

التحري عن جرثومة الأيشريشيا القولونية نمط O157:H7 في منتجات الجبن الطري المحلي في مدينة بغداد وتأثيرها في الصحة العامة

م.د. احمد محمد صالح*

م. شكر محمود ياسين**

م.م. هادي صالح مهدي*

رافد سمير عبدالكريم*

الخلاصة

استهدفت التجربة دراسة درجة تلوث عينات الجبن الطري المحلي بأعداد الأيشريشيا القولونية نمط O157:H7 وتحديد نوعية أملاح الاستحلاب النموذجية ونسبها الملائمة لاستحلاب الجبن الطري المحلي لصنع الجبن المطبوخ وتأثيرها في حملته الجرثومية المؤثرة في الصحة العامة . حيث جمعت بصورة عشوائية من أسواق خمسة أطراف شعبية لمدينة بغداد ٦٠ عينة من الجبن الطري المحلي المنتج من قبل الفلاحين والبقالين وبمعدل ٣٠ عينة لكل من الموسم الصيفي من بداية تموز إلى نهاية آب والموسم الشتوي من بداية كانون الأول إلى نهاية كانون الثاني لدراسة حملتها الجرثومية من بكتريا القولون وجنس الايشريشيا خصوصا النوع الايشريشيا القولونية نمط O157:H7 . وتميز العد الجرثومي الكلي بالارتفاع العالي المعنوية ($P<0.01$) في عينات الجبن المحلي للموسم الصيفي والشتوي . وقد أثبتت النتائج التأثير القاتل أو المثبط لنشاط البكتريا بواسطة أملاح الاستحلاب المستخدمة في عملية طبخ الجبن الطري المحلي حيث انخفض معدل العد الجرثومي الكلي في الجبن المطبوخ بفرق عالي المعنوية ($P<0.01$) بعد إضافة وخلط ٢.٥% من أملاح الاستحلاب مع الجبن الطري المحلي المثلوم مباشرة قبل عملية الطبخ . واندم نمو الأيشريشيا القولونية وجرائيم الايشريشيا القولونية نمط O157:H7 بعد إضافة ٢% من أملاح الاستحلاب إلى المرق المغذي لنمو الجراثيم وتؤكد النتائج بان أفضل خلطة لمكونات أملاح الاستحلاب الجبن الطري المحلي هي التي تتكون من ٩٠% الفوسفات المتعدد الثلاثي الصوديوم + ١٠% سترات ثلاثي ال* فرع الصحة العامة البيطرية / كلية الطب البيطري / جامعة ديالى .

صوديوم .

Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in the locally produced cheese in Baghdad & its Effect in Public Health

Ahmed M. Saleh

Shukr M. Yasin

* فرع الصحة العامة البيطرية / كلية الطب البيطري / جامعة ديالى .

