المحاضرة السابعة – الكشف عن حليب مأخوذ من حيوانات مصابة بمرض التهاب الضرع

Mastitis التهاب الضرع : يعرف مرض التهاب الضرع بانه أي اصابة للضرع تؤدي الى افراز حليب غير طبيعي في تركيبه وصفاته وخواصه ، ولقد وجد من الدراسات التي اجريت في هذا الموضوع ان مرض التهاب الضرع يرجع سببه الى بعض الميكروبات أهمها :

Strept. pyogenes و Strept. dysgalactiae و E. coli و Enterobacter aerogenes

وعند اصابة الماشية بمرض التهاب الضرع فان ذلك يؤثر على تركيب وخواص الحليب الناتج من هذه الماشية فمثلا تقل نسبة الدهن و الكازين و اللاكتوز و الحموضة (كحامض اللاكتيك) وبعض الاملاح مثل الكالسيوم والبوتاسيوم بينما تزيد نسبة بروتينات الشرش (الالبومين والكلوبيولين) وكذلك يزداد نشاط بعض الانزيمات مثل انزيم الكاتاليز و يتغير pH وبعض الاملاح مثل الصوديوم والكلوريدات ويرتفع عدد كريات الدم البيضاء في الحليب كما يكون مشوباً بقطرات دم وقد يتغير قوام الحليب ويصبح مائياً .

و بالطبع يتغير طعمه فيصبح مالحاً لزيادة نسبة الكلوريدات وانخفاض نسبة اللاكتوز ويمكن تشخيص هذا المرض اما بالفحص الطبي لضرع الحيوان حيث يصبح الجزء المصاب جامداً متصلبا ، كما يكون معرفة هذا المرض بفحص الحلبات الاولى من الحليب اذ يلاحظ لونه ودرجة لزوجته فاذا كان مشوباً بالدم أو متخثرا دلّ ذلك على الإصابة ، كما يمكن تشخيص المرض بواسطة عدة اختبارات كيمياوية تعتمد اساسا على التغيرات التي تطرأ على مكونات الحليب كما سبق الذكر .

واهم هذه الاختبارات هي :

1- اختبار الكلوريد : إصابة الماشية بمرض التهاب الضرع يزيد من نسبة الكلور في الحليب وعليه فتقدير الكلور يمكن الاعتماد عليه في معرفة مرض الماشية من عدمه **وهذا الاختبار كما يلي :**

يؤخذ (5 مل) من الحليب في أنبوبة اختبار ويضاف اليها 10 قطرات من محلول 10 % كرومات البوتاسيوم ثم (5 مل) من محلول نترات الفضة (0.05) ع ثم تخلط محتويات الانبوبة ويلاحظ اللون فاذا كان اللون أصفر فأن نسبة الكلور في عينة الحليب يكون أكثر من (0.14 %) أي أن الحليب من ماشية مصابة بمرض التهاب الضرع (أما اذا كان اللون أحمر فان نسبة الكلور في العينة أقل من 0.14 %) أي أن الحليب من ماشية غير مصابة بمرض ألتهاب الضرع.

2- اختبار الكاتاليز : يقاس نشاط انزيم الكاتاليز الموجود في الحليب بواسطة كمية الاوكسجين المتحرر من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 المضاف الى الحليب . **وهذا الاختبار كما يلي :**

يستعمل فيه اشكال مختلفة من الاجهزة التي يمكن بها حجز الاوكسجين المنطلق بواسطة الحليب ، وفي هذه التجربة يؤخذ (15 مل) من الحليب الطازج الممزوج جيدا ويوضع في انبوبة زجاجية خاصة ثم يضاف اليها (5 مل) من محلول 1% بيروكسيد الهيدروجين محضر حديثا ثم يمزج جيدا ويحضن في حمام مائي على درجة (37) م لمدة ساعتين او على درجة حرارة الغرفة لمدة 12 ساعة ثم يقاس حجم الاوكسجين المتحرر ، فاذا كان حجمه يزيد عن (1.5 مل) 10 % من حجم الحليب (فان الماشية المنتجة لهذا الحليب تعتبر مصابة بمرض التهاب الضرع ، اما اذا كانت كمية الاوكسجين المتحرر لا يزيد عن 1.5 مل اقل من 10 % من حجم الحليب (فالماشية سليمة) .

