Detection of bacterial contamination of red meat discs Displayed in shops selling meat Butchers

Ibtesam O. Amer[1] ,Nuha F. Abdalla[1], Mabrouka A. Ali[1], Aieh I. Ali[1], Najwa A. Zaid[1] & Sara A. Hwisa[1]

[1]*Food Microbiology, Department of Biotechnology and Genetic Engineering, Faculty of Medical Technology, Sabratha University, Sabratha -Libya.*

Abstract:

Red meat is considered worldwide as one of the essential foods for human diet, because it is the main source of vital proteins as well as lipids and salts. Beef meat burgers communally sold in fast food shops due to its pleasant taste despite the possibility of causing food poisoning and illness if it has been prepared from contaminated raw meat. Our study was planned to detect the microbial quality of beef burger sold in Libyan´s butchers. The investigation was based on 75 samples which were collected randomly from various butchers. Extracts from the samples were propagated on different agar media in order to determine the total number of aerobic bacteria, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The results of this study showed that all beef burgers were free from contamination with *Salmonella*. The results also showed the presence of varying numbers of bacteria, such as Gram positive and Gram negative bacteria. The total number of aerobic bacteria was found to be between 5×10^{-3} to 6×10^{-3} log(cfu), and the total number of *Staphylococcus aureus* was between 2×10^{-2} to 5×10^{-4} log(cfu), and lowest number recorded was *Escherichia coli* (4×10^{-2} to 7×10^{-3} cfu). All of these recorded numbers of Bacteria are within the Libyan specification standard (2009).

Key words: Lean red meat, Salmonella spp, Poisoning and Disease, The general census of bacteria Libyan standards for meat in 2009.

الكشف على التلوث البكتيري لأقراص اللحوم الحمراء المعروضة بمحلات بيع اللحوم بصبراته

الخـــلاصـــة:

تعد اللحوم الحمراء من الأغذية الضرورية للإنسان في جميع بلدان العالم حيث تعتبر احد مصادر البروتين الرئيسية بالإضافة إلى الدهون والأملاح، وتعتبر أقراص اللحم المستخدم في الوجبات السريعة من أكثر الأطعمة الجاهزة استهلاكاً في المقاهي والمطاعم حيث تتمتع بطعم شهي إلا أنها قد تسبب لمتناوليها في بعض الأحيان التسمم والمرض. ولغرض التحري عن الملوثات البكتيرية في أقراص اللحم، اشتملت الدراسة على فحص 75 عينة جمعت عشوائيًا، من محالات بيع اللحوم . زرعت مستخلصات عينات اللحوم على أوساط زرعية إنمائية وتشخيصية مختلفة لغرض التحري عن التلوث بتقدير التعداد العام للأحياء الدقيقة، السالمونيلا *Salmonella spp* والمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* والاشريكية القولونية *Escherichia coli*. وأظهرت نتائج هذه الدراسة بأن كافة عينات أقراص اللحم خالية من التلوث ببكتيريا السالمونيلا *Salmonella spp*، وكما أوضحت النتائج وجود أعداد متباينة من البكتيريا الموجبة لصبغة جرام والعصوية السالبة لصبغة جرام. حيث تراوح تعداد الأحياء المجهرية الهوائية من (5×10^{-3} إلى 6×10^{-3} و.ت.م/غرام)، وتعداد المكورات العنقودية الذهبية تراوح من (2×10^{-2} إلى 5×10^{-4} و.ت.م/غرام)، كما سجلت النتائج أقل تعداد للبكتيريا الإشريكية القولونية (4×10^{-2} إلى 7×10^{-3} و.ت.م/غرام). وجميعها ضمن الحدود المسموح بها للمحتوى البكتيري في المواصفة القياسية الليبية اللحوم الحمراء لسنة 2009. وهذا يعكس اتّباع الاشتـــراطات الصحية في أغلب هذه المحلات وكفاءة الطرق المستخدمة في عمليات حفظ اللحوم.

الكلمـــــــات المفتاحيـــــــة: اللحوم الحمراء ، السالمونيلا، التسمم والمرض، التعداد العام للبكتيريا، المواصفات والمعايير القياسية الليبية لأقراص اللحم المفروم (البرجر) 2009.

