تواجد بكتريا Escherichia coli O 157: H7 في لحم البقر ومنتجاته والحليب ومنتجات الألبان في أسواق بغداد

فاهم حبيب ظاهر ضياء حسين عوني محمد رقية مصطفى علي محمد منير جميل

وزارة الزراعة - الشركة العامة للبيطرة - مختبر الصحة العامة وسلامة الأغذية

الملخص

أجري هذا البحث للتحري عن تواجد بكتريا *E. coli* O157:H7 في لحم البقر ومنتجاته والحليب ومنتجات الألبان المتداولة في أسواق مدينة بغداد, تم تشخيص عزلتين من 100 نموذج من لحم البقر ومنتجاته وبنسبة 2% من مجموع النماذج و 3.33% من لحم البقر المفروم وعزلة واحدة من 98 انموذجاً من الحليب ومنتجات الألبان وبنسبة 1.02% من مجموع النماذج وبنسبة 7.4% من منتوج قيمر العرب, تم تأكيد تشخيص العزل بالفحوصات الكيموحيوية والسيرولوجية، وأظهرت هذه الدراسة تلوث لحم البقر المفروم وقيمر العرب ببكتريا *E. coli* O157:H7 التي تشكل إحدى المسببات المرضية البكتريولوجية المهددة للصحة العامة عند أستهلاك الأغذية الجاهزة للأكل مثل منتج قيمر العرب.

المقدمة

تعود بكتريا *Escherichia coli* (*E. coli*) إلى عائلة Enterobacteriaceae وهي عصيات مستقيمة سالبة لصبغة كرام, لا تكون الأبواغ, متحركة بأسواط متعددة، هوائية أختيارية, تنتج حامض وغاز من سكر الكلوكوز واللاكتوز وتخمر سكر السوربتول ولا تنتج H_2S ولا تحلل اليوريا وسالبة لأنزيم الاوكسديز(2؛ 13), أن معظم بكتريا *E.coli* تقدر بـ 94% غير مرضية تتواجد وبشكل طبيعي في القناة الهضمية للانسان والحيوانات وتتميز الأنواع المرضية Pathogenic strains بأنتاج سموم Exotoxins وهي Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) و Enteroinvasive *E. coli* (EIC) و Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) و Enteroaggregative *E. coli* (EAEC)

و(Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC، وتعتبر بكتريا *E. coli* O157:H7 من أهم أنواع مجموعة EHEC التي تسبب حالات مرضية وبائية أو فردية, وتم تشخيصها لاول مرة سنة 1982 كمسبب وبائي مرضي في أمـريكا (23)، تنتج *E.coli* O157:H7 سموم Shiga-like toxin (SLT) وتتقارب جينيا مع بكتريـا Shigella dysenteria وتتميز عـن مجـمـوعة *E. coli* بعدم أنتاجها أنزيم galactosidase -β ولا تخمر سكر السربيتول (2؛ 16؛ 23).

تلتصق البكتريا في جدار الخلايا المخاطية للأمعاء عند تناول الأغذية الملوثة وتفرز سموم Cytotoxin VT/SLT وتسبب تدمير microvilli في مكان الألتصاق وتكون الفرحة في الأمعاء Attaching and effacing (A/E) Lesion ويتطور المرض عند الأطفال وكبار السن الى أعراض مرض إلتهاب الكلى الدموي Haemorrhagic uraemic syndrome (HUS) المسبب لحالات الفشل الكلوي الحاد وتصل نسبة الوفاة في المصابين 3-7% وفي كبار السن الى 50% (12؛ 20)، وأن أهم أعراض المرض آلام البطن والقيئ والحمى والأسهال والأسهال الدموي Haemorrhagic colitis (HC) (2؛ 5؛ 16؛ 23)، تنقل البكتريا المرضية للأنسان بالتماس المباشر بين شخص وآخر وذلك لقلة الجرعة المرضية التي تصل 25 / 2 cells gm أو من تناول الاغذية الملوثة، وتعتبر الأبقار والمجترات المصدر الرئيسي لتلوث الأغذية والتربة والمياه وتتـلوث الأغذية خلال مراحل التحضير والتصنيع والتعبئة وخاصة اللحوم وحليب الأبقار (3؛ 6؛ 12؛ 15؛ 17؛ 22).

