مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 15 العدد 4 سنة 2010
(بحوث الندوة البيئية الخامسة للبيئة والتلوث والمنعقدة بتاريخ 13-14 ايار 2009)

دراسة ميكروبيولوجية لاقراص اللحم (الهمبركر) في النادي الطلابي لكلية التربية

ضفاف جاسم محمد الحسيني
جامعة القادسية / كلية التربية

الخلاصة :

تم الحصـــول على (50) عينة من نماذج أقراص اللحم المثروم (الهمبركر) المطهي (27 عينة) وغير المطهي (23) والذي يقدم في مطعم النادي الطلابي لكلية التربية جامعة القادسية من الفترة 15 / 11 / 2008 ولغاية 30 / 11 / 2008 تهدف الدراسة الى عزل وتشخيص البكتريا المسببة لتلوث أقراص اللحم المثروم (الهمبركر) المطهية وغير المطهيةأظهرت النتائج وجود تلوث في جميع العينات سواء كانت مطهية وغير مطهية ففي الأقراص المطهية بينت احتوائها على نسبة (51.8 %) من بكتريا *Escherichia coli* وبنسبة (29.6 %) من بكتريا *Pseudomonus auerogenosa* وبنسبة (18.5 %) من بكتريا *Staphylococcus aureus* اما الاقراص الغير مطهية على نسبة (47.8 %) من بكتريا *Escherichia coli* وبنسبة (30.4 %) من بكتريا *Staphylococcus aureus* وبنسبة (21.7 %) من بكتريا *Pseudomonas auerogenosa* .
كما اجري اختبار فحص الحساسية للبكتريا المعزولة حيث وجد ان اعلى نسبة مقاومة للمضادات كانت لبكتريا *E .coli* حيث قاومت مضاد Methycillin بنسبة (76 %) تلثها بكتريا *Staph . aureus* حيث قاومت مضادات Methycillin ، Amoxcyllin بنسبة (66 %) بينما بكتريا *Ps .aerugenosa* قاومت مضاد Chlorombhenicol بنسبة (61 %) . واقل مقاومة للبكتريا المذكورة سابقا كانت لمضادات (Rifampicine , Cephalosporine ، Carbencilline) بنسبة (20، 25 ، 15) % على التوالي .

المقدمة.

إن أول ما ظهر التسمم ببكتريا اللحوم المثرومة (الهمبركر) سنة 1982 خلال انتشار وباء الإسهال الدموي أو ما يعرف (Hemorrhgic colitis) حيث ارتبط هذا النوع من التسمم الغذائي بتناول الهمبركر الغير مطهي بصورة جيدة (Under cooked hamburger)
يعتقد العلماء إن تلوث الهمبركر أو عصائر الفواكه او الحليب بعدد (10) بكتريا حية من *E . coli* كافية لإحداث الإصابة التسممية بعد تكاثرها . حيث تلوث اللحم المثروم (الهمبركر) أثناء الذبح والسلخ ويختلط ببعضه أثناء الفرم . هذا النوع من اللحم المفروم يبدو طبيعيا من حيث الشكل أللون والرائحة ومن الصعوبة تميزه عن اللحم السليم (الغير ملوث بهذا النوع من البكتريا) .
اثبتت الدراسات وجود تلوث اللحم المثروم سواء كان مطهيآ او غير مطهي وان هذا التلوث يقود إلى حصول حالة من حالات التسمم الغذائي المتسبب عن هذه الملوثات البكتيرية نتيجة إفراز السموم المعدية مثل(enterotoxin أو entero pathogenic) وهذه السموم تؤدي إلى نفاذ الأملاح والماء من جسم الإنسان المصاب نتيجة لحدوث حالات الإسهال . وتصنف بكتريا (*Escherichia coli*) على إنها عصيات كروية سالبة لصبغة كرام موجودة بالأمعاء الدقيقة للإنسان وان العتر الجرثومية لهذه البكتريا مؤذية للإنسان وذلك بسبب الأنماط المصلية السمية لحالات التسمم الغذائي.تعتبر بكتريا *E . coli* اختيارية لاهوائية وبشكل قضبان صغيرة تعيش بصورة طبيعية في القناة الهضمية للإنسان والحيوان معا وهي تستطيع أن تنمو بوجود وغياب الأوكسجين تنمو البكتريا بواسطة التخمر وإنتاج حامض وغاز وتستهلك غاز NO2 ، NO3 وفي سنة (1993) وجد إن بكتريا *E.coli* مسؤولة عن انتشار حالات التسمم الغذائي وتعتبر ذات أهمية للجسم من حيث تزويده بفيتامين B12 وفيتامين K (1) كما إنها تعتبر مؤشر بيولوجي لحالات التلوث ألبرازي (9) وهذا التلوث يحصل نتيجة تناول اللحوم والأطعمة الملوثة ببكتريا *E.coli* ويسمى هذا النوع من التلوث Fecoil oral transmission .(

