المقدمة

Introduction

تعد اللحوم أحد أهم المجاميع الغذائية في غذاء الإنسان، إذ تشكل مصدراً مهماً للبروتين عالي القيمة الحيوية التي يحتاجها الإنسان [1]، ولقد مثلت اللحوم بأنواعها نمطاً غذائياً للعديد من شعوب العالم منذ فجر التاريخ، ولازالت إلى الوقت الحاضر تلعب دوراً مهماً في تغذية الإنسان، ولما كان عدد السكان في ازدياد مستمر، فيتعين بالمقابل ايجاد الأغذية الكافية لهم، وخاصة في الدول النامية التي تضم النسبة الأكبر من السكان، وتعد المصادر الغذائية الحيوانية ومنها اللحوم من المصادر الأساسية لتزويد جسم الإنسان بالبروتين والدهن وبعض المواد الغذائية الأخرى كالفيتامينات وبعض العناصر المعدنية [2]، وشهد قطاع الثروة الحيوانية في السنوات الأخيرة نمواً كبيراً بمعدل غير مسبوق لتلبية الطلب المتزايد على البروتين الحيواني عالي القيمة الغذائية مدفوعاً بمزيج من العوامل، كازدياد النمو السكاني وارتفاع مستويات الدخل المادي وتطور الوعي الغذائي لدى السكان، ومن المتوقع أن يرتفع الإنتاج السنوي للحوم إلى 376 مليون طن بحلول عام 2030 [3].

تطورت صناعة اللحوم كثيراً في العالم، ولاسيما في أوربا وأمريكا، وأصبحت منتجاتها تستهلك بكميات كبيرة، وتعرف بأنها المنتجات التى يتم فيها استخدام مجموعة من العمليات الآلية والكيميائية والفيزيائية والحرارية مثل الفرم وإضافة المنكهات وتغيير اللون، أو المعاملة الحرارية أو التجفيف أو التدخين أو الإنضاج أو التخمير أو التمليح أو التتبيل مع المحافظة على صلاحيتها الغذائية المطلوبة، وتنتشر في معظم دول العالم مصنعات لحوم تقليدية تتعلق بعادات كل منطقة وتقاليدها، وبشكل خاص منطقة البلقان والبحر المتوسط، منها المرتديلات والنقانق والسجق والبسطرمة، التي تتميز بقيمة غذائية عالية وتستهلك مباشرة بدون اعداد إضافي في البيوت، وتصلح لجميع الوجبات، مع توفر قابلية معينة للحفظ خلال قصيرة أو طويلة نسبياً قد تصل إلى شهرين في بعض أنواعها، وإمكانية تسويقها إلى مسافات بعيدة نسبياً [2].

تعد اللحوم الطازجة والمصنعة إحدى أنواع الأغذية الملائمة لنشاط عوامل الفساد التي تسبب تلوثها وتحول طبيعتها المرغوبة، وذلك لغناها بالماء والمركبات الآزوتية ومصدراً غنياً بالعناصر المعدنية وعوامل النمو الأخرى، وملائمة درجة حموضتها (pH) للنشاط الجرثومي، يبدأ فساد اللحم عادة من السطح بتأثير الأحياء الدقيقة الهوائية الملوثة له من الوسط الخارجي، وبعد ذلك تنفذ الأحياء الدقيقة في العمق بسرعة تتوقف على خصائصها وعلى الظروف الخارجية المحيطة وخاصة درجة الحرارة، إذ تتعرض اللحوم إلى العديد من التغيرات التي تجعلها غير مناسبة وغير مقبولة للاستهلاك البشري، وذلك عندما تصل أعداد الكائنات الحية الدقيقة الموجودة على اللحم الطازج إلى أعداد كبيرة [4]، وتعد سلامة الأغذية من القضايا الهامة في جميع أنحاء العالم،

وهي واحدة من ثلاثة عشر هدفاً من الأهداف الأساسية لمنظمة الصحة العالمية WHO (World Health Organization) في الأعوام 2008–2013، وقد تم مؤخراً دراسة الأمراض المتعلقة بالأغذية بشكل كبير في الولايات المتحدة الأمريكية نتيجة تسجيل العديد من حالات التسمم الغذائي في السنوات الأخيرة، وقد كثفت منظمة الغذاء والدواء الأمريكية FDA (Food and drug administration) جهودها لتحسين امكانية تتبع المنتجات الملوثة [5].

تعد المكورات العنقودية *Staphylococcus* spp من أهم الجراثيم المسببة للأمراض المعوية التي تنمو في الغذاء دون أن تسبب أي تغير في مظهره ورائحته وطعمه، ويحتل التسمم الغذائي الناتج عنها المرتبة الثانية من بين الأمراض المنقولة عن طريق الغذاء، إذ تتميز معظم سلالات المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* بقدرتها على انتاج ذيفانات عنقودية معوية (Staphylococcal enterotoxins) SEs تؤدي إلى حدوث التسمم الغذائي للفرد عند استهلاك الطعام الملوث بها، إذ يمكن أن يحدث هذا التسمم بفعل كميات قليلة جداً من الذيفانات المعوية، وإن وجود أعداد كبيرة من المكورات العنقودية الذهبية يعد دليلاً على وجود الذيفان في الغذاء، إلا أن غياب هذه الجراثيم من الغذاء لا يعد دليلا كافياً على غياب الذيفان، ولذلك يجب أن تشمل الاختبارات التحري عن كل من المكورات العنقودية الذهبية ووجود الذيفان العنقودي المعوي.

إن المكورات العنقودية الذهبية هي كائنات تعايشية Commensal organism تعيش على أجسام الإنسان والحيوان، وبالتالي يعد الأشخاص العاملين بالغذاء هم المصدر الأكثر شيوعاً لتلويث الغذاء [6]، ومن المهم أن تكون طرائق الكشف عن الذيفانات العنقودية المعوية حساسة جداً، نظراً لقوة هذه الذيفانات وقدرتها على احداث المرض حتى ولو تواجدت بتراكيز صغيرة جداً، وقد أجريت العديد من الأبحاث بغية تطوير طرائق تحديد الذيفانات المعوية في الغذاء، ولاتزال ثمة حاجة لتطوير أو تحسين دقة الكشف LOD (limit of detection) نظراً لتوافر هذه الذيفانات بكميات ضئيلة جداً في الغذاء، ومن أنظمة الكشف المستخدمة في التحري عنها طريقة مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم المسماة بالاليزا ELISA (Enzyme-linked immuno sorbent assay)، التي تتميز بسرعة الانجاز نظراً لعدم الحاجة إلى تركيز المادة الغذائية على الإطلاق أو تركيزها بشكل بسيط، كما تتميز بحساسيتها العالية وسهولة التقدير، وتعد طريقة Sandwich ELISA الطريقة الأنسب نظراً لتوفر كواشفها تجارياً وبصورة شبه جاهزة [7].

يتضمن هذا البحث دراسة تأثير درجة حرارة حفظ بعض المصنعات اللحمية، سواءاً عند درجة حرارة التبريد أو عند درجة حرارة، وكذلك تأثير طريقة تغليفها سواءاً تغليفاً بدون تفريغ وضمن أكياس من البولي ايتيلين المعقمة، أو تغليفاً بالتفريغ، في نمو وتطور تعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية وانتاج الذيفانات العنقودية المعوية فيها.

الدراسة المرجعية

Review of Literature

1. الأهمية الغذائية للحوم والمصنعات اللحمية Nutrition Importance of Meats and Meat Products

تحتل اللحوم والمصنعات اللحمية مكاناً مهماً في حياتنا اليومية، وتلعب نوعية المصنعات اللحمية المستخدمة في الغذاء دوراً مهماً في غذاء الإنسان [8]، إذ تتمتع بقيمة غذائية عالية فهي تمد الجسم بالبروتينات التي تحتوي على كافة الأحماض الأمينية الأساسية التي يحتاجها الجسم ولا يستطيع تخليقها، للحفاظ على صحة العضلات والعظام والجلد والشعر والدم والغدد وأجهزة الجسم الأخرى، بالإضافة إلى تجديد الخلايا التالفة وتصنيع خلايا جديدة، ويحتاج الإنسان من 50 إلى 60 غرام من البروتين يومياً، إذ تحتوي المائة غرام من اللحم على 20 غراماً من البروتينات وسطياً، وهو ما يعني أن المائة غرام من اللحم يوفر نحو ثلث الاحتياج البروتيني اليومي، كما تحوي بعض المنتجات اللحمية على كمية عالية من الأحماض الدهنية غير المشبعة مثل أوميغا 3 (omega-3) ذات التأثير الايجابي على كل من القلب والأوعية الدموية، إضافة إلى قدرتها على خفض مستويات الكوليسترول LDL ومستويات ضغط الدم، وهذا بدوره ووفقاً لجمعية القلب الأمريكية American Heart Association يخفض من خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية وعدم انتظام ضربات القلب، إضافة إلى احتوائها على العديد من المعادن بما في ذلك المغنيسيوم الضروري لبناء عضلات قوية، والحديد الذي يساعد على نقل الأكسجين في الجسم عن طريق الدم إضافة إلى مد الجسم بالزنك المهم للحفاظ على نظام الجهاز المناعي، كما تحتوي اللحوم ومصنعاتها على آثار من العديد من الفيتامينات المختلفة، كفيتامين E، ومجموعة فيتامين B [9]، ويوضح الجدول رقم (1) التركيب الكيميائي لأنواع مختلفة من اللحوم والمصنعات اللحمية.

جدول (1): التركيب الكيميائي لأنواع مختلفة من اللحوم والمصنعات اللحمية

نوع اللحم و المصنع اللحمي	الرطوبة %	البروتين %	الدهن %	الرماد%
لحم عجل Beef meat	70–68	19.4–19.1	12–5	1.3 –1.0
لحم خنزير Pork meat	58 –49	16.4–13.5	37 –25	0.9 –0.7
لحم غنم Lamb meat	65 –48	–12.8 18.6	37–16	0.9–0.8
نقانق بولونا Bologna	62	14.8	16	3.3
نقانق الخنزير Pork sausage	42	10.8	45	2.1
فرانكفورتر frankfurter	64	15.2	14	3.1
السلامي salami	31	23.9	37	7

المصدر [5]

2. المصنعات اللحمية Meat Products

تطورت في أنحاء العالم مجموعة ضخمة من المصنعات اللحمية المجهزة وشبه المجهزة ذات خصائص مذاقية مختلفة، إذ يقوم المصنعون بإنتاج المئات من أنواع مصنعات اللحوم المختلفة والتي تحمل أسماءاً عديدة وتتميز بخصائص مذاقية خاصة بها، إلا أن كثيراً من هذه المصنعات تستخدم تقانة تجهيز متماثل بالرغم من اختلاف مذاقها وأشكالها، كما تنتشر في معظم دول العالم مصنعات لحوم تقليدية تتعلق بعادات كل منطقة

وتقاليدها، وتكاد تتميز كل دولة أو مدينة بأنواع مصنعاتها من اللحوم وبشكل خاص منطقة البلقان والبحر المتوسط، وثمة أكثر من 200 صنف ونوع من المرتديلات والسجق والنقانق أو مايسمى الصاصيجو، ويمكن حصرها في مجموعات حسب العملية التصنيعية وحسب خاماتها ونسبها، حيث تعتمد جميع عمليات التصنيع على تقطيع اللحوم أو فرمها أو تنعيمها ثم خلطها مع التوابل ومركبات المعالجة التي تتضمن مواد مالئة ورابطة للمكونات ومواد حافظة أو مساهمة في الحفظ، وبشكل عام تختلف المكونات التي تدخل في تقانة مصنعات اللحوم حسب نوعية المنتج، فمثلاً في منتجات السجق وبالإضافة إلى اللحم كمادة رئيسية، يضاف الثوم وملح الطعام من أجل إعطاء المنتج طعم مستساغ ونكهة جيدة، وتضاف أيضاً أملاح التقديد مثل نترات الصوديوم أو البوتاسيوم كمواد مثبتة للون والنكهة ومانعة لنمو بكتيريا الكلوستريديوم السامة. أيضا قد يضاف حمض الأسكوربيك (فيتامين ج) كمادة مانعة لتزنّخ الدهن، ومن المواد الممكن إضافتها أيضاً لمنتجات اللحوم المصنعة دقيق فول الصويا والحليب المجفف والنشا ودقيق القمح التي تحسن قوام المنتج النهائي بالإضافة إلى كونها تقلل من إجمالي التكلفة الإنتاجية [8].

3. فساد اللحوم Meat Spoilage

ذبيحة الحيوان تعد سليمة وخالية من البكتريا أو تحمل عدداً قليلاً منها باستثناء السطح الخارجي للذبائح والمعدة والأمعاء والجهاز التنفسي، ويمكن للكثير من أمراض الحيوانات أن تنتقل للإنسان عن طريق اللحوم، لذلك يجب ذبح الحيوانات بطريقة سليمة وصحيحة والتأكد من خلوها من الأمراض عن طريق الكشف البيطري للحيوان قبل الذبح، كما تؤثر عمليات ذبح وتقطيع وتداول اللحوم في محتواها البكتيري، ويظل احتمال التلوث في كل الخطوات قائماً بدءاً من عملية الذبح وحتى وصول اللحوم للمستهلك إذا لم تتخذ الاحتياطات الكفيلة لمنع وصول الملوثات للحوم[11،10]، تحتوي ميكروفلورا اللحوم أنواعاً عديدة من الجراثيم والخمائر وفطريات العفن التي تنمو بشكل جيد بسبب رطوبة اللحوم العالية ودرجة حموضتها القريب من المتعادل، إضافة إلى احتوائها على مواد غذائية عالية القيمة وسهلة الاستقلاب من قبل الأحياء الدقيقة، إذ تحدث تغيراً فجائياً غير مرغوب في صفات اللحم نتيجة لتحليلها لبعض مكوناته، ولذلك يجب أن يُعطى اللحم ومصنعاته أهمية خاصة للحفاظ على نوعيته وضمان ثباتيته، إذ أن هذا الغذاء يجب ألا يسبب تسممات غذائية وأن لا يفسد خلال فترة حفظه، وغالباً ما تشترك في عملية فساد اللحم ومصنعاته بالدرجة الأولى الجراثيم طالما كانت الظروف عادية، أما عندما تنخفض الرطوبة أو تنخفض درجة الحموضة (pH) فإن الفساد يأتي عن طريق الخمائر وفطريات العفن.

ويعرف فساد اللحوم بأنه عبارة عن تغيير يحدث في طبيعة مكوناته بحيث يجعلها ضارة بالصحة وغير قابلة للاستهلاك، وقد يكون الفساد عن طريق الأحياء الدقيقة كتعرض اللحوم إلى التعفن والتحلل، أو قد تصبح سامة بسبب إضافة المواد الكيميائية، أو فاسدة بسبب تلوثها بالأحياء الدقيقة الممرضة، أما التلف فهو تغير في

الشكل والصفات الفيزيائية أو التركيب الكيميائي، ولكن ليس ثمة ضرر على الصحة عند تناول الغذاء، وبصورة عامة فإن التغيرات التي تطرأ على اللحوم عند فسادها تتوقف على نوع الأحياء الدقيقة المسببة للفساد وكذلك على تركيب اللحوم، فغالباً عندما تتعرض اللحوم للتحلل العميق بفعل الأحياء الدقيقة يتم انتاج غاز الأمونيا وغاز كبريتيد الهيدروجين. أما بالنسبة للدهون فإن بعض الأحياء الدقيقة التي تفرز إنزيم الليباز تحلل المواد الدهنية وتنتج الأحماض الدهنية والغليسيرول[8].

4. البكتيريا المسببة للفساد:

وجد [12] أن نمو وتواجد الكائنات الحية الدقيقة المسببة للفساد تتأثر بشكل كبير بالتركيب الغازي للوسط الجوي المحيط باللحم، فالتغليف بدون تفريغ يمكن أن يسرع التلف نتيجة النمو السريع لجراثيم *pseudomonads*، بينما التغليف بالتفريغ (VP) سيمكن من نمو الجراثيم اللاهوائية المخيرة بما فيها Lactic acid bacteria و Staphylococcal، ووجد [13] أن اللحم المفروم أكثر قابلية للفساد من اللحم العادي بسبب خروج كمية من العصير النسيجي للحم، وكذلك لتوزيع الملوثات على اللحم بعد فرمه، وتؤدي عملية تقطيع وفرم اللحم إلى ازدياد أعداد البكتريا إلى حوالي (50–60) ضعف في الذبائح قبل تقطيعها وفرمها، وبالتالي فإن احتمال وجود بكتريا ممرضة في اللحم المفروم تكون أعلى من الذبائح، وقد أثبتت بعض الدراسات التي أجريت في بريطانيا أن حوالي 50% من اللحم المفروم المعروض للبيع كان ملوثاً ببكتريا *Clostridium perfringen* المسببة للتسممات الغذائية، كذلك تتواجد بكتريا السلمونيلا والمكورات العنقودية الذهبية في اللحم المفروم وقد كانت سبباً في كثير من التسممات الغذائية في كثير من الدول التي يستهلك فيها اللحم المفروم نيئاً مثل ألمانيا.

في حين وجد [14] أن فساد اللحوم المملحة المعالجة المقددة يحدث عن طريق بعض أنواع البكتريا المقاومة للأملاح، إذ تستخدم مادة النتريت والنترات في معالجة اللحوم لحفظها وتحسين اللون والنكهة، ويكون التأثير الحافظ لعملية المعالجة عن طريق خفض كمية الرطوبة المتاحة للحد الذي يمنع من نمو الجراثيم، وتشكل بكتريا Micrococci أهم عوامل فساد اللحوم المعالجة لقدرتها على النمو في وجود كمية قليلة من الرطوبة ولمقاومتها للتأثير الأيوني للأملاح، وكذلك فإن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* المسببة للتسممات الغذائية قد تنمو في اللحوم المعالجة ذات الرطوبة المنخفضة نسبياً إلى الحد الذي يسمح بتكاثرها وافراز ذيفاناتها في مصنعات اللحوم.

5. التسمم الغذائي Food Poisoning

إن من أسباب تلوث المصنعات اللحمية هي طريقة التصنيع والتخزين والتحضير السيء للمادة الغذائية واستخدام آلات وتجهيزات غير معقمة، إضافة إلى العنصر البشري الذي يقوم بعملية النقل أو التحضير أو التخزين، أو أن عبوات التغليف أو المادة الأولية التي صنعت منها المصنعات اللحمية قد تكون ملوثة، وعلى الرغم من أن الغذاء يعد عاملاً ضرورياً للحياة، ووظيفته الأولى هي المحافظة على هذه الحياة، إلا أنه عندما يتلوث بإحدى الطرائق المختلفة فإنه يمكن أن يكون ساماً وأن يصبح هادماً لهذه الحياة، فالتسمم الغذائي يحدث نتيجة تناول الأغذية الملوثة بأنواع مختلفة من الجراثيم أو ذيفاناتها السامة[15].

يعد التسمم الغذائي من الأمراض الشائعة ويتراوح في شدته من كونه خفيف إلى كونه قاتل، ويشير مركز السيطرة على الأمراض CDC إلى أنه في الولايات المتحدة وحدها ثمة حوالي 76 مليون حالة مرض بالتسممات الغذائية، تحتاج 325000 منها إلى معالجة بالمشفى وتسجل 5000 حالة وفاة كل عام [16]، ووفقاً لمنظمة الصحة العالمية فإن عدد الوفيات الحاصل بفعل الاسهال الناتج عن التسم الغذائي بلغ حوالي 2 مليون شخص، إضافة إلى العديد من الحالات التي لا يتم تسجيلها نظراً كون الأعراض خفيفة ويمكن معالجتها بسهولة.

تم حتى الآن رصد أكثر من 200 مرض منقول عن طريق الغذاء، ومن الأسباب المعروفة للتسممات الغذائية هي العوامل المعدية أو العوامل السامة، فالعوامل المعدية هي الكائنات الحية الدقيقة كالجراثيم والفيروسات والطفيليات التي قد تصل إلى الغذاء خلال أي مرحلة من مراحل التحضير والانتاج نتيجة الظروف الصحية غير السليمة وغياب درجة الحرارة المناسبة خلال التحضير والتغليف والنقل والتخزين، أما العوامل السامة فهي كثيرة كالفطريات السامة والمعادن الثقيلة والمبيدات الحشرية والأسمدة وغيرها. ويقسم التسمم الغذائي تبعاً لمسببات العدوى إلى فئتين: العدوى المنقولة بالغذاء والتسممات المنقولة بالغذاء، تحدث العدوى المنقولة عن طريق الغذاء عند استهلاك الغذاء الملوث بمسببات المرض، وتسبب الالتهاب الذي يؤدي بدوره إلى ضعف امتصاص الماء والمواد المغذية، ويظهر ذلك على صورة اسهال وقيء وألم في البطن وحمى وأعراض تشبه أعراض الانفلونزا وألم في الرأس وغيرها، أما التسمم الناجم بفعل الغذاء فيحدث نتيجة تناول الأغذية الملوثة بالسموم، وبالتالي فإن القضاء على الكائنات الحية الدقيقة أثناء الطبخ أو المعاملات أثناء التحضير لن يقضي على الذيفان المستقر حرارياً وستبقى هذه الذيفانات قادرة على احداث التسمم، وتظهر أعراضه على شكل تشنجات شديدة في البطن واسهال وغثيان وقيء وصداع وضعف في الرؤية وفي النبض، وإذا ما تركت بدون علاج فقد تسبب فشلاً عضوياً أو حتى الموت [17].

6. التسمم الغذائي بالعنقوديات Staphylococcal food poisoning SFP

وجد [18] أن اللحوم والمصنعات اللحمية يمكن أن تتلوث بالمكورات العنقودية أثناء الذبح أو المعاملة بعد الذبح، وكذلك أثناء التصنيع والحفظ اذا تمت في ظروف بيئية غير مناسبة، وتعد المكورات العنقودية الذهبية واحدة من أهم الجراثيم المسببة للأمراض المعوية التي تصطنع ذيفاناتها الخارجية في الغذاء الملوث بها وتنتقل عن طريق الغذاء إلى داخل الجسم، إذ تنمو فيه دون أن تسبب أي تغير في مظهر الغذاء ورائحته وطعمه، ومن هنا تنشأ خطورة الإصابة بها، إذ يصبح الغذاء نفسه وسيلة للعدوى.

بينت تقارير مركز السيطرة على الأمراض (CDC) أن نسبة الإصابة بالتسمم الغذائي العنقودي خلال الأعوام (1972–1976)م حوالي 21.4% من اجمالي حالات التسمم الغذائي، وانخفضت هذه النسبة إلى 5.2% خلال (1983–1987)م، وقد يكون الانخفاض انعكاساً لاستخدام درجات حرارة مناسبة في التبريد، إضافة إلى التعقيم والتخزين الجيد واستخدام المواد الحافظة والممارسات الصحية السليمة التي تحد من التلوث، علماً أن عدد حالات الإصابة بالتسمم الغذائي العنقودي أعلى بكثير من حالات تفشي الإصابة بالأمراض الأخرى المنقولة عن طريق الغذاء[19]، كما قدر هذا المركز عدد حالات التسمم الغذائي المنقولة عن طريق الغذاء في الولايات المتحدة وحدها عام 1999م والحاصلة بفعل المكورات العنقودية الذهبية بـ 185000 [20]، وفي اليابان تم الاعلان عن 13420 حالة تسمم غذائي ناتج عن المكورات العنقودية الذهبية عام 2003 [21]، أما في البرازيل فقد بلغ عدد الإصابات بالتسمم الغذائي العنقودي عام 2004م بحوالي 4000 حالة [22]، وبلغ عدد الاصابات بالتسممات الغذائية العنقودية في هونغ كونغ بـ910 حالة من أصل 3049 اجمالي عدد الاصابات عام 2009، وكشفت منظمة سلامة الأغذية الأوروبية The European food safety Authority (EFSA) والتي تجمع بياناتها من 27 دولة من الدول الأعضاء في الاتحاد الأوروبي في تقريرها الصادر عام 2009، أن المكورات العنقودية الذهبية تحتل المرتبة الرابعة من بين الكائنات الحية الدقيقة الأكثر شيوعاً المسببة للأمراض المنقولة عن طريق الغذاء بعد السالمونيلا والفيروسات المنقولة بالغذاء والكامبيلوباكتر[23]. وبلغ عدد الاصابات بالتسممات الغذائية العنقودية بـ 2695 حالة من أصل مايقارب على 49000 حالة تسمم غذائي وشكلت 5.5% من عدد الاصابات الكلي، وذلك على الرغم من اخفاء كل من فرنسا وألمانيا لحوالي 40% من حالات التسمم الغذائي العنقودي[24]، وكشفت عام 2009 عن 43473 حالة إصابة بشرية بالتسممات الغذائية، احتاجت 4695 حالة منها إلى المعالجة بالمشفى وسُجلت 25 حالة وفاة، وكانت الذيفانات العنقودية المعوية (SEs) Staphylococcal Enterotoxins هي المسؤولة عن 2796 حالة من هذه الحالات، ومن الجدير بالذكر أنه توجد صعوبة في توثيق حالات التسمم الغذائي بالعنقوديات نظراً لصعوبة أخذ عينات من المرضى أو لعدم ترك

بقايا من الطعام لفحصها، فعلى سبيل المثال تمكن الأطباء من أخذ عينات من البراز لـ15.3% فقط من المرضى المصابين بالتسممات الغذائية العنقودية، و3.9% فقط من بقايا الطعام.

يحتاج التسمم الغذائي الحاصل بفعل ذيفانات المكورات العنقودية الذهبية SFP لفترة حضانة بعد استهلاك الطعام الملوث بالذيفان تتراوح بين (2–6) ساعات، وتتراوح فترة المرض من (6–24) ساعة وقد تحدث الوفاة بين الرضع أو المسنين أو ذوي المناعة المنخفضة، وتعتمد شدة المرض على كمية الغذاء المهضوم وعلى كمية الذيفان وعلى الحالة الصحية للفرد[25] .

