



## تقييم حليب الأطفال المتوفر في السوق الليبي: طرق التحضير،

### مطابقة المواصفات الليبية، المحتوى البكتيري.

فرج علي ابوشعالة	عبد الغني علي امشبيحيت	عبد اللطيف احمد أبوشوفة	كريم جبريل كريم	عائشة مصطفى ابورويص	*نصرالدين رجب رحومة
قسم الأحياء الدقيقة	مركز الرقابة على الأغذية	قسم الإنتاج النباتي - كلية الزراعة - جامعة مصراتة	قسم الأحياء الدقيقة	مركز مصراتة الطبي	قسم الأحياء الدقيقة كلية العلوم /جامعة مصراتة
كلية العلوم /جامعة مصراتة	والأدوية مصراتة		كلية العلوم /جامعة مصراتة		

\*n.rhouma@sci.misuratau.edu.ly

استلم البحث بتاريخ 2022/1/9م أجاز البحث بتاريخ 2022/7/1م نشر البحث بتاريخ 2022/7/30

## الملخص

حليب الأطفال الصناعي المجفف (PIF) هو الحليب الذي يتم تحضيره صناعياً كبديل لحليب الأم؛ على الرغم من كونه ليس خال تماماً من الكائنات المرضية. تم استبيان طرق التحضير المتبعة من قبل الأمهات ومكونات الحليب الجاف للعلامات التجارية المتوفرة بالإضافة إلى الحمولة البكتيرية لأنواع الحليب المستخدمة في الشمال الغربي بليبيا. بينت الدراسة عدم اتباع الأمهات للتوصيات الخاصة بتحضير PIF، كما نتج عن الدراسة تطابق بين جميع العلامات التجارية من حيث المكونات، على الرغم من ذلك، تباينت توصيات العلامات التجارية المختلفة من حيث درجة الحرارة الموصى بها عند إضافة المسحوق. تم عزل العديد من الأنواع البكتيرية المرتبطة بإمراضية الأطفال مثل *E. coli & Cronobacter spp. & Enterobacter cloacae & Citrobacter spp. & Klebsiella spp. & Staphylococcus aureus & Staphylococcus epidermidis*. عزلت أنواع *Cronobacter spp.* مقاومة وبنسبة عالية للسيسفالموسبورينات من الجيل الثاني والثالث، وجدت الدراسة وجود فوارق معنوية بين أنواع الحليب المختلفة من حيث تلوثها بالميكروبات .

الكلمات المفتاحية: حليب الأطفال - الصناعي - المجفف - بكتيريا - المكونات - درجة حرارة - التحضير.

## 1. المقدمة

تم اعتبار أن PIF منتج آمن خالي من الأمراض (Ryan, 1997) ، وبعد ذلك بثلاثة عقود أوصت العديد من المنظمات المنظمة للقوانين الصحية (CDC, 2002 : FDA, 2002 : FAO/WHO, 2006 : FAO/WHO, 2004) بأنه لا يوجد بديل يطابق الرضاعة الطبيعية، وأن السماح بالرضاعة البديلة في حالات محدودة مثل أطفال الأمهات المصابة بالإيدز وجراحات الثدي كذلك لتجنب خطر حدوث سوء التغذية (Stuebe, 2009) تعتبر السنة الأولى من عمر الإنسان هي الفترة الأهم بالنسبة للأطفال، خاصة نظامه الغذائي، كذلك بالنسبة لصحة الطفل العقلية والفيزيائية، وبشكل عام حتى بلوغ عمر 24 شهر يتوجب تغذية الطفل عن طريق الرضاعة الطبيعية. (FAO & WHO, 2004)

PIF هو حليب بقر أو حليب ماعز يتم تعقيمه ومن ثم يتم تجفيفه بعد ذلك يتم تدعيمه بالمغذيات ليشابه في تكوينه حليب الأم. (Martin, et al, 2016) على الرغم من أن PIF يحفظ مجففاً، إلا أن بعض الأنواع البكتيرية كـ *Cronobacter*



Spp وغيرها من البكتيريا الممرضة تستطيع الصمود في البيئة الجافة لمدة تزيد عن السنتين والنصف (Caubilla-Barron & Forsythe, 2007). هذه الأنواع البكتيرية تستطيع النمو عندما يتم تحضير PIF عند درجة الحرارة المناسبة لنموها (FAO/WHO, 2004).

يضمن تحضير وجبة PIF عند درجة حرارة 70°م وترك الوجبة عند درجة حرارة الغرفة لتبرد حتى درجة حرارة 37°م التخلص من الغالبية العظمى من الكائنات الدقيقة الممرضة التي قد تتواجد في مسحوق PIF (FAO/WHO, 2004: FAO/WHO, 2007: FAO/WHO, 2008). في دراسة سابقة FSA project B13010 تم تضمين أحد عينات PIF صُنعت ببولندا وتم جمعها من ليبيا وذلك لمقارنة طرق تحضير PIF في بعض الدول النامية، وعلى الرغم من أن درجة الحرارة التي أوصت الدراسة بأن تتم إضافة الحليب عندها كانت الأفضل (60°م) مقارنة بالعينات التي تم جمعها من الدول الأخرى (Forsythe, 2009)، إلا أنها غير كافية للتخلص من الكائنات الدقيقة الممرضة والملوثة لمسحوق PIF (FAO/WHO, 2007).

بكتيريا *Cronobacter sakazakii* سالبة لصبغة جرام، غير مكونة للأبواغ، متحركة، احد البكتيريا المسببة للتسمم الغذائي، ينتمي هذا النوع البكتيري لعائلة الامعائيات (Iversen et al., 2008)، هذه البكتيريا الممرضة تتسبب في العديد من الأمراض مثل الالتهاب المعدي القولوني (NEC)، تجرثم الدم، التهاب السحايا الدماغية، وتسبب الإصابة بهذه الأمراض في بعض الحالات الى وفاة الأطفال (Bar-Oz et al., 2001; Bowen and Braden, 2006; Caubilla-Barron et al., 2007; Lai, 2001). وتعتبر المجموعة الأكثر تعرضا للخطر هم الأطفال (عمر أقل من سنة) والأشخاص ذوي المناعة المنخفضة. حديثو الولادة يعتبرون هم الأطفال الأكثر عرضة للخطر وبالخصوص المواليد منخفضي الوزن عند الولادة والأطفال الخدج (FAO/WHO, 2004: FAO/WHO, 2006: FAO/WHO, 2008). تم عزل أنواع بكتيريا *Cronobacter* من العديد من الأغذية مثل الحبوب، الأجبان، الفواكه، اللحوم، الحليب، الخضروات والبهارات (Friedemann, 2007; Iversen & Forsythe, 2003). يعتبر عزل *Cronobacter spp.* من حليب الأطفال الأهم من الناحية الطبية، وهو الأمر الذي أظهر أهمية هذا النوع من البكتيريا لعلماء الأحياء الدقيقة (Forsythe, 2005). (Himmelright et al., 2002; van Acker et al., 2001). يعتبر PIF منتج غير خالٍ من الكائنات الممرضة، على العكس من ذلك فإن الحليب المعقم الجاهز للاستهلاك يعتبر معقم وبذلك خالٍ تماما من الكائنات الدقيقة ومن ضمنها الأنواع البكتيرية الممرضة. (Forsythe, 2005).