5) كما إن هناك نوع من السموم الذي يفرز من قبل بكتريا *E . coli* يسمى بال Shigatoxin (STEC) (13) .

أما التسمم بالمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus* فيحدث نتيجة تناول اللحوم والأطعمة الملوثة بالبكتريا وان هذه البكتريا لها القدرة على مقاومة الملوحة وسمومها تعتبر مقاومة للحرارة ولا تزول مع طهي الأطعمة واخطر الأغذية عرضا لهذه البكتريا هي الأغذية التي تحضر بواسطة اليد مباشرة مثل شرائح اللحم (الهمبركر) وأعراض هذا التسمم تظهر بعد (30) دقيقة تزداد هذه الأعراض خلال (6) ساعات مصحوبة بقيء وغثيان وألام المعدة والإسهال (3) .منتجة للسموم التي لها دور فعال ومباشر في إحداث الامراضية (9) مقاومة للبنسلينات ذات الطيف الواسع كالامبيسلين والاموكسيلين بسبب إنتاجها إنزيم البيتا لاكتاميز (B – Lactamases) لكن بعض أنواعها حساس لبعض المضادات كالاموكسيلين بسبب عدم تأثرها بإنزيمات البيتا لاكتاميز . تكون أيضا حساسة لمضاد Vancomycin ومضاد Teicoplanin . (11)

أما الامراضية المتسببة عن البكتريا الزائفة الزنجارية أو ما تسمى عصيات القيح الأزرق *Pseudomonas aerugenosa* تتمثل بحالة وجودها بتلوين القيح بلون اخضر أو ازرق . (6) ومن أهم عوامل أمراضيتها إفرازها لبعض الإنزيمات مثل (Haemolysin , Exotoxins , Lipase , Exotoxin A) وتحتوي هذه البكتريا على عديد السكريات ألدهني (LPS) الذي يزيد من مقاومتها لعملية البلعمة .(7)

كما أنها تستطيع النمو في الأوساط الغير هوائية بسبب قدرتها على استهلاك الـ (O2) الموجود في النترات كما أنها تعيش في البيئات الرطبة واللحوم المجمدة وتعطي رائحة شبيه (باللوز المر) عند نموها على وسط المرق المغذي وفي درجة حرارة (15 – 40) م°

المواد وطرائق العمل:

تم جمع (50) عينة من نماذج اللحم المثروم لأقراص (الهمبركر) المطهية وغير المطهية من نادي كلية التربية الطلابي في جامعة القادسية .وجمعت العينات (أقراص اللحم) زنة (15 – 25) غم في إطباق حاوية على المرق المغذي (Nutrient broth) وبواقع (100) مل حيث أجريت لها سلسلة من التخافيف

اجري اختبار فحص الحساسية للبكتريا المعزولة بعد استخدام المضادات الحياتية للأنواع البكتيرية المعزولة الثلاثة (*E . coli* , *Staph . aureus* , *Pseudomouas . spp*) وشملت المضادات التالية:-

