

تلوث لحوم الأبقار المستوردة والأسطح الملامسة لها بجراثيم الايشريشيا القولونية في الأسواق المحلية لمدينة الموصل

منتهى غازي حسن و حاج ابراهيم حمد

فرع الصحة العامة البيطرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، العراق

الخلاصة

تضمنت الدراسة تشخيص جراثيم الايشريشيا القولونية *Escherichia coli* النمط المصلي O157:H7 في لحوم الأبقار المستوردة و الأسطح الملامسة لها في محلات بيع اللحوم في الأسواق المحلية لمدينة الموصل. اعتمد تشخيص الجرثومة على الخصائص الشكلية والمزرعية على الاوساط الانتخابية، فضلا عن تحديد النمط المصلي باستخدام العدة التشخيصية الخاصة باختبار اللاتكس (LAT) لجرثومة *E. coli* O157:H7. جمعت ٥٠ عينة توزعت بين ٢٥ عينة من لحوم الأبقار المستوردة و ٢٥ عينة من الأسطح الملامسة لها حيث تم عزل جراثيم الايشريشيا القولونية في (٤٣) عينة وبنسبة (٨٦%). متمثلة بعزل جراثيم الايشريشيا القولونية من (٢١) عينة من لحوم الأبقار المستوردة وبنسبة (٨٤%) في حين عزلت هذه الجراثيم من الأسطح الملامسة لهذه اللحوم في محلات بيع اللحوم في (٢٢) عينة وبنسبة (٨٨%). أعطت (٤) عزلات من جراثيم الايشريشيا القولونية نتيجة موجبة في اختبار (LAT) في عينات لحوم الأبقار وبنسبة عزل بلغت (١٦%) بينما أعطت جميع العزلات المأخوذة من الأسطح الملامسة للحوم الأبقار نتيجة سالبة لاختبار (LAT) للنمط المصلي *E. coli* O157:H7.

Contamination of imported beef and contact surfaces with *Escherichia coli* O157:H7 in local retails of Mosul city

M.G. Hassan and H.I. Hamad

Department of Veterinary Public Health, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

The study was conducted for the isolation and identification of *Escherichia coli* O157:H7 from imported beef and its contact surfaces in local retails of Mosul city. Isolation and identification of the organism was dependent on the morphological, cultural characteristics on selective media, and the use of Latex agglutination test (LAT) kit as a diagnostic technique for identification of the organism. Out of 50 samples, (25 samples of imported beef and 25 samples of meat contact surfaces), 43 were positive for *E. coli* (86%). In details, from 25 tested beef samples, the positive samples were 21 (84%) while 22 samples from contact surfaces of meat were positive (88%) for the presence of *E. coli*. Four isolates of *E. coli* (16%) of beef sample gave positive results with (LAT) tests as *E. coli* O157:H7. All positive isolates of *E. coli* from contact beef surfaces showed negative results as *E. coli* O157:H7 using the same technique.

Available online at <http://www.vetmedmosul.org/ijvs>

المقدمة

غدا يهدد حياة الإنسان ومصادره الغذائية (٢). وتعد جراثيم الايشريشيا القولونية *Escherichia coli* أحد أنواع الجراثيم المهمة المسببة للتسمم الغذائي الناجم عن استهلاك اللحوم الملوثة (٣)، ويعد النمط المصلي O157:H7 الأكثر انتشارا في العالم، وان وجود هذا النوع من الجراثيم في الغذاء يعتبر مؤشرا على تلوث

بدأت علوم الاغذية تأخذ جزءاً من الصدارة بين العلوم الأخرى هادفة حماية الإنسان (١). ويعد التسمم الغذائي أحد مشاكل العصر الحديثة وواحد من أهم مشاكل تلوث البيئة الذي

