Agricultural and Marine Sciences, 9(2):51-64 (2004)
©2004 Sultan Qaboos University

دراسة جرثومية على اللحوم المجمدة التي تباع في محافظة الطائف بالمملكة العربية السعودية

عبدالله الطلحي و منير البشعان

قسم الأحياء – كلية العلوم – جامعة الطائف

فرع الطائف – المملكة العربية السعودية

ص.ب: ٥٧٠٠

Bacteriological Study of Frozen Meat in Taif Governorate in Saudi Arabia

A. Altalhi* and M. Albashan

ABSTRACT: This study was carried out on 125 random samples of frozen meat collected aseptically from different shops and supermarkets distributed in Taif governorate. All samples were subjected to bacteriological examination for aerobic plate counts of Enterobacteriaceae, *Staphylococcus aureus*, and Lactobacillaceae, and for isolation and identification the strains isolated bacteriologically. The aerobic plate counts ranged from $3 \times 10^4$to 107 cfu.g^{-1}. The counts for Enterobacteriaceae, *Staphylococcus aureus*, and Lactobacillaceae were ($5 \times 10^2$to 2×10^6 cfu.g^{-1}), ($6 \times 10^3$to 10^6cfu.g^{-1}), ($6 \times 10^3$to 3×10^6cfu.g^{-1}), respectively. The bacterial counts of frozen chicken meat ranged from (3×10^5) to 20×10^5/cm^{-2}. The number of strains isolated from frozen meat samples were 167, 67, 79, 76, and 87 for mutton, camel meats, imported beef, local chicken meats and imported chicken meat respectively. The percentages of bacterial isolates from frozen mutton were higher than those from frozen camel meat and beef. The frequency of isolation of different bacterial strains from imported frozen chicken meat was higher than that from local frozen chicken meat.

خلاصة: جمعت من محلات اللحوم والأسواق المركزية في مدينة الطائف ، وبشكل عشوائي ، مقدار (١٢٥) عينة لحم مجمدة وذلك بعد تطبيق الإجراءات التطهيرية والتعقيمية الممكنة ، بحيث أخذت (٢٥) عينة لحم من كل من اللحوم المجمدة الآتية: لحوم إبل ، لحوم أبقار مستوردة ، لحوم أغنام مستوردة ، لحوم دجاج محلية ، لحوم دجاج مستوردة ، وذلك بصرف النظر عن عمر الحيوانات والطيور التي أخذت منها العينات .اختبرت العينات من أجل : تقدير التعداد الكلي للأحياء المجهرية الهوائية في أطباق الزرع الجرثومي (aerobic plate counts) وهي الأمعائيات (Enterobacteriaceae) ، المكورات العنقودية الذهبية (Staphylococcusaureus)، والملبنات (Lactobacillaceae) و من أجل عزل وتعيين هوية بعض الجراثيم الأخرى في اللحوم المختبرة وتصنيفها بالطرق الأحيائية المجهرية المعروفة. لقد تراوحت تعدادات الأحياء المجهرية الهوائية من (٣×١٠^{٤}) إلى ١٠^{٧} / غرام لحم مجمد مختبر ، وكانت تعدادات الأمعائيات من ٥×١٠^{٢} وحتى ٢× ١٠^{٦} / غرام لحم ، بينما كانت المكورات العنقودية الذهبية بتعداد من ٦×١٠^{٢} إلى ١٠ ^{٦} /غرام لحم مجمد مختبر أيضاً . أما الملبنات فكانت تعداداتها من ٦×١٠^{٢} إلى ٣×١٠^{٦} /غرام لحم مجمد مختبر كذلك. وكانت تعدادات الاحياء المجهرية العامة في لحوم الدجاج المجمدة من ٣×١٠^{٢}/^{٣} إلى ٢٠ × ١٠^{٥}/^{٣} . ومن خلال استعراض نتائج الإختبارات الجرثومية التي أجريت على جميع عينات لحوم الحيوانات ، تبين أن أعلى نسبة عزل جرثومي؛ كان من اللحوم الغنمية المجمدة المستوردة ، وأن أدنى نسبة عزل جرثومي كان من لحوم الإبل المجمدة المحلية ، في حين كانت نسبة العزل الجرثومي من عينات لحوم الأبقار المستوردة المجمدة وسطاً بين النسبتين السابقتين. وكذلك تبين أن عدد الذراري الجرثومية المعزولة من عينات لحوم الدجاج المجمدة المستوردة ؛ كان أعلى من عدد الذراري الجرثومية المعزولة من عينات لحوم الدجاج المجمدة المحلية .

الكلمات المفتاحيه: اللحوم المجمدة، التلوث البكتيري للحوم المجمده، لحوم الدجاج المجمده، لحوم الأغنام والأبقار والإبل المجمده.

* سرد الأبحاث السابقة Review of Literature

تحتوي النسج العضلية للحيوانات على عدد محدد من الجراثيم ، ولكن السطوح المقطوعة من اللحم ، وكذلك السطوح المعرضة للهواء تصبح أكثر تأثراً من غيرها بالجراثيم بكثير. إن الجراثيم التي يمكن أن تتواجد وتتغلغل في اللحم هي المكيرات *(Micrococci* و *Acinetobacter)* والموراكسيلة (Moraxella) والزوائف *(Pseudomonas)*

*Corresponding author.

والجرثومة المجهرية (*Microbacterium*) والعنقودية (*Staphylococcus*) والملبنة (*Lactobacillus*) والعقدية (*Streptococcus*) والسالمونيلة (*Salmonella*) . (Harrigan and McCance , 1976)

إن طرق حفظ اللحوم في المنزل ، تقوم على تبريد اللحم فوراً وبشكل سريع إلى درجات حرارة تقارب درجة التجميد والتبريد، وكذلك وضع تلك اللحوم في درجة حرارة أعلى بشكل طفيف من درجة التجميد . وعليه فإن الطريقة الأسرع والأكثر تطبيقاً هي تبريد اللحوم إلى درجة حرارة تقلل من فرصة نمو الأحياء المجهرية الألفية الإعتدال (Mesophilic microorganisms). وقد وجد أن الأحياء المجهرية التي تسبب مشاكل في حالة خزن اللحوم بالتبريد هي الجراثيم القريّة (Psychrotrophic bacteria) وبشكل رئيسي تلك الجراثيم التي من جنس الزوائف والجراثيم من أجناس : المقلية (Alcaligenes) والمكيرة (Micrococcus) والملبنة والعقدية وليوكونوستوك (Leuconostoc) وبيديوكوكس (Pediococcus) وفلافو باكتريوم (Flavobacteriu) والمتقلبة (Proteus) (Frazier and Westhoff ,1978)

إن معظم اللحوم التي تباع في محلات بيع اللحوم العامة ، أو الأسواق المركزية في المدن تكون عادة غير مجمدة ؛ ولكن التجميد كطريقة من طرق خزن اللحوم ؛ يستخدم في أغلب الأحوال لحفظ اللحوم خلال عمليات شحن أو نقل اللحوم عبر مسافات طويلة جداً إلى مدن أو بلدان نائية ؛ كما يستخدم التجميد للحوم من أجل حفظها بواسطة (المجمدات) في المنازل والمستودعات . ولقد تبين أن حفظ اللحوم المجمدة يكون مفيداً وفعالاً عندما تكون درجات حرارة الخزن أو الحفظ متدنية عن درجة (-٢. ١٢) وإلى حوالي (- ٢٨,٩) درجة مئوية.

هذا وتتعرض اللحوم المعدة للتجميد إلى المخاطر ذاتها من ناحية التلوث و نمو الأحياء المجهرية. ولقد ثبت فعلياً أن عملية التجميد تقتل حوالي نصف الجراثيم كما تتناقص أعداد الجراثيم ببطء أثناء التخزين. ومع ذلك فإن الجراثيم المتحملة درجات الحرارة المنخفضة تستطيع النمو على اللحم أثناء التبريد ومن أمثلتها: الزائفة والمقلية (*Alcaligenes*) والمكيرة والملبنة *وفلافوباكتريوم* والمتقلبة ، وهذه الجراثيم يمكن أن تعود إلى النمو من جديد وتتابع نشاطها أثناء إذابة اللحم ببطء إذا كان مجمداً لغرض تجهيزه للأكل وعلى هذا فإن اتباع تعليمات حفظ وتعبئة اللحوم بالتبريد السريع أو تذويب اللحوم المجمدة بالتذويب السريع جدا هو من الإجراءات الهامة و المفيدة في حفظ اللحوم ومنع تلوثها؛ و لتلافي حصول نمو الأحياء المجهرية المسببة لفساد اللحوم ذاتها (Frazier and Westhoff, 1978) . على أن من أهم الجراثيم التي يمكن أن تلوث اللحوم هي الجراثيم القريّة الغذائية (Psychrotrophicbacteria) التي قد تأتي من مصادر مختلفة من الأغذية وحتى من اللحوم الأخرى؛ ويمكن أن توجد في اللحوم عند خزنها بالتبريد ولهذا تكتشف أثناء إجراء الاختبارات الإحيائية المجهرية عليها. ولذا فمن المحتمل أن تكون الجراثيم أو الأحياء المجهرية التي قد تعزل من اللحوم المجمدة آتية من البيئة التي كانت موجودة فيها أصلا على اختلاف مكوناتها أو من الناس الذين قاموا بتقطيعها وتغليفها وتجميدها. وتعتبر جراثيم حمض اللاكتيك (lactic-acid-bacteria) من بين تلك الأحياء المجهرية وإن كانت تشكل نسبة صغيرة من عدد الجراثيم الطبيعية التي تنمو على اللحوم الطازجة و اللحوم المقددة أو المملحة المخزونة في شروط وظروف هوائية وهي من الجراثيم الملوثة للحوم المجمدة ذات القدرة على النمو في درجات الحرارة المخفضة (١ درجة مئوية في بعض الحالات) وفي تركيزات عالية من كلوريد الصوديوم (١٠%) كما يمكن التأثير التثبيطي لثاني أكسيد الكربون من نموها بحيث تتكاثر و تتضاعف في اللحوم المعبأة المعينة أو بعض اللحوم المعلبة واللحوم المتراصة فوق بعضها وكذلك في منتجات اللحوم (Rose,1983) .

وفي مجال لحوم الدواجن ؛ يشير (Sharf,1966) إلى أن الطيور التي لم تبرد على نحو صحيح وملائم بعد ذبحها ونزع ريشها وتجويفها وتنظيفها من أحشائها ووضعها في درجة حرارة الغرفة لبضع ساعات فقط قبل نقلها إلى الثلاجة أو البراد كي تتعرض لدرجة حرارة التبريد الكافية ؛ سوف يرتفع تعداد الأحياء المجهرية فيها سريعا.

