

Dept. of Meat Hygiene,  
Fac. Vet. Med., Alex. Univ.

## **MICROBIAL ASPECTS OF LAMB MEAT TREATED WITH LACTIC AND ACETIC ACIDS**

(With 8 Tables)

By

***M.M. EBRAHEAM MOUSA and A.A. BKHEET\****

\*Animal Health Res. Inst. Damanhour Bransh

(Received at 20/4/2009)

**الوجهة الميكروبية للحوم الضأن المعاملة بحمضى اللاكتيك والخليك**

**محمد محمد إبراهيم موسى ، احمد أبو المجد بخيت**

أجريت هذه الدراسة لتقييم قدرة الأحماض العضوية على تحسين جودة لحوم الضان الطازجة نوعيا عند 24 و 48 و 72 ساعة و 7 و 14 يوم بتطبيق عملية التبريد بعد معالجتها بالأحماض العضوية (حمض اللاكتيك 1% و 2% حمض الخليك 1% و 2%) نتج عن هذه المعالجة لعدد 25 عينة قيد الدراسة والتي أخذت منها بعض الأجزاء ككاشف تأثيرات معنوية ضد البكتريا كان لها الأثر الأكبر في أطاله عمر وصلاحية اللحوم المبردة - أظهر قياس درجة الحموضة ارتفاعات بلغت أقصاها عند التبريد لمدة 14.7 يوم بعد المعاملة - أحدثت المعاملة بالأحماض العضوية تأثيرات دراماتيكية على المحتوى الميكروبى للحوم الضان المعاملة مقارنة بالعينات التي تركت ككاشف. حيث أوضح العد الكلى للمكروبات الهوائية انخفاضا معنويا تناسب طرديا مع فترة التبريد حيث بلغ الاختزال في متوسطات العد البكتيرى ي أقصاه عند اليوم السابع للتبريد ووصلت 70.87 , 64.9 , 71 , و60.45% بالمعاملة بـ 1% و 2% حمض لاكتيك و 1% و 2% وحمض الخليك على التوالي كذلك وصل الاختزال في حالة التبريد تحت الصفر 62.37 و 62.53 و 5796 و 57.38% في ذات المعاملات على التوالي كذلك بالنسبة للعد الكلى للميكروبات المحية للبرودة فقد بلغ الاختزال بينهما أقصاه عند اليوم السابع حيث كانت 49.54 و 43.33 و 53.36 و 38, 04% لذات المعاملات بالتوالي. كذلك الاختزال للمعاملة عند التبريد تحت الصفر بلغت 26.41 و 15 و 26.71 و 15.88% أحدثت المعاملة بالأحماض خفض في المحتوى للعد الكلى للميكروبات القولونية بلغ أقصاه في اليوم السابع وبلغت نسبة الاختزال فيها 68.06 و 65.24 و 71.81 و 64.77% على التوالي - كانت نسبة الاختزال في التبريد تحت الصفر 35.06 و 5.72 و 55.12 و 48.28% - أدت المعاملات لاختزال العد البكتيرى للسالمونيلا حيث كانت في العينات الطازجة  $4.8 \times 10 + 3.2 \times 10^2$  ولكن بعد المعاملة وصلت إلى الصفر عند اليوم السابع وكذلك عند التجميد - انخفض بدرجة كبيرة بعد المعاملة ووصلت نسبة الاختزال فى المتوسطات في اليوم السابع إلى 42.86 و 60.53 و 59.46 و 33.33% بينما عند التجميد وصل الاختزال إلى 7.14 و 64.91 و 55.41 و 60% على التوالي - العد الكلى للفطريات والخمائر أظهر انخفاضا شديدا بعد المعاملة بالأحماض حيث وصلت بعد 72 ساعة إلى حدود دنيا وبلغ عندها نسبة الاختزال 56.74 و 52.07 و 52.94 و 39.02% بينما في

مرحلة التجميد حدث ارتفاع بسيط في المتوسطات بالرغم من انخفاض نسبة الاختزال عما كان متوقع في هذه المرحلة - كان للمعاملة بالأحماض العضوية أثرا معنويا على البكتريا المحللة للبروتين حيث وصلت نسبة الاختزال في العد البكتريا لها 13.49 و 42.26 و 22.99 و 38.65% عند المعاملة بحمض اللاكتيك 1% و 2% و حمض الخليك 1% و 2% على التوالي أما البكتريا المحللة للدهون فكانت نسبة الاختزال في العدد 32.86 و 59.87 و 31.86 و 60.88% في ذات المعاملات على التوالي تم تصنيف العصيات القولونية المعزولة عبر مراحل الدراسة واتضح التأثير بالمعاملة الحمضية حيث 2% أحدثت انخفاضا اكثر من 1% دون تأثير المواصفات الطبيعية نفس النتيجة لوحظت في السالمونيلا الملهية والمكورات العنقودية الذهبية والفطريات المختلفة هذا وقد تم مناقشة الأهمية الصحية والاقتصادية للميكروبات المعزولة وشرح أهمية استخدام الأحماض العضوية (الخليك واللاكتيك) في خفضها واثار ذلك على الصحة العامة

## SUMMARY

The present study was carried out to assess the ability of organic acids to improve the quality of fresh lamb meat chilled at 7 °C for 24, 48, 72 hours, 7 & 14 day and freezed at -18 °C after treatment with organic acids (lactic and acetic 1&2%) which resulted in significant improvement of nearly all parameters over the control of 25 samples from different lamb carcasses. Such treatments exerted a significant antibacterial effect which is of public health importance and prolong the shelf life of carcasses on trial. The pH value revealed highest record at 14 day chilling. The organic acids revealed dramatic effects as antimicrobial agent. The total aerobic bacterial count revealed reciprocal reduction percent 70.87, 64.09, 71.07 and 60.54% in chilling for 7 day after treatment with 1&2% lactic and acetic acid respectively. The reciprocal reduction percents were 62.37 to 62.83% and 57.96 and 57.38% in 1& 2% lactic and acetic acids. On applying the psychrophilic bacteria the reciprocal reduction percent means at the 7<sup>th</sup> day of chilling were 49.54, 73.33, 53.36 and 38.04% respectively with same acids treatments. On apply freezing for one month the reduction values reciprocal to the means were 29.41, 15.00, 26.71 and 15.88% respectively. The lowest records of total coliform counts were shown on the 7<sup>th</sup> day chilling. The reciprocal reduction percent of means were 73.65, 65.04, 77.84 and 68.59. After month of freezing the corresponding reductions were 53.51, 45.51, 63.72 and 45% with acid treatments respectively. The reduction percent of total Enterobacteriaceae counts of the means were 68.06, 62.24, 71.81 and 64.77% after 7 days of chilling lamb meat post acid treatment. Salmonella count revealed means zero after 7, 14 day of chilling lamb

meat; also, means were zero after freezing for month post acids treatments. *Staphylococcus aureus* count: revealed highest reduction at the 7<sup>th</sup> day post chilling and the reciprocal reductions were 42.86, 60.53, 59.46 and 33.33% respectively. Total mould and yeast count showed reduction percents of 56.74, 52.07, 52.94 and 39.02% after 72 hour of treated chilled lamb meat. After freezing, reduction percents were 26.97, 29.75, 16.99% in lactic acid 1, 2% and acetic acid 1% where count increased in acetic acid 2%. The means of Proteolytic bacterial count reduced to 13.49, 42.26, 22.99 and 38.65% in 1, 2% lactic acid and 1 & 2% acetic acid treated lamb carcasses. The lipolytic bacterial count reductions were 32.86, 59.37, 31.86 and 60.88% respectively. Coliforms were detected in lower incidence in the treated sample including *E.coli*, *Enterobacter* spp, *Khlebsiella* spp., *Edwardesiella tarda* and *Serratia rubidea*. The acid treatment lower the occurrence of coliform where 2% concentration was more efficient than 1% The same results were detected in identified *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis* in addition to the identified moulds

**Key words:**

## INTRODUCTION

Meat is an important vehicle for food borne diseases such as salmonellosis and campylo bacteriosis. Many other organisms act as toxin producers and spoilage formers. Organic acids including acetic, fumaric, propionic, and lactic acids are added to foods to prevent or delay the growth of pathogenic or spoilage bacteria. The inhibitory effects of acids on microbial growth has long been used to preserve foods from spoilage (Podolak, *et al.*, 1996).

The external contamination of meat constitute a constant problem in meat developing countries where the abattoirs itself have a large numbers of potential sources of contamination (Davis *et al.*, 2000). Organic acids as antimicrobial agents for surface treatment of fresh meat have been used to prevent the growth bacteria during chill storage (ICMSF, 1982). Similarly in Europe it is considered a harmless constituent (leuck, 1980). This widely knowledge about absence of acute and chronic toxicity has led to the choice of lactic acid as decontaminating agent in food industry. Data are available on the potency of lactic acid spray as carcass decontaminant for lamb and beef (Fatema-Ali, 2001) Lactic and acetic acids are generally recognized as safe food additives. Both acids are based as apart of meat

decontamination procedures, where they are more effective than many other technique and components (Gorman, *et al.*, 1997). Numerous studies have reported on the effects of organic acids on bacterial populations as well as some pathogenic organisms (Dickson and Anderson, 1991, Hardin, *et al.*, 1995 and Castillo, *et al.*, 2001).

The object of the current research was to evaluate the effectiveness of acetic and lactic acids on microbial loads and characteristics of treated lamb carcasses across the chilling and freezing time.

## **MATERIALS and METHODS**

- **Collection of samples:** From a total of 25 fresh representative lamb carcasses, randomly collected from different butchers shops at Behaira province, right fore limb and left hind limb were taken and packed in insulating containers and transferred as soon as possible to the laboratory for microbiological examination
- **Treatment of samples:** The fresh samples without treatment were taken as control. Samples were sprayed with aqueous solutions of lactic acid 1 and 2%, others were sprayed with acetic acid 1 and 2% and all samples were hanged for ten minutes to dry. Samples were put in chilling at 7 °C for 24, 48, 72 hours, 7 and 14 days and frozen at -18 °C for one month.
- Preparation of samples were done according to ICMSF (1982)
- Measurement of PH was determined by using Digital pH. Meter
- **Microbial Examination**
- Determination of Total aerobic bacterial count according to ICMSF (1982)
- Determination of Psychrophilic bacterial count according to ICMSF (1982)
- Determinatio of Total Enterobacteriaceae count according to ICMSF (1978).
- Estimation of Coliform according to ICMSF (1982)
- Detection of *Salmonellae*: was carried according to Andrews and AOAC (1984)
- Biochemical identification of Enterobacteriaceae and *Salmonellae* were carried according to Cruickshank, *et al.* (1975) and ICMSF (1982)
- Determination of Staphylococci were done according to Cruickshank, *et al.* (1975) and ICMSF (1978)
- Biochemical identification of Staphylococcus aureus were carried according to (APHA, 1984)
- Total mould and yeast count were carried according to Bailey and Scott, (1978)
- Identification of mould was carried according to Raper and Fennel (1965) and Samson, *et al.* (1995) for genes Aspergillus and Penicillium, while other

genera were identified according to Zycha, *et al.* (1969), Barnett and Hanter (1972) and Samson, *et al.* (1995)

- Identification of yeasts was carried according to Loder (1967)

## RESULTS

**Table 1:** Means of pH of the examined treated lamb carcasses stored at 7 °C

Treatments Duration	Treatment ( means ± standard errors )			
	Lactic acid 1 %	Lactic acid 2 %	Acetic acid 1 %	Acetic acid 2 %
24 hr chilling	3.26 ± 0.05 a	3.06 ± 0.02 b	3.36 ± 0.02 a	3.06 ± 0.02 b
48 hr chilling	0.50 ± 0.03 ab	3.26 ± 0.02 c	3.58 ± 0.02 a	3.32 ± 0.04 ab
72 hr chilling	4.06 ± 0.02 a	3.54 ± 0.02 b	4.14 ± 0.05 a	3.064 ± 0.07 b
7days chilling	5.46 ± 0.05 a	4.86 ± 0.22 c	5.52 ± 0.09 a	5.10 ± 0.05 b
14 days chilling	6.08 ± 0.04 a	5.60 ± 0.08 b	6.10 ± 0.06 a	5.72 ± 0.4 b

Means in the same row followed by a similar letter do not differ significantly at p = 0.05. PH of control samples = 5.60 ± 0.03.