على الرغم من أن *Cronobacter sakazakii* تعتبر أكثر الكائنات الدقيقة الممرضة المعزولة من الحليب، هناك أنواع بكتيرية أخرى تابعة لعائلة الامعائيات تم عزلها من PIF. الممرضات التابعة للامعائيات تم عزلها بنسبة 52% من مجموع 141 نوع مختلف من PIF تم جمعها من 35 دولة عبر العالم في سنة 1988 (Muytjens et al., 1988). تعتبر الامعائيات أيضا



مسبباً للالتهابات الجهازية في الأطفال حديثي الولادة تتناقص قدرتها على ذلك كلما زادت أعمارهم. في حين أن بكتيريا *Cronobacter sakazakii* تحظى بالاهتمام الأكبر على الرغم من ندرة عزلها من العينات الطبية، الأنواع البكتيرية الأخرى التابعة لعائلة الامعائيات والتي تم عزلها من PIF تعتبر أيضاً مسؤولة عن الالتهابات في الأطفال، ونظراً لقلة التقارير المرتبطة التي تبين دورها كمرضات مرتبطة مع PIF. في سنة 1994 حدث تفشي إصابة للأطفال الرضع بوحدة العناية المركزة للأطفال حديثي الولادة ببكتيريا *Citrobacter freundii* وتم تعريف PIF كناقل للعدوى لجميع الأطفال المصابين عند حدوث تلك العدوى (Thurm & Gericke., 1994). كذلك تم ربط تفشي الإصابة بالسالمونيلا بين حديثي الولادة بحليب الأطفال الذي تم عزل الكائن المسبب منه والمرتبط بجميع الإصابات. (Angulo et al., 2008)

تعتبر الطريقة التي يتم بها تحضير وجبة الطفل كذلك سلوك الأمهات في التعامل مع وجبات الأطفال السبيل الأمثل لقطع مسار العدوى. حيث أن إضافة مسحوق الحليب عند درجة حرارة 70°م وترك المزيج حتى يبرد عند درجة حرارة الغرفة كفيل بالتخلص من أغلب الكائنات الممرضة (أبوريص وآخرون 2019). أغلبية النساء في ليبيا لا يقمن بتحضير وجبات PIF بالصورة المثلى الأمر الذي قد يكون مدعى للقلق، وعلى الرغم من ارتفاع نسبة الأمهات اللاتي تلقين تعليمهن إلى المستوى المتوسط والعالي، إلا أن الأمهات الحاصلات على مستوى عالٍ من التعليم أظهرن أقل اهتماماً بطرق التحضير سواء الموصى بها من قبل منظمة الصحة العالمية أو المدونة على علب الحليب المجفف الأمر الذي سبب في ارتفاع نسبة إصابة أطفالهن بالإسهال (أبوريص وآخرون 2019). وحتى في الدول المتقدمة صناعياً مثل الولايات المتحدة، أظهرت إحدى الدراسات أن أكثر من ثلاثة أرباع الأمهات المشاركات بالدراسة لم يتلقين معلومات كافية عن طريقة تحضير وجبة PIF لأطفالهن، كذلك ونسبة متقاربة لم يتلقين ما يكفي من المعلومات حول تخزين المخلوط المتبقي من الوجبة، كذلك بينت الدراسة بأن 55% من الأمهات لا يقمن بتعقيم زجاجة الإرضاع بشكل دوري، وأوصت الدراسة بالرفع من مستوى ثقافة الأمهات حول طرق تحضير الوجبات لأطفالهن. (Fein, et al. 2008) من المهم رفع المستوى المعرفي والعمل على الرقي بمهارات الأمهات للوصول إلى المستوى الأمثل لتجنب المخاطر التي قد تحدث كنتيجة إلى عدم تحضير وجبة PIF بالصورة الصحيحة (Ellison, et al., 2017).

## 2. المواد وطرق العمل

### 1.2. الاستبانة وتوصيات التحضير المعلمة على علب PIF:

تم جمع 500 نموذج استبانة من ضمن الاستبانات التي تم توزيعها على الأمهات في الشمال الغربي الليبي، تم تحليل البيانات حسب إجابات الأمهات لأجل فهم مدى التزامهن بالتوجيهات المدونة على علب التحضير لفهم مدى التزامهن بطرق



التحضير الآمن لوجبة PIF لغرض تغذية أطفالهن، وذلك من حيث الالتزام بدرجة الحرارة التي يتم عندها إضافة مسحوق PIF ، زمن التبريد، تعقيم الماء قبل إضافة المسحوق، فترة تخزين الحليب المتبقي من الوجبة وتعقيم علبة الإرضاع قبل الاستخدام (Family Health Service The Department of Health Hong Kong SAR Government, 2013). خمسة عشر نوعاً من الحليب المجفف (الأكثر استخداماً من قبل الأمهات) تم جمعها من أرفف الصيدليات من مدينة مصراتة الواقعة ضمن منطقة الدراسة، سبعة أنواع منها بالإضافة الى نوعي الحليب المبسترين منزلياً، والتي يتم استخدامها لتغذية الأطفال عمر 0-6 شهور تم اختبارها لعزل الأنواع البكتيرية الممرضة والتي قد تكون متواجدة في تلك الأنواع. جميع علب PIF كانت سليمة من حيث الشكل الخارجي وكانت جميعها مخزنة في درجة حرارة الغرفة وغير معرضة لأشعة الشمس، كذلك كانت جميعها ضمن فترة الصلاحية. وذلك لأجل تقييم مدى تقييد الأمهات بتوجيهات التحضير التي اوصت بها الشركة المصنعة ومقارنتها بتوصيات منظمة الصحة العالمية سنة. (FAO/WHO, 2007)

### 2.2. الاختبارات البكتيرية:

تم جمع ثلاثة علب من كل نوع من أنواع الحليب التسعة الأكثر استخداماً من قبل الأمهات، ثمانية أنواع يتم استخدامها من قبل الأمهات المشاركات للأطفال ما دون سن الستة أشهر المشاركات في الدراسة ونوع واحد يتم استخدامه للأطفال في عمر 6-24 شهر، وذلك بشرائها بشكل عشوائي من الصيدليات بمنطقة الدراسة، تم اجراء الاختبارات البكتيرية عزلا وتعريفا وفق الدراسة التي قامت بها (Caubilla-Barron, et al., 2004).

تم إجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية للبكتيريا المعزولة باستخدام طريقة القرص المنتشر (Bauer et al., 1959) ، تم ذلك باستخدام المضادات الحيوية شائعة الاستعمال من قبل أطباء الأطفال في منطقة الدراسة وذلك لأجل اختبار مدى قدرة تلك المضادات الحيوية على مقاومة الأنواع البكتيرية المتواجدة في أنواع المنتج الخاضعة للدراسة. تم تحليل البيانات الناتجة عن الاستبانة باستخدام اختبار مربع كاي Chi- Square test للاستدلال على مستوى الثقة للبيانات المتحصل عليها.

### 3. النتائج

تم جمع 18 نوع من PIF أثناء فترة الدراسة من السوق المحلي بمنطقة الشمال الغربي لليبييا، هذه الأنواع يتم استخدامها لتحضير الوجبات للأطفال منذ الولادة وحتى عمر 24 شهر. من ضمن جميع تلك الأنواع، 42.2% من الأمهات استخدمن العلامة التجارية Bebelac ، في حين استخدمت 19.8% حليب Myboy ، بينما تم استخدام العلامات التجارية Primalac ، Nido، Ensure ، بنسبة 6%، و5.2% و5.2% على التوالي من قبل إجمالي الأمهات المشاركات في الدراسة، بينما تم استخدام باقي الأنواع المتوفرة من قبل الأمهات بنسب اقل من 2%، جدول رقم 1.



## جدول (1) أنواع الحليب المجفف (PIF) المستخدمة لتغذية الأطفال من قبل الأمهات اللبيات

والمباع بالشمال الغربي الليبي.