إن الهدف الأساسي من حفظ الغذاء بالتجميد هو تعويق نمو الأحياء المجهرية إلى مرحلة لا يحدث فيها التفكك والتحلل والتعفن بواسطة الأحياء المجهرية (Wyborn and Mottingham,1975) والوكالة الدولية حول مواصفات الأغذية من الناحية الأحيائية المجهرية (ICMSF,1978). ويذكر (El-Nawawai and Yassin ,1992) إن الأحياء المجهرية السلبية الغرام هي الأحياء المجهرية الأكثر حساسية للبرد والسريعة التأثر به وبشكل أكبر من الأحياء المجهرية الإيجابية الغرام (Rose,1968) . و يعتمد حفظ اللحوم كليا على التصحاح الجيد من جهة وعلى التبريد الكافي للحم من جهة أخرى ؛ واستناداً لتلك القاعدة العلمية في حفظ اللحوم وتخزينها ؛ فإنه لحفظ اللحوم التي لا ينوى تعليبها ؛ ينبغي معرفة النبيت الأحيائي المجهري الرئيسي بشكل عام

، و التركيز في عملية الحفظ هذه على تلافي تلوث اللحوم بالأحياء المجهرية التي تكون قادرة على النمو في درجات حرارة التبريد. ولزيادة تأثير درجة التبريد في اللحم المحفوظ ، يمكن تقسيم لحوم الذبائح الطازجة إلى أجزاء صغيرة أو قطع أو يمكن فرمها (Sharf, 1966). لقد أستنتج (Christophersen,1968) بأن نمو الأحياء المجهرية لا يحدث البتة في الأغذية المجمدة المحفوظة بدرجة حرارة أدنى من (-١٠ درجة مئوية) ؛ وهذا ما يؤكد أن حفظ اللحوم على وجه التحديد في درجة حرارة منخفضة أو بالتجميد؛ هو إجراء مثالي لمنع نمو وتكاثر ونشاط الجراثيم وغيرها من الأحياء المجهرية ، بل وإهلاك أعداد كبيرة منها إبان تلك الفترة. أن هناك الكثير من الأحياء المجهرية التي تنتقل للإنسان من البيئة المحيطة به بكل عناصرها, ومن أهمها : السلمونيلة والسراتية (Serratia) واليرسنية (Yersinia) والستروباكتير (Citrobacter) والإدواردسيلة (Edwardsiella) والأمعائية (Emterobacter) والإشريكية والحفنية الألفية (Hafnia-Alvei) والكلبسيلة (Klebsiella) والمونتليريلة (Moellerella) والمتقلبة والبروفايدينسيا والعنقودية الذهبية (Staphylococcus-aureus)، والعقدة المقيحة (sreptococcuspyogenes) والعقدية اللبنية (Streptococcuagalactiae)، والعقدية البرازية (Strep.-Faecalis) والموراكسيلة واسينيتو باكتير, والزائفة الزنجارية (Pseudomonas-aeruginosa) *والفلافوباكتريوم* والمقلية . واعتمادا على ما ذكرته الجمعية الأمريكية للمختصين بالمرضيات التي تتعلق بالطيور (Avianpathologists) من أن الدواجن قد تكون مصدرا للإصابة *بالسلمونيلة أو بالعقدية* البرازية (Strep Faecalis) أو بالعقدية *فيسيوم* (Strep-Faecium) *أو بالإريكتية* القولونية *(E.coli)* وغيرها من المسببات الممرضية (American Association of Avian Pathologists,1980) . في مجال بعض الأمراض التي تحدثها بعض الممرضات الأحيائية المجهرية، وضح (Archer and Young ,1988)، وكذلك (Chalker and Blaser 1988) أن جراثيم *السلمونيلة* هي المسببات الرئيسية والهامة للتسمم الغذائي في جميع أنحاء العالم ولذا فإن لها مخاطر كثيرة على الصحة العامة وعليه فإن دراسة أنواع *السلمونيلة* يمكن أن يساعد في التعرف على المصادر المحتملة للتلوث وتعقب انتشارها في الأغذية (Radu *et al.*,2001) . وقد ذكر بعض الباحثين أمثال (Radu *et al.*, 2001) و(Rusul *et al.*, 1996.) أن *السلمونيلة* وبلتفيريدين (Salmonella ; weltevereden) يمكن أن تعزل من لحوم الدواجن المغسولة ؛ وبخاصة وأن (Radu *et al.*, 2001) قد عزلوا عشرة ذراري من تلك السلمونيلة وذلك من بين (٢٠٧) طيراً ذبحت وسلخت في المسالخ وبنسبة ٤,٨%. كما أن (Rusul *et al.*, 1996.) قد أكدوا انتشار السلمونيلة في الفروج الذي يباع في الأسواق وفي المزارع ، مما يشير إلى خطورة هذه الجراثيم.

وكان الباحث (Yassien, 1985) قد استخلص السلمونيلة التيفية الفأرية (S.typhimurium) و السلمونيلة الملهبة للأمعاء (S.enteritidis) والسلمونيلة نيوبورت (S.newport) والسلمونيلة سينت باول (S.saintpaul) والسلمونيلة سان دياغو (S.San-diago) من ذبائح الجمال الصحيحة والسليمة على نحو ظاهري. أما (Hamdy *et al.*, 1989) فقد عزلوا اليرسنية المعوية القولونية (Yersinia enterocolitica) من نسبة ٨% من أسطح لحوم الجمال التي ذبحت في مسالخ مصر. وفي بحث آخر عزل (Mathieu et al., 1992) من لحم البقر الطازج العنقودية الذهبية وكان عدد العزولات ١٩٠ عزولة (٨٧,٤%), وذلك من الأبقار المرباة في زائير, وكانت من نمط العنقودية الذهبية إيكوفار (S.aureus ecovar). ومن ذبائح الحملان التي ذبحت حديثاً لتباع في الأسواق في اسبانيا, عزل (Sierra *et al.*, 1995) مجموعات من المكورات (Cocci) الإيجابية الغرام وقاموا بتصنيفها ؛ وأوضحوا أن ما يساعد على فساد اللحم هو النشاط القوي الحال للشحم (lipolytic activity) ونمو الجراثيم اللاهوائية وتحمل اللحم لنسبة ١٥% (وزن / حجم) من كلوريد الصوديوم وقدرة تلك الجراثيم على النمو بدرجة ١٥ درجة مئوية وفي الدرجة ٤ مئوية .

مواد وطرائق البحث

المنابت:

استخدم لأغراض الزرع الجرثومي المنابت التالية:

١- غراء (أغار) مكونكي (MacConkey Agar).

٢- غراء (أغار) مكونكي من نوع (MacConkey Agar No.3)

٣- غراء زيلوز- ليزين- ديوكسي كولات (Xylose – Lysine Deoxycholate Agar)

٤ - غراء منيتول الملحي (Mannitol Salt Agar) .

٥ - غراء نقيع الدماغ والقلب (Brain Heart Infusion Agar)

٦- أساس الغراء الدموي من نوع (Blood Agar Base No.2) مع ٧% من الدم المعقم.

٧- أساس غراء الدم.

٨- الغراء المغذي.

٩- أساس غذاء بيرد باركر مع مستحلب صفار (مح) البيض (FD045) و ٣ مل من محلول تلوريت البوتاسيوم ٣,٥% المعقم (FD047) أو ٥٠ مل من مستحلب صفار البيض و التلوريت(FD046) ؛ أو مكمل سلفاوي (FD069).

١٠- أساس غراء البوريا (كريستنسن).

١١- المنابت العادية التي تستخدم في المختبرات الجرثومية مثل: منبت الهلام ومنبت ماء الببتون ومنبت المرق الزرعي (Nutrient Broth) وغيرها من المنابت الهامة المستخدمة في الاختبارات الكيميائية الجرثومية.

١٢- أساس مرق السيليـنيت الزرعي (Selenite Broth Base)

أمصال ضدية (Antisera):

وقد استخدمت لإثبات جنس بعض الجراثيم التي عزلت . وفيما يتعلق بالإجراءات الأحيائية المجهرية العامة المتبعة في الاختبارات ؛ من تهيئة لعينات اللحم وإعدادها للفحوص المختبرية, وطرائق زرع وعزل وتصنيف الأحياء المجهرية التي قد توجد في تلك العينات فقد استند في ذلك على الطرائق التي ينصح بها كل من (Frankel *et al*, 1970 و Blazevic and Ederer, 1975 و Collins and Lyne, 1976 و Finegold and Baron 1986 Skinner and Lovelock, 1979) وبالنسبة للحوم الدجاج المجمدة على وجه التحديد اعتمد في زرع وعزل وتصنيف الأحياء المجهرية التي توجد فيها إضافة لما نصح به وذكره الباحثون السابق ذكرهم على الطرائق التي أوصت بها الجمعية الأمريكية للمختصين بمرضيات الطيور (American Association of Avian Pathologists, 1980).

العينات:

جمعت من محلات اللحوم والأسواق المركزية ومحلات ذبح الدجاج وبيعه في مدينة الطائف؛ وبشكل عشوائي . لقد تم جمع مجموعه (١٢٥) عينة لحم مجمدة من مختلف الحيوانات والدجاج؛ وذلك بعد تطبيق الإجراءات التطهيرية والتعقيمية الممكنة, وفي ظروف تصحاح مقبولة؛ حيث أخذت (٢٥) عينة لحم من كل من اللحوم الآتية المجمدة: لحوم ابل و لحوم أبقار مستوردة و لحوم أغنام مستوردة و لحوم دجاج محلية و لحوم دجاج مستوردة وذلك بصرف النظر عن عمر الحيوانات والطيور التي أخذت منها العينات ؛ وروعي أن تحضر تلك العينات لمختبر الأحياء المجهرية مباشرة بعد جمعها على وجه السرعة ، حيث نقلت بحافظ غذائي يحتوي على ثلج. وقد جهزت العينات من أجل تقدير التعدادات الكلية للأحياء المجهرية الهوائية في أطباق الزرع الجرثومي الأمعائيات؛ المكورات العنقودية الذهبية والملبنات على وجه الخصوص وأحياء مجهرية أخرى يمكن أن توجد في عينات اللحم المجمدة الخاضعة للاختبارات الأحيائية المجهرية المختلفة.