الكشف على التلوث البكتيري لأقراص اللحوم الحمراء المعروضة بمحلات بيع اللحوم بصبراته

المقدمة:

تعد اللحوم من المواد الرئيسة والمهمة في غذاء الإنسان وذلك لاحتوائها على نسبة عالية من البروتينات والدهون والعناصر المعدنية مثل الحديد والفوسفور كما أنها تحتوي على كميات لايستهان بها من مجموعة فيتامينات B، فهي لها دورا هاماً في تغذية الجسم والمحافظة على صحته العامة [2,1].

أصبحت الوجبات السريعة التي تأتي في شكل أقراص اللحم المفروم المتبلة ويدخل اللحم المفروم في تركيبها وهو المكون الرئيسي لها، من الوجبات المرغوبة جداً والمنتشرة على نطاق واسع في مجتمعنا وخاصة بين فئة الشباب [3]. وتصنع الأقراص عادة بعد تحوير خواص اللحم الطازج عن طريق الفرم مع إضافة التوابل وبعض المواد الأخرى، كالماء والبـــروتينات النباتية ومنتجات الحبوب وغيرها قبل أن تشكل على هيئة أقراص. لذلك تعتبر اللحوم أفضل الأوساط لنمو مختلف الأحياء المجهرية مسببا بذلك مشاكل اقتصادية وذلك لسرعة تلفه بالإضافة إلى الأضرار الناجمة عن التسمم الغذائي الذي تحدثه تلك الأحياء المجهرية نتيجة لأفرزاها السموم. ومن أهم هذه الأحياء المجهرية وأخطرها هي *بكتيريا Salmonella spp* وبكتيريا *E. coli* [1] ، فضلا عن البكتريا اللاهوائية وأهمها بكتريا *Clostridium* وأنواع أخرى من عائلة المكورات العنقودية منها المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*[4]. وتحدث معظم حالات التسمم الغذائي بسبب إهمال او جهل الأفراد العاملين في تحضير وتصنيع وتخزين وتوزيع الأغذية والذي ينتج عنه تلوث الغذاء وزيادة عدد البكتيريا مما ينتج عنه انتشار حالات التسمم الغذائي وزيادة شكاوي المستهلكين[5] .

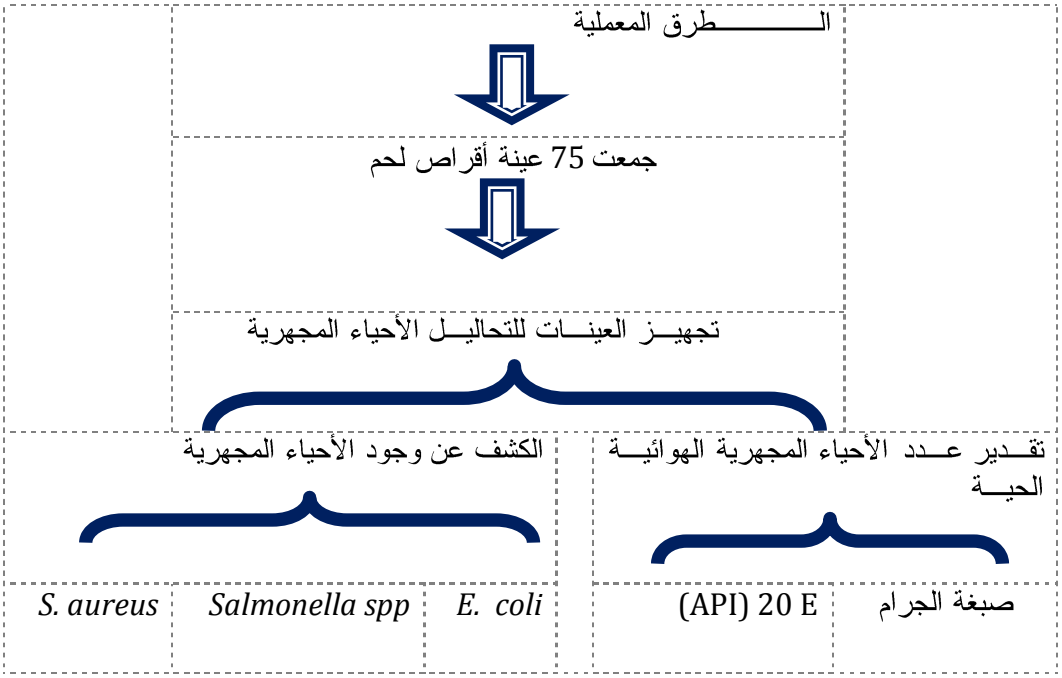
وتهدف هذه الدراسة إلى :