نوع PIF	التكرار	النسبة %	نوع PIF	التكرار	النسبة %
Bebelac	211	42.2	S26	7	1.4
Guigoz	15	3	حليب بقر	6	1.2
Myboy	99	19.8	Plasmon	7	1.4
Primalac	30	6	Ensure	28	5.6
Liptomil	7	1.4	Soy Powdered	7	1.4
Aptamil	5	1	Evaporated milk	3	0.6
Similac	8	1.6	Promil	3	0.6
NIDO	26	5.2	Progress	16	3.2
PediaSure	3	0.6	أكثر من نوع	19	3.8

تم ذكر أسماء العلامات التجارية كما ذُكرت من قبل الشركات المصنعة.

في هذه الدراسة تم استبيان الأمهات ما إذا كن يقمن بتغذية أطفالهن عاداتاً عن طريق حليبهن أم عن طريق استخدام الحليب الصناعي أو تغذية خلطيه (حليب الأم بالإضافة للحليب الصناعي). تقريباً 34% من الأمهات قمن بإرضاع أطفالهن حتى الستة أشهر الأولى إرضاعاً طبيعياً، بينما فقط 12% قمن بإرضاع أطفالهن طبيعياً حتى عمر 18-24 شهر. أما عند استبيان الفترة التي بدأت عندها الأمهات بإدخال الحليب الصناعي لوجبات أطفالهن، أجابت 45% من المشاركات بأنهن قن بذلك خلال الثلاثة شهور الأولى من عمر الطفل في حين 8% فقط ادخلن الرضاعة الصناعية بعد عمر 9 أشهر جدول رقم 2.

## جدول (2) إجابات الامهات على الأسئلة المتعلقة بالاعدادات التي تؤمن القضاء على الكائنات الدقيقة

م	السؤال	العدد	النسبة N (%)	ملاحظات
السؤال الأول	هل تقومين بقراءة تعليمات التحضير المذكورة على العلبة؟			47(9.4) <sup>(a)</sup>
	نعم	385	77	
	لا	68	13.6	
السؤال الثاني	هل تقومين بتخزين الحليب المتبقي للاستفادة منه مرة أخرى؟			44(8.8) <sup>(a)</sup>
	نعم	43	8.6	
	لا	413	82.6	
السؤال الثالث	هل تقومين بتسخين الحليب المتبقي لغرض إعادة استخدامه؟			45(9) <sup>(a)</sup>
	نعم	13	2.6	
	لا	442	88.4	
السؤال الرابع	ماهي الفترة التي تستخدمين علبة PIF بعد استخدامها أول مرة؟			53(10.6) <sup>(a)</sup>
	15 فأقل	444	88.8	



	0.6	3	أكثر من 15 يوم	
40(8) <sup>(a)</sup>			هل تقومين بقراءة تاريخ الصلاحية قبل الاستخدام؟	
	87.8	439	نعم	السؤال الخامس
	4.2	21	لا	
77(15.4) <sup>(a)</sup>			ما نوع المادة المصنوع منها عبلة الإرضاع التي تستخدمونها للإرضاع الصناعي؟	السؤال السادس
	72	360	زجاج	
	12.9	63	بلاستيك	
40(8) <sup>(a)</sup>			هل تقومين بغلي قارورة الإرضاع قبل كل عملية إرضاع؟	السؤال السابع
	67.4	337	نعم	
	22.4	112	لا	
	2.2	11	أحيانا	
			هل تقومين باستخدام المطهرات لتعقيم قارورة الإرضاع؟	السؤال الثامن
	87.8	439	نعم	
	4.2	21	لا	
	8	40	أحيانا	
			هل تقومين باستخدام الفرشاة المخصصة لقارورة الإرضاع عند تنظيف القارورة؟	السؤال التاسع
	73.8	369	نعم	
	2.4	12	لا	
	15.2	76	أحيانا	
45(9) <sup>(a)</sup>			هل تقومين وبشكل دائم بتعقيم الماء عن طريق الغلي قبل استخدامه في تحضير PIF؟	السؤال العاشر
	80.6	403	نعم	
	10.4	52	لا	
			عند غلي الماء قبل تحضير الوجبة، هل يتم الغلي لمدة 1-5 دقائق؟	السؤال الحادي عشر
	22.2	111	نعم	
	36.6	183	لا	
	41.2	206	غير متأكدة	
			هل تقومين بتبريد الماء قبل إضافة مسحوق PIF؟	السؤال الثاني عشر
	69.8	349	نعم	
	18.8	94	لا	
	11.4	57	أحيانا	
			هل تقومين بإضافة مسحوق PIF للماء عند درجة حرارة 70°م؟	السؤال الثالث عشر
	0.2	1	نعم	
	44	220	لا	
	32.8	164	لا أعلم	
	23	115	لا إجابة	

= لا إجابة. ∞ = لا أعلم.

تعتبر قراءة تاريخ الصلاحية وطريقة التعامل مع المنتج من الأساسيات التي تساعد المستهلك على الاستفادة القصوى من المنتج وتجنب أي أضرار قد تتسبب في الحاق الضرر. بينت هذه الدراسة إن غالبية الأمهات اللاتي شاركن في الدراسة (87.8%) يقمن بقراءة تاريخ الصلاحية في حين إن البقية لا يقمن بذلك أو لم يجبن على السؤال. في حين إجابات 77% من الأمهات





بأنهن يقمن بقراءة التعليمات المتعلقة بتحضير وجبة PIF ، في حين 13.6% أكدن بأنهن لا يقمن بذلك، أما 9.4% لم يجبن على السؤال، جدول رقم 2.

يعتبر ما قد يتبقى من PIF المخلوط بعد الوجبة في زجاجة الإرضاع وسط ملائم لنشاط الأنواع البكتيرية وخاصة الممرضة منها وفرصة لتكوين البيوفلم على سطح قارورة الإرضاع والذي من الممكن تكونه على المواد التي يتم تصنيع قارورة الإرضاع منها سواء الزجاج أو البلاستيك. تقوم 72% من الأمهات بتفضيل استخدام القوارير المصنوعة من الزجاج، في حين تستخدم 12.9% القوارير المصنوعة من البلاستيك، ولم تجب البقية على السؤال. لا تقوم 22.4% من الأمهات بغلي قارورة الإرضاع في حين 8% لم يجبن عن السؤال المعني بالأمر. تستخدم غالبية (87.8%) الأمهات المطهرات لأجل التخلص من الممرضات بشكل دائم أما 37% منهن فيستخدمن المطهرات في بعض الأحيان، ولا تستخدم البقية المطهرات مطلقاً. 73.8% من الأمهات يستخدمن الفرشاة لتنظيف قارورة الإرضاع بشكل دائم، بينما 15.2% منهن لا يقمن بذلك، أما ما نسبته 2.4% لا يستخدمن الفرشاة إلا في بعض الأحيان، جدول رقم 2.

يعتبر تحضير وجبة الحليب بماء غير معقم من المخاطر التي قد يتسبب عنها إصابة الأطفال بالكائنات الممرضة. تمت الإشارة لتعقيم الماء في الاستبانة، أجابت 80.6% من الأمهات المشاركات بأنهن يقمن بغلي الماء قبل استخدامه لغرض تحضير وجبة PIF في حين 10.4% لا يقمن بذلك أما البقية فلم يجبن عن السؤال المطروح. وبشكل أدق، تم سؤال الأمهات ما إذا كن يقمن بغلي الماء مدة 1-5 دقائق، 36.6% منهن لا يقمن بذلك، في حين إن نسبة 41.2% غير متأكدات من المدة الزمنية، أما 22.2% أجبن بأنهن يقمن بغلي الماء للمدة المذكورة. يتم تبريد الماء قبل تحضير وجبة PIF من قبل 69.8% بينما بقية الأمهات أما أنهن لا يقمن بذلك (18.8%) أو أنهن غير متأكدات من تبريد الماء (11.4%). من بين جميع المشاركات في الاستبانة، واحدة فقط (0.2%) من ضمن الأمهات المشاركات في الاستبانة تقوم بإضافة الماء عند درجة حرارة 70°م في حين لا تقوم 44% منهن بذلك، أما 32.8% فلسن متأكدات في حين 23% لم يجبن عن السؤال المطروح جدول رقم 2.

