

١- فى الإنسان: إصابة القناه البوليه والعين والأذن - عفن الدم - خراييج إلتهاب المساريقا والأمعاء ويرجع إضطراب الجهاز الهضمي إلى إنتاج سم معوى من النوع البروتيني ويتكسر بالحرارة وقد يؤدي هذا التسمم إلى الوفاة فى الأطفال بعد الإسهال الغزير.

٢- فى الحيوان: التهاب الضرع والأمعاء والمهبل وبطانه الرحم endometritis والإجهاض.

الوقايه: معاملة اللبن حرارياً - معالجة المياه - تعقيم المعدات المستخدمه فى الإنتاج والتصنيع وإتباع الشروط الصحيه.

## ٩- الأمراض والتسمم الغذائى الناتج عن التلوث

### بعض انواع البكتريا التابعة لعائلة *Vibrionaceae*

يتبع هذه العائلة عدة أجناس من بينها جنس *Vibrio* وهذا الجنس يتبعه حوالى ٢٥ نوعاً من البكتريا بعضها يسبب أمراضاً Bacterial diseases مثل مرض الكوليرا cholera والذى ينشأ عن الأصابه بكتريا *Vibrio cholera*، وبعضها يسبب تسمماً غذائياً يعرف بالتسمم الفيروسى *Vibriosis*، ويسببه عدة أنواع من أهمها *Vibrio parahaemolyticus*.

#### أ- مرض الكوليرا (الهيضه) Cholera

مقدمه:

مرض الكوليرا مرض معدى شديد الخطورة، وقد يكون أكثر خطورة من التسمم الفيروسى. وتتفاوت شدة المرض من مكان لآخر، ومازال المرض وباء منتشرأ فى دول الشرق الأقصى وبعض الدول الأفريقيه، نظراً للظروف السيئة فى هذه المناطق.

#### البكتريا المسببه للمرض Causative bacteria

بكتريا الكوليرا *Vibrio cholera*

#### الخواص المورفولوجية Morphological properties

واوى الشكل مفرد (١,٥ × ٠,٣ μ) متحرك بفلاجلا (أسواط) طرفيه، سالب لجرام غير متجرثم لا يكون عليه (كبسوله) وفى المزارع القديمه يوجد الميكروب فى صورة (حببيات grains) كرويه أو عصويه أو خيطيه أو حلزونيه أو على شكل مضرب الكره clubs ولكن يسترجع الميكروب شكله الأصلى (الواوى) عند إعادة

تلقيحه في بيئة طازجه، وعند نمو الميكروب في بيئة مرق اللحم القلوى Alkaline meat broth، والبيتون المائي water pepton فإنه يكون اغشيه رقيقه، أما عند نموه في بيئه تحتوى على الجيلاتين فإنه يؤدي إلى إسالة الجيلاتين في المنطقه المحيطة بالمستعمرات، وتصيح المستعمرات غارقه في الجيلاتين السائل المحيط بها.

### الخواص المزرعيه Cultural

هوئى إختيارياً، الحرارة المثلى لنموه ٣٧ °م، ويقف النمو على حرارة أقل من ١٤ °م أو أعلى من ٤٢ °م والـ pH المثلى ٦ - ٨، ويكون على البيئات الصلبه مستعمرات شفافه ذات لون أزرق خفيف ذات قبه ناعمة الأطراف. وعلى الجيلاتين فإنه يكون مستعمرات محببه granular شفافه تشبه الزجاج المكسر عند فحصها تحت الميكروسكوب.

### الخواص التخمرية Fermentation

يسيل الجيلاتين، وينتج الأندول، الأمونيا، SH<sub>2</sub>، يختزل النترات، يحلل اليوريا، ويخمر الجلوكوز والجالاكتوز والمالتوز والسكروز والمانيتول والنشا مع إنتاج حمض، ويخمر اللاكتوز ببطء فهو لا يخمر اللاكتوز في الـ ٤٨ ساعه الأولى، قد يحتوى سلاطات محلله للدم (الإنسان) ولكن لا يحلل الكرات الحمراء للماعز والغنم وقد لايجبن اللبن.

### المقاومه Resistance

يمكن للميكروب أن يعيش لمدة طويله على حرارة منخفضة، ويمكن أن يعيش في البراز شهراً وعلى الأسماك وفي أمعائها ١ - ٤٠ يوم، وفي المياه لعدة أيام، وفي الأغذيه ١ : ١٠ أيام وفي أمعاء الذباب ٤ : ٥ أيام ويظهر الميكروب مقاومه ضعيفة لضوء الشمس وأشعة (أكس x) والتجفيف ويموت لحظياً على ١٠٠ °م، وبعد ٥ د / ٨٠ °م، والميكروب شديد الحساسيه للمطهرات خاصة الأحماض، فمثلاً محلول من حمض الهيدروكلوريك Hcl ١ : ١٠,٠٠٠ يقتل الميكروب في دقيقه واحده، كما أن الميكروب شديد الحساسيه للعصارة المعديه.

## مصادر العدوى Sources of infection

مثل ميكروبات الحمى المعوية (تيفود أو باراتيفود) ينتقل الميكروب أساساً عن طريق الماء والتلوث المباشر بالمواد البرازية، والعدوى من شخص لآخر فالإنسان هو المصدر الوحيد للميكروب، كما تمثل الأغذية البحرية مصدراً هاماً لانتشار المرض، ويحدث بدرجة أقل من الأطعمة الملوثة الأخرى إذ أن الميكروب لا يتكاثر في الأغذية إلا أن بعض الأبحاث أظهرت قدرة الميكروب على النمو بصورة جيدة في بعض الأغذية المطهية خاصة المرتفعة الحموضة (بيض مسلوق - حبوب مطهيه - جمبرى - رخويات - قواقع). وينتقل الميكروب أحياناً إلى اللبن عن طريق الماء عند إضافته للبن بغرض الغش، ويبقى الميكروب في اللبن ٣ - ٥ أيام تحت الظروف الطبيعيه ويقتل بالحرارة، كما ينتقل إلى اللبن بطريق مباشر من الأيدي الملوثة للمصابين وحاملى المرض.

## إنتاج السموم Toxin production

لا ينتج سمّاً خارجياً ولكن ينتج سمّاً داخلياً شديد السمية، فعند حقن مزرعة (بكتريا) ناميه فى بيئه اللحم حتى مع سبق إتلافها بالتسخين ٥٥ م / ٣٠ د إذ أن التوكسين هو توكسين معوى غير مقاوم للحرارة مثل توكسين *E. coli*، وعند حقن هذه المزرعة فى وريد أرنب أصيب الأرنب بإسهال شديد وجفاف وعتومه فى القرنه بعد ٣٠ د من الحقن. ومن المعروف أن الميكروب يصيب الإنسان عن طريق الجهاز الهضمى وعند وصوله إلى الأمعاء الدقيقة حيث الوسط القلوى وإحتوائها على كميات وفيرة من نواتج تمثيل البروتينات وهى ظروف مشجعة لتكاثر الميكروب، وعند موت الميكروب يتحرر منه التوكسين الداخلى الذى يغزو دم المريض إذ يسبب نخرأ فى الغشاء المبطن للأمعاء ويسبب التسمم. كما ينتج الميكروب إنزيمات تسبب تغيراً فى مركبات كرات الدم الحمراء، وعموماً فإن تأثير الميكروب على الدم عملية معقدة ويختلف هذا التأثير كثيراً طبقاً لخواص السلالة.

مدة الحضانه: Incubation period: من بضع ساعات إلى ٥ أيام (٢ - ٣ يوم عادة) ويظل المريض معد لمدة تتراوح ما بين ٧ : ١٤ يوماً من بدء المرض وأحياناً يستمر ٢ : ٣ شهور.

## أعراض المرض: Symptoms

تظهر الأعراض فجأة دون سابق إنذار، وتبدأ بقئ شديد وإسهال مائى شديد له لون ماء الأرز، ويحتوى العديد من الخلايا الطلائيه للأمعاء، وأعداد كبيرة من الميكروب، ويؤدى الإسهال والقئ إلى حالة شديدة من الجفاف وبرودة الأطراف وتكرمش الجلد وبروز عظام الوجه وتقور العينين ووقف إفراز البول، وقد تحدث مضاعفات منها الفشل الكلوى، حموضة الدم وهبوط فى الدورة الدمويه، وإذا لم يسعف المريض بالعلاج ينتهى بالوفاة، وتتراوح معدل الوفيات ٥ - ١٠٪ من المصابين فى المناطق التى يتوطن فيها الكوليرا وقد يصل إلى ٧٥٪ فى مناطق أخرى. وتنتج الوفاة لأن المريض يفقد معظم سوائل جسمه وما بها من أيونات خاصة البوتاسيوم. حيث ينفذ الميكروب وما يتحرر منه من سم معوى خلال الغشاء المخاطى للأمعاء الدقيقة ليلتصق بتجاويف هذا الغشاء والسم المتحرر يحفز فقد السوائل من الأمعاء.

ويمكن تمييز ثلاث مراحل لهذه الأعراض:

- ١- التهاب الأمعاء وإسهال يستمر ١ - ٢ يوم قد ينتهى بعدها ويشفى المصاب.
- ٢- التهاب الجهاز الهضمى وإسهال غزير وقئ مستمر يؤدى إلى الجفاف وإنخفاض حرارة الجسم، ويقل إفراز البول ونقص شديد فى العناصر المعدنية والمواد البروتينيه وتشنجات ويلاحظ وجود الميكروب فى القئ والبراز الذى يصبح كماء الأرز فى مظهره.
- ٣- تظهر أعراض حادة إذ يتكرمش الجلد نظراً لفقد الماء، وتزرق البشرة (لنقص الأكسجين) ويصبح الصوت مبوحاً وأحياناً يفقد الصوت، وتنخفض الحرارة  $35,5 : 34$  م° ونظراً لتركيز الدم يضعف نشاط القلب بشدة ويتوقف إفراز البول وترتفع نسبة المواد النيتروجينية فى الدم ozataemia ويتبع ذلك الأغماء وإنهيار الجسم كله ثم الموت. وبفحص الجثة تظهر الأمعاء الدقيقة مغطاه بإفرازات لزجة، ويكون الغشاء المخاطى المبطن لها محتقناً، كما يوجد نزيف فى الطبقة الموجودة تحت الغشاء المخاطى، ويوجد أعداد كبيرة من الميكروب فى جدر الأمعاء الدقيقة.

## Immunity المناعة

لحموضة المعدة دوراً هاماً في ميكانيكية الدفاع الطبيعية، كما يكتسب المريض بعد شفائه مناعة مكتسبة لفترة قصيرة (قد تستمر سنتين)، وتوجد مناعه صناعيه باستخدام اللقاح وتستمر ٦ - ١٢ شهر.

**ملحوظه:** لا يهاجم الميكروب الحيوانات ومقصود على الإنسان.

## العلاج Treatment:

علاج المرضى بالمضادات الحيويه (مركبات Sulphonamides) مع التحكم في الجفاف بالحقن بالمحاليل الملحيه والجلوكوز والبلازما، ويوصى بحمام دافئ وتعاطي أدويه للقلب والدورة الدمويه.

## الوقايه Prophylaxis

- ١- التعرف على الحالات الأولى من المرض وتسجيل جميع الحالات وإبلاغ السلطات الصحيه العليا.
  - ٢- عزل المرضى وحاملى الميكروب بالمستشفيات وملاحظة المخالطين لهم.
  - ٣- تطهير حجرات المرضى ومافيها من فرش وأدوات وحرق بقايا طعام المصابين.
  - ٤- حماية مصادر المياه من التلوث وغلى المياه أو معاملةتها بالكلور قبل إستخدامها.
  - ٥- مراعاة النواحي الصحيه فى تحضير وتداول الأغذيه خاصة ما يؤكل منها طازجاً دون تجهيز والعنايه بتطهير الأطباق (إستخدام أدوات لمرة واحدة) والعنايه بغسل الأيدي ومكافحة الذباب.
  - ٦- التحصين باللقاح المناسب للمخالطين.
- ب- التسمم الغذائى الفبريوسى Vibriosis

مقدمه:

يرتبط هذا النوع من التسمم أساساً بإستهلاك الأغذيه البحريه خلال أشهر الصيف، وهو من أحد التسممات الشائعه باليابان نظراً لكثرة تناول الأسماك والأغذيه البحريه، والميكروب أكثر إرتباطاً بالأصداف عن غيرها من صور الأغذيه البحريه،

إذ توجد البكتريا المسببه لهذا التسمم عادة فى مياه البحار والمحيطات، ويرتبط وجودها فى هذه المياه بدرجة الحرارة، حيث يوجد بأعداد قليلة يصعب الكشف عنها عندما تكون درجة حرارة الماء أقل من ١٥ م°. فالميكروب يعيش فى الرواسب قرب السواحل خلال فصل الشتاء عندما تكون درجة الحرارة أقل من ١٠ م° وينطلق من هذه الرواسب إلى المياه فى فصل الصيف عندما ترتفع حرارة المياه إلى ١٥ م° أو أعلى. ولا يوجد الميكروب فى المياه العميقة لعدم تحمله الضغط الهيدروستاتيكي المرتفع فى هذه المناطق. وقد أمكن عزل الميكروب من مياه السواحل فى جميع أنحاء العالم، فقد عزل من مياه شرق أفريقيا، ومياه شمال وشمال غرب أوروبا. والمياه الأستراليه وشاطئ الخليج ومختلف مناطق البحر المتوسط، ومما يساعد على توطن هذا الميكروب فى تلك المياه هو صرف مياه الصرف الصحى الغنيه بالمواد العضويه فى هذه المياه.

### البكتريا المسببه للمرض Causative bacteria

رغم وجود عدة أنواع من جنس *Vibrio* قادرة على أحداث هذا التسمم.

إلا أن *Vibrio parahaemolyticus* يعتبر أكثر الأنواع أهميه.

### الخواص المورفولوجية Morphological properties

ميكروب عصوى مستقيم أو منحنى ( $1,3 \times 0,65 \mu\text{m}$ ) غير متجرثم متحرك حيث يوجد سوط واحد بنهاية كل خلية واحياناً تكون الخلية محاطه بالأسواط.

### الخواص المزريه Cultural

هوائى او لاهوائى إختيارياً، درجة الحرارة المثلى ٣٠ - ٣٥ م° (٢٢ - ٤٤ م°)، الحد الأقصى ٤٤ م° والحد الأدنى ١٠ م° عند النمو فى المياه المفتوحه، ويمكن أن ينمو فى المنتجات الغذائيه على درجة حرارة أقل ولكن لاينمو عند ٤ م° فأقل، ودرجة pH المثلى ٧,٦ - ٨,٦ وإن كان الميكروب يستطيع النمو فى نطاق من الـ pH ٤,٨ - ١١، وقد وجد أن الحد الأدنى للـ pH يرتبط بدرجة الحرارة ومحتوى البيئه من NaCl فيزيد الحد الأدنى للـ pH بإنخفاض الحرارة وإرتفاع نسبة الملح جدول (٢٢) ولاينمو فى غياب NaCl.

## الخواص التخمرية Fermentation properties

ليس للميكروب القدرة على تخمر اللاكتوز أو السكروز، ولكن للميكروب نشاط إنزيم oxidase وإنزيم lysin dccarboxylase وإنزيم ornithine decarboxylase.

جدول (٢٢): الحد الأدنى للـ pH لنوميكروب *V. parahaemolyticus*

| الحد الأدنى للـ pH عند تركيز Nacl |                   | درجة الحرارة م |
|-----------------------------------|-------------------|----------------|
| عند تركيز ٧٪ Nacl                 | عند تركيز ٣٪ Nacl |                |
| ٧,٦                               | ٧,٣               | ٥              |
| ٧,١                               | ٧,٢               | ٩              |
| ٦,٠                               | ٥,٢               | ١٣             |
| ٥,٣                               | ٤,٩               | ٢١             |
| ٥,٢                               | ٤,٨               | ٣٠             |

## المقاومة Resistance

الميكروب غير مقاوم للحرارة، وتتوقف درجة مقاومه على عدد الميكروبات في العينة ونسبة الملح بها فتزيد مقاومه بزيادة أعداد الميكروب فمثلاً إذا كان العدد ٥٠٠ خليه/ مل فإنه يقضى عليه بالتسخين لدرجة ٦٠ م° / ١٥ د، أما إذا كان العدد ٢ × ١٠ خليه / مل فإن بعضها يقاوم التسخين لدرجة ٨٠ م° / ١٥ د، كما تزيد مقاومه للحرارة بارتفاع نسبة الملح في العينة فقد وجد أن الخلايا التي تنمو في وجود ٣٪ أو ٧٪ ملح طعام تكون أكثر مقاومه للحرارة عن الخلايا التي تنمو في وجود ٠,٥٪ وعموماً فإن الميكروب يقاوم نسبة من الملح قد تصل إلى ١٠٪.

## مصادر العدوى Sources of infection

الأغذية البحرية الخام (سمك جمبرى - إستاكوزا - كابوريا - أصدا ف - حيوانات بحرية رخوة) ويحدث التسمم عادة عند تناول هذه الأغذية دون طهي، خاصة عند تخزينها عند حرارة أعلى من ٤ م° (١٢ - ٣٠ م°)، حيث يسمح ذلك بزيادة عدد الميكروبات لحد أعلى من الجرعة التي تسبب العدوى (١٠ خليه / جم غذاء) وتعتبر الأغذية المطهية جزئياً والمجمدة Frozen n precooked المصدر الرئيسى للتسمم الفيروسي.

### إنتاج السموم Toxin production

ينتج الميكروب سمّاً خلوياً cytotoxin يسمى هيموليسين haemolysin له القدرة على إذابة خلايا الدم الحمراء في الإنسان في بيئة آجار الدم. وتختلف السلالات في نوعية هذا التوكسين من حيث تحمله للحرارة. فبعض السلالات تنتج هيموليسين مقاوماً للحرارة (TH) Thermostable haemolysin.

ويطلق على هذه السلالة  $k^-$ ، وبعض السلالات الأخرى تنتج هيموليسين غير مقاوم للحرارة Heat labile haemolysin ويطلق على هذه السلالة  $k^+$ ، وبعض السلالات تنتج كلا النوعين من الهيموليسين. ويوجد ارتباط قوي بين قدرة السلالة على إنتاج (K) TH وقدرتها على إحداث العدوى وهذا السم (TH) عبارة عن بروتين وزنه الجزيئي ٤٢,٠٠٠ دالتون، مقاوم للحرارة يبقى في الغذاء بعد إنتاجه، ويمكن الكشف عنه عندما يصل عدد الخلايا  $10^6$  / جم غذاء، والسم أكثر مقاومه للحرارة عند pH ٥,٥ - ٦ عنها عند pH ٧ - ٨ ويتم إنتاج التوكسين فقط عند pH ٥,٥ - ٦,٥ والتوكسين قاتل للفئران mice حديثة الولادة فمتوسط الجرعة  $LD_{50}$  هي ١,٥ ميكروجرام.

#### ملحوظة:

K هي إختصار لعبارة Kanagawa reaction تفاعل k وهذا التفاعل هو الذي يميز بين السلالات شديدة العدوى  $K^+$  والسلالات غير المرضية  $K^-$  ولتقدير هذا التفاعل تلقح بيئة آجار الدم سطحياً بالميكروب والتحصين  $37^\circ C$  / م / ١٨ - ٢٤ ساعة ويختبر لوجود تحلل الدم من النوع  $\beta$  - hemolysis  $\beta$  (وجود منطقة شفافة حول المستعمرات نظراً لتحليلها لخلايا الدم الحمراء) معناه إختبار موجب أى الميكروب معدى  $K^+$ .

#### مدة الحضانة: Incubation period

تتراوح فترة الحضانة من ٤ - ٤٨ ساعة وعادة ١٢ - ٢٤ ساعة بعد تناول طعاماً ملوثاً.

#### أعراض الأصابه Symptoms

إسهال غزير، ألم في البطن، غثيان، صداع، ضعف، أحياناً حمى وقئ. وتستمر الأعراض ٢ - ٥ أيام وتختلف ظهور أعراض المرض باختلاف السلالة  $K^+$ ،  $K^-$  فقد

وجد أن السلالة  $K^+$  هي التي تسبب ظهور الأعراض عندما يكون عددها  $2 \times 10^6$  خلية  $K^+$  / جم من الغذاء، بينما  $10^6$  خلية  $K^-$  / جم غذاء لا ينشأ عنها ظهور أعراض المرض.

#### الوقاية:

- ١- الطهي الجيد للأغذية البحرية.
- ٢- منع تلوث اللبن ومنتجاته بأغذية البحار sea food.
- ٣- التأكد من أن منتجات الأسماك المطهية جزئياً والمجمدة ذات جودة ميكروبيه عالية.
- ٤- تجنب التلوث العرضي للأغذية البحرية المطهية من الأغذية البحرية الخام.
- ٥- حفظ كل الأغذية البحرية المطهية والخام عند درجة حرارة منخفضة ( $-4^{\circ}C$ ) أو حرارة التجميد.
- ٦- الإهتمام بالنظافة الشخصية للعاملين في مجال تحضير الطعام.

### ١- الأمراض والتسمم الغذائي الناتج عن التلوث

#### بعض البكتريا التابعة لعائلة Lactobacillaceae

#### مقدمه:

تشمل هذه العائلة جنساً حقيقياً واحداً هو Lactobacillus، ومعظم أنواع هذا الجنس مفيد تدخل في الصناعات اللبنيه. كما تحتوى العائلة ثلاثة أجناس أخرى غير متأكد من إنتمائها لهذه العائلة. ومن هذه الأجناس الثلاثة جنس Listeria ويضم هذا الجنس ثمانية أنواع (جدول ٢٣).

جدول (٢٣) الأنواع التابعة لجنس Listeria وخواصها

| النوع                   | خواصه                        | النوع                   | خواصه                         |
|-------------------------|------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| <i>L. monocytogenes</i> | مرض للإنسان والحيوان         | <i>L. welshimeri</i>    | قد لايسبب أمراضا              |
| <i>L. innocus</i>       | مرض للحيوانات تحت ظروف معينه | <i>L. grayi</i>         | يعتبره البعض نوعا تابعا للجنس |
| <i>L. seeligeri</i>     | مرض للإنسان (قد لا يكون)     | <i>L. murrayi</i>       | يعتبره البعض نوعا تابعا للجنس |
| <i>L. ivanovii</i>      | قد لايسبب أمراضا             | <i>L. denitrificans</i> | يعتقد الآن أنه ينتمى لجنس آخر |

ومن ذلك نرى أن نوعاً واحداً من هذه الأنواع ممرض للإنسان والحيوان هو *L.monocytogenes* والمرض الناتج عنه يسمى التسمم الليستيرى Listeriasis ويسبب وفاة ٣٠ - ٣٥٪ من الأشخاص المصابين وفى الحيوانات يسبب إجهاضاً.

### التسمم الليستيرى Listeriasis

#### البكتريا المسببه للمرض Causative bacteria

الليستيريه الوحيديه *L. monocytogenes*

#### الخواص المورفولوجية Morphological properties

عصوى صغير (٠,٥ - ٢ µ طولاً) و(٠,٤ - ٠,٥ µ عرضاً) يشبه بكتريا الدفتريا. منحنى قليلاً بنهايه مستديرة. ذو سوط طرفى، يوجد منفرداً أو فى أزواج، ولايكون جراثيم أو كبسولات.

عند عمل شريحه من أعضاء مصابه يظهر الميكروب فى أزواج عن شكل حرف

(V) أو فى سلاسل

المستعمرات عمر ٢٤ - ٣٦ ساعة موجب لجرام، ولكن المزارع القديمه أو

المزارع السائله broth تبدو الخلايا غالباً سالبه لجرام، متحرك بأسواط.

#### الخواص المزريعه Cultivative properties

هوائى إختيارياً فى قليل من O<sub>2</sub> ويحتاج CO<sub>2</sub> أعلى مما فى الجو العادى ولكن

يمكن أن يحدث النمو تحت ظروف الجو العادى، أفضل pH لنموه هى الظروف

المتعادله فهو ينمو على جميع البيئات العاديه على pH ٧ - ٧,٢، وكان يعتقد أن

الميكروب المرضى لاينمو على pH أقل من ٥,٦ إلا أن الأبحاث اثبتت نموه على pH

٥، الحرارة المثلى لنموه ٣٧ °م حيث تكون المستعمرات على بيئة nutrient صلبه

صغيرة ناعمه مستديرة flat بلون اللؤلؤ (أو أزرق مخضر) وعلى بيئة الكبد تكون

المستعمرات لزجه، وفى بيئة المرق broth ينتج عكارة وراسب لزج، وعلى أجار الدم

يكون مستعمرات محاطه بمنطقة متحلله، ولاينمو على أقل من ٢ °م أو أعلى من ٥٥

°م، ويعطى نمواً بطيئاً على ٣ - ٤ °م حيث يعطى نمواً على البيئة الصلبة بعد ٥ -

٨ أيام، بعض سلالاته تكون صبغات حمراء أو صفراء بعد التحضين لعدة شهور.

## الخواص التخمرية Fermentation properties

يبين الجدول الآتي ( ٢٤ ) الخواص التخمرية للميكروب

جدول (٢٤) الخواص التخمرية للميكروب *L. monocytogenes*

| النتيجة | الخاصية                | النتيجة | الخاصية              | النتيجة | الخاصية                  |
|---------|------------------------|---------|----------------------|---------|--------------------------|
| -       | إنتاج الإندول          | +       | الكتاليز             | +       | بيئة عباد الشمس (١)      |
| -       | إنتاج H <sub>2</sub> S | +       | تخمير الجلوكوز (٢)   | +       | أحمر الميثيل             |
| -       | إختزال النترات         | -       | تخمير اللاكتوز (بطئ) | +       | إختبار VP                |
| -       | تسيل الجيلاتين         | -       | تحلل النشا           | +       | إنتاج أمونيا من الأرجنين |
| -       | تخمير المانيتول        | -       | تحلل اليوريا         | -       | تخمير السكروز            |

(١) يحمض بيئة لبن عباد الشمس ببطء وعادة مايزيل لونها ولكنه لايجبها.

(٢) يعتبر الجلوكوز المصدر المفضل للكربون والطاقة، ويعتبر مطلباً غذائياً للميكروب وهو يخمره وينتج حمضاً دون إنتاج غاز.

## المقاومة Resistance

يقاوم الميكروب الظروف البيئية فهو مقاوم للملوحة (الضغط الإسموزي المرتفع) فيمكنه النمو في محلول ملحي ٢٥,٥% على ٤ م° لمدة ثلاثة - أربعة أشهر. يقاوم البرودة والتجميد فقد وجد في الأيس كريم، ويقاوم الجفاف. كما يمكنه أن يعيش في التربة الرطبة ما يقرب من سنه ولكنه غير مقاوم للحرارة أو المواد المطهرة فيقتضى عليه بالبسترة، ويقتل بالتعرض لمحاليل فورمالين (٠,٥%) ومحلول فينول (٥%) ويقاوم pH (٥,٦ - ٩,٦) ونظراً لأنه من البكتريا Psychrotrophic فيمكنه النمو في اللبن والمنتجات اللبنية واللحوم وأطعمه أخرى على درجة حرارة الثلاجة. فوجد أن مرحلة log phase للميكروب في اللبن الفرز والكامل والأيس كريم حوالى ٥ أيام على ٤ م°، ويصل العدد تقريباً إلى مليون خلية / جم من المنتج بعد ١٥ يوم بينما يصل العدد إلى ١٠<sup>٧</sup> خلية / جم بعد ٣ - ٤ أسابيع في جميع المنتجات السابقة عدا لبن الشيكولاته حيث يصل العدد ١٠<sup>٨</sup> : ١٠<sup>٩</sup> خلية / جم وقد وجد أن البسترة على درجة ٦١,٧ م° / ٣٣ د لاتيبيد الميكروب مما يستلزم الغليان لإبادته.

### مصادر العدوى Sources of infection

تعتبر الماشية والغنم والماعز أكثر الحيوانات عرضة للإصابة بالميكروب، إذ يسبب مرض إتهاب الضرع فى الحيوانات الحلابه، فتفرز الحيوانات المصابه الميكروب فى اللبن والروث، وينتقل الميكروب إلى الإنسان عن طريق الأغذيه الملوته، كما يعتبر السيلاج مصدراً رئيسياً لإنتقال الميكروب إلى الماشيه إذ أن المواد النباتيه الخضراء المستخدمه فى صناعته تتلوث بروث الحيوانات المصابه، فالسيلاج غير المخمر بالدرجة الكافيه يحتوى على الليستريا. كما يعتبر لحم الخنزير المصاب بمرض Listeriosis أكثر خطورة وقد تحدث العدوى عن طريق عضه من القراد حيث يدخل الميكروب عن طريق الجلد المجروح والأغشيه المخاطيه للفم والقناه الهضميه، وقد أمكن عزل الميكروب من اللبن والجبن غير المبستر والروث والتربه والسيلاج.

### إنتاج السموم Toxin production

ينتج الميكروب العديد من المواد الضارة منها:

- ١- سم داخلى يتحرر عند تحلل الخلايا وهو مسئول عن ظاهرة Listeriosis فى الإنسان والحيوان.
- ٢- سم خارجى غير ذائب يطلق عليها Listeriolysin وهو له القدرة على تحليل خلايا الدم الحمراء من النوع hemolysin  $\alpha$ ،  $\beta$ ،  $\gamma$  وهذا السم تنتجه جميع السلالات المرضيه.
- ٣- مركب يسمى internalin وهو يشارك فى غزو خلايا العائل.
- ٤- إنزيمات منها Metalloprotease, phospholipase كما وجد أن السلالات شديدة العدوى تكون محلله للدهن.

### أعراض المرض: Symptoms

نظراً لطول مدة الحضانه (عدة أسابيع) فقد تتلوث القناه الهضميه بالميكروب دون ظهور أعراض على المصابين أو يعانون فقط من أعراض خفيفة ماتلبث أن تختفى. وتشمل أعراض الإصابة غثيان - قيء - إسهال - آلام فى البطن مع حمى وآلام فى الظهر وعدم إنتظام التبول، وإصابة (إتهاب) البلعوم والكلى. وتكون الأعراض فى

الحوامل مصحوبه بأعراض تشبه أعراض الأنفلونزا. وقد يسبب إجهاضاً وفي الأطفال يكون المرض أشد وطأة مما قد يؤدي لتسمم دموى وإلتهاب سحايا المخ (أغشية الدماغ) meningoccephalitis المميت في معظم الحالات خاصة عند الأطفال حديثي الولادة حيث تزداد معدل الوفاة إلى ٧٠٪ وفي الحيوانات قد يسبب إلهاب الضرع وإلهاب السحائي والإجهاض.

#### الوقايه:

##### أ- بالنسبه للإنسان والحيوانات:

التعرف على المرض ومعالجة الإنسان والحيوانات التي تعاني من المرض. وتجنب مخالطة الأصحاء بالحيوانات المصابه أو حاملي الميكروب مع تجنب إستهلاك الأغذية المحتمل تلوثها بالميكروب مع إستبعاد الحيوانات المصابه.

##### ب- بالنسبه للمصنع:

- عدم قبول المنتجات المرتجعة - غير المعقمه والمحفوظة في الثلاجة بعد إنتهاء مدة صلاحيتها إذ أن التخزين في الثلاجة له تأثير cold enrichment يعمل على إعادة إصلاح الخلايا التي تشوهت بالعمليات التصنيعيه خاصة المعاملات الحراريه التي تعرض لها المنتج.

- عزل مناطق تداول اللبن ومنتجاته المبسترة عن الأنشطة الأخرى. وكذلك يجب أن تتم تداول المنتج النهائي قبل تسويقه في منطقة بعيدة عن منطقة تداول المواد الخام.

- العناية الصحيه أثناء إنتاج وتصنيع اللبن وتخزينه بتنظيف وتعقيم أماكن الصرف drains والتخزين البارد وذلك بأشخاص مدربين مع العناية بماء المصنع وتعقيمه بالطرق التي تجعله خالياً من البكتريا المرضيه.

##### ج- الأغذيه:

نظراً لأن الميكروب لا يستطيع النمو على pH أقل من ٥ لذا يفضل تحميص الطعام إذا أمكن ذلك، فهو سوف يساعد في تثبيط نمو الميكروب. مع إختبار الأغذيه عاليه المخاطر high risk foods من حيث إحتوائها على الميكروب، وإتباع

طرق محسنة للكشف عن الميكروب مع إتباع المعاملة الحرارية المناسبة. وقد تستخدم المواد الحافظة المسموح بها فالميكروب حساس للبنزوات والسوربات عن البروبيونات.

## ١١- الأمراض والتسمم الغذائي الناتج عن التلوث

### بعض البكتريا التابعة لعائلة *Spirillaceae*

التسمم الغذائي الكامبيلوبكتيري *Campylobacteriosis* (داء المنتثيه)

مقدمه:

يعتبر هذا التسمم من أهم العدوى المعويه الشائعة التي تصيب الإنسان عن طريق الغذاء في كثير من دول العالم مسببة له إضطرابات معويه وإسهالاً للمسافرين، وهي مسؤولة بدرجة أكبر من السالمونيلا والشيغيليلا عن هذه الإضطرابات، وقد وجد أن معظم حالات التسمم هذه غالباً ما تكون ناتجة عن تناول لحوم طيور وأحياء مائية غير جيدة الطهي، بجانب تناول لبن خام أو مبستر ملوث ببراز الحيوانات.

ومن أهم الأجناس التابعة لهذه العائلة جنس *Campylobacter spp* ويضم هذا الجنس حوالي ثمانية أنواع منها أنواع ممرضة للإنسان من أهمها:

*C. jejuni* , *C. fetus subsp fetus* , *C. coli* , *Campylobacter intestinalis* ,

والنوع *C. fetus subsp fetus* يسبب الإجهاض في الماشيه أما *C. jejuni* فهو المسبب للتسمم الغذائي في الإنسان.

### البكتريا المسببه للمرض *Causative bacteria*

*Campylobacter jejuni* المنتثيه الصائمية هو المسبب الرئيسي للإلتهابات المعويه في الإنسان، والمسئول عن حالات عديدة من الإسهال.

### الخواص المورفولوجية *Morphological properties*

عصوى حلزوني منحنى (٠,٢ : ٠,٥ × ٨ : ٥ μ) يصبح كروي أو بيضاوى في المزارع القديمة، متحرك يحتوى سوطاً واحداً عند طرف الخليه أو طرفيها، غير متجرثم، سالب لصبغة جرام، يظهر حركة حلزونية (لولبيه corkscrow like motion).

### الخواص المزرعية Cultivative properties

شحيح الإحتياجات الهوائية يفضل ٦ - ١٠٪  $O_2$  ولا ينمو فى ٢١٪  $O_2$ ، محب للحرارة (٣٠ - ٤٥ م°) والحرارة المثلى ٤٢ م° ولا يتكاثر على حرارة أقل من ٣٠ م° لذا لا يحتمل تكاثره فى الأغذية فى الدول معتدلة الحرارة (حرارة الغرفة أو أقل)، حساس للتجميد يقضى عليه عند - ١٨ م°، حساس للجفاف والحموضه لا ينمو على pH أقل من ٥,٣ والمثلى (٦ - ٨) والمدى (٥,٣ - ٩,٥).

### الخواص التخمرية Fermentation properties

ينتج إنزيم Oxidase، Catalase ولا يستطيع الإستفادة من الكربوهيدرات ولا يختزل النترات ولايسيل الجيلاتين ولاينتج الأندول.

### مصادر العدوى Sources of infection

تعتبر القناة الهضمية وضرع الحيوان وبرازه مصدراً لهذا الميكروب، كما يوجد فى أمعاء حيوانات المزرعة والدواجن والحيوانات الأليفة، ومياه المجارى والأنهار، كما يصيب حيوانات الدم الحار، وغالباً ما يعتبر اللبن الخام أو المبستر بطريقة غير كاملة مصدراً لهذا الميكروب إذ يوجد فى روث الماشيه وفى ألبان الحيوانات المصابه بالتهاب الضرع مما يسهل تلوث اللبن به، فقد وجد بمعدل ٠,٢ - ٤,٣٪ من عدد العينات المختبرة (El. Kholly, 1992) ويعتقد أنه لا يتكاثر بالغذاء ويتكاثر فى القناة الهضمية.

### إنتاج السموم Toxin production

بعض سلالاته تنتج توكسين معوى غير مقاوم للحرارة (CJT) heat ñ labile enterotoxin يؤدي لزيادة مستوى cyclic adenosin monophosphate (CAMP) فى الأمعاء وبالتالي الإسهال، كما أن للميكروب القدرة على غزو الأنسجة.

### مدة الحضانه: Incubation period

٢-١١ يوم وغالباً ٣ - ٥ أيام.

## الأعراض: Symptoms

ألم شديد فى البطن إذ يسبب إلتهاب القناة الهضمية (إلتهاب الأمعاء enteritis) -  
إسهال - غثيان - صداع - حمى. يحدث شفاء بعد إسبوع وقد تستمر الأعراض ٣  
أسابيع. فى الحالات الشديدة براز دموى - آلام فى البطن أشبه بالآلام الزائدة الدودية،  
إلتهاب المرارة - عدوى الجهاز التنفسى، يمكن رؤية مخاط دموى وكرات دم بيضاء  
فى البراز ميكروسكوبياً نتيجة غزو الميكروب لأنسجة الأمعاء.

## ١٢- الأمراض الناتجة عن بعض البكتريا التابعة لعائلة Rickettsiaceae

مقدمه:

هذه العائلة يضعها البعض ضمن البكتريا رغم أنها أصغر حجماً من البكتريا،  
وتعيش فى خلايا الإنسان والحيوان، وليس لها القدرة على التكاثُر خارج العائل،  
وحجتهم فى ذلك أنها تتكاثر بالإنقسام الثنائى، ولها جدار خلوى يحتوى مكونات مماثلة  
لمكونات جدر خلايا البكتريا وحساسه للمضادات الحيوية.

ويتبع هذه العائلة جنسان هما 1- Rickettsia 2- Coxiella

١- Rickettsia: وهى تمر من المرشحات البكتيرية (أكثر شبيهاً بالفيروسات).

٢- Coxiella: وهى لاتمر من المرشحات البكتيرية (أكثر شبيهاً بالبكتريا).

وما يهمنى هنا هو الجنس الأخير Coxiella الذى يتبعه بكتريا Coxiella burnetti

المسئول عن نوع من الحمى يسمى حمى Q أو حمى المجازر، وإسم المرض  
مشتق من Query ومعناه الشك إذ ظل هذا المرض مدة طويلة مشكوك فيه وغير  
معلوم.

ونتناول فيما يلى أهم خواص هذه البكتريا:

### الخواص المورفولوجية Morphological properties

خلايا صغيرة متعددة الأشكال (٠,٢ : ٠,٤ × ٠,٤ : ١ μ) عصوى خيطى أو  
بيضاضوى وكروى، سالب لجرام، غير متحرك يوجد أحياناً فى صورة diplococci.

## الخواص المزريه Cultivative properties

يمكن زراعته على مزارع الأنسجة plasma tissuc culture وفى أجنة الكتاكيت فهو لايتكاثر إلا فى الخلايا الحيه.

## المقاومه Resistance

مقاوم للجفاف إذ يمكن أن يبقى (يعيش) بعيداً عن البيئه ١٠٩ يوم ، لذا ينتقل عن طريق الإستنشاق، كما أنه مقاوم للحرارة فهو يقاوم ٦٠ م° / ساعة ويقتل على ٧١,٧ م° / ١٥ ث أو ٦٢,٨ م° / ٣٠ د، ويعزى ذلك لتكوين الجراثيم الداخليه endospores، فهو أكثر مقاومه لحرارة البسترة عن بكتريا السل *M. tuberculosis* لذا قد يستخدم كدليل ميكروبي an indicator organism فى تحديد كفاءة عملية البسترة. ويبقى حياً عدة أيام فى الماء واللبن ويقاوم التجميد (-٢٠ م°) إذ يمكن أن يعيش فى هذه الدرجة لمدة عامين، ويقاوم ٠,٥٪ فورمالين، ١٪ فينول / ٢٤ ساعة، ويمكن أن يعيش فى جبن التجبن الإنزيمى ٢٥ يوم، ولكن يموت فى الزبادى فى بحر ٢٤ ساعة نظراً لحموضته.

## مصادر العدوى Sources of ifection

الحيوانات المنزليه والبقر والماعز والغنم، وينتقل منها للإنسان عن طريق إستنشاق الأتربه وتناول الأغذيه الملوته واللبن الخام ومنتجاته غير المعامله حرارياً الملوته بالميكروب، وكذا بواسطة الحشرات، ويعتبر القراد، القمل وبق الفراش، الذباب، ماشية اللبن من عوامل نقل العدوى.

وينمو الميكروب بصورة أفضل فى الفجوات العصارية لخلايا عائل الحيوانات المفصليه والفقاريات ولاسيما القروء، ويبقى الميكروب فى الماشيه لفترة طويله (حوالى ٢٠٠ يوم) وتكون مصدراً للعدوى، وتبدو الحيوانات المصابه سليمه ظاهرياً، وقد لا يظهر أى تغيرات غير طبيعيه على اللبن الناتج من الحيوان المصاب، ويفرز الميكروب فى ألبان الحيوانات المصابه. وكذلك أثناء الولادة. وقد يسبب الميكروب إلتهاب الضرع فى البقر، ويتميز اللبن الناتج من الحيوان المصاب بإرتفاع نسبة الدهن (أحياناً) والنيتروجين الكلى، النيتروجين غير البروتينى، والكلور، pH، وإنخفاض

الللاكتوز والكازين ويعتبر شرب لبن خام ناتج من حيوان مصاب أو تلوث بعد البسترة من مصادر العدوى. وتحدث العدوى فى الدم بفعل القراد والحشرات والتي تنقل الميكروب من حيوان لأخر. ومن الدم ينتقل الميكروب ليصيب جميع الأعضاء (الضرع - نخاع العظام - العقد الليمفاوية) ونادراً ما تحدث العدوى بالملامسة. ويقال أن الأعداد الملوثة للبن ومنتجاته واللحوم ومنتجاتها أقل من أن تحدث العدوى.

مدة الحضائه: Incubation period : ٢ - ٣ أسابيع

الأعراض: Symptoms

تظهر الأعراض عندما يصل الميكروب إلى الجهاز التنفسى وتتمثل فى الحمى والصداع والعرق الشديد والضعف والإلتهاب الرئوى pneumonia وإلتهاب الجهاز العصبى المركزى.

الحساسيه والمناعه:

تعطى الإصابة بالمرض الشخص المصاب مناعة لمدة غير محدودة.

الوقايه

- ١- المعاملة الحراريه الكافيه للبن.
- ٢- الرقابه على الحيوانات الأليفة المستورده.
- ٣- إتخاذ الإحتياطات الصحيه.

## الفصل الثامن

### التلوث بالفطريات

#### (Mycological food poisoning الفطرى)

رغم أن أنواع معينة من الفطريات تستخدم فى صناعة أصناف من الجبن إلا أن العديد من الفطريات يعتبر وجودها فى المنتجات اللبنية أمراً غير مرغوب لما ينتج عنها من سموم فطرية وتغيرات حسية تتمثل فى الطعم واللون والرائحة.

#### السموم الفطرية Mycotoxins

مقدمه:

المواد السامة هى مواد موجودة فى البيئة تسبب أضراراً كثيرة للإنسان بدءاً من إضطرابات الجهاز الهضمى وحتى الأورام (السرطان)؛ ومن هذه المواد الأدوية وبعض المضافات الغذائية، المبيدات، المواد الكيماوية الصناعية وغيرها من ملوثات البيئة، هذا بجانب السموم الطبيعية والأخيرة ليست من صنع الإنسان ولكنها سموم ذات أصل نباتى أو حيوانى أو ميكروبى. والسموم الميكروبية هى السموم التى تنتجها البكتريا أو الفطر والسموم الفطرية يطلق عليها لفظ Mycotoxins.

تعريف السموم الفطرية وامثلة لها:

هى إفرازات خارجية عبارة عن نواتج التمثيل الثانوى للفطر؛ وهى غير ضرورية لنمو الفطر ولايعرف فائدة لها بالنسبة للفطر. ويطلق على هذه السموم لفظ

Mycotoxins وهى مشتقة من الكلمة اللاتينية MYKHE (mykes) بمعنى فطر Fungus والكلمة اللاتينية TOE/KON (toxicum) بمعنى سموم poisons، وتلوث هذه السموم غذاء الإنسان وعليقة الحيوان والمواد الخام الداخلة فى تصنيعهما، مما يسبب تسمماً للإنسان وحيواناته الأليفة حتى ولو بتركيزات ضئيلة أقل من ١٠ µg / كجم من وزن الجسم.

وتوجد هذه السموم فى جراثيم الفطريات أو تفرز فى البيئة التى تنمو عليها. وتقيم سلامة الغذاء على أساس خلوه من هذه السموم أكثر من التعرف على مجرد نمو الفطر، إذ أن وجود الفطر لايعنى بالضرورة وجود سم فطرى معين بالغذاء.

وتختلف السموم الفطرية عن السموم البكتيرية، فالسموم البكتيرية مواد ذات وزن جزيئى كبير كالبيتيدات والبروتينات وليبيدات السكريات العديدة Lipopolysaccharides وهى سموم أنتيجينية antigenic، بينما السموم الفطرية غير أنتيجينية non-antigenic وهى ذات وزن جزيئى صغير نسبياً إلا أنها أكثر تعقيداً من الوجهه الكيماوية. ويصعب فصلها أو التعرف عليها بإستخدام التحليل الكروماتوجرافى الغازى السائل GLC لقللة تطايرها كما أنها مقاومة للحرارة بدرجة يصعب معها إتلافها بدرجات الحرارة التقليديه المستخدمة فى عمليات التصنيع أو الطهى، كما أن إنخفاض وزنها الجزيئى يسمح بإنتشارها فى الأغذية ذات النشاط المائى Water Activity aw المرتفع نسبياً، لذا يلاحظ أن إزالة الأجزاء المصابة بالفطريات من هذه الأغذية أو التنظيف الميكانيكى لها قد لا يودى إلى التخلص الكامل من السموم المتكونه لذا يجب تجنب نمو الفطريات على هذه الأغذية.

وتعتبر السموم الفطرية من أقوى السموم الميكروبيه المعروفة وتسبب أمراضاً خطيرة للكبد والكلى والقولون والجهاز الهضمى والعصبى والتنفسى وجهاز المناعة.

ويطلق على الآثار الضارة للسموم الفطرية (أى أعراض التسمم Toxicity Syndromes) لفظ Mycotoxicoses أو Mycosis وهذه الآثار والتى تشمل التسمم الحاد، والأمراض السرطانية والمطفرات .... ألخ موجودة من زمن طويل إلا أنها ظلت كمرض مجهول (دون إكتشاف سببها) حتى سنة ١٩٥٩ حين حدثت عدة وفيات لآلاف من الرومى وغيره من الطيور الداجنة فى إنجلترا، وبدراسة أسباب هذا

المرض والذي عرف في هذا الوقت باسم (مرض x الرومى) Turkey X Disease عرف أن سببه يرجع إلى مادة سامة موجودة في مجروش الفول السوداني البرازيلي، الذي كان يستورد ويستخدم كمصدر للبروتين في عليقة هذه الطيور.

وأن هذه المادة السامة ينتجها نوعان من الفطريات ملوثان للفول هما *Aspergillus flavus* وسميت هذه المادة أفلاتوكسين Aflatoxin مشتقة من الفطر *Aspergillus flavus* وكان هذا أول نوع اكتشف من السموم الفطرية. ويوجد حالياً أكثر من (٣٥٠) نوعاً من السموم الفطرية تسبب مخاطر صحية للإنسان والحيوان وقد تم توصيف هذه السموم والتعرف على تركيبها فمنها سموم الأوكراتوكسينات Ochratoxins، الربراتوكسين Rubratoxins والترايكوثيسينات Trichothecain والباتيولين Patulin الإسترجماتوسستين Stregmatocystin والسترنين Citrinin وحمض البنسيليك Penicillicacid والتريكوثيسينات Trichothecain والزيارولينون Zearolenone.

وتؤكد الدراسات أن الأجناس الثلاثة: الأسبرجلس *Aspergillus* والبنسليوم *Penicillium* والفيوزاريم *Fusarium* هي المسؤولة عن إنتاج أكثر من 2/3 السموم الفطرية المعروفة، وبينما يوجد حوالي ٤٠ نوعاً تابعاً لجنس *Aspergillus*، وما لا يقل عن ٥٠ نوعاً لجنس *Penicillium* يوجد عدد كبير يصعب تقديره من أنواع تتبع جنس *Fusarium* قادرة على إفراز سموم فطرية مختلفة، كما توجد أنواع أخرى حوالي ١٥٠ تابعة لإجناس مثل *Alternaria*، التراي كوديرما *Trichoderma* وغيرها وجميعها لها القدرة على إنتاج وإفراز سموم فطرية.

وتوجد هذه السموم في الأغذية على هيئة سموم داخلية Endotoxins مخزونه في الميسليوم والجراثيم الفطرية أو سموم خارجية Exotoxins والتي تفرز نتيجة نمو وتكاثر الفطريات. وتختلف الجرعات المؤدية للتسمم طبقاً لعدة عوامل منها:

- ١- تركيز السم الفطري ووجود سموم أخرى تضاعف أو تثبط من فعل السم الفطري.
- ٢- حالة وعمر المستهلك حيث يكون الضعيف صحياً والأصغر سناً أكثر حساسية للتسمم الفطري.

٣- درجة السمية الفطرية (سمية خفيفة - سمية متوسطة - سمية شديدة).

كما تختلف السموم فيما تضره من أعضاء الجسم، فبعضها يؤثر أساساً على الكبد، والبعض يتلف الكلى، والبعض يضر بالجلد أو الجهاز العصبى. ولبعضها تأثيرات سمية أو دموية وإليك بعض الأمثلة:

**أ- الأفلاتوكسينات: Aflatoxins**

يؤدى التسمم بها إلى إدماء فى الجهاز العصبى، وإسهال وبراز مدمم، رشح وتليف الكبد والقلب، أودىما فى الصفراء وتحت الجلد وبين العضلات، وإنخفاض الهيموجلوبين، وعدم كفاءة وظيفة الكبد.

**ب- الأوكراتوكسين: Ochratoxins**

يؤدى التسمم به إلى الجفاف، وتضخم الكبد والكلى والطحال والبنكرياس، مع عدم كفاءة وظيفة الكلى، وزيادة حمض اليوريك والكرياتين فى الدم، وزيادة إخراج البول.

**ج- السيترينين: Citrinin**

يؤدى التسمم به إلى اضطرابات فى الدورة الدموية وإسهال وصعوبة فى التنفس.

**د- التريكوثيسينات: Trichothecene**

يؤدى التسمم به إلى القيء، وأمراض عصبية، وتضخم الجهاز الهضمى والكلى، كما يؤدى إلى الأودىما.

**هـ - الأسترجماتوسستين: Stregmatocystin**

يؤدى التسمم به إلى نزيف فى التجويف الصدرى والبطنى والجهاز الهضمى والإسهال المدمم، وإلتهاب وتضخم الطحال.

**و- الباتيولين: Patulin**

يؤدى إلى إختلاف فى التركيب الكيماوى للكبد.