وتتجلى الأعراض الأساسية على الغثيان (100%) والقيء (98%) والاسهال (90%) وتشنجات شديدة في البطن (83%) وقشعريرة (52%) وتعرق (35%) وقد تحدث في بعض الحالات تغيرات في معدل النبض وضغط الدم وحرارة الجسم (21%) [26]، يشمل العلاج الأفضل الراحة وشرب السوائل بكثرة واستعمال الأدوية المهدئة لألام المعدة، أما بالنسبة للمرضى الذين يتأثرون بالتسمم بشكل كبير كالأطفال وكبار السن فهم بحاجة إلى العلاج الوريدي ويجب أن يوضعوا تحت المراقبة والعناية في المستشفى، ويقدر معدل الاستشفاء بحوالي 18% والوفيات بمعدل 0.03% عند عامة الناس، وقد تصل إلى 4.4% عند الأطفال والأشخاص كبار السن [27]. إن الذيفانات المعوية العنقودية شديدة الفعالية حتى لو وجدت بكمية ضئيلة جداً، إذ وجد ووفقاً لمنظمة الغذاء والدواء الأمريكية أن تناول الغذاء الحاوي على 1 µg من الذيفان كافية لإحداث التسمم الغذائي ، ويتم الوصول إلى هذه الكمية عندما تبلغ أعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية إلى (10^6–10^5) cfu/g ، ولكن عند الأشخاص ضعيفي المناعة وذوي الحساسية المرتفعة ممكن أن تكون (100–200) ng كافية لظهور أعراض المرض [28]، علماً أن وجود أعداد كبيرة من هذه الجراثيم يعد دليلاً قوياً على أن الغذاء يحوي على الذيفانات السامة، وأن غياب خلايا هذه الجراثيم لا يعد دليلاً كافياً على غياب الذيفان، ولذلك يجب أن تشمل الاختبارات على كل من المكورات العنقودية الذهبية وذيفاناتها السامة، ومن الجدير بالذكر بأن الأغذية المحتوية على الذيفانات العنقودية المعوية الناجمة عن جراثيم *S. aureus* لا يمكن ملاحظتها حسياً، ويحذر أن يكون اللحم المحتوي على (10^8) cfu/g من هذه الجراثيم والذي يكون طبيعي المظهر أن يكون حاوياَ على الذيفانات المعوية الناجمة عن الجراثيم المذكورة [29]، ومن المهم معرفة أن جراثيم *S.aureus* تتميز بمقاومتها للصادات الحيوية لذلك لاتستخدم الصادات الحيوية كعلاج في هذا النوع من التسممات نظراً لعدم فعاليتها على الذيفان [30].

7. البيئة الطبيعية للمكورات العنقودية Natural Environment for *Staphylococcus* spp

يوجد أكثر من 20 نوع Species من المكورات العنقودية *Staphylococcus* spp التي تنتشر بكثرة في الطبيعة كالماء والهواء والتربة، وتعيش على الطبقة السطحية لأجسام الطيور والثدييات، ويمكن أن تتلوث المنتجات اللحمية بالمكورات العنقودية *Staphylococcus* spp أثناء الذبح أو المعاملة بعد الذبح، وكذلك أثناء التصنيع والحفظ إذا تمت في ظروف صحية غير مناسبة [31]، إلا أن المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* والمكورات العنقودية البشروية *Staphylococcus epidermidis* ترتبط بشكل كبير مع البشر، فغالباً ما تعيش على جلد الإنسان والحيوان، وتتواجد في الأنف والحنجرة والشعر لحوالي 50% من الناس الأصحاء[32]، كما أنها مسؤولة عن أمراض كثيرة كالدمامل والخراجات، وتستقر أحياناً في العظام فتسبب التهاب العظام كما تسبب أحياناً بعض التسممات الغذائية[33]، ولايزال الاعتقاد السائد أن المصدر الرئيس لهذه الجراثيم هو أيدي العاملين في تحضير الغذاء وخاصة المصابين بالآفات الجلدية التي تتميز باحتوائها على هذه المكورات العنقودية[34]، كما يمكن أن تنتقل مع الرذاذ الذي يخرج من فم الشخص المريض عند الضحك أو العطاس وعند التكلم الطبيعي[35]، ومن الجدير بالذكر أن الأغذية التي تتطلب تحضيراً يدوياً كالسلطة والسندويشات هي الأكثر عرضة للتلوث بالمكورات العنقودية الذهبية نتيجة الاتصال مع الأيدي أو مع السطوح الملوثة [37.36].

تنمو المكورات العنقودية في الغذاء دون أن تسبب أي تغيير في مظهره ورائحته وطعمه، خلاياها كروية الشكل موجبة لصبغة غرام، وغير متبوغة [38]، تتواجد مفردة أو في أزواج أو في مجاميع غير منتظمة وبالأخص عندما تُنمى على البيئات السائلة، يتراوح قطرها بين (0.5–1.5) µm، ويتفاوت حجمها بتفاوت السلالات وعمر المزرعة وباختلاف الوسط الغذائي الذي تُنمى عليه، غير متحركة وتستطيع الانقسام في جميع الجهات (3D)، لذا تتوضع بشكل أكوام غير منتظمة على هيئة عناقيد العنب ولهذا السبب تسمى بالمكورات العنقودية كما هو مبين في الشكل (1) [39].

الشكل (1): جراثيم المكورات العنقودية الذهبية

تنمو المكورات العنقودية بسهولة على الأوساط العادية وتأخذ ألواناً مختلفة تمتد من اللون الأبيض حتى الذهبي والأصفر، هذه الأصباغ غير قابلة للذوبان في الماء وخاصة في البيئات المحتوية على تراكيز مرتفعة نسبياً من ملح الطعام، كما يمكن لبعض الأنواع أن تنمو دون أن تكون أصباغ [40]، هوائية لاهوائية مخيرة وتنمو في الظروف اللاهوائية إذا توافرت لها مادة كربوهيدراتية سهلة التخمر مشكلة حمض اللبن (lactic acid)، ولكن تنمو في الظروف الهوائية بدرجة أفضل، كما تتميز أنها سلبية الأوكسيداز وايجابية الكاتالاز [38].

الجدول (2): بعض الخصائص العامة لبعض أنواع المكورات العنقودية

جنس الجراثيم / الاختبار	*S. aureus*	*S.epidermidis*	*S.intermedius*	*S.hyicus*	*S. caprae*
أصبغة المستعمرات (الكاروتينوئيدات)	W	-	-	-	-
النمو على آغار يحوي Nacl %10	+	W	+	+	ND
النمو على آغار يحوي Nacl %15	W	-	d	W	ND
النمو عند درجة حرارة 45°م	+	+	+	W	+
الأكسيداز	-	-	-	-	-
تشكل الحمض من سكر المانيتول	+	-	(d)	-	d
اختبار التخثر (بلازما الأرانب)	+	-	+	d	-
تحلل الدم	+	w	d	-	(W)

المصدر [41]

حيث تشير الرموز:

+	90% أو أكثر من السلالات ايجابية	d	(11-89)% من السلالات ايجابية	W	استجابة ضعيفة
-	90% أو أكثر من السلالات سلبية	ND	عدم القدرة على التحديد		

8. نبذة عن المكورات العنقودية الذهبية Overview of *Staphylococcus aureus*

تم اكتشاف المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* أول مرة عام (1880) ميلادي من قبل الجراح Alexander ogsten عند وجودها في قيح الدمامل، تتواجد المكورات العنقودية الذهبية في الأنف وعلى الجلد والشعر وفي البلعوم وغيرها، وعادة ما تكون الأغذية التي تتطلب عمليات تحضيرية طويلة كالسلطة والساندويش عرضة للتلوث بسلالات المكورات العنقودية الذهبية.

تتميز هذه الجراثيم بما يلي:

- تشكل مستعمرات صفراء ذهبية على البيئات الزرعية الغنية [42].
- **ايجابية** الغرام غير متحركة وغير متبوغة، هوائية لاهوائية مخيرة ولكن نموها في الظروف الهوائية أفضل بكثير من الظروف اللاهوائية، كما تتميز بقدرتها على انتاج ذيفانات معوية عنقودية سواءاً في الظروف الهوائية أو اللاهوائية، إلا أنه يتم في الظروف الهوائية بشكل أفضل [43].
- **ايجابية** الكاتالاز وسلبية الأكسيداز، تميع الجيلاتين وقادرة على تحليل الدم بالشكل α أو β أو (α + β) معاً وذلك عند نموها على بيئة أجار الدم [44].
- متحملة **للملح** ويمكن أن تنمو عند قيم فعالية مائية منخفضة، تخمر العديد من السكريات بما فيها المانيتول، كما أنها قادرة على تحليل البروتين، وغالباً لا تنتج روائح كريهة في الطعام أو أن تجعله غير مقبول[45].
- **حساسة** للأحماض ومنافسة سيئة لها، ولذلك فإن وجود جراثيم حمض اللبن يعمل على تثبيط هذه المكورات العنقودية الذهبية بسبب قدرتها على تشكيل الحمض أولاً وبسبب منافستها لهذه الجراثيم على المغذيات ثانياً، أما الأغذية التي تشكل الخطر الأكبر فهي تلك التي تكون الفلورا الطبيعية لها قد أُتلفت كاللحوم المطبوخة مثلاً، أو قد تم كبحها كاللحوم المقددة والمالحة، كما قد تمارس الميكروفلورا المرافقة لجراثيم *S. aureus* دوراً مانعاً أو مشجعاً لنمو هذه الجراثيم، إذ تلعب جراثيم LAB وجراثيم Pseudomonas دوراً مضاداً لنمو الجراثيم، أما بكتريا القولون فتلعب دوراً مشجعاً لنموها، كما أنها تملك صفة تنافسية في التراكيز الملحية المرتفعة وتكون قادرة على النمو في الأغذية ذات الفعالية المائية المنخفضة حتى 0.85 وعند تركيز ملحي يصل 25%، وتنمو بشكل جيد حتى عند تركيز ملحي (7-10) [46].
- يمكن أن تبقى **فعالة** لعدة سنوات في المنتجات المجمدة.
- يمكن أن تبقى **فعالة** لعدة أسابيع وحتى عدة شهور في المنتجات الجافة.

- **تموت** (تتعطل) عندما تتعرض لدرجة حرارة أعلى من 47 ْم، وبالتالي فإن تسخين الأغذية قبل استهلاكها سيقضي على المكورات العنقودية الذهبية، أما ذيفاناتها فإنها لن تتخرب نظراً لاستقرارها الحراري ومقاومتها العالية للحرارة، فهي لا تتخرب حتى عند تعرضها لدرجة حرارة 100م لمدة 100-70دقيقة، وتستطيع أن تنمو عند تراكيز ملحية تصل إلى 14% [47].

وجد [48] في دراسته التي أجراها بغية التعرف على حدود درجات الحرارة اللازمة لنمو المكورات العنقودية الذهبية وانتاج الذيفان المعوي، وجد أن الحدود الدنيا والعليا للنمو تتراوح بين (6.5- 12.5) ْم، وأن الحدود الدنيا والعليا لتشكل الذيفان تتراوح بين (14-38) ْم وبين (35-44) ْم.

الجدول (3): العوامل المؤثرة على نمو المكورات العنقودية الذهبية

العامل	النمو الأمثل	حدود النمو
درجة الحرارة (م ْ)	35- 41	6- 48
درجة الحموضة (pH)	6-7	4- 10
الفعالية المائية (a_w)	0.99	0.83- 0.99
تركيز الملح (%)	0	0-20
الأوكسجين	وجود الأوكسجين	وجود وغياب الأوكسجين

المصدر[49،50،51،52]

كما تتميز المكورات العنقودية الذهبية بقدرتها على البقاء على قيد الحياة في الأوساط الغذائية وتعد جزءاً من الميكروفلورا الموجودة على أدوات التصنيع والتي تكون سبباً مباشراً في التلوث[53]، وتتأثر بالمعاملات الحرارية وبعوامل التعقيم، لذلك فإن وجود هذه الجراثيم أو ذيفاناتها بأعداد كبيرة في الأغذية المعاملة حرارياً أو على معدات التصنيع يعد مؤشراً على سوء المعاملة وعدم كفاية النظافة الصحية عند اعداد الطعام وضعف عمليات التعقيم، إلا أن وجودها لا يعبر بالضرورة على أن الغذاء قادر على إحداث التسمم الغذائي، إذ أن المكورات العنقودية الذهبية يجب أن تكون قادرة على انتاج واحدا أو أكثر من الذيفانات العنقودية المعوية [54]، وعلى العكس أيضاً فإن تلوث الغذاء بأعداد قليلة من العنقوديات قد يشير إلى التلوث السابق للغذاء بالمكورات العنقودية الذهبية القادرة على انتاج كميات ملحوظة من الذيفانات كافية لإحداث التسمم الغذائي [55]، ولذلك على المحلل القائم على تحليل الغذاء أن يأخذ كل الاحتمالات بعين الاعتبار، ولذلك يتم فحص الغذاء للتحري عن وجود المكورات العنقودية الذهبية و/أو ذيفاناتها للتأكد أو لإثبات فيما إذا كانت هذه الجراثيم هي العامل المسبب للمرض المنقول بالغذاء[56].

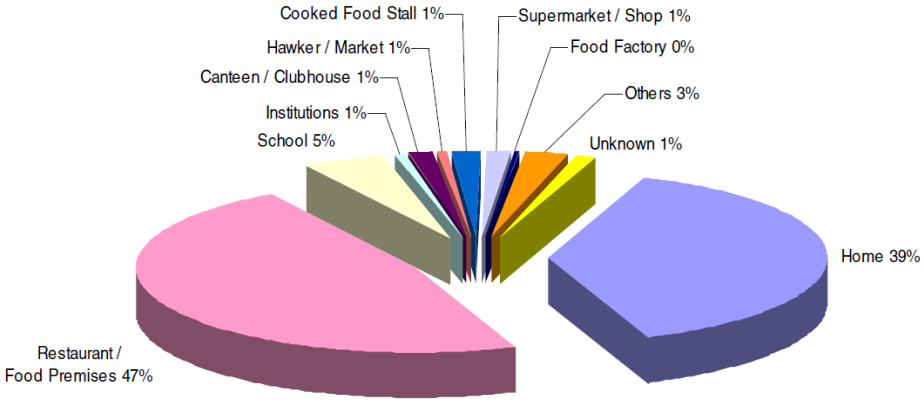
9. الأغذية المرتبطة بالتسمم الغذائي العنقودي Foods Associated with Staphylococcal Food Poisoning

يرتبط التسمم الغذائي بالعنقوديات SFP بالعديد من الأغذية التي تتطلب معالجة كبيرة أثناء التحضير وخاصة تلك التي تحفظ عند درجات حرارة مرتفعة نسبياً بعد التحضير[57]، كما يرتبط عادة مع الأغذية الغنية بالبروتين كاللحوم والمنتجات اللبنية التي تتميز بأنها معقدة من ناحية المحتوى الميكروبي والملح ودرجة الحموضة والمواد المغذية المتوفرة [58]، ففي أغلب الأحيان يمكن أن تصل المادة الغذائية إلى درجة حرارة تسمح بنمو المكورات العنقودية الذهبية الذي يعد ضرورياً لإنتاج الذيفانات المعوية، على الرغم من اكتشاف بعض الحالات التي لوحظ فيها تشكل الذيفان في المزارع غير المحتوية على خلايا الجراثيم، فمن الممكن أن ترتفع درجة حرارة المادة الغذائية نتيجة فشل في عملية التبريد أو نتيجة التساهل في ضبط الحرارة أثناء عملية التصنيع، وتنمو الجراثيم في الغذاء دون أن تؤثر سلباً في جودة المنتج، وبينت احدى الدراسات في الولايات المتحدة أن العوامل الثلاثة الرئيسة التي تساهم في تفشي انتشار المكورات العنقودية الذهبية هي درجة الحرارة غير المناسبة بنسبة (51.6%) وسوء النظافة الشخصية (23.4%) وتلوث المعدات المستخدمة في التصنيع (17.2%) [59].

قام [60] بفحص 350 عينة مختلفة من المواد الغذائية ذات المنشأ الحيواني بغية التحري عن مقدار تلوثها بالمكورات العنقودية الذهبية، ووجد أن حوالي 14% من العينات ملوثة بالمكورات العنقودية الذهبية، وبلغت نسبة تلوث منتجات اللحوم الطازجة 19.3% وتراوح عدد المستعمرات المتشكلة بين (5 و720) cfu/g في اللحوم الطازجة وبين (30 و 2900)cfu/g في اللحوم المغلفة، وكانت نسبة التلوث في الأجبان الطازجة 13.3% وتراوح عدد المستعمرات المتشكلة بين (750 و 2800) cfu/g ، وبلغت النسبة في منتجات المخابز 3.6% وفي المنتجات الأخرى بنسبة 7.7%، وفي دراسة أجراها [61] بغية التعرف على مدى تلوث الأغذية الجاهزة للأكل بالمكورات العنقودية الذهبية، قام بجمع 3332 عينة منوعة، وأثبتت النتائج تلوث 285 عينة (8.6%) من العينات بالمكورات العنقودية الذهبية، وكانت 47% من السلالات المعزولة قادرة على تشكيل نوع أو أكثر من الذيفانات المعوية العنقودية SEA وSEB SEC، وكانت 90% من هذه السلالات قادرة على تشكيل الذيفان المعوي من النوع A على الأقل، ومن أكثر الأغذية التي يحصل التسمم بالذيفانات العنقودية المعوية Staphylococcal enterotoxin نتيجة تناولها هي:

- **الأغذية البروتينية** كاللحوم ومنتجاتها ولحم الدجاج والبيض والأسماك والحليب ومنتجاته.
- **المعجنات** مثل الكاتو المحشو بأنواع القشدة والكعك والتي تعد وسطاً مناسباً لنمو هذه جراثيم، إذ تحفظ غالباً في درجات حرارة.

- **الأغذية المحفوظة** لمدة طويلة في درجات حرارة ملائمة لنمو الجراثيم، كما هو الحال في المطاعم الكبيرة حيث يحفظ الطعام فوق البخار لعدة ساعات حتى وقت الاستعمال[62] [63]، وأضحت الاحصائيات أن حوالي نصف حالات التسمم الغذائي العنقودي حدثت نتيجة تناول الطعام في المطاعم وفي أماكن العمل بنسبة 47%، يليها الطعام المتناول بالمنازل والمدارس بنسبة 39% و 5% على التوالي.



الشكل (2): أماكن استهلاك الأغذية المسببة للتسمم الغذائي العنقودي بين عامي 2001– 2009 المصدر[64]

في دراسة أجراها [65] على 34 عينة من مصنعات اللحوم الجاهزة للأكل والمغلفة بالتفريغ والمحفوظة بدرجة حرارة 21ْ م لمدة 4 أسابيع، بغية التحري عن مدى تطور نمو جراثيم المكورات العنقودية الذهبية فيها، لاحظ ازدياداً في تعداد هذه الجراثيم من 1.1 حتى 5.6 log CFU في المنتجات المخمرة صناعياً (pH ≤ 5.1) وذات مدى واسع من المحتوى الملحي والرطوبي، كما انخفضت من 4.5 حتى 3.2 log CFU في المنتجات المجففة والمقددة (aw ≤ 0.82)، ووجدوا أن المصنعات غير المخمرة وغير المجففة دعمت بشكل واضح نمو المكورات العنقودية الذهبية ولا يمكن اعتبارها مستقرة للتخزين shelf stable، إلا أنهم لم يجدوا مؤشرات واضحة لمدى تأثير pH ونسبة الرطوبة والبروتين والفعالية المائية على نمو جراثيم المكورات العنقودية الذهبية الممرضة وانتاج الذيفانات السامة، وقام [66] بالتحري عن تغير التعداد الجرثومي لبعض أنواع الجراثيم لعينات من السجق (Sujuk) خلال كامل مرحلة الانتاج، ابتداءً من المادة الأولية الخام ثم الخلط والتعبئة وأخيراً المعاملة الحرارية ثم الحفظ لمدة 10 أيام، إذ لاحظ انخفاض أعداد الخمائر والفطور في السجق المحشو بالغلاف الطبيعي أو في أغلفة الكولاجين وذلك بعد المعاملة الحرارية، كما استمرت أعداد العنقوديات والميكروكوكاس بالانخفاض حتى نهاية زمن الحفظ، في حين لاحظ ارتفاعاً ملحوظاً في أعداد جراثيم حمض اللبن حتى نهاية زمن الحفظ، ولهذا ولتحسين الجودة الميكروبية لعينات السجق يجب العمل ما أمكن على تخفيض الحمولة الميكروبية الأولية للحم وللمكونات وتحسين كفاءة التسخين خلال مرحلة المعاملة الحرارية إضافة إلى ضرورة الحفظ بدرجة

حرارة التبريد، ودرس [67] تأثير طريقة التغليف (تغليف بوجود الهواء، وتغليف بالتفريغ، وتغليف بالوسط الغازي المعدل) على بعض الخواص الكيميائية والميكروبية والحسية للبسطرمة، المحفوظة خلال 120 يوماً، ووجد من خلال الدراسة أن التغليف بالوسط الغازي المعدل يحتل المرتبة الأولى من حيث محافظته على الخواص المدروسة، ليحتل التغليف بالتفريغ المرتبة الثانية، وأخيراً التغليف بوجود الهواء، وفي دراسة أجراها [68] بغية التحري عن قدرة المكورات العنقودية الذهبية على انتاج الذيفانات المعوية العنقودية في السجق في مرحلة الانضاج، دلت النتائج أن السجق يعد وسطاً ملاءماً لنمو المكورات العنقودية الذهبية وانتاج الذيفانات المعوية العنقودية وخاصة من الشكل SED عندما يبلغ تعداد هذه الجراثيم $\log_{10}$(cfu/g) 5 أو أكثر من ذلك، ووصلت الجراثيم إلى هذا العدد في اليوم الثالث من الانضاج، واستمرت في الازدياد حتى نهاية زمن الانضاج.

درس [69] التغيرات الحاصلة على البسطرمة المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+20) مْ لمدة 90 يوم، أظهرت نتائج التحليلات الميكروبيولوجية أن متوسط التعداد العام للجراثيم انخفض خلال الحفظ من (log10cfu/g) 6.30 إلى($\log_{10}$cfu/g)4.40، وأيضاً انخفض متوسط تعداد جراثيم *Staphylococci* من (log10cfu/g) 6.21 إلى (log10cfu/g) 4.07، والسبب يعود إلى الظروف اللاهوائية الناتجة عن التغليف بالتفريغ والتي تعيق نمو الجراثيم، إضافة إلى عمليات التخمير والتجفيف الحاصلة خلال فترة الحفظ وإلى التأثير المثبط للجُمن (Cemen). وأظهرت الاختبارات الكيميائية خلال فترة الحفظ أن محتوى الرطوبة تراوح بين (26.07- 35.66)% ، ومحتوى البروتينات (25.36- 41.8)%، والدهون (9.66- 12.96)%، والملح (8.23- 11.67)%، وقيم الـ pH للعينات تراوحت بين (5.44- 5.97)، وأظهرت نتيجة الدراسة أن البسطرمة المغلفة بالتفريغ يمكن أن تحفظ لفترة زمنية حتى 90 يوماً عند درجة حرارة (+20)ْم.

10.العوامل المسؤولة عن نشوء المرض بفعل المكورات العنقودية Factors responsible for the pathogenesis of *Staphylococcus* SPP

تتميز المكورات العنقودية الذهبية وبعض الأجناس الأخرى من المكورات العنقودية بقدرتها على انتاج عدداً من الإنزيمات والبروتينات الخارجية (Exoproteins) القادرة على اجتياح النسج كالذيفانات العنقودية المعوية (Staphylococcal Enterotoxins) التي تعد من أكبر المخاطر المنقولة عن طريق الغذاء في صحة المستهلكين، كما تطرح المكورات العنقودية الذهبية وعدداً محدوداً من المكورات العنقودية بروتيناً هاماً آخر خارج الخلية (Extracellular) يعرف باسم انزيم التخثر (Coagulase)[70]، يساعد إنزيم التخثر على اجتياح أو غزو النظام المناعي الدفاعي للمضيف عن طريق تشكيل الخثرات، وتعرف المكورات موجبة التخثر بأنها الجراثيم التي تشكل مستعمرات نموذجية أو غير نموذجية أو كليهما معاً على سطح وسط زرعي انتقائي محدد، وتعطي نتيجة ايجابية لاختبار أنزيم التخثر (Coagulase test)[71]، وعلى الرغم من وجود عدة أنواع من المكورات

العنقودية ايجابية التخثر المنتجة للذيفانات العنقودية المعوية مثل *S.intermedius* التي تعزل من الكلاب وبعض الطيور، وجراثيم *S.hyicus* التي تعزل من الخنازير والدجاج ولحوم بعض العجول، إلا أنها نادراً ما ترتبط بالتسمم الغذائي بالعنقوديات، وبشكل عام يتم التمييز بين المكورات ايجابية التخثر بالاختبارات الكيميائية الحيوية Biochemical tests [73.72] ، ولكن وفقاً للمواصفة القياسية السورية رقم 2003/2822 تعد المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* هي المكورات موجبة التخثر بشكل أساسي [71]، وهذه الصفة هي من أهم الصفات التي تفرق بين المكورات العنقودية الممرضة وغير الممرضة [74].

تتميز (50-70)% تقريباً من سلالات المكورات العنقودية الذهبية بقدرتها على انتاج الذيفانات العنقودية المعوية التي تعد العامل المسبب للتسمم الغذائي بالعنقوديات SFP (Staphylococcal food poisoning) [76.75]، وفي دراسة أخرى تم فيها فحص عينات غذائية جاهزة للاستهلاك المباشر للتحري عن العنقوديات، وجد تلوث عدد كبير من العينات بالمكورات العنقودية الذهبية، وكانت 30.5% من سلالات المكورات العنقودية الذهبية قادرة على انتاج واحد على الأقل من الذيفانات العنقودية المعوية (SEs) الخمسة الأكثر شيوعاً، بينما لم تنتج العنقوديات سلبية التخثر أي من هذه الذيفانات، مما يظهر مدى أهمية الوقاية الصحية من هذه الجرثومة منعاً من انتشارها وبالتالي انتشار التسممات الغذائية الناتجة عنها [77] .

في دراسة أجراها [78] في فرنسا حول مدى تفشي المكورات العنقودية الذهبية في الأغذية المعدة للاستهلاك، دلت النتائج على وجود 213 سلالة من المكورات العنقودية الذهبية تم عزلها من 121 صنف من المواد الغذائية المختلفة، وعند دراسة مدى قدرة هذه السلالات على انتاج الذيفانات العنقودية المعوية دلت النتائج أن حوالي (30.5)% من السلالات قادرة على انتاج واحد على الاقل من الذيفانات العنقودية الأكثر شيوعاً، بينما لم تكن المكورات العنقودية سالبة التخثر قادرة على تشكيل أي من هذه الذيفانات.