أوصت منظمة الصحة العالمية بعدم استخدام PIF بعد مضي ساعتين من تحضيره مع حفظه في الثلاجة في تلك الفترة، حيث يجب على الأمهات عدم استخدامه لتغذية أطفالهن، كذلك عدم استخدام مسحوق PIF بعد فتح العلبة بمدة 15 يوم من فتحها. 82.6% من الأمهات لا قمن باستخدام الحليب المتبقي، بينما تقوم 8.6% منهن بتخزين وجبة PIF المتبقية لغرض إعادة استخدامها، أما 8.8% من الأمهات فلم يجبن عن السؤال المطروح. القليل جدا من الأمهات (2.6%) يقمن بتسخين الحليب المتبقي قبل إعادة استخدامه، في حين 9% لم يجبن عن السؤال المطروح في حين 48.8% من الامهات



المشاركات لا يقمن باستخدام ما تبقى من الوجبة. عند استبيان فترة استخدام مسحوق الحليب بعد فتح العلبة فقد إجابات الغالبية العظمى (88.8%) من الأمهات بأنهن لا يستخدمن مسحوق PIF بعد مضي 15 يوم عن فتح العلبة، بينما 0.6% أكدن بأنهن يقمن باستخدام العلبة لفترة أكثر من ذلك، أما البقية (10.6%) فلم يجبن عن السؤال المذكور جدول رقم 2.

تم تقييم عدد الوحدات المكونة للمستعمرة (CFU) لسبعة أنواع من الحليب المجفف، ستة أنواع يتم استخدامها للأطفال ما دون الستة أشهر بالإضافة الى نوع NIDO والذي يتم استخدامه بعد عمر السنة، بالإضافة الى نوعي الحليب المبسترين منزلياً. تراوح عدد البكتيريا المتواجدة في الأنواع المختلفة ما بين  $10^6 \times 3.48$  و  $10^5 \times 6.62$  جدول رقم 3.

جدول (3) عدد البكتيريا المتواجدة في أنواع الحليب PIF بالإضافة الى نوعي الحليب المبستر المنزلياً.

نوع PIF	متوسط عدد البكتيريا لكل مل <sup>©</sup>	
Bebelac	$3.48 \times 10^6$	1
Myboy	$3.02 \times 10^6$	2
Guigoz	$3.00 \times 10^6$	3
Primilac	$2.40 \times 10^6$	4
Similac	$2.60 \times 10^6$	5
Plasmon	$2.08 \times 10^6$	6
NIDO	$3.78 \times 10^6$	7
Cow milk	$7.46 \times 10^5$	8
Goat Milk	$6.62 \times 10^5$	9

© = ملي لتر جاهز للإرضاع.

تم تعريف العديد من الأنواع البكتيرية من تسعة أنواع الحليب المجفف ستة أنواع يتم استخدامها قبل بلوغ الطفل عمر ستة أشهر ونوع واحد يتم استخدامه بعد ذلك العمر بالإضافة الى كلاً من حليب البقر وحليب الماعز المبسترين منزلياً التي تم جمعها من السوق المحلي بمنطقة الدراسة. اختلفت أنواع البكتيريا الممرضة من حيث تكرار العزل والأنواع البكتيرية المعزولة. حيث تم عزل بكتيريا *Staphylococcus aureus* من جميع العلامات التجارية دون استثناء. تم عزل النسبة الأعلى (67%) من PIF العلامة التجارية Bebelac أما النسبة الأقل (11%) فتم عزلها من العلامة التجارية Similac، كان تكرار عزل بكتيريا *Staphylococcus aureus* الأعلى معنوياً.  $P < 0.5$  (Chi-Square test).

أما بكتيريا *Staphylococcus epidemidis* فقد تم عزلها فقط من العلامات التجارية Bebelac و Myboy و Primalac بنسبة 44% و 89% و 22% على التوالي. بينما تم عزل بكتيريا *E. coli* فقط من العلامة التجارية Primalac بنسبة



11%. تم عزل بكتيريا *Citrobacter freundii* من العلامتين التجاريتين Similac و Bebelac ونسبة متساوية 11%. تم عزل بكتيريا *Enterobacter cloacea* من العلامتين التجاريتين Bebelac و حليب الماعز Goat Milk ونسبة 11%. تم تعريف خمسة عزلات من بكتيريا *Cronobacter spp*. من كل أنواع الحليب التي تم جمعها من السوق المحلي، تم عزل عذلة واحدة من كل من نوعي الحليب Myboy و حليب الماعز ونسبة 11%، بينما تم عزل هذا النوع البكتيري ثلاث مرات من حليب البقر ونسبة 33%. تم مقارنة العلامات التجارية المختلفة من حيث تكرار عزل البكتيريا الممرضة، وجدت الدراسة أن كلا من النوعين Bebelac و Myboy أعلى معنوياً من حيث عزل الممرضات منهما بالمقارنة مع العلامات التجارية الأخرى ( $P < 0.5$  (Chi-Square test)، جدول رقم 4.

جدول (4) الأنواع البكتيرية المعزول من أنواع الحليب الخاضعة للدراسة البكتريولوجية.

		نوع PIF									الإجمالي	
		B e b e l a c	M y b o y	G u i g o z	P r i m a l a c	N I D O	P l a s o n	S i m i l a c	C o w m i l k	G o a t m i l k		
نوع البكتيريا	موجبة جرام	<i>Staphylococcus aureus</i>	6	5	3	3	2	2	1	3	3	28
			67%	56%	33%	33%	22%	22%	11%	33%	33%	43%
	موجبة جرام	<i>Bacillus</i>	2	1	1	3	1	0	2	0	0	10
			22%	11%	11%	33%	11%	0%	22%	0%	0%	15%
	موجبة جرام	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	8	0	2	0	0	0	0	0	14
			44%	89%	0%	22%	0%	0%	0%	0%	0%	22%
	سلبية جرام	<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
			0%	0%	0%	11%	0%	0%	0%	0%	0%	2%
	سلبية جرام	<i>Citrobacter freundii</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2
			11%	0%	0%	0%	0%	0%	11%	0%	0%	3%
	موجبة جرام	<i>Klebsiella</i>	0	2	0	0	1	0	0	0	0	3
			0%	22%	0%	0%	11%	0%	0%	0%	0%	5%
	موجبة جرام	<i>Enterobacter cloacea</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2
			11%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	11%	3%
موجبة جرام	<i>Cronobacter spp</i>	0	1	0	0	0	0	0	3	1	5	
		0%	11%	0%	0%	0%	0%	0%	33%	11%	8%	
الإجمالي		14	17	4	9	4	2	4	6	5	65	
		22%	26%	6%	14%	6%	3%	6%	9%	8%	100%	



وتم اختبار الأنواع البكتيرية المعزولة من حيث قدرتها على مقاومة المضادات الحيوية شائعة الاستخدام لعلاج الأطفال في منطقة الدراسة وتم تحديد درجة المقاومة وفق (Hudzicki, 2009). حوالي نصف عزلات بكتيريا *Staphylococcus aureus* كانت مقاومة للمضادات الحيوية Augmentin و Cefuroxime و Ceftriaxone في حين كانت جميعها حساسة للمضادين الحيويين Gentamycin و Vancomycin بينما كانت 7% من العزلات مقاومة للمضاد الحيوي Erythromycin. أما عزلي بكتيريا *Citrobacter Spp* فكلاهما كانتا مقاومتين للمضاد الحيوي Augmentin بينما كانت واحدة فقط (50%) مقاومة للمضادين الحيويين Cefuroxime و Ceftriaxone بينما جميع العزلات كانت حساسة للمضادين الحيويين Gentamycin و Nalidixic acid. قاومت كلا العزلتين المعرفتان *Enterobacter cloacea* المضادات الحيوية Augmentin و Cefuroxime و Ceftriaxone بينما أحدهما كانت مقاومة للمضاد الحيوي Nalidixic acid ، في حين كانت العزلتان حساستين للمضاد الحيوي Gentamycin. تم عزل خمسة عزلات *Cronobacter spp.*، جميعها كانت مقاومة للمضادين الحيويين Augmentin و Ceftriaxone بينما كانت نسبة مقاومة العزلات للمضادات الحيوية Cefuroxime و Gentamycin و Nalidixic acid 60% و 20% و 40% على التوالي جدول رقم 5.

