

## دراسة مقارنة بين بكتريا الاشريشيا القولونية *E-coli O157:H7* وبكتريا القولون *Coliform bacteria* المعزولة من الجبن الطري المحلي.

رغد علي عبد الجليل

فرع الصحة العامة-كلية الطب البيطري-جامعة بغداد - العراق

### الخلاصة

أستهدفت هذه الدراسة عزل وتشخيص وعد جراثيم الأشريشيا القولونية *E.coli O157:H7* وبكتريا القولون *coliform bacteria* من الجبن الطري المحلي، حيث تم فحص 50 عينة من الجبن الطري، تم جمعها من الأسواق المحلية لـ 5 مناطق مختلفة من مدينة بغداد وهي الدورة، الكاظمية، الكرادة، العامرية، الغزالية وواقع 10 عينات لكل منطقة من هذه المناطق . وبينت النتائج ان أعلى معدلات لاعداد بكتريا الأشريشيا القولونية *E.coli O157:H7* وبكتريا القولون *Coliform bacteria* لمنطقة الدورة وهي  $73.64 \times 10^5$  و  $956.8 \times 10^5$  وحدة تكوين المستعمرة/ مل على التوالي، أما أقل معدلات فهو لمنطقة الغزالية حيث كان  $3.12 \times 10^5$  و  $43.7 \times 10^5$  حدة تكوين المستعمرة /مل على التوالي، وأظهرت نتائج التحليل الأحصائي وجود فروق معنوية مهمة أحصائياً وعلى مستوى معنوية ( $p < 0.05$ ) بين بكتريا الاشريشيا القولونية *E.coli O157:H7* وبكتريا القولون *coliform bacteria* بين منطقة الدورة عن باقي المناطق المشمولة بالدراسة وهي الكاظمية، الكرادة، العامرية، الغزالية بينما لم يكن هنالك فروق معنوية مهمة أحصائياً وعلى مستوى معنوية  $p < 0.05$  بين نوعي البكتريا ضمن كل منطقة.

ونستنتج من هذه الدراسة أن أعلى معدل لتلوث الجبن الطري المحلي ببكتريا الاشريشيا القولونية *E.coli O157:H7* كان لمنطقة الدورة وقد يعود سبب التلوث العالي هو الطرق غير الصحية المتبعة في عملية جمع الحليب المستخدم لغرض تصنيع الجبن أو خلال عملية التصنيع نفسها.

## **A comparative study between *E.Coli O157:H7* and *Coliform bacteria* isolated from locally soft cheese**

**Raghad A. Abd Al-Jaleel**

Dept. of Public Health -Collage of Vet. Med.-Baghdad University -Iraq

### **Summary**

The main objective of this study was to isolate, identify and enumerate the *E.coli O157:H7* bacteria and *coliform bacteria* from locally manufactured soft cheese.

A total of 50 samples of local soft cheese were collected and examined from local markets of (5) different areas of Baghdad city which was { Al-dora, Al-Amria, Al-Kadmia, Al-Karada, Al-Kazalia} 10 samples for each area.

The results showed that the highest average counts of *E.coli O157:H7* and *coliform bacteria* was in Al-Dora  $73.63 \times 10^5$  and  $956 \times 10^5$  cfu/ml while the lowest average counts in Al-Kazalia  $3.12 \times 10^5$  and  $43.7 \times 10^5$  cfu/ml .

The result of the statistical analysis showed that there were a significant differences ( $p < 0.05$ ) between *E.coli O157:H7* and *coliform bacteria* between Al-Dora and the other areas in this study which was {Al-Kadmmea, Al-Karada, Al-Ammrea, Al-Kazalia} but there were no significant differences ( $p < 0.05$ ) between the tow kinds of bacteria in each area.

It was conducted that the higher average of pollution for locally soft cheese with *E.coli O157:H7* was in Al-Dora , the reason of this higher pollution may be due to un healthy condition during milk collection used for milk processing or during the processing itself.