كما هيئت تلك العينات من اجل كشف وعزل وتعيين هوية مجموعات الأحيائية المجهرية التي تتواجد فيها وكذلك تصنيفها بالطرائق الأحيائية المجهرية العامة المعروفة وببعض الأمصال الضدية المتوافرة في المختبر. وقد استند في تهيئة وإعداد ومعاملة العينات وطرائق اختبارها ميكروبيولوجيا؛ من جهة تقدير التعدادات الكلية للأحياء المجهرية التي فيها؛ ومن ناحية كشف وعزل وتعيين هويتها وتصنيفها إضافة إلى ما ذكرنا من مصادر البحث في هذا الموضوع على ما بينه ووضحه كل من: (Sharf , 1966 و Collins and Lyne, 1976 و and McCance, Harrigan 1976 و Frazier and Westhoff, 1978).

وقد روعي قبل تحضير العينات للفحوص المختلفة تجنب حصول أي تلوث أو تغير في نسيجها. وقد أخذت بعض العينات باستعمال سكاكين ومشارط وملاقط معقمة و للحصول على نتائج معبرة عن الحالة الميكروبيولوجية للحوم المفحوصة وضعت العينات المختلفة حسب نوع كل حيوان تتبع له في أكياس لدينة معقمة ونقلت للمختبر بسرعة حيث أجريت عليها الاختبارات الأحيائية المجهرية المطلوبة علماً أنه أبقي على حالة العينات المجمدة بحالة صلبة لحين فحصها أثناء عملية نقلها للمختبر.

ولكي تكون العينات مناسبة للاختبار؛ أخذت العينات السطحية بملوق (spatula) أو بسكين ذات نصل عريض؛ وفي كثير من الحالات تم أخذ مقدار ١١ غراما من اللحم المعروض للبيع وذلك من مواضع مختلفة على السطح باستعمال مشرط معقم وملاقط معقمة. وهنا أجري كشط الأجزاء الرقيقة نسبيا (لا تتجاوز ٢ مم في الثخانة) من سطح اللحوم المأخوذ منها العينات عندما استعملت الطريقة الأخيرة.

كذلك أخذت العينات الداخلية من الأجزاء الصلبة للحم بتعقيم السطح بالسفع (searing) أو بتطهير سطح اللحم بأي مادة قوية مبيدة للجراثيم كصبغة اليود وبعدئذ قطعت العينات إلى قطع

صـــغيرة بسكين معقمة أو مشرط معقم . على أننا أ خذنا في كثـير من الحالات عينات لحم يبدو عليها النتن أو الفساد أو ظاهر عليها التغير اللوني في سطحها وكل ذلك لعمل مقارنة بينها وبين السليمه من الناحية الميكروبيولوجية.

الاختبارات التمهيدية للحوم:

أجري فحص مجهري مباشر لتحديدالحالة الأحيائية المجهرية للحم مبدئـيا وذلك بصبغ لطاخات على الشرائح من جميع العينات بملـون غرام (Gram stain) كما هو موضح في الفقرة التالية تبعا لما ينصح به (Sharf, 1966).

خطوات الفحص

١- حضرت لطاخة لشريحة مجهرية بنقل ٠,٠١ مل من التخفـيف ١٠:١ (يرجع إلى فقرة الإختبارات الأساسية للحوم) على الشريحة بممص بريد ثم نشرت على مساحة مقدارها ١سم٢ .

٢-عمل تلوين غرام للطاخة ؛ وإذا كانت العينة ذات محتوى دهني عـال كـان يجرى شـطف للطاخة المثبتة على الشريحة بالزيلول (Xylol) قبل التلوين .

٣- فحصـت الشـريحة مجهـرياً وعُد ١٠٠ حقلاً (مساحة) فيها وسُـجل نمط وتعداد الأحياء المجهرية المشاهدة في كل غرام من اللحم . وقد كان يتم هذا العمل على التخفيفات المعمولة في الأنابيب بحسب تسلسلها. وفي حالات كثيرة كان يجرى عمل لطاخـات علـى الشرائح ثم تستحلب في الماء المقطر ويُعمل لطاخات من المســتحلب ذاته وتصبغ كما ذكر في الأعلى .

وقـــد تـــم تحـقـيق نـتائج أفضل بإجراء الفحوص الزرعـــية الاختيارية (detailed cultural examinations) من خلال أخذ عينات سطـــحية من اللحوم وعمل مسحات رقيقة جـداً علـى الشـــرائح باستعمال مشارط وملاقط معقمة . كما أجـري اختبار آخر للحم بأخذ عينات من الأجزاء العميقة منه (١١ غـرام مـن مـناطق مختلفة عميقة) وحلها بالنقع ، والتخفـيف بمخفـف ثـم صـب المـزيج في الطبق من أجل الزرع الهوائي واللاهوائـي حيـث عُبر عن التعدادات وتفسيرها من معرفة عدد المسـتعمرات بكـل غـرام مـن النسيج . وفي هذه الحالة أخذت التعدادات بالترتيب وسُجلت التعدادات التي أقل من ١٠,٠٠٠ بكل غـرام للمسـتعمرات الجرثومية النامية في الطبق الزراعي. كما أجـري كاختـبار تمهيدي للعينة استخدام طريقة ضغط الشريحة المجهـرية المعقمة على سطح اللحم وفحصها ثم يتم وضعها في ٣٠ مـل من المخفف الحاوي على ٠,١% من التـوين ٨٠ (Tween 80) وحضنـها بدرجة ٤٠ درجة مئوية بعد غسل الشريحة بوضعها فـي المخفف وهزها كي يتم غسل جمـيع الكائنات المجهرية منها . وقـــد قـدرت التعـدادات كما يلـي: التعـدادات العيوشة (القابلة للحـياة والـنمو) بكل بوصة مربعة = تعداد المستعمرات في طبق الزرع بكل مل ×١٠ .

الاختبارات الأساسية للحوم :

حُضرت أو هيئت العينة بإحدى الطريقتين التاليتين :

أ- أضـيف ٢٥ غرام من كل عينة إلى ٢٢٥ مل ماء الببتون ٠,١% المعقـم ، في مُولف (مازج أو مجانس) معقم . ثم مُزجت وجُونست العينة لمدة ٣ دقائق بسرعة عالية . وبعد ذلك عُملت تمديدات أو تخفـــيفات سلســليه تبدأ من ١٠ إلى ١٠$^{-٧}$ وبعدئذ أنجـــزت التحالـيل الخاصـــة بالأحياء المجهرية أي تلقيح (Inoculation) أوســاط الــزرع الجرثومي وإجراء الصب في أطباق الزرع بإضافة التخفيفات المختلفة في الآغار .

ب- وُضـــع مقدار ١٠ غرام من العينة في وعاء معقم وأضيفت علية كمـية ٩٠ مل من المخفف (توين ٨٠% أو ماء الببتون الدكستروزي ٠,١% المعقـم) . ثـم جُونسـت العينة تماماً وعملت منها تخفيفات سلســليه عشارية وهكذا احتوت العينة على قواسم تامة مخففة مـــن عيـــنة اللحـــم المختـــبر . وبذلك حُصل على ما يلي من التخفـيفات السلسلية العشارية (١٠ غرام من اللحم +٩٠ مل من ٠,١% محلول الببتون في الماء) في الأنابيب :

	الأنبوب			
	الأول	الثاني	الثالث	الرابع
التخفيف	١٠:١	١٠٠:١	١٠٠٠:١	١٠٠٠٠:١
١٠مل تحتوي (غرام)	١	٠,١	٠,٠١	٠,٠٠١
١ مل تحتوي (غرام)	٠,١	٠,٠١	٠,٠٠١	٠,٠٠٠١

وفـي كثـير مـن الأحيان تم مجانسة عينة اللحم الخاضعة للاختبار بإضافة ٢٠ غرام من الرمل المعقم الخشن . أما بشأن إجـراء التعدادات الجرثومية فقد صُبت التخفيفات المذكورة في أطـباق الزرع الجرثومي على الآغار وعمل الزرع الجرثومي على المنابت التي ذكرت سابقاً أيضاً.

الإختبارات الجرثومية الخاصة بتعداد المستعمرات العيوشة الكلية (Total Counts):

أ- أجريت التعدادات العامة للمستعمرات (بعد نقل كمية من تخفيفات الأنابيب المشار إليها سابقاً إلى أطباق بتري الحاوية على الآغار . حيث حضنت العلب (أطباق بتري) في درجات ٥ و ٢٥ و ٣٧ مئوية لمدة ٧ أيام و ٣ أيام و يومان على التوالي .

ب- أجري تعداد المستعمرات النامية في الأطباق (أطباق الآغار) وسجلت النتائج؛ أي تعدادات المستعمرات الجرثومية الكلية في كل غرام من اللحم ، وكانت كما يلي :

١- تعداد الجراثيم الهوائية على الطبق (Aerobic plate count)

استخدام الآغار في الطبق لإجراء التعداد القياسي للجراثيم الهوائية ، وذلك وفقاً لما وصف من قبل (A.P.H.A , 1972) .

٢- تعداد الجراثيم العنقودية الإيجابية للمخثرة
(Coagulase Positive Staphylococci Enumeration)

وقد أجري بطريقة الصب السطحي على الطبق كما يلي : نقل مقدار ٠,١ مل من كل من التخفيفات المحضرة مسبقاً ، ونشر بالتساوي وبهدوء فوق السطح الجاف لوسط بيرد باركر في الأطباق . بعدها حضنت الأطباق الملقحة بدرجة ٣٧ مئوية لمدة ٤٨ ساعة . ثم عدت المستعمرات المشتبه بها (المستعمرات السوداء والصافية) ؛ التي يكون قطرها أكبر من (١ مم) والتي تظهر عتامة هالية واضحة حول أو أسفل المستعمرات . إن العدد الممثل للمستعمرات المشتبه بها قد زيد وذلك بإنماء وزرع عدد من المستعمرات على الآغار المائل في الأنابيب وذلك لإجراء اختبار المخثرة وذلك وفقاً لما بيّنهُ (Cruickshank *et al.*, 1975) .

٣- تعداد القولونيات :

(Coliforms Counts) أجري باستخدام طريقة الصب في الأطباق وباستعمال آغار الصفراء مع البنفسجية الحمراء ، وهنا جرى تلقيح الأطباق من المخفف الحاوي على ٠,١ – ٠,٥ غرام من اللحم مع ١٠ – ١٥ مل من التربتون (Tryptone) أو المرق المغذي الزرعي المشابه الذي يحتوي على ٠,٥ % صفراء. حضنت الأطباق في درجة ٤٤ درجة مئوية لليوم التالي . ومن المرق المغذي المستخدم ذاته عمل اختبار لإكتشاف إطلاق غاز الإندول . حيث أن إطلاق غاز الإندول يعد دليلاً افتراضياً أو احتمالياً على وجود الإشريكية القولونية . كذلك صب من تلك المزارع على وسط مكونكي أو آغار مشابه يستخدم لإنماء القولونيات . كذلك أجري في بعض الحالات التي كانت فيها أعداد القولولنيات قليلة التعداد المتعدد في الأنابيب ، وكل ذلك تم إجراؤه وفقاً لما يوصي به (Collins and Lyne, 1976) .

