المحتوى البكتيري لألواح التقطيع الخشبية و البلاستيكية ببعض المطابخ في مدينة مصراتة

* عادل عمر عاشور[1]،أسماء عبداللطيف عباس[2]، مهند محمد الوشيش[3]، فاطمة السريتي[4]، فاطمة مليطان[5]
[1، 4 ، 5] قسم الأحياء،شعبة الأحياء الدقيقة، كلية العلوم، جامعة مصراتة، مصراتة، ليبيا
[2،3] قسم الأحياء الدقيقة، كلية الصيدلة، جامعة مصراتة، مصراتة، ليبيا
* Email: a.ashour@sci.misuratau.edu.ly

تاريخ التقديم: 8.6.2020, تاريخ القبول 7.7.2020 تاريخ النشر الكترونى فى 1.8.2020
https://www.misuratau.edu.ly/journal/sci/upload/file/R-1261-ISSUE-10%20PAGES%2029-34.pdf

الملخص

تضمنت الدراسة الحالية عزل وتشخيص مجموعة من الأنواع البكتيرية المتواجدة على ألواح التقطيع الخشبية و البلاستيكية المستعملة في عينات من المطابخ المنزلية بمدينة مصراتة - ليبيا، تم الحصول على 92 عزلة بكتيرية تنتمي الى تسعة انواع وثمانية اجناس بكتيرية من 26 لوحة قبل البدء في عملية تقطيع الخضروت واللحوم داحل هذه المطابخ. تمثلت الانواع البكتيرية المعزولة في الاتي: *Escherichia coli* ، *Klebsiella* sp. ، *Enterobacter* ،*Staphylococci aureus* ، *Staphylococci epidermides* ، *Xenorhabdus bovienii*، *Streptococcus* sp.، *Pseudomonas* sp. و *Serratia* sp.. اظهرت النتائج ان الجنس *Streptococcus* كان الاكثر تواجدا في العينات قبل البدء في عملية التقطيع وبنسبة تواجد 23.9% يليه الجنس *Staph. aureus* وبنسبة 21.7 % بالإضافة إلى المكورات الموجبة فقد تم عزل العديد من أنواع البكتيريا المعوية الاخرى في هذه الدراسة وبدرجة اقل حيث تراوحت النسبة ما بين 3-11% حسب النوع البكتيري. من الملفت للنظر في هذه الدراسة أن الغسل الاعتيادي بالماء و الصابون فقط أو باستخدام المطهرات الكيماوية كالكلوركس لم يكن قادراً على القضاء على البكتيريا بشكل كامل وانما ادى الى حدوث انخفاضاً طفيفاً في الاعداد البكتيرية المتواجدة. اوضحت النتائج ايضا عدم وجود فروق معنوية واضحة بين العصيات السالبة لصبغة جرام و المكورات الموجبة من حيث مقدرتها على مقاومة المطهرات الكيماوية المستخدمة في الدراسة الحالية. عند المقارنة بين لوح التقطيع الخشبي و البلاستيكي نلاحظ أن العدد الكلي للبكتيريا المعزولة من اللوح المصنوع من الخشب قبل البدء بعملية التقطيع كان أكبر من عدد البكتيريا المعزولة من ألواح البلاستيك وبفارق معنوي (P-value = 0.26)، وعند مقارنة عدد البكتيريا المتواجدة في كلا النوعين نلاحظ وجود عدد أكبر من البكتيريا مقارنة بالشاهد. من الغريب أن عينات الشاهد ايضا احتوت على نمو بكتيري، حيث احتوت ألواح الخشب على عزلات من *E.coli, Serratia, Enterobacter, Pseudomonas* وعزلت *E.coli, Enterobacter, Pseudomonas* من ألواح البلاستيك.

عند دراسة مدى اختلاف تأثير المنظفات على حسب نوع اللوح تبين أن الميكروبات بألواح الخشب كانت أكثر مقاومة للمنظفات حيث أن عدد العزلات لم يختلف في معظم الألواح الخشبية بعد تعرضها لهذه المنظفات على عكس ألواح البلاستيك. عند مقارنة تأثير نوعين من هيبوكلوريت الصوديوم بنوعين من المضادات الحيوية المتواجدة في المعمل (Azithromycin : AZM) و (Piperacillin: PRL) على الأنواع البكتيرية المعزولة كان هيبوكلوريت الصوديم بنوعيه فعالاً بنسبة أعلى من المضادات الحيوية على عزلات *Streptococcus* spp. حيث سجل أعلي متوسط قطر لمنطقة التثبيط 41 مم و أبدت عزلات *Staphylococcus* spp. تأثيراً مغايراً بعض الشيء حيث كانت أقل تأثراً بهيبوكلوريت الصوديوم وسجل أعلى متوسط لمنطقة الثبيط 42 مم مع AZM . أما بالنسبة لعزلات البكتريا السالبة لصبغة جرام فكان تأثير المضادات الحيوية أعلى من تأثير هيبوكلوريت الصوديوم لجميع الأنواع المعزولة ماعدا *Pseudomonas* spp. و التي كانت حساسة لهيبوكلوريت الصوديوم حيث كان متوسط قطر التثبيط 35 مم .

الكلمات المفتاحية: لوحة التقطيع، التلوث الميكروبي، المطابخ المنزلية، المطهرات الكيماوية، المضادات الحيوية.