- التعرف على جودة أقراص اللحم المعروضة بمحلات بيع اللحوم ، وذلك من ناحية التلوث بالأحياء المجهرية وذلك بالكشف عن وجود البكتيريا الممرضة السالمونيلا بأقراص اللحم.
- مقارنة الحد الأعلى لهذه للأحياء المجهرية مع الحدود العليا للمواصفات والمعايير القياسية الليبية لأقراص اللحم المفروم (البرجر) لسنة 2009.

المـــواد والطـــرق:

- **جمـــع العينـــات:**

جمعت 75 عينة أقراص لحم ، من محلات اللحوم والأسواق المركزية داخل مدينة صبراته؛ ونقلت في حافظة مبردة مباشرة إلى مختبر الأحياء الدقيقة بكلية التقنية الطبية– صرمان ، وجهزت العينات من أجل تقدير التعداد الكلي للأحياء المجهرية المختلفة فيها[1]. ومن أجل كشف مجموعات الأحياء المجهرية التي توجد فيها ، وكذلك تصنيفها. مخطط شكل (1) يوضح الطرق المعملية للكشف عن الأحياء المجهرية وعزلها وتعريفها.



شكل (1): يوضح الطرق المعملية للكشف عن الأحياء المجهرية وعزلها وتعريفها.

- **تجهيـــز العينـــات للتحاليـــل الأحياء المجهرية:**

بواسطة سكين معقم تم أخذ قطع صغيرة من اللحم بمقدار 25 غراماً ؛ ووضعت في عبوات معقمة تحوي على 225 مل من ماء الببتون Peptone water ؛ وبعد ذلك أجريت سلسلة من التخفيفات العشرية؛ مع استعمال القفازات المعقمة خلال جميع مراحل عمليات الجمع والتجهيز.

- **تقـــدير عـــدد الأحياء المجهرية الدقيقة الهوائيـــة الحيـــة :**

تم تقدير عدد الأحياء المجهرية الدقيقة الهوائية الحية، باستعمال مستنبت **(**Nutrient broth) المرق المغذي، رج التحضير جيدا ونقل بواقع 1 مل إلى 9 مل، لتحضير التخفيف الأول ومنه حضرت بقية التخفيفات، وزرعت هذه التخافيف على الاطباق بطريقة الصب الطبقي، (*Plate method pour***)** لتخفيف10^{-3} إلى10^{-6} حُضِنَت في درجة 37م° لمدة 24 ساعة، وبعدها يتم حساب العدد الكلي لمستعمرات البكتيرية الحية النامية على طبق الاقار[6].

- **الكشـــف عـــن وجود بكتـــيريا *Salmonella spp* :**

تم الكشف على بكتيريا *Salmonella spp* بنقل 0.5 مل^3 من محلـــول التخفيـــف الى مستنبت المرق المغذي Selenite broth بوصفه أحد الأوساط الانتخابية المستخدمة لعزل السلمونيلا وحضنت في درجة حـــرارة 37م° لمدة 48 ساعة. ثم خططت على سطح آقار آختياري لنمو السلمونيا Salmonella–Shigella Agar وحضنت الأطباق جميعها بدرجة 37م° لمدة 24 ساعة [7].

- **الكشـــف عـــن وجود بكتـــيريا *Escherichia coli* :**

تم الكشف عن بكتيريا *E. coli* وذلك باستعمال وسط *Violet Red Bile Agar* والتحضين عند درجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة ، ثم التخطيط على وسط *Eosin Methylene Blue Agar ,* التحضين عند درجة حرارة 37م° لمدة24 ساعة ، ثم إجراء الاختبار للبكتيريا المعزولة على شريطAPI 20E (8).

