

الفصل الرابع

ميكروبيولوجيا الألبان

- 1-4 تلوث الحليب وتحلله من أصل ميكروبي
- 2-4 البكتريا الكلية
- 3-4 بكتريا حمض اللبن
- 4-4 البكتريا الأليفة لدرجة الحرارة المنخفضة
- 5-4 البكتريا الأليفة لدرجة الحرارة المرتفعة
- 6-4 بكتريا حمض الزبدة
- 7-4 الكوليفورم
- 8-4 الجراثيم الممرضة
- 9-4 الفطور المنتجة للمواد السامة
- 10-4 الفيروسات

الفصل الرابع ميكروبيولوجيا الألبان

1-4 تلوث الحليب وتحلله من أصل ميكروبي Contamination et altération d'origine microbienne

بشكل عام يشار إلى الأحياء الدقيقة بالجراثيم الموجودة في الحليب عند زمن محدد ووجود الميكروبات في الحليب مرده :

- وجود البكتيريا المسؤولة عن التهاب الضرع ضمن الأرباع المصابة وإذا كان الضرع سليماً يكون الحليب معقماً .
- تلوث الحليب من الوسط الخارجي عند الحلابة والمعاملات اللاحقة .
- يعتبر الحليب وسطاً غذائياً جيداً يسمح بنمو البكتيريا وتضاعفها وفقاً لشروط الوسط المناسبة للنمو كدرجة الحرارة ورقم pH وكمون الأكسدة .
- تقدير العدد الكلي للأحياء الدقيقة في الحليب لا يكفي للدلالة على خطورة البكتيريا إزاء الصحة والخصائص التكنولوجية للحليب ونوعية المنتجات اللبنية وتعتمد النتائج المترابطة عن وجود البكتيريا على خصائصها الفيزيولوجية والاستقلابية وقدرتها الممرضة . تعتمد نوعية الحليب وإمكانية تحلله وفساده بالنظر إلى البكتيريا الملوثة وخصائصها المهمة .

- البكتريا المنتجة للحموضة التي تنشط في الحليب غير المبرد منتجة حمض اللبن ويتعلق بشكل أساسي في بكتريا حمض اللبن و *Bifidobacterium* .
 - البكتريا الأليفة لدرجة الحرارة المنخفضة والتي تنشط في الحليب المحفوظ على درجة حرارة منخفضة وتتصف فعاليتها بإفراز الليباز والبروتياز المسؤولة عن تحلل الحليب ومنتجاته مثل بعض أنواع *Pseudomonas* , *Bacillus* .
 - البكتريا المقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة والتي تتصف بمقاومة المعاملات الحرارية المطبقة في مجال الألبان ومن أهم البكتريا المتبوعة *Clostridium* , *Bacillus* , *Micrococcus* .
 - بكتريا حمض الزبدة المسؤولة عن التخمر الزبدي والذي يؤدي إلى الانتفاخ المتأخر في الأجبان المترافق مع ظهور عيوب في الطعم مثل *Clostridium tyrobutyricum* .
 - بكتريا الكوليفورم المسؤولة عن العيوب في الأجبان والخطرة على المستوى الصحي تحلل اللاكتوز وتنتج الغازات والبكتريا المسؤولة عن ذلك تعود للعائلة *Enterobacteriaceae* .
 - الجراثيم الممرضة التي يشكل وجودها خطراً على صحة المستهلك بسبب إفراز المواد السامة أو التسمم الغذائي ولذلك يجب اتخاذ جميع التدابير الضرورية للحصول على المواصفات التشريعية المطلوبة .
 - البكتريا الكلية والتي تشكل دليلاً مفيداً على نوعية الحليب وخطر ظهور العيوب الناتجة عن وجودها الجدول (1-4) .

1-1-4 مسار نمو البكتريا :

عند ترك عدد معين من الجراثيم في وسط مغذي وعلى درجات حرارة مناسبة للنمو يلاحظ ازدياد العدد تدريجياً مع الزمن ونشير إلى وجود ثلاثة مناطق لدرجة الحرارة : درجة الحرارة المثلى ودرجة الحرارة الدنيا ودرجة الحرارة العظمى لنشاط الجراثيم .
 تقاس سرعة النمو بتحديد زمن الجيل أي المدة اللازمة لتضاعف عدد الجراثيم ويقاس النمو بعدد الأجيال أو معدل التضاعف خلال فترة زمنية ووفقاً لدرجة حرارة النمو يمكن تصنيف الجراثيم .
 - محبة للبرودة والتي درجة حرارتها المثلى للنمو أقل من 20° م .
 - محبة لدرجة الحرارة المتوسطة والتي درجة حرارتها المثلى بين 25-45° م .
 - محبة للحرارة المرتفعة والتي درجة حرارتها المثلى أعلى من 50° م .

الجدول (1-4) البكتريا الأساسية الموجودة في الحليب

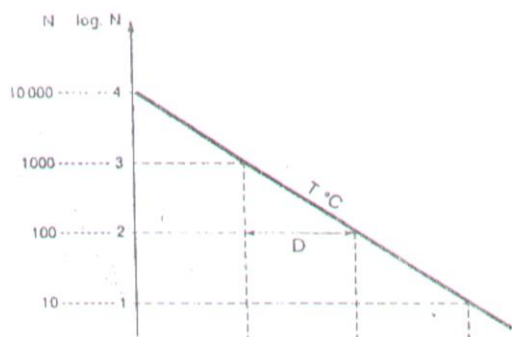
COQUES GRAM +		Flore lactique	flore psychro-	Flore thermo-	Flore butyrique	Flore coliforme	Flore pathogene
---------------	--	----------------	----------------	---------------	-----------------	-----------------	-----------------

				trophe	Resistante			
	micrococcaceae	Micrococcus						/
		staphylococcus			/			
	Streptococcaceae	Streptococcus						
		Enterococcus			/			/
		Leuconostoc			/			/
		Lactococcus			/			/
		Pediococcus			/			/
BACILLES GRAM +	Non Sporules	Lactobacillaceae	Lactobacillus					/
		Brevibacteriaceae	Brevibacterium					/
			Microbacterium					
		Actinomycetaceae	Bifidobacterium	/				/
			Corynebacterium	/	++			/
			Listeria					
	Sporules	Mycobacteriaceae	Mycobacterium					
			Coxiella					
		Propionibacterium	Propionibacterium					
BACILLES GRAM-	Pseudomonadaceae	Pseudomonas						
		Alcaligenes						
		Acinetobacter						
		Flavobacterium						
		Aeromonas						
	Parvobacteriaceae	Pasteurella						
		Brucella						
	Enterobacteriaceae	Escherichia	/				++	
		Citrobacter	/					
		Klebsiella	/					
		Enterobacter						
		Serratia						
		Proteus						
		Salmonella	/					
		Shigella	/					
		Yersinia						
		Campylobacter						

2-1-4 الإتلاف الحراري للبكتريا

عند إخضاع عدد معين من الجراثيم إلى درجة حرارة أعلى من درجة الحرارة اللازمة لقتل البكتريا فإن نسبة الجراثيم المتبقية والقادرة على النشاط يطلق عليها معدل البقاء .

وتقدر سرعة إتلاف الجراثيم بتحديد D الزمن العشري والذي يعرف بأنه الزمن اللازم لخفض عدد الجراثيم إلى العشر ويقدر أيضاً بمعامل Z والذي يساوي عدد درجات الحرارة اللازم لخفض D إلى العشر . الشكل (4-1) والشكل (4-2) .