**Table 7:** Incidence of Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus and Mould & yeasts isolated from examined samples of treated and untreated lamb carcasses (n=25)<sup>(3)</sup>

Isolates	Control		Lactic A 1%		Lactic A 2%		Acetic A 1%		Acetic A 2%	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Edwardsiella tarda</i>	0	0	0	0	0	0	1	4	0	0
Enterobacter aerogens	3	12	1	4	0	0	0	0	1	4
Enterob.agglomerance	0	0	1	4	0	0	1	4	0	0
<i>E. coli</i>	5	20	5	20	1	4	2	8	0	0
<i>Khlebsiella oxytoca</i>	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0
<i>Khleb.Pumonea. ozaene</i>	0	0	0	0	0	0	1	4	1	4
<i>Serratea rubidea</i>	1	4	0	0	0	0	1	4	0	0
<i>Salmonella enteritidis</i>	2	8	8	32	3	12	5	20	3	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	20	23	92	14	68	22	88	16	64
Isolated Moulds										
<i>Aspergillus flavus</i>	0	0	0	0	1	4	1	4	1	4
<i>Aspergillus niger</i>	0	0	1	4	0	0	1	4	0	0
<i>Fusarium</i>	1	4	1	4	0	0	0	0	0	0

<i>Mucor spp.</i>	2	8	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium</i>	2	8	2	8	3	12	6	24	2	8

## DISCUSSION

The present study aimed to assess the ability of organic acids to improve the quality of fresh lamb meat chilled at 7 °C for 24,48,72 hours, 7, 14 day and freezed at -18 °C for one month after treatment with 1,2% of both acetic and lactic acids. The gained results could be summarized as follow. pH value as illustrated in Table 1 revealed decline in pH values as  $3.06 \pm 0.05$  and  $3.06 \pm 0.02$  in treated samples with 2% acetic and lactic acids. after 24 hours of chilling, gradual increase was detected with time of chilling reached its maximum at 14 day of chilling and recording  $6.08 \pm 0.04$  and  $5.60 \pm 0.08$  in 1,2% lactic acid. Similar results were gained in acetic acid. These results agreed with those recorded by Kim (1988) who cited significant decrease in pH values of pork meat sprayed by acetic acid and stored at 4 °C for 12-15 day.

**Total aerobic bacterial count:** Table (2) showed a mean bacterial count value of the examined control lamb sample of  $3.74 \times 10^3 \pm 3.88 \times 10^2$ . After treatment with lactic acid 1% and acetic acid 1% it were  $2.19 \times 10^3 \pm 2.25 \times 10^2$  and  $2.06 \times 10^3 \pm 2.44 \times 10^2$ . Using 2% lactic acid and acetic acid 2% the mean values declined to  $8.8 \times 10^2 \pm 1 \times 10^2$  and  $8.56 \times 10^2 \pm 1.08 \times 10^2$  c.fu /g. Successive decline in mean values of aerobic bacterial count with time of chilling after treatment reached in the 7<sup>th</sup> day to  $6.38 \times 10^2 \pm 0.53 \times 10^2$  and  $5.53 \times 10^2 \pm 0.51 \times 10^2$  and  $5.96 \times 10^2 \pm 0.51 \times 10^2$  and  $5.13 \times 10^2 \pm 0.5 \times 10^2$  cfu /g in lactic acid 1&2 % and acetic acid 1 and 2% respectively. While after 14day of chilling post treatment, slight increase was detected. The reduction percent of total aerobic bacterial count as illustrated in Table 3 revealed that, the best reduction percentages were 70.87, 64.09, 71.07 and 60.54% at 7<sup>th</sup> day chilling of lamb meat samples with lactic acid 1%,2% and acetic acid respectively this could be attributed to the destructive effect of these acids on different microbes .in addition to the longer acidic phase which started after bleeding of animal. Nearly similar results were reported by Anderson and Marshall (1989), Mendonca, *et al.* (1989) Gauthier and Jacquet (1991), Anderson *et al.* (1992), Zerby *et al.* (1999) and Mahmoud (2004) all have agreed with reduction in total aerobic

count. The freezing of treated samples for one month revealed the reduction percent varied from 62.37 to 62.53 57.96 and 57.38% respectively with using 1& 2% lactic acid and 1&2% acetic acid. That reduction percent could be attributed to the acid treatment effect, in addition to the effect of freezing on different microbes. Nearly similar results were reported by Arjyapitipum *et al.* (1999).

**Total psychrophilic bacterial count:** Table 2 showed that, the mean value of total psychrophilic bacterial count (cfu/g) was  $2.06 \times 10^3 \pm 2.85 \times 10^2$ . Treatment with lactic acid 1% & 2% and acetic acid 1% & 2 % revealed means as  $1.53 \times 10^3 \pm 1.67 \times 10^2$ ,  $1.2 \times 10^3 \pm 1.5 \times 10^2$  and  $1.46 \times 10^3 \pm 1.82 \times 10^2$  and  $1.02 \times 10^3 \pm 1.21 \times 10^2$  cfu/g respectively. The mean counts gradually decreased as after 7days of chilling reached  $7.72 \times 10^2 \pm 0.65 \times 10^2$ ,  $6.8 \times 10^2 \pm 0.66 \times 10^2$  and  $6.81 \times 10^2 \pm 0.72 \times 10^2$  and  $6.32 \times 10^2 \pm 0.64 \times 10^2$  cfu/g respectively, more decline was recorded after 14 day of chilling of meat samples as shown in Table 2. That significant decrease of total psychrophilic count at  $p = 0.05$  agreed with those reported by Andersen and Marchall (1989), Dorsa *et al.* (1998) and Lee *et al.* (1998).

Result in Table 4 denote that the reduction percent of psychrophilic count showed the best reduction percent at the 7<sup>th</sup> day of chilling of treated lamb meat samples as 49.54, 43.33, 53.36 and 38.04 %. Nearly similar result were reported by Anderson and Marshall (1989), Dickson, (1991, and Ariyapitipum *et al.* (1999).

**Total Coliform count** Table 4 Showed excessive decline with the time of storage at chilling after treatment with 1%, 2% lactic and acetic acids where in control the mean value was  $1.53 \times 10^3 \pm 1.82 \times 10^2$  cfu/g. After treatment means declined to  $9.83 \times 10^2 \pm 1.31 \times 10^2$ ,  $6.46 \times 10^2 \pm 0.99 \times 10^2$ ,  $1.02 \times 10^2 \pm 1.41 \times 10^2$  and  $4.6 \times 10^2 \pm 0.84 \times 10^2$  cfu/g respectively after 14 day of chilling post treated it reached to  $4.63 \times 10^2 \pm 0.48 \times 10^2$ ,  $3.93 \times 10^2 \pm 0.43 \times 10^2$  and  $4.34 \times 10^2 \pm 0.43 \times 10^2$ ,  $3.46 \times 10^2 \pm 0.43 \times 10^2$  cfu/g. Nearly similar results were recorded by Anderson and Marshall (1989), Castillo, *et al.* (1998), Dorsa *et al.* (1998) and Zerby *et al.* (1999)

The reduction percent as illustrated in Table 5 denoted that, at 7<sup>th</sup> day of chilling the reduction rat of the treated samples reached 73.65, 69.04, 77.84 and 68.59%. after application of lactic acid and acetic acid 1%&2% respectively, while in freezing the reduction percent was 53.51, 45.51, 63.72 and 45.00%, respectively. Similar results were recorded by Anderson and Marshall (1989), Cutter and Siragusa (1994), Cabedo *et al.* (1996) and Ramirez, *et al.* (2001).

**Total Enterobacteriaceae count:** Table 4 revealed that, the mean value of control non treated sample was  $2 \times 10^3 \pm 2.55 \times 10^3$  after treatment with 1%, 2% lactic acid acetic acid the reduction in mean values gradually increase till 7<sup>th</sup> day reached  $3.69 \times 10^2 \pm 0.43 \times 10^2$ ,  $3.25 \times 10^2 \pm 0.4 \times 10^2$ ,  $3.58 \times 10^2 \pm 0.4 \times 10^2$  and  $2.97 \times 10^2 \pm 0.38 \times 10^2$ . The higher concentration 2% acetic acid showed significantly ( $p < 0.05$ ) lower count compared to other acid treatment. Nearly similar results were recorded by Anderson *et al.* (1992) and Ariyapitipun *et al.* (1999). In the 7<sup>th</sup> day of chilling. The highest reduction percent 68.06, 65.24, 71.81, and 64.77% were recorded as in Table 5. Similar results reported by Mendonca, *et al.* (1989) and Anderson *et al.* (1992)

Table 7 revealed that, the isolated Enterobacteriaceae from the examined lamb carcasses at variable percentages were *Edwardsiella tarda*, *Enterobacter arerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Escherichia coli.*, *Klebsiella oxytocea*, *Klebsiella pneurnoniae sub.ozaene* and *Serratia rubide* in the control and treated samples as well as during. Some isolates were found in control samples as well as in treated one during chilling and freezing.

The presence of coliforms in the food pointed at the unsanitary condition of slaughter and processing plants as they are indicative of fecal pollution either from workers, lamb or all equipment kept in touch with them. Efforts should be directed towards thorough cleaning and sanitizing all equipment come in contact with lamb carcasses and workers, thorough cleaning of lamb carcasses and hygienic measures should be adopted during different stages.

**Salmonella count:** Table 6 shows the mean count of 25 examined lamb carcasses for salmonella as control was  $4.8 \times 10^2 \pm 3.2 \times 10^2$  After treatment with lactic acid 1% and 2%, ctic acid 1& 2% the means of salmonella count gradually decreased till reach  $0.6 \times 10^2 \pm 0.00$ ,  $0.2 \times 10^2 \pm 0.00$ ,  $0.6 \times 10^2 \pm 0.2 \times 10^2$  and  $0.4 \times 10^2 \pm 0.00$  respectively. After 72 hour of treatment reduction rate became 76.92, 83.33, 78.57 and 69.23%. Nearly similar results were reported by Anderson and Marchall, (1990), Anderson *et al.* (1992), Conner, *et al.* (1997) and Zerby *et al.* (1998)

Table 7 denote the identified *Salmonella enteritidis* isolated from the examined lamb carcasses incidentally appeared with its percentage as 2 (8%) in the control, while in lactic acid (1% and 2%) treated samples, the percentages were 8 (32%) and 3 (12%),



respectively. In acetic acid (1% and 2%) treated samples it was shown as 5 (20%) and 3 (12%).

