مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (34) العدد (1) 2012
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (34) No. (1) 2012

دراسة التلوث الجرثومي لبيض المائدة المعروض للاستهلاك البشري في الأسواق التجارية لمحافظتي طرطوس واللاذقية

الدكتور فهيم عبد العزيز *
الدكتور علي نيصافي **

(تاريخ الإيداع 10 / 8 / 2011. قبل للنشر في 29 / 1 / 2012)

□ ملخّص □

تم التحري عن مدى تلوث البيض خارجياً وداخلياً باعتماد طرائق الزرع والعزل الجرثومي. وأظهرت نتائج دراسة 540 عينة بيض من المحال التجارية المختلفة لمحافظتي طرطوس واللاذقية تلوثاً جرثومياً على القشرة الخارجية لجميع عينات البيض المدروسة، وكانت نسبة التلوث الأعلى بالجراثيم الهوائية وخاصة المكورات العقدية والتي بلغت 87,03%، تلتها المكورات العنقودية بنسبة 77,4%. أما الجراثيم المعوية فقد بلغت نسبة التلوث بالسلمونيلة 16,11%، والعصيات القولونية 17,77%، وبلغت نسبة التلوث بالمكورات البرازية 1,66% وبعصيات إيجابية غير مصنفة 1,85%. ويجب التنبيه إلى مدى خطورة التلوث الداخلي للبيض والذي يمكن أن يشكل تهديداً صحياً حقيقياً على جمهور المستهلكين.

الكلمات المفتاحية: بيض المائدة، التلوث الجرثومي، الجراثيم المعائية، المكورات العقدية، المكورات العنقودية، السلمونيلة، العصيات القولونية، المكورات البرازية

* أستاذ– الإنتاج الحيواني – كلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية– سورية.
** أستاذ– الإنتاج الحيواني – كلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (34) العدد (1) 2012
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (34) No. (1) 2012

Study of Bacterial Contamination of layout Table Egg in Commercial Markets of Tartous and Latakia for Human Consumption

Dr. Fahim Abdul 'Azeez*
Dr. Ali Nisafi**

(Received 10 / 8/ 2011. Accepted 29 / 1 /2012)

□ ABSTRACT □

External and internal Table Egg bacterial contamination was investigated. Results of 540 of layout Table Egg in Tartous and Latakia commercial markets samples showed that, the all tested Egg shell samples were bacterial contaminated. The highest casualty percentage amounts 87,03% for Streptococcus, then 77,4% for Staphylococcus. For the Enterobacteriaceae it was proportion of Salmonella contamination 16,11%, Bacilli coli. 17,77%, Fecal Coccus 1,66% and no classified gram positive bacillus 1,85%. The monition must be taken to serious degree of table egg internal contamination. It may be actual hygiene threat on consumptive people.

Keywords: Table egg, bacterial contamination, Enterobacteriaceae, Streptococcus, Staphylococcus, Salmonella, Bacilli coli. Fecal Coccus.

*Professor, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Latakia, Syria.
**Professor, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Latakia, Syria.

مقدمة:

تنتشر في سورية طرائق مختلفة لرعاية الدجاج البياض وإنتاج البيض، وتختلف من مزرعة لأخرى، فمنها ما يتبع الأنظمة اليدوية البسيطة في الإنتاج والجمع والتعبئة في الصناديق ومنها تتبع فيه بعض التقنيات الآلية، و بعضها الآخر تطبق فيه أساليب الإنتاج الحديثة والمتطورة وبذلك تختلف مواصفات البيض الناتج وخواصه نتيجة الارتباط الوثيق بين المنتج وظروف وشروط الإنتاج والتسويق ونوع الدجاج المنتج.

إن الأهمية الغذائية والاقتصادية لبيض المائدة ودوره الهام في سد الحاجات الغذائية لكل شرائح المستهلكين تستدعي الانتباه لتأثيراته على الصحة البشرية ومخاطره الناتجة عن تلوثه بالأحياء الدقيقة الممرضة.

يهدف إنتاج الدواجن في البلدان النامية لتأمين كميات كبيرة من البيض واللحم للتغذية وذلك لتلبية الاحتياجات الغذائية المتزايدة باستمرار نتيجة النمو السريع في عدد السكان. فالإنتاج يتجه لتأمين الكم بصورة أكبر بكثير مما هو نحو تأمين النوع.وبحسب (Cox et al., 2005). فإن كثيراً من المسببات الممرضة للإنسان ترتبط وتتعلق بالدواجن ومنتجاتها وخاصة البيض ومن تلك الممرضات الهامة الكامبيلوباكتر Campylobacter والمطثيات Clostridium والليستيريا Listeria والسلمونيلة Salmonella والإيشريكية القولونية Escherichia coli واليريزينيا Yerisinia، ويعد الزرق ومواد الفرشة من مصادر التلوث الأكثر أهمية لقشرة البيضة الخارجية، فهي تؤدي لارتفاع الحمولة الجرثومية فيما يتعلق بالسلمونيلة والإيشريكية القولونية والبستوريلة، مع إمكانية نفاذ هذه الجراثيم للمكونات الداخلية لتسبب التلوث الداخلي و ترتفع بذلك درجات الخطورة على صحة الإنسان.ولقد أشارت التقارير الطبية بحسب المصادر السابقة إلى تلوث منتجات الدواجن من بيض ولحم بتلك المسببات المرضية مجتمعة أو منفردة وغيرها من الأنواع الجرثومية التي تسبب أمراضاً خطيرة للإنسان.

تلوث الجراثيم الهوائية البيض بشكل كبير،وتقع في أكبر تماس مع قشرة البيض في مكان وضع البيض في الأطباق الكرتونية بعد غسل البيض وتنظيفه (Lutgring et al., 1997)، ونوه (Lutgring et al., 1997; Kotula and Kinner,1964;Zottola et al.,1970) إلى أن التلوث بالجراثيم الهوائية في هذه المنطقة يزداد بوجود الطيور الحية التي تحرك أجنحتها باستمرار وتؤدي لانتشار هذه الملوثات.ويشير (Sobhan et al.,2004) إلى أن فرشة الدواجن تشكل الخزان الرئيس للجراثيم إيجابية الغرام.إن بعض الأحياء الدقيقة كالعصيات القولونية والسلمونيلة والشيجيلا والمكورات العنقودية والعقدية تنتقل للدجاج مع مياه الشرب حيث تصل للبيض وتلوثه (حاغور وحاج حسن، 1990). وأظهرت نتائج (Dolman and Borad, 1992) أنه عند تلقيح الغشاء الداخلي للحجرة الهوائية بجراثيم متنوعة كالسلمونيلة الملهبة للأمعاء *Salmonella enteritides* والزوائف *Pseudomonas* والعقديات *Streptococcus* والمكورات المعوية Enterococcus، والإيشريكية القولونية *Escherichia coli*، سيطرت جراثيم *Pseudomonas* على تلوث زلال البيض في درجات الحرارة الواقعة بين 4°–20°، أما السلمونيلة الملهبة للأمعاء فقد سيطرت على التلوث عند التحضين على الدرجة 37 م°. وبيّن (Dereu. et al., 2006) أنه عند تلقيح القشرة الخارجية للبيض بأنواع جرثومية من *Acinetobacter baumanii, Staphylococcus warneri)* (*Salmonella enteritides Pseudomonas,* اخترقتها الجراثيم المتحركة السلبية الغرام وبخاصة الزوائف *Pseudomonas* والسلمونيلة الملهبة للأمعاء *S. Enteritides* لتصل إلى المكونات الداخلية وقد سيطر النوع الأخير على تلوث المكونات الداخلية للبيض بنسبة 32% من العينات بعد 3–4 أسابيع من التلقيح. وعند تلقيح البيض

بالسلمونيلة الملهبة للأمعاء *S. Enteritides* لوحظ نمو واضح لها في محتويات البيضة على درجة حرارة الغرفة ولم يلحظ وجود أي نمو عند تخزينها على الدرجة 4 م° (Saeed and Koons,1993).