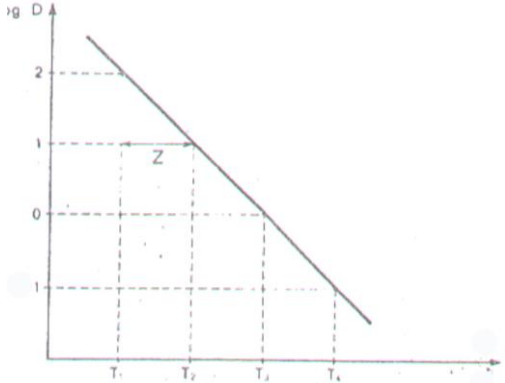


M : عدد الجراثيم المتبقية في مل .

t : الزمن اللازم للتسخين / دقيقة .

T : درجة حرارة التسخين °م .
D : زمن الانخفاض العشري

الشكل (1-4) منحنى البقاء لنوع ميكروبي معرض إلى درجة حرارة معينة °م



Z : رفع درجات الحرارة درجة °م .
والتي تخفض الزمن إلى عشر قيمته
T : درجة حرارة التسخين °م .
D : زمن الانخفاض العشري

الشكل (2-4) منحنى

2-4 البكتريا الكلية :

في أوروبا يقدر ثمن الحليب على أساس النوعية الميكروبيولوجية والمقدرة على أساس التعداد الكلي ، بالرغم من ضرورة تقدير النوعية الصحية والخصائص التكنولوجية للحليب إلا أن التعداد الكلي يعتبر مؤشراً عاماً لظروف جمع الحليب ونقله وتخزينه .

يلوث الحليب إما عن طريق الوسط الخارجي أو من الوسط الداخلي عند حدوث مرض التهاب الضرع ويعتمد نشاط الميكروبات في الحليب على درجة الحرارة والزمن ، في غياب التهاب الضرع يكون الحليب معقماً أما الحلمة المتصلة مع الوسط الخارجي يمكنها أن تتلوث بالبكتريا ولذلك من الضروري التخلص من الشخبات الأولى رغم أن ذلك لن يخفف كثيراً من تلوث الحليب .
يجب استبعاد الحليب الناتج عن التهاب الضرع السريري بالمقابل الحليب الناتج عن التهاب الضرع تحت السريري لا يمكن استبعاده وعند خلطه يلوث الحليب ويكون مستوى التلوث مختلفاً من حلابة لأخرى وفقاً للعامل المسبب للمرض فعند الإصابة بفعل *Listeria* أو *Staphylococcus* يمكن أن تلوث الحليب بمعدل 100 إلى 100.00 جرثومة/مل ولكن هذا التلوث لا يرفع العدد الكلي العام في حين أنه يؤثر في حالة حليب القطيع الواحد وخاصة إذا كان الحليب الخام موجهاً لصناعة المنتجات اللبنية . وجود البكتريا في الحليب مرتبط في التلوث بالبكتريا ونموها وانتشارها اللاحق والتلوث مصدره الحيوان والوسط المحيط به كالأرض والماء وأماكن التربية والبيئة . ولكن التلوث الأهم مصدره الكتل الكبيرة كالشعر وكتل المخلفات والأعلاف ، ويمكن للضرع غير النظيف أو غير المغسل جيداً أن يسبب التلوث ويرفع عدد الأحياء الدقيقة من 10.000 إلى 100.000 جرثومة/مل وأغلبها من البكتريا الكروية والعنقودية الذهبية والأليفة لدرجة الحرارة المنخفضة

والمقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة في حين تشكل معدات أجهزة نقل وجمع وتخزين الحليب مصدراً للتلوث عند عدم تطبيق التنظيف والتعقيم بشكل كاف حيث تشكل نقاطاً تكون أساساً لبؤر ميكروبية تلوث الحليب لوجود تماس معها بشكل مرتفع ويصل العدد الكلي من عدة آلاف في /مل ليصبح عدة ملايين /مل فإذا لم تكن عملية التنظيف جيدة بسبب عدم إضافة التركيز المطلوب من المادة المنظفة أو الإخلال في درجة الحرارة والمدة الزمنية يترتب عنه ظهور البكتيريا المقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة أما في حالة عدم تطبيق التنظيف والتعقيم بشكل كاف يؤدي إلى وجود زوايا معينة تسمح في ظهور الكوليفورم والبكتيريا المحبة للبرودة . فيما يتعلق بنوعية الماء المستخدم في شطف وغسيل الأجهزة يمكن أن تساهم في زيادة الكوليفورم والبكتيريا المحبة للبرودة عندما تكون نوعية غير جيدة .

تتحكم درجة الحرارة ومدة الحفظ وطبيعة البكتيريا الملوثة في النمو والانتشار اللاحق للبكتيريا فعدم تطبيق التبريد وترك الحليب على درجة حرارة 15-25°م يسمح بنمو أغلب البكتيريا وخاصة البكتيريا أليفة درجة الحرارة المتوسطة المنتجة لحمض اللبن والكوليفورم .

أما عند تطبيق التبريد على درجة حرارة أقل من 10°م تثبط فعالية بكتيريا حمض اللبن وبالمقابل تنمو وتنشط البكتيريا الأليفة لدرجة الحرارة المنخفضة .

عندما يبرد الحليب على درجة لا تتجاوز 4°م فالبكتيريا الوحيدة القادرة على النشاط تنتمي إلى عائلة Pseudomoneceae وخاصة Pseudomonas ، أما عندما يكون التبريد بين 4°م و 10°م فالبكتيريا التي يمكن أن تنشط تكون من البكتيريا المقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة Bacillus وبعض بكتيريا الكوليفورم. يتم تقدير النوعية الميكروبيولوجية للحليب بالاعتماد على العدد الكلي للبكتيريا أليفة درجة الحرارة المتوسطة بعد زراعتها في وسط مغذي والذي يحضر في ظروف هوائية على درجة حرارة 30°م خلال 72 ساعة ويمكن استخدام الطرق غير المباشرة بقياس المواد المستقبلة الميكروبيولوجية الخارجية مثل :

- تقدير ببيروفات .
- تقدير الأمونياك
- أو قياس ATP ادينوزين ثلاثي الفوسفات .

بغية تجنب تلوث الحليب ، يجب اتخاذ الإجراءات التي تلغي إمكانية تلوث الحليب بالتبريد على درجة حرارة 4°م والاهتمام بنظافة الحيوان وخاصة الضرع والوسط المحيط :

- فعلى مستوى الضرع يجب الانتباه إلى غسيل الضرع وتجفيفه والتخلص من الشخبات الأولى والمحملة بالجراثيم من الوسط الخارجي وتعقيم الحلمات بعد الانتهاء من الحلابة باستخدام محلول معقم إما بغمر الحلمات أو بترذيذ الحلمات بالمحلول .

- على مستوى الأجهزة والمعدات : يجب تطبيق النظافة والتعقيم بشكل كاف وفعال حيث ترتبط الفعالية بتركيز المادة ودرجة حرارة الاستخدام ومدة التماس مع المعدات والأدوات بالإضافة إلى الفعل الميكانيكي الذي يطبق أحياناً يضاف إليها ضرورة صيانة الأجهزة وتغيير القطع المستهلكة وبمعدل مرة واحدة على الأقل .

- على مستوى التبريد : يجب العمل على تبريد الحليب إلى درجة حرارة 4° م خلال مدة ساعتين كأقصى حد مع تجنب ارتفاع درجة حرارة الحليب إلى أعلى من 10° م عند إضافة الحلابة اللاحقة .

وفقاً للتشريع الفرنسي عند تقدير ثمن الحليب على أساس النوعية الميكروبيولوجية يجب أن تؤخذ في البداية أربع عينات شهرياً تبرد إلى درجة حرارة قريبة من الصفر وتحلل خلال 24 ساعة من أخذ العينة وتقدر النوعية وفقاً للمعايير التالية :

العلامة 3	الحليب الذي محتواه أقل من 100.000/مل	جيد النوعية
العلامة 2	الحليب الذي محتواه 100.000-500.000/مل	متوسط النوعية
العلامة 1	محتوى الحليب أعلى من 500.000/مل	سيء النوعية .