- **الكشف عن وجود بكتيريا *Staphylococcus aureus*:**

استعمـــل محلـــول التخفيـــف (10− 1) المتبقي من العيـــنة المستخدمـــة في تقديـــر عـــدد الأحياء المجهرية الهوائيـــة الحيـــة وحضنت لمـــــدة 4 ساعات في درجة حرارة 37° لإنعاشها، ثم خططت على سطح بيئة *Mannitol salt agar* في أطباق بتـــري، وحضنت في درجة حرارة 37° س لمدة 24 − 48 ساعة، ولُوِّنت المستعمرات الذهبية اللون (صفراء اللون) المتكونة بطريقة صبغة الجرام للتأكد من أنها موجبة لهذا الملوّن وعنقودية الشكل، وتم إجراء اختبار (الكاتالاز) Catalase واختبـــار المخثِّـــرة (كواغـــولاز) Coagulase للتأكـــد مـــن أن المستعمرات المعزولة هـــي الأحياء المجهرية المكورات العنقودية الذهبية الممرضة (6).

- **التعرف علي البكتيريا المعزولة:**

بعد انقضاء فترة التحضين تم التعرف على المستعمرات النقية بواسطة وصف المستعمرات وعدها، وصبغة الجرام، واختبار القدرة على الحركة، والاختبارات البيوكيميائية كاختبار نظام التعريف Analytical Profile Index (API) 20 E System الخاص بالبكتيريا المعوية من صنع شركة (Bio Merix) (8-9).

- **التحليل الإحصائي**

حللت النتائج باستخدام اختبار SPSS (10) .كل النتائج حللت ٱحصائياً بٱستخدام اختبار مربع كاي (X^2) chi-square واختبار ال LSD عند مستوى احتمالية$P<0.05$.

النتائج و المناقشة:

يلاحظ من نتائج دراسة التعداد العام للأحياء الدقيقة الجدول رقم (1) عدم ظهور النمو لبكتريا السالمونيلا في جرام واحد من أقراص اللحوم الحمراء ، فيحين كانت معدلات بكتريا القولون ، المكورات العنقودية الذهبية والأنواع البكتيرية المختلفة الأخرى أقل من الحدود المسموح بها عند المقارنة بالمواصفات والمعايير القياسية الليبية لسنة 2009 (11) ؛ لقد تراوح تعداد الأحياء المجهرية الهوائية من(5×10^{-3} إلى 6×10^{-4} و.ت .م/غرام) ، وتعداد المكورات العنقودية الذهبية من (2×10^{-2} إلى 5×10^{-4} و.ت.م/غرام)، كما سجلت النتائج أقل تعداد للبكتيريا الإشريكية القولونية(4×10^{-2} إلى 7×10^{-3} و.ت.م/غرام). ويمكن اعتبار هذه النتائج دليل على الالتزام بالاشتـــراطات الصحية.

وذلك بأن عينات أقراص اللحم مطابقة للمواصفة القياسية الليبية. وهذه النتيجة تتوافق مع دراسة لسنة 2013 أجريت على اللحوم الحمراء المحلية والمستوردة بدولة العراق [12].

بينما تعارضت هذه النتائج مع العديد من الدراسات السابقة و التي أجريت عن الجودة الميكروبية لأقراص اللحم المفروم المتبلة (beef burgers) في مدينة طرابلس [3]، لعدد 59 عينة ، وبينت النتائج وجود تلوث لأقراص اللحم المفروم المتبلة بالأحياء المجهرية الإشريكية القولونية بنسبة مئوية 11.9% والأحياء المجهرية الغازية 9.9% والأحياء المجهرية العنقودية الذهبية بنسبة 3.2% من العينات المدروسة. ودراسة أخري في مدينة طرابلس أجريت على أقراص اللحم المفروم المتبلة المطهية وغير المطهية؛ وكشفت النتائج وجود تلوث عال بالاحياء المجهرية في جميع العينات ووجد إن عدد الاحياء المجهرية الهوائية الحية في الأقراص كانت ما بين 4.6×10^{-3} و.ت.م/غرام إلى أكثر ، 2.5×10^{-6} و.ت.م/غرام [3،13،14]. كما أوضحت نتائج دراسة مصرية أجريت لتقييم الجودة للأحياء المجهرية لمنتجات اللحم المفروم الطازجة وغير المطهية [15] ، بان التعداد الكلي للأحياء المجهرية 1.0×10^{-2} و.ت.م/غرام و 7.0×10^{-7} و.ت.م/غرام للكفتة. كما تشير بعض الدراسات بان وجود الأحياء المجهرية البكتيريا الإشريكية القولونية *E. coli O157:H7* في أقراص اللحم المفروم قد تسبب في أحداث العديد من الأمراض[16-17].