المقدمة

تعتبر لوحات التقطيع بأنواعها المختلفة سواءاً كانت مصنوعة من البلاستيك أو الخشب أو الزجاج أحد أهم الأدوات المستخدمة بشكل واسع عالميا في المطاعم و المطابخ المنزلية لتقطيع اللحوم بأنواعها و الخضروات والفواكه وغيرها، ولذلك يعتبر الاهتمام بنظافتها أمراً أساسياً في نظافة المطبخ. فتجهيز الطعام غالباً ما يتم باستخدام لوح التقطيع وقد نتعرض لخطر انتشار الميكروبات الضارة كالبكتيريا والفطريات إذا لم يتم تنظيفها بشكل جيد ومنتظم والذي يضمن الحفاظ على لوح التقطيع خالياً من الجراثيم لأقصى درجة ممكنة، من الملاحظ أنّ هناك قلّة وعي عندما يتعلّق الأمر بتفادي التسمّم الغذائي الذي لا يحصل فقط عند تناول أطعمة مُنتهية الصلاحية، أو عدم حفظ هذه الأغذية بطريقة جيّدة، أو إهمال طبخها على درجة حرارة مناسبة، إنما أيضاً هناك عوامل عديدة تحفّز علي حدوث هذه المشكلة الخطرة، من بينها سوء التعامل مع ألواح تقطيع الطعام حيث أن أيّ أداة تلتمس بالطعام يمكن أن تكون مصدراً للتلوّث وبالتالي إحداث أمراض منقولة بالأغذية خصوصاً أن هذه الأداة قد تساعد على انتقال الميكروبات من صنف إلى آخر. فعلى سبيل المثال عند استخدام اللوح لتقطيع الدجاج النيّئ مثلاً والمعروف باحتوائه على نسبه عالية من السلمونيلا (*Salmonella*)، ثمّ تقطيع الخضروات دون الغسل الجيد لهذا اللوح فإن حرارة طبخها لا تكفي لقتل السلمونيلا مما قد يهدّد بالتسمّم. كذلك عند تقطيع جبنة بيضاء على لوح سبق أن استُخدم للدجاج النيّئ، فذلك يؤدي إلى دخول بكتيريا سامّة إلى الجسم خصوصاً أنّ الجبنة لا يُعاد طبخها. هذه البكتيريا قد تسبب مضاعفات لبعض أعضاء الجسم كالكِلى، والبصر، والجهاز العصبي بسبب فيروس معيّن أو بكتيريا موجودة في الأكل، وصولاً إلى الوفاة خصوصاً بالنسبة إلى الأطفال، والحوامل، وكبار السنّ، والمرضى الذين يعانون من مشاكل مناعيه.

كشفت دراسة أجريت على النظافة المنزلية في عام 2009 أن المطابخ أكثر تلوثاً بالبكتيريا من دورات المياه. وأظهرت النسخة الدولية من الدراسة و التي أجريت في تسعة بلدان (20 منزل من كل بلد هي :السعودية، مصر، أستراليا، ألمانيا، الهند، ماليزيا، جنوب إفريقيا، المملكة المتحدة، الولايات المتحدة أن قطع المسح المستخدمة في المطابخ و ألواح التقطيع هي من أكثر الأدوات المنزلية تلوثاً[1].

يساهم سوء التعامل في المطبخ مع الأدوات و المعدات وكذلك الاهمال أو التساهل في عمليات تنظيفها و تعقيمها في ظهور عدد كبير من الأمراض التي تنتقل عن طريق الأغذية، حيث أوضحت دراسة أجريت لتقييم إمكانية نقل وتكاثر ال *Vibrio parahaemolyticus* من بعض أنواع الرخويات البحرية إلى الطعام الجاهز للأكل كالخس عن طريق الأسطح الملامسة للغذاء كالأيدي وأدوات المطبخ أن أدوات التقطيع و أيدي العاملين بالمطابخ تعتبر المصدر الرئيسي لانتقال مثل هذه الملوثات للغذاء

[2]،و في تَقرير لمنظمة الصحة العالميَّة لعام 2003 ورد أنَّ نحو 40% من حالات تفشِّي التسمُّم الغذائي التي تمَّ التبليغ عنها في منطقة الدُّول الأوروبية التابعة للأمَم المتَّحدة كانت تقع في المنازل الخاصَّة لأصحابها و هذا يدلُّ على انتشار الإهمال وقلة الوعي بآليات التخلص من الميكروبات عمليًّا في المنازل، وعلى الرغم من عدم تواجد أي احصائيات دقيقة على مدى انتشار الميكروبات في مطابخنا إلا أن تلوث الغذاء و ما يصحبه من أعراض بسبب تناول هذا الغذاء الملوث أمر لا يمكن انكاره أو التغاضي عنه و هو في ازدياد بسبب نقص الوعي الصحي بآلية التخلص من هذه الميكروبات و مدى خطورتها وايضا انشغال ربات المنازل على الاشراف و الرقابة على تنظيف المطابخ والادوات المستخدمة في الطهي بشكل دوري ومستمر[3].يشير مصطلح تلوث الغذاء إلى احتواء الطعام أو الماء على ما يجعله غير صالح للاستهلاك الأدمي أو الحيواني، سواءاً كانت كائنات دقيقة ضارة، أو مواد كيماوية سامة أو غذاء ملوث بالمواد المشعة القاتلة، و في أسوأ الظروف تؤدي هذه الميكروبات إلى حدوث التسمم الغذائي وتظهر الأعراض على المصاب خلال فترة زمنية تتراوح من بضع ساعات إلى أيام وقد تمتد لأسابيع. والتسمم الغذائي هو المصطلح الشائع أما من الناحية العلمية فيطلق على مثل هذه الحالات مصطلح الأمراض المنقولة عبر الأغذية، وحسب تعريف منظمة الصحة العالمية فهي الأمراض الناتجة إما عن تناول غذاء يحتوى على ميكروبات ضارة ويطلق على هذا النوع الأمراض المنقولة عبر الأغذية والناتجة عن عدوى (food-born disease) أو عن طريق تناول طعام ملوث بالسموم (food-borne intoxication) كتناول بعض الأحياء البحرية والنباتات المفرزة للسموم كالقشريات السامة، أو أن يتم إفرازها عن طريق الميكروب نفسه أو نتيجة التلوث بسموم أخرى (كيميائية أو طبيعية) كتناول أنسجة نباتية تحتوى على السموم مثل تناول الفطريات السامه[4،5]،و يعرف التسمم الغذائي أيضًا باسم المرض المنقول بالغذاء، وهو مرض يسببه تناول الطعام الملوث حيث تعد الجراثيم المعدية بما في ذلك البكتيريا، الفيروسات، الطفيليات و الفطريات، أو سمومها السبب الأكثر شيوعًا للإصابة بالتسمم الغذائي و قد يحدث تلوث الطعام في أي مرحلة من مراحل إنتاجه مثل: الزراعة أو الحصاد أو التصنيع أو التخزين أو الشحن أو التحضير[4،5]. تكمن الخطورة في انتقال الميكروبات إلى الطعام و تكاثرها بداخله عندما تكون الظُّروف ملائِمة لذلك، مثل: الحرارة والرُّطوبة و الرقم الهيدروجيني (pH) وغيرها، وحسب منظَّمة الصحة العالميَّة فإنَّ هناك تزايدًا ملحوظاً في عدد حالات التسمم الغذائي في السنوات العشر الأخيرة.