11. نبذة عن الذيفانات المعوية العنقودية Overview of Staphylococcal Enterotoxins (SEs)

يعرف ذيفان المكورات العنقودية الذهبية بالذيفان المعوي Enterotoxin نظراً لقدرته على تشجيع فقد الماء من الغشاء المخاطي للأمعاء الدقيقة مما يؤدي إلى حدوث القيء والاسهال، وهو من المواد الاستقلابية التي تنتج بفعل المكورات العنقودية الذهبية وتعد من أخطر مسببات التسمم الغذائي في صحة المستهلكين[79] ، وقد تم التعرف حتى الآن على 21 نوع من الذيفانات المعوية العنقودية إلا أن البعض منها فقط قد تمت دراسته بعمق، ترمز هذه الذيفانات من SEA إلى SEIV [80 81]. ماعدا SEF الذي يعرف بمتلازمة الصدمة السُمية ولا يعد بمثابة ذيفان معوي إذ أنه لايسبب القيء الذي يعد من السمات المميزة للذيفانات المعوية[82]، إن الأنماط

المصلية للذيفانات العنقودية المعوية تتشابه في التركيب والنشاط الحيوي ولكنها تختلف مستضدياً[83]، ولذلك يتم التعرف عليها بناءاً على طبيعة تفاعلها مع أجسام مضادة معينة، باستثناء الأنواع SECs التي تقسم إلى SEC_1 وSEC_2 وSEC_3 ، لأن كل SECs تتفاعل مع نفس الجسم المضاد الرئيس ولكنها تتميز بتفاعلاتها مع أجسام مضادة صغيرة محددة[84]، ومن بين مجموعة الذيفانات هذه تعد الذيفانات A وB وC وD شائعة الانتشار وترتبط باللحوم الحمراء والدجاج ومنتجاتها [85]، ويعد SEA من أكثر الذيفانات المعوية المرتبطة بالتسممات الغذائية شيوعاً في أنحاء العالم، إذ يتميز بقوته ويسبب حوالي 75% من حالات التسمم الغذائي بالعنقوديات الذهبية [86]، ويمكن أن يتشكل عند درجات حرارة تتراوح بين (10– 46)ْم ويزداد تركيز الذيفان المعوي بزيادة درجة الحرارة، كما يتميز بمقاومته للحرارة ولا يتخرب بشكل نهائي عند حرارة الطبخ المعتادة [87]، بينما يحتل SED المرتبة الثانية من حيث الشيوع كذيفان مرتبط بالتسمم الغذائي العنقودي، وتظهر احدى الدراسات أن كمية صغيرة جداً من هذا الذيفان كافية لإحداث التسمم الغذائي[88] ، كما أن SEE مسؤول عن بعض حالات التسمم الغذائي، أما SEF فيرتبط بمرض الصدمة السمية، بينما لم تُدرس الذيفانات SEG وSEH وSEI بشكل كافي على الرغم من أنه قد تم تسجيل حالة تسمم غذائي واحدة في تايوان مرتبطة بهذه الذيفانات[89] ، وأيضاً تم تسجيل حالة تسمم غذائي واحدة بفعل SEH مرتبطة باستهلاك الحليب في اليابان عام 2000 [90].

جدول (4): الصفات المميزة لبعض الذيفانات المعوية العنقودية الشائعة SEs

الذيفان المعوي العنقودي	السمة أو الميزة
SEA	الذيفان الأكثر شيوعاً المرتبط بالتسممات الغذائية
SEB	تمت دراسته لاستخدامه كسلاح حيوي
SEC	يُعزل بشكل شائع من الحيوانات
SED	يرتبط بالتسمم الغذائي
SEE	يرتبط بالتسمم الغذائي
SEF	يرتبط بأعراض الصدمة السُمية
SEG	دوره ثانوي في التسمم الغذائي
SHE	يرتبط بالتسمم الغذائي
SEI	دوره ثانوي في التسمم الغذائي

المصدر [91]

وتتميز الذيفانات العنقودية المعوية بالسمات التالية:

- بروتينات **خارجية** وحيدة السلسلة ذات وزن جزيئي (26–29)kDa [92].
- **لا تتأثر** بالتجميد أو التجفيف ولكنها تتخرب بالاشعاع.
- **تختلف** فيما بينها بدرجة السمية وبدرجة استقرارها للحرارة، ولكنها بشكل عام ذات مقاومة عالية للحرارة، إذ أن درجة الحرارة والزمن المستخدم في عملية طهي الأغذية لا تحطم هذه الذيفانات[93]، ولذلك يمكن أن يتبين من خلال التحري عن هذه الجراثيم في الأغذية المسؤولة عن حالات تفشي التسمم الغذائي أنها خالية من الجراثيم إلا أنها تكون حاوية على هذه الذيفانات وبتراكيز عالية [94]، ومن خلال التجارب التي أجراها [95] وجد أن هذه الذيفانات لم تتحطم بشكل كامل عند المعاملة لمدة 30 دقيقة على حرارة 95 ْم، وبالتالي فإن اعادة تسخين المنتجات الغذائية بعد تشكل SEs غير فعال في منع حدوث التسمم الغذائي، وقد تم ايجاد بعض الشروط البيئية التي تؤثر في انتاج الذيفانات العنقودية المعوية كما في الجدول (5).

الجدول (5): بعض الشروط البيئية التي تؤثر في تشكل الذيفانات العنقودية المعوية الأكثر شيوعاً والمرتبطة بالتسممات الغذائية

العامل	التشكل الأمثل للذيفان	حدود تشكل الذيفان	الذيفان/الذيفانات التي تتأثر	ملاحظات تؤثر في تشكل الذيفان
درجة الحرارة (ْم)	34– 40	10– 46	SEA. SEB. SEC. SED	تؤثر درجة الحرارة في تشكل الذيفانات أكثر من تأثيرها في نمو الجراثيم
درجة الحموضة (pH)	7– 8	5– 9.6	SEA. SEB. SEC. SED. SEE	يزداد تحملها للحمض في الظروف الهوائية، يثبط حمض اللبن بشكل خاص تشكل الذيفان
الفعالية المائية (aw)	0.99	0.86– 0.99	SEA. SEB. SEC. SHE	SEB. SEC أكثر حساسية من SEAو SHE. يتم انتاج الذيفان المعوي SHE عند فعالية مائية: 0.95>1>0.97
تركيز الملح (%)	0	12 >	SEA. SEB. SEC	يزيد الضغط الحلولي المنخفض من تشكل الذيفان المعوي، يتأثر تشكل SEB بشكل أكبر من نمو الجراثيم
الأوكسجين	وجود الأوكسجين	وجود وغياب الأوكسجين	SEA. SEB. SEC. SHE	النسبة المثلى من الأوكسجين المنحل لتشكل SEB هي 10%

المصدر [97.96]

في دراسة أجراها [98] على الوسط الزرعي الصناعي Brain Heart Infusion Broth، قام فيها بدراسة تأثير درجة الحرارة في تشكل الذيفانات العنقودية المعوية ، وجد أن هذه الذيفانات ممكن أن تتشكل عند جميع درجات الحرارة المدروسة (10– 15– 37)ْم، وأن تركيز هذه الذيفانات المتشكلة تكون أكبر عند درجات الحرارة المرتفعة مقارنة مع الدرجة +10ْم التي تشكل عندها التركيز الأدنى من الذيفان، كما لوحظ أن انخفاض درجة الحموضة pH يبطئ من سرعة تشكل الذيفانات العنقودية المعوية وخاصة إذا كان انخفاضها يتم بفعل حمض اللبن مقارنة مع حمض كلور الماء[99]، ويمكن أن يتم انتاج الذيفانات العنقودية المعوية عند درجة حرارة (10)ْم ولكن بدرجة قليلة، وأيضاً يكون انتاج الذيفانات عند درجة حرارة أقل من (20)ْم بطيئاً، فعلى سبيل المثال عند pH.7.0 يكون الزمن اللازم لتشكيل أو انتاج كميات قابلة للكشف من الذيفانات العنقودية المعوية تتراوح بين (78 – 98) ساعة عند درجة حرارة (19)ْم، مقارنة مع (14–16) ساعة عند درجة حرارة (26) ْم [100].وأيضاً يختلف انتاج الذيفان المعوي باختلاف قيم النشاط المائي، إذ يتم إنتاج SEA عند قيم فعالية مائية أقل من القيم التي يتم عندها انتاج SEB، وأوضحت بعض التجارب على الأغذية أنه يمكن أن يتم انتاج SEA في بعض الأغذية عند قيم فعالية مائية منخفضة أي أقل من 0.90، بينما انتاج SEB يحتاج إلى قيم أعلى من 0.90، والقيمة المثالية لكليهما هي 0.99 [101]، وعلى الرغم من أن المكورات العنقودية الذهبية تستطيع أن تنمو في الظروف الهوائية واللاهوائية، إلا أن نموها في الظروف اللاهوائية يكون أقل بكثير، وحتى بعد مضي عدة أيام فإن أعداد الجراثيم لاتصل إلى مثل الأعداد التي تصل إليها في الظروف الهوائية، وعلى الرغم من أن بعض الباحثين أفادوا بإمكانية انتاج الذيفان المعوي في بعض الأغذية في الظروف اللاهوائية، فإنه لم يكن بمقدور آخرين التوصل إلى مثل هذه النتائج، ولا يوجد دليل على انتاج الذيفان المعوي في الأغذية المعبأة تحت التفريغ. ووجد أن الذيفان العنقودي المعوي A يتشكل في النقانق وبكمية جيدة عندما يصل عدد خلايا المكورات العنقودية الذهبية إلى (4×10^7) cfu/g وذلك خلال 24 ساعة في جو يحوي على تركيز أوكسجين أكثر من 10% وعند درجة حرارة (19)ْم، أما عندما يكون تركيز الأوكسجين 5% فإن الكمية الملحوظة من الـSEA ستتشكل بعد 48 ساعة، أما في الظروف اللاهوائية فلم يتشكل الذيفان حتى بعد 120 ساعة [102].

12.طرائق التحري عن المكورات العنقودية الذهبية وذيفاناتها Methods of Estimating *Staphylococcus aureus* and Their Enterotoxins

تعتمد المعايير الأوروبية بالتحري عن الكائنات الحية الدقيقة على التعداد العام واستعمال البيئات الانتقائية للعينات المخففة، ويمكن أن يصل حد الكشف في هذه الطريقة إلى 20 cfu/g، وذلك بإضافة 1مل من المحلول المخفف على سطح ثلاثة أطباق بتري تحوي على وسط الآغار[103]، وفي الوقت الحالي فإن الطريقة المعيارية المتاحة للكشف عن المكورات العنقودية ايجابية التخثر بما فيها المكورات العنقودية الذهبية في

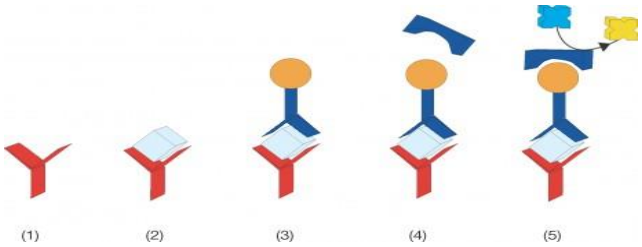
الأغذية تعتمد على الاكثار الانتقائي ثم عزل المستعمرات بالاعتماد على الخصائص الشكلية، تتميز هذه الطريقة بصعوبتها وباستهلاكها الكثير من الوقت، كما أنها قد لا تكون موثوقة بشكل كافي لتنميط مستعمرات جراثيم *S. aureus*، إذ يعد الوسط الزرعي Baird-Parker agar مع صفار البيض القياسي وتيلورايت البوتاسيوم من الأوساط المستخدمة على نطاق واسع وبشكل مقبول في التحري عن المكورات العنقودية الذهبية ايجابية التخثر، إلا أن اختزال التيلورايت والتغير الحاصل في صفار البيض القياسي تعد من أنظمة التشخيص الضعيفة للعديد من المواد الغذائية، ويعد هذا الوسط غير انتقائي بشكل كامل، وبالتالي يعكس هذا الأمر نتائجاً لايمكن الاعتماد عليها في حالة العينات الحاوية على مستويات عالية من الفلورا، وكذلك في حال وجود أعداد كبيرة من الجراثيم التي تملك مستعمراتها خواصاً شكلية مشابهه للمكورات العنقودية الذهبية [104].

إن المشكلة الكبرى في تحديد الذيفانات المعوية في الأغذية هو أن تركيزات ضئيلة جداً منها كافية لاحداث التسمم الغذائي، والطريقة الأحدث المستخدمة في التحديد النوعي والكمي للذيفانات في الأغذية هي اتباع تحاليل مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم المسماة بالاليزا Enzyme- Linked Immunosorbent Assay (ELISA)، التي تتميز بامتلاكها لدرجة عالية من الخصوصية، إضافة إلى حساسيتها الفائقة والتي تعود إلى الطبيعة المناعية لهذه التحاليل، حيث تعطي الطرائق الكيفية نتيجة إيجابية أو سلبية لعينة ما، أما في الطرائق الكمية فيتم إدراج وحدات التألق أو الكثافة الضوئية في منحنى معياري يتم رسمه بدءاً من سلسلة تمديدات للمادة المراد معايرتها [105]، فعند استخدام هذه الطريقة في الكشف عن ذيفانات المكورات العنقودية الذهبية من الأنواع SED. SEC. SEB. SEA في العينات الحاوية على هذه الذيفانات أو الملوثة بسلالات المكورات العنقودية الذهبية القادرة على تكوين هذه الذيفانات، وصلت حدود الكشف بالأنواع الثلاثة الأولى من الذيفان في عينات لحوم الأبقار المقلية إلى (22.2)ng/ml ، بينما وصلت بالنسبة للنوع SEC إلى (783)ng/ml [106]، ومن بين طرائق الاليزا تعد طريقة sandwich ELISA الطريقة الأنسب نظراً لأنها سريعة وقادرة على تمييز الذيفانات الأكثر شيوعاً المرتبطة بالغذاء وبالتسممات الغذائية A، B، C، D، E ، كما أن كواشفها متوفرة تجارياً ولا تحتاج إلى تحضير معقد[107]، إذ يؤمن هذا الكيت القياس المناعي البصري السريع للذيفانات العنقودية المعوية، وتحدد بشكل خاص الذيفانات E.D.C.B.A في العينات الغذائية حتى في حال غياب الجراثيم الحية، وتؤمن النتائج خلال ساعات محدودة فقط [108].

14. لمحة عن طريقة مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم المسماة بالاليزا Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA) هي تقنية كيميائية حيوية مناعية عالية الحساسية، وهي بنفس الوقت فحص بسيط وسريع وعالي الحساسية وغير خطير، يتطلب تحضيرات ذات تكلفة منخفضة، كما أن تحضير العينة يتطلب حوالي 15 دقيقة فقط، تستخدم هذه الطريقة حالياً لكشف وتقدير أنواع متعددة من الجزيئات العضوية مثل الهرمونات والمواد الصيدلانية والذيفانات وغيرها، إذ تتميز بامكانية الكشف عند تراكيز منخفضة جداً تصل إلى مرتبة البيكو غرام، كما أنها تحتاج إلى حجم صغير للعينة وتتطلب تركيز المادة بشكل بسيط أو قد لا تتطلب تركيزها على الاطلاق، إضافة إلى امكانية الحصول على النتيجة خلال عدة ساعات، وبالتالي فهي توفر الوقت وتؤمن الحساسية العالية المطلوبة.

يعتمد مبدأ اختبار الإليزا على استخدام حجرات تفاعل تم تثبيت الأضداد أو المستضدات على جدرانها كما في (1) بالشكل (3)، ففي حالة البحث عن مستضد معين في المصل يتم تثبيت الضد النوعي له على جدران الحجرة، ثم يضاف المصل المتوقع احتواؤه على المستضد المجهول إلى الحجرة، ويتم التحضين للسماح للضد بالارتباط مع المستضد، في الحالة الايجابية (وجود المستضد) يتشكل معقد ضد– مستضد مرتبط بجدار الحجرة لا يزول هذا المعقد بالغسيل كما في (2)، ثم يضاف ضد نوعي آخر للمستضد الذي نبحث عنه ولكنه موسوم بالأنزيم وكما في المرة السابقة نحضن ونغسل كما في (3)، في الحالة الايجابية يرتبط الضد الموسوم مع مستضده ويتشكل معقد ضد– مستضد– ضد موسوم لا يزول بالغسيل، ثم نضيف الركيزة التي يعمل عليها هذا الأنزيم كما في (4)، مما يؤدي في الحالة الايجابية إلى حدوث تفاعل لوني تتناسب شدته مع تركيز المستضد في المصل كما في (5)، تسمى الطريقة السابقة بالاليزا بطريقة الساندويش Sandwich Elisa لأن المستضد أصبح وكأنه شريحة الهامبرغر بين قطعتي الصمن (الضد– الضد الموسوم)، وفي حال البحث عن الضد في المصل تربط جدران الحجرات بالمستضد النوعي ثم نضيف المصل ونحضن ونغسل، في الحالة الايجابية سيتشكل معقد مستضد– ضد مرتبط بجدار الحجرة لا يزول بالغسيل، يضاف بعد ذلك الضد النوعي الموسوم بالأنزيم، في الحالة الايجابية سيتشكل معقد مستضد– ضد– ضد الضد موسوم بالأنزيم، ثم تضاف الركيزة التي تتفاعل مع الأنزيم في حال وجوده ليحدث تفاعل لوني تتناسب شدته مع تركيز الضد في المصل. تسمى الطريقتين السابقتين من تفاعل الإليزا بالإليزا اللاتنافسية التي يتناسب فيها اللون الناتج طرداً مع تركيز الضد أو المستضد.



الشكل (3): مبدأ طريقة الساندويش اليزا (Sandwich Elisa)

ثمة نمط آخر من تفاعلات الإليزا يسمى الإليزا التنافسية وفيها يتناسب المعقد اللوني الناتج عكساً مع تركيز الضد أو المستضد الذي نبحث عنه، فمثلاً عندما يتم البحث عن ضد معين يتم تغليف جدران الحجرات بالمستضد النوعي ونضيف المصل المتوقع احتواؤه على الضد إلى الحجرة وفي نفس الوقت يضاف الضد الموسوم بالأنزيم ليتنافس هذا الضد الموسوم مع الضد الذي يتم البحث عنه. ولكن كما نعلم أن الضد الطبيعي الذي نبحث عنه أكثر ألفةً وقدرةً على الارتباط مع المستضدات لذلك وفي الحالة الايجابية يزيح هذا الضد الطبيعي الضد الموسوم الصناعي ويمنعه من الارتباط مع المستضدات المرتبطة بجدار الحجرة فيزول الضد الموسوم بالغسيل وبالتالي عند إضافة الركيزة لن تجد الأنزيم ولن يحدث التفاعل اللوني وبالتالي كلما كان تركيز الضد الذي نبحث عنه أكبر كلما كانت شدة التفاعل اللوني أقل (التناسب عكسي هنا) [109] .

أهمية البحث وأهدافه

Objectives of the Research and its Importance

نظراً لانتشار المصنعات اللحمية المختلفة التي تتم صناعتها بطرائق تقليدية ودون اتباع الظروف الصحية السليمة، مما يسمح بتلوثها بأنواع مختلفة من الجراثيم، وتطور الأعداد الجرثومية فيها إلى قيم مرتفعة بحيث تكون قادرة على انتاج الذيفانات السامة التي قد تؤدي إلى الوفاة في بعض الحالات، ونظراً لقلة الأبحاث المتعلقة بمدى انتشار تلوث المصنعات اللحمية بالعنقوديات وذيفاناتها في السوق المحلية وطرائق حفظها، **ولهذا يهدف البحث إلى:**

1. التحري عن وجود جراثيم المكورات العنقودية وتحديد حجم التلوث بها في بعض المنتجات اللحمية كالنقانق والبسطرمة الطازجة وغير المعاملة حرارياً، والسجق المعرض لمعاملة حرارية جزئية.
2. تصنيف الأنواع التابعة لهذا الجنس باستخدام الأوساط الزرعية الانتقائية المتخصصة.
3. التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية التي تفرزها المكورات العنقودية الذهبية باستخدام تقنية مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم (الإليزا) Enzyme Linked Immunosorbent (ELISA) Assay .
4. دراسة تأثير الحفظ عند درجة حرارة التبريد (+8)°م ودرجة حرارة (+25)°م، على مستوى الحمولة الجرثومية العامة، وتعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية، والذيفانات العنقوية السامة Staphylococcal Enterotoxins لعينات النقانق والسجق والبسطرمة المدروسة المغلفة بالتفريغ وبدون تفريغ، والمحفوظة لفترات زمنية مختلفة.

مواد البحث وطرائقه

Materials and Methods

1. مكان تنفيذ البحث:

تم تنفيذ البحث في مخبر تكنولوجيا اللحوم في قسم تقانات الهندسة الغذائية – كلية الهندسة التقنية بجامعة حلب، إضافة إلى مخبر الميكروبيولوجيا والصناعات الميكروبية في قسم علوم الأغذية – كلية الزراعة بجامعة حلب.

2. مواد البحث:

a) العينات:

جمعت العينات المستخدمة في الدراسة من لحامين منتشرين في مناطق مختلفة في مدينة حلب، ووضعت في أكياس معقمة من البولي ايتيلين، ونقلت في حافظة مبردة مباشرة إلى المخبر للبدء بالاختبارات، والعينات المستخدمة هي:

- 10 عينات من النقانق الطازجة غير معالجة حرارياً ومعرضة للتجفيف بالهواء لوقت قصير، ومأخوذة من مراكز انتاج مختلفة.
- 10 عينات من السجق المعرضة لمعاملة حرارية جزئية بالتجفيف الجزئي هوائياً ومأخوذة من مراكز انتاج مختلفة.
- 10 عينات من البسطرمة الطازجة غير معالجة حرارياً من مراكز انتاج مختلفة.

b) أوساط النمو:

استخدمت أوساط النمو التالية:

1) ماء الببتون الدارئ Buffered Peptone Water:

وسط غير انتقائي، تكمن الأهمية في استخدامه كونه يمهد لنمو الجراثيم الضعيفة، كما يعمل على تنشيطها مما يسهل عملية الكشف عن وجودها [110].

2) وسط الآغار المغذي Nutrient Agar:

وسط غير انتقائي استخدم لتقدير التعداد العام للجراثيم، وفحصت الأطباق بعد انتهاء فترة التحضين التي استمرت 48 ساعة عند درجة حرارة 35 ْم، وأحصيت المستعمرات النامية باستعمال جهاز عد المستعمرات، وتم حساب متوسط العدد الكلي للجراثيم في العينات المدروسة [110].

3) وسط Baird Parker Agar مع صفار البيض القياسي وتيلورايت البوتاسيوم:

وسط انتقائي وتفريقي استخدم للعزل الانتقائي للمكورات العنقودية ايجابية التخثر، إذ حُضر الوسط الزرعي باتباع التعليمات المكتوبة على العبوة، ثم عُقم بالأوتوكلاف على درجة حرارة 121 ْم وضغط 2 جو مدة 15 دقيقة، وعندما تصل حرارة الوسط بعد التعقيم إلى حوالي 45 ْم، يضاف 10 مل من محلول تيلورايت البوتاسيوم 1%، و15 مل من صفار البيض القياسي لكل ليتر من الوسط الزرعي، وخُضت العبوات بقوة لاتمام التجانس، ثم صُب الوسط الزرعي في الأطباق، ولُقح بمعلق المادة الغذائية المدروسة وحُضن عند درجة حرارة (35–37) ْم لمدة (24–48) ساعة، إذ تشكل جراثيم المكورات العنقودية النموذجية ايجابية التخثر بما فيها *S. aureus* مستعمرات دائرية الشكل يتراوح قطرها ما بين (1.50 – 3) مم، ملساء محدبة رطبة (لامعة) لها قوام دهني عند ملامستها بإبرة الزرع، سوداء أو رمادية محاطة بهالة شفافة، في حين تظهر جراثيم *S.epidermidis* نموات ضعيفة وتشكل مستعمرات سوداء صغيرة غير محاطة بمنطقة شفافة[110].

4) وسط Mannitol Salt Agar (MSA):

وسط انتقائي وتفريقي يتميز باحتوائه على تركيز مرتفع من ملح كلوريد الصوديوم يقدر بحوالي 7.5%، أي أن الجراثيم القادرة على تحمل التراكيز المرتفعة من الملح هي الوحيدة التي تكون قادرة على النمو في هذا الوسط، كما يحوي الوسط أيضاً على كل من المانيتول وأحمر الفينول، فإذا كانت الجراثيم قادرة على تخمير المانيتول سيتشكل حمض، مما يؤدي إلى انقلاب لون مؤشر الـ pH من الأحمر إلى الأصفر، حُضنت الأطباق الحاوية على هذا الوسط الزرعي والملحقة بمعلق المادة الغذائية المدروسة عند درجة حرارة (35) ْم لمدة (18–24) ساعة، تشكل جراثيم *S.aureus* مستعمرات صفراء كبيرة محاطة أو غير محاطة بهالة صفراء، أما *S.epidermidis* فتشكل مستعمرات صغيرة حمراء أو بيضاء محاطة بهالة حمراء [110].

