الجمهورية العربية السورية
جامعة حماة
كلية الطب البيطري
قسم الصحة العامة والطب الوقائي

الكشف عن جراثيم الإيشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في اللحوم الحمراء والبيضاء وتأثير بعض المواد الحافظة فيها

رسالة مقدمة
لنيل درجة الدكتوراه في العلوم الطبية البيطرية اختصاص صحة لحوم وتقاناتها

إعداد طالب الدراسات العليا:

عمار حاجي العلي

بإشراف:

أ.د.عبد العزيز عروانه مشرفاً علمياً
أ.م.د.غياث سليمان مشرفاً مشاركاً

2025 – 1447

شـــــهـادة

نشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة هو نتيجة بحث قامت به المرشح الطالب **عمار حاجي العلي** تحت إشراف الأستاذ الدكتور **عبد العزيز عروانة** أستاذ في قسم الصحة العامة والطب الوقائي كلية الطب البيطري جامعة حماة أختصاص صحة لحوم ومشاركة الدكتور **غياث سليمان** أستاذ في صحة اللحوم وتقاناتها، جامعة طرطوس وأي رجوع إلى بحث آخر في هذا الموضوع موثق في النص.

المرشح	المشرف المشارك	المشرف العلمي
عمار حاجي العلي	**أ.م.د.غياث سليمان**	**أ.د.عبد العزيز عروانة**

التاريخ 16 / 11 / 2025م

Certificate

***Certificate*We certify that the work described in this thesis is the result of research conducted by the student candidate, Ammar Haji Al-Ali, under the supervision of Prof. Dr. Abdul Aziz Arwana, Professor in the Department of Public Health and Preventive Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Hama University, specializing in meat hygiene, and with the participation of Dr. Ghiath Suleiman, Professor of Meat Hygiene and Technology. Any reference to other research on this topic is documented in the text.**

Candidate:

Ammar Haji Al-Ali

Scientific Supervisor:

Prof. Dr. Abdul Aziz Arwana

Co-supervisor:

Dr. Ghiath Suleiman

Date 16/11/ 2025

كلمة شكر

اتقدم بفائق شكري وتقديري إلى **الاستاذ الدكتور عبد العزيز عروانة** لتفضله بالإشراف على هذا البحث وعلى كل ما بذله من متابعة مستمرة وتوجيهات سديدة طيلة مدة البحث، والشكر موصول **للدكتور غياث سليمان** المشرف المشارك.

كل الشكر والتقدير إلى رئاسة جامعة حماة وإلى عمادة كلية الطب البيطري وقسم الصحة العامة والطب الوقائي فيها لإتاحة الفرصة لي لإكمال دراستي وتقديم كل ما يلزم من تسهيلات وتعاون طيلة فترة الدراسة.

أشكر أعضاء لجنة الحكم على هذه الرسالة متمثلة **بالأستاذ الدكتور عبد الكريم قلب اللوز والدكتور عبد الكريم حلاق والدكتور فؤاد نعمة والدكتور أشرف الصالح** على تفضلهم بمناقشة هذه الرسالة وتقييمها وإغنائها بملاحظاتهم لتكون بشكل أفضل.

كما أتوجه بجزيل الشكر والامتنان إلى **الدكتور عاصم باكير والدكتور مبارك السعد والدكتور بلال الجاسم** لجهودهما الكبيرة في كل خطوة في هذا البحث واشكر كل من اخوتي وأصدقائي وزملائي طلاب الدراسات العليا الذين ساعدوني وكانو لي عوناً طيلة مدة البحث، وأخص بالشكر أيضاً **الدكتور مرشد كاسوحة والدكتور عمر المدني** لما قدموا من مساعدات خلال مدة البحث.

واشكر **شركة إبن الهيثم للأدوية البيطرية** ممثلة **بالدكتور هيثم حاج يوسف** لما قدموه من دعم وتسهيلات من مساعدات خلال مدة البحث.

فهرس المحتويات

المحتويات

فهرس المحتويات.....I
قائمة الاختصارات.....V
قائمة الجداول VII
قائمة المخططات VIII
قائمة الصور IX
الملخص بالعربي.....X
1-المقدمة 2
2-1 أهداف البحث.....4
2- الدراسة المرجعية 7
2-1 التلوث الجرثومي للحوم 8
2-2 تعريف الإشريكية القولونية.....9
2-3 صفات الإشريكية القولونية 10
2-4 الخواص الكيمياحيوية للإشريكية القولونية.....10
2-5 المقاومة للعوامل الفيزيائية والكيميائية.....11
2-6 عوامل الفوعة لذراري الإشريكية القولونية.....12
2-7 الإمراضية 14
2-8 مجموعات الإشريكية القولونية.....15
2-8-1 الإشريكية القولونية الممرضة للأمعاء.....15
2-8-2 الإشريكية القولونية المتراكمة في الأمعاء.....16
2-8-3 الإشريكية القولونية الغازية للأمعاء.....17
2-8-4 الإشريكية القولونية المنزفة للأمعاء.....17

2-8-5 الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان المعوي..... 18
2-8-6 الإشريكية القولونية ذات الانتشار الملتصق..... 19
2-9 الكشف عن الاشريكية القولونية..... 19
2-10 اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR..... 19
2-11 المواد الحافظة..... 40
2-11-1 حمض السوربيك..... 43
2-11-2 لاكتات الصوديوم..... 47
2-11-3 حمض الخليك..... 49
3- المواد وطرائق البحث:..... 64
3-1 المواد: 65
3-1-1 الأوساط المزرعية المستخدمة..... 65
3-1-2 المحاليل والمواد الكيمائية:..... 66
3-2 جمع العينات..... 68
3-3 طريقة العمل:..... 68
3-3-1-عزل جراثيم الاشريكية القولونية المفرزة للذيفان السام لخلايا فيرو..... 68
3-3 -2- تنقية العزلات وحفظها:..... 69
3-3-3 الإختبارات الكيمياحيوية:..... 70
3-3-4 اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR:..... 72
3-4 تأكيد أمراضية عزولات الاشريكية القولونية المفرزة للذيفان السام لخلايا فيرو..... 78
3-5 دراسة تأثير الأحماض على جراثيم الاشريكية القولونية المفرزة للذيفان السام لخلايا فيرو 78
3-5-1 عدوى اللحوم بجراثيم الاشريكية القولونية المفرزة للذيفان السام لخلايا فيرو 78
3-5-2 الكشف عن التعداد الأولي للاشريكية القولونية المفرزة للذيفان السام لخلايا فيرو 79
3-5-3 تأثير الأحماض المختلفة على الاشريكية القولونية المفرزة للذيفان السام لخلايا فيرو 79
3-5-4 الكشف عن تأثير الأحماض على الاشريكية القولونية المفرزة للذيفان السام لخلايا فيرو 81

3-6- التحليل الاحصائي 81

4-النتائج 82

4-1 نتائج الزرع الجرثومي: 83

4-2 نتائج الاختبارات الكيمياحيوية المسطرة البيوكيمائية 85

4-3 نتائج اختبارات الزرع والتصنيف الجرثومي للكشف عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو لذراري الإشريكية القولونية في عينات اللحوم في PCR:.. 87

4-4- نتائج العدوى التجريبية 90

4-5- نتائج الكشف عن التعداد الأولي للجراثيم..... 91

4-6 نتائج معاملة لحم الأغنام المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم-حمض الخليك -حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو.....92

4-7 نتائج معاملة لحم الأبقار المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم-حمض الخليك -حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو.....94

4-8 نتائج معاملة لحم الماعز المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم-حمض الخليك -حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو.....96

4-9 نتائج معاملة لحم الجمال المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم-حمض الخليك -حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو.....98

4-10 نتائج معاملة لحم الفروج المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم-حمض الخليك -حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو..... ..100

4-11 نتائج معاملة لحم السمك المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم-حمض الخليك -حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو.....102

5- المناقشة..... 104
5-1 نسبة عزل الايشريكية القولونية من اللحوم الحمراء والبيضاء..... 105
5-2 تأثير المواد الحافظة على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو..... 106
6- الاستنتاجات Conclusions:..... 111
7- التوصيات Recommendations..... 113
8-الملخص الأنكليزي..... 115
9- الأبحاث المنشورة.....117
10- المراجع..... 119

قائمة الاختصارات:

EPEC	Enteropathogenic *Escherichia coli*	الإشريكية القولونية الممرضة للأمعاء
LEE	locus of enterocyte effacement	موقع طمس الخلية المعوية
EAEC	Enteroaggregative *Escherichia coli*	الإشريكية القولونية المتراكمة في الأمعاء
EAST-1	enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin 1	الذيفان المعوي المقاوم للحرارة east-1
EIEC	Enteroinvasive *Escherichia coli*	الإشريكية القولونية الغازية للأمعاء
EHEC	Enterohemorrhagic *Escherichia coli*	الإشريكية القولونية المنزفة للأمعاء
HUS	Hemolytic-uremic syndrome	متلازمة أنحلال الدم اليوريمية
VT	Verotoxin	الذيفان السام لخلايا فيرو
GB3	Globotriaosylceramide	مستقبلات شحمية سكرية غلوبو تري أسيل سيراميد
ETEC	Enterotoxigenic *E. coli*	الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان المعوي
ST	Heat-Stable enterotoxin	الذيفان المعوي المقاوم للحرارة
LT	Heat-Labile enterotoxin	الذيفان المعوي الحساس للحرارة
DAEC	Diffuse-adhering *Escherichia coli*	الإشريكية القولونية ذات الانتشار الملتصق
PCR	Polymerase chain reaction	تفاعل البوليميراز المتسلسل
Bp	base pair	زوج من الأسس
EB	Ethidium Bromide	ايثيديوم بروماید

قائمة الجداول

رقم الجدول	محتوى الجدول	رقم الصفحة
1	تصنيف الإشريكية القولونية	8
2	الأجهزة المستخدمة في الاختبارات	65
3	الأوساط الزرعية والمواد المستخدمة في الاختبارات	66
4	المحاليل المستخدمة في الاختبارات	67
5	تسلسل المشرعات المستخدمة وحجم نواتج تفاعل PCR	72
6	مكونات محلول أم من دارئة الرحلان TBE	73
7	مكونات مزيج تفاعل البوليميراز المتسلسل لكل عينة	75
8	برنامج التدوير الحراري	76
9	توزيع معاملات الاحماض على عينات اللحوم	79
10	يبين نتائج الاختبارات الكيمياحيوية التأكيدية لعزولات الإشريكية القولونية.	85
11	يبين نتائج اختبارات الزرع والتصنيف الجرثومي للكشف عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو لذراري الإشريكية القولونية في عينات اللحوم في PCR	87
12	يبين نتائج الكشف عن التعداد الأولي للجراثيم	91
13	يبين نتائج معاملة لحم الأغنام المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك –حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو	92

14	يبين نتائج معاملة لحم الأبقار المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك –حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو	94
15	يبين نتائج معاملة لحم الماعز المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك –حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو	96
16	يبين نتائج معاملة لحم الجمال المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك –حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو	98
17	يبين نتائج معاملة لحم الفروج المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك –حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو	100
18	يبين نتائج معاملة لحم السمك المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك –حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو	102

قائمة المخططات

رقم المخطط	محتوى المخطط	رقم الصفحة
1	تصنيف مستضدات الايشريكية القولونية	8
2	رسم توضيحي يبين طريقة العمل	82
3	يظهر نتائج معاملة لحم الأغنام المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك – حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو	93
4	يظهر نتائج معاملة لحم الأبقار المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك – حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو	95
5	يظهر نتائج معاملة لحم الماعز المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك – حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو	97
6	يظهر نتائج معاملة لحم الجمال المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك – حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو	98
7	يظهر نتائج معاملة لحم الفروج المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك – حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو	100
8	يظهر نتائج معاملة لحم السمك المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك – حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو	102

قائمة الصور

رقم الصورة	اسم الصورة	رقم الصفحة
1	برنامج التدوير الحراري	76
3-2	تظهر هلامة الأغاروز	77
4	تظهر جهاز الاشعة فوق بنفسجية النافذة	78
6-5	تظهر نمو الايشريكية القولونية على المنابت التميزية	84
8-7	تظهران نتائج المسطرة البيوكيمائية	87
9	تظهر نتائج **PCR**	90
11-10	تظهر علامات الإصابة الايشريكية القولونية	90

الملخص بالعربي Arabic Abstract

هدف هذا البحث للكشف عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في اللحوم البيضاء والحمراء باستخدام تقنية تفاعل البولميراز المتسلسل **PCR** ودراسة مدى تأثير المواد الحافظة (حمض الخليك – حمض السوربيك – لاكتات الصوديوم) على هذه جراثيم الايشريكية القولونية في اللحوم حيث تم جمع 120عينة لحمة من اللحوم الحمراء (أغنام – أبقار– ماعز – جمال) واللحوم البيضاء(أسماك– فروج) من أماكن مختلفة من الأسواق المحلية، وبعد ذلك تم عزل وتنقية جراثيم الايشريكية القولونية وتحديد هويتها من خلال دراسة الخواص المزرعية والشكلية واللونية والخواص الكيمياحيوية لمعرفة الايشريكية القولونية وبعدها تم فحصها على جهاز الPCR حيث أظهرت نتائج عينات لحوم الفروج وجود الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في لحوم (الفروج، السمك، الأغنام، الابقار – الماعز، الجمال) على التوالي مع العينات المدروسة بالنسبة للزرع الجرثومي بنسبة(65%،50%،55%، 70%، 60%، 75%) على التوالي وأظهرت نتائج عزل الذراري باستخدام جهازPCR في لحوم (الفروج، السمك، الأغنام، الابقار، الماعز،الجمال)على التوالي مع العينات المدروسة بنسبة (30.76%، 40%، 36.36%، 42.8%، 16.66%، 40%) على التوالي وبعد أن تم الكشف عن الايشريكية تم دراسة تأثير إضافة محلول حمض السوربيك بتركيز1%، وتركيز2%، ومحلول حمض الخليك تركيز1% وتركيز 2% ومحلول لاكتات الصوديوم تركيز2%وتركيز 4% على جراثيم والاشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في اللحوم الحمراء والبيضاء وذلك بعد أن تم تلقيح اللحوم بهدف تثبيط نمو هذه الجراثيم عند الحد المسموح به. حيث تم غمر عينات اللحم مدة 30 دقيقة وقد بيّنت النتائج قدرة حمض السوربيك على تخفيف نمو هذه الجراثيم أما بالنسبة لحمض الخليك تركيز1% وتركيز2% فقد منع نمو الاشريكية وكما أظهرت العينات المعاملة بمحلول لاكتات الصوديوم بتركيز 2% تثبيط لهذه الجراثيم بينما كان تركيز 4% تثبيط أفضل في هذه اللحوم وبينت نتائج الدراسة الاحصائية وجود فروقات معنوية عند $P<0.05$ ومن نتائج هذه الدراسة وجود الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو ونستنتج أيضا أن إضافة هذه الاحماض(حمض الخليك تركيز1% – لاكتات الصوديوم تركيز4%) يمكن أن يقلل من التلوث بهذه الجراثيم وبالتالي يمكن أن يساهم في الحفاظ على الصحة العامة.

الكلمات المفتاحية: اللحوم الحمراء – اللحوم البيضاء – حمض السوربيك – حمض الخليك – لاكتات الصوديوم – PCR.

1-المقدمة Introduction

1- المقدمة Introduction:

تعرف اللحوم على أنها ذلك النسيج الحيواني من عضلات ودهون ونسج ضامة التي يمكن أن تستخدم في غذاء الإنسان وهذا المصطلح يعني الجهاز العضلي للحيوأن الذي يشمل الأعضاء والتي تشمل الأعضاء الداخلية الصالحة لاستهلاك مثل (القلب والكبد والكلى و.....)، والتي يجب أن تكون سليمة وذات ملمس متماسك ورائحة مقبولة طبيعية تفاعلها قريب من الحموضة(6±2) وخالية من المسببات المرضية ومتفقة مع العادات والتقاليد لكل بلد حيث يشمل اللحم بشكل عام اللحوم الحمراء من لحوم(أغنام، ماعز، جمال، أبقار، إبل) واللحوم البيضاء (لحوم الدواجن، لحوم الاسماك) (Ahmad and Badpa, 2014)

حيث تعد اللحوم من المواد الغذائية الأساسية للإنسان من أجل النمو والبقاء على قيد الحياة لدى الإنسان، إذ تعتبر مصدراً للكثير من العناصر الغذائية الهامة لجسم الإنسان، وفي مقدمتها البروتين، كما تتميز بكونها غذاءً مناسباً للاستهلاك من قِبل الفئات العمرية كافة، في الوقت ذاته تعد بيئة مناسبة لنمو الجراثيم الأمر الذي جعلها في مقدمة الأغذية المرتبطة بحالات التسمم والعدوى الغذائية في البلدأن التي تستهلك كميات وافرة منها ولذلك وجب التأكد من جودتها وسلامتها ومراقبة تأثيرها الضار على الإنسان و تتلوث اللحوم بسرعة وبسهولة بالأحياء الدقيقة إذا لم يتم التعامل معها بطريقة صحية، وذلك لغناها بالبروتينات والمركبات الآزوتية، والعناصر المعدنية وعوامل النمو الأخرى(Lawrie, 2006).

يعتمد تلوث اللحوم بالجراثيم على الحالة الصحية للحيوان وظروف تربيته وعلى الطرق والشروط الصحية في كيفية التعامل مع الذبائح أثناء عملية ذبح الحيوان وعند تحضير الذبائح من مصادر متنوعة منها الهواء والماء وأدوات التجهيز والطاولات وأيدي العاملين وأثناء نزع الجلود والأمعاء من الذبيحة (Gill, 1998). بالإضافة إلى ذلك يحمل لحم الحيوان وجلده الملايين من الجراثيم إضافة إلى أحشائها التي تعد مصدراً أساسياً لتلوث اللحوم وكذلك يؤدي تماس المنتج مع السطوح غير النظيفة إلى زيادة حمولته الأساسية من الجراثيم (Marriott and Gravani, 2006).

وقد تم تقدير عدد الإصابات التي أنتقلت عن طريق تناول اللحوم في كل سنة إلى نحو 600 مليون حالة، يموت منهم 420 ألف شخص من بينهم 125 ألف طفل دون سن الخامسة وفق تقديرات منظمة الصحة العالميةWorld Health Organization (WHO, 2015).

وبما أن اللحوم تشكل مصدر من مصادر تلوث الغذاء لأنها بيئة ملائمة لنمو الجراثيم وتكاثرها من الطبيعي وجود جميع أنواع الجراثيم على سطح اللحوم ولكن قد تصبح بعض الأنواع أكثر وجوداً مقارنة بالأنواع الأخرى وتعد الأختبارات الجرثومية للحوم من المعايير الرئيسية لتحديد جودتها وسلامتها، لذا يجب أن لا يتجاوز التلوث الجرثومي للحوم مستويات معينة يمكن أن تؤثر سلباً في صلاحيتها وتجعلها غير صالحة للاستهلاك البشري (Biswas *et al.*, 2011).

ونظراً لارتفاع معدل استهلاكها وتلوثها في الوقت نفسه، إذ تعدَ اللحوم أحد أهم الأغذية المسببة لحالات التسمم، وتنقل العديد من الأمراض المحمولة على الغذاء (Bhandare *et al.*, 2007)

وذلك كان إهتمام الباحثين في مجال الصحة العامة، وأحد أهم الجراثيم الملوثة للحوم هي الإشريكية القولونية المنتجة ذيفان شيغا وهي مادة سامة تصنف على أنها عامل بيولوجي(Roy, 2016) كما أن الإصابة بالإشريكية القولونية تحدث نتيجة تناول اللحوم غير مطهية جيداً، وأن تناول الأدوية المثبطة للمناعة تؤدي إلى ضعف مناعة الجسم وبالتالي تنشط الإشريكية القولونية مما يؤدي لحدوث أنتأنات ثأنوية، وتناول الأطعمة في مطاعم الخدمة من أكبر بل أهم أو أكثر خمس مسببات للإشريكية القولونية كانت خاصة من اللحوم (لحم البقر والماعز) وأن أول إصابة بالإشريكية القولونية كانت عام (1982) ارتبطت بلحوم الأبقار غير مطهية بشكل كافٍ (Deschenes *et al.*, 1996) بوصفها مسبباً للإسهال الدموي وحالات الإصابة بمتلازمة أنحلال الدم اليوريمية، حيث سُجلت حالتأن من التهاب القولون النزفي الذي اقترن بتناول هامبرغر غير مطهو طهواً جيداً وقد أظهرت نتائج التشخيص أن المسبب الرئيسي لهذه الحالات هي الإشريكية القولونية ذات النمط المصلي O157:H7 (Bettelheim, 2003; Muto *et al.*, 2008)، حيث يعد النمط المصلي O157:H7 النمط الأكثر شيوعاً من هذه السلالة والمسؤول عن العديد من الأمراض التي تنتقل عن طريق الغذاء، بما في ذلك تفشي وباء التهاب القولون النزفي في الولايات المتحدة الامريكية عام 1993 والذي ترافق باستهلاك شطائر الهامبرغر (Kotloff *et al.*, 2013) تنتقل هذه السلالة للإنسان بالتماس المباشر بين شخص وآخر وذلك لقلة الجرعة المعدية التي تكون أقل من 100 خلية جرثومية، أو من التماس المباشر مع الحيوانات المصابة وروثها، أو من تناول الغذاء الملوث والمنتجات الحيوانية (Cagney *et al.*, 2004).

تظهر الأعراض خلال 3 – 4 أيام من تناول الغذاء الملوث بهذه السلالة وتشمل إسهالاً مائياً وآلام بطنية شديدة تتطور إلى إسهال دموي مصحوباً أحيأنا بارتفاع درجة الحرارة، وأن حوالي6% إلى25% من

المصابين تتطور حالتهم إلى ما يعرف بمتلازمة أنحلال الدم(HUS) اليوريمية Hemolytic-uremic syndrome) حيث تتكسر الكريات الحمراء وتتطور الحالة إلى الفشل الكلوي وتزداد خطورة المرض وشدته عند الاطفال دون سن الخامسة ولدى كبار السن (Bryan *et al.*, 2015).

وعلى الرغم من أن النمط المصلي O157:H7 هو النمط الأكثر أهمية بالنسبة للصحة فقد تم الإبلاغ عن أنواع مصلية أخرى لا تنتمي إلى الزمرة المصلية O157 أهمها O26، O103، O111 ، O121 ، O145،O45 والتي كانت سبباً في حدوث حالات إسهال شديدة (Shen *et al.*, 2015) وعلاوة على ذلك فقد ارتفع معدل انتشارها بنسبة 51.7% في الدول الأوربية بين عامي 2001–2004 (Hoffmann *et al.*, 2012). وتعزى أمراضية الإشريكية القولونية المنزفة للأمعاء EHEC بالدرجة الأولى إلى قدرتها على انتاج الذيفان السام لخلايا فيرو verotoxin أو شيغا توكسين Shiga toxin، ومن أنواعه التي تم تشخيصها بكثرة في الإصابة البشرية هما: Vero toxin 1 (VT1) و (VT2) Vero toxin 2 المشفران عن طريق المورثات (Wani *et al.*, 2006)، وأن الذيفان السام لخلايا فيرو يمنع أو يخرب أو يثبط الريباسة (60) في هيولى الخلية المضيفة مما يعيق تركيب البروتين ويتلف الخلايا الظهارية للأمعاء، يسبب الذيفان السام لخلايا فيرو (VT2) التهاب القولون النزفي عند الإنسان وتلعب لحوم وحليب الأبقار المصابة دوراً في نقل العدوى للإنسان كما يسبب المتلازمة الأنحلالية اليوريمية HUS (Migula, 1895).

1-1- أهمية البحث وأهدافه The Importance of Research and Its Aims:

أن كل ما سبق يضع الباحثين والمهتمين في القطر العربي السوري أمام مسؤولية إجراء دراسات دورية ومنهجية تستهدف أهم العوامل الممرضة الجرثومية المنقولة للإنسان عن طريق الغذاء وبخاصة اللحوم إذ أنها الأكثر عرضة للتلوث بتلك المسببات المرضية، ونظرا لما تشكله الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو O157:H7 من قلق كبير في منتجات اللحوم ولقلة الدراسات في بلدنا حول مستوى تلوث اللحوم بجراثيم الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو O157:H7 الخطرة والتي لها علاقة بصحة المستهلكين للحوم الحمراء والبيضاء لذلك جاءت هذه الدراسة للكشف عن وجود جراثيم الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو O157:H7 في اللحوم الحمراء والبيضاء المستهلكة في الأسواق المحلية وتأثير بعض المواد الحافظة عليها.

وبناءاً عليه يهدف هذا البحث إلى:

1-الكشف عن جراثيم الاشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو وتحديد مستوى التلوث في اللحوم الحمراء (لحم الأبقار، لحم الأغنام والماعز، لحم الجمال) والبيضاء(لحوم فروج وأسماك).

2- الكشف عن وجود جينات ذيفانا (VT1 – VT2) لجراثيم الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو باستخدام اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR في اللحوم الحمراء (لحم الأبقار، لحم الأغنام والماعز، لحم الجمال) والبيضاء(لحوم فروج وأسماك).

3- إجراء عدوى تجريبية للإشريكية القولونية ودراسة تأثير بعض المواد الحافظة (لاكتات الصوديوم- حمض الخليك – حمض السوربيك) بتراكيز مختلفة على جراثيم الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في اللحوم الحمراء (لحم الأبقار، لحم الأغنام والماعز، لحم الجمال) والبيضاء(لحوم فروج وأسماك).

4- مقارنة مدى تأثير المواد الحافظة (لاكتات الصوديوم-حمض الخليك -حمض السوربيك) للحوم الحمراء والبيضاء المدروسة على وجود الإيشريكية القولونية.

2- الدراسة المرجعية Literature review

2- الدراسة المرجعية Literature review:

2-1- التلوث الجرثومي للحوم Bacterial contamination of meat:

تعد اللحوم الحمراء والبيضاء من الأغذية الضرورية للإنسان ونظرا لأهمية اللحوم في حياة البشر وماتشغله من مكانة في غذاءه إذا تعد أحد أهم مصادر البروتين الأساسية والأحماض الامينية والدهنية والفيتامينات والمعادن (Vasut and Robeci, 2009).

إلا أن تلوث اللحوم أصبح الشغل الشاغل لعدد كبير من الباحثين المهتمين بسلامة الغذاء لما تشكله من أهمية وهي قضية مثيرة للقلق نظراً لارتفاع معدل استهلاكها وتلوثها في الوقت نفسه، حيث تعدَ اللحوم أحد أهم الأغذية المسببة لحالات التسمم، وتنقل العديد من الأمراض المحمولة على الغذاء (Bhandare *et al.*, 2007) يمكن أن تتلوث اللحوم بسهولة بالجراثيم الممرضة إذا أخطأنا التعامل معها بطريقة صحية، فهي تشكل بيئة مناسبة لنمو معظم الجراثيم لغناها بالبروتينات والمركبات الآزوتية، ومصدراً غنياً بالعناصر المعدنية وعوامل النمو الأخرى، وملائمة درجة حموضتها (PH=5.4) للنشاط الجرثومي(Lawrie, 1985).

وأن بعض مسببات الأمراض مثل الايشريكية القولونية والتي تنتقل عن طريق تناول لحوم الدواجن وذلك يمكن أن تتلوث بدءاً من ذبح الطيور وحتى السمط ونزع الريش ونزع الأحشاء أو عن طريق الذبائح القريبة الملوثة أو من معدات الذبح (Yulistiani *et al.*, 2019) وأن أكثر جينات الايشريكية القولونية التي تفرز السموم وخاصة سموم الشيغا ويمكن أن تصيب الإنسان بأمراض مختلفة وذلك عند تناول اللحوم بدون معاملتها بالحرارة بشكل كافي حيث تسبب أمراض بالجهاز الهضمي وأمراض الدم والجهاز البولي والجهاز التنفسي ومن أهم الجراثيم التي قد توجد في اللحوم هي الإشريكية القولونية *Escherichia coli* والمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* (Norrung, 2009) وتحدث أكثر من 90٪ من حالات الإصابة بهذه الأمراض بسبب الجراثيم لكن أبرز هذه الجراثيم التي تسبب الأمراض هي جراثيم الإشريكية القولونية الممرضة (Wagner, 2008)، وأن وجود الايشريكية القولونية في اللحوم دليل على عدم صلاحيتها ودليل على التلوث البرازي في هذه اللحوم وتُعدّ الإشريكية القولونية O157:H7 مُمْرِضًا غذائياً هاماً، ينتشر عادةً في أمعاء الماشية (Bell, 2002; Karmali *et al.*, 2010) وله تأثير اقتصادي كبير على الصناعة والصحة العامة (Scallan *et al.*, 2011)، لذلك أثناء ذبح الماشية وتجهيز الذبائح، هناك خطر كبير من التلوث المتبادل للمنتجات الطازجة المقطوعة

والمعالجة بالإشريكية القولونيةO157:H7 (Barkocy-Gallagher *et al.*, 2003; Huang and Sheen, 2011)، مما يُؤكد الصلة بين تفشي هذا المُمْرِض ولحوم البقر (Callaway *et al.*, 2009; Huang and Sheen, 2011)، وتوجد الإشريكية القولونية بصورة طبيعية في الأمعاء لدى الإنسان والحيوانات كجزء من النبيت الجرثومي الطبيعي، وتفيد الثوي بانتاج فيتامين K، ويمثل وجودوها مؤشراً مهماً على حدوث التلوث البرازي خصوصاً حين تواجدها في الأغذية ذات المنشأ الحيواني، وبالتالي من المحتمل أن تكون ممرضة مما يسبب حالات التسمم الغذائي الناجم عن الاشريكية القولونية (Allen *et al.*, 2014; Donnenberg, 2001) وتسبب الاشريكية القولونية العديد من حالات التسمم الغذائي المرتبطة لدى تناول اللحوم غير المطهية جيداً، حيث تتواجد الإشريكية القولونية في البراز وأمعاء الحيوانات وجلودها وتلوث اللحوم في أثناء عملية الذبح أو وجودها في أدوات الذبح ومياه التنظيف (Duffy *et al.*, 2003) تستغرق الطرق التقليدية للزراعة والكيمياء الحيوية وقتاً طويلاً للكشف عن الإشريكية القولونية O157:H7 في حالات تفشي الأمراض المنقولة بالغذاء ومع تزايد الابحاث وتطور العلم للسيطرة على جراثيم الايشريكية القولونية أصبح أستخدام كميات المضادات الحيوية في اعلاف الحيوانات لتقليل الضرر على صحة الإنسان والسيطرة على هذه الجراثيم لكن يمكن لهذه الجراثيم أن تفرز بعض الأنزيمات التي تمنع تأثير المضاد الحيوي عليها مثل أنزيم بيتالاكتاماز التي تفكك البنسلين (Farrar *et al.,* 2013).

2-2- الإشريكية القولونية *Esherichia coli*: حيث عرفت في البداية تحت مسمى الجرثومة القولونية، وهي من بدائيات النوى لأنها لاتمتلك نواة حقيقية (Pfeiffer and Ulrich, 2014) وتولى الإشريكية أهمية كبيرة حيث كانت أكثر الجراثيم دراسة، وقد تم تصنيف الإشريكية القولونية حسب (Baumgardner *et al.,* 2009) كما يلي:

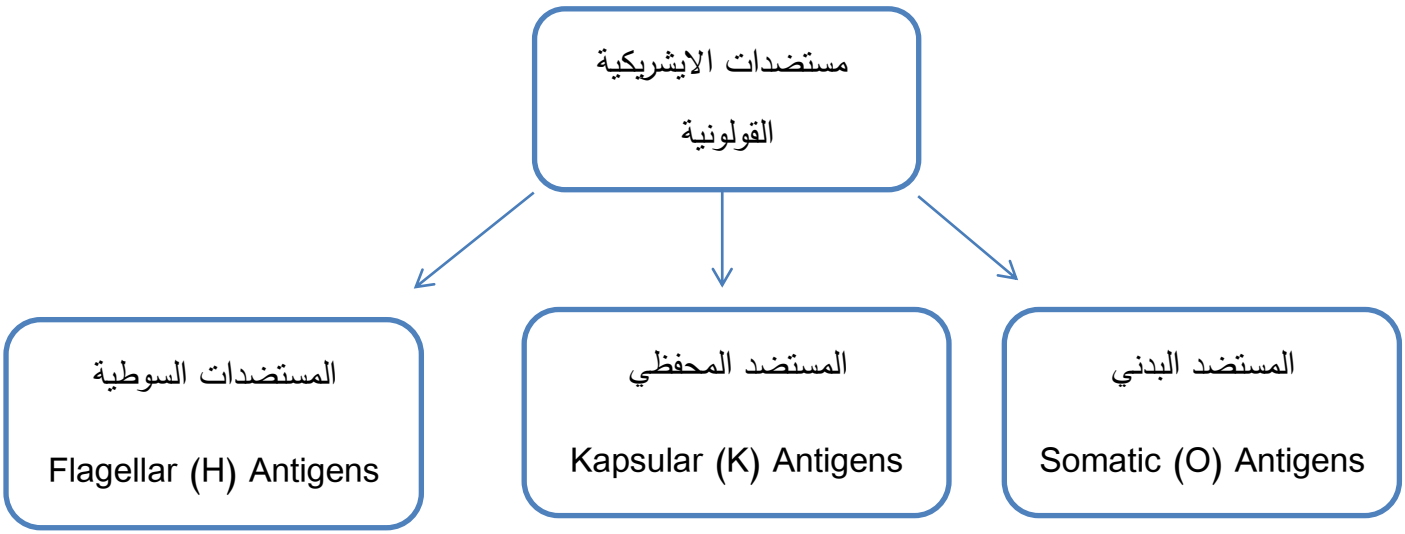
الجدول رقم(1) يظهر تصنيف الايشريكية القولونية:

المجال	الجراثيم
المملكة	الجراثيم الحقيقية
الشعبة	البروتينات
الطائفة	غاما البروتينات
الرتبة	المعوية
العائلة	المعوية
الجنس	الإشريكية
النوع	الإشريكية القولونية

ويمكن تصنيف الإشريكية القولونية بالاعتماد على المستضد البدني O والمستضد السوطي H والمستضد المحفظي K ومجموعها يحدد النمط الواحد للإيشريكية القولونية ويفيد تحديد النمط المصلي في معرفة خصائص الأنماط المصلية المتعايشة والممرضة وكأداة لاستقصائيات الوبائية (Roasto *et al.*, 2012) وتم توصيف على الأقل 167 نوعاً بالاعتماد على المستضد البدني O، وحوالي 53 نوعاً بالاعتماد على المستضد السوطي H، و 74 نوعاً بالاعتماد على المستضد المحفظي K (Lior, 1991).

وقد تم عزل الإشريكية القولونية لأول مرة من قبل الباحث الألماني ثيودور ايشيرش عام (1885) من براز الأطفال المصابين، وهي جراثيم متعايشة في الأمعاء بشكل طبيعي وتشكل النسبة الأكبر من جراثيم الأمعاء عند البشر وتمتلك ميزة هامة جداً وهي أنها تشكل مستعمرات على مخاطيات الأمعاء والقولون وتسبب أعراضاً مختلفة، تدخل الى جسم الإنسان عند الولادة وذلك عن طريق الرضاعة من الساعات الأولى للولادة، وتمتلك هذه الجراثيم ذراري وعوامل فوعة مختلفة تسبب أمراضا عند الإنسان والحيوان (Bentley and Meganathan,1982). وقد تسبب ذراري سلالات معينة من الايشريكية القولونية الإسهال عند الرضع واسهال المسافرين الذي يستمر (1–3) يوماً، والتهاب المعدة والأمعاء، وهو اكتشاف مهم للصحة العامة (Russell and Jarvis, 2001)، وللعصيات القولونية عدة أنواع مصلية تمتلك مستضدات مشتركة وبناءً على نوع المستضد تم تصنيفها إلى أنماط مصلية وهذه المستضدات هي:

المخطط رقم (1) يبين تصنيف مستضدات الايشريكية القولونية:



وبالإعتماد على هذه المستضدات البدنية (O) والمحفظية (K) والسوطية (H) يتم تنميط الأنواع المصلية للعصيات القولونية إلى عدة أنماط مصلية (Serotyps) وترمز لها في النمط المصلي بأعداد خاصة مثل النمط المصلي O157: H7: K85 (Stenutz *et al.,* 2006).

3-3- صفات الإشريكية القولونية *Esherichia coli* Characterstics of:

وجد أن طول الإشريكية يبلغ (1-3) ميكرون وعرضها (0.5) ميكرون، وحجم الخلية من (0,6-0,7) ميكرون(Allen *et al.,* 2014)، وهي جراثيم لا هوائية مخيرة، تنتج الـ (ATP) عن طريق التنفس الهوائي بوجود الأوكسجين، وفي حال عدم وجود الأوكسجين تلجأ إلى التخمر أو التنفس اللاهوائي (Niculită, 2013).

ويكون شكل الاشريكية القولونية على شكل عصيات و غالبا تكون موجودة في الجزء السفلي من الأمعاء في الكائنات من ذوات الدم الحار(Feng *et al.*, 2002) وهناك ذراري من الايشريكية القولونية غير ضارة (Singleton, 1999)، حيث تعد من العصيات سلبية الغرام لأن جدار الخلية يتكون من طبقة رقيقة من الببتيدوغليكان، والغشاء الخارجي من جدار الخلية الجرثومية يشكل حاجزاً أمام بعض الصادات مثل البنسلين(Tortora and Gerard, 2010). وأغلب جراثيم الاشريكية القولونية تكون متحركة وذلك بواسطة سياط محيطية، بعض ذراريها غير متحركة، غير مبوغة وليس لها محفظة إلا عند بعض الأنواع التي تشكل مستعمرات مخاطية، كما تشاهد منفردة أو مزدوجة أو بشكل سلاسل متجمعة، يسهل تلوينها بالملونات العادية(Darnton, 2007) وأن درجة الحرارة المثالية لنمو الإشريكية القولونية هي 37 م° ومع ذلك فقد تم وصف سلالات يمكن أن تنمو على درجات حرارة منخفضة بحدود 7.5 – 7.8 م°، وأخرى يمكن أن تنمو على درجات حرارة مرتفعة تصل إلى 46 م° (Herendeen *et al*,. 1979). ويمكن لبعض الذراري أن تتكاثر في درجات حرارة تصل إلى 49 درجة مئوية (Fotadar, 2005).

2-4- الخواص الكيمياحيوية للإشريكية القولونية:

تستطيع الاشريكية القولونية النمو على الأوساط الزرعية العادية (الاغار المغذي) والمنبت التميزي (ماكونكي) بدون الحاجة إلى مواد مغذية مركزة وبدرجة حرارة 37 C° و**pH**=7.2 وذلك لأنها تمتلك صفة مهمة جداً وهي أنها تخمر سكر اللاكتوز والمنابت التميزية(EMB) وهي قادرة على تخمير العديد من السكاكر مثل اللاكتوز والغلوكوز والسكروز، كما تطلق غاز الأندول، وهي إيجابية لاختبار الكاتالاز

ولاختبار أحمر الميتيل، وسلبية لاختبار الأكسيداز واختبار فوجس بروسكأور، ولا تطلق غاز كبريت الهيدروجين H_2S، كما أنها لا تنمو على وسط سترات الصوديوم (Scheutz and Strockbine, 2005) وتعتبر الإشريكية القولونية من الجراثيم اللاهوائية المخيرة، كما تنمو بسهولة على المنابت العادية حيث أنها تظهر على الشكل التالي:

- ❖ في المرق المغذي يتشكل عكارة على شكل راسب عكر مع أنطلاق رائحة برازية، ويمكن أن ينتشر الراسب عند الرج في الأنبوب.
- ❖ في الآجار المغذي تعطي مستعمرات مدورة بيضاء رمادية قد تكون ملساء الشكل أو مخاطية الشكل أو خشنة الشكل مع رائحة برازية وفي آجارEMB أيوزين وأزرق الميتيلين: تخمر الإشريكية سكري اللاكتوز وتشكل مستعمرات بقطر(2 – 3) ملم مع لمعة خضراء معدنية يزداد بريقها تحت الأشعة فوق البنفسجية. وتكون على منبت (S.S آجار): تشكل مستعمرات مخمرة لسكر اللاكتوز حمراء قرمزية.
- ❖ وتكون على آغار ماكونكي(Maconkey Agar): تخمر اللاكتوز وتشكل مستعمرات حمراء اللون بينما السالمونيلات تشكل مستعمرات شاحبة لأنها لا تخمر سكر اللاكتوز.
- ❖ وأما في الآجار المدمى تكون محللة للدم في ذراري مختلفة (Darnton, 2007).

2- 5- المقاومة للعوامل الفيزيائية والكيميائية Resistance to physical and chemical factors:

تعد التربة الرطبة والمياه الراكدة والمياه قليلة الكلورة والإفرازات المخاطية وحظائر الحيوانات وروثها بيئة مناسبة لنمو وتكاثر الإشريكيات القولونية لفترات طويلة، وهي حساسة لتأثير الكلور والفورمالين وتموت بالتسخين بالدرجة (60) م° خلال عشرين دقيقة (Fotadar et al., 2005) أن ماتحتاجه الإشريكية القولونية للنمو العديد من العناصر مثل الغلوكوز، وفوسفات الأمونيوم، كلوريد الصوديوم (NaCl) سلفات المغنزيوم، فوسفات البوتاسيوم، وماء. وهذه مكونات الوسط المناسب لنمو الإشريكية القولونية (Tortora, 2010) وتلجأ الإشريكية القولونية إلى التنفس الهوائي بوجود الأوكسجين وتنتج (ATP) أدينوزين ثلاثي الفوسفات من خلال انتاج البيروفات الذي يدخل في حلقة تأكسدية وفي حال غياب الأوكسجين يتم التنفس

اللاهوائي أو التخمر حيث يكون لها القدرة على مواصلة النمو في غياب الأوكسجين (Brüssow *et al.,* 2004).

وتنمو الإشريكية على مجموعة من الركائز حيث يمكن أن تستخدم التخمير في الظروف اللاهوائية لانتاج (اللاكتات والسوكسينات والإيتأنول والأسيتات وثأني أوكسيد الكربون)، خلال عدة مسارات في التخمر يتم انتاج غاز الهيدروجين(Madigan *et al.,* 1997).

كما تنمو الإشريكية القولونية بكثافة في البراز في الظروف الهوائية لمدة 3 أيام، حيث تبدأ أعدادها في التناقص بعد ذلك ويشير وجود هذه الجرثومة في الوسط المحيط إلى التلوث بالبراز، لذا غالباً ما يتم استخدامه كمشعرٍ للدلالة على تلوث المياه والحكم عليه فيما إذا كانت صالحة للشرب أم غير صالحة من الناحية الجرثومية، ولا بد من الإشارة إلى أن إضافة الكلور إلى الماء تقضي على جراثيم القولونيات (Russell and Jarvis, 2001).

2-6- عوامل الفوعة لذراري الإشريكية القولونية Virulence factors of E. coli strains:

تمتلك العصيات القولونية الممرضة الكثير من عوامل الفوعة التي تساعد في حدوث المرض ومنها الخمل هي عبارة عن شعيرات دقيقة لا ترى إلا بالمجهر الإلكتروني، حيث يختلف تركيبها البروتيني المستضدي عن البروتين المستضدي للسياط الذي يتحكم بانتاج بلازميدات الإشريكية القولونية (Thakur *et al.,*2013)، والمستضد المحفظي **K** حيث يوجد في القولونيات ذات المحفظة الرقيقة، حيث يمكن إحداث أنتأنات في أعضاء مختلفة للجسم كالأنتأن الدموي Colisepticaemia وأيضا إحداث خثرات داخل الأوعية الدموية(Baumgardner *et al.,* 2009) ، وهذا الذيفان يمكن أن يساهم في إنتانات الدم Colisepticaemia لأنه يخرج بعد موت العصية القولونية وتحلله(Haeckel, 1867) والذيفان المعوي وهو يتكون من نوعين:

أ- **ذيفان معوي مقأوم للحرارة** (Thermostable(ST: وهذا الذيفان المقاوم للحرارة ويتكون من إما Sta أو Stb و يمكن أن يسبب تجريبياً حقن هذا الذيفان المعوي في عروة من أمعاء الأرنب «اللفائفي» تراكماً شديداً للسوائل.

ب- **ذيفان معوي عطوب للحرارة**(Thermolabile (LT: أن هذا الذيفان العطوب للحرارة (LT) يزيد من حركة الأمعاء مما يؤدي الى حدوث الإسهال(Taj *et al.,* 2014) ولكن من أهم هذه الذيفانات (**الذيفان السام لخلايا فيرو Verotoxin**)

وقد وجد (Elliott, 1943) نوعان من الذيفان السام لخلايا فيرو وهما VT_1 – VT_2 ويتكون الذيفان من وحدة فرعية واحدة A وخمس وحدات فرعية متطابقةB (A:B5)، تزن الوحدة الفرعية A (32 كيلو دالتون) وهي مؤلفة من ببتيدين A1 (وزنه الجزيئي 28 كيلو دالتون) ويتضمن A1 الفعالية الأنزيمية، و A2 (وزنه الجزيئي 4 كيلو دالتون)، ويرتبط كل منA1 و A2 مع بعضهما بواسطة رابطة كبريتية ثنائية، ويقوم A2 بربط الوحدة الفرعية A ككل مع الوحدة الخماسية الفرعية B والتي تزن كل منها 7.7 كيلو دالتون، كما يرتبط الذيفان كاملاً بمستقبلات شحمية سكرية Globotriaosylceramide أو GB3 موجودة على سطح الخلايا حقيقية النوى وذلك بواسطة المكون الخماسي للوحدة الفرعية (B) (Tyrrell *et al.,* 1992; Kaper et al., 2004)

وبعد ارتباط الذيفان بالخلية يتم اخذه وينتقل إلى جهاز غولجي وبعدها إلى الشبكة الهيولية البطأنية، ومن ثم تُرجع الوحدة الفرعية A إلى الهيولى وتتموضع على الوحدة S60 للريبوسوم ويعمل الببتيد A1 بشكل نوعي كانزيم N–Glycosidase حيث يقوم بإزالة الأدنين من الرنا الريباسي Ribosomal RNA لريبوزومات الخلايا حقيقية النواة وبالتالي يتثبط تركيب البروتين، الأمر الذي يؤدي في النهاية إلى موت الخلية (Pierard *et al.,* 1991; Sandvig *et al.,* 2010) وتسبب الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو أمراض خطيرة تنتقل عن طريق الغذاء وقد اكتشف مؤخراً أنها سببت العديد من الأمراض لدى الإنسان في جميع أنحاء العالم وبسبب ارتفاع نسبة الوفيات في العالم بسبب هذه الجراثيم فقد تم تسليط الضوء بشكل كبير عليها وحيث كانت موضوع أبحاث ودراسة منذ فترة اكتشافها عام 1982 حيث اشارت جميع الأبحاث والدراسات أن أهم عامل تملكه هذه الجرثومة هو الذيفان السام لخلايا فيرو VTS (OIE,2008)، ويمكن أن يشبه هذا الذيفان في تأثيره الذيفان الذي تفرزه الشيغلا الزحارية *Shiga –liketoxin* وأن وجود الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في اللحوم يمثل خطراً على الصحة العامة وذلك لقدرته على إحداث التسمم الغذائي، تتواجد هذه الجراثيم في الأغشية المخاطية والتجويف الأنفي والجلد لدى الإنسان والحيوان، لذا يمكن أن تنتقل هذه الجراثيم من الحيوان إلى الغذاء(المنتجات الحيوانية) أو يمكن تنتقل من المصادر البشرية والبيئة خلال عملية التجهيز والتصنيع وعادة ما يكون التلوث العالي بالايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو مرتبطاً بالنظافة الشخصية للعاملين(Hatakka *et al.,* 2000) وبالنسبة للحوم تعدَ النظافة في المسلخ ومحلات بيع اللحوم وتقنيات الذبح والنقل والتخزين من العوامل الهامة في تلوث اللحوم الايشريكية القولونية المنتجة

للذيفان السام لخلايا فيرو، حيث يمكن أن تنتشر هذه الجراثيم بسهولة إلى جميع أجزاء الذبيحة أثناء عملية الذبح والتقطيع والبيع والتداول (Gill *et al.,* 2001).

