مجلة الأمانة العلمية – مجلة علمية محكمة
رقم الإيداع بدار الكتب الوطنية 307 / 2025
ISSN:3106-1176 https://ssj.org.ly

عزل البكتيريا *Staph Aureus* من اللحوم المستوردة من بعض اسواق مدينة البيضاء

باسط فتح الله عبدالله بوشناف
(مركز البحوث الزراعية والحيوانية - البيضاء - ليبيا)

الملخص:

أجريت الدراسة لغرض التحري عن الملوثات الميكروبية في اللحوم الحمراء المستوردة، حيث شمل هذا البحث عمل ميداني وتم ذلك بأخذ عينات بصورة عشوائية من أسواق مدينة البيضاء. وكذلك تم إجراء بعض الفحوصات المختبرية للعينات في مختبرات مركز البحوث الزراعية والحيوانية، إذ تم عزل بعض انواع البكتيرية في عينات اللحوم المدروسة إذ وجد بعد زرع العينات على أوساط زراعية غذائية وتشخيصية وإجراء عمليات الصبغ والكشف باستخدام شريط Api20 لإجراء الاختبارات الفسيولوجية والبيوكيميائية للبكتيريا *Staph aureus* ومعرفة تأثير درجات الحرارة المختلفة على نمو هذه البكتيريا أظهرت نتائج الدراسة ارتفاع مستوى المحتوى البكتيري وكانت النتائج هو ظهور بكتيريا على بيئة اجار الدم الأخرى لم يظهر فيها اي نمو ويرجع السبب في ذلك هو الخزن الجيد للحوم، أما الطبق الذي ظهرت فيه البكتيريا هو يعود إلى سوء التخزين أو المواد الحافظة المستعملة في عملية التحزين.

الكلمات المفتاحية: لحوم مستوردة - *Staph aureus* - درجات الحرارة - أجار الدم.

Abstract.

The study was conducted for the purpose of investigating microbial contaminants in red meat Imported, this research included field work and this was done by taking photographic samples Random samples from the markets of the city of Al Bayda, and some laboratory tests were also conducted For samples in the laboratories of the Agricultural and Animal Research Center, some species were isolated Plant the samples on culture media Bacterial bacteria in the studied meat samples, if any after Nutritional, diagnostic, and performing staining and detection operations using the Api2o strip to perform Physiological and biochemical tests for *staph aureus* bacteria and knowledge of their effect Different temperatures affected the growth of these bacteria. The results of the study showed a high-level Bacterial content and the results were the appearance of bacteria on the blood agar environment other than Any growth appears in it, and the reason for this is the good storage of the meat. As for the dish that… Bacteria appeared in it. This is due to the speed of storage or the preservatives used Grieving process.

Keywords: imported meat – *staph aureus* – blood agar temperatures.

- مقدمة:

تعد اللحوم من أهم المنتجات الرئيسية والمهمة في حياة الإنسان منذ القدم وتعتبر مصدر البروتين الحيواني عالي القيمة الحيوية لاحتوائه على الأحماض الأمينية الضرورية لديمومة، ونظراً للدور المهم الذي تلعبه اللحوم في حياتنا اليومية تم الحفاظ على اللحوم بطرقٍ الحياة مختلفة ومميزة ولهذا ساهم في ازدهار الصناعة والتجارة العالمية بصورة عامة وهذا ساهم كثيراً فأصبح بالإمكان ذبح الحيوان في دولة معينة واستهلاكه في دولة أخرى (Bekker et al., 2011) لذلك كان من المهم مراقبة هذه اللحوم لكثرة استخدامها من الناس ولاسيما الشارع الليبي حيث تعتبر من أهم النواقل الميكروبية بأنواعها بما فيها خمائر البكتيريا واعفان الفطريات والفايروسات إلى الإنسان مسببه العديد من الأمراض له .وتحتوي اللحوم بصورة عامة على البروتين والأحماض الأمينية إضافةً إلى المعادن المهمة والفيتامينات ومنها Complex-B> وتعتمد القيمة الغذائية للحوم على محتواها من هذه المكونات المهمة ويعتمد ذلك على عمر الحيوان، ونوع القطيعة، محتوى الدهن باللحوم (Van, 2011). تمتاز اللحوم بكونها غنية بمكونات مهمة للإنسان وايضاً تعتبر سريعة التلف ولهذا فإنها تتعرض إلى تغيرات طبيعية (الكيميائية والبيولوجية) والتي يكون تأثيرها بشكل رئيسي على مدى صلاحية هذه اللحوم للاستهلاك البشري، ويمكن المحافظة على اللحوم من هذه التأثيرات الطبيعية عن طريق التجميد (تجميد اللحوم). إن طريقة التجميد لا تقضي على الميكروبات الموجودة في اللحوم بصورة عامة، إذ أن النمو الميكروبي يتوقف بصورة عامة بدرجة 0مْ بالنسبة للبكتيريا، أما بالنسبة للفطريات فيمكنها أن تنمو على منتجات اللحوم بصورة واضحة مخلفة بذلك بقع مختلفة على منتجات اللحوم وتزداد بصورة خاصة إذا ارتفعت درجة الحرارة أعلى من (-11مْ) وهذا يؤدي إلى تغير ملحوظ في لو ن وقوام اللحم إذ أن الدرجة الحرارية المثلى لحفظ اللحوم (-18مْ). (عبد الكريم وعمر، 2023). أن النوعية الميكروبية للحوم ومنتجاتها تتحدد من خلال وجود أعداد وأنواع الأحياء المجهرية التي تنمو فيها، إن اللحوم بصورة عامة لا تخلو من هذه الأحياء ولكن قد تزداد أعدادها إذا توافرت لها بعض الظروف المناسبة كالرطوبة ودرجة الحرارة (العبيدي، 2005) أما إذا لم تتم السيطرة على نمو هذه الأحياء في اللحوم من خلال مدة الخزن فقد يؤدي ذلك إلى فقدانها لقيمتها الغذائية وصفاتها التذوقية.

- المواد وطرق البحث:

- المواد وطرائق العمل:

1- جمع العينات Collection of specimens:

تم جمع عينات من اللحوم المستوردة المجمدة من الأسواق المحلية لمدينة البيضاء، حيث انتخبت العينات بطريقة عشوائية بسيطة من اللحوم ووضعت في قنانٍ بلاستيكية نظيفة ومعقمة Transport counteners ووضعت كمية من الماء في وعاء لكي يتم الحصول على التلوث.

- تحضير العينات لغرض الفحص Preparation of specimens:

تم وزن 25 غم من كل عينة من اللحوم المستوردة باستخدام الميزان الحساس، وضعت كل عينة في خالط كهربائي مستقل نظيف ومعقم، تم اضافة 225مل ماء مقطر معقم إلى كل عينة لحم، وتم مزج العينات كل على حده باستخدام خالط لمدة 4 دقائق، وهنا تم الحصول على التخفيف 1:10 لكل عينة من اللحم المستورد (Clarence et al, 2009). نقلت 1 مل من التخفيف 1:10 إلى دورق نظيف ومعقم يحتوي على (99) مل ماء مقطر ثم بعد ذلك عملت سلسلة من الخفيفات.

- زرع العينات Culturing of specimens:

بعد اتمام عملية تحضير العينات وبعد إجراء التخفيفات المطلوبة وتوزيعها في أطباق، تم سكب كمية من الوسط الغذائي blood agar المعقم بعد ذلك يبرد، تم إعادة خطوات العمل هذه لعزل البكتيريا من اللحوم المستوردة وتم حضن الأطباق المزروعة بدرجة حرارة (37) م° لمدة 18- 24 ساعة (عبد الكريم وعمر، 2023).

- تحضير الأوساط الزراعية Preparation of culture media

تم تحضير الوسط الزرعي المستخدم الجاهز حسب ما جاء في تعليمات الشركة المنتجة 2.

- تعقيم الأوساط الزرعية:

التعقيم بالمؤصدة : Autocleave

عقمت الأوساط الزراعية المستخدمة بالمؤصدة بدرجة حرارة121م° تحت ضغط 15. باوند/انج، لمدة 15 دقيقة.

- التعقيم بالحرارة الجافة Dry heating:

عقمت الزجاجيات بالحرارة الجافة في فرن كهربائي لمدة 15 دقيقة بدرجة حرارة 180م °لمدة ساعتين.