مسببات التلوث البكتيري في المطابخ:

يعتبر التلوث من المشاكل الكبيرة التي يواجهها الإنسان في الوقت الحالي حيث لا يمر شهر إلا و توجد حالات تسمم في أحد المطاعم بسبب التلوث. و مما يزيد المشكلة تعقيداً أن للإنسان نفسه دوراً كبيراً في زيادة خطورتها من خلال عدم اهتمامه بقواعد النظافة اليومية و سوء التعامل مع المواد الغذائية المختلفة. و يعتبر هذا النوع من التلوث من أكثر أنواع التلوث انتشاراً. و يحدث هذا النوع من التلوث الغذائي عن طريق الأحياء الدقيقة والتي عادة ما توجد في البيئة المحيطة بالمادة الغذائية داخل المطاعم أو المطابخ. تحدث الإصابة بالمرض عن طريق تناول غذاء يحتوي على أعداد كبيرة من الميكروبات وعندما تصل هذه الميكروبات إلى الأمعاء الدقيقة للإنسان فإنها تتكاثر وتنتج سموم وبالتالي تظهر أعراض المرض. و تختلف حدة الاصابة تبعاً لنوع الملوث حيث أن كل نوع من البكتيريا ينمو على بيئة غذائية معينة. وبما أن لوحة التقطيع تستخدم بشكل واسع في المطبخ لأغلب أنواع الأغذية فإنها تعتبر وسيلة لنقل هذه البكتيريا من الغذاء إلى الانسان أو من نوع غذائي إلى آخر. ومن أهم الأنواع البكتيرية التي يمكن أن تعزل بشكل عام من لوحة التقطيع بالمطبخ ما يلي :

المكورات العنقودية (*Staphylococci*): وهي عبارة عن جراثيم لاهوائية اختيارية تظهر علي شكل مكورات مجتمعة مع بعضها البعض مثل عنقود العنب ولهذا سميت بالمكورات العنقودية و تقوم المكورات العنقودية الممرضة *staph. aureus* بتحليل كريات الدم الحمراء أما العنقوديات الغير ممرضه فهي غير محلله للدم[6].و تتواجد هذه البكتيريا بشكل طبيعي على الجلد والأنف في الناس الأصحاء والحيوانات بنسبة تصل إلى أكثر من 25 %. كما أنها تمتاز بقدرتها على إنتاج 7 أنواع من السموم المسئولة عن التسمم الغذائي. ومن الممكن أن تنتقل هذه البكتيريا إلى الانسان خلال العمال اللذين يتعاملون أو يلامسون الأغذية مباشرة أو عن طريق بعض الأغذية مثل الحليب والأجبان ومشتقاتها، حيث أن هذه البكتيريا لها القدرة على مقاومة الملوحة وتستطيع ان تنمو في الأغذية المملحة. و يعتبر سم هذه البكتيريا مقاوم للحرارة ولا يزول مع الطبخ، وأكثر الأغذية خطراً وعرضة لهذه البكتيريا وسمومها هي تلك الأغذية التي تحضر بواسطة اليد مباشرة بدون طبخ مثل شرائح اللحم، بعض أنواع الحلوى، بعض أنواع المعجنات والسندويتشات ومن هنا فإن لوح التقطيع يلعب دوراً أساسيا في نقل العدوى من نوع غذائي الى آخر إذا لم يتم تنظيفها بشكل جيد بين كل صنف غذائي و آخر أو استخدام لوحات مفصولة لكل صنف[7].

المكورات العقدية السبحية (*Streptococci*): هي عبارة عن جراثيم هوائية أو لا هوائية اختيارية تظهر مجتمعة علي هيئة عقود أو سبحة ولهذا سميت بالمكورات العقدية السبحية. تصنف هذه الجراثيم حسب مظهرها علي المزرعة الصلبة و حسب مقدرتها علي تحطيم كريات الدم الحمراء إلي المكورات العقدية المحللة للدم نوع ألفا (*Streptococci* Alpha hemolytic) حيث يمتاز هذا النوع بقدرته علي تحطيم جزء من كريات الدم الحمراء ، و المكورات العقدية المحللة للدم نوع بيتا (*Streptococci* Beta hemolytic)و الذي يمتاز بقدرته علي التحطيم الكامل لكريات الدم الحمراء، أما الصنف الثالث فهو المكورات العقدية الغير محلله للدم (*Streptococci* Gamma hemolytic) وتفتقد هذه البكتيريا إلى خاصية تحليل كريات الدم. تعيش المكورات السبحية في العديد من أعضاء الجسم و تحدث أمراضا كثيرة للإنسان فمنها ماهي مصحوبة بتقيح ومنها ماهي غير مصحوبة بتقيح مثل الدمامل والتهاب ذات الجنب و التهاب البلعوم و التهاب الغشاء الداخلي للقلب علاوة علي أنها تسبب الحمي القرمزية و بعض الأمراض الأخرى مثل التهاب الكلي الحاد [6].

البكتيريا المعوية (*Escherichia coli*): هي عبارة عن عصيات معويه سالبه لصبغة غرام لاهوائية اختياريه تعيش في الجهاز الهضمي السفلي وتسبب العديد من الالتهابات البولية والنزلات المعوية كما أنها تسبب تجرثم وتسمم الدم ويمكن أن تؤدي إلي التهاب السحايا عند الأطفال وكثيراً ما تؤدي إلي التهاب القنوات الصفراوية و التناسلية، وهناك سلالات منها تعتبر من أهم الأنواع المسببة للنزلات المعوية منها الاشريشيا القولونية (ETEC)والتي تسبب حالة شبيهه بإسهال مرض الكوليرا، والاشريشيا القولونية (EHEC) وتسبب ما يسمي بنزف القولون الوبائي، والاشريشيا القولونية (EPEC) التي تسبب نزلات معوية عند الأطفال الرضع وكذلك الاشريشيا القولونية (EIEC) و تسبب ما يشبه إسهال مرض الدسنتاريا [6] .