جدول (5): يوضح مقاومة الأنواع البكتيرية المعزولة للمضادات الحيوية شائعة الاستخدام.

NA 30mg n(%)	VA 30mg n(%)	E 15mg n(%)	CN 10mg n(%)	CRO 30mg n(%)	CXM 30mg n(%)	AMC 30mg n(%)	
χ	0(0)	2(7)	0(0)	13(46)	14(50)	13(46)	<b>(+)Staphylococcus aureus (n=28)</b>
χ	0(0)	1(10)	0(0)	6(60)	6(60)	5(50)	<b>Bacillus (n=10) (+)</b>
χ	0(0)	8(57)	0(0)	6(43)	8(57)	10(71)	<b>(+)Staphylococcus epidermidis (n=14)</b>
1(100)	χ	χ	0(0)	1(100)	1(100)	1(100)	<b>(-) E. coli (n=1)</b>
0(0)	χ	χ	0(0)	1(50)	1(50)	2(100)	<b>(-) Citrobacter spp. (n=2)</b>
1(33)	χ	χ	0(0)	3(100)	1(33)	3(100)	<b>(-) Klebsiella (n=3)</b>



1(50)	χ	χ	0(0)	2(100)	2(100)	2(100)	(-) <i>Enterobacter cloacea</i> (n=2)
2(40)	χ	χ	1(20)	5(100)	3(60)	5(100)	(-) <i>Cronobacter spp.</i> (n=5)

(+) = موجبة لصبغة جرام. (-) = سالبة لصبغة جرام. χ = لا يتم استخدامه لعلاج الإصابة بهذا النوع البكتيري. % = النسبة المئوية. N = تكرار عزل النوع البكتيري، النسبة المئوية %N.

AMC= Augmentin, CXM= Cefuroxime, CRO =Ceftriaxone, CN= Gentamycin, E=Erythromycin, VA=Vancomycin. NA= Nalidixic acid

#### 4. المناقشة

تم إجراء هذه الدراسة استكمالاً لدراسة (ابورويص وآخرون، 2019)، حيث تركزت هذه الدراسة على أنواع PIF المتواجدة في السوق الليبي بالإضافة إلى أنواع الحليب المبستر منزلياً والمباع في السوق المحلي بمنطقة الدراسة، بالإضافة إلى ذلك تقييم طرق تحضير الحليب ومدى إمكانية مساهمتها في التخلص من الممرضات المتوقع تواجدها في كل أنواع الحليب المذكورة، كذلك الأنواع البكتيرية الممرضة المتواجدة في تلك الأنواع بالإضافة إلى مقاومتها للمضادات الحيوية شائعة الاستعمال من قبل أطباء الأطفال في منطقة الدراسة.

يعتبر حليب الأطفال الصناعي منتجاً ليس خالٍ تماماً من البكتيريا الممرضة (Forsythe, 2005)، الأمر الذي يتطلب التعامل مع مسحوق حليب الأطفال المجفف PIF بشكل مقنن لأجل التخلص من تلك الممرضات وذلك بالتعقيم الجيد للأدوات المستخدمة بالإضافة إلى استخدام الماء بعد تعقيمه بصورة جيدة وإضافة مسحوق الحليب عند درجة حرارة 70°م وترك الخليط حتى يبرد عند درجة حرارة الغرفة. (WHO, 2006 & 2007) بينت الدراسة السابقة (أبورويص وآخرون، 2019) قيام بعض الأمهات باستخدام حليب البقر وحليب الماعز المبسترتين منزلياً والمتوفرين في السوق المحلي وذلك لتغذية أطفالهن، الأمر الذي استدعى الكشف عن وجود أي بكتيريا ممرضة قد تسبب الإصابة بها في حدوث إسهال للأطفال الرضع. كذلك بينت نفس الدراسة (أبورويص وآخرون، 2019) ارتباط الإصابة بالإسهال مع عدم الأخذ بإرشادات الشركات المصنعة بعين الاعتبار كذلك عدم مواكبة اللوائح الليبية لتوصيات الناتجة عن اجتماع منظمة الصحة ومنظمة الأغذية والزراعة سنة 2008.

يعتبر حليب الأم هو الغذاء الأمثل للطفل خلال أول سنتين من عمر الطفل، ولا يوجد أي بديل يمكن أن يطابقه، وقد أوصت العديد من الهيئات الدولية بعدم اللجوء إلى الرضاعة الصناعية إلا في حدود ضيقة (FAO/WHO, 2006) ((CDC, 2002) كذلك بعض الدراسات منها ((Martin, et al., 2016) والتي أكدت عدم إمكانية توفر بعض المواد



كالأجسام المضادة في الحليب الصناعي والتي يوفرها حليب الأم فقط. قامت 12% من الأمهات بإرضاع أطفالهن طبيعياً حتى عمر 18 شهر أو أكثر بالإضافة الى إدخال الحليب الصناعي كوجبة مساعدة، بينما استخدمت بقية الأمهات أما حليب الأم فقط أو أدخلن الحليب الصناعي على وجبات أطفالهن قبل ذلك العمر. استخدام الرضاعة الصناعية للأطفال موجود في جل المجتمعات. أوصت الأكاديمية الأمريكية للأطفال بأن يتم إرضاع الأطفال طبيعياً وبشكل حصري خلال الستة شهور الأولى من العمر، في حين يستمر الإرضاع الطبيعي مع استعمال الأنواع الأخرى حتى عمر الإثني عشر شهراً الأولى من العمر. (CDC, 2002) بينت نتائج هذه الدراسة عدم التزام جل الأمهات بالإرضاع الطبيعي لأطفالهن وتبين بأن القليل منهن استطعن إرضاع أطفالهن رضاعة طبيعية خاصةً خلال الستة أشهر الأولى من العمر.