وأظهرت نتائج (Gast and beard,1992) عند تلقيح البيض بالسلمونيلة الملهبة للأمعاء *S. Enteritides* وجود تلوث في 7% من العينات في درجة حرارة الغرفة، وفي 4% من العينات على الدرجة 7.2 م°، وفي 16% من العينات على الدرجة 25م°. إن نسبة تلوث القشرة الخارجية للبيض بالسلمونيلة بلغت 7.8% من العينات المدروسة، وانخفضت النسبة إلى 1.1% بعد الغسل وفق ما وجده Baker et al., 1987; Izat and Gardner, 1988; Jones et al., 1995; Knape et al., 2002) إذ أشاروا إلى أن الزرق والفرشة هما المصدر الأساس للسلمونيلة الملوثة للبيض في المقام الأول، ولكن الفحص بيّن عدم وجود السلمونيلة في محتويات البيض المدروس. ولقد بينت نتائج (Humphrey et al; 1991) لاكتشاف الإصابة بالسلمونيلة أن0.6%من عينات البيض المدروسة أظهرت نتيجة إيجابية،وكانت نسبة تواجد السلمونيلة في الزلال أكبر مما هي عليه في المح ولقد بين (Jones et al.,2005) لدى غسل البيض بماء بارد لمدة دقيقة واحدة وبدرجات حرارة متفاوتة لمياه الغسل، كانت عمليات الغسل المختلفة مفيدة في تحسين جودة البيض وصحته، وكذلك كانت فعالة في خفض مستوى تلوث قشرة البيض الخارجية، ومحتواها الداخلي من الجراثيم الهوائية والسلمونيلة الملهبة للأمعاء التي كانت قد حقنت في البيض اصطناعياً، وأورد (Khmer and Moats,1981; Saeed and Koons,1993; Chent et al**.,** 1996) نتائج مشابهة لدى تخزين البيض بعد غسله على درجات حرارة منخفضة بحدود 4ْ م حيث يخفف ذلك من نمو البكتريا ويعيق اختراقها للقشرة الخارجية مما يقلل احتمالات التلوث ولكن تخزينه قبل الغسل عند درجة حرارة الغرفة يؤدي حتماً إلى زيادة شدة التلوث. لذلك تعتبر تقنية التبريد السريع باستخدام غازات التبريد فعالة لتقليل الحمولة الجرثومية والحد من نمو البكتريا، إلا أنها قد تسبب تشققات وشروخ في القشرة الخارجية (Curtis, 1995). ويشير Board and Tranter, 1995; (Glenn,1998) إلى أن البيض يمتلك آليات دفاعية تساعد على تقليل الحمولة البكتيرية وتعيق وصول الأحياء الدقيقة وخاصة المتحركة منها إلى المكونات الداخلية للبيضة وبحسب (Sauter and Petersen, 1969) فإن نوعية القشرة وسماكتها هما عاملان هامان ومؤثران جدا في قدرة اختراق ونفوذ الجراثيم إلى داخل البيضة حيث تعمل قشرة البيضة كحاجز لمنع الاختراق ولكن وجود نحو 8000 مساماً في تلك القشرة يجعلها لا تؤمن الحماية الكفيلة بمنع ذلك الاختراق ورغم أن قشرة البيضة تمتلك تلك المسامات ذات الأقطار التي تسمح بدخول بعض الأحياء إلا أن الجليدة Cuticle التي تغطي القشرة تشكل الحاجز الدفاعي الأول الذي يمنع دخول تلك الجراثيم،كما أن طبقة الزلال تحتوي موانع جرثومية أهمها الليزوزيم Lisozyme الذي يعيق نمو وحركة البكتريا، وإن كثافة طبقة الزلال الأخيرة يسبب حجز الجراثيم وتمنع اختراق أو تجاوز تلك الطبقة. ويذكر(Musgrove, 2005) أن جمع البيض يجب أن يتم بشكل يومي مع مراعاة النظافة أثناء عملية الجمع وفي أماكن الإنتاج، ويوصي بغسل البيض بماء ذي درجة PH لاتتجاوز 10، ودرجة حرارة في حدود الـ 40 م°، ثم يجب التجفيف والتعبئة في عبوات معقمة ويلي ذلك التغليف وبذلك يتم التقليل قدر الإمكان من فرص تواجد الأحياء الدقيقة على قشرة البيضة ومن فرص اختراقها. وبحسب (Favier et al.,2000) توجد بعض المطهرات الجيدة التي تستخدم لغسل البيض،ومن هذه المطهرات محلول مخلوط التيرجيتول و تحت كلوريت الصوديوم الذي يحتوي PPM100 من الكلور الحر ذي الفعالية التطهيرية القاتلة للجراثيم، في حين ينصح (Musgrove et al.2006) بمحلول حمض الخليك Periacetic acid تركيز 200 ppm كمحلول مناسب وملائم لتطهير البيض من الجراثيم المعائية بالطريقة الضبابية وباستخدام مضخة آلية وكانت طريقة الرش اليدوي هي الأكثر

فاعلية في تطهير البيض من الجراثيم الهوائية، بينما بين نفس المرجع أن محلول الكلور Chlorine solution 200 ppm. لم يعد فعالاً في تحقيق التطهير الآمن للبيض الملوث، ويمكن استعمال مطهرات شائعة أخرى تم استخدامها في المفاقس لتطهير بيض التفريخ، فبحسب معطيات (Sander and Wilson, 1999) فإن تعريض بيض التفريخ داخل المفرخة لمحلول الماء الأوكسجيني (H2O2)، تركيز 3%، بالترذيذ الضبابي، أدى إلى خفض واضح في أعداد جراثيم المكورات العنقودية من نوع Staphylococcus aureus الملوثة للبيض قياساً بالبيض غير المعرض لتأثير (H2O2). وحول استخدامه في التخلص من التلوث بالسلمونيلة *S.typhimorium* على قشرة البيض، أظهرت نتائج التغطيس لمرتين في محلول الماء الأوكسجيني تركيز 6% انخفاض متوسط أعداد الأحياء الدقيقة بنسبة 95%، والتلوث بالسلمونيلة بنسبة 55% دون أن يؤثر ذلك سلباً على نسبة الفقس (Padron,1995) وفي دراسة لتحديد التركيز الفعال لمحلول الماء الأوكسجيني في تطهير بيض التفريخ مع المحافظة على نسبة الفقس، تبين أن استعمال محلوله بتركيز 5% بالطريقة الرذاذية، أدى إلى زيادة نسبة الفقس بمقدار 2%،وخفض نسبة التلوث الميكروبي، وظاهرة الموت المبكر للأجنة بصورة معنوية، قياساً باستعمال بخار الفورمالدهيد (Sheldon and Brake, 1991). وفي دراستين (عبد العزيز ونيصافي، 2009 وعبد العزيز وزملاؤه، 2008) بيّنتا أن استعمال بعض المطهرات كاليود وإيتيلين الغليكول وحمض اللبن والماء الأوكسجيني قد أدّت إلى خفض الحمولة الجرثومية في هواء الحظائر وهذا سينعكس إيجاباً في تخفيف الجراثيم التي سيتلوث بها بيض الدجاج الموضوع في تلك الحظائر.