**Salmonella** remains one of the most common causes of bacterial food poisoning and associated with the consumption of meat. These organisms colonize the alimentary tract and excreted in the feces by infected animals thereby the human food chain. *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* are numerically the predominant serotypes affecting meat causing human infection through consumption of meat.

**Staphylococcus aureus count:** Table 6 shows a mean values of  $2.44 \pm 0.67 \times 10^2$  in control examined. After treating samples with 1% & 2% lactic acid and acetic acid means were gradually decreased with continuous chilling till 7<sup>th</sup> day reached to  $0.8 \times 10^2 \pm 0.22 \times 10^2$ ,  $0.45 \times 10^2 \pm 0.19 \times 10^2$ ,  $0.6 \times 10^2 \pm 0.22 \times 10^2$  and  $0.50 \times 10^2 \pm 0.3 \times 10^2$  cfu/g, respectively. That highest reduction forms 42.86, 60.86, 59.46, 33.33% as well as samples treated with 1% & 2% lactic acid and 1% & 2% acetic acid after freezing the treated samples the reduction percents as 7.14, 64.91, 55.41 and 60% respectively Table(3) Nearly similar results were reported by Mahmoud (2004)

**Staphylococcus aureus:** Could be isolated from the same examined samples as 23 (92%) lactic acid 1%, 14 (68%) lactic acid 2%, 22 (88%). acetic acid 1%, and 16 (64%) acetic acid 2%.

**Staphylococci** are widespread in nature; they are members of the normal bacterial flora of the skin and mucous membranes. *Staphylococcus aureus* was frequently involved in case of mastitis and suppurative infections. Hence contamination of food with the organism mostly occurs due to sanitary neglected precautions during production or processing. When conditions are favorable for growth and multiplication of the organism in food, the enterotoxins are produced and consequently the food is likely to be dangerous. Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* has been implicated in several food poisoning outbreaks from consumption of lamb carcasses and its products (Beckers, 1982).

**Total mould and yeast count:** Table 6 revealed a mean of  $2.93 \times 10^2 \pm 0.3 \times 10^2$  cfu/g, in control sample. When lactic acid 1% & 2%, acetic acid 1%, 2% were applied the mean count of mould and yeasts continued to decline with time of chilling reached to  $0.77 \times 10^2 \pm 0.08 \times 10^2$ ,  $0.58 \times 10^2 \pm 0.11 \times 10^2$ ,  $0.72 \times 10^2 \pm 0.07 \times 10^2$  and  $0.50 \times 10^2 \pm 0.06 \times 10^2$  respectively after 72 hour of chilling, the reduction percent of yeasts & mould as in Table 5 recorded as 56.74, 52.07, 52.94 and 39.02%

respectively. Nearly similar results were recorded by Samelies *et al.* (2002). A slight rising of mean values was recorded after 7 and 14 day of chilling. That could be attributed to optimal pH of mould, yeast growth as recorded by Samelies *et al.* (2002) who mentioned that acids containing washings were selective for growth of yeast. Slight decline recorded after freezing for one month. This was attributed to that mould and yeast grow at chilling and freezing as reported by Samelies *et al.* (2002). Table 7 also reveals that *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium*, *Mucor* and *Penicillium* could be isolated from examined treated lamb samples at variable percentages. From the public health point of view, species of *Aspergillus* may induce pulmonary aspergillosis and allergy, and skin infection (Al-Doory, 1980 and Washington, 1981) for meat handlers. *Penicillium* spp. may induce pulmonary infection (Washington, 1981) *Mucor* and *Rhizopus* spp. are prevalent in food and may induce infection in lungs, gastrointestinal tract and skin (Al-Doory, 1980 and Washington, 1981).

**Proteolytic and lipolytic bacterial counts:** Both of proteolytic and lipolytic bacterial count when applied lactic acid 1 and 2%, acetic acid 1&2% revealed reduction in their mean count. The highest reduction percent was apparently with using lactic acid 2% as 42.26% and 59.87% for proteolytic and lipolytic bacteria, while that of acetic acid 2% was 38.65 and 60.88% respectively. These result agreed with that reported by Gill and Newton (1982) Anderson *et al.* (1988) Katoh *et al.* (1991) and Hassan (2001)

The isolated strains of economic importance as they are food spoilage microorganisms beside they are of public health hazard, especially *E. coli* which causes acute infection to adult. It also causes infections of the urinary tract (Cruickshank, *et al.*, 1975).

## REFERENCES

- Al-Doory, Y. (1980): Laboratory Procedures in Clinical Microbiology. Springer Verlag, New York, Inc.
- Anderson, M.E.H.; Huff, E.; Naumann, H.D. and Marshall, R.T. (1988): Counts of six types of bacteria on lamb carcasses dipped or sprayed with acetic acid at 25 °C or 55 °C and stored vacuum packaged at 0 °C. J. Food Prot., 51: 874-877.

- Anderson, M.E.H.; Marshall, R.T.; Stringer, W.C. and Naumann, H.D. (1977):* Combined and individual effects of washing and sanitizing on bacterial counts of meat - a model system. *J. Food Prot.*, 40; 668-670.
- Anderson, M.E. and Marshall, R.T. (1989):* Interaction of concentration and temperature of acetic acid solution on reduction of various species of microorganisms on beef surfaces. *J. Food Prot.*, 52: 312-315.
- Anderson, M.E. and Marshall, R.T. (1990):* Reducing microbial population on beef tissues concentration and temperature of lactic acid. *J. Food Safety*, 10: 181-190.
- Anderson, M.E.; Marshall, R.T. and Dickson, J.S. (1992):* Efficacies of acetic lactic and two mixed acids in reducing number of bacteria on surfaces of lean meat. *J. Food Safety* 12(2): 139-147.
- Andrews, W.F. and AOAC (1984):* Isolation and identification of Salmonella species. In: Food and Drug Administration, Division of Microbiology Center for Food Safety. Bacteriological Analytical Manual, 6<sup>th</sup> edition. Published by Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, 22201-3301 USA. Chapter 7.
- Anonymous (1982):* Rules and regulations. *Fed. Regist.* 47:184
- APHA (American Public Health Association) (1984):* Compendium of Methods for Micro biological Examination of Foods. 2<sup>o</sup>d Ed., American Public Health Association, Washington, DC.
- Ariyapitipun, T.; Mustapha, A. and Larke, D. (1999):* Microbial shelf-life determination of vacuum-packaged fresh treated with polylactic acid, lactic acid and nisin solution. *J. Food Prot.*, 62: 913.
- Bailey, W.R. and Scott, E.G. (1978):* Diagnostic microbiology, A Textbook for the Isolation and
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1972):* Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 2<sup>nd</sup> ed., Burgess Publishing Company.
- Beckers, H.J. (1982):* Incidence of foodborne disease in the Netherlands and annual summary 1979. *J. Food Prot.*, 45(14): 13-36.
- Cabedo, L.; Sofos, J.N. and Smith, G.C. (1996):* Removal of bacteria from beef tissues by spray washing after different times of exposure to fecal material

- . J. Food Prot. 59(12)1284-1287.
- Castillo, A.L.; Lucia, M.; Goodson, K.J.; Savell, J.W. and Acuff, G.R. (1998):* Comparison of water wash, trimming, and combined hot water and lactic acid treatments for reducing bacteria of fecal origin on beef carcasses. J. Food Prot., 61:823-828.
- Castillo, A.L.; Lucia, M.; Merado, I. and Acuff, G.R. (2001):* In-plant evaluation of a lactic acid treatment for reduction of bacteria on chilled beef carcasses J. food prot. 64 (5): 738-740.
- Conner, D.E.; Kotrola, J.S.; Mikel, W.B. and Tamblyn, K.C. (1997):* Effect of acetic/lactic acid treatment applied to beef trim on populations of Escherichia coli 0157:H7 and Listeria monocytogenes in ground beef. Journal of Food Protection, 60(12), 1560-1563.
- Cruickshank, R.; Duoud, J. R.; Marmion, B. D. and Swain, R. H. A. (1970-1975):** Medical Microbiology. The practice of microbiology. VIII 11<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> Ed., Churchill Livingstone Edinburgh.
- Cutter, C.N. and Siragusa, G.R. (1994):** Efficacy of organic acids against Escherichia coli 0157:H7 attached to beef carcass tissue using pilot scale model carcass washer. J. Food Protect. 57: 97-103.
- Davis, M.H.; Hadley, M.J.; Stosic, P.J.; Webster, S.D. (2000):** Production of factors that influence the hygienic condition of finished beef cattle J. Vet. Rec. 14, 179
- Dickson, J. S. (1991):** Control of Salmonella rypthimurium, Listeria monocytogenes and Escherichia coli 0157:H7 on beef in a model spray chilling system. J. Food Sci. 56:191-193.
- Dickson, J. S. and Anderson, M. E. (1991):** Control of Salmonella on beef tissue surfaces in a model system by pre- and post-evisceration washing and sanitizing, <sup>(15)</sup> and without spray chilling. J. Food Protect. 54, 514-515.
- Dickens, J. A.; Lyon, B. G.; Whittemore, A. D. and Lyon, C. E. (1994):** The effect of an acetic acid dip on carcass appearance, microbiological quality, and cooked breast meat texture and flavor. Poultry Science 73: 576-581.
- Dorsa, W. J.; Cutter, C. N.; Siragusa, G. (14) (1998):** Long-term effect of alkaline, organic acid, or hot water washes on the

microbial profile of refrigerated beef contaminated with bacteria pathogens after washing. *Journal of Food Protection* 61 (3) 300 -3 ) 06

**Fatema-Ali ,H.(2001)** Evaluation of the sanitary measures adopted in a municipality abattoir

Ph.D. Vet.Sci., Fac.Vet.Med. Beni Suef, Cairo Univ.

**Gauthier, M ., and jacquet, B. ( 1991 )** : Decontamination des viandes triées de porc destinées à la transformation par les acides organiques. *Viandes prod. Carnes.* 12:131 -135 .

**Gill , c.o. and Newton , K .G. (1982)** : Effect of lactic acid concentration on growth on meat of gram – negative psychrotrophs from a meatworks. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43: 284 – 288 .

**Gorman,B.M.;Kochevar,S.L.;Sofos,J.N.;Morgan,J.B.;Schmedt,G.R. and Smith,G.C.(1997)**

Changes on beef adipose tissues following decontamination with chemical solutions or water at 35 °C and 74 °C *J.Muscl Food* 8:185-197

**Hardin,M.D.;Acuff,G.R.;Lucia,L.M.;Oman,J.S.andSavell,J.W.(1995 )** Comparison of methods for decontamination from beef carcass surface *J.Food protect.*58:268-374

**Hassan, F. M. (2001):** Evaluation of the sanitary measures adopted in a municipality abattoirs.

Thesis ph. D.Fac. Vet. Med., Cairo Univ .