Gentamycine (GM) , Methicylline (Me) , Amoxcyllin (Amc) , Carbencilline ((2)Cab) , Cephalosporine (Cp) , Chl oramphenicol (C) , Rifampicin (RD)

لتقدير مدى حساسية البكتريا المعزولة من أقراص اللحم المثروم (الهمبركر) إذ استخدم الوسط الزرعي (Muller – Hinton agar) . حيث لقحت أنبوبة اختبار حاوية على (5) مل من وسط المرق المغذي Nutrient-broth بعدد من المستعمرات النامية على الأوساط الزرعية (Macconkey agar , Blood agar) وللبكتريا المعزولة والمتضمنة (*Staph aureus* , *Pseudomonas .spp* , *E . coli*)رجت الأنبوبة جيدا وحضنت في درجة حرارة (37) م° ولمدة (3) ساعات لحين ظهور النمو من خلال تكون عكورة داخل الوسط حيث قورنت العكورة المتكونة مع عكورة المحلول الثابت العكورة القياسي وبعدها سحب (0.1) مل من العالق البكتيري المتكون ونشر على الوسط ألزرعي بصورة متجانسة ثم تركت الأطباق لتمتص المزروع بصورة كاملة ثم وزعت أقراص المضادات الحياتية على سطح الوسط ألزرعي ثم حضنت بالحاضنة في درجة حرارة (37) م° ولمدة (24) ساعة . وحسبت اقطار مناطق التثبيط وقورنت النتائج مع الجداول القياسية والعزلات القياسية

النتائج والمناقشة:-

تم جمع (50) عينة من نماذج أقراص اللحم (الهمبركر) المطهية والغير مطهية وتم عزل النماذج من نادي الكلية الطلابي من الفترة 15 / 11 / تشرين الثاني إلى 30 / 11 / تشرين الثاني حيث جمعت (27 عينة مطهية و 23 عينة غير مطهية) تم جمعها بصورة عشوائية .
عزلت وشخصت البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام والنامي اعتمادا على الصفات المظهرية لها ولمستعمراتها على الأوساط الزرعية المستخدمة وعلى نتائج الاختبارات البايوكيمياوية والفيزياوية المعتمدة والمميزة لهذه البكتريا .

جدول (1) الصفات الزرعية لبكترية السالبة لصبغة كرام للعينات المطهية وغير المطهية

الصفات الضوئية	القوام	السطح	الارتفاع	طول القطر	الشكل	نوع البكتريا
نصف شفاف معتم	مخاطي – زبدي لزج	ناعم ناعم	مسطح منحني	1mm 2mm	غير منتظم دائري	*Ps. aerugenosa* *E . coli*

جدول (2) النسبة المئوية للبكتريا المعزولة لأقراص اللحم (المطهي وغير المطهي)

حالة القرص	نوع البكتريا			النسبة المئوية		
مطهي	*E . coli*	*Pseudomonas*	*Staph . aureus*	51.8	29.6	18.5
غير مطهي	*E . coli*	*Pseudomonas*	*Staph*	47.8	21.7	30.4

وبين التحليل الإحصائي لنتائج الاختبارات الميكروبيولوجية للأقراص المطهية عدم وجود فروق عند مستوى احتمال (0.05 %) مما يدل على أن المعاملة الحرارية في اغلب المقاهي والمطاعم متقاربة . و إن التلوث ربما يعود أساسا إلى التباين في تطبيق الشروط الصحية والسلوك الصحي للعاملين في هذه المنشات.
ويمثل ارتفاع عدد الجراثيم الهوائية الحية وتواجد جراثيم القولون وخصوصا القولونيات الغائطية بأعداد كبيرة في أقراص اللحم المثروم (المطهية وغير المطهية) مؤشرا لاحتمال تواجد الجراثيم الممرضة في هذه الأقراص وفي ذلك تهديد خطر لصحة المستهلك وللتحقق من هذا الأمر فقد تم الكشف عن وجود بعض الجراثيم الممرضة في الأقراص المطهية وغير المطهية . تبين النتائج المذكورة سابقا في جدول (2) إن الأقراص المطهية كانت ملوثة بخلايا الجراثيم الممرضة (*E . coli*) والعنقودية الذهبية (*S . aureus*) الموجبة لاختبار (Coagulose) وكذلك بكتريا (*Ps . aeurogenosa*) .
وبنسبة (51.8 ، 18.5 ، 29.6 %) على التوالي بينما كانت نسبة التلوث في الأقراص الغير مطهية الجاهزة للاستهلاك بنسبة (47.8 ، 30.4 ، 21.7 %) ونلاحظ من الجدول (3) عدد من العزلات البكتيرية لجميع النماذج المأخوذة لأقراص اللحم المثروم (الهمبركر) المطهية وغير المطهية

