المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ٢٣، العدد ١، ٢٠٠٩ (٢٧-٣٢)

استخلاص ذيفان جرثومة *Staphylococcus aureus* المعزولة من اللحوم المفرومة في مدينة الموصل

عمر هاشم شيت*، إقبال علي الجبوري* و انتصار رحيم الكناني**

*فرع الصحة العامة البيطرية، **فرع الأمراض وأمراض الدواجن، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(الاستلام ١٨ أيلول ٢٠٠٨؛ القبول ٢٥ آذار ٢٠٠٩)

الخلاصة

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص جرثومة *Staph.aureus* واستخلاص ذيفانها من (٤١) عينة من اللحوم المفرومة من مناطق مختلفة من مدينة الموصل للفترة من نيسان لغاية تموز ٢٠٠٧ وشكلت نسبة العزل الجرثومي ١٤,٦% ولمعرفة تأثير الذيفان المستخلص من الجرثومة تم تجريع ٠,٢ مل وحقن ٠,٤ مل من الذيفان المستخلص بالتجويف الخلبي في الفئران البيضاء نوع Albino، حيث أظهرت النتائج وجود تنكس فجوي وموت الخلية المبرمج في نسيج الكبد فضلا عن وجود التنكس الفجوي والتغير الدهني في ظهارة النبيبات الكلوية ولوحظ في الدماغ وجود التفجي وتكاثر الخلايا الدبقية مع وذمة حول الأوعية الدموية وكما أظهرت النتائج وجود استطالة واتساع الزغابات يصاحبها تكاثر الخلايا اللمفية في الصفيحة الأساسية للأمعاء، وان تلك التغيرات المرضية النسجية المذكورة أنفا كانت اشد عند حقن الذيفان بجرعة ٠,٤ مل مقارنة بالجرعة ٠,٢ مل.

Extraction of *Staphylococcus aureus* toxin from minced meat in Mosul City

O. H. Sheet*, I. A. Al-Juboori* and E. R. Al-Kennany**

*Department of Veterinary Public Health, ** Department of Pathology and Poultry Diseases,
College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

This study was conducted to isolate and identify of *Staph.aureus* with its toxin from (41) sample of minced meat from different areas of Mosul city collected between April to July 2007. The positive samples to bacterial isolation reached 14.6%.In order to search the effect of bacterial toxin 0.2 ml and 0.4 ml of the toxins have been give orally and injected interperitonealy , respectively in albino mice. Histopathological changes of this toxin were described, the results showed the presence of vascular degeneration and apoptosis in hepatocyt as well as vascular and fatty degeneration in the tubercular epithelium of kidney. In the brain tissue the lesion was characterize by presence of vacuolation, gliosis and privascular odema, also the results revealed elongation and blunting of villi associated with lymphocytic proliferation in lamina properia of intestine. The histopathological changes were more severe in dose 0.4 ml as compared with 0.2 ml bacterial toxin.

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

المقدمة

تتلوث اللحوم بالعديد من الإحياء المجهرية منها الجرثومية والطفيلية والفيروسية والفطرية وغيرها وتعد اللحوم وسط جيد لنمو الجراثيم الممرضة وذلك لأنها غنية بالمواد الغذائية الرئيسية لنموها (١) إذ أشارت العديد من البحوث على وجود الجراثيم الممرضة في اللحوم ومنتجاتها خاصة تلك التي تسبب التسمم الغذائي للإنسان مثلا *Staph. aureus* (٢) Campylobacter , Salmonella حيث تتعرض الحيوانات الى التلوث بالجراثيم الممرضة خلال مرحلة تربية الحيوانات عن

طريق البراز او الماء او الأعلاف (٣) وإثناء عملية الجزر يتم تلوث اللحوم بعدة مصادر منها جلود الأبقار واضلافها والأحشاء الداخلية (٤) كما ان العاملون داخل المجزرة وأدواتهم يعتبران من مصادر التلوث التي تساهم في نشر جراثيم المكورات العنقودية الذهبية في حالة الإخلال بالشروط الصحية إثناء عملية الجزر (٥) وكذلك يوجد هناك العديد من العوامل التي تساهم في نشر الجراثيم الممرضة داخل المجزرة وهي طريقة الذبح , طريقة التعامل مع الذبائح , درجة حرارة التجميد وطبيعة الأدوات المستخدمة داخل المجزرة (٦).