٤- تعداد لأمعائيات (Enterobacteriaceae count) :

وضع على الطبق الزرعي (٠,١%) مل من كل تخفيف حيث استخدم مستنبت آغار الصفراء مع البنفسجية الحمراء؛ وفقا لما نصح به (Collins and Lyne, 1976) وحضنت الأطباق بعد ذلك في درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية لمدة ١٨-٢٤ ساعة. جرى بعد ذلك تعداد جميع المستعمرات الحمراء المسترجنة (الضاربة إلى اللون الأرجواني) المحاطة بمنطقة حمراء من حموض الصفراء المترسبة وأجريت الإختبارات الكيميائية الحيوية على المستعمرات المعزولة وفقا لما ينصح به (Edward and Ewing, 1972).

وقد استخدمت الأوساط الإنتقائية الجامدة في مجال زرع وتعداد الأمعائيات؛ ولهذا الغرض استخدم غراء زيلوز ليزين مع الكولات المنزوعة الأكسجين لـ تايلور (Deoxycholate (XLD) Agar Taylor's Xylose) حيث تم تخطيط ملء غانة من التخفيفات المعمولة على أطباق الآغار السابقة. حضنت الأطباق بعد ذلك لمدة ٢٤ و ٤٨ ساعة بدرجة ٣٧ درجة مئوية وفحصت لاستبيان وجود أو عدم وجود المستعمرات النموذجية. هذا وقد استخدم الوسط السابق الذكر أيضاً لتحديد مستعمرات الجراثيم من أنواع السلمونيلة والشيغلة والزائفة والمتقلبة حيث ينبغي أن تكون مستعمرات السلمونيلة (بما في ذلك *سلمونيلة اريزونا S.Arizonae*) على غراء تايلور (Taylor's XLD) على نحو نموذجي وردية حمراء ذات مراكز سوداء في حين يجب أن تكون مستعمرات الشيغلة حمراء (ورديـة) ومنتظمة بشكل نموذجي . أما ذراري الزائفة والمتقلبة أيضاً فتكون بشكل مستعمرات حمراء (وردية) منتظمة على نحو متماثل على المنبت ذاته.

٥- اكتشاف الأحياء المجهرية المعروفة بالسلمونيلة والشيغلة:
(Salmonella and Shigella)

لقح مقدار محدود هو ١٠ غرام من كل عينة في ٢٠٠ مل من المرق الزرعي للسيلينيت والسستين (Selenite Cystine Broth) وحضنت المزارع بدرجة حرارة ٣٧ درجة مئوية لمدة ١٨-٢٤ ساعة. وخطط ملء غانة من المرق الزرعي الملقحة على آغار س س (Difco S S Agar). حددت هوية مستعمرات السلمونيلة أو الشيغلة المشتبه بها بالطرائق الكيميائية الحيوية والمصولية وفقا لما ذكره (Cruickshank *et al*, 1980).

٦- تعداد الجراثيم اللاهوائية العيوشة (Viable Counts of anaerobic bacteria) :

لقح من التخفيفات الموجودة في الأنابيب المحضرة مسبقا أوساط أو منابت خاصة بالجراثيم اللاهوائية مثل المطثية (Clostridium). وقد استخدم للتعداد آغار التعداد في الطبق والغراء الدموي (Blood Agar). بعد ذلك حضنت الأطباق في جو لاهوائي بدرجة ٣٧ درجة مئوية لمدة يومين اثنين. وقد تم التحري عن وجود المطثية الحاطمة (Clostridium Perfringens) من عدم وجودها. (Harrigan and McCance, 1976).

المعايير المنصوح بها:

اتبع في هذا، ما أوصت به الوكالة الدولية حول المواصفات الميكروبيولوجية للأغذية (ICMSF, 1974), حيث ذكرت أن التعداد العيوش العام للأحياء المجهرية في درجة حرارة ٣٥ درجة مئوية أو في درجة ٢٠ درجة مئوية في حالة اللحوم المبردة (المثلجة) ينبغي أن يقل عن ٧١٠ لكل غرام من اللحم وأن السلمونيلة ينبغي أن لا تكتشف في مقدار لأكثر من خمس العينات المفحوصة التي مقدار كل منها ٢٥ غراما (Harrigan and McCance, 1976).

تحضير عينات لحم الدجاج المجمد للفحوص الميكروبيولوجية المختلفة : بالنسبة لعينات لحوم الدجاج المجمدة التي أخضعت للفحوص الميكروبولوجية العامة ، فقد أعدت وحضرت كما يلي :

في بداية الأمر جمعت عينات اللحوم السابقة المجمدة على شكل ذبائح كاملة أو كذبائح مقطعة . ووضعت في أكياس الحفظ الخاصة بها ثم وضعت العينات السابقة كلها في أكياس معقمة ونقلت في ظروف وشروط تعقيمية وتطهيرية ممتازة إلى المختبر الجرثومي بأقصى سرعة ممكنة بعد وضعها كاملة في حافظة على شكل جمادة تحتوي على الثلج لإبقاء اللحوم في حالة جامدة. وفي المختبر قسمت ذبائح الدجاج الكاملة بوساطة ملاقط ومشارط معقمة إلى أجزاء ، وتم إجراء الإختبارات الأحيائية المجهرية عليها ، وكذلك تم إجراء تعداد أجناس الجراثيم المزروعة منها . ولقد جرى فحص قطع عينات الدجاج كلها ، وحفظت القطع الأخرى التي لم يتمكن من إجراء الإختبارات عليها في المجمد لإجراء الفحوص عليها في وقت لاحق .

وكخطوة أولى قبل إجراء تلك الفحوص ؛ كانت توضع عينات (الذبائح كاملة أو قطعها) في هواء حار ، كي تذوب العينة أو تسخن بسرعة ، وبعدها تختبر . وبالنسبة للدجاج المجمد فإنه ليس بالضرورة إذابة الثلج الذي يحمله الطير كاملاً ؛ بل يكتفى بأن تكون المنطقة السطحية للطير أو العينة خالية من الثلج . وكان يتم إجراء شقوق مختلفة بمشرط معقم لأخذ المسحات للزرع الجرثومي . وقد أخذت المسحات من منطقة الجلد العريضة (من مساحة ١٦ سم^{٢}) للصدر والفخذ ووصلة الفخذ بكاحلية (المنطقة بين الفخذ والكاحل) ، والظهر ؛ وذلك بإستعمال ملاقط ومشارط خاصة . وتم عمل المسحات بإستخدام ماسحات قطنية بطول (٢٥ سم) موضوعة في أنابيب معقمة كبيرة لمسح تجاويف الجسم المختلفة ، أو قطع العينات التي رتبت ورقمت ليسهل تسجيل نتائج فحصها وإختبارها . وضعت الماسحات (كل على حده) في أنابيب التخفيفات السلسلية التي سبق ذكرها بالترتيب ، وهي أنابيب تحتوي على ماء البيتون أو المرق المغذي الزرعي .

أجري فحص مباشر للعينات على شرائح صبغت بملون غرام . كما نقل تقريباً مقدار ١٢ مل من التخفيفات السابقة ووضعت في أطباق آغار التعداد الكلي التي شرحت طرائق عملها قبل قليل .

إن وضع المقدار السابق من التخفيفات يشير إلى مساحة سطح في الطبق الزرعي مقدارها ١٢ سم^{٢} . ولعمل الأطباق السابقة الزرعية ، حضر وعقم مقدار ٩٩ مل من ٠,١ % محلول البيتون (D 22) في الماء المقطر . كما حضر وعقم مقدار ١٠٠٠ مل أو مقادير مختلفة حسب الطلب لتكون جاهزة للعمل . حفظت المزارع (أطباق الزرع الجرثومي) في أكياس بولي إيثيلين من قياس ٨×١٢ بوصة في ظروف طاهرة .

وقد طبقت جميع الإجراءات من حيث معاملة وتحضير العينات وفحصها وتعداد أحيائها المجهرية تبعاً لما وصى به (Collins and Lyne, 1976 و Sharf, 1966) . وغيرهم من الباحثين مثل (Harrigan and McCance, 1976) .

هــذا وقــد اســتخدمت الأوساط المزرعية المختلفة التي تم ذكرها فيما سبق ؛ وذلك لعمل تلك التعدادات الخاصة بلحوم الدجاج المجمــد ، وطــبق علــى تلك العينات ما طبق على عينات اللحوم الحمراء المجمدة التي فحصت ؛ من إجراءات مختبرية عامه ، من حيث تعداد الأحياء المجهرية العيو٠شة في عينات الدجاج المجمدة ، وتحديد أجناسها وتصنيفها وتنميطها . كذلك اتبعت المعايــير الســابقة التــي ورد ذكــرها ، في تقييم التعدادات الإيجابــية والســلبية في لحوم الدواجن؛ مع أنه ينصح بأخذ العيــنات مــن مــنطقة الصدر في جسم الدجاجة ، وذلك من مساحة ١٦ سم^{٢} وبالتحديد من جلد الصدر .

النتائج والمناقشة

بينت الدراسة تعداد الأحياء المجهرية الهوائية في الأطباق وتعدادات الأمعائيات والمكورات العنقودية الذهبية والملبنات في عينات اللحوم المجمدة المختبرة وغير ذلك من الجراثيم ،التي ثبت إنتقالها من البيئة المحيطة (جدول ١). وعند إختبارنا للحوم الحمراء ولحوم الدجاج ميكروبيولوجيا تمكنا من عزل (١٦٧ و٧٩ و٦٧ و ٧٦ و ٨٧) ذرية من أجناس أحياء مجهرية مخــتلفة ، وذلك للحوم الأغنام المجمدة المستوردة و لحوم الأبقار المجمدة المستوردة و لحوم الإبل المجمدة المحلية و لحوم الدجاج المجمدة المحلية و لحوم الدجاج المجمدة المستوردة على التوالي (الجدولان ٢ و ٣). حيث عزلت من عينات لحوم الأغنام الأجناس والأنواع التالية من الجراثيم : السلمونيلة و السراتية و الشيغلة و الأمعائية و الستروباكتير و الكلبسيلة و المتقلبة و الإشريكية القولونية و الملبنة بلانتاريوم و العنقودية الذهبية و المكيرة و العقدية المقيحة و العقدية الأجكلتية و الأسينيتوباكتير و الزائفة الزنجارية و الإدرواردسيلة و الموئيليريلة و البروفايدنسيا و واليرسنية (جدول ٢)

كمــا عزلــت مــن عينات لحوم الأبقار المجمدة المستوردة الأجناس والأنواع التالية من الجراثيم : *السلمونيلة* و السراتية و الشــيغلة و الأمعائية و الستروباكتير و الكلبسيلة و الحفنية الألفية و المتقلبة و الإشريكية القولونية و العنقودية الذهبية و العقدية الأجلكتية و العقدية المقيحة و الأسينيتوباكتير و الزائفة التفســخية و الفلافوباكتــيريوم و الملبنة الكازيئية و والملبنة اللشمانية والمقلية .

