تأثير بكتريا بادئ اللبن على بكتريا *Brucella melitensis* المعزولة من دم الإنسان وحليب الأغنام*

طارق زيد إبراهيم
قسم علوم الأغذية والتقانات الاحيائية / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل / العراق

يونس علي يونس

الخلاصة

شملت الدراسة عزل بكتريا البروسيلا من الانسان وهو المضيف النهائي للبكتريا، ومن الحليب الـ دام المصدر الرئيسي للاصابة، تم الحصول على عزلتين للبكتريا، الاولى عزلة (١) عزلت من بين (٢٣) عينة دم ا شت من ا شت اص ظهرت عليهم اعراض حمى مالطا واعطى مصلهم نتيجة موجبة في ا تبار الـ روزبنكال، والثانية عزلة (٢) عزلت من (٣٧) عينة حليب جمعت من مناطق (محوير ومنارة شبك وبرطلة) حول مدينة الموصل من اغنام عانت الاجهاض واعطت امصالها نتيجة موجبة مع ا تبار الـ روزبنكال الجريت الا تبارات التشـ يصية البايوكيميائية على كلتا العزلتين فتبين ان كلتاهما تابعتان للنوع *Brucella melitensis* لوحظ ان كلتا العزلتين لا تقاومان الانـ فاض في قيم الاس الهيدروجيني (pH) للبن ويبين النتائج ان استـ دام بادئ مفرد يحتوي على بكتريا *Lactobacillus bulgaricus* مـ تلط من *L. bulgaricus* و *Streptococcus thermophilus* قد اعطى نتائج مؤثرة على مقاومة العزلتين في اللبن مقارنة مع استـ دام بادئ يحتوي على *S. thermophilus* فقط.

المقدمة

تعد الانواع التابعة لجنس *Brucella* امراض ممرضة دا لـ لوية ا تيارية تسبب الاجهاض للحيوانات اللبونة كالاغنام والماعز والابقار والكلاب وتحدث هذه البكتريا الاصابة للانسان عن طريق التماس المباشر مع الحيوانات المصابة او تناول منتجاتها (Gilleland، ١٩٩٨). يحتوي الحليب الـ دام على احياء مجهرية ممرضة للانسان يكون مصدرها على الاغلب من دا لـ الحيوان المصاب عن طريق الضرع والحليب، الانواع التابعة للجنس هي *Brucella melitensis* و *B. abortus* و *B. suis* التي يمكن ان تـ رج مع الحليب في اثناء الحلب ومميز من مـ طـ اطر هذه البكتريا كونها لا تعطي علامات سريرية على الضرع عند اصابة الحيوان بها (Robinson، ١٩٩٠). ينتشر مرض حمى مالطا في اكثر من (١٠٠) بلد في انحاء العالم اذ تسبب هذه البكتريا الاصابة لمليون شـ ص سنوا على مستوى العالم فمعظم الاصابات تحدث عن طريق مزاوله الحرفـ اصة التي تستوجب التعامل مع الحيوانات او منتجاتها (Izadjoo، ٢٠٠٠).

ان اصابة هذه البكتريا للحيوانات التي لها علاقة بغذاء الانسان لا يعد فقط مشكلة اقتصادية وانما ايضا يعد من مشاكل الصحة العامة فقد حظي المرض باهتمام الكثير من الباحثين في معظم الدول (Gardner، ٢٠٠٣) وقد صدرت عدة مقالات صحية تحذر من تناول الحليب الـ دام من دون بسترة ولكن في بعض مناطق العالم وـ اصة بلدان الوطن العربي ومن ضمنها العراق ينتشر تصنيع منتجات الالبان من حليب غير مبستر في نازل الفلاحين بعيدا عن الرقابة الصحية ومن قبل ا شت اص غير مطلعين على مـ طـ اطر الامراض التي تنتقل الى الانسان عن طريق هذه المنتجات ومنها الجبن المحلي الذي يعد من اكثر انواع منتجات الالبان المحلية الصنعـ طورة على صحة المستهلك، لذا فقد توجبت السيطرة الصحية على مثل هذه المنتجات وايجاد طرق الوقاية والحد من انتشارها عن طريق هذه المنتجات. فهدف هذه الدراسة معرفة قدرة بكتريا *Brucella melitensis* المعزولة من دم الانسان وحليب الاغنام على المقاومة والبقاء في منتج اللبن المحضر باستـ دام بادئ اللبن المـ تلط المتكون من بكتريا *L. bulgaricus* وبكتريا