ويوضح الجدول (2-4) الفئات الثلاثة وفقاً للنتائج :

الجدول (2-4) تحديد الفئات الأولى والثانية والثالثة وفقاً للعلامة الناتجة عن الفحص الشهري

عدد مرات المراقبة	4 أربع مرات / شهرياً	ثلاث مرات / شهرياً	مرتين / شهرياً
الفئة الأولى	3.3.3.3	3.3.3	3.3
	2.3.3.3	2.3.3	2.3
	1.3.3.3		
	2.2.3.3		
الفئة الثانية	1.2.3.3	1.3.3	1.3
	1.1.3.3	2.2.3	2.2
	2.2.2.3	1.2.3	
	1.2.2.3	2.2.2	
	1.1.2.3		
	2.2.2.2		
	1.2.2.2		
الفئة الثالثة	1.1.1.3	1.1.3	1.2
	1.1.2.2	1.2.2	1.1
	1.1.1.2	1.1.2	
	1.1.1.1	1.1.1	

بكتريا حمض اللبن : Flore lactique

يؤدي عدم تبريد الحليب أو تركه على درجة حرارة أعلى من 12-15° م إلى نمو الميكروبات وانتشارها وبصورة خاصة البكتيريا الأليفة لدرجة الحرارة المتوسطة حيث تشكل بكتيريا حمض اللبن القسم الأكبر منها . تخمر بكتيريا حمض اللبن اللاكتوز مؤدية إلى إنتاج حمض اللبن الذي يرفع درجة الحموضة تدريجياً في الحليب وتصبح هذه البكتيريا سائدة في الحليب غير المبرد وبالمقابل تثبط فعالية البكتيريا الأليفة لدرجة الحرارة المنخفضة وكذلك E.coli نتيجة ارتفاع حموضة الوسط الناتجة عن فعل بكتيريا حمض اللبن .

يوضح الجدول (2-4) الأجناس الأساسية لبكتيريا حمض اللبن الموجودة في الحليب والمنتجات اللبنية والتي تعود إلى ستة أجناس مختلفة :

Lactococcus
Lactobacillus
Streptococcus
Leuconostoc
Bifidobacterium
Enterococcus

- موجبة لصبغة غرام .
 - لا هوائية اختيارية
 - أليفة لدرجة الحرارة المتوسطة والمرتفعة
 - فعالية ضعيفة في قدرتها على تحلل المادة الدسمة والبروتينات .
 - تخمر اللاكتوز منتجة :
- 90% حمض اللبن مع البكتيريا متجانسة التخمر
50% حمض اللبن بالإضافة لحمض الخل والايثانول وغاز CO₂ مع البكتيريا غير متجانسة التخمر .

الجدول (2-4) أنواع البكتيريا الأساسية الموجودة
في الحليب والمنتجات اللبنية

	أليفة لدرجة الحرارة المرتفعة	
	Thermophiles	
	Lactobacillus (Lb)	
بكتريا متجانسة التخمير HOMO FERMENTAIRES	Lb. casei Lb. plantarum	Lb. helveticus Lb. bulgaricus Lb. acidophilus
	Lactococcus(Lc.) Lc. cremoris Lc. lactis	Bifidobacterium (Bd.) Bd. bifidus
بكتريا غير متجانسة التخمير HETERO FERMENTAIRES	Enterococcus(Ec.) Ec. faecalis Ec. faecium	Streptococcus(Sc.) Sc. thermophilus
	Leucomostoc(Ln.) Ln. cremoris Ln. lactis	
	Lactobacillus(Lb.)	
	Lb. brevis Lb. buchneri	Lb. fermentum.

تتواجد بكتريا حمض اللبن في الحليب ومنتجاته والمنتجات النباتية والسيلاج والحبوب وبشكل عام البكتريا الكروية مرتبطة في حياة الحيوان أما العصوية موجودة في المنتجات النباتية .

في الوقت الحالي يفضل استخدام البادئات واستثمار الخصائص العديدة لبكتريا حمض اللبن في تصنيع المنتجات الغذائية نظراً لخصائصها في :

1- إنتاج حمض اللبن الناتج عن التخمير اللبني في صناعة الألبان المتخمرة والقشدة والزبدة .

2- تتصف بكتريا حمض اللبن بفعالية ضعيفة في تحليل المادة الدسمة والبروتينات في الأجبان .

3 – تتصف بكتريا حمض اللبن بفعالية متنوعة وذلك بإنتاج المواد اللزجة والغاز CO₂ مع إفراز بعض المضادات الحيوية المثبطة لفعالية بعض الجراثيم الأخرى . بشكل عام بكتريا حمض اللبن الموجودة في الحليب الخام أغلبها من البكتريا الأليفة لدرجة الحرارة المتوسطة والتي منها :

Ln. cremoris , Ln. lactis , Leuconostoc (Ln.) التي تتميز بفعالية ضعيفة في إنتاج الحموضة وفعالية مرتفعة في إنتاج المواد المنكهة وهي بكتريا غير متجانسة التخمير وبكتريا Lactococcus (Lc.) , Lc. cremoris , Lc. lactis المسؤولة بشكل أساسي عن تخمر الحليب غير المبرد والتلقائي، أما البكتريا العصوية أليفة درجة الحرارة المتوسطة محدودة الانتشار بالمقارنة مع البكتريا الكروية . تنمو بسرعة البكتريا الأليفة لدرجة الحرارة المتوسطة على درجة حرارة

15-20°م في الحليب غير المبرد وتصل مدة الجيل 2-4 ساعات ومعدل التضاعف 10-60 خلال 12 ساعة أو 60-400 خلال 24 ساعة .
فإذا كان العدد 10⁴ فيصبح بعد مدة 12 ساعة 10⁵ - 10⁶
وبعد 24 ساعة 10⁶ - 10⁸

وكما ذكرنا سابقاً تفرز بعض سلالات بكتريا حمض اللبن بعض المواد المثبطة والمتراكمة مع ارتفاع الحموضة في الحليب الناتج عن التخمر حيث تؤثر بشكل محسوس على بعض الجراثيم غير المرغوبة مثل *Alcaligenes* , *Pseudomonas* وبعض بكتريا الكوليفورم المسؤولة عن تخمرات غازية تسبب الإنتفاخ المبكر للأجبان وتؤثر المثبطات أيضاً على بعض الجراثيم الممرضة مثل :

Staphylococcus

Salmonella

Clostridium

Listeria monocytogenes

ومن النتائج المترتبة عن ارتفاع درجة الحموضة انخفاض ثباتية الحليب إزاء المعاملة الحرارية مما يجعل صعوبة استخدام الحليب في تصنيع بعض المنتجات أو عدم صلاحيته للتصنيع كما هو موضح في الجدول (3-4) :

الجدول (3-4) العلاقة بين رقم حموضة الحليب وتأثير المعاملة الحرارية

حمض اللبن غ/كغ	pH
الحليب لا يتحمل التعقيم على درجة حرارة 110-120°م	6.4
الحليب لا يتحمل الغليان على درجة حرارة 100°م	6.3
الحليب لا يتحمل البسترة على 72°م	6.1
يتخثر الحليب تلقائياً على درجة الحرارة العادية	5.2
6 - 5.5	

يؤدي حفظ الحليب على درجة حرارة منخفضة إلى إيقاف فعالية بكتريا حمض اللبن وعدم ارتفاع درجة الحموضة والذي يلغي دور هذه البكتريا في الحماية من التحلل الناتج عن التلوث الكبير .