**الفطريات المنتجة للسموم والمغزولة من الجبن**

يبين الجدول (٢٥) أهم الفطريات المغزولة من الجبن ونسبة كل منها إلى المجموع الكلى

جدول (٢٥) أهم الفطريات المعزولة من الجبن ونسبة كل منها إلى المجموع الكلي

| % أجناس الفطريات المعزولة من الجبن |                              |                                |                                    |                                 |                                 | نوع الجبن |
|------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------|
| أجناس أخرى                         | فيوزاريوم<br><i>Fusarium</i> | ألترناريا<br><i>Alternaria</i> | كلادوسبوريم<br><i>Cladosporium</i> | الأسبرجلس<br><i>Aspergillus</i> | البنسليوم<br><i>Penicillium</i> |           |
| ٧,٠                                | ١,١                          | ١,١                            | ٢,٠                                | ٦,٦                             | ٨٢                              | تشدر      |
| ١٣,٠                               | -                            | -                              | -                                  | ٠,٥                             | ٨٧                              | سويسرى    |
| ١٣,٠                               | -                            | -                              | -                                  | ٣٤                              | ٥٣                              | أدم وجودا |
| ٢,٤                                | -                            | -                              | -                                  | ٢,٤                             | ٩٥                              | مطبوخ     |
| ٥                                  | -                            | -                              | ٢٣                                 | ٢٢                              | ٢٦                              | جاف مصرى  |
| ١٠                                 | ٢,٦                          | ٦,٤                            | ١٥                                 | ٣٢                              | ٣١                              | دمياطى    |

ونشير فيما يلى إلى أهم السموم التى تنتجها بعض أنواع الأجناس.

أ- أهم السموم التى تنتجها بعض أنواع جنس الأسبرجلس *Aspergillus spp*

يعتبر جنس الأسبرجلس من الفطريات التعفنفة، ومعظم الأنواع التابعة لهذا الجنس مرضية او مفسدة للأغذية فمنها مايسبب اضراراً صحية للحيوان (إجهاض معدى)، ومنها مايصيب الطيور، ومنها ماينتج سموماً للحيوان والإنسان.

فرغم أن جنس الأسبرجلس المعزول من جبن تشدر لايمثل اكثر من ٦,٦% من الفطريات المعزولة من هذا الجبن إلا أن ٤٨% من أنواع هذا الجنس كانت سامة لجنين البيض.

ويبين الجدول (٢٦) أهم أنواع جنس الأسبرجلس المعزولة من عديد من الجبن من مختلف انحاء العالم والتوكسينات التى تنتجها.

ب - أهم السموم التى تنتجها بعض أنواع جنس البنسليوم *Penicillium spp*

يعتبر جنس البنسليوم من أكثر الأجناس المعزولة من عدة أنواع من الجبن، ورغم ان العديد من الأنواع التابعة لهذا الجنس تنتج المضاد الحيوى بنسلين، إلا أن الكثير

من انواع هذا الجنس تنتج سموماً فطرية، وقد وجد ان ٣٠٪ من أنواع هذا الجنس المعزول من جبن تشدر و ٢٥٪ المعزولة من الجبن السويسرى كانت سامة لجنين البيض، ٤٥٪ من الأنواع المعزولة من جبن الجودا وتشدر فى جنوب أفريقيا سامة للبط. ويبين الجدول (٢٧) بعض أنواع جنس البنسيليوم المعزولة من بعض المنتجات اللبنية والسموم التى تنتجها.

جدول (٢٦) بعض أنواع جنس الأسبرجلس المعزولة من الجبن والسموم التى تنتجها.

| الفطر                                     | السموم                                                                                                                                   |
|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>A. candidus</i>                        | Kojic acid , citrinin , xanthoasciin                                                                                                     |
| <i>A. flavus</i>                          | Aflatoxins , aflarem , sterigmatocystin , Kojic acid , aspergillie acid , $\alpha$ ñ cyclopiazonic acid , $\beta$ ñ nitro propionic acid |
| <i>A. fumigatus</i>                       | Fumigatoxin , gliotoxin , termogenic mycotoxins                                                                                          |
| <i>A. glaucus</i> group                   | Physecion , erythroglauicin                                                                                                              |
| <i>A. nidulans</i> , <i>A. sydowi</i>     | Sterigmatocystin                                                                                                                         |
| <i>A. nomimus</i> , <i>A. parasiticus</i> | Aflatoxins                                                                                                                               |
| <i>A. niger</i>                           | Nigragillin , malformins , aurasperone , oxalic acid                                                                                     |
| <i>A. oryzae</i>                          | $\beta$ - nitropropionic acid                                                                                                            |
| <i>A. ustus</i>                           | Austdiol , sterigmatocystin                                                                                                              |
| <i>A. versicolor</i>                      | Sterigmatocystin , versicolorin A , $\alpha$ ñ cyclopiazonic acid                                                                        |

جدول (٢٧) بعض أنواع جنس البنسيليوم المعزولة من بعض المنتجات اللبنية والسموم التى تنتجها.

| الفطر                     | السموم                                                                                                                                                         |
|---------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>P. berrivcompactum</i> | Brevianamide , mycophenolic acid                                                                                                                               |
| <i>P. crustasum</i>       | Penitrem A and roquefortine                                                                                                                                    |
| <i>P. cyclopium</i>       | Penitrem A , $\alpha$ ñ cyclopiazonic acid , patulin , penicillie acid , viomellein , xanthomegnin , ochratoxin A                                              |
| <i>P. roqueforti</i>      | Penicillie acid , roquefortine , PRtoxin , isofumigaciativens A & B , mycophenolic acid , siderophores                                                         |
| <i>P. viridicatum</i>     | Ochratoxin A , citrinin , xanthomegnin , viomellein , penicillie acid , viridicatum toxin , brevianamide A , mycophenolic acid , $\alpha$ - cyclopiazonic acid |

وفيما يلي بعض أجناس الفطريات الأخرى والمعزولة من الجبن:

- ١- جنس *Alternaria*: مصدر هام للسموم الفطرية إلا أنه نادر في الجبن.
- ٢- *Caldosporium*: ينتج سموماً سامةً لجنين البيض منها:  
Faglicladosporic acid, epicladosporic acid, emodic, allergens.
- ٣- *Fusarium*: مصدر هام للسموم الفطرية إلا أنه نادر في الجبن.
- ٤- *Drechslera*: ينتج Sterigmatocystin.
- ٥- *Gliocladium*: ينتج Trichothecene.
- ٦- *Rizopus*: ينتج Rhizonin.
- ٧- *Rizoctonia*: ينتج Slaframine, Swainsonine.
- ٨- *Trichoderma*: ينتج Gliodoxin, Trichothecene.
- ٩- *Verticillium*: ينتج Verticillin A.

#### ملحوظة:

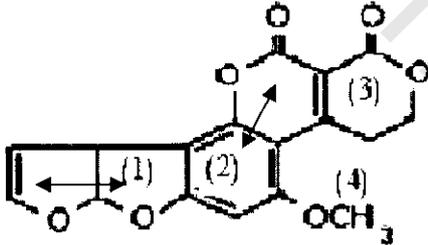
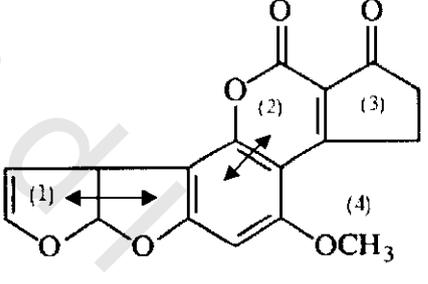
قد وجد أن بعض الفطريات المستخدمة في تسوية بعض الجبن مثل جبن الـركفور - كمبرت، ستيلتون - جرجونزولا تكون سموماً إلا أنه لم يثبت حتى الآن أن هذه الأنواع تنتج كميات ملموسة من السموم أثناء تسوية وتخزين الجبن. مما سبق نرى أن المنتجات اللبنية من الأغذية المعرضة للإصابة ببعض الفطريات المنتجة للسموم. وأن معظم هذه الفطريات تتبع جنس *Aspergillus* و *Penicillium* وسوف نتناول فيما يلي الأفلاتوكسينات باعتبارها أكثر السموم الفطرية إنتشاراً ودراسة.

## الأفلاتوكسينات Aflatoxins أحد السموم الفطرية

### التركيب الكيماوي Chemical structure

تعتبر الأفلاتوكسينات من أول السموم الفطرية التي تم التعرف عليها ( Turkey X Disease ) والتي تنتجها فطريات معظمها تابع لجنس *Aspergillus* خاصة *A. flavus*, *A. parasiticus* وإشتق إسمها من الفطر *A. flavus*.

وجميع الأفلاتوكسينات مركبات أكسجينية حلقية بها ١٧ ذرة كربون وتحتوي في تركيبها بجانب الكيومارين (Benzo  $\alpha$  - pyrone) والفورفوران Furfuran ومجموعة المثيل methoxy على جانب

| ب- حلقة Lactone                                                                                                                                                                                                                                                                      | أ- حلقة Cyclopentanone                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ب - حلقة Lactone بها ذرة (O) مرتبطة برابطة مزدوجة مجموعة (A F G)                                                                                                                                                                                                                     | أ- حلقة Cyclopentanone مجموعة (A F B)                                                                                                                                                                                                                                                        |
|  <p>مجموعة AFG تتكون من</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Furfuran</li> <li>2- caumarin ( benzo <math>\alpha</math> ñ pyrone)</li> <li>3- lactone</li> <li>4- Methoxy group</li> </ol> |  <p>مجموعة AFB تتكون من</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Furfuran</li> <li>2- caumarin ( benzo <math>\alpha</math> ñ pyrone)</li> <li>3- Cyclopentanone</li> <li>4- Methoxy group</li> </ol> |

ويوجد أربع مجموعات أساسية من الأفلاتوكسينات هي  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$ ,  $G_2$  وتتميز المجموعة B بإحتوائها حلقة Cyclopentanone وإعطائها وميضاً أزرقاً تحت الأشعة فوق البنفسجية UV كما تتميز المجموعة G بإحتوائها حلقة lactone وإعطائها وميضاً أخضراً تحت الأشعة فوق البنفسجية UV (طول موجى ٣٦٠ nm نانومتر).

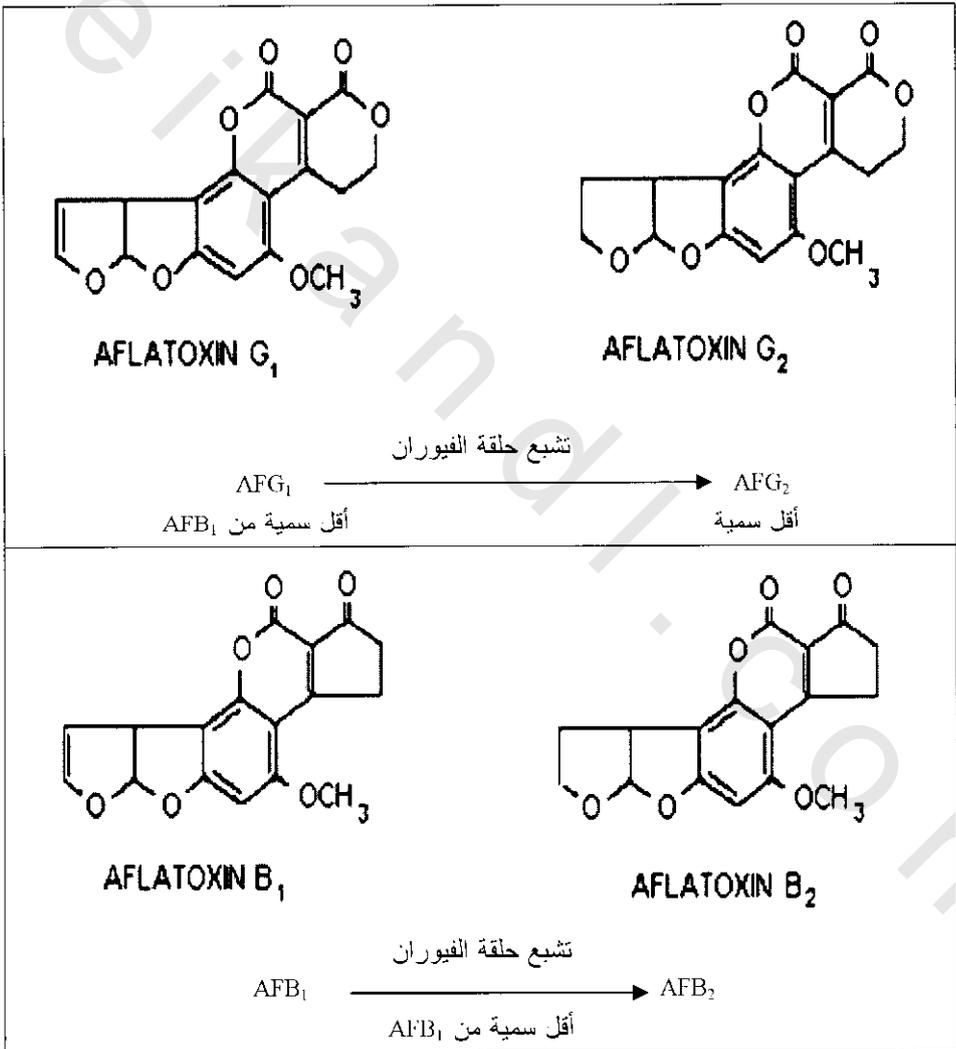
ومن هاتين المجموعتين يشتق العديد من الأفلاتوكسينات الأخرى مثل:

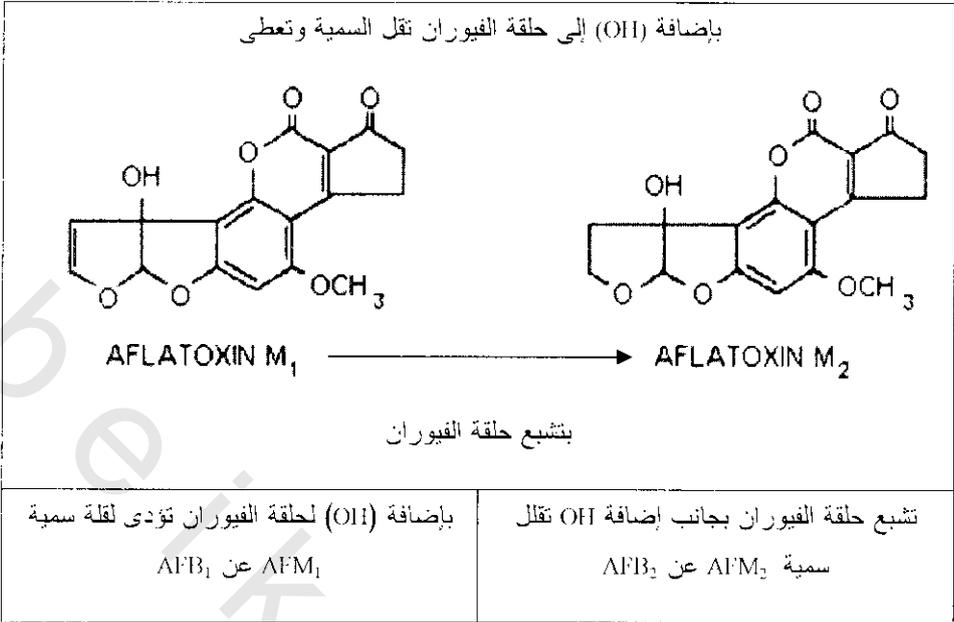
$B_2$ , ويعتبر  $B_{2a}$  Aflatoxical(RO), parasiticol (BL),  $D_1$ ,  $P_1$ ,  $G_{2a}$ ,  $G_{M1}$ ,  $M_1$ ,  $M_2$

.  $B_2$ ,  $G_1$ ,  $G_2$ ,  $M_1$ ,  $M_2$  من الأفلاتوكسينات.

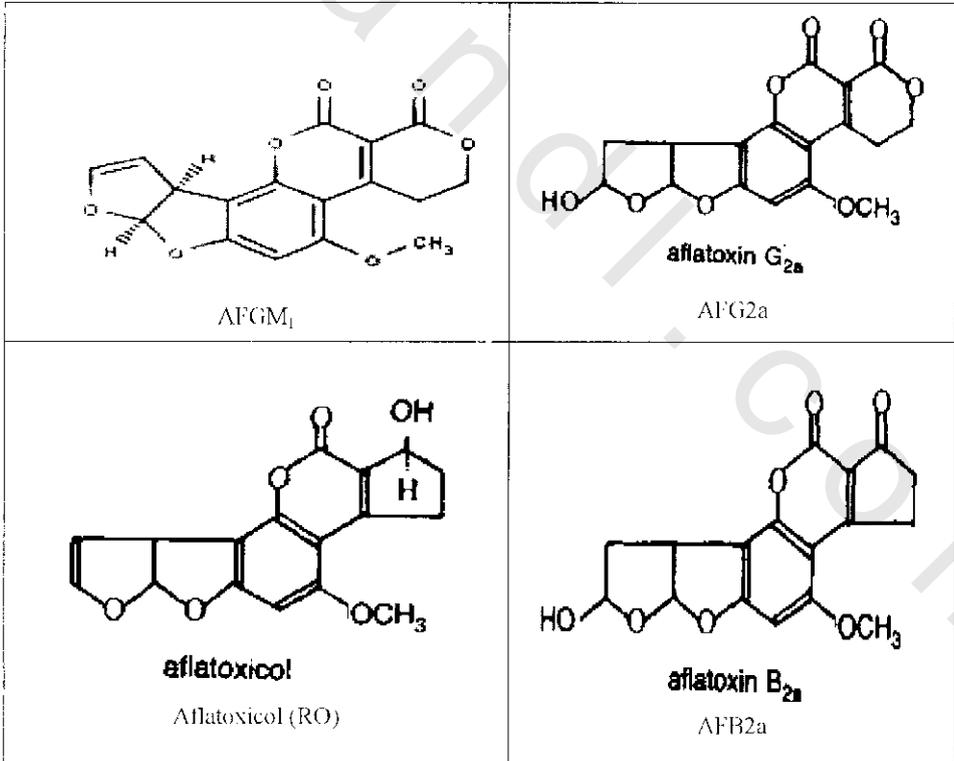
وتوجد  $AFM_1$ ,  $AFM_2$  في ألبان الحيوانات عند تناولها عليقة ملوثة بهذه التوكسينات خاصة مجموعة AFB كما تظهر أيضاً في بول تلك الحيوانات وتبين التراكيب التالية أهم هذه الأفلاتوكسينات.

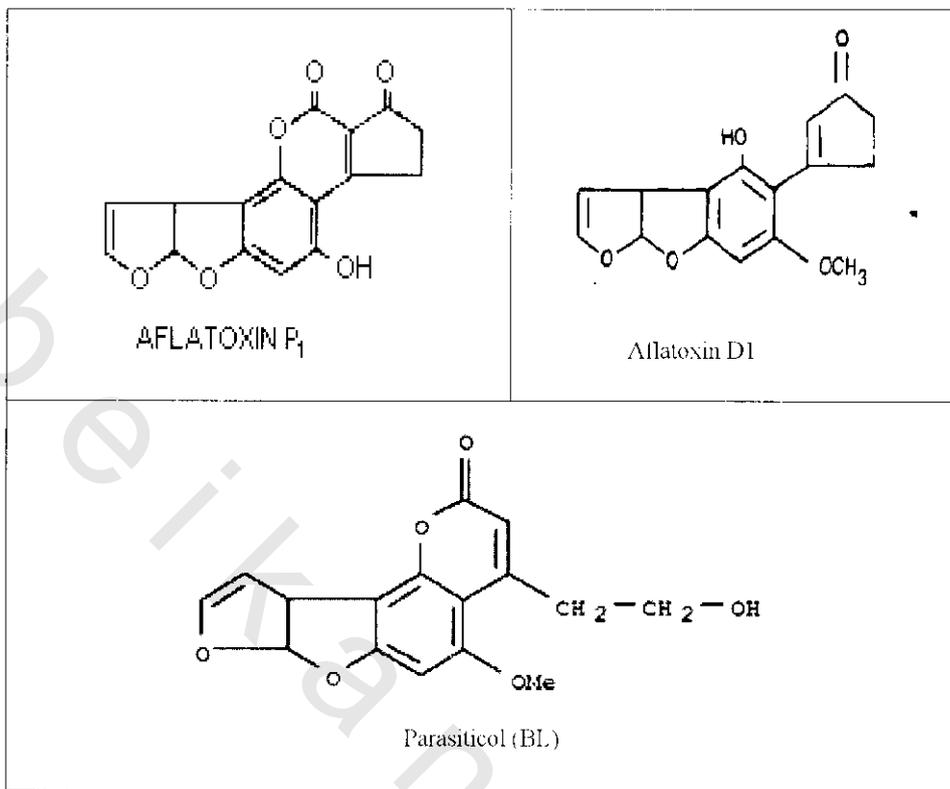
أ- التركيب الكيماوى لأهم الأفلاتوكسينات شيوعاً





ب - أفلاتوكسينات أخرى أقل شيوعاً

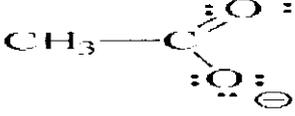
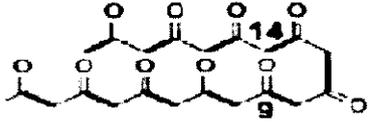
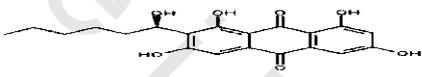
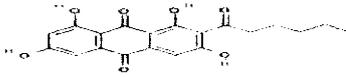
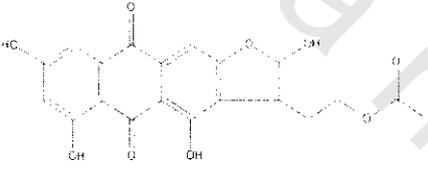
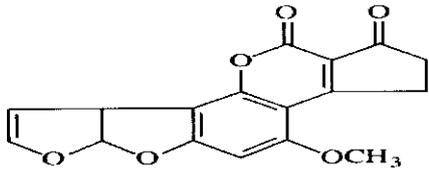
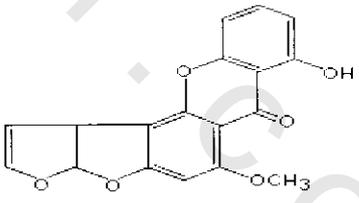




### التخليق الحيوي للأفلاتوكسين B<sub>1</sub>: Biosynthesis of AFB<sub>1</sub>

يعتبر AFB<sub>1</sub> أشد الأفلاتوكسينات، وكذا التوكسينات الفطرية الأخرى سمية ومن AFB<sub>1</sub> تشتق غالبية الأفلاتوكسينات الأخرى، كما أن معظم التوكسينات الفطرية الأخرى خلاف الأفلاتوكسينات تعتبر مركبات وسطية تشترك في تخليقه كما يتضح من التخطيط التالي والذي يبين التركيب البنائي للمركبات الوسيطة الداخلة في تخليق AFB<sub>1</sub> ومنه يتضح انه يخلق من الخلات، مجموعة Methoxy ويقال ان مصدر هذه المجموعة هو الحمض الأميني ميثوثين.

خطوات تخليق AFB<sub>1</sub>

|                                                                                                                             |                                                                                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Acetate (١)</p>                        |  <p>Poly ketide (٢)<br/>وهو عبارة عن مجموعات أسنات مع بعضها</p> |
|  <p>Averantin (٤)</p>                      |  <p>Nor solarinic acid (٣)</p>                                  |
|  <p>Versiconal hemiacetal acetate (٥)</p> |  <p>Versicolorin A (٦)</p>                                     |
|  <p>Aflatoxin B<sub>1</sub> (٨)</p>      |  <p>Sterigmatocystin (٧)</p>                                  |

### التأثير الحيوى للأفلاتوكسينات Biological effects

الأفلاتوكسينات مواد شديدة السمية مسببة سرطان الكبد والطفرات الوراثية، وتؤثر على الحيوان والإنسان والنبات، ويختلف LD<sub>50</sub> وتأثيرها على صحة الحيوان باختلاف:

١- نوع الحيوان: فمثلاً العجول والكتاكتيت والبط والخنازير أكثر حساسية لـ AFB<sub>1</sub> (أى تموت بجرعات صغيرة) بينما الماعز والغنم والفئران أكثر مقاومة نسبياً (أى تموت بجرعات أكبر) وقد يرجع ذلك لإختلاف طبيعة التمثيل الغذائى لهذه الحيوانات.

٢- كما تختلف LD<sub>50</sub> باختلاف عمر الحيوان وجنسه فتزداد الحساسية بصغر السن كما أن الإناث أكثر تحملاً من الذكور.

٣- وكذا بنوع الأفلاتوكسين المعطى للحيوان فنجد أن شدة سمية الأفلاتوكسينات تتبع الترتيب التالى B<sub>1</sub> > G<sub>1</sub> > B<sub>2</sub> > G<sub>2</sub>.

ومنه يلاحظ أن السمية تقل بإحلال حلقة lactone (فى AFG) محل Cyclopentanone (فى AFB) وكذا بتشبع الروابط المزدوجة فى حلقة Furan، وكذا بإضافة OH للجزئ. فقد وجد أن الجرعة المميتة لنصف حيوانات التجارب LD<sub>50</sub> لبط صغير عمر يوم واحد من كل من الأنواع الرئيسيه الأربعة كما يلى:

| B <sub>1</sub> | B <sub>2</sub> | G <sub>1</sub> | G <sub>2</sub> |
|----------------|----------------|----------------|----------------|
| ١٨,٢           | ٨٤,٨           | ٣٩,٢           | ١٧٢,٥ µg       |
| ٩              | ٤,٥            | ٢              | ١              |

ومنه يتضح أن سمية B<sub>1</sub> تعادل ٩ أمثال سمية G<sub>2</sub> وتعادل ضعف سمية G<sub>1</sub> وتعادل ٤,٥ مرة سمية B<sub>2</sub> ويقال أن سمية M<sub>1</sub> تقع ما بين سمية B<sub>1</sub>, G<sub>1</sub>.

٤- كما أن لمكونات الغذاء خاصة نسبة البروتين كمية ونوعاً تأثير على الفعل السام لهذه التوكسينات، إذ يؤثر ذلك على درجة نشاط إنزيمات الكبد، فنقص البروتين فى الغذاء يقلل من نشاط الإنزيمات بصفة عامة، ونشاط إنزيمات الكبد بصفة خاصة، ولما كانت هذه التوكسينات تمثل بإنزيمات الكبد فإن نقص البروتين فى الغذاء يؤدي لنقص نواتج تمثيل AFB<sub>1</sub> أى أن نقص بروتين الغذاء يؤدي لنقص سمية

AFB<sub>1</sub> مما يقلل من الحالات السرطانية، ففي تجربة على الفئران قسمت إلى 3 مجموعات:

#### المجموعة الأولى:

تغذت على غذاء فقير في البروتين + أقل مستوى من AFB<sub>1</sub> لمدة 3 شهور والنتيجة أنه لم تظهر عليها أي حالات سرطانية ولم تحدث وفاة مما يدل على نقص إنتاج نواتج تمثيل AFB<sub>1</sub>.

#### المجموعة الثانية:

تغذت على غذاء طبيعي في البروتين + أقل مستوى من AFB<sub>1</sub> لمدة 3 شهور والنتيجة ماتت الفئران بعد سنة من التغذية وظهرت عليها حالات سرطانية.

#### المجموعة الثالثة:

تغذت على غذاء عالٍ في البروتين + أقل مستوى من AFB<sub>1</sub> لمدة 3 شهور والنتيجة ماتت الفئران بعد سنة من التغذية وظهرت عليها حالات سرطانية.

أما إضافة السستين بمعدل 0.6% مع مجموعات الأغذية الثلاثة السابقة فقد أدى إلى إصابة الكبد بأورام سرطانية حتى مع تناول الغذاء الفقير في البروتين. ويبدو أن تكوين الأورام بفعل الأفلاتوكسينات مرتبطاً بقوة أكسدة الرابطة المزدوجة الموجودة في نهاية حلقة الفيوران، بدليل أن تعاطي مضادات الأكسدة، ومركبات indoles (كرنب) وتوافر فيتامين E . A تقلل من التأثير المسرطن للأفلاتوكسينات.

#### تمثيل الأفلاتوكسينات (AFB<sub>1</sub>) Metabolism of aflatoxins

يرى الكثيرون أن AFB<sub>1</sub> ليس هو السبب المباشر للسرطان، ولكن يحتاج هذا التوكسين إلى تمثيل في الكبد وتنشيط بفعل ميكروسومات الكبد، ونواتج التمثيل النشطة الناتجة من AFB<sub>1</sub> هي المسؤولة عن تلك الأورام. ويرتبط إصابة الكبد بالسرطان بمقدار AFB<sub>1</sub> المعطى في الغذاء، وكذا تبعاً لدرجة الأكسدة الحادثة للتوكسين فعند حدوث أكسدة شديدة فقد تتكون مواد أقل سمية تفرز في البول واللبن مثل AFM<sub>1</sub>.

أما عند حدوث أكسدة بسيطة فإنه يتكون نواتج تمثيل سرطانية حيث يتحول AFB<sub>1</sub> إلى 2.3 dihydrodiol of AFB<sub>1</sub> وهذا يتفاعل بدوره مع مجموعات الأمين الأولية

ليبروتينات الكبد ويمنع من تخليق البروتينات في الكبد، وهذا ما يفسر ما يحدث من موت موضعي لخلايا الكبد مما يسبب الوفاة.

وهناك علاقة بين إصابة الكبد بفيروس B وتعاطي أغذية ملوثة بالتوكسين AFB<sub>1</sub> من جانب، وبين تليف الكبد من جانب آخر، فالأشخاص الحاملين لهذا الفيروس (B) أكثر قابلية للإصابة بسرطان الكبد عند تعاطيهم غذاء ملوث بالتوكسين AFB<sub>1</sub> وعموماً فإن الكبد هو أكثر الأعضاء عرضة للإصابة، فقد وجد أن تعاطي الفئران غذاء يحتوي ١٥ µg / كجم من وزن الجسم أدى إلى إصابة كبد الفئران بالسرطان بعد ٦٨ أسبوعاً من استمرار تناول هذا الغذاء حيث حدث تآكل لخلايا الكبد ونزيف للأنسجة، وقد تودى الجرعات الأقل من ذلك إلى الإستسقاء وإنسداد الأوردة وتليف الكبد وتراكم الدهن به، مع نقص في معدل النمو، كما تصاب الأعضاء الحيويه الأخرى مثل الطحال والبنكرياس والكلية.

وبجانب التأثير على الكبد فإن نواتج تمثيل AFB<sub>1</sub> ترتبط مع DNA . RNA بالخلايا، ويحدث هذا الارتباط عادة في مواقع المجموعات الأمينية القاعدية، فتصبح الخلايا غير طبيعية في خواصها المورفولوجية كأن تتحوصل وتتضخم ويمتنع إستساخ DNA . RNA وبالتالي تخليق البروتين.

ويمكن توضيح كيفية تمثيل الأفلاتوكسينات (AFB<sub>1</sub>) كما يلي:

بعد هضم المادة الغذائية الملوثة بالتوكسين، تمتص نواتج الهدم (الهضم) ومعها التوكسين في الأثنى عشر وتحمل إلى الكبد وهناك:

أ- يرتبط جزء منه بالكبد.

ب- يتعرض الجزء الباقي لأنزيمات الكبد حيث يحدث له إما

- فوق أكسدة شديدة وينتج عن ذلك توكسينات أخرى أقل سمية من AFB<sub>1</sub> مثل

G<sub>1</sub>, M<sub>1</sub>.

• والتوكسينات الأخيرة جزء منها يتحول إلى صورة ذائبة في الماء بفعل عصارة الصفراء ويفرز في بول وروث الحيوان أو منتجاته لسبن أو بيض، وعن هذا الطريق يحدث تلوث اللبن ومنتجاته بـ AFM<sub>1</sub> رغم عدم نمو فطريات على هذه المنتجات.

• الجزء الآخر يرتبط بنواتج تمثيل الغذاء ويصل للجهاز الدورى ليوزع على أنسجة الجسم ويتراكم فيها.

- وإما فوق أكسدة بسيطة حيث ينتج عنها مركبات شديدة السمية منها 2,3 epoxy aflatoxin وهى مركبات عالية النشاط كيميائياً حيث ترتبط كما هى بنواتج تمثيل الغذاء الأساسية، وبالتالي بمكونات الخلية، أو يحدث لها هدرجة حيث تتحول إلى 2,3 dihydrodiol of aflatoxin ويحدث التسمم إما حاداً أو مزمناً. ومن ذلك نرى أن التسمم الحادث يرجع إلى الأيبوكسيد Epoxide وليس (AFB<sub>1</sub>) وعليه.

i - فإن الحيوانات التى تفشل فى إنتاج الإيبوكسيد عادة تكون مقاومة للتسمم الحاد أو المزمن الناتج عن الأفلاتوكسين.

ii - الحيوانات التى تنتج الإيبوكسيد ولديها القدرة على تمثيله بإيزيمات dchhydrases فهى تحول الإيبوكسيد والدهيدروديول إلى مركب dehydroxy .acetal

وهى مادة شديدة الفاعلية تتفاعل مع البروتينات مما يساعد على إمتصاصها فى القناة الهضمية وتسبب سمية حادة.

iii - الحيوانات التى تنتج الإيبوكسيد ولا تستطيع تمثيله فإنها تصاب بتسمم مزمن، حيث يبقى هذا الجزء ويتراكم فى الأنسجة مع بقية AFB<sub>1</sub>.

وتشارك هذه السموم فى حدوث بعض الأمراض منها.

(1) الإصابة بالسرطان الكبدى الأولى (يعتبر الكبد أكثر الأعضاء عرضة للإصابة) ويلزم للإصابة به تعاطى الأفلاتوكسينات (الأغذية الملوثة بها) لفترة كافية تختلف باختلاف:

- نوع الحيوان: ٨ سنوات فى القروء، ١٠ - ٢٠ شهر فى الفئران البيضاء - البط - سمك السلمون.

- تركيز الأفلاتوكسين فى الغذاء: ففى الفئران البيضاء ظهرت الأورام فى ١٠٪ من الحيوانات عند تعاطى التوكسين بمعدل ١ µg / كجم من وزن الجسم لمدة ٢٠ شهراً، بينما ظهرت الأورام فى ١٠٠٪ من الحيوانات عند تعاطى التوكسين بمعدل ١٠٠ µg / كجم من وزن الجسم لنفس المدة (٢٠ شهر).

وينتشر مرض سرطان الكبد الأولى في الإنسان بدرجة كبيرة في المناطق التي تكون فيها الظروف الجوية وظروف التخزين من الأغذية ملائمة لنمو الفطر *A. flavus*. وكما سبق فإن الأفراد المصابين بسرطان الكبد الأولى أكثر عرضة للأصابة بفيروس B، ويزداد وتنتشر الأصابة بهذا الفيروس في البلاد التي يتراد فيها نسبة الأصابة بسرطان الكبد الأولى. كما أن الأفراد المصابين بفيروس B أكثر عرضة للإصابة بسرطان الكبد.

(٢) الأصابة بأعراض رآى Reye's syndrome وهو يحدث بصورة وبائية في الأطفال في شرق تايلاند، وقد يرجع ذلك لتغذيتهم على الحبوب (أرز - قمح - ذرة) الملوثة بالفطريات المنتجة للتوكسين.

وتشمل أعراض هذا المرض: القيء - نقص الجلوكوز - تشنجات - غيبوبة - وفاة.

وقد وجد  $AFB_1$  في أنسجة، كبد، سائل جسم، محتويات معدة وأمعاء الموتى المصابين.

(٣) مرض الكواشيوركور Kawashiorkor عند الأطفال: وهو مرض منتشر في غانا ويعنى عندهم مرض الطفل الأول (إذ يحدث هذا المرض عادة للأطفال الصغار الذين تلد أمهاتهم أطفالاً جدداً فتهمل الطفل الأول وتتوقف عن إرضاعه وتعتمد في تغذيته على الحبوب، وهناك عاملان يؤثران في المرض: الأول هو نقص البروتين في الغذاء والعامل الثاني هو تلوث هذا الغذاء - الحبوب عادة - بالفطريات المنتجة للأفلاتوكسينات. ومن أعراض المرض:

- الأوديما odema: وهو ورم في جميع أجزاء الجسم لإحتجاز السوائل بها.
- تضخم الكبد وتليفه (بفعل التوكسين) وتراكم الدهن به.
- ضعف النمو إذ ان نواتج تمثيل التوكسينات ترتبط بالـ RNA, DNA وتمنع تخليق البروتين هذا بجانب نقص البروتين في غذائهم.
- البلاهه - الأنيميا - الإسهال.

(٤) ضعف جهاز المناعة.

(٥) سرطان الدم Leukemia.

(٦) تشوهات خلقية - طفرات: نتيجة إنتقال التوكسين من الأم إلى الجنين أثناء الحمل وقد يتعرض الأطفال الرضع للإصابة بالأفلاتوكسين قبل فطامهم، لأن أمهاتهم تستهلك غذاء يحتوى على هذه السموم. إذ يقوم كبد الأم بتمثيل هذه الأفلاتوكسينات وينتج عنها مشتقات محتوية (OH) منها:

$AFM_1$  .  $AFB_{2a}$  .  $AFM_2$  .  $AFM_1$  .  $AFG_{2a}$  .  $AFGM_1$  .  $AFD_1$  .  $AFP_1$  .  $AFR_1$   
هو أكثر نواتج هدم  $AFB_1$  فى الثدييات والذى يفرز فى لبنها وبولها وبرازها، فقد وجد  $AFM_1$  فى ألبان الغنم والماعز والبقر بعد تعاطيها علائق تحتوى  $AFB_1$  إذ وجد أن حوالى ١٪ من هذا التوكسين يفرز فى صورة  $AFM_1$  فى اللبن، ووجد أن أقل جرعة من  $AFB_1$  فى العليقة ليظهر  $AFM_1$  فى لبن البقر هى ٤٦ جزء / بليون حيث يظهر  $M_1$  أولاً فى البلازما والبول والبراز وبعد ١٢ - ٢٤ ساعة من تعاطى  $AFB_1$  يظهر  $AFM_1$  فى اللبن حيث يصل أقصاه بعد ٤ أيام ويقل بسرعة بعد وقف تعاطى  $AFB_1$  ويصبح اللبن خالياً من  $AFM_1$  بعد يومين من وقف التغذية على عليقة محتوية  $AFB_1$ ، ويلاحظ أن سمية  $AFB_1$  تعادل مرة ونصف سمية  $AFM_1$  ومن ذلك يتضح أن  $AFM_1$  ناتج تمثيلى أقل نشاطاً من  $AFB_1$  وبه يتخلص  $AFB_1$  من جزء من سميته.

وبجانب تأثير الأفلاتوكسينات على النشاط الحيوى للحيوانات والإنسان فأنها تؤثر كذلك على الميكروبات والنبات، فقد وجد أن  $AFB_1$  يثبط نمو قليل من الميكروبات مثل *B. megatericum* . *E. coli* . ونظراً لشدة حساسية هذه الميكروبات للتوكسين فإن هذه الميكروبات تستخدم فى التقدير الحيوى لهذه السموم.

ويرجع دور هذه التوكسينات فى تثبيط نمو هذه الميكروبات إلى التقليل من النشاط الحيوى لإنزيمات هذه الميكروبات وما يصحب هذا التثبيط من تغيرات مورفولوجية تتمثل فى إستطالة الخلايا، كما تؤثر على بكتريا المجترات *S. bovis* فتقلل من قدرتها على إنتاج الأحماض الدهنية مما يقلل من وزن الحيوان. كما تظهر بعض البذور المصابة بالفطر نقصاً فى قيمتها الغذائية وقدرتها الأنباتية (يؤثر  $AFB_1$  على حمض الجبريليك giberellie المسئول عن الإنبات) كما يعوق التوكسين تخليق الكلوروفيل.

## العوامل المؤثرة على نمو الفطر وإنتاج التوكسين:

## Factors that affect mold growth and aflatoxin production

يمكن تقسيم هذه العوامل إلى عوامل تغذوية، طبيعية، كيميائية، حيوية.

## أ- العوامل التغذوية:

كثير من المواد الخام والأغذية تعتبر وسطاً ملائماً لإنتاج الأفلاتوكسينات عندما تصاب بسلالات سمية من *A. flavus*.

ومن هذه المواد علائق الحيوانات، وأغذية الأطفال النباتية وبعض المنتجات اللبنية واللحوم الناتجة من حيوانات تغذت على علائق ملوثة بالفطر والتوكسين وخاصة كبد هذه الحيوانات، كما تعتبر المخبوزات والخضروات والبيض وبعض الفاكهه بيئة ملائمة لنمو هذه الفطريات كما أن الحبوب خاصة الأرز والقمح مواد ممتازة لنمو الفطر وإنتاج التوكسين بينما فول الصويا أقل فاعلية في ذلك كما يبدو من الجدول (٢٨).

جدول (٢٨) أثر نوعية الحبوب المنقوعة على إنتاج التوكسين من فطر *A. flavus*

| أرز |     | قمح  |     | ذرة سكرية |     | ذرة |     | فول سوداني |     | فول الصويا |    | الفطر (السلالة) |
|-----|-----|------|-----|-----------|-----|-----|-----|------------|-----|------------|----|-----------------|
| ٢   | ١   | ٢    | ١   | ٢         | ١   | ٢   | ١   | ٢          | ١   | ٢          | ١  |                 |
| ٢٢٢ | ٢٤٩ | ٥٨٧  | ٦٠٥ | ٦٦٢       | ٦٠٧ | ٢١٦ | ١٨٥ | ١٥٩        | ١٢٨ | ١٣٤        | ٩٧ | NRRL3000        |
| ٢٦٣ | ٥٠٧ | ١٦٥٣ | ٨٢٩ | ٤٠٢       | ٣١٧ | ١٦٩ | ١٩٥ | ٣٩٧        | ٢٨٢ | ٦٧         | ٦٥ | NRRL2999        |

(١) دون إضافة الحمض الأميني ميثونين

(٢) مع إضافة الحمض الأميني ميثونين

## من الجدول يتضح:

١- إختلاف كمية التوكسين بإختلاف سلالة الفطر ونوع المادة الغذائية (الحبوب) ومنه يتضح أن القمح أفضل الحبوب لنمو الفطر وإنتاج التوكسين، أما فول الصويا فهو أقل ملائمة لنمو الفطر وإنتاج التوكسين.

٢- إضافة الميثونين شجع الفطر على إنتاج التوكسين. ورغم أن القمح والأرز أكثر الحبوب في تشجيع الفطر على إنتاج التوكسين فإن كمية التوكسينات المتكونه تختلف

بإختلاف الحبوب المستخدمة، ففي منقوع الأرز كان ترتيب التوكسينات المتكونه  $B_1\delta G_1\delta B_2\delta G_2$  بينما بإستخدام منقوع القمح كان الترتيب  $G_1\delta B_1\delta B_2\delta G_2$  وفى البيئات الصناعية وجد أن الأحماض الأمينية تشجع إنتاج التوكسين، وتتوقف كمية التوكسين المتكونه على نوع الحمض الأمينى وتركيزه ونوع الفطر، كما وجد أن أفضل مصدر كربوهيدراتى لنمو الفطر وإنتاج التوكسين هو الجلوكوز والسكروز والفرأكتوز، أما اللاكتوز والمانوز والجلسرول فهى تنمى الفطر بدرجة قليلة جداً وكذا تنتج التوكسين بكميات قليلة، كما يعتبر عنصرى الزنك والمنجنيز من العناصر المعدنية الضرورية لإنتاج التوكسين، ورغم أن الحديد يثبط نمو الفطر وبالتالي إنتاج التوكسين، إلا أن مخلوط الحديد والكادميوم لهما تأثير منشط. أما ملح الطعام NaCl فقد وجد أن إحتواء البيئة على ١- ٢٪ كلوريد صوديوم فإنها تشجع تكوين التوكسين على حرارة ٢١- ٣٥ م°، كما أن ١- ٥٪ ملح طعام فى البيئة عن ذلك فإنه يقلل من إنتاج التوكسين، فقد وجد أن ٨٪ ملح طعام تمنع إنتاج التوكسين عند نمو الفطر على ٢١ م° ولكن تسمح هذه النسبة بتكوين كميات قليلة عند نموه على حرارة ٢٨- ٣٥ م°.

#### ب- عوامل طبيعية:

وتشمل الحرارة، الرطوبة، pH وتركيزات الغازات فى البيئة:

١- درجة الحرارة: تؤثر درجة الحرارة على نشاط الفطر وكمية التوكسين، فلاينتج التوكسين على حرارة أقل من ١٣ م° أو أعلا من ٤٢ م°، وتتراوح الحرارة المثلى ما بين ٢٤- ٣٠ م°، كما تؤثر درجة الحرارة على نوعية التوكسين فالحرارة أقل من ٢٤ م° حتى ١٣ م° تشجع إنتاج AFG وإرتفاعها ٣٠- ٤٢ م° يشجع إنتاج AFB.

٢- الرطوبة: الرطوبة النسبية الملائمة تتراوح من ٨٣- ٨٨٪ ويزداد تكوين التوكسين بزيادة الرطوبة النسبية حتى ٩٩٪.

٣- pH: ينتج التوكسين على مدى واسع من الـ (pH) (٢-٩) وأنسب pH ٣ : ٦ ويقال أن على pH أقل من ٦ يشجع إنتاج  $B_2$ . أما على pH أعلا من ٦

فإن هذا يشجع على إنتاج  $G_2$  و  $AFG_1$  وقد يرجع المدى الواسع للـ pH إلى اختلاف البيئة المستخدمة لنمو الفطر.

٤- تركيز الغازات في البيئة: يعتبر  $O_2$  عامل ضروري لنمو الفطر وإنتاج التوكسين، ويزيد إنتاج التوكسين بزيادة معدل التهوية كما يتأثر مفعول  $O_2$  بتركيز  $CO_2$  في البيئة، فإحتواء البيئة على أقل من ١٠٪  $CO_2$  مع وجود  $O_2$  ينشط إنتاج التوكسين، وقد يرجع ذلك إلى أن  $CO_2$  يدخل في تثبيت البروتين في الفطر وتخليق DNA، كما يدخل كمركب وسطي في دورة TCA وتمثيل Malonyl-coA إلا أن زيادة  $CO_2$  من ٢٠ - ١٠٠٪ يثبط إنتاج التوكسين، كما أن إحلال  $N_2$  محل  $O_2$  يقلل من قدرة الفطر على إنتاج التوكسين ويتوقف إنتاج التوكسين عند ظروف جوية ١٠٠٪  $N_2$ .

#### ج - عوامل كيميائية:

وجد أن الضوء وبعض المواد الكيميائية تثبط قدرة الفطر على إنتاج التوكسين، فالضوء يثبط إنتاج التوكسين بمقدار ٨٠٪ عن الظلام، كما أن هناك بعض الكيماويات قد تثبط إنتاج الأفلاتوكسينات منها.

Benzoic acid, Sorbic acid, Propionic acid, Caffeic acid, Cinnamon oil. Spices fungicides, Insecticides, Nitrate, Butylated hydroxyanisol (BHA), Ethylene,  $O_2$  etc

ومعظم هذه المواد تثبط إنتاج التوكسين عن طريق تثبيط نمو الفطر ولكن غير معروف بالضبط ميكانيكية هذا التثبيط.

#### د - عوامل حيوية:

لبعض الميكروبات المقدرة على تثبيط نمو *A. flavus* , *A. parasticus* , ولبعضها القدرة على تغيير طبيعة التوكسين مما يقلل من سميته ومن هذه الميكروبات:

*A. niger*, *Rhizopus oligaspeus*, *Lactobacillus spp.* *Flavobacterium aurantiacum*.

### المنتجات اللبنية وتلوثها بالسموم الفطرية (الأفلاتوكسينات)

المنتجات اللبنية من المواد الغذائية المعرضة للتلوث بالفطريات والسموم الفطرية، وقد يكون هذا التلوث بصورة غير مباشرة نتيجة تعاظم الحيوان عليقة ملوثة بهذه السموم، والتي تنتقل بدورها إلى اللبن ومنتجاته. ففي أوائل الستينات من القرن الماضي (١٩٦٠) إكتشف ان تعاظم الحيوانات الحلابة عليقة ملوثة بـ  $AFB_1$  أدى إلى إفراز  $AFM_1$  بلبن هذه الحيوانات، وقد وجد أن ١-٢٪ من  $AFB_1$  الموجود بالعليقة يفرز على صورة  $AFM_1$  في اللبن وأن هذه النسبة تكاد تكون ثابتة سواء كان التلوث كبيراً أم صغيراً، ولكنها قد تختلف من حيوان لآخر ومن يوم لآخر، ومن حلبة لأخرى.

وبجانب تلوث اللبن ومنتجاته بطريقة غير مباشرة ، فقد يحدث التلوث بطريق مباشر عن طريق تلوث هذه المنتجات بالفطريات المنتجة لهذه السموم، وهذا التلوث قد يكون عمداً نتيجة استخدام بعض الفطريات كإدانات في صناعة بعض الجبن كاستخدام بعض سلالات من جنس البنسيليوم في صناعة جبن الـركفور أو الكمبرت، إذ قد تنتج سلالات بعض هذه الفطريات سموماً بالجبن تحت ظروف معينة، وقد يكون التلوث عرضياً بالفطريات الخارجية التي تجد في المنتجات اللبنية خاصة الجبن بيئة محببة لنموها ويحدث هذا التلوث إما أثناء تسوية الجبن أو تقطيعها لشرائح في المنازل ومحلات البيع واستخدام معدات غير نظيفة في ذلك.

ونشير فيما يلي إلى تلوث اللبن وبعض منتجاته بالأفلاتوكسينات:

#### أ- الأفلاتوكسينات في اللبن:

غالباً ما يكون الأفلاتوكسين الموجود باللبن في صورة  $AFM_1$  ومصدره العليقة الملوثة  $AFB_1$  والتي يتناولها الحيوان وعادة ما يكون  $AFM_1$  مرتبطاً بالكازين وتتأثر كميته باللبن بعوامل منها:

١- كمية  $AFB_1$  في العليقة وظروف تخزين اللبن، فتقل كميته ويختفي في اللبن الطازج السائل والمخزن على ٣٢ °ف بسرعة أكبر من المخزن بالتجميد، ويقل

إختفاؤه فى اللبن المعامل بالمنفحة. وقد يرجع ذلك لإحتمال إحتواء اللبن الطازج على إنزيمات تتلف  $AFM_1$  وهذه الإنزيمات تتلف أو تثبط بالتجميد وكذا المعاملة بالمنفحة، أو قد يرجع ذلك لصعوبة إستخلاص التوكسين من كازين الألبان السابق تجميدها أو المعاملة بالمنفحة.

٢- المعاملة الحرارية: تؤدى المعاملة الحرارية من بسترة وتعقيم وتركيز وتجفيف إلى إنخفاض نسبة  $AFM_1$  باللبن ويزداد هذا النقص بزيادة شدة المعاملة الحرارية.

٣- العمليات التصنيعية وتوزيع التوكسين بين المنتجات الأساسية والثانوية: إختلفت النتائج المتحصل عليها والخاصة بتوزيع  $AFM_1$  بين الشرش والخثرة، وبين الزبد واللبن الخض وقد يرجع ذلك لإختلاف ظروف التحليل وتركيز  $AFM_1$  وطريقة تلوث اللبن به فيما كان صناعياً أو طبيعياً ولكن غالباً مايكون توزيعه متساو بين الشرش والخثرة فى معظم أنواع الجبن، وتكون نسبته فى اللبن الخض أعلى بكثير من نسبته فى الزبد.

#### ب- الأفلاتوكسينات فى المنتجات اللبنية

يكون مصدر الأفلاتوكسينات فى المنتجات اللبنية إما من اللبن الداخلى فى صناعتها نتيجة إحتوائه على  $AFM_1$  والناجم من حيوانات تغذت على عليقة ملوثة  $AFB_1$ ، أو يكون مصدر هذه التوكسينات فى هذه المنتجات هو تلوثها بالفطريات المنتجة لهذه التوكسينات، وقد يكون التلوث من المصدرين معاً.