3- اختبار وتقدير عدد كريات الدم البيضاء : يحتوي الحليب الطبيعي على كريات الدم البيضاء وان زيادة عددها في المليلتر الواحد من الحليب عن الحد الطبيعي يدل على ان الحليب ينتج من ماشية مصابة بمرض التهاب الضرع ، تؤخذ الكميات الاولى من الحليب النازل من الضرع ويعمل شريحة من الحليب باستخدام طريقة العد المباشر بالميكروسكوب وذلك بنشر (0,01 مل) من الحليب بعد مزجه جيداً على شريحة بمساحة (1 سم^3) . **وهذا الاختبار كما يلي :**

1- اخلط العينة جيدا حتى تكون متماثلة .

2- انقل (0.01) مل من الحليب الى شريحة زجاجية نظيفة بواسطة ماصة بريد معقمة او الابرة القياسية ذات العقدة .

3- توضع الشريحة على ورقة مربعات وبالاستعانة بالإبرة بعد تعقيمها في اللهب ثم انشر الحليب على سطح 1 سم^3 بالضبط .

4- جفف الغشاء على السطح الساخن مع مراعات على ان لا تزيد درجة الحرارة عن 40 م لكي لا يتشقق الغشاء .

5- اغمس الشريحة بالزايلول Xylol لمدة دقيقة واحدة لإزالة الدهن ثم اتركها لتجف .

6- اغمس الشريحة بالكحول 90 - 95 % لمدة دقيقتين وذلك لتثبيت الغشاء على الشريحة ، بدون تجفيف ثم اصبغ الشريحة بصبغة ازرق المثيلين واتركها عدة ثوان .

7- اغسل الشريحة بالماء الهادئ وبلطف حتى يكون الغشاء ذو لون ازرق فاتح اما اذا كانت الصبغة غامقة فيمكن غسل الشريحة بالكحول عدة مرات .

8- اترك الشريحة لتجف جيدا في الهواء .

9- افحص الشريحة بالميكروسكوب باستعمال العدسة الزيتية بحيث يكون معامل الميكروسكوب معلوم، ثم عد كريات الدم البيضاء في ثلاثون مجال ميكروسكوبي تؤخذ عشوائيا على سطح الغشاء.

10- احسب متوسط العدد بالنسبة للحقل الميكروسكوبي الواحد ثم احسب عدد الخلايا في مليلتر واحد من الحليب = المتوسط x معامل الميكروسكوب .

4- اختبار بروم ثايمول بلو : يؤخذ (5) مل من الحليب بعد مزجه جيدا او من الضرع مباشرة في انبوبة اختبار نظيفة ثم يضاف لها (1) مل من دليل B.T.B ويخلط جيداً ، ان لون الحليب العادي يكون اخضر مصفر او اخضر بينما الحليب الحامضي يكون لونه اصفر والحليب غير الطبيعي أي حليب من ماشية مصابة بمرض التهاب الضرع يكون لونه اخضر غامق ، حيث يتغير لون الدليل بتغير pH او يميل الى اللون الازرق وان هذا الاختبار يعتمد على pH .

فحوصات ثباتية الحليب

اولاً – اختبار التجبن بالغليان :

تلجأ كثير من مصانع الالبان لهذا الاختبار كأساس لرفض أو قبول الحليب بالإضافة الى الاختبارات الحسية الخاصة بالطعم والرائحة ، حيث من المعروف ان الحليب يتجبن بالغليان اذا كانت حموضته حوالي 0.25 % أو اكثر ، ولكن تختلف درجة الحموضة التي عندها يتجبن الحليب بالغليان اختلافا كبيراً ويتوقف ذلك على تركيب الاملاح الموجودة في الحليب **ويجرى هذا الاختبار كما يلي** :
يوضع حوالي (5) مل من الحليب في انبوبة اختبار وتغمر في حمام مائي يغلي لمدة 5 دقائق ثم يلاحظ الجدار الداخلي للإنبوبة فاذا وجدت قطع من الكازين المتجبن على جدار الانبوبة الداخلي دل ذلك على ان الاختبار موجب ويرفض الحليب تبعاً لذلك .