الجرثومية والتفاعل الاصطباغي (١٤) تم تحديد النمط المصلي لجراثيم الايشريكية القولونية المعزولة من لحوم الابقار باعتماد طريقة (LAT) Latex - Agglutination Test كطريقة سريعة وباستخدام العدة التشخيصية المجهزة من شركة (Lorne) والمكونة من خمسة كواشف متمثلة بكاشف A والحوي على (glycine buffered saline with detergent) 0.01% NaN₃. وكاشف B (O157 test latex) كاشف اختبار لاتكس والمكون من جزيئات لاتكس مغلف بجزء من الكلوبولينات المناعية للارنبي في محلول دارى حاوي على 0.01 NaN₃. وكاشف C (H7 test - latex) والمكون من جزيئات لاتكس مغلفة بجزء من الكلوبولينات المناعية للارنبي وهي عبارة عن مستضد للـ E. coli H7 في محلول دارى حاوي على 0.01 NaN₃. وكاشف D (Control latex) وهي عبارة عن جزيئات لاتكس مغلفة بجزء من الكلوبولينات المناعية لمصل دم طبيعي للارنبي في محلول دارى حاوي على 0.01 NaN₃. اضافة الى كاشف E (Positive Control Antigen) وهو عبارة عن مزيج من مستضدات O157:H7 في محلول دارى الفوسفات (PBS) عند PH (7.35) وحوي على 0.01 NaN₃. وتعتمد فكرتها على استخدام جزيئات لاتكس مغلفة باضداد متخصصة تتفاعل مع مستضد جرثومة E. coli حيث يتم وضع جزء صغير من المستعمرات المشكوك فيها والنامية على وسط EMB في قطرة من الدارنى المخفف (diluted buffer) على كل حفرة من شريحة التلازن ويضاف قطرة من كاشف اللاتكس و قطرة من لاتكس السيطرة حيث تعتمد النتيجة الموجبة عند وجود التلازن باستخدام كاشف اختبار اللاتكس في حين يبقى التفاعل صافيا بدون ترسبات عند استخدام كاشف اللاتكس الخاص بالسيطرة.

النتائج

تم الحصول على (٢١) عزلة موجبة لجراثيم الايشريكية القولونية من لحوم الابقار المستوردة وبنسبة عزل (84%) و عزلت جراثيم الايشريكية القولونية من الاسطح الملامسة للحوم الابقار المستوردة في ٢٢ عزلة وبنسبة (88%) جدول رقم (١). من مجموع عينات اللحم الكلية كانت (٤) عزلات فقط من لحوم الابقار تعود للنمط المصلي O157:H7 أي بنسبة (16%)، والتي أعطت نتيجة موجبة باختبار Latex - Agglutination Test وأعطت جميع عزلات الايشريكية القولونية من الاسطح الملامسة للحوم الابقار نتيجة سالبة باستخدام العدة التشخيصية لاختبار Latex - Agglutination Test مما يدل على ان هذه العزلات المأخوذة من الاسطح الملامسة للحوم هي عترات تعود لجراثيم الايشريكية القولونية لانماط أخرى جدول رقم (٢). واعتمدت النتيجة الموجبة للاختبار على التلازن والترسبات التي ظهرت نتيجة التفاعل الحاصل بين مستضد المستعمرات المشكوك بها لجراثيم الايشريكية القولونية الخاصة بهذا النمط المصلي وازداد الكاشف الخاص باختبار (LAT).

البرازي للغذاء، فضلا عن الافتقار الى توفر الشروط الصحية في اعداد اللحوم (٤)، ففي الولايات المتحدة وجد حوالي (٧٦) مليون شخصا يعانون من أمراض الإسهال الحاد الناجم عن المنشأ الغذائي (٥) وحوالي (٣٠) ألف حالة من التسمم الغذائي مسجلة سنويا في كندا (٦) وتعد اللحوم المصادر الرئيسية لهذه الأمراض مقترنة بانتقال مسببات التسمم الغذائي (٧،٣) حيث سجلت جراثيم الايشريكية القولونية O157:H7 لأول مرة في الولايات المتحدة عام ١٩٨٣ على انها جراثيم الايشريكية القولونية المعوية النزفية EHEC وقد اقترنت بالعديد من أوبئة التهاب القولون النزفي hemorrhagic colitis الناجمة عن استهلاك لحوم ابقار ومنتجاتها غير المطبوخة بشكل جيد (٨)، لذلك اعتبرت الابقار أحد المضائف الرئيسية الخازنة لها وقد أشار الباحثين (٩) على ان حالات الاسهال الناجمة عن الاصابة بجراثيم E. coli ترتبط مع الاصابات ذات المنشأ الغذائي. اذ يعد النمط المصلي O157:H7 السبب الرئيس للتسمم الغذائي في نسبة عالية من سكان اوروبا وامريكا الشمالية واليابان وخاصة بعد تناول أو استهلاك اللحوم ومنتجاتها (١٠). و أهم علاماته السريرية اسهال مائي دموي، تقي، يصاحبها ألم في البطن (١١) مع حدوث متلازمة البيلة الدموية HUS (Uremic Syndrom (Hemolytic المترافقة لحدوث فقر الدم التحلي الدموي مصحوبا بعجز كلوي وخاصة في الاطفال صغار السن بالاضافة الى المسنين حيث تترافق متلازمة HUS في المسنين بظهور عرضي متمثلة بالحمى والعلامات العصبية مكونة ما يسمى thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) وهذه تؤدي الى زيادة نسبة الوفيات في الاشخاص المسنين بحوالي ٥٠% (١٣،١٢،٨) لذا هدفت الدراسة الى الكشف عن مدى تلوث لحوم الابقار المستوردة والاسطح الملامسة لها بجرثومة الايشريكية القولونية E. coli O157:H7 والمتداولة في محلات بيع اللحوم في مدينة الموصل.