5) وسط Chapman Stone Agar:

وسط انتقائي وتفريقي يستخدم لتميز المكورات العنقودية في الأغذية، يتميز باحتوائه على تركيز عالي من الملح إضافة إلى احتواءه على المانيتول، يستخدم هذا الوسط للتمييز بين المكورات العنقودية الممرضة ايجابية

التخثر الموجودة في الغذاء *S.aureus* التي تتميز بقدرتها على تشكيل مستعمرات ملونة صفراء أو برتقالية محاطة بمنطقة شفافة، و *S.epidermidis* التي تشكل مستعمرات باهتة غير مشكلة للألوان الكثيفة والأصباغ وذلك بعد تحضين الأطباق لمدة (24–48) ساعة بدرجة حرارة (35) °م [110].

c) المحاليل والكواشف:

1) محلول الماء الأوكسجيني H_2O_2 تركيز 3% للكشف عن انتاج الكاتالاز.
2) بلازما الأرانب مع الـ EDITA للكشف عن انزيم التخثر.
3) صبغة غرام Gram staining.
4) المواد والكواشف اللازمة لتقدير الذيفانات العنقودية المعوية باستخدام مجموعة من الكواشف (الكيتات) 3M Tecra™ Staph Enterotoxin visual immunoassay وهي:

- الخلايا الميكروية wells سعة كل خلية 300 µl.
- الركيزة Substrate.
- مضافات العينة Sample Additive .
- الأضداد الموسومة بالإنزيم Conjugate.
- محلول الغسيل Wash Concentrate.
- محلول الايقاف Solution Stop.
- الشاهد الإيجابي Positive Control.
- الشاهد السلبي Negative Control.
- كرت اللون Color Card.

الشكل (4): مجموعة الكواشف (الكيت) المستخدمة في التحري عن الذيفانات العنقودية المعوية

d) الأجهزة:

1) فرن تجفيف لتقدير الرطوبة.
2) جهاز تقدير الفعالية المائية.

3) حاضنات جرثومية.

4) جهاز تعقيم رطب Autoclave (أوتوكلاف).

5) غرفة عزل جرثومي مزودة بلمة عادية ولمبة أشعة فوق بنفسجية ومصدر لهب البنزن.

جهاز تقدير الفعالية المائية

فرن تجفيف تحت التفريغ لتقدير الرطوبة

حاضنة جرثومية

أوتوكلاف

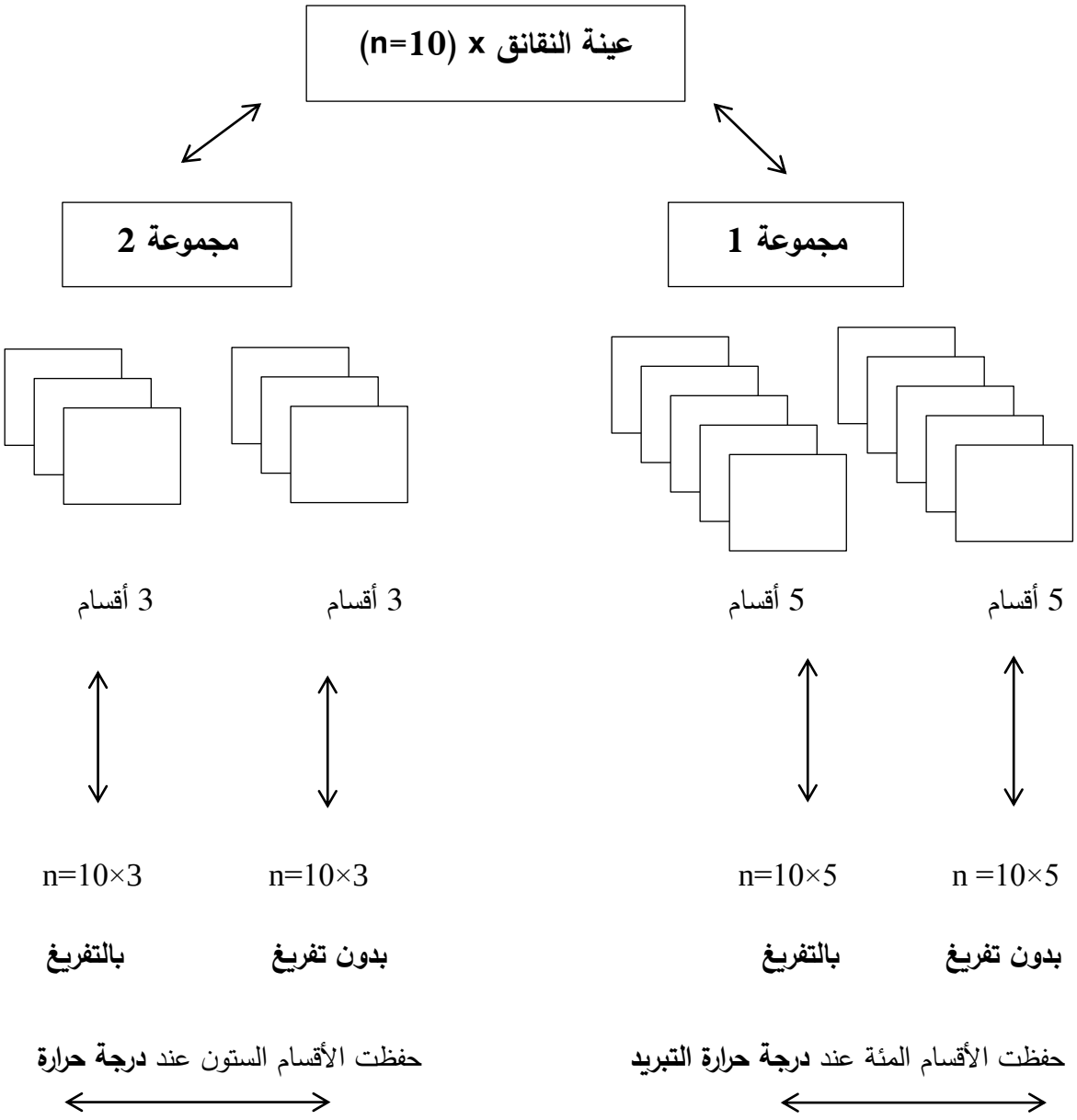
غرفة عزل جرثومي

الشكل (5): بعض الأجهزة المستخدمة في الدراسة

3. طرائق البحث

- **تقسيم عينات النقانق:**

تم في حجرة العزل الجرثومي وبوساطة سكين معقمة تقسيم كل عينة من عينات النقانق وعددها 10 عينات إلى قسمين متناظرين، وقسمت بعد ذلك كل عينة من المجموعة الأولى إلى عشرة أقسام (معاملات)، بينما قسمت كل عينة من المجموعة الثانية إلى ستة أقسام (معاملات)، ووضعت المعاملات جميعها في أكياس من البولي إيتيلين المعقمة والكتيمة للهواء، ثم قسمت أكياس معاملات المجموعة الأولى وعددها 100 معاملة، إلى جزأيين يحوي كل جزء على 50 معاملة، أغلقت عينات الجزء الأول بشكل محكم بدون تفريغ، بينما أغلقت عينات الجزء الثاني وهي 50 معاملة، وأجريت عليها عمليات التفريغ الهوائي باستخدام جهاز إغلاق ولصق مع سحب الهواء بوساطة مضخة تفريغ باستطاعة (0.09)MPa. وبنفس الطريقة تم تقسيم معاملات المجموعة الثانية وعددها 60 معاملة إلى جزأيين، يحوي كل جزء على 30 معاملة، أغلقت عينات الجزء الأول بدون تفريغ، بينما أغلقت عينات الجزء الثاني وعددها 30 معاملة وأجريت عليها عمليات التفريغ الهوائي، ثم رقمت العينات وسجلت البيانات والملاحظات الأولية. حفظت معاملات المجموعة الأولى عند درجة حرارة التبريد (+8)°م، وأجريت الاختبارات الميكروبية خلال فترات زمنية مختلفة (3- 7- 10- 14- 21) يوماً، بينما حفظت معاملات المجموعة الثانية عند درجة حرارة الغرفة (+25)°م، وأجريت الاختبارات الميكروبية خلال فترات زمنية مختلفة (12- 24- 36) ساعة.



أجريت الاختبارات بعد	أجريت الاختبارات بعد
3 أيام	3 أيام
5 أيام	5 أيام
10 أيام	10 أيام
14 أيام	14 أيام
21 يوم	21 يوم

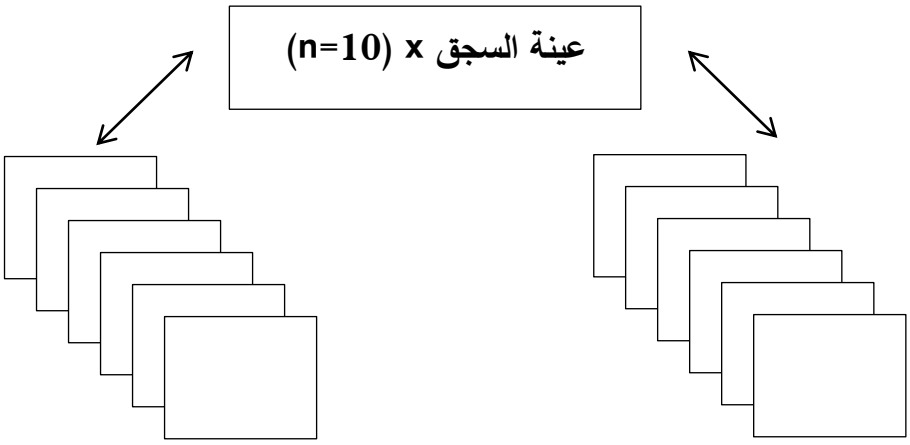
أجريت الاختبارات بعد	أجريت الاختبارات بعد
12 ساعة	12 ساعة
24 ساعة	24 ساعة
36 ساعة	36 ساعة

وبذلك يكون عدد معاملات التجربة للنقانق = 160

المخطط (1): طريقة تقسيم عينات النقانق للتجربة

- **تقسيم عينات السجق:**

تم تقسيم كل عينة من عينات السجق وعددها 10 عينات إلى 12 معاملة، وغلفت جميعها بالتفريغ نظراً لأن نوع السجق المستخدم في الدراسة عادة ما يباع مغلفاً بالتفريغ، ليكون عدد المعاملات الكلي 120 معاملة، وقسمت المعاملات إلى قسمين متناظرين، حيث حفظت معاملات القسم الأول وعددها 60 معاملة عند درجة حرارة التبريد (+8)ْم، في حين حفظت معاملات القسم الثاني وعددها 60 معاملة عند درجة حرارة (+25)ْم، وأجريت الاختبارات الميكروبية خلال فترات زمنية من (1 حتى 6) أسابيع.



حفظت جميع المعاملات بالتفريغ

حفظت الأقسام الستون عند **درجة حرارة التبريد**

أجريت الاختبارات بعد

1 أسبوع
2 أسبوع
3 أسبوع
4 أسبوع
5 أسبوع
6 أسبوع

حفظت الأقسام الستون عند **درجة حرارة**

أجريت الاختبارات بعد

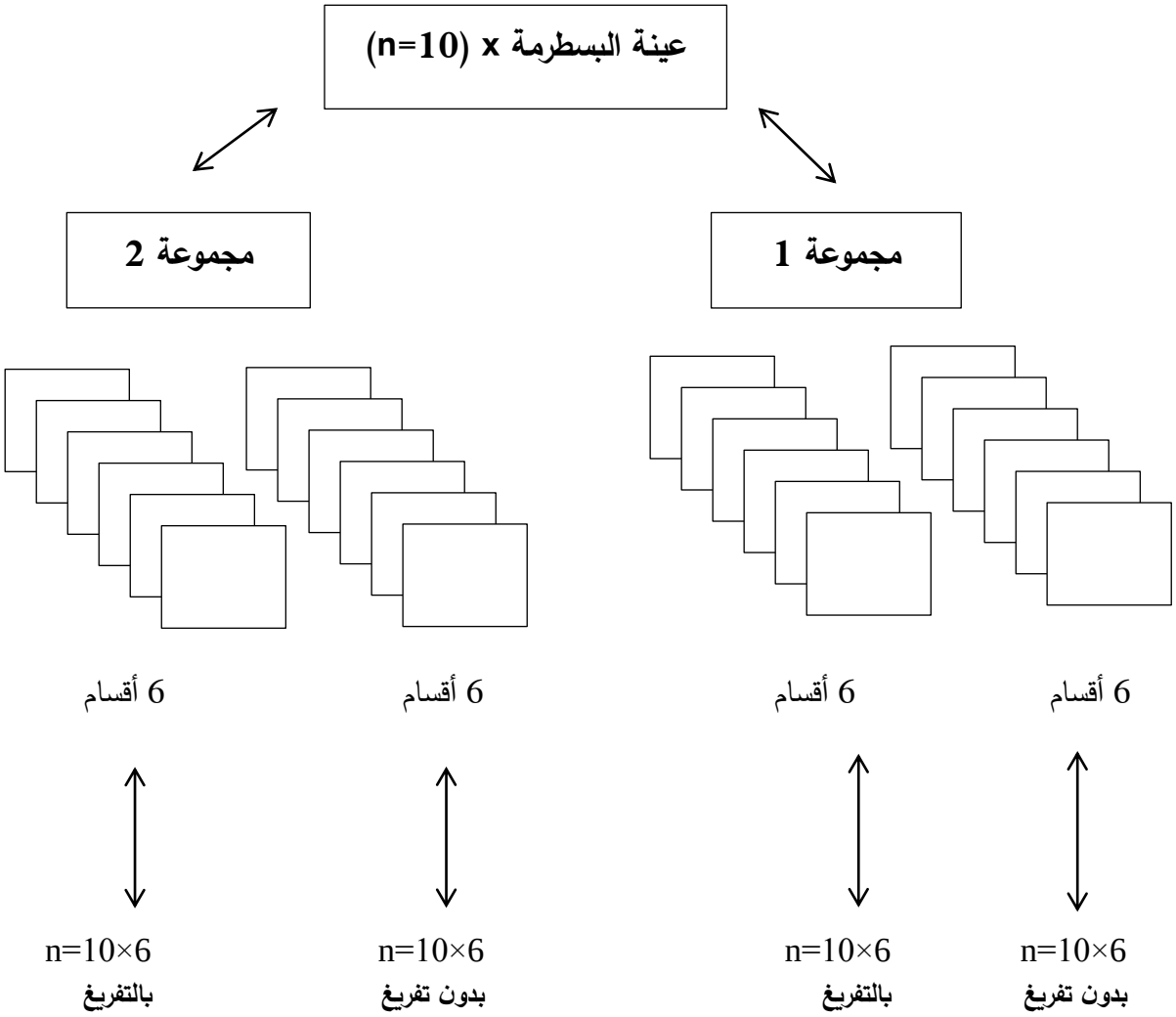
1 أسبوع
2 أسبوع
3 أسبوع
4 أسبوع
5 أسبوع
6 أسبوع

وبذلك يكون عدد معاملات التجربة للسجق = 120

المخطط (2): طريقة تقسيم عينات االسجق للتجربة

- **تقسيم عينات البسطرمة:**

قُسمت كل عينة من عينات البسطرمة وعددها 10 عينات إلى قسمين متناظرين، وقسمت بعد ذلك كل عينة من المجموعة الأولى إلى 12 قسم (معاملة)، بينما قسمت كل عينة من المجموعة الثانية إلى 12 قسم (معاملة)، ووضعت العينات جميعها في أكياس من البولي إيتيلين المعقمة والكتيمة للهواء، ثم قسمت أكياس عينات المجموعة الأولى وهي 120 معاملة إلى جزأيين، يحوي كل جزء على 60 معاملة، أغلقت عينات الجزء الأول بدون تفريغ، بينما أغلقت عينات الجزء الثاني وهي 60 معاملة بالتفريغ، وبنفس الطريقة تم تقسيم عينات المجموعة الثانية وعددها 120 معاملة إلى جزأيين، يحوي كل جزء على 60 معاملة، أغلقت عينات الجزء الأول بدون تفريغ، بينما أغلقت عينات الجزء الثاني وعددها 60 معاملة بالتفريغ، حفظت معاملات المجموعة الأولى عند درجة حرارة التبريد (+8)ْ م، في حين حفظت معاملات المجموعة الثانية عند درجة حرارة الغرفة (+25)ْ م، وأجريت الاختبارات الميكروبية خلال فترات زمنية من (1 حتى 6) أسابيع.



أجريت الاختبارات بعد	أجريت الاختبارات بعد	أجريت الاختبارات بعد	أجريت الاختبارات بعد
1 أسبوع	1 أسبوع	1 أسبوع	1 أسبوع
2 أسبوع	2 أسبوع	2 أسبوع	2 أسبوع
3 أسبوع	3 أسبوع	3 أسبوع	3 أسبوع
4 أسبوع	4 أسبوع	4 أسبوع	4 أسبوع
5 أسبوع	5 أسبوع	5 أسبوع	5 أسبوع
6 أسبوع	6 أسبوع	6 أسبوع	6 أسبوع

وبذلك يكون عدد معاملات التجربة للبسطرمة = 240

المخطط (3): طريقة تقسيم عينات البسطرمة للتجربة

4. مراحل تنفيذ البحث:

أولاً: المرحلة الأولى من التجربة

تم في هذه المرحلة اجراء بعض الاختبارات على عينات النقانق والسجق والبسطرمة عند وصولها إلى المخبر لتحديد جودتها الأولية قبل إجراء عمليات التغليف والحفظ، والاختبارات المجراة هي:

a) الاختبارات الفيزيائية Physical Tests:

1) تقدير النسبة المئوية للرطوبة % [111]:

يؤخذ 5 غ من العينة في طبق زجاجي مجفف وموزون مسبقاً بدقة 0.002 غ، وتجفف العينة في فرن عند درجة حرارة 105 ْم لمدة 3 ساعات حتى ثبات الوزن، ثم تبرد في مجفف زجاجي وتوزن، ويتم حساب النسبة المئوية للرطوبة وفق المعادلة:

$$\text{النسبة المئوية للرطوبة} = \left(\frac{W1-W2}{W1}\right) \times 100$$

W1: وزن العينة قبل التجفيف.

W2: وزن العينة بعد التجفيف.

2) تقدير قيمة الفعالية المائية [112]:

تم الاختبار بشكل مباشر بوساطة جهاز الفعالية المائية الذي يقيس الرطوبة النسبية فوق العينة، والجهاز المستخدم بالدراسة من شركة Novasina، تم الاختبار بوضع حوالي 5 غ من العينة في الأوعية البلاستيكية الخاصة بجهاز القياس، و تضبط درجة الحرارة عند الدرجة 25 ْم، والزمن على 30 دقيقة، وتؤخذ القراءة بعد انتهاء المدة وثبات القراءة.

b) الاختبارات المكروبيولوجية Microbiological Tests:

قبل البدء بالاختبارات المكروبيولوجية تم تحضير أوساط النمو تبعاً لطريقة تحضير كل منها حسب ما ذكر، وعقمت بالأوتوكلاف على درجة حرارة 121 ْم مدة 15 دقيقة وضغط 2 جو، وبعد انخفاض درجة حرارتها إلى حوالي 45 ْم تم صبها في أطباق بتري المعقمة وتركت حتى تتصلب.

الشكل(6): تحضير الأوساط الزرعية

1) تقدير التعداد العام للجراثيم في العينات [111]:

تم تنعيم (10 غ) من كل عينة بوساطة سكين معقمة، وهرست بعد ذلك في هاون زجاجي معقم، ووضعت في دورق زجاجي يحوي على 90 مل من ماء الببتون الدارئ المحضر والمعقم مسبقاً، ليشكل المجموع (100 مل) تقريباً، ومزجت جيداً لاتمام التجانس، وضعت ضمن حمام مائي درجة حرارتة (37 °م) ولمدة 30 دقيقة، أخذ من هذا المعلق المتجانس (1 مل) ووضع في أنبوب اختبار يحوي (9 مل) من بيئة ماء الببتون الدارئ المعقم للحصول على تركيز 100/1. بعد ذلك أخذ من المكرر الأخير (1مل) وفرشت على طبق بتري الحاوي على وسط الآغار المغذي Nutrient agar وبمعدل ثلاث مكررات للعينة الواحدة، تركت الأطباق بعد ترقيمها مدة نصف ساعة بهدف تثبيت الجراثيم عليها، ثم قلبت ووضعت في الحاضنة عند درجة حرارة (35-37) °م لمدة (48) ساعة، وبعد انتهاء فترة التحضين تم فحص الأطباق وعد مستعمرات الجراثيم في المكررات الثلاثة، وحسب المتوسط الحسابي لكل عينة .

الشكل(7): مراحل اجراء عملية الزرع الجرثومي على أوساط النمو المستخدمة في الدراسة

2) تقدير الحمولة الجرثومية من المكورات العنقودية في العينات:

تم التحري عن وجود جراثيم المكورات العنقودية في العينات المختبرة وتقدير كثافة التلوث فيها، وذلك بنفس الطريقة السابقة ولكن بفرش المعلق الجرثومي على سطح الأطباق الحاوية على الأوساط (Baird parker Mannitol Salt Agar- Chapman Stone Agar- Agar)، وحضنت الأطباق عند درجة حرارة (35)ْ م لمدة (48) ساعة، وبعد انتهاء فترة التحضين تم عد مستعمرات جراثيم المكورات العنقودية النامية على سطح الأوساط الثلاثة وفي المكررات الثلاثة، وحسب المتوسط الحسابي لكل عينة.

c) تصنيف الأنواع الجرثومية التابعة لجراثيم المكورات العنقودية وذلك كما يلي [113]:

1) عزل المكورات العنقودية النامية على أوساط النمو المستخدمة بالدراسة:

تم اجراء عملية تخطيط لجراثيم المكورات العنقودية النامية على أوساط النمو الثلاثة المستخدمة في الدراسة (Mannitol Salt Agar- Chapman Stone Agar- Baird parker Agar)، والتي تم الحصول عليها في الخطوة السابقة باستعمال الإبرة اللاقحة ذات العقدة، إذ تم التخطيط على سطح أوساط النمو لثلاثة أطباق متتالية للحصول على جراثيم المكورات العنقودية النقية بهدف دراسة خواصها باجراء الاختبارات الكيميائية الحيوية التأكدية لها.

2) التصنيف الكيميائي الحيوي للمستعمرات النقية:

تم اجراء التصنيف الكيميائي الحيوي للمستعمرات النقية التي تم الحصول عليها بالخطوة السابقة بإجراء الاختبارات التالية:

- التحري عن **لون** المستعمرات: تم باجراء الزرع الجرثومي للمستعمرات النقية بوساطة الابرة اللاقحة ذات العقدة على سطح طبق بتري الحاوي على وسط الآغار المغذي Nutrient agar.
- صبغة **الغرام** Gram strain: تم صبغ لطخات الجراثيم بصبغة غرام اذ تتلون الجراثيم ايجابية الغرام باللون البنفسجي، بينما تتلون الجراثيم سلبية الغرام باللون الأحمر.
- اختبار **الكاتالاز** Catalase test : بإضافة بضع نقاط من الماء الأوكسجيني3% فوق لطاخة من المستعمرات المشكوك بها والموضوعة على شريحة زجاجية، في حال تشكل الفقاعات تكون الجراثيم ايجابية الكاتالاز نظراً لاحتوائها على إنزيم الكاتالاز القادر على تفكيك الماء الأكسجيني إلى ماء وأكسجين [114].
- اختبار انزيم **التخثر** Coagulase: بإجراء زرع مباشر للمستعمرة المأخوذة من الطبق إلى أنبوب يحوي (0.3) مل من بلازما الأرانب، وتحضن عند الدرجة (37) ْم مدة (4–6) ساعات، ويعد الاختبار ايجابياً إذا تجاوز حجم الخثرة في الأنبوب نصف الحجم الأصلي للسائل[71] .
- تخمير **المانيتول** Mannitol Fermentation: بتخطيط المستعمرة المأخوذة من الطبق على سطح طبق بتري الحاوي على الوسط الزرعي Mannitol salt agar ، وفي حال تشكل مستعمرات صفراء محاطة أو غير محاطة بهالة صفراء، فهذا يعد دليلاً على قدرة الجراثيم على تخمير المانيتول [110].

d) التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية [108]:

تم التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية باتباع تقنية مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم (الإليزا) Enzyme- Linked Immunosorbent Assay (ELISA)، وذلك باستعمال الكيتات (3M Tecra™ Staph Enterotoxin visual immunoassay) وفق الخطوات التالية:

1) تحضير مجموعة الكواشف:

- محلول **الغسيل** Wash Concentrate: يحضر بمزجه مع (2) ليتر من الماء المقطر أو الماء منزوع الشوارد، وبما أن التلوث الميكروبي يؤثر في عملية الكشف فإن استخدام الماء المقطر هو الأفضل.
- **الشاهد** الايجابي Positive Control PC: يحضر بشكل يومي بإضافة 50 µl من الشاهد الايجابي إلى 4.95 مل من محلول الغسيل باستعمال أنبوب من البولي بروبيلين.
- **الأضداد** الموسومة بالانزيم Conjugate: تحضر بسكب المسحوق في الوعاء المخصص له، علما أن كل كيت يحوي وعائيين للأضداد الموسومة بالأنزيم.
- **الركيزة** Substrate: تحضر أيضاً بسكبها في الوعاء المخصص لها.
- محلول **الايقاف** Stop Solution، ومضافات العينة Sample additive، والشاهد السلبي NC Negative Control: هذه الكواشف جاهزة للاستعمال ولا تحتاج إلى تحضير.

2) تحضير العينة:

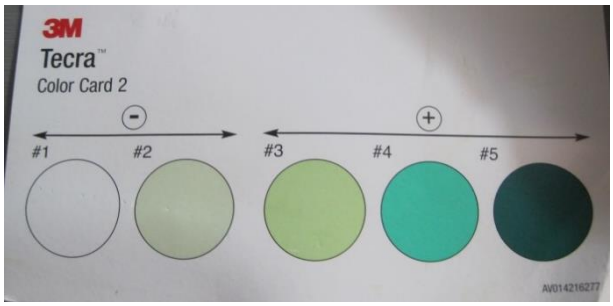
تم تحضير العينة مباشرة قبل اجراء الاختبار وذلك على الشكل التالي (AOAC official Method SIM 993.06 a):

- مُزج 10 غرام من العينة مع 20 مل من المحلول الواقي Tris Buffer.
- وضع المزيج في جهاز الطرد المركزي مدة 10 دقائق عند (3000 -2700) دورة بالدقيقة.
- رشحت العينة بوساطة ابرة ترشيح، وهنا يجب التأكد من أن الخلاصة يجب أن تكون شفافة وغير لزجة.
- ثم مُزج 1 مل من الخلاصة مع 50 µl من مضافات العينة Sample additive.