S. thermophilus و رى باستـ دام بادئ مفرد في تحضير المنتج الحاوي على بكتريا البروسيلا.

مواد البحث وطرائقه

* مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول ٢٠٠٤.

تاريخ تسلم البحث ١٣ / ٦ / ٢٠٠٧ وقبوله ٢١ / ١١ / ٢٠٠٧.

استدعت عزلتان لبكتريا *Brucella melitensis* الأولى معزولة من دم الانسان من اصل (٢٣) ص مصاب بحمى مالطا والثانية معزولة من (٣٧) عينة حليب ما ودة من اغنام مصابة بالاجهاض من مناطق (محوير ومنارة شبك وبرطلة) حول مدينة الموصل وشدت العزلات بحسب طريقة Collee ارون (١٩٩٦) وKoneman ارون (١٩٩٧)، بادئ لبن متكون من بكتريا *L. bulgaricus* وبكتريا *S. thermophilus* بنسبة ١ مجهز من معمل اللبن الموصل، وعزلات نقية لكل من كلا النوعين المستدعتان كبادئ حليب عام بقري، وسط اكار البروسيلا ووسط اكار فاريل المحور حسب طريقة Collee ارون (١٩٩٦).

١ ذ الحليب وعومل حراريا على درجة حرارة ٨٥°م لمدة ٣٠ دقيقة وبرد الى درجة حرارة ٤٢°م ثم اضيف اليه ٢.٥% من مزرعة سائلة لبكتريا البروسيلا وتم تحضير لبن باضافة بادئ اللبن المتكون من بكتريا *L. delbreukii* subsp. *bulgaricus* و *S. salivarius* subsp. *thermophilus* وبحسب طريقة Kosikowski (١٩٧٥) وكرر لتعطلية مرة اخرى باستدعت دما بكتريا *bulgaricus* ليحدها وارى باستدعت دما بكتريا *S. thermophilus* وبعد انتهاء فترة التحضين وضعت الدوايق في الثلاجة في درجة ٤°م وسحب دورقان عشوائيا وقدر عدد بكتريا البروسيلا فيهما باستدعت دما وسط اكار فاريل المحور المشار اليه في Collee ارون (١٩٩٦). وقيس الاس الهيدروجيني للعينة باستدعت دما جههاز pH-meter نوع philips وقدرت الحموضة الكلية كنسبة مئوية للحموضة الكلية بطريقة التسحيح حسب الطريقة المذكورة في AOAC (١٩٨٠) تكررت العملية باوقات متتلفة.