2-7- الإمراضية Pathogenicity:

تعد الإشريكية القولونية هي العامل المسبب لأكبر عدد من الأمراض البولية، وبعد استعمال أدوات استقصاء السبيل البولي كالقثاطر catheters وغيرها، كما أن التشوهات التشريحية الولادية congenital، وحُصيَّات calculus الجهاز البولي تزيد من إمكانية حدوث المرض، وتُقسم الأمراض إلى منخفضةٍ تصيب المثأنة، وعاليةٍ تصيب الكليتين. أن نسبة حدوث المرض، في هذه الإصابات، عند النساء أكثر منها عند الرجال لسهولة انتقال الجراثيم من البراز إلى السبيل البولي مخترقاً الإحليل القصير للمرأة. كما أن الحمل، مسبب لركودة بولية، وانتشار مستقبلاتها receptors على طول خلايا الجهاز البولي حتى الكليتين، لذا فأن القولونيات التي تملك هذه الخصائص تصل إلى القسم العلوي من الجهاز البولي وتستولي عليه فتسبب التهاب الكلية والحويضة، وتجري اليوم أبحاث لهذه المواد اللاصقة بغية إيجاد وسائل تقي الأفراد المعرضين لخطر التهاب الكلية والحويضة (Todar, 2007) وأن بعض الذراري تطور الصفات التي يمكن أن تكون ضارة للمضيف. هذه الذراري عادة ما تسبب نوبة الإسهال في البالغين الأصحاء، وغالباً ما تكون قاتلة للأطفال في العالم النامي. المزيد من السلالات مثلO157: H7 تسبب مرضاً خطير أو موت عند كبار السن، أو الصغار جداً (Nassef and Badr, 2016). وفي دراسات علمية أيضاَ أظهرت أن الإشريكية القولونية سبباً شائعاً لإنتانات الجهاز البولي، حيث أنها قد تسبب التهاب الإحليل أو المثانة أو التهاب الحويضة والكلية – وهي السبب الأبرز لالتهاب السحايا عند الاطفال – كما تسبب داء القولونيات *Colibacillosis* والإنتان الدموي القولوني *Colisepticemia* وتسبب التهاب الضرع عند الأبقار والماعز والأغنام والتهاب السرة عند صيصان الدجاج والدجاج الرومي (Das *et al.,* 2014).

وتعتبر متلازمة إنحلال الدم اليوريمية والتهاب القولون النزفي من أشد الأمراض التي يمكن أن تسببها هذه الجراثيم ولأنها تتواجد مرافقة لايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو وتعتبر الحيوانات المجترة الثوي الخازن لهذه الجراثيم وتعد منتجات الحيوانات من لحوم والحليب الملوثين بهذه الجراثيم العامل الأساسي التي تنتقل عن طريقه للإنسان(Rhoades *et al.,* 2009) وفي ألمأنيا تسببت

الايشريكية القولونية بوفاة53 شخص لم يستطع الأطباء مساعدتهم بسبب النزيف وبعد دراسات عديدة توصل الباحثون في جامعة هومبولد بألمانيا إلى معرفة كيف تسبب الإشريكية القولونية أحياناً النزيف ويعمل الباحثون في جامعة هومبولد ببرلين على طرق تمنع الإشريكية القولونية من بناء تلك الشبكات اللاصقة في الأمعاء وفي برلين توصل الباحثون إلى أن الإشريكية القولونية تنتج شبكة لاصقة على جدار الأمعاء الغليظة مما يتسبب الالتهاب. ومن مواضع الالتهاب تتمكن الجراثيم من الوصول إلى المجاري الدموية. ومنها إلى الكلى حيث تصيبها بما تفرزه من سموم (Pulmonary, 2014). ويمكن أن يصاب الإنسان بالإشريكية القولونية عند تناول اللحوم غير مطهية جيداً، ويزداد نشاط الإشريكية القولونية نتيجة تناول الأدوية المثبطة للمناعة والتي تؤدي إلى ضعف مناعة الجسم مما يؤدي لحدوث إنتانات ثأنوية، وأن تناول الأطعمة في المطاعم ذات الخدمة السيئة والإجراءات الصحية المتدنية يعد من أكبر بل أهم أو أكثر الاسباب للإصابة بلإشريكية القولونية ومن أهم أنواع اللحم التي يمكن أن تنقل الإشريكية القولونية هي لحوم (البقر والماعز)، وكانت أول إصابة بالإشريكية القولونية قد سجلت عام 1982ارتبطت بلحوم الأبقار والتي كانت غير مطهية بشكل كافٍ(Deschenes *et al.,* 1996).

2-8- مجموعات الإشريكية القولونية الممرضة Pathogenic E. coli groups:

تمتلك الإشريكية القولونية عدة عوامل إمراضية تساهم في إحداث المرض في العضوية منها الخمل Fimbria or Pili والمحفظة والذيفانات الداخلية والذيفانات المعوية الخارجية والذيفان السام لخلايا فيرو وحسب قدرتها الأمراضية وتصنف الإشريكية القولونية المسببة لأمراض معوية للإنسان إلى ست مجموعات ممرضة رئيسية، وذلك اعتماداً على آلية أمراضيتها ووجود عوامل الضراوة ونمط تفاعلها مع النسيج وإفراز الذيفانات وهي:

2-8-1- الإشريكية القولونية الممرضة للأمعاء Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC):

يعرف هذا النوع بأنه المسبب الرئيسي للإسهال عند الأطفال في الدول النامية والمتقدمة، وتشير التقديرات إلى أن هذه السلالة تسبب ما لا يقل عن 117 مليون حالة إسهال سنوياً في البلدأن النامية(Clarke, 2003) ويشكل الإنسان خزان العدوى الرئيس للإشريكية القولونية الممرضة للأمعاء EPEC وقد تم عزلها من مصادر متنوعة من الغذاء (Maity et al., 2010)، حيث تنتقل العدوى بالإشريكية القولونية الممرضة للأمعاء عبر الطريق البرازي – الفموي من خلال الأيدي أو الغذاء الملوث

(Soomro *et al.,* 2002; Vallance and Finlay, 2000) وتقدر الجرعة الممرضة من EPEC بمليون خلية جرثومية تقريباً(Feng *et al.,* 2011) ويمكن أن تكون الإصابة خفيفة أو شديدة ومن أهم أعراضها المرضية الإسهال المائي والقيء والحمى، وقد تكون فترة الإصابة طويلة في بعض الأحيأن تصل إلى 21 – 120 يوم (Feng, 2012) وتعزى آلية أمراضية هذه السلالة إلى امتلاكها عوامل الضراوة، وأهمها الآفات الطامسة والماحية والمشفرة بواسطة مجموعة من المورثات الصبغية التي تقع في جزء صبغي يدعى موقع طمس الخلية المعوية locus of enterocyte effacement (LEE) (Deborah Chen and Frankel, 2005; Kaper *et al.,* 2004). ويؤدي تكوين الآفات إلى أنخفاض في قابلية الامتصاص للطبقة المخاطية المعوية وبالتالي تعطيل التوازن الإلكتروليتي وحدوث الإسهال(Clarke *et al.,* 2003) .

وقد أدت تطورات التقنيات المستخدمة لفهم أفضلَ للجينوم وآلية الفوعة بين سلالات الإشريكية القولونية الممرضة للأمعاء إلى تصنيف هذه السلالة إلى نوعين فرعيين: الإشريكية القولونية الممرضة للأمعاء النموذجية Typical EPEC والإشريكية القولونية الممرضة للأمعاء غير النموذجية (Trabulsi *et al.,* 2002) ، حيث تمتلك الإشريكية القولونية الممرضة للأمعاء النموذجية بلازميد ضراوة يعرف باسم EAF (EPEC adherence factor)، والذي يؤدي دوراً في التصاق الإشريكية القولونية الممرضة للأمعاء (EPEC) وذلك عن طريق تكوين الشعيرات المكونة للحزم، في حين لا تملك الإشريكية القولونية الممرضة للأمعاء غير النموذجية typical EPEC هذا البلازميد (Poolman, 2017)، كما أن تشخيص هذه السلالة كان يعتمد في السابق على التنميط بالطرائق المصلية، أما حالياً فيتم تشخيصها باستخدام اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR والطرائق الجزيئية (Giannino *et al.,* 2009).

2-8-2- الإشريكية القولونية المتكدسة في الأمعاء Enteroaggregative Escherichia coli (EAEC):

تسبب الإشريكية القولونية المتراكمة في الأمعاء EAEC الإسهال المزمن عند الأطفال والبالغين من خلال التصاقها بالخلايا المعوية وتكوين طبقة لزجة على سطح الغشاء المخاطي، وهي مسؤولة عن العديد من حالات إسهال المسافرين والذي غالباً ما يكون مائياً مصحوباً بالمخاط أو الدم (Kaur *et al.,* 2010)، ويشكل الغذاء الملوث مصدراً رئيسياً للعدوى بهذه السلالة (Hedberg *et al.,*1997)، وتعود آلية أمراضيتها لمقدرتها على الالتصاق على الخلايا على شكل تكدسات Aggregates وانتاج الذيفان

المعوي المقاوم للحرارة enteroaggregative E. coli heat-stable enterotoxin EAST-1 (1)، وكذلك إفرازها لبروتين dispersin ذي الوزن الجزيئي 10 كيلو دالتون، والذي يلعب دوراً كبيراً في إمراضيتها حيث يسهل انتشارها على الطبقة الظهارية للأمعاء (Nishi *et al.,* 2003). وقد سجلت بعض الدراسات أن EAEC مسؤولة عن العديد من حالات الإسهال في كل من البلدأن النامية والمتطورة (Weintraub, 2007).

2-8-3- الإشريكية القولونية الغازية للأمعاء Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC):

تتشابه هذه السلالة مع جنس الشيغيلة في آلية إمراضيتها، حيث أن كليهما يسبب متلازمة الإسهال الحاد والتهاب القولون، كما توجد العديد من الصفات الكيمياحيوية المشتركة بينهما كونها غير متحركة وغير مخمرة للاكتوز،(Van *et al.,* 2012)، يشكل الإنسان المصاب بهذه السلالة مصدراً رئيسياً للعدوى عبر الطريق البرازي الفموي، وعلى الرغم من انتشاره في جميع أنحاء العالم إلا أنها شائعة الانتشار بخاصة في البلدأن النامية(Vieira *et al.,* 2007).

وتعزى آلية إمراضية الإشريكية القولونية الغازية للأمعاء إلى قدرتها على اجتياح الطبقة الظهارية المبطنة للأمعاء الغليظة، وفي موضع الإصابة تعمل على التكاثر في سيتوبلازما الخلية المضيفة، ومنها تنتقل إلى الخلايا الأخرى المجاورة فتسبب تقرحاً وبالتالي يؤدي إلى ظهور أعراض الإسهال المصحوب بالدم ويصاب بمرض داء الزحار العصوي(Perry *et al.,* 2010) تقدر حالات الإصابة بأكثر من 150 مليون حالة إصابة سنوياً، منها حوالي مليون حالة وفاة (Kotloff *et al.,* 1999).

2-8-4- الإشريكية القولونية المنزفة للأمعاء Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC):

عرفت هذه السلالة لأول مرة عام1982 بوصفها مسبباً للإسهال الدموي وحالات الإصابة بمتلازمة إنحلال الدم اليوريمية، حيث سُجلت حالتأن من التهاب القولون النزفي الذي اقترن بتناول هامبرغر غير مطهو طهواً جيداً وقد أظهرت نتائج التشخيص أن المسبب الرئيسي لهذه الحالات هي الإشريكية القولونية ذات النمط المصلي O157:H7 (Bettelheim, 2003; Muto *et al.,* 2008)، حيث يعد النمط المصلي O157:H7 النمط الأكثر شيوعاً من هذه السلالة والمسؤول عن العديد من الأمراض التي تنتقل عن طريق الغذاء، بما في ذلك تفشي وباء التهاب القولون النزفي في الولايات المتحدة الامريكية عام

1993 والذي ترافق باستهلاك شطائر الهامبرغر (Kotloff *et al.,* 2013)، تنتقل هذه السلالة للإنسان بالتماس المباشر بين شخص وآخر وذلك لقلة الجرعة المعدية التي تكون أقل من 100 خلية جرثومية، أو من التماس المباشر مع الحيوانات المصابة وروثها، أو من تناول الغذاء الملوث والمنتجات الحيوانية (Cagney *et al.,* 2004)، وتعدَ الأبقار والمجترات المصدر الرئيسي لتلوث الغذاء والتربة والمياه ويتلوث الغذاء خلال مراحل التحضير والتصنيع والتعبئة ولا سيَما اللحوم وحليب الأبقار (Crump *et al.,* 2002)

تظهر الأعراض خلال 3 – 4 أيام من تناول الغذاء الملوث بهذه السلالة وتشمل إسهالاً مائياً وآلام بطنية شديدة تتطور إلى إسهال دموي مصحوباً أحيأنا بارتفاع درجة الحرارة، وأن حوالي 6% إلى 25% من المصابين تتطور حالتهم إلى ما يعرف بمتلازمة أنحلال الدم(HUS) اليوريمية Hemolytic– uremic syndrome)، حيث تتكسر الكريات الحمراء وتتطور الحالة إلى الفشل الكلوي، وتزداد خطورة المرض وشدته عند الاطفال دون سن الخامسة ولدى كبار السن (Bryan *et al.,* 2015).

وتعزى أمراضية الإشريكية القولونية المنزفة للأمعاء EHEC بالدرجة الأولى إلى قدرتها على انتاج الذيفان السام لخلايا فيرو verotoxin أو شيغا توكسين Shiga toxin، وهي مادة سامة تصنف على أنها عامل بيولوجي حيث أن هذه المادة السامة تسبب إتلاف لخلايا الدم الحمراء والكلى، مما يسبب متلازمة الأنحلال الدموي البولي (HUS)، وهذا بدوره يسبب الجلطة الدماغية الناجمة عن خثرات صغيرة من الدم في الشعيرات الدموية للدماغ، وهذه السلالة تتسبب في تراكم السوائل والكلى، هذه الزيادة في تراكم السوائل وخصوصاً حول الرئتين تعرقل سير عمل القلب مما ينتج عنها ارتفاع في ضغط الدم(Roy, 2016) .

في دراسة أخرى تشير التقديرات إلى أن الإشريكية القولونية H7:O157 تسبب حوالي 73500(حالة مرضية)، و 60 حالة وفاة سنوياً في الولايات المتحدة الأمريكية(Naugle *et al.,* 2005).

2-8-5- الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان المعوي Enterotoxigenic E. coli (ETEC):

تسبب هذه السلالة الإسهال المائي عند الأطفال والبالغين في المناطق النامية وكذلك تسبب إسهال المسافرين، حيث تتسبب هذه السلالة بنحو 280 مليون حالة إسهال وأكثر من 380000 حالة وفاة سنوياً تحدث الإصابة بـ ETEC عن طريق تناول الغذاء والمياه الملوثة(Dalton *et al.,*1999).

2-8-6- الإشريكية القولونية ذات الانتشار الملتصق Diffuse-adhering Escherichia coli (DAEC):

تتميز هذه السلالة بنمط الالتصاق المنتشر الذي تتمكن بواسطته من أن تغطي كامل سطح الخلية ويمكن تمييز هذه السلالة من التصاقها بخلايا (Human epithelial type 2) HEP-2 وحدوث الإسهال المائي عند الأطفال(Servin, 2005)، وهي غير قادرة على إختراق الخلايا الظهارية للأمعاء ولا تقوم بانتاج الذيفانات المعوية (Welch, 2006) .

2-9- الكشف عن الإشريكية القولونية E. coli Detection:

من الصعب تمييز الإشريكية القولونية الممرضة عن تلك المتعايشة غير ممرضة باستخدام طرق التشخيص التقليدية لذلك تم استخدام التقنيات الجزيئية ومنها تقنية الـ PCR في تحديد المورثات المشفرة لعوامل الضراوة في العزلات الجرثومية ومن هذه الطرق:

2-10- اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل(PCR) Polymerase chain reaction test:

في العام 1983 أحدثت ثورة حقيقية في علم البيولوجيا الجزيئية، وهي الأن من أكثر التقنيات الجزيئية استخداماً في مخابر الأبحاث حيث ابتكر العالم Kary mullis تقنية جديدة تسمح بتضاعف تسلسل من DNA في أنبوب اختبار أطلق على هذه العملية مصطلح تفاعل البوليميراز المتسلسل، حيث تعتمد تقنية الـ PCR هذه بالأساس على تضاعف الـ DNA بتواسط أحد أنزيمات البوليميراز Polymerase DNA والذي يتطلب خيط DNA مفرد السلسلة، مرئسات Primer و يتم إجراء تفاعل PCR في جهاز خاص يسمى المدور الحراري thermocycler وفيه يتم تطبيق ثلاث درجات حرارية كل منها يخص مرحلة معينة ولفترات زمنية كافية ويتم تفاعل الـ PCR في ثلاث مراحل:

2-10-1- مرحلة التمسخ Denaturation: حيث يتم تسخين مزيج التفاعل لدرجات حرارة تتراوح بين 100-90 مْ ولمدة (1-2) دقيقة وذلك لكسر الروابط الهيدروجينية بين الأسس الآزوتية الموجودة على خيطي الـ DNA المتتامين وبذلك ينتج لدينا قالب DNA جاهز للتفاعل.

2-10-2- مرحلة الالتحام Annealing: يتم فيها إنضمام المرئسات إلى أماكنها المقابلة على سلسلة الـ DNA المراد تضخيمها، وذلك بخفض درجة الحرارة إلى درجة حرارة تتناسب مع درجة أنصهار المرئسات Tm تكون عادة ضمن المجال 65-45 مْ لمدة دقيقة أو أقل.

2-10-3- مرحلة الاستطالة Extension: يتم فيها ضم النيكليوتيدات الحرة الى سلسلة ال DNA المتشكلة حيث تطبق في هذه المرحلة درجة الحرارة 72 مْ وهي الدرجة المناسبة لعمل أنزيم Taqpolymerase، ويختلف زمن هذه المرحلة تبعاً لطول القطعة المضخمة وسرعة عمل أنزيم البوليميراز،فمن أجل أنزيم Taqpolymerase الذي يعدَ الأنزيم الأكثر استخداماً يبلغ زمن هذه المرحلة دقيقة واحدة لكل طول قدره 1000 bpبعد نهاية عدد الدورات المحددة تبدأ مرحلة مشابهة للمراحل الأخرى السابقة وتسمى مرحلة الاستطالة النهائية final extension وتطبق لفترة أطول من 10-5 دقائق والغرض منها ضمأن إكمال ضم النيكليوتيدات للعدد الهائل المتشكل من القطع الذي يفوق قدرة أنزيم البوليميراز في أثناء عملية التنأوب السريعة نسبياً بين درجات الحرارة الثلاث.

وتتوقف الزيادة الأسية لكمية الدنا المضخم بعد عدد محدود من الدورات يتراوح غالبا من40 -20 دورة بحسب كمية الدنا الموجودة في بداية التفاعل، حيث يدخل التفاعل في مرحلة تزداد كمية ناتج الـ PCR بشكل أقرب إلى الخطي ثم يتوقف التضخيم بشكل كامل أو شبه كامل بسبب استهلاك مكونات التفاعل ومنافسة ناتج التضخيم للمرئسات وتدعى هذه المرحلة بمرحلة الاستقرار (Mcpherson *et al.,* 2006)

وقد استخدمت تقانة الـ PCR في العديد من الأبحاث العلمية بقصد الكشف عن المورثات المشفرة لكل من الذيفان السام لخلايا فيرو والذيفان المعوي المقأوم للحرارة والحساس للحرارة، والتي تعدَ من أهم عوامل الضراوة التي تمتلكها الإشريكية القولونية الممرضة للإنسان، إذ يمكن من خلال هذه التقأنة (PCR) تحديد وجود أو غياب تلك المورثات.

في دراسة أجريت في الولايات المتحدة الامريكية فقد وجد (Zhao *et al.,* 2002) أن نسبة انتشار الإشريكية القولونية في لحوم الأبقار19% من العينات المدروسة.

وفي دراسة أجراها (Tutenel *et al.,* 2003) حيث قام بجمع عينات من اللحوم الموجودة في السوق في المتاجر ومحلات بيع اللحوم المسالخ في بلجيكا وتقصى عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو EHEC O157:H7 حيث وجد أن نسبة انتشار EHEC O157:H7 في لحوم الأبقار المفرومة 1.02% في ذبائح الأبقار حيث كانت جميع الذراري المعزولة تملك الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو في حين كانت سلبية في لحوم الدجاج.

وفي دراسة أجراها الصافي والرعوف (2003) للكشف عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيروVTEC O157:H7 في المنتجات الغذائية المصرية الشائعة في الأسواق حيث ثبت وجود VTEC O157 :H7 في لحوم الأبقار بنسبة 5% وفي لحوم الدجاج 5% وفي لحوم الاغنام بنسبة4% وكانت جميع ذراري المعزولة منتجة للذيفان السام لخلايا فيرو 1−2 اثناء اجراء الاختبار.

وفي دراسة أجراها (Zweifel and Stephan, 2003) وذلك لمعرفة مدى تلوث لحوم الأغنام الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيروH7: O157 VTEC في المسالخ في سويسرا وبلغت نسبة انتشارH7: O157 VTEC 36.6% في ذبائح الأغنام وكانت 57.1% من النتائج تحمل ذراري الجين المشفر السام لخلايا فيرو vt2 واستنتج الباحثان أن لحوم الأغنام تشكل منفذ هام تدخل من خلالها الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في السلسلة الغذائية في سويسرا.

وفي دراسة قام بها (Murphy *et al.,* 2005) لعدد من العينات 800 عينة من لحوم الأبقار المفرومة من أماكن جغرافية مختلفة في ايرلندا وذللك للتقصي عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في هذه العينات حيث أظهرت النتائج وجود o26 في العينات بنسبة 0.25% وكانت نتائج هذه العينات سالبة لوجود الجينات المشفرة للذيفانات السامة لخلايا فيرو (vt1,vt2).

وقد كشف الباحث (Carny *et al.,* 2006)عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو من النمط O157 في ذبائح الأبقار في المسالخ في ايرلندا حيث تم استخدام تفاعل البولميراز المتسلسل المتعدد للكشف عن الجينات المشفرة لكل من الذيفان السام لخلايا فيرو (vt1,vt2) في جميع النتائج الإيجابية للذراري ودلت النتائج على وجود الVTEC O157:H7 بنسبة 3.0% من العينات.

وفي دراسة أجريت في الجزائر لتقييم المستوى الصحي بالنسبة للمسالخ قام (Chahed *et al.,* 2006) وذللك للتقصي عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو وذلك بجمع العينات بعد الذبح ونزع الاحشاء حيث كانت نسبةVTEC 20% في العينات وقد تم عزل 18 ذرية تنتمي للنمط المصلي H7:O157 كانت 78% منها تمتلك الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو وقد استنتجوا أن نسب الانتشار الكبيرة بشكل عام VTEC وبشكل خاص VTEC O157:H7 هي المسبب لأمراض التي تنتقل عن طريق الغذاء في العالم وهذا يدل على المستوى المتدني للإجراءات الصحية في المسالخ ويجب التركيز على هذه الموضوع بشكل أكبر.

وفي دراسة أجراها (Yadav *et al.,* 2007) بحثاً عن وجود الإشريكية القولونية الحاملة للمورثات المشفرة لكل من الذيفانات ST، LT، VT1، VT2 في عينات اللحوم الاغنام في الهند وقد أظهرت نتائج تفاعل البوليميراز المتسلسل(PCR) وجود المورثات st، lt، vt1، vt2بنسبة 6.67%، 26.67%، 60%، 40% على التوالي.

وقد كشف في عام (Cobbold *et al.,* 2008) عن الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في لحوم الأبقار في الولايات المتحدة الامريكية، وكانت نسبة انتشار الجرثومة بالاعتماد على نتائج الكشف عن المورثات المشفرة للذيفانات السامة لخلايا فيرو vt1،vt2 : 36% في لحوم الأبقار الطازجة، 21% في الحليب الخام .

وفي دراسة أجراها (Beneduse *et al.,* 2008) طيلة فترة 4 اشهر بجمع عينات من لحوم الأبقار الطازجة 100 عينة من أماكن بيعها في المغرب وذلك من خمس مدن مختلفة وكشفوا فيها عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو VTEC O157وتم عزل 9 ذراري O157 (9%)من7 متاجرمن اصل 15 متجر تم جمع عينات منها وبينت النتائج وجود ذرتين ايجابيتين لامتلاكهما الV1 بشكل.

وفي دراسة أجريت في الأردن قام فيها (Tarawneh *et al.,* 2009) للكشف عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في الاغنام والماعز حيث بينت النتائج أن ذراري الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيروVTEC تشكل 6.4%و21% من ذراري الايشريكية القولونية المعزولة من المسالخ ومحلات الجزارين على التوالي وكانت 95% من ذراري ال VTEC المعزولة تملك الجين المولد للذيفان السام لخلايا فيرو −1 وعند اجراء التنميط المصلي لذراري الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو المعزولة كانت جميعها تنتمي لل VTEC Non o157 باستثناء ذرتين كانتا من الزمرة المصلية VTEC O157.

وفي دراسة لتحديد مدى تلوث لحم الجاموس المستورد قام نعمة (2010) بجمع 40 عينة من لحم الجاموس المجمد المستوردة المأخوذة من خمسة أماكن مختلفة من الأسواق المحلية ضمن مدينة حماة وأجريت عليها الفحوصات الجرثومية، حيث أظهرت النتائج أن التعداد العام للجراثيم تتراوح بين (10^5 – 10^4) خلية/غ، وقد تم عزل العديد من الأنواع الجرثومية حيث وجد نسبة انتشار الإشريكية القولونية بنسبة 41.66 %.

وفي دراسة جزيئية ومناعية لجراثيم الإشريكية القولونية المُمْرِضة في عينات لحوم جُمعت من مناطق مختلفة في لاهور قام بها (Malik and Memona, 2010) حيث استند هذا البحث إلى الفحص الميكروبي والمناعي والدراسة الجزيئية للجراثيم المسببة للأمراض الإشريكية القولونية في عينات اللحوم (لحم البقر والضأن والسمان والأسماك). جُمعت ثلاثمائة عينة لحوم من مناطق مختلفة في لاهور. استُخدم مرق الصويا التربسيني وآجار ماكونكي لنمو وتحديد الإشريكية القولونية، بينما حُضّر مرق مُخصّب مُضاف إليه نوفوبيوسين لعزل الإشريكية القولونية O157:H7. من بين 300 عينة، تم تحديد 225 عينة على أنها ملوثة بالإشريكية القولونية بطريقة الاستزراع. أنتجت أجسام مضادة للإشريكية القولونية O157:H7 المُمرضة عن طريق تحصين الأرأنب بمزرعة نقية مُنمّاة من الإشريكية القولونية O157:H7 المُمرضة، أُجريت دراسات مناعية (اختبار البقع النقطية واختبار الممتز المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA) على جميع عينات اللحوم باستخدام الأجسام المضادة متعددة النسائل المُنتجة، وتم التحقق من النتائج باستخدام الأجسام المضادة أحادية النسيلة التجارية (مضاد الإشريكية القولونية O157:H7)، والتي أكدت وجود الإشريكية القولونية المُمرضة في عينات اللحوم الملوثة التي جُمعت. شملت الدراسات الجزيئية استخلاص الحمض النووي الريبوزي (DNA) والحمض النووي الريبوزي (RNA) باستخدام أدوات تجارية، لدراسة أنماط نطاقات الحمض النووي الجينومي وتحليل الحمض النووي الريبوزي (RNA) للإشريكية القولونية O157:H7 المُمرضة، أُجريت عملية الرحلان الكهربائي للهلام الأغاروزي. استُخلصت البروتينات الخام من مزرعة نقية للإشريكية القولونية O157:H7 المزروعة على بيئات أنتقائية، ورُصدت أنماط نطاقاتها عن طريق التحلل باستخدام الرحلان الكهربائي للهلام البولي أكريلاميد SDS.

وفي دراسة قام بها زهرة (2010) بالتقصي عن الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في بعض المنتجات الحيوانية بالإضافة إلى روث كل من الأغنام والأبقار. وقد تم عزل 78 ذرية من الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في هذه الدراسة، وبينت نتائج تفاعل البوليميراز المتسلسل أن 33.3 % من هذه الذراري تملك كلاً من المورثة المشفرة للذيفان السام لخلايا فيرو– 1 و– 2 (vt1,vt2)، و 44.9% منها تملك المورثة المشفرة للذيفان السام لخلايا فيرو –1، و21.8% منها تملك المورثة المشفرة للذيفان السام لخلايا فيرو –2 فقط.

وفي دراسة(Rahimi *et al.,* 2012) انتشار الإشريكية القولونية O157:H7/NM في لحوم البقر النيئة والإبل والأغنام والماعز والجاموس المائي في محافظتي فارس وخوزستان، إيران وقد هدفت هذه الدراسة إلى دراسة انتشار الإشريكية القولونية O157:H7/NM في عينات اللحوم النيئة من محافظتين في إيران. خلال الفترة من مارس 2010 إلى مارس 2011، جُمعت 295 عينة لحوم نيئة من لحوم البقر (عددها 85)، والإبل (عددها 50)، والأغنام (عددها 62)، والماعز (عددها 60)، والجاموس المائي (عددها 38). كانت 14 عينة (4.7%) من أصل 295 عينة إيجابية للإشريكية القولونية .O157 تم العثور على أعلى معدل انتشار لـ E. Coli O157 في عينات لحوم البقر (8.2٪)، تليها الجاموس المائي (5.3٪)، والأغنام (4.8٪)، والإبل (2.0٪)، والماعز (1.7٪). من بين أربعة عشر عزلة من .E coli O157، تم تحديد واحدة فقط على أنها من النمط المصلي O157: H7 بينما تم تحديد 13 على أنها من النمط المصلي .O157: NM من بين 14 عزلة منE. coli O157: H7 / NM.، كانت سلالة وادة وأربع سلالات واثنتان وسلالة واحدة إيجابية لجينات stx1 و stx2 و eaeA و ehlyA على التوالي. تباين معدل انتشار هذا الكائن الحي بين المواسم مع أعلى معدل انتشار لـ E. coli O157 يحدث في الصيف (9.3٪). أظهرت نتائج هذه الدراسة أن لحم البقر والجاموس المائي مصدر مهم لعدوى EHEC E. coli O157: H7/ NM لدى البشر في إيران. توفر البيانات الواردة في هذه الدراسة بعض الخطوط الأساسية المفيدة في تكوين الأبحاث المستقبلية مثل الأعمال الجزيئية أو الوبائية.

وفي دراسة قام بها (Kay *et al.,* 2013) أُجريت هذه الدراسة لتقدير مدى انتشار مقاومة المضادات الحيوية لأنواع السالمونيلا، والإشريكية القولونية، والمعوية، والمكورات العنقودية الذهبية في اللحوم في المملكة العربية السعودية. تم شراء عينات من اللحوم المحلية والمستوردة لحوم (البقر، والإبل، والضأن) ولحوم الدواجن من منافذ البيع بالتجزئة المحلية في منطقة الرياض. لوحظ وجود بعض التلوث من كل نوع من الجراثيم في جميع أنواع اللحوم التي تم تحليلها، حيث كانت الإشريكية القولونية الأكثر انتشارا بنسبة 72.2%، والمكورات المعوية بنسبة 26.2%، فقد كانت الإشريكية القولونية فكانت مقاومة للأمبيسيلين (44%)، والسالمونيلا مقاومة للسيفتيوفور (67%). يُعدّ التلوث البكتيري للحوم مشكلةً عالمية، وينبغي النظر في تحسين أساليب تطهير الحيوانات المستخدمة في الغذاء وأسطح العمل أثناء تجهيز اللحوم للحدّ من مستويات الجراثيم التي تنتقل إلى المنتج النهائي. وسيساعد هذا أيضًا في الحدّ من الأزمة المتنامية لمقاومة المضادات الحيوية البكتيرية.

وفي دراسة (Hassan et al., 2013) في إيران انتشار مجموعات مصلية من الإشريكية القولونية المنتجة لسموم الشيغا في لحوم المجترات وذلك لتقييم وجود الإشريكية القولونية ومجموعاتها المصلية وعوامل الضراوة وخصائص مقاومة المضادات الحيوية في لحوم المجترات، تم جمع ما مجموعه 820 عينة من اللحوم النيئة ثم تقييمها باستخدام طرق الثقافة وتفاعل البوليميراز المتسلسل وانتشار القرص كانت 238 عينة (29.02%) إيجابية لوجود الإشريكية القولونية كان لدى جميع العزلات أكثر من جين ضراوة واحد بما في ذلك Stx1 وStx2 تم العثور على جميع المجموعات المصلية التي تم التحقيق فيها في لحوم البقر والأغنام وجميعها باستثناءO145،O121 ،O128وجدت في الماعز، تم العثور على المجموعات المصلية O91، O113، O111، O103، O26، O157 في الإبل، بشكل عام، كان مزيج blaSHV – aadA1 هو جين مقاومة المضادات الحيوية الأكثر انتشارا. لوحظت أعلى مقاومة لسلالات STEC ضد البنسلين، بينما كانت مقاومتها للنيتروفورانتوين والسيبروفلوكساسين ضئيلة وقد أظهرت هذه النتائج ضرورة إعادة النظر في الرعاية الصحية وتفتيش اللحوم في المسالخ في إيران.

وفي دراسة أجراها (Das et al., 2014) تم فحص (25) عينة من لحوم الأبقار المأخوذة من متاجر في ماليزيا، وأخذ (25)غرام من كل عينة لحم بقري مع (225) مل من وسط مغذي لمدة 2 دقيقة ثم حضنت عند درجة حرارة °C 37 لمدة 4 ساعات، ثم تم تخفيفه في ماء التريبتون (1٪ تريبتون، و0.5٪ كلوريد الصوديوم) ثم التلقيح على آجار ماكونكي وحضنت بين عشية وضحاها في °37C، وقد تم اختيار من (50 –20) مستعمرة لكل عينة وفحص التخمير للاكتوز وأظهرت النتائج لون أخضر معدني على يوزين الميثيلين الأزرق آجار، ومستعمرات حمراء قرمزية على آجار ماكونكي.

وفي دراسة (حرستاني، 2013) أجريت للكشف عن تواجد بكتريا الايشريكية القولونية E.coli o157:H7 واعدادها في لحم البقر الطازج وذلك في خمس مناطق مختلفة من محافظة البصرة وخلال الفترة الممتدة مابين شهر كانون الثاني عام 2013 وحتى شهر كانون الأول 2013 وقد تم الحصول على 27 عزلة موجبة لبكتريا E.coli o157:H7 من اصل 540 عينة لحم مفروم طازج ونسبة 5% من مجموع العينات طول فترة مدة البحث وقد اعتمد في تشخيص الايشريكية القولونية الفحوصات المخبرية المظهرية والاختبارات الكيمياحيوية باستخدام وسط ماكونكي سوربيتول وباستخدام العتيدة Apl20E وكيت التشخيص لاتكس حيث أوضحت النتائج أن لحم البقر الطازج في منطقة ابو الخصيب كانت الاقل تلوثا ببكتريا القولون حيث بلغ متوسط لوغاريتم أعداد جراثيم القولون Cfulg 1.52.

وفي دراسة قام بها (Chandraval and Chandan, 2016) انتشار تلوث الأسماك والروبيأن بجراثيم الإشريكية القولونية (Escherichia coli) المباعة في أسواق التجزئة في كلكتا، الهند، خلال مواسم مختلفة. تم التعرف على جراثيم الإشريكية القولونية من خلال اختبارات ميكروبيولوجية وكيميائية حيوية قياسية، وتم تأكيدها أيضاً باستخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) باستخدام الرنا الريبوسومي S16. تم تقييم حمولات الجراثيم القولونية البرازية في عينات الأسماك والروبيان. تم الكشف عن الجراثيم في 138 عينة (80.70%) من أصل 171 عينة جُمعت من أسواق بيع أسماك مختلفة في كلكتا والمناطق المحيطة بها تم اكتشاف جراثيم الإشريكية القولونية في الأسماك (65%) والروبيأن (85%) وقد ازدادت الإشريكية القولونية بشكل ملحوظ في أشهر الصيف مقارنةً بالشتاء.

وفي دراسة قام بها (Mohammad *et al.,* 2016) على لحوم الإبل وأحشاءها كناقلات لجراثيم الإشريكية القولونية والسالمونيلا مع التركيز بشكل خاص على أهميتها الحيوانية المنشأ حيث جُمعت 75 عينة عشوائية من لحوم الإبل المباعة بالتجزئة، وكبدها، وكلاها (25 عينة من كل نوع) من محلات جزارة ومسالخ مختلفة في محافظة البحيرة. خضعت العينات المجمعة للفحص البكتيري للكشف عن الإشريكية القولونية والسالمونيلا. وأوضحت النتائج أن الإشريكية القولونية اكتُشفت بنسبة 44% و36% و32% في عينات العضلات والكبد والكلى المفحوصة من الإبل، على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، كشف التنميط المصلي للإشريكية القولونية عن وجود الأنماط المصلية التالية: O111:K58، O124:K72، O26:K60، O128:K67، O86:K61، وO157:H7 بنسب متفأوتة. كما كُشف عن السالمونيلا بنسب 16% و8% و4% في عينات العضلات والكبد والكلى المفحوصة للإبل، على التوالي، وكشفت نتائج التنميط المصلي عن وجود جراثيم الإشريكية القولونية، والسالمونيلا التيفية الفأرية، والسالمونيلا حيفا. ووفقاً للنتائج المسجلة، اتضح وجود هذه الميكروبات الممرضة في العينات المفحوصة، وهي غير متوافقة مع المعايير المصرية. كما عكست هذه النتائج سوء الظروف الصحية أثناء ذبح ونقل لحوم الإبل وأحشاءها.

وفي دراسة قام بها (Hassan *et al.,* 2016) انتشار الجراثيم المعوية في لحوم الإبل والأبقار والأغنام في المسالخ ومحلات بيع اللحوم حيث نم جمع 120عينات من لحوم الإبل والأبقار والأغنام بحثًا عن التلوث الميكروبي في محافظة الاحساء وتم تحديد العزلات باستخدام اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل. ترأوح إجمالي عدد العينات من 4.91 إلى 5.37 لوغاريتم 10 وحدة تشكيل مستعمرة/جم في المسالخ

ومحلات بيع اللحوم. سيطرت الإشريكية القولونية ، حيث تلوث 84 عينة من أصل 120 عينة (70%)، حيث كان التلوث أعلى في لحوم الإبل وأقل في لحوم الأغنام بنسبة 100% و30% من العينات الملوثة على التوالي، تم تأكيد السالمونيلا في 40% من الإبل و47.5% من الأبقار و32.5% من عينات الأغنام، بالإضافة إلى ذلك، تم الكشف عن خمسة وعشرين سلالة من الجراثيم المعوية تنتمي إلى تسعة عشر جنسًا مختلفاً في عينات اللحوم. سُجِّلت أعلى نسبة في عينات الأغنام، حيث بلغ عددها خمسة عشر جنساً مختلفاً، تليها عينات الإبل والماشية، حيث بلغ عددها أربعة عشر جنساً مختلفاً لكلٍّ منهما. يثير وجود الجراثيم المعوية في ذبائح الإبل والأبقار والأغنام مخاوف كبيرة بشأن سلامة الغذاء. يُعدُّ الالتزام بممارسات النظافة الجيدة أثناء ذبح الحيوانات أمراً بالغ الأهمية للحد من خطر العدوى وأنتقالها، وضمأن سلامة الغذاء.

وفي دراسة اجرتها الحلواني (2017) في بحث التنميط لجرثومة الايشريكية القولونية الملوثة في الغذاء في محافظة حمص حيث اخذت عشرين عينة غذائية ذات منشأ حيواني ونباتي مختلفة من السوق المحلية للكشف عن الايشريكية القولونية وتم اجراء الاختبارات الكيماحيوية وتم استخدام المسطرة البيوكيمائيةAPI 25 E للتأكيد على الايشريكية القولونية وقت أظهرت النتائج أن عدد عينات الايشريكية القولونية الإيجابية (14) أي بنسبة 70% وعدد عينات الايشريكية القولونية السلبي (6) أي بنسبة 30%.

وفي بحث الكشف عن بعض الأمراض البكتيرية المشتركة في أسماك السوق بمحافظة القليوبية ومكافحتهاحيث اجرى هذه الدراسة (Saad *et al.,* 2018) في مصر في جامعة بنها ، حيث جُمعت 200 عينة سمكية من نوع البلطي النيلي (Oreochromis niloticus) وسمك الكلارياس غاريبينوس (100 عينة من كل نوع) من أسواق أسماك مختلفة بمحافظة القليوبية. بالإضافة إلى ذلك، جُمعت 100 مسحة جلدية من بائعي الأسماك (60) وربات البيوت (40) من نفس المناطق. الهدف من هذه الدراسة هو الكشف عن وجود بعض الكائنات الحية الدقيقة البكتيرية المشتركة في أسماك السوق مثل المكورات العنقودية الذهبية. aureus وSalmonella spp. وE. coli وStreptococcus ولتحديد تأثير المعالجة الحرارية مثل القلي والشواء على بقاء Staph.aureus4(10) و5(10) Salmonella typhimurium و6(10) E. coliO157H7 الملقحة في كلا النوعين من الأسماك، في هذه الدراسة، كان من الواضح أن عينات C. gariepinus بها عزلات بكتيرية أعلى بكثير (9.8%) من عينات O. niloticus (6)، ومن بين الجراثيم المعزولة، كان من الممكن اكتشاف Streptococcus بنسبة أعلى

(13.5٪) تليها Salmonella spp (11.5٪)، ثم Staph. aureus (4.5٪) وكانت أقل العزلات هي E. coli (2٪). تم استرداد النسبة المئوية الأعلى من العزلات البكتيرية من العينات السطحية مقارنة بتلك المعزولة من عينات العضلات لكلا النوعين من الأسماك المفحوصة. كشفت مسحات اليد من منأولي الأسماك أن Staph. تم عزل الجراثيم الذهبية والسالمونيلا والإشريكية القولونية والعقديات بنسب 35% و35% و20% و35% على التوالي من بائعي الأسماك مقارنة بنسب 37.5% و25% و37.5% و50% على التوالي من ربات البيوت. كما أظهرت هذه النتائج أن قلي الأسماك يؤدي إلى تدمير كلي لمسببات الأمراض الملقحة في كلا النوعين من الأسماك بأوزان مختلفة، في حين أن الشواء ليس فعالاً مثل القلي حيث يقتل جميع مسببات الأمراض الملقحة في سمك النيلي ولكن ليس في سمك القاروص الكبير، تمت مناقشة الأهمية الصحية العامة للكائنات الدقيقة المعزولة والتدابير الصحية.

وفي بحث انتشار ومقاومة المضادات الحيوية لسلالات الإشريكية القولونية O157:H7 المعزولة من عينات لحوم المجترات والدواجن النيئة قام به (Zohreh, 2018) لكشف عن انتشار ومقاومة المضادات الحيوية لسلالات الإشريكية القولونية O157:H7 المعزولة من عينات اللحوم النيئة. جُمعت 458 عينة لحوم أظهرت 36 عينة من أصل 458 عينة لحوم وجود سلالات سلبية السوربيتول من الإشريكية القولونية (7.86%). كانت جميع سلالات السوربيتول السالبة موجبة أيضاً لجينات rfbO157 وflicH7. بلغ معدل انتشار سلالات الإشريكية القولونية 7.86% O157:H7. وكان معدل انتشار الإشريكية القولونية O157:H7 في لحوم الدجاج أعلى من العينات الأخرى (16.25%)، وسجلت الجينات التي تُشفر مقاومة الأمبيسلين (100%) (CITM) والجنتاميسين (94.44%) (aac(3)-IV) والتتراسيكلين (61.11%) (tetA) أعلى معدل انتشار. وسجلت سلالات الإشريكية القولونية O157:H7 المأخوذة من عينات اللحوم النيئة من المجترات والدواجن أعلى معدل مقاومة للأمبيسلين (100%) والتتراسيكلين (83.33%) والجنتاميسين (83.33%) على التوالي. وتُعتبر سلالات الإشريكية القولونية H7:0157 المقاومة للمضادات الحيوية، والتي وُجدت في هذه الدراسة، ذات أهمية للصحة العامة.