١- الأفلاتوكسينات بالجبن: رغم أن الكازين ينشط إنتاج الأفلاتوكسينات فى البيئة السائلة الملقحة بفطر *A. parasiticus*، فإن الجبن تعتبر بيئة فقيرة Poor substrate لإنتاج الأفلاتوكسين، لقلة ما تحتويه من الكربوهيدرات المشجعة على نمو الفطر وإنتاج التوكسين كما أن اللاكتوز غير محبب للفطر. ورغم ذلك هناك أبحاث كثيرة تشير إلى تكوين الأفلاتوكسينات بالجبن، وتختلف كمية التوكسينات المتكونة بإختلاف نوع الجبن ومدى ملائمتها لنمو الفطر فمثلاً الجبن تشدر تشجع نمو *A. parasiticus* عن جبن Brick وقد لوحظ إختفاء الأفلاتوكسينات المتكونه بالجبن الأخير بعد حوالى ٤ أسابيع من التسويه. وقد يعزى ذلك إلى تكسير

التوكسين بفعل نشاط بكتريا *Brevibacterium linens* ويقال أن *A. flavus* لا ينمو ولا يكون أفلاتوكسينات فى الجبن المسواه بالفطر داخلياً أو سطحياً مثل Blue cheese, pont l'evéque, camembert أما إذا أزيل الفطر من السطح فإن *A. flavus* ينمو ويكون الأفلاتوكسين، وقد يرجع ذلك إلى أن هذه الفطريات والمسئولة عن تسوية تلك الجبن تنتج نواتج تمثيل تثبط نمو *A. flavus* وبالتالي إنتاج التوكسين، كما لوحظ أن *A. flavus* أمكنه النمو على جبن Edam مضافاً إليها فلفل pepper ولكن دون إنتاج للتوكسين. أما الجبن المطبوخ فإنه يعتبر بيئة جيدة لنمو *A. flavus* وإنتاج الأفلاتوكسينات. وتتوقف كمية التوكسين المتكونه ونشاط الفطر على نوعية ونسبة أملاح الإستحلاب المستخدمه، وكذا نسبة ملح الطعام والحرارة والرطوبة والـ pH. وتشير كثير من الأبحاث إلى أن الأفلاتوكسينات تتكون فى الجبن الملوته بالفطر على حرارة أعلى من ١٠ م°، ولما كانت معظم الجبن تسوى على درجة حرارة أعلى من ١٠ م° لذا فهذه الظروف تشجع نمو الفطر وإنتاج التوكسين خاصة مع توافر الرطوبة النسبية. والتوكسين الذى يفرزه الفطر النامى على سطح الجبن يمكنه التغلغل إلى داخل الجبن، ويعتمد مدى هذا التغلغل على نوع الجبن وقوامها فالجبن المفتوح القوام أو الذى يحدث به شقوق يمكن أن ينمو فيها مما يساعد التوكسين على التغلغل لمسافات بعيدة، وفى الحالات العادية والجبن السليم غير المشقق قد يصل التوكسين إلى عمق ٤ سم من سطح الجبن، وقد ذكر أن AFB<sub>1</sub> المتكون بالجبن لايتلف بصهرها على ٨٨ م° - ١٣٥ م° عند عمل الجبن المطبوخ.

٢- الأيس كريم: وجد أن تركيز الأفلاتوكسين يبقى ثابتاً فى الأيس كريم الناتج من لبن ملوث طبيعياً بالأفلاتوكسين M<sub>1</sub> لمدة ٨ شهور من التخزين تحت ظروف التجميد .

٣- الألبان المتخمرة: مثل اليوغورت واللبن الخض المتخمر والكفير الناتجة من لبن يحتوى أفلاتوكسينات، وجد أن عملية التخمير والتخزين عقب عملية التخمير يؤدى لخفض الأفلاتوكسين لدرجة كبيرة.

- ٤- **المنتجات الدهنية:** فى دراسة عن إختفاء الأفلاتوكسين AFM<sub>1</sub> فى القشدة عند تحويلها إلى زبد، وجد أن ٤- ١٥٪ من التوكسين الموجود بالقشدة يظهر فى الزبد، ويذهب معظم التوكسين (٨٥ - ٩٦٪) إلى اللبن الخض، كما يذهب حوالى ٣ - ٢٦٪ من الأفلاتوكسين فى الماء المستخدم فى غسيل الزبد.
- ٥- **الألبان المجففة:** رغم أن عملية التجفيف تخفض لحد ما AFM<sub>1</sub> الموجود باللبن السائل إلا أن نسبة كبيرة من التوكسين تقاوم عملية التجفيف وتبقى باللبن المجفف لفترات طويلة.

### التشريعات الخاصة بالأفلاتوكسينات Regulations of aflatoxins

نظراً لصعوبة تقديم غذاء غنى فى البروتين خال من الأفلاتوكسين للإنسان، وبعد معرفة الأضرار الصحية لها فقد عملت محاولات دولية للتحكم فى مستوى الأفلاتوكسينات فى الغذاء فوضعت العديد من الدول التشريعات التى تحدد النسبة المسموح بها فى الأغذية والعلائق، وفى الولايات المتحدة تعتبر هيئة الغذاء والدواء Food and drug administration (FDA) الأفلاتوكسينات مواد سامة وضارة بالصحة، وحددت ألا تزيد نسبة الأفلاتوكسينات فى الغذاء بما لايزيد عن ٢٠ جزء فى البليون 20 ppb. ماعدا اللبن الذى حددت نسبتها فيه بما لايزيد عن ٠,٥ جزء فى البليون لأن اللبن المحتوى AFM<sub>1</sub> يمثل خطورة كبيرة للرضع والأطفال، كما حددت نسبتها فى عليقة ماشية اللحم بما لايزيد عن ٣٠٠ ppb وفى عليقة الدواجن ١٠٠ ppb أما عليقة ماشية اللبن فلا تزيد عن ٢٠ ppb ومعظم دول العالم تحدد نسبة تتراوح من صفر: ٥٠ ppb فى الغذاء وفى سنة ١٩٩٠ وضعت لجنة مخطوطات مضافات الغذاء والملوثات Codex committee on food additives and contaminations حد أقصى هو ١٠ ppb فى جميع الأغذية عدا اللبن والمنتجات اللبنية.

طرق الوقاية (تجنب مخاطر الأفلاتوكسين):

تشمل طرق الوقاية



أولاً: الحد من التلوث بالفطريات:

تعتبر الفطريات من أكثر الميكروبات تبايناً في الظروف الملائمة لنموها إذ لها القدرة على النمو تحت ظروف متباينة من الحرارة (صفر: ٥٥ م°) رغم أنه يمكن تثبيطها بالبيسترة، كما أنها تنمو في مدى واسع من الـ pH (٣ - ٨) وبعضها يمكنه النمو على pH أقل من ٢، ورغم أن معظمها يقل نشاطها عند  $aw = 0,8$  فبعضها محب للجفاف ويمكنه النمو على  $aw = 0,65$  أو أقل ورغم أنها كائنات هوائية تحتاج

للأكسجين فإن بعضها يمكنه النمو في جو فقير من الأكسجين (يقال عن ١٪)، وقد يصعب وقف نشاطها في الأغذية باستبعاد  $O_2$  منها إذ أن الغذاء نفسه يحتوى  $O_2$  ذائب كما أن العبوة قد تسمح بنفاذ  $O_2$  (ملحوظة: الخمائر لاحتياج متطلبات من  $O_2$  ويمكنها النمو في جو خال تماماً من  $O_2$ ) ومن وسائل الحد من التلوث بالفطريات:

١- إتباع العمليات الزراعية الملائمة خاصة عند الحصاد والتخزين لمنع تلوث النباتات بالفطر، مع تخزين الحاصلات الزراعية على حرارة منخفضة وتحت ظروف جافة جيدة التهوية.

٢- إستنباط نباتات مقاومة للفطر.

٣- إستخدام الطرق الصحية أثناء التصنيع الغذائى لتجنب التلوث ومن أمثلة ذلك:

أ- إختيار المواد الداخلة في التصنيع لوجود جراثيم الفطر مع إختيار وجود التوكسين في العينات المشكوك فيها.

ب- في الجبن: تختبر الفطريات المستخدمة في صناعته لمدى إنتاجها للتوكسين، مع تغطية أسطح الجبن بالمواد الكيماوية التي تثبط نمو الفطر (السوربات) والتعبئة في أغلفة محكمه في جو من  $CO_2, N_2$ .

٤- الغريلة الميكانيكية لإزالة الأجزاء الملوثة وهذه يمكن التعرف عليها بالتفتيش بالعين المجردة، ملاحظة التوهج تحت مصدر لأشعة uv والكشف بال GLC عن وجود أسيتون في أطراف العبوات الخاصة بالبذور فوجود هذا الغاز يدل على نمو الفطر.

#### ثانياً: تثبيط نمو الفطر:

وذلك بإستخدام مضادات الفطر Antifungal food addititives وهي مواد كيماوية تمنع نمو الفطر بعضها يوجد طبيعياً في بعض الأغذية كالأحماض العضوية والزيوت الطيارة، وقد تضاف للغذاء أثناء التصنيع، ولكنها ليست بديلاً للعناية بالنظافة وجودة التصنيع فهي مساعدة لتلك العناية ويشترط في هذه المواد أن يكون مصرحاً بإستخدامها وأمنه للإستهلاك الأدمى، وبالحد الذى تسمح به التشريعات الخاصة بكل دولة ومن هذه المواد:

## ١- الأحماض العضوية organic acids

وهى تستخدم من زمن بعيد نظراً لقلتها سميتها مع قبول طعمها وجودة ذوبانها. ويعزى تأثيرها المثبط للفطر أنها تخفض من الـ pH فتغير من نفاذ غشاء خلايا الفطر، وتعمل على تأين أحماضه العضوية، كما أنها تثبط من أكسدة NADH مما يثبط من العمليات الفسيولوجية للفطر، ونظراً لأن ثابت تأينها يقع ما بين pH ٣ - ٥ فهي أكثر فاعلية على الـ pH المنخفض، ولها تأثير مثبط لكثير من الفطريات إلا أن بعض الفطريات قد تقاوم التأثير المثبط لهذه الأحماض كما أن بعض الفطريات من جنس Penicillium يمكنها النمو فى تركيز مرتفع من حمض السوربيك وتنزع منه  $CO_2$  وتحوله إلى مركب 1.3 pentadiene وهو مركب طيار له رائحة قوية تشبه رائحة الكيروسين ومن الأحماض العضوية المستخدمة فى الأغذية لمقاومة نمو الفطر.

## أ- حمض السوربيك Sorbic acid

وهو يستخدم كحمض أو فى صورة ملح سوربات البوتاسيوم والتي تعرف باسم السوربات (sorbate)، وهو شديد الذوبان فى الماء، ويستخدم الحمض أو ملحه فى حفظ الغذاء (المخبوزات - اللحوم - الفاكهة - الخضروات - منتجات الألبان كالجين المطبوخ وجبن الكوتاج والقريش والقشدة المتخمرة) وكذا فى حفظ العلائق ومستحضرات التجميل والأدوية، وهى إما تضاف مباشرة للمنتج (يضاف للجبن بنسبة ٠,٢ - ٠,٣ % حمض سوربيك) أو يرش أو يغمس فيه المنتج أو يضاف لورق التعبئة. والتأثير المثبط لحمض السوربيك للفطر يكون كبيراً على pH ٥ أو أقل إذ على pH ٦ أو أعلى يقل تأين الحمض وبالتالي يقل تأثيره المثبط للفطر. وبجانب الـ pH فإن للعوامل البيئية الأخرى من حرارة ورطوبة، وكذا نوع الفطر ومدى الحمل الميكروبي ومدة التخزين، وفيما إذا كان الملح المستخدم يستخدم بمفرده أو بالإضافة إلى مواد أخرى. كل هذه العوامل تؤثر على مدى فاعلية الحمض، فإضافة مواد أخرى مثبطة بجانب الحمض فإن ذلك يزيد من قدرة الحمض التثبيطية، كما أن طول مدة التخزين بعد المعاملة قد تؤدي إلى عودة نشاط الفطر تحت الظروف الملائمة من حرارة وعوامل أخرى.

### ب- حمض البنزويك وأملاحه (الصوديوم والبوتاسيوم) Benzoic acid

وهو يوجد طبيعياً في بعض المواد مثل الفراولة، البرقوق، القرفة، القرنفل، وهو يعمل على pH أقل من ٤,٥ وله تأثير مثبط ضعيف على pH التعادل، إذ تزيد فاعليته بانخفاض الـ pH وهو فعال ضد الفطريات والخمائر بما فيها المنتج للأفلاتوكسينات. ويعاب عليه أنه يكسب الغذاء طعماً مرّاً غير مقبول لذا يفضل أن يستخدم بالإشتراك مع حمض السوربيك فمخلوطهما أكثر فاعلية وأقل تأثيراً على الطعم المر غير المقبول.

### ج - حمض البريبونيك Propionic acid

يستخدم عادة في صورة أملاح الصوديوم أو الكالسيوم، وهو يثبط الفطر دون الخمائر لذا يمكن إضافته للعجين دون تأثير منه على الخميرة. ويوجد في بعض الأغذية نتيجة للعمليات التصنيعية فيوجد في الجبن السويسري بتركيز قد يصل ١% إذ تنتجه بكتريا *Propionibacterium shermanii* ويمكنه تثبيط بكتريا *Bacillus mesentericus* المكونه للزوجه، وعموماً فإن نشاطه كمثبط للفطر أقل من الأحماض العضوية الأخرى، وقد يرجع ذلك لضعف تأينه لذا يستخدم منه تركيزات أعلى من الأحماض الأخرى.

### د- الأحماض الدهنية متوسطة السلسلة Medium chain fatty acids:

للأحماض الدهنية وإستراتها تأثير مثبط للخمائر والبكتريا الموجبة لجرام، كما أن لبعضها مثل Glycerol monocarporate. Glycerol monolaurate. Glycerol monocarpate. Sucrose monolaurate. Sucrose monocarpate تأثيراً مثبطاً للفطريات فمثلاً Sucrose monolaurate (١%) له تأثير مثبط لبعض الفطريات من أجناس *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria spp* كما أنها تقلل من نمو *Aspergillus spp* وتقلل قدرتها على إنتاج الأفلاتوكسينات كما تثبط سترات *Sucrose monocarpate* (١%) نفس الفطريات السابقة.

## ٢- المضادات الحيوية Antibiotics ومن أمثلتها:

### أ- ناتاميسين Natamycin

كان يعرف بإسم بيمارسين Pimaricin وهو مضاد قوى ضد الفطريات وليس فعالاً ضد البكتريا، مصرح به فى كثير من البلدان. وهو يوقف نمو الفطريات فى البيئات الصناعية عند استخدامه بتركيز ١ : ١٠٠ جزء / مليون، ويوقف نمو الفطر فى الجبن (كوتاج - تشدر) بغمسها فى محلول منه تركيزه ١٠٠٠ : ٢٠٠٠ جزء / مليون، ويثبط إنتاج الأفلاتوكسينات.

### ب- نيسين Nicin

فعال ضد البكتريا الموجبة لجرام، ويقال أن تركيز ٥ - ١٢٥ جزء / مليون يثبط نمو *A.parasiticus* فى البيئات الصناعية، ولكن إذا طالت مدة التحضين فإن الفطر يسترجع نشاطه وينمو بسرعة أكبر وينتج أفلاتوكسينات فى المزارع المحتوية على Nicin بدرجة أكثر من تلك الخالية من Nicin.

## ٣- نواتج تمثيل بكتريا حمض اللاكتيك

### Metabolites from lactic acid bacteria (LAB)

هي مواد فعالة تعمل أساساً ضد البكتريا عن طريق خفض الـ pH نتيجة هدم كمية من المواد الكربوهيدراتية لذا يستخدم التخمر اللاكتيكي فى حفظ بعض المنتجات اللبنية واللحوم والفاكهة والخضر، ورغم ذلك فهناك بعض أجناس من *Lactobacillus*, *Streptococcus* بجانب إنتاجها للكينات والخلات المثبطة للبكتريا فإنها تنتج مواد أخرى لها تأثير فعال ضد الفطريات، وأن معظم هذه المواد يتكون على ٣٠ م° pH ٦,٨ ومن أمثلة هذه المواد:

### أ- مادة الداى أستيل Diacetyl

وهو أحد نواتج تمثيل بكتريا حمض اللاكتيك، يعطى الطعم الخاص بالزبد، ويقال أنه يثبط الخمائر بتركيز ٢٠٠ جزء / مليون ويثبط الفطريات بتركيز ٣٠٠ جزء / مليون خاصة على pH أقل من ٧ ونظراً لما يضيفه من طعم زبدى فإن استخدامه كمضاد للفطر محدود فى بعض الأغذية.

## ب- الريوتيرين Reuterin

وهو أحد نواتج تمثيل بكتريا *Lactobacillus reuterii* وهو مادة غير نيتروجينية صغيرة الوزن الجزيئي عالية الذوبان، ذات pH متعادل له تأثير مضاد للخمائر والفطريات والبكتيريا لذا قد تستخدم في حفظ الغذاء لتقليل الميكروبات المرضية والمسببة للفساد.

## ج- ميكروجارد Microgard

وهو عبارة عن لبن فرز متخمّر ببكتريا *Propionibacterium shermanii* ثم يبستر ويستخدم في إطالة مدة حفظ جبن الكوتاج إذ يثبط البكتريا المحبة للبرودة، كما له تأثير مضاد للفطر والخميرة ويحتوى حمض البروبيونيك واللاكتيك والخليك ومادة الداى أستيل.

## ٤- مواد طبيعية:

## أ- الأعشاب والتوابل Herbes and spices

رغم أن هذه المواد تستخدم أساساً لإضفاء الطعم على الأغذية، إلا أن لبعضها تأثير حافظ لفاعليتها ضد الميكروبات مثل الثوم والقرنفل والخردل والالفلفل الأسود والزنجبيل وبين الجدول الأتى (٢٩) بعض المضادات الميكروبية الموجودة ببعض الأعشاب والتوابل.

جدول (٢٩) المضادات الميكروبية الموجودة ببعض الأعشاب والتوابل

| العشب والتوابل                                         | المادة الفعالة       |
|--------------------------------------------------------|----------------------|
| الثوم Garlic                                           | Allicin              |
| الخردل Mustard                                         | Allyl isothiocyanate |
| اليانسون Anice — والشمر Fennel                         | Anethole             |
| الكرابيه Caraway — الشبث Dill                          | Carvone              |
| حصى البان Rosemary — الغار Laurel — حب الهال Cardamom  | 1,8-Cineole          |
| القرفة Cinnamon                                        | Cinnamaldehyde       |
| الكمون Cumin — الزعتر Thyme                            | p-cymene             |
| القرنفل Clave — القرقة Cinnamon                        | Euganol              |
| بذور الكرفس Colery seed — الكرابيه Caraway             | Limonene             |
| الكزبرة Coriander — حصى البان Rosemary — الريحان Basil | Linalool             |
| الزعتر Thyme                                           | Thymol               |
| حبة البركة Black cumin                                 | Thymoquinone         |

وقد يعاب على الأعشاب والتوابل كمادة حافظة أن التركيز المستخدم منها لهذا الغرض كبير وأن المستخدم منها فى الطعام غير كاف ولذا يرى البعض إستخدامها بالإشتراك مع مضادات أخرى، وعموماً فقد وجد أن القرفة بتركيز منخفض ٠,٠٢٪ فى البيئة الصناعية أو الخبز قد يثبط نمو فطريات من أجناس *Aspergillus*, *Penicillium* كما يثبط إنتاج الأفلاتوكسينات، كما وجد أن القرنفل، القرفة، الثوم، الخردل بتركيز ٢٪ فى بيئة *Potato dextrose agar* يثبط نمو الفطريات المنتجة للسموم لمدة ٢١ يوم، ووجد أن خلط نسب مختلفة من سوربات البوتاسيوم مع القرنفل كان له تأثير أفضل.

#### ب - الزيوت الطيارة Essential oils

وهى تستخدم أساساً لإضفاء الطعم، ولبعضها تأثير فعال ضد الفطر والخميرة. فقد وجد مثلاً أن إضافة زيت الليمون أو البرتقال إلى بيئة *Glucose yeast extract* بتركيز ٣٠٠٠ : ٣٥٠٠ جزء / بليون ppb يثبط نمو *A. flavus* وكذا إنتاج الأفلاتوكسينات. وعموماً فقد أمكن إستخدام بعض التوابل والزيوت الطيارة فى بعض الأبحاث بقسم الألبان بزراعة القاهرة لتثبيط نمو الفطريات، وأمكن إستخدام بعضها كمادة حافظة مثل زيت القرنفل (للزبد) ومستخلص الثوم *Garlic extract* (للجين القريش)، وزيت الموالح *Euganol* للجبن الراس ورغم عدم المعرفة التامة لميكانيكية هذه التوابل والأعشاب والزيوت العطرية على الميكروبات، إلا أن البعض يرى أن فعل هذه المواد يرجع لوجود جزيئات عطرية *Aromatic moiety* مثل مجموعة OH والتي تكون روابط هيدروجينية مع المواقع المنشطة لإنزيمات الميكروب. ويرى البعض أنها تؤثر على الخلايا الخضرية بطريقة تشبه عمل الفينولات والتي تؤثر على جدر الخلايا البكتيرية حيث تغير من نفاذيتها وكذا من نظم النقل فيها *Transport systems* وإنتاج الطاقة.

#### ٥ - مضادات الأكسدة الفينولية Phenolic antioxidants

ومن أمثلتها:

*Butylated hydroxyl toluene (BHT)*, *Butylated hydroxyanisole (BHA)*  
وهى تستخدم أساساً كمادة مضادة للأكسدة، إلا أنه وجد أن *BHA* دون *BHT*

لها تأثير فعال ضد الفطريات إذا استخدمت بتركيز مرتفع فقد وجد أن ١٠٠٠ جزء / مليون من BHA يثبط نمو *A. parasiticus* في البيئة الصناعية وكذا إنتاج الأفلاتوكسينات، أما استخدامها بتركيز ١٠ جزء/مليون فقد أدى ذلك إلى إنتاج الأفلاتوكسينات بتركيز ضعف الكنترول دون تأثير واضح على وزن الميسليوم، وعموماً فإن التأثير الفعال لهذه المواد ضد الفطريات يحتاج لدراسة أوسع.

## ٦- الغازات وتعديل الجو الغازي للوسط Gases and modified atmospheres

ومن أمثلة ذلك:

أ- تفرغ  $O_2$  أو إحلال غازات مثل  $N_2$  ,  $CO_2$  محل  $O_2$  وذلك عن طريق تفرغ العبوة من الهواء. إلا أن بعض الفطريات (رغم أنها هوائية) يمكنها النمو في جو منخفض من  $O_2$  لذا يفضل استخدام بعض الكيماويات الماصة للأكسجين بجانب إزاحته أو استخدامها بدلاً من إزاحته، إذ أنها تحمي الغذاء عند احتمال حدوث تسرب للهواء داخل العبوة، كما يمكن إحلال  $CO_2$  أو  $N_2$  محل  $O_2$  ويفضل إحلال  $CO_2$  إذ أنه يغير من pH الخلايا فيزيد من الفاعلية ضدها إذ يعمل إنخفاض الـ pH على زيادة نفاذية الخلايا.

ب-  $CO$ : لأول أكسيد الكربون تأثير فعال ضد الفطريات والخمائر التي تصيب الخضر والفاكهة ولكن يحتاج لعناية في استخدامه نظراً لسميته فيخشى على القائمين من استخدامه.

ج-  $SO_2$ : يكون أكثر فاعلية على pH أقل من ٤ لتأينته في الوسط شديد الحموضة، ويستخدم عادة لمقاومة الميكروبات (بما فيها من فطريات) غير المرغوبه في الفاكهة والخضر.

د- أكسيد الإيثيلين: Ethylene oxide: يستخدم للأغذية الجافة كالتوابل - البيض الجاف - الفاكهة الجافة - الذرة - الشعير ... فهو يقلل من الحمل الميكروبي والحشرات، ولكن نظراً لسميته ووجود آثار سامة من استخدامه فقد وضعت التشريعات لتحديد استخدامه.

هـ- أكسيد البروبيلين Propylene oxide: مضاد للفطر والخميرة أكثر من البكتريا وهو يشبه أكسيد الأيثيلين فيستخدم لتدخين التوابل - الكاكاو .... لمقاومة الميكروبات والحشرات.

#### ٧- الطرق الحيوية Biological methods

وفيها تستخدم بعض الميكروبات من بكتريا وفطر مثل:

١- *Flavobacterium auraticam*

٢- بكتريا حمض اللاكتيك ومنها

*Lactococcus lactis lactis, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus dilbuerkii subsp bulgaricus, AFT (Antifungal activity)*

والأخيرة AFT عبارة عن مزرعة تنتمي إلى *Leuconostoc mesenteroids*

٣- فطريات مثل *Penicillium, Rhizobus*

أ- بكتريا *Flavobacterium auraticam*

لهذه البكتريا القدرة على التخلص من  $AFB_1$  من المحلول شرط ألا تقل عدد الخلايا عن  $10^{10}$  خلية / مل وتزيد هذه المقدرة بزيادة عدد هذه الخلايا في المحلول (لأكثر من  $10^{10}$  خلية/مل).

ويقال أن المزارع المسنة (عمر ٧٢ ساعة) أكثر كفاءة من المزارع صغيرة العمر (٢٤ ساعة) فالمزارع الصغيرة وهي تمثل الطور اللوغاريتمي المتأخر Late log phase غير مؤثرة في إزالة التوكسين من المحلول، بينما المزارع في طور الثبات Stationary phase فهي ذات تأثير محدود حيث تزيل حوالي ١٨٪ من التوكسين خلال ٢٤ ساعة أما المزارع المعمرة ٧٢ ساعة وهي تمثل طور الثبات المتأخر late stationary phase فهي أكثر قدرة وتزيل ٣٣٪ من  $AFB_1$  خلال ٢٤ ساعة ويفسر قدرة هذه البكتريا في إزالة  $AFB_1$  لعامل أو أكثر مما يلي:

- قدرة هذه البكتريا على تمثيل التوكسين.

- إرتباط التوكسين بهذه الخلايا فقد وجد أن استخدام عدد كبير من خلايا البكتريا غير النشطة، أمكنها أن ترتبط بالتوكسين، وأمكن إزالته بالترشيح بمرشح بكتيري حيث أزال البكتريا وما عليها من توكسين.

- وقد ترجع زيادة قدرة الخلايا المسنة عن الخلايا صغيرة العمر إلى حدوث تعديل في شكل الخلايا Confermation أو تعديل مقدرتها التمثيلية بتقدم سنها مما يسمح بإزالة كمية أكبر من التوكسين.

### ب- بكتريا حمض اللاكتيك

لوحظ أن الفطريات المنتجة للأفلاتوكسينات تنتج كمية أقل منه في وجود بكتريا اللاكتيك مثل

*L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. dilbuerkii subsp bulgaricus*, *L. dilbuerkii subsp*

وقد درس أثر تأثير هذه البكتريا وكذا نواتج تمثيلها (الراشح الخالي من البكتريا) على نمو فطر *A. flavus* وإنتاج التوكسين ووجد أن الخلايا أكثر مقدرة على منع نمو الفطر، بينما نواتج تمثيلها أكثر مقدرة على تقليل إنتاج التوكسين دون تأثير على نمو الفطر ومن أهم نواتج تمثيل هذه البكتريا *Diacetyl*, *Reuterin*.

### ج- الفطريات:

لوحظ أنه عند تنمية *A. flavus* مع فطريات أخرى خاصة التابعة لجنس *Penicillium* مثل *P. citrinum*, *P. cyclopium* قد ثبت إنتاج التوكسين وقد يرجع ذلك لإنتاجها نواتج تمثيل تقوم بهذا الدور.

ومما سبق نرى أن الدور الحيوي لهذه الميكروبات يرجع إلى قدرتها على إمتصاص التوكسين على خلاياها، أو قدرتها على تحليل التوكسين، أو إنتاجها نواتج تمثيل تثبط نمو الفطر مثل نواتج تمثيل LAB وقد لوحظ أن الخلايا أكثر تنبيطاً لنمو الفطر بينما نواتج التمثيل أكثر تنبيطاً لإنتاج التوكسين.

ثالثاً: التخلص من الأفلاتوكسين الموجود بالغذاء والعليقة:

### 1- هدم التوكسين الموجود بالغذاء أو العليقة

Detoxification and inactivation of aflatoxins in food and feed

بالنظر إلى التركيب البنائي لجزيء  $AFB_1$  يتضح وجود موقعين أساسيين مسؤولين عن نشاطه السمي، الأول وهو الرابطة المزدوجة بين ذرتي الكربون ٨، ٩ في حلقة

الفورفيوران furofuran والتي فيها يحدث التفاعل بين التوكسين والبروتين و DNA والموقع الثاني هو حلقة Lactone في جزئ Coumarin حيث يحدث كسر هذه الحلقة وفتحها وتحدث هذه التغيرات في التركيب البنائي للتوكسين بطرق طبيعية وكماوييه وحيويه.

أ- الطرق الحيويه Biological methods: سبق الحديث عنها.

ب- الطرق الطبيعية Physical methods

تعتمد هذه الطرق على الطاقة التي تمتصها الأفلاتوكسينات والتي تؤدي بدورها إلى إنتاج مواد غير سامة أو قليلة السمية، ومن مصادر هذه الطاقة:

١- الحرارة Heat:

تحتاج التوكسينات لحرارة عالية لإتلافها تتراوح ما بين ٢٣٧ م° - ٣٠٦ م°، فالصورة الصلبة من AFB<sub>1</sub> ثابت ضد الحرارة حتى ٢٦٧ م° رغم أنه ينصهر على ٢٦٠ م°، فهو لايتلف على أقل من ٢٦٩ م° ولذا فظروف الطهي المنزلي تفشل في إتلاف الصورة الصلبة من AFB<sub>1</sub> . AFG<sub>1</sub> ويبين الجدول التالي (٣٠) العلاقة بين درجة الحرارة وإتلاف الأفلاتوكسينات في بعض الأغذية

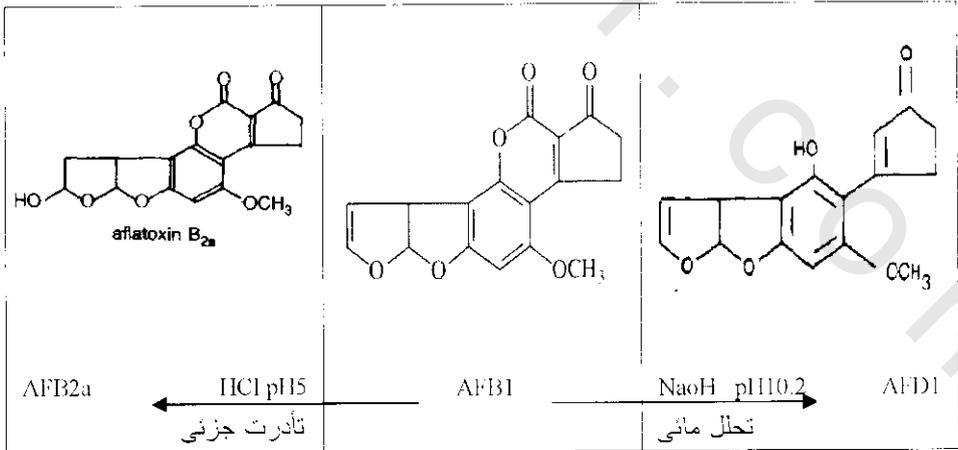
جدول (٣٠) العلاقة بين درجة الحرارة وإتلاف الأفلاتوكسينات

| المعاملة                                                                   | التوكسين                                                         | % للهدم  |
|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|----------|
| تحميص على ٢٠٤ م° / ٥ د                                                     | B <sub>1</sub> . G <sub>1</sub>                                  | ٦٠ - ٦   |
| تحميص على ١٢١ م° / ٣٠ د                                                    | B <sub>1</sub> . G <sub>1</sub>                                  | ٧٦ - ٧٣  |
| تعقيم في الأوتوكلاف على ١١٦ م° تحت ضغط ٠,٧ بار لمدة ٣٠ د في محلول ٥ % NaCl | B <sub>1</sub> +G <sub>1</sub> + B <sub>2</sub> + G <sub>2</sub> | ١٠٠ - ٨٠ |

وعموماً يتوقف مدى التلف الحادث للأفلاتوكسين على نوعه ومدى التلوث المبدئي وحرارة التسخين ومدتها وخواص الغذاء المحتوى على التوكسين من حيث الرطوبة ودرجة الـ pH إذ تعتبر رطوبة الغذاء (محتوى الغذاء من الماء) عاملاً هاماً في ذلك، فالأغذية الملوثة والمحتوية على نسبة عالية من الرطوبة أسرع وأكثر تأثراً بالمعاملة الحرارية لإتلاف التوكسين عن الأغذية المنخفضة الرطوبة، فقد وجد أن كسب بذرة القطن المحتويه ٣٠% رطوبة أمكن هدم ما يقرب من ٧٥% من محتواها من AFB<sub>1</sub> + B<sub>2</sub> بالتسخين على ١٠٠ م° / ساعة، بينما هدم فقط ما يقرب من ٣٠% من

هذه التوكسينات تحت نفس الظروف من الحرارة والمدة في كسب يحتوى ٦,٦٪ رطوبة. إذ يقال أن ارتفاع نسبة الماء بالغذاء تساعد على فتح حلقة اللاكتون في AFB<sub>1</sub> بإضافة جزئ ماء إلى الحلقة وتكوين مركب حمضى طرفى Carboxylic acid يحدث له عملية decarboxylation بالحرارة. كما أن وجود الأملاح المتأينة فى الوسط (محلول NaCl) يزيد من معدل هدم الأفلاتوكسين، فقد وجد أن تسخين بذور الفول السودانى Peanuts فى محلول NaCl (٥٪) على ١١٦ م° / ٣٠ د فى الأوتوكلاف وتحت ضغط ٠,٧ بار، أدى إلى هدم ٧٠ - ٨٠٪ من Afl. B<sub>1</sub> + G<sub>1</sub> + B<sub>2</sub> + G<sub>2</sub>.

كما أن التسخين فى وسط قلوى (pH ١٠,٢ / ١٣٠ م° / ٢٠ ث) بضبط الـ pH بالصودا الكاوية أدى إلى زيادة هدم AFB<sub>1</sub> فى بذور السودانى، ويعزى ذلك إلى التحلل المائى لحلقة اللاكتون فى AFB<sub>1</sub> بفعل NaoH المستخدمة فى ضبط الـ pH وتحويل AFB<sub>1</sub> إلى AFD<sub>1</sub> والأخير سميته تعادل ١ / ٤٥٠ من سمية AFB<sub>1</sub> كذلك الحال التسخين (١٣٠ م° / ٢٠ ث) مع خفض الـ pH بحمض HCl إلى 5 pH أدى أيضاً لزيادة التلف من AFB<sub>1</sub> ويعزى ذلك إلى التآدرت الجزئى Partial hydration للتوكسين فى حلقة الفيوران furan الطرفية وتحويله إلى AFB<sub>2a</sub> بفعل Hcl وهو يعادل فى سميته ١ / ١٠٠٠ من سمية AFB<sub>1</sub> ويلاحظ أن تغيير الـ pH من ٨ إلى ١٠,٢ أو ٥ دون تسخين لايؤثر على سمية AFB<sub>1</sub> وهذا يؤكد التأثير التعاونى Synergistic للـ pH والتسخين فى تقليل نشاط AFB<sub>1</sub> خاصة التأثير المؤدى لتكوين الطفرات



وقد أظهر التسخين بالميكروويف Microwave قدرة كبيرة على هدم الأفلاتوكسينات في الفول السوداني، ويتوقف مدى هذا الهدم على الطاقة المستخدمة وزمن المعاملة ونوعية التلوث طبيعي أو صناعي.

وقد درس تأثير المعاملة الحرارية من بسترة وتعقيم على هدم  $AFM_1$  الموجود باللبن (وهو مشتق أحادي الهيدروكسيل من  $AFB_1$ ) ويفرز في لبن الأبقار عند تغذيتها على عليقة ملوثة بـ  $AFB_1$  وقد تضاربت النتائج المتحصل عليها في ذلك إذ تراوح الهدم بالبسترة من صفر: ٤٥٪ وبالتعقيم من ٢٤ : ٦٤٪ وقد يرجع هذا التضارب في النتائج إلى:

- عدم ثبات  $AFM_1$  في اللبن إذ يقل تركيزه ذاتياً بمرور الوقت فيهدم (يتلف) منه ٤٠٪ في لبن ملوث طبيعياً بعد ٤ أيام من التخزين، ٨٠٪ بعد ٦ أيام من التخزين على صفر م.
  - طريقة التلوث فعادة يسهل هدم (إتلاف) التوكسين المضاف صناعياً عن الملوث للبن بطريقة طبيعية إذ أن الأخير يكون عادة مرتبطاً بالبروتين.
  - إختلاف درجة التلوث المبدئي وطرق الإستخلاص وحساسية طرق التقدير.
- وعموماً فإن إستخدام الحرارة العالية قد لاتجدي في تخليص الغذاء من الأفلاتوكسينات.

## ٢- الإشعاع Irradiation

تنقسم الطاقة المشعة radiation إلى طاقة مشعة مؤينه ionizing وطاقة مشعة غير مؤينه non ionizing.

وتحدث الطاقة المشعة المؤينه (مثل أشعة X، أشعة جاما والأشعة فوق البنفسجية) تغيرات في جزيئات المادة الغذائية المعرضة للإشعاع مع إرتفاع طفيف في درجة الحرارة أو بدون إرتفاع فيها.

وهذه التغيرات قد تكون ضارة للكائنات الحية التي تتعرض لجرعات كبيرة منها، ولذا قد تستخدم ضمن طرق حفظ الغذاء للتخلص من الميكروبات المرضية.

أما الطاقة المشعة غير المؤينة (موجات الراديو - الميكروويف - موجات تحت الحمراء - الضوء المرئي) فهي تؤدي لرفع الحرارة بجانب حدوث تغيرات في الجزيء إلا أن هذه التغيرات غير ضارة للإنسان.

ورغم الشك في مدى سلامة الأغذية المعاملة بالإشعاع بالنسبة لصحة الإنسان فإن معاملة الغذاء بالإشعاع أصبحت عملية تكنولوجية تستخدم على نطاق تجارى كوسيلة للتعقيم. ونشير فيما يلي إلى أثار بعض طرق المعاملة بالإشعاع على هدم الأفلاتوكسينات فى الأغذية:

#### i - تأثير الأشعة فوق البنفسجية (uv):

تمتص الأفلاتوكسينات الأشعة فوق البنفسجية على طول موجى يتراوح من ٢٢٢ - ٣٦٢ nm، واقصى إمتصاص عند ٣٦٢ nm، وتزداد حساسية AFB<sub>1</sub> لإمتصاص هذه الأشعة على pH أقل من ٣ أو أكثر من ١٠. ويتمثل دور الأشعة فوق البنفسجية فى هدم الأفلاتوكسينات فى أنها تؤثر على الرابطة المزدوجة فى طرف حلقة الفيوران فتفتحها وينتج عن ذلك مركبات أقل سمية قد تصل إلى ١٢ مركب Photodegradation products، فقد وجد أن تعريض AFG<sub>1</sub>، AFB<sub>1</sub> للأشعة uv (٣٦٥ nm / ساعة) على ألواح TLC أدى إلى سلسلة من التفاعلات تنتج عنها مركبات هدم ضوئية أقل سمية لجنين البيض. كما وجد أن تعريض زيت الفول السودانى الملوث لهذه الأشعة لمدة ساعتين هدم ٤٠ - ٤٥% من الأفلاتوكسينات الموجودة بها، كما أدى تعريض اللبن الملوث صناعياً بـ AFM<sub>1</sub> لهذه الأشعة إلى هدم ٤ - ١٠٠% من AFM<sub>1</sub> ويتوقف ذلك على مدة التعرض للأشعة (٢ - ٦٠ د)، كما أن إضافة H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ١% إلى اللبن قبل المعاملة بالـ uv لمدة ١٠ د أدى إلى هدم AFM<sub>1</sub> تماماً، وقد يرجع ذلك إلى أن (O) المتولد من H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> كأصل حر يساعد فى التأثير الفعال للأشعة. إلا أن معاملة الغذاء بهذه الأشعة كوسيلة لتخليصه من الأفلاتوكسينات محدودة لما يأتى:

- لم تلق قبولاً فى الصناعة، وقد يرجع ذلك لقلّة نفاذية uv خلال الغذاء.

- إحتمال تكون أفلاتوكسينات جديدة بعضها سام.

## ii - تأثير أشعة جاما Gamma rays

يرجع تأثيرها غير المباشر فى هدم الأفلاتوكسينات إلى أنها تحلل الماء وكذا بعض مكونات الغذاء الأخرى مما ينتج عنه أصول حرة تتفاعل مع الأفلاتوكسين حيث تهاجم حلقة الفيوران Furan الطرفية فتقلل من سمية AFB<sub>1</sub>. إلا أن الأبحاث تشير إلى عدم إمكانية هدم الأفلاتوكسينات بأشعة جاما بمفردها لما يأتى:

- ارتفاع مقدار الجرعة اللازمه (أكثر من ١٠ Mrad) والجرعة المسموح بها تقريباً (٠,١ Mrad).

- الجرعات المنخفضة من أشعة جاما لا تشجع نمو الفطريات المنتجة للسموم وكذا كمية السم الناتج.

لذا قد ينصح بالجمع بين استخدام H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> وأشعة جاما (٨) فتوليد (O) كأصل حر يزيد من فاعلية الأشعة على هدم AFB<sub>1</sub> ولم يكن لنواتج الهدم نشاط حيوى بإختبار Ames للطفرات.

## iii - إشعاع الشمس Sun irradiation (ضوء الشمس - الضوء المرئى)

تتلف الطاقة الشمسية جزء من AFB<sub>1</sub> الموجود بالغذاء وقد يرجع ذلك لتأثيرها على الرابطة المزدوجة فى حلقة Furan إذ أن هذا الموقع هو مكان إرتباط التوكسين بالأحماض النووية والبروتينات وبالتالي إحداث التأثير السام إلا أن هذه المعاملة قد تؤدى لتكوين مركبات هدم سامة غير معروفة، وإن كانت أقل سمية من AFB<sub>1</sub>. وقد لوحظ أن الأفلاتوكسينات المرتبطة بالبروتين أقل حساسية للهدم الضوئى عن الأفلاتوكسينات الحرة، لذا فإن المنتجات الملوثة طبيعياً أقل حساسية لهدم الأفلاتوكسينات عن تلك الملوثة صناعياً إذ أن الأولى تكون مرتبطة بروتين الغذاء أكثر من تلك الملوثة صناعياً.

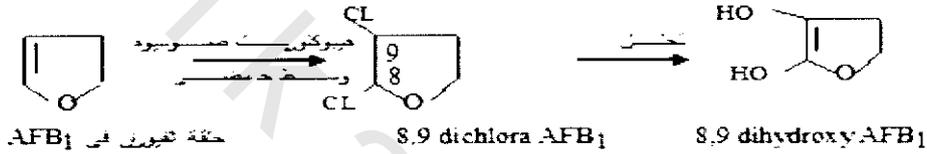
## ج- الطرق الكيماويه Chemical methods

والأساس فيها هو هدم AFB<sub>1</sub> إما عن طريق أكسدة حلقة الفيوران أو عن طريق التحلل المائى لحلقة اللاكتون وأكسدتها.

## ١- العوامل المؤكسدة Oxidizing agents ومنها:

## i - هيبوكلوريت الصوديوم وغاز الكلور:

ويوصى باستخدام هيبوكلوريت الصوديوم لهدم الأفلاتوكسينات من الأسطح الملوثة لذا يستخدم بكثرة في معامل الأفلاتوكسينات لتخلص الأواني الزجاجية والأدوات من التلوث به. كما أن لهذه المعاملة تأثيراً فعالاً في هدم الأفلاتوكسينات في الأطعمة. ويتوقف ذلك على درجة الأكسدة الحادثة والتي تتوقف بدورها على ظروف المعاملة من تركيز الهيبوكلوريت ومدة المعاملة ودرجة الـ pH فتحت الظروف الحمضية يحدث هدم  $AFB_1$  بالصورة التالية.



وهو مادة سامه ومسرطنه

وهو مادة سرطانية إلا أنه غير

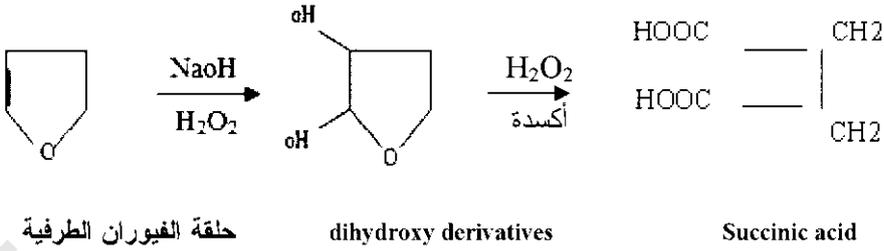
مادة غير سامه

ثابت

وتزداد القدرة على تحلل 8,9 dichloro  $AFB_1$  في وجود 5% أسيتون إلا أن وجود بقايا الكلورين، وهدم التريبتوفان، ومدى نفاذية الغاز خلال الغذاء ليسودى دوره الفعال، كلها أمور تحتاج لدراسة أوسع رغم عدم السمية التي لوحظت بالنسبة لجنين البيض وحيوانات التجارب والتي تشير إلى أمن كلورة الغذاء.

ii - فوق أكسيد الأيدروجين  $H_2O_2$ 

ويقترح استخدام هيبوكلوريت الصوديوم لتخلص من الأفلاتوكسينات في السوائل والمحاليل، إذ يمثل مكانه عالية في ذلك كما أنه رخيص الثمن، ويمكن التخلص من بقاياها دون أن يترك أثراً سامه. ويزداد تأثيره في هدم الأفلاتوكسينات في وجود NaOH ويتم هدم  $AFB_1$  عن طريق تكوين مشتقات ثنائية الأيدروكسيل Dihydroxy derivatives ثم حمض سكسنيك Succinic ويحدث ذلك عادة بكسر الرابطة المزدوجة في حلقة الفيوران الطرفية.



وقد لوحظ أن  $H_2O_2$  يثبط نمو الفطر المنتج للأفلاتوكسينات في البيئة الصناعية عند استخدامه بتركيز ٠,٣ - ٠,٥% أما تركيز ٠,٠٣ - ٠,٠٥% فإنه يسمح بنمو الفطر ويسرع من تكوين الأفلاتوكسينات.

### iii - الأوزون ( $O_3$ ) ozone

عامل مؤكسد قوى مع  $AFB_1$  عن طريق الرابطة الزوجية الموجودة بحلقة الفيوران الطرفية وله القدرة على هدم الأفلاتوكسينات على حرارة الغرفة، وقد ثبت أن المنتجات المعاملة بالأوزون غير سامة بناء على تجارب الفئران وجنين البيض. إلا أن المعاملة قد تسبب نقصاً في معدل كفاءة البروتين Protein efficiency ratio ونقصاً في الحمض الأميني ليسين مما يجعل الطريقة غير مرضية لحد ما Less satisfactory.

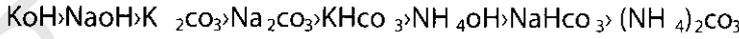
### iv - ثنائي السلفيت bisulfite

يستخدم في الصناعات الغذائية، ويمدّن استخدامه كمثبط للأفلاتوكسينات، فله تأثير فعال ضدها أكثر من الأمونيا أو أيروكسيد الصوديوم في هدم  $AFB_1$  في القمح والذرة (أو تقليل نشاطه) ويمكن استخدامه لهذا الغرض بتركيز منخفض (٠,٥ - ١%) ويرجع التأثير الفعال له إلى تفاعله مع المركزين النشطين لـ  $AFB_1$  فيكسر حلقة اللاكتون كما يرتبط بحلقة الفيوران الطرفية وتتكون سلفونات الصوديوم Na - sulfonate المسؤولة عن تثبيط فاعلية  $AFB_1$  ولكن قد يتكون بجانب ذلك بعض المواد السامة مثل (Epoxide) مما يحد من إستغلالها في تثبيط الأفلاتوكسين.

## ٢- عوامل التحلل المائي hydrolytic agents

## i - التحلل المائي بالقلويات

المعاملة بالقلوى مع التسخين ( $110^{\circ}\text{م}$ ) تكسر حلقة lactone وتختلف درجة فاعلية القلويات فى هدم  $\text{AFB}_1$  كما يلى:



وقد إستخدمت المعاملة بالأمونيا لهدم  $\text{AFB}_1$  فى علائق الحيوان، وهى فعالة سواء فى الصورة الغازية أو فى صورة محلول فيمكن بها هدم ٩٥٪ من التوكسين، فعند تغذية الأبقار على عليقة من كسب بذرة القطن ملوث بـ  $\text{AFB}_1$  ولكن معاملاً بالأمونيا، كان اللبن الناتج منخفضاً أو خالياً من  $\text{AFM}_1$ . كما كانت الأنسجة تحتوى على كمية قليلة من  $\text{AFB}_1$ ، وهذا يدل على أن حموضة معدة الحيوان لاتساعد على إسترجاع نشاط التوكسين المعامل، كما تبدل على أن التفاعل الحادث بين التوكسين والأمونيا تفاعل غير رجعى.

ودور الأمونيا فى هدم  $\text{AFB}_1$  يتمثل فى فتح حلقة اللاكتون (خاصة عند PH ٩,٥) ثم عملية Decarboxylation لإنتاج مركبات غير سامة تقريباً مثل  $\beta$ -keto acids،  $\text{AFD}_1$  ولاضرر من إعطاء العليقة المعاملة بالأمونيا للحيوان، إلا أنها غير ملائمة لمعالجة غذاء الإنسان إذ تقلل من جودة الغذاء المعامل بها، فتسبب نقص فى كفاءة البروتين (١٠٪) ونقص ملحوظ فى الحمض الأمينى ليسين ومثيونين مع إحتمال ظهور بقايا سامة من نواتج التحلل المائي، كل هذا جعل المعاملة بالأمونيا أقل قبولاً وأن العملية ملائمة فقط لمعالجة عليقة الحيوان وليس غذاء الإنسان.

## ii - التحلل المائي بالأحماض

المعاملة بالأحماض القوية يؤدى إلى تأدرت  $\text{AFB}_1$  عند الرابطة ٨، ٩ لحلقة الفيوران الطرفية لتكوين  $\text{AFB}_{2a}$ .

والذى سميته تعادل ١/٢٠٠ من سمية  $\text{AFB}_1$ . ولما كانت المعاملة بالأحماض القوية تؤثر على جودة الغذاء، كما أن  $\text{AFB}_{2a}$  مازال ساماً، فإن إستخدام هذه الطريقة فى هدم الأفلاتوكسينات غير مشجعة.

## II- إزالة التوكسين من الغذاء أو العليقة

### أ- إستخلاص التوكسين بالمذيبات العضوية

ومن أمثلة هذه المذيبات الإيثانول Ethanol - الأسيتون Acetone - الأيزوبروبانول Isopropanol - الهكسان Hexane وقد تستخدم هذه المذيبات في إستخلاص التوكسين من علائق الحيوانات، إذ أمكن إزالة آثار الأفلاتوكسينات من كسب البذور الزيتية بهذه الطريقة دون تكون مواد ثانوية سامة، أو نقص في محتوى الكسب من البروتين أو جودته. ولكن يصعب إستخدام هذه الطريقة على نطاق واسع نظراً لأنها مكلفة، وقد تعطى طعماً غير مقبول في العليقة، هذا بجانب المشاكل الصحية الناجمة عن كيفية التخلص من المواد السامة المستخلصة.

