جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بابل / كلية العلوم للبنات
قسم علوم الحياة

دراسة مستوى التلوث البكتيري للدجاج المجمد وحديث الذبح في بعض متاجر مدينة الحله

بحث مقدم الى مجلس كلية العلوم للبنات / جامعة بابل
كجزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس علوم الحياة

تقدمت به كل من الطالبتين
زينب حسن إسماعيل
زينب حسين فاضل

بإشراف
أ. د. م نسرين كاظم راضي

(يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ)

صدق الله العلي العظيم

" سورة المجادلة، آية: 11"

الشُكر و التقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسالم على أشرف الأنبياء والمرسلين محمد (صلى الله عليه و آله و سلم) ومن تبعهم بإحسان إلى يوم الدين، وبعد .. فإني أشكر الله تعالى على فضله حيث أتاح لي إنجاز هذا العمل بفضله، فله الحمد أولاً و أخرا.

ثم أشكر أولئك الأخيار الذين مدوا لي يد المساعدة، خلال هذه الفترة، وفي مقدمتهم

أستاذتي المشرف على الرسالة الأستاذ المساعد الدكتور/ نسرين كاظم راضي الذي لم يدَّخر جهًدا في مساعدتي

كما أشكر القائمين على كلية العلوم للبنات وعلى رأسهم الدكتور/ إخلاص الشريفي رئيس القسم

وسعادة عميد الكلية الدكتور/ عبير فوزي ، ووفقهما لكل خير لما يبذلانهُ من إهتمام.

الإهداء

إلى أبي العطوف.... قدوتي و مثلي الأعلى في الحياة، فهو من عَلمني كيف اعيش بكرامة و شموخ.

إلى أمي الحنونة..... لن أجد كلمات يمكن أن تمنحها حقها، فهي ملحمة الحب وفرحة العمر ومثال التفاني والعطاء.

إلى زوجي.... أسمى رموز الإخلاص والوفاء و رفيق الدرب.

إلى إخوتي.... سندي وعضدي ومشاطري أفراحي و أحزاني.

إلى بنتي..... فلذات الأكباد.

إلى جميع الأخلاء؛ أهدي إليكم بحثي العلمي

دراسة مستوى التلوث البكتيري للدجاج المجمد وحديث الذبح في بعض متاجر مدينه الحله

study of the degree of bacterial contamination of fresh and frozen chicken in certain Hilla City supermarkets

الخلاصة :-

هدفت الدراسه الى عزل وتشخيص الاجناس البكتيريه الملوثه للدجاج من كلا النوعين المجمد وحديث الذبح باستخدام وسط كروم اكار ودراسه الحساسيه لهذه الاجناس لنوعين من المضادات لحياتيه و باستخدام طريقه **(Kirby-Bauer)**الانتشار من القرص على سطح الاكار حيث بينت النتائج ان اعلى نسبه لتلوث البكتيري كانت تعود للجنس(11,42%) *Ecoli* ثم تليها بكتريا (*psedumonas ,klesiella ,proteus*)بالترتيب في الدجاج المجمد واما نسبتها في الدجاج حديث الذبح فكانت لنفس الاجناس بالترتيب 35%,25%,25%,15%واظهرت نتائج اختبار فحص حساسية البكتريا للمضادات الحياتية ان بكتريا *proteus* كانت مقاومه لنوعي المضادات الحياتية المستخدمة في الدراسة ,Ciprofloxacin, Levofloxacinفي حين اظهرت بقيه الاجناس حساسيه عالية ضد المضادLevofloxacin ومقاومه Ciprofloxacin المستخدمين بأقطار تثبيط (E coli(cip=10.8cm,lev=20.3 cm,و( ), *klebsiella* (cip=20.4,lev=10.9cm *),* cip=10.6,lev=20لبكتريا pseudomonas .اعتمادا على الجدول القياسي لمناطق تثبيط النمو البكتيري للمضادات الحياتيه.