### المقدمة

تعد بكتيريا الأشريشيا القولونية *E.coli O157:H7* من المسببات المرضية للتسمم الغذائي والمسؤولة عن أحداث الكثير من حالات الإصابة بالاسهال الدموي (bloody diarrhea) الذي يؤدي الى مضاعفات خطيرة متمثلة بالتهاب القولون النزفي (HC) (hemorrhagic colitis) ومتلازمة حال الدم اليوريمي (hemolytic uremic) syndrym (1). حيث تم تشخيصها لأول مرة كجرثومة ممرضة تصيب الإنسان عام 1982 من خلال أنتقالها للإنسان عن طريق الطعام والشراب الملوث بها (2). أن نوعية الجبن الطري المصنع محليا والمعروف (بجبن العرب) من الصعب السيطرة عليه بسبب التنوع الواسع في نوعية وأعداد الأحياء المجهرية المتواجدة في الحليب المنتج في الظروف المحلية والداخل في تصنيع الجبن المحلي (3). حيث ان تلوث الجبن الطري بهذه البكتريا قد ينتج بسبب الظروف البيئية الملوثة التي يمر بها أو من خلال عملية الحصول على الحليب وعملية البسترة غير الصحيحة للحليب الخام أو بعد عملية البسترة عن طريق نقل الحليب المبستر أو التعامل معه أو من خلال عملية تصنيع الجبن الطري (4). لهذا ازدادت البحوث والتقارير الصادرة عن العديد من المنظمات العالمية التي أشارت الى زيادة أعداد الأصابات الناتجة من جرثومة أشريشيا القولون *E.coli O157:H7* في أنحاء العالم جميعا (5).

لذلك كان الهدف من هذا البحث إجراء مقارنة بين أعداد بكتريا الأشريشيا القولونية *E.coli O157:H7* وبكتريا القولون *Coliform bacteria* بعد أن تم عزلها من عينات من الجبن الطري المحلي لمجموعة من مناطق بغداد.

### المواد وطرائق العمل

تضمنت هذه الدراسة جمع 50 عينة من الجبن الطري المحلي من 5 مناطق مختلفة لمدينة بغداد وهي (الدورة، الكاظمية، الكرادة، العامرية، الغزالية) وبواقع 10 عينات لكل منطقة وللفترة من آذار لغاية أيار 2007.

تم نقل عينات الجبن المحلي الطري بواسطة أكياس البولي أثيلين المعقمة الى المختبر لاجراء الفحوصات الجرثومية عليها، حيث تم تحضير محلول Sodium citrite (2%) وتم تعقيمه بجهاز الموصدة بدرجة حراره  $121^{\circ}\text{C}$  لمدة 15 دقيقة ثم اضيف 90 مل منه لكل عينة جبن وزن (10)غم وتم ادخالها الى جهاز ال Stomacher, وحضر المحلول الفسلجي (Normal saline) و الاوساط الزرعية المستخدمة في تشخيص وعد جراثيم الأشريشيا القولونية *E.coli O157:H7* وجراثيم القولون *Coliform bacteria* وفق تعليمات الشركة المجهزة (Oxoid/England) وعقمت بالموصدة بدرجة حرارة  $121^{\circ}\text{C}$  لمدة 15 دقيقة هي أوساط

(Eosin Methylene Blue EMB) ووسط (Sorbitol Macconkey AgarSMAC) ثم اضيف Cefixime-tellurite وحسب تعليمات الشركة المنتجة الى وسط (SMAC) وصبت الاطباق وحفظت في الثلاجة لحين الزرع. تم إجراء التخافيف اللازمة لعينات الجبن المحلي الطري وزرعت الاطباق بطريقة Surface inoculation وتم حفظها عند درجة حرارة 37 م ولمدة 24 ساعة وفي اليوم التالي تم التحري عن نمو المستعمرات في الاطباق. حيث ظهرت جراثيم *E.coli O157:H7* على وسط SMAC بشكل مستعمرات عديمة اللون الى شبه رمادية مع مركز دخاني لعدم قدرتها على تخمير سكر السوربيتول وتم الاعتماد على الاختبار المصلي لتلازن اللاتكس السريع حيث استخدمت عده خاصة (Kit) لتشخيص النمط المصلي O157:H7 هذا النمط المصلي وحسب تعليمات الشركة المنتجة (Oxoid/England) مع الاختبارات الكيموحياتية والتي شملت اختبار الأندول Indol test, اختبار الحركة Motility test, اختبار سيانيد البوتاسيوم KCN test وحسب الطرائق الموضوعية من قبل (6) وتم عد المستعمرات أما جراثيم القولون *Coliform bacteria* فتم تشخيصها وعدها على وسط EMB.

