



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية / كلية العلوم

قسم علوم الحياة

# عزل وتشخيص

## Listeria monocytogens

# في الأغذية المجمدة

بحث مقدم الى مجلس كلية العلوم وهو جزء من متطلبات نيل شهادة

البكالوريوس في علوم الحياة

من قبل الطالبة

طيبة موجد شعلان الخزاعي

بإشراف الدكتور الفاضل

ميشرغالي يوسف الكعبي

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

﴿ قَالُوا سُبْحٰنَكَ لَا عِلْمَ لَنَا اِلاَّ مَا عَلَّمْتَنَا اِنَّكَ اَنْتَ الْعَلِیْمُ

الْحَكِیْمُ ﴾

صَدَقَ اللّٰهُ الْعَلِیْمِ الْعَظِیْمِ

سورة البقرة (الآية ٣٢)

# الاهداء

الى ...

- سيد الكائنات محمد ( صلى الله عليه واله وسلم )

- الى من نتمنى ان ترى جهدي وما وصلت اليه امي الحنون

- اهلي الذين هم سعادتي والدي واخوتي واخواني

- كل من منحني الثقة وشجعني على مواصلة المشوار

والله ولي التوفيق

## شكر وتقدير

الحمد والشكر لرب العزة على ما منحني من القوة والصبر والاسثمار لاجتياز  
كل المواجهات التي كانت تعني خطوات مسيرتي التعليمية . . .

لا يسعني الا ان أقدم بجزيل الشكر وفائق الاحترام والامتنان لما ابداه  
اساتذتي الافاضل واسناذي الدكتور الفاضل ميشر غالي يوسف لما قدمته لي من  
نصائح أتمنى له دوام الصحة والنوفيق .

كما اقدم شكري الى طالبة الماجستير الست عطاء خليل لما قدمت لي من نصح  
وإرشاد سديدين .

وأخيرا اقدم شكري واحترامي الى مجاهدي الحشد الشعبي وقواتنا الأمنية،  
البطلة التي نذرت دماءها الزكية من اجل الحفاظ على تراب الوطن الغالي .  
والى كل من ساهم معي بالكلمة الطيبة له كل الشكر والتقدير والثناء .

وجزى الله الجميع خيرا الجزاء

والله ولي النوفيق . . .

## الخلاصة

**Listeria monocytogens** هي عصيات سالبة لصبغة كرام اختيارية هوائية متحركة وغير مكونة للسبورات تسبب ( داء اللستريات ) مرض خطير يصيب الحيوانات والانسان .

يؤثر داء اللستريات في معظم الأحيان على النساء الحوامل والجنين و كبار السن وضعف المناعة التي تؤثر على الجهاز العصبي المركزي والدورة الدموية توجد هذه البكتريا في الأطعمة مثل اللحوم والاجبان .

حيث عزلت بكتريا **Listeria monocytogens** من عينات غذائية وبنسب عزل مختلفة وعلى النحو الاتي 20 عينة من الجبن و 20 عينة من اللحم و 10 عينات من الدجاج زرعت العينات على الأوساط الانتقائية والتفريقية لغرض التشخيص حيث لوحظ تلوث عينتين من اللحم وعينة من الجبن وهذا دليل على سوء المعاملة او سوء الخزن .

## المقدمة

تعد بكتريا *Listeria monocytogens* من المسببات المرضية غير الشائعة الا انها تسبب امراض خطيرة للإنسان في كل انحاء العالم مثل الإجهاض المتكرر عند النساء الحوامل (Abortion) والتهاب السحايا (Meningitis) وانهلال الدم في الأطفال حديثي الولادة (Septicemia) ، ( Baetz,1996 ) وتنقل جرثومة *Listeria monocytogen* بشكل رئيس عن طريق الغذاء الملوث بها الى جانب العدوى من الانسان والحيوان (Beuchat and Ryu,1997) .

تنشر *Listeria* بصورة واسعة في النباتات المتحللة والتربة وبراز الحيوانات والاعلاف والمياه (Zaki,1990) .

يعود جنس *Listeria* الى مجموعة العصيات الإيجابية لصبغة كرام ومن مميزات خلايا جنس *Listeria* انها خلايا متحركة عند درجة حرارة (25) درجة مئوية وغير مكونة للأبواغ . ويتطلب في تغذيتها اوساطاً غنية حاوية على دم الانسان بنسبة (5%) وعموما فهي تسبب حل خلايا الدم الحمر ، كما يتطلب استخدام اوساط انتقائية لعزلها من العينات السريرية والغذائية والبيئية .