Abstract

The study aimed to isolate and diagnose the bacterial races contaminated with chickens of both frozen and newly slaughtered species using the medium of chromo Agar and the study of sensitivity to these races against two types of antibiotics and using the method (Kirby-Bauer) spread from the disk on the surface of the Agar, where the results showed that the highest percentage of bacterial contamination was due to the genus (11.42%) *E. coli*, followed by bacteria (*psedumonas, Klesiella, proteus)* in order in frozen chicken. As for the percentage in newly slaughtered chickens, it was for the same races in order 35%, 25%, 25%, and 15%, and the results of the test for the examination of bacteria sensitivity to antibiotics showed that the *proteus* bacteria were resistant to the two types of antibiotics used in the study, Ciprofloxacin and Levofloxacin, while the rest of the races showed high sensitivity to antibiotics used with inhibition diameters (cip = 1.8 cm, lev = 2.3 cm), E coli, Klebsiella (cip = 1.6, lev = 2 (cip = 2.4, lev = 1.9 cm), for pseudomonas bacteria.

Key words:

Ciprofloxacin and Levofloxacin ,frozen chicken meat , **Kirby-Bauer** ,chrome agar

المقدمه:-

تتحدد النوعية المايكروبية للحوم من خلال معرفة أعداد ونوعية الأحياءالمجهرية النامية فيها ولا تخلو اللحوم من الاحياء المجهرية ولكن قد تزداد اعدادها اذا توفرت لها بعض الظروف المناسبة لنموها كدرجة الحرارة والرطوبة والاوكسجين ويتوقف نمو الاحياء المجهرية وتتحدد حسب حرارة الخزن بالتجميد وبالأخص عند درجة .(حرارة - 18 م(10) كما تزداد أعداد الأحياء المجهرية في اللحوم نتيجة حدوث التلوث أثناء عمليةالذبح والتقطيع والتغليف والتصنيع كما إن ظروف الخزن السيئة في غرف التبريد وعملية الإذابة ومكائن الفرم في المعامل وأيدي العمال تعد من العوامل التي تعمل ؛ زيادة أعداد الأحياء المجهرية في اللحوم على18)، ويمكن حساب أعداد الأحياء المجهرية ( )6التي من خلالها يتم تحديد النوعية المايكروبية للحوم بالاعتماد على اختبارات خاصة لكل نوع من الأحياء المجهرية ولكل نوع من منتجات اللحوم وتقارن أعدادها في اللحوم مع المواصفات القياسية الخاصة بالحدود المايكروبية ليتم تحديد النوعية المايكروبية ومن هذه وتقدير بكتريا القولون Total Plate Count الاختبارات تقدير البكتريا الكلية Coliform Bacteriaوتقدير البكتريا المحبة للبروده والكشف عن بكتريا السالمونيا (Devatkal*etal*.,2004 and HPFB. 2003).

وتعد لحوم الدجاج أحد أنواع اللحوم التي تتعرض لهذه الأحياء المجهرية فقد اشارت Bauer وجماعته ان معدل التلوث البكتيري الكلي والمعدل الكلي لبكتريا القولون والمعدل الكلي لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية لأفخاذ الدجاج المعروضة في محال بيع المفرد بلغت 10.3 دورة لوغارتمية/ غم لحم على التوالي، كما - 86.4 و 82.2 - 88.7 وبين 86.3 في لحم الدجاج المستورد ان عدد E. coli وجدت (1) عند عزل وتشخيص بكتريا 610 و ت م/ غم لحم، وقد بين إن معدل بكتريا المكورات العنقودية الذهبية في اللحوم المستوردة تتراوح مابين 1.11غم لحم.(Bauer*etal*.,1959)

باحثون اخرون فقد وجدو تلوث اللحوم ببكتريا السالمونيلا المرضية عند فحصه 480نموذج من اللحم كان 12 % منها ملوث ببكتريا السالمونيلا، ولاحظ عدد من الباحثين ان اكثر البكتريا المسببة لفساد اللحوم المخزنة بالتبريد تعود الى الجنس16 Pseudomonas 28.4 دورة

لوغارتم/ غم لحم)، وبينت ان المعدل الكلي لبكتريا لمحبه للبرودة في أفخاذ. – الدجاج يتراوح بين 70(Ayhan.,2003)

المواد وطرائق العمل

تحضير العينات:

تم الحصول على عينات أفخاذ الدجاج المجمدة المستوردة ذات المناشئ المختلفة من الأسواق المحلية لمدينة الحله للفترة من شباط لغاية نيسان من عام 2023 بواقع سبعة علامات تجارية من أسواق المفرد ، نقلت العينات داخل صندوق فليني مبرد إلى المختبر وحفظت داخل أكياس من البولي اثيلين في المجمدة على درجة حرارة - 18 م لإجراء الفحوصات البكتريولوجية.