أهمية البحث وأهدافه:

يعد بيض الدجاج وسطاً ملائماً لنمو وتكاثر الأحياء الدقيقة الممرضة والتي تعتبر ملوثات حيوية للبيض، ويمكن لهذه الملوثات أن تصل البيض بطريقتين، أولاهما الطريقة العمودية (Vertical transmission) عن طريق الدجاجة نفسها خلال تشكل البيضة بدءاً من المبيض وحتى خروج البيضة من فتحة المجمع، وثانيهما الطريقة الأفقية (Horizontal transmission) بتماس البيض مع الملوثات الموجودة في الهواء والماء والعلف والفرشة والزرق وعلى الجدران والأرضيات وعلى أجسام الطيور وعلى الأجهزة وأدوات الخدمة و معدات جمع البيض وحتى العاملين وعربات النقل في مزارع الدواجن والأسواق. قد تتواجد هذه الأحياء داخلياً أي في مكونات ومحتويات البيضة (البياض والصفار) وخارجياً أي على القشرة الخارجية (Shell egg) ملوثة سطح البيضة لينفذ بعضها إلى الداخل عبر المسامات الموجودة في القشرة الكلسية، أو عن طريق الشروخ والشقوق أو حتى الكسور الشعرية (الصدوع) التي قد تصيب القشرة فتساهم في سرعة العمليات التي تسبب تلف البيضة وفسادها، وتساهم أيضا في نقل أمراض خطيرة للإنسان.

لذلك من الأهمية بمكان دراسة البيئة الحيوية للبيض المعروض في الأسواق ومعرفة مدى تلوثه الحيوي عن طريق عزل الملوثات الجرثومية التي تلوثه وتحديد أنواعها لتقدير مدى خطورتها على صحة الإنسان؛ ودراسة الطرائق الكفيلة بالحد من نموها وتكاثرها وانتشارها سواء داخل البيضة أو خارجها، وذلك للتحكم ببعض الأمراض التي يمكن أن تنتقل عن طريق البيض وتقليل المخاطر الصحية التي تهدد المستهلكين فسلامة المستهلك تتطلب الحصول على بيض خالٍ من التلوث أي أن حمولته البكتيرية تكون مساوية للصفر أو تقع ضمن الحدود الدنيا للتلوث باستثناء بعض الملوثات الحيوية الخطرة والتي لايقبل بوجودها مطلقاً على أو ضمن البيضة ومنها عصيات السلمونيلة المسببة للحمى التيفية عند البشر ومن هذه الأهمية انبثق البحث لتحقيق الأهداف التالية:

- تحديد نسبة البيض الملوث خارجياً.
- تحديد نسبة البيض الملوث داخلياً.
- تحديد التلوث الجرثومي خارجياً وداخلياً قبل وبعد الغسل.
- مقارنة تلوث بيض المد اجن والبيض البلدي والبيض المغلف.
- عزل بعض أنواع الجراثيم الملوثة للبيض داخليا او خارجياً.

الدراسة التطبيقية:

مكان وزمان البحث

بدأ العمل في مطلع العام 2007 وحتى نهاية العام 2009، حيث جمعت مامقداره 540 بيضة وهي عينات عشوائية من بيض معد للبيع من محلات تجارية في محافظتي طرطوس واللاذقية، وقسمت العينات إلى عينات بيض تجاري حيث بلغت 324 بيضة وعينات بيض بلدي بلغت 160 وعينات بيض مغلف بالنايلون بلغت 56 بيضة. نقلت هذه العينات إلى مخبر الدواجن في قسم الإنتاج الحيواني– كلية الزراعة حيث درست مواصفاتها الشكلية والنوعية واستكملت بالفحوص المخبرية اللازمة لكشف وعزل الجراثيم الملوثة وتقدير نسبة البيض الملوث جرثومياُ خارجياُ وداخلياُ.

المواد والأدوات المستخدمة

I–المنابت الجرثومية:

a– منابت عامة:

– آجار آجار Agar Agar (AA)

– أجار مغذي Agar(NA) Nutrient

– مرق مغذي Nutrient broth (NB)

– آجار موللر هينتون Mueller- Hinton Agar (M H A)

b- منابت تمييزية:

- أجار ماكونكي MacConkey Agar (McC)
- سلمونيلة شيجيلا آجار Salmonella Shigella Agar (SS)
- هيكتون أجار Hektoen Enteric Agar (H E)
- أجار المكورات العنقودية .Staphylococcus 110 Agar
- أجار المكورات المعوية Enterococcus Agar (E. A)

جميع الأوساط عقمت بالصاد الموصد (Autoclaving at 121C° for 20-min) باستثناء HE و SS Agar تم تعقيمهما بوساطة الحمام المائي المغلي لمدة 30 دقيقة.

II– الصبغات

صبغة غرام التي تميز أنواع البكتريا إلى مجموعتين الأولى ايجابية الغرام والمجموعة الثانية سلبية الغرام.

III- تصنيف العزلات:

صنفت العزلات تبعا لما يلي:

- الخصائص الزرعية على الأوساط النوعية.
- صبغة غرام.
- الاختبارات الكيميائية الحيوية (الكاتالاز- الأوكسيداز- تخمير السكريات :لاكتوز،غلوكوز، مالتوز – تحليل الدم- الإندول – اليوريا).
- التصنيف بطريقة المسطرة البيولوجية باستخدام عدة API [API E20, API staph]

المسطرة البيولوجية **"API":** عبارة عن نظام قياسي مصمم بحجم صغير مؤلف من حجيرات اختبار صغيرة تحتوي على كواشف **Kit** الاختبارات الحيوية للكشف عن بعض الوظائف البيوكيميائية للبكتريا فقد استخدمت مسطرة بيولوجية للعنقوديات API Staph موضحة في الصورة رقم (1) و يتم تمييز أنواع العنقوديات فيها وأخرى لتمييز العائلة المعوية تسمى بـAPI 20 E ، الصورة رقم (2).وهي من إنتاج شركة Bio Merieux فرنسا.

الصورة (1) مسطرة بيولوجية API Staph

الصورة (2) مسطرة بيولوجية API 20 E

IV- حجرة العزل : يتم فيها عزل الجراثيم باستخدام الأشعة فوق البنفسجية لتعقيم مكان اخذ العيينات قبل إجراء عملية اخذ المسحات من البيض أو عند النقل من منبت عام إلى منبت تمييزي.

V- أجهزة ومواد مخبرية أخرى شملت:

- حاضنة جرثومية : مضبوطة على درجة حرارة 37 م°.
- معقمة تعمل حتى الدرجة 250م°
- براد : لحفظ العينات بعد الغسل.
- جهاز تعقيم بالبخار والضغط.
- مجهر ضوئي مجهز بعدسة زيتية قوة تكبيرها 100X10
- زيت الأرز
- مصباح بنز
- عروة معدنية لأخذ المسحات.
- أطباق بتري- قطن – كحول- شرائح.