وفي دراسة أجراها (Mohamed *et al.,* 2018) بحثت هذه الدراسة في انتشار جينات السموم المعوية للمكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية المنتجة للسموم الشيغا (STEC) في الأسماك وتقييم معايير جودة الأسماك المفحوصة. تم جمع 150 عينة سمكية تنتمي إلى 6 أنواع (25 لكل نوع) واجراء الاختبارات المخبرية عليها. تم تحديد جينات السموم المعوية للمكورات العنقودية وجينات الضراوة (

جينات stx1 وstx2) وتم تحديد الأنماط المصلية للإشريكية القولونية عن طريق تفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد. وقد وجدوا نسبة انتشار المكورات العنقودية الذهبية من 4٪ إلى 36٪ وتم تحديد النمط المصليO26من الإشريكية القولونية1 stx وstx2 وخلصت نتائجه إلى أن هذه الأنواع من الأسماك قد تُشكّل خطراً على الصحة العامة، إذ تُعدّ الأسماك مستودعاً لسلالات الإشريكية القولونية المُنتجة للسم المعوي المُنتجة لسموم شيغا و المكورات العنقودية الذهبية وقد سلّطت هذه الدراسة الضوء على أهمية فحص الأسماك بحثاً عن سلالات المكورات العنقودية الذهبية المُنتجة للسم المعوي وعزلات الإشريكية القولونية المُشتقة بالإضافة إلى تقييم معايير جودة الأسماك.

وفي دراسة أجرتها دحروج (2019) في محافظة حماة دراسة جرثومية وجزيئية على عينات غذائية في محافظة حماة حيث قامت بفحص 80 عينة من لحوم الأبقار جمعت من محلات تجارية مختلفة في أسواق مدينة حماه حيث أظهرت النتائج أن التعداد العام للجراثيم في لحوم الأبقار كان أكبر من 10^6 cfu/g في 81 % من العينات، كما عزلت الإشريكية القولونية في عينات اللحمة بنسبة 50 %. وبين اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR الذي أنجز بهدف تحري امتلاك ذراري الإشريكية القولونية المعزولة من عينات اللحمة للجينات المشفرة لكل من الذيفان السام لخلايا فيرو والذيفان المعوي الصامد للحرارة والذيفان المعوي الحساس للحرارة أن جميع عزولات الإشريكية القولونية كانت سلبية لوجود الجينات المشفرة للذيفانات السابقة الذكر.

وفي بحث دراسة انتشار ونمط الحساسية للمضادات الحيوية لجراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 المعزولة من الأسماك في بحيرة حايك وسد تيكيز، شمال إثيوبيا وقد قام بهذا البحث (Assefaa *et al.,* 2019)حيث أجريت دراسة مقطعية باستخدام أسلوب أخذ العينات العشوائية البسيطة من أكتوبر 2017 إلى مايو 2018 بهدف عزل وتقدير انتشار جراثيم الإشريكية القولونية O157: H7 في الأسماك، وتقييم نمط حساسية مضادات الجراثيم للعزلات في بحيرات مختارة في شمال إثيوبيا، أجريت جميع إجراءات التعرف على الميكروبات وعزلها بناءً على توصيات ISO 6887-3:2017. كما تم إجراء اختبار حساسية مضادات الجراثيم وفقاً للإجراء القياسي لبروتوكول انتشار قرص كيربي-بأور، ومن إجمالي 410 عينات سمكية تم فحصها، وجد أن ست عينات (1.46%) منها ملوثة بسلالة الإشريكية القولونية O157: H7 المنتجة لسموم شيجا، علاوة على ذلك، عُزلت جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 من الأسماك المقطعة (214/5) والأسماك الكاملة (125/1) إلا أنها لم تُعزل من عينات

الأسماك الجاهزة للأكل وبيئات العمل في المطاعم، أظهر اختبار حساسية المضادات الحيوية أن هذه العزلات مقاومة لأقراص الأمبيسلين والستربتومايسين، ومع ذلك، وُجد أن السيبروفلوكساسين والجنتاميسين وحمض الناليديكسيك فعالة في تثبيط نمو جميع العزلات. وبما أنه تم اكتشاف سلالة الإشريكية القولونية المُمرضة في الأسماك، فأن تناول الأسماك النيئة وغير المطهية جيدًا في إثيوبيا قد يؤدي إلى الإصابة بالعدوى. ويشير وجود هذه الكائنات المُمرضة في الأسماك إلى ضرورة تدخل الجهات المعنية. قد تلعب وسائل الدعم، مثل المُجمدات والمولدات الكهربائية، وإنشاء مصانع تجهيز الأسماك، دوراً هاماً في خفض مستوى تلوث الأسماك في إثيوبيا.

وفي دراسة (Mohamed, 2019) اجريت في اللحوم النيئة والمصنعة للكشف عن جينات الضراوة لايشريكية القولونية O157:H7 في محافظة أسوان، هدفت هذه الدراسة إلى الكشف عن وجود جراثيم الإشريكية القولونيةO157:H7 في اللحوم النيئة والمُصنّعة، وتحديد الأنماط المصلية وبعض جينات الضراوة في العينات المستخدمة، تم الحصول على إجمالي 200 عينة من اللحوم النيئة والمصنعة ومنتجات اللحوم بما في ذلك اللحم المفروم والبرجر والسجق والكفتة والبرجر المطبوخ والسجق المطبوخ والكفتة المطبوخة واللانشون المطبوخ والشاروما المطبوخة (20 من كل نوع) من متاجر مختلفة في محافظة أسوأن خلال عام 2017 تم فحص العينات جراثيم بحثاً عن E. coli O157: H7 والتي تم تمييزها مصلياً وجينيًا لتأكيد وكشف بعض جينات الضراوة بما في ذلك stx1 و stx2 و hly A و eae A كان معدل انتشار E. coli O157: H7 مقابل الأنماط المصلية الأخرى لـ E. coli 14.3% مقابل 85.7%. كانت النسبة الإجمالية للإشريكية القولونية غير O157: H7إلى E. coli O157: H7 في اللحوم النيئة 27% إلى 4% بينما كانت في اللحوم المصنعة 8% مقابل 1% على التوالي وقد تم الكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 بشكل أكبر في اللحوم النيئة مقارنةً باللحوم المصنعة. لا تزال اللحوم النيئة ومنتجاتها تُهدد صحة الإنسان لاحتوائها على جراثيم الإشريكية القولونية المُمرضة والحيوانية، لذا يجب تطبيق ممارسات صحية وسليمة في مصانع وأسواق اللحوم.

وفي دراسة أجراها (Tegegne *et al.,* 2019) على السلامة الميكروبيولوجية والجودة الصحية للحوم الإبل في المسالخ ومتاجر البيع بالتجزئة في مدينة جيغيغا، إثيوبيا اجريت دراسة مقطعية لتحديد السلامة الميكروبيولوجية وجودة لحوم الإبل من مسلخ ومتاجر بيع بالتجزئة في مدينة جيغيغا، إثيوبيا. فُحصت

140 عينة من ذبائح الإبل ولحوم التجزئة (70عينة لكل منهما) للتحقق من وجود وحمل جراثيم المكورات العنقودية الذهبية، والإشريكية القولونيةO157:H7، والليستيريا المستوحدة، وأنواع كامبيلوباكتر، والجراثيم الهوائية، والقولونيات البرازية والخميرة والعفن وتم تأكيد العزلات المحتملة باستخدام الاختبارات البيوكيميائية. وقد بينت النتائج أعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية O157:H7 بشكل كبير بين الذبائح في المسلخ وعينات لحوم التجزئة. تم الكشف عن جراثيم المكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية O157:H7 في 12.1% و4.3% من العينات على التوالي. كان تعداد الإشريكية القولونية O157:H7 أعلى بشكل ملحوظ في لحوم التجزئة (4.21 ± 0.02) مقارنةً بالذبائح (3.99 ± 0.00) في المسلخ (قيمة الاحتمال 0.05>من بين 140 عينة تم تحليلها، كانت 5% منها إيجابية لجراثيم العطيفة . كان متوسط تعداد الجراثيم القولونية البرازية والخميرة والعفن أعلى بشكل ملحوظ في عينات لحوم التجزئة (6.17 ± 0.067 و4.95 ± 0.067 log10 cfug −1، على التوالي)، وقد أشارت هذه الدراسة إلى أنه كلما تقدمت عملية التصنيع، زاد خطر تلوث المنتج لذلك ينبغي تعزيز ممارسات النظافة الجيدة في المسالخ ومتاجر البيع بالتجزئة، وإتباع إجراءات ذبح صارمة، لتعزيز السلامة العامة وجودة لحوم الإبل.

وفي دراسة أجراها(Mozhgan and Mohammad, 2019) الكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 في اللحوم باستخدام طريقة تفاعل البوليميراز المتسلسل وطريقة الاستنبات حيث هدفت هذه الدراسة إلى تحديد مدى انتشار جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 في لحوم الأبقار والأغنام والماعز والإبل في محافظة كرمأن الإيرانية باستخدام طريقتي الاستنبات وتفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR). وكانت طريقة هذه الدراسة، حيث تم فصل 280 عينة لحوم تتكون من لحوم الأغنام (90 عينة) والأبقار (80 عينة) والماعز (60 عينة) والإبل (50 عينة) عشوائيًا من الذبائح في الفترة من أبريل إلى يوليو 2018. بعد أخذ العينات، أجريت مزرعة ميكروبية على العينات. ثم تم تقييم مستعمرات الإشريكية القولونية المشتبه بها O157:H7 بواسطة اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل. النتائج: من بين 280 عينة، كانت 73 عينة (26%) ملوثة بالإشريكية القولونية بناءً على الاختبارات البكتريولوجية، وتم تحديد 28 عينة على أنها مشتبه بها من النمط المصلي O157:H7 بناءً على عدم وجود تخمير السوربيتول. بعد ذلك، تم اختبار العينات السلبية للسوربيتول بواسطة إجراء تفاعل البوليميراز المتسلسل باستخدام بادئات محددة. أظهرت النتائج أن 21 حالة (7.5%) من أصل 28 حالة كانت مصابة بجراثيم

الإشريكية القولونية O157:H7. الخلاصة: كما يُستنتج من ملاحظات هذه الدراسة، للكشف عن الإشريكية القولونية O157، أنه يُمكن استخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) كإجراء دقيق وسريع وموثوق.

وفي دراسة التوصيف الجزيئي لجراثيم الإشريكية القولونية النزفية المعوية O157 وO153 المعزولة من عينات أنسجة الإبل وبراز الإنسان في الديوأنية، العراق قام به (Klaif *et al.,* 2019) حيث هدفت هذه الدراسة إلى وصف العلاقات الوراثية للتوصيف الحيواني لجراثيم الإشريكية القولونية المعزولة من العدوى السريرية للإبل لدى الإنسان والحيوان. شملت الدراسة جمع (50) عينة من لحوم الإبل و(50) عينة من براز الإنسان. خضعت هذه العينات لعزل وتحديد الجراثيم التقليدية باستخدام الاختبارات الكيميائية الحيوية، ثم تم تأكيدها بتقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) القائمة على جين جير ب لجراثيم الإشريكية القولونية، وتم إجراء تسلسل الحمض النووي لبعض العزلات الإيجابية. أظهرت النتائج أن الإشريكية القولونية تم عزلها من الحيوانات بنسبة 42 (84%) و39 (78%) من العدوى البشرية. أظهرت تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) كشفاً تأكيدياً عالي الحساسية والنوعية لجراثيم الإشريكية القولونية، حيث أظهرت النتائج الإيجابية في 40 (95%) عينة من لحوم الإبل، و35 (89.7%) عينة من براز الإنسان. لتقييم ضراوة الإشريكية القولونية، وأظهرت النتائج ارتفاعاً في وجود جين الضراوة في الإبل بنسبة (19) 45% مقارنة بجين الضراوة في الإنسان (15) 38%. أظهر تسلسل الحمض النووي لتسلسل جزئي من الجينات تطابقاً كبيراً في التسلسل مع عزلات Escherichia coli من سلالة O157H7 من الإنسان و O153H3 من الإبل حيث أظهر التحليل التطوري وجود تشابه وراثي واضح بين عزلات الإشريكية القولونية البشرية والحيوانية ثم تم إيداع تسلسل الجين في أرقام الوصول NCBI– وتم الكشف عن بعض جينات الضراوة في الإشريكية القولونية (Hly A). وقد لوحظ انتشار الإشريكية القولونية لدى البشر والإبل. لذلك، من الضروري تحديد دور الحيوانات كمصدر مهم لانتشار مسببات الأمراض المتعلقة بالصحة العامة.

وفي دراسة(Ayalew *et al.,* 2019) عزل جراثيم الإشريكية القولونية من محلات بيع الأسماك واللحوم بالتجزئة في مدينة ميكيلي، إثيوبيا أجريت لمدة ستة أشهر، من سبتمبر 2016 إلى فبراير 2017 وذلك لعزل وتحديد الإشريكية القولونية (E.coli) من عينات الأسماك الطازجة التي تم جمعها من أربعة

متاجر بيع بالتجزئة مختلفة في مدينة ميكيلي وتحديد نمط مقاومة المضادات الحيوية للجراثيم المعزولة تم عزل وتحديد الإشريكية القولونية واختبار حساسية المضادات الحيوية وفقاً للتقنيات الميكروبيولوجية القياسية وفقًا لذلك، من إجمالي 96 عينة سمكية تم جمعها وتحليلها، كانت 9 (9.4٪) إيجابية للإشريكية القولونية بعد نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية الأولية والثأنوية. من بين محلات بيع الأسماك واللحوم بالتجزئة الأربعة، سُجِّل أعلى معدل انتشار ذي دلالة إحصائية (P=0.001) لجراثيم الإشريكية القولونية في المتجر الثالث بنسبة 5 (20.8%)، يليه المتجر الثاني بنسبة 4 (16.7%).

وبالتالي، يمكن الاستنتاج أن أسماك محلات ميكيلي تحتوي على جراثيم الإشريكية القولونية المُمرضة المقاومة للمضادات الحيوية ، حيث تختلف نسبة هذه العزلات بشكل ملحوظ (P<0.001) من محل لآخر. وعلى الرغم من قلة استخدامها، فقد وُجد أن السيبروفلوكساسين والنورفلوكساسين والجنتاميسين هي أفضل مضادات الميكروبات لعلاج العدوى المرتبطة بالإشريكية القولونية في منطقة الدراسة. ومع ذلك، يُقترح اتباع ممارسات إدارة النظافة على طول سلسلة انتاج الأسماك وتسويقها.

وفي دراسة أجراها (Oluwafunmilayo *et al.,* 2020) على التنوع الجيني لجراثيم الإشريكية القولونية البشرية السائدة O157:H7 مع سلالات من اللحوم والأسماك المباعة بالتجزئة في أسواق مختارة في مدينة إبادان في نيجيريا تم جمع ما مجموعه 823 عينة تتكون من عينات اللحوم النيئة (297) والأسماك (132) المباعة بالتجزئة في العديد من الأسواق الرئيسية في إبادان وتم أخذ 394 مسحة من طاولات وأواني تجهيز الجزارين المستخدمة في بيع اللحوم والأسماك بالتجزئة تمت تربية العينات وتحديد النمط الحيوي لها لـ Escherichia coli تم استخدام التحليل المصلي واختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل لتحديد متغير O157:H7 ومحددات مقاومة المضادات الحيوية. تم تقييم القرابة الوراثية لـ .E coli O157المميزة من المنتجات البشرية ومنتجات اللحوم من خلال التحليل التطوري من بين جميع العزلات، كانت 130 (15.8%) من الإشريكية القولونية و8 (1.0) فقط من O157:H7 بينما كانت 4 (50%) مقاومة لمضاد حيوي واحد أو أكثر مع مؤشر مقاومة يتراوح من 0.1 إلى 0.5. كانت أكثر من 25% من الإشريكية القولونية O157:H7 مقاومة للأمبيسيلين والبفلوكساسين والجنتاميسين وتم الكشف عن bla SHV و bla CTX–Mفي 8/1 (12.5%)من الإشريكية القولونية O157:H7 و bla TEM (37.5%) 3/8على التوالي. تم تحديد جين واحد فقط من الإشريكية القولونية البشرية 0157:H7. مع سلالة لحم البقر. هناك دليل على أن الإشريكية القولونية O157:H7 المشفرة بـ bla TEM تسبب عدوى

في البشر من الحيوانات الغذائية المباعة بالتجزئة في العديد من الأسواق داخل مجتمعات مختلفة. ومن ثم فأن المراقبة العاجلة مع التثقيف الصحي العام ونظافة الغذاء والبيئة أمر ضروري للغاية لمنع انتشاره .

وفي دراسة أجراها (Kedir, 2020) على لحوم الابل وهي تقييم الممارسات الصحية للحوم الإبل وتحديد النقاط الرئيسية للتلوث البكتيري في المسالخ ومحال الجزارة في مدينة ناجيلي في جنوب إثيوبيا حيث تم اجراء دراسة مقطعية من ديسمبر 2018 إلى ديسمبر 2019 لتقييم الممارسات الصحية أثناء التعامل مع لحوم الإبل النيئة وتحديد المصدر الرئيسي للتلوث الجرثومي في مسالخ والجزارات مدينة ناجيل. ولتحقيق أهداف هذه الدراسة، جُمعت البيأنات من 68 عينة من لحوم الإبل و60 عينة من مسحات من عمال المسالخ والجزارين، وعزل الباحثون جميع عينات لحوم الإبل الإيجابية المختبرة وحددوا أنها خضعت لعد جراثيم الإشريكية القولونية، وعد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية، وعد جراثيم الصفائح الهوائية (APC).تم الكشف عن أنواع المكورات العنقودية الذهبية، والإشريكية القولونية، والسالمونيلا من إجمالي عينات لحم الإبل الخام المجمعة بنسبة 12(35.3%)، 16(47%)، و8(23.5%) في المسالخ، و19(55.9%)، 22(64.7%)، و10(29.4%) في اماكن بيع اللحوم على التوالي. بلغ متوسط تعداد المكورات العنقودية الذهبية في لحم الإبل 2.76 و3.07 لوغاريتمي10 وحدة تشكيل مستعمرة/جم، بينما بلغ متوسط تعداد الإشريكية القولونية 2.81 و3.94 لوغاريتمي10 وحدة تشكيل مستعمرة/جم، من المسالخ والجزارات على التوالي. لم تكن هناك فروق ذات دلالة إحصائية ($p > 0.05$) بين الإشريكية القولونية في المسالخ والجزارات وعدد المكورات العنقودية الذهبية في المسالخ على التوالي. لم يختلف متوسط تعداد الصفائح الهوائية للحوم الإبل من المسالخ (4.67 log10 CFU/g) بشكل كبير مقارنة بقيم APC للجزارات (5.49 .log10 CFU/g). تم الكشف عن الجراثيم المعزولة بترتيب تنازلي E. coli و S. aureus و Salmonella spp من عينة المسحة مثل يد الشخص والبيئة ولوح التقطيع والسكين في المسالخ والجزارات على التوالي وبالتالي تكشف الدراسة الحالية عن حقيقة أن لحم الإبل النيء ملوث بشدة مع إرتفاع معدل الإصابة بمسببات الأمراض البكتيرية وأن المصدر الرئيسي للتلوث البكتيري كان بترتيب تنازلي يد الشخص والبيئة ولوح التقطيع والسكين على التوالي. وخلص إلى أن المصدر الرئيسي للتلوث الجرثومي للحوم الإبل النيئة هو المسالخ في مدينة ناجيل لذلك هناك ضرورة ملحة لتقليل تلوث لحم الإبل في المسالخ وبيعه في اماكن بيع اللحوم من خلال اتباع ممارسات النظافة العامة المناسبة وممارسات الصرف الصحي للمعدات.

وفي دراسة قام بها (Siobha´ *et al.,* 2020) حيث تناولت هذه المراجعة انتشار الإشريكية القولونية المنتجة لسموم شيغا في سلسلة انتاج أغذية الأغنام من المزرعة إلى المائدة، حيث تم الإبلاغ عن انتشارها في قطعأن الأغنام، وأثناء الذبح في المسالخ، وفي اللحوم النيئة والجاهزة للأكل ومنتجاتها. كما تم دراسة العوامل المؤثرة على انتشار الإشريكية القولونية المنتجة لسموم شيغا، بما في ذلك الموسمية وعمر الحيوان. يمكن الحصول على معدل انتشار نسبي بحساب متوسط الانتشار المرصود عبر مسوحات متعددة، مرجحاً بعدد العينات. تم الحصول على متوسط انتشار نسبي لـ STEC O157 وجميع الزمر المصلية لـ STEC في نقاط متعددة على طول سلسلة انتاج الأغنام باستخدام مسوحات منشورة مناسبة. تم حساب متوسط انتشار نسبي (ومدى) لـ STEC O157: للبراز 4.4% (0.2–28.1%)، والصوف 7.6% (0.8–12.8%)، والذبيحة 2.1% (0.2–9.8%)، ولحوم الأغنام النيئة 1.9% (0.2–6.3%). لجميع STEC بغض النظر عن النمط المصلي، تم حساب متوسط انتشار نسبي: للبراز 33.3% (0.9–90.0%)، والذبيحة 58.7% (2.0–81.6%)، ولحوم الأغنام النيئة 15.4% (2.7–35.5%). أُبلغ عن انتشار جراثيم الإشريكية القولونية ذات الخلايا الجذعية في صوف الأغنام في مسح سابق واحد فقط، والذي سجل انتشاراً بنسبة 86.2%. وأفادت العديد من المسوحات بأن عمر الحيوان يؤثر على تساقط الشعر، حيث عادةً ما تكون الحيوانات الأصغر سناً أكثر عرضة لانتشار المرض. ينخفض انتشار جراثيم الإشريكية القولونية ذات الخلايا الجذعية بشكل ملحوظ على طول سلسلة انتاج الأغنام بعد تطبيق تدخلات ما بعد الحصاد. وتُشكل منتجات الأغنام خطرًا ضئيلًا لاحتمال تلوث سلسلة الإمداد الغذائي بجراثيم الإشريكية القولونية ذات الخلايا الجذعية.

وفي دراسة اجريت(Fahim *et al.,* 2020) الكشف عن أنواع الإشريكية القولونية O157 والسالمونيلا في بعض قطع لحوم الدجاج النيئة في محافظة الإسماعيلية، مصر حيث جُمعت 100 عينة عشوائية من صدور وفخذ دجاج طازج نيء (50 عينة من كل نوع) من مصنع آلي لتجهيز الدواجن في مدينة الإسماعيلية في مصر، للكشف البكتريولوجي والوراثي عن جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 والسالمونيلا. من بين 100 عينة فُحصت، كانت 4 عينات فقط (4%) ملوثة بجراثيم الإشريكية القولونية O157:H7، بينما مثلت عزلات الإشريكية القولونية الاخرى نسبة 11% من عزلات الإشريكية القولونية التي صُنِّفت مصلياً على أنها O114:H21 و O127:H6و O126وO26، بنسب إصابة بلغت 2 و4 و3 و2% على التوالي. من ناحية أخرى، اكتُشفت السالمونيلا في 11 عينة (11%)، وتم تحديدها

مصليًا على أنها S. Typhi و S. Typhimurium وS. Enteritidis بنسب إصابة بلغت 1 و3 و7% على التوالي. علاوة على ذلك، أشارت فحوصات تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) إلى اكتشاف جين fliC في جميع عزلات الإشريكية القولونية O157 الأربع بنسبة حدوث 100%. بينما اكتُشف جين fimA في خمس عزلات من السالمونيلا في أربع عزلات (80%) من هذه العزلات المفحوصة. وبناءً على ذلك، يتضح أن قطع لحم الدجاج النيئة كانت محملة بالجراثيم المسببة للأمراض المنقولة بالغذاء، مما يُعرّض المستهلكين لخطر التسمم الغذائي المرتفع. علاوة على ذلك، أوضحت النتائج أن الطرق الجرثومية التقليدية للكشف عن الجراثيم الملوثة للأغذية تتطلب جهداً كبيراً وتستغرق وقتاً طويلاً، بينما يُعد تفاعل البوليميراز المتسلسل أسرع وأكثر حساسية لتحديد مسببات الأمراض المنقولة بالغذاء.

وفي دراسة اجريت على لحوم الاسماك حيث تم عزل للجراثيم المعوية المعزولة من الأسماك والمأكولات البحرية قام بها (Oluwafunmilayo *et al.,* 2020) حيث تُقدم نتائج هذه الدراسة دليلاً على تلوث الأسماك والمأكولات البحرية المُستهلكة على نطاق واسع (السردين والروبيان الأحمر) بالجراثيم المعوية، وخاصة سلالات الإشريكية القولونية STEC وEHEC بالإضافة إلى ذلك، يُعد عزل سلالات الإشريكية القولونية المُنتجة لأنزيم ESBL، وخاصةً نوع15− CTX− M ، من عينات المأكولات البحرية ذا أهمية بالغة، نظراً لكثرة عزل هذه الجراثيم من العينات السريرية البشرية. تُظهر النتائج أن المأكولات البحرية التي تمت دراستها تجاوزت إلى حد كبير الحدود القصوى الموصى بها بالمعايير الدولية، وفي العينات المدروسة تم عزل سلالات جراثيم الإشريكية القولونية متعددة الضراوة STEC وEHEC

وفي دراسة أجريت(Shimaa *et al.,* 2021) في جامعة بنها لعزل وتشخيص الايشريكية القولونية المعوية في عينات لحم الفروج النيء وذلك في عينات لحم الفروج تم جمع 100 عينة من محلات بيع اللحوم في الأسواق المحلية من محافظة القيلوبية واظهرت النتائج أن نسبة الإصابة بالايشريكية القولونية 24% في جميع عينات الفخذ 28% وكانت في عينات الصدر 20% ومن ست عزلات تم فحصها جزيئا لانتاج سموم الشيغا 2−stx نسبة انتشار 16.17% ولذلك تم التوصل الى أن الايشريكية القولونية يمكن أن تتواجد في لحوم الفروج الفخذ والصدر الفروج.

وفي دراسة اجريت (Shaker *et al.,* 2022) في العراق عزل وتحديد جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7المعزولة من لحوم العجول ومحلات الجزارة في مدينة الموصل، العراق حيث كان الهدف من دراستهم عزل جراثيم الايشريكية القولونية O157:H7والكشف عن جينات uidA و Stx1و . Stx2

جُمعت 504 عينة من محلات اللحوم والجزارين من مناطق مُتنوعة في مدينة الموصل. استُخدمت تقنيات البيولوجيا الكلاسيكية والجزيئية لعزل وتحديد جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 وكانت النتائج تشير إلى أن العدد الإجمالي لعزلات الإشريكية القولونية في هذه الدراسة كان 138 وأن معدل انتشار الإشريكية القولونيةO157:H7 المعزولة كان 9.4% (138/13). كان معدل انتشار الإشريكية القولونيةO157:H7 مرتفعاً في أيدي العمال 4 (20%)، بينما لم نكتشف الإشريكية القولونيةO157:H7 في الآلات. بالإضافة إلى ذلك، تحتوي جميع الإشريكية القولونية O157:H7 على جينات uidA و Stx2 بنسبة 100%، بينما تمتلك 92.3% من الإشريكية القولونيةO157:H7 جين Stx1 وخلصت الدراسة إلى حدوث الإشريكية القولونيةO157:H7 في محلات اللحوم والجزارين وأن جميع المعدات والأدوات المستخدمة كانت قادرة على نقل الإشريكية القولونيةO157:H7 إلى اللحوم. تشكل محلات اللحوم والجزارين خطراً على البشر الذين يستهلكون اللحوم غير المطبوخة.

وفي دراسة انتشار جراثيم الإشريكية القولونية المقاومة للأدوية المتعددة والمُنتجة لسموم شيجا في حليب الأبقار والجاموس والإبل (Abdullah *et al.,* 2023) أُجريت هذه الدراسة للتحقق من الجودة الجرثومي للحليب الخام المُجمّع من الأبقار والجاموس والإبل. بالإضافة إلى ذلك، تم عزل وتحديد أنماط مصلية مختلفة من الإشريكية القولونية. علاوة على ذلك، تم التأكيد الجزيئي لعزلات الإشريكية القولونية المُستعادة عن طريق تضخيم الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي S16 والكشف عن جينات ترميز سموم الشيغا (stx1 وstx2) باستخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR). بالإضافة إلى ذلك، تم فحص المضادات الحيوية لعزلات الإشريكية القولونية المُستعادة باستخدام طريقة انتشار القرص. أشارت النتائج المتحصل عليها إلى أن عينات الحليب التي جُمعت من الإبل احتوت على أقل عدد من الجراثم مقارنةً بتلك الموجودة في الأبقار والجاموس. عُزلت الإشريكية القولونية من العينات التي جُمعت من الأبقار والجاموس والإبل بنسبة 50% و20% و10% على التوالي. تم تحديد أنماط مصلية مختلفة للإشريكية القولونية في هذه الدراسة، حيث أظهرت ثلاث وأربع عزلات من الإشريكية القولونية المُستعادة من عينات حليب الأبقار قدرة على حمل stx1 وstx2 على التوالي. أظهرت جميع عزلات الإشريكية القولونية المُستعادة مقاومة متعددة للأدوية. لذلك، يُنصح بشدة ببسترة الحليب قبل الاستخدام، واعتماد تدابير صحية صارمة لتجنب خطر تعرض الإنسان للإشريكية القولونية المُنتجة لسم الشيغا.

قام بهذه الدراسة (Altee and Yousif, 2023) وذلك للكشف عن حالات تواجد الإشريكية القولونية في الإبل، وخاصةً النمط المصلي للإشريكية القولونية O157:H7، باستخدام التحليل الجرثومي والجزيئي مع التسلسل الجيني. أُخذت مائتان وخمسون عينة براز من الإبل من حقل يقع في ثلاث محافظات عراقية (النجف، كربلاء، والمثنى). تم تخطيط عينات البراز في البداية على أجار MacConkey و EMB، ثم تم التأكيد الجرثومي باستخدام صبغة جرام واختبارات كيميائية حيوية مختلفة لعزل E. coli. تم الكشف عن E. coli O157 عن طريق الزراعة على وسائط انتقائية للكروم واستخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) على عزلات E. coli لتحديد أربعة جينات ضراوة مرتبطة بـ E. coli O157: H7. أظهرت النتائج أن الإبل المصابة أظهرت إسهالاً وبرازاً مائياً مع مخاط أو دم. أظهرت النتائج الجرثومي 117 عزلة من E. coli وأربع عزلات فقط تم تشخيصها على أنها E. coli O157: H7 على Chromogar ™ E. coli O157 التي تم الكشف عنها بواسطة اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل وقد كشف عن وجود جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 في الإبل، وأن هذه السلالات من الجراثيم تمتلك أربعة جينات ضراوة. وهذا يُشير إلى أهمية الإبل كمصدر لأنتقال هذه الجراثيم إلى البشر وجميع الحيوانات.

وفي دراسة قام بها (Frances *et al.,* 2023) حيث جُمعت عشرون عينة مختلفة من اللحوم والأسماك من مواقع البحث وفُحصت جرثومياً لإجراء عدّ إجمالي للجراثيم الحية، وعدّ للجراثيم القولونية، وتوصيف للجراثيم، وتحديد هويتها. أظهرت النتائج أن عينات "اللحوم" احتوت على أعلى تركيز للجراثيم القولونية حيث كان عدد الجراثيم الحية (2.1105 إلى 6.2105 وحدة تشكيل مستعمرة/غ) وإجمالي عدد الجراثيم الحية (3.4105 إلى 7.7105 وحدة تشكيل مستعمرة/غ). في المجموع، عُثر على 78 و85 من البكتريا في عينات الأسماك المدخنة ولحم البقر، على التوالي.وفي دراسة (Hailehizeb *et al.,* 2024) حيث تم عزل وتحديد جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 المستردة من لحوم الدجاج في مسالخ أديس أبابا أُجريت دراسة مقطعية من فبراير 2021 إلى مارس 2023. هدفت هذه الدراسة إلى عزل وتحديد وتحليل جراثيم الإشريكية القولونية في لحوم الدواجن المجمعة من مسالخ أديس أبابا. جُمعت 499 عينة من محتوى البراز، والذبائح، ومسحات اليد والسكين، وقد تم تأكيد الايسريكية باختبار لاتكس باستخدام طرق أخذ عينات عشوائية هادفة ومنهجية ووُجد في هذه الدراسة انتشار للإشريكية القولونية (E. coli O157:H7) بنسبة 5.2%. وكشفت اختبارات حساسية مضادات الأحياء الدقيقة أن

حساسية عزلات الإشريكية القولوني (E. coli O157:H7) من مسحات الذبيحة، ومحتوى الروث، والأدلة، ومسحات السكاكين، وعينات المياه كانت ، و53%، و60%، و60% على التوالي.

وقد اجريت دراسة قام بها(Ziem *et al.,* 2023) لتوصيف ظاهري لسلالات الإشريكية القولونية المُمرضة التي تُلوث منتجات الأسماك واللحوم المُباعة والمُخصصة للاستهلاك البشري في مدينة دوالا. وبناءاً على ذلك جُمعت ٩٥ عينة من منتجات الأسماك واللحوم عشوائياً من ٨ أسواق و ١١ سوبر ماركت تابعة لمجلس مدينة دوالا وتم عزل الإشريكية القولونية وتحديدها باستخدام تقنيات تعتمد على الاستنبات والتقنيات الكيميائية الحيوية، حيث أظهرت النتائج أن 89.5% من منتجات الأسماك واللحوم ملوثة بجراثيم الإشريكية القولونية وقد كشفت هذه الدراسة أن عينات الأسماك واللحوم كانت مصادر محتملة لانتشار الإشريكية القولونية المقاومة للمضادات الحيوية في السلسلة الغذائية في دوالا. ويشكل هذا خطرًا صحياً جسيماً على السكان، ويبرز الحاجة إلى نهج صحي موحد لفهم هذه المشكلة وإدارتها بشكل أفضل في الكاميرون.

وفي دراسة أجراها (Elkady *et al.,* 2024) الكشف عن انتشار جراثيم الإشريكية القولونية المنتجة للشيغا في لحوم الإبل وأحشاءها حيث جُمعت لحوم الإبل وكبدها وكلاها من الأسواق المحلية في مصر. وعُزلت الجراثيم القولونية الإشريكية القولونية للكشف عن وجود الجينات المرتبطة بالضراوة eaeA، hylA ، stx1، stx2، بإستُخدم تفاعل البوليميراز المتسلسل.

وفي دراسة الموسومة بعنوان(منظور صحي واحد حول نظافة لحوم الإبل والأمراض الحيوانية المنشأ) قام بها (Yousif *et al.,* 2024) اجريت هذه الدراسة للتحقق من السلامة الميكروبية والكيميائية للحوم الإبل والأمراض الحيوانية المنشأ المرتبطة بالإبل في الشرق الأوسط على مدى العقد الماضي، مع التأكيد على الدور الحاسم لنهج الصحة الواحدة. من خلال التحليل المنهجي للدراسات الحديثة (في العقد الماضي، من عام 2014)، حيث قاموا بتقييم انتشار مسببات الأمراض، والتلوث بالمعادن الثقيلة وبقايا المبيدات الحشرية، وتأثير الأمراض الحيوانية المنشأ مثل فيروس كورونا المسبب لمتلازمة الشرق الأوسط التنفسية .(MERS-CoV) كشفت النتائج عن تباين كبير في انتشار مسببات الأمراض، مع الكشف المتكرر عن مسببات الأمراض التقليدية المنقولة بالغذاء (مثل السالمونيلا والإشريكية القولونية مما يؤكد الحاجة إلى سياسات صارمة لاستخدام المضادات الحيوية وتدابير سلامة غذائية قوية. بالإضافة إلى ذلك، سلّطت المراجعة الضوء على تلوث كبير في لحوم الإبل بالمعادن الثقيلة وبقايا المبيدات الحشرية،

مما يُثير مخاوف صحية عامة كبيرة تستدعي اتخاذ تدابير تنظيمية صارمة ومراقبة منتظمة. ويُؤكد استمرار ظهور الأمراض الحيوانية المنشأ، وخاصةً فيروس كورونا المسبب لمتلازمة الشرق الأوسط التنفسية، إلى جانب تهديدات أخرى مثل داء المثقبيات، وداء البروسيلات، وداء المطثية الحاطمة ، على أهمية تعزيز المراقبة المستمرة. ويُعدّ تعزيز الاستثمار في البنى التحتية التشخيصية، وبرامج التدريب، وقدرات التخطيط أمراً بالغ الأهمية لمعالجة هذه القضايا المتعلقة بالعلاقة بين الإبل والإنسان في الشرق الأوسط. ويُعدُّ تبني نهج "الصحة الواحدة أمراً حيوياً لضمان سلامة وجودة لحوم الإبل، وإدارة المخاطر الحيوانية المنشأ بفعالية، بما يضمن في نهاية المطاف حماية الصحة العامة، ويعزز ممارسات الثروة الحيوانية المستدامة.

2-11- المواد الحافظة Preservative agents:

وهي مواد شائعة الاستخدام وتعمل على زيادة فترة صلاحية المنتجات الغذائية وتمنع نمو البكتريا في الأغذية وبالتالي هي من الإضافات الأساسية للمنتجات الغذائية ومع تطور العلم أدى الى خلق تقنيات جديدة لضمان بقاء اللحوم ومنتجاتها آمنة لفترات طويلة حيث تم استخدام بعض الاحماض وذلك لمنع نمو الجراثيم في اللحوم وقد تلقت الاحماض العضوية في الأونة الأخيرة اهتماماً بالغاً وذلك بسبب أنها آمنة حيث أدى إضافة الاحماض العضوية المختلفة الى تحسين الجودة الميكروبيولوجية للحوم وتتأثر اللحوم بشكل عام بالعوامل المضادة للبكترية وخاصة الاحماض وهي معتمدة من قبل منظمات حكومية ودولية كمنظمة الصحة العالمية (WHO) والاتحاد الأوربي ومنظمة الأغذية والزراعة للأمم المتحدة (FAO) وإدارة الغذاء والدواء التابعة لوزارة الصحة والخدمات الإنسانية الامريكية (FDA)

(USDA, 2005; Surekha and Reddy, 2000) ويمكن استخدام المحاليل المخففة من الأحماض العضوية عند تراكيز مخفضة من 1-3% ليس لها تاثير سلبي في الخواص الحسية المرغوب فيها للحوم عند معاملتها بهذه الأحماض (Goncalves and Almeida, 2005) وقد أوصت منظمة الأغذية والأدوية الامريكية باستخدام الاحماض العضوية بنسبة تتراوح مابين (1.5-2.5) كمحاليل مطهرة لذبائح الدواجن (Del *et al.,* 2007) وللسيطرة على نمو الميكروبات، تستخدم صناعة اللحوم عادةً الأحماض العضوية في معالجة لحوم البقر (Sofos and Buncic, 2012).

وتعرف المواد الحافظة بأنها عبارة عن مواد كيميائية تضاف الى الأطعمة من اجل المحافظة عليها من مسببات الفساد حيث تقوم هذه المواد بتأخير نمو الجراثيم أو منع ظهورها وبهذا يمكن إطالة مدة تخزين

الأطعمة وأن أكثر المواد عرضة للفساد هي اللحوم بشكل عام حيث أنها تمتلك الوسط المناسب لنمو الجراثيم بشكل كبير لذلك يتم إضافة بعض المواد للحفاظ على اللحوم من الفساد ومنع تكاثرها وهناك أنواع كثيرة للمواد الحافظة من أهمها المحاليل الكيميائية مثل حمض السوربيك وحمض الخليك ولاكتات الصوديوم وغيرها من الاحماض الأخرى حيث يمكن استخدام وقد ركزت بعض الأبحاث المتعلقة بالتطهير الكيميائي للحوم على نطاق واسع على استخدام الأحماض العضوية. ومع ذلك لم يعرف الألية التي تمتلكها الأحماض العضوية للقضاء على الجراثيم، إلا أنه يُعتقد عمومًا أن الجزيء غير المنفصل يلعب دوراً رئيسياً في نشاطها المضاد للميكروبات(Taylor and Doores, 2020).

ويمكن أن تشمل الأحماض حمض اللاكتيك والبروبيون والأسيتيك والستريك والبنزويك، أو تكون على شكل أملاح مثل أملاح الكالسيوم والصوديوم لأحماض البروبيونيك والأسيتيك والستريك والبنزويك والتي تعتبر من الأحماض العضوية المختلفة المستخدمة في تطهير ذبائح اللحوم وتختلف الاحماض في نشاطها على الجراثيم حيث تختلف من حمض لأخر وهناك احتمال وجود آليات متعددة للسمية البكتيرية وتختلف أيضا الالية المثبطة للجراثيم في الاحماض حيث تعتمد على نوع الكائن الدقيق

. (Guo *et al.,* 2022)

وقد استخدمت الاحماض العضوية في عدة أبحاث بغرض خفض التلوث الميكروبي في اللحوم حيث أنخفض التلوث الميكروبي عند المعاملة بالحموض لقطيعات من لحوم الدجاج (صدر/فخذ) وبالتالي إطالة فترة تخزينها وصلاحيتها (Min et al.,2007) وقد وجد في أبحاث أن معاملة لحوم الأغنام بحمض الخل عند تركيز 3% على درجة حرارة 55 درجة مئوية أدى الى حفظها لمدة 4 أسابيع على الأقل (Eustace *et al.,* 1980).