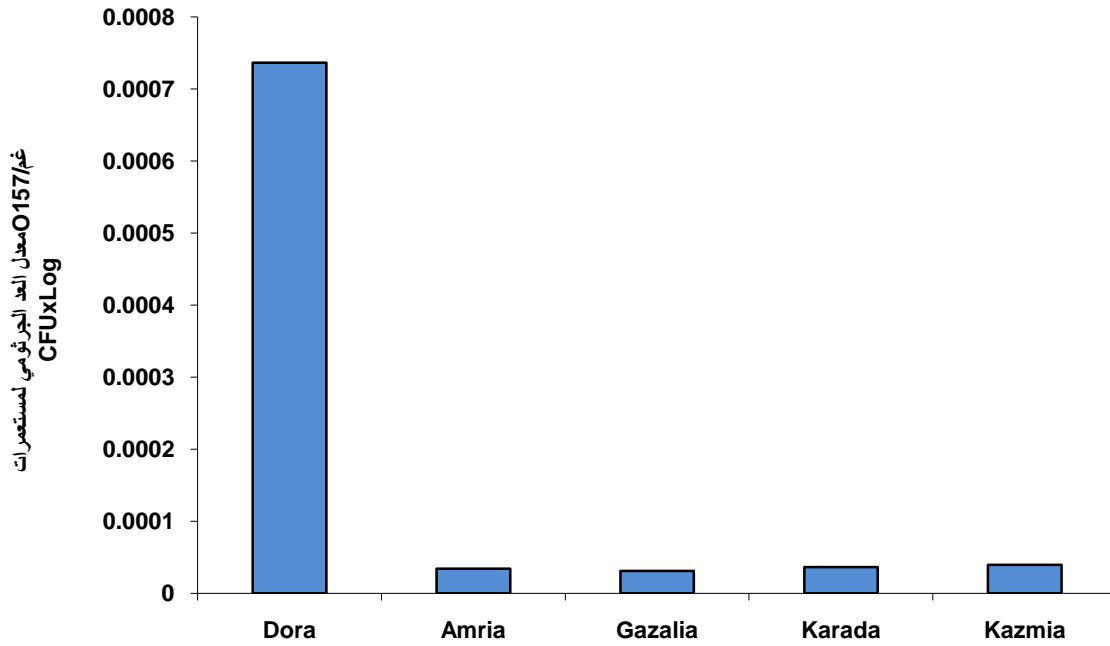
### النتائج

توضح النتائج المدونة في الجدول (جدول 1) معدلات أعداد كل من جراثيم الاشريشيا القولونية *E.coli O157:H7* وجراثيم القولون *coliform bacteria* في 5 مناطق مختلفة من مدينة بغداد وهي مناطق الدورة، الكاظمية، الكرادة، العامرية، الغزالية حيث سجلت منطقة الدورة أعلى معدلات لاعداد الاشريشيا القولونية *E.coli O157:H7* وبكتريا القولون *coliform bacteria* حيث كانت  $73.63 \times 10^5$  و  $956.8 \times 10^5$  وحدة تكوين المستعمرة/ مل على التوالي، أما أقل معدلات لاعداد هذه البكتريا فكانت لمنطقة الغزالية إذ بلغت  $3.12 \times 10^5$  و  $43.7 \times 10^5$  وحدة تكوين مستعمرة /مل على التوالي، ولوحظ وجود فرق معنوي مهم إحصائياً وعلى مستوى معنوية  $p < 0.05$  لمنطقة الدورة مقارنة بباقي المناطق، بينما لم يكن هنالك فرق معنوي مهم إحصائياً وعلى مستوى معنوية  $p < 0.05$  بين كل من بكتريا *E.coli O157:H7* وبين *coliform bacteria* لكل منطقة من المناطق، وكانت نتائج الاختبارات الكيموحياتية موجبة لكل من اختبار الأندول واختبار الحركة أما اختبار سيانيد البوتاسيوم أظهر نتيجة سالبة وهذا يؤكد أن النمط المعزول هو *O157:H7*.