وتعتبر محلات الجزارة إحدى أهم مصادر التلوث بجراثيم المكورات العنقودية من خلال الأدوات المستخدمة داخل محلات الجزارة وعدم توفر الشروط الصحية إثناء التعامل مع اللحوم ومنتجاتها (٨،٧) وتعد اللحوم المفرومة إحدى منتوجات اللحوم المتعرضة الى التلوث بجراثيم المكورات العنقودية نتيجة تعرضها الى مصادر التلوث بدا بالمجزرة وصولا الى المستهلك النهائي (٩) كما تعد محلات بيع اللحوم إحدى مصادر تلوث اللحوم بجراثيم *Staph. aureus* من خلال استخدام الطرق البدائية في معاملة وحفظ اللحوم حيث أشار (١٠) الى ان حفظ اللحوم في درجة حرارة منخفضة تساهم في انخفاض عدد الجراثيم وبالتالي حفظ اللحوم لفترة زمنية أطول وكما ان استخدام بعض المواد الحافظة مثلا , Hcl , Naclونتريت تساهم في انخفاض عدد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية في اللحوم (١٢،١١) إضافة الى ما ذكر فان وجود تلك الجراثيم وذيفانها يسبب تسمم ملحوظا لدى المستهلك من هنا أتت أهمية هذه الدراسة في معرفة نسبة جرثومة *Staph. aureus* في اللحوم المفرومة فضلا عن معرفة تأثير ذيفانها من تلك اللحوم على الأعضاء الداخلية تجريبيا في الفئران.

المواد وطرائق العمل

جمعت ٤١ عينة لحم مفرومة من محلات مختلفة من مدينة الموصل للفترة مابين نيسان ولغاية حزيران ٢٠٠٧، وجمعت العينات بوساطة أكياس نايلون معقمة ووزنت كل عينة لحم بكمية ٢٥ غم، نقلت بطريقة مبردة للحفاظ على تلك العينات ثم نقلت إلى وسط المرق المغذي خلال ساعة واحدة قدر الإمكان.

شخصت المكورات العنقودية الذهبية بالاعتماد على الأوساط الانتخابية الخاصة بالجرثومة وعلى الصفات الشكلية والكيموحيوية للجرثومة حيث لقحت العينات على وسط Manitol salt agar الانتخابي الخاص وحضنت في درجة حرارة ٣٢ م°ولمدة ٢٤ ساعة بعد ذلك تم تحديد المستعمرات الذهبية ثم أجريت بقية الاختبارات الكيموحيوية الجدول (١).

درست الصفات المظهرية لجرثومة المكورات العنقودية الذهبية من خلال تحضير مسحات من المستعمرات وصبغها بصبغة الكرام، وحضنت العينات في موائل الاكار المغذي وحضنت في درجة حرارة ٤ م° وجددت العزلات شهريا للتأكد من حيويتها.

تم الاعتماد على طريقة (١٣) في استخلاص ذيفانات جرثومة المكورات العنقودية الذهبية وكما يلي ,تم زرع المستعمرات الجرثومية على Brain heart broth وتحضن في درجة حرارة ٣٧م° ولمد ٢٤ ساعة بعد ذلك يتم وضعها في جهاز الطرد المركزي ويؤخذ الراسب ومن ثم يحضن الراسب بمقدار ١٢٠٠ مل في وسط Brain heart extract broth بعد ذلك يعمل الديلزة (٤٠٠٠ – ٨٠٠٠) MW، ان البروتين المترشح من أكياس الديلزة ترسب بـ ١٠٠ مل من الوسط مع أربعة إحجام من الايثانول المبرد ويحضن بدرجة حرارة ٤ م° ولمدة ٢٤ ساعة ثم يرشح ويؤخذ المعلق ويوضع في جهاز الطرد المركزي ١٠٠٠٠ دورة ولمدة ٢٠ دقيقة ثم يؤخذ الراسب ويعمل له ديلزة مرة ثانية وان حجم أكياس الديلزة هي ١٢٠٠٠ – ١٤٠٠٠ MW (توضع أكياس الديلزة في ٢ لتر من الماء المقطر ولمدة ٢٤ ساعة وفي درجة حرارة ٤م°) علما ان الراسب يحتوي على ٦٠ ملغم بروتين لكل مل.