الكلابسيلا (*Klebsiella*): و هي عبارة عن عصيات معوية قصيرة سالبة غرام اختيارية لا هوائية و مغمدة بمحفظة تعيش هذه الجراثيم في الماء و التربة و تتواجد بشكل طبيعي لدى الإنسان في الجهاز الهضمي السفلي و الجهاز التنفسي. و لها أنواع عديده منها الكلابسيلا الرئوية (*Kl. Pneumonia*) و التي تتواجد في البلعوم و تحدث التهابات الرئتين[8].

السيدوموناس (*Pseudomonas*): و تعرف بعصيات التقيح أو الزائفة و هي عبارة عن جراثيم هوائية متحركة وبدون محفظة، تتواجد هذه الجراثيم في التربة والمياه الراكدة ومياه المجاري أما في الإنسان فإنها تتواجد في القناة الهضمية وعلي سطح الجلد والأغشية المخاطية [6،8].

السيراتيا (*Serretia*): ويعود هذا الجنس إلي عائلة البكتيريا المعوية ويحتوي علي نوع واحد وتكون البكتيريا التابعة لهذا الجنس عصوية سالبة لصبغة جرام هوائية و تمتاز بقدرتها على تحليل البروتين كما أنها محبة لدرجات الحرارة المعتدلة وتنتج بوجه عام صبغات حمراء اللون في الأوساط الزراعية علي بعض الأغذية وتنتشر بصورة واسعة في الطبيعة وخاصة في الماء والتربة والمواد النباتية والحيوانية المتحللة [6].

التلوث المتبادل أو الخلطي Cross contamination: ويعرف التلوث المتبادل بأنه انتقال المواد الضارة صحياً الى الغذاء حيث تنتقل الجراثيم من الطعام الخام كالخضروات والفواكه واللحوم طازجة وغيرها إلى الطعام المطبوخ أو الطعام الجاهز للأكل. و يقسم التلوث التبادلي للأغذية إلى نوعين، النوع الأول وهو التلوث التبادلي المباشر، الذي يحدث داخل الثلاجة حيث إن الغذاء الخام عند وضعه بالثلاجة يجب ألا يوضع فوق الغذاء الجاهز للأكل، حتى لا يؤدي إلى انتقال السوائل والعصائر من الغذاء الخام إلى الغذاء المطبوخ، وبالتالي يتلف، وهنا تكمن خطورة الإصابة بالتسمم، من خلال انتقال البكتيريا إلى الغذاء الجاهز للأكل أو المطبوخ وتناوله. أما النوع الثاني من التلوث فهو التلوث التبادلي الغير المباشر و يحدث عن طريق الشخص العامل في المطبخ، أو عن طريق الأدوات المستخدمة بالتحضير، أو عن طريق ألواح التقطيع. فعلى سبيل المثال تنتقل البكتريا من الدجاج الخام إلى الغذاء الجاهز للأكل مثل الخس والطماطم عندما نستخدم نفس لوح التقطيع من دون غسله أو تطهيره بشكل جيد بعد التغيير من غذاء إلى آخر وحيث أن هذه الأغذية لا تتعرض لمعاملة حرارية ستتمكن هذه الاحياء الدقيقة من النمو والتسبب في حدوث الأمراض [9].

المواد وطرق العمل

تجميع العينات:

تم جمع العينات للدراسة الحالية من بعض المناطق بمدينة مصراته/ ليبيا في الفترة مابين 27-03-2018 إلى10-5-2018 حيث جمعت 104 عينة من 26 لوح بواقع 4 عينات لكل لوحة وزعت كالتالي:

*عينة قبل التقطيع.
*عينة أثناء التقطيع.
*عينة بعد الغسيل الاعتيادي.
*عينة بعد الغسيل بالمطهرات.

وقد قسمت هذه اللوحات (26) إلى 13 لوحة تقطيع خشبية و13 لوحة تقطيع بلاستيكية، بالإضافة إلى 20 عينة من 5 لوحات تقطيع جديدة غير مستعملة تم استخدامها كشاهد (control). تم أخذ العينات باستخدام ماسح قطني معقم (Cotton Swab) مبلل بمحلول ملحي (Normal saline) ثم وضعت في أنابيب محتوية على وسط غذائي Nutrient Broth وذلك لحفظ العينات من الجفاف و تعزيز النمو، ومن تم نقلها مباشرة إلى المعمل للزرع والفحص الميكروبي ليتم زراعتها أولاً على الأوساط المختبرية المناسبة ثم التحضين تحت درجة حرارة 37°م.

الأوساط الزراعية:

تم استخدام العديد من الأوساط الزراعية لتغطية أغلب الأنواع البكتيرية المحتمل تواجدها حيث حضرت جميع الأوساط وفق تعليمات الشركة المجهزة (OXOID LTD, Thermo Fisher Scientific) وعقمت باستخدام الأوتوكلاف في درجة حرارة 121°م لمدة 15-20 دقيقة و الأوساط هي:

وسط Nutrient Agar (Diagnositic pasture): وهو وسط عام لتنمية البكتريا وللعزل الأولي.

وسط Blood Agar: بيئة غنية تفريقيه بين أنواع البكتيريا المحللة للدم عن طريق التحلل الكامل للدم (Beta hemolytic) مثل: *Sterptococcus Pyogenes* و *Sterptococcus Agalactiae* أو التحلل الجزئي للدم (Alpha hemolytic) مثل: *Sterptococcus Pneumonia* و *Sterptococcus viridans* أو عدم التحلل للدم (Non-hemolytic) مثل: *Sterpt. faecalis*.

وسط MacCkonkey Agar (Diagnositic pasture): وسط تفريقي للتفريق بين البكتيريا المخمرة للاكتوز حيث تأخذ اللون الأحمر أو الوردي مثل: *E. coli* و *Klebsiella Enterobacter*، وبين البكتيريا الغير مخمرة للاكتوز والتي ليس لها لون (شفاف) مثل: *Proteus* و *Salmonella* و *Shigella* يحتوي هذا الوسط على Crystal violet و Bile Salts بحيث تسمح للبكتيريا السالبة لصبغة جرام بالنمو وتثبط نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام.