الفحوصات البكتريولوجية:

تم إتباع الطريقة المذكورة في (10) في الفحوصات البكترولوجية حيث وزن24 غم من لحم الأفخاذ المجمدة وخلطت مع 225 مل وسط المرق المغذيNutrientبالخلاط الكهربائي لمدة دقيقتين وبسرعة 230 دورة/ دقيقة ويعد هذا هو التخفيف 10 Peptone (P.W) ، ثم كملت باقي التخافيف العشرية باستخدام وسط - الأول Broth1 إذ وضع 9 مل من الوسط في كل أنبوب وأضيف إليه 1 مل من التخفيف الأول. 10 , ثم اكملت التخافيف الباقيه حسب المصدر(A.O.A.C. 2005)

النوعية البكتريولوجية والتي شملت:

Total Plate count : تقدير العدد الكلي للبكتريا الهوائية

حيث نقل 1 مل من Plate Count Agar أستخدم لهذا الغرض الوسط الزرعي التخافيف المناسبة الى طبق بتري بماصة معقمة ثم صب الوسط بعد تبريده الى درجة حرارة 45 م وحركت الأطباق بهدوء لتجانس والتوزيع بشكل جيد وتركت تتصلب ثم 153قلبت الأطباق وحضنت على درجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة وبعدها حسب عدد البكتريا النامية بالاطباق. (Abrgrall and Cleret, 1990)

تقدير عدد بكتريا القولون :Coli form Bacteria

للكشف عن بكتريا القولون حيث صب (MacConkey agar) أستخدم وسطالوسط في الأطباق وترك يتصلب ثم وضع 1 مل من التخفيف المناسب على الوسط ونشر على السطح بشكل جيد ثم صب فوقه طبقه اخرى من الوسط وذلك لتوفير ظروف لا هوائية وتركت تتصلب الأطباق ثم قلبت وحضنت على درجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة وحسبت المستعمرات النامية على الوسط لتقدير عدد بكتريا القولون.(Abrgrall and Cleret, 1990)

فحص بكتريا الكليبسلا :klebsellia Bacteria

تم حضن التخفيف 1 على درجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة، على وسط كروم اكارلوحظت بكتريا والتي تكون بشكل مستعمرات سوداء اللون وللتأكد أكثر تجري فحوصات بايوكيميائية.

تقدير عدد البكتريا المحبة للبرودة: Bacteria Psycrophilic

وصب الوسط Nutrient Agar أتبعت طريقة (11)، إذ حيث استخدم وسط في الأطباق وترك يتصلب ثم وضع 1.0 مل من التخفيف المناسب ثم نشر على N.A - سطح الأكار بشكل جيد ثم قلبت الاطباق وحضنت على درجة حرارة 5 م لمدة 5يوم وحسب المستعمرات النامية على الوسط.