الجدول (1) : تعداد الأحياء المجهرية الهوائية في الأطباق، وتعدادات الإشريكية القولونية، والمكورات العنقودية الذهبية في عينات أقراص اللحوم الحمراء .

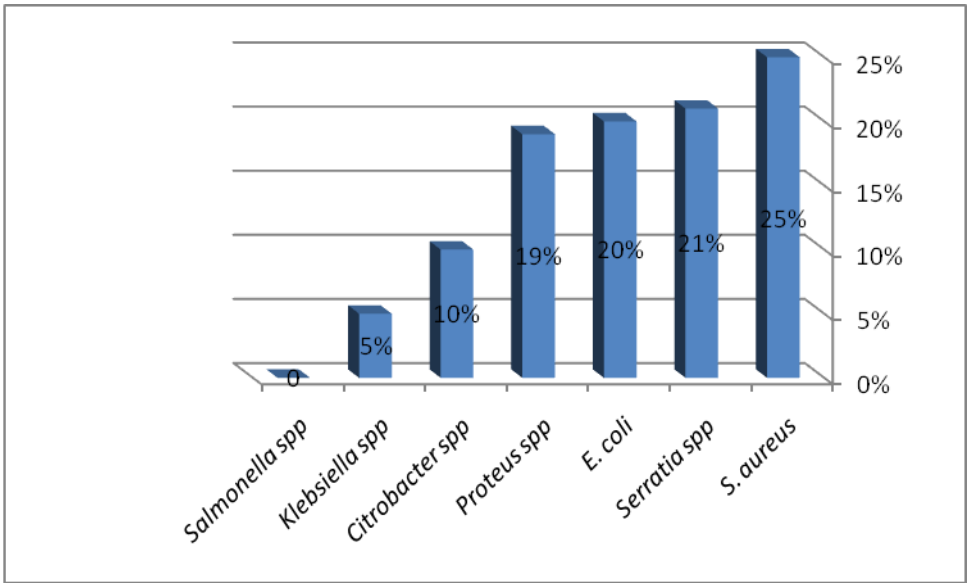
نمط التعداد	التعداد (لكل غرام)	
	الأدنى	الأقصى
• تعداد الأحياء المجهرية الهوائية (Aerobic plate count)	5×10^{-3}	6×10^{-4}
• تعداد الإشريكية القولونية *Escherichia coli* count	4×10^{-2}	7×10^{-3}
• تعداد المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* count	2×10^{-3}	5×10^{-4}
• تعداد السالمونلا *Salmonellalla spp*	0	0

وقد عزلت من عينات أقراص اللحوم الحمراء 100عزلة من الأحياء المجهرية ، صنفت إلى أجناس والأنواع الآتية:

العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* بمعدل 25 % و الإشريكية القولونية *Escherichia coli* بمعدل 20% و السراتية *Serratia Spp.* بمعدل 21% و المتقلبة *Proteus Spp.* بمعدل 19% و الستروباكتير *Citrobacter Spp.* بمعدل 10% و الكلبسيلة *Klebsiella Spp* بمعدل 05% . الجدول والشكل (2) يوضح أعداد الأحياء المجهرية المعزولة وأنماطها ونسبتها.

الجدول (2): عدد العزلات والنسب المئوية للأحياء المجهرية المكتشفة في عينات أقراص اللحوم الحمراء .

أعداد الأحياء المجهرية المعزولة وأنماطها ونسبتها			
أنواع البكتيريا المعزولة	عدد العزلات	نسبة العزلات إلى مجموع العزل %	صبغة الجرام
S. aureus	25	%25	موجبة لصبغة الجرام
E. coli	20	%20	سالبة لصبغة الجرام
Salmonella spp	0	0	
Serratia spp	21	%21	
Proteus spp	19	%19	
Citrobacter spp	10	%10	
Klebsiella spp	05	%05	
المجموع الكلي	100	%100	



الشكل (2): نسب الأحياء المجهرية المكتشفة في عينات أقراص اللحوم الحمراء .

يلاحظ أن هنالك اختلاف في أنواع ونسب التلوث بالبكتيريا في هذه الدراسة، إذ أن نسبة التلوث تعتمد على إتباع الشروط الصحية والمراقبة المستمرة على اللحوم والوقاية المعملية في المجازر ومحلات البيع

التوصيات:

- متابعة الرقابة الصحية على اللحوم.
- توسيع نطاق الدراسة لتشمل مناطق أخرى.