اعتمدت طريقة (١٤) في تحضير المقاطع النسجية للأعضاء(الكبد والكلية والدماغ والأمعاء) التي تمر بعدة مراحل ابتدأ من غسل العينات بمحلول الفورمالين وتمريرها سلسلة الكحولات وتحضير شرائح نسجية بسمك ٤-٦ مايكرون انتهاء بصبغها بصبغة الهيماتوكسلين- ايوسين.

النتائج

أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود ستة عينات موجبة من مجموع (٤١) عينة وشكلت بنسبة (١٤,٦%) وكانت جميع الاختبارات الشكلية والكيموحيوية لهذه العزلات مطابقة لأنظمة التشخيص المعتمدة جدول (١).

بعد إجراء الصفة التشريحية لوحظ وجود تغيرات مرضية عيانية في كل من الكبد والكلية والأمعاء تمثلت بالاحتقان الشديد والتضخم الشديد، اما في الدماغ فقد لوحظ وجود احتقان للأوعية الدموية الدماغية.

أظهرت المقاطع النسجية لكل من الكبد والكلية والدماغ والأمعاء وجود أفات مرضية نسجية عند التركيز من ٠,٢ مل و ٠,٤ مل بطريقة التجريع والتجويف الخلبي على التوالي اذ لوحظ في الكبد وجود تغيرات تمثلت بالتنكس الفجوي Vacuolar degeneration واحتقان الجيبانيات فضلا عن ظهور حالة الموت المبرمج للخلايا apoptosis عند بعض المقاطع عند التركيز ٠,٢ مل بالتجريع orally. عند التركيز ٠,٤ مل والذي اعطي بالتجويف الخلبي فقد لوحظ وجود أفات مشابهة لما ذكر آنفا إلا أنها أكثر شدة فضلا عن وجود نخر تجلطي في الخلايا الكبدية المحيطة بالوريد المركزي

centerolobular necrosis يصاحبها وجود البؤر الالتهابية مرتشحة بالعدلات والخلايا اللمفية (الصورتان ١ و ٢).

أظهرت المقاطع النسجية لكلية الفئران المجرعة ٠,٢ مل من الذيفان المعزول من جرثومة *Staphy.aureus* وجود أفات مرضية نسجية تمثلت بوجود تورم خلوي حاد في الظهارة المبطنة للنبيبات الكلوية مع تنكس فجوي في هيولي تلك الخلايا فضلا عن ضمور بعض النبيبات احتقان شديد في الأوعية الدموية. اما عند التركيز ٠,٤ مل فقد تمثلت الآفات النسجية بوجود تغير دهني في ظهارة النبيبات وفي الكبيبات الكلوية (الصورتان ٣ و ٤).

الجدول ١: نتائج الاختبارات الكيموحيوية في تشخيص المكورات العنقودية الذهبية.

الاختبارات الكيموحيوية	*Staph.aureu*
صبغة الكرام	+
إنزيم التجلط الحر	+
النمو على وسط المانيتول	+
إنتاج إنزيم الكتاليز	+
إنتاج إنزيم اليوريز	D
إنتاج إنزيم الاوكسديز	—
اختبار الاندول	—
المثيل الأحمر	+
فوكس بروسكر	+
التحلل الدموي	تحلل كامل
اختبار co-agulase	+

(+)تعني موجبة للاختبار، (—) تعني سالبة للاختبار، (D) تعني متغايرة للاختبار.

بينت المقاطع النسجية للدماغ وجود تفجي Vacuolation واحتقان الأوعية الدموية مع تنكس في العصيبات neurons عند التركيز٠,٢ مل اما فيما يتعلق بالتركيز ٠,٤ مل فقد أظهرت الشرائح النسجية للدماغ وجود تفجي شديد مع تكاثر للخلايا الدبقية من النوع المنتشر diffuse gliosis ووذمة حول الأوعية الدموية (الصورتان ٥ و ٦).