ومــن عينات لحوم الإبل المحلية المجمدة فقد عزلت الأجناس والأنــواع الآتــية من الجراثيم : الأمعائية و الستروباكتير و الكلبســيلة و الإشــريكية القولونــية و الملبــنة بلانتاريوم و العنقودية الذهبية و المكيرة و العقدية الأجلكتية و الاسينيتوباكتير و الشيغلة والزائفة الزنجارية .

أمــا من عينات لحوم الدجاج المجمدة المحلية ، فقد عزلت أجــناس وأنواع الجراثيم الآتية : السلمونيلة (السلمونيلة التيفية الفأريــة و والسلمونيلة بللورم) و العنقودية الجلدية و العنقودية الذهبــية و العقديــة الــبرازية و العقدي فيسيوم و والإشريكية القولونية . ومن عينات لحوم الدجاج المجمدة المستوردة ، فقد عزلت أجناس وأنواع الجراثيم التالية : السلمونيلة (السلمونيلة التيفــية الفأريــة والســلمونيلة بللورم) و أريزونا هنشاوي و العــنقودية الجلديــة و العقديــة الــبرازية و العقديــة فيسيوم والإشــريكية القولونــية . وقسـم مــن هذه الأجناس والأنواع الجرثومية فقط ؛ كان قد قام بعزلها وتصنيفها (Refaie *et al,* 1991)، حيــث كانت على النحو التالي : نوع الأمعائية و نوع *الســتروباكتير* و نوع الحفنية الألفية و نوع المتقلبة و*السلمونيلة* التيفــية الفأريــة في حين لم يتمكن الباحثون الآنف ذكرهم من عزل الإشريكية القولونية .

جدول (١):

تعداد الأحياء المجهرية المكتشفة في عينات لحوم الأغنام والأبقار المستوردة المجمدة وعينات لحوم الإبل المجمدة المحلية

نمط التعداد	التعداد الأدنى (لكل غرام)	التعداد الأقصى (لكل غرام)	الخطأ المعياري (S.E)
تعداد الأحياء المجهرية الهوائية في الطبق Aerobic plate count	٣×١٠^{٤}	$١٠^{٧}$	٠,٦٧±
تعداد الأمعائيات *Enterobacteriaceae* count	٥×١٠^{٢}	٢×١٠^{٦}	٠,٥٥±
تعداد المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* count	٦×١٠^{٣}	$١٠^{٦}$	,٨٢±
تعداد الملبنات *Lactobacillaceae* count	٦×١٠^{٤}	٣×١٠^{٦}	٠,٤٨ ±
تعداد الأحياء المجهرية في لحوم الدجاج / سم^{٢} Chicken meat microorganisms count/cm^{2}	٣×١٠^{٤}	٢٠×١٠^{٥}	٠,٦٦ ±

جدول (٢)

أعداد ونسبة أنماط الأحياء المجهرية المعزولة والمتكشفة في عينات لحم الأغنام والأبقار المستورد والمجمدة وعينات لحم الإبل المجمدة المحلية

نوع اللحم	لحم الأغنام	لحم الأبقار	لحم الإبل
عدد العينات المختبرة	٢٥	٢٥	٢٥
عدد النزاري المعزولة	١٦٧	٧٩	٦٧
عدد العينات الإيجابية والنسبة %	(%١٠٠)٢٥	(%١٠٠)٢٥	(%١٠٠)٢٥
المقلية *Alcaligenes*		(%٣,٨٠)٣	
الفلافوباكتيريوم *Flavobacterium*		(%٣,٨٠)٣	
البروفايدينسيا *Providencia*	(%٢,٤٠)٤		
الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*	(%٢,٩٩)٥	(%٣,٨٠)٣	(%١٠,٤٥)٧
أسينيتوباكتير *Acinetobacter*	(%١,٨٠)٣	(%٥,٠٦)٤	(%٤,٤٨)٣
العقدية المقيحة *Str.pyogenes*	(%٥,٩٩)١٠	(%٦,٣٣)٥	
العقدية الأجلكتية *S.agalactiae*	(%١٠,١٨)١٧	(%٦,٣٣)٥	(%١٠,٤٥)٧
المكيرة *Micrococcus*	(%٣,٥٩)٦	(%١٠,١٣)٨	(%١٣,٤٣)٩
العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*	(%١٤,٩٧)٢٥	(%١١,٣٩)٩	(%١٣,٤٣)٩
اليرسنية *Yersinia*	(%٦,٥٩)١١		
الإشريكية القولونية *Escherichia coli*	(%٨,٣٨)١٤	(%٧,٥٩)٦	(%١١,٩٤)٨
المتقلبة *Proteus*	(%١,٢٠)٢	(%١,٢٧)١	
الحفنية الألفية *Hafnia alvei*		(%٣,٨٠)٣	
الكليسيلة *Klebsiella*	(%٤,١٩)٧	(%٥,٠٦)٤	(%٥,٩٧)٤
المستروباكتير *Citrobacter*	(%٣,٥٩)٦	(%١,٢٧)١	(%٤,٤٨)٣
الأمعائية *Enterobacter*	(%٧,٧٨)١٣	(%٥,٠٦)٤	(%٨,٩٦)٦
الشيغلة *Shigella*	(%٢,٩٩)٥	(%٣,٨٠)٣	(%٤,٤٨)٣
السراتية *Serratia*	(%٢,٤٠)٤		
السلمونية التيفية الفأرية *Salmonella typhimurium*	(%٢,٤٠)٤	(%١١,٣٩)٩	
الملبنة *L.leichmannii*		(%٣,٧٠)٣	
الملبنة الكازينية *L.casei*		(%٦,٣٣)٥	(%١٥,٠٩)٨
الملبنة بلانتاريوم *L.plantarum*	(%٧,١٩)١٢		(%١١,٩٤)٨
البروفايدينسيا *Providencia*	(%٢,٤٠)٤		
المونيليريلة *Moellerella*	(%٥,٤٠)٩		
الأدوارد سيلة *Edwardsiella*	(%٥,٩٩)١٠		
المتوسط	٨,٧٩	٤,٣٩	٥,٥٨
الخطأ المعياري (S.E)	١,٣±	٠,٥٢±	٠,٧٤±

اجدول (٣)

اعداد ونسبة انماط الاحياء المجهرية المعزولة من عينات لحوم الدجاج المجمد المحلي والمستورد

نوع اللحم	لحم الدجاج المحلي	لحم الدجاج المستورد
عدد العينات لمفحوصة	١٠	١٥
عدد النزاري المعزولة	٧٦	٨٧
عدد العينات الإيجابية	١٠	١٥
النسبة المئوية	%١٠٠	%١٠٠
السلمونية التيفية الفأرية *S-typhimurium*	٣ (%٣,٩٥)	١٣ (%١٤,٩٤)
السلمونية بللورم *S.pullorum*	٧ (%٩,٢١)	٢ (%٢,٣٠)
العنقودية الذهبية *Staph.aureus*	٢٢ (%٢٨,٩٥)	
العنقودية الجلدية *Staph.epidermidis*	٥ (%٦,٥٨)	١٧ (%١٩,٥٤)
العقدية البرازية *Str.faecalis*	٩ (%١١,٨٤)	٢٢ (%٢٥,٢٩)
العقدية فيسيوم *Str.faecium*	١٠ (%١٣,١٦)	١١ (%١٢,٦٤)
الإشريكية القولونية *Escherichia coli*	٢٠ (%٢٦,٣٢)	٢٣ (%٢٦,٤٤)
أريزونا هنشاوي *Arizona hinshawii*		١٢ (%١٣,٧٩)
المتوسط	١٠,٨	١٢,٤
الخطأ المعياري (S.E)	٢,٨±	٢,٩±

وفي هذه الدراسة كان أعلى نسب عزل جرثومي من لحوم الأغنام المجمدة المستوردة لأجناس وأنواع جراثيم (العقدية الأجلكتية والمقيحة) و العنقودية الذهبية و الإشريكية القولونية و الأمعائية ، والملبنة) ، حيث كانت النسب هذه ١٦,١٧% و ١٤,٩٧ % و ٨,٣٨% و ٧,٧٨% و ٧,١٩% على التوالي (جدول ٢) . أما من لحوم الأبقار المجمدة المستوردة فكان أعلى نسب عزل جرثومي لأجناس وأنواع جراثيم العقدية الأجلكتية والمقيحة، العنقودية الذهبية و*السلمونيلة* التيفية الفأرية والمكيرة و الملبنة . حيث كانت هذه النسب (٦,٣٣% و ٦,٣٢% و ١١,٣٩% و ١٠,١٣% و ٦,٣٣% و ٦,٣٣%) على الترتيب .