وتستخدم الاحماض العضوية كمواد حافظة وواقية من تلف المواد الغذائية وزيادة فترة صلاحيتها وتستخدم ايضا للحد من التلوث الجرثومي في انتاج وتصنيع اللحوم الحمراء والبيضاء وقد تم دراسة الاحماض العضوية وفعاليتها كمضادة للجراثيم من قبل عدة باحثين وقد وجدوا أنها تختلف حسب الحالة الفسيولوجية للحيوانات وأن استخدام الاحماض العضوية والاملاح للحد من تكاثر مسببات الأمراض وذلك عندما تتعرض الى أنخفاض الأس الهيدروجيني اثناء استخدام الاحماض والاملاح ولذلك فأن تقييم الاحماض العضوية علماُ محدداً لاستجابات العامة والنوعية لمسببات الأمراض التي تنتقل عن طريق الغذاء حيث

يمكن وضع استراتيجية لتطوير طرق السيطرة على هذه المسببات باستخدام الاحماض العضوية (المطيري وأخرون ،2013)

وهذا تعتبر اللحوم من المنتجات التي لها القابلية على التلف والفساد اذ تصبح غير صالحة للاستهلاك البشري ومن المحتمل أن تشكل خطورة على صحة المستهلك من خلال النمو الميكروبي والتغيرات الكيميائية والتحللات الداخلية الحاصلة بوساطة الأنزيمات اذ أن التلوث البكتيري يمكن أن يسبب مخاطر صحية متمثلة بالتسمم الغذائي وتلف اللحم وما ينتج عنه من خسائر اقتصادية (Fernandez *et al.,* 2005) وقت أجريت معظم الدراسات على منتجات اللحوم المصنعة وذبائح الدواجن وكان القليل منها على ذبائح اللحوم الحمراء، ولا يزال استخدام الأحماض العضوية على الذبائح الطازجة أثناء الذبح بحاجة إلى مزيد من التحقيق (Han et al., ؛ Casas *et al.,* 2021؛ Aykın–Dinçer *et al.,* 2021؛2020 Omori *et al.,* 2017) أشارت الأبحاث إلى أن حمض الأسيتيك هو المضاد الميكروبي الأكثر فعالية ضدS. Typhimurium، مع تصنيف الفعالية على أنه أسيتيك <لاكتيك <سيتريك < هيدروكلوريد (Álvarez *et al.,* 2010) يمكن أن تُعزى الاختلافات في أنخفاض مسببات الأمراض إلى متغيرات مثل درجة حرارة المحلول الحمضي، والتي تتراوح من درجة حرارة الغرفة إلى 55 درجة مئوية. أن عدم القدرة على تقليل الرقم الهيدروجيني السطحي للحوم البقر الذي يمنع نمو الجراثيم كان مسؤولاً عن عدم أنخفاض تعداد E. coli O157 تم التحقق من صحة فعالية حمض اللاكتيك بنسبة 4٪ لتطهير الذبائح المبردة بواسطة(Gill and Badoni, 2004) وقد تم تقييم الحد الأدنى من التركيزات المثبطة لأملاح الأحماض العضوية المختلفة في لحم الدجاج مع إظهار سترات الصوديوم ولاكتات الصوديوم لها تأثيرات مثبطة عند تركيز 1.25% عند 37 مْ و42 مْ (Milillo and Ricke, 2010) وأن كان الاستخدام مقيداً بسبب الآثار الحسية السلبية المحتملة وضرورة الحفاظ على درجة حموضة منخفضة للحصول على نشاط مضاد للميكروبات مثالي (Zhou *et al.,* 2007) يمكن أن تختلف فعالية حمض الأسيتيك في تثبيط تلوث السالمونيلا بشكل كبير بناءً على التركيز والظروف المحددة. تشير الأبحاث إلى أن حمض الأسيتيك يمكن أن يقلل بشكل فعال من الحمل الميكروبي عند تركيزات منخفضة تصل إلى 0.25٪ (Trček *et al.,* 2015) وقد أجريت أبحاث عديدة لإيجاد طرائق لزيادة مدة الحفظ المبرد للحوم ومنها إضافة مواد مساعدة على الحفظ مصنعة كيميائياً أو مستخلصات عشبية أو أحماض عضوية أو زيوت عطرية فضلاً عن اللجوء إلى حفظ هذه اللحوم مغلفة في جو معدل أو مفرغ من الهواء (Gulmez

and Vatansever, 2006) وتهدف جميع طرائق حفظ اللحوم إلى الحصول على منتج ثابت المواصفات وصالح للاستهلاك البشري، حيث تتوقف فيه جميع النشاطات المسببة للفساد وخاصة الكيميائية والجرثومية منها. وفي هذا المجال تقسم طرق حفظ اللحوم بناء على ذلك إلى طرق الحفظ المعتمدة على السيطرة الحرارية كالتبريد والتجميد والبسترة والتعقيم(Mangalassary *et al.,* 2007)، وطرائق الحفظ المعتمدة على السيطرة على الماء الفعال كالتجفيف والتمليح، وطرائق الحفظ المعتمدة على التأثير المباشر على عوامل الفساد كالتشعيع(Hui *et al.,*2005) أو اضافة الأنزيمات والمواد الحافظة الكيميائية والطبيعية (Weiss, 2010) وأيا كانت طرائق الحفظ فأن تقييم جودتها يرجع إلى قدرتها على المحافظة على جودة المنتج لأطول فترة زمنية ممكنة (Hui *et al.,*2005) وقد تبين أن الاحماض العضوية تزيد من مدة حفظ اللحوم وتخفف الحمولة الجرثومية في اللحوم وذلك بسبب قدرتها على تخفيض رقم (وقد تبين أن الاحماض العضوية تزيد من مدة حفظ اللحوم وتخفف الحمولة الجرثومية في اللحوم وذلك بسبب قدرتها على تخفيض رقم (pH) وجعل أغشية الجراثيم غير مستقرة (Luck and Jager, 1997) وأن الاحماض العضوية عددها كبير فقد قمنا بدراسة ثلاثة أحماض للتأكد من تأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في اللحوم الحمراء والتي يمكن أن تستخدم كمادة حافظة في هذه اللحوم وهذه الاحماض هي:

2-11-1- حمض السوربيكSorbic Acid:

حمض السوربيك قليل الذوبان في الماء وسوربات البوتاسيوم هو الشكل الأكثر استخداماً في صناعة الأغذية نظراً لثباته وسهولة تصنيعه وذوبانه الاستثنائي في الماء(يمكن استخدامه لانتاج محاليل تخزين بنسبة 50% (Lueck, 1990) في الزيوت يكون حمض السوربيك أكثر قابلية للذوبان من سوربات البوتاسيوم(Thakur *et al.,* 1994) هو حمض أحادي الكربوكسيل ، سلسلة مستقيمة، غير مشبع ،متحول له الصيغة الجزيئية =CH3-CH=CH-CH تم اكتشافه لأول مرة عام 1859 من قبل Hofmann الذي أنتجه من التوت حيث تم اكتشاف تأثيره على الجراثيم من قبل E.MULLER في المانيا عام 1959 ويمكن أن ينتج صناعيا وهو حمض دهني غير مشبع وهو عبارة عن بلورات بيضاء لها رائحة خفيفة مميزة وطعم حامضي وتنصهر هذه البلورات في درجة حرارة 132-135 درجة مئوية اما الكميات القليلة 100 غرام يمكن أن تذوب في درجة حرارة الغرفة بنسبة 0.15 بينما تبلغ أنحلاليته في 100غرام كحول اثيلي خالي من الماء ويكون على شكل املاح الصوديوم ويكون على هيئة مساحيق أو

حبيبات أو محاليل أو غيرها ويملك حمض السوربيك واملاحه فعالية واسعة الطيف ضد الفطور ولكنها ذات فعالية أقل تجاه الجراثيم ولكن يمكن أن يثبط نمو أنواع من الجراثيم المنتجة لأنزيم الكاتلاز لكنه غير فعال ضد الجراثيم التي لا تمتلك هذا الأنزيم ويمكن أن يستخدم حمض السوربيك مع كميات صغيرة من النتريت أو الفوسفات في بعض منتجات اللحوم ،كما يعتبر حمض السوربيك من أهم المواد الجافظة للحوم حيث يقوم حمض السوربيك بمنع نمو العفن. يُمكن إضافة حمض السوربيك إلى المركبات المضادة للميكروبات المستخدمة في التعقيم. ويعتبر مادة آمنة حيث يستخدم في جميع دول العالم في حفظ الأغذية ، ويستخدم حمض السوربيك Sorbic acid وأملاحه على نطاق واسع في حفظ اللحوم بسبب الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة المسببة للفساد اللحوم حيث يلعب دورا في خفض رقم PH في اللحوم (Feiner, 2006)

يُستخدم حمض السوربيك والسوربات في حفظ السمن النباتي بتركيز يتراوح بين 0.1% و0.05%. يوضع حمض السوربيك في وسط الدهون أو سوربات البوتاسيوم في الوسط المائي بتركيزات محددة. ويُستخدم حمض السوربيك أيضاً لحفظ المايونيز. يمنع خليط سوربات البوتاسيوم وبنزوات الصوديوم التلف الناتج عن نمو جراثيم حمض اللاكتيك. يُعد حمض السوربيك أيضاً من أهم المواد الحافظة المستخدمة في حفظ الجبن نظراً لفعاليته العالية في درجات الحموضة المختلفة، وخاصةً ضد الفطريات، تختلف طرق إضافة حمض السوربيك إلى الجبن باختلاف نوع الجبن المُنتج والغرض من الحفظ. بالنسبة لمنتجات اللحوم، يُمكن استخدام حمض السوربيك لمنع نمو الفطريات غير المرغوب فيها، كما يُستخدم محلول سوربات البوتاسيوم، بتركيز 10–20%، لمعالجة النقأنق الجافة ومن أهم استخدامات حمض السوربيك في منتجات اللحوم تثبيط نشاط جراثيم الكلوستريديا يتميز خليط السوربات مع كميات صغيرة من النتريت أو الفوسفات في منتجات اللحوم بدرجة حموضة قادرة على تثبيط جراثيم الكلوستريديا، وبالتالي منع تكوين السموم الناتجة عنها(Amin *et al.,* 2014) . وكما ذُكر سابقاً، فأن السوربات غير فعالة ضد جراثيم حمض اللاكتيك يمكن استغلال هذه الميزة باستخدام سوربات بتركيز 0.5–0.25% لحفظ المخللات، حيث تُضاف بتركيز 4% من سوربات البوتاسيوم إلى محلول التخليل. هذه الإضافة لها تأثير ضئيل أو معدوم على جراثيم حمض اللاكتيك، بينما للسوربات تأثير كبير على الكائنات الدقيقة غير المرغوب فيها الأخرى، مثل الخميرة السطحية والفطريات، ويؤدي هذا إلى زيادة بنسبة 20% في نسبة الخضراوات المخللة مقارنة بالمنتجات غير المحلاة، كما يُضاف سوربات البوتاسيوم، الذي يحتوي

على 0.1% سوربات، إلى محاليل تحتوي على الخيار والزيتون، والتي تحتوي على الخل، لمنع نمو الخميرة السطحية والفطريات. ويُستخدم حمض السوربيك أيضاً في حفظ العديد من المنتجات الغذائية – حيث يُضاف 0.1% سوربات البوتاسيوم إلى معاجين الفاكهة لمنع التخمر والحد من نشاط الفطريات. ويُستخدم حمض السوربيك بتركيز 0.02% في حفظ المشروبات الغازية كمادة حافظة إضافية ضد التلف الناتج عن الخميرة. ويجب ألا ننسى أهمية حمض السوربيك في حفظ الشوكولاتة والحلويات المحشوة نظرًا لفعاليته في مستويات الحموضة العالية ضد الخميرة التي تتحمل الضغط الأسموزي العالي. ويستخدم عادة بتركيزات تتراوح بين 0.2% – 0.05% (Feiner, 2006).

وهناك بعض النظريات حول حمض السوربيك منها احتمال أن يثبط السوربات امتصاص الأحماض الأمينية، مما يؤدي إلى تدمير الغشاء أو تمزيقه (Davidson, 2001). وهناك أيضًا نظرية مفادها أن السوربات يؤثر على نشاط الأنزيم من خلال تراكم الأحماض الدهنية غير المشبعة بيتا، مما يعيق وظيفة أنزيم نازعة الهيدروجين المثبطة لعملية الأيض والنمو (Davidson, 2001) ينص الاحتمال الأخير على أن السوربات قد يثبط عملية التنفس من خلال تأثيره التنافسي مع الأسيتات في تكوين أسيتيل مرافق الأنزيم أ (Davidson, 2001). يمكن للسوربات تثبيط الجراثيم المكونة للأبواغ من خلال التأثير على مراحل مختلفة من دورة حياتها، بما في ذلك أنبات الأبواغ، ونموها، وأنقسام الخلايا الخضرية (Sofos *et al.,1986)* كما أنه يشكل روابط تساهمية مع مجموعات SH من الأنزيمات باستخدام روابطه المزدوجة، مما يؤدي إلى تعطيل مجموعات SH ومع ذلك فمن غير المرجح أن يكون التأثير المثبط ناتجًا فقط عن تثبيط أنزيم واحد (Lueck and Jager, 1995). تتفاعل مجموعات الكربوكسيل في حمض السوربيك بسهولة لتكوين الأملاح والإسترات، وخاصة ملح البوتاسيوم، وهو أمر مهم في التطبيقات نظراً لذوبأنه العالي في الماء (Sofos and Busta, 1980). وقد ثبت أن إضافة السوربات إلى أنظمة الأغذية المخمرة لها تأثير ضئيل جدًا على الميكروبات (Sofos and Busta, 1993) تزيد هذه الخاصية من قيمة السوربات كمادة حافظة في العديد من تطبيقات الألبان. كما وُجد أن السوربات يثبط بنجاح، وفي بعض الحالات يدمر، أو يقلل من 2–3 سلالات مسببة للأمراض من الجراثيم مثل السالمونيلا ، والإشريكية القولونية، والمكورات العنقودية الذهبية (Campos and Gerschenson, 1998). بتركيزات منخفضة جدًا (Sofos and Busta 1980) وقد ثبت أيضاً أن السوربات تعيق خطر تطور الأفلاتوكسين (Raczek, 2001). يمكن أن يتأثر استقرار السوربات بالعديد من العوامل نشاط مائي

أعلى وسرعة تحلل في درجة الحرارة. عادةً ما يضاف إليها سوربات بمستويات 0.5٪ أو أقل كمضاد للفطريات (Ledward, 1990). نظرًا لأن السوربات أكثر فعالية في الحالة غير المتفككة، فأن نشاط السوربات يكون في أعلى مستوياته عند درجة حموضة منخفضة، ولكنه يظل فعالاً عند قيم حموضة تصل إلى 6.5، بينما يبلغ الحد الأقصى لدرجة الحموضة للمواد الحافظة الغذائية الشائعة الأخرى (بروبيونات، بنزوات) 5.5. يعزز وجود السكريات والأملاح ومضادات الأكسدة وكلوريد الصوديوم ومضادات حيوية بيروكسيد الهيدروجين وتركيزات عالية من أيونات المعادن التأثيرات المثبطة لحمض السوربيك (Sofos, 1989). يتحلل حمض السوربيك عن طريق الأكسدة الذاتية، حيث أن بعض سلالات جراثيم حمض اللاكتيك قادرة على تحلل حمض السوربيك إلى الكحول المقابل له وهو الهيكساديينول، وبعض أنواع العفن قادرة على تحلل المادة الحافظة إلى 1،3بنتادين. ومع تشكل نواتج الأكسدة هذه، وُجد أن تركيز السوربات في نماذج الرطوبة المتوسطة ينخفض بمقدار الضعف خلال 4 أشهر من التخزين عند درجة حرارة 38 درجة مئوية. بالإضافة إلى أنخفاض الفعالية مع أنخفاض تركيز السوربات، تؤثر نواتج التحلل على رائحة ونكهة المنتج، ويمكن أن تشارك في تفاعلات تحمير غير أنزيمية (Ledward, 1990؛ Thakur *et al.,* 1994). بدأت صناعة اللحوم المعالجة في دراسة السوربات بدل إضافة النتريت إلى تركيبات اللحوم المعالجة حيث وجد أن النتريت يمكن أن يسبب بعض الأمراض المسرطنة عند استخدامه في بعض اللحوم لجأ العديد من الباحثين إلى تقييم السوربات كبديل للنتريت (Pierson and Smoot, 1982) أشارت الدراسات إلى أن السوربات مضاد جرثومي فعال، وقادر على إطالة مدة الصلاحية وكبح نمو مسببات الأمراض في العديد من اللحوم المصنعة. عند إضافة السوربات إلى تركيبات المعالجة بالمستويات الموصى بها، يمكن إضافة النتريت بتركيزات مناسبة فقط لتحسين لون ونكهة اللحوم المعالجة. المنتجات التي تحتوي على السوربات ومستويات أقل من النتريت أقل عرضة لتكوين النيتروزامين، مع الحفاظ على فعاليتها كمضادات للأحياء الدقيقة (Sofos, 1989).

ويمكن استخدام حمض السوربيك حتى تركيز 5% في حفظ اللحوم من أجل القضاء على مسببات الفساد الهوائية (Feiner, 2006) وأن استخدام حمض السوربيك يعمل كمادة حافظة وغير سام ويمنع نمو الجراثيم ومضاد للأكسدة وموصى بشكل عام ويستخدم حمض السوربيك ومعظم املاحه القابلة للذوبأن في

الماء المعروفة بالسوربات وفعال ضد جراثيم الايشريكية القولونية حيث تم تثبيطها (Koodie and Dhople, 2001)

وفي دراسة تقييم تأثير حمض السوربيك على الايشريكية القولونية حيث اظهرت النتائج 5000 ميكروغرام /مل حيث يمكن استخدام حمض السوربيك كمثبط لنمو الأمراض والتي تنتقل عن طريق الغذاء ويمكن أن يستخدم كمادة حافظة (Amin *et al.,* 2014).

وقد خضعت مشتقات أخرى من حمض السوربيك للفحص، ولكن التطبيقات التجارية تعوقها مشاكل مثل أنخفاض الذوبأن في الماء والنكهات القوية. السورباميد أكثر تثبيطاً بألف مرة من حمض السوربيك تجاه كحول الخميرة ديهيدروجينيز، وحمض السوربوهيدروكساميك مثبط فعال للعفن على نطاق واسع من الأس الهيدروجيني (3.6–9.2) (pH)، تتحقق التأثيرات المضادة للميكروبات بأفضل صورة عند pH أقل من 6 وهو نطاق أكثر فائدة لمنتجات الألبان(Lueck and Jager, 1995) . السوربات أكثر فعالية في تثبيط العديد من الجراثيم، وتشمل سلالات التلف والممرضات (Sofos, 1989). وقد أثبتت الأبحاث نشاطاً مثبطاً ضد بعض الجراثيم موجبة وسالبة الجرام، وموجبة وسالبة الكاتالاز، والهوائية واللاهوائية، والجراثيم المحبة للحرارة، والمحبة للاعتدال، والجراثيم المحبة للبرودة، على الرغم من أن آلية العمل الفعلية ضد الجراثيم غير معروفة إلا أن الهدف الرئيسي هو الخلايا الخضرية في الغشاء السيتوبلازمي (Davidson, 2001).

2-11-2 - لاكتات الصوديوم Sodium Lactate:

لاكتات الصوديوم هو ملح الصوديوم لحمض اللاكتيك، وله تأثير مضاد للجراثيم (Hwang *et al.,* 2011) تُعتبر أملاح الأحماض العضوية آمنة عموماً (GRAS) من قِبل إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA)، ويُسمح بإضافتها مباشرةً إلى مختلف الأطعمة للتحكم في نمو الميكروبات وإطالة مدة صلاحية المنتجات (Sallam, 2007).

اللاكتات هي من أملاح حمض اللاكتيك، وتُستخدم تجارياً كمضادات للأحياء الدقيقة في اللحوم ومنتجاتها، لاكتات الصوديوم صيغتها$C_3H_5O_3Na$، وزنها الجزيئي 112.06، pKa3.86 وهي معتمدة للاستخدام في منتجات اللحوم بنسبة تصل إلى 4.8% وزناً من إجمالي التركيبة، يُعتبر حمض اللاكتيك مكوناً طبيعياً في أنسجة العضلات، ويُظهر خصائص مضادة للأحياء الدقيقة عند وجوده

بمستويات عالية (Bacus and Bontenbal, 1991)، ويعتبر حمض اللاكتيك (LA) هو حمض عضوي ضعيف وهي بودرة شفافة قليلاً بلا رائحة مالحة قليلاً وهوملح الصوديوم لحمض اللاكتيك الناتج عن معادلة حمض اللاكتيك الناتج عن تخمير النباتات المحتوية على السكر مثل الذرة ويعتبر مادة حافظة طبيعية للأغذية واللحوم حيث يمنع نمو الجراثيم والعفن والخميرة ويزيد فترة حفظ الأغذية وهو نوع جديد من عامل الحفظ ويطبق على منتجات اللحوم ويستخدم أيضا كمادة منكهة كونه له حموضة معينة يعطي نكهة خاصة للغذاء ونتيجة للمخاطر على الصحة العامة لجأ العديد من الباحثين الى الاستعأنة بمواد حافظة أكثر أماناً في حفظ اللحوم وكان حمض اللاكتيك من الاحماض الشائعة الأكثر أمأناً والذي يعد أضافته الى اللحم المفروم دور كبير في تثبيط عدد كبير من الجراثيم الممرضة مثل الايشريكية القولونية وله استخدامات واسعة في العديد من الصناعات من الأغذية والادوية والمواد الكيميائية ونظرا لتعدد استخداماته يشهد سوق حمض اللاكتيك نمواً مستمراً ويتزايد عدد الشركات المصنعة له، ويمكن استخدام لاكتات الصوديوم كمادة حافظة. وقد ثَبُتَ أن استخدام محلول مائي من لاكتات الصوديوم (2.5%) فعال ضد نمو مختلف الكائنات الدقيقة المسببة للتلف. وأُفيد بأن لاكتات الصوديوم يُؤخر أكسدة الدهون ويُطيل مدة صلاحية اللحوم المتبلة أثناء التخزين المُبرّد (Sallam, 2007) يُضاف لاكتات الصوديوم عادةً إلى منتجات اللحوم والدواجن، ويُنصح باستخدامه كمُحسِّن للنكهة في منتجات اللحوم والدواجن المطبوخة. يُستخدم ملح حمض اللاكتيك (SL)، أيضاً كعامل للتحكم في درجة الحموضة (pH)، ويُقلل من النشاط المائي ويُثبط نمو الجراثيم وخاصةً في العصيات اللبنية (McKee, 2007).

أما في حالة اللحوم المفرومة، يكون استخدام بعض المواد الحافظة المعروفة محدوداً أو حتى محظوراً إلا أن حمض اللاكتيك وأملاحه استثناءات إيجابية في هذا الصدد. يُعامل حمض اللاكتيك L(+) وأملاحه كمكونات طبيعية للحوم، وفي تكنولوجيا الأغذية، يؤدي حمض اللاكتيك وظائف منظم للحموضة ومادة حافظة ونكهة، بالإضافة إلى كونه عاملًا يعزز نشاط مضادات الأكسدة لمواد أخرى (Ouattara *et al.,* 1996؛ Uchman 2001 ؛ Farag and Korashy 2006) ومع ذلك فأن استخدام حمض اللاكتيك لحفظ اللحوم المفرومة أمر صعب من الناحية التكنولوجية نظراً لضرورة استخدام جرعات صغيرة جداً يمكن تسجيل نتائج أفضل بكثير في حالة استخدام لاكتات الصوديوم، وقد تم البحث على نطاق واسع في التأثير الحافظ لاكتات الصوديوم (Shelef, 1994، Brewer *et al.,* 1995، Ecert *et al.,* 1997، Sallam and Samejima 2004) ومع ذلك فأن العامل المحدد هو زيادة كبيرة في

الطعم المالح في المنتجات النهائية المنتجة بإضافة لاكتات الصوديوم (Ecert *et al.,* 1997؛ Tan and Shelef 2002).

وقد توصل الباحث (Dorsa *et al.,*1998) الى أن إضافة تراكيز قليلة من حمض اللاكتيك لحد 2% الى اللحم المفروم ليس له تأثير على الايشريكية القولونية في حين وجد (Stivarius *et al.,*2002) أن إضافة حمض اللاكتيك الى اللحم المفروم له دور كبير في تثبيط نمو الايشريكية القولونية بإضافة حمض اللاكتيك بنسبة 5%.

2-11-3- حمض الخليك Acetic Acid:

حمض الخليك أو مايعرف باسم حمض الخل أو حمض الاستيك أو حمض الايثانويك وهو من الحموض الكربوكسيلية البسيطة وصيغته CH3COOH وهو مركب عضوي كيميائي يتميز برائحة نافذة وطعمه الحامض كما يعرف بأنه مادة تسبب التأكل كم أن بخاره يسبب تهيج العيون واحتقان في الحلق والرئتين (Álvarez *et al.*, 2010) ويعتبر من الكواشف الكيميائية الهامة ويستخدم كمادة حافظة وله تأثير فعال ضد الأحياء الدقيقة المجهرية بسبب قدرته على خفض pH والتأثير على ثباتية الاغشية الخارجية للخلية الجرثومية وعليه طلب عالمي كبير حيث بلغ الطلب عليه حوالي سبعة ونص مليون طن في السنة الواحدة وقد وجد أن فعالية الأحماض العضوية في إطالة مدة حفظ اللحوم له تأثير كبير في خفض الحمولة الجرثومية في اللحوم وذلك بسبب قدرتها على تخفيض قيمة ال pH ومن ثم جعل أغشية الخلايا الجرثومية غير مستقرة (Luck and Jager,1998) ويُعد حمض الخليك الأكثر استخداماً. ويُستخدم بشكل رئيسي في تتبييل اللحوم ويمتلك ميزة خاصة تتمثل بالذوبان الكبير في الماء ويُعرف حمض الخليك عموماً بأنه آمن للعديد من التطبيقات العامة (Álvarez *et al.*, 2010).

وقد تبين أن معاملة ذبائح الحيوانات بحمض الخل قد تخفض تعداد جراثيم الايشريكية القولونية O157:H7 بمقدار قد يتراوح من 0.1-4.67 log CFU/g (Stivarius and Pohlman, 2002).

ومن الجدير بالذكر أن منظمة الأغذية والأدوية الأمريكية تسمح باستخدام الاحماض العضوية بنسبة تتراوح من 1.5-2.5% كمحاليل مطهرة لذبائح الدواجن (Del and Moran, 2007).

حمض الأسيتيك (AA) هو أحد الأحماض العضوية التي تتكون بشكل طبيعي أثناء تلف الفاكهة وبعض الأطعمة الأخرى بواسطة جراثيم الأسيتوباكتر يُعرف عادةً باسم الخل، ويتميز بخصائص مضادة

للميكروبات لذلك، يُستخدم على نطاق واسع في تقنيات حفظ الأغذية، تبلغ نسبة الحموضة غير المتفككة لحمض الأسيتيك 98.5% عند درجة حموضة 3.0 ووفقاً لتقرير (Adams, 2001)، يُعد حمض الأسيتيك حمضاً أضعف من حمض لوسيون يُقلل حمض لوسيون (LA) من قيمة PH، مما يزيد من نسبة حمض لوسيون في الحالة غير المتفككة، ويزيد من تأثيره المضاد للأحياء الدقيقة. استُخدم حمض الأسيتيك (AA) بمفرده وبالاشتراك مع طرق حفظ أخرى لتطهير لحوم الدجاج الطازجة، وهو شائع الاستخدام في صناعة الدواجن(Ismail *et al.*, 2001 Loretz *et al.*, ؛Fabrizio *et al.*, 2002) 2010؛ في مراجعة حول النشاط المضاد للميكروبات لمعالجات تطهير ذبائح الدواجن ، أُفيد بأن معالجة حمض الأسيتيك (AA) أسفرت عن أنخفاضات تراوحت بين 0.2 و2.0، و0.6 و2.3، و0.8 و2.0 أضعاف في الجراثيم الهوائية، Enterobacteriaceae وSalmonella spp.، على التوالي. علاوة على ذلك، أدت زيادة تركيز حمض الأسيتيك في محلول الغمر من 0.3% إلى 0.6% إلى زيادة أنخفاض الجراثيم الهوائية بمقدار 1.4 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/مل (Loretz *et al.*, 2010). وفي دراسة تم اجراؤها من قبل (Raftari *et al.*, 2009) حيث تم اجراء من 1,1.5و2% من احماض الخليك واللاكتيك والبروبيونيك والفورميك لتقييم مدى فعاليتها في تقليل اعداد جراثيم الايشريكية القولونية O157:H7 والمكورات العنقودية الذهبية على نسيج لحوم الأبقار الطازجة خيث تم تطهيرها اللحوم بالماء الساخن ومن ثم تلقيحها ب O157:H7 وs.aureus بشكل فردي والتي تم رش اللحوم بالاحماض العضوية بشكل منفصل حيث أظهرت النتائج أنخفاض اعداد البكتريا المدروسة بعد الغسيل بالاحماض العضوية وقد ثبت أن الاحماض العضوية هي طريقة آمنة وبسيطة ورخيصة وفعالة في تطهير اللحوم حسب الأنظمة الموصى بها.

وفي دراسة أجراها (Warren *et al.*,1997) على تأثير حمض الأسيتيك وحمض اللاكتيك وفوسفات ثلاثي الصوديوم على الجراثيم الدقيقة في أنسجة سطح ذبيحة لحم البقر المبردة الملقحة بجراثيم Escherichia Coli 0157:H7 و Listeria innocua و Clostridium sporogenest تم الكشف عن الأنماط الميكروبية لأنسجة ذبيحة البقر خلال فترة تخزين مُطولة مُفرّغة ومُبرّدة بعد المعالجة بالمضادات الميكروبية. حيث تم استخدام خزأن غسيل بالرش الصناعي لتوصيل الماء (W)، وحمض اللاكتيك (LA) بنسبة 1.5 و3.0% أو حمض الأسيتيك (AA)، أو فوسفات ثلاثي الصوديوم (TSP) بنسبة 12%.

وفي دراسة اجريت لدراسة تأثير حمض الخليك وحمض اللاكتيك على لحوم الأبقار والتي تحتوي على الايشريكية القولونية حيث تم رش الأحماض العضوية وذلك بتراكيز مختلفة من حمض الخليك وحمض اللاكتيك بتركيز 2% وتركيز 4% وبعد أن تمت معالجة عينات اللحوم بالاحماض وذلك لمدة زمنية 0 ، 1 ، 2 ، 4 ايام حيث اظهرت النتائج أن رش الحمضي من حمض الخليك وحمض اللاكتيك بنسبة 2% أدى الى تقليل الايشريكية القولونية ($p<0.01$) (Conner 1997).

وفي دراسة أجراها (Elaine and Catherine, 2000) تأثير تكيف الإشريكية القولونية O157:H7 مع الأحماض على فعالية غسلات رش حمض الأسيتيك لتطهير أنسجة ذبائح البقر وقد يؤدي لأنخفاض الرقم الهيدروجيني إلى تحفيز مقاومة الأحماض لدى الإشريكية القولونية O157:H7 ومسببات الأمراض الأخرى التي قد تلوث ذبائح البقر لاحقًا. تم فحص تأثير تكيف جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 مع الأحماض على قدرة غسل ذبائح الأبقار برش حمض الأسيتيك على تقليل أعدادها. حُددت مقاومة الأحماض في الطور الثابت وقدرتها على تحفيز تحمل الأحماض لمجموعة من سلالات الإشريكية القولونية O157:H7 باختبار بقاء الخلايا المتكيفة وغير المتكيفة مع الأحماض في مرق الصويا التربسيني المُحمَّض بحمض الهيدروكلوريك (درجة حموضة 2.5). استُخدمت ثلاث سلالات من الإشريكية القولونية O157:H7، صُنفت على أنها مقاومة للأحماض أو حساسة للأحماض أو أظهرت تحملًا قابلًا للتحريض للأحماض، في دراسات غسل الذبائح بالرش. لُقِّحت أنسجة سطح ذبائح الأبقار بجراثيم الإشريكية القولونية O157:H7، وخضعت أنسجة لحم البقر لمعاملات غسل بالرش بالماء أو حمض أسيتيك بتركيز 2%، أو تُركت دون معالجة. بالنسبة للسلالتين ATCC 43895 و43889، بقيت أعداد أكبر من الخلايا المتكيفة مع الأحماض على أنسجة لحم البقر بعد المعالجة بحمض أسيتيك بتركيز 2%، مقارنةً بالخلايا غير المتكيفة، وظلت هذه الاختلافات قائمة طوال 14 يومًا من التخزين عند درجة حرارة 4°م. في كلتا السلالتين، كانت أعداد الخلايا المتكيفة مع الأحماض المتبقية على الأنسجة بعد المعالجة بحمض أسيتيك بتركيز 2% مماثلة لأعداد الخلايا المتكيفة وغير المتكيفة على الأنسجة بعد المعالجة بالماء. بالنسبة للسلالة ATCC 43890، لم يكن هناك فرق بين أعداد الخلايا المتكيفة وغير المتكيفة على أنسجة لحم البقر بعد المعالجة بحمض أسيتيك بتركيز 2% مباشرةً. تشير هذه البيأنات إلى أن التكيف مع الظروف الحمضية بواسطة E. coli O157: H7 يمكن أن يؤثر سلباً على فعالية غسيل الرش بحمض الأسيتيك بنسبة 2٪ في تقليل أعداد هذا الكائن الحي على الذبائح.

وفي دراسة (Johnsamelis *et al.*, 2001) على تأثير تكيف الأحماض على بقاء جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 في سوائل غسيل تطهير اللحوم والآثار المحتملة لتدخلات الأحماض العضوية على البيئة الميكروبية لبيئة مصنع اللحوم حيث تم اختبار سلالة O157:H7 لتقييم بقائها في سوائل غسل اللحوم على نطاق واسع. تعرضت المستعمرات (10 5 وحدة تشكيل مستعمرة/مل) لحمض (2% حمض اللاكتيك، 2% حمض الأسيتيك، أو خليط من الاثنين مع نسب تشبع غسل الماء من 1/1، 9/1، أو 99/1 [حجم/حجم]) أو غسل اللحوم غير الحمضي (الماء) لمدة تصل إلى 14 يومًا عند تخزين 4 أو 10 8 درجة مئوية. نجت جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 في عمليات غسل الماء، وبالمقارنة مع المجموعات المتكيفة مع الأحماض، أظهرت المجموعات غير المتكيفة إمكانات أكبر للبقاء واستعدادًا لبدء النمو في عمليات غسل اللحوم بالماء عند درجة حرارة 10 درجات مئوية. نجا العامل الممرض في معظم عمليات غسل الحمض طوال فترة التخزين (14 يومًا)، وأحيأنا مع أنخفاض طفيف في أعدادها. وبشكل عام، أنخفضت أعداد المجموعات غير المتكيفة أسرع من المجموعات المتكيفة مع الأحماض، بينما ازداد الأنخفاض مع زيادة تركيز الحمض ودرجة حرارة التخزين، وكان أكثر حدة في اللاكتات، مقارنةً بعمليات غسل الأسيتات. أما عمليات غسل اللحوم المحتوية على الأحماض فكانت أنتقائية لنمو جراثيم حمض اللاكتيك والخميرة، مما يشير إلى أن معالجات الأحماض العضوية قد تُغير البيئة الميكروبية لبيئات مصأنع اللحوم، وربما بيئة اللحوم أيضًا. ينبغي أخذ هذه النتائج في الاعتبار عند اختيار تقنيات إزالة التلوث من الطعام.

وفي دراسة(Çetin and Bostan, 2002) تأثير لاكتات الصوديوم على الجودة الميكروبيولوجية ومدة صلاحية كرات اللحم الجاهزة للطهي حيث أُجريت هذه الدراسة لدراسة تأثير لاكتات الصوديوم على الجودة الميكروبيولوجية ومدة صلاحية كرات اللحم النيئة. ولهذا الغرض، أُضيفت نسب 0.5%، و1%، و2% من لاكتات الصوديوم إلى عجينة كرات اللحم المُحضرة وفقاً للطرق التقليدية حُفظت عينات كرات اللحم بعد تشكيلها في الثلاجة لمدة عشرة أيام، خلال هذه الفترة، حُللت العينات دورياً لمعرفة خصائصها الحسية، وكميات الأمونيا، وعدد الميكروبات. لم تتغير الخصائص الحسية لكرات اللحم بإضافة لاكتات الصوديوم. ومع ذلك، أعاق لاكتات الصوديوم نمو الميكروبات اعتماداً على التركيز المُستخدم. علاوة على ذلك، لوحظت زيادة كبيرة في مدة صلاحية كرات اللحم التي تحتوي على لاكتات الصوديوم، مقارنةً بالمجموعة الضابطة التي لم تحتوي على لاكتات الصوديوم. فسدت مجموعة الضبط من كرات اللحم

المبردة بحلول اليوم الرابع، بينما فسدت العينات التي تحتوي على 0.5% و1.0% من لاكتات الصوديوم بحلول اليومين السادس والثامن على التوالي. لم تظهر على كرات اللحم التي تحتوي على 2.0% من لاكتات الصوديوم أي علامات فساد حتى في اليوم العاشر من التخزين. أشارت نتائج هذه الدراسة إلى أن إضافة لاكتات الصوديوم إلى كرات اللحم حسّنت من جودتها الميكروبيولوجية وأطالت مدة صلاحيتها.

وفي دراسة (Byrne *et al.*, 2002) تحديد تأثير لاكتات الصوديوم على بقاء جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 ومقاومتها للحرارة في تركيبتين تجاريتين من فطائر اللحم البقري حيث تم التحقق في تأثير لاكتات الصوديوم (NaL) بنسبة 4% في تركيبات فطائر اللحم البقري على بقاء جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 ومقاومتها للحرارة. تم تلقيح بقايا لحم البقر الطازجة بجراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 بتركيز 16 log10 cfu g، ثم خضعت لمراحل معالجة انتاج فطائر برجر اللحم. تم انتاج نوعين تجاريين من فطائر برجر اللحم: فطائر "عالية الجودة" (100% لحم بقري) وفطائر "اقتصادية" (70% لحم بقري، 30% مكونات أخرى، بما في ذلك البصل والماء والملح والتوابل والبسكويت ومركز الصويا). أُضيف لاكتات الصوديوم (4% وزن/حجم) إلى فطائر برجر اللحم أثناء عملية الفرم، وجُمدت الفطائر الناتجة وخُزنت لمدة شهر. استُخدمت فطائر برجر اللحم الخالية من ملح الصوديوم كعينات ضابطة. بعد تخزينها مجمداً لمدة شهر، فُحصت الفطائر لتحديد تعداد جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7. وُجد تأثير تآزري بين التجميد وNaL، مما أدى إلى أنخفاض طفيف ولكنه مهم ($P \geq 0.05$) (حوالي 10.5 log10 cfug) في تعداد جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7. عولجت فطائر برجر اللحم المجمدة حرارياً عند درجات حرارة 50 و55 و60 درجة مئوية، وحُللت البيأنات لاستخلاص قيم D لخلايا E. coli O157:H7. في كل معالجة حرارية، كانت قيم D لجودة وكفاءة فطائر برجر اللحم التي تحتوي على 4% NaL أقل بكثير ($P \geq 0.001$) من قيم D لتركيبات الفطائر الخالية من NaL. أظهرت الدراسة أن وجود 4% NaL في تركيبات فطيرة برجر اللحم البقري يمكن أن يقلل من المخاطر الإجمالية التي يتعرض لها المستهلكون بسبب وجود E. coli O157:H7 من خلال، أولا تقليل بقاء مسببات الأمراض أثناء التجميد والتخزين المجمد للمنتج غير المطبوخ وثانياً، من خلال زيادة قابلية مسببات الأمراض للحرارة أثناء عمليات الطهي العادية.

وفي دراسة أجراها (Khalid, 2007) أُجريت هذه الدراسة لتقييم الجودة الميكروبيولوجية وأكسدة الدهون لشرائح سمك السلمون الطازج المعالجة بالغمس في محلول مائي من أسيتات الصوديوم (NaA)، أو

لاكتات الصوديوم (NaL)، أو سترات الصوديوم (NaC) بتركيز 2.5% (وزن/حجم)، والمخزنة عند درجة حرارة 1 مئوية. أظهرت النتائج فعالية هذه الأملاح عند ($P<0.05$) ضد تكاثر أنواع مختلفة من الكائنات الدقيقة المسببة للتلف؛ بما في ذلك الجراثيم الهوائية والجراثيم المسببة للبرودة، وجراثيم الزائفة الزنجارية، والجراثيم المنتجة لكبريتيد الهيدروجين، وجراثيم حمض اللاكتيك، والجراثيم المعوية. لوحظ انخفاض أكسدة الدهون، وقيمة حمض الثيوباربيتيوريك (TBA)، بشكل ملحوظ ($P < 0.05$) في العينات المعالجة بـ NaA وNaC. وجاء النشاط المضاد للأكسدة بالترتيب التالي: NaC > NaA > NaL. وقد طالت مدة صلاحية المنتجات المعالجة بمقدار4–7 أيام مقارنةً بالمجموعة الضابطة. لذلك، يمكن استخدام أسيتات الصوديوم، ولاكتات الصوديوم، وسترات الصوديوم كمواد حافظة عضوية آمنة للأسماك المخزنة في الثلاجة.

وفي دراسة (Storage *et al.*, 2008) أجريت على تأثير المواد الحافظة على السلامة الميكروبية وجودة شرائح سمك السلور الأزرق المدخن (Ictalurus furcatus) أثناء التخزين في درجة حرارة الغرفة حيث تم فحص السلامة الميكروبية لشرائح سمك السلور الأزرق المدخن المعالجة بمضادات الميكروبات ومضادات الأكسدة خلال فترة تخزينها في درجة حرارة الغرفة لمدة 6 أسابيع. طُبّقت خمس معالجات نقع قبل التدخين: 25% كلوريد الصوديوم و1% حمض الأسكوربيك لمدة 30 دقيقة أو ساعة، 3% لاكتات الصوديوم مع أو بدون 5% مستخلص إكليل الجبل لمدة 30 دقيقة، و5% حمض السوربيك وحده لمدة 30 دقيقة. بعد التدخين، عُبئت شرائح سمك السلور المبردة وحُللت بعد 0، 2، 4، و6 أسابيع من التخزين في درجة حرارة الغرفة. لم تُعثر على أي جراثيم الليستيريا أو السالمونيلا في شرائح سمك السلور المدخنة. لوحظ أنخفاض ملحوظ ($P<0.05$) في إجمالي عدد الصفائح في جميع العينات المعالجة، حيث حملت العينات المعالجة بـ 3% لاكتات الصوديوم أقل حمولة ميكروبية. كانت العينات المعالجة بمستخلص إكليل الجبل الأكثر ثباتًا ضد الأكسدة. أظهرت جميع شرائح سمك السلور المدخنة المعالجة نشاطًا مائيًا أقل من 0.85 ومع ذلك، لم يتغير الرقم الهيدروجيني أو النشاط المائي بشكل ملحوظ في كل مجموعة معالجة أثناء التخزين وبالنتيجة ، قلل التدخين/الطهي بشكل فعال من أعداد الميكروبات، ويمكن أن يساعد استخدام العوامل المضادة للميكروبات ومضادات الأكسدة، وخاصةً لاكتات الصوديوم 3%، في التحكم في السلامة الميكروبية أثناء التخزين، مما ينتج عنه منتجات آمنة لمدة تصل إلى 6 أسابيع دون تبريد.

وفي دراسة فعالية فوسفات ثلاثي الصوديوم، وحمض اللاكتيك، وحمض الخليك في تقليل جراثيم الإشريكية القولونية والحمل الميكروبي على أسطح الدجاج حيث قام بهذه الدراسة (Bin, 2008) حيث تم تقييم إجراءات غمس ذبائح الدجاج في فوسفات ثلاثي الصوديوم (TSP)، وحمض اللاكتيك (LA)، وحمض الخليك (AA) لتحديد فعاليتها في تقليل جراثيم الإشريكية القولونية والعدد الكلي للجراثيم الهوائية على أسطح لحم الدجاج. تم غمس أجزاء الدجاج في معلق من الإشريكية القولونية (logCFU/ml7) لمدة 20 ثانية وتركها لمدة 90 دقيقة للسماح للإشريكية القولونية بالالتصاق بسطح الدجاج. ثم تم غمس أجزاء الدجاج في تركيز 8 و10 و12% من TSP، وتركيز 1 و2 و3% من LA، وتركيز 0.5 و1 و1.5% من AA لمدة 20 ثأنية لكل منها، تليها الغمس في ماء الصنبور لمدة 20 ثأنية. تم وضع قالب معقم 4 × 4 سم على سطح الدجاج ثم تم مسحه بقطعة قطن. تم إحصاء عدد الإشريكية القولونية والعدد الإجمالي الهوائي. أدى أنخفاض الإشريكية القولونية على أسطح لحم الدجاج المغموسة في 8 و10 و12% من TSP إلى أنخفاض الإشريكية القولونية بمقدار 0.5 و1.2 و1.6 log CFU/cm2 على التوالي. بلغ أنخفاض جراثيم الإشريكية القولونية على أسطح لحم الدجاج المغموسة في 1% و2% و3% من حمض اللينوليك 0.5 و1.8 و2.1 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/سم² على التوالي. كما أدى أنخفاض جراثيم الإشريكية القولونية على أسطح لحم الدجاج المغموسة في 0.5 و1.0 و1.5% من حمض الأسكوربيك إلى أنخفاض أعدادها بمقدار 0.7 و1.1 و1.4 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/سم² على التوالي. وأظهرت النتائج أن حمض اللينوليك كان أكثر فعالية ضد الإشريكية القولونية والعدد الكلي للجراثيم الهوائية مقارنةً بحمض الساليسيليك. TSP وحمض الأسكوربيك.

وفي دراسة قام بها (Friedrich *et al.*, 2008) تأثير المواد الحافظة على الجودة الميكروبية، ودرجة الحموضة، ونسبة فقدان التنقيط، ونسبة فقدان التحميص، واللون، والخصائص الحسية للحم البقر المفروم المعبأ في جو مُعدّل (70% أكسجين و30% ثأني أكسيد الكربون)، والمُخزّن في درجة حرارة (2 ± 0.5 درجة مئوية) لمدة 12 يوماً غُمرت مكعبات لحم بقري (بحجم 20 مم تقريباً) في محاليل من حمض اللاكتيك بتركيز 2% و5%، ثم مُزج حمض اللاكتيك بتركيز 2% مع 0.5% أسكوربات الصوديوم، و20% لاكتات البوتاسيوم، و20% سوربات البوتاسيوم قبل الفرم. ارتبطت إضافة حمض اللاكتيك بأنخفاض درجة الحموضة، مما زاد من نسبة فقدان التنقيط ونسبة فقدان التحميص. أدى استخدام جميع المواد المضافة إلى تثبيط الكائنات الدقيقة الهوائية (103–104 وحدة تشكيل مستعمرة لكل غرام في اليوم

الثاني عشر) مقارنةً بالعينة المرجعية (9 و105 وحدة تشكيل مستعمرة لكل غرام في اليوم الثاني عشر). أدى حمض اللاكتيك إلى تغيير لون العينات، بينما بدا أن أسكوربات الصوديوم قد حسّن ثبات اللون. على الرغم من الخصائص اللونية البصرية الجيدة، إلا أن العينات المعالجة بسوربات– البوتاسيوم كانت غير مقبولة من الناحية الحسية، حيث ظهرت عليها نكهة غير مرغوب فيها بشكل كبير..

وفي دراسة أجراها (Hecer and Ulusoy, 2011) في تركيا بعنوان الخصائص الجرثومي للحوم الدواجن منزوعة العظم ميكانيكياً والمُضافة إليها حمض اللاكتيك وحمض الأسيتيك ولاكتات الصوديوم وتم القيام بالتجربة بعد إزالة قطع اللحم من العظم، حيث تبقى كمية من اللحم ملتصقة بالعظام اللحم منزوع العظم ميكانيكياً هو منتج يُفصل عن العظام أثناء عملية نزع العظم، يكون النمو الجرثومي على المنتجات مرتفعاً في هذه التجربة ، تم حفظ عينات عظام صدر الدواجن في حمض اللاكتيك المركز بنسبة 0.2 و0.3 و0.5%، وحمض الأسيتيك بنسبة 0.2 و0.3%؛ ولاكتات الصوديوم المركز بنسبة1 و2% لمدة 10 دقائق ثم مرت بعملية نزع العظم. بعد ذلك، تم تعبئة العينات وتخزينها لمدة ٤ أيام عند درجة حرارة +٤ درجة مئوية. ووفقاً لنتائج التحليل الجرثومي، لوحظ الأنخفاض الأكثر فعالية في المجموعة التي طبقت لاكتات الصوديوم بنسبة 5٪ بنسبة أنخفاض تقارب 15%. كانت أعداد الإشريكية القولونية أقل في جميع العينات المطبقة بالحمض العضوي مقارنة بمجموعات الضبط (قيمة P < 0.05). ونتيجة هذه التجربة تُعدّ تطبيقات الأحماض العضوية المركزة بتركيزات 0.2 و0.3% من حمض اللينوليك، و1 و2% من حمض الستريك، من أنجح تطبيقات تطهير اللحوم منزوعة العظم ميكانيكياً، وذلك وفقاً للمعايير الجرثومية والحسية وقد طالت مدة صلاحية ليوم واحد بفضل الحلول التجريبية. لاكتات الصوديوم.

تم دراسة قام بها (EL-Tabiy and Soliman, 2011) تأثير رشّ حمض اللاكتيك وحمض الأسيتيك على جودة ومدة صلاحية لحوم البقر الطازجة المخزنة عند درجة حرارة 4 درجات مئوية. رُشّ لحم البقر بحمض اللاكتيك وحمض الأسيتيك بتركيزات مختلفة: صفر (مجموعة ضابطة)، 2% حمض لاكتيك (حمض لاكتيك)، 4% حمض لاكتيك، 2% حمض أسيتيك (حمض أميني)، و4% حمض أميني، ثم حُفظ عند درجة حرارة 4 درجات مئوية لمدة 9 أيام. فُحصت العينات في حالة التعقيم (اليوم صفر) قبل التعقيم. في أوقات محددة (30 دقيقة، 1، 3، 5، 7، و9 أيام)، حُللت العينات لتحديد عدد الميكروبات، والخصائص الحسية، ودرجة الحموضة، وإجمالي النيتروجين القاعدي المتطاير تم حساب المجموعات

البكتيرية للإشارة إلى فعالية المعالجات التي شملت تعداد الجراثيم الهوائية وتعداد الجراثيم المحبة للبرودة وتعداد الجراثيم القولونية الكلية. منذ بداية التجربة، لوحظ التأثير المثبط لحامض اللاكتيك وحمض الخليك. قلل حمض اللاكتيك وحمض الخليك من تعداد الجراثيم فوراً بعد المعالجة وخفف نمو الجراثيم أثناء التخزين في اليوم الأول من العرض، أنخفضت تعداد الصفائح الهوائية بمقدار 1.5 إلى 3 دورات لوغاريتمية، وأنخفضت تعداد الجراثيم المحبة للبرودة باستمرار وأنخفضت تعداد الجراثيم القولونية الكلية إلى مستويات غير قابلة للكشف في المجموعات المعالجة بالحامض. كان التأثير المثبط على نمو الجراثيم واضحاً عند زيادة تركيز حمضي اللاكتيك والخليك. حسّنت معالجات حمضي الخليك واللاكتيك الصفات الجراثيم والفيزيائية للحوم وبالتالي أطالت مدة صلاحيتها. كان العمر الافتراضي للعينات المعالجة بالحامض من حيث جودة الجراثيم من 7 إلى 9 أيام وفقاً للمعالجة المستخدمة مقابل 3 أيام في العينات غير المعالجة. بدت معالجات حمض اللاكتيك بتركيز 4% أكثر فعالية في تأخير نمو الميكروبات، إلا أن عينات اللحوم لم تحتفظ بلونها ورائحتها. بمقارنة تأثيرات المعالجتين الحمضيتين، وُجد أن حمض اللاكتيك أكثر فعالية في كلا التركيزين المستخدمين. أظهرت العينات المرشوشة بحمض اللاكتيك، وخاصةً بتركيز 2%، قبولاً أعلى من تلك المرشوشة بحمض الأسيتيك طوال أيام التخزين من حيث الجودة الجراثيم والبصرية، بدت عينات اللحوم المرشوشة بتركيز 2% أكثر قبولاً من حيث لون اللحوم وعدد الجراثيم. مع اتباع إجراءات النظافة والتداول السليمة، يمكن توفير لحوم أكثر أمأناً وجودة عالية، وضمان سلامة الصحة العامة.