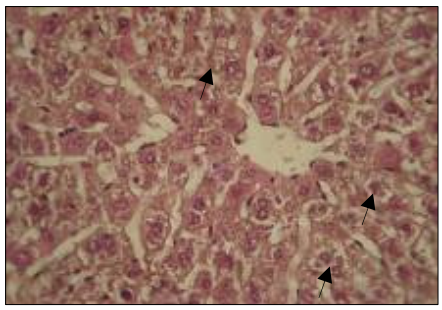
كما ولوحظ وجود تغيرات مرضية نسجية في الأمعاء عند التركيز ٠,٢ بالتجريع تمثل استطالة واتساع الزغابات elongation and blunting villi وتكاثر الخلايا اللمفية في الصفيحة الأساسية فضلا عن التنكس المخاطيني mucinous degeneration في ظهارة الزغابات والغدد المعوية.تكررت الآفات المذكورة أعلاه ولكنها اكثر شدة عند تركيز ٠,٤ مل.

المناقشة

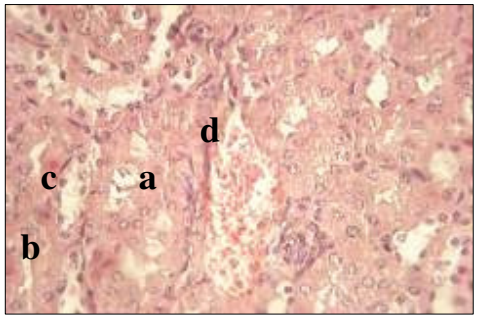
تعد اللحوم إحدى مصادر انتشار جراثيم المكورات العنقودية بين المنتوجات الغذائية لاحتوائها على جميع المواد الغذائية الأساسية لنمو الجراثيم وعلى فعالية ماء عالية(Water activity) إضافة الى أس الهيدروجيني مناسب لنمو الجراثيم (١٦).

أظهرت نتائج هذه الدراسة ان نسبة عزل جراثيم المكورات العنقودية الذهبية من اللحوم المفرومة هي (١٤,٦%) وجاءت مقاربة من نتائج الباحث (١٧) الذي سجل نسبة عزل (١٧,٥%) في حين كانت النتائج أعلى مما سجل في دراسة (١٨) ,(١٩), (٢٠) الذين سجلوا نسبة عزل ١% , ١,٣ % , ٢,٣% على التوالي ويعزى انخفاض نسبة العزل الى الحالة الصحية الجيدة للحيوان وعدم تعرضه لأي نوع من الجهد وبالتالي فان كمية الدم الذي يطرحه يكون بكمية اكبر إضافة الى ان مستوى الأس الهيدروجيني يحد من نمو الجراثيم داخل اللحوم مقارنة مع الحيوانات المجهدة (٢١),(٤) فضلا عن توفر الظروف الصحية الجيدة عند ذبح الحيوانات داخل المجازر من طرق الذبح والأدوات الصحية النظيفة الطرق الحديثة المستخدمة في معاملة الذبائح من حيث سلخ الجلد ونزع الأحشاء وتخزين الذبائح عند درجة حرارة منخفضة كلها تساهم في انخفاض مستوى تلوث اللحوم بجراثيم المكورات العنقودية الذهبية (٢٢).

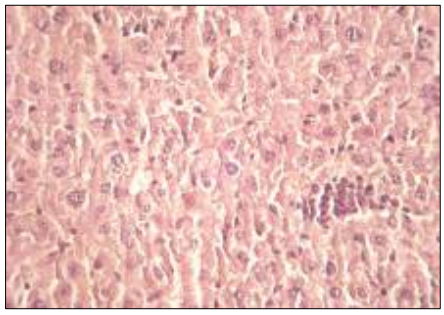
كما أظهرت النتائج نسبة اقل مما سجل سابقا (٩),(٢٣),(٢٤),(٢٥) الذين سجلوا نسبة عزل ٣٨,٣% , ٣٨,٦% , ٤٧ % , ٥٣,٣% على التوالي ويعزى ارتفاع نسبة التلوث في هذه الدراسات الى تلوث اللحوم خلال نقلها من المجازر الى محلات بيع اللحوم وكذلك تعرض اللحوم الى التلوث داخل محلات الجزارة نتيجة استخدام السكاكين وأدوات غير نظيفة تعمل على زيادة مستوى تلوث اللحوم بجراثيم المكورات العنقودية (٢٦) إضافة الى ان تعرض اللحوم الى التلوث عن طريق العمال خلال نقل اللحوم داخل محلات بيع اللحوم وظروف الخزن الرديئة التي تسمح بنمو الجراثيم داخل اللحم (٦) فضلاعن طريقة الطبخ إذ أن اغلب مأكولات اللحوم تطبخ بدرجات حرارة منخفضة مما يسمح ببقاء الجراثيم داخل