- صبغة جرام:

حضر غشاء بكتيري Bacterial Smear وذلك بوضع قطرة من معلق بكتيري من مزرعة حديثة عمرها 24 ساعة على شريحة زجاجية وتركت تجف في الهواء وثبتت بالحرارة بلطف وذلك بإمرار السطح السفلي للشريحة الزجاجية على اللهب وغمرت الشريحة بمحلول كريستال بنفسجي لمدة دقيقة واحدة وغسلت بعد ذلك بتيار هادي من ماء الصنبور لمدة 3 إلى 4 ثواني ومن ثم غمرت الشريحة مرة أخرى بمحلول اليود لمدة دقيقة وغسلت مره ثانية بماء الصنبور لإزالة اللون وأضيف قطرات من كحول إيثانول 95 % على الشريحة وهي بوضع مائل حتى أصبح لون الكحول المزال رائقاً وغسلت بالماء ووضعت صبغة السفرانين لمدة 20 دقيقة وبعد ذلك غسلت بالماء وفحصت بالمجهر (Skerman, 1967). احتفاظ البكتيريا باللون البنفسجي الأزرق يدل على إنها موجبة لصبغة جرام بينما ظهورها باللون الأحمر يدل على إنها سالبة لهذه الصبغة.

- دراسة حركة البكتيريا بواسطة القطرة المعلقة Hanging drop method:

وضعت قطرة من معلق بكتيري حضر من مزرعة حديثة النمو على غطاء الشريحة ووضع على حواف الغطاء للشريحة فازلين ووضع الغطاء على شريحة زجاجية مجوفة في وضع مقلوب فحصت بعد ذلك تحت المجهر لمشاهدة حركة البكتيريا (Sands *et al.*, 1970).

اختبار القدرة الإمراضية للعزلة حيث تم اختيار أفرع وأوراق حديثة على شجيرات الشماري السليمة وغطيت قبل الحقن بيوم واحد بواسطة أكياس بلاستيكية ثم ازيلت الأكياس ورشت الأوراق بمعلق

البكتيري وذلك باستخدام مرشة يدوية وأعيد تغطيتها بالأكياس البلاستيكية لمدة 24 ساعة اخرى لتوفير درجات رطوبة مناسبة.

- الصفات الفسيولوجية والبيوكيميائية:

- اختبار الأوكسيديز:

حضر الكاشف Tetramethyl paraphenylene diamine dihydrochloride بتركيز 1 % في الماء وأستعمل بعد 24 ساعة من تحضيره حيث شبعت به ورقة ترشيح وأخذ من كل عزلة بواسطة إبرة ذات العقدة معقمة بالتلهيب نمو كثيف من مزرعة عمرها 24 ساعة وعمل خط عرضه 1سم على طول ورقة الترشيح المشبعة بالكاشف (Kovacis, 1956) ظهور اللون البنفسجي يدل على إيجابية الاختبار وعدم ظهور اللون دلالة على سلبية الاختبار .

- اختزال فوق أكسيد الهيدروجين:

أجري هذا الاختبار لكل العزلات البكتيرية لمعرفة قدرتها على إنتاج إنزيم الكتاليز Catalase H_2O_2 حيث وضعت قطرة من محلول فوق أكسيد الهيدروجين تركيزه 3% على سطح شريحة زجاجية نظيفة وأضيف إليها بواسطة إبرة ذات العقدة Inoulating Loop معقمة بالتلهيب جزء من مستعمرة بكتيرية من مزرعة حديثة نامية على بيئة الأجار المغذي ومزجت جيداً ولوحظ تصاعد فقاقيع هوائية مما يدل على أن البكتيريا موجبة لإنزيم الكتاليز (أبوبكر، 2005).

- تكوين الليفان :

حضرت بيئة أجار مغذي وأضيف إليها 5% سكروز وعقمت في الأوتوكليف (Dixons – Autoclave (UK على درجة حرارة 121 مْ وضغط 15 رطل/ بوصة ^{2} ولمدة 15 دقيقة ثم صبت في أطباق بتري معقمة وبعد تصلبها لقحت الأطباق بالعزلات البكتيرية المختلفة وحضنت على درجة حرارة 28 مْ لمدة 24 ساعة. إمكانية نمو مستعمرات لزجة مع مظهر مقبب للمزارع الحديثة الذي يشير إلى تكوين الليفان.