### ب- إدمصاص التوكسين

وذلك بإدمصاص التوكسين على أسطح مواد لها القدرة على الإرتباط بالأفلاتوكسينات ومن هذه المواد: الفحم النشط Activated carbon، طمي البنتونيت Bentonite clay، سليكات ألومينات الصوديوم والكالسيوم المائيه Hydrated sodium calcium aluminasilicate (HSCAS).

وقد أمكن إزالة ٦٥ - ٨٠٪ من AFM من اللبن بإمراره على مادة طمي البنتونيت ويتوقف نسبة التوكسين المفصول بهذه الطريقة على حجم جزيئات مادة الإدمصاص (الحجم الأصغر أفضل) وسابق تسخين مادة الإدمصاص (التسخين ينشط مادة الإدمصاص).

ولكن يعاب على هذه الطريقة أن إستخدامها محدود، مع صعوبة التخلص من المواد السامة المستخلصة.

## طرق تحليل الأفلاتوكسينات: وتشمل طرقاً حيوية وأخرى كيميائية

### أولاً: الطرق الحيوية:

وهي تعتمد على السمية، ولكنها غير مميزة لنوع التوكسين ومنها:

١- إستخدام بط صغير حديث الفقس (أقل جرعة ٠,٤ µg / يوم لمدة خمسة أيام).

٢- إستخدام جنين البيض وهي أكثر حساسية ( $LD_{50}$  لكل بيضة ٠,٠٢  $\mu\text{g}$ )

٣- إستخدام بكتريا *B. brevis* أو *B. megaterium*.

### ثانياً: الطرق الكيماوية:

وهي تعتمد على فصل التوكسين وتقديره وصفيًا وكميًا وتتخلص في الخطوات التالية:

١- إعداد العينة.

٢- إستخلاص التوكسين: وذلك بإستخدام بعض النظم من المذيبات على pH حمضى أو متعادل، ثم يفصل المذيب المحتوى على التوكسين بالطرد المركزي ومن مذيبات الإستخلاص (2 : 8) Methanol: water - (15 : 85) Acetone: water ويتوقف حجم المذيب المستخدم على وزن العينة.

٣- تنقية التوكسين: وذلك لإزالة ما يعلق بالمستخلص من دهن وصبغات ومواد متداخلة. حيث يمكن إزالة الدهن وذلك بتوزيعه بين الهكسان Hexane ومذيب الأستخلاص. ويمكن إزالة الصبغات والمواد المتداخلة الأخرى والأقل ذوباناً في الماء بمحلول التنظيف Cleaning solution ومن أمثله Zinc sulfate + Phosphotungestic acid (١٥٠ جم من كل منهما في لتر ماء) ويضاف محلول التنظيف بحجم مماثل تقريباً لحجم المستخلص المتحصل عليه بالطرد المركزي ويقوم محلول التنظيف بترسيب المواد المتداخلة والتي يمكن فصلها أيضاً بالطرد المركزي.

٤- فصل التوكسين: وفيها يفصل التوكسين المتحصل عليه بعد تنقيته. من محلوله بإستخدام الكلوروفورم أو البنزين أو كلوريد الميثيلين وللحصول على توكسين أكثر نقاوة يدمص التوكسين على Florisil . Silica gel - cellulose alumina.

٥- التحليل الوصفي والكمي للتوكسين: يوجد لذلك عدة طرق.

أ- الغربلة Screening: وفيها يدمص التوكسين من مستخلص الكلوروفورم أو البنزين على Florisil معبأ في عمود صغير ورؤية العمود تحت uv حيث يشاهد حزمه متوهجة زرقاء.

ب- الطرق الإفتراضية أو الإحتمالية Presumptive methods وذلك بإستخدام:

: *Thin layer chromatography (TLC) – i*

وهي طريقة جيدة للتعرف (وصفي) على التوكسين إذ يمكن رؤية توهج التوكسين حتى تركيز ٠,٥ ng كما يمكن إستخدامها للتقدير الكمي بقياس كثافة توهج البقع ومقارنتها ببقع قياسية على نفس اللوح. وفي طريقة TLC توضع بقعة ذات حجم معين من المستخلص المراد معرفة تركيز التوكسين فيه على اللوح كما توضع بقع قياسية من التوكسين على نفس اللوح ثم يوضع اللوح وعليه البقع في مذيب Diethyl ether في إناء بعمق اسم وتوضع في الظلام لحين وصول المذيب إلى إرتفاع ١٨ سم وتخرج الألواح في الظلام وتجفف في درجة حرارة الغرفة والهدف من ذلك هو إزالة بعض البقع الوميضية والمواد الدهنية التي تتداخل مع الأفلاتوكسين، بينما تتحرك بقع الأفلاتوكسين مسافة قصيرة جداً ويمكن إعتبار قيمة  $R_f$  للأفلاتوكسين في هذا المذيب = صفر. بعد تجفيف الألواح، في الظلام في درجة حرارة الغرفة توضع الألواح في المذيب الأصلي اللازم لفصل (تحرك) التوكسين ويتكون هذا المذيب من كلوروفورم: ميثانول ٩٩ : ١ ثم تقارن بقع التوكسين في العينة بالبقع القياسية على اللوح.

ii – HpLC: يمكن به الكشف عن التوكسينات من ٢ : ١٠ ng حتى ٥٠ ng لكل توكسين High performance LC.

iii – Uv spectrometer: يمكن به الكشف عن التوكسينات لأكثر من 4 µg.

iv – GLC: يصعب إستخدامه لقلّة تطاير الأفلاتوكسين وإرتفاع وزنه الجزيئي.

ج- الطرق التأكيدية: Confirmatory methods وتشمل:

i – مقارنة  $R_f$  توكسين العينة ببقع قياسية على TLC.

ii – إختبار السمية بجنين البيض.

iii – إستخدام Mass spectrometry: وهي طريقة تخصصيه وتأكيديه إلا أنها مكلفة.

iv – إستخدام محاليل لإظهار اللون على TLC: وفي هذه الطريقة يضاف للبقعة spot على TLC مادة TFA تراى فلورو حمض الخليك Tri floro acetic.

بمعدل ٢ ميكرو لتر ( $\mu\text{l}$ ) للبقعة وتترك البقعة لتتفاعل مع TFA لمدة ٥ د، ثم يمرر هواء جار باستخدام مجفف لمدة ١٠ د ثم يجرى الفصل الكروماتوجرافي في مذيب مكون من كلوروفورم: أسيتون (٨٥ : ١٥)، وبعدها تخرج الألواح وتفحص تحت uv ثم ترش بمحلول ٢٥%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  حيث يتغير لون بقع الأفلاتوكسين  $\text{AFB}_1$  من اللون الأزرق، وبقع  $\text{AFG}_1$  من اللون الأزرق المخضر إلى اللون الأصفر بفحصها تحت uv وفي نفس الوقت يمكن التأكد من  $R_f$ .

obeikandi.com

## الفصل التاسع

# التلوث بالفيروسات Virological contamination

### مقدمه

الفيروسات كائنات صغيرة تمر من المرشحات البكتيرية وهي جزيئات Particles ذات تركيب كيمائى بسيط تحتوى DNA أو RNA (ونادراً ما تحتوى النوعين من البروتين) كما تحتوى على بعض الليبيدات. ولا تحتوى الفيروسات جهاز تمثيلى Metabolic apparatus، ولذا فهي تحصل على الطاقة اللازمه لتكاثرها من خلايا العائل إذ أنها كائنات متطفلة إجبارياً، تعيش وتتكاثر داخل خلايا العائل الحى (بكتريا - نبات - حيوانات - إنسان) وليس لها القدرة على النمو والتكاثر فى الغذاء. ومعظم الأمراض الناتجة عن الأصابة بالفيروسات يصعب معالجتها بالأدوية العادية. ولا تتبع الفيروسات فى نظم التقسيم الحديثة عالم النبات أو الحيوان وتوضع فى مملكة مستقلة تسمى مملكة الفيروسات Kingdom Virotae.

وكثير من أنواع الفيروسات ممرضة للإنسان وتسبب أمراضاً عديدة مثل الجدري small pox والحصبة measles وإلتهاب الدماغ encephalitis، إلهاب الكبد epidemic hepatitis والحمى النزيفيه haemorrhagic fever وشلل الأطفال poliomyelitis ومرض القدم والفم Foot and mouth disease والأمراض التى تسببها الفيروسات تعادل ¼ الأمراض المعدية التى تصيب الإنسان.

ونظراً لصغر حجم الفيروسات وصعوبة زراعتها على البيئات فمن الصعب وصف الفيروس تماماً، ولكن أمكن بالميكروسكوب الإلكتروني تقدير أبعاد وحجم الفيروس وبعض خواصه المورفولوجيه.

## تقسيم الفيروسات

وتوجد عدة طرق لتقسيم الفيروسات منها الخواص المورفولوجية، تركيبها الكيماوي، وأنواع الأمراض التي تسببها للإنسان Pathogenic criteria والأعضاء أو الأجهزة التي تهاجمها.

### أ- الخواص المورفولوجية Morphological properties

كائنات صغيرة الحجم ليس لها جدار خلوي، يتراوح قطرها ٢٥ - ٢٥٠ nm في أصغر أبعادها، والفيروسات التي تنتقل عن طريق الغذاء تكون كروية الشكل تقريباً ويتراوح قطرها ٢٥ - ٧٥ nm ويمكن تقسيمها تبعاً لشكلها إلى عدة مجموعات:

١- الشكل الحلزوني Spherical form: ويتراوح حجمها ما بين ١٨ : ١٥٠ nm ومنها Viruses of , Viruses of influenza, Virus - like bodies of human tumours Paratitus فيروس الغدة النكفية.

٢- الشكل العصوي Rode shaped form: أبعادها ٣٠٠ × ١٥ nm ومنها آفة البطاطس potato blight ومرض موزيك الدخان Tobacco mosaic disease.

٣- الشكل المكعبي Cuboidal form: حجمها من ٢١٠ - ٣٠٥ nm ومنها جدري الكناري canary pox ولقاح جدري البقر vaccinia virus.

٤- شكل الحيوان المنوي Spermatozoid form: يتراوح قطرها ما بين ١٠ - ٢٢٥ nm ومنها فيروسات النباتات الدنيئة Lower plants.

ويمكن تقدير حجم الفيروسات عن طريق:

١- الترشيح خلال الأغشية الغروية Colloid membranes.

٢- الطرد المركزي عالي السرعة (Centrifugation (in high speed centrifuge).

٣- الميكروسكوب الإلكتروني Electronic microscope.

ب- التركيب الكيماوي Chemical structure (المكونات الأساسية لجزئ الفيروس)

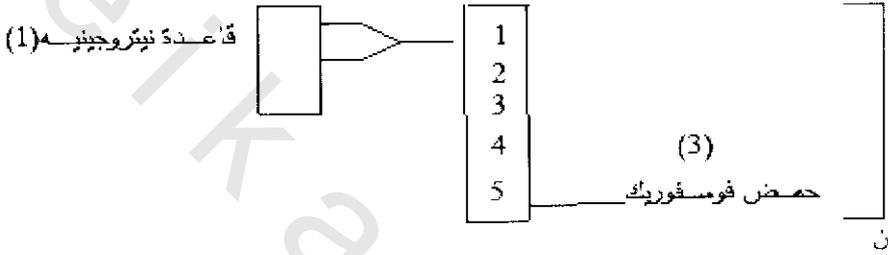
أولاً: الحمض النووي: Nucleic acid

يتكون الفيروس أساساً من الحمض النووي (Deoxy ribonucleic acid (DNA أو الحمض النووي (Rebonucleic acid (RNA، ونادراً ما يحتوي الفيروس على النوعين

معاً، ويعرف الحمض النووي بأسم المورث Genome وهو كل المادة الوراثية ويتكون الحمض النووي من إتحاد عدد كبير من النيكلوتيدات.

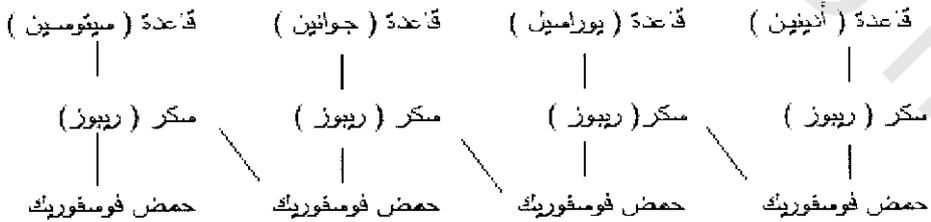
وكل نيكلوتيدة تتكون من جزئ سكر خماسى ريبوز فى حالة (RNA) Rebonucleic acid أو دى أوكسى ريبوز فى حالة (DNA) Deoxy ribonucleic acid (والأخير ينقصه ذرة اكسجين). ويرتبط السكر بجزئ حمض فوسفوريك من ناحية وبقاعدة نيتروجينية من ناحية أخرى.

( 2 ) مكر خماسى



nucleoside ← ( 2 ) + ( 1 ) نيكلومييد  
 nucleotide ← ( 3 ) + ( 2 ) + ( 1 ) نيكلوتيد  
 nucleic acid ← ( عدة نيكلوتيدات ) الحمض النووى  
 RNA أو DNA ن

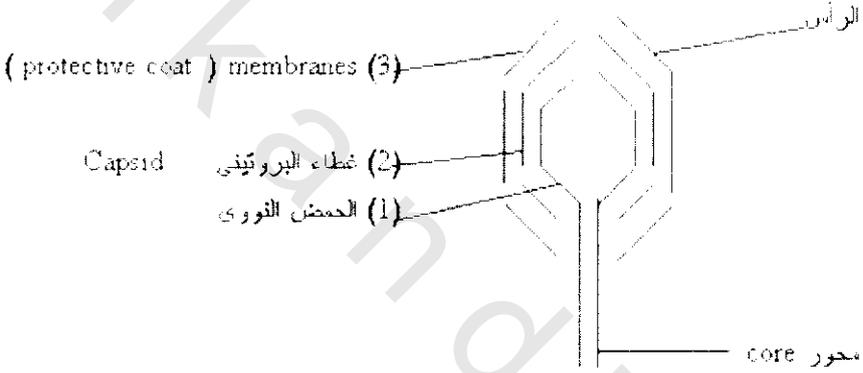
والقاعدة النيتروجينية الموجودة بالأحماض النووية منها ما ينتمى لمجموعة Purine البيورين ومن أهمها الأدينين Adenine والجوانين Guanine، ومنها ما ينتمى إلى مجموعة البيرييميدين Pyrimidine ومن أهمها السيتوسين Cytosine والثيمين Thymine واليوراسيل Uracil ويمثل التخطيط التالى التركيب البنائى لحمض نووى RNA مكون من أربعة قواعد نيتروجينية



ويدخل فى تركيب جزئ RNA أربعة قواعد هى الأدينين، اليوراسيل، الجوانين، السيتوسين

ويدخل فى تركيب جزئ DNA نفس القواعد الأربعة السابقة فقط يحل الثيمين Thymene بدلاً من اليوراسيل Uracil ويعتبر الحمض النووى RNA أو DNA هو الجزء المعدى من الفيروس، والمسئول عن إنتاج فيروسات جديدة لاختلاف عن الفيروس الأسمى.

ثانياً: الغطاء البروتينى (٢) Protein coat أو Protein shell وهو المكون الثانى بعد الحمض النووى، وهو يغلف الحمض النووى الفيروسى ويسمى Capsid، ويطلق عليه مع ما يلاصقه من الحمض النووى إصطلاح nucleocapsid.



شكل يبين تركيب الفيروس

ويتكون المحور والغطاء البروتينى عادة من بروتينات بسيطة Protamine or histone يدخل فى تركيبها حوالى ٢٠ حمض أمينى ترتبط مع بعضها فى تتابعات مختلفة لتكون البروتينات الفيروسيه المختلفه، ويبدو أن بعض هذه الأحماض الأمينية توجد فى بروتين جميع الفيروسات، بينما يوجد بعضها فى بعض الفيروسات فقط. وترتبط هذه الأحماض مع بعضها بروابط ببتيديه مكونه عديدات الببتيد Polypeptides.

وليس للغطاء البروتينى دور فى عملية الإصابة أو التضاعف الخاص بالفيروس، إذ أن دور الغطاء البروتينى هو حماية الحمض النووى RNA أو DNA من تأثير التحلل الأنزيمى ribonuclease الخاص بالعائل، كما يحميه من عديد من العوامل الخارجيه.

ملاحظات:

١- بعض الفيروسات قد لاتحتوى غطاء بروتينياً أى يكون الحمض النووى عارياً naked ويطلق على هذه الفيروسات العاريه إسم فيرويدات Viroids وهى عوامل ممرضة تتكون من جزئ صغير من حمض نووى فقط.

٢- بعض الفيروسات قد تحتوى أغشيه (٣) Membranes (Protective coat) بالإضافة إلى وجود الحمض النووى والغطاء البروتينى. وتتكون هذه الأغشيه من دهون بروتينية Lipoproteins وكربوهيدرات.

٣- لاينشط الفيروس إلا داخل الخلية، ويسمى فيروساً حياً أو فيريون Verion وعندما يتكاثر يكون خلفه Progency أى فيريونات Verions. أما خارج الخلية فيظل الفيروس خاملاً أيضاً (أى من حيث التمثيل) Metabolically inert ويسمى دقيقة فيروسيه Viru particle.

٤- البروتين النووى Nucleoprotein: هوذلك الجزء من الفيروس الذى يضم الحمض النووى الفيروسى مع بعض بروتينات الفيروس الداخلية المرتبطة به، والذى يوجد فى محور Core الدقيقة الفيروسيه ويمثل التخطيط التالى نواتج البروتين النووى.

• البروتين النووى



جزء بروتينى (Protamine or histone) Proteinic part

+ جزء غير بروتينى Non proteinic part

وهو ما يمثل الحمض النووى Nucleic acid

• الحمض النووى Nucleic acid ← نيكلو تيدات Nucleotides

• النيكلو تيدات Nucleotides ← نيكلوسيد Nucleoside + حمض فوسفوريك

• النيكلوسيد Nucleoside ← قاعدة نيتروجينية + سكر خماسى (ريبوز أو دى أوكسى ريبوز)

### أهم العائلات الفيروسيه التى تصيب الإنسان وخواصها

يتكون الفيروس أساساً من الحمض النووى DNA أو الحمض النووى RNA وتحتوى الفيروسات البكتيرية غالباً الحمض النووى DNA، كما تحتوى الفيروسات النباتية غالباً الحمض النووى RNA، أما الفيروسات التى تصيب الحيوانات والإنسان فبعضها يحتوى الحمض النووى DNA وبعضها يحتوى الحمض النووى RNA.

ويبين الجدول (٣١) أهم الفيروسات التى تصيب الإنسان والمحتوية DNA كما

يبين الجدول (٣٢) أهم الفيروسات التى تصيب الإنسان والمحتوية RNA.

جدول (٣١) أهم الفيروسات التى تصيب الإنسان والمحتوية DNA وبعض خواصها

| العائلة        | الخواص                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Parvoviridae   | كلمة parvo تعنى صغير، قطرها - ٢٠ nm وهى ثابتة تجاه الحرارة ولها عدد قليل من العوائل إلا أن منها ما يصاب الإنسان مثل Human parvovirus B19 ومنها ما يصاب بعض الثدييات والطيور Parvovirus of mammals & birds                                                                                                                                                               |
| Papovayiridae  | قطرها - ٥٥ nm تتكاثر داخل نواة خلايا العائل، بعضها يكون نتوءات صغيرة مصحوبه بسرطان عنق الرحم أو سرطان الجلد مثل فيروس Papillomavirus                                                                                                                                                                                                                                    |
| Herpes viridae | كلمة herpes تعنى زحف creeping، قطرها حوالى ١٥٠ nm تتكاثر داخل نواة العائل. العديد من أنواعها ممرض للإنسان فمنها ما يسبب إصابة مزمنة Chronic infection وتفرز فى اللعاب والإفرازات التناسلية Genital secretion، وقد توجد بصفة مستمرة أو متقطعة دون ظهور أعراض مرضية، وقد تستمر هذه الإفرازات لعدة سنوات بعد الإصابة. وبعض أفراد العائلة قد تلعب دوراً فى الإصابة بالسرطان |
| Poxviridae     | تعتبر أكبر وأكثر الفيروسات التى تصيب الفقاريات. لها شكل القالب brick n shaped أبعادها ٢٥٠ × ٢٠٠ × ٢٠٠ nm. وهى خلاف معظم الفيروسات DNA إذ أنها تتكاثر فى سيتوبلازم خلايا العائل. ومعظم اجناس هذه العائلة تسبب الجدرى للحيوانات والإنسان. ومن أمثلة ذلك بعض أنواع جنس Parapox virus والتى تسبب الجدرى الكاذب للإنسان Pseudo cow pox والذى يسمى بثرات الحلاب Milker's node |

| العائلة        | الخواص                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hepadnaviridae | <p>جزيئات كرويه قطرها - ٤٢ nm، وأفراد هذه العائلة عالية التخصص، وتتكاثر في خلايا الكبد Hepatocytes وتسبب إتهاب الكبد hepatitis المزمن، وتسبب تليف الكبد cirrhosis وحالة سرطانية أوليه لخلايا الكبد Primary hepato cellular carcinoma</p> <p>ومن أكثر الأنواع التابعة لهذه العائلة أهمية للإنسان هو فيروس B الكبدى Human hepatitis B Virus</p> |

جدول (٣٢) أهم الفيروسات التى تصيب الإنسان والمحتويه RNA وبعض خواصها

| العائلة        | الخواص                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Picornaviridae | <p>قطرها ٢٥ - ٣٠ nm وتشمل هذه العائلة أهم أنواع الفيروسات المرضيه للإنسان والحيوان، ومنها عدة أجناس مثل:</p> <p>١- Enterovirus: ومعظم أنواع هذا الجنس تسبب حمى معويه كما تصيب الجزء العلوى من الجهاز التنفسى والقناة الهضمية، كما تسبب الطفح الجلدى rashes والكثير من الإلتهابات مثل إتهاب القلب Carditis وإلتهاب الملتحمة Conjunctivitis وإلتهاب الحدقه Myositis كما أن فيروس Polioviruses المسبب لشلل الأطفال يتبع هذا الجنس. وتتميز فيروسات هذا الجنس بمقاومتها للحموضة (pH ٣ أو أقل)، كما تقاوم الكحول (٧٠٪) والإثير (٢٠٪) والأمونيوم الرباعي (١٪) والمنظفات المختلفة وهى ثابتة عند درجات حرارة أقل من الصفر المئوى لعدة سنوات، وعند درجات حرارة التبريد (الثلاجة) لعدة أسابيع، ودرجة حرارة الغرفة لعدة أيام. ولكن يقضى عليها سريعاً عند حرارة (٥٠ م°)، والفورمالهيد (٠,٣٪) ومطول (٠,١ أساس) حمض الهيدروكلوريك، محلول ٠,٣ - ٠,٥ جزء / مليون كلورين كما يقضى عليها بالأشعة فوق البنفسجية uv وبالتجفيف. إلا أن وجود كلوريد الماغنسيوم يزيد من ثبات ومقاومة هذه الفيروسات.</p> <p>٢- Hepatovirus: ويتبعه فيروس A الكبدى Human hepatitis A virus</p> <p>٣- Rhinovirus: وأفراد هذا الجنس من أكثر الأنواع المسببه لأمراض البرد.</p> <p>٤- Aphthovirus: ويتبعه فيروس الحمى القلاعية.</p> <p>Foot &amp; mouth disease Virus (FMDV)</p> |

| العائلة         | الخواص                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Caliciviridae   | قطرها ٣٥ - ٤٠ nm ومنها جنس Calcivirus والذي يتبعه<br>١- فيروس E الكبد في الإنسان hepatitis E virus وينتقل عن طريق الفم<br>٢- عامل نوروك Norwalk agent وله أهميه في الإصابه بأمراض الجهاز الهضمي.                                                                                                                                                            |
| Astroviridae    | كرويه الشكل لها شكل يشبه النجمه، توجد في براز الإنسان والحيوانات التي تعاني من إلتهاب الأمعاء Enteritis                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Togaviridae     | فيروسات صغيرة كرويه ٦٠ - ٧٠ nm تتكاثر في السيتوبلازم ومن أجناسه<br>١- Alphavirus: يتبعه عدة أنواع ينقلها البعوض إلى الإنسان وقد يسبب له السحاه الدماغى Encephalitis وإلتهاب المفاصل Arthritis<br>٢- Rubivirus: ممرض هام للإنسان إذ يحدث تشوهات خلقية في الأجنه عندما يصاب به النساء الحوامل                                                                 |
| Flaviviridae    | قطرها ٤٠ - ٥٠ nm ومنه:<br>١- Flavivirus: يصيب أساساً المفصليات ( البعوض - القراد ) ومنها أنواع تسبب الحمى الصفراء وحمى Dengue للإنسان<br>٢- Hepatitis C virus: وينتقل للإنسان عن طريق الدم وكذا العلاقة الجنسية.                                                                                                                                            |
| Coronaviridae   | عبارة عن فيروسات متعددة الأشكال pleomorphic ٧٥ - ١٦٠ nm بعض الأنواع تسبب نزلات البرد للإنسان (والبعوض أمكن رؤيته في براز الإنسان)                                                                                                                                                                                                                           |
| Paramyxoviridae | له أشكال متعددة قطره ١٥٠ - ٣٠٠ nm ومنه عدة أجناس<br>١- Paramyxovirus: أنواعه تسبب أمراض الجهاز التنفسي<br>٢- pneumovirus: أنواعه تسبب أمراض الجهاز التنفسي للأطفال<br>٣- Morbillivirus: أنواعه تسبب الحصبه Measles المصحوبه بالطفح<br>٤- Rubulavirus: أنواعه تسبب أمراض الغدة النكفية فمنه فيروس (النكاف) Mumps وهو الوحيد التابع لهذا الجنس الممرض للإنسان |
| Rhabdoviridis   | له شكل الرصاصه Bullet ñ shaped ١٨٠ × ٧٥ nm ومن أنواعه فيروس الكلب rabies ñ like virus والذي يسبب مرض للإنسان بعد عضه حيوان                                                                                                                                                                                                                                  |
| Filoviridae     | خيطية الشكل ٧٩٠ - ٩٧٠ nm طولاً، ٨٠ nm عرضاً وبعض أنواعها تسبب حمى النزيف hemorrhagic fever في الإنسان في أفريقيا                                                                                                                                                                                                                                            |

| الخواص                                                                                                                                             | العائلة                 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| فيروسات كرويه ٨٠ - ١٢٠ nm وتعرف بفيروسات الأفلونزا ومنها A, B, C                                                                                   | <b>Orthomyxoviridae</b> |
| سمى كذلك لأن أفراده تحتوى جزيئات تشبه الرمل (arcna = sand) ومن انواعها مايسبب حمى النزيف Hemorrhagic fever تشبه ما تسببه فيروسات عائلة Filoviridae | <b>Arenaviridae</b>     |
| يتكاثر فى سيتوبلازم خلايا العائل ويصيب الحيوانات غير المستأنسه وبعضه ينتقل عن طريق البعوض                                                          | <b>Bunyaviridae</b>     |
| وأفراده تصيب الجهاز التنفسي والمعوى. ومنها جنس rotavirus وهو يشمل فيروسات لها أهميه فى حدوث الأسهال فى الإنسان وبعض الحيوانات الأليفة              | <b>Reoviridae</b>       |
| قطرها ٨٠ - ١٠٠ nm ومن الأنواع التابعة للعائلة Human T cell lymphotropic viruses HTLV- BLV viruses والذى يسبب Leukemia (إبيضاض الدم) فى الإنسان     | <b>Retroviridae</b>     |

وبجانب الأنواع التابعة للعائلات السابقة والممرضة للإنسان توجد أنواع أخرى لا تنتمى لتلك العائلات من أمثلتها:

١- Hepatitis D Virus: وهو ينتمى إلى جنس Deltavirus وهو يسبب مرضاً خطراً يتمثل فى التهاب الكبد المزمن و/ أو تليف الكبد Cirrhosis.

٢- البريونات Prions: وهى مجموعة من العوامل المعدية، وتختلف فى خواصها عن الفيروسات والفيرويدات Viroids فهى ليست أحماضاً نووية ولكنها جزيئات كبيرة من البروتين تتشابه مع الأحماض النووية فى أنها تتكاثر.

وقد أطلق العالم بروينر Prusiner عليها كلمة Prion وهى تعنى العامل المعدى البروتيني proteinaceous infectious agent ويظن أن البريون Prion بروتين غير طبيعى خال من الحمض النووى، ويوجد مرتبطاً بأسطح الخلايا، ويتداخل مع المادة الوراثية DNA للعائل لينتج العديد من نفس البريون والذى تتراكم مسببة المرض.

ويوجد من هذه العوامل الممرضة سبعة أمراض تصيب الحيوان والإنسان من أمثلتها مرض المخ الإسفنجى فى الأبقار Bovine spongy form encephalopathy والمسمى جنون البقر، ومرض كروتزفيلدت - جاكوب Creutzfeldt ñ Jacob فى

الإنسان. وربما تكون هذه البريونات تسبب مرض عته الكبار والمعروف بالزهايمر Alzheimer's disease.

وتتميز البريونات بأنها ذات تأثيرات مرضيه على الجهاز العصبي، وفترة حضانه طويلة تتراوح بين شهرين وعقود (قبل ظهور المرض) وبأنها أمراض مزمنه مداها أسابيع إلى سنين وقد تؤدي للموت.

والبريونات حساسة للإنزيمات المحلله للبروتين، وليست حساسة للإنزيمات المحلله للحمض النووي، كما أنها أكثر مقاومه من الفيروسات للإشعاع وغيرها من المعاملات التي تثبط الفيروس كحرارة الطبخ.

### الفيروسات والأمراض الفيروسيه الملوثة للبن الخام وبعض المنتجات اللبنيه

توجد مجموعة من الفيروسات المعويه Enteroviruses تتكاثر في القناة المعويه للإنسان والحيوان من الممكن أن تلوث اللبن ومنتجاته.

ويبين الجدول (٣٣) أهم عائلات وأجناس وأنواع الفيروسات الملوثة للبن، والأمراض الفيروسيه المصاحبه لها

جدول (٣٣) أهم الفيروسات الملوثة للبن، والأمراض الناتجه عنها

| العائلة          | الجنس       | النوع                                           | المرض                   |
|------------------|-------------|-------------------------------------------------|-------------------------|
| 1- Picornavida   | Enterovirus | Polioviruses                                    | شلل الأطفال             |
|                  |             | Coxsackia Viruses                               | عدة أمراض               |
|                  | Hepatovirus | Human hepatitis A Virus (HHAV)                  | إلتهاب الكبد الفيروسي A |
|                  | Aphthovirus | Foot n mouth disease Virus (FMDV)               | الحمى القلاعية          |
| 2- Caliciviridae | Calicivirus | مجموعة الفيروسات الكرويه الصغيرة وأهمها Norwalk | مرض في الشتاء           |
| Flaviviridae     | Flavivirus  | Tick n borne encephalitis Virus                 | الإلتهاب السحائي        |

وغالباً لا تتواجد هذه الفيروسات في اللبن أو منتجاته، ووجودها يكون ناتجاً عن التلوث بإفرازات وفضلات الحيوان أو الإنسان الحاملة لهذه الفيروسات.

## أولاً: الأمراض الفيروسيه الناتجة عن التلوث بأفراد من عائلة Picornaviridae

### أ- أمراض ناتجة عن أنواع من جنس Enterovirus

مقدمه:

معظم الأنواع التابعة لهذا الجنس تسبب حمى معويه، وقد يصحب ذلك إلتهاب الدماغ السحائي Meningoen cephalitis وإلتهاب القلب Carditis، إلتهاب ملتحمة العين Conjunctivitis وإلتهاب الحدقة Myositis كما تسبب طفح جلدى Rashes وتصيب الجزء العلوى من الجهاز التنفسى والفناه الهضمية. وهى فيروسات مقاومه للحموضة تتحمل pH ٣ أو أقل كما تقاوم الكحول (٧٠٪) والأثير (٢٠٪) والكلوروفورم (٥٪) والأمونيوم الرباعية (١٪) والمنظفات المختلفة، كما أنها ثابتة عند درجات حرارة التبريد (الثلاجة) لعدة أسابيع، وثابته على درجة حرارة الغرفة لعدة أيام، ولكن يقضى عليها سريعاً على ٥٠ م°، كما تتلف نشاطها بالفورمالدهيد (٠,٣٪)، ١٠/١ أساس Hcl، ٠,٣ - ٠,٥ جزء فى المليون من الكلورين الحر إلا أن وجود كلوريد الماغنسيوم يزيد من ثبات ومقاومة هذه الفيروسات.

ويشمل هذا الجنس عدة أنواع من أهمها:

١- Cocksackieviruses

٢- Polioviruses وتسبب شلل الأطفال

### ١- أمراض ناتجة عن فيروسات Cocksackieviruses

تسبب هذه المجموعة من الفيروسات عدة أمراض منها

أمراض الرئة Borhalm disease أو Pleurodynia والإسهال الصيفى الوبائى الشديد فى الرضع Sever - epidemic summer diarrhoea in infants (أمراض الرئة)، (القوباء) Herpangina، (الطفح) Boston (epidemic) exanthenia، (إلتهاب عضلة القلب) Aseptic carditis وأمراض أخرى (الحناق) croup ومايشبهه الأنفلونزا Influenza like، ومايشبه الشلل Poliomyelitis like diseases.

الفيروسات المسببه للأمراض:

تضم هذه المجموعة حوالى ٣٠ نوعاً تقع تحت مجموعتين subgroups هى المجموعة A (٢٤ نوع) والمجموعه B (٦ أنواع).

### الخواص المورفولوجيه:

فيروسات صغيرة جداً ٢٣ - ٥٠ mu تمر من المرشحات البكتيرية.

الخواص المزرعية: تنمو على الأنسجة المزرعية من خلايا كلى الإنسان والقردة وكذلك Human embryo fibroblastes.

### المقاومه:

لهذه الأنواع مقاومه عالية نسبياً فتقاوم التجميد (-٧٠ م°) لفترة طويلة، وتعيش لأكثر من سنه فى الثلجه، وفى الجلسرين ومصل الخيل لمدة ٧٠ يوم على حرارة الغرفة. وتشبه فيروسات Poliomyelitis بأنها تقاوم تركيزات مختلفة من الـ pH ٤ - ٨ لمدة أيام، وتقتل على ٥٠ - ٥٥ م° / ٣٠ د وتقاوم المضادات الحيويه، كحول إيثايل (٧٠%) إلا أنها حساسه جداً لمحاليل حمض الهيدروكلوريك والفورمالدهيد.

### مصادر العدوى:

هذه الفيروسات واسعه الإنتشار وتنتقل بين المرضى عن طريق البراز وإفرازات الأنف والبلعوم، ومن المجارى ويلعب الذباب دوراً كبيراً فى إنتشار المرض خاصة فى الخريف والصيف، وتنتقل الفيروسات بين الجنس البشرى من أى عمر أو جنس ولكن يسود ذلك فى الأطفال.

الأعراض: تختلف الأعراض باختلاف حاله المرضيه الحادته ومن هذه الحالات

### المرضيه

| إلتهاب السحايا<br>Aseptic<br>serous<br>meningitis                                                                                                        | أمراض الرئه<br>(Borhalm<br>disease)<br>Pleurodynia                                                 | القوباء<br>Herpangina                                                                                             | الطفح<br>Boston<br>(epidemic)<br>exanthenia                           | إلتهاب عضلة<br>القلب<br>Aseptic<br>myocarditis                           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| توعك - صداع شديد عثيان ألام فى المعدة - يتبع ذلك تصلب وعضلات والمعدة عضلات الرقبه - وبعد يوم أو يومين يحدث فى وترتفع الحرارة ٤٠ م° وتستمر الحمى ٤-٢ أيام | صداع - ألم فى الزور عند البلع وألم فى الصدر - والأطراف وإرتفاع فى الحرارة ٣٨-٤٠ م° وتستمر ٤-٢ أيام | إرتفاع مفاجئ فى الحرارة ٤٠،٥ م° وتستمر ١-٤ أيام، فقد الشهيه، ٢٥٪ من الحالات تصاب بالقي والإام والطفح ومعظم المرضى | حمى تستمر ٣-٤ أيام - شعيرة ٣ سنوات ويتميز بارتفاع معدل الوفيات ٧٠-٨٠٪ | يحدث بين حديثى الولادة حتى سن ٣ سنوات ويتميز بارتفاع معدل الوفيات ٧٠-٨٠٪ |

| إلتهاب عضلة القلب<br>Aseptic myocarditis | الطفح<br>Boston<br>(epidemic)<br>exanthenia | القوباء<br>Herpangina                                                                                                                                                                         | أمراض الرئنه<br>(Borhalm<br>disease)<br>Pleurodynia                                                                                                          | إلتهاب السحايا<br>Aseptic<br>serous<br>meningitis                                      |
|------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
|                                          |                                             | يشكون من صعوبة البلع والام الزور. وتغطي الزور بثرات فى الجزء الأمامى من الحلق ويكون لونها أبيض رمادى محاطة بدوائر حمراء وفى بعض الحالات يزداد شدة اللون الأحمر للدوائر وتستطيل البثرات وتتقيح | وتحدث نكسه كل ٢-٣ أيام. وتزداد الألام عند الحركة وتستمر ٢-١٥ يوم وفى ٥٠٪ من الحالات يتركز الألم فى البطن والأطراف وفى بعض الحالات يحدث تصلب فى الرقبه والظهر | وتستمر الحمى لمدة ٥ أيام (٣-١٠ أيام) ثم نكسه للحمى كل ٤-٥ أيام ويستمر المرض ١-٣ أسابيع |

**التشخيص المعملى:** الحصول على الفيروس من البراز وغسيل أنف وبلعوم المرضى واللوز، والسائل الشوكى وحقنه فى فئران رضع عمرها ٢ يوم وتتبع التغيرات الحادته فى عضلاتها (شلل الأطراف والعنق) وفى المخ ويحدث الموت فى بحر ٢٤ ساعة بعد التلقيح كما يجرى التشخيص بتفاعل التعادل neutralization reaction وإرتفاع رقم الأجسام المضادة فى الناقهين rising titre of antibodies in convalescents مقارنة بالمرضى فى المراحل الأولى من الإصابة.

**الوقايه:** عزل المرضى وإتخاذ الاحتياطات الصحيه.

## ٢- أمراض ناتجه عن Polioviruses

### مرض شلل الأطفال Poliomyelitis

**الفيروس المسبب للمرض Causative Virus:**

الفيروس المسبب للمرض يعرف بإسم فيروس شلل الأطفال الوبائى Epidemic poliomyelitis virus (Poliovirus) وهو من الفيروسات المعويه Enteroviruses التى تسبب حالات وبائيه من أمراض الإسهال الصيفى فى الأطفال ويسود حدوث المرض

فى الصيف والخريف (أغسطس - سبتمبر)، ولا تقتصر الإصابة على الأطفال فرغم أن ٨٠٪ من الإصابات تكون بين الأطفال من سن ٤ شهور: ٥ سنوات إلا أن ٢٠٪ من الأصابات تحدث بين الأطفال بعد سن الخامسة وكذا بين المراهقين وربما البالغين خاصة عند حدوث حالات وبائيه. كما يصيب الفيروس كل من الإنسان والحيوان.

#### الخواص المورفولوجيه:

يتراوح فى حجمه ما بين ٨ : ٢٧ mu فى الصورة البلوريه

#### الخواص المزرعيه:

يتكاثر الفيروس على المزارع النسيجيّه Tissue cultures من كلى القروود حيث يظهر على هذه الأنسجة فى صورة أجسام كرويّه حجمها بلون أزرق خفيف أو قرمزي عند صبغ الأنسجة بصبغة Romanowsky - giemsa.

كما يتكاثر على بيئه تحتوى على Toyrode's solution، مصل القروود وقطع صغيرة من مخ جنين صغار الدجاج عمر ١٠-١٢ يوم.

#### المقاومه:

يمكن للفيروس أن يعيش فى الماء المعقم لمدة تزيد عن ١٠٠ يوم على حرارة الغرفه، وفى اللبن ٩٠ يوم، وفى البراز لأكثر من ٦ أشهر وفى الصرف الصحى لعدة أشهر، ويقاوم محلول فينول ٠,٥ - ١٪ ويبقى حياً لمدة أسابيع على pH ٣,٨ - ٨,٥ إلا أنه حساس لمحاليل من Calcium chlorate lime والكلورامين، الفورمالين وفوق أكسيد الأيدروجين وبرمنجانات البوتاسيوم، كما يقضى عليه بالغليان بل يقضى عليه على ٥٠ - ٥٥ م إلا أن اللبن قد يوفر حماية للميكروب فيتحمل ٦٠ م<sup>٠</sup> لذا يقضى عليه بالبسترة ويمكن للفيروس أن ينمو فى الجبن ويستمر لفترة طويلة ٥-٦ أسابيع فى جبن كوتاج، ٧ شهور فى جبن تشدر.

#### مصادر العدوى:

مرض معدى يصيب الخلايا العصبيه فى النخاع الشوكى والمخيخ، وتحدث العدوى عن طريق الجهاز التنفسى بإستنشاق الرذاذ الملوث ويدور الفيروس فى الدم، كما ينتقل عن طريق الأغذيه الملوثه مثل اللبن حيث ينقل الذباب الفيروس لهذه

الأغذية. ويعتبر اللبن الخام وكذا الملوّث بعد البسترة من أهم طرق تفشى المرض، كما ينتقل الفيروس من المريض وحامله عن طريق الأيدي القذرة، أدوات المريض، وملابسه الداخلية، ومفارش الأسرة، ويعتبر الذباب من أهم وسائل إنتقال الفيروس إذ يوجد في براز المريض والناقلين لمدة ٢ - ٧ أسابيع وأحياناً ٤ شهور.

الحضانة: ٢ يوم: ٥ أسابيع.

### الأعراض:

يوجد عادة ٣ مراحل عند الإصابة المرحلة الأولى وتسمى Abortive (غير مكتشفة) والثانية تسمى Nonparalytic (غير شلل) والأخيرة هي الشلل Paralytic.

إذ تبدأ الأعراض بإضطراب فى الجهاز الهضمى ويبدأ ظهور الفيروس فى إفرازات الحلق بعد ٣٦ ساعة من العدوى وبعد ١-٣ يوم يبدأ المرض فى صورة إرتفاع مفاجئ فى الحرارة وأعراض برد خفيفه، آلام فى العضلات وصعوبه فى التنفس والبلع ومضاعفات فى الجهاز الهضمى (إنتفاخ المعده) والجهاز الدورى (إرتفاع ضغط الدم).

وبتقدم المرض فإن الفيروس يغزو المخ والحبل الشوكى Spinal cord ويحدث هدم للنظام المركزى العصبى مما ينشأ عنه شلل فى الأطراف والرقبه والجهاز البولى والحركة وضمور العضلات وشلل فى الجهاز التنفسى مما يؤدى إلى الوفاة.

### العلاج:

لا يوجد علاج محدد، ومنه الحقن المبكر بجاما جلوبيولين، نقل الدم، تعاطى فيتامين C، B<sub>12</sub> والأحماض الأمينية (ليوسين، حمض الجلوتاميك)، التجبير (عمل جبارة) من أول يوم لظهور الشلل لمنع التقلصات والتغيرات Deformaton (تشوهات). ثم إتباع التمرينات الرياضيه. كما يمكن إستخدام تنفس صناعى عندما يحدث إضطراب فى التنفس.

### الوقاية والمقاومه:

١- إتخاذ الإشتراطات الصحيه بحزم لتجنب التلوث (بسترة اللبن - غلى الماء أو معاملته بالكلور).

٢- عدم السماح للأشخاص المصابين أو حاملي الفيروس بالتعامل مع الأغذية أو إختلاطهم بالأصحاء (عزل المرضى).

٣- التحصين Immunization بالحقن بجاما جلوبيولين أو مصل Immune serum أشخاص أصحاء وذلك للأطفال الذين يقل عمرهم عن ٧ سنوات.

٤- التطعيم Vaccination: المناسب للأطفال ويجرى التطعيم بلقاح يحضر من فيروس غير نشط معاملة بالفورمالين أو من سلالات فيروس ضعيف Attenuated ويعطى فى العضل حقناً (فى الثلث العلوى من الذراع الأيسر) فى ٣ جرعات، كما يوجد لقاح يعرف بلقاح الحى Live vaccine ويحضر فى محلول يحتوى على نوع معين من فيروس الشلل ويعطى هذا اللقاح عن طريق الفم فى ٣ جرعات.

ب- أمراض ناتجة عن جنس Hepatovirus

### إلتهاب الكبد الوبائى Epidemic hepatitis Virus A

(اليرقانى Jaundice إلهاب المرارة)

مقدمه:

يعرف Infectious hepatitis تميزاً له عن Serum hepatitis والأخير يسببه نوع آخر من الفيروس هو Hepatitis B والذي يعرف بإلتهاب الكبد المصلى Serum hepatitis إذ يوجد فى دم المصابين والحاملين للمرض وينتقل عن طريق وخز الأنسجة عند عدم إتخاذ الحيطة لمنع العدوى أثناء نقل الدم وأثناء عمليات غسيل الكلى فى وحدات الغسيل ولم يثبت أنه ينتقل عن طريق اللبن وهو يتبع عائلة أخرى هى Hepadnaviridae.

ومرض إلهاب الكبد الوبائى HVA مرض معدى يصيب جميع الأعمار وهو شائع مثل شلل الأطفال يزيد إنتشاره فى الدول الناميه من آسيا وإفريقيا ووسط وجنوب أوروبا حيث الإزدحام وعدم كفاية النظافة وحيث ينتشر الفقر والحرمان.

الفيروس المسبب للمرض :causative virus

الفيروس المسبب للمرض يعرف بإسم فيروس إلهاب الكبد A (Hepatitis Virus A) وكان لوقت قريب يصنف على أنه Enterovirus type 72 وحالياً فإنه يصنف كجنس

مستقل (Hepatovirus) بناء على وجود بعض الإختلافات بينه وبين الأنواع التابعة لجنس Enterovirus منها الثبات على ٦٠ م° وبعض الأختلاف فى دورة الحياه.

#### الخواص المورفولوجيه:

الفيروس دائرى الشكل حجمه ١٢ - ٢٧ mu له القدرة على المرور خلال المرشحات المختلفه.

#### الخواص المزريه:

ينمى على الأنسجه كما أمكن تنميته على بيئه متعادله

Unfiltrated serum of cow ٨٥% Iggles solution + ١٥% مصل جنين بقر

foetus

#### المقاومه:

شديد المقاومه يتحمل ٦٠ م° / ساعة لايقف نشاطه (يتحمل) تركيز منخفض من الكلورين، ويعيش لأكثر من عام فى الجلسرين كما يتحمل التجفيف تحت تفريغ مع التبريد.

#### مصادر العدوى:

عن طريق الفم نتيجة تناول الأغذيه الملوته مثل اللبن ومنتجاته والمياه الملوته والأيدى الملوته ببراز (بقايا) المرضى ويعتبر المحار Shell fish من أهم عوامل إنتشار العدوى نظراً لأن المياه التى تنمو بها عادة ما تكون ملوته بالصرف الصحى، وللمحار القدرة على جمع الفيروسات من الماء نتيجة خاصية Filter feeding activities (نشاطه الغذائى بالترشيح) كما أن المحار يحمى الفيرس أثناء التسخين كما أن المحار يؤكل غالباً فى صورة خام (دون طهى) وهناك أغذيه أخرى مثل السلطات والسندوتشات وكذلك الوجبات الجاهزه، وتحدث العدوى بأن يصل الفيروس مع الغذاء الملوث إلى القناه الهضميه، وهناك يتكاثر ويتضاعف فى الخلايا الطلائيه للقناه الهضميه، ثم يفرز فى الدم وينتقل معه إلى الكبد حيث يتكاثر فى خلايا الكبد البرنشيميه (اللحائيه Parenchymal) محدثاً إتهاباً حاداً بالكبد مصحوباً بتحلل الخلايا، وإتلاف خاصية الكبد المضاده للتسمم Disintoxication function، ويفرز الفيروس فى

العصارة الصفراويه ويخرج مع البراز بمعدل ١٠ خلية / جم كما يصل إلى اللعاب ولكن بعدد أقل.

مدة الحضانه: ١٥ - ٥٠ يوم (٢٨ يوم فى المتوسط)

#### الأعراض:

تشمل حمى بسيطة Subfebrile وتعب وإجهاد وفقدان الشهيه وقئ وغثيان، وقد يحدث إسهال مع آلام فى الربع الأيمن العلوى من البطن مع قئ يعقب ذلك يرقان (صفراء)، وبول داكن اللون (لون الشاى) Bilirubinuria، ثم براز شاحب اللون pale، وإصفرار الأغشيه المخاطيه والجلد والعين، ويفرز الفيروس فى البراز لمدة أسبوعين تقريباً قبل ظهور اليرقان وتغير لون البول، ويصل أقصى عدد له قبل ظهور الأعراض مباشرة. وقد يحدث مضاعفات للمرض منها هبوط فى وظائف الكبد مع درجات متفاوتة من الضمور الحاد إلى التليف المزمن وهبوط فى عمل الكلى والطحال وهبوط فى وظائف المخ مع حدوث غيبوبه ونوبه مرضيه تؤدى إلى وفاة ٧٠ - ٩٠٪ من هذه الحالات المرضيه ومما يزيد من شدة المرض تعاطى الكحولات والتمرينات الرياضيه العنيفه.

#### التشخيص المعملى:

يحدث زيادة فى نشاط إنزيمات المصل (ALT, AST) Alanine and Aspartate amino Transferase وهذا مايميز إلتهاب الكبد الفيروسي عن غير الفيروسي ولكن لايفرق بين أنواع إلتهابات الكبد الفيروسيه الأخرى A, B, C, D, E.

#### الوقايه والمقاومه:

١- إهتمام الدوله بمعالجة الصرف والمياه وتجنب تلوث المياه والأغذيه بالبراز خاصة الأغذيه غير المطهيه، اللبن الخام ومنتجاته ويلاحظ أن المعامله الحراريه لدرجة ٩٠ م° / ٩٠ث ضروريه للقضاء على الفيروس.

٢- منع تلوث المجارى المائيه بمياه الصرف الصحى وعدم صيد الأسماك والأصداف من المناطق التى تصرف فيها المجارى.

- ٣- التحصين Passive immunization, Immunization ضد الفيروس عند الحروب أو نزوح الناس إلى مناطق موبوءة وذلك بالحقن بالحقن (Immunoglobulin (γ Globulin) قبل الوصول لهذه الأماكن وتكرار ذلك كل ٤ - ٦ شهور مع تحصين الأشخاص (بمعدل ٠,٠٢ مل / كجم) في المؤسسات التي بها إختلاط مثل الكنائس والمدارس.
- ٤- التطعيم Vaccination: يحضر من فيرس معاملة بالفورمالين (غير نشط) ونحصل على الفيروس من Human fibroblasts أو كلى القروء. ويعطى حقناً مرة كل شهر مع إعطاء أو عدم إعطاء مواد تزيد من المناعة Booster بعد ٦ شهور وقد أعطت هذه المعاملة مناعة ٩٩٪ تقريباً.

### ج- أمراض ناتجة عن جنس Aphthovirus

### فيروس الحمى القلاعية Foot and mouth disease virus

مقدمه:

بالرغم من أن هذا الفيروس مازال يصيب الحيوانات في دول الشرق وتركيا وإسرائيل وإفريقيا وآسيا وأمريكا الجنوبيه إلا أنه لا توجد تقارير تؤكد إصابة للإنسان في هذه الدول ويعلل ذلك إما أن الإنسان لم يعد يصاب بهذا المرض أو أن الحالات المرضيه في الإنسان لم تسجل أو أن الأبقار المصابه غالباً مايقف إفراز اللبن منها.