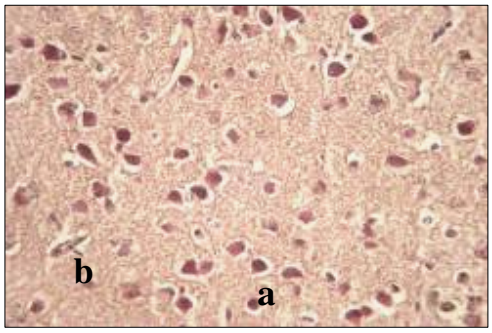
الصورة (١): مقطع نسيجي في كبد جرذ معامل بذيفان جرثومة *Staph. aureus* بتركيز ٠,٤ يوضح وجود التنكس الفجوي في هيولي الخلايا الكبدية (سهم) ١,٧ x ١٠ H&E.



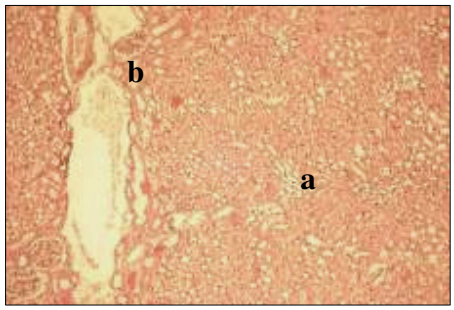
الصورة (٤): مقطع نسيجي في كلية جرذي معامل بذيفان جرثومة *Staph.aureus* بتركيز ٠,٤ مل بالتجريع الخلبي يوضح احتقان شديد في الاوعية الدموية (a) وتورم خلوي حاد(b) وتنكس فجوي (c)وتغير دهني(d) ٢ x ١٠ H&E.



الصورة (٢): مقطع نسيجي في كبد جرذ معامل بذيفان جرثومة *Staph.aureus* بتركيز ٠,٢ مل بالتجريع يوضح وجود البؤر الالتهابية المرتشحة بالخلايا الالتهابية 2 x 10 H&E.



الصورة (٥): مقطع نسيجي في دماغ جرذ معامل بذيفان جرثومة *Staph. aureus* بتركيز ٠,٢ مل يوضح وجود التنكس في العصياتa والوذمة حول الاوعية الدمويةb ٢x ١٠ H&E.



الصورة (٣): مقطع نسيجي في كلية جرذي معامل بذيفان جرثومة *Staph. aureus* بتركيز ٠,٢ مل بالتجريع يوضح ضمور بعض النبيبات (a) واحتقان الأوعية الدموية (b) ٢,٣ x ١٠ H&E.

الصورة (٦): مقطع نسيجي في دماغ جرذ معامل بذيفان جرثومة *Staph. aureus* بتركيز ٠,٤ مل يوضح وجود التفجي (a) وتكاثر الخلايا الدبقية gliosis (b) ٣ x ١٠ H&E.

اللحوم إضافة الى ان استخدام بعض الإضافات الى اللحم تساهم في تقليل او القضاء على الجراثيم مثل التوابل او النتريت (٢٧).

أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود تغيرات مرضية نسجية في كل من كبد وكلية ودماغ وأمعاء الفئران المعاملة بذيفانات جرثومة المكورات العنقودية الذهبية ومن خلال الآفات النسجية التي ظهرت على الكبد والتي تمثلت بالتغير ألدهني والتنكس الفجوي فضلا عن من الخلايا الالتهابية تؤكد قابلية الذيفانات في التأثير على وظيفة الكبد في إزالة السمية فضلا عن كون التجهيز الدموي في الكبد من نوع المزدوج مما يجعله عرضة للأذى بالاعتماد على عدة عوامل منها جرعة المادة السمية وفترة التعرض ووضعية الخلايا الكبدية (٢٨).