** كلية الطب / جامعة ديالى .

Hadi S. Mahdi

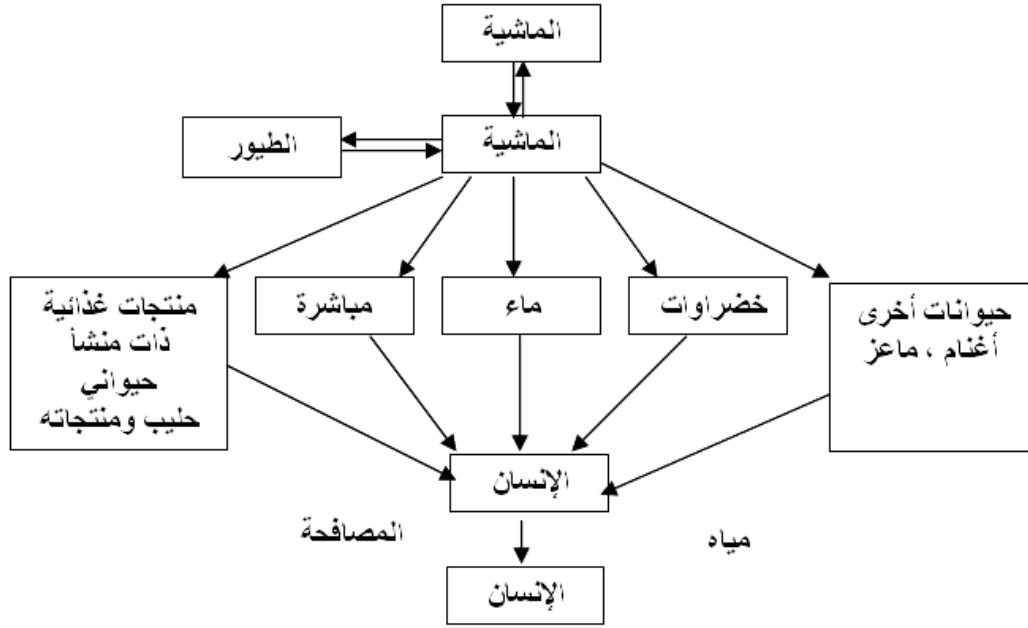
Rafid S.A.Al-Zubaidy

Abstract

The study conducted to indicate the comparative measurements of microbial load of Faecal Coli form Bacteria & *Escherichia coli* & *E.coli* O157:H7 . of 60 sampl of locally produced soft cheese collected randomly from five different local areas in Baghdad (30 sample to each summer & All summer & winter samples were in high winter season) to investigate their microbial load . significan ($p<0.01$) microbial count of Coli form Bacteria & *Escherichia coli* & *E.coli* O157:H7 . the Bacteriostatic & Bacteriocidal effect of Emulsifying salts on microbial activity wase confirmed The TBC were high signfica ($p<0.01$) reduce in cooked cheese with 2.5% Emulsifying salts when added . Were no growth of *Escherichia coli* & *E.coli* O157:H7 in nutrient broth with 2% Emulsifying salts added . Data revealed that the best mix of Emulsifing salts was that wich composed of :- 90% Sodium tripolyphosphate + 10% Trisodium citrate .

المقدمةIntroduction

أصبحت الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان منتشرة بشكل واسع في مختلف بلدان العالم ، ولمنتجات الحيوان تأثيرا مهما في انتقال هذه الأمراض للإنسان وللجبن الطري المصنع في منازل مربي الحيوانات من الحليب الخام دورا كبيرا في نقل العديد من مسببات المرضية للإنسان بسبب ارتفاع حمولته الجرثومية الناتجة عن عدم استخدام المعاملات الحرارية الكافية للقضاء على الجراثيم المرضية المتواجدة في الحليب المعد للتصنيع وكذلك عن التلوث الحاصل بسبب الطرق البدائية المتبعة أثناء الإنتاج والنقل والتداول وعلى هذا الأساس وبسبب افتقار مثل هذا الجبن للشروط الصحية فان تحديد نوعية أملاح الاستحلاب النموذجية ونسبها الملائمة لاستحلاب الجبن الطري المصنع محليا ستؤدي إلى القضاء على الجراثيم المرضية التي تتواجد فيها وإلى اختزال حمولته الجرثومية التي لها دور كبير في نوعيتها وإطالة مدة صلاحية هذا الجبن للاستهلاك [4;3;2] ولتسليط الضوء على دور تلوث الحليب بصورة عامة ومنتجات الجبن المنتجة محليا بصورة خاصة في وبائية جراثيم الأيشريشيا القولونية نمط O157:H7 وعلاقتها بالصحة العامة للمستهلك وحيث أثبتت الدراسات أن الأبقار تعد المستودع الرئيسي لهذه الجراثيم كما هو مبين في مخطط (1) . ولمعرفة الحجم الحقيقي لهذه المشكلة محليا . أجريت هذه الدراسة باتباع تقنيات عزل وتشخيص جراثيم الأيشريشيا القولونية نمط O157:H7 من منتجات الجبن المحلي على مدى الموسم الصيفي والشتوي .



مخطط ١. يبين المصادر الرئيسية لإصابة الإنسان بجراثيم الأيشيريكيا القولونية O157:H7 .

استعراض المراجع Literatures Review

في دراسة مسترجعية من ملفات الراقدين في مستشفى الطفل المركزي التعليمي ومستشفى أطفال المنصور التعليمي في بغداد للفترة من (١٩٩٠-١٩٩٧) أظهرت النتائج أن ما يقرب من (٢٦%) من الوفيات كانت بسبب الإسهال وأن (٥٥.٥%) من الأطفال المصابين هم دون سن الخامسة من العمر وشكلت جراثيم الايشيريكيا القولونية (١٣%) من مسببات الإسهال وفي دراسة أخرى أجريت لـ (٢٠٠) من الأطفال المصابين بإسهال دموي والراقدين في مستشفيات من مستشفيات بغداد تم العثور على عوامل جرثومية لدى (٣٩.٥%) من المصابين ، هذا وقد وجد النمط المصلي O157:H7 لدى (١١.٥%) من الأطفال المصابين [6;5]. وتقدر نسبة الحدوث السنوية الافتراضية بالأيشيريكيا القولونية نمط O157:H7 في الشرق الأوسط في العراق بـ ٦.٨١٠ باعتبار عدد السكان ٢٥.٣٧٤.٦٩١٢ . [7]