طريقة العمل:

1-أحضرت 540 بيضة إلى المخبر لإجراء الفحوص المكملة والجرثومية. ومن ثم أخذت مسحات من القشرة الخارجية للبيض الملوث أولا باستخدام العروة المعدنية بعد تعقيمها بطريقة الإحماء (التسخين على لهب حتى الاحمرار). حيث تم تمريرها على كامل سطح البيضة وزرعت المسحات أوليا على المنابت المغذية السائلة ومن ثم على منابت صلبة كالآجار المغذي وآجار موللر هنتون، ووضعت الأطباق في الحاضنة بشكل مقلوب على حرارة 37م°، روقب نمو المستعمرات الجرثومية كل 24، 48، ساعة. وبعد 24 ساعة من الزرع على المنبت العام أخذت مسحات من المستعمرات النابتة لزراعتها على منابت نوعية (هيكتون، ماكونكي) وروقبت النموات في الأوساط النوعية كل 24، 48، 72 ساعة وسجلت نتائج عمليات الزرع.

2-أخذت مسحات من المستعمرات النامية على الآجار والأوساط النوعية ووضعت على شرائح زجاجية خالية من الدهون ومعقمة وصبغت بصبغة غرام ثم فحصت بالمجهر الضوئي باستخدام العدسة الزيتية وبتكبير 100X10 وسجلت النتائج.

3-بعد ذلك غسل البيض باستخدام الماء والصابون لإزالة الملوثات الخارجية عن القشرة، ومن ثم تم ترقيمه، وبعد ذلك وضع في البراد بدرجة 4 م° لمدة أسبوع.

4-بعد أسبوع أخذت مسحات من القشرة المغسولة لزراعتها على الآجار، ثم كسر البيض لأخذ مسحات بشكل عشوائي من المحتويات الداخلية وزرعها على الآجار لتحديد التلوث الداخلي دون النظر إلى مكان التلوث أهو في البياض أم في الصفار. وبعد ذلك حضّنت على درجة حرارة 37 م° وتمت مراقبتها لمدة 24، 48، 72 ساعة، بعد 24 ساعة من التحضين أخذت مسحات من المستعمرات النامية على الآجار وزرعت في الأوساط النوعية وروقبت 24، 48، 72 ساعة وتم تسجيل النتائج. كما أخذت مسحات من المستعمرات النامية والنقية ظاهريا ووضعت على شرائح زجاجية مجهرية وتم صبغها بصبغة غرام ثم تم فحصها تحت المجهر وسجلت نتائج المشاهدات.

5- سجلت نسبة التلوث على أساس عدد البيض الملوث (أي نمت مستعمرات جرثومية من المسحات المأخوذة منه)

النتائج والمناقشة:

1- النتائج

أظهرت نتائج دراسة 540 عينة بيض من المحال التجارية المختلفة لمحافظتي طرطوس واللاذقية أن جميع عينات البيض هي ملوثة خارجيا من الناحية الجرثومية، وكانت نسبة التلوث الأعلى بالجراثيم الهوائية، وخاصة المكورات العقدية، والتي بلغت 87,03%، يليها المكورات العنقودية بنسبة 77,4%. أما الجراثيم المعوية، فقد بلغت نسبة التلوث بالسلمونيلة 16,11%، والعصيات القولونية 17,77%، وبلغت نسبة التلوث بالمكورات البرازية 1,66%، وبعصيات إيجابية غير مصنفة 1,85%. أما بعد الغسل فقد انخفض التلوث في جميع العينات المدروسة وبشكل كبير، ولقد كانت أعلى نسبة للتلوث الداخلي بجراثيم السلمونيلة،الجدول رقم (1)، المخطط رقم (1).

الجدول رقم (1) نتائج فحص التلوث الجرثومي لجميع عينات البيض

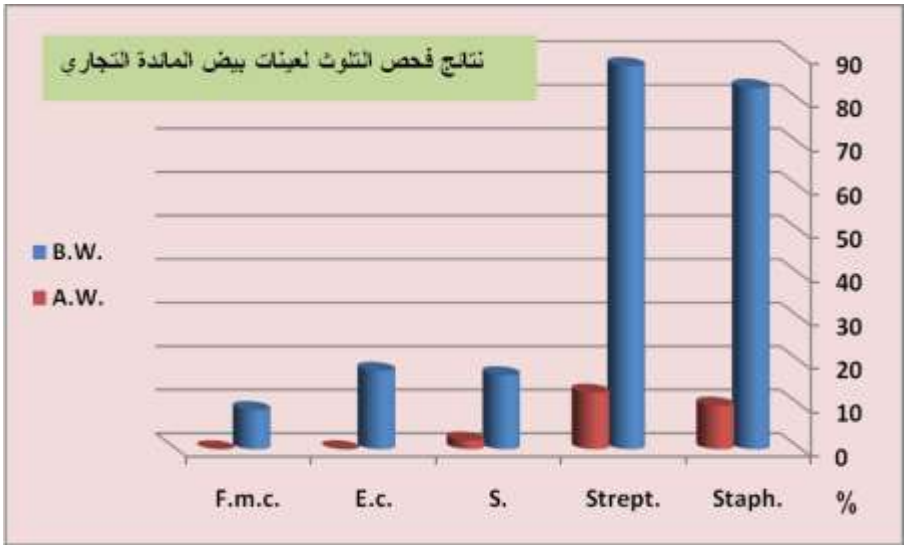
عدد العينات المدروسة	النوع البكتيري	العينات ذات القشرة الملوثة قبل الغسل		العينات ذات القشرة الملوثة بعد الغسل		العينات ذات التلوث الداخلي	
		العدد	%	العدد	%	العدد	%
540	المكورات العنقودية	418	77.4	63	11.66	16	2.96
540	المكورات العقدية	470	87,03	90	16.66	11	2,03
540	السلمونيلة	87	16.11	15	2,77	32	5.92
540	عصيات قولونية	96	17.77	5	0.92	18	3,33
540	مكورات برازية	9	1,66	0	0	4	0,74
540	عصيات إيجابية غير مصنفة	10	1,85	0	0	0	0

المخطط (1) يبين نسبة التلوث في جميع عينات البيض المدروسة قبل الغسل .B.W وبعد الغسل .A.W

ولدى دراسة 324 عينة من بيض المائدة التجاري وجد أن نسبة التلوث بالمكورات العقدية هي الأعلى وقد بلغت 88,27% وبالمكورات العنقودية 83,33% وبالسلمونيلة 16,66% وبالعصيات القولونية18,2% وبالمكورات البرازية 0,92%، وبالعصيات الإيجابية الغرام غير المصنفة 1,54%. جدول رقم (2).