التخفيف التسلسلي (Serial Dilution):

تم تحضير معلق بكتيري، وتم نقل 1 مل منه إلى أنبوبة معقمة تحتوي على 9 مل من الماء المقطر المعقم، حيث رجت جيداً لتصبح متجانسة بتركيز 1: 10 و من ثم تم إجراء التخفيف التسلسلي (Serial dilution). بعد ذلك استخدمت طريقة الصب في الاطباق بعد خلط الآجار والعينة عند درجة حرارة 48-50°م لعد البكتيريا . وبعد أن تم تبريد وتصليب الآجار، تم قلبها وتحضينها عند درجة 37°م لمدة 24 ساعة. و في اليوم التالي تم حساب عدد المستعمرات البكتيرية (Colony Forming Unit C.F.U) بالمعادلة الأتية كما اوضحها [10]:

$$\text{عدد المستعمرات البكتيرية C.F.U} = \frac{\text{عدد المستعمرات البكتيرية}}{\text{مقلوب التخفيف}} \times \text{كمية العينة}$$

عزل وتشخيص البكتريا:

الخصائص المظهرية Morphological Properties: تم تم دراسة صفات المستعمرات البكتيرية المعزولة والنامية على الاوساط الزراعية في هذه الدراسة من حيث الشكل الخارجي والحجم والارتفاع والقوام واللون والقابلية على إنتاج الصبغات والرائحة وغيرها [11].

الخصائص المجهرية Microscopic Properties: تم كذلك تم دراسة بعض الخصائص المجهرية من حيث شكل البكتيريا تحت المجهر، وايضاً دراسة مدى قدرتها على إنتاج الجراثيم و الأبواغ وايضاً كيفية تجمع الخلايا فضلاً عن استجابة البكتريا لصبغة جرام (Gr+, Gr-) و التي تم الحصول عليها جاهزة واستعملت لدراسة الخصائص المظهرية للخلايا البكتيرية المعزولة تحت المجهر.

الخصائص الكيموحيوية Biochemical Properties: حيث اشتملت على عدد من الاختبارات التشخيصية من أهمها:

كاشف الكاتليز (Catalase): استعمل للتحري عن قابلية البكتريا لإنتاج H_2O وتعد النتيجة موجبة عند ملاحظة ظهور فقاعات هوائية [12] .

اختبار الكواجيوليز (Coagulase): استخدم للتفريق بين البكتيريا العنقودية الذهبية والأنواع الأخرى من البكتيريا العنقودية [13] .

اختبار Api 20 E: استخدم هذا الاختبار للتعريف السريع للبكتيريا المعوية علي مستوي الجنس و النوع ، حيث أنها من أكثر الطرق القياسية و أدقها في تصنيف البكتيريا، و شريط هذا الاختبار يحتوي 20 غرفة اختبار منفصلة و مجففة و يتم ترطيبها بإضافة معلق بكتيري

المضادات الحيوية:

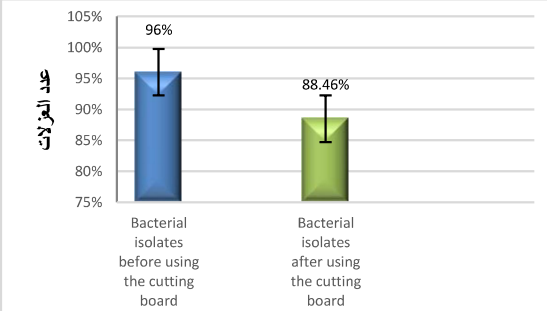
حضر وسط Muller Hinton Agar حسب تعليمات الشركة المصنعة ثم عقم بجهاز التعقيم عند درجة حرارة 121°م و ضغط 15 باوند لمدة 15 دقيقة، ومن تم حضنت الأطباق عند حرارة 37°م و لمدة 24 ساعة للتأكد من عدم تلوثها ، بعدها حفظت في الثلاجة عند درجة حرارة 4°م إلي حين الاستعمال.

لقح الوسط بمعلق بكتيري تركيزه 0.5 Mcfarland بواسطة الماسح القطني المعقم ونشر علي وسط Mullre Hinton Agar، ثم ترك الطبق لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة الغرفة لحين جفاف المعلق، نقلت أقراص المضادات إلي سطح الوسط الزراعي

بواسطة ملقط معقم بمعدل قرصين لكل طبق، حضنت الأطباق عند درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة وقيست بعدها الأقطار للمنطقة المثبطة حول كل قرص، بحيث تمت قراءة نتيجة حساسية البكتيريا لأقراص المضادات الحيوية المستخدمة، فأظهرت البكتيريا الحساسة والتي يرمز لها بالحرف (S) و المقاومة بالحرف (R) و المتوسطة بالحرف (I) حسب المواصفات و الجداول القياسية [14].

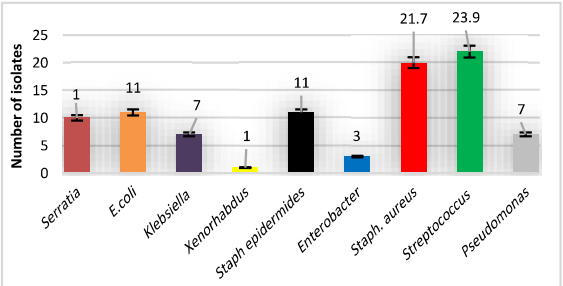
النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج أن نسبة النمو البكتيري بين ألواح التقطيع المشمولة في هذه الدراسة والتي كان عددها 26 لوحة 96% ، وبواقع 92 عزلة بكتيرية قبل البدء باستخدام اللوحات أما بعد الانتهاء من عملية الغسل الاعتيادي بالماء و الصابون فبقت النسبة كما هي عليه مع حدوث تغير في الأنواع المعزولة في بعض الحالات و يعزى هذا التغير إلى احتمالية انتقال ميكروبات جديدة من المادة الغذائية التي تم تقطيعها على اللوح كاللحوم والخضروات أو انتقالها من الأيدي أثناء التعامل مع المادة الغذائية. أما بالنسبة للتنظيف بالمطهرات فأدى إلى حدوث انخفاض طفيف في نسبة النمو البكتيري حيث أصبحت 88.46% (شكل 1).