المواد وطرائق العمل

جمعت في هذه الدراسة (٥٠) عينة توزعت بين (٢٥) عينة من لحوم الابقار المستوردة و (٢٥) مسحة من الاسطح الملامسة لهذه اللحوم والمتمثلة بالسكاكين والآلات الثرم والميزان والخشبة التي يتم عليها تقطيع اللحوم في الاسواق المحلية لمدينة الموصل. وضعت عينات اللحوم والمسحات المأخوذة من الاسطح في مرق الماكونكي MacConky broth وحضنت بدرجة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة ثم استنتبت على الوسط الزرعي الانتخابي لجرثومة الايشريكية القولونية E. coli وهو وسط أكار الماكونكي MacConky agar ونقيت على وسط الايوسين المثلين الازرق Eosine methylene blue agar المحضر في المختبر والمجهز من شركة (LAB) وحضنت بدرجة ٣٧°م لمدة ٢٤-٤٨ ساعة. شخصت جراثيم الايشريكية القولونية اعتمادا على الخصائص المزرعية للمستعمرات من حيث لونها وحجمها وحافاتها ومن ثم صبغت بصبغة كرام وفحصت مجهريا لملاحظة اشكال الخلية

وتعد جراثيم الايشريشيا القولونية إحدى أهم تلك الجراثيم الملوثة للحوم في محلات بيع اللحوم قبل وصولها للمستهلك (١). ومن نتائج الدراسة تبين ان نسبة عزل جراثيم الايشريشيا القولونية من لحوم الابقار والاسطح الملامسة لها بشكل عام (٨٦%) وان (١٦%) من هذه العزلات تعود للنمط المصلي O157:H7 من عينات لحوم الابقار المستوردة وهذا النوع مرتبط بحالات التسمم الغذائي في الانسان وتتفق هذه النتيجة مع ما ذكره الباحث وجماعته (١٥) وكذلك الباحثون (١٦ و ١٧) والذين أكدوا على ان جراثيم الايشريشيا القولونية وبالأخص النمط المصلي O157:H7 هو النمط الأكثر خطورة والأكثر انتشارا لكونه منتجا لذييفان Shiga toxin E. coli الذي يؤدي الى موت الخلايا من خلال إيقاف عملية تصنيع البروتين في خلايا المضيف (١٨). تعزى نسبة التلوث بجراثيم الايشريشيا القولونية إلى قلة الوعي الصحي عند الباعة والمتداولين لهذه اللحوم فضلا عن عدم توافر الشروط الصحية الكاملة لدى بعض محلات بيع هذه اللحوم من حيث معاملتها ونظافة الادوات المستخدمة من سكاكين وأماكن تقطيع اللحوم وعدم الاهتمام بغسل وتنظيف هذه الادوات كما ان استخدام سكبنة واحدة في تقطيع اللحوم هو العامل الذي يمكن ان يزيد من التلوث عند ملامستها لأيدي العاملين وملابسهم وعدم تعقيمها بين الحين والآخر ويصاحب ذلك عدم وجود رقابة صحية دقيقة على هذه المحلات والذي بدوره أدى إلى تمارد بعض الباعة في عدم الاهتمام بالصحة العامة وصحة المستهلك والاتجاه نحو الكسب المادي والتجاري والذي يؤثر سلبا على صحة مستهلكي هذه اللحوم وانتشار