أن درجة الحرارة المثالية لنمو بكتريا E. coli 37م وأقل درجة حرارة 8- 7م، وأعلى درجة حرارة 46م وتستخدم درجة الحرارة 44–45,5م في المختبرات لحضن أطباق عزل البكتريا، كما ان درجة الحموضة المثالية هي pH 6-7 ودرجة الرطوبة المثالية هيaw 0.95 (1؛ 13).

المواد وطرائق العمل

تحضير النماذج:

تم جمع 100 نموذج من لحم البقر المحلي ومنتجاته و 98 نموذج من الحليب ومنتجات الالبان من اسواق مدينة بغداد, حفظت النماذج بدرجة حرارة 4 م، تم أخذ 25 غم أو 25 مل من كل نموذج في كيس معقم خاص بجهاز الهضم Stomacher وتم مزج النموذج مع 225 مل من سائل الانعاش Modified trypticase soya broth ($_M$TSB) المضاف اليه المضاد الحيوي . Cefixine 0.05 mg / L ، mg/L Vancomycin 8.00 وحضن سائل الانعاش لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37م (13).

العزل البكتيري:

زرعت أطباق الوسط الزرعي Tellurite-cefixime-sorbitol MacConky agar (TCSMAC) المحتوي على المواد المثبطة. Potassium tellurite 2.5mg /L و cefixime 0.0 5 mg/L وتم تخطيطها بعروة الناقل المعدني المعقم (loop) من سائل الانعاش MTSB بعد 6 ساعات و 24 ساعة وحضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة، بعدها تؤخذ مستعمرات *E coli* O157:H7 ذات اللون الشفاف المائل الى البني، وتم تنقية المستعمرات المثالية على أطباق Trypticase soya agar 0.6% yeast extract + (TSAYE) لغرض أجراء الفحوصات التأكيدية البايوكيمياوية والسيرولوجية (13؛ 18).

الفحوصات التأكيدية البايوكيمياوية:

تم أجراء الفحوصات البايوكيمياوية Indole production, Methyl red, Simons citrate utilization Voges proskeure (IMVICS) وفحص Levine Eosine methylene blue agar (L-EMB) وفحص سكر الكلوكوز واللاكتوز في أنابيب الأختبار Triple sugar iron agar (TSI) وفحص 4-Methylumbelliferly-B-D-glucusronidase (MUG) لتأكيد تشخيص *E. coli* O157:H7 وتمييزها عن مجموعة *Escherichi coli* (13؛ 18).

الفحوصات السيرولوجية :

تم إجراء تـأكيد العزلات البكتيرية بالفحـ ـص السيرولـوجي باستخدام شرائط Latex agglutination المنتجة من شركة Oxoid DR620 وتكون التلازن دليل موجب (13؛ 18).

النتائج والمناقشة

تم أخذ 100 نموذج من لحم البقر ومنتجاته, وتم تشخيص عزلتين لبكتريا *E. coli* O 157: H7 وبنسبة 2% من مجموع النماذج وبنسبة 3.33% من لحم البقر المفروم (الجدول، 1)، كما تم أخذ 98 نموذج من الحليب غير المبستر ومنتجات الألبان المصنعة منه وتم تشخيص عزلة واحدة من قيمر العرب وبنسبة 1.02% من مجموع النماذج وبنسبة 7.14% من منتوج قيمر العرب (الجدول، 2)، كانت العزل المشخصة عصيات سالبة لصبغة كرام، متحركة, أختيارية هوائية, أظهرت الفحوصات الكيموحيوية نتائج موجبة لفحص الاندول والمثيل الاحمر وسالبة لفحص Voges- praskeures والستريـت فـ ـي اختبار IMVCs وتخمر سكر اللاكتوز والسكروز والدكستروز فـي أنابيب أختبار TSI, وكان لون المستعمرات أخضر مشع Metallic schine precipitation على أطباق L-EMB وعديمة اللون مائلة للون البني على أطباق TCSMCA لعدم تخمر سكر السوربتول, أظهرت العزلات نتيجة سالبة لفحص MUG وعدم ظهور لون الفلورسنت الازرق بأشعة UV لعدم وجود أنزيم GUD، تم تأكيد العزل في الفحص السيرولوجي بأستخدام شرائط Latex agglutination test وظهور التلازن دليل على النتيجة موجبة.