جدول (3) أهم الملوثات البكتيرية للنماذج المطهية وغير المطهية لأقراص اللحم المثروم (الهمبركر) .

نوع البكتريا	عدد العزلات	النسبة المئوية
E .coli	25	% 50
Psendomonas sp	13	% 26
Staph .aureus	12	% 24
المجموع الكلي		% 100

يتضح من هذا الجدول إن جميع عينات الأقراص (اللحم) كانت ملوثة اغلبها بالقولونيات الغائطية*E .coli* كما اظهر التحليل الإحصائي لنتائج الاختبارات الميكروبيولوجية التي أجريت على أقراص اللحم المثروم غير المطهية إن هناك فروقا معنوية عند مستوى احتمال 0.05 % مما يشير الى وجود تفاوت في مدى جودة الأقراص وكذلك في تطبيق الاشتراطات الصحية بهذه الأماكن (المطاعم الطلابية أو أكشاك بيع المأكولات السريعة) ويعزى ارتفاع مستوى التلوث الميكروبي في الأقراص غير المطهية إلى عدة أسباب قد يكون من بينها تدني جودة المواد الأولية الداخلة في الإنتاج كاللحم المثروم والتوابل والماء وكذلك الممارسات التصنيعية السيئة بالمنشات التي يتم فيها إعداد هذه الأقراص (الشريك ، 1)
أما أهم الاختبارات الكيموحيوية للبكتريا الموجبة لصيغة كرام والمعزولة من عينات (نماذج اللحم لأقراص الهمبركر) والمتمثلة ببكتريا *Staphylococcus* موضح في جدول (4) .

جدول (4) الاختبارات الكيموحيوية للبكتريا الموجبة لصيغة كرام والمعزولة من نماذج اللحم (الهمبركر) .

نوع المسبب (البكتريا)	نوع الاختبار	النتيجة
Staphylococcus aureus	Coagulase	+
	Oxidase	-
	Catalase	+
	Nitrate	+
	Maunitol fermentation	+

جدول (5) يوضح الاختبارات الكيموحيوية للبكتريا السالبة لصبغة كرام لنماذج اللحم (الهمبركر) .

نوع البكتريا	نوع الاختبار						
	I	Mr	Vi	C	U	Gas	OX
Escherichia coli	+	+	-	-	-	+	-
Pseudomonus aeurogenosa	-	+	-	-	-	-	+

قد يكون الغبار أو أدوات التقطيع غير النظيفة أو إضافة أجزاء من اللحوم عالية التلوث مثل (الأمعاء إلى اللحم المثروم) . من أهم مصادر تلوث اللحم المثروم بالجراثيم الممرضة هذا بالنسبة للأقراص الغير مطهية .
أما بالنسبة للأقراص المطهية قد تكون مصادر تلوثها بالجراثيم الممرضة ممثلة في عدم نظافة العاملين وعدم إتباعهم الطرق الصحية أثناء تداول اللحوم بعد طهيها إضافة إلى عدم الطهي الجيد للأقراص .
اجري فحص الحساسية لبعض المضادات الحياتية للبكتريا المعزولة من نماذج اللحم (2) وكما هو موضح في جدول (6) وشكل (5) إذ لوحظ من جدول (6) إن هناك تباين في حساسية ومقاومة البكتريا للمضادات المستخدمة في الدراسة الحالية حيث وجد إن أعلى نسبة مقاومة كانت لمضاد Methicylline بنسبة (76 %) بالنسبة لبكتريا *E.coli* و إن اقل نسبة حساسية كانت لمضادات Carbencillin ومضاد Rifampicine وبنسبة (20 %) لكلاهما .
كما وجد إن أعلى مقاومة كانت لمضاد Amoxcyllin ومضاد Methicylline بنسبة (66 %) .