الجدول (2) نتائج فحص التلوث لعينات بيض المائدة التجاري

عدد العينات المدروسة	النوع البكتيري	العينات ذات القشرة الملوثة قبل الغسل		العينات ذات القشرة الملوثة بعد الغسل		العينات ذات التلوث الداخلي	
		العدد	%	العدد	%	العدد	%
324	المكورات العنقودية	270	83.33	32	9,87	5	1.54
324	المكورات العقدية	286	88.27	43	13.27	5	1.54
324	السلمونيلة	54	16,66	5	1.54	16	4,93
324	عصيات قولونية	59	18,2	0	0	12	3,7
324	مكورات برازية	3	0,92	0	0	1	0,3
324	عصيات إيجابية غير مصنفة	5	1.54	0	0	0	0

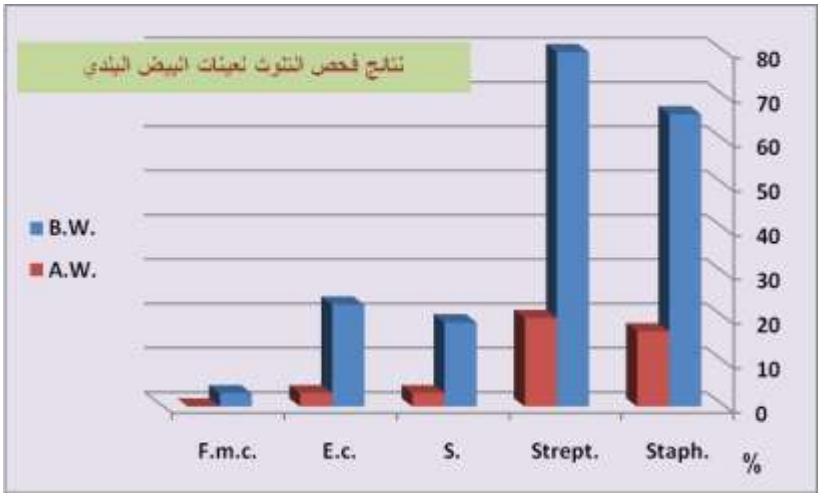


مخطط(2) يبين نسبة التلوث في عينات بيض المائدة من الهجن التجارية .B.W وبعد الغسل .A.W

أما بالنسبة لنتائج فحص تلوث عينات البيض البلدي فقد بلغت نسبة التلوث بالمكورات العقدية 80% والعنقودية 66,25%، والسلمونيلة 19,37%، والعصيات القولونية 22,5%، والمكورات البرازية 3,12%، والعصيات الإيجابية غير المصنفة 2,5%. جدول رقم (3).

الجدول (3) نتائج فحص التلوث لعينات البيض البلدي

عدد العينات المدروسة	النوع البكتيري	العينات ذات القشرة الملوثة قبل الغسل		العينات ذات القشرة الملوثة بعد الغسل		العينات ذات التلوث الداخلي	
		العدد	%	العدد	%	العدد	%
160	المكورات العنقودية	106	66.25	27	16.87	5	3.12
160	المكورات العقدية	128	80	32	20	0	0
160	السلمونيلة	31	19.37	5	3.12	5	3.12
160	عصيات قولونية	36	22,5	5	3.12	4	1,25
160	المكورات البرازية	5	3,12	0	0	2	0
160	عصيات إيجابية غير مصنفة	4	2,5	0	0	0	0



المخطط (3) يبين نسب التلوث في عينات البيض البلدي .B.W وبعد الغسل .A.W

أظهرت نتائج فحص التلوث للبيض المغلف نسبة عالية جدا من التلوث بالنسبة للمكورات العقدية بلغت 100% من العينات، تلتها التلوث بالمكورات العنقودية بنسبة 75%،ثم السلمونيلة بنسبة 8,92%، ثم العصيات القولونية بنسبة 16,07%، فالمكورات البرازية بنسبة 1,78%، وأخيرا العصيات الإيجابية غير المصنفة بنسبة 1,78%.

الجدول (4) نتائج فحص التلوث لعينات البيض المغلف

عدد العينات المدروسة	النوع البكتيري	العينات ذات القشرة الملوثة قبل الغسل		العينات ذات القشرة الملوثة بعد الغسل		العينات ذات التلوث الداخلي	
		العدد	%	العدد	%	العدد	%
56	المكورات العنقودية	42	75	5	8.92	5	8.92
56	المكورات العقدية	56	100	14	25	5	8.92
56	السلمونيلة	5	8,92	0	0	9	16.07
56	عصيات قولونية	9	16.07	0	0	2	3,57
56	المكورات برازية	1	1,78	0	0	1	1,78
56	عصيات إيجابية غير مصنفة	1	1,78	0	0	0	0

المخطط (4) يبين نسب التلوث لعينات البيض المغلف .B.W وبعد الغسل .A.W

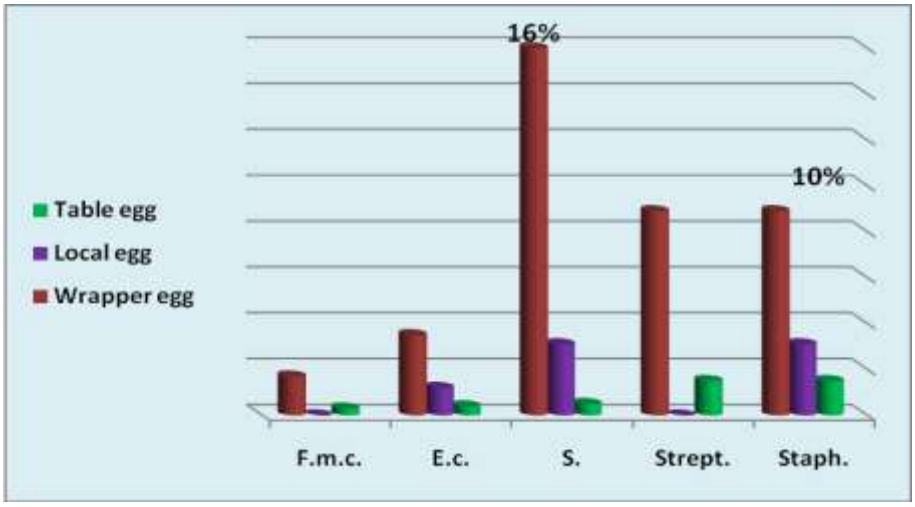
أظهرت نتائج فحص التلوث للبيض تقارب نسبتي التلوث الخارجي والداخلي مابين محافظتي طرطوس واللاذقية وهما مرتفعتان في كلتا المحافظتين، الجدول رقم (5).

الجدول (5) نسب التلوث لعينات البيض في كل من محافظتي طرطوس واللاذقية

	المنطقة	العينات الملوثة القشرة قبل الغسل		العينات الملوثة القشرة بعد الغسل		العينات الملوثة المحتويات الداخلية	
		العدد	%	العدد	%	العدد	%
300	اللاذقية	284	94.66	89	29,66	33	11
240	طرطوس	230	95,83	79	32,91	26	10.83

المخطط (5) يبين نسبة التلوث الخارجي .B.W وبعد الغسل .A.W ونسبة التلوث الداخلي للبيض في محافظتي اللاذقية وطرطوس

أما نسبة التلوث الداخلي فقد كانت أعلاها أثناء الإصابة بالسلمونيلة وفي البيض المغلف الجداول (1، 2، 3، 4، 5) المخطط (6).