وبالنسبة للحوم الإبل كان أعلى نسبة عزل لأجناس وأنواع جراثيم (العنقودية الذهبية – المكيرة) ، (الملبنة – الإشريكية القولونية) الزائفة الزنجارية والأمعائية . حيث كانت نسب العزل على التوالي : (١٣,٤٣ %– ١٣,٤٣%) و (١١,٩٤% – ١١,٩٤ % ، ١٠,٤٥%) و(٩٦, ٨%). (جدول ٢)

كذلك كان أعلى نسب عزل جرثومي من عينات لحوم الدجاج المجمد المحلي و لأجناس وأنواع الجراثيم التالية: (العنقودية الذهبية – العنقودية الجلدية)، الإشريكية القولونية و (العقدية فيسيوم – العقدية البرازية) ؛ حيث كانت نسب العزل على الترتيب (٢٨,٩٥%– ٦,٥٨ %) ؛ ٢٦,٣٢ % و

(١٣,١٦% ــ ١١,٨٤ %) (جدول ٣). أما بالنسبة لعينات لحوم الدجاج المجمدة المستوردة ، فكان أعلى نسب عزل جرثومي لأجناس وأنواع الجراثيم التالية :

(الإشريكية القولونية (العقدية البرازية – العقدية فيسيوم) العنقودية الجلدية (السلمونيلة التيفية الفأرية – السلمونيلة *بللورم*) و*أريزونا هنشاوي* ؛ إذ كانت نسب العزل على التوالي (٢٦,٤٤ % و (٢٥,٢٩ % –١٢,٦٤%) و ١٩,٥٤% و (١٤,٩٤ %– ٢,٣٠%) و ١٣,٧٩ %) . لقد كانت نسب عزل أنماط الأحياء المجهرية المعروفة بالأمعائيات في هذه الدراسة متفاوته بحسب نوع كل لحم مجمد خضع للإختبارات الأحيائية المجهرية ؛ وقد اختلفت هذه النسب إلى حد ما مع النسب التي حصل عليها بعض الباحثين ؛ ففي حين حصل (Refaie *et al.*, 1991) ، على نسب العزل التالية لأنماط الأمعائيات التي تعرفوا عليها (٨٤,٨% و ٦,٠% و ٥,٢% و ٢,٤% و ١,٢ % و ٠,٤%) وهي من أنواع الأمعائية و *السيترو باكتير* و الكلبسيلة و الحفنية الألفية و نوع المتقلبة و *والسلمونيلة* على الترتيب فإن نسب العزل في هذه الدراسة مختلفة (الجدولان ٢ و ٣) عن تلك النسب السابقة للأمعائيات الآنفة الذكر ؛ التي تم استنتاجها بالاختبارات الجرثومية العامة التي أجريت على عينات من لحوم الإبل المجمدة ، ولحوم (الأبقار والأغنام والدجاج) المجمدة المستوردة ولحوم الدجاج المجمدة المحلية . كما تم عزل أجناس جراثيم أخرى من الأمعائيات غير التي حصل عليها الباحثون السابق ذكرهم ؛ ومن هذه الجراثيم : *السراتية والشيغلة* والإشريكية القولونية *واليرسنية* وغيرها من الأمعائيات المذكورة في جداول النتائج الآنفة الذكر .

كما تم عزل الملبنات من نوع *بلانتاريوم* والعنقودية الذهبية والمكيرة والعقدية المقيحة والعقدية البرازية و*الأسينيتو باكتير* والزائفة الزنجارية و*الفلافو باكتيريوم* والمقلية . وكانت أعلى نسب عزل لأمعائيات من جنس : الأمعائية (٨,٩٦ %).والسترو باكتير (٤,٤٨ %) والكلبسيلة (٥,٩٧ %) من عينات لحم الإبل ، وكذلك على جراثيم الحفنية الألفية (٣,٨٠ %) من عينات لحم الأبقار، وعلى المتقلبة (١,٢٧%) من عينات لحم الأبقار ، وعلى *السلمونيلة* التيفية الفأرية (١١,٣٩ %) من عينات لحم الأبقار ، ومن عينات لحم الدجاج المجمد المحلي (٣,٩٥ %) ومن عينات لحم الدجاج المجمد المستورد (١٤,٩٤%) ومن عينات لحم الغنم (٢,٤٠ %) . وكذلك على *السلمونيلة بللورم* من عينات لحم الدجاج المجمد المحلي (٩,٢١ %) ومن عينات لحم الدجاج المجمد المستورد (جدول ٣) . ويمكننا أن نفسر ارتفاع نسب عزل جراثيم من أجناس الأمعائية *والسترو باكتير* والكلبسيلة من لحوم الإبل المجمدة وكذلك *السلمونيلة* والمتقلبة من لحوم الأبقار والدجاج المجمدة أيضاً ، بكون هذه الأمعائيات من النبيت الطبيعي وتوجد بشكل متوافر في البيئة ، حيث إن *السلمونيلة* تنتشر كجراثيم في الإنسان والحيوانات ، كما أن الأمعائية شائعة الوجود جداً ، وهي النبيت البرازي الطبيعي ، ويمكن عزلها من الجروح والمسلك التنفسي والبول والدم لدى الإنسان والحيوانات ، كذلك عزلت *السترو باكتر* من البشر ومن الأخماج والجروح والبول والإنتان لدى الإنسان ، وهي نبيت البراز الطبيعي؛ وعزلت من البيئة أيضاً . أما الكلبسيلة فهي نبيت البراز الطبيعي وبعض الذراري منها توجد في البيئة ، وقد عزلت من المسلك التنفسي والبول والجروح ودم الإنسان . كذلك فإن المتقلبة بمعظم أنواعها توجد كنبيت برازي طبيعي وعزلت من الأخماج البشرية والبول والجروح والدم وغير ذلك (Finegold and Baron, 1986) . أما الإشريكية القولونية ، فقد عزلت من دم وبول وبراز الرضع ذوي الانتانات البولية (Jantunen *et al.*، 2001). وقد بين (Emmerth *et al.*, 1999 و Winstanley *et al.*, 2002) أن السلمونيلة التيفية الفأرية (Salmonella enterica serovar Typhimurium) تسبب خمجاً جهازياً ومميتاً في الفأر الطبيعي . كذلك يمكن ان ينشأ خمج الإشريكية القولونية المعوية النزفية البشرية على نحو أكثر شيوعاً إما بشكل مباشر أو غير مباشر من الأبقار (Elaine Hoey *et al.*, 2002) . كما عرف أن المكورات العنقودية الذهبية هي الممرض الهام في الإنسان (Gertz *et al.*, 2000). ومما يدل أيضاً على أن الكلبسيلة المرياحية أو (المكونة للغاز) تنتشر في الطبيعة ، هو استعمالها المصادر العضوية واللا عضوية من النيتروجين والأمونيوم (Pomposiello *et al.*, 1998) . ومن جهة ثانية عزل بعض الباحثين أمثال (Mathieu *et al.*, 1992) العنقودية الذهبية وأنواع *السلمونيلة* من اللحم البقري في زائير. كما عزل (Tadesse and Cizek, 1994) *السلمونيلة* من مختلف الأنواع؛ وذلك من ذبائح الدواجن والتجهيزات الخاصة بتربية الدواجن . أما من لحوم الأغنام الطازجة فقد تم عزل المكورات (Cocci) الإيجابية الغرام من قبل (Sierra *et al.*, 1995) . وهكذا نخلص إلى القول أن نتائج البحوث السابقة ، تعزز وتؤيد ما توصلنا إليه من نتائج حول عزل مجموعة كبيرة من الأحياء المجهرية التي توجد في اللحوم المجمدة بمختلف أنواعها التي أجرينا عليها الإختبارات الجرثومية . إن الجراثيم التي تعيش في درجات الحرارة المنخفضة ، والتي تنمو على اللحم أثناء التبريد هي أنواع من جنس الزائفة والمقلية والمكيرة والملبنة *والفلافو باكتيريوم* والمتقلبة ، ويمكن أن تنمو هذه الجراثيم من جديد وتتابع نشاطها أثناء إذابة اللحم المجمد ، إذا أجريت الإذابة على نحو بطيء . كذلك تعد جراثيم

حمض اللاكتيك ، وعلى نحو رئيسي من أجناس الملبنة ، *والليوكونوستوك* (Leuconostoc) والعقدية *والفلافوباكتريوم* ، *والبيديوكوكوس* (Pediococcus) ، الجراثيم الأكثر وجوداً في معظم اللحوم الطازجة أو المقدد (أو المملحة) ويمكن أن تنمو في درجات حرارة البراد ويمكن أن تكون جراثيم حمض اللاكتيك مسؤولة عن ثلاثة أنماط من الفساد في اللحم هي : تشكل المادة الغروية أو اللزجة على سطح اللحوم وبخاصة في وجود السكروز ، وانتاج تغير لوني أخضر . أو حصول فساد عندما تنتج كميات متزايدة من حمض اللاكتيك أو الحموض الأخرى (Frazier and Westhoff 1978) ، ولذلك عزلت من جميع عينات اللحوم الحمراء المختبرة . وجراثيم حمض اللاكتيك ذاتها هي التي يمكن أن تسبب فساد اللحم بسبب إنتاج الحموض العضوية (Harrigan and McCance, 1976) ، وعليه فهي قد تكون أولى الجراثيم التي يمكن عزلها من اللحوم لتوافرها الدائم على سطح اللحوم .

وعلى كل حال يشير وجود المادة الغروية أو اللزجة على منتجات اللحم إلى النمو الزائد لأي من الأحياء المجهرية تقريباً . ولعل الزوائف من الأحياء المجهرية التي تنمو سريعاً وبشكل تام على اللحوم الطازجة حتى تحت التبريد الكافي ، وهكذا فإن ظهور المادة الغروية على اللحوم الطازجة النيئة ؛ هي من جراء وجود أنواع الزوائف القرية (Psychrophilic pseudomonas) (Sharf, 1966) ، وبناءً على ذلك فإن هذه الجراثيم يمكن أن تكون السبب في لزوجة اللحم ، وانبعاث الروائح الكريهة عند حفظه الكامل وتخزينه .

إن مستوى السكريات المتوافر في اللحوم يمكن أن يحدد النمو الجرثومي على سطوح اللحم ، نظراً لأن الكثافة الخلوية القصوى ، تتحدد بمعدل انتشار الركائز القابلة للإختمار في النسج المستبطنه ، وبالنسبة للملبنات فإن الركائز القابلة للاختمار هي الغلوكوز والأرجينين (Arginine) . ومن العوامل التي تزيد من نسبة جراثيم حمض اللبن على اللحم زيادة تركيزات ثاني أكسيد الكربون عن مستوى الأكسجين الذي يكون متدنياً . ولهذا تتواجد العصيات السلبية الغرام على اللحم وتكون النبيت السائد على اللحم المخزون هوائياً ، كما تتحفز جراثيم حمض اللبن على النمو (Rose, 1983).

تعداد الجراثيم الهوائية على الطبق الزرعي :

فقد تراوح هذا التعداد (جدول ١) ؛ ما بين (٣×١٠^{٤}) إلى ١٠^{٧} /غرام لحم مجمد . وتوافق هذه النتيجة النتائج التي سجلها (Pace, 1975) و (Foster *et al.,* 1977) و (Oblinger and Kennedy, 1980) . إلا أن تلك النتائج التي توصلت إليها تخالف إلى حد ما النتائج التي توصل إليه (Campbell *et al.*, 1983) و (Rayman *et al.*, 1986) حيث كانت تعدادات الجراثيم الهوائية في اختباراتهم أدنى من التعدادات التي استنتجناها .

ولقد ذكر (Gerogala and Hurst, 1963) أن جراثيم التسمم الغذائي لا تختلف عن الجراثيم غير الممرضة في بُقياها على قيد الحياة في درجات الحرارة المنخفضة . أما السلمونيلة فهي جراثيم أقل مقاومة من جراثيم العنقودية الذهبية . وقد أضافا بأن موت الجراثيم يكون أكبر خلال عملية التجميد ومع تقدمها واستمرارها مما هو أثناء الخزن اللاحق بالتبريد .