جدول (1): العزلات الموجبة والنسبة المئوية لبكتريا *E. coli* O 157: H7 لنماذج لحم البقر ومنتجاته.

التسلسل	نوع النموذج	عدد النماذج الكلي	عدد النماذج السالبة للجرثومة	عدد النماذج الموجبة للجرثومة	النسبة المئوية
1	لحم بقر مفروم	60	58	2	%3.33
2	لحم بقري	14	14	- - - -	
3	همبركر	7	7	- - - -	
4	كباب	13	13	- - - -	
5	صوصج	6	6	- - - -	
المجموع		**100**	**98**	**2**	**%2**

جدول (2): العزلات الموجبة والنسبة المئوية لبكتريـا *E. coli* O 157: H7 لنمـاذج الحليب ومنتجات الألبان.

التسلسل	نوع النموذج	عدد النماذج الكلي	عدد النماذج السالبة للجرثومة	عدد النماذج الموجبة للجرثومة	النسبة المئوية
1	حليب غير المبستر	12	12	- - -	
2	جبن أبقار	56	56	- - -	
3	جبن أغنام	9	9	- - -	
4	جبن جاموس	7	7	- - -	
5	قيمر عرب	14	13	1	7.14%
المجموع		**98**	**97**	**1**	**1.02%**

أن النتائج المتحققة في هذه الدراسة تؤكد تلوث لحم البقر المفروم في المعامل والمجازر وأسواق بغداد ببكتريا *E. coli* 0157:H7، أن نسبة التلوث في اللحوم ولحم

المفروم تتفاوت بأختلاف طرق التحضير والانتاج, ففي البحوث التي أجريت على اللحوم ومنتجاته في تركيا (10) تم عزل 3 عزلات من 50 نموذج من لحم المفروم وبنسبة 6% وفي بحث آخر في تركيا (4) على منتج دونر كباب المصنع من لحم المفروم تم عزل 9 عزلات من 80 نموذج وبنسبة 11.25% وأشار الباحث الى وجود البكتريا في المنتوج بسبب عدم كفاية درجة الحرارة, وفي الهند (7) تم عزل عزلتين من 22 نموذج من لحم المفروم وبنسبة 9%, وفي مصر (8) أشارت دراسة تلوث الأغذية في مصر أن نسبة تلوث لحم المفروم ببكتريا *E. coli* 0157:H7 5% وفي منتوج الهمبركر والباسطرمة 4% وفي لحم العجل 5.26%, وفي ماليزيا (21) كانت نسبة التلوث في لحم البقر 36%, وفي أنكلترا (22) كانت نسبة التلوث في 134 نموذج من لحم البقر المفروم 17%, وفي كوستيريكا (1) لم يتم عزل البكتريا من لحم البقر المفروم.

تعد اللحوم ومنتجاته ناقل مهم لبكتريا *E. coli* 0157:H7 نتيجة التلوث خلال مراحل التحضير في المجازر والمعامل وأن أختلاف مستوى الوقاية والنظافة في المعامل تسهم في أرتفاع أو أنخفاض نسبة التلوث (22)، وأن النسب التي تم التوصل اليها في هذا البحث لا تختلف عما أشار أليها الباحثين ألا أن الأختلاف في عدد النماذج يعد من الأسباب المهمة لأختلاف النسب, يؤكد هذا البحث وجود البكتريا المرضية *E. coli* 0157: H7 في لحم البقر المفروم المعروض في أسواق مدينة بغداد.