وفي دراسة تحسين مدة صلاحية لحم الإبل المعامل بسوربات البوتاسيوم 0.3% (Hussein *et al.*, 2012)أُجريت لتقييم استخدام سوربات البوتاسيوم 0.3% كمادة حافظة للحم الإبل المفروم. جُمعت عينات من لحم الإبل الطازج (عضلة الفخذ) (عددها 80 عينة) من محلات جزارة مختلفة في مدينة الزقازيق، مصر، وفُحصت جرثومياً لتحديد إجمالي عدد الصفائح الهوائية المتوسطة، وإجمالي عدد الجراثيم المعوية، وإجمالي عدد المكورات العنقودية الذهبية، وإجمالي عدد العفن والخميرة، كانت القيم المتوسطة للوغاريتم ± الأنحراف المعياري للكائنات الدقيقة المفحوصة هي لوغاريتم 6±4.9 ولوغاريتم 3.3±2.1 ولوغاريتم 3.3±2.0 ولوغاريتم 2.5±1.5 على التوالي. تمت دراسة تأثير سوربات البوتاسيوم 0.3% على الحمل الميكروبي والخصائص الحسية للحوم الإبل المبردة (4±1 درجة مئوية). أشارت النتائج إلى أنخفاض كبير خاصة في إجمالي عدد العفن والخميرة. وبالتالي، تم تمديد العمر الافتراضي الجرثومي

للحوم الإبل بشكل كبير إلى 8 أيام (العينات المعالجة بسوربات البوتاسيوم 0.3٪) مقارنة بعينات التحكم، وتم الحفاظ على مستوى الرقم الهيدروجيني للحوم وكان تغير لون السطح ضئيلاً في عينات اللحوم المعالجة مقارنة بعينات التحكم. من ناحية أخرى، فأن طريقة الحفظ هذه قابلة للتطبيق وسهلة النقل والتحضير ورخيصة ومتوفرة في الأسواق. تمت مناقشة أهمية التلوث الجرثومي لذبائح الإبل على الصحة العامة وتم ذكر تدابير مقترحة لتحسين الجودة الجرثومي لذبائح الإبل.

وفي دراسة أجراها (Bayan, 2013) تأثيرات حمض الأسكوربيك، وحمض الستريك، وحمض اللاكتيك، وكلوريد الصوديوم، وسوربات البوتاسيوم، ومستخلص الغدة الزعترية على المكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية وقد ثبّط حمض اللاكتيك (0.03% أو 0.1%) وحده نمو المكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية بشكل شبه كامل. خفّض حمض الستريك (0.03%) نمو المكورات العنقودية الذهبية، بينما ثبّط حمض الأسكوربيك (0.1%) نمو المكورات العنقودية الذهبية بشكل شبه كامل؛ وبلغت نسب التثبيط بعد 24 ساعة من الحضانة في مرق المغذيات 33% و91% على التوالي. لم يُثبّط حمض الستريك (0.03%) وحمض الأسكوربيك (0.1%) نمو الإشريكية القولونية، ولكن حدث تأخير قبل ملاحظة زيادة في عددها. أدى استخدام كلوريد الصوديوم (5%) إلى أنخفاض ملحوظ في نمو كلتا السلالتين؛ حيث بلغت نسب تثبيط المكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية بعد 24 ساعة من الحضأنة 55% و64% على التوالي. أدى استخدام مستخلص الغدة الزعترية (0.3%) وحده أو سوربات البوتاسيوم (0.09%) وحده إلى أنخفاض نمو كلتا السلالتين. أما مزيج حمض الستريك (0.03%) وسوربات البوتاسيوم (0.05%) أو حمض الستريك (0.03%) وكلوريد الصوديوم (5%) فقد تثبيط نمو المكورات العنقودية الذهبية بشكل شبه كامل أو كلي، على التوالي. أما بالنسبة للإشريكية القولونية، فقد أدى استخدام مزيج حمض الستريك (0.03%) وسوربات البوتاسيوم (0.05%) معاً إلى تثبيط نموها تماماً. أدى مزيج من حمض الستريك (0.03%) وكلوريد الصوديوم (3%) أو مستخلص T. vulgaris 0.3%) وكلوريد الصوديوم (3%) إلى أنخفاض كبير في نمو سلالات الإشريكية القولونية، وبلغت نسب التثبيط بعد 24 ساعة من الحضأنة 65% و70% على التوالي.

و قد أجريت دراسة قامت بها حرستاني (2013) في مختبرات قسم علوم الأغذية بكلية الزراعة بجامعة دمشق لدراسة إمكانية إطالة مدة صلاحية صدور الدجاج عن طريق التعبئة المفرغة من الهواء والمعالجة بحمض الأسيتيك. حيث غُمرت صدور الدجاج في محلول يحتوي على تركيز 1% أو 2% من حمض

الأسيتيك لمدة 30 ثانية، وعبأت في أكياس مفرغة من الهواء وأخرى غير مفرغة من الهواء. حُفظت العينات عند درجة حرارة 4±1 درجة مئوية لمدة 21 يوماً، وفُحصت بعد 0 و7 و14 و21 يومًا من التبريد للتحقق من خصائصها الجرثومية والكيميائية والحسية شملت التحاليل الجرثومية تحديد العدد الإجمالي للجراثيم، والقولونيات، والسالمونيلا، والجراثيم اللاهوائية، والزائفة الزنجارية، والخميرة، والعفن. وشملت التحاليل الكيميائية تحديد قيمة الرقم الهيدروجيني والنيتروجين غير البروتيني. كما تم تقييم الخصائص الحسية للون والرائحة والملمس. وأظهرت النتائج أن العينات المغمورة في محلول بتركيز 1% و2% من حمض الأسيتيك أدت إلى تحسن فعال في جودة وخصائص صدور الدجاج الحسية لمدة تزيد عن 14 يوماً مقارنة بعينات التحكم، وأن العينات المعالجة بتركيز 2% من حمض الأسيتيك مع التعبئة المفرغة من الهواء أعطت أفضل نتائج الجودة.

أجراها (Shaltout *et al.*, 2014) حيث كشف هذه الدراسة مدى تأثير تركيزات مختلفة من حمض اللاكتيك (1) (LA و2%) وحمض الأسيتيك (1) (AA و2%) ولاكتات الصوديوم (2.5%) (SL) وأسيتات الصوديوم (2.5%) (SA) على الجودة الكيميائية والجرثومية والحسية للحوم البقر النيئة المخزنة عند 4 درجات مئوية. أظهرت النتائج أن هذه الإضافات كانت فعالة ($P < 0.05$) ضد تكاثر الكائنات الحية الدقيقة المختلفة المسببة للتلف؛ بما في ذلك الجراثيم الهوائية والجراثيم المسببة للبرودة والجراثيم المعوية. كان الترتيب العام للنشاط المضاد للجراثيم للمواد المضافة المختلفة المستخدمة هو؛ AA وLA وSA وSL. كشف التحليل الكيميائي عن أنخفاض كبير ($P < 0.05$) في قيمة الرقم الهيدروجيني لعينات لحوم البقر المعالجة. تم الكشف عن اختلافات كبيرة ($P < 0.05$) مع الجودة الحسية، حيث أعطت العينات المعالجة 1٪ (AA) أعلى الدرجات لخصائص اللون والملمس والنكهة. بشكل عام، تُظهر النتائج أن إضافة 1% حمض أراكيدونيك أو 1% حمض لينوليك إلى قطع اللحم البقري يُمكن أن يُؤخر تكاثر الكائنات الدقيقة المُسببة للتلف، ويُحسّن خصائصها الحسية، ويُطيل مدة صلاحيتها أثناء التخزين المُبرّد. تتمتع هذه الإضافات بخصائص واعدة تُمهد آفاقاً وفرصاً جديدة لحفظ لحوم البقر باستخدام مواد حافظة فعّالة وآمنة واقتصادية.

وفي دراسة Chaea and Zaid, 2017 الخصائص الكيميائية والجرثومية والحسية للحوم صدور الدجاج المبردة والمعاملة بلاكتات الصوديوم وسترات ثلاثي الصوديوم حيث تم استخدام نوعين من الأحماض العضوية، لاكتات الصوديوم وسترات ثلاثي الصوديوم، لإطالة مدة تخزين لحم صدور الدجاج الطازج.

عولجت عينات الدجاج بتركيزات مختلفة من هذه الأحماض عن طريق الرش والغمر. عولجت العينات T1 وT3 باستخدام لاكتات الصوديوم 2% (الغمس والرش) على التوالي، بينما عولجت معاملتي T4 وT5 باستخدام لاكتات الصوديوم 4% (الغمر والرش) على التوالي، ومعاملتي T6 وT7 باستخدام سترات ثلاثي الصوديوم 1% (الغمس والرش) على التوالي، ومعاملتي T8 وT9 باستخدام سترات ثلاثي الصوديوم 2.5٪ (الغمس والرش) على التوالي. عولجت كل عينة لحوم بهذه الأحماض العضوية لمدة 10 دقائق، ثم تم حفظ العينات مبردة عند 4 درجات مئوية لفترات تخزين مختلفة (0، 1، 3، 5، و7) أيام. خلال وقت التخزين، أجريت اختبارات كيميائية وميكروبية وحسية. في اليوم السابع من التخزين، سجلت المعاملة T1 أعلى قيمة PH، بينما أعطت T6 وT9 أقل قيم PH. خلال الفترة نفسها، سجّلت T9 وT7 أقل عدد من الجراثيم الكلية، بينما حققت T1 أعلى عدد منها. أما بالنسبة للتأثيرات النفسية، فكان أداء T4 أقل من T1 وT6 وT8 وT9، التي سجلت أعلى عدد من الجراثيم. أما من حيث التقييم الحسي، فلم تكن هناك فروق جوهرية بين الصفات المدروسة إلا في اللون. وخلصت الدراسة إلى إمكانية استخدام لاكتات الصوديوم وسترات ثلاثي الصوديوم لمعالجة لحم صدور الدجاج لإطالة مدة تخزينه في الثلاجة.

وفي دراسة Ahmed *et al.*, 2018 تأثير بعض الأحماض العضوية وأملاحها على الجودة الميكروبية ومدة صلاحية لحوم البقر أثناء التخزين البارد. جُمعت عينات لحوم البقر الطازجة (144) من مسلخ بمدينة بنها، ثم حُضِّرت وعُولجت بالغمس في محاليل حمض اللاكتيك (LA) بتركيز 1 و2%، وحمض الأسيتيك (AA) بتركيز 1 و2%، ولاكتات الصوديوم (SL) بتركيز 2.5 و5%، وأسيتات الصوديوم (SA) بتركيز 2.5 و5%، ثم خُزِّنت عند درجة حرارة 4 درجات مئوية على فترات 3، 6، 9، 12، 15، 18، و21 يوماً، وفُحصت حسيًا وفيزيائياً وجرثومياً. أظهرت نتائج التحليل الفيزيائي أنخفاضاً ملحوظًا في قيمة الرقم الهيدروجيني (pH). بلغت قيمة الرقم الهيدروجيني (pH) للمجموعة الضابطة 5.82±0.13 في بداية التجربة، و4.6±0.14، 4.4±0.13، 4.9±0.13، 4.40±0.19، 5.73±0.08، 5.55±0.08، 5.84±0.08، و5.69±0.12 لكلٍّ من حمض اللاكتيك (1% و2%)، وحمض الأسيتيك (1% و2%)، ولاكتات الصوديوم (2.5% و5%)، وأسيتات الرصاص (2.5% و5%)، على التوالي. بلغ متوسط قيمة النيتروجين القاعدي المتطاير (TVBN) في بداية التجربة 12.50±1.0 للمجموعة الضابطة. في اليوم الحادي والعشرين من التجربة، كان أفضل متوسط لقيمة TVBN هو 20.70±2.07 لحامض الأسيتيك (2%)، وأعلى متوسط كان 25.70±2.84 للمجموعة الضابطة. كما أظهرت النتائج أن متوسط قيمة

المواد التفاعلية لحمض الثيوباربيتيوريك (TBARs) في بداية التجربة كان 0.43±0.02 للمجموعة الضابطة. في اليوم الحادي والعشرين من التجربة، كانت أقل قيمة للمواد التفاعلية لحمض الثيوباربيتيوريك 0.51±0.04 لحامض الأسيتيك (2%)، بينما كانت أعلى قيمة 1.17±0.04 للمجموعة الضابطة. كما كانت المعالجات فعالة ضد تكاثر الكائنات الدقيقة المسببة للتلف، بما في ذلك الجراثيم الهوائية، والجراثيم المسببة للبرودة، والزائفة الزنجارية، والجراثيم المعوية، والمكورات العنقودية الذهبية، والخميرة، والعفن. أظهر تحليل الخصائص الحسية أن أعلى معدل قبول عام بلغ 8.1±0.2 لعينات لحم البقر المعالجة بحمض الأسيتيك (1%)، بينما كان أدنى مستوى 6.2±0.1 للعينات المعالجة بحمض اللاكتيك (2%). أظهرت العينات المعالجة بحمض الأسيتيك 1% وحمض اللاكتيك 1% أفضل الخصائص الحسية من حيث اللون والملمس والنكهة. إجمالاً، حسّن استخدام حمض اللاكتيك وحمض الأسيتيك وأملاحهما في معالجة لحم البقر الطازج من سلامته الميكروبية وأطال مدة صلاحيته. وهذا من شأنه أن يفتح آفاقًا جديدة لحفظ لحم البقر باستخدام مواد حافظة فعالة وآمنة واقتصادية.

وفي دراسة التطهير الميكروبي لأسطح ذبائح الأبقار باستخدام رش حمض اللاكتيك وحمض الأسيتيك وفوسفات ثلاثي الصوديوم أجراها (Khalid *et al.*, 2020)

حيث تحقق من تأثير رش حمض اللاكتيك (LA) وحمض الخليك (AA) وفوسفات ثلاثي الصوديوم (TSP) على التعداد الجرثومي لأسطح ذبائح لحوم البقر المذبوحة في مسلخ تقليدي في الزقازيق بمصر. تم تحديد أعداد جرثومية أعلى على الكتف مقارنة بأسطح الفخذ، وأسفر أخذ عينات اللحوم بتقنية استئصال الأنسجة عن عدد ميكروبي أعلى بشكل ملحوظ ($P < 0.01$) من طريقة المسحة. أدى تطبيق رش LA 2%و AA 2% و TSP12% لمدة 30 ثانية بشكل ملحوظ ($P < 0.01$) إلى تقليل عدد السكان الميكروبي على أسطح لحوم البقر بمقدار 0.9 إلى 2.2 تم تثبيط كامل لنمو المكورات المعوية عن طريق رش LA وAA بشكل عام، كانت رش LA وAA أكثر كفاءة كعوامل مضادة للجراثيم من رشTSP من بين الكائنات الحية المدروسة، كانت المكورات المعوية أكثر أنواع الجراثيم قابلية للاختزال باستخدام حمض اللاكتيك وحمض الأسكوربيك، تليها الجراثيم المعوية والقولونية، بينما كانت المكورات العنقودية الذهبية الأقل قابلية للاختزال. أشارت هذه الدراسة أيضاً إلى أن التجمعات الجرثومية المحددة على الكتف كانت أعلى منها على سطح الفخذ، وأن أخذ عينات اللحوم بتقنية استئصال الأنسجة أظهر عدداً جرثومياً أعلى بكثير ($P<0.01$) مقارنةً بطريقة المسح.

وفي دراسة أجرتها الابراهيم[أ](2022) دراسة تأثير حمض الخل وحمض اللبن على جراثيم الاشريكية والتي تعتبر من المسببات الرئيسية في فساد لحم الدجاج وذلك بهدف اطالة فترة تخزين لحم الدجاج في درجة حرارة الثلاجة. حيث تم غمر عينات اللحم بالمحاليل التالية: حمض الخل1%، حمض الخل2%، حمض اللبن1%، حمض اللبن2%مدة 5 دقائق. حفظت العينات بدرجة حرارة 1±4 مْ ثم دُرس تأثير الاحماض العضوية المختلفة خلال مدد التخزين بعد 24 ساعة 5،10،15 و20 يوماً في الحمولة الميكروبية بما فيها تعداد كل من بكتريا السالمونيلا والإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية. كما تم تقييم بعض الصفات الحسية (اللون والرائحة والقوام). وقد بيّنت النتائج قدرة الاحماض العضوية المستخدمة على اطالة فترة حفظ لحم الدجاج وبقائه طازجاً مع الحفاظ على الصفات الحسية مدة تصل الى15 يوماً مقارنة بالشاهد الذي لم يتجاوز فترة حفظه 5 أيام وقد أظهرت العينات المعاملة بمحلول حمض اللبن 2% أفضل صفات جودة خلال مدة التخزين.

وفي دراسة أخرى أجرتها الابراهيم[ب] (2022) حيث درست تأثير الأحماض العضوية والملح في الطعام على بعض أنواع الجراثيم (السالمونيلا، الإشريكية القولونية، المكورات العنقودية الذهبية) والتي تعد السبب الرئيسي في فساد لحوم الدجاج لإطالة فترة حفظها حيث تم غمر عينات لحوم الدجاج في محلول مكون من 2% أسيتيك، 2% لاكتيك، 5% (ملح، حمض أسيتيك، حمض لاكتيك، حمض أسكوربيك، وحمض سوربيك) لمدة 5 دقائق. تم حفظ العينات عند 1±4 درجة مئوية لمدة 15 يومًا وفحصها بعد 2،5،7،10،15 يوماً من التبريد للخصائص الميكروبيولوجية والكيميائية والحسية. تضمن التحليل الميكروبيولوجي تحديد العدد الإجمالي للجراثيم، والكشف عن وجود الإشريكية القولونية، المكورات العنقودية الذهبية، والسالمونيلا. تضمن التحليل الكيميائي تحديد قيمة الرقم الهيدروجيني. تم تقييم الخصائص الحسية للون والرائحة والملمس. وأظهرت النتائج أن العينات المغمورة في محلول تركيز 5٪ (الملح وحمض الخليك وحمض اللاكتيك وحمض السوربيك وحمض الأسكوربيك) قد حسنت بشكل فعال جودة وخصائص حسية لحوم الدجاج لأكثر من 12 يوماً مقارنة بعينات التحكم وكانت العينات المعالجة بنسبة 5٪ من (الملح والخليك واللاكتيك والسوربيك والأسكوربيك) أفضل نتيجة جودة.

وفي(Munkhnasan *et al.*, 2022) دراسة تحسين العمر الافتراضي للحوم البقر باستخدام حمض اللاكتيك وخليط حمض الأسكوربيك وسوربات البوتاسيوم تم إجراء المعالجة بطريقتي الرش والغمر. تم وضع خليط من 2% حمض اللاكتيك مع 0.5% حمض الأسكوربيك، و 2% حمض اللاكتيك مع 1%

حمض الأسكوربيك، و 2٪ حمض اللاكتيك مع 2٪ حمض الأسكوربيك، و 1٪، و 2٪، و 5٪ سوربات البوتاسيوم على عينات لحم البقر بعد التعبئة المفرغة من الهواء على الفور، تم تخزين العينات عند 4 ± 1 درجة مئوية لمدة 17 يوماً تم قياس معايير الجودة مثل الرقم الهيدروجيني واللون والعدد الكلي للهواء المتوسط في الأيام: 0 و 4 و 10 و 17. تم تحديد قيم الرقم الهيدروجيني باستخدام مقياس الرقم الهيدروجيني الرقمي. تم تحديد لون سطح لحم البقر باستخدام مقياس الألوأن. قُيست قيم L* وa* وb*، وحُسبت زاوية اللون والصبغة. في الاختبارات الجرثومية، فُحصت العينات بعد المعالجة خلال 24 ساعة لتحديد عدد خلايا الجراثيم الهوائية المحبة للحرارة والجراثيم المعوية بالطرق التقليدية في الاختبارات الجرثومية، ويتراوح العدد الأولي للصفائح الهوائية للعينات الضابطة والمعالجة بين 4.25 و6.32 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/جم، مع نطاق من 3.13 إلى 6.83 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/جم بعد 17 يوماً من التخزين تشير النتائج إلى أن استخدام معالجة سوربات البوتاسيوم بطريقة الرش قد أدى إلى تأثير تآزري في التحكم في نمو الميكروبات. إلا أن خليط حمض اللاكتيك وحمض الأسكوربيك لم يُحدث تأثيرات مثبطة كبيرة على نمو الميكروبات. تشير بيانات قياس اللون إلى عدم وجود تغير ملحوظ في لون عينة الضبط خلال فترة العرض التي استمرت 17 يوماً، بينما طرأ تغير طفيف في اللون على العينات الأخرى المعالجة وعند قياس الرقم الهيدروجيني، ثبت أن خليط حمض اللاكتيك وحمض الأسكوربيك يُخفض الرقم الهيدروجيني للحم البقري. وقد يُعزى هذا الأنخفاض الأولي إلى المعالجة الحمضية. لذلك، قد تُشكل معالجات حمض اللاكتيك وحمض الأسكوربيك وسوربات البوتاسيوم بديلاً لإطالة عمر لحم البقر.

3-المواد وطرائق البحث

Material and Methods

المواد وطرائق العمل Material and Methods:

3-1- المواد:

3-1-1- الأجهزة المستخدمة Apparatus using:

الجدول رقم (2): الأجهزة المستخدمة في الاختبارات

رقم	اسم الجهاز	الشركة المصنعة
1	حاضنةIncubator	Yamato(japan)
2	فرن حراري كهربائيOven	Memmert(Germany)
3	محراك مغناطيسي magnetic stirrer	Labinco
4	حمام مائي Water bath	Yamato(japan)
5	مجهر ضوئي Light microscope	Nikon(japan)
6	ميزان حساس Sensitive balance	Nikorius
7	حجيرة معقمة	HERolaB
8	جهاز المدور الحراري	Thermal cycler (TECHNE TC-512)
9	الخلاط الكهربائي Electric mixer	-
10	ثلاجة Refrigerator	-
11	ماصات دقيقة Micropiptis	Benchmate
12	مؤصدة Autoclave	Yamato(japan)

13	جهاز تقطير Distiller	Exelo(England)
14	مثفلة عالية السرعة SpectraFuge	SpectraFuge240 LabNet
15	جهاز الرحلان الكهربائي	peQlab BioTechnology, GMBH
16	قارئ الاشعة فوق البنفسجية موصول لكاميرا وكمبيوتر وطابعة	UVIPRO Platinum – +Mitsubishi P93D)

3-1-2- الأوساط المزرعية :

الجدول رقم (3): الأوساط الزرعية والمواد المستخدمة في الاختبارات

اسم الوسط أو المادة	الاستخدام	الشركة المصنعة
آغار الماكونكي MacConkey agar	لعزل الإشريكية القولونية	HiMedia (India)
وسط آغار مغذي (Nutrient agar)	لتنقية العزولات	HiMedia (India)
وسط نقيع القلب والدماغ Brine Heart Infusion	لتنمية جراثيم الإشريكية القولونية	HiMedia (India)
وسط Cefixime Tellurite Sorbitol MacConkey agar	لعزل الإشريكية القولونية	HiMedia (India)
المرق المغذيNutrient broth	تنشيط العزلات البكتيرية	HiMedia (India)
وسط EMB	لعزل الإشريكية القولونية	HiMedia (India)
مساطر بيوكيميائية	لعزل الإشريكية القولونية	KB003 Hi25

3-1-3- المحاليل والمواد الكيميائية The solutions and Chemical materials:

الجدول رقم(4) المحاليل المستخدمة في الاختبارات:

المحلول	الاستخدام
لاكتات الصوديوم 2%.	لدراسة تأثيرها على جراثيم E.coli
حمض الخليك تركيز 1%.	لدراسة تأثيرها على جراثيم E.coli
حمض السوربيك تركيز 1%.	لدراسة تأثيرها على جراثيم E.coli
لاكتات الصوديوم 4%.	لدراسة تأثيرها على جراثيم E.coli
حمض الخليك تركيز 2%.	لدراسة تأثيرها على جراثيم E.coli
حمض السوربيك تركيز 2%.	لدراسة تأثيرها على جراثيم E.coli
صبغة غرام	صبغة تفريقية

3-2- جمع العينات:

أجريت هذه الدراسة في مخبر الأحياء الدقيقة ومخبر الـ PCR في كلية الطب البيطري التابعة لجامعة حماه مابين الشهر الثاني والشهر الثامن من العام 2024 وكانت التجربة على الشكل التالي :

تم جمع 120 عينة عشوائية من اللحوم الحمراء والبيضاء المستهلكة في الأسواق المحلية لمدينة حماة للكشف عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو على الشكل التالي :

لحم الأغنام 20 عينة، لحم الأبقار 20 عينة ، لحم الماعز 20 عينة ،لحم الجمال 20 عينة لحم الفروج 20 عينة ، لحم الأسماك 20 عينة (وتشمل لحوم عدة أنواع من الاسماك سمك الكرب وسمك المشط وسمك السلور المتوفرة في الاسواق والمستهلكة بكثرة لدى المستهلكين)

وبواقع 250 غرام من كل نوع لحمة لكل عينة من اللحم حيث تم نقل العينات بعد وضعها باكياس نظيفة ومعقمة الى مخبر كلية الطب البيطري.

3-3- طريقة العمل:

1-تحضير الأوساط الزرعية:

حُضِّرت الأوساط الزرعية حسب تعليمات الشركة المصنعة كالآتي:

2-وسط الآغار المغذي Nutrient Agar:

يحل 28 غرام من الوسط في 1000 مل من الماء المقطر وثم يسخن حتى الذوبان الكامل، ويعقم بجهاز الموصدة Autoclave بدرجة 121 م° ولمدة 15 دقيقة وبعدها يبرد ويصب في أطباق بتري.

3-وسط ماكونكي Mac Conkey Agar:

حضر بإذابة 49.53 غرام من الوسط في 1000 مل من الماء المقطر ثم سخن لحين الذوبان وبعدها عقم بجهاز الموصدة Autoclave بدرجة 121 م° ولمدة 15 دقيقة ويصب في أطباق بتري.

وسط مرق خلاصة القلب والدماغ Brain heart infusion broth:

حضر بإذابة 37 غرام من الوسط في 1000 مل من الماء المقطر وبعدها يوزع في أنابيب ويعقم بجهاز الموصدة Autoclave بدرجة 121 م° ولمدة 15 دقيقة.

4-وسط الايوزين وأزرق الميثلين Eosin Methylene Blue (EMB) Agar:

حضر بإذابة 35.96 غرام من الوسط في 1000 مل من الماء المقطر ثم سخن حتى الذوبان الكامل وبعدها تم تعقيمه بجهاز الموصدة Autoclave بدرجة 121 م° ولمدة 15 دقيقة وبعدها يبرد ويصب في أطباق بتري.

5-تحضير كاشف الميتيل:

يحل 0,1 gr من أحمر الميتيل، في 300 ml من الكحول الايتيلي، ثم يضبط الحجم بالماء المقطر حتى 500 ml.

6-تحضير كاشف V.P(VOGES PROSKOUR)

لتحضير المحلول (A) يؤخذ (5 gr من ألفا نفتول، يضاف إليها 100 ml من الكحول الايتيلي).

لتحضير المحلول (B) يؤخذ (40 gr من ماءات البوتاسيوم KOH) ، بعدها يضاف (100 ml) من الماء المقطر.

7-وسط ماء الببتون Peptone water:

يحل 15 غرام من الوسط في كمية من الماء المقطر ثم يستكمل إلى 1000 مل كحجم نهائي

ويسخن لحين الذوبان الكامل وبعدها يعقم باستخدام جهاز الموصدة (Autoclave) بدرجة 121 م° ولمدة 15 دقيقة.

8- كاشف الكاتلاز Catalase reagent

حضر هذا الكاشف بتركيز 3% وذلك بإضافة 1 مل من بيروكسيد الهيدروجين H2O2 المركز 30% الى 9مل من الماء المقطر (Macfaddin,2000)

3-3-1- عزل جراثيم الإشريكية القولونية المفرزة للذيفان السام لخلايا فيرو:

تم إجراء عزل جراثيم الإشريكية القولونية المفرزة للذيفان السام لخلايا فيرو من اللحوم المختبرة وذلك باتباع الخطوات التالية حسب الشرجبي (2015):

تم وزن 25 غ من عينات اللحوم ووضعت في أكياس معقمة ذات اغلاق محكم وأضيف إليها 225 ملليتر من وسط نقيع القلب والدماغ (BHI) وتجنس العينة بواسطة جهاز Stomacher ، ثم حُضنت بدرجة حرارة 41,5 مْ لمدة 6 ساعات.

تم زرع 1مل من المعلق وفرشه على اطباق حاوية على وسط آغار سفكسيم تيلوريت ماكونكي سوربيتول Cefixime Tellurite Sorbitol MacConkey agar (CT-SMAC) ، ثم تحضن الأطباق على درجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة وفُحصت المستعمرات النامية على الأطباق واختيرت المستعمرات غير المخمرة للسوربيتول (عديمة اللون أو الشاحبة).

تم زرع المستعمرات غير المخمرة للسوربيتول على وسط EMB وحُضنت لدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة، ثم أنتخبت المستعمرات ذات اللمعة المعدنية الخضراء بهدف تنقية جراثيم الايشريكية القولونية.

تشخيص الجراثيم (Bacterial identification)

اعتمدنا في التعرف على جراثيم E.coli ، على دراسة شكل المستعمرات الجرثومية (Bacterial colonies) على الأوساط المغذية الصلبة بالإضافة للفحوصات البيوكيميائي:

1- اختبار حلقة الأندول:

أخذت أنبوبة تحوي ml (10) من ماء الببتون، وأضيف إليها ml (1) من كاشف كوفاك بعد الحضن، وهنا الكمية المضافة تلعب دور كبير في حجم الحلقة التي تظهر.

2- اختبار أحمر الميثيل:

يؤخذ أنبوب يحوي ml(10) من وسط (MRVP) ويضاف إليه ml (1) من كاشف أحمر الميتيل، ويرج الأنبوب.

3- اختبار فوكاس بروسكار:

زرعت مجموعتان من الانابيب الحاوية على وسط MRVP، السائل بالمستعمرات البكتيرية وحضنت كلتا المجموعتين عند درجة حرارة 37م لمدة 48 ساعة للمجموعة الأولى و24 ساعة للمجموعة الثانية. وبعد عملية الحضن أضيف للمجموعة الاولى من الانابيب 5 قطرات من كاشف أحمر المثيل ويدل تحول لون الوسط من الاصفر الشاحب الى الاحمر على التحلل الكامل للسكر وإنتاج الحمض، في حين أضيف للمجموعة الثانية من الانابيب 0.6 مل من كاشف ألفا نفثول و0.2 مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم 40% ويدل تحول لون الوسط من الأصفر الشاحب الى الكرزي بعد مرور 15-30 دقيقةعلى التحلل الجزئي للسكر وإنتاج مركب diacetyl carbonil (Macfaddin,2000).

اختبار النمو على منبت سيترات الصوديوم لسيمون:

يحضر وسط سترات الصوديوم، ويوضع في أنابيب، في كل أنبوب حيث يوضع ml (10) ويترك ليتصلب بشكل مائل. تفرش على السطح المائل لأنبوب من سترات الصوديوم بواسطة العروة من معلق المستعمرة النموذجية من محلول ملحي.

4- اختبار الكاتالاز:

جري الاختبار بنقل مستعمرة مفردة نامية على الوسط الزرعي بواسطة لاقحة معقمة ووضعها على شريحة زجاجية نظيفة ثم وضعت عليها قطرات من بيروكسيد الهيدروجين H2O2 3% ويعد ظهور فقاعات غازية دلالة على أن الجرثومة تمتلك أنزيم الكاتالاز

3-2-2- تنقية العزلات وحفظها :

تم نقل بعض العزلات النامية من أوساط الزرع إلى وسط الآغار المغذي بواسطة ناقل معقم وبشكل تخطيط Streaking ومن ثم حُضنت في درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة حيث تمت مرحلة التنقية بنقل العزلات، وبعد تنقية المستعمرات تمت المحافظة على العزلات الجرثومية في المرق المغذي إذ حُضنت في درجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة وبعدها حفظت في الثلاجة إلى أن يتم إجراء الاختبارات عليها مع مراعاة تجديد الزرع كل (1 -3) أشهر (Collee *et al.*,1996).

3-3-3- الاختبارات الكيمياحيوية:

تم تحضير لطاخة جرثومية وصباغتها بصبغة غرام باستخدام صبغة مجهزة من شركة (Hi Media) وذلك باتباع ارشادات الشركة المصنعة للصبغة كما تم استخدام **العتيدة (Hi25™ Enterobacteriaceae* Identification Kit (KB003** * لإجراء الاختبارات الكيميا حيوية وذلك باتباع تعليمات الشركة المصنعة:

المسطرة البيوكيمائية:

استخدمنا عتيدة خاصة بالإمعائيات KB003 Hi25Enterobacteriaceae لتأكيد تشخيص الإشريكية القولونية ، من صنع شركة HiMedia الهندية، وهي طريقة قياسية تتضمن عدد من الاختبارات لتشخيص الجرثومة المعزولة على أساس الجنس والنوع وتتألف العتيدة من شريط حاو على ركائز فحص مجففة في أنابيب دقيقة ومفردة، حيث يعاد تحميلها من خلال إضافة المعلق الجرثومي المراد دراسته

تم اختيار مستعمرة واحدة معزولة وتلقيحها في 5 مل من وسط نقيع القلب والدماغ (BHI) وحُضنت عند 37°C لمدة 6 ساعات ،ثم تم تلقيح كل بئر بـ 50 ميكرولتر من المزرعة الجرثومية المحضرة باستخدام طريقة التلقيح السطحي، وحضنت المساطر البيوكيمائية بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة، ثم تم إضافة الكواشف المرفقة للاختبارات التي تحتاج كواشف، وقورنت التغيرات اللونية في الآبار مع جدول تفسير النتائج المرفق.

طريقة الاستعمال:

أضيف 3-2 قطرة من كاشف TDA إلى الحفرة رقم 5 ثم أضيف 1-2 قطرة من كاشف Sulphanilic acid مع 1-2 قطرة من كاشف N, N-Dimethyl-1-Napthylamine إلى الأنبوب رقم 6.

ثم أضيف 1-2 قطرة من كاشف Baritt A و2-1 قطرة من كاشف Baritt B الى الأنبوب رقم 9.

ثم أضيف 1-2 قطرة من كاشف احمر الميتيل Methyl red إلى الأنبوب رقم 10.

ومن ثم اضيف 1-2 قطرة من كاشف كوفاك Kovac إلى الأنبوب رقم 11.

اختبار الأكسيداز oxidase test:

توضع قطرة من الماء المقطر المعقم على قرص اختبار الحاوي على الكاشف (Dihydrochloride Tetramethyl-P-phenylenediamine 1%) ثم يوضع عليها معلق من الجراثيم المراد اختبارها

بواسطة لاقحة معقمة ويتم توزيعها. وإن ظهور اللون البنفسجي الغامق خلال 60- 30 ثانية دليل على إيجابية الاختبار(Baron and Fingold, 1990).

3-4-3- اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR:

وقد تم استخدام هذه التقنية في الكشف عن وجود المورثات المشفرة لكل من الذيفان السام لخلايا فيرو vt2،vt1 ، وتعتبر هذه الذيفانات من أهم عوامل الضراوة التي تمتلكها الإشريكية القولونية المسببة للأمراض عند الإنسان حيث تم إخضاع العزولات الجرثومية التي كانت إيجابية للإشريكية القولونية بالزرع الجرثومي والاختبارات الكيمياحيوية لهذا الاختبار لبيان امتلاكها هذه المورثات، وقد أجريت مراحل تنفيذ هذا الاختبار في مخبر PCR في كلية الطب البيطري في جامعة حماة.

1-الكواشف والمواد (الكيماويات) المستخدمة في اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR:

1- **المشرعات primer:** تم اختيار تسلسل هذه المشرعات من أجل تضخيم الجينات المشفرة لكل من الذيفانات vt2، vt1 (OIE ,2008) كما هو موضح بالجدول التالي:

الجدول رقم (5) تسلسل المشرعات المستخدمة وحجم نواتج تفاعل PCR:

Gene Target	Primer Sequence (5′ – 3′)	Amplicon size (bp)
Vt1	F(5′-CGC-TCT-GCA-ATA-GGT-ACT-CC-3′) R(5′-CGC-TGT-TGT-ACC-TGG-AAA-GG-3′)	256
Vt2	F(5′-TCC-ATG-ACA-ACG-GAC-AGC-AG-3′) R(5′-GC-TTC-TGC-TGT-GAC-AGT-GAC-3′)	185

ماء مقطر معقم:

استخدام في مرحلة استخلاص الـ DNA DNA-Extraction وكذلك في مرحلة تحضير مزيج تفاعل PCR.

آغاروز Agarose:تم الحصول عليه من شركة PeqGold universal (lot N O.2) واستخدم لتحضير هلامة الآغاروز بتركيز 1.5% للكشف عن نواتج التفاعل التي تم تضخيمها في تفاعل البوليميراز المتسلسل بالرحلان الكهربائي Electrophoresis.

دارئةTBE Tris-borate-EDTA (TBE-1X): استخدمت في تحضير هلامة الآغاروز وكدارئة للرحلان الكهربائي في أثناء عملية الترحيل، وقد حُضِّر محلول أم (stock solution) من دارئة الرحلان بتركيز (10 x) كماورد في الجدول رقم (6):

المادة	الكمية
Tris-base	30.25 g
Boric acid	15.45 g
EDTA	1.85 g
ماء مقطر للوصول الى حجم نهائي	500 ml

الجدول (6) مكونات محلول أم من دارئة الرحلان TBE

معلم سلم الوزن الجزيئي: 100bp Marker DNA Molecular Weight:

تم الحصول عليه من شركة TaKaRa اليابأنية، وتم استخدامه لمعرفة الوزن الجزيئي لمنتجات التفاعل Amplicon.

صبغة الايثيديوم بروميد Ethidium Bromide:

من انتاج شركة تاكارا (TaKaRa) اليابانية واستخدمت للكشف عن نواتج التفاعل، وذلك بإضافتها بتركيز 1 ميكروغرام / مل لهلامة الآغاروز، وكذلك اضافتها بتركيز 1 ميكروغرام / مل لهلامة الآغاروز وترتبط هذه الصبغة مع الـ DNA الناتج عن التضخيم وتتألق عند تعريض الهلامة للأشعة فوق البنفسجية مما يمكن من الكشف عن هذه النواتج.

دارئة التحميل Loading Buffer 6X:

تم الحصول عليه من شركة تاكارا (TaKaRa) اليابانية(Code .No 1078A) وتم إضافة 2ميكرولتر منها الى 10 ميكرولتر من الناتج النهائي لتفاعل البولميراز المتسلسل المتعدد ، وذلك قبل وضعه مباشرة في الحفرة المخصصة له في هلامة الاغاروز لإجراء الترحيل الكهربائي.

طريقة اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR:

وقد تم الاختبار على ثلاث مراحل وهي مرحلة تحضير مرصاف ال DNA الجرثومي -DNA Template ويتم استخلاص الحمض النووي الريبي المنزوع الأوكسجين من الذراري الجرثومية المعزولة بالطريقة التقليدية (الغلي) المرحلة الثانية: التضخيم وهي المرحلة الاساسية في هذا الاختبار وقد تم استخدام تقنية تفاعل البولميراز المتسلسل المتعدد Multiplx-Polmerase Chain Reaction التي تتمكن من تضخيم منطقتين متمايزتين من الحمض الريبي النووي المنزوع الأوكسجين الخاص بالايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو وهذه المناطق خاصة بال vt1، vt2 وبنفس الوقت يتم توفير الجهد والكيماويات والمرحلة الثالثة تضمنت الكشف عن نواتج التفاعلAmplicon وذلك باستخدام تقنية الرحلان الكهربائي Electrophoresis في هلامة الاغاروز (Oie,2008).

استخلاص وتحضير مرصاف الـ DNA:

تم استخلاص الدنا من عزولات الإشريكية القولونية بطريقة الغليأن على النحو التالي:

اعيد زراعة الذراري الجرثومية على وسط الآغار المغذي وحضنت لمدة 24 ساعة على الدرجة 37 مْ، وتم أخذ عروة Loop زرع جرثومي من المستعمرات النامية وتمت تعليقها في 100 مايكرولتر من الماء المقطر المعقم وغليها في حمام مائي مدة 15 دقيقة، وبعدها تم تثفيل الأنابيب بسرعة 10.000 rpm لمدة 10 دقائق حيث يترسب حطام الخلايا في الأسفل وبعدها تم نقل الجزء الطافي الحأوي على الـ DNA الى لأنابيب إيندروف 1.5 مل تم استبعاد السائل الطافي ومن ثم تمت اعادة التثفيل على 13.000 دورة في الدقيقة لمدة عشر دقائق وتم حفظ العينات في ال درجة 20−م (Godambe LP et al.,2017).وقد تم نقل العينات الى مخبر ال PCRفي كلية الطب البيطري –جامعة حماة.

تحضير مزيج اختبار البوليميراز المتسلسل PCR:

حضر مزيج تفاعل PCR باستعمال عتيدة تفاعل البولميراز المتسلسل من شركة (TaKaRa) وذلك حسب ما يوضحه الجدول رقم (7). (الكميات خاصة بالعينة الواحدة).

الجدول رقم (7) مكونات مزيج تفاعل البوليميراز المتسلسل لكل عينة:

المكونات	الحجم
Template DNA	2 µl
Primer F	0.5 (10pmol/µl)
Primer R	0.5 (10pmol/µl)
Buffer	2.5 µl
Mgcl2	2 µl
dNTP	0.5
Taq	0.5
Water	15.5 µl

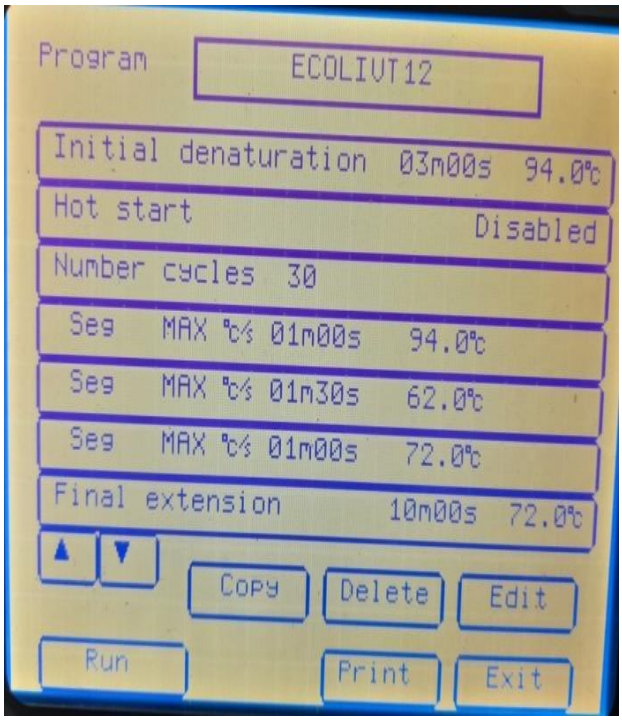
مرحلة التضخيم:

بعد اكمال تحضير مزيج البوليميراز المتسلسل تغلق الأنابيب وتمزج بعناية وتنقل إلى جهاز المدور الحراري thermo-cycler لإجراء عملية تضخيم الـ DNA، حيث تمت برمجة الجهاز مسبقاً حسب ما يوضح الجدول رقم (8) برنامج التدوير الحراري:

بعد اكمال تحضير مزيج البوليميراز المتسلسل تغلق الانابيب وتمزج بعناية وتنقل إلى جهاز المدور الحراري thermocycler لإجراء عملية تضخيم الـ DNA، حيث تمت برمجة الجهاز مسبقاً حسب ما

يوضح الجدول رقم(8) والصورة رقم(1)

عدد الدورات	المدة	درجة الحرارة	المرحلة
1دورة	3 دقيقة	94 م°	Initial Denaturation
30 دورة	1 دقيقة	94 م°	Denaturation
	1.5 دقيقة	62 م°	Annealing
	1 دقيقة	72 م°	Extension
1دورة	10 دقائق	72 م°	Final-Extension



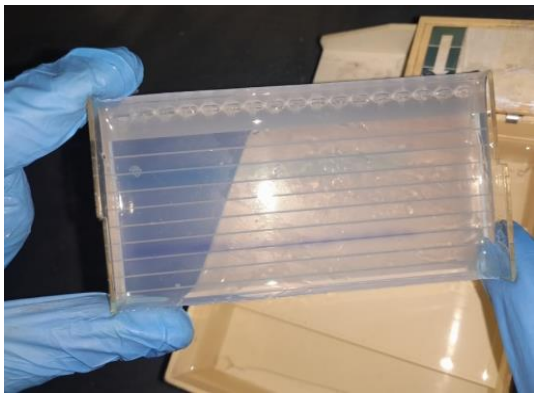
الجدول رقم(8) والصورة رقم(1)برنامج التدويرالحراري

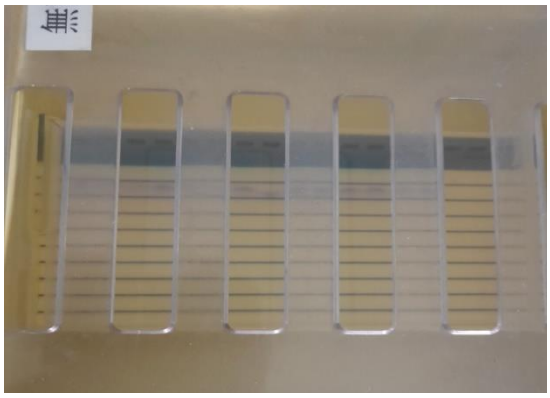
مرحلة الكشف عن نواتج التفاعل:

بعد اتمام تفاعل البوليميراز المتعدد تم إجراء الرحلان الكهربائي باستخدام هلامة الآغاروز بنسبة 1.5% حيث تم اذابة 1.5 غرام من الاغاروز في 100 مل من دارئة ال TBEفي جهاز الموجات المكروية Microwava ، برد بعدها إلى الدرجة 60م ثم أضيفت ال EBفي هذه الاثناء حيث تم تحضير قالب

صب الاغاروز ووضع المشط الخاص بصناعة الحفر في هلامة الاغاروز وتم سكب الاغاروز في قالب الصب للحصول على هلامة اغاروز بسماكة 3–5مل وعند التأكد من تصلب الاغاروز نزع المشط برفق ووضعت الهلامة في وعاء الرحلان الكهربي وغمرت بدارئة ال TBE المضاف اليها EB ثم بعدها وأضيف بعد الصب كمية مناسبة من صبغة الإثيديوم بروميد بواسطة ماصة مكروبية.