عزلت الايشيريكيا القولونية *Escherichia coli* لأول مرة من عينات براز الأطفال في ألمانيا عام (١٨٨٥) من قبل Theodor Von Escherich. أما Lareull فقد كان أول من افترض أمراضيتها في عام (١٨٨٩). وهي أهم أجناس بكتريا القولون Faecal Coli form Bacteria الغير ممرضة نسبيا أو الممرضة انتهائية وتتواجد طبيعيا في قولون الإنسان والحيوانات ذات الدم الحار وتتواجد في برازها وتدعى بالدالة أو المؤشرة لان تزايد أعدادها عن الحد الطبيعي يدل على وجود نشاط للممرضات ومؤشر موثوق به لظروف الإنتاج والتحضير غير الصحية وعدم كفاءة المعاملات الحرارية والبسترة والتلوث بعد الإنتاج . وقد حدد الجهاز المركزي العراقي للتقييس والسيطرة النوعية في مسودة المواصفات القياسية ذات الرقم ١/٦٩٣ (١٩٨٨) العدد المسموح به لبكتريا القولون بان لا يزيد عن ١٠٠ CFU/غم في الجبن الطري . وافر الجهاز في المسودة ذات الرقم ٢/٦٩٣ (١٩٩٠) بخلو الجبن المطبوخ من بكتريا القولون . [8] وهناك عترة من الايشيريكيا القولونية نمط مصلي (O157:H7) منتج للذيفانات ، يحدث الخمج بها عن طريق شرب الماء الملوث بخام المجاري أو الحليب غير المبستر أو لحم البقر الملوث وغير معاملة حراريا . وقد صف الخمج بهذه العترة لأول مرة عام ١٩٨٢ في ولايتي ميشيغان وأوريكون الأمريكيتين لحدوث وباء الإصابة بها ثم سجل في استراليا ، كندا ، اليابان ، الولايات المتحدة ، أرجاء أوروبا وأفريقيا الجنوبية .

وسجل أكبر خمج بالمسبب عام ١٩٩٦ حين اندلع الخمج في اليابان واجتاح ٦.٣٠٠ مدرسة أطفال وسبب ٢ حالة وفاة بينما سجلت المراكز الطبية المتخصصة في السنوات الأخيرة ما يقارب (500) حالة وباء سنوياً، تضمنت (73000) حالة إصابة مقترنة بوفاة (٦٠) حالة منها . ومما يزيد من خطورة هذه العترة أن إصابة المستهلك تحدث بجرع واطنة تقدر بـ (10-100 CFU) وشهدت الفترة الأخيرة وفي مختلف دول العالم تزايد في حالات الإصابة بهذه الجرثومة نتيجة لانتقالها عن طريق عدد من النواقل الغذائية الملوثة وخاصة عن طريق الحليب ومنتجاته الملوثة.[9;10;11]

الصفات العامة لجراثيم الايشريكية القولونية نمط O157:H7 :-

إن معظم تفاعلات الايشريكية القولونية نمط O157:H7 تعد مثالية ما عدا كونها غير مخمرة لسكر السوربيتول وغير مخمرة لسكر الرامينوز ولا تمتلك أنزيم (Glucuronidase) ، ينمو هذا النمط المصلي على سطح الخلايا المعوية المصابة في الأمعاء وليس داخلها وتمتاز بقدرتها على الانتقال من شخص إلى شخص وأن هذا النمط يختلف عن الأنماط الأخرى بكونه ينتج ذيفانات Verotoxin (لتأثيراته المرضية على خلايا Vero الطبيعية لكلية القرد الخضراء) وكذلك قد يدعى Shiga-like Toxin(SLT) متمثلة بذيفان (SLT 1) أو (SLT 2) أو (كلاهما) . [12] .

أمراضية Pathogenicity جراثيم الايشريكية القولونية نمط O 157:H7 :-

نتيجة تزايد كل من حالات الإصابة وحالات الوفيات المرتبطة بجراثيم الايشريكية القولونية نمط O157:H7 يتم التركيز على تأثيرها المرضي والذيفان الذي تنتجه وأعراضها السريرية . فقد وجد أن كل الأعمار ومن كلا الجنسين تكون عرضة للإصابة ولكن توضح بأن الأطفال دون سن الخامسة وكبار السن والأشخاص ذوي المستوى المناعي الضعيف هم الأكثر تضرراً بالإصابة وأن الإصابة في الأطفال قد تتطور لمضاعفات خطيرة . أن أهمية تمركز هذه الجراثيم في القناة الهضمية للإنسان نتيجة قدرتها على تحمل حمضية الأغذية وهذه القدرة تعود إلى تعرض الجراثيم المعوية لمستوى منخفض من الأس الهيدروجيني مما يجعلها متكيفة للعيشة في الأغذية الحمضية أو أن هذه القدرة تعود لامتلاك الجراثيم لجين معين والذي يشفر لعامل مسؤول عن قدرتها للعيش في أس حامضي منخفضة يصل لأقل من (٢.٥) . وبذلك فإن للجراثيم القدرة على تحمل حمضية المعدة وتصل لنهاية الجهاز الهضمي حيث تتمركز في القولون الذي يعد منطقة حدوث الإصابة والمتمثلة بأعراض الإسهال حيث تلتصق هذه الجراثيم بشدة على سطح الخلايا المعوية مسببة أحداث أفة الارتباط والطمس Attaching&Effacing(A/E)lesion لزغابتها الدقيقة ، أو قد تنتج ذيفان Verotoxin وبارتباط الذيفان بالخلايا المستهدفة وامتصاصه إلى داخلها يحدث موت وتحطم لهذه الخلايا وقد توضح وجود تركيز عالي من مستقبلات ذيفان (SLT) في كلية الإنسان والخلايا الطلانية للأنيبيبات الكلوية مما يؤدي إلى زيادة ارتباط الذيفان وبالتالي إلى الإصابة بالعجز الكلوي نتيجة تحطم هذه الخلايا . ومما يزيد من كفاءة أمراضية هذه الجراثيم هو انخفاض الجرعة اللازمة لإحداث الإصابة مقارنة مع بقية الجراثيم التابعة للصنف . [13] .