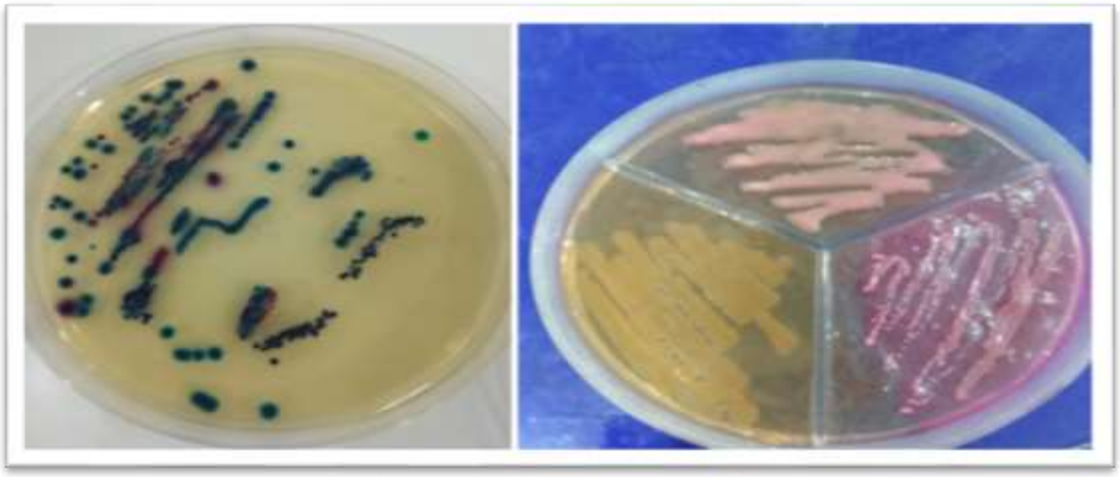
زرع العينات: وزرعت على وسط (chrome agar) وتركت الاطباق ليتصلب وبعدها حضنت الاطباق في 37 درجة مئوية ولمدة 24و48و72 ساعة . ثم تم حساب عدد المستعمرات في كل طبق0 اما عينة الدم فقد زرعت في وسط نقيع القلب والدماغ السائل I H B وحضنت في 37 درجة مئوية وتم التعامل معها حسب طرائق زرع الدم (culture Blood)

(FSAI. 2001).

نتائج ومناقشه

جدول رقم 1انتشار الاجناس البكتيرية حسب نوع الدجاج المجمد وحديث الذبح

Type of bacterial isolates	From fresh chicken meat	From frozen chicken meat
Ecoli	7(35%	11(42%
Pseudomonas	5(25%	6(23%
Kelbsiella	5(25%	5(9%
Proteus	3(15%	4(15.3%
Total	20	26



الشكل (1) *Ecoli* pink ,*klebsilla* black ,*pseudomonas* green ,*proteus* umber colony on chromo agar

شكل 2:يوضح ان 1=Ecoliو=2 pseudomonasو=3 klebsiellaو= 4proteusعلى وسط مولر هنتون اكار

اظهرت نتائج البحث ان بكتريا القولون و الكليبسلا هي بكتيريا الاكثرتلوثا للدجاج المجمد وحديث الذبح جدول رقم 1. مصدرها الرئيسي هو أمعاء البشر الأصحاء أو الفقاريات السليمة الأخرى. تتمتع الدواجن بسمعة طيبة عندما يتعلق الأمر بأصولها الحيوانية. العوامل التي تؤدي إلى الإصابة بمثل هذه الاجناس هي استخدام الأعلاف الملوثة والمصابة ، وانتقال الحشرات والقوارض في أقفاص الدجاج. نقل الحيوانات في ظروف غير مناسبة ، والتلوث أثناء الغليان والقطف والتبريد هي عوامل مهمة في انتشار العدوى (Devatkal *etal*.,2004.). يمكن أن تكون مرحلة السلخ مصدرًا مهمًا للتلوث بالمكورات العنقودية والسالمونيلا والإشريكية

القولونية. يمكن لهذه البكتيريا استعمار بصيلات الريش والمشاركة في التلوث المتبادل بعد عملية النتف (الخياط,2006).

اوضت نتائج صورشكل رقم 2 (1-4) ان بكتريا بروتيس كانت مقاومه للمضادات الحياتيه ذلك لكون بكتريا تتميز بكترياذ تمتاز بمقاومتها العالية للمضادات الحيوية نتيجة امتلاكها . ا -β lactamases انزيمات المقاومة مثل انزيمات البيتالاكتاميزولمضادات aminoglycosides والانزيمات التي تمنح المقاومة لمضادات الامينوكلايكوسايد ،β-lactams كما تمتلك هذه البكتريا اليات اخرى تمنحها المقاومة للمضادات الحيوية مثل .quinolones الكينولينات تغيير نفاذية الغشاء الخل وي ، تغيير في الموقع الهدف، تثبيط تصنيع البروتينات وامتلاك البكتريا لمضخاتmacrolides اذ تمنح البكتريا المقاومة للمضادات الحيوية مث ,(. مقاومة لجميع المضادات الحيوية (Basak *et al*. ,2016)