تعداد الأمعائيات :

تراوحت تعدادات الأمعائيات في عينات اللحم المجمد من (٥×١٠^{٢}) وحتى ٢×١٠^{٦} / غرام لحم مجمد مختبر . وهذا التعداد الكلي للأمعائيات يتوافق مع ما وضحه وسجله (Foster *et al.*, 1977) و (Rayman *et al.*, 1986) . مع أنه سجلت نتائج مخالفة لذلك ، حيث كانت التعدادات التي توصل إليها (Hall *et al.*, 1967) و (Oblinger and Kennedy, 1980) أدنى من التعدادات التي سجلت في هذا البحث وهكذا فإن المكورات الإيجابية الغرام ؛ تكون أكثر مقاومة للبرودة من العصيات السلبية الغرام . وتموت الإشريكية القولونية بسرعة في ظروف التخزين بالبرودة بالمقارنة مع أعضاء الأمعائيات من زمرة القولونيات (نوع الأمعائية Enterobacter spp) . إن أنماط الأمعائيات التي قمنا بعزلها (الجدولان ٢و٣)؛ تخالف إلى حد ما ، ما سجله (Surkiewicz *et al.*, 1979) و (Abd-Almenom, 1986) و (Refaie *et al.*, 1991) من حيث عدد الأنماط الأمعائية التي تم عزلها، ومن حيث نسب عزلها كذلك ، وإن كانت تقترب – إلى حد ما – من نسب بعض الجراثيم التي عزلها (Refaie *et al.*, 1991) وبخاصة بالنسبة لنوعي الكلبسيلة *والستروباكتير* ، أما نسبة الأمعائية التي سجلناها نحن فتختلف كثيراً عن النسبة التي سجلها الباحثون السالف ذكرهم ، بل تتدنى عنها كثيراً جداً ، وقد يكون للبيئة التي تربى فيها الحيوانات دوراً في ذلك . كذلك بين (Elliott and Michner, 1964) ؛ أن الإشريكية القولونية تموت سريعاً خلاف أعضاء زمرة القولونيات الأخرى – أثناء التخزين بالبرودة .

وتفيد أبحاث (Goepfert and Chung, 1970) بأن *السلمونيلة* يمكن أن تنقص في العدد وبخاصة في النقانق ، التي

تحفظ في ظروف درجة حرارة التبريد . ويبدو أن نسب العزل التي استنتجناها *السلمونيلة* وبخاصة من نوع *السلمونيلة* التيفية الفأرية ، كانت أعلى مما سجله بعض الباحثين أمثال (Refaie *et al.*, 1991). ولعل نسب عزل *السلمونيلة* التي حصل عليها من الإختبارات الجرثومية على الدجاج تؤكد أن ارتفاع هذه النسب هو من جراء استيراد لحوم الدواجن المجمدة . ويمكن أن يكون ارتفاع نسب العزل الجرثومي لكثير من الأحياء المجهرية التي تم اكتشافها ، عائد إلى تلوث اللحوم الحمراء والبيضاء التي اختبرت بجراثيم آتية من اللحوم المجمدة الحمراء والبيضاء (لحوم الدجاج) الأخرى الموجودة معها ، إضافة إلى توافر الكثير من الحيوانات في المنطقة التي تم اختبار العينات منها ، وهنا تلعب البيئة دوراً في عملية تلوث اللحوم بمختلف الأحياء المجهرية وبخاصة التي تعد نبيتاً طبيعياً .

تعدادات المكورات العنقودية الذهبية :

تراوحت أعداد جراثيم العنقودية الذهبية الإيجابية للمختبرة من ٦× ١٠^{٣} إلى ١٠^{٦} / غرام من اللحم المجمد . وهذا يفسر أيضاً ارتفاع نسبة عزل الجراثيم . وهذه النتائج تتطابق مع النتائج التي حصل عليها كلّ من (Christiansen and King, 1971) و (Rayman *et al.*, 1986) . لقد وجدت أعداد عزولات للمكورات العنقودية الذهبية من لحم البقر المجمد المستورد تبلغ ٩ ذراري (١١,٣٩ %) ، ومن لحم الأغنام المجمد المستورد ٢٥ ذرية (١٤,٩٧ %) ومن لحم الإبل المجمدة المحلية ٩ ذراري (١٣,٤٣ %) ومن عينات لحوم الدجاج المجمدة المحلية ٢٢ ذرية (٢٨,٩٥ %) ؛ وهذه النسب في واقع الأمر أعلى من النسب التي سجلها (Surkiewicz *et al.*, 1979) و (Refaie *et al.*, 1991) إلى حد ما .

وهذا يشير إلى ضرورة الحد من تلوث اللحوم بمثل هذه الجراثيم وبخاصة وأنها إحدى العوامل المسببه للتسمم الغذائي في الإنسان . ووفقاً لما بينته الوكالة الدولية حول المواصفات الميكروبيولوجية للأغذية (ICMSF, 1980) فإن الأحياء المجهرية الإيجابية الغرام ، تكون مقاومة نسبياً لدرجة حرارة التجميد ، وهذا ماله أهمية في الصحة العامة ؛ وينبغي الإلتفات والتنبيه إليه.

تعداد الملبنات :

كان من ٦×١٠^{٣} إلى ٣×١٠^{٦} / غرام من اللحوم المجمدة المختلفة المختبرة (جدول ١). وهو تعداد سوي بالنسبة لهذه اللحوم؛ إذ أن الوكالة الدولية للمواصفات الميكروبيولوجية للأغذية (ICMSF, 1974) ذكرت أن تعداد الأحياء المجهرية العيوشة العامة في درجة حرارة ٣٥ درجة مئوية ، أو بدرجة ٢ درجة مئوية في حالة اللحوم المبردة (أو المثلجة) ينبغي الا يقل عن ١٠^{٧} لكل غرام من تلك اللحوم. ولعل التعداد المذكور للملبنات في اللحوم المجمدة التي أختبرناها هو حقاً ضمن حدود التعدادات السوية فهذه الجراثيم تنمو على اللحم أثناء التبريد أيضاً؛ إذ هي من بين الجراثيم التي تلائمها درجات الحرارة المنخفضة، مع الإشارة هنا أن عملية تجميد اللحوم تقتل حوالي نصف الجراثيم كما تتناقص أعداد هذه الجراثيم ببطء أثناء التخزين (Frazier and Westhoff, 1978) ولهذا أنخفضت أعداد جراثيم الملبنات في اللحوم المختلفة المجمدة في إختباراتنا.

تعدادات الأحياء المجهرية في لحوم الدجاج المجمدة :

يذكر (Frazier and Westhoff, 1978)، أن تعداد الأحياء المجهرية في وقت ظهور الرائحة بالنسبة للحم الدواجن يكون من ٢,٥ – ١٠٠ × ١٠^{٦} سم^{٢} ، أما بالنسبة للحم الأبقار فيكون من ١,٢ – ١٠٠×١٠^{٦} سم^{٢} . وعندما تكون اللزوجة واضحة يكون تعداد الأحياء المجهرية في لحم الدواجن ١٠ – ٦٠ ×١٠^{٦} /سم^{٢}، وفي لحم الأبقار ٣–٣٠٠ ×١٠^{٦} / سم^{٢} . وفي هذا البحث تدنت تعدادات الأحياء المجهرية للحوم الدواجن المجمدة فكانت من (٢– ٣٠ ×١٠^{٣}) سم^{٢} إلى (٥ – ٢٠ ×١٠^{٥}) سم^{٢} ومع ذلك فإن هذا التعداد يشير إلى مخاطر تلوث لحوم الدواجن . بقي أن نذكر أخيراً أن ارتفاع تعدادات الأحياء المجهرية في بعض اللحوم المجمدة المستوردة المختلفة وانخفاضها في بعض اللحوم المجمدة المحلية ، ربما يعود إلى ما تحتويه اللحوم المجمدة المستوردة من بعض الصّادات (المضادات الحيوية) المتنوعة بنسب مختلفة ، وبخاصة الصّادات التالية : التتراسيكلين ، الكلورمفنيكول، الأمبيسيلين ، فيرجينوميسين ، والفيورازوليدون .... الخ ، إذ كلما احتوت اللحوم المجمدة على صّادات بنسبة مرتفعة ، انخفضت بالتالي أعداد الأحياء المجهرية فيها ، والعكس صحيح . أما هذه الصّادات فربما تناولها الحيوان عن طريق الأعلاف أو عن طريق ماء الشرب ؛ خلال فترات التربية المختلفة قبل ذبح الحيوان . وتلك الصّادات تعطى في المقام الأول كمواد تعمل على وقاية الحيوانات من الأمراض من جهة ، وفي المقام الثاني تساعد على نمو وتسمين الحيوانات من جهة ثانية ؛ وبعد تناولها سواء عن طريق الماء أو العلف لا تطرح كاملة في البول والروث ، وإنماء يتبقى نسبة منها في نسج الحيوانات حتى بعد ذبحها ، ولهذه الصّادات فعل كابح أو قاتل للجراثيم ، أو مضاد لها ؛ وفعل تراكمي آخر.

الاستنتاج

يستنتج مما سبق اهمية حفظ اللحوم بشكل عام بدرجات الحرارة المنخفضة ولو أن كثيراً منها يحفظ بالتبريد السريع أكثر من التجميد لأن السوق المحلي يتطلب تداولها كثيراً على هذه الحالة . هكذا ويمكن خزن اللحوم المجمدة في درجات حرارة بين درجة (– ١٨ مئوية) ودرجة (– ٣٠) مئوية ولو أن مدة الخزن لهذه اللحوم تعتمد على عوامل منها نوع الحيوان ونوع المنتوج ودرجة حرارة التجميد وثباتها ونوعية المادة المغلفة للحوم . وبالرغم من أن مدة خزن اللحوم المجمدة تعتمد على درجة حرارة التجميد (حيث تطول كلما قلت درجة الحرارة لأن الفعاليات الكيميائية تنقص تبعاً لذلك) ؛ فإن أكسدة الشحوم تستمر ولو بدرجة بطيئة . وجدير بالذكر أن نشاط الجراثيم يتوقف عند درجة حرارة (–١٠) درجة مئوية ؛ بينما تتوقف النشاطات الكيميائية كلها عند درجة حرارة (–٨٠) درجة مئوية (Al-Aboud, 1987). أما الفترة الزمنية الممكنة (بالشهر) المنصوح بها لحفظ اللحوم المجمدة المختلفة في ظروف جيدة ؛ فهي كما يلي وفقاً للجدول المبين أدناه ؛الذي أورده (Al-Aboud, 1987)

نوع اللحم	درجة الحرارة مقابل الفترة بالأشهر			
	–١٢ م	–١٨م	–٢٤م	–٣٠م
لحم لبقار	٤	٦	١٢	١٢
لحم أغنام	٣	٦	١٢	١٢
دواجن	٢	٤	٨	١٠
اللحم المفروم	٣	٦	٨	١٠

كما ننصح دائماً عند تخزين اللحوم بالتجميد عدم وضع الذبائح فوق بعضها البعض ، حتى لا يكون هناك فرصة لنمو الأحياء المجهرية من خلال توافر درجة حرارة – إلى حد ما – من جراء تكديس اللحوم فوق بعضها . ولهذا ينبغي أن يكون ما بين الذبائح المذبوحة المخزنة بالتبريد او بالتجميد حيزاً لمرور الهواء البارد ضمنه.