إذا أريد حفظ الحليب على درجة حرارة منخفضة يفضل استخدام حليب نوعيته الميكروبيولوجية الجيدة خاصة إذا كانت فترة الحفظ طويلة ويجب حفظه على درجة حرارة 4°م منذ الحلابة وحتى تصنيعه أما في الحالات التي لا يبرد فيها الحليب يفضل جمعه يومياً على شرط أن تكون درجة الحرارة أقل من 12°م .

4-4 البكتريا الأليفة لدرجة الحرارة المنخفضة :

Flore psychrotrophe

يسمح تبريد الحليب في المزرعة بإيقاف نمو ونشاط الميكروبات مما يزيد في إطالة الفترة الفاصلة بين الحلابة ومعاملة الحليب في المصنع وتسمح عملية تبريد الحليب في تنظيم جمع الحليب ونقله وتأمين نوعية جيدة عند تسليمه في المعمل. لأن إيقاف وتنشيط نشاط بكتريا حمض اللبن المنتجة للحموضة يترك المجال حراً للجراثيم القادرة على النشاط على درجة حرارة منخفضة ، تمتاز البكتريا المحبة للبرودة في إنتاج كميات هامة من الأنزيمات (الليباز والبروتياز) المقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة والمسؤولة عن ظهور العيوب في الخصائص الحسية للحليب والمنتجات اللبنية المصنعة .

تتصف البكتريا المحبة للبرودة بأنها عصوية

موجبة لصبغة غرام

هوائية

محبة لدرجة الحرارة المتوسطة

أهم الأجناس : *Pseudomonas*

Alcaligenes

Acinetobacter

Flarobacterium

Aeromonas

وبعض بكتريا الكوليفورم وبعض البكتريا المتبوعة المقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة مثل جنس *Bacillus* وكذلك بعض أنواع بكتريا *Yersinia* و *Listeria* تنتشر هذه الجراثيم في الطبيعة (التربة، الماء والنباتات) ويمكن أن تنتقل عن طريق الحيوانات والأعلاف ويمكن أن تقسم البكتريا الأليفة لدرجة الحرارة المنخفضة وفقاً لسرعة نموها على درجات الحرارة المختلفة الآتية :

- بكتريا تتحمل درجة الحرارة المنخفضة حتى 4°م وتتكون من :

Pseudomonas fragi

Pseudomonas fluorescens

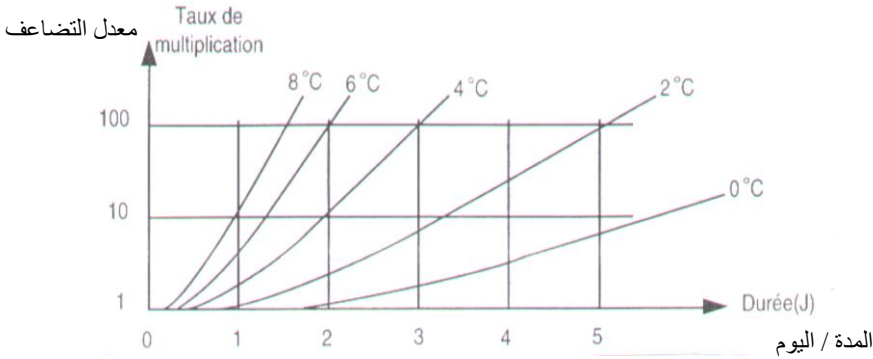
حيث تتراوح مدة الجيل من 7 إلى 8 ساعات على درجة حرارة 4°م ومعدل التضاعف 100 خلال 48 ساعة على درجة حرارة 4°م .

- بكتريا محبة لدرجة الحرارة المنخفضة لا تنشط إلا على درجة حرارة

أعلى من 4°م مثل بعض أنواع عائلة *Pseudomonadaceae* وبعض

بكتريا الكوليفورم و *Listeria* , *Bacillus* حيث تكون مدة الجيل 12 ساعة على درجة حرارة 8° م .

تعتمد نسبة البكتريا الأليفة لدرجة الحرارة المنخفضة على نوعية الحليب الأولية حيث تصل إلى 1% في الحليب جيد النوعية الميكروبيولوجية والذي يصل العدد فيه من 5 إلى 10.000 جرثومة/مل ولكن عددها لا يتجاوز 10% عندما يكون العدد الكلي يتراوح بين 5-100.000 .
انظر إلى الشكل (3-4) الذي يوضح معدل التضاعف للبكتريا المحبة للبرودة في الحليب وفقاً للزمن ولدرجة الحرارة :



الشكل (3-4) : معدل التضاعف وفقاً للمدة ودرجة الحرارة للبكتريا المحبة للبرودة

بشكل عام تتصف البكتريا المحبة للبرودة بأنها غير مقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة ويتم القضاء عليها بسهولة عند تطبيق البسترة 72° م / 15 ثانية وحتى عند تطبيق معاملة حرارية معتدلة 65° م / 15 ثانية وبالمقابل تبدي بعض البكتريا مقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة مثل *Bacillus* أما الإنزيمات (الليباز والبروتياز) التي تفرزها البكتريا المحبة للبرودة تتصف بالمقارنة مع إنزيمات الحليب بمقاومتها المرتفعة لدرجة الحرارة العالية وأن الليباز يفرز في نهاية الطور اللوغاريتمي وطور الاستقرار أما البروتياز يفرز في بداية النمو ولذلك فإطالة حفظ الحليب على درجة حرارة منخفضة يشكل خطراً في ظهور تحلل المادة الدسمة من أصل ميكروبي .

ومن النتائج المترتبة عن البكتريا الأليفة لدرجة الحرارة المنخفضة :
تحلل المادة الدسمة والمادة البروتينية بفعل الليباز والبروتياز المفترزة وبترافق فعلها مع فعل إنزيمات الحليب فالبروتياز الميكروبي يبدي فعالية على الكازئين k ويساعد في نزع ثباتية الجسيمات في الحليب طويل الأمد وهي فعالة على رقم pH 5 ولذلك تكون فعالة في الأجبان والألبان المتخمرة والقشدة

الحامضة والزبدة أما الليباز مرتبط في حبيبات المادة الدسمة و80% من فعالية الليباز الميكروبي موجودة في القشدة .

يمكن أن يتطور التحلل من أصل ميكروبي في الحليب قبل وبعد المعاملة الحرارية فمثلاً بعد المعاملة الحرارية حيث تكون الإنزيمات مسؤولة عن التزنخ وتحلل البروتين الذي يسبب ظهور الطعم المر وتهلم الحليب المعقم بالمعاملة الحرارية المرتفعة UHT بسبب نزع الثباتية التدريجي للجسيمات .

لتجنب التلوث بالبكتيريا الأليفة لدرجة الحرارة المنخفضة يجب اتخاذ جميع التدابير الوقائية اللازمة على مستوى جمع ونقل الحليب للحد من نمو ونشاط هذه البكتيريا في الحليب حتى تطبيق المعاملة الحرارية :

- تجنب رفع درجة حرارة الحليب في خزانات سيارات النقل بإدخال حليب سيء النوعية .

- تجنب تخطي مدة ساعتين خلال جمع الحليب في السيارات غير المبردة

- تجنب تخزين الحليب الخام في المعامل .