المخطط (6) نسبة التلوث الداخلي في جميع أشكال البيض المعروض في الأسواق

2- المناقشة

لم يتم في هذه الدراسة تحديد أعداد المستعمرات الجرثومية أي الحمولة الجرثومية، ولكن حسبت نسبة تلوث البيض على أساس وجود أو عدم وجود مستعمرات جرثومية في الأوساط الملائمة المستخدمة في البحث والتي تم زرع المسحات المأخوذة من البيض المدروس في تلك الأوساط، وتبين نتائج الدراسة أن قشرة البيض ملوثة بنسبة عالية تصل إلى 100% ولكنها تتفاوت مابين نوع جرثومي وآخر، كما بينت الجداول(1،2،3،4،5) وقد تتقارب أو تتباين هذه النسب مع ماذكره بعض الباحثين، فمثلا وجد (Jones et al.1995) أن نسبة تلوث القشرة الخارجية للبيض بالسلمونيلة بلغت 7.8%، وقد بلغت في هذه الدراسة 16.11%، وهي نسبة مرتفعة تدل في حال عدم وجود عدوى عمودية إمكانية وجود عدوى أفقية يساهم فيها عدم التقيد بالشروط الصحية أثناء تداول البيض، أو أثناء عرضه، كما أن زيادة التعرض لدرجة الحرارة في الصيف مثلا، كون العينات أخذت على مدار العام، قد يكون قد لعب دورا ما في زيادة نسبة التلوث لبعض العينات المأخوذة في الأشهر الحارة رغم عدم تطرق البحث لموضوع تأثير درجات الحرارة التي ثبت أن لها دوراً هاماً في زيادة نمو الجراثيم على سطح البيضة، فقد تبين انخفاض الكثافة الجرثومية في فصل الشتاء مقارنة بالصيف (Dereu et al.,2005). وإن النسب المرتفعة للتلوث على قشرة البيضة وبخاصة للجراثيم الهوائية كالمكورات العقدية والعنقودية تشير إلى تعرض البيض لجميع الملوثات من مراكز إنتاجه وحتى في أسواق عرضه، كما تدل أيضا على عدم غسل البيض أو تبريده مباشرة بعد وضعه، وهذا يدل على انخفاض أو غياب المسؤولية الصحية التي تحتم في بعض البلدان تطهير البيض بالمطهرات المناسبة فور وضعه وقبل عرضه في الأسواق أو بيعه للمستهلكين (Musgrove et al., 2005)، فقد وجد بعض الباحثين أن التلوث في البيض التجاري يبدأ من لحظة وضع البيض في العش ويأخذ بالازدياد مع عمليات التداول المختلفة حتى وصوله للمستهلك، وذلك في حال عدم تبريد البيض فوراً.ولقد كان متوسط تلوث البيض واحداً تقريباً بالنسبة لمختلف أنظمة الإنتاج وذلك من ناحية سلسلة العرض التجاري في صالات البيع (Protais et al., 2003). وقد بينت نتائج الدراسة النسب المرتفعة لتلوث القشرة الخارجية للبيض كما يظهر الجدول رقم (1) وقد أظهرت النتائج أيضا انخفاض التلوث وبنسبة عالية بعد غسل البيض، كما بينت أن مستوى التلوث في محتوى البيض كان أدنى من مستوى التلوث على القشرة، وهذا يدعو إلى التأكيد على ضرورة تبريد البيض فورا أو غسله مباشرة بعد وضعه، فبحسب دراسة لـ(Dereu et al.,2006) شملت عدة أنواع من الجراثيم بينت إلى أنه ومع استمرار تخزين البيض الملوث القشرة وبخاصة في ظروف الحرارة الملائمة لنمو تلك الجراثيم، فإن هذه الجراثيم تتمكن من اختراق القشرة لتصل حتى صفار البيض، وتلوث بالتالي كل مكونات البيض ومحتوياته. أي أنه تزداد احتمالات تلوث محتويات البيض الداخلية إذا كانت قشرة البيض الخارجية ملوثة بالجراثيم بشكل كبير، إذ إن هذه الجراثيم تخترق القشرة إلى الداخل. وبالعكس إذا كانت الحمولة الجرثومية منخفضة فإن التلوث الجرثومي للمحتويات الداخلية سيكون منخفضا. ولابد من الإشارة إلى أن الجراثيم سلبية الغرام والمتحركة أظهرت قدرة أكبر على اختراق القشرة حيث أظهرت الزوائف (*Pseudomonas*) قدرة أكبر على التغلغل داخل القشرة باتجاه مكونات البيضة الداخلية وذلك بمقدار60%، تلتها أنواع الجراثيم البرازية (*Alcaligenes spp*) بمقدار56%، ثم السلمونيلة الملهبة للأمعاء بمقدار43%، وقد لوحظ حدوث هذا الاختراق والتغلغل إلى المحتوى الداخلي للبيضة وبهذه النسبة بعد نحو 4-5 أيام تقريباً. هذا وتزيد طول فترة التخزين للبيض بخاصة الملوث القشرة من اختراق الجراثيم للقشرة الخارجية لتصل إلى المحتويات الداخلية،حيث وجدت هذه الأنواع الجرثومية بعد ثلاثة أسابيع من التخزين ضمن كامل المحتويات الداخلية للبيض. وفي هذه الدراسة عزلت بعض الأنواع الجرثومية ولم يتم التمكن من عزل جميع الأنواع بسبب بعض

الصعوبات التقنية، ولكن وجد أن أغلب الجراثيم المعزولة من محتوى البيض كانت جراثيم سلبية الغرام شملت العصيات القولونية والسلمونيلة والمكورات البرازية، وجراثيم إيجابية الغرام أهمها المكورات العنقودية و المكورات العقدية وهذا يتطابق مع ما وجده (Dereu et al.,2006) وكذلك (Krishnamokthy et al.,2003)، الذي وجد أيضاً أن الارتفاع في تعداد الجراثيم الكلي في كلٍ من قشرة البيض والصفار ارتبطت بالتلوث الأفقي و العمودي أيضا، ولكن قد تعود الأسباب الأساسية لوجود نسبة تلوث جرثومية مرتفعة في بيض المائدة المطروح في الأسواق إلى تجميع وتخزين البيض بشكل غير صحيح وإلى استعمال الماء الملوث في غسله وكذلك إلى المعاملة غير الصحية له. ولهذه الأسباب ينصح (Saeed and Koons,1993;Chen et al,1996) بضرورة حفظ البيض بعد غسله جيداً في درجات حرارة منخفضة تقل عن 4 م°، كما أن تطبيق تقنيات تبريد البيض السريعة التي تعتمد غازات التبريد تحد من تكاثر الجراثيم وهذا يؤدي إلى خفض كبير في الحمولة الجرثومية، ولكن يعاب عليها أنها قد تؤدي إلى حدوث شروخ وشقوق في القشرة الخارجية. هذا ووجد في نتائج هذه الدراسة أيضا أن نسبة التلوث الجرثومي في البيض المأخوذ من الدجاج المنزلي (البلدي) أعلى من تلك المتحصل عليها من بيض المداجن، وهذا يطابق ما جاء في دراسة (نيصافي وعبد العزيز،2006) حيث نوها إلى أن الدجاج المنزلي يمكن أن يبيض على روث الحيوانات المجترة المجاورة، وفي أطراف القرى التي تكثر فيها القاذورات أو الأوساخ المرمية كما يشرب من المياه الآسنة، ويبيض هذا الدجاج في الأعشاش البدائية الأرضية وبمختلف الظروف المناخية وهذا يسهم في زيادة نمو الجراثيم على قشرة البيض، وبين نفس المصدر وجود نسبة إصابة عالية عند الدجاج البلدي بأنواع مختلفة من السلمونيلة تطابقت مع نتائج هذه الدراسة ولكنها اختلفت معها في عدم ملاحظة أية إصابات بالسلمونيلة عند الهجن التجارية للدجاج البياض (نيصافي وعبد العزيز، 2006) ويتوافق هذا مع ما جاء به (Protais et al.2003) في أن بيض الدجاج السارح يكون أكثر تلوثا بالجراثيم الهوائية من بيض الدجاج المربى في الأقفاص.