وان أعلى نسبة حساسية كانت لمضاد Cephalosporine وبنسبة (25 %) وهذه بالنسبة لبكتريا *Staph . aureus*

أما بالنسبة لبكتريا *Ps.aeurogenosa* فكانت أعلى نسبة مقاومة لمضاد Chloromphenicol بنسبة (61 %) وأعلى نسبة حساسية كانت لمضاد Carbencillin بنسبة (15 %) تفسر نتيجة المقاومة للمضادات من قبل البكتريا إلى إفراز بعض الإنزيمات من قبل البكتريا تحرر المضاد قبل وصوله إلى موقع عمله في الخلية البكتيرية (12) .

أو فقدان بعض بروتينات الغشاء الخارجي لخلية البكتريا مما يقلل من نفاذية المضاد إلى خلية البكتريا (10) .

مما تقدم نلاحظ جدول (6) يبين حساسية البكتريا تجاه المضادات الحياتية والنسبة المئوية لكل مضاد.

جدول (6) يبين حساسية البكتريا المعزولة تجاه المضادات الحياتية .

نوع المضاد	نوع البكتريا والعدد			النسبة المئوية		
	Ps. aeurogeu	*Staph . aureus*	*E.coli*	*Ps . %eaurogeeus*	*Staph . aureus %*	*E . coli %*
Gentamycin	5	7	13	38	58	52
Methicylline	7	8	19	53	66	76
Amoxcyllin	5	8	8	38	66	32
Carbencillin	2	5	5	15	41	20
Cephalosporine	4	3	6	30	25	24
Chloromphenicol	8	7	8	61	58	32
Rifampicine	7	4	5	53	33	20

الاستنتاجات:

1- وجد في هذه الدراسة انه هنالك تلوثا بالحوم المطهية وغير المطهية بالبكتريا المتمثلة *Ps* ،S *.aureus E . coli* *aerogeuosa* . وهذا يعتبر موشرا خطيرا يدل على عدم اتباع الشروط الصحية في المطاعم والنوادي الطلابية وبالتالي ضرورة تشديد الرقابة الصحية عليها حفاظا على الصحة العامة .

2- طهي أقراص الهمبركر بشكل جيد ولفترة كافية حتى يختفي اللون الوردي أو الأحمر المميز للحم النيئ .

3 – ان سوء التخزين أو التجميد للحوم (الهمبركر) بسبب ارتفاع درجات الحرارة أو ارتفاع نسبة الرطوبة الغير مناسبة لحفظ الأغذية يؤدي الى تلف او تلوث الاغذية بالبكتريا المختلفة

4 – إهمال الطرق الصحية لتداول وإعداد الأطعمة يؤدي الى حدوث حالات اصابة بالتسمم الغذائي

Referances

1 – Bentley , R , Meganathan , R . , Biosynthesi of vitamin K (Mena q uinone) in Bacteria ,Bacteriological Reviews , 1982 , 4 , (3) : 241- 281. Review .

2 – Bauer , A . M . and Kirby , W . M . (1966) . Antibiotics susceptibility testing by astand arised single disc method . AM . J . Clin . Pathol . 45: 493 – 496 .