الخواص المورفولوجيه: فيروسات حجمها ٨ - ٣٢ μm.

الخواص المزريه:

أمكن تتميتها على بيئات جنين الكتاكت المزدودة بالنسيج الطلاني للسان الأبقار Chick embryo cultures + bovine tongue epithelium tissue وكذا في نسيج مخ فئران عمرها ٧ - ١٠ أيام.

المقاومه:

يقاوم الفيروس وكذا أنواع الفيروسات المسببه للحمى القلاعية عمليات البستره التقليديه ٧٢ م° / ١٥ ث أو ٦٢ م° / ٣٠د، كما يقاوم عمليات التصنيع لمنتجات مختلفه فقد وجد في المنتجات اللبنيه (جبين - زبد - شرش - سمن - لبن مبخر - كازين)

المصنعة من لبن ناتج من حيوان مصاب، ويمكن للفيروس أن يعيش فى إفرازات الحيوان لمدة شهرين تقريباً وبشعر الحيوان لمدة ٢ أسبوع، وفى لحم الحيوانات المصابة ٢ - ٣ يوم، ويثبط الفيروس بالمطهرات مثل الفورمالين والقلويات ويثبط كذلك بتعريض السائل المحتوى عليه لأشعة جاما ولكن تختلف الجرعة من الأشعة تبعاً للنوع السيروولوجى فله ٣ أنواع C, A, O.

#### مصادر العدوى:

يصيب الفيروس بكثرة الماشيه، الماعز، الخنزير ويسبب تقرحات بالفم وعلى الضرع وحول وبين الحوافر ويصل الفيروس إلى اللبن نتيجة التلوث بإفرازات هذه القروح من الضرع المصاب مباشرة، ويفرز الحيوان المصاب كميات كبيرة من هذه الفيروسات فى اللبن خلال ١ - ٦ أيام قبل ظهور الأعراض المرضيه المميزه للمرض، وينتقل المرض إلى الإنسان عن طريق تناول لبن ملوث أو عن طريق ملامسة البثرات (تقرحات) بالحيوان وكذا عن طريق التعامل مع علف الحيوان والأشياء المستخدمه فى رعايته، ويدخل الفيروس جسم الإنسان عن طريق القناه الهضميه Alimentary tract وكذا الجلد والأغشيه المخاطيه ويسود المرض فى الأطفال الذين يشربون لبن خام (غير مغلى) ناتج من حيوان مصاب.

مدة الحضانه: ٢ - ٦ أيام

#### أعراض المرض:

حمى - ضعف - غثيان - صداع وآلام روماتيزميه، صعوبه فى البلع وجفاف الفم ويتبع ذلك بثرات بالشفاه وداخل الفم ولكن بدرجه أشد على اليدين والقدمين، وعادة يتم شفاء التهاب الجلد خلال ٥ - ١٠ أيام.

#### التشخيص:

بحقن خنزير غانا بالفيروس تحت الجلد فى بطن القدم Foot pad يلاحظ إرتفاع الحرارة فى خلال ١- ٤ أيام بعد الحقن وظهور بثرات فى بطن القدم المصاب وفى الغشاء المخاطى المبطن للفم كما قد يجرى تفاعل Complement fixation reaction.

## العلاج:

رغم حساسية الإنسان للإصابة بالفيروس وشدة العدوى إلا أن المرض ليس خطيراً ويمكن العلاج عن طريق إعطاء غذاء قليل ومعالجة القروح بمحلول نترات فضة ٤٪ مع شطف الفم بمحلول برمنجانات البوتاسيوم. ورغم وجود طعم Vaccine يحقن به الحيوان في جرعة واحدة في المزرعة المهده بالمرض، فلم تبذل جهود كافية لتطعيم الإنسان ضد هذا المرض.

## الوقاية:

العناية الصحية بالماشية وإعدام اللبن الناتج من الحيوانات المصابه وحماية الوجه واليدين للعمال القائمين برعاية الحيوان.

## ثانياً: الأمراض الناتجة عن التلوث ببعض أفراد عائلة Flaviridae

### مقدمه:

تتكون هذه العائلة من ٦٨ فيروس منها ٢٩ تسبب أمراضاً للإنسان ومن الأجناس التابعة لهذه العائلة جنس Flavivirus وهذا الجنس يتبعه عدة أنواع من الفيروسات تعرف بفيروسات إلتهاب المخ عن طريق القراد Tick - borne encephalitis viruses (TBE) ويعتبر مرض الإلتهاب السحائي من أهم الأمراض الناتجة عن العائله.

## مرض إلتهاب المخ (الإلتهاب السحائي) Encephalitis

### الميكروب:

ينشأ هذا المرض عن عدة أنواع من الفيروسات تعرف فى مجموعها بإسم فيروسات إلتهاب المخ عن طريق القراد وتشمل هذه المجموعه:

- 1- Central European encephalitis virus (CEEV)
- 2- Russian spring summer - encephalitis virus (RSSEV)
- 3- Powassan virus
- 4- Louping ñ ill virus

الخواص المورفولوجية: حجمه ٢٠ - ٤٠ mu ويوجد ضمن نواة خلايا الدماغ.  
الخواص المزرعية: تنمو في أغشية أجنة الكتاكيت (مزارع نسيجية) وفي جسم الفأر الأبيض وذلك بتلقيحه.

#### المقاومة:

تتلف هذه الفيروسات بانزيمات الليبيز ومذيبات الدهون والفورمالين والفينول والألدهيدات و  $H_2O_2$  واليود والكلورين وأشعة uv، وأشعة جاما وبالمعاملة الحرارية  $60^{\circ}C / ٥٢$ ،  $٧٢^{\circ}C / ١٠$  ث. ولكن يمكن أن يبقى حياً على  $4^{\circ}C$  لمدة إسبوعين في اللبن ولمدة شهرين في الزبد والقشدة ولمدة ٧٠ يوم في ٥٠٪ جلسرين ولمدة ٣ أيام في الأثير والأسيتون.

#### مصادر العدوى:

اللبن الخام ومنتجاته وينتقل الفيروس من الحيوان إلى الإنسان عن طريق عض القراد. ومن لبن البقر والماعز الملوث بالفيروس حيث يهاجم الفيروس الدم ومنه إلى الجهاز العصبي المركزي مسبباً مايسمى بمرض السحاء الدماغى المصحوب بالشلل .meningoencephalo poliomyelitis.

#### مدة الحضانه وأعراض المرض

تختلف باختلاف نوع الفيروس كما في الجدول (٣٤)

جدول (٣٤) مدة الحضانه لبعض الأمراض الفيروسيه

| Powassan virus                                                                                                             | Louping ñ ill virus                                                                                                      | Russian spring summer - encephalitis virus (RSSEV) | Central European encephalitis virus (CEEV)                                                                                     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| تظهر الأعراض بعد فترة حضانه ٨ أيام والأعراض تتمثل في الحمى - الصداع - التهاب الحلق - الأرق - فقد الذاكرة - تشنجات - التهاب | يشبه CEEV إلا أنه أقل وطأه. فترة الحضانه ٤ - ٧ أيام تتمثل أعراض المرحلة الأولى في أعراض تشبه أعراض الأنفلونزا تستمر لمدة | أشد وطأة من CEEV                                   | تتكون العدوى في مرحلتين تتمثل أعراض المرحلة الأولى في الحمى - الأم في العضلات والمفاصل وتستمر حوالى أسبوع ثم حالة إسترخاء لمدة |

| Powassan virus                                           | Louping ñ ill virus                                                                                                                             | Russian spring summer - encephalitis virus (RSSEV) | Central European encephalitis virus (CEEV)                                                                                                                                                                         |
|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| المخ مع قى وبلادة وشلل نصفى بدرجات مختلفة وقد يكون دائما | ١٢-٢ يوم ثم فترة إسترخاء ٥-٦ أيام ثم حمى ثم المرحلة الثانية بالتهاب سحائى وتشنجات فى المخ لمدة ٤-١٠ أيام ثم الشفاء بعد فترة قصيرة ولا تحدث وفاة |                                                    | أسبوع: ٨ اسابيع ثم تبدأ المرحلة الثانية فجأة بأعراض التهاب سحائى أو التهاب شديد فى المخ مع أورام وزغالله وإزدواج الرؤيه والشلل وتحدث وفاة ١ - ٥٪ من الأصابات كما تحدث أعراض عصبية فى ٢٠٪ من الحالات التى تم شفاؤها |

### الوقايه:

التشخيص المبكر - وضع المرضى فى المستشفى - حماية الأشخاص من عض القراد - إبادة القراد - بسترة اللبن - معاملة الحظائر بالمواد التى تقضى على القراد - التلقيح باللقاح vaccine المحضر من زراعة الفيروس فى جنين الكتاكتيت أو المزارع النسيجية والمثبط بالمعامله بالفورمالين والحفظ بالتجفيد freeze-dried تحت التفرغ.

### التشخيص:

تؤدى الأصابه إلى زيادة الجليكوجين ويظهر الجليكوجين فى صورة بللورات غير مميزة الشكل. وفى عمليات الأكدسة التى تتم فى الخلايا تحدث زيادة فى نشاط إنزيم Succino - dhydrogenase ويقل نشاط إنزيم Cytochrome - oxidase كما يجرى التشخيص بعزل الفيروس من الدم وإجراء إختبار التعادل على الفئران Neutralization test وتفاعل Complement fixation reaction.

## ثالثاً: الأمراض الناتجة عن التلوث ببعض أفراد عائلة Caliciveridae

مرض قئ الشتاء والناتج عن مجموعة الفيروسات الكرويه الصغيره

### Small round structured viruses (SRSV) winter vomiting disease

مقدمه:

تتبع هذه المجموعه من الفيروسات جنس Calivirus وهى تسبب الإلتهابات المعويه فى الأطفال والبالغين وتضم هذه المجموعه ستة أنواع سيروولوجيه جميعها متماثلة التركيب إلا انها تختلف فى خواصها الأنتيجينيه ويطلق على هذه الأنواع أسماء ترتبط بالأماكن التى حدث فيها المرض لأول مرة ومن هذه الأنواع:

مقاطعة مونتوجومرى Montgomery country virus، وفيروس جبل الثلج Snow mountain Virus, Narwalk Touton virus (وهى بلدة فى ولايه Ohio) ويعتبر Narwalk من أهم هذه الفيروسات.

الخواص المورفولوجيه: قطرها ٣٠ - ٣٥ nm ولها تركيب سطحى مميز.

الخواص المزرعيه: لايتكاثر فى أى خليه مزرعيه Cell culture.

المقاومه:

يحتفظ بنشاطه المعدى بعد التعرض لـ pH ٢,٧ لمدة ٣ ساعات عند درجة حرارة الغرفه، كما يحتفظ بنشاطه حتى بعد المعامله بـ ٢٠٪ إثير لمدة ٢٤ ساعه على ٤ م°، وكذا بالتحضين على ٦٠ م°/٣٠ د، وكذلك المعامله بالكلورين ١مجم / لتر ولكن يتلف بالمعامله بـ ١٠ مجم / لتر كلورين وهو مقاوم للحموضه.

مصادر العدوى:

التلوث المباشر بالبراز. الأصداف عند إستخدامها فى صورة نيئة او غير تامه الطهى وتنتشر العدوى بدرجة سريعه حيث أن الجرعة المعديه لهذه الفيروسات منخفضه (١٠ - ١٠٠ خليه / جم) كما أنها مقاومه للحموضه. ويلعب اللبن ومنتجاته دوراً ثانوياً فى نقل العدوى.

مدة الحضانه: ٢٤ - ٧٢ ساعه

الأعراض: حمى خفيفة - إتهاب القناه الهضميه وإسهال وقئ - صداع وزغلله وإتهاب الحلق

التشخيص:

نظراً لعدم تكاثره فى الخلايا المزرعيه Cell culture أو أى نظام معملى فالتشخيص يعتمد على النواحي السيروولوجيه.

العلاج: عادة ما تكون العدوى معتدله نسبياً ولا تحتاج الدخول إلى المستشفى حيث يتم الشفاء ذاتياً فى بحر ٢٤ - ٤٨ ساعة ومعدل الإصابة ١٥ - ٩٣٪.

الوقايه: الطهى الجيد للأغذيه الملوثة - الإهتمام بالنظافة الشخصيه - العناية بالصرف الصحى ومعالجة مياه الشرب.

obeikandi.com

## الفصل العاشر

### مرض جنون البقر

## **Bovine spongiform encephalopathy (BSE)**

بجانب أنواع الفيروسات الممرضة للإنسان يوجد عامل يسبب مرض (الدماغ الإسفنجي Spongiform encephalopathy) أو مرض جنون البقر.

ففي عام ١٩٨٥ لوحظ حدوث حالات فردية لمرض عصبي بين الأبقار في بعض المزارع البريطانية، وارتفع عدد الحالات المصابة من ٣٠٠ رأس شهرياً إلى ٨٠٠ رأس شهرياً، وتؤكد المرض في حوالي (١٥٠) ألف رأس بقرى وأعدمت جميع الحالات المرضية.

وفي نوفمبر ١٩٨٦ تم تشخيص هذا المرض معملياً، ووجد أنه يؤدي إلى تغيرات باثولوجية في خلايا الدماغ (مثل التغيرات التي يسببها مرض سكرابي Scrapie العصبي الذي يصيب الأغنام والماعز، ومرض سكرابي هذا مرض منتشر في بريطانيا، وقد إنتقل إلى كثير من دول العالم في شمال أفريقيا وآسيا والهند وشمال وجنوب أمريكا نتيجة تصدير بريطانيا لأغنام مصابه بهذا المرض لتلك البلاد) وقد أطلق على هذا المرض الذي يصيب البقر إسم الإعتلال الدماغى الإسفنجى للأبقار BSE ويعرف بمرض جنون البقر.

وقد تم وصف مرض جنون البقر لأول مرة ١٩٨٧ من الأعراض الأكلينيكية والتغيرات المرضية في الجهاز العصبي الذي يصبح على شكل إسفنجى مع وجود فراغات Vacuoles في الخلايا العصبية عند فحصها باثولوجياً.

ورغم أن هذا المرض يصيب الحيوان وقد ينتقل إلى الإنسان نتيجة تناول لحوم الحيوانات المصابة بهذا المرض، إلا أنه لم يثبت إنتقاله عن طريق اللبن أو المنتجات اللبنية المصنعة من ألبان هذه الحيوانات المصابة. ونحن نشير إليه هنا لما دار حوله من ندوات في الفترة الأخيرة.

### سبب المرض:

جزئ بروتيني صغير غالباً لا يحتوي على حمض نووي، وهو شديد مقاومه لوسائل التعقيم الطبي المعروفه، إذ لا يتأثر بمحلول فورمالين ١٠% ولا بالتعقيم الحرارى، ولا بالأشعة فوق البنفسجية، ولا بالإشعاع المتأين المستخدم فى التعقيم الطبي.

يتعذر تشخيصه بالإختبارات السيرولوجيه أو إختبارات الحساسيه. وقد أطلق على هذا الجزء البروتيني إسم بريون Prion. وهو ينتج من تحول بروتينات موجودة بصورة طبيعيه فى خلايا الحيوان تعرف بإسم PrPc (prion protein cells) إلى بروتينات غير طبيعيه معديه تعرف بإسم PrPsc (prion protein scrapic) يسمى تجاوزاً بإسم Prion.

### ميكانيكة حدوث المرض :

بروتين خلوى طبيعي يسمى PrPc يوجد مرتبطاً بأسطح الخلايا العصبية

التغذيه على مخلفات حيواتيه

بروتين غير طبيعي مرضى (بروتين معدل من PrPc) يسمى PrPsc ويسمى تجاوزاً prion وهو عامل الأصابه

يتداخل عامل الأصابه prion مع الماده الوراثيه للعائل DNA لينتج العديد من نفس بروتين prion الذى يتراكم فى الجهاز العصبى المركزى خاصة المخ والمخيخ والانخاع المستطيل مسبباً آثاراً تدميره degenerative (وليس التهابيه inflamotary) للخلايا العصبية وتكوين فراغات سيتوبلازميه vacuoles وبذلك لصبح البريون يمثل نوعاً جديداً من مسببات الامراض المعديه يختلف عن البكتوريا والفيروسات والجراثيم الاخرى

## كيفية التفريق بين PrPc الطبيعي الموجود في جميع خلايا الجسم والمخ وبين PrPsc المعدى لمرض جنون البقر

- ١- نأخذ قطعة من المخ المراد فحصه ولا يوضع عليه فورمالين.
- ٢- نغسلها بمنظف لتنظيفها من الدهون.
- ٣- نضع في جهاز الطرد المركزي.
- ٤- نضع على الناتج إنزيم بروتينيز K فإذا لم يظهر أى رواسب يكون PrPc وإذا تكون راسب كان PrPsc.

### طرق الإصابة بالمرض في الحيوانات

عن طريق تناول مركزات أعلاف مصنوعة من لحوم وعظام ودم أغنام قد تكون مصابه بمرض سكرابي، وإستمرار التغذية مدداً طويلة، وبذلك تواجه الأبقار محاولة تغيير نظامها الفسيولوجي وتحويلها من أكلة عشب إلى أكلة لحوم. فقد وجد أن عملية تدوير المخلفات الناتجة من ذبح الحيوانات أو الناتجة من الحيوانات النافقة قبل أو بعد الولادة وإستخدامها في تصنيع أعلاف مركزة على هيئة مسحوق لحم أو لحم وعظم هي السبب الرئيسي في إصابة الأبقار بمرض جنون البقر BSE.

فترة الحضانة: طويلة تتراوح ما بين ٣ - ٥ سنوات

### أعراض المرض في البقر:

يفقد الحيوان السيطرة على الحركة، ويتخبط في الحوائط، ويهاجم أى شئ أمامه، ويكون عند الحيوان حساسية للصوت واللمس، ويهز الحيوان رأسه في حركة بندوليه مستمرة، ولايستطيع حفظ توازنه، مع إرتجافات إهتزازيه قد تؤدي إلى الشلل، ويرقد الحيوان مع وجود مضاعفات دوريه وتنفسيه وتوتر عصبى، مع إخراج لسانه بحركة متكررة، ويصبح الحيوان هزياً لعدم إستطاعته تناول الغذاء. ونسبة النفوق في الحيوانات المصابة والتي تظهر عليها أعراض المرض تصل إلى ١٠٠٪ في فترة تتراوح من شهرين إلى عشرة أشهر.

### التشخيص:

- ١- عن طريق الفحص الباثولوجى: وذلك بفحص مخ الحيوانات المصابه Histopathologically لرؤية الفراغات Vacuoles فى الخلايا العصبية والشكل الأسفنجى Sponge form وهى علامات مميزة لهذا المرض.
- ٢- عن طريق الفحص بالميكروسكوب الألكترونى: حيث تشاهد ألياف Fibrils فى الخلايا العصبية وغير موجودة فى الحالة الطبيعىه.

العلاج: لا يوجد

### علاقة مرض جنون البقر بالبشر

أعلن وزير الصحة الإنجليزى ستيفن دوريل فى ٢٠ مارس ١٩٩٦ أن هناك علاقة بين جنون الأبقار ونظيره فى الإنسان يطلق عليه Creutz Feldt Jacob D (CJD) مما يحتمل معه إنتقال الأصابة للإنسان إذا تناول لحوم الأبقار المصابه بالمرض.

وقد سجلت حالات هذا المرض (مرض كروتزفيلدت جاكوب) قبل ١٩٨٥ وكانت هذه الحالات متصله بتغير PrPc وظهرت هذه الحالات نتيجة إستخدام علاج دوائى إستخرج من إنسان مصاب بالمرض مثل دواء جوناودوتروفين آدمى H.G.H وهرمون الغده النخاميه الأدميه H.P.G.H من آدميين مصابين.

وتم تسجيل حالات قليلة عن طريق إجراء عمليات جراحية كجراحة العيون وجراحة الأعصاب، وإستعمال مواد عضويه من جنث مصابه بالمرض. ويحدث هذا المرض فى العقد الخامس أو السادس أو السابع من العمر بين المسنين وبنسبة حالة واحدة سنوياً فى المليون، وقد يظهر المرض فى صورة حالات فرديه أو عائلية محددة.

### أعراض المرض فى الإنسان

من أعراض مرض كروتزفيلدت جاكوب الإختلال العقلى Dementia مصحوبه بحركة إهتزازيه لأرادية شديدة myoclonic jerking movement وعمى نتيجة إصابة القشرة المخيه، وفقدان الذاكرة وعدم القدرة على الكلام.

## طرق الوقاية من مرض جنون البقر بمصر

هذا المرض غير موجود حالياً بمصر ولكن للحماية نقترح:

- ١- حظر إستيراد الحيوانات الحيه واللحوم ومنتجاتها من الدول التي ظهر بها المرض فى أوروبا مثل بريطانيا وفرنسا وسويسرا وأيرلاندا وألمانيا والبرتغال.
- ٢- منع إستيراد المواد والأدوات التي تدخل فيها منتجات الأبقار من الدول السابق ذكرها (مثل خيوط الجراحة - أنواع الجيلي - الأيس كريم - المستحضرات الطبيه والقاحات والمزارع النسيجييه - مستحضرات التجميل) حيث أن بعض هذه الصناعات تعتمد على منتجات حيوانيه كالجيلاتين والكولاجين والأنسجة العصبية.
- ٣- تكثيف الرقابه على منافذ دخول الحيوانات الحيه المستورده وعدم دخولها إلا بعد فحصها من قبل الجهات المعنيه.
- ٤- الحرص الشديد فى إستخدام الأدوية الهرمونية الأدميه المستورده مثل هرمون الجونادوتروفين وهرمون الغده النخاميه لإحتمال إستخراجها من آدميين مصابين بمرض كروتزفيلدت جاكوب، ويجب فحص هذه الأدوية بمعرفة وزارة الصحه للتأكد من خلوها من المرض وسلامتها.
- ٥- عدم إستخدام مراكز أعلاف من مسحوق اللحم والعظام والدم من البلاد الموبوءة ويفضل عدم إستخدامها بتاتاً.
- ٦- العودة إلى تغذية الحيوانات والدواجن والأسماك بالغذاء الطبيعى.
- ٧- عمل ندوات علميه للأطباء البشريين والبيطريين للتعرف بكل ما يدور حول وبائيات هذا المرض.
- ٨- عمل ندوات لمربى الأبقار المستورده، وأصحاب المزارع الخاصه والعاملين فيها لمراقبة حيواناتهم والإبلاغ الفورى عند ظهور أعراض مرضيه مشابهه لهذا المرض.

obeikandi.com

## الفصل الحادى عشر

### التلوث بالطفيليات

### Parasitic contamination

توجد بعض الطفيليات وحيدة الخلية Protozoa تلعب دوراً فى إصابة الإنسان بالأمراض عن طريق الأغذية الملوثة. والطفيليات وحيدة الخلية لا يمكن تكاثرها فى الأغذية، ولكن الطور المعدي للطفيل أو الحويصلة Cyst يبقى معدياً فى الأغذية مدة طويلة وبجرعة معدية قليلة جداً ومن هذه الأمراض.

#### ١- الإلتهاب المعدي المعوى الحاد Acute gastroenteritis

#### الطفيل المسبب : Cryptosporidium parvum

فترة الحضانه : ٣ - ٧ أيام

الأعراض:

فى الأفراد ذى المناعة تتمثل الأعراض فى الأسهال تختلف شدته من خفيف إلى قوى وتختلف مدته من أيام إلى أكثر من شهر. أما الأفراد الذين يعانون من نقص المناعة خاصة مرض الأيدز فيكون المرض مزمن ويهدد حياتهم وأعراضه تشبه أعراض الكوليرا حيث إسهال وقد سوائل الجسم بكميات كبيرة ٣ - ٦ لتر براز يومياً أو أكثر.

مصادر العدوى:

يعتبر اللبن غير المعامل حرارياً والملوث بالبراز أو الماء الملوث مسئولاً عن إنتشار المرض.

## ٢- الدوسنتاريا الأميبية Amoebic dysentery

### الطفيل المسبب: Entamoeba histolytica

والطور المعدي للطفيل يقاوم درجات الحرارة المنخفضة ويمكنه أن يعيش في الأغذية مرتفعة الرطوبة مثل الألبان المتخمرة ١٥ يوم على ٧° م، ولكنه يقتل بالجفاف على حرارة أعلى من ٥٥° م، ويموت في الأغذية المجمدة بعد ٢٤ ساعة على ١٠° م:- ١٥° م.

### مصادر العدوى:

عن طريق الفم حيث يفرز الطور المعدي مع البراز الذي يلوث الماء والخضروات والفاكهة واللبن ويغزو الغشاء المخاطي للأمعاء Intestinal amocbiasis كما يصيب أعضاء خارج الأمعاء Extraintestinal amocbiasis مثل الكبد والمخ ويسبب خراييج.

### الأعراض:

يتمثل في

- i - دوسنتاريا Dysentery تتميز بالبراز المخاطي المدمم والمغص المولم بالقولون.
- ii - الإسهال Diarrhoca براز ذو طبيعة دمويه. نادراً وجود حرارة أو أعراض جهازية.

## ٣- الإسهال الحاد أو المزمن في الأطفال

### Acute or chronic diarrhea in children

الطفيل المسبب: Giardia lamblia وهو يعيش في الأنتى عشر والأمعاء الدقيقة للإنسان، ويمر الطور المعدي مع البراز ويلوث الماء مما يساعد على إنتشار الطفيل.

### مصادر العدوى:

تحدث العدوى عن طريق الأفراد خاصة بين الأطفال عن طريق تناول أغذية ملوثة.

مدة الحضانة: ١ - ٣ أسابيع.

الأعراض: إسهال حاد أو مزمن، ويكون البراز مائياً مع ألم بالبطن وفقدان الشهية وانتفاخ البطن.

### الوقاية من الأمراض الطفيلية:

١- الحلاب والمتعامل مع اللبن ومنتجاته: الرعاية الصحية - توقيع الكشف الطبى الدورى - حمل شهادة صحيه تفيد خلوه من الأمراض - العناية بغسل الأيدى قبل الحلابه مباشرة - ارتداء ملابس نظيفة.

٢- الحيوان: الرقابه الصحيه على الحيوان - نظافة وإزالة الشعر الموجود على الضرع وغسله وتجفيفه وربط الذيل أثناء الحلابه - التخلص من الحيوانات المصابه بالذبح.

٣- البيئة: تطهير حظائر الحيوانات - التخلص من المواد الإخراجيه للحيوانات بطرق صحيحة - التخلص من القوارض والحشرات.

٤- اللبن: إستبعاد اللبن المصاب بإلتهاب الضرع أو غير الطبيعى - منع تلوث اللبن بالمواد الملوثة - تبريد بعد الحلابه (٧,٥ م°) منع تناول اللبن الخام ومنع تلوثه بعد البسترة.

### المناعة ضد الطفيليات

من المعروف أن الطفيل كائن حى يعيش على حساب كائن آخر يسمى العائل Host يستمد منه غذاءه ويسبب للعائل أضراراً بالغه. وتعتمد مقاومة العائل للطفيل على الجهاز المناعى للعائل والذى يقوم بإفراز الأجسام المضادة أو إلتهام الطور المعدى للطفيل، فعند دخول الطفيل جسم العائل فإن تركيب الطفيل الخارجى يحمل أجساماً غريبه Antigen تثير الجهاز المناعى للعائل فيفرز الجهاز المناعى أجساماً مضادة ضد الطفيل Antibodies، ولكن الطفيل قد يستطيع إتباع عدة وسائل دفاعيه لحماية نفسه من هذه الوسائل:

### ١- المراوغه: عن طريق

أ- تغير الطفيل لشكله الخارجى أو تركيبه الخارجى الذى يحمل الجسم الغريب antigen ويحدث لنفسه شكلاً أو تركيباً جديداً مما يسبب فشل الجهاز المناعى.

ب- إلتصاق الطفيل ببروتينات سائل الدم أى يتنكر فى شكل أحد مكونات الدم  
فيظن الجهاز المناعى أنه جزء من الدم فلا يقاومه.

٢- الإختفاء: حيث يختبئ الطفيل فى أماكن تفل فيها الخلايا المناعية كان يوجد داخل  
خلايا العائل نفسه ولا يوجد فى الدم إلا بصورة مؤقتة. وبذلك يختبئ من إفرازات  
الجهاز المناعى والتي يختصر عملها خارج خلايا الجسم (فى الدم) غالباً، كما أن  
خلية الجسم المصاب لاتحمل على تركيبها الخارجى المستضاد (الأنتجين) الخاص  
بالطفيل المختبئ بداخلها ولوحدث ذلك (إحتوت خلية الجسم المصاب على  
المستضاد على تركيبها الخارجى) فإن على جهاز المناعة قتل خلية الجسم ليتمكن  
من القضاء على الطفيل المختبئ.

٣- تدمير الجسم المضاد: حيث يفرز الطفيل أنواعاً من الإنزيمات القاطعة للبروتين  
(الجسم المضاد) فلا يستطيع أن يقوم الجسم المضاد بعمله.

٤- إحباط الجهاز المناعى: حيث يقوم الطفيل بإفراز مواد

أ- توقف نشاط البروتينات المكمله للجهاز المناعى والتي تقوم بدور فعال فى  
إعداد الأجسام المضادة وخلايا الدم البيضاء فى مقاومة الطفيل.  
ب- تدفع الجهاز المناعى للعائل أن يزيد من إفراز الخلايا التائية المثبطة للجهاز  
المناعى وبذلك يجعل الطفيل الجهاز المناعى يوقف نفسه بنفسه.

٥- تعديل وظيفة الخلايا البيضاء: حيث يقوم الطفيل بتحويل وظيفة الخلية المناعية  
من خلية مقاومه إلى خلية محايدة (متفرجه) لاتقدم ولاتؤخر حيث تقوم بتبديل  
وظيفة خلايا الدم البيضاء وتغير من توزيعها بل وفاعلية سمومها.

٦- إستتارة الجهاز المناعى لإفراز أجسام مضادة غير متخصصه على الإطلاق.

٧- مهاجمة الخلايا الإلتهاميه Macrophage والتكاثر بداخلها مكونة ما يعرف  
بالحوصلة الكاذبه وعند إنفجارها تتحرر الطفيليات لعدوى خلايا أخرى.

### الكشف عن طفيليات فى جسم الإنسان

يجرى ذلك بإختبار صبغ كرات الدم البيضاء بصبغة الإيوسين. والأساس فى ذلك  
أن عدداً قليلاً من الخلايا البيضاء فى الجسم السليم (لايزيد عن ٥% من مجموع الخلايا

الدمويه البيضاء) يحتوى سيتوبلازمها على حبيبات تصبغ بصبغة الإيوسين (وهى صبغة حمضية حمراء اللون)، وعند إصابة الإنسان بالطفيليات أو أمراض الحساسيه تزيد نسبة هذه الخلايا القابلة للصبغ عن ٥% من مجموع الخلايا الدمويه البيضاء.

وللكشف عن وجود طفيليات بجسم الإنسان تؤخذ عينة من دم الشخص ويضاف لها صبغة الإيوسين. وتفحص تحت الميكروسكوب ويقدر عدد الخلايا التى تأثرت بالصبغة وتلونت باللون الأحمر وتتسبب إلى العدد الكلى من الخلايا البيضاء فزيادتها عن ٥% من مجموع الخلايا البيضاء يعطى دلالة على إصابة الشخص ببعض الطفيليات شرط ألا يكون الإنسان مصاباً بأحد أمراض الحساسيه.

obeikandi.com

## الفصل الثانى عشر

### الفساد الميكروبي للبن ومنتجاته (عيوب اللبن الميكروبيه)

## Microbial spoilage of milk and its products

### مقدمة:

يتسبب عن النشاط الميكروبي باللبن ومنتجاته مجموعة من التغيرات الطبيعية والكيميائية والحسية، وذلك نتيجة تخمر مكون أو أكثر من مكونات اللبن. والتخمرات الحادثة قد تكون تخمرات طبيعية كتجبن اللبن بفعل بكتريا حمض اللاكتيك أو تخمرات غير طبيعية كتكون الغازات، اللزوجة، تحلل الدهن والبروتين وإعطاء خثرة حلوه، وقد يكون التخمر مختلطاً مثال ذلك إنتاج الحمض والغاز متلازمين بفعل بكتريا القولون.

ولما كان اللبن يحتوى العديد من أجناس وأنواع البكتريا والميكروبات فإن التغيرات الحادثة لا تقتصر على فعل نوع أو جنس بمفرده ولكنها نتيجة ترابط وتداخل بين هذه الميكروبات أى على مدى العلاقة بين ما يحتويه اللبن من ميكروبات.

### العلاقة أو الترابط بين الميكروبات باللبن

### Association action of microbes in milk

توجد مجموعة من العلاقات بين الميكروبات الموجودة باللبن من أهمها:

#### ١- علاقة التكافل Synergism

وفى هذه العلاقة يتعاون نوعان من الميكروبات لإحداث تغير معين ، هذا التغير لا يستطيع أى من النوعين أن يقوم به بمفرده ومثال ذلك:

أ- البادئ المختلط المستخدم في صناعة الزبد والذي يتكون من *Leuconostoc spp*, *S. lactis* فميكروب *S. lactis* مسئول عن تخمر اللاكتوز وإنتاج حموضة والثاني *Leuconostoc spp* مسئول عن تحول السترات إلى مكونات النكهه ولاتستطيع *Leuconostoc spp* تخمر السترات إلا بتوافر كمية من الحمض في البيئة ومن ذلك نرى أنه لايمكن لأى من الميكروبين عند تدميته بمفرده أن يكون مركبات النكهه في الزبد.

ب- عيب القشدة والمعروف بإسم Yeast cream والذي يحدث بفعل الخمائر مثل *Candida sphaerica, Candida pseudotropicalis* لا يحدث إلا بعد تجبن اللبن ببيكتريا *S. lactis* بعدها تنشط الخميرة لإنتاج الغاز وظهور عيب Yeast cream. ومن ذلك نرى أنه لايمكن لأى من الميكروبين أن يتسبب في إظهار هذا العيب بمفرده.

ج- تغير أو فساد لون اللبن Production of blue discoloration والذي يحدث ببيكتريا *Pseudomonas syncyanea* لا يحدث إلا في وسط حمضى بفعل *S. lactis* مثلاً أى لايمكن لأى من الميكروبين إفساد لون اللبن بمفرده.

## ٢- علاقة التعاون Symbiosis metabiosis

في هذه العلاقة يستفيد أحد الميكروبين من نمو (تمثيل) الآخر حيث تستخدم هذه النواتج كمادة غذائية للميكروب الآخر لإعطاء الناتج النهائى (أى Food chain) مثال ذلك:

أ- فى الجبن السويسرى تحول بكتريا حمض اللاكتيك اللاكتوز إلى حمض لاكتيك الذى يستخدم بدوره كطعام لبكتريا *Probionobacteria* لإنتاج حمض البروبيونيك (المسئول عن الطعم المميز لهذا الجبن).

ب- يمكن ملاحظة هذا التعاون كسلسله غذائية وذلك عند ترك عينة من اللبن الخام على حرارة الغرفة فنجد تخمر بكتريا حمض اللاكتيك السبقيه مثل *S. lactis* سكر اللاكتوز لتعطى حمض اللاكتيك يجبن اللبن، ويقف نشاط هذه البكتريا عندما تصل الحموضة ١٪ حيث تنشط بكتريا حمض اللاكتيك العصويه مثل *Lactobacillus casei* لتحول المتبقى من سكر اللاكتوز إلى

حمض لاكتيك حتى حموضة ٢٪. وتحت هذه الظروف تنمو الفطريات على السطح مثل *Geotrichum candidum* وتؤكسد حمض اللاكتيك إلى  $CO_2$ ,  $H_2O$  ونظراً لإنخفاض الحموضة تنمو البكتريا المتجرثمه Spore formers المحلله للبروتين مثل *Bacillus spp* وتهدم الكازين كما قد تنمو بالتالي بعض البكتريا المحلله للدهن. ولذا من المتوقع نظرياً أن تكون حصيلة هذا التحلل: الماء ومواد غير عضويه مثل  $CO_2$ ,  $H_2S$ ,  $NH_3$ .

### ٣- التضاد Antagonism : Antibiosis

حيث يؤدي نمو أحد الميكروبيين تثبيط نمو الميكروب الأخر وذلك نتيجة إما تغيير ظروف البيئة كتغير رقم الـ pH فإنخفاض pH البيئة يثبط نمو الميكروبات المحلله للبروتين Spore formers، وقد يكون التضاد نتيجة تكوين مادة سامه من أحد الميكروبات الأخرى مثل تكوين مادة النايسين بواسطة بعض سلالات بكتريا *S. lactis*، ومادة الريبوكوكسين بواسطة بكتريا *S. cremoris*.

كما قد يحدث عند محاولة تجديد البادئ في لبن معاد تركيبه Reconstituted من لبن مجفف ناتج من لبن عالي التلوث حيث لاينشط البادئ إذ أن التلوث الشديد للبن قبل تجفيفه قد يصحبه تكون مواد مثبطة لبكتريا البادئ لاتتأثر بالحرارة.

### ٤- المنفعة من جهة واحدة Commensalism

ومن أمثلة ذلك العلاقة بين البكتريا الهوائية والكترية اللاهوائية فعند وجودهما معاً في اللبن تنمو البكتريا الهوائية فتستهلك الأوكسجين مما يوفر الظروف لنمو البكتريا اللاهوائية وهنا إستفادة الأخيرة (اللاهوائية) دون أن تفيد الأولى (الهوائية) بشئ.

### أنواع الفساد الميكروبي اللبن ومنتجاته (العيوب الميكروبيه اللبن ومنتجاته)

## The various types of microbiological spoilage of milk and milk products

### أولاً: الفساد الميكروبي اللبن الخام

يتعرض اللبن الخام عند حلابته وبعدها إلى التلوث بالعديد من الميكروبات وذلك من مصادر مختلفة. ويتوقف مدى نشاط هذه الميكروبات باللبن على درجة الحرارة

التي يحفظ عليها هذا اللبن. فعند الحفظ على درجة حرارة الغرفة تنمو بكتريا حمض اللاكتيك *Lactic streptococci* والتي منها *S. lactis*, *S. cremoris* لتعطى تخمراً متجانساً أساسه حمض اللاكتيك وقليلاً من حمض الخليك وثانى أكسيد الكربون ومنتجات متطايرة، وفي نفس الوقت تنمو مجموعة أخرى من البكتريا التي تعطى تخمراً مختلطاً ومن أمثلة هذه البكتريا مجموعة *Escherichia*, *Enterobacter* مثل:

*Esherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*

وبكتريا أخرى مثل *S. liquefaciens*, *B. coagulans* وتعطى هذه الميكروبات نتيجة نشاطها بعض حمض اللاكتيك وكميه كبيرة من المواد الطيارة (غازات) مثل  $CO_2$ ,  $H_2$  وكذا الكحول وأحماض الخليك والفورميك وغيرها. ونتيجة هذا النشاط البكتيرى وإنتاج الحموضة يتكون خثرة وطعم حمضى تختلف طبيعة كل منها باختلاف المجموعة البكتيرية، فهي خثرة ناعمة ذات طعم حمضى نظيف فى حالة التخمير المتجانس، أما فى حالة التخمير غير المتجانس فالخثرة المتكونه خثرة غازيه ذات طعم غير مرغوب وعند حموضة (٨,٠ - ١٠٪) يقف نشاط معظم البكتريا *Lactic streptococci* لتنشط مجموعة *Lactobacilli* لتكسب اللبن حموضة أعلى مع حدوث تشرش واضح (٢ - ٣٪ حموضة) ويشجع المستوى المرتفع من الحموضة نمو الفطريات والخمائر على السطح ومن أمثلتها الفطريات من أجناس: *Odium*, *Penicillum*, *Aspergillus*, *Mucor*.

ومن الخمائر *Torula lactis condensis*, *T. cremoris*, *T. spherica* وتستهلك الفطريات والخمائر الحمض المتكون وتخضع نسبته نتيجة أكسدته. وبإنخفاض الحموضة يصبح اللبن متعادلاً أو قلوياً ملانماً لنشاط البكتريا المحلله للبروتين *Peptonizing organisms* مثل بعض الأنواع التابعة لأجناس *Clostridium*, *Bacillus* وذلك بالإشتراك مع الفطريات والخمائر مما يؤدي إلى إعطاء لبناً سائلاً رائقاً ذو رائحة كريهه (عفن) وطعم مر غير صالح للإستهلاك الأدمى.

ونتناول فيما يلى أهم انواع الفساد والعيوب الميكروبيه باللبن والتي منها:

- |                         |                  |                   |
|-------------------------|------------------|-------------------|
| ١- التجبن الحمضى        | ٢- إنتاج الغر    | ٣- اللزوجه        |
| ٤- التحلل البروتينى     | ٥- التحلل الدهنى | ٦- القشدة المكسرة |
| ٧- النكهات غير المرغوبه | ٨- تغيرات اللون  |                   |

### ١- التجبن الحمضى (إنتاج حمض اللاكتيك) Natural souring / curdling

تتراوح حموضة اللبن الطازج الطبيعية من ٠,١٤ - ٠,١٩ % مقدرة كحمض اللاكتيك ويظهر الطعم الحمضى اللبن عند حموضة ٠,٢٠ - ٠,٢٥ % ويتجبن اللبن عادة عند حموضة ٠,٥ - ٠,٦٥ %.

ويتجبن بالغلى Clot-on boiling عند حموضة ٠,٣٠ - ٠,٤٥ %.

### الميكروبات المسببه Causative organisms

#### ١- بكتريا حمض اللاكتيك Lactic acid bacteria

أ- مجموعة Lactic streptococci: وتشمل هذه المجموعة *S. lactis*, *S. cremoris* وهذه تنتج حمض اللاكتيك على درجة حرارة الغرفة وتنشط عند حموضة ١ %.

ب- مجموعة Lactobacilli: وتشمل *L. casei* وتنتج حمض اللاكتيك على حرارة الغرفة ومنها أيضاً *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* وتنتج حمض اللاكتيك على حرارة ٤٠ م° وتستمر بكتريا اللاكتوباسلاى فى إنتاج حمض اللاكتيك حتى ٢ % حيث يقف نشاطها.

ج- مجموعة Leuconostoc: وتضم *Leuco. citrovorum*, *Leuco. dextranicum* وهذه المجموعة مسؤولة عن إنتاج الطعم مع إنتاج حموضة قليلة.

#### ٢- Other streptococci

أ- *S. thermophilus*: تنتج حمض اللاكتيك على حوالى ٤٥ م° ويمكن لها مقاومة البسترة.

ب- *S. liquefaciens*: ينتج حمض اللاكتيك على حوالى ٣٧ م° وتجبن اللبن بسرعة والذى يعقبه تحلل البروتين ونتيجة تحلل البروتين بعد تجبنه فهذا يؤدي إلى إنكماش الخثرة وإنفصال الشرش.

#### ٣- Bacillus coagulans

جراثيم هوائيه منتجة لحمض اللاكتيك Lactic acid producing aerobic spore تختلف عن معظم بكتريا حمض اللاكتيك فهى تقاوم العمليات الحراريه المستخدمة فى الصناعات اللبنيه ويمكنها النكاث و إنتاج حمض اللاكتيك على حرارة ٣٧ - ٥٥ م°.

#### ٤ - الكوليفورم Coliforms:

وهذه تتضمن *Enterobacter aerogenes, E. coli* وهذه تنتج كل من الحمض والغاز على ٣٧ °م والخثرة المتكونه ضعيفة منكمشه.

ويلاحظ أن الخثرة المتكونه بفعل *S. thermophilus, Lactic streptococci, Lactobacilli* خثرة ناعمة ذات طعم حمضى نظيف (لذا تستخدم هذه الميكروبات فى صناعة الألبان المتخمرة).

أما بكتريا *B. coagulans, S. liquefaciens* والكوليفورم فتعطى خثرة (تجبناً) مصحوباً بطعوم غير مرغوبة نتيجة إطلاق مركبات طيارة من اللاكتوز وبروتينات اللبن. وعملياً وتحت الظروف الطبيعية فإن اللبن الخام يحتوى خليطاً من الميكروبات المنتجة لحمض اللاكتيك وعليه سوف يختلف نوع التجبن الحادث باختلاف الميكروب المسبب له.

#### مصدر الميكروبات المسببه للتجبن الحمضى

من مصادر تلوث اللبن فى المزرعة بهذه الميكروبات كل من الأوانى والأدوات والمعدات، العليقة - البراز والبيئة.

#### أهمية (خطورة) الحموضة / التخثر Significance of souring / curdling

تكون الحموضة والتجبن من أكثر أنواع الفساد الذى يحدث باللبن خاصة فى الظروف الحارة عند عدم حفظ اللبن بالتبريد. إذ أن ارتفاع حموضة اللبن يجعل اللبن غير مناسب لتصنيع اللبن السائل إلى منتجات لبنيه. وهذا السبب فى رفض اللبن الذى يعطى إختبار تجبن بالغلى موجب، كما أن ارتفاع حموضة اللبن قد يدفع بعض المنتجين إلى معادلة الحموضة بالصودا حتى لايرفض هذا اللبن، ولكن هذا عمل غير مرغوب من الناحية الصحيه.

وهنا يجب أن نشير إلى أن التحكم فى إنتاج الحموضة والتجبن بإضافة بكتريا حمض اللاكتيك له أهميته فى صناعة العديد من المنتجات اللبنيه المتخمرة.

## الإحتياطات Control measures

يجب إنتاج اللبن تحت ظروف صحية لتقليل التلوث بالميكروبات المنتجة للحموضة مع تبريد اللبن بمجرد حلابته وتقليل فرصة تعرض اللبن لحرارة الجو العادى فى الفترة مابين إنتاجه وحتى التصنيع مع العناية بنظافة وتعقيم الأوانى والمعدات المستخدمه فى الإنتاج والنقل. والإهتمام ببسترة اللبن بعد تبريده.

## ملاحظات:

- ١- من علامات تكون الحموضة باللبن ظهور طعم حمضى ثم تخثره ليعطى مظهراً هلامياً متماسكاً أو غير متماسك مع ظهور الشرش.
- ٢- فى اللبن الذى يحفظ على درجة حرارة منخفضة (قريبة من التجمد) ينتج فيه حموضة قليلة ولكنه فى هذه الحالة يحتمل حدوث التحلل البروتينى بواسطة البكتريا المحبة لدرجات الحرارة المنخفضه.
- ٣- تقتل البسترة معظم البكتريا المنتجة للحمض ولكنها لاتقضى على بكتريا حمض اللاكتيك المقاومه للحرارة مثل *Enterococci*, *Lactobacilli*, *S. thermophilus* والتي بدورها تسبب التخمر اللاكتيكي إذا كانت درجة الحرارة عاليه.

## ٢- إنتاج الغاز Gass production

تنتج بعض الكائنات الدقيقة فى المنتجات اللبنيه السائلة كاللبن والقشدة غازات خاصة  $CO_2$  وتسبب عيباً يطلق عليه Gassiness. وقد يكون تكون الغاز مصحوباً بإنتاج الحمض كما هو الحال فى القشدة المتخمرة Sour - cream أو اللبن الغنى بالدهن، وفى هذه الحالة تتكون رغوه على السطح العلوى للبن أو القشدة وذلك نتيجة خروج الغاز من الخثرة وتركيز الغاز على السطح ويطلق على هذا العيب Frothiness (تكون رغوه) وهذا العيب يكون نتيجة لنشاط البكتريا المنتجة للحمض ونشاط الخمائر فى إنتاج الغاز. وفى بعض الحالات يلاحظ ظهور فقاعات غازيه مابين الكازين المتخمر أو ظهور غاز بسرعة فائقه ويطلق على هذه الحالة (الإختمار العاصف) اللبن أو القشدة وعادة ما تكون القشدة الغازيه مصحوبه برائحة الخميرة وتسمى Ycast cream وفى المنتجات اللبنيه المعلبه فإن إنتاج الغاز بها يسبب إنتفاخ العلب ويسمى العيب بإنتفاخ العلب Blowing of cans.

### الميكروبات المسببه Causative organisms

#### i - الخمائر المخمرة للاكتوز Lactose fermenting yeasts

و غالباً لا تتواجد هذه الخمائر فى اللبن، وإذا ما وجدت تكون بإعداد قليلة لا يمكنها التعايش جيداً مع البكتريا الأخرى. ولما كانت هذه الخمائر متحملة للحموضة acid tolerant لذا فيمكنها النمو تحت الظروف الحمضية فى القشدة المتخمرة. وأفضل حرارة لنمو هذه الخمائر ٣٧ م° أو أقل وتنتج CO<sub>2</sub> وكميات صغيرة من كحول الإيثانيل.

#### ii - الكوليفورم Coliforms (Esherichia ñ Enterobacter group)

ومن أمثلتها *E. coli*, *Enterobacter aerogenes* وتعتبر هذه المجموعة من الميكروبات هى السبب الرئيسى فى تكوين الغازات فى درجة الحرارة الإعتيادية (١٠ - ٣٧ م°) نظراً لقدرتها على التعايش مع البكتريا المنتجة للحموضة. وهذه المجموعة تخمر اللاكتوز فى اللبن والقشدة إلى غاز وحمض والغاز المتكون عبارة عن خليط من CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> غالباً ويتسرب الغاز عادة قبل حدوث تجبن للكازين (الذى يحتاج مدة أطول لحدوثه) لذا لا تتكون رغوة Frothiness عكس ما يحدث فى التخمر بفعل الخمائر yeast fermentation.

#### iii - البكتريا اللاهوائية المتجرثمه Anaerobic sporeforming bacteria

ومنها أنواع تابعة لجنس *Clostridium spp* مثل

*Cl. sporogenes*, *Cl. pasteurianum*, *Cl. butyricum* وهذه المجموعة من البكتريا قليلة باللبن الخام أو القشدة إذ لا يمكنها منافسة الميكروبات المنتجة للحمض ولكن تنمو جيداً إذا تم القضاء على هذه الميكروبات بالحرارة وكانت ظروف المنتج اللبنى ظروف لاهوائية كما هو الحال فى المنتجات اللبنية المعلبه مثل الجبن المطبوخ واللبن المكثف وتنمو لتعطى الغاز فقط.

#### مصدر الميكروبات المكونه للغازات Sources

تصل هذه الميكروبات إلى اللبن ومنتجاته من التربه والسماد والعليفة والمعدات وغالباً ما تكون الكوليفورم مصاحبة للتلوث بالبراز.

### أهميتها في اللبن ومنتجاته Significance in dairy products

لتكون الغازات أهميتها في صناعة الجبن السويسرى حيث يتم التحكم في إنتاجها لإعطاء القوام المرغوب بتكون العيون Eye fermentation ولايعتبر تكون الغاز عيباً في جبن تشدر بفعل بكتريا Leuconostocs ولكن يعتبر عيباً تكون الغاز بفعل الكوليفورم لأنه يكون مصحوباً بطعوم غير مرغوبه وتكون هذه الطعوم في اللبن أو القشدة قد ينتقل إلى المنتج النهائي كالجبن والزبد.

كما يؤدي تكون الغازات في المنتجات اللبنيه المعلبه مثل الجبن المطبوخ يؤدي إلى الإنتفاخ المبكر أو المتأخر، ويرجع الإنتفاخ المبكر (يظهر خلال ٢ - ٣ شهور الأولى من التخزين) إلى بكتريا الكوليفورم التي يمكنها تحمل المتبقى من O<sub>2</sub> الموجود بالعلب، بينما الإنتفاخ المتأخر سببه بكتريا Clostridia وهي لاهوائيه حتماً.