وعادة يتجبن الحليب بالغليان في احدى الحالات التالية :
1- اذا وصلت حموضة الحليب الى 0.25 % او اكثر .
2- اذا وجد بالحليب انواع من البكتريا التي تفرز انزيما مشابها لإنزيم الرنين الذي يستخدم في تجبين الحليب عند صناعة الجبن ، وفي هذه الحالة يتجبن الحليب بالغليان رغم ان حموضته تكون عادية حوالي (0.16 %) .
3- اذا كان الحليب ناتجاً بعد الولادة مباشرة (السرسوب) .
4- عدم توازن الاملاح في الحليب وذلك لزيادة نسبة الكالسيوم و المغنيسيوم (الموجبة الشحنة) الى نسبة املاح السترات والفوسفات (السالبة الشحنة) .

ثانياً - اختبار التجبن بالكحول :

استخدام هذا الاختبار سنة 1890 كمقياس لحموضة الحليب ويعتبر الالبومين والاملاح في الحليب من العوامل الهامة جداً في هذا الاختبار ، لذلك فان هذا الاختبار قد لا يعتمد عليه كثيراً في تحديد درجة جودة الحليب عند الاستلام في مصانع الالبان **ويجري هذا الاختبار كما يلي :**

يضاف الى (2) مل من الحليب في أنبوبة اختبار حجماً مماثلاً من كحول اثيلي تركيزه (68 %) أي كحول طبي وترج الانبوبة جيداً بقلبها عدة مرات ثم يلاحظ تكون قطع متجبنة من الكازين على جدار الانبوبة من عدمه ، ويعتبر الاختبار موجباً في حالة ظهور هذه القطع المتخثرة على جدار الانبوبة وفي هذه الحالة يجب رفض أستلام الحليب ، ويتجبن الحليب بالكحول في أحدى الحالات الاربعة التي سبق ذكرها في التجبن بالغليان وان الحليب الذي يتجبن بالكحول لا يتحمل عمليتي التكثيف والتعقيم اذ يتجبن أثنائهما .

ثالثاً - اختبار التعكير : يهدف لتحديد ما إذا كان الحليب قد خضع لمعالجة حرارية عالية أم لا **ويجري هذا الاختبار** : بخلط 20 مل من الحليب مع 4 غم من كبريتات الأمونيوم في دورق، ثم يُرج حتى تترسب البروتينات ، ويترك لـ 5 دقائق ، بعدها يتم ترشيح المحتويات باستخدام ورق ترشيح رقم 12 ، يُؤخذ 5 مل من الراشح ويُوضع في أنبوبة اختبار ، ثم يتم تسخينها في ماء مغلي لمدة 5 دقائق ، ثم تبريدها في ماء بارد. يتم اختبار التعكير باستخدام مصباح كهربائي (وللمقارنة يحضر بلانك من أنبوبة يضاف لها 20 مل من الحليب وتغلى في حمام مائي لمدة 20 دقيقة حتى يصل الحليب درجة الغليان ثم تبرد الانبوبة كما سبق ذكره) ، **إذا ظهر التعكير في الحليب المعقم** فهذا يدل على نجاح الاختبار ، ومعناه وجود بروتينات الشرش مع الراشح والذي ترسب نتيجة المعاملة الحرارية الأخيرة ، **أما إذا لم يظهر التعكير** فهذا يشير إلى أن الحليب قد عولج بحرارة عالية مسبقًا حيث لا توجد بروتينات شرش لتترسب مجددًا .