وفي الحليب ومنتجات الألبان تم عزل عزله واحدة لبكتريا *E. coli* O157:H7 من 98 نموذج وبنسبة 1.02% من مجموع النماذج وبنسبة 7.14% من منتوج قيمر العرب (الجدول، 2), وقد أشارت منظمة الصحة العالمية (23) الى أن نسبة تلوث الحليب ومنتجات الألبان تصل الى 3%, وفي مصر (8) كانت نسبة التلوث 5% في حليب البقر والجبن الأبيض وفي حليب الجاموس 4.76%, وفي أيران (19) تم عزل 5 عزلات من 125 نموذج وبنسبة 4% من الأجبان الطرية المصنعة من الحليب غير المبستر, وفي كوستريكا (1) تم عزل عزلتين من 150 نموذج من الحليب غير المبستر وبنسبة 1.3%, وفي مسح ميداني في بنسلفانيا (14) أجري على 248 قطيع أبقار منتج للحليب كانت نسبة التلوث 2.4%, وفي أسبانيا (20) كانت نسبة التلوث في الحليب الخام 0.4%, وفي المانيا (23) كانت نسبة عزل البكتريا من الحليب الخام 3%, وفي بحث في تركيا (9) لوحظ أن نسبة تلوث حليب الأغنام غير المبستر 3.6% وحليب الماعز 20% ولم تعزل البكتريا من حليب الأبقار، تؤكد هذه الدراسة أن منتجات الحليب غير المبستر وسط لنقل بكتريا *E.*

coli O157:H7 ووجود أحتمال تلوث منتوج الألبان مثل قيمر العرب نتيجة عدم أستخدام الطرق المعملية في التصنيع والتعبئة وتعرض منتوج الألبان في موقع التصنيع للتلوث.

أن قلة الجرعة الممرضة وسهولة أنتقال البكتريا من خلال التلوث الجانبي في مصانع الأغذية تسهم في حدوث الأمراض الوبائي الفردية والجماعية مما أصدرت كثير من بلدان العالم ومنظمة الدستور الغذائي الدولية Codex حدود مايكروبية لوجود هذه البكتريا في الأغذية وأغذية الأطفال (23).

References

1. Alejandra, R.; Treminio, H. (2002). Isolation of *Esherichia coli* O157:H7 from Costa, Rican Food. Rev Biomed. 13(41): 72-80.

2. Ailsa, D. H. (2003). Food borne Micro Organisms of Public Health Significance, 6th ed., SBN, 267-310.

3.Cagney, C.; Crowley, H.; Duffy, G.; Sheridan, J. J.; Brien, S. O. and Carney, E. (2004). Prevalence and Numbers of *Esherichia coli* O157: H7 in Minced beef and Burgers from Butchers Shops and super - Markets in the Republic of Ireland. Food Microbiology. 21: 203-212.

4. Cavi, U. Z. (2006). Detection of *Escherichia coli* O157: H7 from Beefdoner Kababs Sold in kars, G. U. Journal of Science. 19(2): 99- 104.

5. Center for Food Security and Public Health (CFSPH) OIE. (2004). Enterohemorrhgaic Escherichia Infection, Collage of Veterinary Medicine, lowa State Sooll.

6. Chapman, P. A.; Siddons, C. A.; Cerdan melo, A. T. and Harkin, M. A. (2000). A one year study of *Escherichia coli* O157 : H7 in raw beef and lamb products. Epidemiol. Infecct. 124: 207-213.

7. Dutta, S. A.; Deb, U.; Chattopadhyay, K. and Sukamoto, T. (2002). Isolation of shiga-toxin producing *Esherichia coli* including O157:H7 from dairy cattle and beef sample marketed in Calcutta, India .J. Med. Microbiol. 49: 765-767.

8. El-Safey, E. M. and Abdul-Raouf, U. M. (2003). Detection of *Esherichia coli* O157:H7 in some Egyptian foods, Assiut. Journal of Agr. Science. 34(6): 221-233.

9. Ekici, K. and Bozkurt, H. (2004). Isolation of some pathogens from raw milk of different milk animals. Pakistan Journal of nutrition. 3(3):161-172.

10. Baran, F. and Gulmez, M. (2003). The occurrence of *Esherichia coli* O157:H7 in the ground beef and chicken drumsticks. Journal of Food Safety. 2: 13-15.