- استخدام أشرطة Api20 وأشرطة Himedia في إجراء الاختبارات الفسيولوجية والبيوكيميائية:

أمكن إجراء بعض الاختبارات الفسيولوجية والبيوكيميائية باستخدام أشرطة Api 20 (Biomerieux - France) وأشرطة Himedia (Himedia - India) تبعاً لما ذكره الباحثان Lelliott and Stead (1987) حيث حضر معلق من العزلات البكتيرية المختلفة في محلول 0.85 % كلوريد صوديوم (Saline) ثم حقن معلق كل عزلة في شريط Api20 وحضن على درجة حرارة 28 مْ لمدة 48 ساعة تم بعدها الكشف على نتيجة الاختبارات الفسيولوجية والبيوكيميائية للعزلات المختلفة وقد إشتملت هذه الاختبارات الكشف على نشاط إنزيم بيتا جلاكتوسيديز وإنزيم ديكربوكسيليز وإنزيم اورنيثين ديكربوكسيليز وإنزيم اليوريز و إنزيم الجلاتينيز وإنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين والأندول واختزال النترات. كما اختبرت مقدرة العزلات البكتيرية على استخدام بعض السكريات.

- تأثير الحرارة على نمو البكتيريا في البيئة السائلة:

نميت العزلات على بيئة مرق مغذي ووزعت على أنابيب اختبار بحيث احتوت كل أنبوبة على 10 مل من البيئة المرق المغذي سدت بقطن وعقمت ولقحت الأنابيب بعد أن بردت بمعلق بكتيري حديث النمو بمعدل 5 مكررات لكل درجات حرارة لعزلة من البكتيريا وحضنت على درجات حرارة مختلفة (10، 15، 20، 25، 30، 35) درجة مئوية وأخذت قراءات الامتصاصية كمؤشر للنمو على فترات مختلفة (1، 2، 3 أيام) باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer على طول موجي 600 نانومتر. (عبد الكريم وعمر، 2023).

- النتائج:

- تعريف وتصنيف العزلات البكتيرية الممرضة:

أوضحت النتائج فيما يختص بالصفات العامة والشكلية أن خلايا البكتيرية المعزولة كروية الشكل ومتحركة وحركتها سريعة إلى متوسطة السرعة موجبة لصبغة جرام جدول(1) وهذا يتفق مع ما ذكره.

جدول (1) الاختبارات الفسيولوجية والبيوكيميائية للبكتيريا *Staph aureus*

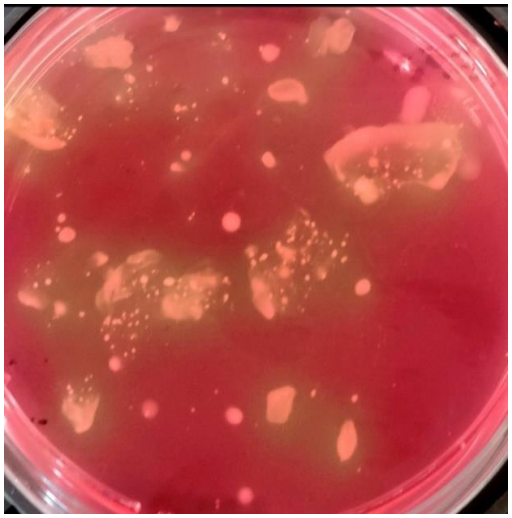
الأختبارات	*Staph aureus*
اختبار الأوكسيديز Oxdase	+
اختبار الكتاليز Catalase	+
تكوين الليفان Levan	+
اختبار الليزوستافين	-
تخمر السكروز	-
انتاج انزيم اورنيثين ديكربوكسليز Ornithine decarboxylase	-
احتبار الكواجولاز	+
انتاج كبريتيد الهيدروجين H_2S	-
انتاج الاندول Indole	-
انتاج انزيم اليوريز Urease	-
ا اختبار الأوكسيديز Oxdase	+
استخدام السترات Citrate	-

أوضحت نتائج الجدول وجود تلوث بكتيري ببكتريا المكورات العنقودية *Staph aureus*. في اللحوم المستوردة قد يرجع هذا التلوث إلى سوء الخزن وقد يرجع ذلك الى كمية المواد الحافظة المستخدمة، أما الأطباق الأخرى التي لم يظهر فيها التلوث البكتيري يرجع ذلك إلى الخزن الجيد للحوم.