الامراض المشتركة العديدة من خلالها وارتفاع نسبة الاصابة بهذه الأمراض، لذا من الضروري غمر الادوات المستخدمة بتقطيع اللحوم بالماء الحار بدرجة حرارة (٧٢°م)، فقد وجد بأن هذه الجرثومة يمكن قتلها بغلي اللحوم بدرجة (٧٢°م) لمدة ١٦ ثانية او (٦٠°م) لمدة ٤٥ ثانية (١٩). و لم تتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه الباحثين (٢٠) والذين حصلوا على نسبة عزل (١٠٠%) لجراثيم الايشريشيا القولونية النمط المصلي O157:H7 من لحوم الابقار باعتماد طريقة تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) والاليزا كطرق سريعة في التشخيص. وبرروا هذه النتائج إلى دقة طريقة ال (PCR) مقارنة بالطرق الروتينية التقليدية في العزل والتشخيص من حيث نوع وطريقة استخدام الاوساط الزرعية، بينما كان لاستخدام تقنية (LAT) الدور الفعال في الكشف النمط المصلي O157:H7 لجراثيم الايشريشيا القولونية في لحوم الابقار مقارنة بالطرق التقليدية، حيث ان استخدام تقنية (LAT) يمكنها تشخيص مستضدات جراثيم E. coli O157:H7 عند تراكيز أقل مما هو موجود عند استخدام الطرق الروتينية وقد يعود أحد أسباب ذلك إلى ان الجزيئات الكبيرة المتحررة في الوسط يمكن تشخيصها شرط توفر الكلوبولينات المناعية المناسبة والممتصة على جزيئات اللاتكس (٢١)، لذلك ينصح باستخدامها في الدراسات المسحية الوبائية باعتبارها طريقة سهلة وسريعة واقتصادية (٢٢).

الجدول (١) نسبة عزل جراثيم الايشريشيا القولونية الكلية من لحوم الابقار والاسطح الملامسة لها.

نوع العينة	عدد العينات المفحوصة	عدد العزلات	النسبة المئوية
عينات اللحم	٢٥	٢١	٨٤%
عينات الأسطح	٢٥	٢٢	٨٨%
المجموع	٥٠	٤٣	٨٦%

الجدول (٢) نسبة عزل جراثيم الايشريشيا القولونية النمط المصلي O157:H7 باستخدام (LAT) من لحوم الابقار والاسطح الملامسة لها.

نوع العينة	عدد العينات المفحوصة	عدد العزلات	النسبة المئوية
عينات اللحم	٢٥	٤	١٦%
عينات الأسطح	٢٥	٠	٠%
المجموع	٥٠	٤	٨%

نقبت هذه المستعمرات على وسط أكار المثليين الازرق وظهرت على شكل مستعمرات صغيرة ملساء، دائرية وأعطت مظهرا وبريقا لماعا Metallic sheen (الصورة ١). وفي الفحص المجهرى ظهرت الجراثيم بكونها عصيات سالبة لصبغة كرام.



الصورة (١) جراثيم الايشريشيا القولونية على وسط أكار الايوسين المثليين الازرق

المناقشة

تعد محلات بيع اللحوم احدى النقاط الحرجة التي تضيف كماً من الملوثات إلى اللحوم ومنتجاتها وخاصة جراثيم التسمم الغذائي

الشكر والتقدير

تم دعم البحث من قبل كلية الطب البيطري و جامعة الموصل.