الأعراض السريرية للخمج بالايشرية القولونية نمط O157:H7 في الإنسان [13]

أن فترة حضانة المرض تستغرق من (١-٨) يوم ويتم خلالها حصول طرح للجراثيم من المصابين تتباين الأعراض السريرية التي قد تصل إلى حد الوفاة الناتجة عن الخمج وما بين الإصابة الخالية من الأعراض ورغم عدم معرفة سبب عدم ظهور أعراض مرضية خلال فترة الحضانة في الأصحاء حيث تخنفي الأعراض تدريجياً خلال (٤-١٠) يوم . أن التلف الشديد للغشاء المخاطي للأمعاء الناتج عن الجرثومة أو ذيفانها يسبب مغص معوي شديد وإسهال مائي يتطور إلى إسهال دموي خلال (٢-٣) يوم بالإضافة إلى الغثيان ، تقيئ مع حمى قليلة وغير مستمرة وأن أكثر حالات إصابة الأطفال والمسنين تحتاج إلى تدخل طبي في المستشفى . وتسبب جراثيم الايشريكية القولونية نمط O157:H7 المضاعفات المرضية التالية :-

(١) - التهاب القولون النزفي (HC) Hemorrhagic Colitis

متلازمة سريرية تشتمل على مغص معوي شديد وإسهال مائي يتطور إلى إسهال دموي بالإضافة إلى الغثيان والقيء مع حدوث إفراز في النسيج المخاطي للقولون مصحوب بنزف أحياناً .

(٢) - متلازمة حال الدم اليوريمي (HUS) Hemolytic Uremic Syndrome

مضاعفات خطيرة لتطور (HC) إلى متلازمة (HUS) وهي شائعة في أطفال دون سن الخامسة وفي المسنين ووجد أن (١٠) من أصل (٧١) طفل مصاب بهذه الجراثيم قد تطورت الحالة لديهم إلى متلازمة (HUS) وتقدر نسبة الوفيات بـ (٣-٥%). وقد وجد أن لذيغان (SLT2) له تأثير كبير في تطور حالة الإصابة بهذا النمط المصلي إلى متلازمة (HUS) من لذيغان (SLT1) . وفيها يحصل تحطم كريات الدم الحمراء مؤدياً إلى عجز كلوي وتقدر نسبة حدوث هذه المضاعفات بـ (١٠%) ، هذه المتلازمة تبدأ بعد (٣-٤) أيام من تناول الطعام الملوث وتستمر من (٨-١٠) أيام وتتمثل أعراض المتلازمة بمغص معوي شديد، إسهال دموي شديد، فقر دم الانحلالي، حمى بسيطة وعدوى المسالك البولية والذي يؤدي إلى عجز في الكلية . وهناك عوامل تلعب دور في تطور الإصابة كـ (الوراثة والعقاقير والكيمياءويات ومستوى المناعة للمصاب وحجم جرعة الإصابة، وضراوة السلالة) .

(٣) - فرقرية نقص الصفيحات الدموية المختلط (TTP) Thrombotic Thrombocytopenic Parpura

تشابه متلازمة (HUS) من حيث الأعراض ولكن تختلف بكون الأعراض العصبية والحمى تبدوان أكثر وضوحاً . ولم تسجل أي حالة مماثلة لدى الأطفال المصابين بهذه الجرثومة وإقتصرت الإصابة على كبار السن فقط . وبلغت نسبة تطور الإصابة بـ (HC) إلى (TTP) حوالي (٨%) مع حدوث حالات وفاة تقدر بـ (٥٠%) .

أملاح الاستحلاب Emulsifying salts

من خلال تجارب الباحثين المشتغلين في صناعة الجبن ونتيجة للبحث عن طريقة لحفظ الجبن الجاف وشبه الجاف لوحظ انفصال مكونات الجبن (ماء ودهن والبروتين) عن بعضها البعض أثناء طبخها مما أدى إلى البحث عن مركبات كيميائية لها القدرة على منع الانفصال إضافة إلى قابليتها على انتشار البروتين في المستحلب . استعمل Habicht عام (1934) قسم من أملاح الاستحلاب المعروفة في الوقت الحاضر [14] ، وهي مركبات عضوية ذات جذور أحادية التكافؤ وموجبة الشحنة وأخرى عديدة التكافؤ سالبة الشحنة حيث تعمل كعامل مشتت للبروتين وبذلك تساعد على إذابة فضلا عن استحلاب الدهن ولكن وجد إن بعضها غير مناسب للاستعمال في صناعة الجبن وذلك لأسباب واعتبارات اقتصادية . وجدت أملاح استحلاب جوها Joha emulsifying salt عام ١٩٣٦ واستعملت في صناعة الجبن [15] وبنجاح كبير ويوجد حوالي ٢٠ نوع من هذه الأملاح لملائمة صناعة كافة أنواع الجبن . وتتباين هذه الأملاح في قدرة كل منها على إحلال وانتشار البروتين وتأثيره على الأس الهيدروجيني pH لخليط الجبن المستعمل وقدرته في مقاومته تغيرات الأس الهيدروجيني (لمحاليها بتركيز ١%) وقسمت إلى أملاح استحلاب حامضية وقاعدية ومتعادلة . تعمل أملاح الاستحلاب على إيقاف فاعلية الكالسيوم الذي يؤثر في ثبات هلام الجبن و أول خاصية لمثلح الاستحلاب قدرته على إذابة الكازين من خلال إنتاج سائل متجانس [16] . ولأملاح الاستحلاب القدرة في التأثير على خواص حفظ المنتج من الناحية البكتريولوجية من خلال تأثيرها القاتل Cidal أو المثبط Static لنمو البكتريا. [17]