النتائج والمناقشة

يلاحظ من الجدول (١) ان عدد بكتريا البروسيلا في بداية مدخل زن كان 10×16.5 CFU/gm (CFU : Colony Forming Unite) وكان الاس الهيدروجيني ونسبة الحموضة ٤.٩٠، ٠.٦٤% على التوالي للعزلة (١) وعدد البكتريا للعزلة (٢) 10×21.7 CFU/gm والاس الهيدروجيني ونسبة الحموضة ٤.٨٨، ٠.٦٩% على التوالي وعند زيادة فترة الزن لوحظ ان هنالك انفاضا ملحوظا في عدد بكتريا البروسيلا والاس الهيدروجيني وارتفاعا في نسبة الحموضة لكلتا العزلتين اذ لم يظهر أي نمو للبكتريا عند فترة الزن ٢٦ ساعة للعزلة (١) وكانت قيم الاس الهيدروجيني ونسبة الحموضة في هذه المدة ٤.١٢، ٠.٩٥% على التوالي. بينما لم يظهر نمو للعزلة (٢) عند مدة زن ٢٨ ساعة وسجل الاس الهيدروجيني ونسبة الحموضة ٤.٠، ٠.٩٥% على التوالي وعند استدعت دما بكتريا *L. bulgaricus* بمفردها لوحظ من الجدول (٢) ان هنالك ايضا انفاضا في عدد البكتريا بزيادة مدخل زن، فعند بداية مدخل زن كان عدد البكتريا للعزلة (١) 10×18 CFU/gm والاس الهيدروجيني ونسبة الحموضة ٥.١٦، ٠.٤٤% على التوالي، اما بالنسبة للعزلة (٢) فعدد البكتريا عند بداية الزن كان 10×23.7 CFU/gm والاس الهيدروجيني ونسبة الحموضة ٥.١١، ٠.٤٨% على التوالي، ولم يظهر أي نمو للبكتريا للعزلة (١) عند مدة زن ٢٤ ساعة وكان الاس الهيدروجيني ونسبة الحموضة في هذه المدة ٤.٠٥، ٠.٩٧% على التوالي اما بالنسبة للعزلة (٢) فلم يظهر لها أي نمو عند مدة زن ٢٦ ساعة حيث كان الاس الهيدروجيني ونسبة الحموضة ٣.٩٥، ١.٠% على التوالي. ويلاحظ من الجدول (٣) عند استدعت دما بكتريا *S. thermophilus* بمفردها ان هنالك انفاضا في عدد البكتريا عند زيادة مدخل زن فلم يظهر أي نمو للبكتريا عند مدة زن ٤٢ ساعة وسجل الاس الهيدروجيني ونسبة الحموضة ٤.٠٣، ٠.٩٩% على التوالي للعزلة (١) اما بالنسبة للعزلة (٢) فلم يظهر أي نمو للبكتريا عند مدة زن ٤٦ ساعة حيث كان الاس الهيدروجيني ونسبة الحموضة عند هذه المدة ٤.٠٢، ١.٠٠% على التوالي.

ويتضح من الجداول (١ و ٢ و ٣) ان بكتريا البروسيلا تقل مقاومتها كلما ازدادت نسبة الحموضة وان فضت قيمة الاس الهيدروجيني، فقد ذكر Abdel-Hakim (٢٠٠٠) ان بكتريا البروسيلا لا تقاوم الانفاضا في الاس الهيدروجيني في منتجات الالبان وخاصة اللبن الرائب، اذ تتأثر هذه البكتريا بالاس الهيدروجيني المنخفض خاصة عند pH (٤.٢) الا ان مقاومة بكتريا البروسيلا للحموضة ي تلف من منتج لا بحسب حموضة المنتج اذ اشار Kulakov ارون (١٩٩٩) الى

ان مقاومة بكتريا البروسيللا للحموضة تعتمد على نوع الوسط ومكوناته وطور النمو وعامل الضراوة
وتكيف النـوع البكتيري للحموضة

الجدول (١): تأثير بادئ اللين *L. bulgaricus* و *S. thermophilus* في بكتريا البروسيللا للعزلتين (١ و ٢)