أولاً: تقدير المحتوى الميكروبي:

العد البكتيري: تم أخذ (5) عينات من اللحم المستورد من محلات البيع في البيضاء و تم حساب عدد المستعمرات البكتيرية الكلية التي تم تنميتها على وسط المانيتول، حيث مثلت هذه الأعداد المعدل العام

للبكتيريا الموجودة في كل غرام من عينات اللحم المستخدم في التجربة (المستورد). حيث تظهر النتائج المبينة في الجدول (1) العدد الكلي للبكتيريا في أنواع اللحوم 0-المدروسة إذ كان معدل النمو في اللحم المستورد يتراوح بين 10x34^{-3} - 10x110^{-3}) بكتيريا / غم من اللحم. والشكل (1) يوضح وجود البكتيريا



شكل (1) نمو بكتيريا المكورات العنقودية على وسط Manitol Solt agar في عينة اللحوم المستوردة

- تأثير الحرارة على نمو البكتيريا في البيئة السائلة (المرق المغذي):

يتضح من الجدول (1) أن أعلى نمو للبكتيريا في المرق المغذى خلال اليوم الأول كان على درجة حرارة 35 °م حيث سجلت أعلى قراءة امتصاصية باستخدام جهاز المطياف الضوئي كمؤشر للنمو (0.501) وأقل قراءة للامتصاصية على درجة حرارة 10°م (0.0276) وفي اليوم الثاني استمر تسجيل أعلى معدل للنمو على درجة حرارة 35 °م حيث وصلت الامتصاصية إلى (1.37) يليها درجة الحرارة 30°م (0.9036) مما يشير إلى أن درجات الحرارة التي تتراوح بين 30-35°م هي أفضل درجات حرارة تنمو عليها البكتيريا المسببة لتلوث اللحوم المستوردة ويرجع السبب في ذلك هو الخزن الجيد للحوم، أما الطبق الذي ظهرت فيه البكتيريا هو يعود إلى سوء التخزين أو المواد الحافظة المستعملة في عملية الخزن.

(1). تأثير درجات الحرارة المختلفة على نمو البكتيريا *Staph aureus a* لمدة ثلاث أيام من التحضين.

درجات الحرارة	قياسات الأمتصاصية (التعكير) كمؤشر للنمو		
	بعد اليوم الأول	بعد اليوم الثاني	بعد اليوم الثالث
10مْ	0.015	0.0276	0.1180
15مْ	0.088	0.1662	0.128
20مْ	0.0928	0.1776	0.1308
25مْ	0.3014	0.2308	0.9036

1.3710	0.9036	0.4598	30مْ
1.54	1.37	0.501	35مْ

أقل فرق معنوي بين درجات الحرارة (LSD) =0.16

أقل فرق معنوي بين الأيام (LSD) =0.11

أقل فرق معنوي للتداخل بين درجات الحرارة والأيام (LSD) = 0.27

نستنتج من ذلك إن سبب التلوث الذي ظهر في العينة المدروسة هو منشأ هذه اللحوم والإجراءات الصحية المتبعة في عمليات الإنتاج تتبع الشروط الصحية العالمية فإن سوء عمليات النقل والخزن والتداول اليدوي والابتعاد عن الشروط الصحية للخزن والذي قد يمتد لفترات طويلة وهو من العوامل الرئيسة للتلوث الحاصل وكذلك طرق الذبح إذا كانت تتم وفق الشريعة الأسلامية أم لا. أن نتائج العد الكلي لبكتيريا *Staph. aureus* هو $1x10^{-3}$ جاءت هذه النتيجة مقاربة مع نتائج البحوث العالمية (APHA; 1998). إن بكتيريا *Staph aureus*. تتواجد في اللحوم وتتغلغل بداخلها وتنتقل من البيئة المحيطة بكل عناصرها إلى الإنسان وهذا يشير إلى ضرورة الحد من التلوث بمثل هذه الميكروبات وتعتبر هذه البكتيريا إحدى العوامل المسببة للتسمم الغذائي في الأنسان، ووفقاً لما بينته الوكالة الدولية حول المواصفات الميكروبيولوجية الأغذية 1980 (ICMSF) فإن الأحياء المجهرية الموجبة لصبغة ك ارم تكون مقاومة نسبيًا. لدرجة حرارة التجميد وهذا ما له أهمية في الصحة العامة.