تم جمع 15 نوع من الحليب المجفف الذي يتم استخدامه لتغذية الأطفال ما بين عمر يوم وحتى 24 شهر من العمر، سبعة أنواع منها بالإضافة الى نوعي الحليب المبستر منزلياً والتي يتم استخدامها لعمر 0-6 أشهر، كذلك تم جمع الحليب المبخر السائل بالإضافة الى كل من حليب الماعز والبقر المبسترين منزلياً والمتوفرين في السوق المحلي. على الرغم من تشابه المكونات المذكورة على علب PIF المصنع لنفس الفترة العمرية إلا أن أسعار المنتجات اختلفت بين الأنواع المختلفة. بينت الدراسة أن PIF المجفف العلامة التجارية Bebelac تليه العلامة التجارية Myboy هما الأكثر استهلاكاً من قبل الأمهات المشاركات في الدراسة، كذلك بين الاستقصاء أن العلامتان المذكورتان هما الأعلى سعراً. لم يتم التطرق أثناء الاستبيان عن مصدر استسقاء الأمهات للمعلومات المتعلقة بتحضير وجبات الأطفال، ولكن يبدو أن الأمهات لا يقمن بمقارنة المكونات التي تحتوي عليها الأنواع المختلفة، أيضاً قد لا يقوم الكادر الصحي بتبنيه الأمهات عند الولادة أو زيارة أطباء الأطفال بأن هذه العلامات التجارية تقوم بإنتاج PIF متشابه من حيث قيمتها الغذائية، الأمر الذي ينتج عنه دفع أموال إضافية بدون جدوى. تشير النتائج أن الأمهات يأخذن المعلومات حول نوعية PIF وطريقة تقديمه من المجتمع كالأمهات والجارات وغيرها. حيث خلصت الدراسة التي قام بها (Appleton, et al., 2018) أنه عند اتخاذ قرار اختيار نوع معين من PIF مرتبط بالمعلومات التي تتلقاها الأم من المجتمع المحيط بما بالإضافة للمعلومات التي تتوفر عن طريق الكادر الطبي، كما اثبتت دراسة (Kenneth, et al., 2008) أن إعطاء علب PIF بعد الولادة للأمهات كهدايا من العلامات التجارية عن طريق المستشفى أو توجيه الأمهات لعلامة تجارية معينة من قبل بعض العاملين بالقطاع الصحي لا يتسبب فقط في توجيه الأمهات الى علامة تجارية معينة، بل يتسبب في استخدامهن لمنتج PIF لتغذية أطفالهن في فترة زمنية أقل من الفترة التي سيبدأن فيها باستخدام PIF في حال عدم حصولهن على المنتج مباشرة بعد الولادة.



على الرغم من أن الغالبية العظمى من الأمهات يقمن بقراءة تاريخ صلاحية علب PIF عند شرائها إلا أن نسبة الأمهات اللاتي يقمن بقراءة إرشادات التحضير كانت أقل بما نسبته 10.8%، الأمر الذي يبين ربما أن هذه النسبة من الأمهات يقمن بالبحث عن تاريخ الصلاحية كإجراء اعتادت عليه الأمهات عند شراء المنتجات الغذائية المختلفة، أو ربما تعودت الأمهات أن يقمن بأخذ بروتكول تحضير الوجبات إما من المجتمع المحيط أو أدوات التواصل الاجتماعي الأمر الذي لم يجعل لطريقة التحضير أي أهمية في نظرهن. أما 23% من الأمهات لم يؤكدن قراءتهن لتاريخ الصلاحية الأمر الذي قد يعرض أطفالهن للخطر، حيث أثبتت (Jannat, et al., 2008) أن التخزين الغير صحيح وتعدي فترة الصلاحية قد يتسببان في أضرار على صحة الأطفال. على الرغم من تأكيد 80.6% من الأمهات على القيام بغلي الماء قبل استخدامه لتحضير الوجبات لتغذية أطفالهن، إلا أن النسبة الأكبر من الأمهات المشاركات 36.6% و 22.2% أجبن بأنهن لا يقمن بالغلي لمدة محددة أو لسن متأكدات من مدة الغلي على التوالي. أهملت بعض الأمهات تعقيم الماء من الأساس، في حين أن البعض الآخر تعامل مع غلي الماء بعشوائية الأمر الذي لا يتطابق مع توصيات اجتماعات منظمي الأغذية والزراعة لسنوات 2004 و 2006 و 2007 و 2008 (FAO/WHO, 2004: FAO/WHO, 2006: FAO/WHO, 2007). كذلك ما أكدته الدراسات السابقة

(Forsythe, 2005: Caubilla-Barron et al., 2007: CDC, 2002) كذلك بينت دراسة أقيمت في منطقة الدراسة ارتباط الإسهال بعدم غلي الماء بالإضافة الى عدم إضافة مسحوق PIF عند درجة حرارة 70°م (أبورويص، 2019). غالبية الأطفال كانوا محظوظين من حيث عدم استخدام علبه PIF بعد مضي 15 يوم من فتحها، كذلك أن غالبية الأمهات لا يقمن بتسخين الحليب الأمر الذي توافق مع توصيات المنظمات التي تهتم بجودة تقديم منتج PIF للأطفال (FAO/WHO, 2004 & 2008: CDC, 2002)، وعلى الرغم من ذلك فإن البعض من الأمهات بحاجة للرفع من مستواهن الثقافي من حيث جودة إعدادهن لوجبة PIF.

وجدت الدراسة أن عدد البكتيريا القادرة على النمو أعلى من المسموح به من قبل المواصفات القياسية الليبية (المواصفات القياسية الليبية، 2008)، على الرغم من وجود فوارق معنوية بين أنواع PIF المختلفة من حيث عدد البكتيريا المتواجدة بها. تم عزل بكتيريا *Staphylococcus aureus* من جميع العلامات التجارية الخاضعة للكشف الميكروبي، وبينت الدراسة أنها الأكثر من حيث تكرار عزلها، وقد تم عزل هذه البكتيريا من حليب الأطفال في دراسة سابقة: (Wang, et al., 2012) و (Weems, et al., 2015) وذلك لقدرتها على البقاء في الظروف الجافة التي تتناسب مع ظروف صناعة وتخزين PIF (Caubilla-Barron, et al., 2007)، وارتباطها بإصابة الأطفال بالأمراض والتي ثبت انتقالها عن طريق الإرضاع (Kayiran, et al., 2014). كذلك بينت الدراسة أن PIF المصنع من قبل العلامة التجارية Bebalac كان الأكثر احتواء



على هذا النوع البكتيري. كذلك تم في هذه الدراسة عزل العديد من الأنواع البكتيرية الممرضة المرتبطة بإصابة الأطفال بالأمراض والتي من ضمنها الأنواع البكتيرية: *Klebsiella spp*, *E. coli*, *Citrobacter freundii* و *Enterobacter cloacea* والتي تم الدراسات سابقة (Iversen & Forsythe., 2004; Giammanco, et al., 2015; Weems, et al., 2011) من حليب الأطفال وأشارت تلك الدراسات الى أهمية هذه الأنواع البكتيرية من الناحية الصحية للأطفال الرضع وخاصة الخدج وناقصي الوزن نت بين الأطفال حديثي الولادة.

تم عزل بكتيريا *Cronobacter spp* مرة واحدة من الحليب الصناعي PIF العلامة التجارية Myboy كذلك تم عزلها من الحليب المبستر منزلياً والمباع في السوق المحلي، ترتبط هذه البكتيريا بأمراض الأطفال وخاصةً منخفضو المناعة كالأطفال الخدج وناقصي الوزن، الذين تسبب لهم في إصابات حادة قد تسبب في الإسهال، تسهم الدم، التهاب السحايا والموت (Himmelright, et al., 2002; Iversen et al., 2008; Kucerova et al., 2011; Mshana, et al., 2011; Joseph et al., 2012; Zeng et al., 2018; Silva, et al., 2018) ارتبطت أنواع بكتيريا *Cronobacter* بعدد من تفشي الإصابات وموت الأطفال وخاصةً الخدج منهم ومنخفضو الوزن عند الولادة (Jackson, et al., 2015; Caubilla-Barron, et al., 2007; Bowen, et al., 2016; Mshana, et al., 2011) كذلك ارتبطت بحالات مرضية بين أطفال المدارس (Yong et al., 2018) هذه الأنواع البكتيرية مقاومة نسبياً للعديد من المضادات الحيوية شائعة الاستعمال في منطقة الدراسة.