المراجع

Abd-Almenom, K.M. 1986. Microbial association in cool stored beef. M.V.Sc. thesis. Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University, Egypt.

Al-Aboudi, A.R. 1987. Principles of meat hygiene. Faculty of Veterinary Medicine, Al-Mousel University. (In Arabic).

American Association of Avian Pathologists. 1980. Isolation and identification of avian pathogens. Creative Printing Co., Inc., New York.

A.P.H.A. 1972. Standard methods for the examination of dairy products, 13th ed. American Public Health Association, Washington DC, USA.

Archer, D.L. and F.E. Young. 1988. Contemporary issues: Diseases with a food vector. *Clinical Microbiology* rev. 1: 377-398.

Blazevic, D.J. and G.M. Ederer. 1975. Principles of biochemical tests in diagnostic microbiology. A Wiley Biomedical Publication-John Wiley & Sons. New York. London.

Campbell, D.F., M.Y. Workman, G.W. Krumm, and R.W. Johnston. 1983. Bacteriological survey of frozen meat ravioli produced at establishments under federal inspection. *Journal of Food Protection* 46:710-713.

Chalker, R.B. and M.J. Blaser. 1988. A review of human salmonellosis. III. Magnitude of salmonella infection in the United States. *Revised Infectious Diseases* 10:111-124.

Christiansen, L.N. and N.S. King. 1971. The microbial content of some salads and sandwiches at retail outlets. *Journal of Milk Food Technology* 34:289-293.

Christophersen, J. 1968. Effect of freezing and thawing on microbial population of food stuffs. Low temperature biology of food stuffs. J. Hawthorn and T.J. Rolfe (Editors). Bergamon Oxford, 1st ed.

Collins, C.H. and P.M. Lyne. 1976. Microbiological Methods, 4th ed. Butterworth World Student Reprints. London. Boston.

Cruickshank, R., J.P. Duguid, B.P. Marmion, and R.H.A. Swain. 1975. Medical Microbiology. 12th ed., vol. 2, Churchill Livingstone. Edinburg, London and New York.

Cruickshank, R., J.P. Duguid, B.P. Marmion, and R.H. Swain. 1980. Medical Microbiology, 12th ed. Livingstone and Robert Stevenson, Edinburg.

Edward, P.R. and W.H. Ewing. 1972. Identification of enterobacteriaceae, 3rd ed. Burgess Publishing Co., Minneapolis, M.N. Atlanta. U.S.A.

Elaine Hoey, D.E., C. Currie, R.W. Else, A. Nutikka, C.A. Lingwood, D.L. Gally, and D.G.E. Smith. 2002. Expression of receptors for verotoxin 1 from escherchia coli O157 on bovine intestinal epithelium. *Journal of Medical Microbiology* vol. 51:143-149.

Elliot, R.P. and H.D. Michner. 1964. Microbiological standard and handling codes for chilled and frozen food. Arevies. Adv. Food Research 13:349-396.

El-Nawawai, F.A. and N.A. Yassien. 1992. Meat processing and preservation of camel's meat. Training Course of Camel Diseases (Cairo 11-30 April 1992). Cairo University, Faculty of Veterinary Medicine, League of Arab States – Arab Organization for Agricultural Development. Printed in AOAD Printing Press, December 1992.

Emmerth, M., W. Goebel, S.I. Miller, and C.J. Hueck. 1999. Genomic subtraction identifies salmonella typhimurium prophages, F-related plasmid sequences, and a novel fimbrial operon, stf, which are absent in salmonella typhi. *Journal of Bacteriology* 181:5652-5661

Finegold, S.M. and E. Baron, JO. 1986. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 7th ed. The C.V. Mosby Company, Saint Louis, USA.

Foster, J.F., J.L. Fowler, and W.C. Ladiges. 1977. A bacteriological survey of raw ground beef . *Journal of Food Protection* 40:790-794.

Frankel, S., S. Reitman, and C.A. Sonnenwirth. 1970. Gradwohls Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. 7th ed., vol. II, The C.V. Mosby Company, Saint Louis, USA.

Frazier, W.C. and D.C. Westhoff. 1978. Food Microbiology. McGraw-Hill Book Company. New York. St. Louis.

Gerorgala, D.L. and Hurst, A. 1963. The survival of food poisoning bacteria in frozen food . *Journal of Applied Bacteriolgy* 26:346-358.

Gertz, S., S. Engelmann, R. Schmid, A. Ziebandt, K. Tischer, C. Scharf, J. Hacker, M. Hecker. 2000. Characterization of the O^B Regulon in Staphylococcus aureus. *Journal of Bacteriology* Vol. 182 No. 24:6983–6991.

Radu, S., S.A. Mutalib, G. Rusul, Z. Hassan, and L.K. Yeang. 2001. Molecular characterization of salmonella Weltevreden isolated from poultry: Evidence of conjugal transfer of plasmid and antibiotic resistance. *Microbiology* 104: 39-47.

Rayman, K., K.F. Weiss, G. Riedel, and G. Jarvis. 1986. Microbiological quality of Canadian frozen meat pies. *Journal of food Protection* 49:634-638.

Refaie, R.S., A.S. Mohammed, A.E. Thabet, A. and A.A.M. El-Timawy. 1991. Microbiological quality of frozen meat in Assiut. *Assiut Veterinary Medicine Journal* vol. 24, No. 48: 158-163.

Rose, A.H. 1968. Physiology of M.O. at low temperature. *Journal of Applied Bacteriology* 31:1-11 .

Rose, A.H. 1983: Food Microbiology. Academic Press, London, New York.

Rusul, G., J. Khair, S. Radu, C.T. Cheah, and R.M. Yassin. 1996. Prevalence of salmonella in broilers at retail outlets, processing plants and farms in Malaysia. *International Journal of Food Microbiology* 33: 183-194.

Sharf, J.M. 1966. Recommended methods for the microbiological examination of foods, 2nd ed. American Public Health Association, Inc., Washington.

Sierra, M., M.E. Gonzàlez-Fandos, M.C. Garcia, M.L. Garcia, and B. Moreno. 1995. Numerical taxonomy of an "a typical" population of gram-positive cocci isolated from freshly dressed lamb carcasses. *International Journal of Food Microbiology* 24(2): 363-373.

Skinner, F.A. and D.W. Lovelock. 1979. Identification methods for microbiologists. US ed., Academic Press. London. New York.

Surkiewicz, B.F, D.F. Campbell, and M.E. Harris. 1979. Bacteriological survey of frozen Mexican–style foods produced at establishments under federal inspection. *Journal of Food Protection* 42:46-48 .

Tadesse, W.M. and A. Ćiżek. 1994. The isolation of salmonellae from poultry carcasses and equipments in the poultry processing plant by means of two procedures. *Veterinární Medicína* 39(6): 315-320.

Winstanley, C. 2002. Spot the difference: Applications of subtractive hybridisation to the study of bacterial pathogens. *Journal of Medical Microbiology*, vol . 51: 459 – 467.

Wyborn, R. and P.M. Mottingham. 1975. Microbiology of beef processing. II . Chilling and aging. *N.Z.J. Agric. Res* 18:23–27 .

Yassien, N.A. 1985. Salmonellae in slaughtered camels. M.V.Sc. thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University.

Received February 2004.
Accepted September 2004.

Goepfert, J.M. and K.C. Chung. 1970. Behavior of salmonella during the manufacture and storage of a fermented sausage product. *Journal of Milk Food Technology* 33:185-191.

Hall, H.E, D.F. Brown, and K.H. Lewis. 1967. Examination of market foods for coliform organisms. *Applied Microbiolgy* 15:1062-1069.

Hamdy, M., F. Khalafaala, and N. Yassien. 1989. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* among slaughtered camels. *Veterinary Medicine Journal* Giza 37: 373-378.

Harrigan, W.F. and M.E. McCance. 1976. *Laboratory methods in food and dairy microbiology*. Academic Press, London, New York.

Ingram, M. 1951. The effect of cold on M.O. in relation to food. Proc. Soc. Applied Bacteriology 14: 243-260 .

International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF). 1974. Micro-organisms in foods. 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. Recommendations of ICMSF of the International Association of Microbiological Societies, University of Toronto Press, Canada.

International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF). 1978. Micro-organisms in foods. 1. Their significance and methods of enumeration, 2nd ed., University of Toronto Press, Canada.

International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF). 1980. Microbial ecology of foods. Food commodities, vol. I. Factors affecting life and death, vol. I. Academic Press Inc. 1st ed., London.

Jantunen, M.E., H. Saxen, S. Lukinmaa, M. Ala-Houhala, and A. Siitonen, Anja. 2001. Genomic identity of pyelonephritogenic escherichia coli isolated from bood, urine and faeces of children with urosepsis. Journal of Medical Microbiology vol. 50: 650-652.

Mathieu, A.M., B.K. Isigidi, L.A. Devriese, C. Godard, and R. Vanhoof. 1992. Characterization of Staphylococcus aureus and salmonella spp. strains. Isolated from bovine meat in Zaire. *International Journal of Food Microbiology* 14(2): 119-126.

Mercuri, A.J. and N.A. Cox. 1979. Coliform and enterobacteriaceae isolates from selectes. Food J . Food Prot, 42:712-714.

Oblinger, J.L. and J.R. Kennedy. 1980. Microbiolgical evaluation of selected delicatessen meats from retail supermarkets. *Journal of Food Protection* 43:530-533.

Pace, P.J. 1975. Bacteriological quality of delicatessen foods: Are standards needed? *Journal of Milk Food Technology*, 38:341-353.

Pomposiello, P.J., B. Janes, K. Brian, and R.A. Bender. 1998. Two roles for the DNA recogniton site of the Klebsiella aerogenes nitrogen assimilation control protein. *Journal of Bacteriology* vol. 180, No.3:578–585.