ان مقاومه البكتريا للمضادات الحياتيه تكتسبها اما عن طريق الطفرات ، acquiredاو مكتسبة innateصفة المقاومة هذه تكون اما طبيعيه او تكتسبها عن طريق انتقال المادة ، chromosomal mutations(في الجينات(طفرات كروموسومية ويتم فيها انتقال conjugationالو ا رثية من بكتريا الى اخرى بعدة طرائق، اما عن طريق الاقتران البكتيرياو ، transposonsو الجينات القافزة plasmids المادة الو ا رثية بين خلية واخرى مباشرة مثل البلا زميدات ويتم فيها اخذ الجينوم البكتيري المتحرر من البكتريا الميتة، او عن transformationعن طريق التحول ويتم فيها انتقال المعلومات الو ا رثية بين الخلايا البكتيرية بوساطة العاثيات transduction طريق الحث وقد ادت الطفرات الى زيادة مقاومة البكتريا للمضادات الحيويةbacteriophages.(Laird, 2016), الستربتومايسين ، tetracycline فكانت سابقا مقاومة لما يقارب ال % 39 من التتراسايكلين لكن بعد حصول الطفرات وانتقال بلازميدات المقاومة ، sulfisoxazoleوالسلفيزوكسازول ،streptomycinو التيكارسيلين kanamycinالكنامايسين ، ampicillinلها اصبحت مقاومة ايضا الى الامبسلين تظهر البكتريا عددا من اليات المقاومة للمضادات الحيوية بعد انتقال جينات المقاومة اليها مثل ال مجاميع macrolides ,rifamicn و novobiocin .)(Kapoor *et al*., 2017)(

لقد زاد الاهتمام بالأحياء الدقيقة (الميكروبات) في الأغذية لارتباطها الوثيق بصحة الانسان وسلامته من حيث التلوث فضلا عن الخسائر الاقتصادية التي تسببها الأحياء الدقيقة نتيجة افسادها للأغذية وإتلافها، تعتبر البكتيريا من مؤشرات عملية تلوث الأغذية بصفة عامة، حيث

تحتوي الأغذية من مصادرها الطبيعية على بعض البكتيريا، كما أنها تتعرض لتلوث أثناء التداول، فيزداد محتواها الميكروبي (البكتيريا) وتنمو وتتكاثر فيها. والغذاء بما فيه اللحوم يعمل كبيئة لهذه الميكروبات فتسبب تحلله وفساده، كما تنتقل الميكروبات الممرضة عن طريقه فتسبب أمراضا للمستهلك، وأهم مظاهر الفساد للحوم وخاصة الدجاج هي ظهور لزوجة على السطح الخارجي كما تظهر غالبا نكهة حامضية في تجويف الأحشاء الداخلية وهو ما يسمى فساد الأحشاء وخاصة عندما تترك الأحشاء في الداخل، والبكتيريا هي المسؤولة عن هذا الفساد، ويحتوي الدجاج على عد قليل من الميكروبات التي لا تستطيع النمو بوجه عام عند درجات الحرارة المنخفضة، وهي التي تسبب الفساد عند منطقة السطح (الجلد) حيث تأتي من ماء الغسيل و التداول. الـمـقدمـة لقد زاد الاهتمام بالأحياء الدقيقة (الميكروبات) في الأغذية لارتباطها الوثيق بصحة الانسان وسلامته من حيث التلوث فضلا عن الخسائر الاقتصادية التي تسببها الأحياء الدقيقة نتيجة افسادها للأغذية وإتلافها، تعتبر البكتيريا من مؤشرات عملية تلوث الأغذية بصفة عامة، حيث تحتوي الأغذية من مصادرها الطبيعية على بعض البكتيريا، كما أنها تتعرض لتلوث أثناء التداول، فيزداد محتواها الميكروبي (البكتيريا) وتنمو وتتكاثر فيها. والغذاء بما فيه اللحوم يعمل كبيئة لهذه الميكروبات فتسبب تحلله وفساده، كما تنتقل الميكروبات الممرضة عن طريقه فتسبب أمراضا للمستهلك، وأهم مظاهر الفساد للحوم وخاصة الدجاج هي ظهور لزوجة على السطح الخارجي كما تظهر غالبا نكهة حامضية في تجويف الأحشاء الداخلية وهو ما يسمى فساد الأحشاء وخاصة عندما تترك الأحشاء في الداخل، والبكتيريا هي المسؤولة عن هذا الفساد، ويحتوي الدجاج على عد قليل من الميكروبات التي لا تستطيع النمو بوجه عام عند درجات الحرارة المنخفضة، وهي التي تسبب الفساد عند منطقة السطح (الجلد) حيث تأتي من ماء الغسيل و التداول. **(زنكنة,**2016و2013 ,Sahu ,2000 ,Hargis*etal*.)