جميع الأنواع البكتيرية السالبة لصبغة جرام كانت مقاومة للمضاد الحيوي Augmentin في حين كانت العزلات الموجبة لصبغة الجرام متوسطة الى مرتفعة نسبياً. في حين كانت جميع العزلات حساسة للمضاد الحيوي Gentamycin ماعدا عزلة واحدة (20%) من بكتيريا *Cronobacter spp*، وكانت جميع العزلات الموجبة للصبغ مقاومة للمضاد الحيوي Erythromycin ولم تكن العزلات سالبة الصبغ هدف للتجربة المضاد الحيوي لعدم استعمال المضاد الحيوي لعلاجها. المثير للاهتمام المقاومة المرتفعة للعزلات وخاصةً العزلات المعروفة *Cronobacter spp* للسيفالوسبورينات من الجيل الثاني (Cefuroxime) والثالث (Ceftriaxone). حيث أثبتت الدراسات السابقة أن مقاومة عزلات بكتيريا *Cronobacter spp* المعزولة من PIF للجيل الأول من السيفالوسبورينات تعتبر مؤشراً مهماً لتقييم جودة المنتج واستعماله في تغذية الأطفال. (Molloy et al., 2009). كذلك بينت هذه الدراسة أن أنواع *Cronobacter* المعزولة أعلى مقاومة للجيلين الثاني والثالث من السيفالوسبورينات من العزلات التي تم عزلها في دراسات سابقة (Caubilla-Barron et al., 2007): (Joseph & Forsythe, 2011; Masood et al., 2015) في حين بينت دراسة أخرى أن عزلات *Cronobacter*





spp. كانت حساسة لجميع المضادات الحيوية ما عدا Ampicillin و Augmentin و cefazolin (Fei et al., 2017).

## 5. التوصيات

توصي هذه الدراسة بالرفع من مستوى الوعي عند الأمهات لتطبيق التوصيات الناتجة عن اجتماعات منظمي WHO و FAO لسنوات 2004 & 2007 & 2008 وذلك لضمان قتل جميع الممرضات المتواجدة بمسحوق الحليب المجفف. كذلك توصي الدراسة الأمهات بالتركيز على مكونات الوجبة وعدم الانجرار وراء الدعاية والتي تزيد من التكلفة دون أي جدوى. وحيث أن الدراسة بينت وجود بكتريا *Cronobacter sakazakii* بالحليب المبستر منزلياً، فإن الدراسة توصي بعدم استخدام هذا المنتج حفاظاً على سلامة الأطفال. كذلك توصي الدراسة بترقية المواصفات القياسية الليبية لتتطابق مع توصيات منظمي الأغذية والزراعة والصحة العالمية. يضل الرفع من المستوى الثقافي للأمهات هو الطريق الأسرع والأسهل والأقل تكلفة لتوفير حماية أفضل للأطفال من الأنواع البكتيرية المسببة للأمراض.

## المراجع

ابورويص، ع. م., ابوشعالة، ف. ع., ارحومة، ن. ر. 2019. تقييم الطرق المتبعة من قبل الأمهات لتحضير وجبة الحليب المجفف للرضع بمنطقة شمال غرب ليبيا وعلاقته بالإصابة بالإسهال. المؤتمر السنوي الثالث لنظريات وتطبيقات العلوم الأساسية والحيوية. ليبيا.

المركز الوطني للمواصفات والمعايير القياسية الليبية, 2008. الأغذية الحليب للرضع. ليبيا. م ق ل 743.

Appleton, J., Laws, R., Russell, C., Fowler, C., Campbell, K., & Denney-Wilson, E. (2018). Infant formula feeding practices and the role of advice and support: an exploratory qualitative study. *BMC Pediatrics*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12887-017-0977-7>

Angulo, F., Cahill, S., Wachsmuth, I., Costarrica, M., & Embarek, P. (2008). Powdered Infant Formula as a Source of Salmonella Infection in Infants. *Clinical Infectious Diseases*, 46(2), 268-273. <https://dio.org/10.1086/524737>

Bauer, M.D., David, M., Perry, M.D., William, M., Kirby MD (1959). Single-Disk Antibiotic-Sensitivity Testing of Staphylococci. *AMA Arch Intern Med*. 1959;104(2):208-216. <https://doi:10.1001/archinte.1959.00270080034004>



Bowen, A., Wiesenfeld, H. C., Kloesz, J. L., Pasculle, A. W., Nowalk, A. J., Brink, L., (2017). Notes from the field: Cronobacter sakazakii infection associated with feeding extrinsically contaminated expressed human milk to a premature infant - Pennsylvania, 2016. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 66, 761–762.

<http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6628a5>.

Caubilla-Barron, J., & Forsythe, S. (2007). Dry Stress and Survival Time of Enterobacter sakazakii and Other Enterobacteriaceae in Dehydrated Powdered Infant Formula. *Journal Of Food Protection*, 70(9), 2111-2117. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-70.9.2111>.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2002). Enterobacter sakazakii infections associated with the use of powdered infant formula--Tennessee, 2001. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 51(14), 297–300.

Mshana, S. E., Gerwing, L., Minde, M., Hain, T., Domann, E., Lyamuya, E., ... & Imirzalioglu, C. (2011). Outbreak of a novel Enterobacter sp. carrying blaCTX-M-15 in a neonatal unit of a tertiary care hospital in Tanzania. *International journal of antimicrobial agents*, 38(3), 265-269.

Ellison, R., Greer, B., Burney, J., Goodell, L., Bower, K., & Nicklas, J. (2017). Observations and Conversations: Home Preparation of Infant Formula Among a Sample of Low-Income Mothers in the Southeastern US. *Journal Of Nutrition Education and Behavior*, 49(7), 579-587. <https://doi.org/10.1016/j.ineb.2017.04.027>

Family Health Service the Department of Health Hong Kong SAR Government. (2013). Survey on Mothers' Views of Formula Milk Promotion and Information on Infant and Young Child Feeding. Summary Report.

FAO & WHO. (2004). Enterobacter sakazakii and other microorganisms in powdered infant formula: meeting report. *World Health Organization*.. Available on <http://www.fao.org/3/y5502e/y5502e00.htm>.

FAO & WHO. (2006). Enterobacter sakazakii and Salmonella in powdered infant formula: meeting report. *World Health Organization*.

Fei, P., Jiang, Y., Feng, J., Forsythe, S. J., Li, R., Zhou, Y., & Man, C. (2017). Antibiotic and desiccation resistance of Cronobacter sakazakii and C. malonaticus isolates from powdered infant formula and processing environments. *Frontiers in Microbiology*, 8, 316.

Fein, S. B., Labiner-Wolfe, J., Shealy, K. R., Li, R., Chen, J., & Grummer-Strawn, L. M. (2008). Infant feeding practices study II: study methods. *Pediatrics*, 122 (2), S28-S35.

forsythe, S. j. (2009, December). FSA (UK) Bacteriocidal preparation of infant formula.

*Research gate*. Retrieved from: <https://www.researchgate.net/publication/248707161>.