المصادر

12. FDA, Food and Drug administration. Food borne pathogenic microorganism and natural toxin Handbook, E. coli. 0157: H7 2009; www.hhs.gov.
13. Griffin P, Mead P, Sivapalasingam S. E. coli. 0157: H7 and other Enterohemorrhagic E. coli., In M. Blaser, ed. Infections of the gastrointestinal tract. New York. New York: Lippincott Williams, and Wilkins. 2002.
14. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Scherchenberge PC, Winn WS. Color atlas and text book of diagnostic Microbiology 5th ed. USA. Lippincott-Raven published. Philadelphia, 1997; p.196-205.
15. Khan AS, Yamasaki T, Sato T, Ramamurthy A, Pal S, Datta NR, Chowdhury S C, Das A, Sikdar T, Tsukamoto SK, Bhattacharya YT, Nair GB. Prevalence and genetic profiling of virulence determinants of non - 0157 Shiga toxin producing E. coli. Isolated from cattle, beef, and humans, Calcutta, India. Emerg. Infect. Dis. 2002; 8: 54 - 62.
16. Nystrom EA, Melton - Celsa AR, Pohlenz JF, Moon LHW, O'Brien AD. Comparative pathogenicity of E. coli. 0157 and intimin - negative non - 0157 Shiga toxin - producing E. coli. Strains in neonatal pigs. Infect. Immun. 2003; 71: 6526 - 6533.
17. Tarr PI. E. coli. 0157: H7: Clinical, diagnostic, and Epidemiological aspects of human infection. Clin. Infect. Dis. 1995; 20: 1-8.
18. Brien AD, Tesh VL, Rolfe AD. Shiga toxin: biochemistry, genetics, mode of action, and role in pathogenesis. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 1992; 180: 65- 94.
19. Venkitanarayanan KS, Doyle MP. Foods Handbook of Nutrition and Food -chapter 2 Microbiological Safety of Food. 2007; p 38 - 43.
20. Bohaychuck VM, Gensler GE, King RK, WUJ T, McMullen LM. Evaluation of detection methods for screening meat and poultry products for the presence of food borne pathogens. International association for food protection. 2005; 12, 2637 - 2647.
21. Hechemy K, Stevens RW, Goafar HA. Detection of E. coli. antigens by a latex Agglutination Test. American Society for Microbiol. 1974; P. 306 - 311.
22. Hajra TK, Bag PK, Das SC, Mukherjee S. Development of a simple latex Agglutination Assay for detection of Shiga toxin - producing E. coli. (STEC) by using polyclonal Antibody against (STEC). Clinical an Vaccine Immunology, 2007; p. 600 - 604.
1. Neil M, Tarr PI, Taylor DN. E. coli. Foodborne Disease Handbook. 1st ed. USA. Marcel Dekker Inc. 1994; p.169-213.
2. Zipri RL. Salmonella, Foodborne Disease Hand Book. 1st ed. USA. Marcel Dekker Inc 1994; p.253-318.
3. Todd EC. Epidemiology of food borne a world wide review. World Health Stat 1997; p. 050: 30 - 50.
4. Karmali MA. Infection by verotoxin-producing E. coli. Clin. Microbiol. Rev. 1989; 2: 15 - 38.
5. Mead PSL, Slutsker V, Diez LF, McCaig JS, Bresse C, Shapiro PM, Griffi Tauxe RV. Food - related illness and death in the United States. Emerg. Infect. Dis. 1999; 5: 607 - 625.
6. Health Canada, Food program. policy development for raw foods of animal Origin available at 2003; <http://www.hc-sc.gc/food-aliment/mh-dme/rfao-aoca/e-rfao.htm>.
7. Peterson KE, James WO. Agents, Vehicles, and causal inference in bacterial food borne disease outbreaks. J. A. M. Vet. Med. Assoc. 1998; 212: 1874 - 1881.
8. Riley LW, Remis RS, Helgerso SD. Hemorrhagic colitis associated with a rare E. coli. Serotypes. NEgl J Med. 1983; 308: 681-685.
9. Sable S, Pons AM, Gall Lard SG, Cottencean G. Antibacterial activity evaluation of micron J25 against diarrheagenic E. coli. Appl., Environ. Microbiol. 2000; 66(10): 4595 - 4597.
10. Best A, La Ragione RM, Colley WA, O'Conner CD, Vele P, Woodward MJ. Interaction with a vain cells and colonisation of specific pathogen free chicks by shiga - toxin negative Escherichia coli 0157: H7 (NCTC12900). Vet. Microbiology. 2003; 93: 207 - 222.
11. Meng JMP, Doyle T, Zhao S. Enterohemorrhage E. coli. In food Microbiology fundamentals and frontiers. American Society of Microbiology Press. Washington DC. 2001.