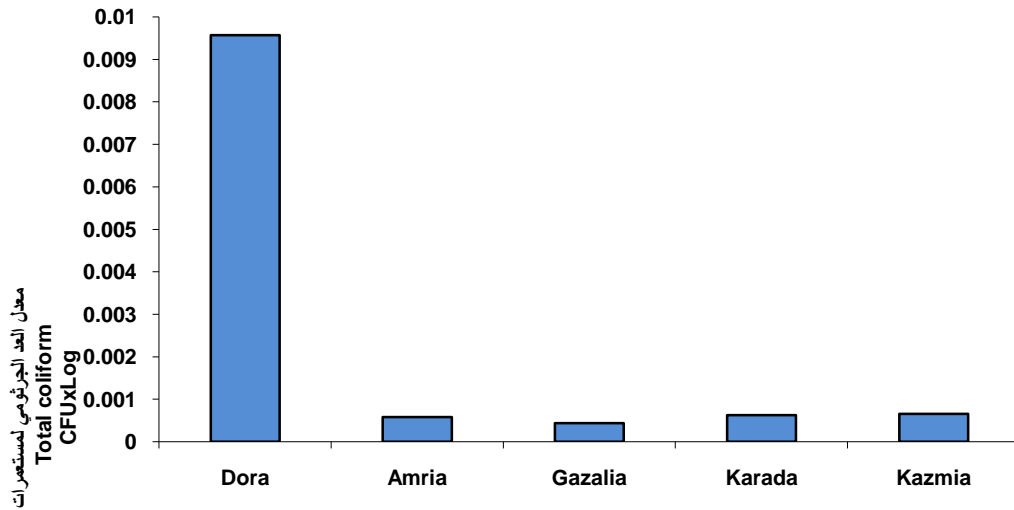
جدول (1): معدلات أعداد جراثيم الاشريشيا القولونية *E.coli O157:H7* وجراثيم القولون *coliform bacteria* في خمس مناطق مختلفة من مدينة بغداد.

| درجة<br>المعنوية | معدل أعداد جراثيم <i>TOTAL ECOLIO157:H7</i> و<br><i>TOTAL COLIFORM</i> |                          | عدد<br>العينات | الموقع        |
|------------------|--|--------------------------|----------------|---------------|
|                  | <i>T. coliform</i>   | <i>T. E.coliO157:H7</i>  |                |               |
| 0.036            | $10^5 \times 956.8$<br>A   | $10^5 \times 73.63$<br>a | 10             | الدورة        |
| 0.059            | $10^5 \times 65.87$<br>B   | $10^5 \times 3.93$<br>b  | 10             | الكاظمية      |
| 0.043            | $10^5 \times 62.7$<br>B  | $10^5 \times 3.66$<br>b  | 10             | الكرادة       |
| 0.019            | $10^5 \times 58.65$<br>B   | $10^5 \times 3.43$<br>b  | 10             | العامرية      |
| 0.011            | $10^5 \times 43.7$<br>B  | $10^5 \times 3.12$<br>b  | 10             | الغزالية      |
| 0.029            | 0.001  | 0.002                    |                | درجة المعنوية |

- الحروف المتشابهة في العمود الواحد يعني عدم وجود فروق معنوية بين المناطق عند مستوى معنوية ( $P < 0.05$ ) حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.
- درجة المعنوية إذا كانت أقل من (0.05) فإن ذلك يعني وجود فروق معنوية حسب اختبار F (عموديا و أفقيا).