### الوقاية والتحكم control measures

تجنب تلوث اللبن والقشدة، العناية بنظافة الحيوان بعد تناول العليقة وقبل الحلابه مع إزالة الروث أولاً بأول وتجنب سقوط القاذورات باللبن مع العناية بتنظيف الأواني، وتقليل فرصة تعرض اللبن لدرجة حرارة الجو العادى، ومعاملة اللبن حرارياً بدرجة كافية لقتل الميكروبات المكونه للغازات مثل الكوليفورم.

### ٣- اللزوجة (المخاطيه) Sliminess (Ropiness)

وهى من الحالات غير الطبيعية التى تحدث فى اللبن أو القشدة وأحياناً فى الشرش، وتعرف هذه الحالة عندما يسكب اللبن من الوعاء حيث يكون على شكل خيوط مختلفة الطول والحجم وقد يكون القوام فى صورة كتل لزجة عجنيه Doughy وأحياناً يكون التغيير طفيفاً يصعب التمييز بينه وبين لزوجة القشدة مرتفعة الدهن.

وتعزى اللزوجة لعوامل ميكروبيه وأخرى غير ميكروبيه. وما يهنا هنا هى اللزوجة الناتجة عن العوامل الميكروبيه (اللزوجة البكتيرية).

### البكتريا المكونه للزوجة: Causative organisms

فيما يلى المجموعة الرئيسيه للبكتريا المكونه للزوجه:

١- العصويات السالبه لجرام gram ñ negative rods: وهى لاتكون غازات وتكون فقط حموضة خفيفة ومن الأنواع المكونه للزوجة والتابعة لهذه المجموعه

*Alcaligenes viscolactis, Achromobacter lacticum, Flavobacterium tremelloides*

٢- coli ñ aerogenes group: رغم أنها تنتج غازاً إلا أنه بصورة غير واضحة فى اللبن اللزج ومن الأنواع التابعة لهذه المجموعة

*Enterobacter aerogenes, Enter. cloacae, Citrobacter freundii, Serratia marcescens*

٣- البكتريا المتجرثمه الهوائيه Aerobic sporeformers بعض أنواع من جنس Bacillus مثل *B. subtilis, B. circulans*

٤- بكتريا حمض اللاكتيك Lactic acid bacteria: مثل *S. lactis var. hollandicus* وهذه قد تكون لزوجة يمكن ملاحظتها قبل إنتاج كميات ملموسة من الحموضة، *I. bulgaricus* وهى تكون سلاسل طويله من الخلايا فى صورة خيوط، *L. casii* وهى تكون كبسولات. ويذكر البعض أن اللزوجة قد تنتج نتيجة التعاون بين ميكروبيين أحدهما عادة *S. lactis*.

٥- Micrococci: بعض البكتريا التابعة لهذه المجموعة مثل *M. pituitopanis, M. freudenreichii, M. viscosus* من الممكن أن تسبب لزوجة، وبعضها يحلل اللبن ولكن تسبب لزوجة ملحوظة قبل تحلل الكازين:

وهناك نوعان رئيسيان من اللزوجة المتكونه بفعل البكتريا فى اللبن:

أ- لزوجة ظاهرة فى الجزء العلوى من اللبن (لزوجة سطحيه): وهذه تنتج عموماً عن بكتريا *Alcaligenes viscosus* والتي مصدرها الماء والتره وتنمو جيداً فى درجة حرارة ١٠ م°. كما تنتج عن بعض أنواع البكتريا المكورة المتحملة للحرارة المرتفعة مثل *Micrococcus freudenreichii*.

ب- لزوجة منتشرة فى اللبن بصورة متجانسه (فى جميع أجزاء اللبن): وهذه تنتج عن بعض سلالات بكتريا القولون مثل *Aerobacter aerogenes, A. cloacae*، ونادراً ما يكون السبب جنس *Esherichia* كما أن هناك سلالات معينه من بكتريا حمض اللاكتيك مثل *S. lactis var. hollandicus* تسبب لزوجة اللبن (لزوجة متجانسه) وتستعمل فى صناعة اللبن الإسكندنافى المتخمر.

### ميكانيكية تكون اللزوجة البكتيرية Mechanism of ropiness

من المواد المسنولة عن تكون اللزوجة البكتيرية:

أ- الصموغ الحقيقيه true gums أو المواد المشابهه للصمغ gum like substances مثل السكريات العديدة polysaccharides

ومصدر هذه الصموغ هو تخمر اللاكتوز بيكتريا *S. lactis var. hollandicus* وأنواع من Streptococci , Leuconostoc , Lactobacilli

ب-المواد المخاطية mucins: وهى مواد نيتروجينية (بروتينات) مرتبطة بأخرى كربوهيدراتيه تنتج بفعل البكتريا البيتونيه peptonizing bacteria مثل

Micrococci, gram- negative bacteria aerobic spore formers,

ويذكر البعض أن بكتريا *A. viscosus*, *M. cremoriviscose* تكون اللزوجة فقط فى وجود الألبومين كما أن *A. viscosus* مسؤولة عن إنتاج مواد كسولية (حافضة) وهى عبارة عن سكريات عديدة. وغالباً لاتحدث اللزوجة البكتيرية باللبن إلا بعد مرور مالا يقل عن ٦ ساعات من الحلابه، ويساعد فى ذلك درجة الحرارة المنخفضة، كما أن البسترة الجيدة تمنع تكون اللزوجة البكتيرية.

### مصدر الميكروبات المسببه للزوجة sources of caustive organisms

توجد هذه الميكروبات عادة فى الماء الراكد والمياه السطحية والأغذية (عليقة) والتربه والأوانى غير النظيفة.

ويبين الجدول التالى (٣٥) المجموعات الشائعة من البكتريا المكونه للزوجة ونسبتها من المصادر المختلفه.

جدول (٣٥) المجموعات الشائعة من البكتريا المكونه للزوجة ونسبتها من المصادر المختلفه.

| % للسلاطات المكونه للزوجة من |                 |             | المجموعة البكتيرية     |
|------------------------------|-----------------|-------------|------------------------|
| النباتات (عليقة) vegetation  | المزرعة والمياه | معدات اللبن |                        |
| ٣٨,٠                         | ٢٢,٢            | ٢٩,٩        | gram ñ negative rods   |
| ٤١,٤                         | ٦٦,٧            | ٥٧,١        | coli ñ aerogenes group |
| ٣,٤                          | صفر             | صفر         | Brevibacterium spp     |
| ١٠,٣                         | ٤,٤             | ٦,٥         | Micrococcus spp        |
| ٦,٩                          | ٦,٧             | ٦,٥         | Bacillus spp           |
| ١٠٠                          | ١٠٠             | ١٠٠         | المجموع                |

### أهمية اللزوجة البكتيرية فى اللبن:

تؤثر اللزوجة البكتيرية فى اللبن والقشدة على قابلية المستهلك للمنتج. ورغم أنها تحدث فى اللبن والقشدة الخام إلا أنها قد تحدث أيضاً فى المنتجات المبسترة. ويرجع ذلك لتلوثها بعد البسترة من معدات المصنع خاصة تلك التى يصعب تعقيمها بدرجة مناسبة. وتلاحظ اللزوجة فى اللبن الخام والملوث بميكروبات اللزوجة خاصة عند حفظه على درجة حرارة منخفضة حوالى  $10^{\circ}\text{C}$  أو أقل ( $3 - 7^{\circ}\text{C}$ ). ويلاحظ أن البكتريا المسببه للزوجة اللبن لا توجد فى اللبن المحلوب تحت ظروف صحيه جيدة aseptically ولكن تأتى من التلوث الخارجى.

ورغم ما للزوجة البكتيرية من عيوب، إلا أنه تستخدم بعض البكتريا المكونه للزوجة وذلك فى صناعة بعض الألبان المتخمرة.

### الوقاية والتحكم control measures

نظراً لأن البكتريا المسببه للزوجة باللبن مصدرها الماء وروث الحيوانات والأدوات وعلف الحيوانات، لذلك فإن منع تلوث اللبن بها يؤدى لعدم حدوث اللزوجة. كما تفيد البسترة الجيدة للبن فى قتل معظم البكتريا المسببه للزوجه.

### ٤- التحلل البروتينى proteolysis

هى عملية يحدث فيها تحلل معقد البروتين إلى مواد ذائبه فى الماء بفعل الميكروبات وإنزيماتها

بروتينات ← بروتيازات ← ببتونات ← ببتيدات عديدة  
← ببتيدات ← أحماض أمينية

وقد تكسب بعض هذه النواتج اللبن رائحة العفن والطعم المر نتيجة إنتاج بعض الببتيدات.

### ومن أنواع التحلل البروتينى:

١- التحلل البروتينى البطئ: ويتم ذلك بواسطة الإنزيمات الداخلية للبكتريا بعد تحللها، وليس لهذا النوع من التحلل أهمية فى فساد اللبن فى الظروف العادية ولكن تبدو أهميته عند طول مدة حفظ اللبن. ولهذا النوع من التحلل أهمية فى تسوية الجبن.

٢- التحلل البروتيني الحمضي: وفيه يحدث إنتاج الحمض مع التحلل البروتيني في وقت واحد ويحدث هذا النوع من التحلل ببكتريا حمض اللاكتيك المحللة للبروتين، والتي منها بعض أنواع البكتريا المكورة والسبحية وبعض من البكتريا المعوية مثل بعض أنواع من أجناس *Streptococci* , *Enterococci*. وعادة لاتقضى البسترة على جراثيم هذه الأنواع. ويؤدي هذا النوع من التحلل إلى تخثر اللبن وإنكماش الخثرة المنفصلة، وخروج كمية من الشرش يتبعه هضم الخثرة وتحللها وإفصالها على هيئة رقائق غير مرئية في كمية كبيرة من الشرش، وقد تذوب الخثرة كلية.

٣- التحلل البروتيني مع قليل من الحموضة (التخثر الحلو) *sweet curdling*.

ويحدث عادة بفعل البكتريا غير المحللة للاكتوز. وهو شائع في اللبن المعامل حرارياً وكذا القشدة (بسترة وتعقيم) لإبادة الميكروبات المنتجة للحموضه وسيادة الميكروبات المقاومة للحرارة والمسببه للتجبن الحلو، وقد يحدث أحياناً في اللبن الخام المحفوظ على درجة حرارة منخفضة، وفي الحالات الشديدة يصبح اللبن في الوعاء كتلة واحدة كما لو كان محمضاً رغم عدم تكون حموضة (لذا يسمى تجبناً حلوياً) ويظهر هذا التجبن في طبقة القشدة في قمة اللبن في المراحل الأولى، إذ أن معظم الميكروبات المكونه له تتطلب الهواء لنموها، كما ترسب طبقة رقيقه من الخثرة في قاع الإناء إلا أنها قليلة قد لايلحظها المستهلك.

ويرجع العيب لإنتاج إنزيم خارجي يشبه الرنين بفعل البكتريا خاصة البكتريا المتجرثمه الهوائية، يتسبب هذا الأنزيم في ترسيب الكازين في صورة قطع صغيرة من الخثرة، ويزداد نشاط هذا الأنزيم في الحرارة العالية فقد تتجبن القشدة أحياناً أثناء بسترتها رغم أن حموضتها طبيعية، وقد تتكون حموضة بالعينة إذا حفظت الخثرة لمدة طويلة بعد ظهور العيب (التجبن الحلو). وغالباً مايصاحب التجبن الحلو طعماً مرّاً كما ينطلق حمض السيليك مع التجبن وتكون pH الخثرة الحلوة ٦,٢ - ٦,٦ وعند استخدام هذا اللبن أو القشدة مع المشروبات الساخنة مثل القهوة أو الشاي تتكون قطع متجبنه تشبه الريش ويطلق علي الظاهرة ظاهرة التريش *feathering*.

## الميكروبات المسؤولة عن التجبن الحلو

i - الميكروبات الهوائية المكونه للجراثيم: Aerobic spore forming organisms

ومن أمثلتها *Bacillus cereus*, *B. mycoides*, *B. subtilis* وهى مقاومة للحرارة وتسبب التجبن الحلو فى اللبن المبستر والقشدة المحفوظين على حرارة عالية، *B. allolactis* وهى محبة للحرارة وتسبب التجبن الحلو فى اللبن السابق عليه. فعند إبادة الميكروبات المنتجة لحمض اللاكتيك بفعل المعاملات الحرارية تهاجم هذه البكتريا (*Bacillus*) البروتين بواسطة إنزيم يشبه الرنين مما يؤدي إلى تجبنه، وتتميز الخثرة بالطراوة وسهولة التحلل ويكون لون الشرش اصفر يميل للقلويه.

ii - الميكروبات الهوائية غير المكونه للجراثيم Aerobic non spore forming organisms

وتضم بعض أنواع من أجناس *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Proteus*, *Serratia* وهى ميكروبات محبة للبرودة *Psychrotrophic*، تنمو على حرارة الثلجة (٤ - ٧ م°) حيث لاتستطيع الميكروبات المنتجة للحموضة أن تنمو على هذه الدرجة، ولبعض هذه الميكروبات القدرة على إنتاج إنزيمات *proteases* مقاومة للحرارة تعمل على تجبن لبن UHT خاصة عند حفظة على حرارة منخفضة.

iii - الكرويات *coccus formes*:

وهى تضم أنواعاً مقاومة للحرارة مثل *Str. Faecalis var. liquefaciens* وتعتبر هذه البكتريا من المسببات الرئيسية للتجبن الحلو. فى البداية يتخثر اللبن بواسطة الإنزيم المشابه للمنفحة وبعد ذلك ينتج الحمض متأخراً ويتحلل الكازين. وقد وجد أن هذا الميكروب يسبب التجبن الحلو والطعم المر فى اللبن الخام والمبستر الذى يحفظ على درجة حرارة منخفضة.

iv - الفطر والخمائر: لها تأثير طفيف وبطئ فى تحلل البروتين.

### ملحوظة:

الميكروبات غير الهوائية المكونه للجراثيم Anaerobic spore forming organisms مثل *Clostridium* تحلل البروتين تحت ظروف لاهوائية، وتنتج مركبات ذات

رائحة كريهه مثل  $SO_2$  والمركبتان mercaptans والأندول والأحماض الدهنية والأمينات. حيث تنمو هذه الميكروبات عندما تباد الميكروبات المنتجة لحمض اللاكتيك نتيجة للظروف اللاهوائية.

### ومن العوامل المؤثرة على التجبن الحلو: Factors affecting sweet curdling

i - الحرارة العالية High temperature: يحدث هذا العيب في لبن الصيف بدرجة أكبر من لبن الشتاء لإحتواء الأول على كمية أكبر من الجراثيم والتي تثبت على الحرارة العالية. فقد لوحظ أن *B. mycoides* تنمو أسرع وتنتج كمية أكبر من الأنزيم المشابه للرنين في الحرارة المرتفعة كما أن نشاط الإنزيم المشابه للرنين يزداد بارتفاع الحرارة.

ii - عمر اللبن Age of milk: يظهر العيب بعد أكثر من ٢٤ ساعة بحفظه على الحرارة العادية وبعد ٣٦ - ٤٨ ساعة بحفظه على ٧٠° ف (حوالي ٢٠ م°).

iii - البسترة Pasteurization: لوحظ ان اللبن المبستر أكثر عرضة للتجبن الحلو من اللبن الخام، ويفسر ذلك بأن البسترة تقضى على الأنواع الحساسة للحرارة وبذا تسود البكتريا المقاومة للحرارة والأخيرة معظمها محلل للبروتين وتسبب التجبن الحلو، وقد تسبب روائح غير مرغوبة taint لذلك فإن التجبن الحلو لا يمكن تقليله بالبسترة كالعيوب الأخرى بل بالعكس فإن التسخين يزيد من فرصة حدوثه.

### التحكم فى التجبن الحلو control / preventive measures

يجب إتباع التالى لمنع أو الحد من عيب التجبن الحلو:

i - تجنب التلوث: وذلك عن طريق عدم توزيع العليقة أو تغيير الفرشة قبل الحلابه مباشرة. مع العناية بتنظيف وتعقيم الأدوات والمعدات.

ii - التحكم الحرارى Temperature control: بتبريد اللبن بالمزرعة بمجرد حلابته وحفظه بارداً لتقليل العيب، ولكن قد تسمح هذه الخطوة بنمو البكتريا المحبه للبرودة. وفى عملية البسترة قد يفضل خفض حرارة البسترة قليلاً لتسمح للأنواع المكونه للحموضة للنمو مما يثبط البكتريا المكونه للخرثرة الحلو.

iii - إضافة ميكروبات مثبته Addition of inhibitory organisms: لنشاط الميكروبات المسببه للتجبن الحلو ومن هذه الميكروبات البكتريا المكونه للحموضة Lactic streptococci فإنها تثبط نمو *B. mycoides*.

## ٥- التحلل الدهنى Lipolysis (التغيرات فى دهن اللبن)

يتعرض دهن اللبن لعدد من التغيرات ينتج عنها أحياناً طعوم غير مرغوبه خاصة فى المنتجات اللبنية الغنيه بالدهن (قشدة - زبدة) مما يقلل من القيمة التسويقية لهذه المنتجات. وتشمل التغيرات التى تحدث فى دهن اللبن:

١- تحلل مائى لدهن اللبن lipolysis وذلك بفعل إنزيمات الليباز وينتج عن هذا التحلل أحماض دهنية بعضها قصير السلسلة مثل البيوتريك والكابرويك وهى مسئولة عن الطعم غير المرغوب والمعروف بالترنخ rancidity.

٢- أكسدة ذاتية auto oxidation.

٣- ترنخ كيتونى ketonic (بفعل بعض الفطريات) نتيجة أكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة. ينتج عنه ألدهيدات وكيتونات تعطى المنتجات اللبنية خاصة الدهنية نكهه زنخة، ومما يساعد حدوث هذه الأكسدة تعرض اللبن ومنتجاته للمعادن وضوء الشمس ووجود الميكروبات المؤكسدة.

### أسباب التحلل الدهنى Causes of lipolysis

تحدث التغيرات فى دهن اللبن نتيجة لعوامل متعددة منها عوامل ميكانيكية وطبيعية وأخرى ميكروبيه وإنزيميه وتعتبر العوامل الميكروبيه والأنزيميه أكثر أهمية ومنها:

١- إنزيم الليباز باللبن ومنتجاته: Intrinsic lipase ورغم وجود هذا الأنزيم بكميات كافية لإحداث ترنخ اللبن إلا أن وجود الأغشية حول حبيبات الدهن تحمى الجلسريدات الثلاثية من هذا الإنزيم، كما قد يقل نشاط هذا الإنزيم نتيجة إرتباطه أو تجمع مع ميسيلات الكازين بجانب إحتمال وجود مواد مثبطة لنشاطه. كل هذه العوامل تقلل من فرصة حدوث أو عدم حدوث التحلل المائى لدهن اللبن فى الألبان الطبيعية.

٢- الميكروبات المحلله للدهن وإنزيماتها Lipolytic microorganisms or their enzymes: حيث تنتج البكتريا المحبة للبرودة بعض إنزيمات الليباز المقاومة للحرارة فى اللبن أو القشدة المحفوظة على درجة حرارة منخفضة. وهذه

الإنزيمات تقاوم حرارة البسترة HTST وكذا التعقيم UHT وتسبب تحلل دهن اللبن في المنتجات المعاملة بالحرارة، والمحافظة على درجة حرارة منخفضة. كما أن لهذه البكتريا القدرة على إنتاج Phospholipases ولهذه الأنزيمات دور فعال في حدوث التزنخ إذ تتلف الفوسفوليبيدات مما يعرض الجلسريدات الثلاثية لفعل إنزيمات الليبيز.

#### ومن الميكروبات المحللة للدهن :

أ- البكتريا المحبة للبرودة Psychrotrophs مثل

*Pseudomonas spp* : مثل *Ps. fluorescens* , *Ps. fragi*

*Achromobacter spp* : مثل *A. lipolyticum*

*Alcaligenes spp* : مثل *A. viscolactis*

*Acinobacter spp* , *Flavobacterium spp* , *Serratia macrescens*

ب- أنواع أخرى من البكتريا مثل:

*Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Mycoplasma spp*,

*Micrococcus freudenreichii*, *Bacillus spp*.

ج- فطريات ومنها:

*Oidium lactis*, *Geotricum candidum*, *Penicillium spp*, *Aspergillus spp*

د- خمائر ومنها *Candida spp* مثل *C. pseudotropicalis* , *C. lipolytica*

وبصفة عامة فإن تحلل الدهن مائياً Lipolysis يكون مرتبطاً بنمو الميكروبات المنتجة لإنزيم الليبيز كما أن هذا التحلل يكون شائعاً في اللبن ومنتجاته المحفوظة على حرارة ١٠ م° أو أكثر وممكن حدوثه على درجات حرارة مختلفة.

#### التحلل المائي للدهن في المنتجات اللبنية المختلفة

##### Lipolysis in different dairy products

١- التحلل المائي للدهن في اللبن والقشدة: يحفظ اللبن أو القشدة على حرارة أعلى من صفر م° ولمدة حوالي ٢٤ ساعة فإن ذلك يشجع نمو البكتريا المحبة للبرودة ومعظمها محلل للدهن. كما أن بكتريا Micrococci, Staphylococci والتي

مصدرها حلقات الضرع والمعدات تكون سائدة فى اللين والقشدة، وتتكاثر هذه الميكروبات فى المنتجات غير المعاملة حرارياً. وقد عزلت بعض البكتريا المحبة للبرودة والمحللة للدهن من اللين المبستر ولذا فإن هذه البكتريا تسهم فى تحلل الدهن فى المنتجات اللبنيه حتى ولو صنعت من ألبان مبسترة.

٢- الزبد: يعتبر الفطر والخميرة وأنزيماتها العامل الرئيسى فى فساد الزبد. ويتوقف هذا الفساد ونوعه على عاملين هما الـ pH ونسبة الملح بالزبد. فعند pH منخفضة (٤,٧٥) وملح مرتفع (٢٪) فإن هذه الظروف تثبط تحلل الدهن lipolysis ونمو الميكروبات ولكنها ظروف مشجعة للأكسدة الذاتية، وبالعكس فإن pH ٦,٦ وعدم إضافة الملح ظروف محببه لتحلل الدهن lipolysis ولكن غير ملائمة للأكسدة الذاتية.

٣- الجبن: يبقى نشاط الليباز فى الجبن المصنعة من لبن خام وذلك لتلوثه ببعض البكتريا مثل *Pseudomonas fragi* والتي تكون مسؤولة عن الطعم الزنخ بعد اشهر قليلة من تخزين الجبن. وفى بعض أنواع الجبن يكون لتحلل دهن اللين تأثير غير مرغوب فى طعم الجبن، فتحلل مكونات الجبن (خاصة الدهن) ضرورى لأطهار الطعم فى الجبن المسواة بالفطر، ولا يرجع ذلك فقط للنشاط الليبوليتكى للفطريات ولكن لتمثيل الأحماض الدهنية خاصة أكسدتها إلى كيتونات المثل وهى إحدى مركبات الطعم فى هذه الجبن بجانب اللدهيدات.

#### الإحتياطات control measures

تبريد اللين (٣٨° ف) بمجرد وصوله للمصنع، والأسراع بتصنيعه قبل وصول الميكروبات إلى مرحلة loge phase والعناية بنظافة الأنتاج لتجنب التلوث بالميكروبات المنتجة لليباز، والتقييم الحسى بإشخاص مدربين للين والقشدة قبل أستخدامها فى المنتجات اللبنيه.

#### ٦- القشدة المكسرة Bitty or broken cream

يتميز هذا العيب بتكسير طبقة القشدة إلى جزيئات منفصلة (قشور flakes) ولا تعود إلى حالة الإستحلاب، أى يصعب مزجها مرة أخرى بهز اللين. ويظهر ذلك

العيب عند مزج اللبن وكذلك عند إضافته إلى المشروبات الساخنة مثل القهوة أو الشاي، حيث تطفو تلك الجزيئات على السطح مما يجعله غير مقبول لكثير من المستهلكين. ويحدث هذا العيب (تكون القشور) قبل التغيير في الطعم أو التغيير الحادث في ثبات اللبن حرارياً. وهناك نوعان من هذه الجزيئات المنفصلة (القشور)

**الأول ميكانيكي (طبيعي):** حيث تكون هذه الجزيئات المنفصلة على هيئة سداة من القشدة cream plug نتيجة تمزق جزئى لأغشية حبيبات الدهن وتجمع الحبيبات مع بعضها.

**والثاني بكتيري:** حيث يرجع جزئياً لفعل إنزيم الليثسينيز leichthnase الذى تفرزه بكتريا تابعة لجنس *Bacillus spp* مثل *B. mycoides*, *B. cereus* والذى يهاجم الفوسفوليبيدات الخاصة بغشاء حبيبات الدهن، كما يرجع هذا العيب جزئياً إلى الكازين المتجين والمرتبط بالغشاء.

وتختلف طبيعة الجزيئات المنفصلة (القشور) بكتيرياً عن تلك المنفصلة ميكانيكياً فالأولى (بكتريا) لا تتغير بالتسخين على ١٠٠ م° بينما الثانية (ميكانيكياً) تتغير بالتسخين على ٤٠ - ٤٥ م°. وتتكون الجزيئات المنفصلة بكتيرياً نتيجة تلوث اللبن بالبكتريا حيث تتجمع فى طبقة القشدة فى صورة مستعمرات microcolonies تتكون حولها جزيئات القشدة فى صورة منفصلة بفعل إنزيم الليثسينيز الذى تفرزه هذه البكتريا. وهناك علاقة بين عدد جراثيم البكتريا والجزيئات المنفصلة المتكونه (القشور).

ويحدث هذا العيب (القشدة المكسرة) فى اللبن الخام أو المبستر نتيجة عدم جودة التبريد وكذا لطول مدة التخزين. ورغم أن عملية UHT تقضى على الغالبية العظمى من جراثيم *Bacillus spp* إلا أن العدد القليل المتبقى من هذه الجراثيم يمكنه أن ينمو فى اللبن المخزن على ٣٥ م° مما يؤدى لفساد اللبن. ويتوقف ذلك على كثافة التلوث فى اللبن الخام المستخدم. وقد يحدث التلوث فى اللبن UHT بعد المعاملة الحرارية نتيجة خطأ فى التعبئة أو عدم جودة تعقيم العبوات بالـ  $H_2O_2$ .

ولما كانت جراثيم *Bacillus spp* توجد بكثرة فى التراب لذا يجب إنتاج وتصنيع اللبن فى جو خال من التراب وإستخدام مرشحات الهواء وإبعاد أماكن الحلابه عن

مكان العليقة والعناية بنظافة ضرع الحيوان ومؤخرته والأواني والمعدات المستخدمة فى نقل اللبن وتصنيعه.

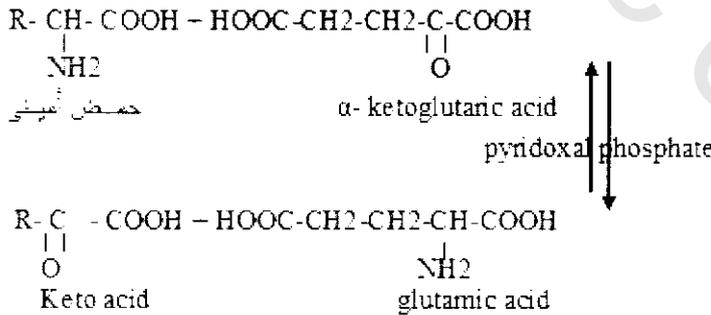
#### ٧- النكهات غير المرغوبه off- flavours

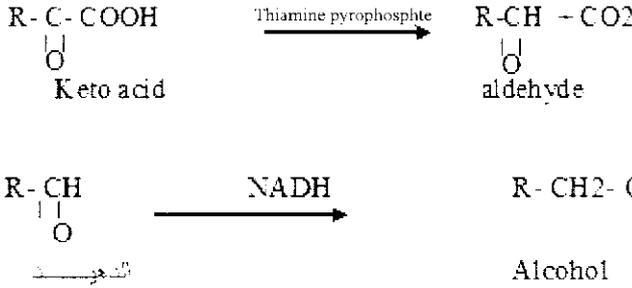
يتميز اللبن الطازج بنكهه جيدة فهو ذو طعم حلو خفيف ورائحة مميزة وقد تقل هذه النكهه أو تختفى بالتبريد او بعد بضع ساعات من الحلابه. وقد تكون نكهة اللبن غير إعتيادية بسبب فردية الحيوان أو العليقة أو الأصابة بمرض التهاب الضرع. أما النكهات التى تتكون بعد الحلابه فيجوز ان تكون ميكروبييه أو غير ميكروبييه. والأخيرة مصدرها النكهات الممتصة أو نتيجة تعرض اللبن للضوء أو ملامسته للمعادن، أو نتيجة التزنخ بإنزيمات ليبيز اللبن أو أكسدة الدهن ذاتياً. أما النكهات التى تسببها الميكروبات فمنها:

#### أ- نكهة المولت (المالتيه) Malty flavour أو الكرامل

الميكروبات المسئولة: *L. maltaromicus*, *Str. lactis var. maltigenes* ومصدرها روث الحيوان والمياه فى خزانات التبريد والأواني غير النظيفة، ويذكر البعض وجود هذه البكتريا فى اللبن قبل خروجه من الضرع.

والمواد المسئولة عن هذه النكهه عبارة عن مجموعه من الألهيدات والكتونيات والكحولات، وتنشأ نتيجة فعل البكتريا على بعض الأحماض الأمينية فى وجود  $\alpha$  ketoglutaric acid وبفعل بعض الإنزيمات الناقلة ثم نزع  $CO_2$  مما يؤدي لتكوين أحماض كيتونية وألهيدات كما تتكون الكحولات نتيجة إختزال الألهيدات





ويقال أن طعم المالت يتكون أساساً من 3- methyl butanol والنواتج من الحمض الأميني ليوسين.

ويمكن تجنب هذا العيب بالمعاملة الحرارية (بسترة) والرقابة الصارمة على المصنع والعاملين والمعاملة بمحاليل الكلورين لأيدي الحلابين وكذا ضرع ومؤخرة الحيوان والمعدات. ويلاحظ أن النواتج المتطايرة بفعل هذه الميكروبات لا يمكن التخلص منها بالتبريد أو بالمعاملة تحت تفرغ. ويلاحظ أن ظهور هذا العيب قبل البسترة فإن عملية البسترة لاتزيله.

ب- نكهة الشياط caramel

يعطى ميكروب *Str. lactis var maltigenes* هذه النكهة وهي شبيهة بنكهة اللبن المغلي

ج- نكهة الدواء Medicinal flavour

تسببها بكتريا *Enterobacter aerogenes* ومصدرها الزجاجات المغسولة يدوياً وتظهر في اللبن المبستر المسوق.

د- نكهة الفاكهة Fruity flavour (تشبه الفراولة strawberry ñ like aroma): ومن

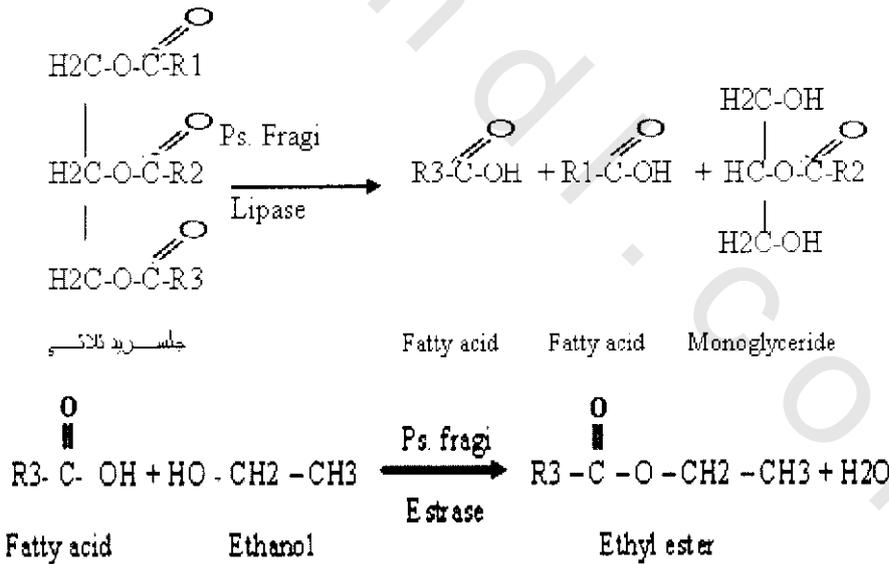
الميكروبات المسؤولة عنها: *Pseudomonas fragi* إذ تعطي رائحة تشبه الأستر في اللبن والقشدة والمنتجات اللبنية المحفوظة على حرارة منخفضة فهذه البكتريا القدرة على النمو على ٥ - ٧ م° حيث تسود على بقية البكتريا أثناء التخزين في الثلاجة وقد وجد أن نمو هذه البكتريا باللبن تسبب طعماً غير نظيف unclean عندما يصل عددها بالأطباق ٥,٥ × ١٠<sup>٦</sup> مجموعة / مل ويظهر الطعم الفاكهي عندما يصل العدد ٥ × ١٠<sup>٦</sup> مجموعة / مل ومصدر هذه البكتريا التربة والماء،

وتنتشر هذه البكتريا في البيئة المحيطة بإنتاج اللبن وتصنيعه، وهي بكتريا حساسه للحرارة لذا وجودها في اللبن المبستر يدل على تلوثه بعد البسترة.

والطعم الذي تسببه هذه البكتريا يرجع لقدرتها على تكوين إسترات الأيثيل Ethyl esters إذ تحتوى إنزيمات ليبيز ونظام إنزيمي لأسترة حمض البيوتريك وحمض الكابروييك مع كحول الأيثيل الذي تنتجه أيضاً هذه البكتريا. ويزيد إنتاج وظهور الطعم الفاكهي بإضافة ٠,٢٪ كحول أيثيل للمزرعة المحتوية على هذه البكتريا، كما يزيد إنتاج الطعم الفاكهي fruity aroma esters في كل من اللبن وجبن كوتاج المحتوى على كمية من الإيثانول نتيجة التلوث من السيلاج أو نتيجة نمو ميكروبات أخرى قد تنتج الأستلدهيد أو كحول الإيثايل.

وقد أمكن إستخلاص إنزيم أستريز من راسح خلايا هذه البكتريا له القدرة على أسترة أحماض البيوتريك والكابروييك.

وميكانيكية تكوين إسترات الأيثيل بفعل بكتريا *Ps. Fragi* توضحها المعادلات التالية:



حيث  $\text{R}_3$  ethyl butyrate  $(\text{CH}_2)_2 \bar{n} \text{CH}_3$   
 Ethycaprolate  $(\text{CH}_2)_4 \bar{n} \text{CH}_3$

هـ - طعم الفينول:

يسمى طعم الفينول أحياناً بالطعم المدخن أو طعم الفنيك. ويظهر هذا العيب فقط في اللبن المعقم، فسببه بكتريا *Bacillus cereulans* المتجرثمثة والتي تقاوم جراثيمها درجات الحرارة المرتفعة، علاوة على قدرتها على النمو في درجات الحرارة المنخفضة ويتكون الفينول أساساً من الحمض الأميني ثيروسين. ولتجنب العيب يجب العناية بنظافة الإنتاج وتعقيم الأدوات.

و- طعم كحول الأميل:

وهو طعم زيتي ذو رائحة نفاذه تشبه رائحة كحول الأميل. وسببه ميكروب *Micrococcus caseolyticus* المحلل للبروتين، والذي يوجد بكثرة في الأتربة والأرباع الخلفية للحيوانات. لذا يجب العناية بنظافة الإسطبلات والأرباع الخلفية للحيوانات وتطهيرها قبل الحلابه.

ز- طعم كبريتور الأيدروجين  $H_2S$  يظهر هذا العيب نتيجة تلوث اللبن بأثار الكبريت أثناء مروره في أنابيب المطاط التالفة، وتكون  $SH_2$  من هذا الكبريت بفعل بعض البكتريا. وقد يتكون هذا الغاز نتيجة نمو بكتريا الكوليفورم وتأثيرها على الكازين.

ح - نكهات ميكروبيه أخرى

| الميكروب المسبب                           | النكهة                        |
|-------------------------------------------|-------------------------------|
| <i>Aerobacter oxytocum</i>                | Barny الإسطبلية               |
| <i>Pseudomonas sapolactica</i>            | Soapiness الصابونية           |
| <i>E. coli</i> , <i>Pseu. fluorescens</i> | Turnip like الشبيهة باللفت    |
| <i>Pseu. mucidolens</i>                   | Musty potato الشبيهه بالبطاطا |
| <i>Pseu. ichthyosima</i>                  | Fishiness السمكية             |
| <i>Actinomycetes</i>                      | Erthyromusty الترابيه         |
| <i>Clostridium</i>                        | Putrefactive المتفسخة         |
| بكتريا عصوية موجبة لجرام محبة للبرودة     | Unclean غير نظيفة             |

## ٨- تغيرات اللون (discolourations) Abnormal colours

لون الغذاء سمه هامة من حيث تسويقه، فقد يكون الغذاء عال في قيمته الغذائية ولكن لايقبله المستهلك إذا لم يكن لونه مشابهاً للونه الطبيعي، فخروج لون الغذاء في شدته intensity أو إنتظام توزيعه uniformity عن الدرجة التقليديه traditional tint أو وجود تبقع (زرکشة) mottling يعتبر عيباً خطيراً. ورغم أن لون اللبن قد يتغير من سلالة لأخرى إما لإختلاف العليقة أو لإختلاف قدرتها على تمثيل الكاروتين إلا أن هذه التغيرات خفيفة، ولكن التغيرات الأكثر وضوحاً هي الناتجة عن بعض التلوث الميكروبي ومن هذه التغيرات:

أ- اللون الأزرق Blue colouration من البكتريا المسببه لهذا اللون:

*Pseu. cyanogens* - i

ويفرز هذا الميكروب صبغة قابلة للذوبان تكون رمادية اللون دون حدوث تجبن وذلك عند نمو الميكروب دون منافسة من ميكروبات أخرى، ولكن بعد مضي الوقت يتحول اللون إلى لون أخضر مزرق وذلك بفعل حمض اللاكتيك الذي تنتجه بكتريا اللاكتيك السبحية *lactic streptococci* مثل *S. lactis* والتي تنشط *Pseudomonas* الملوث للبن، أى أن اللون الأزرق لايتكون إلا عن طريق التعاون بين الميكروبين، بإضافة الحمض ليعتبر بديلاً عن *S. lactis*.

*Pseu. florecesens* - ii يعطى صبغة خضراء مصفرة.

والميكروبان ينموان على درجة حرارة منخفضة.

ب- اللون الأحمر Red colouration

وجود اللون الأحمر في اللبن قد يكون نتيجة الإصابة بالتهاب الضرع، ويمكن معرفة ذلك بطرد عينة من اللبن مركزياً وإختبار الراسب لوجود كرات الدم الحمراء من عدمه. وقد يظهر اللون الأحمر في اللبن نتيجة نمو بعض الميكروبات مثل:

i - بكتريا *Serratia marcesins* وتعرف الصبغة الحمراء التي تكونها هذه البكتريا

باسم Prodigiasin وتتكون هذه الصبغة عادة في اللبن الناتج تحت ظروف

معقمة aseptically drawn milk إذ أن النمو السريع للبكتريا الأخرى يمنع من ظهور اللون فقد تكون منافسة لبكتريا *Serratia marcescens*.

ii - خمائر مثل *Rhodotorula glutinis* تكون نتيجة نموها على القشدة بقعاً حمراء ومما يساعد ظهور هذا العيب الحموضة والضوء.

iii - بكتريا أخرى مثل *Sarsena rosa, Aerobacter aerogenes*.

ج- اللون الأصفر Yellow colouration ومن البكتريا المسببه له:

بعض أنواع بكتريا *Pseudomonas* مثل *Ps. Synxatha* ونظراً لأن الميكروب هوائى لذا يظهر اللون الأصفر فى طبقة القشدة التى تطفو على سطح اللبن ومن البكتريا الأخرى *Sarsenia lutea, Staph. aureus*.

**ثانياً: العيوب الميكروبيه التى قد تظهر فى الألبان المعاملة حرارياً**

#### ١- العيوب الميكروبيه التى قد تظهر فى اللبن المبستر

بسترة اللبن هى معاملة حراريه تجرى على اللبن فى أجهزة خاصة يتعرض فيها كل جزء من اللبن لدرجة حرارة ومدة معينتين أقل من الغليان للقضاء على جميع الميكروبات المرضية ومعظم البكتريا غير المرضية. على أن يعقب عملية التسخين تبريد اللبن مباشرة ويوجد نوعان أساسيان من البسترة:

البسترة بطريقة الحجز Holding method : ٦٣ °م / ٣٠ د

البسترة على حرارة عالية لمدة قصيرة High temperature short time (HTST):

٧١ : ٧٢ °م / ١٥ - ١٦ ث

ومن حيث تأثير البسترة على الميكروبات يلاحظ:

١- تقضى البسترة على:

أ- ميكروب السل *Mycobacterium tuberculosis* وهو أكثر الميكروبات المرضية مقاومة للحرارة. وينتج عن ذلك خلو اللبن المبستر من جميع أنواع الميكروبات المرضية غير المتجرثمة.

ب- بكتيريا القولون *E. coli* التي تسبب ت حمض اللبن وإنتاج الغاز، فوجود هذه الميكروبات في اللبن المبستر يدل غالباً على تلوثه بعد عملية التسخين نتيجة عدم نظافة المبردات أو أجهزة التعبئة أو الأدوات أو القائمين بالتعبئة.

ج- على ٩٩,٥٪ من بكتيريا حمض اللاكتيك.

٢- ولكن قد يبقى في اللبن بعد البسترة:

أ- بكتيريا مقاومة للبسترة وهذه إما:

i - بكتيريا مقاومة للحرارة Thermodurics: وهي تتحمل حرارة التسخين، ومصدرها الرئيسي اللبن الخام نتيجة تلوثه من السطول (أوانى الحليب) بالمزرعة، وتشمل بعض الأنواع السبحية مثل *S. liquefaciens*, *S. faecalis*, *S. thermophilus* ونظراً لأنها تحتاج لحرارة ٢٠° م لنموها فهي لا تنمو في اللبن المبستر إذا برد إلى ١٠° م أو أقل. وتضم هذه البكتيريا أيضاً *Microbacterium lactium* والأنواع المقاومة للحرارة التابعة لجنس *Micrococcus* مثل *Micrococcus candidus*, *M. luteus*

ii - بكتيريا محبة للحرارة Thermophilics: ودرجة حرارتها المثلى ٦٢,٨° م والصغرى ٣٠° م وتستطيع أن تنمو جيداً فى ٥٥° م ومن أمثلتها *Lactobacillus thermophilus*، ويزداد نشاط هذه البكتيريا فى حالة البسترة بطريقة الحجز نظراً لإنخفاض حرارة اللبن فى بعض أجزاء الحوض (نتيجة الرغاوى)، لذا ينصح بوقف عملية البسترة من وقت لآخر فى هذه الأجهزة لغسلها وتعقيمها، وقد تسبب هذه البكتيريا تخبثاً فى اللبن فمعظمها ينتج حمض لاكتيك. أما فى البسترة لحرارة عالية لوقت قصير فرغم عدم وجود فرصة لنمو البكتيريا المحبة للحرارة لصغر مدة الحجز (١٥ ث) إلا أن نموها قد ينحصر فى قسم التبادل الحرارى بين اللبن الخام والتام البسترة لملائمة درجة حرارته لنمو هذه البكتيريا (٦٢,٨° م)، وعليه فإنه إذا ظلت تعمل الأجهزة عدة ساعات بدون تعقيم، فإن هذه البكتيريا تتكاثر مسببه كثيراً من المتاعب، مما يستوجب العناية بنظافة هذا القسم وتعظيمه باستمرار.

وعموماً فعلمية تبريد اللبن المبستر والتي تصل لأقل من ١٠° م يودى لإيقاف نمو تلك البكتيريا المحبة للحرارة بعد البسترة.

ب- جراثيم البكتيريا المتجرثمة خصوصاً أفراد جنس *Bacillus* وأهمها *B. cereus* ومصدرها في اللبن الخام الأعلاف والحيوانات ومياه الغسيل والأواني، وينشأ عن وجودها في اللبن المبستر حدوث التجبن الحلو.

### ٢- العيوب الميكروبية التي قد تظهر في اللبن المغلي *Boiled milk*

عملية غلي اللبن هي عملية حرارية يتعرض لها اللبن لحرارة أشد من البسترة، حوالى ١٠٠ م° (بغلي اللبن في ١٠٠,٧ م°) ويفضل أن تتم في حمام مائي مع التقليب أثناء الغلي لعدة دقائق ثم التبريد بسرعة بغمر الإناء في ماء بارد.

ويقضى الغلي بالصورة السليمة على جميع الميكروبات غير المتجرثمة بما فيها الميكروبات المرضية، ولا يبقى بعد الغلي سوى البكتيريا المتجرثمة التابعة لجنس *Bacillus* والتي منها *B. cereus*, *B. coagulans*, *B. subtilis*, *B. picheniformis*, *B. circulans* والتي تنشط عند حفظ اللبن بعد غليه دون إستهلاك لبضعة أيام وتتكاثر محدثة بعض التغيرات غير المرغوبه التي منها التجبن الحلو وتحلل البروتين والطعم المر والطعم المؤكسد.

### ٣- العيوب الميكروبية التي قد تظهر في اللبن المعقم *Sterilized milk*

اللبن المعقم لبن عومل معاملة حرارية شديدة (١٠٥ - ١١٠ م° / ٢٥-٣٠ د) وذلك بالطريقة القديمة (الأبراج) أو (١٣٥ - ١٤٠ م° / ٢ ثنيه) بإستخدام البخار المضغوط ويعرف هذا النوع من التعقيم التجارى بإسم التسخين فوق العالى UHT (Ultra high temperature) وتؤدى التعقيم التجارى (تعريض اللبن الخام لحرارة التعقيم) إلى إبادة ما يحتويه من الخلايا الخضرية الخاصة بالبكتيريا والفطريات ولايتبقى إلا جراثيم العصويات *Bacillus* والكلوستريديا *Clostridia* وهذه أيضاً يقضى على الكثير منها.

ومن أهم العيوب الميكروبية في اللبن المعقم:

أ- التجبن الحلو *Sweet curdling*: تسببه الأنواع المتجرثمة من البكتيريا المحبة للحرارة المعتدلة *mesophilics* مثل *B. subtilis*, *B. cereus*.

- ب- المرارة Bitterness: نتيجة التحلل البروتيني ببكتريا *B. thermoacidurans*.
- ج- التجبن الحبيبي Granular clotting: تسببه الأنواع المتجرثمة من البكتريا المحبة للحرارة المرتفعة thermophilic.

#### ٤- العيوب الميكروبية التي قد تحدث في اللبن المكثف غير المحلى

##### Un sweetened condensed milk (evaporated milk لبن مبخر)

يعرف اللبن المكثف غير المحلى بأنه الناتج من تركيز اللبن الخام أو المنزوع دهنه، وذلك بالتخلص من جزء من مائه بحيث لا تقل عن نصف الكمية الموجودة أصلاً به. ومثل هذا النوع من اللبن به نسبة ماء تقدر بحوالى ٦٨ - ٧٤٪ ومعامل حرارياً عن طريق التعقيم.

وقد يحدث تلوث لهذا اللبن عن طريق دخول الميكروبات المفسدة إلى العبوات نتيجة لبعض القصور أثناء عملية التبريد والنقل ومن العيوب الميكروبية الناتجة عن هذا التلوث:

أ- التجبن الحمضى Acid coagulation: وتسببه بكتريا مقاومة للحرارة مثل *B. coagulans*, *B. stearothermophilus* وتنمو على ٣٧ °م وتسبب تجبن اللبن مع وجود نكهة الجبن وطعم مر.

ب- التجبن غير الحمضى Non acid curd coagulation: وتسببه بكتريا *B. subtilis* وهى تفرز أنزيماً يشبه الرنين، وقد يبقى الأنزيم نشطاً عند وجوده بكميات وافرة رغم حرارة التعقيم مما يؤدي لتجبن اللبن المكثف خلال التصنيع أو التخزين، ويصاحب التجبن هضم الخثرة وتفتتها وظهور لون بني وطعم مر.

ج- تجبن حمضى غازى: وتسببه بكتريا *B. megaterium* مع ظهور نكهة ورائحة الجبن. كما تسبب بكتريا *Clostridium* إنتفاخ العلب.

ورغم أن حرارة التعقيم ٢٤٠ - ٢٥٠ °ف / ١٥ - ٢٠ °د، سوف تقضى على البكتريا إلا أنها قد تفرز توكسينات سامة تسبب تسمماً غذائياً عند شرب اللبن المبخر الناتج.

## ٥- العيوب الميكروبية التي قد تظهر في اللبن المكثف المحلى

### Sweetend condensed milk

يعرف اللبن المكثف المحلى بأنه الناتج من تركيز اللبن الخام أو المنزوع دهنه، وذلك بالتخلص من جزء من مائه بحيث لا تقل عن نصف الكمية الموجودة أصلاً به بعد إضافة السكر إليه، وهذا اللبن به نسبة من الماء تقدر بحوالى ٢٥٪ ومعدل سكر حوالى ٤٤ - ٤٥٪ .

ومن العيوب الميكروبية للبن المكثف المحلى:

أ- تكوين الغازات: ومن الميكروبات المسئولة عن ذلك:

i - الخمائر ومصدرها عادة السكر المضاف ومنها *Torula lactis condensis*, *T. globosa*, *T. succharalis* وتسبب إنتفاخ العلب عند حفظها فى جو دافئ لمدة تزيد عن أسبوع نتيجة تخمر السكر وإنفصال الغازات وهى تحتاج لظروف هوائية لكى تبدأ نموها فى البداية (ويستمر النمو بعد ذلك فى ظروف لاهوائية) لذا فإن تعبئة اللبن المكثف المحلى فى علب مفرغة من الهواء يعمل على إيقاف نشاط تلك الخمائر.

ii - بكتريا: فقد تحتوى العلب بكتريا الكوليفورم *coliform* ولكنها لا تسبب التلف لعدم ملاءمة الوسط لنموها إلا أنه إذا فرض وبدأ السكر فى التبلور نتيجة عدم ضبط سرعة تبريد اللبن بعد التكتيف فإن بكتريا *E. aerogenes* قد تنمو منتجة كمية كبيرة من الغاز الذى يسبب إنتفاخ العلب.

كما أنه إذا تبلور السكر نتيجة لعدم ضبط سرعة تبريد اللبن بعد التكتيف فإن هذا يلائم (يشجع) بكتريا كوليسترديم *Cl. butyricum* على إنتاج الغاز.

ب- زيادة اللزوجة والقوام (الثخانة) Thickening: تكونها بعض أفراد من جنس *Micrococcus* مثل *M. freudenreichii* التى تقاوم الحرارة إذا تلوث اللبن أثناء تبريده وتعبئته ولهذه البكتريا القدرة على النمو فى تركيز مرتفع من السكر لتقوم بتحليل اللبن وإنتاج الحمض المسبب للثخانة وتكوين نكهة الجبن.

ج- تكون الأزرار Buttons: ويسببها بعض الفطريات منها *Aspergillus repens* حيث تنمو فى شكل مستعمرات عديمة اللون تكون كتلاً مختلطة مع اللبن المتخثر ومع الفطر. وتسبب هذه الفطريات أيضاً تغيرات حسيه (طعم مر ورائحة زنخه). ويعتبر الهواء ضرورياً لنمو هذه الفطريات لذا يجب التعبئة تحت تفريغ مع التخزين فى حرارة منخفضة.