4-5 البكتيريا المقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة :

Flore thermoresistante

يخضع الحليب في أغلب عمليات التصنيع إلى تطبيق معاملة حرارية تهدف إلى قتل والتخلص من الأحياء الدقيقة بشكل جزئي أو كلي والتخلص من البكتيريا الممرضة لتحسين السيطرة على تصنيع المنتجات اللبنية وحفظها إلا أن بعض الجراثيم المقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة قادرة على مقاومة الحرارة المرتفعة المطبقة عادة وتبدي فعالية لاحقاً وتسبب ظهور بعض الخل والاضطرابات في عمليات التصنيع وتحلل المنتجات . فالبكتيريا المتحملة للحرارة المرتفعة تتحمل البسترة 63°م/30دقيقة أو 72°م/15 ثانية ووفقاً لدرجة تحملها يمكن أن نميز :

- جراثيم متوسطة التحمل لدرجة الحرارة المرتفعة وهي مقاومة للبسترة وتتكون بشكل أساسي من *Micrococcus candidus* ، *Sterptococcus thermophilus* ،

Lb.thermophilus ، *Lactobacillus lactis* وجراثيم عالية التحمل لدرجة الحرارة المرتفعة ومقاومة للتسخين على 75°م/12دقيقة والتي منها

Microbacterium liquefaciens .

جراثيم متبوعة مقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة والتي تقاوم 80°م/10دقائق والتي منها :

Clostridium butyricum

Clostridium tyrobutyricum

Bacillus subtilis

Bacillus cereus

Bacillus circulans

B.mega therium

B.coagulans

عدد البكتيريا المقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة يجب أن يبقى أقل من 1000/مل وعندما يتخطى 4000-5000/مل سيشكل خطراً على حليب الاستهلاك . ومن النتائج المترتبة عن وجود البكتيريا المقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة : الفساد والتحلل اللاحق والذي تختلف شدته في المنتجات اللبنية وخاصة حليب الاستهلاك مثل الحليب المبستر والحليب المعقم ويترتب عنه انخفاض المدة اللازمة للاستهلاك والعزوف عن استهلاكه .

سبب الفساد والتحلل ناتج عن أبواغ *Bacillus* في الحليب المعقم أما التحلل في الحليب المبستر ناتج عن *Micrococcus* حيث يؤدي تحلل البروتين إلى ظهور الطعم المر والطعم غير المستساغ ويمكن لبعضها إفراز بروتيناز يسبب التخثر الإنزيمي للحليب المبستر . لتجنب التلوث بالأحياء الدقيقة في هذا المجال يجب صيانة الأجهزة وتنظيفها والتغيير الدوري لبعض القطع المطاطية المستهلكة مع المراقبة الدائمة لعملية الغسيل والتنظيف والتعقيم .

4-6 بكتيريا حمض الزبدة : Flore butyrique

توجد أبواغ بكتيريا حمض الزبدة على الأعلاف الخضراء والسيلاج سيء التصنيع وكفي وجود عدد قليل من الأبواغ في الحليب 0.2-0.5 بوغ/مل حتى يحدث تخمر حمض الزبدة في الأجبان خلال الإنضاج مسببة عيوب في طعم الأجبان وانتفاخ الأجبان القاسية .

من المعروف أن أبواغ بكتيريا حمض الزبدة المقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة يمكن أن تتواجد في الأجبان وعند توفر الظروف المناسبة تنتشر وتنمو ومن ضمن البكتيريا *Clostridium* المسؤولة عن انتفاخ الأجبان يضاف إلى ذلك أن بعضها يمتلك خاصية تحلل البروتينات ولذلك عند تلوث الحليب الخام سينتج عنه ظهور بعض العيوب في الحليب ومنتجاته مثل بكتيريا *C.perfringens* والتي لبعض سلالاتها القدرة على إنتاج المواد السامة . بكتيريا لا هوائية إجبارية ، لا تخمر اللاكتوز ، تخمر اللاكتات في وجود الخلايا ، أبواغها مقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة ويقدر زمن الانخفاض العشري : 3 ساعات على 80° م ، 15 دقيقة على درجة حرارة 90° م .

يتطلب إنتاش الأبواغ وجود الخلايا وأن درجة الحرارة المثلى 37° م ، ورقم الحموضة الأمثل 5.8 ويتوقف نشاطها عند درجة حرارة أقل من 10° م تمتاز *C.tyrobutyricum* بحساسية أقل بالمقارنة مع الأنواع الأخرى ويتوقف إنتاش الأبواغ عند pH 4.6 ولكن النمو لا يتوقف إلا عند رقم pH 4 وتتنصف بعدم مقاومتها للملح فعند تركيز 2-3% يتوقف إنتاش الأبواغ عند pH 5.2 وعند تركيز 2.5-4% من الملح يتوقف نمو البكتيريا عند pH 5.4 .

تستطيع بعض البكتيريا من إفراز بعض المواد المثبطة أو المنشطة لنمو بكتيريا حمض الزبدة ، من وجهة نظر عملية توجد بكتيريا حمض الزبدة تحت شكلين وفقاً

للشروط الموجودة في الوسط مثل رقم الحموضة والأكسجين . يوجد الشكل غير الفعال في السيلاج جيد التحضير والحليب أما الشكل النباتي المسؤول عن تخمر حمض الزبدة موجود في الأجبان والسيلاج المحفوظ بطريقة سيئة ويمكن أن تظهر فعالية الأبواغ في الأجبان المصهورة . في حالة التسخين المعتدل للمواد الأولية بغية المحافظة على الطعم وفي حالة الحفظ في المناخ الحار تزداد سرعة ظهور وخطورة الأبواغ عندما يكون عددها في الحليب أعلى من 2 بوغ/مل .
لتلافي الآثار السيئة والحد من تلوث الحليب يجب :

- 1- الحد من مصادر التلوث بالسيلاج .
 - 2- نظافة الحيوان .
 - 3- تطبيق الحلاية في ظروف جيدة في أماكن قليلة التلوث .
- أما الطرق المتبعة للحد من تخمر حمض الزبدة في الأجبان المصنعة من حليب يحتوي على 0.2-0.5 بوغ/مل ، فهي محدودة لأنه لا يمكن تطبيق معاملة حرارية مرتفعة بسبب صعوبة تخثر الحليب وانفصال المصل وعادة تطبيق بعض الإجراءات للحد من مشاكلها :
- ارتفاع سريع في درجة الحموضة مما يؤمن انفصال جيد للمصل .
 - التملح الكافي .
 - استخدام بادئات من بكتريا حمض اللبن المفرزة والمنتجة لبعض المضادات الحيوية المثبطة لفعل بكتريا حمض الزبدة كالنيزين . على المستوى العملي يمكن تطبيق إحدى الطريقتين للحد من وجود 2-5 بوغ/مل في الحليب .
 - فصل الأبواغ بالفرز التلقائي أو الطرد المركزي .
 - إضافة المثبطات المسموح بها تشريعياً مثل نترات الصوديوم أو النتريت أو الماء الأكسجيني (مواد غير مسموح بها في فرنسا) .
 - إضافة الليزوزيم أو النيزين .

تضاف النترات بمعدل 0.1-0.2 غ/كغ حيث ترجع النترات إلى نترت بفعل اكسانتين أو كسيداز وهذه الطريقة الفعالة تطبق على الأجبان المضغوطة .
- بالنسبة للماء الأكسجيني : يطبق في بعض البلدان لحفظ الحليب مع إضافة الكتالاز قبل إضافة البادئ (إفريقيا) . يضاف النيزين في الأجبان المصهورة ولا يضاف في الأجبان العادية نظراً لصعوبة السيطرة على ارتفاع درجة الحموضة.
الليزوزيم : موجود في حليب الأبقار 0.13 مغ/كغ وبكمية أعلى في بياض البيض 3-5 غ/كغ ويمكن إضافته بمعدل 25 مغ/كغ علماً بأن الليزوزيم يحلل جدار بعض البكتريا ويخفض من تخمر حمض الزبدة ولكن لا يوقف نشاطها علماً بأن 90% من الليزوزيم تبقى في الخثرة .