عزلة ٢			عزلة ١			عدد الساعات
pH	الحموضة %	CFU / g	pH	الحموضة %	CFU / g	
٤.٨٨	٠.٦٩	10×21.7	٤.٩٠	٠.٦٤	10×16.5	٠
٤.٨١	٠.٦٨	10×17.5	٧.٨٣	٠.٦٨	10×11.0	٢
٤.٧٨	٠.٧١	10×12.7	٤.٨٠	٠.٧٠	10×3.4	٤
٤.٧٤	٠.٧٤	10×2.41	٤.٧٥	٠.٧٦	10×2.3	٦
٤.٦٨	٠.٧٨	10×7.7	٤.٧١	٠.٧٨	10×8.5	٨
٤.٦٠	٠.٧٧	10×2.12	٤.٦٢	٠.٨١	10×1.9	١٠
٤.٥٢	٠.٨٠	10×1.00	٤.٥٨	٠.٨٣	10×7.3	١٢
٤.٤٨	٠.٨٤	10×2.66	٤.٥٠	٠.٨٥	10×2.0	١٤
٤.٤٢	٠.٨٧	10×1.31	٤.٤١	٠.٨٧	10×9.1	١٦
٤.٣٤	٠.٨٨	10×9.0	٤.٣٩	٠.٨٩	10×2.9	١٨
٤.٢٢	٠.٩٠	10×2.23	٤.٣٣	٠.٩٢	10×1.7	٢٠
٤.١٤	٠.٨٩	10×1.97	٤.٢١	٠.٩٣	10×9.3	٢٢
٤.١١	٠.٩٢	10×8.6	٤.١٦	٠.٩٦	10×3.1	٢٤
٤.٠٥	٠.٩٧	10×3.7	٤.١٢	٠.٩٥	N.g	٢٦
٤.٠	٠.٩٥	N.g	٠.٧.٤	٩٨.٠	N.g	٢٨

Non-growth : N. g

* القراءات بواقع مكررين لكل قراءة

الجدول (٢): تأثير بكتريا البادئ *L. bulgaricus* على بكتريا البروسيللا للعزلتين (١ و ٢)

عزلة ٢			عزلة ١			عدد الساعات
pH	الحموضة %	CFU / g	pH	الحموضة %	CFU / g	
٥.١١	٠.٤٨	10×23.7	٥.١٦	٠.٤٤	10×18.0	٠
٥.٠٨	٠.٤٩	10×18.0	٥.٠٩	٠.٤٥	10×14.8	٢
٥.٠٢	٠.٥٤	10×12.9	٥.٠٦	٠.٤٧	10×8.6	٤
٤.٩٦	٠.٥٧	10×8.0	٤.٩٦	٠.٥٠	10×3.1	٦
٤.٩٣	٠.٥٩	10×3.4	٤.٨٩	٠.٥٧	10×2.6	٨
٤.٨٦	٠.٦٥	10×2.1	٤.٧٦	٠.٦٦	10×1.8	١٠
٤.٧٧	٠.٧١	10×9.1	٤.٦٥	٠.٧٢	10×8.7	١٢
٤.٦٣	٠.٧٧	10×2.3	٤.٥٤	٠.٧٨	10×1.7	١٤
٤.٤٨	٠.٨٢	10×6.2	٤.٤٥	٠.٨٤	10×2.8	١٦
٤.٣٩	٠.٨٥	10×1.8	٤.٣٣	٠.٨٩	10×1.4	١٨
٤.٣١	٠.٨٩	10×8.8	٤.٢٢	٠.٩٢	10×1.2	٢٠
٤.٢٠	٠.٩٣	10×2.3	٤.١٤	٠.٩٥	10×0.3	٢٢
٤.٠٨	٠.٩٨	10×1.0	٤.٠٥	٠.٩٧	N.g	٢٤
٣.٩٥	١.٠٠	N.g	٣.٩٨	١.٠١	N.g	٢٦

Non-growth : N. g

* القراءات بواقع مكررين لكل قراءة

ونلاحظ من الجداول (١ و ٢ و ٣) ان استء دام بادئ متكون من مزيج *L. bulgaricus* و *S. thermophilus* استء دام بكتريا *L. bulgaricus* بمفردها قد اعطى تأثيرات كبيرة على كلتا العزلتين في اللين مقارنة مع تأثير استء دام بكتريا *S. thermophilus* بمفردها والسبب قد يعود الى انتاج البكتريوسينات من قبل بكتريا *L. bulgaricus* التي اثرت بدورها في كلتا العزلتين اذ ان الحموضة قد تكونت في الحالات الثلاثة ومع هذا فقد اثر استء دام بكتريا *S. thermophilus* لوحدها في بكتريا البروسيللا بدرجة اقل والسبب في ذلك قد يعود الى ضعف قدرة بكتريا *S. thermophilus*