ترك بعدها حتى يتصلب الآغاروز بدرجة حرارة الغرفة مدة 15 دقيقة، وعند التأكد من تصلب الآغاروز تنزع الأمشاط وتوضع الهلامة في جهاز الرحلان الكهربائي وتغمر بكمية مناسبة من الدارئة TBE (1X)، بعدها يحقن 5 µl من معلم الطول الجزيئي 100 bp في الحفرة الأولى من الهلامة وبعد ذلك بعد مزجها بدارئة 10 µl من نواتج التفاعل في حفر القالب بما في ذلك حقن الكمية نفسها من الشاهد السلبي (يتضمن الشاهد السلبي كافة مكونات التفاعل ما عدا قالب الـ DNA حيث يستبدل بماء مقطر) مع كل قالب آغاروز، وضع غطاء جهاز الرحلان ووصلت أقطاب الجهاز إلى مزود الطاقة واستخدم فولت ثابت (100 فولت) من أجل إجراء الرحلان وتم الأنتظار حتى وصول الحزم إلى نصف المسار الطولي في هلامة الآغاروز أي حوالي ساعة واحدة.

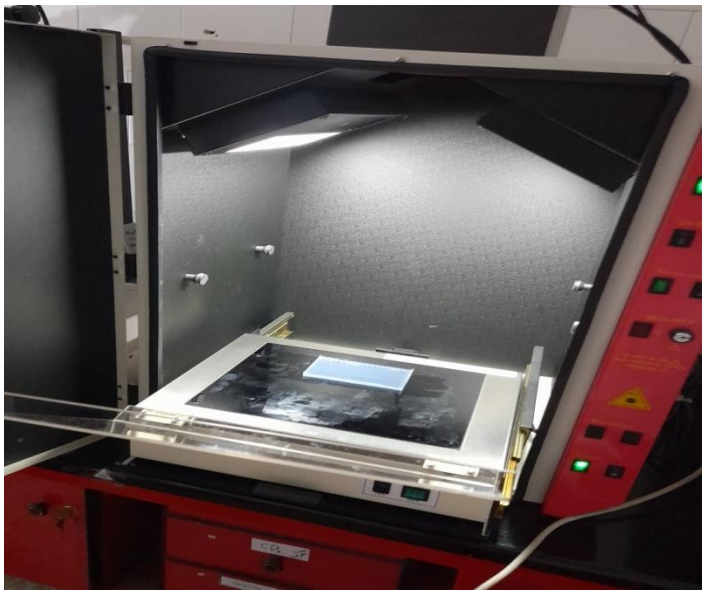




صورة رقم (2) وصورة رقم(3) تظهر هلامة الأغاروز

ثم تفحص الهلامة على جهاز توثيق الهلامة بالأشعة فوق البنفسجية لتحري وجود أنطقة الـ DNA المطلوبة (256 , 185 قاعدة آزوتية) مقارنة مع معلم الوزن الجزيئي العياري.

تمت قراءة النتائج باعتبار نواتج ال PCR ذات الحجم 256 قاعدة آزوتية على أنها إيجابية لوجود ال vt1والنواتج ذات الحجم 185 قاعدة آزوتية على أنها إيجابية لوجود vt2 في النهاية تم تصوير هلاما الاغاروز باستخدام نظام كاميرا مجهز بفلتر خاص يسمح بالتصوير فوق الاشعة فوق البنفسجية النافذة، وتمت طباعة الصور بطابعة موصولوة على الكومبيوتر.



صورة رقم (4) جهاز الاشعة فوق بنفسجية النافذة

3-4- تأكيد إمراضية عزولات الاشريكية القولونية المفرزة للذيفان السام لخلايا فيرو:

تم جراء عدوى تجريبية لعزولات الاشريكية القولونية على الارأنب حيث تم اجراء التجربة على عدد من الارأنب عمرها من 6-8 اسابيع وبوزن واحد وتم أخذ ثلاثة ارأنب لكل عزولة تبين وجود جين Vt فيها وتم تجريعها 2×10^4 جرثومة لكل ارنب ومراقبة العلامات المرضية والصفات التشريحية (Brien *et al.*, 1984).

3-5- دراسة تأثير الأحماض على جراثيم الإيشريكية القولونية:

3-5-1- عدوى اللحوم بجراثيم الإيشريكية القولونية:

تم اختيار عزولة جرثومية ممرضة تحمل الجين VT1, VT2 وتم تنشيط جراثيم الإشريكية القولونية على أغار مغذي وحضنها عند 37°م لمدة 18-24 ساعة ، ثم تم تعليق الجراثيم في سائل يحتوي محلول فيزيولوجي كافي لإجراء العدوى في اللحوم، وبعد المجأنسة تم تقسيم معلق الجراثيم إلى أقسام كل قسم في حوجلة من أجل غمر اللحوم بالمعلق الجرثومي وقد تم أخذ 5.5 كغ من كل نوع من اللحوم وقطعت الى قطع حسب كل نوع من اللحوم وغمرت معاملات اللحوم المختلفة بالمعلق الجرثومي تركيز $2*10^4$ لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة 25 درجة ثم تم إخراجها (Goodridge *et al.*, 1999).

3-5-2- الكشف عن التعداد الأولي للجراثيم:

تمَّ نقل 10 غرام من كل عينة إلى كيس معقم يحتوي 90 مل من ماء الببتون وبعدها تم مجأنسة العينة باستخدام جهاز المجأنسة Stomacher مدة دقيقتين ثم أجريت سلسة من التخفيفات العشرية من أجل إجراء التعداد الجرثومي، وتم استخدام وسط آغار مغذي وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة ثم زُرعت على وسط EMB وتم عد المستعمرات الخضراء ذات اللمعة السوداء المعدنية (Adeyanju and Ishola, 2014).

3-5-3- تأثير الأحماض المختلفة على جراثيم الإيشريكية القولونية:

تم تقسيم اللحوم الى مجموعتين وغمرت قطع اللحوم في محاليل الأحماض لمدة 30 دقيقة ، مع غمر 150 غ من كل نوع من اللحوم

المرحلة الأولى تم نقع عينات اللحوم:

لاكتات الصوديوم 2%.

حمض الخليك تركيز 1%.

حمض السوربيك تركيز 1%.

المرحلة الثانية سيتم نقع عينات اللحوم:

لاكتات الصوديوم 4%.

حمض الخليك تركيز 2%.

حمض السوربيك تركيز 2%.

وتم تنفيذ هذا الاختبار في مخبر اللحوم في كلية الطب البيطري في جامعة حماة وبعدها قمنا بالاختبارات المزرعية الخاصة للكشف عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو والتي تتضمن العزل الجرثومي واختبار المسطرة البيوكيمائية في مخبر الجراثيم في كلية الطب البيطري وتأكيد تأثير

المواد الحافظة (لاكتات الصوديوم–حمض الخليك –حمض السوربيك) Natrajan and Sheldon, 1995 وكان توزيع المعاملات كما هو موضح في الجدول (9):

العينات التجريبية	عدد العينات و تركيز المواد الحافظة	
لحم أغنام 12 عينة لكل محلول	**6 عينات ب لاكتات الصوديوم 2%**	**6 عينات ب لاكتات الصوديوم 4%**
	6 عينات ب حمض الخليك 1%	**6 عينات ب حمض الخليك 2%**
	6 عينات ب حمض السوربيك 1%	**6 عينات ب حمض السوربيك 2%**
لحم أبقار 12 عينة لكل محلول	**6 عينات ب لاكتات الصوديوم 2%**	**6 عينات ب لاكتات الصوديوم 4%**
	6 عينات ب حمض الخليك 1%	**6 عينات ب حمض الخليك 2%**
	6 عينات ب حمض السوربيك 1%	**6 عينات ب حمض السوربيك 2%**
لحم ماعز 12 عينة لكل محلول	**6 عينات ب لاكتات الصوديوم 2%**	**6 عينات ب لاكتات الصوديوم 4%**
	6 عينات ب حمض الخليك 1%	**6 عينات ب حمض الخليك 2%**
	6 عينات ب حمض السوربيك 1%	**6 عينات ب حمض السوربيك 2%**
لحم جمال 12 عينة لكل محلول	**6 عينات ب لاكتات الصوديوم 2%**	**6 عينات ب لاكتات الصوديوم 4%**
	6 عينات ب حمض الخليك 1%	**6 عينات ب حمض الخليك 2%**
	6 عينات ب حمض السوربيك 1%	**6 عينات ب حمض السوربيك 2%**
لحم فروج 12 عينة لكل محلول	**6 عينات ب لاكتات الصوديوم 2%**	**6 عينات ب لاكتات الصوديوم 4%**
	6 عينات ب حمض الخليك 1%	**6 عينات ب حمض الخليك 2%**
	6 عينات ب حمض السوربيك 1%	**6 عينات ب حمض السوربيك 2%**
لحم أسماك 12 عينة لكل محلول	**6 عينات ب لاكتات الصوديوم 2%**	**6 عينات ب لاكتات الصوديوم 4%**
	6 عينات ب حمض الخليك 1%	**6 عينات ب حمض الخليك 2%**
	6 عينات ب حمض السوربيك 1%	**6 عينات ب حمض السوربيك 2%**

3-5-4- الكشف عن تأثير الأحماض على جراثيم الإشريكية القولونية:

تمَّ نقل 10 غرام من كل عينة إلى كيس معقم يحتوي 90 مل من ماء الببتون وبعدها تم مجأنسة العينة باستخدام جهاز المجانسة Stomacher مدة دقيقتين ثم أجريت سلسة من التخفيفات العشرية من أجل إجراء التعداد الجرثومي، وتم استخدام وسط آغار EMB وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة وتم عد المستعمرات الخضراء ذات اللمعة السوداء المعدنية وُحسَب عدد المستعمرات النامية واستخرج عدد جراثيم الإشريكية القولونية الملوثة للعينات من عدد المستعمرات في الاطباق مضروباً بمقلوب التخفيف ويقاس بواحدة CFU (وحدة مشكلة للمستعمرة البكتيرية Colony- forming unit)

واختبرت الاطباق التي يتراوح عدد مستعمراتها بين 30-300 مستعمرة.

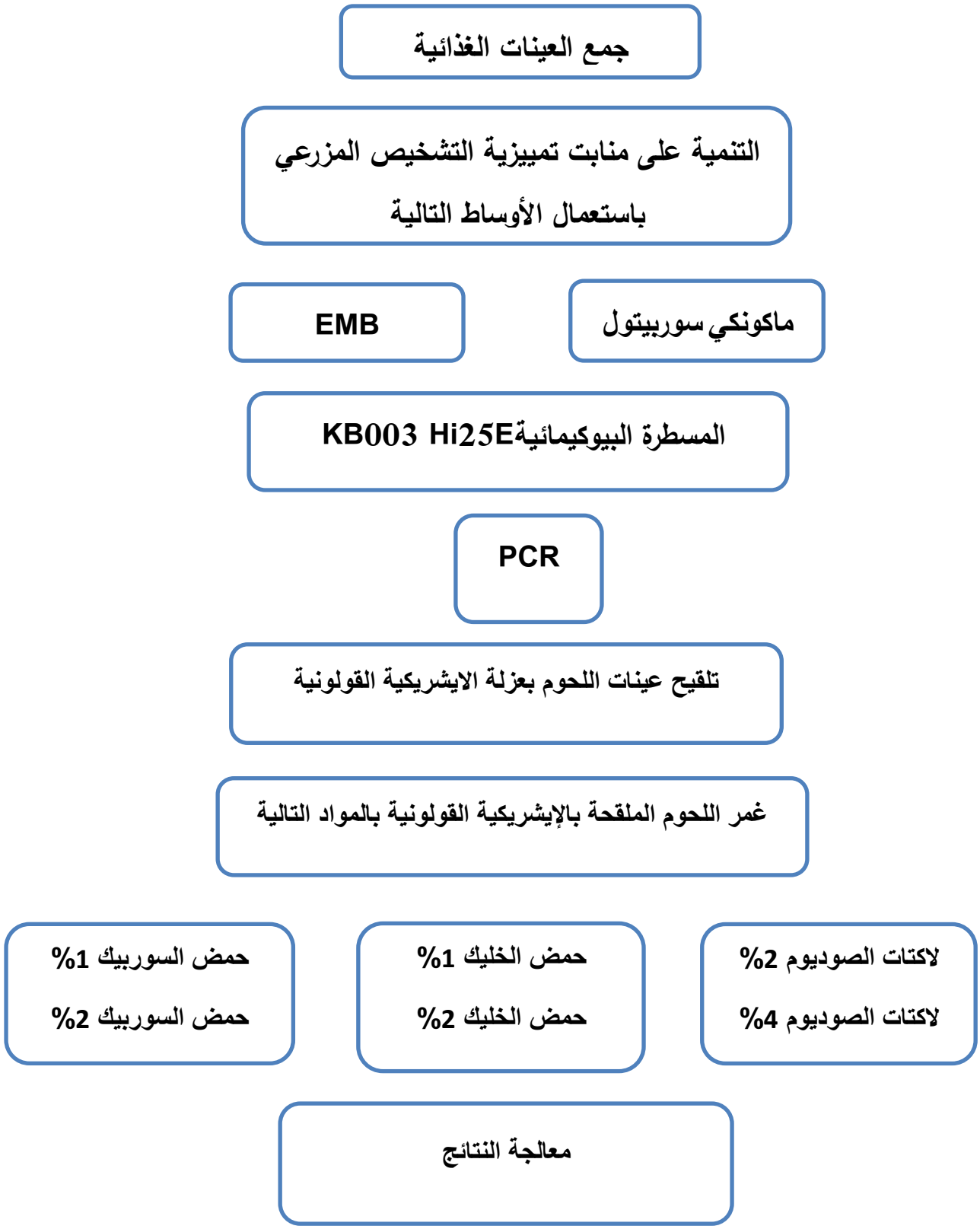
.(Adeyanju and Ishola, 2014)

3-6- التحليل الإحصائي:

تم استخدام برنامج (Microsoft Excel 2010) في حساب المتوسط الحسابي والأنحراف المعياري وإجراء الرسوم البيانية، وتم استخدام برنامج Orign pro 7 في حساب الفروقات المعنوية بين المتوسطات عند مستوى $p \leq 0.05$.

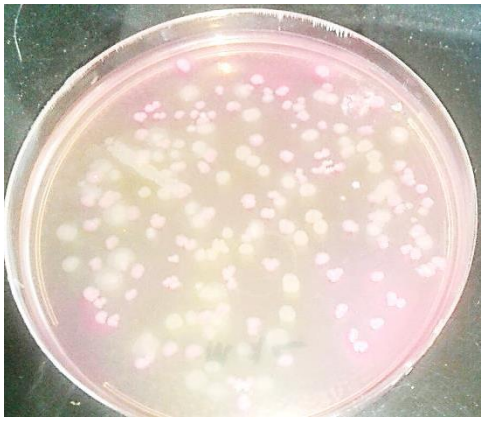
وفيما يلي الشكل الذي يمثل طريقة العمل بكل مراحلها:

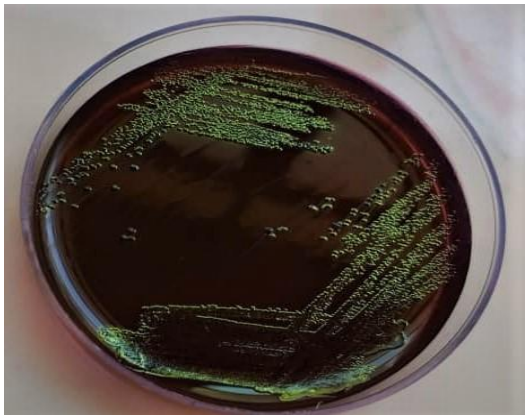
الشكل رقم (2) رسم توضيحي يبين طريقة العمل



4 - النتائج Results

4-1- نتائج الزرع الجرثومي:تظهر الصور التالية نمو الايشريكية القولونية على المنابت التميزية في الصورة رقم (5) تظهر نموها على منبت ماكونكي سوربيتول حيث تظهر بلون شاحب أما في الصورة رقم (6) فتظهر على منبتEMB حيث تعطي اللمعة المعدنية الخضراء.





صورة رقم(5) وصورة رقم (6) تظهر نمو الايشريكية القولونية على المنابت التميزية

4-1-1 اختبارات I.M.V.C:

تم تأكيد اختبار الإشريكية القولونية ابتداء من مستعمرات منفردة من وسط EMB، حيث أخذت بواسطة عروة الزرع مسحة جرثومية من مستعمرة نموذجية إلى أنبوب يحوي 10 ml محلول ملحي، ويمزج الانبوب جيداً، ومنه أجريت الإختبارات التالية:

1- اختبار حلقة الأندول:

استخدام هذا الاختبار يدل على قدرة الجرثومة على تمثيل هذا الحمض الاميني التربتوفان،حيث يعطي حمض الحصرم ويطلق غاز الأندول حيث يتم الكشف عن انطلاق غاز الاندول، باستخدام كاشف الأندول.

إن ظهور حلقة حمراء طافية على سطح الانبوب يعني أن الأندول قد تحرر، والتفاعل إيجابي.

2- اختبار أحمر الميتيل:

استخدم هذا الاختبار للكشف عن حموضة الوسط، حيث يصبح مشعر أحمر الميتيل أصفر اللون في الوسط الحمضي، وإن ظهور اللون الأحمر يدل على أن التفاعل إيجابي للإشريكية القولونية.

3- اختبار فوكاس بروسكار:

يجرى هذا الإختبار للكشف عن امتلاك الجراثيم مادة الأسيتوئين الناتج من تحطم الغلوكوز، هذا المركب عديم اللون، وبما أن ظهر اللون أصفرف الجرثومة لاتمتلك الأسيتوئين، والجرثومة هي الإشريكية القولونية.

4- اختبار النمو على منبت سترات الصوديوم لسيمون:

كان هذا الاختبار للكشف قدرة الجرثومة على تمثيل سترات الصوديوم الموجودة في المنبت كمصدر وحيد للطاقة. الإشريكية القولونية لا تستطيع تمثيل سترات الصوديوم للاستفادة منه كمصدر وحيد للطاقة،وبما أن اللون أزرق فالإختبار الإيجابي للإشريكية القولونية.

5- اختبار الكاتلاز:

تم نقل مستعمرة بواسطة لوب معقم الى شريحة زجاجية نظيفة وجافة ووضع فوقها قطرة من كاشف بيروكسيد الهيدروجين 3% أن تكون فقاعات هوائية نتيجة تحرر غاز الأوكسجين من على النمو الجرثومي في الاختبار دليلاً على ايجابية الاختبار(Talaro and Chess.,2018).

4-2- نتائج اختبارات المسطرة البيوكيمائية:

تمت قراءة نتائج الاختبارات الكيمياحيوية التفريقية باستخدام نظام التشخيص KB003 Hi25 Enterobacteriaceae بالنسبة الإشريكية القولونية، حيث تم قراءة النتائج بالرجوع إلى الجداول القياسية لكل فحص للتأكد من هوية العزلة الجرثومية، ويبين الجدول رقم (10) نتائج الاختبارات الكيمياحيوية التأكيدية لعزولات الإشريكية القولونية:

اسم الاختبار	النتيجة
ONPG	+
Lysine decarboxylase	+
Ornithine decarboxylase	+
Urease	-

−	Phenylalanine Deaminase
+	Nitrate reduction
−	H2S production
−	Citrate utilization
−	Voges praskauer
+	Methyl red
+	Indole
−	Malonate
+	Esculine hydrolysis
+	Arabinose
+	Xylose
−	Adonitole
+	Rhamnose
−	Cellobiose
+	Melibiose
+	Sucrose
+	Raffinose
+	Trehalose
+	Glucose
+	Lactose
−	Oxidase

صورة رقم (9) وصورة رقم (10) تظهران نتائج المسطرة البيوكيمائية

4-3- نتائج اختبارات الزرع والتصنيف الجرثومي للكشف عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو لذراري الإشريكية القولونية في عينات اللحوم في PCR كما في الجدول رقم (11):

عند إجراء عمليات الزرع الجرثومي والتصنيف للعامل المسبب لعينات ذبائح الاغنام اشارت النتائج الى أن 9 عينات كانت سالبة للزرع الجرثومي (45%) في حين كانت 11 عينة إيجابية للزرع الجرثومي في عزل الايشريكية القولونية 55% وبعد ذلك تم التأكيد بواسطة المسطرة البيوكيمائية اختبار عتيدة KB003 Hi25E مؤكدة على أنها الايشريكية القولونية ثم بعد تم إجراء تفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد بينت النتائج وجود 4 عينات ايجابية (36.36%) حيث كانت هناك عينتان ايجابية لامتلاكها الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو -Vt2 في حين كانت هناك ذريتين ايجابيتين لامتلاكهما كلا من الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو 1-و-2 Vt2&Vt1

عند إجراء عمليات الزرع الجرثومي والتصنيف للعامل المسبب لعينات ذبائح الأبقار اشارت النتائج الى أن 6 عينات كانت سالبة للزرع الجرثومي (30%) في حين كانت 14 عينة إيجابية للزرع الجرثومي بالطرق المتبعة في عزل الايشريكية القولونية 70% وبعد ذلك تم التأكيد بواسطة المسطرة البيوكيمائية اختبار عتيدة KB003 Hi25E مؤكدة على أنها الايشريكية القولونية ثم بعد تم إجراء تفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد بينت النتائج وجود 6 عينات ايجابية (42.8%) حيث كانت هناك عينتأن ايجابية

لامتلاكها الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو -Vt2 في حين كانت هناك ذريتين ايجابيتين لامتلاكهما كلا من الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو 1–و–2 Vt2&Vt1

عند إجراء عمليات الزرع الجرثومي والتصنيف للعامل المسبب لعينات ذبائح الماعز اشارت النتائج الى أن 8عينات كانت سالبة للزرع الجرثومي (40%) في حين كانت 12 عينة إيجابية للزرع الجرثومي بالطرق المتبعة في عزل الايشريكية القولونية 60% وبعد ذلك تم التأكيد بواسطة المسطرة البيوكيمائية اختبار عتيدة KB003 Hi25E مؤكدة على أنها الايشريكية القولونية ثم بعد تم إجراء تفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد بينت النتائج وجود 2 عينات ايجابية (16.66%) حيث كانت هناك عينتhن ايجابية لامتلاكها الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو Vt1

عند إجراء عمليات الزرع الجرثومي والتصنيف للعامل المسبب لعينات ذبائح الجمال اشارت النتائج الى أن 5عينات كانت سالبة للزرع الجرثومي (25%) في حين كانت 15 عينة إيجابية للزرع الجرثومي بالطرق المتبعة في عزل الايشريكية القولونية 75% وبعد ذلك تم التأكيد بواسطة المسطرة البيوكيمائية اختبار عتيدة KB003 Hi25E مؤكدة على أنها الايشريكية القولونية ثم بعد تم إجراء تفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد بينت النتائج وجود5 عينات ايجابية (40%) حيث كانت هناك عينتان ايجابية لامتلاكها الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو-Vt2 في حين كانت هناك3 عينات ايجابية لامتلاكهما كلا من الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو 1–و–2 Vt2&Vt1

عند إجراء عمليات الزرع الجرثومي والتصنيف للعامل المسبب لعينات ذبائح الفروج اشارت النتائج الى أن 7 عينات كانت سالبة للزرع الجرثومي (35%) في حين كانت 13 عينة إيجابية للزرع الجرثومي بالطرق المتبعة في عزل الايشريكية القولونية 65 وبعد ذلك تم التأكيد بواسطة المسطرة البيوكيمائية اختبار عتيدة KB003 Hi25E مؤكدة على أنها الايشريكية القولونية ثم بعد تم إجراء تفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد بينت النتائج وجود4 عينات ايجابية (30.76%) حيث كانت هناك عينتان ايجابية لامتلاكها الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيروVt1 في حين كانت هناك ذريتين ايجابيتين لامتلاكهما كلا من الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو 1–و–2 Vt2&Vt1

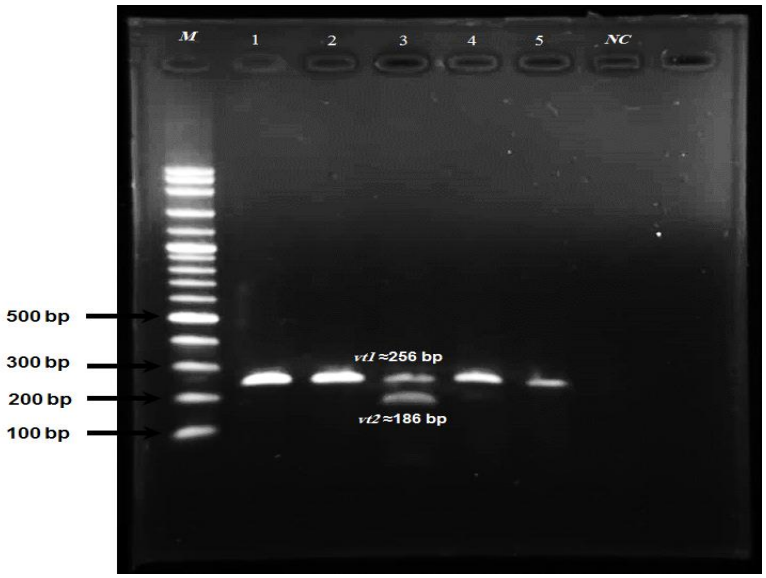
عند إجراء عمليات الزرع الجرثومي والتصنيف للعامل المسبب لعينات لحوم الاسماك اشارت النتائج الى أن 10 عينات كانت سالبة للزرع الجرثومي (50%) في حين كانت 10 عينة إيجابية للزرع الجرثومي بالطرق المتبعة في عزل الايشريكية القولونية 50% وبعد ذلك تم التأكيد بواسطة المسطرة البيوكيمائية

اختبار عتيدة KB003 Hi25E مؤكدة على أنها الايشريكية القولونية ثم بعد تم إجراء تفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد بينت النتائج وجود4 عينات ايجابية (40%) حيث كانت هناك عينتان ايجابية لامتلاكها الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو Vt1 في حين كانت هناك ذريتين ايجابيتين لامتلاكهما كلا من الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو 1-و-2 Vt2&Vt1

نوع اللحم	عدد العينات لذبائح المختبرة	عدد العينات السالبة للزرع الجرثومي	عدد العينات الموجبة للزرع الجرثومي	الذراري الايجابية باختبار تفاعل البولميراز المتسلسل			
				Vt1	Vt2	Vt2&Vt1	النسبة المئوية
أغنام	20	9 (%45)*	11(%55)*	2	0	2	%36.36**
أبقار	20	6 (%30)*	14(%70)*	3	0	3	%42.8**
ماعز	20	8(%40)*	12(%60)*	2	0	0	%16.66**
جمال	20	5(%25)*	*15(%75)	2	1	3	%40**
فروج	20	7(%35)*	13(%65)*	2	0	2	%30.76**
أسماك	20	10(%50)*	10(%50)*	2	0	2	%40**

*تم حساب النسبة المئوية بالنسبة لعدد العينات المختبرة.

** تم حساب النسبة المئوية بالنسبة لعدد الذرارري الإيجابية باختبار البوليميراز المتسلسل بالنسبة للعينات الإيجابية للزرع الجرثومي.



معلم الطوال الجزيئية : M

شاهد سلبي:NC

صورة رقم (9) تظهر نتائج **PCR**

تشير الصورة رقم (9) الى بعض نتائج اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل لتحري المورثة المشفرة للذيفان السام لخلايا فيرو vt للإشريكية القولونية المعزولة في عينات اللحوم المختبرة، ويشير العمود M إلى معلم الاطوال الجزيئية، والعمود VT-NC إلى الشاهد السلبي، والأعمدة 1و 2 و3 و4 و 5عينات ايجابية للجين السام لخلايا فيرو vt.

وبعد أن تم الكشف عن جراثيم الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو تم القيام بعدوى تجريبية على اللحوم وقمنا بإضافة المواد الحافظة التالية (لاكتات الصوديوم-حمض الخليك –حمض السوربيك) لمعرفة مدى تأثيرها على وجود جراثيم الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو.

4-4- نتائج العدوى التجريبية:

أخبرت نتائج هذه الدراسة عن ظهور الأعراض الخاصة بالعدوى بجراثيم الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو حيث تبين أن 75% من العزولات التي شخصت بالPCR أنها تحتوي الجينات المسؤولة عن إفراز الذيفان السام لخلايا فيرو أحدثت أمراضية عند الأرأنب، مما يدل على أنه قد يكون 25% من العزولات المشخصة لا يوجد تعبير جيني للذيفان وتم مراقبة الحيوانات لملاحظة العلامات السريرية كالإسهال والقهم ودراسة الصفات التشريحية المرضية العيانية

صورة رقم (10) وصورة رقم(11) تظهر علامات الإصابة الايشريكية القولونية

4-5- نتائج الكشف عن التعداد الأولي للجراثيم:

أجريت التحاليل الجرثومية على 36 عينة، تضمنت 6 عينات من كل نوع لحمة، قبل القيام بتجربة الأحماض حيث تم حساب التعداد الجرثومي لكل عينات اللحوم وأظهرت نتيجة حساب التعداد العام للجراثيم النتائج الآتية، حيث قسمت إلى فئات كما هو مبين بالجدول (12):

الجدول (12) يبين نتائج التعداد العام للجراثيم

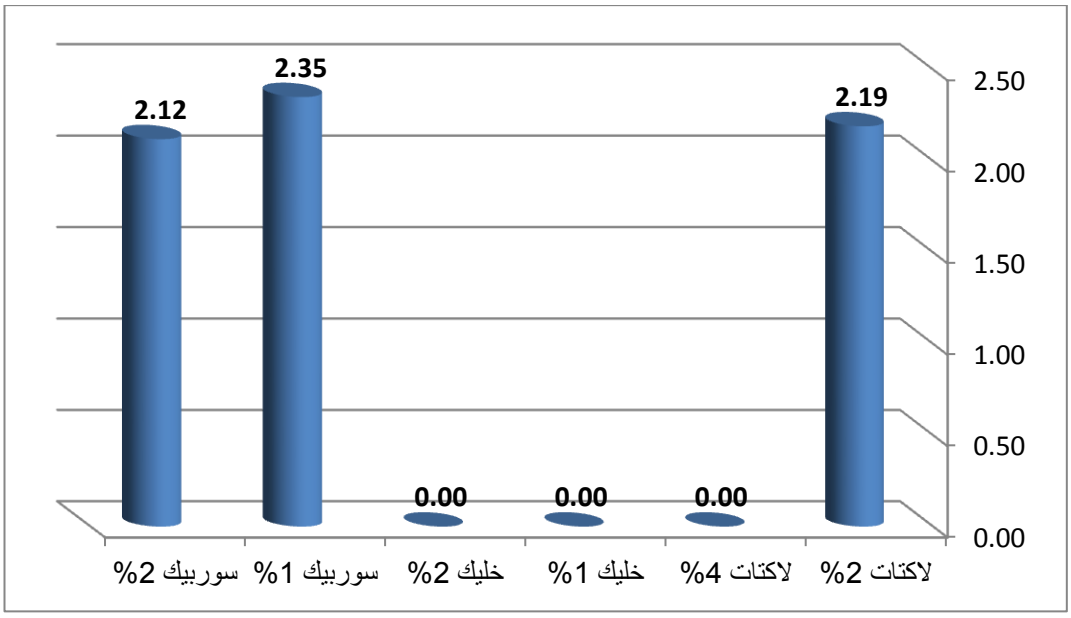
نوع اللحمة	عدد العينات	**العدد الاجمالي cfu/g**
أغنام	6	$4.3 \times 10^7 - 2.1 \times 10^8$
أبقار	6	$2 \times 10^7 - 6 \times 10^7$
ماعز	6	$3 \times 10^6 - 1.2 \times 10^7$
جمال	6	$1.3 \times 10^8 - 2.4 \times 10^7$
فروج	6	$2.7 \times 10^7 - 4.2 \times 10^8$
أسماك	6	$7 \times 10^6 - 1 \times 10^7$

4-6- نتائج معاملة لحم الأغنام المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم-حمض الخليك -حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو:

نلاحظ في الجدول التالي أنخفاض عدد جراثيم الايشريكية القولونية في لحوم الاغنام عند معاملتها ب لاكتات الصوديوم تركيز2% وعند معاملتها ب لاكتات 4% نلاحظ عدم وجود هذه الجراثيم وعند معاملتها بحمض الخليك بالتركيز 1% والتركيز 2% نلاحظ عدم وجود جراثيم الايشريكية القولونية وعند معاملتها بحمض السوربيك نلاحظ أنخفاض في عدد جراثيم الايشريكية القولونية حيث أنخفضت بشكل اقل عند التركيز واحد 1% وازداد الأنخفاض عند معاملتها بالتركيز 2% كما هو مؤكد في الجدول رقم (13) التالي:

المجموعات	العدد	المتوسط الحسابي	الإنحراف المعياري	أصغر قيمة	أكبر قيمة
لاكتات 2%	6	2.19^{b}	0.15	2.05	2.41
لاكتات 4%	6	0.00^{c}	0.00	0.00	0.00
خليك 1%	6	0.00^{c}	0.00	0.00	0.00
خليك 2%	6	0.00^{c}	0.00	0.00	0.00
سوربيك 1%	6	2.35^{a}	0.20	2.11	2.56
سوربيك 2%	6	2.12^{b}	0.14	2.01	2.37

تدل الرموز c, b, a على وجود فروقات معنوية في حال اختلافها ضمن نفس العمود حيث اعتبرت الفروقات معنوية عند $P<0.05$



المخطط رقم (3) يظهر نتائج معاملة لحم الأغنام المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك –حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو

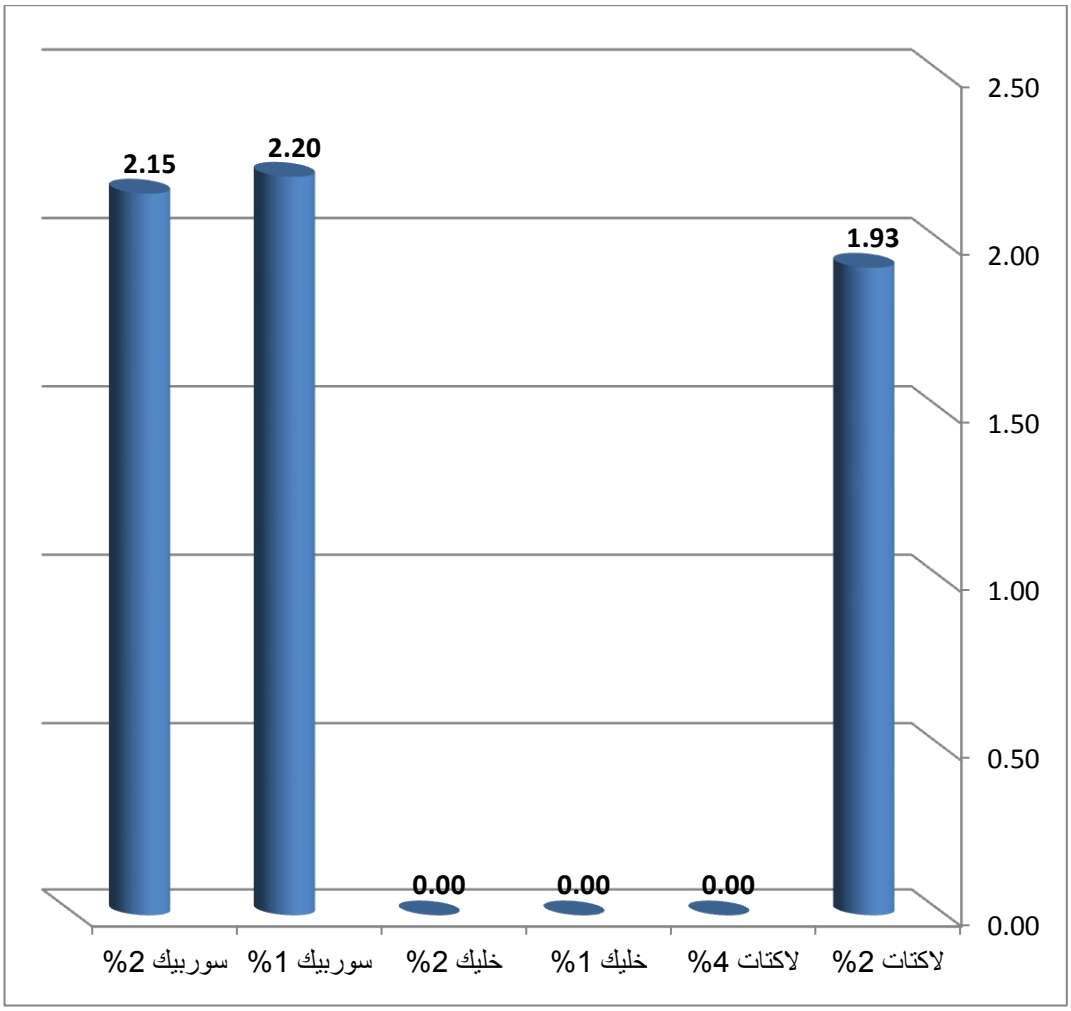
ومن هذا المخطط نستنتج أن لاكتات الصوديوم تركيز 4% وحمض الخليك تركيز 1% وتركيز 2% كانت أكثر تاثيراً.

4-7- نتائج معاملة لحم الأبقار المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم-حمض الخليك -حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو:

نلاحظ في الجدول التالي أنخفاض عدد جراثيم الايشريكية القولونية في لحوم الأبقار عند معاملتها ب لاكتات الصوديوم تركيز2% وعند معاملتها ب لاكتات 4% نلاحظ عدم وجود هذه الجراثيم وعند معاملتها بحمض الخليك بالتركيز 1% والتركيز 2% نلاحظ عدم وجود جراثيم الايشريكية القولونية وعند معاملتها بحمض السوربيك نلاحظ أنخفاض في عدد جراثيم الايشريكية القولونية حيث أنخفضت بشكل اقل عند التركيز واحد 1% وازداد الأنخفاض عند معاملتها بالتركيز 2% كما هو مؤكد في الجدول رقم (14) التالي:

المجموعات	العدد	المتوسط الحسابي	الأنحراف المعياري	أصغر قيمة	أكبر قيمة
لاكتات 2%	6	1.93^{a}	0.96	0.00	2.61
لاكتات 4%	6	0.00^{b}	0.00	0.00	0.00
خليك 1%	6	0.00^{b}	0.00	0.00	0.00
خليك 2%	6	0.00^{b}	0.00	0.00	0.00
سوربيك 1%	6	2.20^{a}	0.15	2.05	2.41
سوربيك 2%	6	2.15^{a}	0.15	2.02	2.37

تدل الرموز c, b, a على وجود فروقات معنوية في حال اختلافها ضمن نفس العمود حيث اعتبرت الفروقات معنوية عند $P<0.05$



الشكل رقم (4) يظهر نتائج معاملة لحم الأبقار المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك – حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو

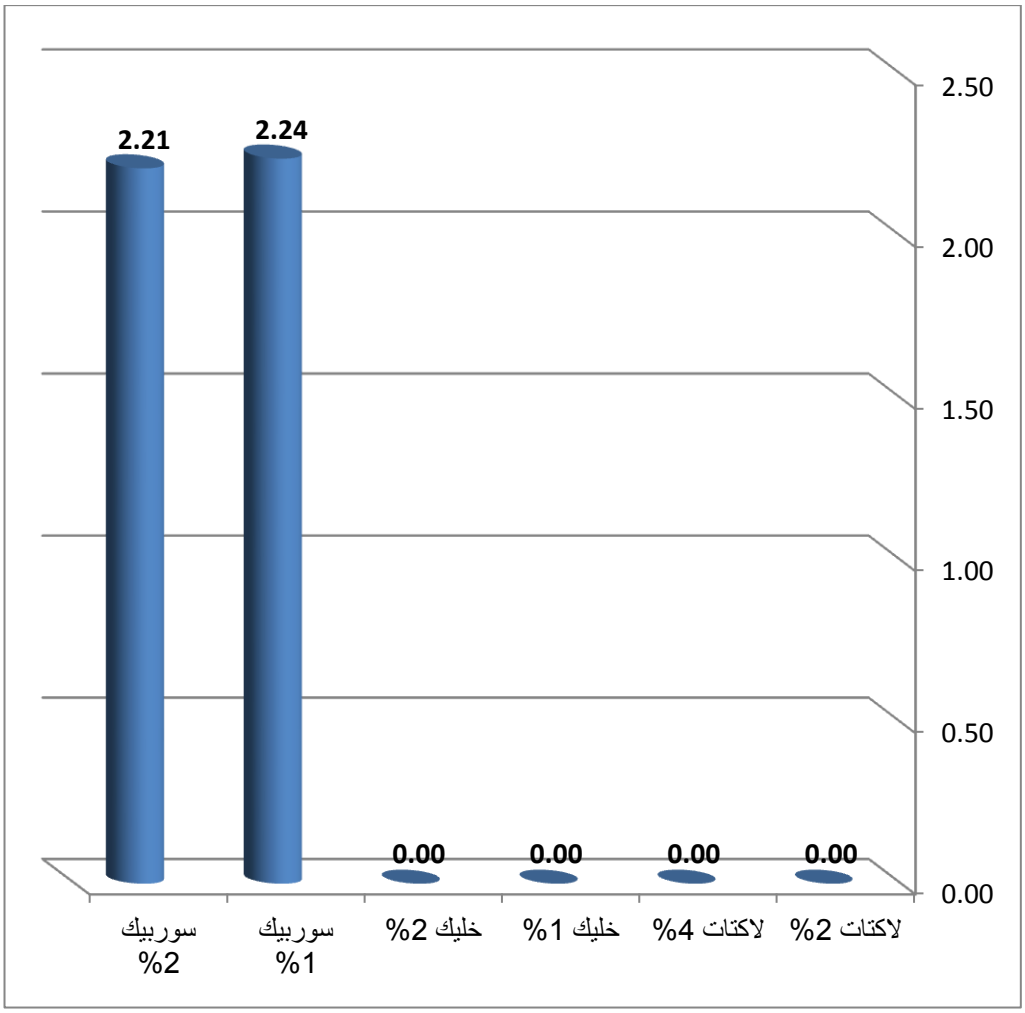
ومن هذا المخطط نستنتج أن لاكتات الصوديوم تركيز 4% وحمض الخليك تركيز 1% وتركيز 2% كانت أكثر تاثيراً.