3) اجراء الاختبار:

قبل البدء باجراء الاختبار يجب الانتباه أن تكون جميع الكواشف المستخدمة عند درجة حرارة (20-25) °م، تم اجراء الاختبار على الشكل التالي:

- تم تحضير خلايا الصفيحة wells وذلك بترقيمها بأرقام واضحة وغير قابلة للمسح، مع مراعاة أن لكل عينة خلية، بالإضافة إلى خلية للشاهد الايجابي PC وأخرى للشاهد السلبي NC.
- عُبئت الخلايا بملئها بمحلول الغسيل وتركت لمدة (10) دقائق على درجة حرارة (20–25)ْ م، قلبت بعد ذلك بسرعة عدة مرات لتفريغها من المحتويات ولاتمام خروج السائل منها قدر المستطاع.
- إضافة العينات والتحضين: تم اضافة 200 µl من كل عينة محضرة مسبقاً (الخلاصة)، و200 µl من كل من الشاهد الإيجابي والشاهد السلبي إلى الخلايا، وتغطى منعاً من التبخر وتحضن عند درجة حرارة (1±36)ْ م لمدة ساعتين.
- الغسيل الأول للخلايا: تم وبسرعة قلب الخلايا لتفريغها من المحتويات، ثم قلبت مراراً وتكراراً عدة مرات، ووضعت بعد ذلك مقلوبة على ورق نشاف، تم بعد ذلك اعادة تعبئة الخلايا بمحلول الغسيل مع الانتباه إلى عدم خروج فقاعات الهواء مع السائل إلى داخل الخلايا، تمت تعبئة الخلايا بمحلول الغسيل وتفريغها حوالي 4 مرات.
- اضافة الأضداد الموسومة بالانزيم Conjugate: تم اضافة 200 µl من الأضداد الموسومة بالانزيم إلى الخلايا الفارغة، وتمت تغطية الخلايا مرة أخرى منعاً من التبخر وحضنت عند درجة حرارة (20–25)ْ م لمدة ساعة واحدة.
- الغسيل الثاني للخلايا: تم غسل الخلايا كما في المرحلة السابقة مع تكرار العملية 5 مرات.
- إضافة الركيزة Substrate: تم اضافة 200 µl من الركيزة إلى كل خلية فارغة وحضنت عند درجة حرارة (20–25)ْ م لمدة 30 دقيقة.
- فحص الشاهد الإيجابي: تم فحص الشاهد الإيجابي بعد مرور 30 دقيقة وذلك بعد الضغط بلطف على حواف الخلايا لضمان توزيع اللون ضمن الخلية بشكل جيد، ويجب الانتباه إلى أن الشاهد الايجابي يجب أن يكون بقتامة الرقم 4 على كرت اللون، واذا لم يبلغ الشاهد الايجابي اللون الادنى فيجب تزويد فترة التحضين، واذا فشل الشاهد في بلوغ الحد الأدنى من اللون بعد 45 دقيقة فإن الاختبار غير صحيح ولا يمكن اعتماد النتائج.
- اضافة محلول الايقاف Stop Solution: تم اضافة 20 µl من محلول الايقاف إلى كل خلية ومزجت جيدا وتمت قراءه النتائج خلال 30 دقيقة.
- قراءة النتائج: تمت مقارنة اللون لكل خلية مع " كرت اللون" ومن المهم معرفة انه حتى يكون الاختبار صحيحاً فيجب أن يكون الشاهد الايجابي غامق على الاقل بالدرجة 4، والشاهد السلبي ليس أغمق من الدرجة 2.



الشكل (8): كرت اللون المستخدم في تقدير الذيفانات العنقودية المعوية

ثانياً: المرحلة الثانية من التجربة

أُجريت بعض الاختبارات المكروبيولوجية على عينات النقانق والسجق والبسطرمة، التي تم تغليفها وتقسيمها وحفظها مسبقا، عند درجة حرارة التبريد (+8)ْ م، وعند درجة حرارة (+25)ْ م، وتم التحري عن التعداد العام للجراثيم، وتعداد المكورات العنقودية الذهبية، والتحري عن وجود الذيفانات المعوية العنقودية للمعاملات خلال فترات زمنية تختلف باختلاف المصنع اللحمي المدروس وباختلاف درجة حرارة الحفظ كما ذكر آنفاً.

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

نتائج المرحلة الأولى ومناقشتها:

1. نتائج الاختبارات الفيزيائية Physical Tests:

بينت نتائج اختبار تقدير نسبة الرطوبة وقيمة الفعالية المائية المجراة على عينات النقانق والسجق والبسطرمة الطازجة المدروسة (الشاهد) قبل إجراء خطوات البحث والمبينة في الجدول رقم (6) تفاوتاً في محتوى الرطوبة والفعالية المائية للعينات فيما بينها، ويعود ذلك إلى اختلاف نسب المواد الداخلة في تركيب العينات (عند محتوى أعلى من الدهون تكون نسبة الرطوبة أقل)، واختلاف طريقة التحضير (قطع كبيرة من اللحم أو لحم مفروم)، والمدة الزمنية التي تعرضت لها العينات للتجفيف قبل البيع.

إذ تراوحت النسبة المئوية لرطوبة عينات النقانق المدوسة بين (69.61 –63.32) %، وهذا يعود إلى اختلاف نسبة الدهن والمدة التي بقيت عليها النقانق معلقة أثناء التجفيف في الهواء الطلق ونسبة الرطوبة الجوية ووضعها بالنسبة للتيارات الهوائية، ودرجة حرارة الجو المحيط، وكذلك تراوحت قيم الفعالية المائية بين (0.951–0.983)، وهذا ما يجعلها أكثر ملائمة وسهولة للتلوث والنمو الجرثومي.

في حين نلاحظ ارتفاع نسبة رطوبة عينات السجق بشكل عام، وتراوحت بين (39.35– 46.40)%، وكذلك تراوحت قيم الفعالية المائية بين (0.874– 0.931)، وتشترط بعض المواصفات الدولية للسجق ألا تزيد نسبة رطوبتها على 40% كحد أقصى [115]، أي بلغت نسبة العينات المخالفة 90%، هذا الأمر قد يعود إلى عدم كفاية التجفيف أثناء عملية الانضاج، وبالتالي فإن العينات ذات الرطوبة المرتفعة قد تتعرض لأنواع الفساد المختلفة الفيزيائي والكيميائي والميكروبي عند درجة أكبر مقارنة مع العينات ذات الرطوبة الأخفض، وهذا يتوافق مع ما توصل إليه [116].

وتراوحت رطوبة عينات البسطرمة بين (39.15– 45.03)%، وبذلك كانت القيم قريبة من نتائج [117] الذي أشار إلى أن قيم الرطوبة للبسطرمة المتوفرة في الأسواق يجب أن تتراوح بين (39–52)%، ولكن ووفقاً للمواصفة القياسية السورية رقم 1993/1300 [118]، الخاصة بالبسطرمة والتي تشترط ألا تزيد نسبة الرطوبة على 40% في العينات، فإن 80% من اجمالي العينات هي مخالفة، كما تراوحت قيم الفعالية المائية بين (0.877– 0.927) وكانت بذلك 70% من العينات مخالفة لاشتراطات [119] الذي اشترط أن تتراوح قيم الفعالية المائية للبسطرمة المتوفرة في الأسواق بين (0.85– 0.90)، وعلى الرغم من أن انخفاض الفعالية المائية يزيد من فترة الحفظ ويحسن من ثباتية المنتجات لأنها تصبح أكثر ثباتية تجاه الكائنات الحية الدقيقة المسببة للفساد أو التسمم الغذائي، إلا أنه توجد العديد من الكائنات الحية الدقيقة المتحملة لقيم الفعالية المائية المنخفضة كالمكورات العنقودية الذهبية والتي يمكن أن تنمو في هذه الظروف.

الجدول (6): النسبة المئوية للرطوبة وقيم الفعالية المائية لعينات النقانق والسجق والبسطرمة في بداية التجربة (الشاهد)

المؤشر / العينة		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
عينات النقانق	الرطوبة %	**63.32**	**69.61**	68.74	64.90	66.05	66.15	66.32	66.62	67.24	68.04
	a_w	**0.951**	**0.983**	0.977	0.955	0.962	0.965	0.970	0.971	0.975	0.978
عينات السجق	الرطوبة %	41.88	44.00	**39.35**	42.64	**46.40**	43.65	45.95	41.85	45.21	42.77
	a_w	0.9	0.92	**0.874**	0.904	**0.931**	0.912	0.927	0.889	0.923	0.908
عينات البسطرمة	الرطوبة %	42.50	**45.03**	40.78	42.80	43.66	43.10	39.90	43.06	**39.15**	41.77
	a_w	0.908	**0.927**	0.895	0.910	0.916	0. 913	0.880	0.908	**0.877**	0.902

2. الاختبارات المكروبيولوجية Microbiological Tests :

a) نتائج تقدير التعداد العام للجراثيم في العينات:

تبين من خلال التحري عن المستعمرات الجرثومية النامية على طبق بتري الشاهد خلوه من أي نمو جرثومي، أي أن وسط النمو المستخدم معقم بشكل جيد ولم يتلوث عند صبه في الأطباق، ويبين الجدول (10) المعبر عن قيم التعداد العام للجراثيم في عينات النقانق والسجق والبسطرمة لحظة بدأ العمل، أن قيمة التعداد العام للجراثيم في عينات النقانق تراوحت بين $\log_{10}$cfu/g (6.15-4.12)، وفي عينات السجق تراوحت بين $\log_{10}$cfu/g (5.4 -4.2)، وفي عينات البسطرمة بين $\log_{10}$cfu/g (4.12 -1.96)، وبذلك كانت 40% من عينات النقانق مخالفة للمواصفة القياسية السورية رقم (2002/2721) المتعلقة بالنقانق والتي تشترط ألا يزيد التعداد العام للجراثيم في العينات على غ/10^5 أي 5($\log_{10}$cfu/g) [120]، وكانت 30% من عينات السجق مخالفة للمواصفة القياسية السورية رقم (2000/2179) المتعلقة بالاشتراطات الخاصة بالأحياء الدقيقة الواجب تحققها في المنتجات الغذائية والتي تشترط ألا يزيد التعداد العام للجراثيم في العينات على غ/10^5 أي 5($\log_{10}$cfu/g) [121]، بينما كانت 90% من عينات البسطرمة مخالفة للمواصفة القياسية السورية رقم (1993/1300) المتعلقة بالبسطرمة والتي تشترط ألا يزيد التعداد العام للجراثيم في العينات على غ/10^2 أي 2($\log_{10}$cfu/g) [118]، ويعود سبب تلوث جميع العينات إلى أن عملية التصنيع تتم بدون مصانع متخصصة وغالباً ما يرافقها انخفاض في النظافة الصحية العامة، إضافة إلى كون العينات غير مطبوخة أي غير معرضة لمعاملة حرارية (كالنقانق

والبسطرمة)، أو مطبوخة بشكل جزئي أي معرضة لمعاملة حرارية جزئية (كالسجق)، وبالتالي فإن الفلورا الطبيعية لها لم يتم اتلافها بشكل كامل ويمكن أن تنمو في هذا الوسط الغذائي الغني بالمغذيات، وكذلك فإن فرم وتنعيم اللحم يزيد كثيراً من معدل انتشار ونمو الجراثيم لكل من النقانق والسجق، في حين تبقى مصنعات البسطرمة الأقل تلوثاً من النقانق والسجق للأسباب ذاتها، مما يجعلها أقل عرضة للنمو الجرثومي، إضافة إلى أن تلوث البسطرمة يكون خارجياً نظراً لعدم قدرة الجراثيم على النمو داخل قطعة اللحم المستخدمة في التحضير، ونظراً لارتفاع نسبة الملح في البسطرمة فإن ذلك يؤدي إلى توقف نشاط مجموعات كثيرة من الجراثيم والاقتصار على الجراثيم المتحملة لمستوى عالي من الملوحة وقيم فعالية مائية منخفضة.

الجدول (7): التعداد العام للجراثيم (log_{10}cfu/g) في عينات النقانق والسجق والبسطرمة في بداية التجربة (الشاهد)

العينة / المُصنع اللحمي	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
النقانق	**4.12**	**6.15**	5.44	4.24	4.40	4.55	4.61	4.70	5.00	5.07
السجق	4.28	4.8	**4.2**	4.5	**5.4**	4.77	5.22	4.55	5	4.6
البسطرمة	3.1	**4.12**	2.9	3.1	3.83	3.75	2.76	3.55	**1.96**	3.02

b) نتائج تقدير الحمولة الجرثومية من المكورات العنقودية في العينات:

تبين النتائج المستحصل عليها والمبينة في الجداول (8) و(9) و(10)، أن متوسط تعداد جراثيم المكورات العنقودية الموجود في العينات المدروسة (عينات النقانق، وعينات السجق، وعينات البسطرمة)، النامية على وسطي النمو (Baird parker agar - Mannitol salt agar)، كان أعلى من متوسط تعداد هذه الجراثيم النامية على وسط (Chapman stone agar)، إذ تميزت المستعمرات النامية على وسطي النمو الأولين (Baird parker agar - Mannitol salt agar) أنها ملونة وذات خصائص شكلية واضحة، في حين تميزت المستعمرات النامية على الوسط الأخير(Chapman stone agar) أنها صغيرة ومتفرقة وشكلت أصباغاً باهتة كما هو مبين في الشكل (9)، وبالتالي نجد أن وسطي النمو الأوليين أكثر حساسية واستجابة لنمو جراثيم المكورات العنقودية من الوسط الأخير (Chapman stone agar)، مما يشير إلى أنه لا يمكن الاعتماد عليه للحصول على نتائج دقيقة لتعداد جراثيم المكورات العنقودية في عينات النقانق والسجق والبسطرمة المختلفة.

الجدول (8): تعداد المكورات العنقودية ($log_{10}cfu/g$) في عينات النقانق عند بداية التجربة (الشاهد) باستخدام أوساط النمو الثلاثة المستخدمة في الدراسة

العينة / وسط النمو	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	المتوسط الحسابي $\bar{X}$	الانحراف المعياري SD	الخطأ القياسي SE
Baird parker agar	2.60	3.55	3.64	2.89	3.05	2.73	3.57	3.10	3.18	2.15	**3.05**	0.475	0.150
Mannitol salt agar	2.81	3.30	3.80	2.67	2.90	2.90	3.60	2.94	3.05	2.30	**3.03**	0.440	0.139
Chapman stone agar	1.90	2.67	2.40	1.90	2.44	1.85	2.53	2.20	1.86	1.22	**2.1**	0.435	0.137

الجدول (9): تعداد المكورات العنقودية ($log_{10}cfu/g$) في عينات السجق عند بداية التجربة (الشاهد) باستخدام أوساط النمو الثلاثة المستخدمة في الدراسة

العينة / وسط النمو	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	المتوسط الحسابي $\bar{X}$	الانحراف المعياري SD	الخطأ القياسي SE
Baird parker agar	3.00	3.06	3.04	3.00	4.13	2.91	3.24	2.71	2.75	2.95	**3.08**	0.399	0.126
Mannitol salt agar	2.77	2.81	2.90	3.16	3.66	2.70	3.10	2.43	2.93	2.75	**2.92**	0.332	0.105
Chapman stone agar	2.08	2.00	1.20	2.11	2.50	1.67	2.20	2.05	2.32	2.03	**2.02**	0.359	0.114

الجدول (10): تعداد المكورات العنقودية ($log_{10}cfu/g$) في عينات البسطرمة عند بداية التجربة (الشاهد) باستخدام أوساط النمو الثلاثة المستخدمة في الدراسة

العينة / وسط النمو	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	المتوسط الحسابي $\bar{X}$	الانحراف المعياري SD	الخطأ القياسي SE
Baird parker agar	3.77	4.51	3.75	3.29	4.40	4.10	3.00	4.33	2.49	3.00	**3.66**	0.692	0.219
Mannitol salt agar	3.60	4.68	3.59	3.33	4.31	4.00	2.98	4.19	2.40	3.05	**3.61**	0.697	0.221
Chapman stone agar	2.96	4.24	3.10	2.82	4.05	2.78	3.50	3.68	1.85	2.51	**3.15**	0.729	0.231

(1)

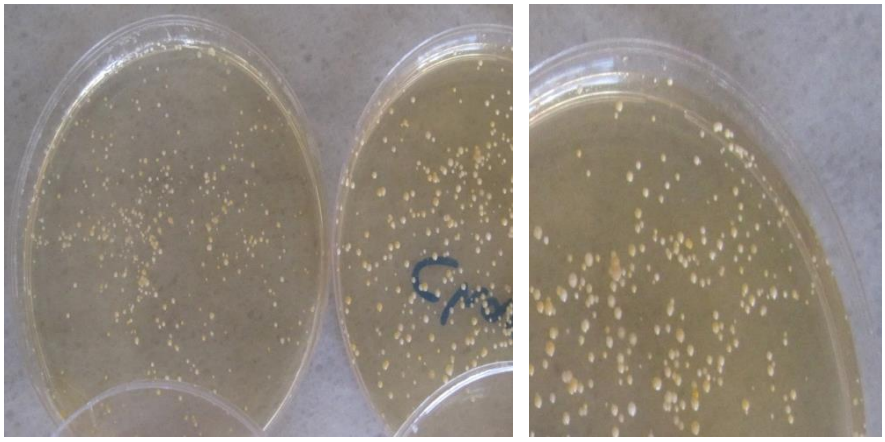
(2)

(3)

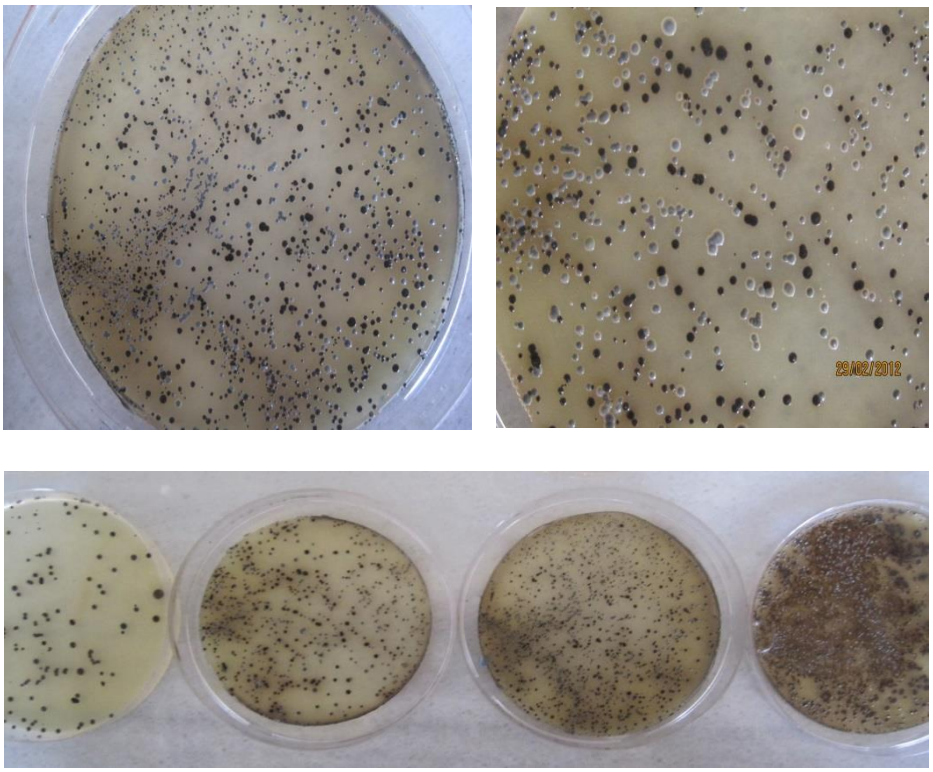
الشكل (9) نمو المكورات العنقودية على أوساط النمو (Mannitol salt agar. Chapman stone agar. Baird parker agar) على التوالي في النقانق بدءاً من (1)

c) نتائج تصنيف الأنواع الجرثومية التابعة لجراثيم المكورات العنقودية:

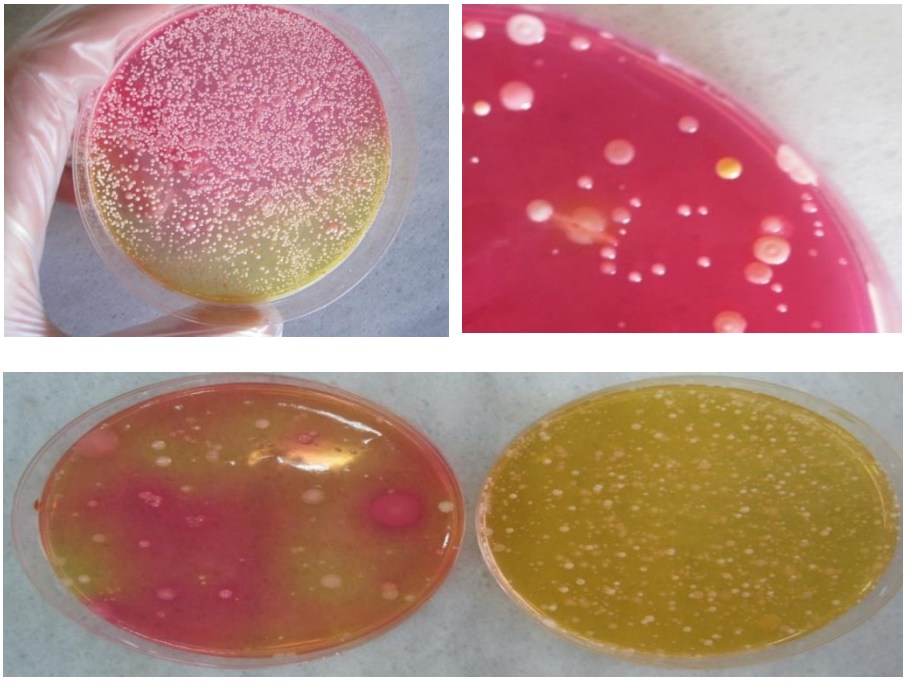
تميزت المستعمرات النامية على الوسط (Chapman stone agar) أنها صغيرة ذات لون برتقالي أو زهري باهت وغير محاطة بهالة، أو كانت مستعمرات بيضاء صغيرة وأيضاً غير محاطة بهالة، كما في الشكل (10). في حين تميز تميز وسط النمو (Baird parker agar) باحتواءه على ثلاثة أشكال مميزة للجراثيم، مستعمرات كبيرة سوداء أو رمادية لماعة محاطة بهالة شفافة، ومستعمرات سوداء لماعة غير محاطة بهالة شفافة، إضافة لمستعمرات سوداء صغيرة غير لماعة وغير محاطة بهالة كما هو مبين بالشكل (11)، بينما احتوى وسط النمو (Mannitol salt agar) على أربعة أشكال مميزة للجراثيم، وهي مستعمرات صفراء كبيرة محاطة بهالة صفراء، ومستعمرات صفراء غير محاطة بهالة صفراء، ومستعمرات صغيرة حمراء محاطة بهالة حمراء، ومستعمرات بيضاء محاطة بهالة حمراء كما هو مبين في الشكل (12).



الشكل (10): أشكال الجراثيم النامية على وسط النمو Chapman stone agar

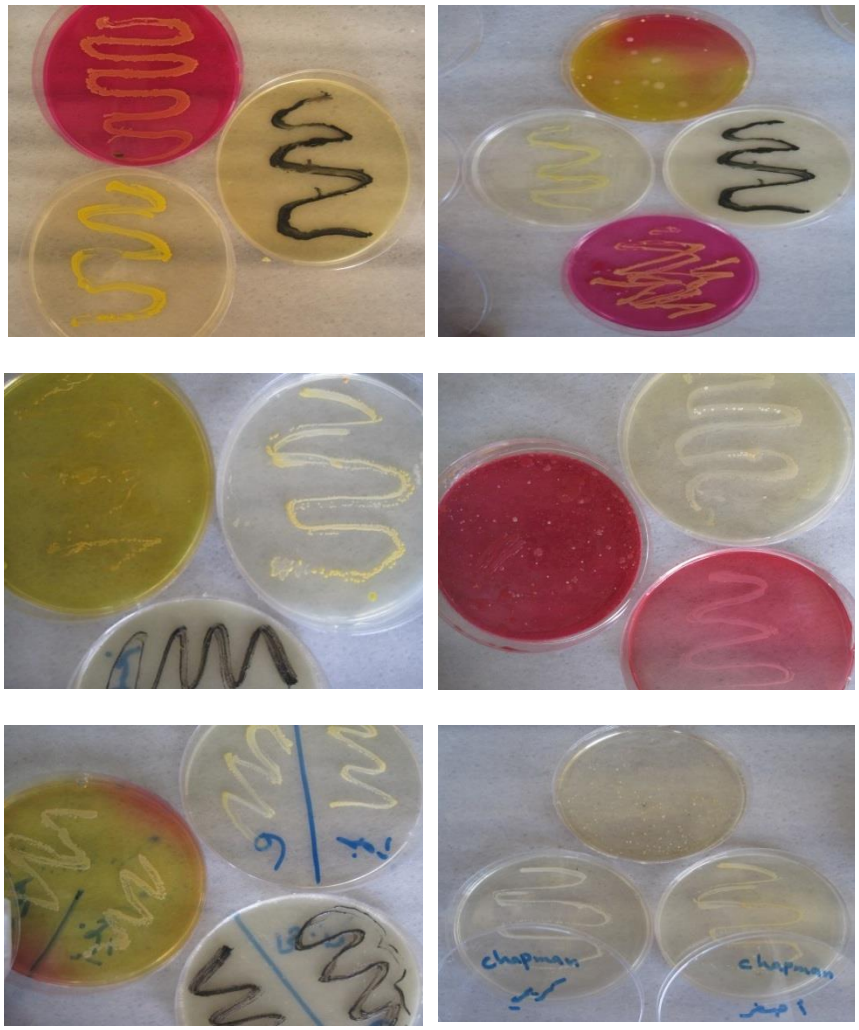


الشكل (11): أشكال الجراثيم النامية على وسط النمو Baird parker agar



الشكل (12): أشكال الجراثيم النامية على وسط النمو Mannitol salt agar

تم بعد ذلك الحصول على مستعمرات المكورات العنقودية الذهبية بصورة نقية كما هو مبين في الشكل (13)، وذلك بإجراء عملية تخطيط بالإبرة اللاقحة ذات العقدة للمستعمرات المختلفة المبينة في الأشكال الثلاثة السابقة.