على فض الاس الهيدروجيني الى اقل من مستوى تحملها اذ انها لا تستطيع النمو بصورة جيدة في اس هيدروجيني من فض مقارنة مع *L. bulgaricus* التي تمتاز بقابليتها العالية على تـ مير سكر اللاكتوز وانتاج نسبة عالية من حامض اللاكتيك وانتاج بيروكسيد الهيدروجين وقد اشار Younis و Mohammed (١٩٩٠) الى ان بكتريا *L. bulgaricus* لها تاثير مثبط كبير على الاحياء المجهرية المرضية التي توجد في اللبن من لال انتاجها للبكتريوسينات الى جانب التأثير بـ فض الاس الهيدروجيني.

الجدول (٣) : تأثير بكتريا البادئ *S. thermophilus* على بكتريا البروسيللا للعزلتين (١ و ٢)

عزلة ٢			عزلة ١			عدد الساعات
pH	الحموضة %	CFU / g	pH	الحموضة %	CFU / g	
٤.٩٣	٠.٥٩	10×32	٥.١٠	٠.٥٣	10×20.0	٠
٤.٩١	٠.٦٣	10×26.3	٤.٩٢	٠.٦١	10×15.4	٢
٤.٨٥	٠.٦٥	10×19.8	٤.٨٧	٠.٦٦	10×10.2	٤
٤.٧٩	٠.٦٩	10×17.1	٤.٨٠	٠.٦٥	10×3.4	٦
٤.٧٨	٠.٧٠	10×11.6	٤.٧٣	٠.٧٠	10×2.8	٨
٤.٦٧	٠.٧٣	10×3.8	٤.٧٦	٠.٧٢	10×2.2	١٠
٤.٥٨	٠.٧٨	10×2.41	٤.٦٨	٠.٧٧	10×1.6	١٢
٤.٤٣	٠.٨١	10×1.61	٤.٥٨	٠.٧٨	10×8.9	١٤
٤.٣١	٠.٨٧	10×5.4	٤.٤٩	٠.٨٥	10×2.6	١٦
٤.٢٣	٠.٨٥	10×2.9	٤.٤٠	٠.٨٧	10×2.2	١٨
٤.٢٠	٠.٨٨	10×2.3	٤.٣٣	٠.٨٨	10×1.4	٢٠
٤.١٨	٠.٩٠	10×1.7	٤.٢٦	٠.٨٨	10×1.0	٢٢
٤.١١	٠.٩١	10×9.9	٤.٢٢	٠.٩٠	10×4.2	٢٤
٤.٠٩	٠.٩٤	10×3.7	٤.١٩	٠.٩٢	10×2.9	٢٦
٤.٠٨	٠.٩٥	10×2.1	٤.١٥	٠.٩٤	10×2.1	٢٨
٤.٠٩	٠.٩٥	10×1.5	٤.١٣	٠.٩٦	10×1.6	٣٠
٤.٠٦	٠.٩٧	10×1.0	٤.١٠	٠.٩٥	10×9.1	٣٢
٤.٠٥	٠.٩٨	10×4.5	٤.١١	٠.٩٥	10×3.5	٣٤
٤.٠٥	٠.٩٦	10×2.8	٤.٠٨	٠.٩٨	10×2.1	٣٦
٤.٠٣	٠.٩٧	10×2.4	٤.٠٤	٠.٩٧	10×1.5	٣٨
٤.١٠	٠.٩٨	10×1.8	٤.٠٥	٠.٩٩	10×0.6	٤٠
٤.٠٨	٠.٩٨	10×1.2	٤.٠٣	٠.٩٩	N.g	٤٢
٤.٠٦	٠.٩٨	10×0.5	٤.٠٠	١.٠٠	N.g	٤٤
٤.٠٢	١.٠٠	N.g	٤.٠٠	١.٠٢	N.g	٤٦