أما فيما يتعلق بالكلية فقد لوحظ وجود تورم خلوي حاد مع احتقان الأوعية الدموية والبعض من النبيبات تعاني النخر والتنكس قد يكون ناتجا عن كون الذيفان الجرثومي له القابلية على تحطيم الجدار الظهاري للنبيبات خاصة النبيبات الملفوفة proximal convoluted tubeless فضلا عن ان الذيفان يعمل على تغيير مستوى الكهارل في الدم وكذلك الأوكسجين (٢٩) كذلك الحال بالنسبة للأمعاء فقد لوحظ وجود تنكس مخاطيني في ظهارة الزغابات وهذا يعني بان للذيفانات قابلية على إحداث اختلال في مضخة الصوديوم Sodium pump في متقدرات الخلية وبالتالي يسبب تورم وتفجي تلك المتقدرات نتيجة لخروج الصوديوم وتجمع البوتاسيوم في هيولي الخلية وهذا بدوره يودي إلى قلة إنتاج الطاقة وتحرير الإنزيمات او الخمائر الضرورية لإنتاج تلك الطاقة مما يودي تراكم الماء داخل الخلية وبالتالي عدم قدرة الخلية على أداء وظيفتها (٣٠) وهو نوع من التسمم الذي يحدث بفعل الذيفانات التي قد تكون متواجدة في الأغذية.اما فيما يخص الدماغ فتشير النتائج الى وجود تنكسات في العصيات مع تكاثر الخلايا الدبقية كوسيلة دفاعية في نسيج الدماغ ضد التأثيرات الناجمة عن الذيفانات (٣١).

بما ان اللحوم تمتلك جميع العوامل التي تساهم في نمو الجراثيم لذلك يجب العناية به بشكل جيد من خلال خزنه بدرجة حرارة لا تقل عن -١٨م° وكذلك العمل على تقليل الأس الهيدروجيني للحم من خلال الإضافات المرغوب فيها إضافة الى تعبئتها بأكياس معقمة وإجراء مراقبة صحية مستمرة لمحلات القصابة والعاملين فيها باعتبار العاملون لهم دور كبير في نشر التلوث في اللحم داخل محلات الجزارة والمطاعم , اما فيما يتعلق بالدراسة المرضية النسجية فقد أظهرت الدراسة وجود افات مرضية نسجية للذيفان المعزول من جرثومة المكورات العنقودية الذهبية بالتركيزين ٠,٢ , ٠,٤ بالتجريع والتجويف الخلبي على التوالي في كل من الكبد والكلية والدماغ والأمعاء متشابهة هذه الآفات بالتركيزين الا ان عند التركيز ٠,٤ بالتجويف الخلبي كانت اشد وهذا بديهي لكون التركيز أعلى (٢٨).

الشكر والتقدير

تم دعم البحث من قبل كليـــة الطـــب البيطـــري، جامعـــة الموصل.