3 – Center for diseace control and Prevention , 2007 .
4 – Feng p , weagant S , Grant , M (2002 – 09 – 01) .
" Enumeration of Escherichia coli and the coli from Bacteria " .
Bactenological Analytical Manual (8 th ed) . FDA L center for food safety & Applied Nutrition . Retrieved on 2007 – 01 – 25 .
5 – Gehlbach , S .H .; J . N .Maccovmack , B.m .Drake , W.V . Thompson (April 1973) ." spread of diseas , by fecal – oral route in day nurseries " . Health service Reports 88 (4) : 320 – 322 . PMID . 4574421 .
6 – Govan . J . R . and Harris , G . S . (1986) .
Pseudomonas aeruginosa and cystic fibrosis : un sual be cterial adaptation and pathogensis , Microbal . Sci . , 3 (10) : 203 – 207 .

7 – Jawetz , E ., Melnick , J . L . and Adelberg , E. A . (1998) . Review of medical microbiology (17) th ed . Middle East Edition Appleton and lange .
9 – Jawetz , E ; Mclinick , J . 1 . and Adelberg . E . A . (1980) Review of medical microbiology . 14 th ed , lang , medical from Staphylococcus xylosus and the penicillinase plasmid PI 258 from Staphyiococcus aureus . plasmid 4 : 126 – 137 .
10 – Laurence , D . R ., Bennett , P . N . and Brown , W . J . (1997) Clinical pharmacology , 8 th ed ., Churchill living stone , New York .
11 – Marples RR , Reiths 1992 Methicillin Resistant Staphylococcus aureus in England and wales communicable disease Reports public health Laboratory service commun : cable disease Surveillance center , 61 colin .
12 – Prescott , L . M . ; Harley , J . P . and Klein , D . A . (1990) . Microbiology . Wm . C . Brown publishers .
13 – Szalanski A , Owens C , Mc Kay T , Steel man C (2004) – " Detection of Campylobacter and Escherichia coli 0157 : H 7 from filth flies by polymerase chain reaction " . Med vet Entomol 18 (3) : 241 – 6 . doi : 10 . 1111 / j . 0269 – 283x . 2004 . 00502 . X . PMID
15347391 . http : // www . black well – Synergy . com / links / doi / 10 . 1111 / j . 0269 – 283X . 2004 . 00502 . X / qbs .

المصادر العربية

* الشريك ، ي . م . ، بن يوسف ، ع ، أ ، ومحفوظ ، خ . ١٩٨٥
دراسة جرثومية على اللحم المثروم في مدينة طرابلس .
مركز البحوث الصناعية بتاجوراء ، ليبيا .

Microbiological study of meat disc (humberger) in the club for the faculty of education

DH.J.M.AL.Hossainy
Coll. Of Edu.L Univ.of AL-Qadisiya

Abstract

In this study, the meat disc sample (humberger) was collected which cooked (27) and uncooked (23) samples from student club that belongs to education college / Al-Qadissiya university from 15/11/2008 to 30/11/2008.

This study aims to:

1. Isolate and identify the bacteria which causes infection to samples of the cooked and un cooked meat disks (humberger).
2. Identify antibiotic effects upon isolated bacteria. The result showed that all the cooked and uncooked samples were infected, in cooked disks contained 51.8% from *Escherichia.coli* (29.6%) from *Pseudomonas.auerogenosa* in (18.5%) the ratio, from *Staphylococcus.aureus*. The results also showed that the uncooked disk contained (47.8%) the ratio *Escherichia coli* bacteria and 30.4% ratio from *Staph.aureus* bacteria and (21.7%) *Pseudomonas.-auerogiuosa* bacteria.
3. While the bacrteria that infects all samples (meat) cooked and un cooked with ratio (50%) *Escherichia.coli* bacteria and (26%) *Pseudomonas auerogenosa* bacteria and (24%) *Staph.aureus*. Tests of sensetivity for isolated bacteria were done, the result is that the *E.coli* had the highest level ratio of resistance against Methycillin antibiotic in (76%) ratio, followed by *Staph.aureus* that resisted Methycillin, Amoxcyllin in (66%) ratio while *Pseudomonas.auerogenosa* resisted Chloromphenicol with ratio 61% and the lowest level of resistance was for (Carbencillin , Cephalosporine, Rifammpicine) with ratio (20, 25, 15) % successfully.