**ICMSF (International Commission on Microbiological Specification of Foods) (1978):** Microorganisms ecology of food. University of Toronto Press, Toronto, Ontario, Canada.

**ICMSF (International Commission on Microbiological Specification of Foods) (1982):** Microorganisms in food I. Salmonellae. 2<sup>nd</sup> Ed. University of Toronto Press, Toronto, PP.201-218.

**Katoh, K.; Nakamura, M.; Usagawa, T. (1991):** The curing of pork with organic acid containing reduced-salt brine. *Animal Science and Technology* 62 (2) 161-168

**Kim, D.G. (1988):** Effects of acetic acid on microbiological and physicochemical properties of fresh pork. *Journal of the Korean Society of Food and Nutrition* 17 (3) 215-219

**Lee, S. H.; Seung, S. K; Kim, S. M.; Kim, D. K.; Jo, O. K. and Jeong, Y. S. (1998):** Effects of organic acids and vacuum packaging on shelf life of Hanwoo beef. *Korean Journal of Animal Science* 40(3)261-268.

- Lodder, J, and Kreger, Van Rij, N. J. W. (1967):** The Yeast, a taxonomic study. North Holland Publ. Co., Amsterdam.
- Leuck,E.(1980):**Antimicrobial food additives Springer Verlag , Neo York
- Mahmoud,M.A.(2004) :** Sanitary evaluation and reduction trials for surfaces microbial contamination of sheep carcasses at Mansoura abbatoir M.V.Sc.Thesis Fac.Vet.Med.Mansoura Univ.
- Mendonca, A. F.; Molins, R. A. A.; Walker, H. W. (1989):** Microbiological, chemical, and ' physical changes in fresh, vacuum-packaged pork treated with organic acids and salts Journal of Food Science 54 (1) 18-21.
- Podolak,R.k.J.F.Zayas,C.L.,Katner and D.y.c.fung (1996)** Reduction of bacterial population on vacuum-packaged ground beef patties with fumaric and lactic acids.J.Food Prot.59-1037-1040
- Ramirez, A. J.; Acuff, G. R.; Lucia, L. M. and Savell, J. W. (2001):** Lactic acid and trisodium phosphate treatment of lamb breast to reduce bacterial contamination. J. Food Prot. 64, 1439-1441.
- Raper, R. K. B and Fennel, D, I. (1965):** The genus *Aspergillus*. Williams and Wilkins, Baltimore. Cited after Khalil, R (1995): M. V. Sc. Thesis, Fac. Vet. Med., Alex., Univ.
- Samelis J, Sofos JN, Kendall PA, Smith GC. (2002):** Effect of acid adaptation on survival of *Escherichia coli* 0157:H7 in meat decontamination washing fluids and potential effects of organic acid interventions on the microbial ecology of the meat plant environment. J Food Prot., Jan; 65(1): 33-40.
- Samson, R. A.; Hockstra, E. S.; Frisvad, J. C. and Filtenburge, D. (1995):** Introduction to food borne fungi. 4t"Ed., Central Bureau voor Schimmel Culture, Baan Delft. (15) (16)  
Printed by Prion & Looyen Wageningen, The Netherlands.
- Washington, J.A. (1981):** Laboratory Medical Mycology. Lea & Febiger.
- Zerby, H.N.; Murphree, R.; Belk, K.E.; Sofos, J.N.; Schmidt, G.R.; Hardin, M.W.; Lloyd, W.L. and Smith, G.C. (1998):** Intervention Strategies for Reducing Microbiological Contamination On Pork Variety Meats. Final Report to the U.S. Meat Export federation  
and to the National Pork Producers Council.
- Zerby, H.N.; Belk, K.E.; Hardin, M.; Sofos. J.N. and Smith, G.C. (1999):** Levels of microbiological contamination of pork

carcasses during slaughter. Annual Meeting. International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians, 86:T1 1.

**Zycha, H.; Siepman, R. and Linnemann, G. (1969):** Mucorales, eine Beschreibung alter Gattungen und Arten dieser Pilzgruppe. D. 3301 Lehre J. Gramer.

**Table (5) Reduction percentages of total coliform, Enterobacteriaceae, *Salmonellae* and Mould &Yeast count of examined treated lamb carcasses**

Treat.	Lactic acid 1%				Lactic acid 2%				C
	Coli.	Ent.	Salm.	Yeast &Mold	Coli.	Ent.	Salm.	Yeast Mold	
<b>Fresh</b>	35.75	38.00	45.83	39.25	57.78	53.25	75.0	58.70	33
<b>24 h</b>	35.20	22.98	56.54	30.90	29.72	32.41	41.67	42.98	38
<b>48 h</b>	48.94	45.24	65.38	42.13	37.77	51.23	60.83	47.93	48
<b>72 h</b>	60.73	55.89	76.37	56.74	60.00	83.33	61.86	52.07	57
<b>7 d</b>	73.65	68.06	-	33.71	69.04	65.24	-	46.28	77
<b>14 d</b>	52.90	52.74	-	16.83	39.16	47.59	-	17.36	57
<b>Freezing</b>	53.51	53.06	-	26.97	45.51	55.72	-	29.75	63

The reduction percent was the deviation of treated means relative to control mean in the fresh state in chilling and freezing state

It was the deviation of treated means relative to the treatment means in fresh state

Coli=Coliform

Ent. .= Enterobactereaceae

Salm. = *Salmonellae*

**Table (3) Reduction percentages of total aerobic, psychrophilic and *Staph . aureus* count of the examined treated lamb carcasses (n=25)**

(7)

Treat	Lactic acid 1%			Lactic acid 2%		
	aerobic	psychro.	Staph.	aerobic	psychro.	Staph.



<b>Fresh</b>	41.44	25.73	42.62	58.82	41.75	53.28
<b>24 h . Chil</b>	37.44	17.65	+22.14*	42.86	14.17	+10.53*
<b>48 h. Chil</b>	53.88	38.59	2.868	52.86	41.17	40.35
<b>72 h. Chil</b>	48.40	44.12	37.14	61.10	45.33	3.51
<b>7 d. Chil</b>	70.87	49.45	42.86	64.09	43.33	60.53
<b>14 d. Chil</b>	57.70	33.33	7.14	41.10	23.25	29.28
<b>Freezing</b>	62.37	29.4	7.14	62.53	15.00	64.91

The reduction percent was the deviation of treated means relative to control mean in the fresh state in chilling and freezing state

( It was the deviation of treated means relative to the treatment means in fresh state)

Chil = Chilling      aerob . = aerobic      Psychro = Psychrophilic

( 5 )

**Table (2) Means of total aerobic and total psychrophilic bacterial counts ( cfu / g ) of the examined lamb carcasses before and after application of acid treatment ( n = 25 )**

<b>Treatments ( Means ± standard errors )</b>						
<b>Lactic acid 1%</b>		<b>Lactic acid 2%</b>		<b>Acetic acid 1%</b>		
Total aerobic	Total psychr	Total aerobic	Total psychr	Total aerobic	Total psychr	Total

$\times 10^3 \pm$ $\times 10^2$ <b>a</b>	$1.25 \times 10^3 \pm$ $1.67 \times 10^2$ <b>a</b>	$1.54 \times 10^3 \pm$ $2 \times 10^2$ <b>bc</b>	$1.2 \times 10^3 \pm$ $1.5 \times 10^2$ <b>ab</b>	$2.06 \times 10^3 \pm$ $2.44 \times 10^2$ <b>ab</b>	$1.46 \times 10^3 \pm$ $1.82 \times 10^2$ <b>c</b>	$1.3 \times$ $1.89$
$\times 10^3 \pm$ $\times 10^2$ <b>a</b>	$1.26 \times 10^3 \pm$ $1.02 \times 10^2$ <b>a</b>	$8.8 \times 10^2 \pm 1$ $\times 10^2$ <b>b</b>	$1.03 \times 10^3 \pm$ $0.92 \times 10^2$ <b>a</b>	$1.42 \times 10^3 \pm$ $1.34 \times 10^2$ <b>a</b>	$1.11 \times 10^2 \pm$ $0.86 \times 10^2$ <b>a</b>	$8.56 \times$ $1.08$
$\times 10^3 \pm$ $10^2$ <b>a</b>	$9.34 \times 10^2 \pm$ $0.74 \times 10^2$ <b>a</b>	$7.26 \times 10^2 \pm$ $0.93 \times 10^2$ <b>b</b>	$7.06 \times 10^2 \pm$ $0.7 \times 10^2$ <b>a</b>	$1.03 \times 10^3 \pm$ $1.31 \times 10^2$ <b>a</b>	$9.2 \times 10^2 \pm$ $0.82 \times 10^2$ <b>a</b>	$7.15 \times$ $1.08$
$\times 10^3 \pm$ $\times 10^2$ <b>a</b>	$8.55 \times 10^2 \pm$ $0.84 \times 10^2$ <b>a</b>	$5.99 \times 10^2 \pm$ $0.75 \times 10^2$ <b>bc</b>	$6.56 \times 10^2 \pm$ $0.77 \times 10^2$ <b>b</b>	$7.92 \times 10^2 \pm$ $0.92 \times 10^2$ <b>ab</b>	$7.8 \times 10^2 \pm$ $0.89 \times 10^2$ <b>a</b>	$5.57 \times$ $0.76$
$\times 10^2 \pm$ $\times 10^2$ <b>a</b>	$7.72 \times 10^2 \pm$ $0.65 \times 10^2$ <b>a</b>	$5.53 \times 10^2 \pm$ $0.51 \times 10^2$ <b>a</b>	$6.8 \times 10^2 \pm$ $0.66 \times 10^2$ <b>a</b>	$5.96 \times 10^2 \pm$ $0.51 \times 10^2$ <b>a</b>	$6.81 \times 10^2 \pm$ $0.72 \times 10^2$ <b>a</b>	$5.13 \times$ $0.5 \times$
$\times 10^2 \pm$ $\times 10^2$ <b>a</b>	$1.02 \times 10^2 \pm$ $0.59 \times 10^2$ <b>a</b>	$9.07 \times 10^2 \pm$ $0.61 \times 10^2$ <b>a</b>	$9.21 \times 10^2 \pm$ $0.95 \times 10^2$ <b>a</b>	$8.85 \times 10^2 \pm$ $0.77 \times 10^2$ <b>a</b>	$9.16 \times 10^2 \pm$ $0.68 \times 10^2$ <b>a</b>	$7.89 \times$ $0.72$
$\times 10^2 \pm$ $\times 10^2$ <b>a</b>	$1.08 \times 10^2 \pm$ $1.7 \times 10^2$ <b>a</b>	$5.77 \times 10^2 \pm$ $0.94 \times 10^2$ <b>a</b>	$1.02 \times 10^3 \pm$ $1.3 \times 10^2$ <b>a</b>	$6.66 \times 10^2 \pm$ $1.2 \times 10^2$ <b>a</b>	$1.07 \times 10^2 \pm$ $1.44 \times 10^2$ <b>a</b>	$5.54$ $0.95$