المصادر

1.الخياط، فاديه عبد المحسن محمد علي .(2006) .الاهمية الصحية لجراثيم الاشريشيا 0157المعزولة من لحوم الابقار المفرومة ولحم الدجاج في مدينة H– القولونية7 بغداد .رسالة ماجستير .كلية الطب البيطري .جامعة بغداد.

4. زنكنة، بشرى سعدي رسول. (2006). تأثير الأشهر وأسلوب العرض والتسويق في التركيب الكيميائي والبكترولوجي لأفخاذ الدجاج المجمدة والمسوق بمدينة بغداد.

(4): 85-92.مجلة العلوم الزراعية العراقية. 3

References

A.O.A.C. 2005. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Microbiological Food Testing. Ch., 17. and Meat and Meat Products, Ch., 39. USA

Abrgrall, B., and J. J. Cleret. 1990. Evaluation of Petrifilm@> SM for the enumeration of aerobic flora of fish. J. Food Prot. 53:213-216.

AOAC. 1986. Aerobic plate count in foods hydrophobic gridmembrane filter method first action. J. Assn. Off. Anal. Chern. 69:376--382.

Ayhan, K., 2000. [Microorganisms in Found Food, Food Microbiology and Applications]. 2nd Edn., Sim Printing Ltd., Ankara, pp: 37-80, (In Trukish).

Bauer AW, Perry DM, Kirby WM (August 1959). "Single-disk antibiotic-sensitivity testing of staphylococci: An analysis of technique and results". Archives of Internal Medicine. 104 (2): 208–216. doi:10.1001/archinte.1959.00270080034004. PMID 13669774.

Brown DF, Kothari D (October 1975). "Comparison of antibiotic discs from different sources". Journal of Clinical Pathology. 28 (10): 779–83. doi:10.1136/jcp.28.10.779. PMC 475859. PMID 1214010.

Devatkal, S.; Mendiratta, S. K.; Kondaia, N.; Sharma, M. C. and Anjaneyulu, A. S. R. (2004). Physicochemical functional and microbiological quality of buffalo liver. Meat Sci. 68(1): 79-86.

EUCAST (January 2021). "Antimicrobial susceptibility testing: EUCAST disk diffusion method" (PDF). www.eucast.org. EUCAST. Retrieved March 16, 2021.

FSAI. (2001). Food Safety Authority of Irland. Guideliness for the Interpretation of Results of Microbiological Analysis of Some

Guidelines for Microbiological Safety of Food. Ottawa. Canada.

Hargis, B.M., D.J. Caldwell and J.A. Byrd, 2000. Microbiological Pathogens: Live Poultry Considerations. In: Poultry Meat Processing, Sams, A.R. (Ed.). CRC Press, New York, ISBN-13: 9781420042177, pp: 121-136

HPFB. (2003). Health Products and Food Branch. Standards andMead, G.C., 2000. Fresh and Further-Processed Poultry. In: The Microbiological Safety and Quality of Food, Lund, B.M., T.C. Baird-Parker and G.W. Gould (Eds.). Vol. 1, Chapter 20, Aspen Publication, Gaithersburg, MD., USA., ISBN-13: 9780834213234, pp: 445-471.

p:1-11.

Ready– To- Eat Foods Sampled at Point of Sale. Dublin.

Sahu, BK (2013). Antimicrobial properties of aerial part of Sesbania grandiflora (Linn.) (Semester project). The Pharmaceutical College Barpali, India.