شكل (1) :معدل أعداد بكتريا E-coliO157:H7 في مواقع متعددة من مدينة بغداد



شكل ( 2 ) :معدل أعداد بكتريا *Total coliform* في مواقع متعددة من مدينة بغداد

### المناقشة

أظهرت النتائج وجود ارتفاع في معدل أعداد بكتريا *E.coli* O157:H7 وبكتريا *coliform bacteria* وقد يعود ذلك للظروف البيئية الملوثة والشروط غير الصحية التي يمر بها الجبن الطري المحلي ابتداءً من عملية الحصول على الحليب اللازم لعملية صنع الجبن حيث يحدث التلوث عن طريق الحلب اليدوي أو جمع الحليب ونقله (7 , 10) ، أو قد ينتج عن طريق تلوث يحدث أثناء عملية التصنيع وعدم الالتزام بالشروط الصحية الضرورية لعملية التصنيع أو من خلال عملية الخزن أو العرض غير السليم والصحي للجبن الطري في الأسواق المحلية (8). حيث أن عزل بكتريا الاشريشيا القولونية *E.coli* O157:H7 من الجبن الطري المحلي جاءت مطابقة لدراسة أجريت عام 2004 في أحد المزارع الفرنسية حيث تم أخذ 45 عينة من الجبن الطري المصنع من حليب الماعز سجلت 40 عينة موجبة ملوثة بهذه البكتريا (9) ، كما وتطابقت نتائج الدراسة مع (10) من وجود علاقة ارتباط وثيقة بين ارتفاع معدلات اعداد كل من جراثيم القولون مع نسبة عزل اشريشيا القولون *E.coli* O157:H7.

### المصادر

- 1- Mead,P.S. and Griffin ,P.M. (1998 ).*Escherichia coli* O157:H7, lancet 352 :1207-1212.
- 2-Law , D.(2000).Virulence factors of *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin . producing *E.coli*. Journal of Applied .Microbiology . 88 :729 – 745 .
- 3-Marek,P.,Nair,MK.,Hoagland,T.and Venkitanarayanan ,K.(2004) Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* O157:H7 in pasteurized and unpasteurized cheddar cheese whey.International journal of food Microbiology ,Jul.1;94(1):1-7.
- 4- Reitsma ,C.J .and Henning ,D.R.(1996).Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> during the manufacture and curing of cheddar cheese .Journal of food production 59,460-464.
- 5-Mead,P.S.;Slutsker,L.;Dietz,V.;and Shapiro,I.(1999).Food related illness and death in the united states .Emerg. Infect.Dis.5:607-625
- 6-Crichton,P.B.(1996).Enterobacteriaceae : *Escherichia coli* O157:H7.In ackie and McCartney Practical Medical Microbiology ,14<sup>th</sup>ed .PP.361 ,Collee, J.G.;Fraser ,A.G. ;Marimon ,B.P. ;and Simmons ,A. eds. Churchill Livingstone, USA.
- 7-Kosikowski, F.V. and Mistry, V.V.(1997) Cheese and fermented milk food . Vol. II, Procedures and analysis .3<sup>rd</sup> edn. Brooktondale, NY:F.V. Kosikowski and Associates .

- 8- Spano, G.;Goffredo,E.;Beneduce,L.;Tarantino,D.;Dupuy,A. and Massa , S. (2003) . Fate of Escherichia coli O<sub>157</sub>: H<sub>7</sub> during the manufacture of Mozzarella cheese .Applied microbiology,36,73-76.
- 9-Espie, E.; Vaillant ,V.; Mariani, P.; Grimont, F.; Maryin, R.Devalk, H.and Vernozzy ,C. (2006) . Escherichia coli O<sub>157</sub> outbreak associated with fresh un pasteurized goats cheese. Epidemiol.Infect ., 134,143-146.
- 10- العزاوي , زينة صائب خضير . 2006. تواجد جرثومة اشريشيا القولون المعوية النزفية Enterohaemorrhagic *E .coli* O157: H7 في الحليب ومصادر تلوثه .رسالة ماجستير.كلية الطب البيطري جامعة بغداد.