Means in the same raw followed by same letters do not differ significantly at p=0.05 within each of aerobic and Psychrophilic counts  
 Mean value of control samples in total aerobic bacterial count =  $3.74 \times 10^3 \pm 2.88 \times 10^2$   
 Mean value of control samples in total Psychrophilic bacterial count =  $2.06 \times 10^3 \pm 2.85 \times 10^2$

(4)

**Table (4) Statistical analytical results of means of total coliform (M.P.N/g) & Enterobacteriaceae count (cfu/g) of examined lamb carcasses before and after application of acid treatment (n = 25)**

Treatments ( Means $\pm$ standard errors )						
Lactic acid 1%		Lactic acid 2%		Acetic acid 1%		
coliform	enterob	coliform	Enterob	coliform	enterob	colifo
$3 \times 10^2 \pm$	$1.24 \times 10^3 \pm$	$6.46 \times 10^2 \pm$	$9.33 \times 10^2 \pm$	$1.02 \times 10^2 \pm$	$1.27 \times 10^2 \pm$	$6.4 \times$

$1 \times 10^2$ a	$1.7 \times 10^2$ a	$0.99 \times 10^2$ b	$1.59 \times 10^2$ ab	$1.41 \times 10^2$ a	$1.94 \times 10^2$ a	0.84
$7 \times 10^2 \pm$	$9.55 \times 10^2 \pm$	$4.54 \times 10^2 \pm$	$6.36 \times 10^2 \pm 1$	$6.31 \times 10^2 \pm$	$9.72 \times 10^2 \pm$	$4.47 \times 10^2$
$1 \times 10^2$ a	$1.55 \times 10^2$ a	$0.77 \times 10^2$ a	$\times 10^2$ b	$0.86 \times 10^2$ a	$1.69 \times 10^2$ b	0.68
$2 \times 10^2 \pm$	$6.79 \times 10^2 \pm$	$4.02 \times 10^2 \pm$	$4.56 \times 10^2 \pm$	$5.21 \times 10^3 \pm$	$6.5 \times 10^2 \pm$	$3.83 \times 10^2$
$7 \times 10^2$ a	$0.87 \times 10^2$ a	$0.87 \times 10^2$ a	$0.71 \times 10^2$ bc	$0.99 \times 10^2$ a	$0.94 \times 10^2$ ab	0.85
$5 \times 10^2 \pm$	$5.47 \times 10^2 \pm$	$3.06 \times 10^2 \pm$	$3.74 \times 10^2 \pm$	$3.89 \times 10^2 \pm$	$5.46 \times 10^2 \pm$	$2.97 \times 10^2$
$5 \times 10^2$ a	$0.73 \times 10^2$ a	$0.58 \times 10^2$ a	$0.65 \times 10^2$ b	$0.66 \times 10^2$ b	$0.87 \times 10^2$ ab	0.63
$5 \times 10^2 \pm$	$3.69 \times 10^2 \pm$	$2 \times 10^2 \pm$	$3.25 \times 10^2 \pm$	$2.26 \times 10^2 \pm$	$3.58 \times 10^2 \pm$	$2.01 \times 10^2$
$7 \times 10^2$ a	$0.43 \times 10^2$ a	$0.34 \times 10^2$ a	$0.4 \times 10^2$ a	$0.35 \times 10^2$ a	$0.4 \times 10^2$ a	0.34
$3 \times 10^2 \pm$	$5.86 \times 10^2 \pm$	$3.93 \times 10^2 \pm$	$4.9 \times 10^2 \pm$	$4.34 \times 10^2 \pm$	$5.34 \times 10^2 \pm$	$3.46 \times 10^2$
$3 \times 10^2$ a	$0.47 \times 10^2$ a	$0.43 \times 10^2$ a	$0.45 \times 10^2$ a	$0.43 \times 10^2$ a	$0.47 \times 10^2$ b	0.43
$7 \times 10^2 \pm$	$5.82 \times 10^2 \pm$	$3.52 \times 10^2 \pm$	$4.14 \times 10^2 \pm$	$3.7 \times 10^2 \pm$	$5.7 \times 10^2 \pm$	$3.52 \times 10^2$
$4 \times 10^2$ a	$1.28 \times 10^2$ a	$0.94 \times 10^2$ a	$1.18 \times 10^2$ a	$0.8 \times 10^2$ a	$1.35 \times 10^2$ a	0.94

Enterob = Enterobacteriaceae

Means in the same raw followed by same letters do not differ significantly at p=0.05 within each of Coliform and Enterobacteriaceae count

Mean value of control samples in total Coliform count =  $1.53 \times 10^3 \pm 1.82 \times 10^2$

Mean value of control samples in total Enterobacteriaceae count =  $2.00 \times 10^3 \pm 2.55 \times 10^2$

**Table (6) Statistical analytical results of means of total *Salmonella* count , *Staphylococcus aureus* and Mould & yeast count (cfu/g) of the examined lamb carcasses before and after application of acid treatment ( n = 25 )** (6)

Treatments ( Means $\pm$ standard errors )								
Citric acid 1%		Lactic acid 2%			Acetic acid 1%			Total
Total Staph.	Mould & yeast	Total Salm	Total Staph.	Mould & yeast	Total Salm	Total Staph.	Mould & yeast	Total
$\times 10^2 \pm$	$1.78 \times 10^2 \pm$	$1.2 \times 10^2 \pm$	$1.14 \times 10^2 \pm$	$1.21 \times 10^2 \pm$	$2.8 \times 10^2 \pm$	$1.48 \times 10^2 \pm$	$1.53 \times 10^2 \pm$	1.3
$3 \times 10^2$ b	$0.2 \times 10^2$ a	$1 \times 10^2$ a	$0.37 \times 10^2$ b	$0.2 \times 10^2$ b	$1.8 \times 10^2$ a	$0.42 \times 10^2$ b	$0.17 \times 10^2$ a	1.1

$1 \times 10^2 \pm 6 \times 10^2$ a	$1.23 \times 10^2 \pm 0.14 \times 10^2$ a	$0.7 \times 10^2 \pm 0.1 \times 10^2$ a	$1.26 \times 10^2 \pm 0.57 \times 10^2$ b	$1.26 \times 10^2 \pm 0.57 \times 10^2$ b	$1.4 \times 10^2 \pm 0.4 \times 10^2$ a	$1.71 \times 10^2 \pm 0.62 \times 10^2$ a	$1.21 \times 10^2 \pm 0.13 \times 10^2$ a	0.6
$6 \times 10^2 \pm 3 \times 10^2$ a	$1.03 \times 10^2 \pm 0.1 \times 10^2$ a	$0.47 \times 10^2 \pm 0.13 \times 10^2$ a	$0.68 \times 10^2 \pm 0.25 \times 10^2$ b	$0.63 \times 10^2 \pm 0.09 \times 10^2$ b	$1 \times 10^2 \pm 0.2 \times 10^2$ a	$1.48 \times 10^2 \pm 0.59 \times 10^2$ a	$1.04 \times 10^2 \pm 0.07 \times 10^2$ a	0.4
$8 \times 10^2 \pm 4 \times 10^2$ a	$0.77 \times 10^2 \pm 0.08 \times 10^2$ a	$0.2 \times 10^2 \pm 0.00$ a	$1.1 \times 10^2 \pm 0.7 \times 10^2$ a	$0.58 \times 10^2 \pm 0.11 \times 10^2$ a	$0.6 \times 10^2 \pm 0.2 \times 10^2$ a	$1.05 \times 10^2 \pm 0.4 \times 10^2$ a	$0.72 \times 10^2 \pm 0.07 \times 10^2$ a	0.4
$2 \times 10^2 \pm 2 \times 10^2$ a	$1.18 \times 10^2 \pm 0.16 \times 10^2$ a	--	$0.45 \times 10^2 \pm 0.19 \times 10^2$ b	$0.65 \times 10^2 \pm 0.09 \times 10^2$ b	--	$0.6 \times 10^2 \pm 0.22 \times 10^2$ a	$0.79 \times 10^2 \pm 0.09 \times 10^2$ b	0
$1 \times 10^2 \pm 1 \times 10^2$ a	$1.48 \times 10^2 \pm 0.08 \times 10^2$ a	--	$0.8 \times 10^2 \pm 0.25 \times 10^2$ bc	$1.0 \times 10^2 \pm 0.08 \times 10^2$ bc	--	$1 \times 10^2 \pm 0.45 \times 10^2$ a	$1.23 \times 10^2 \pm 0.08 \times 10^2$ ab	
$1 \times 10^2 \pm 1 \times 10^2$ a	$1.3 \times 10^2 \pm 0.11 \times 10^2$ a	--	$0.4 \times 10^2$ b	$0.85 \times 10^2 \pm 0.08 \times 10^2$ b	--	$0.66 \times 10^2 \pm 0.47 \times 10^2$ a	$1.27 \times 10^2 \pm 0.1 \times 10^2$ a	

Salm.=*Salmonella*

Staph.=

*Staphylococcus aureus*

Means in the same raw followed by same letters do not differ significantly at p=0.05 within each of *Salmonella* and Staphylococci count

Mean value of control samples in total *Salmonella* count =  $4.80 \times 10^2 \pm 3.2 \times 10^2$

Mean value of control samples in total *Staphylococcus aureus* count =  $2.44 \times 10^2 \pm 0.67 \times 10^2$

Mean value of control samples in total Mold & yeast count =  $2.93 \times 10^2 \pm 0.30 \times 10^2$

Hr = hour

( 8 )

**Table (8): Statistical analytical results of total proteolytic and lipolytic counts (cfu/g) of the examined lamb carcasses**

	Treatment ( means ± standard errors )								
	Control		Lactic acid 1%		Lactic acid 2%		Acetic acid 1%		Ac
	% +ve	Mean ± SEM	% +ve	Mean ± SEM	% +ve	Mean ± SEM	% +ve	Mean ± SEM	% +ve
1 % )	92	38.19 ± 7.21 a	84	33.04 ± 6.29 ab ( 13.49 )	84	22.05 ± 4.19 b ( 42.26 )	88	29.41 ± 5.97 ab ( 22.99 )	84

Reduction % )	88	31.95 ± 1.85 a —	88	21.45 ± 1.73 b ( 32.86 )	88	12.88 ± 1.11 c ( 59.87 )	88	21.77 ± 1.73 b ( 31.86 )	88

Number of examined samples per treatment = 25.

Reduction % was the deviation of treatment means relative to the control mean.

Means in the same row followed by the same letter do not differ significantly P =0.05.

( 10 )

## دور خميرة البيرة في تحسين المناعة النوعية وغير النوعية في دجاج اللحم في سوريا

\* ط.ب. منى الشرابي

\*\* أ.د. محمد فاضل

### ملخص البحث :

أجريت الدراسة على ( 500 ) طيراً من إحدى الهجن التجارية لدجاج اللحم ، وقد استخدمت خميرة البيرة Brewer`s yeast أو ما يدعى بالاسم العلمي سكروميسيس سيرفيسيا *Saccharomyces Cerevisiae* ، بشكلٍ مقتولٍ أو (معطل) كتممٍ علفي، حيث أنها تتميز باحتوائها على قيمةٍ غذائيةٍ مرتفعةٍ إضافةً إلى احتوائها على مستويٍ عالٍ من الأحماض النووية ، و عدم وجود آثارٍ سلبيةٍ عند استخدامها بنسبٍ محدودةٍ وهي مادةٌ طبيعيةٌ، ولا تترك أيةً ثملاتٍ في اللحم أو البيض .