أما بالنسبة للاختبارات الجارية على البيض في كل من محافظتي اللاذقية وطرطوس فقد أظهرت الدراسة نسبة مرتفعة لتلوث القشرة الخارجية لدى عينات محافظتي طرطوس واللاذقية، وكذلك كانت نسبة تلوث المكونات الداخلية متقاربة بين كلتا المحافظتين، وهذا يدل على أن ظروف الإنتاج ومعاملات السوق متشابهة في كلتا المحافظتين، وختاما أظهرت نتائج هذه الدراسة أن الجراثيم المعزولة شملت سلبية الغرام كالعصيات القولونية والسلمونيلة والمكورات البرازية، وإيجابية الغرام كالمكورات العنقودية والمكورات العقدية وهذا يتطابق مع ما وجده (Dereu et al., 2006; Musgrove, et al., 2005, 2006) في أن الارتفاع في تعداد الجراثيم الكلي في كلٍ من قشرة البيض والصفار ارتبطت بالتلوث الأفقي والعمودي أيضا،ولكن الأسباب الأساسية لوجود حمولة جرثومية مرتفعة في بيض المائدة المطروح في الأسواق يعود لتجميع وتخزين البيض بشكل غير صحيح، وهذا يدعو إلى اعتماد قوانين ناظمة تحتم تطهير البيض بمطهرات مناسبة Sanitizer قبل عملية التسويق لضمان وصوله صحيا إلى المستهلكين (Jones,et al.,1995 ; نيصافي وعبد العزيز 2006).

الاستنتاجات والتوصيات:

1- يعد كل البيض ملوث القشرة

2- إن تلوث المحتوى الداخلي للبيض قد يكون ناجماً عن نفوذ الجراثيم الملوثة للقشرة وهذا مؤشر لسوء تداول البيض من لحظة إنتاجه وحتى بيعه

3- إن التلوث الداخلي مؤشر صحي هام جدا تدل على وجود العدوى الأفقية والعمودية وفي حال الإصابة بالسلمونيلة هي ناقوس خطر لسلامة هذا المنتج الهام على الصحة البشرية

4- غسل البيض ولو بالماء يقلل من الحمولة الجرثومية للقشرة الخارجية،ويقلل أعداد الجراثيم التي يحتمل نفوذها لداخل البيضة.

5- ضرورة التقيد بكافة الشروط الصحية أثناء تداول البيض وتحضيره،وعدم خلطه بالأغذية الأخرى التي تؤكل نيئة.

6- ضرورة وضع قوانين تضمن الحصول على بيض نظيف خالي من التلوث،وإشراف قطاعات الصحة التابعة للحكومة علي تطبيقها من أجل حماية المستهلكين.

المراجع:

1- حاغور، رضوان؛ حاج حسن، تحسين: علم جراثيم الحيوان الجزء الأول. كلية الطب البيطري، ص188، 1990, 224- 205.

2- عبد العزيز فهيم، نيصافي علي، كتاب الدواجن. المطبوعات الجامعية. جامعة تشرين، كلية الزراعة. 2005، 511.

3- عبد العزيز، فهيم. نيصافي، علي. جبلاوي، رفيق.*استعمال تراكيز محددة من الماء الأوكسجيني وحمض اللبن بالطريقة الرذاذية في خفض مستوى التلوث الجرثومي في هواء حظائر الدواجن خلال فترة الرعاية*، مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية، سلسلة العلوم البيولوجية. مجلد30، العدد1، 2008، ص91-107.

4- عبد العزيز، فهيم. نيصافي، علي. التطهير المستمر في حظائر الدواجن أثناء وجود الطيور كإجراء لخفض مستوى الحمولة الجرثومي والوقاية من الأمراض مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية – سلسلة العلوم البيولوجية، المجلد(31) العدد(1) 2009، 23-38.

5- نيصافي، علي. عبد العزيز، فهيم. العدوى الكامنة بالسلمونيلات عند الدواجن كمصدر للتسممات الغذائية.مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية- سلسلة العلوم البيولوجية. المجلد (28). العدد (1). 2006. 55-65.

6- Baker, R.C., M.D.C. PAREDES AND R.Q. QURESHI, *Prevalence of Campylobacter jejuni in eggs and poultry meat in New York State*. Poult. Sci., 66: 1987, 1766-1770.

7- BOARD, R.G. AND H.S. TRANTER, *In Egg Science and Technology*. Editors W. J. STADELMAN AND O.J. COTTERILL. Haworth Press, Inc. New York. 1995.

8- COX JR, N.A., RICHARDSON, L.J., BAILEY, J.S., COSBY, D.E., CASON JR, J.A., MUSGROVE, M.T., MEAD, G.C.. *Bacterial contamination of poultry as a risk to human health. Book Chapter. In: Food Safety Control in the Poultry Industry.* Ed. G. C. Mead. Ch 2. 2005, p. 21-43.

9- CHEN, J., R.C. CLARKE and M. W. GRIFFITHS,. *Use of luminescent strains of Salmonella enteritidis to onitor contamination and survival in eggs*. J. of Food Prot. 59: 1996, 915-921.

10- CURTIS, P.A., ANDERSON, K.E. and JONES, F.T,. *Cryogenic gas for rapid cooling of commercially processed shell eggs before packaging*. J. of Food Prot. 58: 1995, 389-394.

11- DE REU, K., K. GRIJSPEERDT, M. HEYNDRICKX, J. ZOONS, K. DE BAERE, M. UYTTENDAELE, J. DEBEVERE AND L. HERMAN. *Bacterial eggshell contamination in conventional cages, furnished cages and aviary housing systems*. Br. Poult. Sci. 46,2005:149–155.

12- DE REU. K; GRIJSPEERDT. K; MESSENS. W; HEYNDRICKX. M; UYTTENDAELE. M; DEBEVERE. J; HERMAN. L. *Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including Salmonella enteritidis*, vol. 112, n· 3, 2006, pp. 253-260.

13- DOLMAN, J;R. G. BOARD., *The Influence of Temperature on the Behaviour of Mixed Bacterial Contamination of the Shell Membrane of the Hen's Egg*, Epidemiology and Infection, Vol. 108, No. 1, 1992, pp. 115-121.

14- FAVIER, G. L.; ESCUDERO,M.E.; MATTAR,M.A.;GUZMAN,A.M.S., *Survival of Yerisinia enterocolitica and mesophilic aerobic bacteria on egg shell of the washing with hypochlorite and organic acid solution*. Journal of Food Protection. 63: 2000, 1035-1057.

15- GAST, R.K. AND C. W. BEARD,. *Detection and enumeration of Salmonella enteritides in fresh and stored eggs laid by experimentally infected hens*. J. of Food Prot. 55: 1992, 152-l56.

16- GLENN W. FRONING. University of Nebraska;. *Egg Processing*. Ideas for the Future. 1998.