Non-growth : N. g

* القراءات بواقع مكررين لكل قراءة

EFFECT OF YOGHART STARTER ON *BRUCELLA MELITNISIS* ISOLATED FROM HUMAN BLOOD AND SHEEP MILK

Tarik Zaid Ibraheem

Younis Ali younis

Food Sci. and Biotech. Dept., College of Agric. and Foresty, Mosul Univ., Iraq

ABSTRACT

Brucella spp. causes Malta fever a zoonotic disease that can be transmitted to human by consumption of raw milk and unpasteurized dairy products like soft cheese, whose production is wide spread in Iraq. Because of the harm of this disease on public health and the difficulty of treatment;

therefore this study included the isolation of *Brucella* from human (final host) and raw milk (the main source of infection). Two isolates were obtained, isolate (1) was isolated from (23) blood specimens taken from patients showed clinical findings of malta fever and their serum gave high agglutination titer in Rose Bengal Test, the second isolate (2) was isolated from (37) milk sample collected from regions (Mahweer, Manarat Shabbak and Bartillah) from sheep suffered from abortion and their serum gave positive results with Rose Bengal Test. After the diagnostic biochemical tests were done, we found that as a result these two isolates belong to the species *Brucella melitensis*. It has also been found that both isolates didn't withstand the decreasing of pH in yoghurt, the results also showed the use of starter bacteria *Lactobacillus delbreukii* subsp. *bulgaricus* alone or with the combination of *L. delbreukii* subsp. *bulgaricus* with *Streptococcus thermophilus* gave effective results on the resistance of these two isolates in yogurt as compared to the use of *S. thermophilus* alone.

المصادر

- Abdel-Hakim, E. H. (2000). The role of raw milk in transmission of brucellosis, Tropenl and write, 69 : 33-41.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1980). Official Methods of Analysis , Washington , D. C.
- Collee, J. G. ; A. G. Fraser ; B. P. Marmion and A. Simmons (1996). Practical Medical Microbiology, 14th ed. , Churchill Livingstone Inc. , New York.
- Gardner, S. (2003). The biology of brucellosis, Biotech Times, 9 : 1-3.
- Gilleland, R. L. ; M. E. Kovach ; P. H. Elzer ; S. R. Jennings and R. M. Roop (1998). Identification and characterization of a 14-Kilodalton *Brucella abortus* protein reactive with antibodies from naturally and experimentally infected hosts and T Lymphocytes from experimentally infected BALB/cMice, Infect. Immun. , 66 : 4000-4003.
- Izadjoo, M. J. ; Y. Polotsky ; M. G. Mense ; A. Bhattacharjee ; C. M. Paronavitana ; T. L. Hadfield and D. L. Hoover (2000). Impaired control of *Brucella melitensis* infection in Rag 1- deficient Mice, Infect. Immun. , 68 : 5314 - 5320.
- Koneman, E. W. ; S. D. Allen; V. R. Dowell; W. M. Jando; H. A. Sommer and W. C. Winn (1997). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 4th ed. , J. B. Lippincott Co. , Philadelphia.
- Kosikowski, F. (1975). Cheese and Fermented Milk Foods, Edwards Brother, Inc. Ann. Arbor, Michigan.
- Kulakov, I. K. ; M. M. Zheludkov; D. F. Seliutina and A. G. Skavronskara (1999). Sensitivity and Adaptation of Various *Brucella* species to Acid Shock, Mol. Gen. Mikrobiol. Virusol. , 3 : 8-12.
- Mohammed, F. O. and Y. A. Younis (1990). Effect of Yoghurt Cultures on Some Pathogenic Microorganisms in Fermented Milks, Egyptian J. Dairy Sci. , 18 : 369-375.
- Robinson, R. K. (1990). Dairy Microbiology, 2nd ed. , Elsevier science publishers Ltd. .