شكل (1): نسبة النمو البكتيري بين ألواح التقطيع

كما نلاحظ من الشكل رقم (2) أن أعلى نسبة كانت لأعداد البكتيريا في العينات قبل البدء في عملية التقطيع تتبع لجنس *Streptococcus* و التي بلغت نسبة تواجدها 23.9%



شكل (2): عدد العزلات البكتيرية التي تم عزلها من الألواح قبل البدء في عملية التقطيع

و يعتبر هذا النوع من البكتيريا من الأنواع شائعة الانتشار حيث أنه يتواجد بشكل طبيعي على الجلد وفي الجهاز التنفسي العلوي و

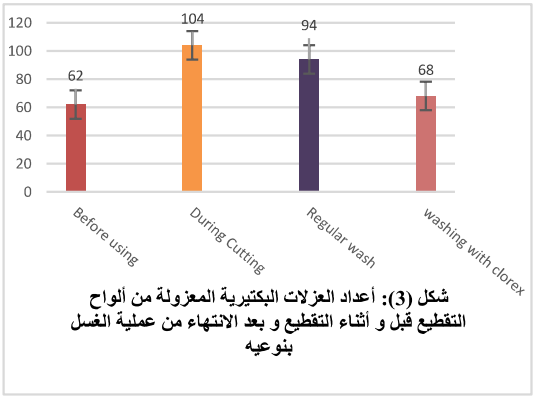
بالتالي من السهل انتقاله الى الطعام. و لم يؤثر الغسل الاعتيادي أو الغسل باستخدام الكلوركس في هذه الدراسة على هذه العزلات ولكنها ادت الى حدوث انخفاضاً طفيفاً حيث تم عزل 18 و 16 عزله على التوالي جدول (1).

جدول (1): الأنواع البكتيرية المعزولة من ألواح التقطيع قبل و أثناء و بعد الانتهاء من عملية التقطيع.

اسم البكتيريا	عدد العزلات قبل التقطيع	عدد العزلات أثناء التقطيع	عدد العزلات بعد الغسل الاعتيادي	عدد العزلات بعد الغسل بالمطهرات
E.coli	11	13	11	8
Klebsiella	7	12	9	5
Enterobacter	3	5	5	4
Staph.aureus	20	20	20	15
Staph.epi	11	16	12	7
Xenorhabdus bovienii	1	2	3	0
Streptococcus	22	18	18	16
Pseudomonas	7	7	6	4
Serratia	10	11	10	9
المجموع	92	104	94	68

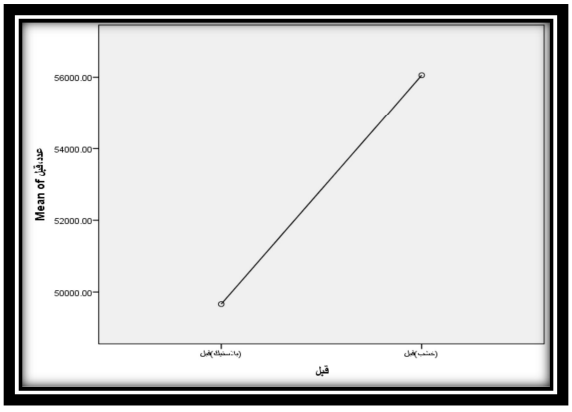
كان من المتوقع عزل هذا النوع من البكتيريا حيث أنه من القاطنات الطبيعية و لا يمكن أن يسبب حالات إصابة خطيرة بسبب تواجده إلا عندما تكون مناعة الشخص المصاب منخفضة نتيجة لمرض آخر مثل متلازمة نقص المناعة المكتسب AIDS أو الأورام السرطانية (Cancers) وأيضاً عندما يكون الشخص يعاني من مرض مؤثر على جهاز المناعة [15]. يليها *Staph. aureus* بنسبة 21.7% ويمتاز هذا النوع بإفرازه للعديد من السموم المعوية (Enterotoxins) و التي قد تسبب حالة من التسمم العنقودي إذا ما تواجدت البكتيريا بكميات كبيرة و كانت الظروف المحيطة كدرجة الحرارة و نوع المادة الغذائية مناسبتان لإنتاج السم. و يعتبر هذا النوع من البكتيريا أحد أهم أنواع القاطنات الطبيعية التي تتواجد في جسم الانسان و الحيوان في داخل التجاويف الأنفية أو على الجلد [16] . أظهرت دراسة سابقة أجريت على 136 عينة من اللحوم أن 47 % من العينات تحوي على بكتريا المكورات العنقودية و كان 52 % ذو مقاومة متعددة للمضادات الحيوية [17]. بالإضافة إلى المكورات الموجبة تم عزل العديد من أنواع البكتيريا المعوية في هذه الدراسة مثل *E. coli, Klebsiella, Enterobacter, Serratia* و يعتبر هذا الأمر مقبولاً لأن الكثير من الدراسات السابقة بينت أن اللحوم الحمراء يمكن أن تكون ملوثة بالبكتيريا المعوية فعلى سبيل المثال بين Karin و زملائه في دراسة لهم أن 80 % من عينات لحوم الدجاج و 50 % من عينات لحوم الخنازير أعطت نتيجة موجبة عند الفحص عن بكتريا القولون *E.coli* و أوضحوا أن التلوث البرازي لا يمكن منعه خلال عمليات السلخ بشكل كامل ، وتتميز *Klebsiella* و *Enterobacter* بكونها من الاجناس البكتيرية التي تتواجد بكثرة في عينات المسالخ [18]. و تواجدها على لوح التقطيع هنا قد يعزى إلى انتقالها من اللحوم إلى اللوح أثناء عملية التقطيع حيث أن وجود هذه البكتيريا يتركز بشكل أساسي على سطوح اللحوم حسب ما اوضحته دراسة أجريت على 120 عينة من ذبائح الخراف و 90عينة من الذبائح البقرية التي تم جمعها من مزارع مختلفة وهذا يعكس النقص والضعف في اتباع الشروط الصحية الصحيحة في المسالخ وعمليات تداول الذبائح وهو ما شكل خطراً كبيراً على صحة المستهلك [19].