استخدمت الخميرة المقتولة على شكل بودرة ، تم خلطها مع العلف المستخدم حسب خطة الدراسة أثناء عملية تصنيع العلف المستخدم في التجربة ، وحسب الجرعة المحددة في خطة البحث وهي 1000 غ خميرة لكل طن علف .

وذلك بغية مقارنة تأثير هذه الخميرة على الاستجابة المناعية النوعية وغير النوعية لمرض الجراب المعدي ، وذلك باستخدام ثلاث أنواع من اللقاحات التجارية المستخدمة في سورية ضد مرض التهاب الجراب المعدي (الجمبورو) ، وهم لقاحين مستوردين (رقم 1- رقم 2) ، ولقاح مصنع محلياً (رقم 3) ، و قد أثبتت الدراسة وجود فروق معنوية واضحة بين مجاميع الشاهد ومجاميع الدراسة التي أضيف لعليقتها خميرة البيرة (الجمعة) ، خلال جميع مراحل التربية. سواءً بالنسبة لمعايير الأضداد لمرض الجراب المعدي حيث كانت قيمة  $p = (0.0008)$  .

و أثبتت الدراسة وجود فروقٍ معنويةٍ واضحةٍ بين مجاميع الشاهد ومجاميع الدراسة التي أضيف لعليقتها خميرة البيرة (الجمعة) ، خلال جميع مراحل التربية سواءً بالنسبة للنسب المئوية للخلايا للمفاوية أو المستعيرات التي كانت مرتفعةً في مجاميع التجربة عن مثيلتها في مجاميع الشاهد بقيمٍ معنويةٍ واضحةٍ  $p = (0.0001) < 0.05$ .

\*طالبة دكتوراه - كلية الطب البيطري - جامعة البعث

\*\*أستاذ أمراض الدواجن - كلية الطب البيطري - جامعة البعث

# **The Role of Brewer`s Yeast in the Improvement of Specific and non-Specific Immunity in Broiler Chickens in Syria**

**Dr Mona Al. Sharabi \*\***

**Dr Mohammad Fadel \***

## **Summary :**

The study was conducted on (500) commercial broiler chickens, it has been used Brewer`s yeast, or the so-called scientific name *Saccharomyces Cerevisiae* in inactive cells as a feed additives.

It contains a high nutritional value in addition to containing a high level of Nucleotides . There are no negative effects when it is used in a limited rates . It is a natural substance and it doesn`t leave any residues in meat or eggs .

The inactive Yeast was used in the form of powder which was mixed with the feed used by the study plan during the feed manufacturing process used in the experiment. and according to the specified dose in the research plan, 1000 g yeast per ton feed.

In order to compare the impact of this yeast on the specific and non- specific immunity of infectious bursal disease ( IBD ) by using three types of commercial vaccines used in Syria against infectious bursal disease . They are two imported vaccines ( 1,2 ) and a local vaccine ( 3 ) .

The study has confirmed that there were clear significant variances between control and study groups which added to its feed a yeast beer during all stages of breeding either for titers antibodies for IBD ( P value = 0.0008 ) .

The study has confirmed that there were clear significant variances between control and study groups which added to its feed a yeast beer during all stages of breeding either for the percentage of lymphocytes which were higher in study groups



than in control groups in clear significant variances ( P value = 0.0001 ). ( P < 0.05 ).

\* Professor of Poultry Diseases, Faculty of vet. Med. , Al-baath university , Hama, Syria .

\* \* PhD student in veterinary science , Department of Poultry Diseases , Veterinary Faculty , Al-baath university , Hama, Syria .

تلعب المناعة الغذائية (Immuno-nutrition) دوراً واعداً في الوقاية من الأمراض المعدية (Yamauchi, et al,2002) ، ، و تعتبر النيكلوتيدات النووية عبارة عن وحدات متسلسلة ضمن الخلايا وهي مهمة حيويًا لأداء وظائف العضويات الحية .

يعتبر مرض الجراب المعدي (IBD) أو مرض الجمبورو من أهم الأمراض التي تؤدي إلى تثبيط مناعي في قطاع الدواجن التجارية ، ويؤثر بشكل رئيسي على الطيور الفتية (Lukert et al ,1997) ، ويعتبر استئصال مرض الجراب المعدي صعباً جداً نظراً لثباتية الفيروس العالية في البيئة ، والطريقة الأساسية الوحيدة والفعالة كما هو الحال في الأمراض الفيروسية الأخرى عند الدواجن هي التحصين ضد مرض الجراب المعدي إضافةً إلى إجراءات الأمن الحيوي المعروفة واللقاحات المستخدمة حالياً أما لقاحات حية أو مقتولة (معتلة) .

إن الاستراتيجيات الأكثر فاعلية للتحكم بمرض الجراب المعدي تشمل التحصين لطيور الأمات بلقاحات معطلة زيتية ، لتزويد الأمهات بالأضداد التي تنقلها بدورها إلى أنجالها من خلال مح البيض . أو تمنيع الطيور الفتية باللقاحات الحية المضعفة في مراحل مبكرة من العمر .

تصاحب بعض أنواع اللقاحات الحية حالة تثبيط مناعي عابر ، والتي يمكن أن تسبب آفات مشابهة للخمج الطبيعي عند الطيور المحصنة (Muller et al .,2002) .

ويوجد حالياً بعض المعدلات المناعية المناسبة Immunomodulator ، والتي من خلالها يمكن أن تحد من تأثيرات التثبيط المناعي للقاحات الحية ، مثل مادة L-arginine حيث تنشط و تحرض هذه المادة المستخدمة كمتعمٍ علفي العمليات الوظيفية لأنماط الخلية المختلفة ، والموجودة في الجهاز المناعي مثل الخلايا القاتلة الطبيعي (NK) Natural Killer cells ، والبلاعم والخلايا للمفاوية ذات النمط B-T. ( Park et al .,1991; Dejonge et al ., 2002) .

وحيث أن العديد من المُعدلات المناعية ذات النمط الوراثي الحيوي تؤدي إلى تحسين أداء الجهاز المناعي ، وخاصة تلك المعدلات المناعية ذات المنشأ الطبيعي والتي يتمثل تركيبها بالمستقبلات النيكولوتيدية النووية الطبيعية ، والتي تتضمن البريميدات ومستقبلات البريميدات واليورينات ، والتي تتواجد في تركيب خميرة الجعة (البيرة) كمكون أساسي لهذه الخميرة بالإضافة أنها تحتوي على مجموعة فيتامينات B المركبة وعنصر السيلينيوم ، ونظراً لأن مرض الجراب المعدي يعتبر من أهم الأمراض التي تؤدي إلى عوزٍ في الجهاز المناعي ، فإن هناك حاجةً إلى (تحسين مناعة الطائر) أو تنشيط الجهاز المناعي للطائر من خلال أنظمةٍ مناعيةٍ داعمٍ ، تعمل على تحسين المناعة اعتباراً من البنية الخلوية الرئيسية المكونة من RNA و DNA (Abbas, 2001) .

أشار بعض الباحثين مثل الباحث ( Whitehead,2003 ) ، إن إضافة مركبات تحوي على النيكولوتيدات النووية في المركبات العلفية سوف يساعد في تطوير الخواص البنائية المعوية ، وبالتالي تحسين وظائف القناة المعوية .

ولذلك فإن إضافة خميرة البيرة (الجعة) الحاوية على مثل هذه النيكولوتيدات النووية سيؤدي بشكلٍ غير مباشر إلى تحسين معنوي في طول الزغابة المعوية و زيادة في عمق الجزء المخفي للزغابة في منطقة الصائم ، وبالتالي امتصاص أكبر للمواد الغذائية ، ينتج عنه تحسينٌ مناعيٌ أفضل ، وسيساهم ذلك في معدل أفضل للكسب الوزني .

استخدمت خميرة البيرة Brewer`s yeast ، أو ما يدعى بالاسم العلمي سكرومييزس سيرفيسيا *Saccharomyces Cerevisiae* . بشكلٍ مقبولٍ أو (معطلٍ) كمتممٍ علفي ، استخدم في تغذية الدواجن نظراً لاحتوائها على قيمةٍ غذائيةٍ مرتفعةٍ ، و عدم وجود آثارٍ سلبيةٍ عند استخدامها بنسبٍ محدودةٍ كمتممٍ علفي.

. (Carter, H.E and Phillips, 1944 ., Bhattacharjee, 1970)

كما وجد الباحث (Stone, 1998) ، أن استخدام خميرة سيركوماييسس سرفاي في تغذية دجاج اللحم كمادةٍ طبيعيةٍ توفر الفيتامينات وخاصة مجموعة فيتامين B وكذلك البروتين

ذو القيمة البيولوجية العالية بعيداً عن السموم وعن المواد المثيرة للحساسية أو المركبات السرطانية عند استخدام مركبات صناعية غير طبيعية .

## مواد وطرق العمل : **Materials and Methods**

### مواد العمل : **Materials**

#### 1- الصيوان :

تم تربية ( 500 ) طائر بعمر يوم واحد من أحد الهجن التجارية ، تم الحصول عليها من إحدى المزارع التجارية لتربية قطعان أمات دجاج اللحم ( الفروج ) ، قدمت للطيور عليقةً محببةً بمراحل مختلفة (مرحلة أولى و مرحلة ثانية ) .

#### 2- خميرة البيرة (الجمعة) :

استخدمت خميرة البيرة *Brewer`s yeast* ، أو ما يدعى بالاسم العلمي *Saccharomyces Cerevisiae* سيرفيسيا ، بشكلٍ مقتولٍ كمتعمٍ علفي استخدم في تغذية الدواجن نظراً لاحتوائها على قيمةٍ غذائيةٍ مرتفعةٍ إضافةً إلى احتوائها على مستوى عالٍ من الأحماض النووية ، و عدم وجود آثارٍ سلبيةٍ عند استخدامها بنسبٍ محدودةٍ كمتعمٍ علفي .

واستخدمت الخميرة المقتولة على شكل بودرة تم خلطها مع العلف المستخدم حسب خطة الدراسة أثناء عملية تصنيع العلف المستخدم في التجربة بعد أن تم تحضيرها بشكلٍ مقتولٍ من خلال تعريضها لبخار لمدة ( 4 ) ساعات مع الحفاظ على درجة الحرارة (71°) م وتم حفظها البراد في الدرجة ( 4°) م في حاويات مغلقة و من ثم تم تعقيمها قبل الاستعمال بوضعها بالأوتوغلاف أو ما يدعى بالصاد الموصد لمدة ( 20 ) دقيقة تحت ضغط (15) بار (BAR) و بدرجة حرارة (115) درجة مئوية وحسب الجرعة المحددة في خطة البحث وهي 1000 غ /طن من العلف .