4-8- نتائج معاملة لحم الماعز المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم-حمض الخليك -حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو:

نلاحظ في الجدول التالي أنخفاض عدد جراثيم الايشريكية القولونية في لحوم الماعز عند معاملتها ب لاكتات الصوديوم تركيز2% وعند معاملتها ب لاكتات الصوديوم4% نلاحظ عدم وجود هذه الجراثيم وعند معاملتها بحمض الخليك بالتركيز 1% والتركيز 2% نلاحظ عدم وجود جراثيم الايشريكية القولونية وعند معاملتها بحمض السوربيك نلاحظ أنخفاض في عدد جراثيم الايشريكية القولونية حيث أنخفضت بشكل اقل عند التركيز واحد 1% وازداد الأنخفاض عند معاملتها بالتركيز 2% كما هو مؤكد في الجدول رقم (15) التالي:

المجموعات	العدد	المتوسط الحسابي	الأنحراف المعياري	أصغر قيمة	أكبر قيمة
لاكتات 2%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
لاكتات 4%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
خليك 1%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
خليك 2%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
سوربيك 1%	6	2.24^{b}	0.12	2.13	2.37
سوربيك 2%	6	2.21^{b}	0.12	2.09	2.37

تدل الرموز c, b, a على وجود فروقات معنوية في حال اختلافها ضمن نفس العمود حيث اعتبرت الفروقات معنوية عند $P<0.05$



الشكل رقم (5) يظهر نتائج معاملة لحم الماعز المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك – حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو

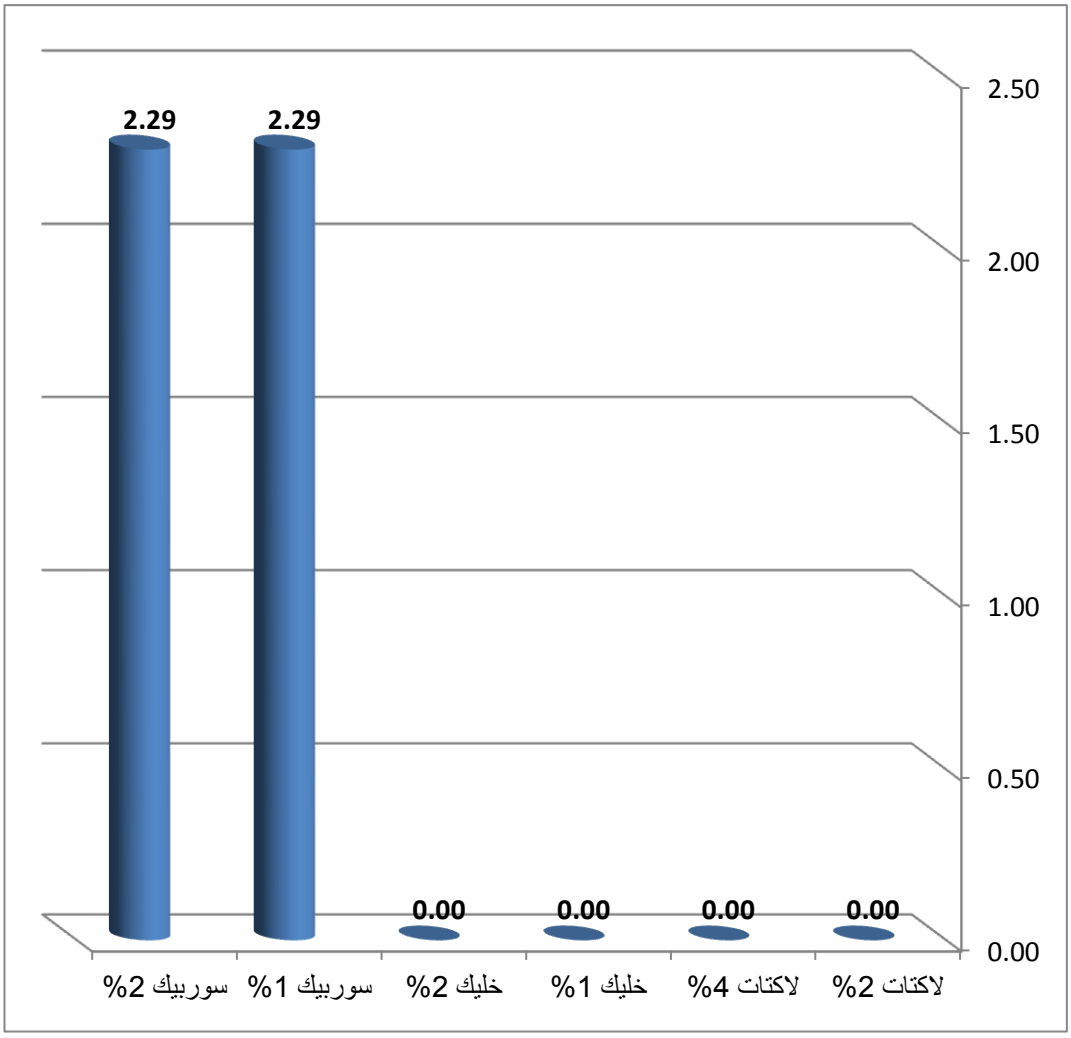
ومن هذا المخطط نستنتج أن لاكتات الصوديوم تركيز 2% وتركيز4% وحمض الخليك تركيز 1% وتركيز 2% كانت أكثر تاثيراً

4-9-نتائج معاملة لحم الجمال المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم-حمض الخليك -حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو

نلاحظ في الجدول التالي أنخفاض عدد جراثيم الايشريكية القولونية في لحوم الجمال عند معاملتها ب لاكتات الصوديوم تركيز2% وعند معاملتها ب لاكتات الصوديوم 4% نلاحظ عدم وجود هذه الجراثيم وعند معاملتها بحمض الخليك بالتركيز 1% والتركيز 2% نلاحظ عدم وجود جراثيم الايشريكية القولونية وعند معاملتها بحمض السوربيك نلاحظ أنخفاض في عدد جراثيم الايشريكية القولونية حيث أنخفضت بشكل اقل عند التركيز واحد 1% وازداد الأنخفاض عند معاملتها بالتركيز 2% كما هو مؤكد في الجدول رقم (16) التالي:

المجموعات	العدد	المتوسط الحسابي	الأنحراف المعياري	أصغر قيمة	أكبر قيمة
لاكتات 2%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
لاكتات 4%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
خليك 1%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
خليك 2%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
سوربيك 1%	6	2.29^{b}	0.23	2.05	2.54
سوربيك 2%	6	2.29^{b}	0.19	2.09	2.56

تدل الرموز c, b, a على وجود فروقات معنوية في حال اختلافها ضمن نفس العمود حيث اعتبرت الفروقات معنوية عند $P<0.05$



الشكل رقم (6) يظهر نتائج معاملة لحم الجمال المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك – حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو

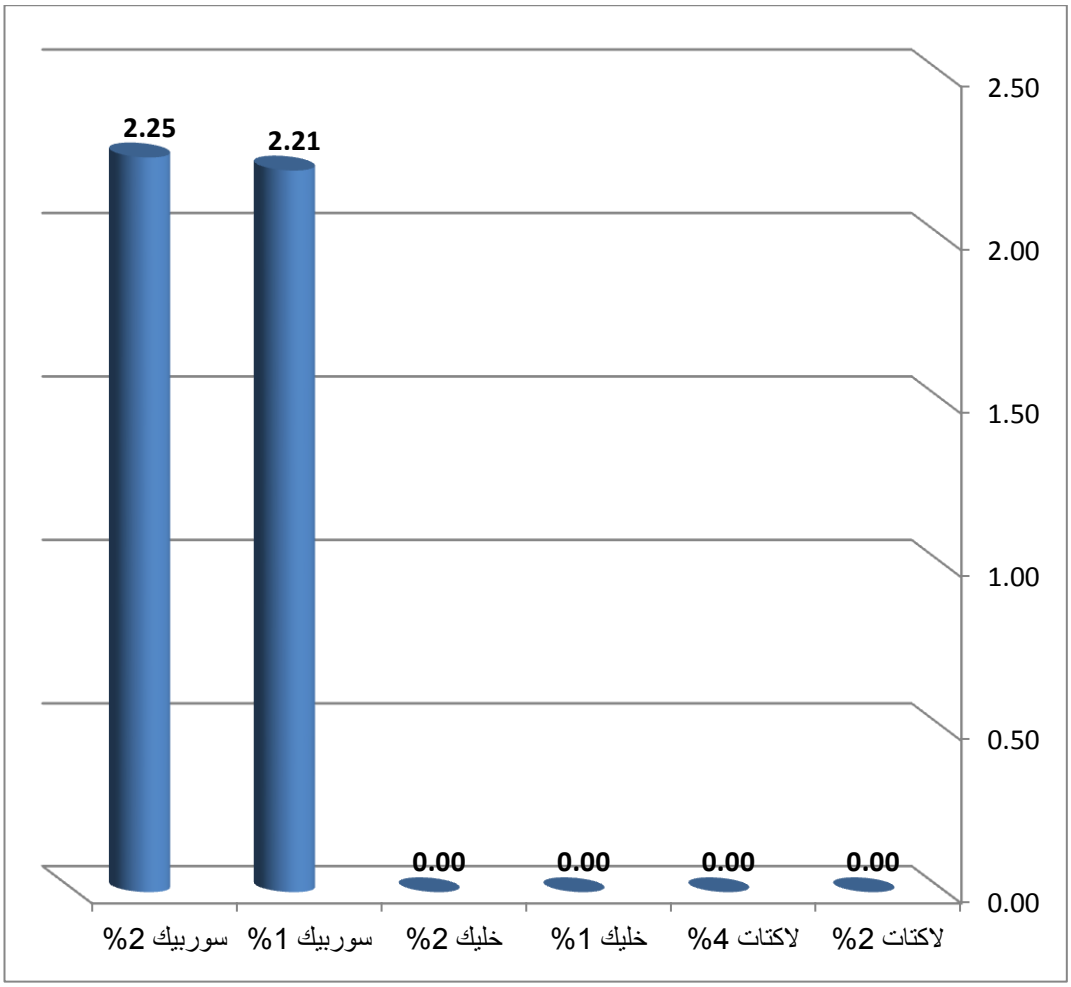
ومن هذا المخطط نستنتج أن لاكتات الصوديوم تركيز 2% وتركيز4% وحمض الخليك تركيز 1% وتركيز 2% كانت أكثر تاثيراً

4-10- نتائج معاملة لحم الفروج المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم-حمض الخليك -حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو

نلاحظ في الجدول التالي أنخفاض عدد جراثيم الايشريكية القولونية في لحوم الفروج عند معاملتها ب لاكتات الصوديوم تركيز2% وعند معاملتها ب لاكتات الصوديوم 4% نلاحظ عدم وجود هذه الجراثيم وعند معاملتها بحمض الخليك بالتركيز 1% والتركيز 2% نلاحظ عدم وجود جراثيم الايشريكية القولونية وعند معاملتها بحمض السوربيك نلاحظ أنخفاض في عدد جراثيم الايشريكية القولونية حيث أنخفضت بشكل اقل عند التركيز واحد 1% وازداد الأنخفاض عند معاملتها بالتركيز 2% كما هو مؤكد في الجدول رقم (17) التالي:

المجموعات	العدد	المتوسط الحسابي	الأنحراف المعياري	أصغر قيمة	أكبر قيمة
لاكتات 2%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
لاكتات 4%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
خليك 1%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
خليك 2%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
سوربيك 1%	6	2.21^{b}	0.18	2.01	2.43
سوربيك 2%	6	2.25^{b}	0.21	2.05	2.45

تدل الرموز c, b, a على وجود فروقات معنوية في حال اختلافها ضمن نفس العمود حيث اعتبرت الفروقات معنوية عند $P<0.05$



الشكل رقم (7) يظهر نتائج معاملة لحم الفروج المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك – حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو

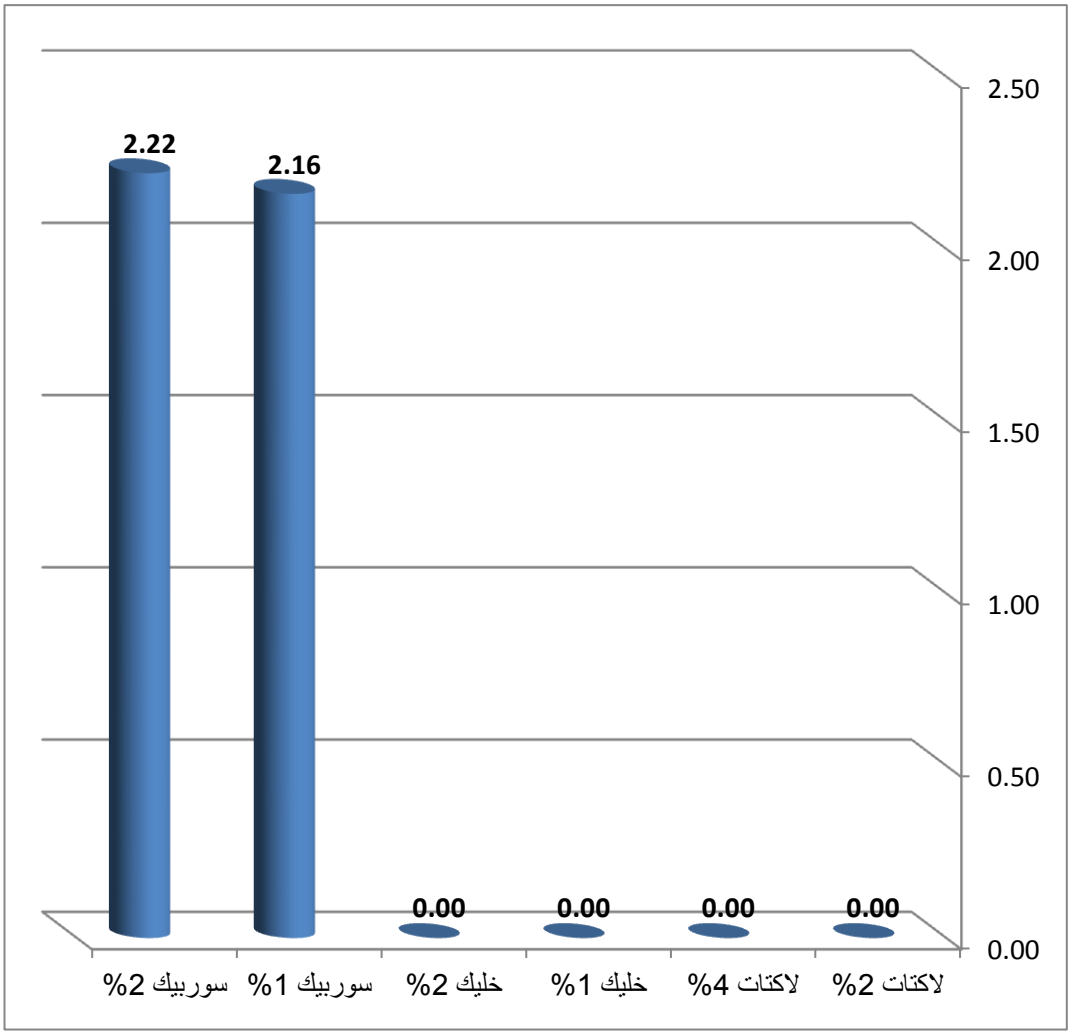
ومن هذا المخطط نستنتج أن لاكتات الصوديوم تركيز 2% وتركيز4% وحمض الخليك تركيز 1% وتركيز 2% كانت أكثر تاثيراً.

4-11- نتائج معاملة لحم السمك المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم-حمض الخليك -حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو

نلاحظ في الجدول التالي أنخفاض عدد جراثيم الايشريكية القولونية في لحوم السمك عند معاملتها ب لاكتات الصوديوم تركيز2% وعند معاملتها ب لاكتات الصوديوم 4% نلاحظ عدم وجود هذه الجراثيم وعند معاملتها بحمض الخليك بالتركيز 1% والتركيز 2% نلاحظ عدم وجود جراثيم الايشريكية القولونية وعند معاملتها بحمض السوربيك نلاحظ أنخفاض في عدد جراثيم الايشريكية القولونية حيث أنخفضت بشكل اقل عند التركيز واحد 1% وازداد الأنخفاض عند معاملتها بالتركيز 2% كما هو مؤكد في الجدول رقم (18) التالي:

المجموعات	العدد	المتوسط الحسابي	الأنحراف المعياري	أصغر قيمة	أكبر قيمة
لاكتات 2%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
لاكتات 4%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
خليك 1%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
خليك 2%	6	0.00^{a}	0.00	0.00	0.00
سوربيك 1%	6	2.16^{b}	0.14	2.01	2.37
سوربيك 2%	6	2.22^{b}	0.10	2.06	2.33

تدل الرموز c, b, a على وجود فروقات معنوية في حال اختلافها ضمن نفس العمود حيث اعتبرت الفروقات معنوية عند $P<0.05$



الشكل رقم (8) يظهر نتائج معاملة لحم السمك المعامل بالأحماض(لاكتات الصوديوم–حمض الخليك – حمض السوربيك) وتأثيرها على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو.

ومن هذا المخطط نستنتج أن لاكتات الصوديوم تركيز 2% وتركيز4% وحمض الخليك تركيز 1% وتركيز 2% كانت أكثر تاثيراً.

5- المناقشة Discussion

5- المناقشة:

5-1- نسبة عزل الايشريكية القولونية من اللحوم الحمراء والبيضاء:

بعد استعراض نتائج هذا البحث الذي أجري على الإشريكية القولونية بشكل عام وبشكل خاص على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في المنتجات الحيوانية في سوريا محافظة حماة وهذا يوافق ما اعتمدت عليه دراسات أخرى حيث استهدفتَ من الإشريكية القولونية النمط المصلي O157:H7 مع الأخذ بعين الاعتبار الاختلاف الكبير في الطرق والإجراءات المتبعة في عزل هذه الايشريكية القولونية بين المخابر المنتشرة في سوريا فهنالك عدة طرق للكشف عنها لكن أهمها PCR بالنظر إلى نتائج هذه الدراسة نجد أن نتائج فحص لحوم الاغنام تم الكشف عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيروO157:H7 بنسبة 55% مع العينات المدروسة بالنسبة للزرع الجرثومي ونسبة 36.36% بالنسبة لتفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد بالنسبة للذراري المعزولة التي تم فحصها على جهاز الPCR والتي تملك كلاً من الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو 1-و2- وهذه النسبة تشكل ارتفاعاً كبيراً ودليلاً واضحاً على الضعف الكبير والمتدني في إجراءات الأمن الصحي المتبع في أسواق بيع اللحوم التي تم أخذ العينات منها وهذا يشكل مشكلة كبيرة جداً على الصحة المستهلكين لهذه اللحوم وهذا النتائج متقاربة مع (Zweifel and Stephan, 2003) حيث وجد أن نسبة انتشار الايشريكية القولونية في سويسرا 36.6% في ذبائح الأغنام وكانت 57.1% من النتائج تحمل ذراري الجين المشفر السام لخلايا فيرو vt2 وكانت هذه النتائج أعلى من ما ذكره (Lenahan *et al.,* 2007) في دراسته على ذبائح لحوم الاغنام في إيرلندا حيث كان نسبة انتشار الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو بنسبة1% ويتوافق مع دراسة (الصافي والرعوف، 2003) حيث كانت نسبة انتشار الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في لحوم الأغنام 36.36% وكانت جميع ذراري المعزولة منتجة للذيفان السام لخلايا فيرو 1-2، أثناء إجراء الاختبار، وكانت أعلى مقارنة مع دراسة فيها (Tarawneh *et al.*, 2009) للكشف عن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في الاغنام حيث بينت النتائج أن ذراري الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيروVTEC تشكل 6.4% وأيضاً لم يتوافق مع دراسة في إيران وجد (Shekarforush *et al.,* 2008) في دراسته على ذبائح الأغنام وجود الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو بنسبة 3.92% ويعزى نسبة وجود الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في لحوم الأغنام لعوامل عدة منها التدابير الصحية المتدنية المتبعة في أماكن بيع لحوم

الأغنام ونقل الذبائح للتبريد والتوزيع تلعب دوراً مهماً في نسبة تواجد هذه الجراثيم كما تلعب المنطقة التي اخذ منها عينات اللحوم من الذبيحة دوراً هاماً في تحديد نسبة الانتشار حيث تزداد نسبة هذه الجراثيم في حال تم أخذ عينات اللحوم من منطقة قريبة على الأمعاء والجلد وهذا يتوافق مع دراسة (Duffy *et al.*, 2003) كما يلعب دور الفصل السنوي التي تم فيه أخذ العينات دوراً مهماً أن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلاي فيرو ترتفع في فصل الصيف بشكل ملحوظ وتلعب التقنيات ونوعيتها وحساسيتها وتختلف تبعا للمنطقة الجغرافية ويتوافق مع (Shekarforush *et al.,* 2008) وتتفق مع دراسة (Rahimi *et al.*, 2012) ويتوافق مع دراسة (Hassan *et al.*, 2016).

وبالنظر الى نتائج لحوم الأبقار فقد وجدت الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو O157:H7 بنسبة 70% مع العينات المدروسة بالنسبة للزرع الجرثومي ونسبة 42.8% بالنسبة لتفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد بالنسبة للذراري المعزولة التي تم فحصها على جهاز الPCR والتي تملك كلاً من الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو –1و–2، وهذا دليل واضح على وجود تلوث بهذه الجرثومة وهذه النسبة تشكل ارتفاعاً كبيراً ودليلاً واضحاً على الضعف الكبير والمتدني في إجراءات الأمن الصحي المتبع في أسواق بيع اللحوم وهذه النتائج تخالف مع دراسات وأبحاث عدة مثل دراسة (الصافي والرعوف،2003) في مصر حيث وجد أن الايشريكية القولونية VTEC O157 في اللحوم بنسبة 5%

وتخالف دراسة أجراها(Shaker *et al.*, 2022) في الموصل حيث وجد نسبة انتشار الايشريكية القولونية O157 في ذبائح العجول بنسبة 9.4% وفي دراسة أجرتها (حرستاني، 2013) في محافظة البصرة حيث كانت نسبة الايشريكية القولونية VTEC O157 في اللحوم5%

وتخالف دراسة أجراها(Beneduse *et al.*, 2008) في المغرب حيث كانت نسبة انتشار الايشريكية القولونية هي 9% من محلات بيع اللحوم المدروسة.

وبمقارنة النتائج مع الدراسات السابقة نجد أن الأختلاف في نسبة التلوث بالايشريكية القولونية VTEC O157 تعزى في الدرجة الأولى الى التدابير الصحية المتبعة في أماكن بيع لحومالأبقار أما السبب الثاني يمكن أن يكوف في فترة بيع لحوم الأبقار حيث يمكن أن تمند الى يومين أو ثلاثة ايام وسوء معاملة هذه اللحوم أثناء عرضها ونخزينها وتختلف مع دراسة قام بها (Murphy et al., 2005) حيث كانت نتائجه سالبة لوجود الجينات المشفرة للذيفانات السامة لخلايا فيرو (vt1,vt2).

أما بالنسبة لنتائج لحوم الماعز فقد أوضحت النتائج وجود الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو O157:H7 بنسبة 60% مع العينات المدروسة بالنسبة للزرع الجرثومي ونسبة 16.66% بالنسبة لتفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد بالنسبة للذراري المعزولة التي تم فحصها على جهاز PCR والتي تملك كلاً من الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو –1و–2، وهذه النتائج أعلى مما وجده (زهرة، 2010) في دراسة أجراها حيث وجد أن نسبة انتشار دليل على وجودها ضمن هذه اللحوم وهذا الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو O157:H7 بنسبة 8% فقد كانت نتائج تفاعل البوليميراز المتسلسل أن 100% من الذراري تمتلك الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو–2 وهي العامل الرئيسي المسبب لأمراض لدى الإنسان وهذا دليل كبير على وجود خلل في الاجراءات الصحية في هذه أماكن بيع اللحوم.

أما بالنسبة للحوم الجمال فقد وجدنا أن نسبة وجود الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو توجد بنسبة 75% مع العينات المدروسة بالنسبة للزرع الجرثومي، ونسبة 40% بالنسبة لتفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد بالنسبة للذراري المعزولة التي تم فحصها على جهاز الPCR والتي تملك كلاً من الجين المشفر للذيفان السام لخلايا فيرو –1و–2، وهذا يوافق دراسة قام بها كل من (Altee Yousif, 2023 ;and Yousif *et al.*,2024) حيث وجدوا الاشريكية القولونية في لحوم الإبل وكانت النتائج أقل من نتائج (Hassan *et al.*, 2016) حيث كانت 70% نسية الاشريكية القولونية وكانت مقاربة لنتائج (Klaif *et al.*, 2019) حيث كانت نسبتها 40% هذا أن دل على شيء فهو دليل على الواقع المتردي للمذابح والمسالخ واماكن بيع هذه اللحوم وامر خطير يجب معالجته.

وبالرجوع الى نتائج لحوم الاسماك فقد وجدنا أن الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو O157:H7 بنسبة 50% مع العينات المدروسة بالنسبة للزرع الجرثومي، ونسبة 40% بالنسبة لتفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد بالنسبة للذراري المعزولة التي تم فحصها على جهاز الPCR حيث كانت هذه النتائج أعلى مما وجده (Oluwafunmilayo *et al.*, 2020) في دراسته أن لحوم الاسماك ملوثة بالايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام في خلايا فيرو وأعلى من نتائج دراسة (Ayalew Assefaa *et al.*, 2019) حيث وجد أن نسبة وجود الايشريكية القولونية في اللحوم (9.4٪).

أما بالنسبة إلى عينات لحوم الدواجن فقد كان وجود الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو O157:H7 بنسبة 65% مع العينات المدروسة بالنسبة للزرع الجرثومي، ونسبة 30.76% بالنسبة

لتفاعل البوليميراز المتسلسل المتعدد بالنسبة للذراري المعزولة التي تم فحصها على جهاز الPCR وهذه النتائج اعلى من نتائج دراسة أجراها (Shimaa *et al.*, 2021) حيث كانت نسبة انتشار الايشريكية القولونية انتشار 16.17% ولذلك تم التوصل الى أن الايشريكية القولونية موجودة في لحم الفروج وفي دراسة (Hailehizeb *et al.*, 2024) حيث تم عزل وتحديد جراثيم الإشريكية القولونية O157:H7 المستوردة من لحوم الدجاج في مسالخ أديس أبابا حيث كانت النسبة 5.2% ولا تتوافق مع نتائج دراسة أجراها(الصافي والرعوف، 2003) في مصر حيث وجدوا أن نسبة انتشار الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو O157:H7 هي 5% في لحوم الدواجن ولا تتوافق أيضاً مع نتائج دراسة أجراها (Lukasova *et al.,* 2004) في التشيك على لحوم الدواجن المنزوعة العظم 0.9% وتشير الدراسات الى أن الدواجن لا تعلب دور الثوي الخازن لايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو وأن وجود الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو O157:H7 في لحوم الدواجن يشير الى حدوث تلوث اثناء عملية التصنيع وفي اماكن بيع هذه اللحوم حيث أنه في أسواقنا يباع اكثر من نوع لحم في نفس المكان وتلعب الإجراءات الصحية دوراً هاماً في هذا الأمر.

5-2- تأثير المواد الحافظة على الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو :

إن المحاليل الحمضية المستخدمة كمواد حافظة فعّالة في تثبيط الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في هذه الدراسة، ومع ذلك، تعتمد فعالية هذه الطرق على عوامل مختلفة، مثل مستويات تركيز المركبات الكيميائية، وتُعد الأحماض العضوية مضادات ميكروبية فعّالة بشكل خاص ضد الجراثيم، وتتمتع الأحماض العضوية بمزايا عديدة كعوامل مضادة للأحياء الدقيقة، حيث تُعرف بأنها آمنة تماماً (GRAS)، حسب المواصفات الصحية الدولية ومنظمة السوق الأوربية المشتركة ومنظمة الصحة العالمية وهيئة المقاييس السورية (1999-2000) وتعتبر غير ضارة بصحة المستهلك ومسموح بإضافتها وإستخدامها في حفظ المواد اللحوم ولا تؤثر سلباً عليها ولا تفرض قيوداً على الجرعة اليومية المقبولة، وهي فعّالة من حيث التكلفة، وسهلة الاستخدام، وتُسبب تغيرات حسية طفيفة في اللحوم. لذلك، من الضروري تحسين هذه الطرق باستمرار لكل نوع من أنواع مصفوفة اللحوم لتقليل أي تغيرات فيزيائية أو غذائية أو حسية، بالإضافة إلى ذلك، يُمكن للجمع بين طرق مختلفة أن يُحسّن كفاءة إزالة التلوث، ويُعدّ التحليل الشامل للظروف أمراً ضرورياً لتخصيص العمليات لمنتجات اللحوم المحددة. يُمكن أن يُساعد هذا النهج في تقليل التغيرات غير المرغوب فيها في اللحوم مع الحفاظ على فعالية إزالة التلوث،

فهي تزيد من فترة صلاحية اللحوم وتحد من فسادها في الظروف الخاصة مثل صعوبة تامين التبريد أو أنقطاع الكهرباء عن المبرد (البراد) حيث يمكن أن تحافظ المحاليل الحمضية على اللحوم لفترة زمنية قصيرة وتثبط نمو الجراثيم بحيث تصبح هذه اللحوم صالحة لاستهلاك البشري وقد درسنا المحاليل الحمضية التالية: لاكتات الصودصوم تركيز2%، وتركيز4% وحمض الخليك تركيز 1%، وتركيز 2% وحمض السوربيك تركيز1%، وتركيز 2% وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة وجدنا إنخفاض عدد جراثيم الايشريكية القولونية في لحوم الماعز عند معاملتها ب لاكتات الصوديوم تركيز2% وعند معاملتها ب لاكتات الصوديوم 4% حيث يوافق مأوجده (Byrne *et al.,* 2002) في لحوم الأبقار من تراكيز لاكتات الصوديوم في فطائر لحم الأبقار في تخفيض عدد الإيشريكية القولونية في هذه اللحوم ويخالف دراسة (Friedrich *et al.,* 2008) حيث وجد أن إضافة 20% من سوربات البوتاسيوم ولاكتات خفضت من أعداد هذه الايشريكة الايشريكة ويعزى ذلك الى إختلاف التركيز ونوع الملح وهذا يوافق دراسة أجراها (Ahmed *et al.,* 2018) على لاكتات الصوديوم بتركيز 2.5 و5%، وأسيتات الصوديوم بتركيز 2.5 و5% حيث وجد أن إضافة هذه المواد قد خفض من الحمولة الجرثومية وفي دراسة أجراها (Shaltout *et al.,* 2014) حيث وجد أن إضافة تأثير تركيزات مختلفة من لاكتات الصوديوم (2.5%) يمكن أن يؤخر نمو جراثيم الايشريكية القولونية وهذا يتفق أيضاً مع ما وجده (Storage Ligia *et al.,* 2008) حيث وجد أن نسية 3% من لاكتات الصوديم قد خفض من الايشريكية القولونية في اللحوم وقد وجد (Khalid, 2007) أن إضافة لاكتات الصوديوم في اللحوم خفض من أعداد الجراثيم وبينت نتائج تأثير حمض الخليك على الايشريكية القولونية أنخفاض عدد جراثيم الايشريكية عند معاملتها بحمض الخليك بالتركيز 1% والتركيز 2% حيث يوافق دراسة أجرتها (الابراهيم، 2022) حيث وجدت أن إضافة حمض الخليك بتركيز 1% و تركيز 2% في لحوم الدجاج يمكن أن يخفض من أعداد الايشريكية القولونية، وهذا يوافق دراسة أجراها (Ahmed *et al.,* 2018) لتأثير حمض الخليك بتركيز 1 و2% على جراثيم الإشريكية القولونية. كما وافقت نتائج هذه الدراسة ما وجده (Shaltout *et al.,* 2014) بإضافة تأثير تركيزات مختلفة من حمض الخليك (1 و2%) يمكن أن يؤخر نمو جراثيم الايشريكية القولونية ولكن أظهرت دراسة (Elaine and Catherine, 2000) مخالفة لنتائج هذه الدراسة حيث وجد أنه يمكن أن تتكيف E. coli O157: H7 مع الظروف الحمضية مما يؤثر سلبًا على فعالية غسيل الرش بحمض الخليك بنسبة 2٪ في تقليل أعداد هذه الجراثيم في الذبائح وبعد استعراض النتائج ومناقشتها نلاحظ أنه يجب أن ترش الاحماض مثل حمض الخليك بتركيز

1% أو2% وأملاح اللاكتات على الذبائح والتي تشمل (لحوم الاغنام ولحوم الأبقار ولحوم الماعز ولحوم الجمال ولحوم الاسماك ولحوم الفروج) في المسالخ حيث أنها آمنة ويمكن استخدامها وسهلة الاستخدام ورخيصة الثمن في ظل الواقع الصحي المتردي في المسالخ أثناء ذبح اللحوم .

وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة نجد أنها توافق ما وجده (Enkhbold *et al.,* 2022) في اللحوم حيث خفضت سوربات البوتاسيوم من عدد الإيشريكية القولونية بتراكيز مختلفة 1%، 2%، 5%.

إن الحصول على لحوم خالية تماماً من مسببات الأمراض أمرٌ صعب المنال حالياً أن تم الواقع الصحي المتردي الحالي على وضعه في المسالخ ومحلات بيع اللحوم، ولكن استخدام مواد كيميائية حافظة محددة مثل الأحماض والأملاح على اللحوم يمكن أن يقلل بشكل كبير من التلوث بالجراثيم، بما في ذلك مسببات الأمراض الضارة، وخاصة الايشريكية القولونيةO157:H7 المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو مما يقلل من المخاطر على المستهلكين. كما ويُعد التطوير المستمر لمواد الحافظة والمُحسّنة لتطهير اللحوم من البكتريا أمراً بالغ الأهمية. حيث تُطرح معالجات كيميائية جديدة بإضافة أحماض وأملاح بشكل مستمر، مصحوبة غالبًا بادعاءات مبالغ فيها تتعلق بالحد من مسببات الأمراض. يتطلب التحقق العلمي الشامل من هذه الادعاءات وقتاً وأجهزة دقيقة، مما يعني أن الحاجة إلى حلول مثلاً تجهيز مخابر ودعمها بالاجهزة المتطورة، والتركيز على استهداف الجراثيم الموجودة تحت سطح اللحم بسبب عيوب التقطيع أو الجروح الصغيرة في مناطق السكاكين التي لا يمكن الوصول إليها بمُطهرات الملوثات الكيميائية الحالية. لذلك، يجب أن يكون ضمان مكافحة التلوث بعد عملية التقطيع أولوية رئيسية. ومن المرجح في المستقبل أن تركز جهود التطهير الكيميائي على معالجة الذبائح والأجزاء الزائدة والمعدات خلال المراحل النهائية من المعالجة لتجنب التلوث أو تقليله أو إزالته تماماً. وينظر العديد من المستهلكين إلى المواد الكيميائية المستخدمة في تطهير اللحوم نظرة سلبية، حيث يربطونها بمواد ضارة. ولمواجهة ذلك، ينبغي على قطاع الأغذية والجهات التنظيمية تعزيز الشفافية، وتثقيف المستهلكين حول سلامة هذه المواد الكيميائية بشكل دائم، والتأكيد على فوائدها في سلامة اللحوم. ومن شأن هذه الجهود أن تُسهم في تصحيح المفاهيم الخاطئة وبناء ثقة المستهلكين في عمليات إزالة التلوث الكيميائي.

6-الاستنتاجات Recommendations

1- أظهرت النتائج أن الزرع الجرثومي لجراثيم الأشريكية القولونية كان عالياً في كل من العينات المدروسة.

2- بينت نتائج اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) وجود جراثيم الأشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في اللحوم الحمراء والبيضاء بنسب مختلفة.

3- بلغت النسبة الأعلى للتلوث بجراثيم الأشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في لحوم الجمال والأبقار(40%،42.8%) على التوالي بينما كانت النسبة الأخفض في لحوم الماعز بنسبة 16.66%.

4- بينت نتائج اختبار العدوى التجريبية عند الارانب أن ذراري الإشريكية القولونية الذيفان السام لخلايا فيرو قد افرزت السموم في 75% من الارانب.

5- إنخفاض تعداد الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في اللحوم الحمراء والبيضاء وذلك بعد تعرضها لحمض السوربيك.

6- إنخفاض تعداد الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في اللحوم الحماء والبيضاء و ذلك بعد تعرضها لاكتات الصوديوم بتركيز 2% بينما منع نمو هذه الجراثيم بالتركيز 4%.

7- أظهر حمض الخليك أنعدام وجود جراثيم الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في العينات المختبرة في كلا التركيزين1%، 2% .

8- إضافة لاكتات الصوديوم وحمض الخليك للحوم يقلل من التلوث بالايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو.

7- التوصيات Conclusions

1- تفعيل الرقبة الصحية بشكل كبير لمراقبة اماكن بيع اللحوم اثناء ذبح الحيوانات وتصنيع اللحوم وذلك من خلال تشديد الاجراءات الصحية بشكل صارم وادخال بند تعريض اللحوم ل أحماض العضوية وذلك اثناء تجهيز اللحوم وتصنيعها.

2- إجراء دراسة متممة لهذه الدراسة للكشف عن الايشريكية القولونية ومدى تواجدها في البشر المصابين ببعض الأمراض مثل الاسهال المدمى وأنحلال الدم باستخدام تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR.

3- استكمال الدراسة العلمية على تلوث اللحوم وإيجاد الطرق المناسبة التي تحد من انتشار الايشريكية القولونية وذلك باستخدام طرق جديدة لمعاملة اللحوم بمواد حافظة مثل الاحماض الاخرى.

4- منع بيع اللحوم بالطرق العشوائية في الاسواق المحلية وتشديد الرقابة الصحية على جميع اماكن بيع اللحوم

5- القيام بفحص شهري للكشف عن جراثيم الايشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في اسواق بيع اللحوم والمسالخ الموجودة في كل في محافظة

6- العمل على تشجيع الطرائق الحديثة لتصنيع اللحوم وضرورة ومعاملتها بالاحماض العضوية للتخلص من الأحياء الدقيقة الممرضة الممكن تواجدها في اللحوم.

7- إجراء المزيد من الدراسات المستقبلية تشمل الأحياء الدقيقة الأخرى كالمطثيات والعطيفة الصائمية والعصوية الشمعية والمكورات العنقودية وغيرها، من مصادر غذائية متنوعة وفي مناطق جغرافية واسعة.

8- ربط نتائج الأبحاث العلمية بالخطوات العلمية المطبقة على أرض الواقع.

8- الملخص بالأنكليزي English Abstract

The aim of this research is to detect Escherichia coli (E. coli) producing cytotoxic E. coli in white and red meat using polymerase chain reaction (PCR) technology and to study the effect of preservatives (acetic acid, sorbic acid, sodium lactate) on these E. coli bacteria in meat. 120 meat samples were collected from red meat (sheep, cattle, goats, camels) and white meat (fish, chicken) from different locations in local markets. After that, E. coli bacteria were isolated, purified, and identified by studying the culture, morphological, color, and biochemical properties to identify E. coli. Then, they were examined using the PCR device. The results of the chicken meat samples showed the presence of E. coli producing cytotoxic E. coli in the meat of (chicken, fish, sheep, cattle, goats, camels) respectively with the studied samples for bacterial culture at a rate of (65%, 50%, 55%). 70%, 60%, 75% respectively. The results of isolating the offspring using the PCR device in the meat of (broilers, fish, sheep, cattle, goats, camels) respectively with the studied samples showed (30.76%, 40%, 36.36%, 42.8%, 16.66%, 40%) respectively. After Escherichia was detected, the effect of adding sorbic acid solution at a concentration of 1%, and a concentration of 2%, acetic acid solution at a concentration of 1% and a concentration of 2%, and sodium lactate solution at a concentration of 2% and a concentration of 4% on Escherichia coli bacteria that produce cytotoxic E. coli in red and white meat was studied after the meat had been inoculated with the aim of inhibiting the growth of these bacteria at the permissible limit. The meat samples were immersed for 30 minutes. The results showed that sorbic acid reduced the growth of these bacteria. Acetic acid (1% and 2%) inhibited E. coli growth. Samples treated with 2% sodium lactate solution showed inhibition of these bacteria, while 4% concentration showed even greater inhibition in these meats. Statistical analysis revealed significant differences ($P<0.05$). The study also found the presence of E. coli producing Vero cytotoxin. We conclude that adding these acids (1% acetic acid and 4% sodium lactate) can reduce contamination with these bacteria and thus contribute to maintaining public health.

Keywords: Red meat - White meat - Sorbic acid - Acetic acid - Sodium lactate – PCR.

9- الأبحاث المنشورة Published Papers

1- حاجي العلي، عمار; عروانه، عبد العزيز وسليمان، غياث (2025)**:تأثير إضافة لاكتات الصوديوم وحمض السوربيك على الايشركية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في اللحوم الحمراء والبيضاء** مجلة جامعة حماة المجلد (8) .

2-حاجي العلي، عمار; عروانه، عبد العزيز وسليمان، غياث (2025): **تأثير إضافة حمض السوربيك وحمض على الايشركية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في اللحوم الحمراء والبيضاء** مجلة جامعة حمص.

3-حاجي العلي، عمار; عروانه، عبد العزيز وسليمان، غياث (2025): **تأثير إضافة لاكتات الصوديوم وحمض الخليك على الايشركية القولونية المنتجة للفيروتوكسينات في اللحوم الحمراء والبيضاء** المؤسسة العربية للعلوم ونشر الأبحاث العدد الثالث- المجلد (9).

4- Haji Al-Ali ,Ammar.; Arawneh, Abdul Aziz., and Soliman, Ghiyath. (2025): "Molecular detection of Escherichia coli producing Vero cytotoxic toxin in red and white meat available in local Syrian markets" in OVJ Volume 15, Issue 12.

10- المراجع References

المراجع العلمية:

5- الإبراهيمأ، نوفة; نعمة فؤاد، وعراونة، عبد العزيز (2022): (دراسة تأثير بعض الاحماض العضوية وملح الطعام في إطالة فترة حفظ لحم الدجاج) مجلة جامعة حلب سلسلة العلوم الزراعية المجلد (152).

6- الإبراهيمب، نوفة، نعمة فؤاد، وعراونة، عبد العزيز (2022): (دراسة تأثير حمض الخل وحمض اللبن على بكتريا السالمونيلا والمكورات العنقودية الذهبية في لحم الدجاج خلال الحفظ بالتخزين المبرد) مجلة جامعة حلب سلسلة العلوم الزراعية المجلد(152).

7- الحلواني، زينب; العمر، أنور، كسيبي، بسام (2017): الكشف عن الإشريكية القولونية في عينات غذائية في محافظة حمص ، مجلة بحوث جامعة البعث، المجلد 39.

8- الشرجبي، فهد عبدالحميد (2015). ميكروبيولوجيا الأغذية.منشورات جامعة تعز. اليمن. الطبعة الأولى.

9- الصافي، الصافي والرعوف، أسامة (2003): الكشف عن الايشريكية القولونية o157:H7 في بعض الأغذية المصرية . كلية العلوم، جامعة الأزهر، مجلة أسيوط للعلوم الزراعية . المجلد 34، العدد 6.

10- المطيري، هاني; أبو طربوش ،حمزة والمفرج، سعود (2013): (النشاط المضاد للميكروبات في الحموض العضوية والأملاح وتأثيره على انتاج الدواجن ولحومها) مجلة الجمعية السعودية للعلوم الزراعية، المجلد 12، العدد (2) .

11- حرستاني، رانيا; عزيزية، عبد الحكيم وحبال، هدى (2013): تأثير المعاملة بحمض الخل في بعض صفات جودة صدر الدجاج الطازج خلال التخزين المبرد مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية المجلد (29)-العدد 3-الصفحات 83-96.

12- دحروج، إيناس; العمر، أنور وكسيبي، بسام (2019): دراسة جرثومية وجزيئية على عينات غذائية في محافظة حماة

13- زهرة، محمد (2010): التقصي عن الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان السام لخلايا فيرو في بعض المنتجات الحيوانية. بحث علمي لنيل درجة الماجستير في علم الأحياء الدقيقة، كلية الطب البيطري، جامعة البعث.

14- نعمة، فؤاد (2010): دراسة بعض الصفات الفيزيوكيميائية والحسية وتقدير الحمولة الجرثومية للحم الجاموس المستورد. مجلة جامعة البعث 32 (28): 191–202.

15- Abdullah, F.; Alsayeqh, A. S. M.; Mohamed, R. E.; Mohamed, N. A.; Ibrahim, E. H. and Alnakip, M. E. (2023): (prevalence of multidrug resistant shiga toxin producing E. coli in the milk of cattle, buffaloes, and camel) Slov Vet Res; 60 (Suppl 25): 291.

16- Abu-Ghazaleh, B. M. (2013): (Effects of ascorbic acid, citric acid, lactic acid, NaCl, potassium sorbate and Thymus vulgaris extract on Staphylococcus aureus and Escherichia coli) African Journal of Microbiology Research Vol. 7(1), pp. 7-12, 1 January.

17- Adams M.R., (2001): Moss M.O. Food Microbiology, 2nd ed. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry.

18- Adeyanju, and Ishola O. (2014): Salmonella and escherichia coli contamination of poultry meat from a processing plant and retail markets in Ibadan, Oyo state, Nigeria. Springerplus 3 (1): 1–9.

19- Ahmad, S. and Badpa, A. G. (2014): Meat products and Byproducts for value Addition. In: Food Processing Strategies for Quality Assessment. Ed. Erginkaya A.M.Z., Ahmad S., Erten H. Springer Science + Business Media New York, pp: 124-154.

20- Ahmed, A.; Shewail, F. A. Shaltout, and Thabet, M. G.(2018): impact of some organic acids and their salts on microbial quality and shelf life of beef Assiut Vet. Med. J. Vol. 64 No. 159 October 2018, 164-177.

21- Allen CS.; Loo JF.; Yu S.; Kong SK.and Chan TF. (2014): Monitoring bacterial growth using tunable resistive pulse sensing with a pore-based technique. Applied microbiology and biotechnology. Jan 1;98(2):855-62.

22- Altee, A.K. and Yousif, A.A. (2023): Occurrences of E. coli in dromedary camels in some provinces in Iraq with a molecular study of *E. coli* O157:H7 Iraqi Journal of Veterinary Sciences, Vol. 37, Supplement II, (49-54) Proceedings of the 14th (4th International) Scientific Conference, College of Veterinary Medicine, University of Baghdad.

23- Álvarez-O. A.; Fernández, A.; Bernardo, A.and López, M. (2010): Acid tolerance in Salmonella Typhimurium induced by culturing in the presence of organic acids at different growth temperatures. Food Microbiol 27:44-49.

24- Amin, Z. S.M.; Razavi, R. M.; Raeisi, SH.and Hosseini, M. H. (2014): Antibacterial Effects of Monolaurin, Sorbic Acid and Potassium

Sorbate on Staphylococcus aureus and Escherichia coli) Journal of Food Quality and Hazards Control (1) 52-55

25- Arends SR,and Weiss, DS. (2004): Inhibiting cell division in *Escherichia coli* has little if any effect on gene expression. Journal of bacteriology. Feb 1;186(3):880-4.

26- Ayalew, A. Fikru, R.; Dinka. A.; Kebede, A.and Fufa, A.(2019): (Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of *Escherichia coli* O157:H7 isolated from harvested fish at Lake Hayq and Tekeze dam, Northern Ethiopia) 4 December 2405-8440.

27- Aykın-Dinçer, E.; Ergin, F.and Küçükçetin, A. (2021): Reduction of Salmonella enterica in Turkey breast slices kept under aerobic and vacuum conditions by application of lactic acid, a bacteriophage, and ultrasound. J Food Saf 43:e12923.

28- Bacus, and Bontenbal, (1991): Natural Sodium Lactate has recognized as an effective way to control pathogens in cured and uncured meats and poultry,37,64-69.

29- Barkocy-Gallagher, G. A.; Arthur, T. M.; Rivera-Betancourt, M.; Nou, X Shackelford, S. D.; Wheeler, T. L. and Koohmaraie, M. (2003): Seasonal prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, including O157:H7 and non-O157 serotypes, and Salmonella in commercial beef processing plants. Journal of Food Protection, 66, 1978-1986.

30- Baron, EJ. And Fingold, SM.(1990): Baily & Scotts Diagnostic Microbiology, 8th Ed. CV Mosby Company.

31- Baumgardner, J.; Acker, K.; Adefuye, O.; Crowley, ST.; DeLoache, W.; Dickson, JO.; Heard, L,.; Martens, AT.; Morton, N.; Ritter, M.and Shoecraft A. (2009): Solving a Hamiltonian Path Problem with a bacterial computer. Journal of biological engineering. Jul 24;3(1):11.

32- Bell, C. (2002): Approach to the control of entero-haemorrhagic Escherichia coli (EHEC). International Journal of Food Microbiology, 78, 197-216. http://dx.doi.org/10.1016/s0168-1605(02)00188-5.

33- Bell, RG. (1997): Distribution and sources of microbial contamination on beef carcasses. J Appl Microbiol 82 (3): 292–300.

34- Beneduce, L.; Spano, G.; Nabi, A.Q.; Lamacchia, F.; Massa, S.; Aouni, R. and Hamama, A. (2008): Occurrence and characterization of Escherichia coli o157 and other serotypes in raw meat products in Morocco. J Food Prot. 71(10):2082-6.

35- Beneduce, L.;Spano, G.; Nabi, A.Q.; Lamacchia, F.; Massa, S.; Aouni R. and Hamama, A.(2008): Occurrence and characterization of Escherichia coli O157:H7 and other serotypes in raw meat products in Morocco .J Food Prot. 71(10):2082-6.

36- Bentley, R.and Meganathan, R. (1982): Biosynthesis of vitamin K (menaquinone) in bacteria. Microbiological reviews. Sep;46(3):241.

37- Bettelheim KA (2003) Non-0157 Verotoxin-Producing. Exp Biol Med 228 333–344.

38- Bhandare, SG.; Sherikar, AT.; Paturkar, A.M. et al., (2007): A comparison of microbial contamination on sheep/goat carcasses in a modern Indian abattoir and traditional meat shops. Food Control 18 (7): 854–858.