Flore califorme

7-4 بكتريا الكوليفورم :

جراثيم أصلها مخلفات الإنسان أو الحيوان ووجودها دلالة على عدم الاهتمام بالنظافة ولذلك فالعاملون في مجال الصحة يسمحون بوجود عدد محدود من الكوليفورم في المنتجات الغذائية بغية حماية المستهلك . يسبب وجود الكوليفورم عيوباً تتجلى بانتفاخ الأجبان وظهور الطعم السيئ في الأجبان وبصورة خاصة في الأجبان الطرية أو الأجبان المصنعة من الحليب الخام .

تجمع عائلة Enterobacteriaceae مجموعة من الجراثيم أغلبها موجودة في أمعاء الحيوانات وبعض الأنواع يعدّ خطيراً على صحة الإنسان مثل بعض سلالات E.coli .

تتصف بكتريا الكوليفورم ببقائها فترة مختلفة ضمن التربة والمياه ولذلك تؤدي إلى تلوث البيئة ووجودها في المنتجات الغذائية دليل على التلوث من أصل برازي وبالتالي عدم العناية بالنظافة والصحة . ومن أهم البكتريا :

Escherichia

Citrobacter

Klebsiella

Enterbacter

والتي يطلق عليها الكوليفورم وتمتاز هذه البكتريا في :

- تخمر اللاكتوز وإنتاج الغاز وحمض اللبن وحمض الخل .
- تنمو وتنشط في مجال حراري بين 10 و 45°م مع درجة حرارة مثلى 37°م .
- لا تنمو في الوسط الحامضي ولذلك يتوقف نشاطها عند pH أقل من 4.5 .
- تتلف على درجة حرارة البسترة 72°م/15 ثانية .
- بعض سلالات E.coli قليلة الحساسية إزاء المضادات الحيوية ويسبب وجود المضادات الحيوية في الحليب عدم التوازن الطبيعي بين الميكروبات لصالح الكوليفورم .

تمتاز بعدم الفعالية في الحليب المبرد على درجة حرارة 4°م خلال اليومين الأوليين وتقديرها في الحليب الخام دلالة على الشروط المحيطة بالحلابة وفعالية التنظيف والتعقيم للأجهزة والمعدات المستخدمة الموجودة بتماس مع الحليب منذ الحلابة وحتى استلام الحليب في المصنع ووجودها أيضاً في الحليب المبستر دلالة على عدم تطبيق البسترة بشكل صحيح أو التلوث اللاحق بعد تطبيق المعاملة الحرارية .

من النتائج المترتبة عن وجودها :

- على مستوى المستهلك ، بشكل عام بكتريا الكوليفورم ليست ممرضة ولا تشكل خطراً على صحة المستهلك إلا عند حدوث التلوث الكبير يمكن لبعض الأنواع أن

تسبب التسمم الغذائي فبعض سلالات E.coli يمكن أن تسبب المرض للأطفال ولكنها نادراً ما تشكل خطراً على البالغين .

- على مستوى التصنيع ، تنشط الكوليفورم في الحليب الخام أو في الحليب المتعرض إلى معاملة حرارية غير كافية ولذلك تنمو ضمن مجال حراري 10 و45° م وخاصة في المراحل الأولية لصناعة الأجبان قبل أن تثبط الحموضة فعاليتها الناتجة عن بكتريا حمض اللبن .

يسبب التخمر الناتج عن فعاليتها إنتاج الغازات والتي تظهر على شكل عيون صغيرة ضمن الأجبان والتي تصبح كالإسفنج نتيجة الانتفاخ وتسبب فعاليتها في تحلل المادة الدسمة والمادة البروتينية ظهور بعض العيوب في الطعم والقوام .

للحد من تلوث الحليب بالكوليفورم في المزرعة يجب :

- 1 – الانتباه والعناية بالنظافة والتعقيم عند الحلابة وإيواء الحيوانات وبشكل خاص عند تحضير الحيوان للحلابة .
 - 2 – تنظيف وتعقيم الأدوات والمعدات المستخدمة وخاصة آلة الحلابة .
 - 3 – استخدام ماء صالح للشرب ولعمليات التنظيف والغسيل والتعقيم .
 - 4 – الانتباه والسيطرة على الأمراض المعدية التي يمكن أن تصيب القطيع وخاصة عند حدوث مرض التهاب الضرع .
- وأخيراً يكون الحليب عالي الجودة عندما لا يحتوي عملياً على بكتريا الكوليفورم .

8-4 الجراثيم الممرضة : Germes pathogènes

الجراثيم الممرضة هي الجراثيم التي تسبب انسمام أو التسمم الغذائي والتي تنتشر بشكل واسع في الطبيعة ولذلك تلوث المواد الغذائية والتي منها الحليب والأجبان وقد يكون التلوث داخلياً في حالة مرض التهاب الضرع أو خارجياً ، من أهم مصادر التلوث الماء ، والأشخاص ، والمخلفات البشرية والحيوانية . من ضمن الجراثيم الممرضة نشير بصورة خاصة إلى :

Listeria monocytogenes

Staphylococcus aureus

Salmonella

Yersinia enterocolitica

E.coli

Campylobacter

Brucella

Bacillus cereus

Mycobacterium

Coxiella burnetti

Clostridium botulinum

بالإضافة إلى بعض الفطور المنتجة للمواد السامة والفيروسات . في مجال الأجبان تتواجد الجراثيم الممرضة الآتية :

Staphylococcus

Escherichia coli

Listeria momocytogenes

Salmonella

تمتاز هذه الجراثيم بخصائص شكلية وبيوكيميائية وبقدرة في التسمم وفقاً للشروط الموجودة بها ضمن الأجبان .

: Listeria monocytogenes 1- 8-4

عصوية موجبة لصبغة غرام ، غير متبوعة ومتحركة وموجبة الكتالاز وسالبة الأوكسيداز .

تنمو على درجة حرارة تتراوح بين 1 و 40°م ودرجة الحرارة المثلى 37°م أما رقم الحموضة الأمثل 7 ويمكن نموها ضمن مجال مقداره 6-9 موجودة في كل الأماكن ويتلوث الحليب عن طريق الضرع أو من الوسط الخارجي عبر الماء والتربة والوحل والمخلفات ، أما في الأجبان يحدث التلوث بعد البسترة بفعل تلوث الأدوات المستخدمة أو الماء والأشخاص . تسبب الليستريا الممرضة للإنسان وخاصة الأشخاص الذين يعانون من نقص في المناعة أما المرأة المصابة تتعرض إلى مشاكل منها الإجهاض أو الولادة المبكرة ويعاني الوليد من التهاب السحايا أو تسمم الدم أما الأشخاص المسنين يعانون من مشاكل دماغية ، وقد تصل بعض الحالات إلى الموت خاصة لدى الأشخاص الذين يعانون من نقص المناعة . تؤدي البسترة على درجة حرارة 72°م/15 ثانية للتخلص من الليستريا وتتحمل مستوى من الملح 10% وفعالية الماء 0.92 . تسبب ارتفاع درجة الحموضة تثبيط نمو الليستريا .

: Staphylococcus 2-8-4

كروية وموجبة لصبغة غرام

لا هوائية اختيارية غير متحركة وموجبة الكتالاز

منتشرة في كل الأماكن

ويعتبر النوع Staphylococcus من الأنواع المنتجة للمواد السامة .