11. Grauke, L. J.; Kudva, I. T.; Yoon, J. W.; Hunt, C. W.; Williamsms, C. J. and Hovde, C. J. (2000). Gastrointestinal tract location of *Esherichia coli* O157:H7in ruminants .Appl. Environ. Microbiol. 68: 2269-2277.

12. Cock, D. D.; Besser, T. E.; Kinsel, M. L.; Tarr, P. T.; Rice, D. H. and Paros, M. G. (1994). The prevalence of *Esherichia coli* O157:H7 in dairy and beef cattle in Washington state. Epidemiol. Infection. 113: 199-207.

13. Hitchins, A. D.; Feng, P.; Watkins, W. D.; Rippey, S. R. and Chandler, L. A. (1998). Bacteriological Analytical Manual. 8th ed., Chapter 9. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition. AOAC.

14. Jayara, B. M.; Donaldson, S. C.; Straley, B. A.; Sawant, A. A.; Hede, N. V. and Brown, J. L. (2006). A survey of food borne pathogens in bulk, tank milk and raw milk consumption among farm families in Pennsylvania, J. of Dairy Science. 89: 2451-2458.

15. John, A.; Crump, M. B.; Alana, C.; Sulka, M. P. H.; Adam. J. and Lawger, D. V. M. (2002). An Outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 Infection among visitors to dairy from. The New England Journal of Medicine. 347(8): 435-444.

16. Karmali, M. A.; Steele, B. T.; Peteric, M. and Limc Fleming, P. C. (1983b). *Esherichia coli* cytotoxino haemolytic uraemic syndrome and haemorrhagic colitis. Lancetii. 1299-1300.

17. Keen, W. E.; Hedberg, K.; Herrio, H. D. E.; Cock, D. D.; Mckay, R. W.; Barrett, J. and Fleming, D. W. (1997). Prolonged outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 in infection caused by commercially distributed raw milk. 176: 815-818.

18. Luis, M. (2004). Colour Atlase of Medical Bacteriology. ASM Press.

19. Najand, L. M. and Khalilli, M. (2007). Detection of shiga-like toxigenic *Escherichia coli* from raw milk cheeses produced in Kerman lran. Veterinarski Arhiv. 77(6): 515-522.

20. Quino, E. J. and Cepeda, A. (1997). Incidence of toxigenic-producing *Escherichia coli* in soft cheese made with raw or pasteurized milk. Lett. App. Microbiol. 24: 291-295.

21. Rudu, S. S.; Mutalib, A.; Rusul, G.; Ahmad, Z.; Morigaki, T.; Asai, N.; Kim, Y.; Okuda, J. and Nishibuchi, M. (1998). Detection of *Esherichia coli* O157: H7 in the beef marketed in Malaysia. Appl. Enviro. Microbiol. 64(3): 1153-1156.

22. Shaw, W. G. A.; Smith, H. R.; Roberts, O. Well, J. T.; Cheasty, T. and Rowe, B. (1993). Examnation of beef for the presence of verocytoxin producing *Escherichia coli* particularly of those serotype O157. J. App. Bacteriol. 75: 420-426.

23. World Health Organization. (1997). Prevention and Control of Enterohaerrhagic *Esherichia coli* (EHEC) Infection. Report of WHO Consultation WHO / FSF / FOS / 97.6.Geneva.

Prevalence of *E. coli* O157:H7 in beef meat products and dairy products sold in Baghdad local markets.

F.H. Dhaher D.H.A. Mohammed R.M. Ali M.M. Jamil
Public Health and Food Safety Labs. -State Company for Veterinary Services- Ministry of Agriculture

Abstract

The objective of this survey is to know the level of E. coli O157:H7 contamination in beef meat products and dairy products in Baghdad local markets. Three *E. coli* O157:H7 isolate were detected from 100 samples of beef meat products and 98 samples from dairy products. Confirmated by biochemical and serological tests. The *E. coli* O157:H7 isolates were found in 2% of beef meat products and 1.02% of dairy products samples.