### طرق العمل : **Methods**

## 1- مجاميع الدراسة The Study Groups :

استخدم ( 500 ) صوص بعمر يوم واحد ، من أحد الهجن التجارية ، قُسمت الطيور إلى عدة مجاميع مستقلة عن بعضها كالتالي :

**مجاميع الشاهد :** شملت (200) طير قدمت لها عليقةً محببةً خاليةً من خميرة البيرة (الجنة) قسم الشاهد إلى ثلاث مجاميع وفقاً لنوع لقاح الجمبورو الذي سيتم تحصين الطيور به :

**المجموعة الأولى :** مجموعة الشاهد رقم (1) : وهي (66) طيراً قدمت لها عليقةً خاليةً تماماً من الخميرة حصنت باللقاح رقم (1).

**المجموعة الثانية :** مجموعة الشاهد رقم (2) : وهي (66) طيراً قدمت لها عليقةً خاليةً تماماً من الخميرة حصنت باللقاح رقم (2).

**المجموعة الثالثة :** مجموعة الشاهد رقم (3) : وهي (68) طيراً قدمت لها عليقةً خاليةً تماماً من الخميرة حصنت باللقاح رقم (3).

**مجاميع التجربة :** وهي عبارة عن ( 300 ) طيراً قدمت لها عليقةً محببةً تحوي على خميرة البيرة أو الجنة بنسبة ( 1000 ) غ / طن من العلف بدءاً من اليوم الأول من التجربة وحتى نهاية التجربة بعمر (42) يوماً وقسمت هذه المجموعة إلى ثلاث مجاميع حسب لقاح الجمبورو الذي سيعطى للطيور .

**المجموعة الأولى :** مجموعة التجربة رقم (1) : وتحوي على (100) طير تم تحصينها باللقاح رقم (1) قدمت لها عليقةً تحتوي على خميرة البيرة بنسبة (1000) غ / طن .

**المجموعة الثانية :** مجموعة تجربة رقم ( 2 ) : وهي تحوي على ( 100 ) طير تم تحصينها باللقاح رقم (2) قدمت لها عليقةً تحتوي على خميرة البيرة بنسبة ( 1000 ) غ / طن .

**المجموعة الثالثة :** مجموعة تجرية (3): وهي تحوي على (100) طير تم تحصينها باللقاح رقم (3) قدمت لها عليقةً تحتوي على خميرة البيرة بنسبة (1000) غ / طن . وقد تم تغذية الطيور بعلف محبب ، وتم مراعاة الاحتياجات الغذائية حسب متطلبات الطيور في جميع مراحل التربية .

### **عينات الدم Blood Samples**

وُقد تم جمع عينات الدم دورياً و بفترة زمنية فاصلة ( 5-7 ) أيام ، تم إضافة مانع تخثر لها وهو EDTA تم أخذها من جميع مجاميع الدراسة، وذلك من أجل عمل شرائح دموية للعد التفريقي لكريات الدم البيضاء ، وذلك لقياس المناعة غير النوعية عند طيور التجربة . أخذت عينات الدم بطريقة عشوائية بسيطة ( Simple Random Sampling ) حسب الباحث كامرون ( Cameron, 1999 ) كما أخذت عينات دم أخرى لم يضاف لها مانع تخثر ، تم تنقيتها وفصل المصل منها ومن ثم تم حفظها بمجمدات في درجة (- 30) درجة مئوية ليتم معايرة الأضداد النوعية لمرض الجراب المعدي (مرض الجمبورو) في هذه الأمصال التي تم جمعها من كل مجاميع الدراسة وذلك باستخدام اختبار المقايسة المناعية الأنظيمة ( Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ) .

### **- الاختبارات المصلية Serological Tests :**

أجريت الدراسة المصلية باستخدام اختبار المناعة المرتبطة بالأنظيم

### **Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ( ELISA )**

لمعرفة مستوى الأضداد النوعية لمرض الجراب المعدي في مصل الدم ، و يُعد هذا الاختبار هو المفضل في عمليات التقصي المصلي لأعداد كبيرة من العينات بالنسبة لمرض الجراب المعدي ( IBD ) ( Lee&Lin,1992 ) . و استخدمت طريقة الباحثون

(Pick et al., 1981). لإجراء الاختبار و خطوات العمل حسب توصيات الشركة المنتجة للمجموعة التشخيصية .

### الشرائح الدموية

كما تم صنع شرائح دموية تحوي على أفلامٍ دمويةٍ رقيقةٍ من عينات الدم التي أضيف إليها مانع التخثر EDTA ، ثم تم تثبيتها بالكحول المتيلي، ثم صبغها بصبغة غرام ، ومن ثم تمت القراءة المجهرية لها ، لدراسة وحساب النسبة المئوية لأنواع الكريات البيضاء المختلفة كمؤشر يعطي صورة واضحة عن المناعة غير النوعية وخاصة منها الخلايا للمفاوية .

### - طريقة التحليل الإحصائي : Statistic Analysis Method

درست الفروقات في معايير الأضداد بين مجاميع الدراسة المختلفة باستخدام طريقة التحليل الوحيدة للفرق One Way Analysis of Variance .

كما تم دراسة الفروق في النسب المئوية للخلايا للمفاوية وكذلك خلايا المستغيرات وبقية أنواع الكريات البيضاء بين مجاميع الدراسة المختلفة باستخدام طريقة التحليل الوحيدة للفرق One Way Analysis of Variance .

استخدم برنامج التحليل على الحاسوب ( Statistix , 1998 ) ، لإجراء جميع التحاليل الإحصائية في هذه الدراسة .

### النتائج Results :

1- تأثير خميرة البيرة (الجمعة ) على المناعة النوعية :

### Impact of Brewer`s yeast on Specific Immunity

مقارنة معايير الأضداد باستخدام طريقة التحليل الوحيدة للفرق One-Way-  
:Analysis of Variance

تم استخدام طريقة تحليل الفرق الوحيد لمقارنة معايير الأضداد بين مجموعات الشاهد ومجاميع الدراسة التي أضيف لها خميرة البيرة أو الجعة ، حيث تبين أن هناك فروقاً معنوية بين كل مجموعة من مجاميع الدراسة التي أضيف لها خميرة البيرة ومجاميع الشاهد بالنسبة لمعايير الأضداد بالنسبة التهاب الجراب المعدي حيث كانت قيمة  $p = (0.0008) (P < 0.05)$  .

يوضح الجدول رقم (1) مقارنة معايير الأضداد لمرض التهاب الجراب المعدي باستخدام طريقة تحليل الفرق الوحيد بين مجاميع الدراسة المختلفة خلال فترة التربية التجريبية

عمر الطيور	شاهد 1	تجربة 1	شاهد 2	تجربة 2	شاهد 3	تجربة 3
5 يوم	3322.7	3322.7	3322.7	3322.7	3322.7	3322.7
13 يوم	3446.4	3928	3446.4	3928	3446.4	3928
22 يوم	3471.4	4086.2	3626.6	4182.8	3585	4559.8
29 يوم	3791.7	5445.7	3654.3	4798.3	5188.6	5540.2
36 يوم	6491	7950.4	6458.9	6561.6	5765.7	8504.2
41 يوم	12584	15528	12023	15152	12865	15662

$(P = 0.0008 < 0.05)$

المخطط البياني (1) مقارنة معايير الأضداد لمرض التهاب الجراب المعدي باستخدام طريقة تحليل الفرق الوحيد بين مجاميع الدراسة المختلفة خلال فترة التربية التجريبية



2- تأثير خميرة البيرة (الجمعة) على المناعة غير النوعية :

**Impact of Brewer`s yeast on non- Specific Immunity**

مقارنة النسب المئوية للخلايا اللمفاوية والمستغيرات باستخدام طريقة التحليل الوحيدة للفرق **One-Way-Analysis of Variance** :

تم استخدام طريقة التحليل الوحيدة للفرق بين مجاميع الشاهد التي لم يضاف لغذائها خميرة البيرة (الجمعة) ، وبين مجاميع التجربة التي أضيف لغذائها خميرة البيرة ، حيث تبين أن هناك زيادةً معنويةً في نسبة اللمفاويات عند مجاميع التجربة التي أضيف لها خميرة البيرة مع غذائها عنها في مجاميع الشاهد التي لم يضاف لها مع غذائها خميرة البيرة (الجمعة) ، حيث  $(P<0.05)$  وانخفضت بالمقابل نسبة خلايا المستغيرات انخفاضاً معنوياً عند مجاميع الدراسة التي أضيف لها خميرة البيرة مع غذائها عن تلك في الشاهد التي لم يضاف لها مع غذائها الخميرة حيث  $(P<0.05)$ .

الجدول رقم (2) مقارنة النسب المئوية للخلايا اللمفاوية بين مجاميع الدراسة المختلفة خلال فترة التربية التجريبية

التجربة 3	الشاهد 3	التجربة 2	الشاهد 2	التجربة 1	الشاهد 1	
35.2	33.6	34.1	33.7	31.9	30.2	عمرالطيور 7 يوم
37.5	35.5	36.4	34.7	35.3	34.4	عمرالطيور 14 يوم
45.3	43.3	44.2	43.1	43.8	42.7	عمرالطيور 21 يوم
49	46	48.2	47.1	47.8	46.5	عمرالطيور 28 يوم

60	55	58	55.2	57.2	56.4	عمر الطيور 35 يوم
63	50	62.2	59.9	61.2	59	عمر الطيور 42 يوم

المخطط البياني رقم (2) مقارنة النسب المئوية للخلايا اللمفاوية بين مجاميع الدراسة  
المختلفة خلال فترة التربية التجريبية

حيث كانت ( $P < 0.05$ )

الجدول رقم (3) مقارنة النسب المئوية لخلايا المستعمرات بين مجاميع الدراسة  
المختلفة خلال فترة التربية التجريبية

التجربة 3	الشاهد 3	التجربة 2	الشاهد 2	التجربة 1	الشاهد 1	
50.6	52.8	51.9	53.3	51.1	52.4	عمر الطيور يوم 7
47.7	48.7	47.6	47.9	49.9	48.6	عمر الطيور يوم 14
37.7	38.7	37.5	39.1	37.9	38.2	عمر الطيور يوم 21
32	34	33.8	34.2	33.5	34.5	عمر الطيور يوم 28
23	25	24	24.5	23.8	24.3	عمر الطيور يوم 35
22	23	22.6	22.8	21.5	22.4	عمر الطيور يوم 42

المخطط البياني رقم (3) مقارنة النسب المئوية لخلايا المستغيرات بين مجاميع  
الدراسة المختلفة خلال فترة التربية التجريبية

حيث كانت ( $P < 0.05$ )

**Discussion: المناقشة**

قدمت هذه الدراسة ، والتي استخدمت أحد المحسنات المناعية ممثلة بخميرة البيرة أو الجعة Brewer's yeast ، أو ما يدعى بالاسم العلمي سكرومييزس سيرفيسيا *Saccharomyces Cerevisiae* ، ذات المنشأ الطبيعي ، والتي تحوي على النيوكلوتهيدات النووية بالإضافة إلى فيتامين B وعنصر السيلينيوم وغيرها من العناصر الهامة التي تشابه تركيب الخلية الحية . بل هي أصل الخلية الحية ، والتي تُعرف بالنيوكلوتهيدات النووية ، وبهذا تقدم للخلية الطاقة اللازمة لعملية الانقسام الخلوي مباشرة بالإضافة إلى المواد الهامة في بناء الخلية ، وهذا يؤدي إلى قصر في فترة إنجاز عملية الانقسام الخلوي .