درجة الحرارة المثلى لنموها 37° م وتنشط ضمن مجال حراري بين 6 و 46° م ورقم الحموضة الأمثل 7.6 وتنشط ضمن مجال مقداره 4 و 9.8 . تتحمل تركيز من كلور الصوديوم 20% وفعالية ماء منخفضة حتى 0.83 . يحدث التلوث عن طريق الحيوان بسبب التهاب الضرع أو عن طريق الإنسان ويعد الحليب الخام من أهم مصادر التلوث حيث توجد على جلد الحيوان وأغشيته وضمن الجروح الجلدية وآلات الحلابة الملوثة من الإنسان المصاب بالتهابات جلدية أو عن طريق أجهزة التنفس . يحدث التسمم الغذائي عند استهلاك منتجات غذائية ملوثة بالبكتريا حيث تنمو وتزداد وتفرز المواد السامة التي تسبب للأشخاص الاستفراغ والتقيؤ مع آلام بطنية المترافقة مع إسهال بعد مدة 30 دقيقة وحتى ثماني ساعات بعد الاستهلاك وقد تحدث بعض المضاعفات مثل التجفاف والتشنج العضلي . قد يؤدي تطبيق المعاملة الحرارية 54-60° م خلال 4-24 دقيقة إلى قتل وإتلاف مليون جرثومة/مل بالمقابل تظهر بعض المواد السامة المفترزة مقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة .

3-8-4 السالمونيلا : Salmonella

متحركة وسالبة لصبغة غرام
لا هوائية اختيارية

تنشط ضمن مجال حراري 5-45° م مع درجة حرارة مثلى 37° م وتنشط ضمن مجال لرقم الحموضة 4.5-9 مع رقم حموضة pH أمثل 6.5-7.5 . من أهم البكتريا الممرضة للإنسان ، S.paratyphi ، Salmonella typhi ، S.sendaii .

تعتبر أمعاء الطيور من أهم مصادر التلوث وكذلك الحيوانات الأهلية في المزارع وليس بالضرورة أن تكون الحيوانات مريضة ولكنها تحملها على مخلفاتها مما يؤدي إلى تلوث البيئة والماء والتربة والمواد الغذائية والتي منها منتجات الألبان والبيض واللحوم والمنتجات النباتية . من علامات الإصابة حمى مرتفعة تترافق مع إقياء وآلام ووجع في الرأس وتسبب أيضاً آلام بطنية وإسهال وغثيان واستفراغ مع انحطاط في القوى والذي يظهر بعد 12-24 ساعة من دخولها الجسم وتستمر لمدة 2-6 أيام ، وقد يترتب عنها نتائج خطيرة لدى إصابة الأطفال . تعتبر البسترة كافية لقتل عدد مرتفع من السالمونيلا ولكن الأجبان الملوثة تكون وسطاً لنمو السالمونيلا إذا كان رقم الـ pH أعلى من 4.95 . خلال الإنضاج تساهم بكتريا حمض اللبن في منع وتثبيط والتخلص من السالمونيلا وتعتمد الفعالية المثبطة على نوع البكتريا فمثلاً Ln.lactis تبدي فعالية أضعف بالمقارنة مع Lc.lactis ، Lc.cremoris أما البكتريا المنتجة لدرجة الحموضة المرتفعة مثل

Streptococcus . thermophilus L . bulgaricus فإنها تساعد على التخلص من السالمونيلا .

4-8-4 : *Yersinia enterocolitica*

بكتريا أليفة لدرجة الحرارة المنخفضة وسالبة لصبغة غرام وهوائية ولا هوائية اختيارية ، إيجابية الكتالاز وسالبة الأوكسيداز وتخمّر الجلوكوز وترجع النترات إلى نترتريت ومتحركة على درجة حرارة 30° م وغير متحركة على درجة الحرارة 37° م . موجودة في الحليب الخام واللحم الخام والماء والتربة والنباتات ويمكن أن تنمو ضمن مجال حراري مقداره من 0 حتى 40° م مع درجة حرارة مثلى 29° م وكذلك تنمو ضمن مجال pH 4-10 مع رقم pH 7.2-7.4 .

توجد ثلاثة أنواع ممرضة للإنسان والحيوان *Y.pseudotuberculosis* , *Y.pestis* , *Y.enterocolitica* . تسبب البكتريا آلام بطنية والإسهال وحمى حرارية 39-40° م خلال عدة أيام ثم تهبط إلى 38° م خلال عدة أسابيع .

أهم مصادر التلوث الحليب بالشوكولاته حيث تتحمل 5% من كلور الصوديوم ، لا تتحمل المعاملات الحرارية المطبقة عادة وتلف حتى على 65° م/ خلال عشرة دقائق ولذلك فهي موجودة حصراً في الحليب الخام والمنتجات المصنعة من الحليب الخام أو الحليب المبستر الملوّث .

تؤثر درجة الحموضة على نموها ولذلك ينخفض عددها خلال 2-4 أيام وعند pH 4.6 تنخفض كلياً خلال مدة 3-5 أيام .

5-8-4 : *Escherichia coli*

سالبة لصبغة غرام وغير متبوعة ولا هوائية اختيارية ، بعضها متحرك وبعضها الآخر غير متحرك . تنمو ضمن مجال حراري 4-46° م مع درجة حرارة مثلى 37° م وضمن مجال لرقم الحموضة 4.6-9.5 موجودة بكمية مرتفعة في أمعاء الإنسان والحيوان 10⁸/غ .

6-8-4 : *Campylobacter jejuni*

بكتريا على شكل منحنى أو حلزوني . شديدة التحرك سالبة لصبغة غرام إيجابية الأوكسيداز لا تتخمّر ولا تحمض السكريات . تعدّ لحوم الدواجن الخام والحليب الخام ولحم الخنزير من أهم مصادر التلوث الغذائي. تشتمل على خمسة أنواع : *C.fetus* , *C.jejuni* , *C.coli* , *C.conciscus* , *C.sputorum* .

تسبب الإجهاض للحيوانات ، أما الإنسان فيعاني من آلام بطنية مع الإسهال وحمى حرارية ترتفع من 38-38.5° م مع الإقياء والاستفراغ وتتم الحضانة في مدة 3 أيام .

تتصف بعدم مقاومتها رقم الحموضة المنخفض 3.5-4.5 ورقم الحموضة الأمثل 6.5-7 وتنشط ضمن مجال حراري بين 25 و 45° م أما درجة الحرارة

المثلى 42-45° م لا تتحمل مستوى مقداره 1.5% من كلور الصوديوم ويتوقف نشاطها عند 2% . تعتبر البكتريا حساسة للمعاملات الحرارية المطبقة كالبيسترة والتحمض وتسخين الخثرة ويعتبر استهلاك الحليب الخام المصدر الأساسي الذي يشكل خطراً على المستهلك .

7-8-4 : Brucella

هوائية إجبارية سالبة لصبغة غرام وغير متحركة وغير متبوعة إيجابية الكتالاز وسلبية الأوكسيداز وتنمو ضمن مجال لرقم الحموضة 6.6-7.4 مع رقم حموضة أمثل 6.8 أما درجة الحرارة المثلى 37° م وتنشط ضمن مجال 20-40° م وتتحمل تركيز كلور الصوديوم 1% كحد أقصى . وتؤدي إصابة الإناث لدى الحيوانات بالإجهاض ويحرض وجودها خلال الإدارة ظهور مرض التهاب الضرع غير السريري . يشتمل الجنس Brucella على ستة أنواع :

B.abortus , B.melitensis , B.suis , B.ovis , B.canis , B.neotomae .

تعتبر البروسيلا من البكتريا الممرضة للإنسان والحيوانات المنتجة للحليب كالأبقار والأغنام والماعز وتتم العدوى من الاحتكاك أو التماس المباشر أو عن طريق الحليب الخام أو مشتقاته المصنعة من الحليب الخام ، تؤدي البسترة إلى القضاء على البروسيلا والتي تطبق على درجة حرارة 72-75° م خلال 12-15 ثانية أو بالتعقيم أو بالغليان لمدة 10 دقائق .