### ٦- العيوب الميكروبية التى قد تظهر باللبن المجفف

يصنع اللبن المجفف من لبن كامل أو منزوع الدهن جزئياً أو كلياً بتبخير معظم مائه. ويحتوى الناتج ٣ - ٥% رطوبة وتوجد طريقتان أساسيتان للتجفيف التجارى: طريقة الإسطوانات (١٣٧ م°) وطريقة الرذاذ (٨٨ م°).

ويتوقف أعداد الكائنات الحية باللبن المجفف على عدة عوامل منها: العدد الأصلى باللبن الخام، مقاومة الأحياء الدقيقة للمعاملة الحرارية، درجة الحرارة المستخدمة ومدة التسخين.

ويلاحظ أن اعداد الكائنات الحية باللبن المجفف تتناقص عادة أثناء التخزين إلا إذا حدث ترطيب للبن المجفف مما يودى إلى زيادة أعداد الفطر والخميرة فقط مع عدم حدوث زيادة ملحوظة فى البكتريا قبل إسترجاع اللبن المجفف.

كما تختلف أعداد الكائنات الحية باللبن المجفف باختلاف طريقة التجفيف فيلاحظ أن:

أ- التجفيف بطريقة الإسطوانات تقضى على معظم الميكروبات عدا المتجرثمة منها نظراً لأرتفاع حرارة التجفيف، فلا يبقى سوى أعداد قليلة من جنس *Bacillus* مثل: *B. cereus*, *B. mesenteriens*, *B. megaterium* وهذه البكتريا يمكنها أن تنمو فى اللبن المسترجع *reconstituted* وتسبب التجبن الحلو.

ب- التجفيف بطريقة الرذاذ: تقضى على جميع الميكروبات عدا المتحملة للحرارة، لذا فهو يحتوى على أعداد تفوق الموجودة فى اللبن المجفف بالأسطوانات لأنخفاض درجة حرارة التجفيف.

ومن اهم الميكروبات فى هذا اللبن بعض أنواع من جنس Streptococcus مثل *S. durans*, *S. thermophilus*, *S. bovis* وبعض أنواع من جنس Micrococcus مثل *M. luteus*, *M. varians* وبعض الخمائر.

### ثالثاً : فساد المنتجات الدهنية ميكروبياً

#### ١- الفساد الميكروبي للقشدة ( عيوب القشدة الميكروبية )

تعرف القشدة بأنها الجزء من اللبن الغنى بالدهن (أكثر من ١٢٪). ومن أهم العيوب الميكروبية التي قد تظهر بالقشدة:

#### ١- زيادة الحموضة Increase of acidity

ويسببها مجموعة من الميكروبات المنتجة للحموضة، ومصدر هذه الميكروبات عادة اللبن الخام. ويظهر هذا العيب بكثرة فى القشدة غير المبسترة والمحفوظة لمدة طويلة فى أماكن دافئة، ومن أنواع البكتيريا المسببة لهذا العيب بكتريا تابعة للمجموعات التالية:

*Lactobacillus*, *Coliforms*, *Clostridium*, *Streptococcus*

#### ٢- المرارة Bitterness

وتسببها مجموعة من الميكروبات لها القدرة على تحلل البروتين وإنتاج مواد نيتروجينية بسيطة مثل البيبتونات والبيبتيدات لبعضها طعم مر. ومن أنواع البكتيريا المسببة لهذا العيب:

أ- بكتريا هوائية مكونه للجراثيم مثل *B. cereus*.

ب- بكتريا هوائية غير مكونه للجراثيم مثل:

*Pseudomonas spp*, *Proteus spp*, *Micrococcus spp*, *Streptococcus liquefaciens*

ج- بكتريا لاهوائية مكونه للجراثيم ومنها أنواع تابعة لجنس *Clostridium*.

### ٣- التزنخ والنكهة النفاذة Rancidity and strong off flavours

وتسببها مجموعة من الميكروبات لها القدرة على تحلل الدهن وتكوين أحماض دهنية قصيرة السلسلة بفعل ما تفرزه من إنزيمات الليبيز ومن هذه الميكروبات أ- بكتريا مثل:

*Achromobacter lipolyticum Pseudomonas fragi, Pseudomonas fluorescens*

ب- فطريات

### ٤- الرغوة Frothiness

تتكون الرغوة نتيجة تخمر اللاكتوز وإنتاج حمض اللاكتيك وغاز يظهر على هيئة فقاعات، ومن الميكروبات المسؤولة:

أ- بكتريا مثل *Bacterium aerogenes*

ب- خمائر مثل *Torula spherics, Torula cremoris*

### ٢- عيوب الزبد الميكروبي (الفساد الميكروبي للزبد)

يعرف الزبد بأنه الناتج من تجمع حبيبات دهن اللبن أو القشدة أو الشرش بالطرق اليدوية أو الآلية ويشترط فيه أن يكون طبيعياً فى طعمه وخواصه وتركيبه ومظهره خالياً من الشوائب والعيوب، غير محتوى على مواد غريبة أو حافظة سوى ملح الطعام.

ويعتبر التلف الميكروبي للزبد محدود بوجه عام ومن أهم عيوب الزبد الميكروبي.

١- عيوب النكهة

٢- عيوب اللون

أولاً: عيوب النكهة الميكروبي

### ١- الطعم النتن أو التعفن Putrid flavour, surface taint, putridity

من أكثر العيوب التى تسببها البكتريا فى الزبد، ويتميز العيب بالنكهة والرائحة التعفن والرائحة التى تبدأ على السطح ثم تمتد تدريجياً إلى داخل الزبد. ويحدث الفساد

على ٤ - ٧ °م خلال أسبوع. وترجع الرائحة التعفنفة نتيجة تحلل الكازين وتكوين أحماض عضوية خاصة أيزوفاليرك. وللتغلب على هذا العيب يراعى بستره القشدة وإستخدام بادئ نشط والتلميح والعناية بالنظافة. والميكروب المسئول عن ذلك هو *Pseudomonas putrificiens* مصدره التلوث من الماء فالميكروب مائي يتجمع فى الخضاضات وغيرها من أدوات الصناعة ولمنع هذا الفساد ينصح بأستخدام قشدة عالية الحموضة، مع إضافة أكثر من ٢٪ ملح طعام لصناعة الزبد حيث يقف نشاط هذا الميكروب عند تركيز ٣٪ ملح دون ٢٪.

## ٢- التزنخ (Rancidity (strong off flavour)

يرجع ذلك لتحلل الزبد لأحماض دهنية قصيرة السلسلة خاصة حمض البيوتريك ذو الرائحة النفاذة وذلك بفعل إنزيمات الليبيز الميكروبية ومن الميكروبات المسئولة عن ذلك:

أ- بكتريا ومنها:

i - *Ps. fluoescens* وهو ينمو فى الزبد المملحة (٢٪) ويسبب الطعم الفاكهى والزنج فى المنتجات الدهنية ويوجد فى الماء والتربة.

ii - *Ps. fragi* وهو حساس للملح ويوجد فى الماء والتربة واللبن الخام، وينمو ليعطى أولاً رائحة تشبه التفاح، ويعقب ذلك ظهور الطعم الفاكهى فى الزبد غير المملح.

iii - *Achromobacter lipolyticum*

ب- خمائر ومنها *Odium lactis, Clodosporium butyric, Penicillium spp*

## ٣- الطعم السمكى Fishy flavour

يرجع لتحلل الليثسين وتكوين ترائى ميثيل أمين Trimethyl amine والمسئول عن هذا الطعم عند وجوده فى صورة حرة. والبكتريا المسئولة عن ذلك:

(بعضها) *Ps. fluoescens, Ps. ichthiasma, Coliform*

## ٤- نكهة الشعير المنقوع Maltiness, Malty flavour

وتظهر فى المراحل الأولى من التصنيع والمسئول عنها بكتريا *Str. lactis var. multigenes*

## ثانياً: عيوب اللون الميكروبي

تعتبر من أهم العيوب التي تحدث بالزبد وهي تحدث بفعل:

### أ- الفطريات (عيوب اللون الفطرية):

وتوجد عيوب اللون الناشئة عن الفطريات على السطح غالباً حيث يتوفر لها الأكسجين وبعض الرطوبة المكثفة، بالإضافة إلى إحتمال وجود بعض المواد الغذائية في ورق اللف. ويتلون الزبد بلون هيفات الفطر، لذا تظهر بألوان مختلفة الشائع منها الأسود والبنى والأخضر والأحمر

i - اللون الأسود أو البقع السوداء: ومن الفطريات المسببه له الأجناس الآتية:

Mucor, Rhizopus, Cladosperium خاصة *Cladosperium herbarum* إذ نجد ان هذا الفطر يمكنه النمو عند نقص الأكسجين، لذا نجد ان اللون المذكور يتخلل الزبد من الداخل. كما يمكن لفطر *Stemophyllum* من النمو وتكوين بقع سوداء صغيرة، كما تسبب خميرة *Torula niger* بقعاً سوداء.

ii - بقع بنية: من الأجناس المسئولة عن ذلك جنس *Alternaria* إذ تكون بقع بنية كبيرة.

iii - بقع حمراء: يسببها فطر *Fusarium* كما تسببه خميرة *Torula rosa*.

iv - بقع خضراء مزرققة: تسببها فطريات من أجناس *Penicillium, Aspergillus* ورغم أن الفطريات تنمو عادة على سطح الزبد، ولكن في حالة الإصابة الشديدة فإنها تنمو على سطح ورق التغليف والأسطح الداخلية للصناديق، وتظهر عيوب اللون.

### ب- البكتريا:

فيما يختص بعيوب اللون البكتيري فهذه مرجعها أساساً إلى بكتريا *Ps.nigrifaciens* والذي يمكنه النمو على درجات حرارة منخفضة (مقاوم للبرودة Psychrotrophic). ويسبب إسوداد اللون وهذا يبلغ أقصاه في الزبد المحتوى ٢٪ ملح (الميكروب المذكور يتحمل ١,٥ - ٢,٥٪ ملح).

### ملاحظة:

تظهر عيوب اللون في الزبد غير المملحة بدرجة أكبر مما يظهر في الزبد المملح. وتظهر هذه العيوب كحالات متفرقة - (تتبع) وإنما أحياناً تظهر بشكل وبائي.

### رابعاً: عيوب الجبن الميكروبية (التلف الميكروبي للجبن)

الجبن هو الناتج الطازج أو المسوى المتحصل عليه بتصفية الشرش بعد تجبن اللبن الكامل أو المنزوع الدسم كلياً أو جزئياً، أو اللبن الخض أو الشرش، ويجب أن يكون الجبن طبيعياً في صفاته الخاصة بالنوع من حيث طعمه وتركيبه ولونه.

ويمكن تقسيم العيوب الميكروبية بالجبن إلى:

- ١- عيوب في الطعم
- ٢- عيوب في اللون
- ٣- عيوب في القوام والتركيب
- ٤- عيوب في المظهر
- ١- عيوب الطعم

أ- زيادة الحموضة: Over acidity

ويظهر هذا العيب خاصة في الجبن الطرية نتيجة زيادة البادئ أو تلوث الخثرة بالميكروبات المنتجة لحمض اللاكتيك. ويمكن كشف زيادة الحموضة عند إمرار عينة من الجبن اسفل الأنف، كما أنه عند تذوق العينة نلاحظ إحساساً سريعاً بالطعم والذي يختفي بسرعة تاركاً الفم خالياً من أى إحساس بعيب الطعم. وعادة ما يكون الطعم زائد الحموضة مصحوباً بلون باهت مبيض.

ب- الطعم الفطري والخماترى:

ويشبه هذا الطعم رائحة السرداب الرطب ضعيف التهوية، ويمكن التعرف عليه بسهولة بعد التذوق ويسببه نمو الخمائر في الجبن.

ج- الطعم المر Bitterness

وقد يوجد في الجبن الطازج أو متوسط التسوية ولكنه أكثر وضوحاً في الجبن المسوى، ويرجع ذلك لإستخدام بادئ بطئ إنتاج الحموضة، مما يسمح بنمو أنواع عديدة من البكتريا كانت لاتنمو تحت الظروف الطبيعية من سرعة الحموضة. ومن هذه البكتريا: أنواع من العصويات Bacillus والتي تسبب تحلل البروتين إلى أحماض أمينية وبيتونات ذات طعم مر.

#### د- الطعم الزنخ Rancidity

وهو أقل ظهوراً في الجبن المصنوع من لبن مبستر عنه من لبن خام، كما انه أكثر ظهوراً في الجبن المسوى أو متوسط التسوية. وينشأ نتيجة فعل إنزيمات الليباز وإنتاج حمض البيوتريك. ويكون الطعم مرأ صابونياً غير مرغوب فيه. ويشعر الإنسان بهذا الطعم عادة بعد التذوق. ومن هذه البكتريا ما هو تابع لأجناس *Pseudomonas*, *Micrococcus* وهذا العيب نادر الحدوث في الجبن القريش.

#### ٢- عيوب اللون

تحدث تغيرات اللون أساساً على سطح الجبن، وقد تحدث داخل الجبن، وهى عبارة عن بقع تختلف طبيعتها من سمراء أو بيضاء إلى بقع صداداً أو بقع حمراء وتنتشأ عن نمو سلالات بكتيرية فمثلاً:

اللون الأسود: يسببه *Bacillus subtilis v. niger*، اللون الأحمر أو الأصفر يسببه أنواع *Micrococcus* والبقع الصدديه *rusty spots* الداخلية تسببه بكتريا *Lactobacillus plantarum var. rudenis* كما تنتشأ هذه الألوان عن نمو بعض الفطريات والخمائر ومن أمثلتها ما يتبع الأجناس التالية:

*Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosperium*, *Ultermaria*, *Geotricum*, *Oospora*.

#### ٣- عيوب القوام

قوام عجيني أو لزج أو سيولة قوام الجبن *Liquifaction*, *sliminess*, *flowing cheese* تسببه بكتريا مثل *S. liquefaciens*, *Proteus spp* وفطريات مثل أنواع تابعة لجنس *Mucor* وهذه جميعاً تسبب تحلل الكازين *Caseinolytic* وتحول الجبن إلى عجينة ممزقة تميل للإلتصاق بالأصابع كما تسبب سيولة قوام الجبن *Flowing cheese* نتيجة شدة هضم الكازين.

#### ٤- عيوب التركيب

التركيب الغازى (تكوين الغازات) أو الثقوب (*Holeyness* (Openness) يعتبر تكون الغازات في الجبن من أسوء العيوب وأكثرها خطورة على جودة الناتج بإستثناء الأصناف التى تتطلب وجود الثقوب الغازية بداخلها مثل (الأمنتال) أو (الجروبير).

وتتكون الثقوب نتيجة لوجود الميكروبات المنتجة لحمض اللاكتيك والتي تخمر اللاكتوز مع إنتاج غاز يؤدي إلى تكوين الثقوب المختلفة في الشكل والحجم إما على السطح أو داخل الخثرة. وينقسم التخمر الحادث والمسئول عن تكوين الغازات إلى:

#### أ- تخمر مبكر Early fermentation

وفيه يحدث إنتاج الغاز في المراحل المبكرة سواء أثناء التصنيع أو بعد مرور ٢ - ٣ أيام من الصناعة ويتوقف ذلك على أعداد الميكروبات وأنواعها، ويحدث إنتاج الغاز بشدة خلال التصنيع في غالبية أصناف الجبن فقط عند استعمال ألبان شديدة التلوث ببكتريا الكوليفورم والتي تشمل الجنس *Aerobacter*, *Escherichia* ويكون الغاز الناتج عبارة عن مزيج من  $H_2$ ,  $CO_2$  ونظراً لإرتفاع قابلية ذوبان  $CO_2$  فإنه يؤدي إلى إكتساب الجبن القوام الإسفنجي، في حين يتسرب الهيدروجين على صورة غاز من داخل الجبن مسبباً تشققات.

وتختلف نوعية الثقوب المتكونة في هذا التخمر باختلاف الميكروب المسبب لها، فالثقوب التي تتكون ببكتريا الكوليفورم تتميز بحواف غير منتظمة مع وجودها على سطح الجبن، بالإضافة إلى ظهور نكهة غير مرغوبة إذا كانت الإيشريشيا من أصل غائطي *True faecal E. coli*.

كما قد يحدث التخمر المبكر بفعل بعض الخمائر مثل:

*Torula spherica*, *Torula cremoris* وتتميز الثقوب المتكونة بفعل هذه الخمائر بأنها تشبه عين السمكة (Fish - eye shape) مع وجود غطاء أملس ولامع، وتظهر الثقوب أيضاً على سطح الجبن.

#### ب- تخمر متأخر Late fermentation

وتتميز الثقوب المتكونة في حالة التخمر المتأخر بوجودها داخل الجبن حيث تسببها بكتريا لاهوائية مثل *Clostridium perfringens*، وتكون هذه الثقوب يكون واضحاً بعد مرور بضعة أسابيع من الصناعة، والغاز في التخمر المتأخر يحتوى نسبة مرتفعة من  $H_2$  مما يؤدي إلى حدوث ثقوب وتشققات كبيرة الحجم في أقراص الجبن. ويمكن التغلب على هذا العيب (تكون الغازات) بإستخدام بادئات تحوى سلالات منتجة للمضاد الحيوى نيسين Nisin والتابعة لـ *S. lactis* حيث توقف نمو أنواع جنس *Clostridium*.

## ٢- عيوب المظهر الحيويه:

### أ- تعفن القشرة:

نظراً لحموضة الجبن وإنخفاض نسبة الرطوبة فيه يتعرض عادة للفساد بالعفن (الفطر) الذى ينمو على السطح أو فى الشقوق الموجودة بالجبن، ويظهر على صورة مسطحات بنية اللون غير منتظمة الشكل ويكون أحياناً مصحوباً بمرارة شديدة خاصة فى الأجزاء المصابة. وتلف الجبن بواسطة العفن يعتبر من أكبر المشاكل التى تواجه صناعته وتعوق تسويقه. فبالرغم من وجود أنواع من فطريات معينة تدخل فى عمل بعض أنواع الجبن وإنضاجها، فإن نمو الفطريات على الجزء الخارجى لغالبية الجبن يعتبر أمراً غير مرغوب فهو يشوه الجبن. ومن الفطريات التى تجد الجبن وسطاً غذائياً ممتاز لنموها: أنواع تابعة لأجناس

Mucor, Penicillium, Aspergillus, Cladosperium, Monilia, Alternaria, Geotricam

وتوجد طرق عديدة تفيد فى الحد من نشاط الفطر أو تمنع نموه، من هذه الطرق:

- i - إستعمال دهانات توقف نمو الفطر Fungistatic paints أو تغليف الجبن بأغلفة من مادة البلاستيك تحتوى مواد كيميائية مانعة للفطر مثل حمض البروبيونيك أو السوربيك. أو تغطية السطح الخارجى للجبن بالشمع السائل.
- ii - إستخدام منتجات الأوزون أو مولداته لمنع نمو الفطر ووقف نشاطه، إلا أنه يجب إستعمال تركيزاً مرتفعاً وهذا التركيز يسبب أكسدة الدهن.
- iii - العناية بغرف التغليف والتخزين: فيجب تنظيف الغرف والأدوات عدة مرات لمنع نمو الفطر عليها، ويوصى بإستخدام الأشعة فوق البنفسجية مع تنقية أو ترشيح هواء هذه الغرف.

### ب- الإصابة بالحلم Cheese mites

ويعتبر حلم الجبن من أهم الأفات التى تصيب الجبن، وتؤدى لتلفه وفقد كمية كبيرة منه مما ينشأ عنه خسارة إقتصادية كبيرة. ومن علامات الإصابة بالحلم:

- i - وجود تراب ناعم جداً غامق اللون على سطح الجبن القديم ورفوف الجبن.
- ii - بالفحص بالمجهر يمكن مشاهدة الحلم حياً وميتاً وكذا نواتج إخراجة خاصة فى الشقوق وتحت الشمع المكسور.

iii - قد يلاحظ ذبابة الجبن أحياناً.

ومن أسباب إصابة الجبن بالحلم:

i - التشقق الميكانيكى لأقراص الجبن.

ii - عدم العناية بتغليف وتشميع أقراص الجبن وعدم العناية الصحية فى تداول وتخزين وتسويق الجبن.

ومن وسائل مقاومة الحلم والوقاية منه:

١- مقاومة الفطر إذ توجد علاقة وطيدة بين نشاط الحلم بالجبن والتلوث بالفطر.

٢- دهن سطح الجبن ببعض الزيوت النباتية مثل زيت بذرة القطن فقد أدت هذه المعاملة إلى موت معظم الحلم بعد ٣ - ٧ أيام من المعاملة، وكان للمعاملة تأثير واقى لمدة أسبوعين بعد المعاملة، وقد يعزى تأثير الزيت إلى كونه كمادة عازلة على سطح الجبن وشقوقه تقلل من وصول الهواء للحلم.

٣- رش ويفضل غمس الجبن المصاب فى مخلوط من أيدروكسيد الكالسيوم ١٢٪، ٨٪ كلوريد صوديوم (١٢٠ جم  $Ca(OH)_2$  + ٨٠ جم NaCl تذاب فى لتر) فقد أدت هذه المعاملة لإبادة معظم الحلم الموجود بالجبن فى مدة ٢ - ٥ أيام بعد الرش مع إستمرار الأثر الواقى لمدة أسبوعين.

٤- تدخين حجرات التسوية بالغاز الناتج من تفاعل:

(٥٠ جم برمنجانات البوتاسيوم + ١٠٠ مل فورمالين) فقد نجحت الطريقة فى قتل جميع أطوار الحلم. ويكفى الغاز الناتج من تفاعل الكميات السابقة من البرمنجانات والفورمالين لمتراً مكعباً من مكان تخزين الجبن. وقد أمكن بهذه الطريقة تخزين الجبن الخالى من الحلم فى المكان المدخن بهذه الطريقة لمدة ٤٠ يوماً دون ظهور إصابة جديدة بالحلم.

### خامساً: الفساد الميكروبي للبادئات

تعتبر إصابة البادئات بالبكتريوفاج أهم عوامل فسادها وعيوبها. والبكتريوفاج bacteriophage عبارة عن فيروس يهاجم البكتريا وهو متخصص لكل سلالة من بكتريا البادئ نوع معين من الفيروس. ويتمثل دور الفيروس فى مهاجمة الخلية البكتيرية والتكاثر بداخلها وتحويل محتوياتها إلى فيروسات جديدة تخرج لتهاجم خلايا بكتيريه

أخرى وبذلك يفقد البادئ نشاطه ويزداد ضرر البكتريوفاج إذا كان البادئ مكوناً من سلالة بكتيرية واحدة لذا يستحسن أن يكون البادئ خليط من عدة سلالات بجانب ذلك يجب مراعاة:

١- عند الإصابة يجب الحصول على بادئ جديد يحتوى سلالات مقاومة للبكتريوفاج.

٢- العناية بتعقيم الأجهزة والأوعية المستخدمة بالحرارة أو كيميائياً بمحلول فوق الكلوريد.

٣- تجديد البادئ تحت ظروف معقمة منعاً من التلوث.

### وسائل الوقاية أو الحد من أضرار التلوث الميكروبي للبن ومنتجاته

من وسائل الحد من تلوث اللين ومنتجاته بالميكروبات:

١- الحد من التلوث البيئي Reduction of enviromental contamination وتتضمن ذلك العناية بالحيوان، القائمين بالإنتاج والتصنيع، المزرعة، المصنع، نظافة الأدوات والمعدات.

٢- تقليل الحمل الميكروبي باللين ومنتجاته: يجب أن نشير هنا أن مقاومة الميكروبات أو القضاء عليها بعد وصولها للبن ليس بالأمر السهل ولا بالأمر المجدي بالمقارنة مع الحيلولة دون حدوث التلف من البداية. وعموماً فمن وسائل تقليل الحمل الميكروبي: التبريد والمعاملات الحرارية - الوسائل الميكانيكية - المواد الحافظة الكيماوية - الإشعاع - التكنولوجيا الحيوية.

### أولاً: الحد من التلوث البيئي

#### ١- العناية بصحة الحيوان

يتوقف عدد البكتيريا الموجودة في اللبن الناتج من حيوان ما على سلامة الحيوان ونظافته وسلامة ضرعه لذا يجب مراعاة:

١- إجراء الإختبارات الدورية على حيوانات المزرعة مثل إختبارات السل والبروسيللا وإلتهاب الضرع، مع عزل الحيوانات المريضة من القطيع خاصة التي تعاني من إلتهاب الضرع في ربع أو أكثر، إذ غالباً ما يحتوى ألبان هذه الحيوانات بجانب البكتيريا المسؤولة عن إلتهاب الضرع (*Str. agalactia*, *Str. pyogenes*, *Staph aureus*)

وميكروبات مرضية أخرى منها *Corynebacterium spp.*، *L. monocytogenes*، بكتريا السل *Coxilla burnetti*، *Mycobacterium spp.* خاصة في إلتهاب الضرع المزمن، كما أن بعض الفيروسات مثل FDM Polio قد توجد فى هذا اللبن المصاب بالإلتهاب المزمن.

٢- عزل الحيوانات الجديدة عن القطيع حتى التأكد من سلامتها.

٣- إستبعاد قطرات الحليب الأولى (Fore- milk) لإحتوائه على نسبة عالية من الميكروبات وذلك فى إناء خاص، وقد يستخدم فى تغذية الحيوانات والعجول.

٤- تطهير الحيوان مرة أو مرتين يومياً لإزالة ما يعلق بجسمه من أوساخ مع إزالة الشعر الطويل الموجود على الضرع والمنطقة الخلفية، مع غسل ضرع الحيوان قبل الحليب مباشرة بماء نظيف، يفضل أن يضاف إليه هيبوكلوريت الصوديوم بنسبة ٨٠ جم / ١٠ لتر ماء، ويفضل تدفئة ماء الغسيل فى فصل الشتاء، ثم تجفف هذه الأجزاء المبللة بإستعمال قطعة قماش نظيفة (يجب أن يغسل هذا القماش ويغلى لتعقيمه قبل أن يكون معداً للإستعمال فى الأيام التالية) وبعد عملية الغسيل والتجفيف هذه يمسح الضرع والحلمات بقطعة قماش أخرى أو ورق نشاف مبلل بمحلول مطهر مثل محلول الكلور فى الماء (الهيبوكلوريت) بتركيز ٢٠٠ - ٢٥٠ جزء كلور فى كل مليون جزء ماء. يجرى ذلك كله قبل السماح للماشية بالرقاد على الأرض حتى لايتلوث الضرع مرة أخرى.

## ٢- القائمون بالإنتاج والتصنيع

يجب أن يكون القائمون بالإنتاج والتصنيع يتمتعون بصحة جيدة مع خلوهم من الأمراض المعدية وألا يكونوا حاملين لها ويستحسن إجراء الكشف الطبى عليهم فى فترات متقاربة للتأكد من سلامتهم وخلوهم من الأمراض.

وعلى القائمين بالإنتاج والتصنيع الإهتمام بنظافتهم الشخصية ونظافة ملابسهم الداخلية والخارجية ويفضل لبس لباساً خاصاً بالإنتاج والتصنيع وأن يحتفظ به نظيفاً بإستمرار.

ورغم أن إستعمال آلة الحلب تقى اللبن من القاذورات والبكتريا العالقة بالماشية وأيدى الحلاب وكذا التلوث من الهواء، إلا أن إستخدام آلة الحلب يتطلب توفير عناية كبيرة فى نظافتها بين كل حلبه وأخرى وإلا كانت مصدراً خطيراً للتلوث.

### ٣- جو المزرعة (الإسطبل) والمصنع

١- يجب أن يكون الإسطبل والمصنع سهل التنظيف ومجهزاً بمجارى سهل جريان الماء فيها بما تحمله من أوساخ، ومزوداً بماء نظيف تكفى للغسيل، مع مراعاة جودة الإضاءة والتهوية وتجهيز فتحات الإسطبل والمصنع بشبكة من السلك لمنع دخول الذباب والحشرات.

٢- تجنب إعطاء العلائق الجافة للماشية قبل الحلب مباشرة أو أثناءه، وكذا تجنب تنظيفه قبل الحلب أو أثناءه منعاً لإثارة الغبار ويفضل رش الحظيرة بالماء رشاً خفيفاً لمنع تطاير الغبار.

٣- العناية بتهوية جو المصنع، فالتهوية الجيدة تزيل الرطوبة الناتجة أثناء التصنيع، مما يحافظ على الأجهزة ويمنع نمو الفطريات على الأسطح، مع ضرورة تنقية الهواء الداخل لجو المصنع بواسطة مرشحات عالية الكفاءة لخفض المحتوى البكتيرى، إذ أن التهوية بدون مرشحات تزيد من احتمالات التلوث عن طريق الهواء.

٤- ويجب أن يكون ضغط الهواء داخل الغرف التى يتم فيها تعبئة المنتجات تحت ظروف معقمة أعلى مما فى الخارج، وأن يكون هناك حيز مفصول بجدار زجاجى لكل جهاز تعبئة وهذا يسمح للمختصين والزوار بمتابعة عمل الأجهزة دون الدخول إلى الغرف.

٥- يجب تغيير الهواء فى جو المصنع بمعدل ٥ - ٨ مرات / ساعة ويحسب حجم الهواء م<sup>٣</sup> بضرب مساحة ارضية الغرفة م<sup>٢</sup> × ٣ (أى يعادل ٣ أمثال مربع الأرضية).

### ٤- نظافة الأدوات والمعدات

تعتبر نظافة وتطهير (تعقيم) أدوات وأجهزة اللبن ومنتجاته من العمليات الهامة فى مزارع ومصانع الألبان ويتطلب ذلك خطوتين أساسيتين هما:

- ١- النظافة
- ٢- التعقيم (التطهير)

## أ- النظافة

التنظيف عملية الغرض منها تنظيف أواني وأجهزة الألبان أى إزالة الجوامد اللبنية والمواد الأخرى لتصبح الأسطح نظيفة صالحة لعملية التعقيم.

وتعرف المنظفات Detergents بأنها مواد كيميائية تزيد من قدرة الماء على إزالة القاذورات سواء كانت عضوية أم غير عضوية ومن الخواص الواجب توافرها فى المنظفات:

١- ألا تؤدي إلى تآكل الأسطح. فمثلاً عند غسيل الأدوات المصنوعة من الألمونيوم لاينصح باستعمال مواد تنظيف تدخل الصودا الكاوية فى تركيبها، بينما يمكن استخدام هذه المواد فى تنظيف الصلب غير القابل للصدأ دون أن يحدث للمعدن تأثير، ويلاحظ أن الأحماض أقوى فى تأثيرها من ناحية تآكل الأسطح عن القلويات خصوصاً عند توافر الكلور.

٢- أن يكون لها القدرة على تيسير الماء أى تمنع ترسيب أملاح الكالسيوم والماغنسيوم الموجودة بالماء العسر على أسطح المعادن، كما تمنع (تفاعلياً) إختلاط هذه الأملاح مع متبقيات اللبن مكونة مايسمى باللبن المتحجر milk stones على أسطح الأواني، لذا قد يضاف إلى هذه المياه مايعرف بالمواد الحاجزة Sequesting agents أو بالمواد المحسنة لخواص الماء water conditioning وهذه المواد تمنع المعادن المسببه للعسر (كالسيوم - ماغنسيوم) من الترسب وتجعلها على هيئة معلق ميكروسكوبى لا يؤثر على فاعلية المادة المنظفة.

٣- أن تحتوى مواد لها خاصية الترطيب أو التنديية أو البلل (wetting agents) wetting ability وهى مواد تساعد المنظف أن ينفذ ويبلل القاذورات العالقة بالسطح المراد تنظيفه.

٤- أن يكون لها القدرة على الإستحلاب أى التفاعل مع الدهون وتكوين تصبن يسهل إزالة هذه الدهون من أسطح الأواني مما يسهل الغسيل.

٥- غير سام ولايتترك شوائباً وغير مهيج لجلد القائمين بعملية التنظيف، مع سهولة التخلص منه بالمشطف والغسيل وأن يكون إقتصادياً ومتوافراً بالأسواق.

ويلاحظ أنه لا توجد مادة تنظيف يمكن بمفردها أن تعطى كل الخواص السابقة. لذا نجد أن جميع مواد التنظيف المستخدمة هي عبارة عن خليط من عدة مواد تعطى مجتمعة مع بعضها التأثير المنظف المطلوب.

تقسيم مواد التنظيف: يمكن تقسيم مواد التنظيف إلى الأقسام التالية:

١- منظفات قلوية: Alkaline detergents

وهي تقوم بإعطاء OH فى الوسط ولها القدرة على إذابة الدهن والبروتين كما لها فاعلية فى قتل الميكروبات وتختلف هذه الفاعلية باختلاف قلويتها ويبين الجدول (٣٦) أهم المنظفات القلوية:

جدول (٣٦) أهم المنظفات القلوية مميزاتا وعيوبها

| العيوب                                                                                                                    | المميزات                                                                                                                                                                        | المنظف القلوى                                                 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| ١- صعوبة إزالتها من الأسطح<br>٢- تلف المواد الخشبية<br>٣- تأثيرها التآكل على الجلد<br>والمعادن عدا الصلب غير القابل للصدأ | أقوى المنظفات قدرة على قتل الميكروبات وإزالة اللبن المتحجر                                                                                                                      | الصودا الكاوية<br>ويستخدم بتركيز ٠,٢ - ٢٪<br>(محلول ١٪ pH ١٢) |
| تأثيرها المطهر محدود فهى أقل فاعلية من NaOH                                                                               | إستحلاب الدهون وسهولة إزالتها                                                                                                                                                   | كربونات الصوديوم ٠,٢٪<br>محلول ١٪ pH ٩ - ١٠                   |
| لا تعتبر مادة تنظيف قائمة بذاتها لضعف قلويتها، لذا تضاف إلى مواد تنظيف أخرى لتحسن من صفاتها                               | لها خاصية ترطيب وبلل ممايساعد فى<br>١- إستحلاب الدهن<br>٢- سهولة إزالتها من الأسطح<br>٣- إعطاء لمعان للألات المصنوعة من الألمونيوم<br>٤- ليس لها تأثير تآكل على الأسطح المعدنية | ميتاسليكات الصوديوم<br>تستخدم بتركيز ٠,٢ - ٠,٠٥٪              |
| ضعيفة فى قدرتها على إذابة اللبن المتحجر                                                                                   | ١- إستحلاب الدهن<br>٢- سهولة إزالتها من الأسطح                                                                                                                                  | فوسفات الصوديوم الثلاثية                                      |

## ٢- المنظفات الحمضية Acid detergents

ترجع فاعليتها إلى إنطلاق  $H^+$  وتستخدم بتركيز ٠,١٪، pH لها ٦,٥ - ٦,٨. وهي إما أحماض عضوية ضعيفة مثل حمض الخليك والستريك، أو أحماض معدنية مثل الفوسفوريك والنتريك والهيدروكلوريك.

مميزاتها: قدرتها على إذابة بقايا أملاح الكالسيوم والماغنسيوم المترسبة على الأواني والتي تؤدي لتكون حجر اللبن نتيجة استخدام الماء العسر.

عيوبها: لاينصح باستخدامها لخطورتها على العمال كما أنها ذات تأثير تآكلي كبير.

## ٣- المنظفات المتعادلة Neutral detergents

ومن أمثلتها الصابون ومركبات الأمونيوم الرباعية وهي تتميز بقطبيتها لذا تذوب في الدهون ولها خاصية الترتيب كما ان لها تأثير مطهر.

## ٤- منظفات محسنة لخواص الماء Sequestering agents

ومن أمثلتها مادة فوسفات الصوديوم Sodium hexameta phosphate وترجع أهميتها في إذابة كربونات الكالسيوم وكذا جعل الكازين في صورة مفككة يسهل إذابته في محلول الغسيل.

ولكربونات الكالسيوم المتكونه على الأسطح المعدنية آثار غير مرغوبة، فهي تضعف من قوة المحاليل القلوية المستخدمة في التنظيف، وبالتالي تقلل من قيمة أو كفاءة عملية الغسيل. وهذه المنظفات تربط أملاح الكالسيوم والماغنسيوم في الماء العسر وتحوله إلى ماء يسر.

## تكوين مستحضر التنظيف Formation of detergent

يجب أن يشتمل المستحضر المكونات الآتية:

١- مواد منتجة للقلوية خليط من كربونات الصوديوم وميتاسليكات الصوديوم بنسبة ٣ : ٢.

٢- مواد محسنة لخواص الماء (فوسفات الصوديوم Sodium hexameta phosphate)

٣- مواد مبللة او مرطبة (مركبات الأمونيوم الرباعية).

## طرق التنظيف

يمكن تلخيص طرق التنظيف فى معامل ومصانع الألبان فيما يلى:

### ١- التنظيف اليدوى: Manual cleaning methods

ويستخدم ذلك النظام فى وحدات الإنتاج الصغيرة حيث الأدوات والأجهزة صغيرة يسهل فكها وغسلها باليد. وترتب خطوات الغسيل كما يلى:

أ- تفكك جميع الأجزاء والوصلات.

ب- الغسيل المبدئ بماء مقبول (مستساغ) حرارته ٢٠- ٣٠ م°.

ج- الغسيل بالمنظفات بعد تحضيرها بالتركيز المناسب، وأن تكون درجة حرارة محاليل التنظيف ٤٠- ٥٠ م° مع استخدام الفرش المناسبة. ويستخدم المنظف القلوى لتصبين الدهن ونزع المواد الغريبة، والمنظف الحمضى لإزالة اللبن المتحجر ويستخدم المنظف الحمضى بانتظام فى اليوم الرابع بدلاً من المنظف القلوى، أى الغسيل ثلاثة أيام بالمنظف القلوى ثم يوم بالمنظف الحمضى على التوالى وعند استخدام الماء العسر يراعى إضافة كربونات الصوديوم بنسبة ٢,٠٪ لمنع ترسيب أملاح الكالسيوم والماغنسيوم.

د- الشطف بماء فاتر لإزالة محلول التنظيف وكلما زادت حرارة ماء الشطف كان ذلك أفضل على أن يكون الماء المستخدم عالى الجودة.

هـ- التعقيم بمعقم مناسب لقتل الميكروبات (الغمر فى ماء ساخن أو التعقيم بالكيماويات).

### ٢- تنظيف الأجهزة خارج مكانها Cleaning out place (COP) method

أ- وفى هذا النظام توضع كل الأجزاء المفككة والمشطوفة مبدئياً (خطوة أ، ب من التنظيف اليدوى) فى تنك كبير مملوء بالماء الساخن (٨٠ م°) ثم تضاف الكميات المطلوبة من المنظفات وتدار دورة الغسيل لمدة ٣٠ د تحت ضغط.

ب- يتم التخلص من محاليل التنظيف إما فى البالوعات أو تجمع لأغراض التنظيف الأخرى.

ج- تشطف الأجزاء بتيار مستمر من الماء، ثم يتم التخلص من ماء الشطف ويتم التعقيم بمعقم مناسب.

### ٣- تنظيف الأجهزة في مكانها (التنظيف المركزي) Cleaning in - place method

هذا النظام مصمم هندسياً لتنظيف أجهزة المصنع دون فك الأجزاء ومن مميزاته:  
أ- تقليل تدخل العنصر البشري في عملية التنظيف وتوفير الأمان للعاملين بالمصنع.

ب- توفير الوقت وكمية المنظفات المستخدمة والبخار ومواد التعقيم.

ج- تحسين الناحية الصحية إذ يربط النظام بين الفعل الكيماوي للمنظفات والفعل الطبيعي لدوران المحاليل (الفيزيائي) وتعتمد كفاءة التنظيف بنظام التنظيف المركزي على دقة التحكم في وقت المعاملة والحرارة ونوع المنظفات وتركيزها والفعل الفيزيائي للمحلول (سرعة سريانه ونوعية السريان) وهذا يعتمد على تصميم النظام واختيار المضخات المناسبة.

#### خطوات عملية التنظيف بطريقة التنظيف المركزي:

- ١- شطف الأنابيب جيداً بالماء النظيف بأسرع وقت ممكن بعد إنتهاء عملية التصنيع.
- ٢- غسل ونظافة زوايا الأنابيب المرتبطة والقطع المستخدمه فى الربط والحلقات المطاطيه بصورة جيده قبل إجراء التنظيف المركزي.
- ٣- تركيب مضخات وأنابيب التوصيل.
- ٤- إجراء عمليات التنظيف والتطهير لكل دورة من CIP حسب توصيات منتجى الأجهزة ومواد التنظيف.

#### ٢- التعقيم (التطهير)

تعرف المطهرات بأنها مواد تستخدم لتقليل الحمل الميكروبي المتبقى على الأسطح بعد غسلها وشطفها أو القضاء عليها. وفي هذا المجال توجد عدة تعريفات:  
Antimicrobial agents: مواد تؤدي إلى قتل أو تثبيط الكائنات الحية الدقيقة.  
Bactericidal: مواد تؤدي إلى قتل البكتريا.  
Sporicidal: مواد تؤدي إلى القضاء على الجراثيم.  
Sterilizers: مواد تؤدي إلى القضاء على الخلايا الحية أى كان نوعها فى الوسط.  
Saintizers: مواد تؤدي إلى خفض الحمل الميكروبي إلى الحد الآمن للصحة العامة.

Antispetics: مواد تستخدم لمنع التلوث عن طريق قتل أو تثبيط نمو الميكروبات المرضية.

Bacteriostatic: مواد تمنع نمو البكتريا ولكن لاتقضى عليها.

Fungistatic: مواد تمنع نمو الفطريات ولكن لاتقضى عليها.

العوامل المؤثرة فى عملية التطهير: يتوقف تأثير المواد المطهرة على:

١- الحمل الميكروبي

٢- نوع الميكروب

٣- مدة التعرض للمطهر

٤- درجة الحرارة

٥- الوسط الموجود به الميكروب خاصة ما بالوسط من مواد عضويه

### وسائل التعقيم

يتم التعقيم إما بإستعمال المواد الكيميائية أو بالحرارة وتسمى التعقيم بالحرارة بإسم التعقيم الطبيعى Physical sterilization كما تستخدم الأشعة المؤينه وفوق البنفسجية فى التعقيم.

| مميزات التعقيم الكيماوى           | عيوب التعقيم الحرارى                                             |
|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| ١- تعمل على قتل الميكروبات بسرعة  | ١- صعوبة الوصول والحصول على درجة الحرارة المطلوبه                |
| ٢- لاتحتاج لأماكن خاصة (اقتصادية) | ٢- صعوبة نقل الأواني المعقمة إلى حجرة التخزين                    |
|                                   | ٣- الإحتياج إلى أماكن خاصة ومولدات للمياه الساخنة (غير إقتصادية) |

### أنواع التعقيم الحرارى:

البخار steam - الماء المغلى boiling water - الماء الساخن hot water -

الهواء الساخن hot air.

أنواع التعقيم الكيماوى: مركبات الكلور - مركبات اليود - مركبات الأمونيوم الرباعية.

انواع التعقيم بالأشعة: الأشعة المؤينه - الأشعة فوق البنفسجية.

## أ- التعقيم الحرارى (التعقيم الطبيعى Physical sterilization)

ويبين الجدول (٣٧) مقارنة بين طرق التعقيم الحرارى (الطبيعى) المختلفة.

جدول (٣٧) مقارنة بين طرق التعقيم الحرارى (التعقيم الطبيعى) Physical sterilization

| التعقيم بالبخار                                                                                                                                                       | التعقيم بالماء المغلى                                                                               | التعقيم بالماء الساخن                                                                                        | التعقيم بالهواء الساخن                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| مناسبة لتعقيم الأقساط وخطوط المواسير وخزانات اللبن. توضع الأواني مقلوبة داخل كابينة أو فوق نافورة بخار - درجة الحرارة $100^{\circ}\text{C} / 5 - 10$ د. كفاءتها عالية | يستخدم بحرارة $100^{\circ}\text{C}$ وله تأثير الفوران - بعد التعرض للبخار يصرف البخار وتجفف الأواني | تغمر الأواني فى ماء ساخن $93^{\circ}\text{C} / 5$ د. كما يستخدم لتطهير الأماكن المغلقة كخزانات اللبن المبستر | توضع الأواني فى كابينة خاصة بها تيار من الهواء الساخن حرارته $82^{\circ}\text{C} / 20$ د |

## ملاحظة:

١- من طرق التعقيم بالبخار (التعقيم فى الأتوكلاف تحت ضغط، التعقيم بالبخار المتقطع) ويرجع التأثير القاتل للبخار إلى تكسير أو هدم الأحماض النووية فى الخلية وتغيير فى طبيعة الإنزيمات وبروتينات الخلية والتأثير على الجدار الخلوى. ويعاب على البخار أن تكرر استخدامه يؤدي إلى:

- i. إفساد دهانات الحيطان والمعدات.
- ii. الضوضاء.
- iii. التدهور السريع للخراطيم المطاطية.
- iv. إضعاف اللحامات.
- v. فقد كثير من الطاقة نتيجة التسرب من الصمامات غير المحكمة.

٢- التعقيم بالماء المغلى لا يؤدى إلى القضاء الكامل للميكروبات ولذلك فهو يستخدم للتطهير وليس للتعقيم ويستخدم فى الأجهزة والأوعية.

٣- التعقيم بالحرارة الرطبة تؤدى إلى قتل البكتريا والفطر والفيروسات وتستخدم لتعقيم البيئات.

٤- التعقيم بالهواء الساخن (الحرارة الجافة) تستخدم فى تعقيم الأدوات الزجاجية، ويرجع تأثيرها القاتل إلى أكسدة مكونات الخلية وترسيب أو تغيير طبيعة بروتينات الخلية.

ب- التعقيم بالأشعة: وتشمل

١- الأشعة المؤينة: من أمثلتها أشعة جاما وأشعة X وهى ذات طول موجى قصير ولها قدرة عالية على الإحتراق وتؤدى إلى قتل الميكروبات والخلايا الخضرية ولكن لا تؤثر على الفيروسات.

٢- الأشعة فوق البنفسجية: الأشعة ذات طول موجى ٢٥٠ - ٢٦٠ mm (طول موجى قصير) تؤدى لقتل معظم البكتريا إذ تؤثر على الحمض النووى DNA فى الخلية. الأشعة ذات طول موجى أقل من ٢٠٠ mm يتولد عنها غاز الأوزون ويزيد من كفاءة التعقيم ولكنه ذو تأثير ضار على الصحة.

ويلاحظ أن الأشعة فوق البنفسجية لا تخترق الأسطح القذرة، الزجاج، الماء ولذلك فهى تستخدم فى حالات معينة كما أنها تسبب ضررا للعين والجلد.

ج - التعقيم بالكيماويات

يوضح الجدول (٣٨) مقارنة بين بعض الكيماويات المستخدمة فى التعقيم فى معامل الألبان.

## جدول (٣٨) التعقيم بالكيماويات:

مقارنة بين بعض الكيماويات المستخدمة في تعقيم أدوات وأجهزة معامل الألبان

| وجه المقارنة     | مركبات الكلورين                                                                                                                                                                                                | مركبات اليود                                                                | مركبات الأمونيوم الرباعية                                                                            |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| التركيز المستخدم | تستخدم بتركيز ٢٠٠ - ٣٠٠ جزء / مليون ٢٤ م° / ٥ د                                                                                                                                                                | تستخدم بتركيز ١٢,٥ - ٢٥ جزء / مليون ٤٣ م°                                   | تستخدم بتركيز ٢٠٠ - ٤٠٠ جزء في المليون ٢٤ م° / ١٥ د                                                  |
| إستخداماتها      | تطهير مياه الشرب - حمامات السباحة - أرضية مصانع الأغذية والألبان                                                                                                                                               | تطهير أجهزة معامل الألبان والأواني ومطهر للجلد                              | تطهير أواني وأجهزة مصانع الألبان - منظف ومادة ترطيب ومادة إستحلاب                                    |
| من أمثلتها       | هيبوكلوريت Ca, Na وغاز الكلور ومركبات الكلور العضوية مثل Chloamine T, Chloramine dioxide                                                                                                                       | الأيوذوفور iodophore يوديد بوتاسيوم كلورامين ت Chloramine T- potass. iodide |                                                                                                      |
| تأثيرها          | قتل الخلايا الخضرية البكتيرية والفطر دون الجراثيم حيث ينطلق حمض الهيبوكلوروس ثم O <sub>2</sub><br>Hypochlorite solution + H <sub>2</sub> O<br>↓<br>Hypochlorous acid<br>↓<br>Hypochloric + free O <sub>2</sub> | أكسدة الخلايا البكتيرية                                                     | تؤثر على البكتريا الموجبة لجرام أكثر من السلبية مما يؤدي لخفض البكتريا المقاومة للحرارة thermodurics |
| مميزاتها         | ذات كفاءة تعقيم عالية فهي فعالة في إبادة البكتريا - لاتتأثر بالماء العسر سوى هيبوكلوريت                                                                                                                        | - لاتسبب حساسية<br>- لاتسبب تآكل<br>- غير سامة<br>- تستطيع الكشف عن         | - لاتسبب تآكل - لاثهيج الجلد - عديمة اللون والطعم والرائحة - غير سامة - لها قدرة                     |

| وجه المقارنة | مركبات الكلورين                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | مركبات اليود                                                                                                                               | مركبات الأمونيوم الرباعية                                                                                              |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|              | الكالسيوم الذي يكون غشاء على سطح الأواني - رخيصة                                                                                                                                                                                                                                                                               | اللبن المتحجر فتكسبه لون بني مرئي                                                                                                          | إحتراق عالية وإبادة للميكروبات. ثابتة وتترك غشاء مبيد على الأسطح المعالجة يمنع نمو الميكروبات فترة حفظها حتى الاستخدام |
| عيوبها       | لها تأثير تآكل على الألمونيوم والنحاس. ولتقليل التآكل ينصح بإضافة مركبات مانعة للتآكل corrosive inhibitors مثل فوسفات الصوديوم، كبريتات الصوديوم وساليسيلات الصوديوم (٠,٢ - ٠,٥%) يقل تأثيرها في وجود البقايا العضوية نظرا لإستهلاك O <sub>2</sub> - لها تأثير ضار بالصحة والجلد والجهاز التنفسي - لها رائحة قوية خاصة العضوية | يقل تأثيرها في وجود البقايا العضوية - مكلفة - قد تؤدي إلى صبغ الأسطح - قلة تأثيرها على البكتريوفاج - نحتاج لتركيز مرتفع منها لقتل الجراثيم | إرتفاع ثمنها عن مركبات الكلورين - يقل تأثيرها في وجود المواد العضوية                                                   |

## طرق تعقيم أجهزة وأدوات مصانع الألبان

### أ- طريقة الدوران:

وتستخدم في تعقيم المضخات والمواسير والمبردات حيث يستخدم محلول تعقيم بتركيز ٢٠٠ جزء / مليون لمدة ٥ د.

### ب- طريقة الإنغماس:

وتستخدم للأدوات والأواني الصغيرة حيث تغمس في محلول تعقيم ٢٠٠ جزء / مليون لمدة ٥ د.

### ج- طريقة الفرشاه:

وتستخدم في أحواض الجبن والهزازات والأوعية المفتوحة مع محلول تعقيم ٤٠٠ جزء / مليون.

### د- طريقة الضباب:

وتستخدم في الصهاريج المغلقة والخزانات باستخدام أجهزة خاصة تدفع الضباب على هيئة بخار دقيق يتراكم على الأسطح ثم يتم الغسيل بماء نظيف والضباب المستخدم من محلول تعقيم ٥٠٠ جزء / مليون.

### ملحوظه:

تعالج الخضاضات قبل خض القشدة بمحلول تعقيم ١٠٠ - ٢٠٠ جزء / مليون من مركبات الكلور لمدة ١٠ - ٥ د مع استخدام ماء ساخن بالتبادل مع محلول التعقيم.