تتضمن أملاح الاستحلاب المستخدمة في صناعة الجبن أملاح سترات ثلاثي الصوديوم trisodium citrate وأملاح أحادي فوسفات الصوديوم sodium monophosphate والبايروفوسفات الصوديوم sodium pyrophosphat وثلاثي فوسفات خماسي الصوديوم penta sodium tripolyphosphate وملح كراهام . سداسي ميتافوسفات hexametaphosphate

وثلاثي ميثافوسفات الصوديوم sodium trimetaphosphate ورباعي ميثافوسفات الصوديوم sodium tetraphosphate

المواد وطرائق العمل Materials&methods

العد الكلي للأيشريكية القولونية نمط O157:H7 [١٨]

١-تؤخذ ١١ غم من عينة الجبن المراد فحصها .

٢-تجانس في (٩٩) مل من وسط ماء البيبتون الأغثاني Buffer Pepton Water (B.P.W) .

٣-تحضن عند درجة حرارة (٤١) م لمدة (٢٤) ساعة .

٤- تجرى على العينة سلسلة من التخفيف العشرية . استعمل طبقين للتخفيف الواحد ونقل ١مل و ٠.١ مل من المخفف إلى كل طبق وحضر وسط Cefixim Tellurite (CT)-Sorbitol MaCconky (SMAc) وصب في أطباق تخفيف العينة . ويزرع ١مل من المخفف ويحضن عند درجة حرارة (٣٧) م لمدة (٢٤) ساعة لغرض عزل جراثيم الأيشريكية القولونية والأيشريكية القولونية O157:H7 .

٥- يكون نمو الأيشريكية القولونية على شكل مستعمرات ذات لون وردي إلى أحمر في حين أن الأيشريكية القولونية غير المخمرة لسكر السوربيتول والتي بضمنها النمط المصلي O157:H7 إن وجدت ستنمو على شكل مستعمرات عديمة اللون إلى شبه رمادية مع مركز ضبابي وبقطر (١-٢) ملم . فيتم انتقاء الطبق الزراعي ذو التخفيف العشري الأمثل والذي تتراوح أعداد المستعمرات النامية فيه والمشخصة مظهرها ما بين (٣٠-٣٠٠) مستعمرة . وتحسب أعداد المستعمرات الكلية ويؤخذ المعدل لها ثم يضرب في مقلوب التخفيف للحصول على عدد مستعمرات/غم من عينة الجبن (CFU/g).

٦-اختيار المستعمرات عديمة اللون، ملساء ، ذات مركز ضبابي وزرعها على وسط مغذي (N.A.) وحضنها لمدة (٢٤) ساعة عند درجة حرارة (٣٧) م .

٧-إجراء الاختبار المصلي Serological test (لاتكس O157 Latex) لتشخيص لجراثيم الايشريكية القولونية O157 يستخدم اختبار تلازن الشريحة (Slid agglutination test) لتشخيص النمط المصلي O157:H7 بتوفر المضاد المصلي النوعي للمستضد الجسمي (O157) والمستضد السوطي (H7) كفحص تأكيدي لهذا النمط المصلي . ويعتمد هذا الاختبار على تلازن اللاتكس السريع حيث استخدمت عدة خاصة لهذا النمط المصلي وحسب تعليمات شركة (Oxoid/England) المصنعة وتتضمن العدة ٤ كواشف وهي :-

(Control positive, O157 test latex, Control Negative, O157 Control latex) .

وتشير النتيجة الموجبة إلى امتلاك العزلة الجرثومية للمستضد الجسمي O157 ويشترط في ذلك عدم ظهور التلازن مع كاشف السيطرة O157 control latex .

تأثير أملاح الاستحلاب على الايشريكية القولونية

بعد التأكد وتثبيت هوية البكتريا [20;19] اخذت عروة ناقلة قياسية واحدة من مستعمرات البكتريا النقية المزروعة في المرق المغذي وحضنت بدرجة حرارة ٢٣±١ م لمدة ٢٤±٢ ساعة . بعدها تم اخذ ١مل من المرق المغذي المزروع وأجريت التخفيف

العشرية المطلوبة مع محلول الملح الفسلجي أو محلول دارئ الفوسفات وحسب عدد البكتريا في كل ١ مل من المرق ، بعدها تم إضافة (٢ و ٢.٥ و ٣) غم من مسحوق أملاح الاستحلاب لكل ١٠٠ مل من المرق المزروع ثم حسب أعداد مستعمرات الجراثيم النامية بعد إضافة أملاح الاستحلاب .