الشكل (13): تخطيط جراثيم المكورات العنقودية على بعض أوساط النمو المستخدمة في الدراسة

تم القيام بعد ذلك باجراء بعض الاختبارات الكيميائية الحيوية التأكيدية لمستعمرات المكورات العنقودية النقية بهدف تصنيفها، إذ تم التحري عن لون المستعمرات بعد الزرع الجرثومي للمستعمرات النقية على سطح طبق بتري حاوي على وسط الآغار المغذي (Nutrient agar)، كما تم التحري عن ايجابية الجراثيم لصبغة غرام، وأُجري اختبار الكاتالاز، كما أجري اختبار انزيم التخثر للتحري على قدرة الجراثيم المعزولة على تشكيل هذا الانزيم، إضافة إلى اجراء اختبار تخمير المانيتول.

تبين الصفات الكيميائية الحيوية لجراثيم المكورات العنقودية الذهبية *S.aureus* أنها تعطي لوناً ذهبياً على وسط Nutrient agar، كما أنها ايجابية الغرام وايجابية الكاتالاز وايجابية التخثر وقادرة على تخمير المانيتول، في حين تبين الصفات الكيميائية الحيوية لجراثيم المكورات العنقودية البشروية *S. epidermidis* أنها تعطي لوناً أبيضاً على وسط Nutrient agar، كما أنها ايجابية الغرام وسلبية الكاتالاز وسلبية التخثر وغير قادرة على تخمير المانيتول، ويبين الجدولان (11) و(12) النتيجة التي تم الحصول عليها والتي كانت على الشكل التالي:

الجدول (11): نتيجة عملية التصنيف الجرثومي للجراثيم النامية على أوساط النمو الثلاثة المستخدمة في البحث

وسط النمو المستخدم	أشكال المستعمرات النقية على أوساط النمو المستخدمة في الدراسة	نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية	النتيجة
Baird parker agar	– مستعمرات كبيرة رمادية لماعة محاطة بهالة شفافة. – مستعمرات سوداء كبيرة لماعة محاطة بهالة شفافة.	– ذات لون ذهبي على وسط Nutrient Agar. – ايجابية الغرام. – ايجابية الكاتالاز. – ايجابية التخثر. – قادرة على تخمير المانيتول.	مكورات عنقودية ذهبية *S.aureus*
Mannitol salt agar	– مستعمرات صفراء محاطة بهالة صفراء. – مستعمراء صفراء غير محاطة بهالة صفراء.		
Chapman Stone agar	– مستعمرات ذات أصباغ باهته صفراء أو برتقالية غير محاطة بهالة.		

الجدول (12): نتيجة عملية التصنيف الجرثومي للجراثيم النامية على أوساط النمو الثلاثة المستخدمة في البحث

وسط النمو المستخدم	أشكال المستعمرات النقية على أوساط النمو المستخدمة في الدراسة	نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية	النتيجة
Baird parker agar	– مستعمرات رمادية غير محاطة بهالة شفافة. – مستعمرات سوداء غير محاطة بهالة شفافة.	– ذات لون أبيض على وسط Nutrient Agar. – ايجابية الغرام. – سلبية الكاتالاز. – سلبية التخثر. – غير قادرة على تخمير المانيتول.	مكورات عنقودية بشروية *S.epidermidis*
Mannitol salt agar	– مستعمرات بيضاء محاطة بهالة حمراء. – مستعمراء حمراء محاطة بهالة حمراء.		
Chapman Stone agar	– مستعمرات بيضاء غير محاطة بهالة شفافة.		

- **<u>تعداد المكورات العنقودية الذهبية بعد عملية التصنيف الجرثومي:</u>**

بعد التعرف على الصفات الشكلية لمستعمرات المكورات العنقودية الذهبية من خلال التصنيف الجرثومي لجراثيم المكورات العنقودية النامية على أوساط النمو الثلاثة المستخدمة في البحث، تم احصاء جراثيم المكورات العنقودية الذهبية النامية على أوساط النمو الثلاثة المستحصل عليها سابقاً، وكان تعداد هذه الجراثيم النامية على وسط النمو Baird Parker Agar أكبر من تعدادها على وسطي النمو (Chapman stone agar - Mannitol salt agar)، وبالتالي تم اعتماد هذا الوسط في عمليات الزرع الجرثومي في تقدير تعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية في المراحل اللاحقة، وبالتالي كان تعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية في العينات لحظة بداية التجربة (الشاهد) كما هو مبين بالجدول (13).

الجدول(13): تعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية ($log_{10}cfu/g$) لعينات النقانق والسجق والبسطرمة لحظة بداية التجربة

العينة / المُصـــنع اللحمي	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
النقانق	2.15	2.9	3.42	2.65	2.9	2.18	**3.55**	2.7	3.08	2.2
السجق	2.88	2.75	2.9	3	**3.68**	2.6	2.7	2.5	2.9	2.67
البسطرمة	2.9	**4**	2.72	2.95	3.33	3.55	2.48	3.1	1.76	2.96

تبين النتائج أن أعلى قيمة لتعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية في عينات النقانق بلغ ($log_{10}cfu/g$) 3.55، وكانت هي الأخفض مقارنة مع أعلى قيمة في عينات كل من السجق والبسطرمة، والسبب يعود في ذلك إلى ارتفاع رطوبة عينات النقانق ومحتواها العالي من الفلورا، إذ تتميز جراثيم المكورات العنقودية الذهبية بعدم قدرتها على المنافسه في الأوساط ذات المحتوى العالي من الفلورا [46]، وبلغ تعداد أعلى قيمة من هذه الجراثيم في عينات السجق أعلى قليلاً ($3.68(log_{10}cfu/g)$، حيث تتميز عينات السجق المستخدمة في الدراسة أنها مطبوخة بشكل جزئي مما يؤدي إلى اتلاف جزء من الفلورا النامية عليها، وبالتالي تستطيع العنقوديات النمو عليها بصورة أسهل من نموها على النقانق، إضافة إلى أن العنقوديات قادرة على النمو بسهولة في عينات السجق مقارنة مع بعض الأجناس الجرثومية الأخرى، حيث تتميز بقدرتها على النمو في الأوساط ذات فعالية مائية حتى 0.83، بينما كان تعداد المكورات العنقودية الذهبية في البسطرمة هو الأعلى وبلغت أعلى قيمة ($log_{10}cfu/g$) 4، ويفسر ذلك [122] باحتياج المكورات العنقودية الذهبية المنخفض للأكسجين، وامكانية تحملها لعمليات للضغط والتجفيف التي تتعرض لها اللحوم خلال التحضير، إضافة لتحملها للمحتوى العالي من الملح، مما يجعل نموها سهل وتسود في هذ النوع من المصنعات اللحمية.

4. نتائج التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية:

دلت نتائج هذا الاختبار في الكشف عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية في العينات المدروسة لحظة وصولها إلى المخبر كما هو مبين في الجدول (14)، على وجود عينتين من عينات النقانق، وعينتين من عينات السجق، وثلاث عينات من البسطرمة، حاوية على الذيفانات العنقودية المعوية قبل البدء بعمليات الحفظ المختلفة اللاحقة، على الرغم من أن هذه العينات لم يبدو عليها أي مظهر من مظاهر الفساد، حيث أن المكورات العنقودية الذهبية قادرة على تحمل قيم الفعالية المنخفضة، ومتحملة لتراكيز الملح والنتريت المرتفعة، لذلك يمكن أن تنمو

بسهولة وأن تنتج الذيفانات العنقودية المعوية في أي مرحلة من مراحل الاعداد أو التصنيع في حال كانت الشروط الصحية ضعيفة [123]، كما أن تعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية في هذه العينات لم يكن مرتفعاً إلى الحد الذي تبدأ عنده تشكل الذيفانات السامة والمذكور من قبل العديد من الباحثين وهو بين $\log_{10}$cfu/g (6 –5)، ومن هنا تتجلى أهمية تقدير الذيفانات العنقودية المعوية في العينات المختلفة عند ورودها إلى المخبر، حيث أن غياب جراثيم المكورات العنقودية الذهبية أو انخفاض تعدادها لا يعد دليلاً كافياً على غياب الذيفان، فمن الممكن أن تنمو هذه الجراثيم في مرحلة سابقة من التصنيع نتيجة بقاء المصنع اللحمي عند درجة حرارة مرتفعة نسبياً لفترة محدودة، مما يؤدي إلى نمو هذه الجراثيم الى الحد الذي يسمح بتشكيل الذيفانات المعوية العنقودية السامة، وعند اعادة حفظ المادة الغذائية بالظروف المناسبة يؤدي إلى انخفاض أعداد هذه الجراثيم إلى مستويات مقبولة مع بقاء هذه الذيفانات ضمن المادة الغذائية.

الجدول (14): نتائج التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية في عينات النقانق والسجق والبسطرمة في بداية التجربة (الشاهد) (قراءة كرت اللون)

العينة / المُصنع اللحمي	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
النقانق	1	1	**3**	1	2	1	**4**	1	2	1
السجق	2	1	2	2	**3**	2	2	**4**	1	2
البسطرمة	2	**4**	1	2	1	**3**	1	2	1	**3**

يستنتج مما سبق أن:

1. احتوت عينات النقانق على أعلى قيمة للرطوبة والفعالية المائية، تلتها عينات السجق فالبسطرمة على التوالي.

2. احتوت عينات النقانق على أعلى قيمة للتعداد العام للجراثيم وأقل قيمة لتعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية، في حين احتوت عينات البسطرمة على أقل قيمة للتعداد العام للجراثيم وأعلى قيمة لتعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية.

3. الوسط الأكثر تحديداً والأسرع والأوضح لنمو جراثيم المكورات العنقودية الذهبية كان هو Baird parker agar، وبدرجة أضعف وسط Mannitol Salt Agar، بينما كان وسط النمو Chapman Stone Agar هو الوسط الأقل من حيث قابلية جراثيم المكورات العنقودية الذهبية للنمو عليها.

4. ميزت الأوساط Baird Parker Agar و Mannitol Salt Agar جراثيم *S. epidermidis* و *S.aureus* بشكل واضح ، بينما ميز الوسط Chapman Stone Agar جراثيم *epidermidis* . *S* بشكل أوضح من قدرته على تمييز جراثيم *S.aureus*.

5. تم الكشف عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية في العينات المدروسة لحظة الشاهد، على الرغم من عدم وجود أي تغير في الصفات الحسية للغذاء.

6. يعد وجود أعداد كبيرة من المكورات العنقودية الذهبية دليلاً جيداً على أن الغذاء يحوي على الذيفان، إلا أن غياب خلايا المكورات العنقودية الذهبية لا تعد دليلاً كافياً على غياب الذيفان، كما أن وجود عدد كبير من هذه الجراثيم، لا يعد دليلاً كافياً على أن الغذاء قد يسبب التسمم الغذائي، ولذلك على المحلل أن يأخذ جميع الاحتمالات عند فحص الغذاء.

نتائج المرحلة الثانية ومناقشتها:

أولاً: عينات النقانق:

1) الحفظ عند درجة حرارة التبريد (+8)ْم:

a) الحفظ بدون تفريغ:

يبين الجدولان (15) و(16) ارتفاع كل من التعداد العام للجراثيم وأعداد المكورات العنقودية الذهبية لعينات النقانق المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) لمدة 21 يوم، ولكن كان الارتفاع بطيئاً عند بداية عملية الحفظ، وهذا يعود إلى موت أو توقف عدد كبير من الكائنات الحية الدقيقة غير المحبة للبرودة عن النمو وهذا يتوافق مع [124]، ثم بدأ التعداد بالزيادة بصورة أسرع واستمر في الزيادة حتى نهاية عملية الحفظ، ولكن بشكل عام يعد ارتفاع تعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية محدوداً والسبب يعود في ذلك إلى ضعف قدرة هذه الجراثيم على المنافسة في اللحوم النيئة التي تتميز باحتوائها على مستويات عالية من الفلورا، وهذا يتوافق مع [46].

ويبين الجدول (17) أن العينات الايجابية لوجود هذه الذيفانات بقيت ايجابية خلال فترة الحفظ، ولم تظهر عينات جديدة ايجابية لوجود الذيفانات، كما أن كمية هذه الذيفانات خلال فترة الحفظ لم تزيد بأي من العينات الايجابية، أي لم تزيد كثافة اللون المتشكل بخلايا الصفيحة، على الرغم من ارتفاع أعداد هذه الجراثيم في بعض العينات إلى قيم كبيرة، فعلى سبيل المثال وصلت في العينة رقم (2) التي تميزت باحتوائها على أعلى قيمة للرطوبة إلى $\log_{10}$cfu/g (5.86) والسبب يعود في ذلك إلى عدم قدرة جراثيم المكورات العنقودية الذهبية على تشكيل أي نوع من أنواع الذيفانات العنقودية المعوية عند درجة حرارة التبريد، وبقيت نسبة العينات الايجابية لوجود الذيفانات 20% من مجموع العينات، وهذا يتوافق مع ما توصل إليه [125].

الجدول(15): تطور التعداد العام للجراثيم ($log_{10}cfu/g$) لعينات النقانق المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) خلال 21 يوم

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	4.12	6.15	5.44	4.24	4.4	4.55	4.61	4.7	5	5.07
3	4.46	6.4	5.7	4.6	4.67	4.7	5.05	5	5.2	5.46
7	5.29	6.9	6.05	5.7	5.9	5.6	5.86	5.77	5.9	6.29
10	5.56	7.65	6.9	6.44	6.5	6	6.82	6.42	6.5	6.56
14	6.27	8.11	7.24	7.05	7.1	6.25	7.4	7.17	6.87	7.27
21	6.8	8.7	7.72	7.75	7.7	6.77	8	7.65	7.21	7.8

الجدول(16): تطور تعداد المكورات العنقودية الذهبية ($log_{10}cfu/g$) لعينات النقانق المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8مْ) خلال 21 يوم

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2.15	2.9	3.42	2.65	2.9	2.18	3.55	2.7	3.08	2.15
3	2.3	3.5	3.52	3	3.16	2.5	3.77	3.1	3.4	2.3
7	2.7	4.67	4.08	3.82	3.72	3.22	4	4.11	3.87	2.7
10	3.5	5.2	4.32	4.25	4.26	4.1	4.9	4.57	4	3.5
14	4	5.51	4.55	4.64	4.55	4.62	5.38	5.27	4.47	4
21	4.28	5.86	4.73	4.92	4.71	4.7	5.6	5.5	4.61	4.48

الجدول (17): نتائج التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية لعينات النقانق المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) خلال 21 يوم (قراءة كرت اللون)

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	1	1	**3**	1	2	1	**4**	1	2	1
7	1	1	3	1	2	1	4	1	2	1
14	1	1	3	1	2	1	4	1	2	1
21	1	1	3	1	2	1	4	1	2	1

b) الحفظ بالتفريغ:

يبين الجدولان (18) و(19) على الارتفاع التدريجي لهذه الأعداد خلال فترة الحفظ، وكانت القيم التي وصل إليها التعداد العام للجراثيم بعد 21 يوم من الحفظ، قريبة من القيم التي وصلت إليها في العينات المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند نفس درجة الحرارة، إلا أنها كانت في العينات المغلفة بدون تفريغ أعلى بشكل قليل، وقد يعود السبب في ذلك إلى وجود جراثيم حمض اللبن LAB التي تسود في اللحوم ومصنعاتها المبردة المغلفة بالتفريغ والتي تعيق نمو المكورات العنقودية الذهبية، وذلك بسبب تشكيل الحمض أولاً وكذلك بسبب منافستها لهذه الجراثيم على المغذيات ثانياً، وهذا يتوافق مع [14].

ويشير الجدول (20) على عدم تشكل جديد للذيفانات العنقودية المعوية في عينات النقانق الايجابية والسلبية لوجود هذه الذيفانات، أي أن العينات السلبية بقيت سلبية والايجابية بقيت ايجابية مع عدم زيادة كمية هذه الذيفانات، وهذا الأمر يرجع وفقاً لـ [125] إلى عدم قدرة المكورات العنقودية الذهبية على تشكيل الذيفانات عند درجة حرارة التبريد.

الجدول(18): تطور التعداد العام للجراثيم ($log_{10}cfu/g$) لعينات النقانق المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) خلال 21 يوم

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	4.12	6.15	5.44	4.24	4.4	4.55	4.61	4.7	5	5.07
3	4.36	6.21	5.5	4.45	4.6	4.87	4.93	4.8	5.2	5.23
7	5.02	6.6	6.22	5.15	5.25	5.4	5.9	5.85	5.69	5.6
10	5.4	6.95	7	5.96	5.88	5.75	6.45	6.85	6.1	5.9
14	5.92	7.25	7.37	6.35	6.7	6.21	7.14	7.4	6.7	6.41
21	6.1	7.5	7.68	6.95	7.21	6.6	7.37	7.55	6.96	6.6

الجدول(19): تطور تعداد المكورات العنقودية الذهبية ($log_{10}cfu/g$) لعينات النقانق المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) خلال 21 يوم

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2.15	2.9	3.42	2.65	2.9	2.18	3.55	2.7	3.08	2.2
3	2.3	3.21	3.7	2.9	3.05	2.56	3.88	2.9	3.18	2.3
7	2.74	3.77	4.17	3.15	3.53	3.27	4.14	3.6	3.55	2.86
10	3.5	4.05	4.41	3.4	3.9	4	4.6	4.44	3.77	3.6
14	4.15	4.19	4.85	4.1	4.19	4.22	5.05	5.05	4	4.09
21	4.22	4.25	5.09	4.34	4.31	4.35	5.25	5.14	4.12	4.14

الجدول (20): نتائج التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية لعينات النقانق المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) خلال 21 يوم (قراءة كرت اللون)

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	1	1	3	1	2	1	4	1	2	1
7	1	1	3	1	2	1	4	1	2	1
14	1	1	3	1	2	1	4	1	2	1
21	1	1	3	1	2	1	4	1	2	1

2) <u>الحفظ عند درجة حرارة (+25) مْ:</u>

a) الحفظ بدون تفريغ:

يبين الجدولان (21) و(22) عن ارتفاع التعداد الجرثومي بشكل كبير وسريع بعد 12 ساعة فقط من الحفظ، نظراً لملائمة درجة الحرارة وقيمة الفعالية المائية لنمو ونشاط المكورات العنقودية الذهبية في هذا الوسط الغني بالمغذيات، ثم ازدادت هذه الاعداد بعد 24 ساعة، ثم ما لبثت أن بدأت بالانخفاض الحاد بعد 36 ساعة من الحفظ، وترافق ذلك مع ظهور روائح كريهة وأصبحت العينات غير مقبولة للاستهلاك، والسبب في هذا الانخفاض بأعداد الجراثيم يعود إلى التحلل الكبير للعينات، وبالتالي تشكل نواتج الاستقلاب التي تؤثر في نمو الجراثيم وتثبطها، إضافة إلى خلو الوسط من المغذيات، وهذا يتوافق مع ما توصل إليه [126].

ويبين الجدول (23) عن ازدياد تركيز هذه الذيفانات في العينتين رقم (3) و(7) الايجابيتين لوجود الذيفانات العنقودية المعوية بعد 12 ساعة فقط من الحفظ عند درجة الحرارة المدروسة، إذ وصلت أعداد المكورات العنقودية الذهبية في هاتين العينتين إلى ($log_{10}cfu/g$) 5.9 و($log_{10}cfu/g$) 5.61 على التوالي، وهذا يوافق ما توصل إليه الباحث [127] الذي رصد تشكلاً للذيفانات العنقودية المعوية بعد 12 ساعة من حفظ عينات من كرات اللحم الطازجة المحفوظة بدون تفريغ وعند درجة حرارة 25 مْ، كما بدأت هذه الذيفانات بالتشكل في جميع العينات عندما بلغت أعداد العنقوديات فيها ($log_{10}cfu/g$) 5.27 فما فوق، وبالتالي وبعد 24 ساعة من الحفظ بلغت نسبة العينات الايجابية لوجود الذيفانات العنقودية الذهبية 70% من مجموع العينات.

الجدول(21): تطور التعداد العام للجراثيم ($log_{10}cfu/g$) لعينات النقانق المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 م) لمدة 36 ساعة

العينة / الزمن (ساعة)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	4.12	6.15	5.44	4.24	4.4	4.55	4.61	4.7	5	5.07
12	6.93	9.12	8.1	6.9	6.23	7.3	7.21	7.55	6.92	7
24	7.54	7.3	6.82	7.38	6.65	7.89	7.85	8.06	7.61	7.41
36	3.23	4.1	5.4	4.8	3.87	5.2	5.14	5.05	4.45	4.3

الجدول(22): تطور تعداد المكورات العنقودية الذهبية ($log_{10}cfu/g$) لعينات النقانق المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 م) خلال 36 ساعة

العينة / الزمن (ساعة)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2.15	2.9	3.42	2.65	2.9	2.18	3.55	2.7	3.08	2.2
12	4.77	5.31	5.9	4.97	4.7	5	5.61	4.92	4.47	4.33
24	5.05	5.68	6.31	5.27	5.85	5.41	6.12	5.53	4.9	5.09
36	2.22	2.8	3.65	3.12	3.6	3.89	3.33	3.41	3.2	2.83

الجدول (23): نتائج التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية لعينات النقانق المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 م) خلال 36 ساعة (قراءة كرت اللون)

العينة / الزمن (ساعة)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	1	1	3	1	2	1	4	1	2	1
12	1	3	4	2	2	2	5	2	2	2
24	2	4	4	3	3	3	5	3	2	2
36	2	4	4	3	3	3	5	3	2	2

b) الحفظ بالتفريغ:

يبين الجدولان (24) و(25) إلى تشابه نتائج الاختبارات المكروبيولوجية للعينات المغلفة بكلا الأسلوبين والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 مْ) لمدة 36 ساعة، حيث ازدادت الأعداد الجرثومية بشكل سريع بعد 12 ساعة من الحفظ، ثم ازدادت بشكل تدريجي بعد 24 ساعة، لتبدأ بالانخفاض بعد 24 ساعة، ولكن كانت أعلى قيمة وصل إليها تعداد الجراثيم في العينات المغلفة بالتفريغ أقل من أعلى قيمة وصلت إليها بالتغليف بدون تفريغ، وهذا يعود وفقاً لـ [128] إلى أن التغليف بالتفريغ يحد بشكل طفيف من نمو المكورات العنقودية الذهبية في العينات المحفوظة عند درجة حرارة (25)م، كما بدأ الذيفان العنقودي المعوي بالتشكل بعد 12 ساعة في العينات التي ازداد تعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية فيها على ($log_{10}cfu/g$) 5.54، اذ تتشكل الذيفانات العنقودية المعوية بصعوبة أكثر في العينات المغلفة بالتفريغ وتحتاج إلى قيم أعلى من الجراثيم لتكون قادرة على تشكيل الذيفانات، وازدادت نسبة العينات الايجابية لوجود هذه الذيفانات بعد 24 ساعة من الحفظ إلى 50%، كما هو مبين في الجدول (26).

الجدول(24): تطور التعداد العام للجراثيم ($log_{10}cfu/g$) لعينات النقانق المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 مْ) خلال 36 ساعة

العينة / الزمن (ساعة)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	4.12	6.15	5.44	4.24	4.4	4.55	4.61	4.7	5	5.07
12	6.67	9	7.79	6.65	5.93	7	7	6.73	6.59	6.68
24	6.93	6.21	7.21	7.15	6.26	8.11	6.41	6.25	7.02	7.31
36	3.02	3.87	4.68	4.51	3.68	4.53	4.05	4	3.96	3.33

الجدول(25): تطور تعداد المكورات العنقودية الذهبية ($log_{10}cfu/g$) لعينات النقانق المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 مْ) خلال 36 ساعة

العينة / الزمن (ساعة)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2.15	2.9	3.42	2.65	2.9	2.18	3.55	2.7	3.08	2.2
12	4.58	5.19	5.54	4.6	4.28	4.8	5.45	4.51	4.2	4.2
24	4.95	5.66	6.16	5.74	5.1	5.25	5.98	5.65	4.88	4.92
36	2.01	2.44	3.25	2.94	2.73	2.82	3.05	3.11	2.73	1.89

الجدول (26): نتائج التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية لعينات النقانق المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 مْ) خلال 36 ساعة (قراءة كرت اللون)

العينة / الزمن (ساعة)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	1	1	3	1	2	1	4	1	2	1
12	1	2	4	2	2	1	4	2	2	2
24	2	3	4	3	2	2	5	3	2	2
36	2	3	4	3	2	2	5	3	2	2

ثانياً: عينات السجق

a) الحفظ عند درجة حرارة التبريد (+8)ْم:

يشير الجدولان (27) و(28) المعبران عن تطور التعداد العام للجراثيم وتطور نمو المكورات العنقودية الذهبية في عينات السجق المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8)ْم لمدة 6 أسابيع ، عن ارتفاع التعداد الجرثومي في جميع العينات، وكان معدل نمو الجراثيم في العينات ذات الرطوبة وقيم الفعالية المائية المرتفعة أعلى مقارنة مع العينات ذات الرطوبة وقيم الفعالية المائية الأخفض، إذ وصل التعداد العام للجراثيم وتعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية في العينة رقم (5) التي تميزت باحتوائها على أعلى قيمة للرطوبة والفعالية المائية إلى (log_{10}cfu/g) 8.11 و (log_{10}cfu/g) 6.04 على التوالي، في حين وصل في العينة رقم (3) التي احتوت على أخفض قيمة للرطوبة والفعالية المائية إلى (log_{10}cfu/g) 6.91 و (log_{10}cfu/g) 4.72 على التوالي، فعلى الرغم من وجود الأحماض المتشكلة عن جراثيم حمض اللبن التي تنمو بصعوبة في الأوساط ذات الفعالية المائية المنخفضة، إلا أنها لم تنقص أو تعيق من نمو المكورات العنقودية الذهبية التي تنمو بسهولة وتسود في الأوساط ذات الفعالية المائية المنخفضة والمحتوى العالي من الملح، وكانت هذه النتائج متوافقة مع ما توصل إليه [129].

ومن خلال قراءة نتائج التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية لهذه العينات والمبينة في الجدول (29)، يتبين عدم وجود أي تشكل جديد للذيفانات العنقودية المعوية في خلايا الصفيحة الميكروية لجميع العينات، أي العينات الايجابية لوجود هذه الذيفانات بقيت ايجابية والسلبية بقيت سلبية، وهذا يعود وفقاً لما توصل إليه [130] على عدم قدرة المكورات العنقودية الذهبية على تشكيل الذيفانات العنقودية المعوية عند درجة حرارة التبريد.