أثبتت الدراسة وجود فروق معنوية واضحة بين متوسط معايير الأضداد لمرض الجراب المعدي (الجمبورو ) بين مجموعات الشاهد ومجاميع الدراسة ، حيث كانت قيمة  $p = 00.0008$  ( حيث  $P < 0.05$  ) . بينما لم يكن هناك دلالات معنوية بين مجاميع التجربة فيما بينها حيث كانت قيمة  $P = 0.09$  ( حيث  $P > 0.05$  ) .

وقد توافقت نتائج هذه الدراسة مع العديد من الأبحاث كالباحثون ( Vetvicka, et al., 1996 ) ، في تجربة أجريت على دجاج اللحم حيث تم إضافة مخمرات الحبوب Brewer's grains ، والتي تحتوي على الخميرة الغنية ب بيتا غلوغانس ( beta-glucans ) ، والتي تعتبر كمعدلات طبيعية للاستجابة المناعية حيث عملت خميرة البيرة على تحفيز الأجسام المضادة المناعية بعد التحصين ضد فيروس النيوكاسل ، وعند قياس معيار الأجسام المضادة المناعية ضد مرض النيوكاسل في طيور دجاج اللحم المحصن الذي غذي على علف يحوي الخميرة كانت أعلى بفروق معنوية واضحة مقارنة مع مجموعة الشاهد التي لم يضاف لعلفها خميرة البيرة أو الجعة .

و توافقت هذه الدراسة مع الباحثون (Onifade and Babatunde,1998) حيث أن إضافة خميرة البيرة يؤدي لزيادة الوزن وزيادة مقاومة الطائر لمقاومة الأمراض المعدية ، وذلك عند معايرة الأجسام المضادة المناعية لمرض النيوكاسل .

وتوافقت أيضا مع الباحث ( Navarro,et al.,1996 ) حيث أكد أن إضافة النيوكلوتيدات النووية المناعية لها تأثير محفز للجهاز المناعي ، ويؤدي لإنتاج أجسام مضادة مناعية كما أنه يحسن إنتاج الأضداد (Ig)0 بشكل عام .

أثبتت الدراسة وجود زيادةً معنويةً واضحةً في نسبة الخلايا اللمفاوية لمجاميع التجربة التي أضيف لغذائها خميرة البيرة عن مجاميع الشاهد التي لم يضاف لها أية خميرة ، في جميع عينات الدم التي أخذت من طيور الدراسة كلها .

فكانت قيمة (  $p=0.0001$  ) حيث نجد (  $P<0.05$  )

هذه الزيادة المعنوية بكل الأعمار هي انعكاسٌ واضحٌ لزيادة المناعة العامة في جسم طيور التجربة عنها في طيور الشاهد ، حيث أن اللمفاويات هي المسؤولة عن إنتاج الأضداد ، وهذا مؤشرٌ واضحٌ على تحفيز وتنشيط الجهاز المناعي.

أما بالنسبة لخلايا المستعمرات فقد انخفضت في مجاميع التجربة التي أضيف لها في غذائها خميرة البيرة أو (الجعة)، مقارنةً مع مجاميع الشاهد التي لم يضاف لها خميرة مع غذائها ، وكان الانخفاض ذو قيمة معنوية في جميع عينات الدم التي أخذت في من طيور الدراسة كلها .

وكانت قيمة (  $p=0.0123$  ) حيث نجد (  $P<0.05$  )

وهذا الانخفاض يدل على تراجع العمليات الالتهابية في جسم الطيور ، وذلك للفعالية العالية للنيكولوتيدات النووية الموجودة في الخميرة لرفع المناعة ومقاومة الأمراض .

وقد توافقت نتائج هذه الدراسة مع العديد من الأبحاث

كالباحثون ( Aggett et al., 2002; and Adjei, )

(1993)، إن إضافة مركبات تحتوي على النيوكليوتيدات النووية كمتنيمات علفية يمكن أن يحرض و يحسن المناعة الخلوية الوسيطة Cell –mediated immunity (Van Buren et al., 1983) ، وإنتاج اللمفاويات Lymphocyte proliferation (Yamauchi et al., 1996) ، و تحسين مقاومة العائل عموماً و مقاومة الأخماج الجرثومية خاصةً . و في السنوات القليلة الماضية تم استخدام النيوكليوتيدات النووية عن طريق إضافتها مع غذاء الطيور كتمم علفي لتحسين الوظائف المناعية ، و تحسين فعالية اللقاح ، و مقاومة الأمراض. وكذلك الباحثون . (Park et al ., 1991; ) (Dejonge et al ., 2002) ، إن استعمال بعض المعدلات المناعية المناسبة Immunomodulator يمكن أن تحد من تأثيرات التنشيط المناعي للقاحات الحية ، كما ينشط و يحرض الأنماط الخلوية المختلفة الموجودة في الجهاز المناعي مثل الخلايا القاتلة الطبيعي (NK) Natural Killer cells ، والبلاعم والخلايا اللمفاوية ذات النمط B-T .

### **الاستنتاج : Conclusion**

مما تبين نجد أن استخدام خميرة البيرة أو الجعة يعتبر محفز للمناعة للوقاية من الأمراض، وقد أعطت خميرة البيرة عند إضافتها للعلف المقدم لدجاج اللحم بمقدار 1000 غ/طن معدلات عالية بالنسبة لمعايير الأضداد النوعية لمرض الجراب المعدي الجمبورو، عند استخدامها مع التحصين بالأنواع الثلاث من اللقاحات المستخدمة في سوريا ، مقارنةً مع مجاميع الشاهد التي لم يضاف لها في علفها الخميرة . كما أعطت نسبةً عاليةً من الخلايا اللمفاوية ، لمجاميع التجربة التي أضيف لغذائها خميرة البيرة، عن تلك في مجاميع الشاهد التي لم يضاف لها أية خميرة ، هذه الزيادة المعنوية بكل الأعمار هي انعكاس واضح لزيادة المناعة العامة في جسم طيور التجربة عنها في طيور الشاهد . حيث أن اللمفاويات هي المسؤولة عن إنتاج الأضداد وهذا مؤشّر واضح على تحفيز وتنشيط الجهاز المناعي .

**References:**

- 1) Abbas, A. K., and A. H. Lichtman. **Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System**. Philadelphia: W. B. Saunders Co., 2001. pp 28–61
- 2) AGGETT, R., LEACH J. L., RUEDA, R., MACLEAN, W. C. (2002)–**Innovation in Infant Formula Development: A Reassessment of Rib nucleotides**. Nutrition Journal, Vol. 19, No. 375-84.
- 3) ADJEI, A. A., TAKAMINE, F. YOKOYAMA, H. SHIOKAWA, K., MATSUMOTO, Y., ASTO, L. (1993)–**The effects of oral RNA and Intraperitoneal Nucleoside- Nucleotide Administration on Methillin-Resistant Staphylococcus Aureus Infection in Mice**. Journal of Parenter Enteral Nutrition. Vol. 17, No. 148-52.

- 4) Bhattacharjee, J.K.1970- **Microorganisms as Potential Sources of Food**, Advan. Appl. Microbiol., 13, 139-161
- 5) CARTER,H. E., AND G. E. PHILLIPS 1944 **Nutritive value of yeast protein.Federation** Proe., 3: 123-128.
- 6) Cameron A (1999) **Survey Toolbox A Practical Manual and Software Package for Active Surveillance of Livestock Diseases in Developing Countries.** Australian Centre for International Agricultural Research Monograph No. 54. pp 37 - 47
- 7) De Jonge WJ,Kwikkers WL,teVelde AA,van Deventer SJ,Notlte MA,Mebius RE,et al .2002-**Arginine deficiency affects early B cell maturation and lymphoid orgqn development in transgenic mice.** J Clin Invest,110.(10):1539-48.
- 8) Lukert , P.D ., Saif , Y .M . 1997- **infectious bursal disease** in:B.W.Calnek , H .J. Barnes ,C.W.Beard , L.R. McDouglass , Y.M. Saif (Eds) ., diseases of Poultry , 10 th ed , Iowa state University press ,Ames , IA , PP.721-738 .
- 9) Lee,L.H.andLin,Y.P. 1992-**Amonoclonal antibody capture enzyme – linked Immunosorbent assay for Detecting antibodies to infectious bursal disease virus.**Journal of virological methods,36:13-23.
- 10)Muller, H., Islam , R.,and Raue,R. ,2002-**Research on Infectious Bursal Diseas the past,the present and the future.**Veterinary Microbiology Journal,97:153-165
- 11)Navarro, J., A. Ruiz-Bravo, M. Jimenez-Varela, and. A. Gil. 1996. **Modulation of antibody-forming cell and mitogen-drive lymphoproliferative responses by die- tarynucleotides in mice.** Immunology Letters 53:141-145.



- 12) Onifade, A.A. and G.M. Babatunde, 1998- **Comparison the utilization of palm kernel meal, brewers' dried grains and maize offal by broiler chicks.** Br. Poult. Sci., 39: 245-250.
- 13) Park KG, Hayes PD, Garlick PJ, Sewell H, Eremin O. 1991- **Stimulation of lymphocyte natural cytotoxicity by L-arginine.** *Lancet*. 16.337(8742):645-
- 14) PICK, E., MIZEL, D. 1981- **Rapid Microassays for the Measurement of Superoxide and Hydrogen Peroxidase Production by Macrophages in Culture Using an Automatic Immunoassay Reader.** Journal of Immunol Methods, Vol: 46:211-26.
- 15) Stone, C. 1998- **Yeast products in the feed industry.** Ed. By Mills, d. Inc. Cedar Rapids, Iowa., p. 10-11.
- 16) STATISTIX, 1998- Analytical Softewar, Guideline manual , Version, 2.0. USA.
- 17) Van Buren, C. T., KLKARNI, A. D., SCHANDLE, V. B., RUDOLPH, F. B. (1983)- **The Influence of Dietary Nucleotides on Cell-Mediated Immunity.** Transplantation Journal, Vol. 36, No. 350-2.
- 18) Vetvicka, V., B.P. Thornton and G.D. Ross, 1996- **Soluble beta-glucan polysaccharide binding to the lectin of neutrophil or natural killer cell complement receptor type 3 (CD11b/CD18) generates a primed state of the receptor capable of mediating cytotoxicity of iC3b-opsonized target cells.** J Clin Invest. 1996;98(1):50-61. doi:10.1172/JCI118777
- 19) WHITEHEAD, J. A 2003- **Effect of Ascogen on intestinal Morphology and the Performance of the Broiler Chicken.** University of Nottingham, UK.

20) YAMAUCHI, K., ADJEI, A. A., AMEHO, C. K., CHAN, Y. C., KULKARNI, A. D. SATA. (1996)- **A nucleoside-Nucleotide Mixture and Its Components Increase Lymph proliferative and Delayed Hypersensitivity Responses in Mice.** Journal of Natural, Vol. 126, No. 1571-7.