النتائج Results

جدول (١) النسب المئوية لمكونات ٤ خلطات من أملاح الاستحلاب التجريبية ونتائج التغير في الأس الهيدروجيني

مكونات خلطة ملح الاستحلاب %	خلطة (١)	خلطة (٢)	خلطة (٣)	خلطة (٤)
Sodium tripolyphosphat	90	90	95	100
Trisodium citrate	5	10	-	-
Sodium carbonate	5	-	5	-
الأس الهيدروجيني pH	10.23	10.23	10	9

جدول (٢) العزل الجرثومي للأيشريكيا القولونية O157:H7 / غم من نماذج الجبن المحلى خلال فترة التجربة

الشهر	عدد العينات الكلي/ عدد العينات الموجبة	نسبة العزل %	معدل العد الجرثومي لمستعمرات CFU/g . O157:H7
تموز	٩/١٥	٦٠	$10^1 \times 2.7$
أب	٨/١٥	٥٣.٣	$10^1 \times 3.2$
كانون الأول	٧/١٥	٤٦.٦	$10^0 \times 7.5$
كانون الثاني	٦/١٥	٤٠	$10^0 \times 6.8$
الكلية	٣٠/٦٠	٥٠	$10^0 \times ٥.١$

جدول (٣) نسب العزل ومعدل العد الجرثومي للأيشريكيا القولونية O157:H7 / غم في محلات المناطق الشعبية

المنطقة الشعبية	عدد العينات الكلي/ عدد العينات الموجبة للموسم الصيفي	عدد العينات الكلي/ عدد العينات الموجبة للموسم الشتوي	نسبة العزل %	معدل العد الجرثومي لمستعمرات CFU/g . O157:H7
الشعلة	٤/٦	٣/٦	34	$10^1 \times 1.4$

جميلة	٤/٦	٣/٦	7 / 12	34	١٠° × 1.8
البياع	٢/٦	٢/٦	4 / 12	32	١٠° × 3.7
الحرية	٤/٦	٢/٦	6 / 12	50	١٠° × 4.2
أبو غريب	٣/٦	٣/٦	6 / 12	50	١٠° × 4.2
الكلبي	١٧/٣٠	١٣/٣٠	٣٠ / 60	50	١٠° × 5.1

جدول (٤) مقارنة معدلات العد الجرثومي لعينات الجبن الطري المحلى لكل من الموسم الصيفي والشتوي

CFU	الموسم الصيفي	الموسم الشتوي	مستوى المعنوية
	العد البكتيري الكلي ± الخطأ القياسي SE	العد البكتيري الكلي ± الخطأ القياسي SE	** اختلاف عالي المعنوية (P<0.01)
العد البكتيري الكلي TBC	-١٠ ^٧ × ١.٨٠	-١٠ ^٧ × ١.٢٠	**
	١٠ ^٧ × ٠.٠٨٦ ± ١٠ ^٧ × ١٢.٠٨٣	١٠ ^٧ × ٠.٠٨٧ ± ١٠ ^٧ × ٩.٥	
عد بكتريا القولون	١٠ ^٥ × ١.٣٥ - ١٠ ^٤ × ٥.١	١٠ ^٥ × ٥.٠ - ١٠ ^٤ × ١.٠٣	**
عد الايشريشيا القولونية/ غم	١٠ ^٤ × ٨.٢	١٠ ^٤ × ٧.٥	غير معنوي
عد الايشريشيا القولونية O157:H7 / غم	١٠ ^٥ × ٥.٤	١٠ ^٥ × ٤.٨	غير معنوي

جدول (٥) معدلات العد الايشريشيا القولونية O157:H7 / غم لعينات المرق المغذي وتأثير إضافة نسب أملاح الاستحلاب

ملح الاستحلاب %	٠ %	٢ %	٢.٥ %	٣ %	مستوى المعنوية
					** اختلاف عالي المعنوية (P<0.01)
الأس الهيدروجيني pH	٧.٢	٩.٨	٩.٨٥	٩.٩	-
عد الايشريشيا القولونية / غم	B ١٠ ^٦ × ١.١٤	A 0	A 0	A 0	**
عد الايشريشيا القولونية O157:H7 / غم	B ١٠ ^٥ × ٥.١	A 0	A 0	A 0	**

جدول (٦) تأثير إضافة خلطة (٢) بنسبة ٢.٥% على العد البكتيري الكلي وعد الايشريشيا القولونية و O157:H7 / غم