المراجع: باللغة العربية:

2- **محمد.ا، ي.2007:** منتجات اللحوم المصنعة وأضرارها على الصحة العامة.مجلة أسيوط للدراسات البيئية، العدد الحادي والثلاثون.

3- **الشريك،ي. م.مادي،ن. س.البكوش، ع.ا. الطويل،ع. 2008:** دراسات مبيكروبيولوجية لأقراص اللحم المفروم المتبلة (beef burgers) في مدينة طرابلس، بالجماهيرية العربية الليبية. المجلة الصحية لشرق المتوسط، منظمة الصحة العالمية، المجلد الرابع عشر ، العدد1.

5- **محمد،أ.ه. 2004** : العلاقة بين متطلبات حماية المستهلك ومعايير جودة وسلامة الغذاء وتأثيرهما في حالات التسمم الغذائي. رسالة دكتوراه مقدمة إلى جامعة سانت ليمنتس/أستراليا

11- **المواصفات والمعايير القياسية الليبية لأقراص اللحم المفروم (البرجر) لسنة 2009** والمعد تحت رقم (22)لسنة2005.

12- **عبد علي،ع. س. علوان،ع. م.محسن، م. ص. ازير،ع.ج. 2013:** التلوث البكتيري في اللحوم الحمراء المحلية والمستوردة .المجلة العراقية للعلوم،الصفحة 249 –254 ،العدد 2.

13- **المرغني، ع.م. مادي،ن.س.النحائسي،م.أ. 2003:** الجودة الميكروبيولوجية لبعض الأغذية بمقاهي جامعة الفاتح. المؤتمر الوطني الثاني للتقنيات الحيوية.جامعة عمر المختار.البيضاء. ليبيا.

14- **الطويل، ع. م. القدار، ح. العزابي، ب. 2001:** دراسة عن التلوث الميكروبي لأقراص اللحم المفروم المتبلة و المطهية على مستوى مدينة طرابلس وضواحيها. قسم النبات، كلية العلوم، جامعة الفاتح، طرابلس، ليبيا.

المراجع/ باللغة الانجليزية

1. **Quinn, P. J.; Carter, M. E.; Markey, B. and Carter, G. R. 2004:** Clinical Veterinary Microbiology, 6th ed. *Mosby an imp*. Wolf, London.

4- **Jawetz J.; Melnick E. and Adelbergs E. 2004**: Enterobacteriaceae: In review of medical microbiology. 21rd Ed. By Geo F.; Janet S. and Stephen Mc Graw – Hill compais, USA. pp.218 – 229

6- **Speck LM, ed. 1976:** Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington DC, American Public Health Association.

7- **Jones, Y., I. Mclaren and C. Wray. 2000:** Laboratory aspects of salmonella, CABI publishing, Wallingford, United Kingdom, 393-405.

8- **Willey, J., L. Sherwood and C. Woolverton. 2008:** Prescott, Harley

and Klein's microb, 7th Edition, publishing by McGraw Hill companies, New York, USA, 984-991.

9- **Biomerieux. 2002**: Identification System For *Enterobacteriaceae* and Other Non-Fastidious Gram-Negative Rods. Http://Www.Biomerieux. Com.

10- **Al-Zooby M and Talaha A. 2003:** Statistic data base analysis with SPSS system. Jordan, University Publication.

15– **El-Khateb T. 1989**: *The microbiological status of some Egyptian meat products*. In: Proceeding of the 35th International Congress of Meat Science and Technology, Copenhagen, Denmark,498–506

16- **Lopec E. 1997**: Perspectives on *Shigella*-like toxin infections in Argentina. *Journal of food protection*, 60(11):1458–62.

17- **Tuttle J . 1999**: Lesson from outbreak of E. coli 0157: H7 infections insights in to the infectious dose and method of wide spread contamination of hamburger patties. *Journal of epidemiology and infection*, 122(2):185–92.

شكر وتقديـــر

إلى أ صاحب التميّز والأفكار النيّرة

- البروفسور/سالم ساسي الشامخ–مدير مركز أليافا بدولة فنلندا
- البروفسور/رجب عون–مدير مكتب البحوث بالمعهد القومي لعلاج الأورام بصبراته