- المراجع:

- أبوبكر، ع. م. (2005). دراسات على مرض التبقع البكتيري على نبات الشماري. رسالة ماجستير، أكاديمية الدراسات العليا. بنغازي .84 صفحة.

- عبد الكريم؛ وسام فتح الله ، نجاة إدريس عمر (2023). عزل وتعريف البكتيريا Clostridium perfrins من اللحوم ومعرفة بعض درجات حرارة مختلفة من كلوريد الصوديوم Nacl على نموها. مجلة القلم المبين. العدد 14 المجلد الأول 368-384.

- العبيدي، ظافر عبد علي. (2005) . دراسة بعض الخواص النوعية والبكتريولوجيه للحوم العلمي، جامعة الموصل - العراق.

- النعيمي، سعد هلال نجم (1984). مبادئ تغذية النبات، وزارة التعليم العالي والبحث.

APHA. (1998). American Public Health Association. Compendium of methods for the Microbiological Examination of food3. rded Washington. D.C

Bekker, J. L., Hoffman, L. C., and Jooste, P. J. (2011). Knowledg of stakeholders in thegame meat industry and its effect e on compliance with food safety standards. International Journal of Environmental Health Research, 2, 341–363.

ICMSF. (1980). Microbial ecology of foods. Food commodities Press Inc. first ed., London Press Inc. 1st ed., London.

Jarup, L. (2003). Hazard of heavy metal contamination. Br Med. Bull.68:167-182 Kuchida, K. and Okada, S.2012.Objectiveevaluation method of meat color by image analysis method. Patent No. JPN2012-115719.

Kovacs, N. (1956). Identification of *Pseudonmonas* pyocyanea by the oxidase reation. Nature. London. 178, 703.

Lelliott, R. A. and Stead, D. E. (1987). Methods for the diagnosis of plant pathog enic bacteria .Black well. Scientific publication, London.

Mariam, I. Iqbal, S. and Nagra, S.A. (2004).Distribution of Some Trace And Macrominerals In Beef, Muttonand Poultry International Journal of Agriculture & Biology 1560 .820–816–5–06/2004/8530.

Polkinghorne, R.J. and Thompson, J.M. (2010).Meat standards and grading. A worldview. Meat. Science 86: 227-235.

Sands, D. C., Schroth, M. N. and Hildebrand, D. C. (1970). Taxonomy of phytopathogenic *Pseudomonas*. Journal of Bacteria 101, 9-23.

Skerman, V. B. D. (1967). A Guide to the Identification of the Genera of Bacteria 2nd edition, Baltimore, Maryland: Williams and Wilkins.

Van Schalkwyk, D.L. (2011).Investigation into selected parameters required to develop a sustainable Namibian game meat presented for the degree of Doctor of Philosophy in Food Science at Stellenbosch University ‹Industry. Dissertation Maitland, South Africa.

الملحقات المحاليل والصبغات والأوساط

صبغة الجنسيان البنفسجي

محلول (أ) (Barcelona- Espana) Kovacs Reagent	1 جرام
Distilled Water	100مللتر
محلول (ب) (BDH- England) Sodium becarbonat	1 جرام
	20 مللتر
Distilled Water	

محلول اليود

(Barcelona- Espana) Iodine	2 جرام
(BDH- England) Sodium hydroxide (1N)	10 مللتر
Distilled Water	90 مللتر

صبغة السفرانين (Barcelona- Espana)

	10 مللتر
Safranine	1 جرام
Distilled Water	100مللتر

1. وسط المرق المغذي Nutrient Brooth (Barcelona- Espana)

Meat extract	3 جرام
Peptone From meat	5 جرام
Distilled Water	1000مللتر

2. وسط الأجار المغذي Nutrien agar (Barcelona- Espana)

Meat extract	3 جرام
Peptone From meat	5 جرام
Agar	15 جرام
Distilled Water	1000مللتر
PH 7.2	

3. وسط أجار الدم blood agar (Barcelona- Espana)

Meat extract	3جرام
Peptone From meat	5 جرام
Blood	15مل
Distilled Water	1000 مللتر