ملح الاستحلاب %	% ٠	% ٢.٥	مستوى المعنوية
			** اختلاف عالي المعنوية (P<0.01)
العد البكتيري الكلي TBC	١٠.٢ × ١٠ ^٦	١٠.٧ × ١٠ ^٤	**
عد الايشريشيا القولونية / غم	١٠.٠ × ١٠ ^٦	٨.٢ × ١٠ ^٣	**
عد الايشريشيا القولونية O157:H7 / غم	5.1 × ١٠ ^٥	٤.١ × ١٠ ^٣	**

المناقشة Discussion

لقد اعتبرت المنظمات الصحية الدولية إصابة الإنسان بهذا المسبب المرضي ذات أهمية صحية واقتصادية قصوى لكونها تسبب إصابة معوية حادة (Acute intestinal illness) أو مضاعفات مرضية خطيرة أو كلاهما. وتحدث الإصابة عند تناول الطعام الملوث أما نتيجة وجود الجراثيم نفسها أو بسبب وجود الذيفانات التي تنتجها وتظهر الإصابة خلال ساعات وقد تصل إلى أيام . ومن خلال الدراسات والتقارير الصادرة عن هيئة الأدوية والأغذية [21] ومراكز السيطرة على الأمراض [22] تبين أن نسبة حدوث الإصابة السنوية بجراثيم الايشريشيا القولونية نمط O157:H7 قد تكون عالية (وهي 1.06 حالة / ١٠٠٠٠٠) إلا أن خطورة الإصابة ونسبة الوفاة تكون قليلة (وهي ٠.٩٤ نسبة وفاة / ١٠٠ حالة) مقارنة بجراثيم أخرى تكون نسبة حدوث الإصابة قليل إلا أن نسبة الوفاة عالية .

أثبتت نتائج التحليل المايكروبيولوجي بان عينات الجبن المصنع محليا وجمعت بصورة عشوائية من أسواق خمسة أطراف شعبية لمدينة بغداد شملت مناطق (الشعلة ، جميلة ، البياع ، الحرية ، أبو غريب) وبمعدل ٣٠ عينة لكل من الموسم الصيفي من بداية تموز إلى نهاية آب والموسم الشتوي من بداية كانون الأول إلى نهاية كانون الثاني وجميع هذه العينات كانت ذات مستوى متدن من ناحية الصحية والنوعية وغير مطابقة للمواصفات المحلية والدولية .

حيث تبين نتائج جدول (٢) عدد العينات الموجبة إلى عدد العينات الكلي ونسب العزل ومعدلات العد الكلي لجراثيم الايشريشيا القولونية نمط O157:H7 في الجبن المحلي للموسمين الصيفي (شهر ٧ و٨) والشتوي (شهر ١٢ و١)

بينما تبين نتائج جدول (٣) عدد العينات الموجبة إلى عدد العينات الكلي ونسب العزل ومعدلات العد الكلي لجراثيم الايشريشيا القولونية نمط O157:H7 في الجبن المحلي في المناطق الشعبية التي تم جمع العينات منها للموسمين الصيفي والشتوي وفي كلا الجدولين (٢ و٣) نجد أن نسب المعدل الكلي لتواجد جراثيم الايشريشيا القولونية نمط O157:H7 CFU/g كان ٥٠%.

بينما تؤكد نتائج جدول (٤) إن لفصول السنة تأثير على الحمل البكتيري للجبن الطري لكل من بكتريا القولون و جراثيم الايشريشيا القولونية و جراثيم الايشريشيا القولونية نمط O157:H7 وأظهرت نتائج الفحص الإحصائي وجود فرق عالي المعنوية (P<0.01) في معدلات العد البكتيري الكلي CFU/g للموسم الصيفي عن الموسم الشتوي .

ويعزى هذا الارتفاع إلى أسباب كثيرة منها حصول زيادة في طرح الجراثيم مع فضلات الأبقار خلال موسم الصيف وسوء تطبيق القوانين الصحية عند الإنتاج والتسويق والعرض إضافة إلى التكاثر السريع للجراثيم في منتجات الجبن المحلي عندما تصبح درجة حرارته قريبة من الدرجة المثلى لنموها خلال الموسم الصيفي حيث تتعرض لظروف التبريد والإذابة المتكررة بسبب انقطاع التيار الكهربائي أثناء الخزن بالإضافة إلى بقاءها لفترات طويلة في محلات البيع وعدم استهلاكها بوقت قصير من قبل المواطن مما يعرضها لهذه الظروف ولأطول الفترات .

كما ويلاحظ أيضا وجود فرق عالي المعنوية ($P<0.01$) في معدلات العد الكلي لبكتريا القولون CFU/g للموسم الصيفي عن الموسم الشتوي في حين لم يكن هناك فرق معنوي في المعدلات المرتفعة في العد للايشريكية القولونية CFU/g و جراثيم الايشريكية القولونية نمط O157:H7 خلال الموسمين . ويعزى هذا الارتفاع إلى أسباب كثيرة منها الاستمرار في طرح جراثيم الايشريكية القولونية O157:H7 مع فضلات الأبقار إضافة إلى الأسباب المتقدمة الذكر .