### خطوات تنظيف وتعقيم المعدات والأواني

- ١- الشطف بماء بارد لإزالة بقايا اللبن
- ٢- الغسيل بمحلول تنظيف مناسب
- ٣- الشطف لإزالة بقايا المنظف
- ٤- التعقيم بطريقة مناسبة
- ٥- الحفظ بطريقة تضمن تجنب التلوث

## ثانياً: تقليل الحمل الميكروبي للبن ومنتجاته

### ١- التبريد والمعاملات الحرارية

إن درجة حرارة اللبن بعد حلبه مباشرة هي الحرارة المثلى لنمو أكثر أنواع الميكروبات سواء مرضية أو مسببة للفساد، لذلك يجب خفض درجة حرارة اللبن بعد حلبته مباشرة لدرجة حرارة توقف فاعلية هذه الميكروبات، وتعتبر درجة حرارة ٥ - ١٠ م° درجة ملائمة لهذا الغرض. ولا تقضى عملية التبريد على البكتريا ولكنه يوقف نشاطها وتكاثرها خاصة إذا كان التبريد مفاجئ بعد الإنتاج.

ولما كان التبريد لا يقضى على خطر الميكروبات الملوثة للبن لذا كان من الضروري تعرض اللبن لمعاملات حرارية كفيلة بالقضاء على الميكروبات خاصة المرضية ومعظم الميكروبات الأخرى والتي قد تسبب فساد اللبن ومن هذه المعاملات الحرارية.

### أ- البسترة Pasteurization

وهي معاملة حرارية تستخدم فيها معدات تتحكم في الحرارة والمدة التي يتعرض لها اللبن، وتخضع لمتطلبات قانونية من حيث المعدات وإجتياز اللبن المبستر لبعض الإختبارات.

ولما كان ميكروب السل هو أكثر الميكروبات المرضية تحملاً للحرارة فقد إتخذت درجات الحرارة والمدة اللازمتين للقضاء على هذا الميكروب كحد أدنى لتلك المعاملة. ويوضح الجدول التالي (٣٩) العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التسخين اللازمه للقضاء على هذا الميكروب في اللبن.

جدول (٣٩) العلاقة بين درجات الحرارة ومدة التسخين اللازمه للقضاء على ميكروب السل باللبن

| درجات الحرارة                 | ١٤٠ ف° (٦٠ م°) | ١٥٠ ف° (٦٥,٥ م°) | ١٦٠ ف° (٧١,١ م°) |
|-------------------------------|----------------|------------------|------------------|
| المدة التي يقتل فيها الميكروب | ١٥ د           | ٥٥ د             | ١٢ ث             |

ملحوظة: تستخدم بكتريا Coxiellaburnetti كدليل ميكروبي في تحديد كفاءة عملية البسترة فهو أكثر مقاومة لحرارة البسترة عن بكتريا السل.

وللتأكد من قتل الميكروب (السل) لاتستعمل في البسترة درجات حرارة أقل من  $62,8^{\circ}\text{C}$  ( $145^{\circ}\text{F}$ ) لمدة ٣٠ د أو  $71,5^{\circ}\text{C}$  ( $161^{\circ}\text{F}$ ) لمدة ١٥ ث والأولى تعرف بطريقة الحجز أو الإمساك Holding method والثانية تعرف بطريقة الحرارة العالية لوقت قصير (HTST) High temperature short time وكتا الطريقتين مسموح بها ولها تقريباً نفس التأثير.

i- طريقة الحجز أو الإمساك Holding method

تعتبر أقدم الطرق المستخدمة في البسترة وفيها ترفع درجة حرارة اللبن إلى  $62,8 - 65,5^{\circ}\text{C}$  ( $145 - 150^{\circ}\text{F}$ ) ويحجز اللبن في هذا الحيز من الحرارة لمدة ٣٠ د على الأقل ثم يبرد فجائياً لدرجة حرارة تقل عن  $10^{\circ}\text{C}$  ( $50^{\circ}\text{F}$ ) ويجرى التسخين في هذه الطريقة على دفعات Batches في أحواض خاصة مزدوجة الجدران ومزودة بمقلبات.

ii- طريقة الحرارة العالية لوقت قصير (HTST)

وفيها يسخن اللبن لدرجة حرارة ما بين  $71,5 - 72^{\circ}\text{C}$  ( $161 - 162^{\circ}\text{F}$ ) لمدة ١٥ ث ثم يبرد فجائياً لدرجة حرارة لاتزيد عن  $10^{\circ}\text{C}$  ( $50^{\circ}\text{F}$ ). وأهم ما يجب ملاحظته في هذه الطريقة هو عدم إختلاط اللبن الخام باللبن المبستر في قسم التبادل الحرارى بالجهاز منعاً من تلوث الأخير. هذا بالإضافة إلى ضرورة ضبط صمام تحويل اللبن، وكذا سرعة مرور اللبن المسخن داخل أنبوية الحجز بحيث يستغرق مدة ١٥ ث على الأقل لضمان كفاءة العملية.

ب- الغلى Boiling

والغلى ما هو إلا بسترة شديدة حيث ترفع درجة حرارة اللبن إلى نحو  $100^{\circ}\text{C}$ ، ومازالت هذه الطريقة متبعة في بعض المناطق لحفظ اللبن بالمنزل وفي هذه الطريقة يفضل إجراء العملية في حمام مائي وليس على اللهب مباشرة مع الاستمرار في الغلى والتقليب لعدة دقائق ثم يبرد وعاء اللبن سريعاً بغمره في ماء بارد.

ج- التعقيم Sterilization

والطريقة المتبعة حالياً في هذا الشأن هي الطريقة المسماة بالتسخين فوق العالى Ultra high temperature (UHT) وفيها يسخن اللبن إلى  $135 - 140^{\circ}\text{C}$  لمدة ٢ ث تقريباً بإستخدام البخار المطلوب.

## ٢- الوسائل الميكانيكية

من الوسائل الميكانيكية المتبعة لتقليل الحمل الميكروبي للبن: الطرد المركزي - الترشيح الدقيق - الضغط العالى.

### أ- تقليل الحمل الميكروبي للبن بالطرد المركزي Bactofugation أو bacterial centrifugation

وهى عملية لإزالة البكتريا بفعل الطرد المركزي وتتوقف عملية الإزالة على درجة الحرارة والقوة المستخدمة (عادة تعادل ٨٥٠٠ مرة قوة الجاذبية الأرضية) كما تتوقف على كثافة الميكروبات فمثلاً.

| Clostridium butyricum     | Aerobic spores             | Vegetative bacteria              |
|---------------------------|----------------------------|----------------------------------|
| ١,٣٣ جم / سم <sup>٢</sup> | ١,٣٠٢ جم / سم <sup>٢</sup> | ١,١٢ - ١,٠٧ جم / سم <sup>٢</sup> |

وعليه فهى فعالة فى إزالة البكتريا عالية الكثافة مثل الجراثيم spore formers والخلايا الكبيرة الحجم. وفى هذه الطريقة تتناقص الحمولة البكتيرية للبن خلال الدقائق القليلة الأولى عند تمريره فى الجهاز. ويدور الجهاز بمعدل ٢٠,٠٠٠ دورة فى الدقيقة عند درجة حرارة حوالى ٧٠ °م حيث يزال من اللبن حوالى ٩٠٪ من الحمولة البكتيرية ثم يؤخذ اللبن ليمرر فى جهاز طرد مركزى بكتيرى اخر فيزيل ٩٠٪ من الحمولة البكتيرية المتبقية (١٠٪) وبهذا تكون الإزالة بمعدل ٩٩٪. ويلاحظ أن إزالة حوالى ٩٩٪ من حمولة اللبن البكتيرية قبل بسترتة تكون ذات أثر كبير خاصة فى المناطق التى تزيد فيها الحمولة البكتيرية عن ٢٠ مليون خلية / مل.

### ب- إستخدام الضغط العالى فى تقليل الحمل الميكروبي للبن Pressurization تعريف تكنولوجيا الضغط المرتفع فى التصنيع الغذائى:

هى العملية التى تتعرض فيها المادة الغذائية المعبأة فى عبوة مغلقة مرنة لضغط يتراوح ما بين ٥٠ - ٦٠٠ Mpa لمدة تتراوح من عدة ثوان إلى عدة ساعات وحرارة من ٤ - ٩٠ °م وفى أوعية ضغط سميكة الجدر إسطوانية الشكل مصنوعة من الصلب تسع من بضع ملليمترات إلى عدة أمتار مكعبة، ويتم ضغط وسط الإنتقال فيها

بطريقة مباشرة أو غير مباشرة. ويحدث إرتفاع فى الحرارة أثناء المعاملة لأكثر من ٣ °م لكل ١٠٠ Mpa بينما يقل هذا الإرتفاع فى الحرارة تدريجياً بإزالة الضغط Depressurization ويتم التحكم فى هذه الحرارة داخل المعدات المستخدمة لهذا الغرض بإستخدام المياه المحيطة بهذه المعدات.

ومن المميزات التى تميز معاملة الضغط العالى عن المعاملة الحرارية هو أن تأثير الضغط يعتمد على قاعدة باسكال حيث يصل تأثير الضغط لكل أجزاء المادة المعرضة له بعكس الحرارة والتى قد لاتصل لجميع أجزاء الغذاء بنفس المعدل.

### نظرية الضغط المرتفع ودوره فى تثبيط نشاط الميكروبات

#### Theory of high pressure for microbial destruction

يؤدى تعرض الغذاء لضغط مرتفع إلى تكسير الروابط غير التساهمية non covalent bonds دون تأثير أو تأثير ضعيف جداً على الروابط التساهمية covalent، وهذا يؤدى إلى تمزق البناء الثانى والثالث بكسر الروابط الأيدروجينية وكذا الروابط الكارهة للماء (كلها روابط غير تساهمية) للجزيئات الكبيرة كالبروتينات والأحماض النووية والسكريات العديدة ممايثبط نشاط العديد من الميكروبات ويحد من نشاط بعض الأنزيمات، أما الجزيئات الصغيرة الحجم مثل الجزيئات المسئولة عن اللون والنكهة وكذا الفيتامينات فلا تتأثر بالضغط العالى. ويرجع تثبيط الميكروبات بفعل الضغط العالى لما يأتى:

١- حدوث تغير فى طبيعة بروتين الخلية غير عكسى مما يؤدى لتلفه وتغيير خاصيه نفاذيته وبالتالي حدوث رشح للمواد الخلويه، إذ تفقد معظم هذه المواد على ضغط حوالى ٤٠٠ Mpa.

٢- حدوث خلل فى التوازن فى الخط الوسطى الفاصل بين الجدار الخلوى وسيتوبلازم الخلية مما يؤدى إلى انفصال جدار الخلية عن غشائها السيتوبلازمى. بجانب إنضغاط الفجوات الغازيه وإنهيارها.

٣- تمزيق الجدار النووى لذا نجد الميكروبات مميزة النواه eucaryotic (لها جدار نووى) كالفطر والخميره اكثر حساسية للضغط عن غير مميزة النواه (Procaryotic) (ليس لها جدار نووى) كالبكتريا والطحالب.

٤- تغير فى طبيعة الريبوسومات مما يعطل من تخليق البروتين.

وبصفه عامة فقد لوحظ أن البكتريا السالبة لجرام أكثر حساسية من الموجبه لجرام كما أن البكتريا العصوية القصيرة أكثر حساسية من الكروية. وقد يرجع حساسية البكتريا السالبة لجرام لتأثير الضغط العالى مقارنة بالموجبه لجرام إلى زيادة سمك وصلابة جدر الموجبة إذ تمثل طبقة الميوسين mucin فى الموجبة ٩٠٪ من الوزن الجاف من جدار الخلية بينما لا تمثل هذه الطبقة اكثر من ١٠٪ فى حاله البكتريا السالبة.

كما وجد أن نوع الوسط (البيئة) الموجود بها الميكروب له تأثير على المعاملة نفسها فمثلاً بكتريا *L. monocytogenes* يكون تأثيرها عالٍ فى محلول منظم Buffer عن تأثيره فى وسط اللبن المحتوى مواد (دهن - بروتين - كربوهيدرات) قد تحمى الخلايا البكتيرية من تأثير الضغط.

ويلاحظ أن الجراثيم البكتيرية أكثر مقاومة للضغط فرغم أن ضغط عالٍ ١٠٠ Mpa يثبط كثير من الخلايا الخضرية فإن الجراثيم البكتيرية يمكن أن تقاوم ضغط يصل إلى ١٢٠٠ Mpa وقد يرجع ذلك لسمك غلافها. ورغم ذلك فقد وجد أن ضغط ١٠٠ - ٣٠٠ Mpa له تأثير واضح فى تثبيط بعض جراثيم البكتريا مثل *Bacillus* وقد يرجع ذلك إلى تشويها بحيث لا يكون لها القدرة على التحول للصورة الخضرية. كما يلاحظ أيضاً أن الضغط لا يثبط الجراثيم بحالتها الساكنة ولكنه يدفعها للإنبات أولاً فالخلايا الخضرية أكثر حساسية للضغط عن الجراثيم نفسها، وتتوقف نسبة الإنبات على نوع الميكروب والبيئة ودرجة الحرارة، فقد وجد فى جراثيم بعض أنواع من جنس *Bacillus* أنه بضغط ٢٥ Mpa وحرارة ٥٠ م ولمدة ٣٠ د أدى لإنبات ٥٠ - ٦٤٪ من هذه الجراثيم ويزداد الإنبات الحادث من هذه الجراثيم تحت نفس الظروف فقط مع وجود *L. alanine*. (الحمض الأمينى الالين اليسارى).

وقد وجد أنه لكى نحصل على لبن يماثل فى مدة حفظه للبن المبستر حرارياً (١٠ يوم / ١٠ م°) يجب تعريضه لضغط لا يقل عن ٤٠٠ Mpa / ١٥ د، أو ٥٠٠ Mpa / ٣ د.

ولكن مع إمكانية إطالة فترة صلاحية اللبن بالضغط السابق إلا أن بعض السلالات المرضية مثل *Staphylococcus aureus* , *Listeria monocytogenes* يكون لها بعض

المقاومة وقد لا تتأثر بالضغط العالي كما أن بعض سلالات من *E. coli* تتأثر بصورة ضعيفة على ٦٠٠ Mpa / ٣٠ د وهذا يعنى أنه مع المعاملة بالضغط العالي فقط تبقى بعض الميكروبات والتي تنمو ببطء على حرارة الثلاجة.

ولقد وجد أن التأثير (التثبيط) البكتيرى بالضغط العالي يمكن أن يزداد بإجراء معاملة تجمع بين الضغط العالي وأى معاملة أخرى كالمعاملة الحرارية أو تكرار الضغط أو المعاملة بالأنزيمات المحللة للخلايا قبل المعاملة بالضغط.

### ج- إستخدام الترشيح الدقيق فى تقليل الحمل الميكروبي Microfiltration

وفيهما تستخدم أغشية تحجز الجزيئات التي يزيد حجمها عن ٠,١ ميكرون وهذه تشمل البكتريا وحببيبات الدهن، وفى هذه الطريقة يفرز اللبن أولاً، ويمرر اللبن الفرز فى الجهاز فتمر بروتينات اللبن والجزيئات الأصغر حجماً مع الماء، وتحجز حببيبات الدهن والخلايا الجسمية، ويعامل المحتجز retentate بالبيسترة أو التعقيم ويضاف إلى اللبن الفرز (permeate) كما تبستر القشدة وتضاف اللبن الفرز بالنسبة المطلوبة، وتخفض هذه المعاملة الحمل البكتيرى فى اللبن الخام بمعدل ٩٩,٧٪.

### ٣- المعاملة بالإشعاع والذبذبات فوق الصوتية والتيار الكهربائى

ومعظم هذه الطرق لا تستخدم على نطاق تجارى فى مجال الألبان لمعالجة اللبن أو منتجاته ولكن قد تستخدم بعضها فى تعقيم جو المصنع.

#### أ- المعاملة بالإشعاع The irradiation

#### تعريف الإشعاع Definition of irradiation

هو طريقة من طرق حفظ الأغذية بدون إستخدام الحرارة لذلك يطلق عليها Cold process ويقوم الأشعاع بتقليل الحمل الميكروبي وقتل الحشرات.

#### الجرعات الإشعاعية Irradiation dose

الجرعة الإشعاعية هى كمية الطاقة الممتصة أثناء التعرض لمصدر مشع فى فترة زمنية محددة وتقاس بوحدة تسمى Gray.

والوحدة من Gray تعبر عن إمتصاص ١ جول من الطاقة لكل ١ كجم مادة غذائية.

وتنقسم عملية الإشعاع تبعاً للجرعة المستخدمة فى الإشعاع إلى:

أ- Radappertization حيث تستخدم جرعة عالية (٣٠ - ٥٠ KGy) وتستخدم للقضاء على الميكروبات.

ب- Radicidation حيث تستخدم جرعة متوسطة (١ - ١٠ KGy).

ج- Radurization حيث تستخدم جرعة منخفضة (٠,٤ - ٢,٥ KGy).

وتستخدم الجرعات المتوسطة والمنخفضة فى الأغذية المجمدة للقضاء على البكتريا المرضية غير المتجرثمة مثل *Listeria*, *Salmonella* وكذا فى تقليل الحمل الميكروبي، وتعتبر هاتان الجرعتان متكافئة مع البسترة الحرارية، ولكن فى هذه الطريقة يتم القتل للميكروبات دون مشاركة الحرارة لذلك يطلق عليه البسترة الباردة Cold pasteurization.

### تأثير الإشعاع على الكائنات الحية الدقيقة Effect on microorganisms

يعمل الإشعاع على حدوث تغيير فى تركيب غشاء الخلية كما يؤثر على نشاط إنزيماتها كما يعمل على هدم DNA, RNA فى نواة الخلية الميكروبية وبذلك يعوق إنقسام ونمو الخلايا، ويتوقف معدل القضاء على الخلايا الميكروبية وكذا الجرعة المستخدمة على:

١- معدل إنتاج الأيونات التى يتم عن طريق الإشعاع ومدى تفاعلها مع DNA.

٢- مدى مقاومة الكائنات الحية الدقيقة للإشعاع فنلاحظ أن للفيروسات قدرة على مقاومة الإشعاع (حسب الفترة الزمنية وشدة التعرض للإشعاع)، فى حين أن الخلايا الخضرية والجراثيم أقل مقاومة عن الفيروسات، بينما تعتبر مقاومة كل من الفطريات والخمائر والطفيليات ضعيفة ولا تتحمل الجرعات العالية من الإشعاع.

ويلاحظ ان أغلبية البكتريا تموت عند التعرض لجرعات تتراوح بين ٣ - ١٠ KGy وهذه الجرعة كافية للقضاء على *Salmonella typhimurium* كما يلاحظ أن البكتريا المقاومة لدرجة الحرارة العالية تقاوم فعل الإشعاع.

## ب- المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية وتحت الحمراء

لتعريض اللبن للأشعة فوق البنفسجية ultra violet (~ 2700 °A) تأثير مماثل لعملية البسترة ويرجع التأثير المبيد لهذه الأشعة إلى ما تحدثه من تغيرات في طبيعة بروتينات الخلية الميكروبية ومركباتها الخلوية. ورغم ما قد تظهر هذه المعاملة من طعم محروق إذا لم تتخذ الإحتياطات اللازمة لذلك إلا أن هذه المعاملة تساعد على زيادة ما يحتويه اللبن من فيتامين D.

وهناك أبحاث أجريت بأجهزة يطلق عليها Actinator لمعاملة اللبن تجمع في تأثيرها بين فعل الأشعة فوق البنفسجية في زيادة ما يحتويه اللبن من فيتامين D وفعل الأشعة تحت الحمراء infra red (2740 °A) لإبادة الميكروبات، حيث يمرر اللبن في هذه الطريقة في أنابيب تسمح بتعريضه للأشعة في طبقة رقيقة تضمن تعريض جميع الخلايا لفعل الإشعاع كما أن الأشعة الحمراء والمنطلقة بسرعة شديدة (3 × 10<sup>6</sup> كجم / ث) تولد حرارة تكفي لقتل البكتريا خلال 1 - 6 ث على أن يعقب تلك المعاملة تبريد اللبن بسرعة بتمريره في مبادل حراري عالي الكفاءة.

## ج- المعاملة بالذبذبات فوق الصوتية

من التجارب لوحظ أن إستعمال الذبذبات فوق الصوتية (ترددها 8900 ذبذبة / ث) مصحوبة بالتعرض لدرجة حرارة 40 - 50 °م يؤدي لقتل معظم الخلايا الخضرية باللبن.

## د- إستعمال التيار الكهربائي المتناوب

إستعمال التيار الكهربائي المتناوب مع اللبن أو القشدة كان له أثر مفيد في تقليل العدد الميكروبي

## ٤- إستخدام المواد الحافظة (الكماويات والمضادات الحيوية)

رغم أن معاملة اللبن والمنتجات اللبنية بالمواد الكيماوية أو المضادات الحيوية كوسيلة للحد من الحمل الميكروبي لهذه المنتجات يسمح به في أماكن مختلفة من العالم بنسب محددة فإن بعض الدول تحرم إستخدام بعض هذه المواد. ومن الكيماويات المستخدمة في هذا المجال:

- أ - فوق أكسيد الأيدروجين  
 ج - النترات والنتريت  
 هـ - مضادات حلم الجبن  
 ب - نظام البيروكسيدز  
 د - مضادات الفطر  
 و - المضادات الحيوية

### ٥- استخدام التكنولوجيا الحيوية Biological technology

نظراً للإتجاه العام نحو التحذير من استخدام المواد الكيماوية كمواد حافظة، فقد إتجهت الأبحاث إلى التركيز على استخدام نواتج التمثيل الطبيعية لبعض أنواع منتخبة من البكتريا أو البكتريا نفسها لتنشيط نشاط ميكروبات غير مرغوبة، ولما كانت نواتج التمثيل هذه عبارة عن مواد حيوية (بيولوجية) فقد يطلق على طريقة إستخدامها إسم التكنولوجيا الحيوية. ومن نواتج التمثيل هذه ما يسمى بالبكتريوسينات Bacteriocins.

ويرجع إكتشاف البكتريوسينات لعام ١٩٢٥ عندما لوحظ تثبيط ميكروب *E. coli* بواسطة ميكروب *E. coli v*، وسميت المواد التي ينتجها الميكروب الثاني بإسم Colicins وعموماً يسمى البكتريوسين بإضافة المقطع cin إلى إسم الجنس (وهو الأكثر شيوعاً) أو إسم نوع البكتريا المنتجة له فمثلاً:

| الميكروب                      | البكتريوسين |
|-------------------------------|-------------|
| <i>E. coli</i>                | Colicin     |
| <i>Staph. aureus</i>          | Staphylocin |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | Monocin     |

#### خواص البكتريوسينات :

١- مواد بروتينية Proteinaceous تخلق في الريبوسومات، وبعضها عبارة عن بلازميدات مثل Colicin الذي تفرزه *E. coli*. وبعضها مسئول عنها جين محمول على الكروموسوم مثل helviticin والذي تنتجه *L. helveticus*.

ملحوظة: الريبوسوم: أجسام على شكل حبيبات متناهية الصغر قطرها ~ ٢٠ nm تتركب أساساً من البروتين rRNA وتعتبر مركز تصنيع البروتين في الخلية، وتوجد على الأسطح المحيية للشبكة الإندوبلازمية



**ملحوظة: البلازميد:** عناصر وراثية غالباً ماتوجد فى كل نوع من الخلايا البكتيرية، وهى توجد مستقلة داخل الخلية البكتيرية، وتتناسخ ذاتياً منفصلة تماماً عن الكروموسوم الرئيسى للخلية البكتيرية.

٢- لها تأثير قاتل أو مثبط لسلالات أخرى ولكن ليس لها القدرة على قتل الخلايا المنتجة لها وقد يرجع ذلك إلى:

أ- أن الميكروب المنتج للبكتريوسين يحمل جينات مسؤولة عن إنتاج بروتينات للمناعة بجانب جينات إنتاج البكتريوسين.

ب- أو يحدث أثناء تخليق البكتريوسين أن ينشطر إلى جزئين:

- بكتريوسين نشط يفرز خارج الخلية وهذا يعمل إما على نطاق ضيق من الميكروبات أو نطاق واسع حيث يثبط أطيف كثيرة من الميكروبات.
- بروتين مناعة تحتفظ به الخلية البكتيرية المنتجة للبكتريوسين وهو متخصص فقط لنوع البكتريا المفترزة للبكتريوسين.

### ميكانيكية التأثير القاتل أو المثبط للبكتريوسين:

يوجد على سطح الخلية الميكروبية الحساسة للبكتريوسين مستقبلات متخصصة، وهى عبارة عن مواد بروتينية وفوسفوليبيدية، وهذه المستقبلات يرتبط بها البكتريوسين، إذ غالباً ما يحتوى البكتريوسين منطقة من الأحماض الأمينية القاعدية (حاملة لشحنة موجبه) وهذه تتفاعل الكتروستاتيكيًا مع الشحنات السالبة الموجودة على فوسفوليبيدات جدار الخلية. ويلاحظ أن لكل بكتريوسين مستقبل خاص. وبعد إرتباط البكتريوسين بسطح الخلية ينتقل البكتريوسين أو جزء منه خلال الجدار إلى الداخل والذى ينتقل عادة هو النهاية الطرفية الأمينية ثم تنتقل النهاية الكربوكسيلية ويقال أن الفعل المميت للبكتريوسين يرجع إليها. وفى بعض الحالات قد يكون بروتين المناعة ضرورى لربط البكتريوسين بالخلايا الميكروبية الحساسة له، وبمجرد الإرتباط ينطلق بروتين المناعة إلى البيئة ليحمى البكتريا المنتجة للبكتريوسين (يعمل نشاط بروتينى للمستقبلات) ورغم غموض ميكانيكية (آلية) إدخال البكتريوسين، ومروره خلال غشاء الخلية الحساسة له، إلا أن العملية يبدو أنها تحدث على مراحل ثلاثة:

الأولى: إرتباط البكتريوسين بمستقبل خاص على سطح الخلية.

الثانية: إقتحام البكتريوسين لغشاء الخلية وإنتقاله خلالها.

الثالثة: هو قتل الخلية والذي قد يحدث إما:

أ- نتيجة للتقوب التي تكونها البكتريوسينات فى جدار الخلية الميكروبية الحساسة له مما يقلل من القوة الكامنة فى غشائها ويزيد من نفاذية الغشاء لأيونات السائل الخلوى مثل أيونات البوتاسيوم، أى تعتبر التقوب قنوات أيونية Ion channels تتسرب منها أيونات الخلية إلى الخارج.

أو ب- يحدث ذلك نتيجة دخول البكتريوسين إلى سيتوبلازم خلية الميكروب الحساس له، وقيامه بتحليل DNA, RNA أى يعمل البكتريوسين كإنزيمات DNase, RNase فيثبط تخليق البروتين.

أو ج- قد تحدث هذه البكتريوسينات من البداية تحلاً لغشاء الخلية Lysis ولكن هذا نادراً.

ويختلف نشاط البكتريوسينات فبعضها يلزم منها جزئ واحد لقتل خلية بكتيرية واحدة، وبعضها يلزم منها عدة جزيئات لقتل خلية بكتيرية واحدة ومن أمثلة النوع الأول Colicin ومن أمثلة النوع الثانى Nicin وتأثيره على بكتريا *I. monocytogenes*.

#### الأهمية العملية للبكتريوسينات والبكتريا المنتجة لها

##### The practicle importance of bacteriocins

لما كانت البكتريوسينات مواد بروتينية طبيعية مضادة للميكروبات، فقد إتجهت إليها الأنظار كوسائل لحفظ الغذاء خاصة الأغذية المحفوظة على حرارة منخفضة بالثلاجات حيث يتزامن مع الحفظ بالتبريد (الثلاجات) ظهور ميكروبات مرضية محبة للبرودة Psychrotrophic pathogens مثل *I. monocytogenes* والتي تنمو على درجة حرارة الثلاجة مما يلقى نوعاً من الظلال على مدى سلامة وأمن الغذاء المحفوظ بالثلاجة. ونظراً للإتجاه العام نحو التحذير من إستخدام المواد الكيماوية كمواد حافظة، فقد إتجهت الأبحاث إلى التركيز على إستخدام نواتج التمثيل الطبيعية لبعض أنواع منتخبة من البكتريا أو البكتريا نفسها لتثبيط نشاط ميكروبات غير مرغوبة ومن نواتج التمثيل هذه بعض مجموعة البكتريوسينات التى تنتجها بكتريا حمض اللاكتيك الموجبة لجرام خاصة بعض الأنواع التابعة للأجناس *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pedicoccus*, *Streptococcus* ومن هذه الأنواع:

*Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii susp bulgaricus*, *Lb. delbrueckii susp lactis*, *Bifidobacterium bifidium*

فهذه الميكروبات تستخدم في كثير من الصناعات الغذائية المتخمرة Fermented foods بمفردها أو بالإشتراك مع غيرها (جدول ٤٠) لما لها من مميزات فى هذه المنتجات منها:

أ- سرعة نموها فلا تشجع التلوث بميكروبات أخرى.

ب- إستخدمت فى الصناعات الغذائية سنين طويلة حيث أمكن تنميتها على نطاق كبير.

ج- غير ممرضة.

د- لا تكون سموم.

جدول ( ٤٠ ) إستخدامات بكتريا حمض اللاكتيك ( Luck and Erick , 1994 )

| الناتج                                 | بكتريا حمض اللاكتيك المستخدمة                                                                                                                                                                                                                               |
|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| لبن أسيدوفلس<br>Acidophilus milk       | <i>Lb. acidophilus</i>                                                                                                                                                                                                                                      |
| لبن خض بلغارى<br>Bulgarian butter milk | <i>Lb. delbrueckii supsb. bulgaricus</i>                                                                                                                                                                                                                    |
| زبد Butter                             | <i>L. lactis supsb. cremoris</i>                                                                                                                                                                                                                            |
| لبن خض<br>Butter milk                  | <i>L. lactis supsb. cremoris</i> ,<br><i>L. lactis supsb. lactis</i> , <i>Leuco. Lactis</i> ,<br><i>Leuco. mesenteroides supsb. cremoris</i>                                                                                                                |
| جبين<br>Cheeses                        | <i>L. lactis supsb. lactis</i> , <i>L. lactis supsb. cremoris</i> ,<br><i>Lb. casei</i> , <i>Lb. delbrueckii supsb. bulgaricus</i> ,<br><i>Lb. delbrueckii supsb. lactis</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Leuconostoc spp</i> ,<br><i>hnterococcus spp.</i> |
| ألبان متخمرة<br>Fermented milks        | <i>Lb. acidophilus</i> ,<br><i>Lb. bifidus</i> , <i>Lb. delbrueckii supsb. Bulgaricus</i> , <i>Lb. casei</i>                                                                                                                                                |
| كفير<br>Kefir                          | <i>L. lactis supsb. lactis</i> ,<br><i>Lb. delbrueckii supsb. bulgaricus</i>                                                                                                                                                                                |
| كوميس<br>Koumiss                       | <i>Lb. delbrueckii supsb. lactis</i> ,<br><i>Lb. delbrueckii supsb. bulgaricus</i>                                                                                                                                                                          |
| قشدة حمضية<br>Sour cream               | <i>L. lactis supsb. cremoris</i>                                                                                                                                                                                                                            |
| يوغورت<br>Yoghurt                      | <i>Lb. delbrueckii supsb. bulgaricus</i> ,<br><i>Str. thermophilus</i>                                                                                                                                                                                      |
| كشك                                    | <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. plantarum</i>                                                                                                                                                                                                 |

## الأهمية الصحية والغذائية والصناعية للبكتريا المنتجة للبكتريوسينات (بكتريا حمض اللاكتيك)

١- تنتج بعض الفيتامينات (حمض الفوليك) والإنزيمات (اللاكتيز) مما يشجع التمثيل الغذائي في الإنسان.

٢- تخفض مستوى الكوليسترول في مصل الدم.

٣- تشجع النظام المناعي لإنتاج الملتهمات Macrophages.

٤- تقلل من مخاطر سرطان القولون بإزالة سمية Detoxification المواد السرطانية.

٥- تكسر بعض العوامل المضادة للتغذية Antinutritional factors مثل مثبط التربسين Trypsin inhibitor وحمض الفيتك Phytic acid.

٦- تستخدم صناعياً في تخليق كثير من المواد الكيميائية والدوائية.

٧- بعضها يستوطن القناة الهضمية وتلعب دوراً نافعاً. وتضاف الخلايا الحية كمواد probiotics للأستهلاك الأدمى والحيوانى.

٨- إنتاجها للبكتريوسينات التى تثبط نشاط البكتريا غير المرغوبة.

### وتتميز البكتريوسينات التى تنتجها بكتريا حمض اللاكتيك

أ- بأنها مثبطة للبكتريا الموجبة لجرام، وعديد منها فعال ضد الميكروبات المفسدة للغذاء والممرضة مثل *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staph. aureus*, *Clos. perfringens*, *Clastridium botulinum* ويقدر الحد الأدنى المثبط للبكتريا السابقة فى إختبارات البيئة المغذية بحوالى ٠,٠٠٦ إلى ١٢ جزء فى المليون.

ب- كثير منها ثابت ضد الحرارة لذا يمكن إستخدامها مع المعاملة الحرارية.

ج- لها تأثير قاتل واسع لكثير من الميكروبات.

د- قابلة للهضم وأمنة صحياً وفعالة فى التركيزات المختلفة.

العوامل التى شجعت على زيادة إستخدام البكتريوسينات وبكتريا حمض اللاكتيك المنتجة لها:

١- إعتد كثر من الهيئات الغذائية على إستخدام مزارع البادئات المنتجة

للبيكتريوسينات bacteriocinogenic starters فى الأغذية المتخمرة وإعتبار

ميكروباتها آمنة (GRAS) Generally regarded as safe.

- ٢- تقدم التكنولوجيا الحديثة في مجال الهندسة الوراثية، كدمج الخلايا ونقل الجينات وهندسة البروتين DNA المركب Recombinant DNA (أى من مجموعة من الجينات المختارة) مما يساعد على إنتاج أنواع من البكتريوسينات، وتوفير ميكروبات منتخبة وراثياً تستخدم بادئات لهذا الغرض.
- ٣- زيادة أمن هذه المواد الحافظة الحيوية عن أملاح النترات مثلاً والتي ثبت ضررها على صحة المستهلك ومعارضة المستهلك للمواد الحافظة التقليدية.
- ٤- وفرة بكتريا LAB المنتجة لهذه المواد وسهولة تمييزها والحصول على بكتريوسينات آمنة منها.

ومن البكتريوسينات الآمنة والتي ثبت فاعليتها منذ نصف قرن أو أكثر حتى الآن وصرح بإستخدامها فى عديد من الدول وفى عديد من المنتجات الغذائية ومنتجات الألبان

#### أ- النيسين Nicin:

تنتجه *L. lactis supsb. Lactis* وهو فعال ضد معظم البكتريا الموجبة لجرام، ويستخدم فى حفظ الجبن الجاف من الإنتفاخ المتأخر، كما يستخدم فى الجبن المطبوخ حيث يثبط الجراثيم المكونه لحمض البيوتريك *Clos. butyricum* ويضاف أثناء الطبخ (إنصهار الجبن بتركيز ٢ - ٨ مجم / كجم). كما يستخدم ضد ميكروب *Listeria monocytogenes* الذى يمكنه النمو فى المنتجات اللبنية المحفوظة فى الثلاجة.

ويلاحظ أن بكتريا *Listeria monocytogenes* موجب لجرام حساس لمدى واسع من البكتريوسينات. ونظراً لأن النيسين مقاوم للحرارة فى الوسط الحمضى لذا يستخدم كمادة مساعدة فى التعقيم لحفظ الخضروات خاصة منتجات الطماطم عند معاملتها حرارياً لمنع نمو الجراثيم التى تقاوم المعاملة الحرارية فهو يوفر ظروف تعقيم أقل شدة.

والنيسين Nicin عبارة عن مضاد حيوى عديد الببتيدات يتكون من ٤ أجزاء متشابهة البناء تتكون من ٢٩ - ٣٤ حمض أمينى منه ٨ أحماض أمينية كبريتية، ووزنه الجزيئى حوالى ٧٠٠٠ - ١٠٠٠٠ دالتون.

والنيسين ثابت لعدة سنوات فى صورته الجافة خاصة بإنخفاض الـ pH. كما انه مقاوم للحرارة حتى  $121^{\circ} \text{C}$  /  $30 \text{ د}$  على  $\text{pH} 2$  ولكن يبدأ فى التحلل بالتسخين على  $\text{pH} 4$ . ويتحلل بالإنزيمات الهاضمة والمحللة للبروتين مثل التربسين وكذا إنزيمات اللعاب وإفرازات الجهاز الهضمى ولكن غير حساس للمنفعة. لذلك فهو يتكسر فى القناة الهضمية بسرعة تحت تأثير إنزيماتها لذا لا يحتمل أن يكون له تأثير سام على الإنسان حيث أن هذا المركب وجد فى اللبن والجبن منذ القدم.

كما أن بكتريا اللبن التى تنتجها تتواجد بالأعما، ولم تسبب إضافة النيسين إلى عليقة الفئران بتركيز  $20 : 60$  مجم/كجم عليقة لمدة 24 شهر أى أضرار، كذلك لم تسبب إضافة خليط من النيسين ( $2$  مجم / كجم من وزن الجسم) وحمض السوربيك ( $40$  مجم / كجم من وزن الجسم) أية تأثيرات ضارة على الفئران البيضاء فى تجارب استمرت عامين.

وتتركز فاعلية النيسين ضد أغشية السيتوبلازم حيث تتحطم هذه الأغشية بعد خروج الخلية من الحالة الجرثومية أو المتحوصلة، وهذا يعنى ان النيسين أكثر فاعلية ضد الجراثيم عنه ضد الخلايا الخضرية، ولكن قد يكون له تأثير فى زيادة حساسية البكتريا للحرارة. وهناك دلائل على أن التأثير المساعد للنيسين يبدأ بعد إنتهاء المعاملة الحرارية حيث يثبط من إنبات أو نشاط الجراثيم التى تحملت المعاملة الحرارية والتى قد تبدأ فى الأنبات، وهذا يعنى أن النيسين لا يهاجم الجراثيم مباشرة كما أن فاعليته لا تبدأ خلال المعاملة الحرارية ولكن بعدها. ويلاحظ أن النيسين لا يثبط الخمائر أو الفطريات بل يمكن لكثير من الأحياء الدقيقة هدم النيسين بسرعة.

#### ب- البيماريسين Pimaricin

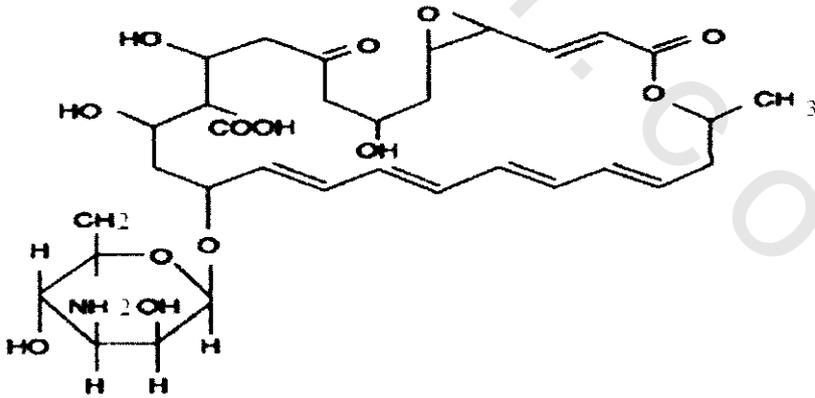
مضاد حيوى عزل من ناتج ترشيح *Streptomyces natatensis* وهو عبارة عن بللورات إبرية بيضاء تنصهر على  $180^{\circ} \text{C}$  قليل الذوبان فى الماء والكحول ( $0.005\%$ ) وزنه الجزيئى  $665,73 \text{ C}_{33}\text{H}_{47}\text{NO}_{13}$  ولايسبب البيماريسين أية أضرار صحية عند إضافته بنسبة  $0.05\%$  (حوالى  $45$  مجم / كجم من وزن الجسم) عند التغذية 90 يوم والجرعات الأكبر تسبب تقليل معدل الوزن وربما يسبب القي والإسهال. ولايسبب أية أضرار بالأعضاء الداخلية.

وتتحمل الفئران لمدة عامين غذاء يحتوى على ٠,٢٪ بيماريسين دون أية أضرار. ورغم أن من أهم مجالات استخدامه هو المجال الطبي، إلا أنه يسمح بإستخدامه فى بعض دول أوروبا الغربية فى حفظ اسطح الجبن حيث يغمز الجبن فى معلق يحتوى ٠,٠٥ : ٠,٢٥٪ أو يرش أو يدهن به سطح الجبن كما قد يضاف بتركيز ٠,٠٥٪ للأغلفة الصناعية وفى تغليف الجبن. ونظراً لقلته ذوبانه فى الماء فهو يتركز على السطح الخارجى للجبن ولاينفذ إلا القليل منه إلى داخل الجبن ويكون النفاذ أسرع وأعمق فى الجبن الطرى عن الجاف. كما يستخدم لمنع نمو الفطر على سطح البوغورت.

ويؤثر البيماريسين فقط ضد الخمائر والفطريات وليس فعالاً ضد أى من البكتريا والفيروسات.

وتتحلل محاليل أو معلقات البيماريسين بالمواد المؤكسدة، المعادن الثقيلة والضوء وكذلك التسخين لمدة قصيرة وهو ثابت على pH من ٤ - ٧ وفى المجال الأكثر حموضة ينشط المركب فى الأماكن المحتوية على كبارى الأوكسجين إلى مركبات أخرى.

ويوجد البيماريسين تحت أسماء تجارية منها Myprozine , Delvocid , Delvopas , Delvocoat



Pimaricin  $C_{33}H_{47}NO_{13}$

ج- ميسنتروسين Mesenterocin 5 o :

مخصص لأنواع الليستريا *Listeria* وليس فعالاً ضد LAB.

تعزيز (تشجيع) نشاط البكتريوسينات Enhancement of bacteriocin activity

وجد أن هناك بعض المواد التي تشجع فعل البكتريوسينات (معظم الأبحاث كانت عن استخدام النيسين) من أمثلتها:

١- ملح الطعام (٢,٥ - ٤٪) وبعض الأحماض العضوية والمصرح بها غذائياً كحمض اللاكتيك والخليك، (glucose - delta lactone (GDL) وتعتبر هذه المواد ذات فعل تعاوني synergistic effect ويقال أنها تزيد من حساسية الجراثيم للنيسين وبالتالي يمكن خفض الجرعة المستخدمة منه.

٢- مواد الإستحلاب: وجد أن إضافة مواد الإستحلاب للألبان مرتفعة الدهن تزيد من فاعلية النيسين ضد بكتريا *Str. Agalactia*, *Listeria monocytogenes* ومن أمثلة هذه المواد (Monoacylglycerols (lauric & oleic acid).

٣- مواد مكلبشة أو مخلبية مثل EDTA فمن المعروف أن النيسين فعال ضد الميكروبات الموجبة لجرام ولكن وجد أن إضافة بعض المواد المكلبشة تشجع من فعل النيسين على تثبيط البكتريا المرضية السالبة لجرام، وقد يعزى ذلك إلى أن هذه المواد ترتبط بأيون المغنسيوم الموجود في غشاء هذه الخلايا مما يساعد في تمزيقها وانتقال النيسين إليها.

٤- النتريت: إضافة النتريت مع النيسين ساعد على تثبيط جراثيم *Clost. botulinum*، ففي غياب النتريت لزم ١٥٠٠ وحدة دولية / ml من البيئة للتثبيط بينما إضافة ٢٠ ppm من النتريت للبيئة خفض النيسين إلى ١٠٠ وحدة دولية / ml.

كيفية إضافة النيسين (البكتريوسينات)

قد تضاف إلى الغذاء مباشرة في صورة نقية أو في صورة نواتج تخمر ثانوية محتوية عليها أو إضافة LAB المنتجة لها.

العوامل التي تحد من كفاءة البكتريوسينات والبكتريا المنتجة له في المنتجات:

١- ظهور بكتريا مقاومة: فقد وجد أن خلايا *Str. agalactia* أمكنها أن تبقى حية بعد تعرضها للنيسين في تراكيزات تعادل ٤٠ ضعف التي تحملته سابقاً.

كما أن تتابع نقل *Staph. aureus* من تركيزات منخفضة ٢,٥ Iu / مل إلى تركيزات أعلى حتى ٢٠٠٠ Iu / مل أكسبها مقاومة رغم أنها غير منتجة لإنزيم nisinase ويقال أن المقاومة ترجع إلى حدوث تغيير في مستقبلات النيسين على جدار الخلية أو تغيير الجين وإعطاء شفرات لتخليق بروتين مقاوم للنيسين.

٢- مقدرة بعض الميكروبات على تكسير النيسين: وجد أن بعض سلالات *Str. thermophilus, Lacto. plantarum* تفرز أنزيم nisinase وقد أمكن تحضير الإنزيم من هذه الميكروبات. وهذا الإنزيم متخصص على النيسين وغير فعال ضد مضادات حيوية أخرى، ويبدو أن فعل إنزيم nisinase في تحلل النيسين لا يرجع إلى تحلل بروتيني proteolytic degradation ولكنه لتفاعل إختزالي reductase reaction لمركب دهيدروألانين المجاور للطرف الكربوكسيلي.

٣- حساسية البكتريا المنتجة للنيسين للإصابة بالبكتريوفاج.

٤- ضيق مدى الـ pH التي يعمل عليها النيسين.

٥- ارتباط النيسين ببعض مكونات الغذاء:

فيقال أنه يتفاعل مع بروتين المادة الغذائية مما يقلل من كفاءته، كما أنه يفقد جزءاً كبيراً من نشاطه في الأغذية الغنية بالدهن، فقد لوحظ أن نشاط النيسين في اللبن السائل ضد *L.monocytogenes* يعتمد على محتوى الدهن في اللبن فزيادة دهن اللبن تقلل من فاعلية النيسين المضاف، ويفسر ذلك بامتصاص النيسين على أسطح حبيبات الدهن مما يقلل من تأثيره على الخلايا، ودليل ذلك إن إضافة Tween 80 قد أعاد للنيسين نشاطه في الألبان مرتفعة الدهن. وفي الجبن المطبوخ وجد أن نشاط النيسين ضد *Clos. botulinum* يزيد تأثيره بخفض الرطوبة (٥٤ - ٥٧%) ووجود ملح الطعام (٢%).

٦- تعمل الإنزيمات المحللة للبروتين وكذا الأكسدة والمعادن الثقيلة والرج الشديد والتجميد والتسييح على تقليل نشاط النيسين.

٧- قلة جودة الجبن المعامل بالنيسين: لقد وجد أنه رغم أن البادئات المنتجة للنيسين تمنع نمو الكوليس تريديا غير المرغوبة والمسببة للإنتفاخ الغازي butyric blowing

للجين، إلا أن الجبن الناتج والمعامل بالنيسين كان أقل جودة من الجبن الناتج باستخدام البادئات العادية، كما أن البادئات المنتجة للنيسين حساسة للفاج، وأن الميكروبات المنتجة لإنزيم nisinase قد تقلل من كفاءة النيسين. لذا قد فكر البعض فى استخدام بادئ يحتوى ميكروبات منتجة للنيسين وأخرى مقاومة له وقد ساعد ذلك فى تقليل الإنتفاخ الغازى بالجبن وإعطاء جبن أكثر جودة ويمكن إستخدامها كبديل للنترات للتغلب على الفساد الناتج عن إنتفاخ الجبن.

٨- ظهور سلالات ممرضة Food borne pathogens مقاومة للنيسين مثل *L.monocytogenes* خاصة عند زيادة التلوث وزيادة احتمالية وجود طفرات مقاومة.

وقد أدت العوامل السابقة التى تحد من كفاءة البكتريوسينات والبكتريا المنتجة له إلى إضعاف مركز النيسين والبكتريوسينات الأخرى. كما أن عدم وجود دراسات كثيرة عن سمية البكتريوسينات الأخرى وبكتريا حمض اللاكتيك المنتجة لها bacteriocinogenic LAB ساعد على إضعاف هذا المركز. ويرجع قلة الدراسات الخاصة بالبكتريوسينات والميكروبات التابعة LAB إلى عدم وفرة البكتريوسينات النقية لعمل الإختبارات الكافية وإلى أن الإستخدام الآمن للنيسين لأكثر من خمسين عاماً وإدراك أن LAB غير مرضية وغير منتجة للسموم جعلنا نعتقد أن كل بكتريوسينات LAB آمنة.

ونرى أن الأعتبارات الأمنية لا تتوقف فقط على تحضير مستحضرات نقيه من البكتريوسينات، بل يجب إجراء إختبارات مدى سميتها، وقد يرى البعض أنها إختبارات مكلفة إلا أن هناك إختبارات بسيطة يمكن الإعتماد عليها مثل Ames mutagenicity assay وإختبار سمية الخلايا Tissue culture cytotoxicity.

ومن طرق تقدير البكتريوسينات فى الأغذية:

إستخدام الطرق الحيويه وهى مبنية على أساس إستخلاص النيسين من الغذاء بغلى العينة فى حمض HCl ٠,٠٢ أساس لمدة ١٠ د وطرده العينة لإستبعاد الطعام وإختبار الرائق بإستخدام:

١- طريقة Plate agar diffusion ويستخدم لذلك عادة ميكروب *St.agalactia, Str. cremoris, Micrococcus luteus*.

٢- تقدير ATP وهى أسرع من الطرق الحيوية إلا أنها مكلفة.

٣- Enzyme immon assay وهى أقل تعباً ويمكن تحويلها إلى automation.

وعموماً فإن الكشف عن المتبقى من النيسين يعتمد على درجة الحرارة ونمو الميكروب ومكونات البيئة، وبإضافة النيسين إلى الغذاء فإن جزءاً منه يبقى فى الغذاء ويمكن الكشف عنه، وهذه النسبة قد تبقى كما هى أو تتغير بالتخزين وهذا يعتمد على تركيب الغذاء.

#### ملاحظات:

١- قد يطلق على البكتريوسينات Bacteria antimicrobial proteins فهى مواد بروتينية تنتجها عديد من الأجناس والسلالات البكتيرية مرضية وغير مرضية (جدول ٤١) لها نشاط قاتل bacteriocidal أو مثبط bacteriostatic ضد سلالات أخرى

جدول (٤١): بعض أجناس البكتريا المنتجة للبكتريوسينات (Thomas and Alan , 1993)

|                 |               |                   |                |
|-----------------|---------------|-------------------|----------------|
| Acetobacter     | Enterococcus  | Leuconostoc       | Serratia       |
| Actinobacillus  | Ervinia       | Listeria          | Shigella       |
| Clostridium     | Haemaphilus   | Pediococcus       | Staphylococcus |
| Bacillus        | Haloferax     | Propionibacterium | Streptococcus  |
| Brevibacterium  | Lactobacillus | Pseudomonas       | Yersinia       |
| Corynebacterium | Lactococcus   | Salmonella        |                |

٢- من أكثر السلالات إنتاجاً للبكتريوسين (nicin) ذى أثر فعال على البكتريا المسببه لفساد الغذاء وكذلك على البكتريا الممرضة هى سلالة *Lactococcus lactis supsb. lactis* وهناك بيئات مخلقة لتنمية هذه السلالة مرتفعة الثمن. وقد تمكن المركز القومى للبحوث (ابو بكر) إستنباط بيئة جديدة تعتمد فى تركيبها أساساً على الراشح Permeate لإنتاج بكتريوسين مشابه للنيسين. وكانت أفضل من البيئات المخلقة والمستوردة مثل M17CYgL - ELikar, Harish, MRS.