17- HUMPHREY TJ, WHITEHEAD A, GAWLER AH, HENLEY A, ROWE B, *Numbers of Salmonella enteritidis in the contents of naturally contaminated hens' eggs*.106(3): 1991. 489-96.

18- IZAT, A.L. AND F.A. GARDNER,. *Incidence of Campylobacter jejuni in processed egg products*.Poult. Sci., 67: 1988,1431-1435.

19- JONES, F.T, D.V. RIVES and K.B. CAREY, *Salmonella contamination in commercial eggs and an egg production facility*. Poult. Sci., 74: 1995.753-757.

20- KHMER, J.A. AND W.A. MOATS,. *Effect of temperature, pH and detergent on survival of bacteria associated with shell egg*. Poul. Sci. 60: 1981,761-767.

21- KNAPE, K.D., C. CHAVES, R.P. BURGESS, S.D. COUFAL and J.B. CAREY,. *Comparison of eggshell surface microbial Populations for in-line and off-line commercial egg processing facilities*. Poult. Sci., 81: 2002, 695-698.

22- KOTULA, A.W; KINNER,J.A..*Airborne microorganisms in broiler processing plants*. Appl. Microbiol. 12: 1964, 179-184.

23- KRISHNAMOOKTHY, P.; PAUL, W.M.; PREMKUMAR, E.S.; GOVINDARAJAN, D., *Evaluation of pathogenic coli form bacteria in fresh market table eggs in and around Chennai city*. Indian Journal of Animal Health,Vol.42, No.2, 2003,120-123.

24- LENHART, S.W; S.A. OLENCHOCK and E.C, COLE, *Viable sampling for airborne bacteria in a poultry processing plant*. J. Toxicol. Environ. Health 10: 1982. 613-619.

25- LUTGRING, K.R., R.H. LINTON, N.J. ZIMMERMAN, M. PEUGH SPURLOCK, A.T. and E.A. ZOTTOLA, *The survival of and A.J. Heber, 1997. Distribution and quantification of bioaerosols in poultry-slaughtering plants*. J. Food Prot. 60: 1991. 804-810.

26- MUSGROVE, M.T., JONES, D.R., NORTHCUTT, J.K., HARRISON, M.A., COX JR, N.A., INGRAM, K.D., HINTON JR, A., *Recovery of salmonella from commercial shell eggs by shell rinse and shell crush methodologies*. Poultry science. 84(12): 2005.1955-1958.

27- MUSGROVE, M.T., COX JR, N.A., RICHARDSON, L.J., JONES, D.R., NORTHCUTT, J.K. *Comparison of shell egg sanitizers and application methods*, Poultry Science. 85(1) 2006, 162.

28- PADRON,M: *Egg dipping in hydrogen peroxide solution to eliminate Salmonella typhimurium from eggshell membranes*. Avian Dis., 1995, Jul-Sep;39(3):627-30.

29- PROTAIS, J.; QUEGUINER, S.; BOSCHER, E.; PIQUET, J.-C., NAGARD, B.; SALVATA, G., Effect of housing system on the bacterial flora of egg shells. British Poultry Science, 44: 2003, 788-789.

30- SAEED, A. M. AND C. W. KOONS,. *Growth and heat resistance of Salmonella enteritides in refrigerated and abused eggs*. J. of Food Prot. 56: 1993, 927-93 1.

31- SANDER, J.E; WILSON, J.L: *Effect of hydrogen peroxide disinfection during incubation of chicken eggs on microbial levels and productivity*, Avian Dis. 1999, Apr-Jun; 43(2): 227-33.

32- SAUTER, E.A., PETERSEN, C.F., *The effect of egg shell quality on penetration by Pseudomonas Fluorescence*. Poultry Science 45, 1969, 825-829.

33- SHELDON, B.W; BRAKE, J: *Hydrogen peroxide as an alternative hatching egg disinfectan*t. Poult. Sci., 1991, May; 70(5): 1092-8.

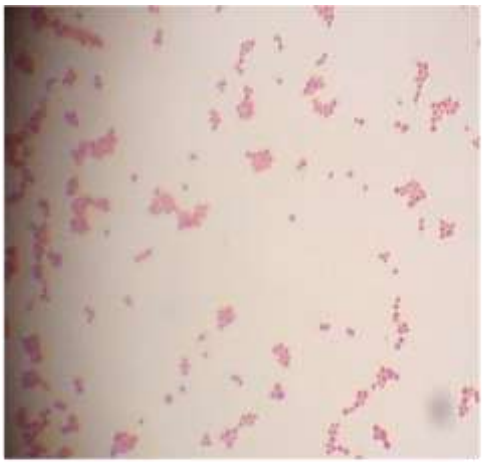
34- SOBHAN NANDI;JOHN J MAURER; CHARLLES HOFACRE;AND ANNE O. SUMMERS, *Gram-positive bacteria are a major reservoir of Class 1 antibiotic resistance integrons in poultry litter*, Proc natl. acad. Sci. USA. 101(18): 2004, 7118-7122.

35- VELUGOTI, P.R; BOHRA, L.K; JUNNEJA, V.K; THIPPAREDDI, H: *Inhibition of germination and outgrowth of Clostridium perfringens spores by lactic acid salts during cooling of injected turkey*. J Food Prot. 2007, Apr, 70(4): 923-9.

36- WINKLE, S., *Mikrobiologische Diagnostik*, VEB Gustav Fischer Verlag Jena. 1979, 335 P.

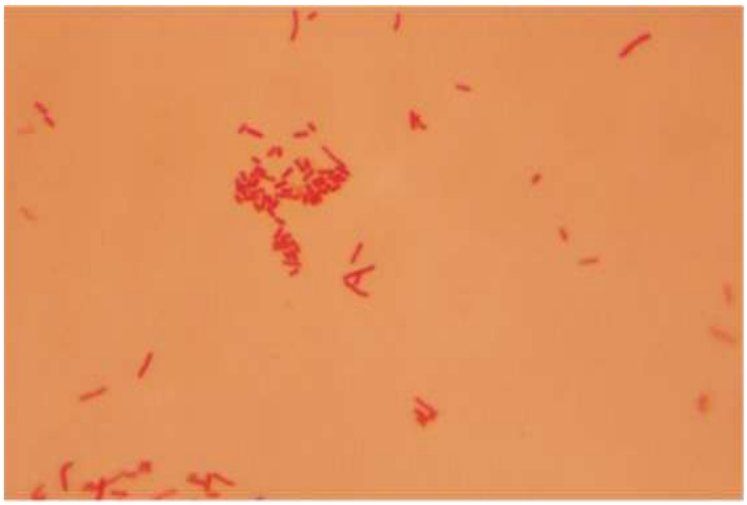
37- ZOTTOLA, E.A, D.L. DHELTZ and J.J. JEZESKI., *Isolation of Salmonellae and other airborne microorganisms in turkey processing plants.* J. Milk Food Tech.33: 1970, 395-399.

ملحق صور



صورة توضح مكورات عنقودية ايجابية الغرام ظهرت بالفحص المجهري لمستعمرات نامية على الأجار

صورة توضح مكورات عقدية على شكل سلاسل ايجابية الغرام ظهرت بالفحص المجهري لمستعمرات نامية على الأجار



صورة توضح عصيات سلبية الغرام ظهرت بالفحص المجهري لمستعمرات نامية على وسط الماكونكي التمييزي