وتشير نتائج جدول (٥) بوجود فرق عالي المعنوية ($P<0.01$) في معدلات العد للايشريكية القولونية و جراثيم الايشريكية القولونية نمط O157:H7 قبل وبعد إضافة (٢ و ٢.٥ و ٣ %) من أملاح الاستحلاب إلى المرق المغذي ويعزى هذا الاختلاف نتيجة تغير الأس الهيدروجيني للمرق المغذي ليصبح قاعدي بفعل الأملاح حيث كان ٧.٢ وأصبح بعد إضافة الأملاح (٩.٨ و ٩.٨٥ و ٩.٩) على التوالي . مما أدى إلى انعدام نمو الايشريكية القولونية و جراثيم الايشريكية القولونية نمط O157:H7 في عينات المرق المغذي .

وتؤكد نتائج جدول (٦) إن لبعض أملاح الاستحلاب تأثير قاتل Cidal أو مثبت Static للبكتريا [16] فعند إضافة تركيز ٢.٥ % من أملاح استحلاب من خلطة (٢) المستخدمة في التجربة كان هناك انخفاض عالي المعنوية ($P<0.01$) في العد البكتيري الكلي من $10^2 \times 1.2$ إلى $10^4 \times 6.7$ CFU/g وفي عد الايشريكية القولونية من $10^1 \times 1.0$ إلى $10^3 \times 8.2$ CFU/g وفي عد جراثيم الايشريكية القولونية نمط O157:H7 من $10^0 \times 5.1$ إلى $10^3 \times 4.1$ CFU/g ويعزى هذا الاختلاف نتيجة التأثير المثبط للبكتريا Bacteriostatic بفعل أملاح الاستحلاب .

References

- [1] Vasavada,P.C.: Pathogenic bacteria in milk-a review.J.Dairy Science, 1987, 71(10):2809-2816.
- [2] Andrews,A.H.;Humphreys,D.J.: Poisoning in vet. Practice ,Nat. O. Of Animal Health ,Enfield., 1992.,1-114.
- [3] Boor,K.J.;Brown,D.P.;Murphy,S.C.;Kozlowski,S.M.;Bandler,D.K.: Microbial & Chemical quality of Row milk . J.Dairy Sci. 1998,81:1743-1748.
- [4]Radostits,O.M.;Cay,C.C.;Blood,D.C.;Hinchcliff,K.W.(2000):Veterinary Medicine , text book of diseases .
- [5]Tawfeek,H. (1999): Fortification of Infant formula with some Anti- Enteropathogenic *Escherichia coli* colostrals antibodies./College of Veterinary Medicine .University of Baghdad.

- [6]Shebib,Z.A.;AbdulGhani,Z.G.;Mahdi,L.Kh.(2003): First report of *Escherichia coli* O157:H7 among Iraqi children. Eastern mediterranea health J. 9(1).
- [7]US Census Bureau, International Data Base, (2004)
- [8]Iraq.std.B.(1988;1990): Iraqi Central Board for Standardization.
- [9]Wang,G.;Zhao,T.;Doyle,M.P.: survival and growth of *E. coli* O157:H7 in Unpasteurized & Pasteurized milk. Food Protection, 1997,60 (6):610-163.
- [10]Saudi,A.M.(2002): Milk Dairy Products . 1st Ed. Cairo University Publishing Center .
- [11]Andrews,A.H.;Blowey,R.W.;Boyd,H.;Eddy,R.G.(2004): Bovine Medicine , text book of diseases & husbandry of cattle .
- [12] Krieg,N.R.;Holt,J.Q.(eds): Berges manual of systamic Bacteriology . vol.II. Williams & wilkins ,Baltimor,USA.
- [13] Al-Kiat,F.A.M.(2006): Hygenic importance of *E.coli* O157:H7 Isolated from local beef & broiler /College of Veterinary Medicine .University of Baghdad.
- The use of Emulsifying salt in Dairy Production .):1934([14] Habicht,
- [15] Joha,(1936): the use of Emulsifying salt in Dairy Production .
- [16] Meyer,A.(1973): Processed cheese manufacture .Food trade press , LTD . London.
- . Citted by London .Ltd. processed cheese manufactuer . food press [17]Ruf,F;Kehrer,H.(1964): Meyer.
- [18] Noveir,M.R.;Halkman,A.K.: A study on selective broths and agar media for the isolation of *E. coli* O157:H7 serotype. Turk.J. Vet. Anim.Sci. 2000, 24:459-464.
- [19]Scoter,S.;Aldridg.,M.;Capps,K.: Validation of a method for the detection of *E. coli* O157:H7 in foods. Food Control ,2000,11:85-95.
- [20] Murphy,S.C.: Rawmilk bacteria tests : Standard Plate Count , Coliform Counte, 1997:34-42.
- 21-FDA : (Food and Drug Administration), *Escherichia coli* O157:H7. Center for food safety & Applied nutrition food borne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook. Vm.cfsan.fda.gov/mow/ chap 15.html,accessed March 2002. Flora. 2002. 36-43.

22-CDC (2005): (Centers for Disease Control and Prevention), Compendium of measures to prevent disease associated with animals in public setting. National Association of State Public Health Veterinarian. Inc. (NASPHV).