- Friedemann, M. (2007). Enterobacter sakazakii in food and beverages (other than infant formula and milk powder). *International journal of food microbiology*, 116(1), 1-10.
- Giammanco, G. M., Aleo, A., Guida, I., & Mammina, C. (2011). Molecular epidemiological survey of *Citrobacter freundii* misidentified as *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*) and *Enterobacter hormaechei* isolated from powdered infant milk formula. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(4), 517-525.
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American society for Microbiology*.
- Himelright, I. (2002). Enterobacter sakazakii infections associated with the use of powdered infant formula-Tennessee, 2001. *Journal of American Medical Association*, 287, 2204-2205.
- Iversen, C., & Forsythe, S. (2004). Isolation of Enterobacter sakazakii and other Enterobacteriaceae from powdered infant formula milk and related products. *Food Microbiology*, 21(6), 771-777.
- Iversen, C., Mullane, N., McCardell, B., Tall, B., Lehner, A., & Fanning, S. et al. (2008). *Cronobacter* gen. nov., a new genus to accommodate the biogroups of *Enterobacter sakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazakii* gen. nov., comb. nov., *Cronobacter malonaticus* sp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov., *Cronobacter genomospecies 1*, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis* subsp. *dublinensis* subsp. nov., *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp. nov. and *Cronobacter dublinensis* subsp. *lactaridi* subsp. nov. *INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY*, 58(6), 1442-1447. doi: [10.1099/ijs.0.65577-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.65577-0)
- Jackson, E. E., Parra-Flores, J., Fernandez Escartin, E., & Forsythe, S. J. (2015). Reevaluation of a suspected *Cronobacter sakazakii* outbreak in Mexico. *J. Food Prot.* 2015, 1191–1196. <http://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-563>
- Jannat, B., Oveisi, M. R., Sadeghi, N., Behfar, A., Hajimahmoodi, M., Jannat, F., & Khoshnamfar, S. (2010). Shelf-life prediction of infant formula by using rancidity test. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, (4), 269-273.
- Joseph, S., Desai, P., Ji, Y., Cummings, C., Shih, R., & Degoricija, L. (2012). Comparative Analysis of Genome Sequences Covering the Seven *Cronobacter* Species. *Plos ONE*, 7(11), e49455. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0049455>
- Joseph, S., & Forsythe, S. J. (2011). Predominance of *Cronobacter sakazakii* sequence type 4 in neonatal infections. *Emerging infectious diseases*, 17(9), 1713. <http://doi.org/10.3201/eid1709.110260>



- Kayiran, P. G., Can, F., Kayiran, S. M., Ergonul, O., & Gürakan, B. (2014). Transmission of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* to a preterm infant through breast milk. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 27(5), 527-529. <https://doi.org/10.3109/14767058.2013.819332>
- Rosenberg, K. D., Eastham, C. A., Kasehagen, L. J., & Sandoval, A. P. (2008). Marketing infant formula through hospitals: the impact of commercial hospital discharge packs on breastfeeding. *American journal of public health*, 98(2), 290-295.
- Kleiman, M. B., Allen, S. D., Neal, P., & Reynolds, J. (1981). Meningoencephalitis and compartmentalization of the cerebral ventricles caused by *Enterobacter sakazakii*. *Journal of Clinical Microbiology*, 14(3), 352-354. <https://doi.org/10.1128/jcm.14.3.352-354.1981>
- Kucerova, E., Joseph, S., & Forsythe, S. (2011). The *Cronobacter* genus: ubiquity and diversity. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 3(3), 104-122. <https://doi.org/10.1111/j.1757-837X2011.00104.X>
- Martin, C. R., Ling, P. R., & Blackburn, G. L. (2016). Review of infant feeding: key features of breast milk and infant formula. *Nutrients*, 8(5), 279. <https://doi.org/10.3390/nu8050279>
- Masood, N., Moore, K., Farbos, A., Paszkiewicz, K., Dickins, B., McNally, A., & Forsythe, S. (2015). Genomic dissection of the 1994 *Cronobacter sakazakii* outbreak in a French neonatal intensive care unit. *BMC genomics*, 16(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1961-y>
- Molloy, C., Cagney, C., O'Brien, S., Iversen, C., Fanning, S., & Duffy, G. (2009). Surveillance and characterisation by pulsed-field gel electrophoresis of *Cronobacter* spp. in farming and domestic environments, food production animals and retail foods. *International journal of food microbiology*, 136(2), 198-203. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.07.007>
- Muytjens, H. L., Roelofs-Willemse, H. A. N. N. I. E., & Jaspar, G. H. (1988). Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the family Enterobacteriaceae. *Journal of clinical microbiology*, 26(4), 743-746. <http://doi.org/10.1128/jcm.26.4.743-746.1988>
- Silva, J., Vasconcellos, L., Forsythe, S., de Filippis, I., & Luiz Lima Brandão, M. (2018). Molecular and phenotypical characterization of *Cronobacter* species isolated with high occurrence from oats and linseeds. *FEMS Microbiology Letters*, 366(1). <https://doi.org/10.1093/femsle/fny289>
- Stuebe, A. (2009). The risks of not breastfeeding for mothers and infants. *Reviews in obstetrics and gynecology*, 2(4), 222. Fall 2009: PMC2812877.



Thurm, V., & Gericke, B. (1994). Identification of infant food as a vehicle in a nosocomial outbreak of *Citrobacter freundii* epidemiological subtyping by allozyme, whole-cell protein and antibiotic resistance. *Journal Of Applied Bacteriology*, 76(6), 553-558.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1994.tb01652.x> Van Acker, J., De Smet, F., Muyldermans, G., Bougatef, A., Naessens, A., & Lauwers, S. (2001). Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula. *Journal of clinical microbiology*, 39(1), 293-297.

<https://doi.org/10.1128/JCM.39.1.293-297.2001>

Wang, X., Meng, J., Zhang, J., Zhou, T., Zhang, Y., Yang, B., ... & Xia, X. (2012). Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from powdered infant formula milk and infant rice cereal in China. *International journal of food microbiology*, 153(1-2), 142-147. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.030>

Weems, M. F., Dereddy, N. R., & Arnold, S. R. (2015). Mother's Milk as a Source of *Enterobacter cloacae* Sepsis in a Preterm Infant. *Breastfeeding Medicine*, 10(10), 503-504. Doi: 10.1089/bfm.2015.0146.

World Health Organization. (2007). Safe preparation, storage and handling of powdered infant formula: guidelines.

Yong, W., Guo, B., Shi, X., Cheng, T., Chen, M., Jiang, X., & Ding, J. (2018). An investigation of an acute gastroenteritis outbreak: *Cronobacter sakazakii*, a potential cause of food-borne illness. *Frontiers in microbiology*, 2549.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02549>

Zeng, H., Zhang, J., Wu, Q., He, W., Wu, H., Ye, Y., & Xue, L. (2018). Reconstituting the history of *Cronobacter* evolution driven by differentiated CRISPR activity. *Applied and environmental microbiology*, 84(10), e00267-18. Doi: 10.1128/AEM.00267-18

Centers for Disease Control and Prevention. (2021, November 24). Breastfeeding report card. Centers for Disease Control and Prevention. Retrieved from:

<https://www.cdc.gov/breastfeeding/data/reportcard.htm>.



## Evaluation of infant's milk in Libyan market: ingredients, preparation procedures and microbial flora.

*Nasreddin R. Rhoma	Aisha M. Aburowias	Karayem J. Karayem	Abdullatif A. Abushoufa	Abdulghani A. Emshiheet	Faraj A. Abushaala
Microbiology Department Faculty of Science Misurata University	Medical Misurata Central	Microbiology Department Faculty of Science Misurata University	Plant Production Department Faculty of Agriculture Misurata University	Food and drug control center/ Misurata	Microbiology Department Faculty of Science Misurata University

\*[n.rhouma@sci.misuratau.edu.ly](mailto:n.rhouma@sci.misuratau.edu.ly)

### Abstract

Pediatric infant formula (PIF) is the used food to replace the breast milk. PIF is implicated with outbreaks around the world as it is not a sterile product. It is recommended by WHO to prepare the formula at 70°C. In this study, PIF tins were collected from the local market. Microbial flora was counted and identified, ingredients were compared to the Libyan standards and preparation method was assessed whether they fit Libyan codes and FAO/WHO recommendations. Antibiotic sensibility test was applied for all isolates. The ingredients were similar in each level, However, different brands recommended different temperatures to add the powdered formula in. some pathogens were isolated such as *Cronobacter sakazakii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter* spp. and *Klebsiella* Spp. which responsible for diseases worldwide. This study, insists that mothers should be informed about the risk could be caused when PIF is un-correctly prepared, as well as Libyan codes should be upgraded to meet the FAO-WHO recommendations.

**Key words:** Infant – formula – Bacteria - ingredients – preparation - temperature.