الجدول(27): تطور التعداد العام للجراثيم ($log_{10}cfu/g$) لعينات السجق المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) خلال 6 أسابيع

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	4.28	4.8	4.2	4.5	5.4	4.77	5.22	4.55	5	4.6
1	6	5.66	5.8	5.4	6.38	5.92	6.1	5.96	6.02	5.33
2	6.34	6.04	6	5.98	6.65	6.11	6.66	6.48	6.36	5.71
3	6.71	6.42	6.11	6.13	6.78	6.4	7.12	7.06	6.62	6
4	7	6.88	6.23	6.56	7	6.55	7.43	7.25	6.8	6.22
5	7.3	7.08	6.4	6.77	7.57	6.66	7.7	7.47	6.93	6.42
6	8	7.35	6.91	7.42	8.11	7.35	8.3	8.11	7.32	7.12

الجدول(28): تطور تعداد المكورات العنقودية الذهبية ($log_{10}cfu/g$) لعينات السجق المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) خلال 6 أسابيع

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2.88	2.75	2.9	3	3.68	2.6	2.7	2.5	2.9	2.67
1	3.11	2.93	3	3.32	4	2.95	3.25	3.05	3.18	3.12
2	3.9	3.3	3.6	3.65	4.65	3.75	3.6	3.9	3.47	3.5
3	4.9	4	4	4.54	5.3	4.08	4.45	4.19	4	4.47
4	5.23	4.48	4.41	4.83	5.44	4.25	4.9	4.66	4.3	4.77
5	5.5	4.75	4.62	5.09	5.84	4.54	5.4	5.4	4.55	4.97
6	5.86	5.11	4.72	5.2	6.04	4.84	5.8	5.85	4.81	5.1

الجدول (29): نتائج التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية لعينات السجق المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 ْم) خلال 6 أسابيع (قراءة كرت اللون)

العينة / الزمن (أسبوع)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2	1	2	2	3	2	2	4	1	2
1	2	1	2	2	3	2	2	4	1	2
2	2	2	2	2	3	2	2	4	1	2
3	2	2	2	2	3	2	2	4	1	2
4	2	1	2	2	3	2	2	4	1	2
5	2	1	2	2	3	2	2	4	1	2
6	2	2	2	2	3	2	2	4	1	2

b) <u>الحفظ عند درجة حرارة (+25) ْم:</u>

يبين الجدول (30) عن ارتفاع تعداد هذه الجراثيم في جميع العينات خلال فترة الحفظ، وبلغت أعلى قيمة للتعداد العام للجراثيم في العينة رقم (5) التي احتوت على أعلى قيمة للرطوبة والفعالية مائية ($\log_{10}$cfu/g) 8.7، في حين احتوت العينة رقم (3) ذات أخفض قيمة للرطوبة والفعالية المائية على ($\log_{10}$cfu/g) 7.42، ويبين الجدول (31) أن تعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية وصل في 80% من العينات إلى أعلى من($\log_{10}$cfu/g) 5 بعد 4 أسابيع من الحفظ، والسبب في ارتفاع تعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية بشكل كبير يعود إلى ملاءمة درجة الحرارة لنمو المكورات العنقودية الذهبية، إضافة إلى قلة وجود الجراثيم المنافسة لنموها في هذا الوسط الغذائي ذو الفعالية المائية المنخفضة والمحتوى العالي من الملح، كما أنه ووفقاً لـ[131] أنه عند حفظ السجق عند درجة حرارة أعلى من (+20) ْم، فإنه يتم استبدال الفلورا الطبيعية بكائنات حية دقيقة محبة للحرارة المعتدلة بما فيها العنقوديات الممرضة.

يبين الجدول (32) عن تشكل الذيفانات في 80% من العينات بنهاية فترة الحفظ، إلا أن هذه الذيفانات بدأت بالتشكل عندما بلغ تعداد الجراثيم حوالي ($\log_{10}$cfu/g)6.3، والسبب في تأخر تشكل الذيفانات على الرغم من ارتفاع تعداد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية هو طبيعة التغليف بالتفريغ الذي يعيق تشكل الذيفانات، بالإضافة إلى انخفاض الفعالية المائية للعينات، إذ تعد الذيفانات حساسة لانخفاض الفعالية المائية وتتشكل بصعوبة في الأوساط الغذائية ذات الفعالية المائية المنخفضة، وهذا يتوافق مع [96]، وبلغت نسبة العينات الايجابية لوجود الذيفانات العنقودية المعوية بنهاية فترة الحفظ إلى 80% من اجمالي العينات.

الجدول(30): تطور التعداد العام للجراثيم ($log_{10}cfu/g$) لعينات السجق المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 م) خلال 6 أسابيع

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	4.28	4.8	4.2	4.5	5.4	4.77	5.22	4.55	5	4.6
1	5.1	5.25	5.5	5.4	6.28	5.4	6.21	5.39	5.66	5.11
2	5.54	5.74	5.93	5.98	6.51	5.84	6.78	5.9	6.21	5.67
3	6.15	6.11	6.54	6.56	7.02	6.38	7.22	6.52	6.78	6.24
4	6.71	6.83	7	7.11	7.55	6.75	7.72	7.25	7.25	6.77
5	7.63	7.37	7.22	7.84	8.11	7	8	7.83	7.94	6.95
6	8.12	7.98	7.42	8.45	8.7	7.78	8.63	8.54	8.05	7.61

الجدول(31): تطور تعداد المكورات العنقودية الذهبية ($log_{10}cfu/g$) لعينات السجق المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+25 م) خلال 6 أسابيع

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2.88	2.75	2.9	3	3.68	2.6	2.7	2.5	2.9	2.67
1	3.71	3.6	3.2	4.03	4	3.81	3.83	4.48	3.67	3.14
2	4.27	4.56	3.78	4.53	4.31	4.25	4.22	5	4.22	3.78
3	4.89	5.21	4.11	5	4.65	4.73	4.98	5.43	4.87	4.41
4	5.44	5.82	4.77	5.52	5.14	5.05	5.51	5.86	5.4	4.89
5	6.2	6.38	5.41	6.4	6.51	5.57	6.52	6.63	6.45	5.96
6	6.83	6.9	6.02	7.03	7.28	6.19	7.06	7.13	7.11	6.61

الجدول (32): نتائج التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية لعينات السجق المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 م) خلال 6 أسابيع (قراءة كرت اللون)

العينة / الزمن (أسبوع)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2	1	2	2	3	2	2	4	1	2
1	2	1	2	2	3	2	2	4	1	2
2	2	1	2	2	3	2	2	4	1	2
3	2	1	2	2	3	2	2	4	1	2
4	2	2	2	2	3	2	2	4	1	2
5	2	3	2	3	4	2	3	5	3	2
6	3	3	2	3	4	2	3	5	3	3

ثالثاً: عينات البسطرمة:

a) الحفظ عند درجة حرارة التبريد (+8) مْ:

1) الحفظ بدون تفريغ:

يبين الجدولان (33) و(34) على الارتفاع المحدود لهذه الأعداد خلال فترة الحفظ التي استمرت 6 أسابيع ، إذ بلغت في العينة رقم (2) التي تميزت باحتوائها على أعلى قيمة للرطوبة والفعالية المائية على ($log_{10}cfu/g$) 5.85 و($log_{10}cfu/g$) 5.45 على التوالي، والسبب يعود في ذلك إلى انخفاض الفعالية المائية للعينات وارتفاع نسبة الملح فيها، كما أن وجود كل من الحلبة والثوم يعمل على كبح نمو الجراثيم التي تتميز بضعف مقاومتها تجاه هذه المكونات، وهذا يتوافق مع [132] ، إلا أن وجود الهواء ضمن الغلاف وانتقال جزء من الرطوبة إلى طبقة Cemen يساعد على النمو المحدود لهذه الجراثيم.

أما الجدول (35) يعبر عن عدم وجود أي تشكل جديد للذيفانات في جميع العينات المدروسة، أي أن العينات الايجابية بقيت ايجابية مع عدم ازدياد تركيز اللون في خلايا الصفيحة الميكروية، والعينات السلبية بقيت سلبية لوجود هذه الذيفانات، والسبب يعود في ذلك كما ذكرنا إلى عدم قدرة الجراثيم على تشكيل الذيفانات في العينات المحفوظة عند درجة حرارة التبريد، وبقيت نسبة العينات الايجابية لوجود الذيفانات العنقودية المعوية 30% من اجمالي العينات.

الجدول(33): تطور التعداد العام للجراثيم ($log_{10}cfu/g$) لعينات البسطرمة المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) لمدة 6 أسابيع

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	3.1	4.12	2.9	3.1	3.83	3.75	2.76	3.55	1.96	3.02
1	3.27	4.35	3.13	3.20	3.95	3.81	3.09	3.88	2.45	3.65
2	3.95	4.59	3.61	3.55	4.47	4.05	3.25	4.11	2.66	4.21
3	4.12	4.74	4.05	4	5.2	4.43	3.51	4.39	3.16	4.8
4	4.29	5.18	4.16	4.22	5.25	4.99	3.98	4.5	3.3	5.1
5	4.51	5.42	4.25	4.65	5.38	5.25	4.44	4.91	3.57	5.55
6	4.77	5.85	4.65	4.97	5.75	5.65	4.85	5.11	3.98	5.83

الجدول(34): تطور تعداد المكورات العنقودية الذهبية ($log_{10}cfu/g$) لعينات البسطرمة المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) خلال 6 أسابيع

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2.9	4	2.72	2.95	3.33	3.55	2.48	3.1	1.76	2.96
1	2.95	4.18	3.02	3.08	3.7	3.7	2.69	3.37	2.11	3.37
2	3.15	4.35	3.25	3.41	4.28	3.87	3.06	3.78	2.35	3.88
3	3.37	4.76	3.77	3.83	4.8	4.65	3.37	3.91	2.64	4.11
4	3.71	5.11	4.18	4.15	4.92	5.03	3.66	4.25	2.77	4.64
5	3.92	5.29	4.25	4.24	5.04	5.21	3.82	4.56	3	5
6	4.08	5.45	4.33	4.41	5.42	5.48	4.10	4.77	3.51	5.36

الجدول (35): نتائج التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية لعينات البسطرمة المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) خلال 6 أسابيع (قراءة كرت اللون)

العينة / الزمن (أسبوع)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
1	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
2	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
3	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
4	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
5	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
6	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3

2) الحفظ بالتفريغ:

يبين الجدولان (36) و(37) على حدوث انخفاض محدود في التعداد الجرثومي للعينات ابتداءاً من الأسبوع الثاني وحتى نهاية فترة الحفظ، وبلغ أقل تعداد للجراثيم وللمكورات العنقودية الذهبية في العينة رقم (9) التي احتوت على أخفض قيمة للرطوبة والفعالية المائية، قد يرجع هذا إلى الآثار السلبية للظروف اللاهوائية الناتجة عن التغليف بالتفريغ، إضافة إلى انخفاض الفعالية المائية والتأثيرات المثبطة للـ Cemen، وهذا يتوافق مع [117].

وكانت نتائج التحري عن الذيفانات في البسطرمة المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ)، مطابقة للنتائج التي تم الحصول عليها في العينات المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند نفس درجة حرارة التبريد السابقة، أي لم تتشكل ذيفانات جديدة في العينات المغلفة والمحفوظة لمدة 6 أسابيع، ويعود ذلك إلى عدم قدرة الجراثيم على تشكيل الذيفانات في العينات المحفوظة عند درجة حرارة التبريد مهما اختلفت طريقة التغليف، وبقيت نسبة العينات الايجابية لوجود الذيفانات العنقودية المعوية 30% من اجمالي العينات، كما هو مبين في الجدول (38).

الجدول(36): تطور التعداد العام للجراثيم ($log_{10}cfu/g$) لعينات البسطرمة المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) لمدة 6 أسابيع

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	3.1	4.12	2.9	3.1	3.83	3.75	2.76	3.55	1.96	3.02
1	2.94	3.92	2.78	3	3.54	3.58	2.37	3.28	1.62	2.95
2	2.64	3.71	2.68	2.78	3.26	3.39	2.17	3.08	1.5	2.79
3	2.44	3.48	2.5	2.67	3.15	3.25	2	2.84	1.34	2.60
4	2.18	3.26	2.34	2.48	3	3.05	1.9	2.6	1.25	2.39
5	2.0	2.73	2.3	2.38	2.84	2.95	1.67	2.38	1.18	2.16
6	1.60	2.55	2.24	2.35	2.51	2.88	1.35	2.15	1.11	1.50

الجدول(37): تطور تعداد المكورات العنقودية الذهبية ($log_{10}cfu/g$) لعينات البسطرمة المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) خلال 6 أسابيع

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2.9	4	2.72	2.95	3.33	3.55	2.48	3.1	1.76	2.96
1	2.75	3.48	2.65	2.8	3.2	3.45	2.25	3	1.52	2.9
2	2.61	3.2	2.5	2.65	3.15	3.33	2	2.85	1.33	2.71
3	2.51	3.11	2.35	2.51	3.08	3.13	1.92	2.55	1.11	2.5
4	2.38	2.91	2.15	2.36	3	3.09	1.65	2.36	1.08	2.15
5	2.2	2.8	2.09	2.22	2.85	2.62	1.41	2.18	1	1.75
6	1.5	2.78	2.02	2.15	2.41	2.41	1.25	2	0.95	1.48

الجدول (38): نتائج التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية لعينات البسطرمة المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8 مْ) خلال 6 أسابيع (قراءة كرت اللون)

العينة / الزمن (أسبوع)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
1	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
2	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
3	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
4	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
5	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
6	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3

b) <u>الحفظ عند درجة حرارة (+25)ْم:</u>

1) الحفظ بدون تفريغ:

يبين الجدولان (39) و(40) على ارتفاع هذا التعداد العام والعنقودية الذهبية وبشكل ملحوظ خلال فترة الحفظ مقارنة مع العينات المحفوظة عند درجة حرارة التبريد (+8)ْم والمغلفة بنفس الأسلوب، والسبب يعود في ذلك إلى توفر الهواء ضمن الغلاف مما يسمح للجراثيم الهوائية بالنمو، إضافة إلى انتقال جزء من الرطوبة إلى سطح طبقة الـ Cemen، ومع توفر درجة الحرارة المرتفعة خلال الحفظ نلاحظ الارتفاع الملحوظ في التعداد الجرثومي، إذ وصلت أعلى قيمة للتعداد العام للجراثيم وجراثيم المكورات العنقودية الذهبية بعد 6 أسابيع من الحفظ في العينة رقم (2) ذات أعلى قيمة للرطوبة والفعالية المائية إلى ($\log_{10}$cfu/g)7.5 و ($\log_{10}$cfu/g) 7.25 على التوالي، في حين بلغت أخفض قيمة في العينة رقم (9) وكانت ($\log_{10}$cfu/g) 5.67 و ($\log_{10}$cfu/g) 5.48 على التوالي.

ومن خلال التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية، تبين النتائج عن بدء تشكل هذه الذيفانات ابتداءاً من الأسبوع الخامس من الحفظ، إذ بلغت نسبة العينات الايجابية لوجود الذيفانات بنهاية فترة الحفظ 80% كما هو مبين في الجدول (41)، وبدأت الجراثيم بتشكيل الذيفانات عندما وصل تعدادها لأعلى من ($\log_{10}$cfu/g) 6.11، أي أنه من الضروري مراعاة عدم حفظ البسطرمة المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (25)ْم لأكثر من 4 أسابيع منعاً من تشكل الذيفانات العنقودية المعوية فيها.

الجدول(39): تطور التعداد العام للجراثيم ($\log_{10}$cfu/g) لعينات البسطرمة المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 ْم) خلال 6 أسابيع

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	3.1	4.12	2.9	3.1	3.83	3.75	2.76	3.55	1.96	3.02
1	3.95	4.68	3.54	3.49	4.45	4.19	3.16	3.86	2.47	3.35
2	4.35	5	3.86	3.97	4.84	4.39	3.44	4.24	2.88	3.76
3	4.79	5.62	4.49	4.54	5.32	4.81	3.84	4.58	3.47	4.61
4	5	5.96	4.86	4.97	5.84	5.12	4.12	4.88	3.73	5.27
5	6.07	6.64	5.55	6.24	6.22	6.04	4.95	5.98	4.88	6.17
6	6.61	7.50	6.31	6.95	7.16	7.01	5.68	6.86	5.67	7.0

الجدول(40): تطور تعداد المكورات العنقودية الذهبية ($log_{10}cfu/g$) لعينات البسطرمة المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 م) خلال 6 أسابيع

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2.9	4	2.72	2.95	3.33	3.55	2.48	3.1	1.76	2.96
1	3.54	4.51	3.21	3.39	3.83	4	3	3.65	2.23	3.61
2	3.9	4.98	3.67	3.73	4.26	4.48	3.48	4	2.84	4.13
3	4.62	5.48	4.12	4.25	4.76	4.93	4.02	4.52	3.56	4.79
4	5.11	5.86	4.86	4.97	5.18	5.54	4.46	4.96	4.02	5.32
5	5.73	6.47	5.55	5.54	6	6.18	5	5.51	4.98	5.86
6	6.22	7.25	6.11	6.74	7	6.84	5.38	6.68	5.48	6.72

الجدول (41): نتائج التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية لعينات البسطرمة المغلفة بدون تفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 م) خلال 6 أسابيع (قراءة كرت اللون)

العينة / الزمن (أسبوع)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
1	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
2	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
3	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
4	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
5	2	5	2	2	2	4	2	2	1	3
6	3	5	3	3	3	4	2	3	2	4

2) الحفظ بالتفريغ:

يبين الجدولان (42) و(43) على حدوث انخفاض مستمر في معدل نمو هذه الجراثيم ابتداءاً من الأسبوع الثاني واستمر حتى نهاية فترة الحفظ الي استمرت 6 أسابيع، وكانت النتيجة متوافقة مع ما توصل إليه [65]، ومن الجدير بالذكر أن قيمة التعداد الجرثومي وتعداد المكورات العنقودية الذهبية في عينات البسطرمة المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة انخفضت بشكل أكبر مقارنة مع العينات المغلفة بنفس الطريقة والمحفوظة عند درجة حرارة التبريد، ويعود السبب في ذلك وفقاً لـ [69] إلى امكانية استهلاك جزء من هذه الجراثيم في العمليات الحيوية في المصنعات اللحمية ذات الفعالية المائية المنخفضة والمحتوى العالي من الملح والمحفوظة عند درجة حرارة مرتفعة نسبياً، إضافة إلى الوسط اللاهوائي نتيجة التغليف بالتفريغ، والتأثيرات المثبطة لـ Cemen، ولم يلاحظ أي تشكل جديد للذيفانات العنقودية المعوية في أي من العينات المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة حتى نهاية فترة الحفظ، كما هو مبين في الجدول (44).

الجدول(42): تطور التعداد العام للجراثيم ($log_{10}cfu/g$) لعينات البسطرمة المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 م) لمدة 6 أسابيع

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	3.1	4.12	2.9	3.1	3.83	3.75	2.76	3.55	1.96	3.02
1	2.79	3.86	2.78	2.82	3.45	3.54	2.36	3.22	1.65	2.81
2	2.52	3.65	2.59	2.68	3.24	3.21	2.15	3	1.42	2.54
3	2.35	3.4	2.31	2.56	3.15	3.08	2	2.65	1.2	2.21
4	2	3.12	2.25	2.31	3	2.90	1.75	2.41	1.12	1.86
5	1.74	2.85	2.18	2.22	2.74	2.82	1.5	2.24	1.05	1.52
6	1.55	2.41	2.14	2.15	2.38	2.71	1.3	2.01	1	1.35

الجدول(43): تطور تعداد المكورات العنقودية الذهبية ($log_{10}cfu/g$) لعينات البسطرمة المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 م) خلال 6 أسابيع

العينة / الزمن (يوم)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2.9	4	2.72	2.95	3.33	3.55	2.48	3.1	1.76	2.96
1	2.61	3.72	2.61	2.77	3.18	3.35	2.14	2.88	1.48	2.8
2	2.41	3.51	2.44	2.53	3.08	3.11	2	2.65	1.23	2.65
3	2.22	3.22	2.19	2.40	3	3	1.85	2.41	1.09	2.44
4	1.85	3	2.09	2.19	2.88	2.85	1.64	2.2	1	2.28
5	1.52	2.46	1.85	2.09	2.61	2.64	1.38	2	0.91	2
6	1.14	2	1.68	2	2.25	2.42	1.11	1.76	0.85	1.71

الجدول (44): نتائج التحري عن وجود الذيفانات العنقودية المعوية لعينات البسطرمة المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة (+25 م) خلال 6 أسابيع (قراءة كرت اللون)

العينة / الزمن (أسبوع)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0 (الشاهد)	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
1	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
2	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
3	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
4	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
5	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3
6	2	4	1	2	1	3	1	2	1	3

يستنتج مما سبق:

1. تم رصد تكون الذيفانات العنقودية المعوية في النقانق الموجودة في ظروف النمو المثلى وعند درجة حرارة (+25)°م، وذلك عندما وصل عدد خلايا جراثيم المكورات العنقودية الذهبية إلى أعلى من 5 ($log_{10}cfu/g$).
2. لا توجد فروق ملحوظة في تطور التعداد العام للجراثيم ونمو المكورات العنقودية الذهبية بين طريقتي تغليف النقانق المحفوظة عند درجة حرارة التبريد سواءاً بدون تفريغ أو بالتفريغ.
3. تتشكل الذيفانات العنقودية المعوية في عينات النقانق المغلفة بالتفريغ بصعوبة أكثر من العينات المغلفة بوجود الهواء والمحفوظة عند درجة حرارة.
4. يمكن أن تتكون الذيفانات العنقودية المعوية في عينات السجق ذات الفعالية المائية المنخفضة وعند درجة حرارة (+25)°م، وذلك عندما يصل عدد خلايا جراثيم المكورات العنقودية الذهبية إلى أعلى من 6.38 ($log_{10}cfu/g$).
5. تتشكل الذيفانات العنقودية المعوية في عينات السجق والبسطرمة المغلفة بالتفريغ والمحفوظة عند درجة حرارة، بصعوبة أكبر من تشكلها في العينات المغلفة بدون تفريغ.
6. إن الحفظ عند درجة حرارة التبريد يسمح بنمو المكورات العنقودية الذهبية إلا أنه لم يلاحظ أي تشكل جديد للذيفانات العنقودية المعوية في جميع العينات المدروسة والمغلفة بكلا الأسلوبين.
7. المصنعات اللحمية التي تشكل الخطر الأكبر من حيث نمو جراثيم المكورات العنقودية الذهبية فيها وانتاج الذيفانات السامة، هي التي تكون الفلورا الطبيعية لها قد أتلفت (كاللحوم المطبوخة– السجق) أو التي قد تم كبحها (كاللحوم المقددة والمملحة– البسطرمة).
8. يلعب المحتوى العالي من الملح والفعالية المائية المنخفضة في البسطرمة المحفوظة بالتفريغ، دوراً هاماً في نمو المكورات العنقودية الذهبية وانتاجها للذيفانات السامة.
9. تقاوم المكورات العنقودية الذهبية الفعالية المائية المنخفضة، ويمكن أن تنمو في الغذاء ذو قيم a_w حتى 0.86 كما في البسطرمة.

التوصيات

1. العمل على مراقبة رطوبة عينات النقانق والسجق والبسطرمة والعمل على تخفيضها بأسرع ما يمكن، ولأقل ما يمكن، للحد من تطور النمو الجرثومي السريع للمصنع اللحمي خلال الحفظ.
2. ضرورة مراعاة اتباع الظروف الصحية المناسبة ولبس القفازات عند تحضير المصنعات اللحمية المختلفة، للحد من التعداد العام للجراثيم، ومنع تلوثها بالجراثيم الممرضة.
3. عدم حفظ النقانق عند درجة حرارة التبريد لفترة تزيد على 10 أيام، منعاً من تطور التعداد العام للجراثيم وتطور المكورات العنقودية الذهبية فيها.وستصبح العينات بعد ذلك مخالفة للمواصفات القياسية السورية .
4. عدم ترك النقانق عند درجة حرارة لأن تعداد الجراثيم فيها سوف يزداد بشكل كبير وخلال ساعات قليلة، إضافة إلى امكانية تشكل الذيفانات المعنقودية المعوية فيها بعد 12 ساعة من الحفظ، وخاصة أن اعادة تسخين المادة الغذائية بعد تشكل الذيفانات قادرة على تعطيل المكورات العنقودية الذهبية ولكن يبقى الغذاء قادر على احداث التسمم الغذائي.
5. العمل على تغليف المصنعات اللحمية ذات قيم الرطوبة المنخفضة مثل السجق والبسطرمة بالتفريغ وحفظها عند درجة حرارة التبريد منعاً من التطور السريع للجراثيم ومن تشكل الذيفانات العنقودية المعوية السامة فيها.
6. ضرورة ضبط ومراقبة درجة حرارة المصنعات اللحمية أثناء التصنيع منعاً من ارتفاع درجة الحرارة إلى أعلى من (+20)°م، إذ أنه عند هذه الدرجة يتم استبدال الفلورا الطبيعية المحبة للبرودة بكائنات حية دقيقة محبة للحرارة المعتدلة ما فيها العنقوديات المرضة.