39- Bin Jasass, F. M. (2008): (Effectiveness of trisodium phosphate, lactic acid,and acetic acid in reduction of *E .coli* and microbial load on chicken surfaces) African Journal of Microbiology Research. Vol.(2) pp. 050-055, March.

40- Biswas, AK.; Kondaiah, N.; Anjaneyulu, ASR. and Mandal, PK. (2011): Causes, Concerns, Consequences and Control of Microbial Contaminants in Meat-A Review. Int J Meat Sci 1 (1): 27–35.

41- Blanco, J.; Blanco, M.; Garabal, JI. and González EA. (1991): Enterotoxins, colonization factors and serotypes of enterotoxigenic Escherichia coli from humans and animals. Microbiologia 7 (2): 57–73.

42- Blattner, FR.; Plunkett, G.; Bloch, CA.; Perna, NT.; Burland, V.; Riley, M.; Collado-Vides, J.; Glasner, JD.; Rode, CK.; Mayhew, GF.and Gregor, J. (1997): The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. science. Sep 5;277(5331):1453-62.

43- Brewer, M.S.; Rogosti, B.K.; Argoudelis, L. and Sprouls, G.K. (1995): Sodium lactate/sodium chloride effects onaerobic plate counts and colour of aerobically packaged ground pork. J. Food Sci. 60, 58-60.

44- Brien, A. D.; Newland, J. W.; Miller, S. F.; Holmes, R. K. Smith, H. W. & Formal, S. B. (1984): Shiga-like toxin-converting phages from *Escherichia coli* strains that cause hemorrhagic colitis or infantile diarrhea. *Science, 226*(4675), 694-696.

45- Brüssow, H.; Canchaya, C. and Hardt, WD. (2004): Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion. Microbiology and molecular biology reviews. Sep 1;68(3):560-602.

46- Bryan, A.; Youngster, I. and McAdam, AJ. (2015): Shiga Toxin Producing *Escherichia coli*. Clin Lab Med 35 (2): 247–272.

47- Byrne, C. M.; Bolton, D. J.; Sheridan, J. J.; Blair, I. S. and Mcdowell, D. A. (2002): (Determination of the e¡ect of sodium lactate on the survival and heat resistance of *Escherichia coli* O157:H7 in two commercial beef patty formulations) Food Microbiology, 19, 211^219.

48- Cagney, C.; Crowley, H. and Duffy, G. et al. (2004): Prevalence and numbers of *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef and beef burgers from butcher shops and supermarkets in the Republic of Ireland. Food Microbiol 21 (2): 203–212.

49- Callaway, T. R.; Carr, M. A.; Edrington, T. S.; Anderson, R. C. and Nisbet, D. J. (2009): Diet, *Escherichia coli* O157:H7, and cattle: a review after 10 years. Current Issues in Molecular Biology, 11, 67-79.

50- Campos, C.A. and Gerschenson, L.N. (1998): Inhibitory action of potassium sorbate degradation products against Staphylococcus aureus growth in laboratory medium. Int. Jour. Food Micro. 54:117-122.

51- Carney, E.; Obrien, S.B.; Sheridan, J.J.; McDowell. D.A.; Blair, I.S. and Duffy, G.(2006): Prevalence and level of Escherichia coli o157 on beef trimmings, carcasses and boned head meat at a beef slaughter plant, Foode Microbol.23(1):52-9.

52- Casas, DE; Vargas, DA; Randazzo, E.; Lynn, D.; Echeverry, A.; Brashears, MM.; Sanchez-Plata. MX.; and Miller, MF. (2021): In-plant validation of novel on-site ozone generation technology (bio-safe) compared to lactic acid beef carcasses and trim using natural microbiota and Salmonella and *E. coli* O157:H7 surrogate enumeration. Foods 10:1002..

53- Çetin, Bayram and Bostan, Kamil (2002): "Effect of Sodium Lactate on the Microbiological Quality and Shelf-Life of Ready to Cook Meatballs," Turkish Journal of Veterinar y & Animal Sciences : Vol. 26: No. 4, Article 22. Available at: https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol26/iss4/2.

54- Chaea, and Zaid,(2017): The Chemical, Microbial and Sensory Characteristics of Refrigerated Chicken Breast Meat Treated with Sodium Lactate and Tri Sodium Citrate Othman and Khidhir-Syrian Journal of Agricultural Research 4(4):155- 169 December.

55- Chahed, A.; China, B.; Mainil, J. and Daube, G. (2006):Prevalence of Enterohaemorrhagic Escherichia coli from serotype o157 and other

attaching and effaching Escherichia coli on bovine carcasses in Algeria. J Appl Microbiol. 101(2):361-8.

56- Chandraval, Chandan, (2016): Prevalence of *Escherichia coli* in Fish and Shrimp obtained from Retail Fish Markets in &around Kolkata, India. Frontiers in Environmental Microbiology. Vol. 2, No. 1, , pp. 1-5. doi: 10.11648/j.fem.20160201.11.

57- Clarke, SC.; Haigh, RD.; Freestone, PP. and Williams, PH. (2002): Enteropathogenic Escherichia coli infection: history and clinical aspects. Br J Biomed Sci 59 (2): 123–127.

58- Clarke, SC.; Haigh, RD.; Freestone, PPE. and Williams, PH. (2003): Virulence of Enteropathogenic *Escherichia coli*, a Global Pathogen. Clin Microbiol Rev 16 (3): 365–378.

59- Cobbold, RN.; Davis, MA. and Rice, DH. et al., (2008): Associations between bovine, human, and raw milk, and beef isolates of non-O157 Shiga toxigenic Escherichia coli within a restricted geographic area of the United States. J Food Prot 71 (5): 1023–1027.

60- Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmion, B. P. and Simmons, A.(1996): Practical medical microbiology. 14th ed. Churchill living stone. Inc. New York, USA.

61- Conner, D.E.; Kotrola, J.S.; Mikel, W.B. and Tamblyn, K.C. (1997): "Effects of acetic-lactic acid treatments applied to beef trim on populations of *Escherichia coli* O157:H7 and Listeria monocytogenes in ground beef," Journal of Food Protection, vol. 60, no. 12, pp. 1560–1563.

62- Crump, J. A.; Sulka, A. C.; Langer, A. J.; Schaben, C.; Crielly, A. S.; Gage, R.,...& Hunter, SB. (2002): An outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 infections among visitors to a dairy farm. N Engl J Med 347(8):555-560.

63- Dalton, CB.; Mintz, ED. and Wells, JG. et al. (1999): Outbreaks of enterotoxigenic Escherichia coli infection in american adults: a clinical and epidemiologic profile. 123 9–16

64- Darnton, NC.; Turner, L.; Rojevsky, S. and Berg, HC. (2007): On torque and tumbling in swimming *Escherichia coli*. Journal of bacteriology. Mar 1;189(5):1756-64.

65- Das, MC.; Biswas, A.; Chowdhury, M. and Saha, J. (2014): Screening antimicrobial susceptibility of gentamicin, vancomycin, azithromycin, chloramphenicol and cefotaxime against selected gram

positive and gram negative bacteria. International Journal of Pharma Research and Health Sciences.;2(4):324-31.

66- Davidson, M. P. (2001): Chemical Preservatives and Natural Antimicrobial Compounds, p. 593-628. In Doyle, M.P., Beuchat, L.R., and Montville, T.J. (ed.) Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. [2]ed. ASM Press, Washington, D.C.

67- Deborah, H. and Frankel, G. (2005): Enteropathogenic Escherichia coli: Unravelling pathogenesis. FEMS Microbiol Rev 29 (1): 83–98.

68- Del Rio, E. And Panizo-Moran, M. (2007): Effect Of Various Chemical Decontamination Treatments On Natural Microflora And Sensory Characteristics Of Poultry. Intern. J. Food Microbio. 115: 286-280.

69- Deschenes, G.; Casenave, C.; Grimont, F.; Desenclos, JC.; Benoit, S.; Collin, M.; Baron, S.; Mariani, P.; Grimont, PA. and Nivet, H. (1996): Cluster of cases of haemolytic uraemic syndrome due to unpasteurised cheese. Pediatric Nephrology. Apr 1;10(2):203-5.

70- Donnenberg, MS. and Whittam, TS. (2001): Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic Escherichia coli. J Clin Invest 107 (5): 539–548.

71- Dorsa, W. J.; Cutter, C.N. and Sitagusa, G.R. (1998): Bacterial profile of ground beef made from carcass tissue experimentally contaminated with pathogenic and spoilage bacteria before being washed with hot water, alkaline solution, or organic acid and then stored at 4 or 12C. Journal of Food Protection, 19(6):1109-1118.

72- Duffy, G.; Cagney, C.; Crowley, H. and Sheridan, J. (2003): A nationwide surveillance study on *E.coli* 0157:H7 and enterobacteriaceae in Irish minced beef products. Teagasc.

73- Ecert, L.A.; Maca, J.V.; Miller, R.K. and Acuff, G.R. (1997): Sensory microbiological and chemical characteristics of fresk aerobically stored ground beef containing sodium lactate and sodium propionate. J. Food Sci. 62, 2, 429-433.

74- Elaine, D. B. and Catherine, N. C.(2000): Effects of Acid Adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 on Efficacy of Acetic Acid Spray Washes To Decontaminate Beef Carcass Tissue APPLIED AND Environmental Microbiology, Apr. p. 1493–1498.

75- Elkady, S. A.; Darwish, W. S.; Tharwat, A. E.; Said, M. A.; ElAtriby, D. E.; Seliem, M. M.; Alfifi, A. E.; El-Ghareeb, W. R.;

Lamiaa M. R.; and Tamer M. Gad (2024): http://www.openveterinaryjournal.com S. A. Elkady et al. Open Veterinary Journal, Vol. 14(1): 571-576.

76- EL-Tabiy, A. A. and Soliman, Z.I.(2011): Effect of lactic acid and acetic acid on the quality of local meat Assiut Vet Med.J.Vol. 57No.130 July

77- Enkhbold, M. Attila, L. Majd, E. László, F. József, S. and Adrienn T.(2022): (improvement of shelf-life of beef using lactic acid, ascorbic acid mixture and potassium sorbate).

78- Eustace, I. J.; Bill, B. A.; Gibbons, R. A. and Powell, V. H. (1980): Vacuum packaged lamb carcasses extension of storage life by treatment with acetic acid solution prior to packaging. Meat Report 8/80. CSIRO. Division of Food Research. Meat Research Laboratory, Cannon Hill, Australia.

79- Fabrizio, KA.; Sharma, RR.; Demirci, A. and Cutter, CN. (2002): Comparison of electrolyzed oxidizing water with various antimicrobial interventions to reduce Salmonella species on poultry. Poult Sci; 81: 1598–1605.

80- Farag, H.El-S.M. and Korashy, N.T. (2006): Lactic acid and pH as inducation for bacteria spoilage of meat and some meat products. J. Appl. Sci. Res. 2(8), 522-528.

81- Farrar, J.; Hotez, P.; Junghanss, T.; Kang, G.; Lalloo, D. and White, NJ. (2013): Manson's Tropical Diseases E-Book. Elsevier Health Sciences; Oct.

82- Feiner, Gerhard. (2006):Meat Products Handbook ,Practical Science And Technology , Woodhead Publishing Limited , First Published ,U.S.A.

83- Feng P, Weagant SD, Grant MA, Burkhardt W, Shellfish M, Water B. BAM: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Bacteriological analytical manual. 2002 Sep:13-9.

84- Feng, P.; Weagant, SD and Jinneman, K. (2011) Diarrheagenic *Escherichia coli*. Bacteriol. Anal. Manual(Chapter 4A).Feng P (2012) Pathogenic Escherichia coli Group. In: Bad Bug Book, Foodborne Pathog. Microorg. Nat. Toxins.). Silver Spring, MD, USA: Food and Drug Administration., pp 68–81.

85- Fernández-López , J. ; Zhi, N. ; Aleson-Carbonell, L.; Pérez-Alvarez, J. A. , &Kuri, V. (2005): A ntioxidant and antibacterial

activities of natural extracts: Application in beef meatballs. Meat Science , 69 , 371 – 380.

86- Fotadar, U.; Zaveloff, P. and Terracio, L. (2005): Growth of Escherichia coli at elevated temperatures. Journal of basic microbiology. Oct 1;45(5):403-4.

87- Frances E. C. F. a.; Oledibe, O. J.; Nwakoby, N. E.; Afam-Ezeaku, C. E. and Mbaukwu, (2023): Onyinye Ann Antibiogram of Escherichia coli Isolated from Fish (Salmon Fish)/Meat (Beef) Asian J. Biochem. Gen. Mol. Biol., vol. 13, no. 4, pp. 1-10,; Article no.AJBGMB.97667.

88- Friedrich, L.; Siro, I.; Dalmadi, I.; Horva ´th, R. A´goston, Cs. and Balla, (2008): (Influence of various preservatives on the quality of minced beef under modified atmosphere at chilled storage) Meat Science 79 (2008) 332–343.

89- Giannino, ML. Marzotto, M. Dellaglio, F. Feligini, M. (2009): Study of microbial diversity in raw milk and fresh curd used for Fontina cheese production by culture-independent methods. Int J Food Microbiol 130 (3): 188–195.

90- Gill, CO.; Badoni, M. and Mcginnis, JC. (2001) Microbiological Sampling of Meat Cuts and Manufacturing Beef by Excision or Swabbing. J Food Prot 64 (3): 325–334.

91- Gill, CO. (1998): Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs. In: Microbiol. meat Poult. London : Blackie Academic & Professiona., pp 118–157.

92- Gill, CO. and Badoni, M. (2004): Effects of peroxyacetic acid, acidified sodium chlorite or lactic acid solutions on the microflora of chilled beef carcasses. Int J Food Microbiol 91:43-50.

93- Godambe, LP. Bandekar, J. Shashidhar, R. (2017): Species specific PCR based detection of Escherichia coli from Indian foods. 3 Biotech 7(2):1-5.

94- Goncalves, A. C. and Almeida, R. C. C. (2005): Quantitative Investigation on the Effects of Chemical Treatments in Reducing Listeria monocytogenes Populations on Chicken Breast Meat. J. Food Control 16: 617-622.

95- Goodridge, L.; Chen, J.; & Griffiths, M. (1999): The use of a fluorescent bacteriophage assay for detection of *Escherichia coli*

O157:H7 in inoculated ground beef and raw milk. *International Journal of Food Microbiology, 47*(1-2), 43-50.

96- Guo, C. He, Y.; Wang, Y. and Yang, H. (2022): NMR-based metabolomic investigation on antimicrobial mechanism of Salmonella on cucumber slices treated with organic acids. Food Control 137:108973.

97- Hailehizeb, T.; Kassahun, F.; Tadele, T.; Motuma, D. and Eyoel, E. (2024): Infection and Drug Resistance (17) 851–863- 851.

98- Han, J.; Luo, X.; Zhang, Y.; Zhu, L.; Mao, Y.; Dong, P.; Yang, X.; Liang, R.; Hopkins, DL. and Zhang, Y. (2020): Effects of spraying lactic acid and peroxyacetic acid on the bacterial decontamination and bacterial composition of beef carcasses. Meat Sci 164: 108104.

99- Hassan, M.; Farhad, S. D.; Ebrahim, R.; Hossein, E. and Reza, A. (2013): Ncidence of Shiga toxin-producing Escherichia coli serogroups in ruminant's meat Meat Science 95 p.381-388 journal homepage: www.elsevier.com/locate/meatsci.

100- Hassan, M.A.; Heikal, G. and Barhoma, R.M.(2016): (Traceability of enteropathogenic E. coli in cattle and camel carcasses) (Benha Veterinary Medical Journal -31(1): 50-55, 2016). (http://www.bvmj.bu.edu.eg).

101- Hatakka, M.; Bjorkroth, KJ and Asplund K et al., (2000): Genotypes and enterotoxicity of _Staphylococcus aureus_ isolated from the hands and nasal cavities of flight-catering employees. J Food Prot 63: 1487–1491.

102- Hecer, C. and Ulusoy Sözen, B. H. (2011): Microbiological properties of mechanically deboned poultry meat that applied lactic acid, acetic acid and sodium lactate African Journal of Agricultural Research Vol. 6(16), pp. 3847-3852, 18 August.

103- Hedberg, CW.; Savarino, SJ. and Besser, JM. et al., (1997): An Outbreak of Foodborne Illness Caused by Escherichia coli O39:NM, an Agent Not Fitting into the Existing Scheme for Classifying Diarrheogenic E. coli. J Infect Dis 176 (6): 1625–1628.

104- Herendeen, SL.; VanBogelen, RA. and Neidhardt, FC. (1979): Levels of major proteins of *Escherichia coli* during growth at different temperatures. J Bacteriol 139 (1): 185–194.

105- Hoffmann, S.; Batz, MB. and Morris, JG. (2012): Annual Cost of Illness and Quality-Adjusted Life Year Losses in the United States Due to 14 Foodborne Pathogens. J Food Prot 75 (7): 1292–1302.

106- Huang, Y. and Chen, H. (2011): Effect of organic acids, hydrogen peroxide and mild heat on inactivation of Escherichia coli O157:H7 on baby spinach. Food Control, 22, 1178-1183. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.01.012.

107- Hui, Y . H.; Nip, K. W.; Rogers, R . W . And Young, O . A.(2005): Meat Science And Applications . 1st Ed. Marcel Dekker Inc. U.K.

108- Hussein, M.A.; El-Ghareeb, W.R.; and Lotfy, O.O. Shelf, L.(2012): Improvement of Camel Meat Treated With Potassium Sorbate 0.3%. Journal of American Science.[8(4): 507-511]. (ISSN: 1545-1003). http://www.americanscience.org. 67.

109- Hwang, CA.; Sheen, S. and Juneja, V. (2011): Effects of sodium lactate on the survival of Listeria monocytogenes, *Escherichia coli* O157:H7, and Salmonella spp. in cooked ham at refrigerated and abuse temperatures. Food Nutr Sci. 2011; 2: 464–470.

Irmala, T. A. and Surendraraj, P. K. (2005): Prevalence and Characterization of Typical and Atypical *Escherichia coli* from Fish Sold at Retail in Cochin, India Journal of Food Protection, Vol. 68, No. 10, Pages 2208–2211.

110- Ismail, SA.; Dea, T.; Abd El-Rahman, H.; Yassien, MAM. and Beuchat, LR. (2001): Effectiveness of immersion treatments with acids, trisodium phosphate, and herb decoctions in reducing populations of Yarrowia lipolytica and naturally occurring aerobic microorganisms on raw chicken. Int J Food Microbiol; 64: 13–19.

111- Jager, M. and Luck, E. (1997):Antimicrobial Food Additives: Characteristic, Uses, Effects. 2nd Ed. Berlin: Springer. 260 P.

112- Johnsamelis, J.S.; Patriciaa,K. and Garyc, S.(2001): Effect of Acid Adaptation on Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Meat Decontamination Washing Fluids and Potential Effects of Organic Acid Interventions on the Microbial Ecology of the Meat Plant Environment MS01-184:Received18May2001/Accepted7July.

113- Kaper, JB. And Nataro, JP. Mobley . (2004): Pathogenic *Escherichia coli.* Nat Rev Microbiol 2 (2): 123–140.

114- Karmali, M. A.; Gannon, V. and Sargeant, J. M. (2010): Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). Veterinary Microbiology, 140, 360-370. http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.04.011.

115- Kaur, P.; Chakraborti, A. and Asea, A. (2010): Enteroaggregative *Escherichia coli*: An emerging enteric food borne pathogen. Interdiscip. Perspect. Infect. Dis. 2010.

116- Kay, G.; Gamaleldin, M.; Ahmed, S.; Abdullah, A. and Mohammad, K. (2013): (Frequency of antibiotic resistant Salmonella, *Escherichia coli*, Enterococcus, and Staphylococcus aureus in meat in Saudi Arabia) African Journal of Microbiology Research Vol. 7(4), pp. 309-316, 22 January, 2013.

117- Kedir, Abdi Hassen .(2020): (BSc of Veterinary Laboratory Technology and MSc of Veterinary Public Health) haramaya university, collage of veterinary medicine, ethiopia Volume 3, Issue XII, December 2020 316-332.

118- Khalid Ibrahim Sallam, (2007): (Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon) Food Control. 2007 May ; 18(5): 566–575.

119- Khalid, I. S.; Samir, M.; Mohammed A. H.; Kálmán, I.; Adriana, M.; Alaa Eldin, M. and Mohamed, Z. Sayed, A.(2020): (Microbial Decontamination of Beef Carcass Surfaces by Lactic Acid, Acetic Acid, and Trisodium Phosphate Sprays) BioMed Research International Volume Article ID 2324358, 11 pages https://doi.org/10.1155/2020/2324358.

120- Klaif, S.F.; Saleh, Z.F.; Hussein, M.T.; Jawad and M.S. A.A(2019): Molecular characterization of enterohemorrhagic *E. coli* O157 and O153 isolated from tissue camel and human stool samples in Al-Diwaniyah, Iraqi Journal of Veterinary Sciences, Vol. 33, No. 1, (81-86).

121- Koodie, L. and Dhople, A.M. (2001): Acid tolerance of Escherichia coli O157:H7 and its survival in apple juice. Microbios. 104: 167– 175.

122- Kotloff, KL.; Nataro, JP. and Blackwelder, WC. et al. (2013): Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): A prospective, case-control study. Lancet 382 (9888): 209–222.

123- Kotloff, KL.; Winickoff, JP. and Ivanoff, B. et al. (1999): Global burden of Shigella infections: Implications for vaccine development and implementation of control strategies. Bull World Health Organ 77(8): 651–666.

124- Lawrie, R. A; (2006): Lawrie's meat science (7th ed.). Cambridge: Woodhead Publishing Limited. ISBN 978-992.

125- Lawrie, RA. (1985): Meat science, 4th editio. Oxford: Pergamon Press.
126- Ledward, D.A. (1990): Stability of sorbic acid in intermediate moisture systems. Food Addit. Contam. Anal. Surveillance Eval. Control. 7:677-683.
127- Lenahan, M.; O'Brien, S.; Kinsella, K.; Sweeney, T. and Sheridan, J.J(2007): Prevalence and molecular characterization of *Escherichia coli* O157:H7 on Irish lamb carcasses, fleece and in faeces samples. J Appl Microbiol. 103(6);2401-9.
128- Lior, H.; Pierard, D.; Huyghens, L. and Lauwers, S. (1991): Diarrhoea associated with Escherichia coli producing porcine oedema disease verotoxin. Lancet 338 (8769): 762.
129- Loretz, M.; Stephan, R. and Zweifel, C. (2010): Antimicrobial activity of decontamination treatments for poultry carcasses: a literature survey. Food Control; 21: 791-804.
130- Lueck, E. (1990): Food Applications of sorbic acid and its salts. Food Additives and Contaminants. 7:711-715
131- Lukásová, J.; Abraham, B. and Cupáková, S. (2004): Occurrence of Escherichia coli O157 in raw material and food in Czech Republic. J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health 51, 77–81.
132- Macfaddin, J. F. (2000). Biochemical tests for Identification of medical bacteria. 3rd ed. Lippin Cott Williams and Wilkins. Philadelphia, USA.
133- Madigan, MT.; Martinko, JM. and Parker, J. Brock, (1997): biology of microorganisms. Upper Saddle River, NJ: Prentice hall.
134- Maity, TK.; Kumar, R. and Misra, AK. (2010): Prevalence of Enteropathogenic *Escherichia coli* Isolated from Chhana Based Indian Sweets in Relation to Public Health. Indian J Microbiol 50 (4): 463–467.
135- Malik, K. and Memona, H. (2010): (Molecular and Immunological Studies of pathogenic escherichia coli in meat samples collected from different localities of lahore) International Journal of Cell & Molecular Biology (IJCMB) Accepted on 8 November, 2010, Vol. 1 (3), pp 218-224.
136- Mangalassary, S.; Han, I.; Rieck, J.; Acton, J.; Jiang, X.; Sheldon, B. And Dawson, P.(2007): Effect Of Combining Nisin And/Or Lysozyme With In-Package Pasteurization On Thermal Inactivation Of

Listeria Monocytogenes In Ready-To-Eat Turkey Bologna. Journal Of Food Protection . 70(11): 25032511.

137- Marriott, NG. and Gravani, RB. (2006): Food Contamination Sources. In: Princ. Food Sanit. pp 76–82.

138- McKee, L. (2007): General attributes of fresh and frozen poultry meat. In: Nollet LML (Editor), Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality. 1st Edition, Iowa, USA: 429-437

139- McPherson, MJ. and Møller, SG. (2006): PCR. Taylor & Francis.

140- Milillo SR, Ricke SC. 2010. Synergistic reduction of Salmonella in a model raw chicken media using a combined thermal and acidified organic acid salt intervention treatment. J Food Sci 75:M121-M125.

141- Min, J. S.; Lee, S. O.; Jang, A.; Jo, C. and M. Lee. (2007): Control of Microorganisms and Reduction of Biogenic Amines in Chicken Breast and Thigh by Irradiation and Organic Acids. Poult Sci. 86: 20342041.

142- Mohamed Karmi, (2019): Food Hygiene Department, Faculty of Veterinary Medicine, Aswan University, 81528 Aswan, Egypt Zagazig Veterinary Journal, Faculty of Veterinary Medicine, Zagazig University, 44511, Egypt. Volume 47, Number 3, p. 259-266, September 2019 DOI: 10.21608/zvjz.2019.12922.1043.

143- Mohamed,A.; Hussein, A.A.; Merwad , M.T.; Elabbasy, I.I.A.; Sue lam, A M. Ab. Mohamed,A. and Taha et al Authors,(2018): Prevalence of Enterotoxigenic Staphylococcus aureus and Shiga Toxin Producing Escherichia coli in Fish in Egypt: Quality Parameters and Public Health Hazard. Publication: Vector-Borne and Zoonotic Diseases. https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2346.

144- Mohammad, A. Nossair, I, A.; Eman, K. and Samaha (2016): Camels' meat and offals as vehicles of E. coli and Salmonella with special emphasis on their zoonotic importance. International Food Safety Conference, Damanhur University.

145- Mostafa, MM.; Nassef, M. and Badr A. (2016): Computational determination of the effects of virulent *Escherichia coli* and salmonella bacteriophages on human gut. Computer methods and programs in biomedicine. Oct 31;135:27-35.

146- Mozhgan, B. and Mohammad, H. (2019): Jahandar Detection of *E. coli* O157:H7 in Meat Using Polymerase Chain Reaction Method and Culture Method Department of Agriculture, Bam Branch, Islamic Azad University, Bam, Iran Int J Basic Sci Med.;4(3):102-107.

147- Murphy, M.; Carroll, A.; Whyte, P.; OMahony, M.; Anderson, W.; Mcnamara, E. and Fanning, S.(2005): Prevalence and characterization of Escherichia coli O26 and O111in retail minced beef in Ireland. Foodborne Pathog DIS. 2(4):357-60.

148- Muto, T.; Matsumoto, Y. and Yamada, M. et al., (2008): Outbreaks of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 infections among children with animal contact at a dairy farm in Yokohama City, Japan. Jpn J Infect Dis 61 (2): 161–162.

149- Natrajan, N. and Sheldon, B.W. (1995): Evaluation of bacteriocin-based packaging and edible film delivery systems to reduce Salmonella in fresh poultry. Poult. Sci., 74 (Suppl): 1331- 1335.

150- Naugle, AL. Holt, KG. Levine, P. Eckel, R. (2005): Food Safety and Inspection Service regulatory testing program for *Escherichia coli* O157: H7 in raw ground beef. Journal of food protection. Mar;68(3):462-8.

151- Niculită, Z.(2013): Personality traits that foster ambulance workers' professional performance. Procedia-Social and Behavioral Sciences. 2013 May 13;78:385-9.

152- Nirmala, T. A.; Surendraraj, and P. K. Surendran (2005): Prevalence and Characterization of Typical and Atypical Escherichia coli from Fish Sold at Retail in Cochin, India) Central Institute of Fisheries Technology, Matsyapuri P.O., Cochin-682 029, India MS 04-586 - 20 May.

153- Nishi, J.; Sheikh, J. and Mizuguchi, K. et al., (2003): The Export of Coat Protein from Enteroaggregative *Escherichia coli* by a Specific ATP-binding Cassette Transporter System. J Biol Chem 278 (46): 45680–45689.

154- Nørrung, B.; Andersen, JK. and Buncic, S. (2009): Main Concerns of Pathogenic Microorganisms in Meat. Saf Meat Process Meat 3–29.

155- OIE, (2008): manual of Diagnostic tests and Vaccines for Terre strial Animals .

156- Oluwafunmilayo, A. A.; Anotu, M. D. ,Adedayo, O. F. and Paul, A. A. (2020): Characterization and Antibiotic Susceptibility of E.ColiO157:h7 in Meat and Fish Sold in Major Ibadan Markets, Nigeria Am. J.Biomed.Sci.,12(2),99 106;doi:10.5099/aj200200099.

157- Omori, Y.; Miake, K.; Nakamura, H.; Kage-Nakadai, E. and Nishikawa, Y. (2017): Influence of lactic acid and post-treatment

recovery time on the heat resistance of Listeria monocytogenes. Int J Food Microbiol 257:10-18.

158- Ouattara, B.; Smard, R.E.; Holley, R.A.; Piete G.J.P. and Begin A. (1996): Sensitivity of common meat spoilage bacteria to selected organic AIDS, fatty AIDS and essentials oils. In: Proceedings of 42nd ICoMST, 172-173.

159- Perry, N.; Jenkins, C.; Cheasty, T. and Wain, J. (2010): Diarrhoeagenic Escherichia coli from routine diagnostic faecal samples in England and Wales. J Med Microbiol 59 (7): 870–872.

160- Pfeiffer, RS. and Ulrich, GA. (2014): inventors; Transworld Technologies Inc., assignee. Chemical amendments for the stimulation of biogenic gas generation in deposits of carbonaceous material. United States patent US 8,770,282. Jul 8.

161- Pierson, M.D. and Smoot, L.A. (1982): Nitrite, nitrite alternatives, and the control of Clostridium botulinum in cured meats. CRC Crit. Reviews in Food Sci. and Nutr. 17:141-187.

162- Poolman, JT. (2017): *Escherichia coli*. In: Int. Encycl. Public Heal., Second Edi. Elsevier, pp 585–593.

Prevalence and Characterization of Typical and Atypical *Escherichia coli* from Fish Sold at Retail in Cochin, India

163- Pulmonary Edema,: (2014): Get the Facts on Treatment and Symptoms." MedicineNet. N.p., n.d. Web. 13 Dec.

164- Raczek, N. (2001): Protection for maturing cheese. Available at: www.nutrinova.com.

165- Raftari, F.; Azizi Jalilian, A.S.; Abdulamir, R.; Son, Z.; Sekawi and A.B. Fatimah,(2009): (Effect of Organic Acids on *Escherichia coli* O157:H7 and Staphylococcus aureus Contaminated Meat) The Open Microbiology Journal , 3, 121-127.

166- Rahimi, E.; Kazemeini, HR. and Salajegheh, M. (2012): Escherichia coli O157:H7/NM prevalence in raw beef, camel, sheep, goat, and water buffalo meat in Fars and Khuzestan provinces, Iran. Vet Res Forum Int Q J;3:15–17.

167- Rhoades, J.R.; Duffy, G. and Koutsoumanis, K.(2009): Prevalence and concentration of verocytotoxigenic Escherichia coli, Salmonella enterica and Listeria monocytogenes in the beef production chain: a review. Food Microbiol. 26(4):357-76.

168- Roasto, M.; Hörman, A. and Hänninen, M.L. (2012) 34 Food-borne Pathogens and Public Health. In: Ecol. Anim. Heal., 1st ed. Uppsala:

Baltic University Press, pp 271–282.
169- Roasto, M.; Hörman, A.and Hänninen, M-L (2012): 34 Food-borne Pathogens and Public Health. In: Ecol. Anim. Heal., 1st ed. Uppsala: Baltic University Press, pp 271–282.
170- Roy, AL. (2016): Reducing risk of foodborne illness in older adults: Interventions targeting at-home and foodservice handling behaviors. Iowa State University.
171- Rueda, S.; Vicente, M. and Mingorance, J. (2003): Concentration and assembly of the division ring proteins FtsZ, FtsA, and ZipA during the *Escherichia coli* cell cycle. Journal of bacteriology. Jun 1;185(11):3344-51.
172- Russell, JB. and Jarvis, GN. (2001): Practical mechanisms for interrupting the oral-fecal lifecycle of Escherichia coli. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology. Apr 1;3(2):265-72.
173- Saad, M.S.; Hassan, M.A.; Hassnien, F.S.; Abdel-Aal, M.M.; Zakar, A.H. and Elshfey, S.A. (2018): (Prevalence of Escherichia Coli in Fish Obtained from Retail Fish Markets in Gharbia Governorate, Egypt) BENHA Veterinary Medical Journal, Vol. 34, NO. 1:254-260, March.
174- Sallam, Kh.I. and Samejima, K. (2004): Microbiological and chemical quality of ground beef treated with sodium lactate and sodium chloride during refrigerated storage. Lebenson. Wiss. Technol. 37(8), 865-871.
175- Sallam, KI. (2007): Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control; 18: 566–575.
176- Sandvig, K.; Bergan, J. and Dyve, AB. *et al.* (2010): Endocytosis and retrograde transport of Shiga toxin. 56 (7): 1181–1185.
177- Scallan, E.; Hoekstra, RM. and Angulo, FJ. et al. (2011): Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens. Emerg Infect Dis: 17(1): 7–15. DOI: 10.3201/eid1701.p11101
178- Scheutz, F. and Strockbine, NA. (2005) Genus I. Escherichia Castellani and Chalmers 1919, 941T. In: Bergey's Man. Syst. Bacteriol. pp 607–624.
179- Shaker, M. O.; Omar, H. S. and Alsanjary, R. A. (2022): Isolation and identification of Escherichia coli O157:H7 isolated from Veal Meats and Butchers' Shops in Mosul city, Iraq) Journal of Applied Veterinary Sciences, 7 (4): 55-61 (October).

180- Shaltout, F. A.; Mohammed. I. Z. and El- Sayed A. A. (Detection of *E. coli* O157 and Salmonella species in some raw chicken meat cuts in Ismailia province, Egypt) Benha Veterinary Medical Journal39(2020)101-104.

181- Shaltout, F. A; Gerges, M. T. and Shewail, A. A (2014): mpact of organic acids and their salts on microbial quality and shelf life of beef meat Glob. J. Agric. Food Safety Sci., Vol.1 (2): pp. 360 – 370.

182- Shekarforoush, S.; Tahamtan, Y. and Pourbakhsh, A.(2008): Detection and frequency of Stx2 gene in *Escherichia coli* O157 and O157:H7 strains isolated from sheep carcasses in ShirazIran. Pak J Biol Sci. 11(8):1085-1092. doi:10.3923/ pjbs.2008.1085.1092.

183- Shelef, L.A. (1994): Antimicrobial effects of lactates: A review. J. Food Prot. 57, 5, 445-450.

184- Shen, J. Rump, L. and Ju W et al. (2015): Virulence characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from food, humans and animals. Food Microbiol 50 20–27.

185- Shimaa, S.; Sherif, S. M.; Fatin, S.; Hassanin and Marionett, Z. N.(2021): (Enteropathogenic *Escherichia coli* contaminating chicken meat cuts) Benha Veterinary Medical Journal 40 (2021) 99-102.

186- Singleton, P. (1999). Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine (5th ed.). Wiley. pp. 444–454. ISBN 0-471-98880-4.

187- Siobha´n, C.; Mccarthy, C.; M. Burgess, S.; Fanning, and Geraldine Duffy (2020): (An Overview of Shiga-Toxin Producing Escherichia coli Carriage and Prevalence in the Ovine Meat Production Chain)

188- Sofos J.N., and Busta F.F. (1980): Antimicrobial activity of sorbates. J. Food Prot. 44:614-622

189- Sofos J.N.; Branen, A.L. And Davidson, P.M.; (2005):Antimicrobials In Food, 3rd Edn., CRC Press, Boca Raton, FL. Pp: 12-17, 29, 68, 116,151, 460-469.ISBN: 08247-4037-8.

190- Sofos, J. (1989): Sorbate Food Preservative. Pgs .11-126,133-136. CRC Inc, Florida.

191- Sofos, J.N. and Busta, F.F. (1993): Sorbic acid and sorbates. In: Antimicrobials in Foods, R.L. Branen and P.M. Davidson (ed.), p. 49-94. Marcel Dekker, Inc., New York

192- Sofos, J.N.; Pierson, M.D.; Blocher, J.C. and Busta, F.F. (1986): Mode of action of sorbic acid on bacterial cells and spores. Int. J. Food Microbiol. 3:1-17.

193- Soomro, AH.; Arain, MA.; Khaskheli, M. and Bhutto, B. (2002): Isolation of *Escherichia Coli* from Raw Milk and Milk Products in Relation to Public Health Sold under Market Conditions at Tandojam, Pakistan. Pakistan J Nutr 1 (3): 151–152.

194- Stein, PE.; Boodhoo, A. and Tyrrell, GJ. et al. (1992) Crystal structure of the cell-binding B oligomer of verotoxin-1 from E. coli. Nature 355 (6362):748-50.

195- Stenutz, R.; Weintraub, A. and Widmalm, G. (2006): The structures of Escherichia coli O-polysaccharide antigens. FEMS microbiology reviews. Mar 21;30(3):382-403.

196- Stivarius M.R.; Pohlman F.W.; Mc Elyea K.S. and Apple J.K., (2002): The effect of acetic acid, glucomic acid and trisodium citrate treatment of beef trimmings on microbial, color and odor characteristics of ground beef through similitude retail display. Meat Sci. 60, 245-252.

197- Storage, L. V.; Antonia, d. S.; Witoon, P.; Joan, M.; King, H. K.; Joseph, D.; Bankston Jr., and Beilei, Ge.(2008): Effect of preservatives on microbial safety and quality of smoked blue catfish (Ictalurus furcatus) steaks during room-temperature Food Microbiology 25- 958–963.

198- Surekha, M., and Reddy, S. M. (2000): Preservatives. Classification and properties. In R. K. Robinson, C. A. Batt, & C. Patel (Eds.), Encyclopedia of food microbiology. New York: Academic Press. 1710–1717.

199- Taj, MK.; Samreen, Z.; Ling, JX.; Taj, I.; Hassani, TM. and Yunlin, W. (2014) *Escherichia coli* as a model organism. International Journal of Engineering Research and Science and Technology.;3(2):1-8.

200- Talaro. K.P and Chess. B .(2018). Foundations In Microbiology, McGraw Hill Education, New York.

201- Tan, W. and Shelef, L.A. (2002): Effects of sodium chloride and lactates on chemical and microbiological changes in refrigerated and frozen fresh ground pork. Meat Sci. 62, 27-32.

202- Tarawanh, K.A.; AL-Tawarh, N.M.; Abdel-Ghani, A.H.; AL Majali, A.M and Khleifat, KM.(2009): Characterization of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) isolates from faeces of small ruminants and environmental samples in southern Jordan.J Basic Microbiol.49(3):310-7.

203- Taylor, TM.; Doores SX. (2020). Organic acids. In Antimicrobials in food. Davidson PM, Taylor TM, David JRD (ed). CRC Press, Boca Raton, FL, USA. pp 133-190.

204- Tegegne, HA.; Berhanu, A.; Getachew, Y.; Serda, B.; Nölkes, D.; Tilahun, S. and Sibhat B. (2019): Microbiological safety and hygienic quality of camel meat in abattoirs and retail houses in Jijiga City, Ethiopia. J Infect Dev Ctries 13:188–194. doi: 10.3855/jidc.9686.

205- Thakur, B.R.; Singh, R.K. and Arya, S.S. (1994): Chemistry of sorbates-a basic perspective. Food Reviews Int. 10:71-91

206- Thakur, P.; Chawla, R.; Goel, R.; Arora , R. and Sharma, RK. (2013): In silico modeling for Identification of promising antimicrobials of Herbal origin against highly virulent pathogenic strains of bacteria like New Delhi Metallo-beta-lactamase-1 *Escherichia coli*. Int J Innov Appl Stud.;4(3):582-92.

207- Todar, K. (2007). Pathogenic *Escherichia coli* Online Textbook of Bacteriology, University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. Retrieved.

208- Tortora, G. (2010). Microbiology: An Introduction. San Francisco, CA: Benjamin Cummings. pp. 85–87, 161, 165.

209- Trabulsi, L.; Keller, R. and Tardelli, G. T. (2002): Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. Emerg Infect Dis 8 (5): 508–513.

210- Trček, J.; Mira, NP and Jarboe, LR. (2015). Adaptation and tolerance of bacteria against acetic acid. Appl Microbiol Biotechnol 99:6215-6229.

211- Tutenel, A.V.; Pierard, D.; Vanhoof. J.; Cornelis, M. and Dezutter, L.(2003): Isolation and molecular characterization of Escherichia coli o157 isolated from cattl, pigs and chickens at slaughter. Int J Food Microbiol, 15;84(1):63-9.

212- Uchman W.,(2001). Substancje dodatkowe w przetwórstwie mięsa [Additives in meat production]. Wyd. AR Poznań (in Polish)[

213- USDA. U.S. (2005): Dept. of Agriculture, Food Safety Inspection Service. Safe and suitable ingredients used in the production of meat and poultry products. 7120.1 Amend 5. United States Department of Agriculture. Food Safety Inspection Service, Washington, D.C. http://www.fsis.usda.gov/About_FS IS/labeling_&_consumer_protection /index.asp.

214- Vallance, BA. And Finlay, BB. (2000): Exploitation of host cells by enteropathogenic *Escherichia coli.* Proc Natl Acad Sci U S A 97 (16): 8799–8806.

215- Van, Den.; Beld, MJC. And Reubsaet, FAG. (2012): Differentiation between Shigella, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 31 (6): 899–904.

216- Vasut, RG.; Robeci, MD. (2009): Food Contamination With Psyhcrophilic Bacteria. Lucr Ştiinţifice Med Vet XLII (2): 325–330.

217- Vieira, N.; Bates, SJ. and Solberg, OD. et al., (2007): Isolated in a Remote Region of Northern Coastal. Am J Trop Med Hyg 76 (3): 528–533.

218- Viljanen, MK.; Peltola, T.; Kuistila, M.; Huovinen, P.; Junnila, SY. Olkkonen, L. and Järvinen H. (1990): Outbreak of diarrhoea due to Escherichia coli 0111: B4 in schoolchildren and adults: association of Vi antigen-like reactivity. The Lancet. Oct 6;336(8719):831-4.

219- Wagner, AB. (2008) Bacterial Food Poisoning. Texas Agric Ext Serv 1–6.

220- Wani, SA. and Nabi, A.and Fayaz I et al. (2006): Investigation of diarrhoeic faecal samples for enterotoxigenic, Shiga toxin-producing and typical or atypical enteropathogenic *Escherichia coli* in Kashmir, India. FEMS Microbiol Lett 261 (2): 238–244.

221- Warren, J. Dorsa; Catherine, N. Cutter, and Gregor, Y. R. (1997): Sirag USA Effects ofAcetic Acid, Lactic Acid and Trisodium Phosphate on the Microflora of Refrigerated Beef Carcass Surface Tissue Inoculated with *Escherichia coli* 0157:H7, Listeria innocua, and Clostridium sporogenest Journal of Food Protection, Vol. 60, No.6, 1997, Pages 619-624.

222- Weintraub, A., (2007): Enteroaggregative *Escherichia coli*: Epidemiology, virulence and detection. J Med Microbiol 56 (1): 4–8.

223- Weiss, SN., (2010): A Generalized Higher Order Kernel Energy Approximation Method. J Comput Chem 31(16):2889-99.

224- Welch, RA. (2006) The Genus *Escherichia coli*. In: Prokaryotes Prokaryotic Biol. Symbiotic Assoc. Springer New York, pp 60–71.

225- WHO (2015): World Health Organization estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. World Health Organization.

226- Yadav, MM.; Roy, A.; Sharda, R. and Arya, G. (2007) Detection of toxin genes and antibiogram pattern in Escherichia coli isolates from sheep meat on Indian market. Vet Arh 77 (6): 485–494.

227- Yousif, M.; Mohamed, I. G. B.; Lakshmi, H. S. And Habib, I. (A One Health Perspective on Camel Meat Hygiene and Zoonoses: Insights from a Decade of Research in the Middle East)Vet. Sci. 2024, 11(8), 344; https://doi.org/10.3390/vetsci11080344.

228- Yulistiani, R.; Praseptiangga, D. and Supyani, S. (2019): Occurrences of Salmonella spp. and Escherichia coli in chicken meat, intestinal contents and rinse water at slaughtering place from traditional market in Surabaya, Indonesia. IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering633, doi:10.1088/1757-899X/633/1/012007.

229- Zhou, F. Ji, B.; Zhang, H.; Jiang, H.; Yang, Z.; Li, J.; Li, J.; Ren, Y.and Yan, W. (2007). Synergistic effect of thymol and carvacrol combined with chelators and organic acids against Salmonella Typhimurium. J Food Prot 70:1704-1709.

230- Zhou, Z.; Nishikawa, Y.; Zhu, P.; Hong, S.; Hase, A.; Cheasty, T.; Smith, H.R.; Zheng, M.and Haruki, K. (2002): Isolation and characterization of Shiga toxin-producing Escherichia coli o157 isolated from beef, pork, and cattl fecal samples in Changchum, China. J Vet Med Sci, 64:1041-1044.

231- Ziem, à A J. O.; Plidikoua, A.; Passau, D. M. E.; Justice T. N N.; Djomo, C.; Mazarin A.; Etoa, F. X. and Koro, F. (2023): "Antimicrobial Resistance Pattern of Escherichia coli Strains Isolated from Meat and Fish Products Collected in Retail Market in Douala, Cameroon." American Journal of Microbiological Research, vol. 11, no. 4. 97105. doi: 10.12691/ajmr-11-4-2.

232- Zohreh, M. (2018): Prevalence and Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* O157:H7 Isolated from Raw Meat Samples of Ruminants and Poultry) Journal of Food and Nutrition Research, 2018, Vol. 6, No. 2, 96-102

233- Zweifel, C.and Stephan, R. (2003):Microbiological monitoring of sheep carcass contamination in three Swiss abattoirs. J Food Prot,66(6):946-52.

Syrian Arab Republic
Hama University
Faculty of Veterinary Medicine
Department of public Health and Preventive Medicine

Detection of Escherichia coli Producing Vero-Toxin in Red and White Meat and the Effect of some Preservatives on it

A thesis submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in Veterinary Medical Sciences specializing in Meat Hygiene and Technology

Candidate:

Vet. Ammar Haji Al-Ali

Scientific Supervisor:

Prof. Dr. Abdul Aziz Arwana

Co-Supervisor:

Dr. Ghiath Suleiman

1447-2025