من الملفت للنظر أن الغسل سواء أ كان بالماء و الصابون فقط أو باستخدام المطهرات كالكلوركس لم يكن قادراً على القضاء على البكتيريا بشكل كامل كما هو موضح بالشكل (3).



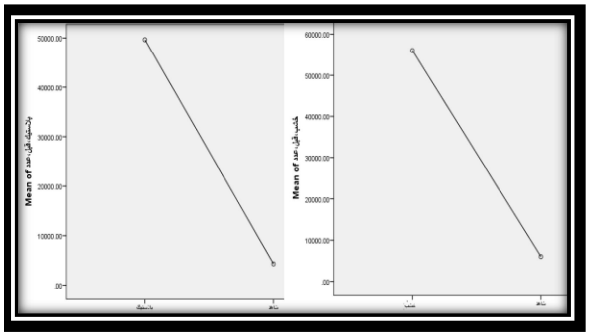
شكل (3): أعداد العزلات البكتيرية المعزولة من ألواح التقطيع قبل و أثناء التقطيع و بعد الانتهاء من عملية الغسل بنوعيه

ورغم أن الدراسات السابقة أوضحت أن العصيات السالبة لصبغة جرام تعتبر أكثر مقاومة للمطهرات من المكورات الموجبة و ذلك بسبب امتلاكها للطبقة الخارجية المانعة لنفاذية المركبات المضادة الى السايتوبلازم مقارنة بالمكورات الموجبة الفاقدة لهذه الطبقة إلا أنه لم يكن هناك اختلاف واضح بين النوعين في هذه الدراسة و قد يعزى ذلك إلى أن زمن التعرض إلى المطهر غير كافي حيث أن ربات البيوت في المنازل تقوم بهذه العملية من أجل إزالة بقايا الطعام عن اللوح وليس بهدف القضاء على الجراثيم. كما أن تعرض البكتيريا المتكرر لنفس النوع من المطهرات الكيميائية يؤدي الى زيادة المقاومة لها. بالإضافة إلا أن التركيز المنخفض للمطهرات المستخدمة غالبا ما يكون له تأثير سلبي حيث أنها لا تتمتع بتأثير فعال ما يتسبب بدوره في زيادة مقاومة البكتيريا. و عند المقارنة بين لوح التقطيع الخشبي و البلاستيكي نلاحظ أن العدد الكلي للبكتيريا المعزولة من اللوح المصنوع من الخشب قبل البدء بعملية التقطيع كان أكبر من عدد البكتيريا المعزولة من ألواح البلاستيك بفارق معنوي(P value = 0.26) (الشكل 4) .



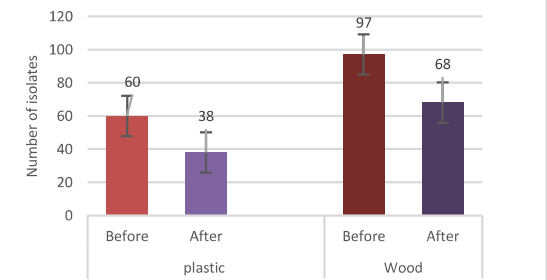
شكل (4): مقارنة بين لوح التقطيع الخشبي و البلاستيكي

و عند مقارنة عدد البكتيريا المتواجدة في كل من النوعين بالشاهد (Control) نلاحظ أن كلا النوعين احتوى على عدد أكبر من البكتيريا مقارنة بالشاهد (الشكل 5).



شكل (5): مقارنة بين الشاهد و كل من لوحي التقطيع (الخشبي والبلاستيكي)

ومن الغريب أن عينات الشاهد و التي هي عبارة عن ألواح جديدة بغطائها احتوت على نمو بكتيري فقط حيث احتوت ألواح الخشب على عزلات من *E.coli, Serratia, Enterobacter*, وعزلت *E.coli, Enterobacter, Pseudomonas* من ألواح البلاستيك و قد يعزي ذلك إلى انتقال *Pseudomonas* هذه الأنواع من الأشخاص العاملين في أماكن التصنيع أو في المحلات التجارية. و عند دراسة مدى اختلاف تأثير المنظفات على حسب نوع اللوح تبين أن الميكروبات بألواح الخشب كانت أكثر مقاومة للمنظفات حيث أن عدد العزلات لم يختلف في معظم الألواح الخشبية بعد تعرضها للمنظفات على عكس ألواح البلاستيك (شكل 6) وهذه النتائج عكس ما هو معروف وسائد فالألواح البلاستيكية تحوي الكثير من البكتيريا بكميات أكبر بكثير من الألواح الخشبية كما أن الدراسات السابقة أوضحت أن البكتيريا تتكاثر بطريقة أسرع على الأسطح البلاستيكية. و قد يعود ذلك إلى أن الألواح ذات الصنع المحلي لا تتبع المواصفات العالمية فبعد تعرضها للغسل تزداد نسبة الرطوبة مما يجعلها بيئة ملائمة لنمو البكتيريا و الفطريات. كما أن الشقوق التي تنتج بسبب التقطيع و سوء التعامل مع هذه الألواح تكون ملاذا لبقايا الطعام و بالتالي نمو الميكروبات. بالإضافة إلى ذلك فإن استعمال هذه الألواح لفترات طويلة دون التغيير يزيد من احتمالية انتقال الجراثيم و نموها.



شكل (6): مدى اختلاف تأثير المنظفات على حسب نوع اللوح

و عند مقارنة تأثير نوعين من هيبوكلوريت الصوديوم بنوعين من المضادات الحيوية المتواجدة في المعامل (Azithromycin : AZM) (Piperacillin: PRL) على الأنواع البكتيرية المعزولة. كان هيبوكلوريت الصوديم بنوعيه فعالاً بنسبة أعلى من المضادات الحيوية على عزلات *Streptococcus* spp. حيث سجل أعلي متوسط قطر لمنطقة التثبيط 41 مم و أبدت عزلات *Staphylococcus* spp. تأثيراً مغايراً بعض الشيء حيث كانت أقل تأثراً بهيبوكلوريت الصوديوم وسجل أعلى متوسط لمنطقة التثبيط 42 مم مع AZM . أما بالنسبة لعزلات البكتريا السالبة لصبغة جرام فكان تأثير المضادات الحيوية أعلى من تأثير هيبوكلوريت الصوديوم لجميع الأنواع المعزولة ماعدا

Pseudomonas spp. و التي كانت حساسة لهيبوكلوريت الصوديوم حيث كان متوسط قطر التثبيط 35 مم (جدول 2) .