المصادر

1. Jay JM. Modern food microbiology. D. van Nostrand Comp New York,1978.
2. Turnbull PCB.Principles of food poisoning and its control. South African Food Review,1980. 7: 113-124.
3. Advisory Committee in Microbiological Safety of Food (ACMSF).. Report on verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. London HMSO,1995.
4. Van Netten P, Valentijn A, Mossel DAA, Huis JHJ. The survival and growth of acid- adapted mesophilic pathogens that contaminate meat after lactic acid decontaminated. Journal Of Applied Microbiology,1998; 84:559-567.
٥. حسن، عبد الواحد احمد. التحري عن وجود بعض جـراثيم التـسمم الغذائي من ذبائح الأبقار والأغنام. رسالة ماجـستير، فـرع الـصحة العامة البيطرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، ١٩٩٢.
6. AL-Sheddy IA ,Fung DYC, Kastner CL. Microbiology of fresh and restructured lamb meat: a review. Crit. Rev. Microbial,1995; 21:31-52.
7. Gammie AJ, Mortimer PR, Hatch L, Brierley AFM , Chadda N, Walters JB. Outbreak of verocytotoxin producing *Escherichia coli* O157associated with cooked ham farm a single source. PHLS Microb. digest, 1996; 13, 142-145.
8. Cowden JM. Scottish Outbreak of *Escherichia coli* O157 November-December 1996. Eurosurviellance, 1997; 2, 1-2.
9. El-Gohhary AH. Sausage and Minced meat as a source of food poisoning microorganisms to man. Assiut Vet. Med. J,1993,30. 59:146-152.
١٠. فرازيار. علم الإحياء المجهرية الغذائية دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل – مترجم, ١٩٨١.
11. Young KM, Foegeding PM. Acetic lactic and citric acids and PH inhibition of *Listeria monocytogeneses* Scott A and effect on intracellular PH. J. of Applied bact., 1993; 74, 515- 520
12. Jay JM.Modern Food Microbiology 5th ed. New York and London : Chapman and Hall,1996.
13. Dennis P Han MD. Intravitreal human immune globulin in a rabbit model of *Staphylococcus aureus* toxin- mediated endophthalmitis: Apotontial adjustment in the treatment of endophthalmitis. Trans Amophthalmil Soc,2004;102:305-320.
14. Luna, LG. Manual of histologic staining method of the armed forced institute of pathology. 3rd ed., New York, McGraw-Hill Book company,1968; pp. 38-76.
15. Alfred E Brown. Microbiological application. Published by McGraw-Hill, A business unit of the McGraw-Hill companies, Inc., 1221 Avenue of the Americans. New York, Ny 10020, 2005.
16. Faith NG , Parniere N , Larson T , Lorang TD and Luchanbsky JB. Viability of Escherichia coli O156 : H7 in pepperoni during the manufacture of sticks and the subsequent storage of slices at 21 , 4 and -20 C° under air , vacuum and CO2. Int. J. Food Microbial ,1997; 37 , 47 – 54.
17. David P, John S, Jodie FA, Kym MD.Microbiological quality of Australian beef. Journal of Food Protection,2001; Vol.64 , No.5 , PP:692-696.

18. Ministry of agriculture fisheries and food (MAFF). Microbiological food safety surveillance.A national study of ready to eat meat and meat products. Part 4. London : MAFF,1997.
19. Little CL ,Monsey HA , Nichols GL, de Louvois J. The microbiological quality of ready to eat dried and fermented meat and meat products. International journal of Environmental Health Research,1998; 8 , pp:277-284.
20. Norma h , Santos G, Guadalupe R, Lucia S.Microbiological condition of ground meat retailed in Monterrey , Mexico, Journal of Food protection ,2001; vol. 64 , No. 8 , pp: 1249-1251.
21. Thornton H, Gacey JF.Text book of meat hygiene. Bailliere Tindal , London , U.K,1974.
22. Al-aboudi AR , Majeed KN, Ahmed SM.Hygienic quality of beef carcasses produced of mosul abattoir,1987; Vet. Med.J. 35 :73-82.
23. David P , John S , Jodie FA, Kym MD.Microbiological quality of Australian sheep meat. Journal of food protection,2001; Vol.64 , No. 5 , pp: 697 – 700.
24. Dempster JF , Reid SN, Cody O.Sources of contamination of cooked , ready – to –eat , cured and uncured meats. Journal of Hygiene,1973; 71 , 815.
25. Al-aboudi AR , Hammed DA, Hassan MG.The hygienic quality of cooked meat and potential sources of contamination.Indian J. Comp.Microbiol.Immunol.infect. Dis,1989; 10 :133-139.
26. Hinkins JC , Faith NG , Lotang TD , Bailey P , Buege D , Kaspar CW, Luchansky JB.Validation of pepperoni processes for control of *Escherichia coli* O 157 : H7. J. Food Protection, 1996; 59 , 1260 – 1266.
27. Clavero MRS, Beuchat LR. Survival of *Escherichia col*i O157 : H7 in broth and processed Salami as influenced by PH, water activity and temperature and suitability of media for its recovery. Appl. Environ. Microbiol, 1996; 62 : 2735 – 2740.
28. Cheville NF. Introduction to veterinary pathology.1999. Iowa state university press,1999.
29. Thomas CJ , Ronald DH, Norval WK. Veterinary pathology. 1997.351 west Camden street. Baltimore , Maryland 21201 – 2436 USA.
30. Thomas CJ. Special veterinary pathology. An affiliate of elservier 11830 westline industrial drive St Louis , Missouri 63146. USA, 2001.
31. Dwight CH, Yuan CZ.Veterinary microbiology. Commerce place , 350 main street , Malden , Massachusetts 02148. USA, 1999.