الاختصارات

Shortcuts

الاسم الأجنبي	الاختصار	الاسم العربي
Enzyme-linked immuno sorbent assay	ELISA	مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم
Staphylococcal food poisoning	SFP	التسمم الغذائي العنقودي
Staphylococcal Enterotoxins	SEs	الذيفانات العنقودية المعوية
Food and drug administration	FDA	منظمة الغذاء والدواء
World Health Organization	WHO	منظمة الصحة العالمية
The European food safety Authority	EFSA	هيئة سلامة الأغذية الأوروبية
limit of detection	LOD	حد الكشف
Centers for Disease Control	CDC	مركز مراقبة الأمراض
Colony Forming Unit	CFU	وحدة تشكيل المستعمرة
Revolutions per minute	R.P.M	دورة بالدقيقة
Mikroliter	µl	ميكروليتر
Mikrometer	µm	ميكرومتر
kiloDalton	kDA	كيلو دالتون

المراجع

References

1. **عياش** علي. **موسى** أمين، 2008- **تكنولوجيا اللحوم**، الجزء العملي، منشورات جامعة تشرين، كلية الزراعة، 148صفحة.
2. **محيو** عادل، 1998- **تكنولوجيا اللحوم**- الجزء النظري، منشورات جامعة حلب، كلية الزراعة، سوريا، 308 صفحة.
3. World agriculture: towards 2015/2030. Summary report. Rome. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
4. **اسعيد** مصطفى، 2013- **تقانة اللحوم والأسماك**، الجزء العملي، منشورات جامعة حلب، كلية الهندسة التقنية، 304 صفحة.
5. Scallan. E. Hoekstra. R. Angulo. F. Tauxe. R. Widdowson. M. Roy. S.. 2011- **Foodborne illness acquired in the United States**—major pathogens. Emerg Infect Dis. 17:7–15.
6. Ashton. A.. 2012 - **Staphylococcus—Advances in Research and Treatment**. published by scholarlyEdition. Atlanta. Georgia.
7. Prescott LM. Harley JP. Klein DA.2005- **Microbiology**. 6th ed.. Mc Graw Hill Higher education. New york
8. **اسعيد** مصطفى، 2009- **حفظ الأغذية وتخزينها**، منشورات جامعة حلب، كلية الهندسة التقنية، 329 صفحة.
9. Kerry. J. Kerry. J. Ledward. D.. 2002 - **meat processing: Improving quality** – Woodhead publishing limieted and CRC press LLC.
10. **الشريك** يوسف، 1996- **تكنولوجيا اللحوم ومخلفاتها**، الدار العربية للنشر والتوزيع، الطبعة الأولى، القاهرة.316.
11. Andrew. D. Rond. B.. 1998 – **The Microbiology of meat and poultry** . blackie academic & professional . london. 1st edition.
12. Nychas. G.-J.E.. Skandamis. P.. 2005. **Fresh meat spoilage and modified atmosphere packaging (MAP)**. In: Sofos. J.N. (Ed.). Improving the Safety of Fresh Meat. CRC/ Woodhead Publishing Limited. Cambridge. pp. 461–502.
13. G. Heinz. P. Hautzinger..2007- **Meat Processing Technology for Small to Medium Scale Producers**. Food and Agriculture Rganization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific Bangkok.
14. F. Toldrti.. 2002 – **dry – cured meat products**. Printed in the United States of America.

15. F. Toldrá.. 2007 - **Handbook of Fermented Meat and Poultry**. 1st edition. Blackwell publishing.

16. Paul. M. Laurence. S. Vance. D. Linda. M. Joseph. B. Craig. Sh. Patricia. M. Robert. T.. 1999 - **Food-Related Illness and Death in the United States.**

17. Estes. R. George. S. William. H. Tybor.. 2003 - **Preventing Food Poisoning And Food Infection**. The University of Georgia College of Agricultural & Environmental Sciences.

18. Todd. E. C.. Greig. J. D.. Bartleson. C. A.. & Michaels. B. S.. 2008 - **Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease**. Part 4.Infective doses and pathogen carriage. Journal of Food Protection. 71 (11). 2339–2373.

19. B. Ray.. 2004 – **fundamental food microbiology** . 3rd ed. CRC PRESS. Boca Raton London New York.

20. Mead. P. S.. L. Slutsker. V. Dietz. L.F. McCaig. J. S. Bresee. C. Shapiro. P.M. Griffin. and R.V. Tauxe.. 1999 – **Food related illness and death in the United States.** Emerg. Infect. Dis 5: 607-625.

21. Asao T. Kumeda Y. Kawai T. Shibata T. Oda H. Haruki K. Nakazawa H and Kozaki S.. 2003- **An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk**. Epidemiol Infect. 130: 33-40.

22. Do Carmo LS. Cummings C. Linardi VR. Dias RS. De Souza JM. De Sena MJ. Dos Santos DA. Shupp JW. Pereira RK and Jett M.. 2004 - **A case study of a massive staphylococcal food poisoning incident**. Foodborne Path Dis. 1 (4):241-6.

23. European Food Safety Authority.. 2010 - **The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008**. The EFSA J. 1496.

24. Health Protection Agency. UK. Foodborne outbreak surveillance and risk assessment.2009

25. Murray PR. Rosenthal KS. Kobayashi GS. Pfaller MA.. 2002 - **Medical Microbiology**. Mosby: St. Louis.

26. Acheson. D.. 1999- **Toxins associated with foodborne illness**. Food Qual.. 6(6). 30.

27. Balaban. N.. and A. Rasooly.. 2000 - **Staphylococcal enterotoxins**. Int. J. Food Microbiol. 61:1-10.

28. Bennett. R. W.. 2005 - **Staphylococcal enterotoxin and its rapid identification in foods by enzyme-linked immunosorbent assay-based methodology**. Journal of Food Protection. 68. 1264–1270.

29. Asao T. Kumeda Y. Kawai T. Shibata T. Oda H. Haruki K. et al.. 2003 - **An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk**. Epidemiol Infect.

30. Scallan E. Hoekstra RM. Angulo FJ. Tauxe RV. Widdowson MA. Roy SL. et al.. 2001 **- Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. Emerg Infect** Dis. 17:7–15.

31. Tucker S., 2008 - **Food Biodeterioration and Preservation**- Blackwell Publishing, food science, (7)1: 154-157.

32. C. Tondo. M.C.M. Guimares. J.A.P. Henriques. M.A.Z. Ayub.. 2000 - **assessing and analysing contamination of dairy processing plant by *staphylococcus aureus* using antibiotic resistance and PFGE**. Canadian journal of microbiology. 46 pp. 136-142.

33. **عساني** يحيي. **يوسف** نهاد، 2004− **الجراثيم والطفيليات**، الجزء العملي، منشورات جامعة حلب، كلية طب الأسنان. 184.

34. K. Joseph. K. John. L. David. 2002- **Meat processing Improving quality.**. woodhead publishing limited- Cambridge. England. 457.

35. Smyth CJ. Smyth DS. Kennedy J. Twohig J. Bolton DJ.. 2004 - ***Staphylococcus aureus*: from man or animal—an enterotoxin iceberg**. Padua. *Italy: Teagasc—The National Food Centre*.(4)8:211-215.

36. Hatakka M, Björkroth K, Asplud K., 2000 - **Genotypes and enterotoxicity of *staphylococcus aureus* isolated from the hands and nassl cavities of flight-catering employees**. *Journal of Food Protections*. **11**. pp. 1487–1491.

37. Scherrer D, Corti S, Muehlherr J, Zweifel C, Stephan, R.., 2004 - **Phenotypic and genotypic characteristics of *Staphlococcus aureus*isolates from raw bulk-tank milk samples of goats and sheep**. *Veterinary Microbiology*. **101** . pp. 101–107 .

38. **إبراهيم باشا** سهيل، 1990- **ميكروبيولوجيا الأغذية والألبان**، الجزء النظري، منشورات جامعة حلب، كلية الزراعة. 190.

39. Bertha. A. Facp. MD., 2007 - Mrsa-Killer Bug. Library of congress control. published by lulu.com

40. **أبو الدهب** مصطفى كمال، **الكشير** حسين محمد، **القزاز** سيد أحمد، **شعيب** عبد الباقي عالية، 1997− **عالم البكتيرات**، الجزء الأول، دار المعارف، جمهورية مصر العربية.214.

41. J.G. Holt Ed., 1994 - Bergey's manual of determinative bacteriology. Williams & Wilkins. Baltimore.

42.FOSTER. T., 2005. **Immune evasion by staphylococci.Nature Reviews Microbiology**. 3. 948-958. Coagulases of Staphylococcus aureus.

43. Garvani. R.B., 1987- **Bacterial foodborne diseases. Dairy Food Environ. Sanit**.. 7. 77.

44. Morandi S. Brasca M. Andrighetto C. Lombardi A. Lodi R., 2009 - **Phenotypic and Genotypic Characterization of Staphylococcus aureus Strains From Italian Dairy Products**. Int. J. Microbiol.501362:1–501362:7.

45. Le Loir Y. Baron F. Gautier M.. 2003 - ***Staphylococcus aureus* and food poisoning**. Genet Mol Res.2:63–76.

46. **الفتحي** حسان، 1998– **فساد الأغذية**، الجزء النظري، منشورات جامعة حلب، كلية الزراعة الثانية. 175.

47. International Commission on Microbiological Specifications for Foods 1996.

48.M. Schmitt. S. Schmid. W. Lorenz..1990 - **Temperature limits of growth. TNase and enterotoxin production of Staphylococcus aureus strains isolated from foods.** Int J Food Microbiol.11(1):1-19.

49. Yang SE. Yu RC. Chou CC.. 2001- **Influence of holding temperature on the growth and survival of Salmonella spp and *Staphylococcus aureus* and the production of staphylococcal enterotoxin in egg products**. Int J Food Microbiol. 63:99–107. doi: 10.1016/S0168-1605(00)00416-5.

50. Márta D. Wallin-Carlquist N. Schelin J. Borch E. Radstrom P.. 2011 - **Extended staphylococcal enterotoxin D expression in ham products**. Food Microbiol. 28:617–620. doi: 10.1016/j.fm.2010.11.013.

51. Sakai F. Ihara H. Aoyama K. Igarashi H. Yanahira S. Ohkubo T. et al.. 2008 - **Characteristics of enterotoxin H-producing Staphylococcus aureus isolated from clinical cases and properties of the enterotoxin productivity**. J Food Prot. 71:1855–1860.

52. Bang W. Hanson DJ. Drake MA.. 2008- **Effect of salt and sodium nitrite on growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* during the production of air-dried fresh pork sausage**. J Food Prot.71:191–195

53..Bennett. R. W.. 2001- *Staphylococcus aureus*. p 201-220. Ronald G. Labbe and Santos Garcia.. Guide To Foodborne Pathogens. John Wiley and Sons. Inc. New York. NY.

54.FDA U.S. Food and Drug Administration. Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook *Staphylococcus aureus.*

55. Bergdoll. M.S.. 1990- **Staphylococcal food poisoning**. In Foodborne Diseases. D.O. Cliver (Ed.) Academic Press. Inc. San Diego. CA. p. 86-106.

56. Genigeorgis. C.A.. 1989- **Present state of knowledge on staphylococcal intoxication**. *Int. J. Food Microbiol.* 9:327-360.

57. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook *Staphylococcus aureus. 2012.*

58. Bean. N. Griffin.M. Goulding. S. Ivey. C.. 1999- **Foodborne disease outbreaks**. 5-year summary. J. Food Prot.. 53. 711.

59. York. G. Stier. R. Cocotas. P.. 1990 - **Staphylococcal food poisoning outbreaks caused by canned mushrooms from China**. Food Technol.. 44(12). 74.

60. Giannatale. V. Prencipe. A. Tonelli. C. Marfoglia. G.. 2011 - **Characterisation of staphylococcus aureus strains isolated from food for human consumption. Veterinaria Italiana**. 47(2). 165-173.

61. Oh. SK.. Lee. N.. Cho. YS.. Shin. DB.. Choi. SY.. Koo. M. 2007- **Occurrence of toxigenic Staphylococcus aureus in ready-to-eat food in Korea**. US National Library of Medicine National Institutes of Health.

62.M.L.R.S. Cunha. R.A.O. Calsolari. J.P. Araújo Júnior.. 2007 - **Microbiology and Immunology** 51. 381.

63.S. Çitak. Ö. Varlik and N. Gündoğan.. 2003 - **Slime production and DNAse activity of staphylococci isolated from raw milk**. *Journal of food safety*. 5 pp. 281-288.

64. Scientific Committee on Enteric Infections and Foodborne Diseases. Review of Staphylococcal Food Poisoning in Hong Kong. 2009.

65.C. Engel. A. Fanslau. M. Schoeller. E.. 2005- **Fate of Staphylococcus aureus on vacuum-packaged ready-to-eat meat products stored at 21 degrees C** . J Food Prot. 68(9):1911-5.

66.U. Gurbuz . M. Ardic. H. Calim.. 2009 - **Microbiological Characteristics of Turkish Semi-Dry Fermented Sausage During Processing Stages and Storage** - Journal of Animal and Veterinary Advances. Volume: 8 | Issue: 4 | Page No.: 677-682.

67.Gök. V. Obuz. E. Akkaya. L.. 2007- **Effects of packaging method and storage time on the chemical. microbiological. and sensory properties of Turkish pastirma - A dry cured beef product**. Meat Sci.80(2):335-44.

68. Levent. A. Veli. G. Recep. K. Hilmi. Y.. 2013 - **Enterotoxin production by Staphylococcus aureus (A. B. C. D) during the ripening of sucuk (Turkish dry-fermented sausage)**- Journal of Food. Vol. 12. No. 2. 127–133.

69. Filiz. K. Ergun. G. Zafer. G.. 2009 - **The Microbiological. Chemical and Sensory Features of Vacuumed-Packed Wels Catfish (Silurus glanis L.) Pastrami Stored Under Ambient Conditions (20°C).** Journal of Animal and Veterinary Advances . Volume: 8 | Issue: 4 | Page No.: 817-824

70. Bodén. M. K. & Flock. J. I..*1989.* **Fibrinogen-binding protein/clumping factor from *Staphylococcus aureus*.** Infect Immun 57. 2358–*2363.*

71. هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، المواصفة القياسية السورية رقم 2822/2003، طرائق تحديد جراثيم المكورات العنقودية موجبة التخثر.

72. D. Roberts..2002 **-Practical Food Microbiology**. 1ST edition. Blackwell Publishing Ltd. 2002.

73. Breckinridge. J.C.. and M.S. Bergdoll. 2000. **Outbreak of foodborne gastroenteritis due to a coagulase negative enterotoxin producing staphylococcus**. N. engl. Med. 248:541-543.

74. Novak S, Sapers M, Juneja K., 2003 – **microbial safety of minimally processed foods**. *CRC Press*.(6)12: 82-88.

75. Adams MR. Moss MO., 2008- **Bacterial agents of foodborne illness— *Staphylococcus aureus*. Food Microbiology**.*Cambridge: Royal Society of Chemistry.*

76. S. Cunha. R. Calsolari.. 2006 - **Toxigenicity in *Staphylococcus* with emphasis on coagulasenegative staphylococci** . Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology

77. Spencer. T, John. F., 2001- **Food Microbiology Protocols**. *Humana Press. Totowa. New Jersey* (4)11: 41-44.

78. Rosec JP. Guiraud JP. Dalet C. Richard N., 1997- **Enterotoxin production by staphylococci isolated from foods in France**. *Int J Food Microbiol*;35(3):213-221.

79. Baird-Parker. A.C. 1990. **The staphylococci: An Introduction**. *J. Appl. bacterial Symp*. Suppl. *15-85.*

80. Schlievert PM. Case LC.. 2007- **Molecular analysis of staphylococcal superantigens.** Methods Mol Biol.;391:113–126.

81. Thomas DY, Jarraud S, Lemercier B, Cozon G, Echasserieau K, Etienne J., 2006 - **Staphylococcal enterotoxin-like toxins U2 and V. two new staphylococcal superantigens arising from recombination within the enterotoxin gene cluster. Infect Immun.** ;74:4724–4734.

82. Orwin. P.M.. J. R. Fitzgerald. D.Y.M. Leung. J. A. Gutierrez. G.A. Bohach. and P.M. Schlievert.. 2003- C**haracterization of Staphylococcus aureus enterotoxin L. Infect**. *Immun*.71: 2916-2919.

83. Altboum Z. Hertman I. Sarid S.. 1998 - **Penicillinase plasmidlinked genetic determinants for enterotoxins B and C1 production in *Staphylococcus aureus***. *Infect Immun*. 47:514–521.

84. Omoe. K.. Imanishi. K.. Hu. D. L.. Kato. H.. Takahashi-Omoe. H.. Nakane. A.. 2004 - **Biological properties of staphylococcal enterotoxin-like toxin type R.** *Infection and Immunity*. 72. 3664–3667.

85. Normanno. G. La Salandra. G. Dambrosio. A. Quaglia. N.. Corrente. M. Parisi. A. Santagada. G. Celano. G. 2007 - **Occurrence. characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolated from meat and dairy products**. *International Journal of Food Microbiology*. 115 (3). 290–296.

86. Zhang S. Stewart GC.. 2001 - Staphylococcal enterotoxins. In: Honeyman A. Friedman H. Bendinelli M. editors. ***Staphylococcus aureus* infection and disease**. New York: Plenum Publishing Corporation. pp. 117–136.

87. Richard. L. Laurie. C. Judy. D ..2012 - **The food safety hazard guidebook**. 2nd edition.printed in great Britian by CPI group. Croydon. UK.

88. Bergdoll M.S, Crass B.A, Reiser R.F, Robbins R.N, Davis J.P., 1991 - **A New Staphylococcal Enterotoxin. Enterotoxin F. Associated with Toxic-Shock-Syndrome *Staphylococcus aureus* Isolates**. Lancet;1:1017–

89. Chen T.R, Chiou C.S, Tsen H.Y., 2004 - **Use of Novel PCR Primers Specific to the Genes of Staphylococcal Enterotoxin G. H. I for the Survey of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated From Food-Poisoning Cases and Food Samples in Taiwan**. Int. J. *Food Microbiol*. 92:189–197.

90. Ikeda T.. Tamate N.. Yamaguchi K.. Makino S., 2005 - **Mass Outbreak of Food Poisoning Disease Caused by Small Amounts of Staphylococcal Enterotoxins A and H**. *Appl. Environ. Microbiol*. 71:2793–2795.

91. Marr J.C.. Lyon J.D.. Roberson J.R.. Lupher M.. Davis W.C.. Bohach G.A.. 1993 - **Characterization of Novel Type C Staphylococcal Enterotoxins: Biological and Evolutionary Implications**. Infect. Immun. 61:4254–4262.

92. S. Tucker., 2008- **Food Biodeterioration and Preservation**- Blackwell Publishing.(8)13:107-111.

93. Smith. J.L.. Buchanan. R.L.. and Palumbo. S.L.. 1983 - **Effects of food environment on staphylococcal enterotoxin synthesis**. Food Prot.. 46. 545.

94. Atanassova. V.. Meindl. A.. & Ring. C.. 2001 - **Prevalence of Staphylococcus aureus and stahylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR**. International Journal of Food Microbiology. 68 (1-2). 105–113.

95. Murray PR. Rosenthal KS. Kobayashi GS and Pfaller MA.. 1998**. Staphylococcus and related Organisms. In: Medical Microbiology**. 3rd ed. Mosby. Missouri. USA. pp.175-88.

96. Even S. Charlier C. Nouaille S. Ben Zakour NL. Cretenet M. Cousin FJ. et al.. 2009 - ***Staphylococcus aureus* virulence expression is impaired by *Lactococcus lactis* in mixed cultures. Appl Environ Microbiol**. 75:4459–4472. doi: 10.1128/AEM.02388-08.

97.Gómez-Lucía E. Goyache J. Orden JA. Domenech A. Javier Hernandez F. Ruiz-Santa Quiteria JA. et al.. 1992 - **Growth of Staphylococcus aureus and synthesis of enterotoxin during ripening of experimental Manchego-type cheese**. J Dairy Sci. 75:19–26. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(92)77733-9.

98..Satomi. T. Yuko. S. Masatsune. M.. 2013- **Temperature Dependence of The Production of Staphylococcal Enterotoxin A by *staphylococcus aureus*- Biotechnol**. Biochem. 77 (1). 30-37.

99.J.M.L. Sung. P.D. Chantler. D.H. Lloyd. Infec Immun 74. 2947 . 2006.

100. [ICMSF] International Commission on Microbiological Specification for Foods. 1980. Microbial ecology of foods. Volume 1. Factors affecting life and death of microorganisms. Orlando: Academic Pr. p 311

101. الدقل مسفر بن محمد. الشارب، اسماعيل **عيسى**، 2002– **الأمراض المنقولة بواسطة الغذاء**، جامعة الملك سعود، الرياض، كلية الزراعة.325

102. LYNN E. BARBER. R. H. DEIBEL.. 1993 - **Effect of pH and Oxygen Tension on Staphylococcal Growth and Enterotoxin Formation in Fermented Sausage- American Society for Microbiology.** Vol. 24. No. 6.

103. Gray. R. J. H.. M. A. Gaske. and Z. J. Ordal.. 1974**- Enumeration of thermally stressed *Staphylococcus aureus.*** MF 31. J. Food Sci. 39:844-846.

104. Minor. E. T. Marth.. 1971- ***Staphylococcus aureus* and staphylococcal food intoxications.** A review. I. The staphylococci: characteristics. isolation and behavior in artificial media. J. Milk Food Technol. 34:557-564.

105. Shetty. K.. paliyath. G.. pometto. A.. Levin. R. 2005. **Food Biotechnology . application of elisa assays for detection and quantitation of toxins in foods**. 2nd Ed . CRC Press.

106. Ewald. S.. 2003- **Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of staphylococcal enterotoxin in foods**. International Journal of Food Microbiology. 2: 141-153.

107. Chen Su. Yi and A.C.L. Wong.. 1997- **Current perspectives on detection of staphylococcal enterotoxins**. *J. Food Prot.* 60:195-202.

108. *Staphylococcus aureus* visual immunoassay. Instructions TECRA international Pty Ltd.

109. W. Bennett. M. Hait.. 2011- Bacteriological Analytical Manual. Chapter 13A. Staphylococcal Enterotoxins: Micro-slide Double Diffusion and ELISA-based Methods.

110. 1.Murray P. R.. Baron J. H.. Pfaller M. A.. Jorgensen J. H. and Yolken R. H.. (Ed.). 2003. **Manual of Clinical Microbiology**. 8th Ed.. American Society for Microbiology. Washington. D.C.

111. AOAC 2000. Official Methods of Analysis. Association of Official Chemist. EUA

112. Microbiology of food and animal feeding stuffs Determination of water activity- ISO 21807:2004

113. J. El-Jakee. Ata. S. Nagwa. M. Bakry. A. Zouelfakar. E. Elgabry . W.A. Gad El-Said..2008 - **Characteristics of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Human and Animal Sources** - American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.. 4 (2): 221-229.

114. M icrobiological application laboratory manual in general microbiology. 8th edition. The McGraw−Hill Companies. 2001.

115. Anon.2000. turkish food Codex. türk Gida Kodeksi et ürünleri tenligi No. 2000/4. Ankara: agriculture and rural affairs minister.

116. Levent. A. Veli. G. Recep. K. Hilmi. Y.. 2013 – **Enterotoxin production by Staphylococcus aureus (A. B. C. D) during the ripening of sucuk (Turkish dry-fermented sausage)**- Journal of Food. Vol. 12. No. 2. 127–133.

117. Aksu. M. Kaya. M.. 2005- **Effect of storage temperatures and time on shelf-life of sliced and modified atmosphere packaged Pastırma. a dried meat product. produced from beef** - Journal of the Science of Food and Agriculture; Volume 85. Issue 8. pages 1305–1312.

118. هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، المواصفة القياسية السورية رقم 1300/ 1993- البسطرمة.

119. Aalhus J, Cocolin L, Guerrero L, Nollet M, Purchas. W, Schilling M, Stanfield P, Xiong Y.,2012- Hand book of meat and meat processing, CRC press, 300.

120. هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، المواصفة القياسية السورية رقم 2721/ 2002- اللحوم الجاهزة، النقانق غير المعلبة.

121. هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، المواصفة القياسية السورية رقم 2721/ 2002- الاشتراطات الخاصة بالأحياء الدقيقة الواجب تحققها في المنتجات الغذائية.

122. Kotyekidou P.. 1992- **Identification of Staphylococci and Micrococci Isolated from an Intermediate Moisture Meat Product**. *Food Science*.57(1): 249-251.

123. Gonzalez-Fandos. M. E. Sierra. M.. Garcia-Lopez. M. L. Garcia-Fernandez. M. C.. & Otero. A.. 1999- **The influence of manufacturing and drying conditions on the survival and toxinogenesis of Staphylococcus aureus in two spanish dry sausages (chorizo and salchichon).** *Meat Science*. 52 (4). 411–419.

124. R. Irkin1. O. K. Esmer. N. Degirmencioglu . A.Degirmencioglu.. 2011- **Influence of packaging conditions on some microbial properties of minced beef meat at 4°C storage** - *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 17 (5). 655-663.

125. Sagun. E.. Alişarlı. M.. & Durmaz. H.. 2003- **The effect of different storage temperatures on the growth and enterotoxin producing characteristics of Stapyhlococcus aureus in Çiğ Köfte**- *Turkis Journal Veterinary Animal Science*. 27 (4). 839–845.

126. Danilo. E. Ilario. F. Antonella. N. Maurice. N. Pamela. V. Antonietta. La. Luca. L. Gianluigi. M. Elisabetta. G. Francesco. V.. 2011 **- Monitoring of Microbial Metabolites and Bacterial Diversity in Beef Stored under Different Packaging Conditions.** *American siciety for microbiology*- 12(2).41-44.

127. Marta. D. Wallin-Carlquist. N. Schelin. J. Borch. E. & Radstörm. P. 2011. **Extended staphylococcal enterotoxin expression in ham products**. *Food Microbiology*. 28. 617–620.

128. N. christiansen.. M. Foster.. 1985 - **Effect of Vacuum Packaging on Growth of *Clostridium botulinum* and staphylococcus *aureus* in cured meats.** *American Society for Microbiology*.15(7):34-36.

129. Kaban. G. Kaya. M.. 2006- **Effect of starter culture on growth of Staphylococcus aureus in sucuk**. *Food Control*. 17 (10). 797–801.

130. Taçnur B, Nuray E, Sühendan M, Özkan Ö, Didem Ü, Yasemin Y., 2008- **Determination of the Shelf-Life of Trout (Oncorhynchus mykiss) Raw Meatball That Packed under Modified Atmosphere,** *Pakistan Journal of Nutrition* 7 (3): 412-417

131. R. A. Lawrie.. 2006- **Lawrie's meat science**. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. 7th .

132. Kaban. G.. 2008 - **Changes in the composition of volatile compounds and microbiological and physicochemical parameters during pastirma processing**. Meat Sci. 23. (3). 331-335.