جدول (2) مقارنة بين تأثير المضادات الحيوية و هيبوكلوريت الصوديوم على العزلات البكتيرية

نوع البكتيريا	هيبوكلوريت الصوديم (الكلوركس)	هيبوكلوريت الصوديم (الوركينا)	مضاد PRL	مضاد AZM
E.coli	*25 - 21*	*27 – 24*	32مم (S)	36.5مم (S)
Klebsiella	31 – 25	28 – 26	32مم (S)	38مم (S)
Enterobacter	14 – 18	22 – 26	25.5 (S) مم	25مم (S)
staph.aureus	22 – 24	30 – 33	31مم (S)	36مم (S)
staph.epi	24 - 30	38 – 40	26مم (S)	41مم (S)
Xenorhabdus bovienii	14 – 18	22 – 26	23مم (R)	25مم (S)
Streptococcus	42 - 40	40 - 38	32مم (S)	30مم (S)
Pseudomonas	*36 – 34*	*32 – 34*	19مم (R)	33مم (S)

الاستنتاجات

أجريت هذه الدراسة التجريبية التحليلية على 26 لوح تقطيع، مقسمه بالتساوي بين النوعين الخشبي و البلاستيكي، من منازل عشوائية بمصراته لدراسة الدور الذي تلعبه ألواح التقطيع كناقل للميكروبات و مدى تأثير عمليات التنظيف علي هذه الميكروبات. و أظهرت الدراسة أن أعلى معدل للنمو كان بين ألواح الخشب و تواجدت البكتيريا بنسبة عالية جداً حيث تم عزل 104 عزلة خلال عملية التقطيع لوحدها. و بالعموم تميزت الأنواع المعزولة بمقاومتها العالية لعمليات التنظيف سواءاً بالصابون فقط أو مع الكلوركس. وبينت الدراسة الحالية ان أهم الملوثات البكتيرية التي تم عزلها هي *Streptococcus* spp., *E .coli* , *Staphylococcus aureus* , *Enterobacter*

المراجع

1- Rasheed P.; Bacteria exist mostly in kitchens. The Gulf Today; (2009).

2- Malcolm T., Chang W., Loo Y. *et al.*, Simulation of improper food hygiene practices: A quantitative assessment of Vibrio parahaemolyticus distribution. International Journal of Food Microbiology; (2018) ; 284, 2; 112119.

3- World Health organization (WHO).; Food safety issues.,(2004); http://www.who.int/foodsafety

4- تيموز ، سولاف حامد . عبد الرضا، ولاء. مسلم، طيف. كريم، مالك. عزل وتشخيص الاحياء المجهرية الملوثة لثمار بعض اصناف الطماطم (2010). مجلة القادسية للعلوم الصرفة. 1، 2.

5- . البهادلي، علي حسين. اياد الهيتي. مسلم الوتار. اصابة ثمار الطماطة بالفطر *A. alternate* والسموم التي يفرزها (1986). المؤتمر العلمي الرابع لمجلة البحث العلمي. بغداد. العراق.

6- الرابطي. عبدالله محمد الرابطي. أساسيات علم الأحياء الدقيقة (2009). الدار العربية للنشر و التوزيع. الطبعة الأولى. مصر.

7- Denayer S., Delbrassinne L., Nia Y. and Botteldoorn N.; Food-Borne Outbreak Investigation and Molecular Typing: High Diversity of *Staphylococcus aureus* Strains and Importance of Toxin Detection. Toxins.; (2017) ; 9;407.

8- الحسيني، رحاب. علم سموم البكتريا (2010). دار المناهج للنشر والتوزيع ، عمان .الاردن.

9- Kusumaningrum, Harsi Dewantari, G. Riboldi, W. C. Hazeleger, and R. R. Beumer. "Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods." *International journal of food microbiology* 85, no. 3 (2003) ; 227-236.

10- Pochampally R. Colony forming unit assays for MSCs. InMesenchymal Stem Cells (2008) ;pp. 83-91. Humana Press.

11- Schillinger U, Lücke FK. Identification of lactobacilli from meat and meat products. Food microbiology. (1987) ; 1;4(3):199-208.

12- Mac Faddin , F.; Jean.; Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria; Lippincott Williams & Wilkins; Medical ; (2000) ; 912.

13- APHA.; standard methods for the examination of water and wastewater AE Greenberg, LS Clesceri, AD Eaton - *Am Public Heal Assoc*; *Water Work Association*; (1992).

14-Bauer, AW.; Kirby, WM.; Sherris, JC.; Turck, M.; Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol; (1966) ; 45(4):493-6.

15- Katzenell, U., Shemer J., and Bar-DayanY. Streptococcal contamination of food: an unusual cause of epidemic pharyngitis.Epidemiol Infect; (2001) ; 127, (2) , 179–184.

16- المهيمي، رشا محمد. السموم المايكروبية في الاغذية و الأعلاف. 2014. جامعة بنها. كلية الزراعة- مصر.

17- Andrew, E., Tania C., Jordan B.,Cindy M.,Lindsey W.,Kimberly P., Jeffrey T., Jolene B., Elizabeth M., David M. , Paul S., and Lance B. Multidrug-Resistant Staphylococcus aureus in US Meat and Poultry. *Clin Infect Dis*; (2011) ; 52(10): 1227–1230.

18- Karin, S., Huther S., Hölzel C., Kämpf P., Bauer J. Prevalence of antibiotic-resistant enterobacteriaceae isolated from chicken and pork meat purchased at the slaughterhouse and at retail in Bavaria, Germany. Int J Food Microbiol; (2012) ; Mar 15;154(3):206-11.

19-Siham, N.; and Taha, H.; Superficial bacterial contamination of ovine and bovine carcasses at El –Harrach slaughterhouse (Algeria). *European Journal of Scientific Research*; (2009);.38,.3, 474 – 485.