8-8-4 Bacillus cereus

بكتريا منتشرة بكثرة في الطبيعة ، عصوية كبيرة متبوعة وتنصف أبواغها بمقاومة درجة الحرارة المرتفعة هوائية أو لا هوائية وموجبة الكتالاز وسلبية الأوكسيداز تنمو على درجة حرارة مثلى 30-37° م وضمن مجال حراري 5-55° م وضمن مجال و لرقم الحموضة 4.5-9.3 وعند فعالية الماء 0.95 وتنصف البكتريا بتحملها كلوريد الصوديوم حتى 7.5% . تفرز البكتريا نموذجين من المواد السامة الأول يسبب الإسهال والثاني الإقياء فالمادة السامة المسببة للإسهال غير ثابتة حرارياً بين 4 و 25° م وتنشط فعاليتها بالتسخين لمدة 56° م خلال 5 دقائق أما المادة السامة المسببة للإقياء تقاوم حتى درجة حرارة 126° م خلال 90 دقيقة وتبقى مدة شهرين على درجة حرارة 4° م .

وتنصف بمقاومتها لفعل التريسين والبيسين ورقم حموضة pH 2 حتى 11 . من أهم أعراض المادة السامة المسببة للإسهال حدوث إسهال شديد يترافق مع آلام بطنية خلال 6 إلى 15 ساعة من استهلاك المادة الغذائية ويلاحظ الغثيان ولكن نادراً ما يحدث الاستفراغ وتنتهي الأعراض بعد مدة 24 ساعة . أما المادة السامة

للاقياء تحرض الغثيان والاستفراغ من مدة 1 إلى 5 ساعات بعد استهلاك المادة الغذائية تتزامن مع آلام مبرحة في البطن .

9-8-4 عصية كوخ : *Mycobacterium tuberculosis* *M.bovis*

عصوية مستقيمة أو ملتوية تؤدي الإصابة بهذه البكتيريا في الوصول إلى أعضاء عديدة وبصورة خاصة الإصابات الرئوية وتساهم المواد الغذائية وبشكل خاص الحليب الخام في نقل مرض السل إلى الإنسان ولكنها حساسة للمعاملة الحرارية ولذلك لم تعد موجودة في الحليب المبستر وحالياً لم تشر المراجع إلى حدوث التلوث عن طريق الأجبان وخاصة الأجبان المطبوخة حيث تفرز بكتيريا حمض بروبيونيك بعض المواد المبيدة لعصية كوخ .

10-8-4 : *Coxiella burnetti*

متطفلة على الحيوانات اللبونة كالأبقار والأغنام والماعز وينتقل التلوث من حيوان لآخر بوساطة القردة المتطفلة عليها ولاحظ وجودها معها ضمن اللعاب والبول والمخلفات البرازية وتمتاز أعراض الإصابة بالتهاب الملتحمة والضرع حيث يفرز الحيوان المصاب الجرثومة ضمن الحليب ويصاب الأشخاص الذين يعملون بتماس مع الحيوانات في المزارع والمسالخ أو الأشخاص العاملين في صناعة الأجبان . عند إصابة الإنسان تكون الجرثومة مسؤولة عن الحمى Q التي تترافق بفقدان الشهية وآلام عضلية ووجع الشقيقة وفي حالة ارتفاع الحمى قد يؤدي إلى التهاب السحايا .

تتلف الجرثومة على درجة حرارة 71.7° م خلال 15 ثانية أو 62.8° م / 30 دقيقة .

11-8-4 *Clostridium botulinum*

عصوية موجبة لصبغة غرام متبوعة لا هوائية إجبارية وأبواغها مقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة وتمتاز البكتيريا بإفراز مادة سامة ضمن المواد الغذائية حيث تتميز في الوقت الحالي المواد السامة الآتية : A , B , C1 , C2 , D , E , F , G والإنسان حساس للمواد السامة من النماذج A,B,E,F وتقسم المواد السامة إلى مجموعتين حيث تشمل المجموعة الأولى على *C.botulinum* المحللة للبروتينات (A , B , F) والمجموعة الثانية غير محللة للبروتينات . تنمو بكتيريا المجموعة الأولى ضمن مجال حراري 34-37° م وكحد أدنى 20-15° م ويتم إفراز المواد السامة ضمن الشروط الحرارية المرتفعة نفسها وتعريضها إلى 121° م / خلال 16 ثانية يؤدي إلى انخفاض العدد إلى العشر بالإضافة إلى نمو عند مستوى 10% من كلور الصوديوم وفعالية الماء 0.94 .

فيما يتعلق بالمجموعة الثانية تعتبر درجة الحرارة المثلى 30° م وتنمو كحد أدنى عند درجة حرارة 5° م وتفرز المواد السامة ضمن الشروط الحرارية نفسها

وتتصف أباؤها بأنها أقل مقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة مقارنة مع المجموعة الأولى وأن قيمة D تساوي 1-1.87 دقيقة على درجة حرارة 80°م وتنشط عند فعالية الماء أعلى من 0.95 ومستوى 5-6% من كلوريد الصوديوم ورقم الحموضة الأمثل قريب من 7 ويتوقف النشاط عند pH 4.5 . يحدث التلوث عند استهلاك المواد الغذائية المحفوظة أو المواد الغذائية غير المعقمة بشكل كاف أو عند استهلاك المواد الطازجة كالأسمك واللحوم . من أعراض الإصابة اضطرابات في العيون وتجفاف الفم والبلعوم والعطش الزائد وعند اشتداد الإصابة تزداد التشنجات العضلية والقصور الكلوي .

4-9 الفطور المنتجة للمواد السامة :

Les moisissures productrices de toxines

يمكن لبعض الفطور إنتاج بعض المواد السامة خلال تحولها في المواد الغذائية ، ويحدث التلوث في الأجبان وفقاً لثلاثة مصادر :

- المواد السامة الموجودة في أغذية الحيوانات .
- المواد السامة المفزة من الفطور المستخدمة في صناعة الأجبان مثل :

Penicillium roqueforti

P.camemberti

- المواد السامة المفزة من الفطور الملوثة للأجبان من ضمن التوكسينات الموجودة في أغذية الحيوانات والموجودة في الحليب افلاتوكسين M_1 الناتج عن تحول افلاتوكسين B_1 والذي يفرز من *Aspergillus flavus* و *A.parasiticus* .

يمتاز أفلاتوكسين M_1 بمقاومته لدرجة الحرارة المرتفعة ولا يتأثر أيضاً بالتبريد ويتصف بوجوده ضمن الحليب المفز وله قدرة مسرطنة . تفرز بعض المواد المستقلبة السامة بفعل الفطور المستخدمة في صناعة الأجبان ولذلك يجب استخدام فقط الفطور غير المنتجة لروكفورتين وحمض سيكوبيازونيك .

4-10 الفيروسات : Les virus

مكونة من جزيء من الحمض النووي المغلف ويحتاج إلى خلية مضيفة ليتضاعف ويزداد عدده ويتم تلوث الحليب إما خارجياً من الماء والمخلفات أو داخلياً من خلايا الضرع للأبقار المصابة .

تؤدي المعاملة الحرارية على درجة حرارة 62°م خلال 30 دقيقة أو 71.7°م خلال 15-17 ثانية لتنشيط أغلب الفيروسات مثل الفيروسات القلاعية ، أما الفيروسات الدماغية لا تثبط على درجة حرارة 62°م خلال 30 دقيقة . بالنسبة للفيروس *coxsackie A* لا يثبط إلا على 85°م خلال 20 ثانية .