ومن مميزات جنس *Listeria* المستخدمة في التشخيص كونها سالبة لأختبار الاوكسيديز وإيجابية لأختبار الكاتاليز محللة للاسكيولين (Oladebo,1992) .

تنتشر جراثيم *Listeria monocytogenes* بصورة واسعة في البيئات الريفية لذلك تعد من اهم ملوثات المواد الغذائية الخام المستخدمة في تصنيع الأغذية الجاهزة كالحليب ومشتقاته .

تمتلك هذه البكتريا وسائل حماية جيدة تمكنها من مقاومة تقنيات حماية الغذاء ومنها القابلية على تحمل تراكيز ملحية عالية ومستوى اس هيدروجين (PH) عالي واكثر من ذلك فهي تستطيع البقاء والتكاثر في درجات حرارة منخفضة تصل الى (4 م°) وكما تنقل هذه البكتريا من الحيوان الى الانسان اما عن طريق التماس المباشر من خلال تناول الأغذية الملوثة بالبكتريا وتصاب الحيوانات بها نتيجة التغير المفاجئ في العليقة وتناول الاعلاف فضلا عن اللبائن والطيور وتعد خازنا للجراثيم كما ان البكتريا *Listeria monocytogenes* من الجراثيم المقاومة للبرودة ( Psychro trophic ) اذ تمتلك القدرة على النمو بدرجة حرارة من (2-4 م°) لمدة 8 أسابيع ولهذا الهدف من الدراسة هو التحري عن *Listeria monocytogenes* في نماذج من الأغذية المجمدة .

الأجهزة والأدوات

الحاضنة Incubatr

ناقل Loops

ثلاجة Frezeers

أطباق بتري Petridish

جهاز التعقيم Autocleave

جهاز الطرد المركزي Center Fuge

ميزان حساس Sensitive balance

أنابيب اختبار Test Tube

مصباح بنزن Benzen Flame

دورق زجاجي Flasks

كفوف وكمامات

جمع العينات

ثم جمع مجموعة من العينات من نماذج مختلفة من الأغذية مثل الاجبان واللحوم

والدجاج .



## المواد وطريقة العمل

يتم التحري في هذه الدراسة عن بكتريا *Listeria monocytogens* في نماذج مأخوذة من الاجبان المستوردة ( جبن رامك ، بنكا ، كالين ، سمايل ... ) ونماذج من اللحم والدجاج المجمد تم تشخيص البكتريا وذلك يأخذ وزن مقداره ( 1gm ) من النموذج وأضافته الى ( 10gm ) من الوسط الزراعي الأغثائي **brain heart infusion broth** وتركه في الحاضنة لمدة 24 ساعة بدرجة 37°C ثم يتم نقل **Loop full** الى الوسط الزراعي الصلب **blood agar** وتم تخطيط الوسط وحضن لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37°C بعد فترة الحضن نلاحظ تكون **narrow B.heuolysis** بواسطة **Loopfull** يتم اخذ هذا التحلل وزرعة على الوسط الاختياري ( **PALCAM** ) ويحضن لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37°C نلاحظ تكون مستعمرات سوداء على سطح الوسط الأحمر.

## النتائج والمناقشة

تعتبر *Listeria* بكتريا شديدة العدوان والتي تكون مجموعة واسعة من المنتجات

الغذائية مع ارتفاع معدل الوفيات في العالم يبين الجدول الاتي :

جدول رقم (١) يبين الفحوصات الكيموحيوية .

النتيجة	اسم الفحص
Positive	Catalase
Negative	Oxidase
Negative	Blood agar
Negative	Motility

جدول رقم (٢) يبين عدد العينات التي ظهرت فيها بكتريا *Listeria*

. monocytogens

عدد العينات	الجبن %	اللحم الأحمر %	لحم الدجاج %
50	%40	%40	%20
العينات الموجبة	%2	%4	%0

من مجموع 50 عينة من أنواع مختلفة من المنتجات الغذائية 20 عينة من الجبن و20 من اللحم الأحمر و 10 عينات من الدجاج المجمد لوحظ عينة واحدة من الجبن كانت ملوثة بهذه البكتريا وعينتين من اللحم . مما سبق لوحظ نسبة العزل من اللحم الأحمر شكلت اعلى نسبة لعزل بكتريا *Listeria* وهذا يفسر وجود هذه البكتريا بوصفها منبثاً طبيعياً في امعاء الحيوانات .

ان استخدام المنتجات الغذائية المجمدة قد يكون سبباً في انتشار بكتريا *Listeria* مما يؤدي الى إصابة النساء الحوامل بهذه الجرثومة فقد وجدت بعض الدراسات ان نمو جرثومة *Listeria* في درجات الحرارة الواطنة ينتج في تكوين احد عوامل الفوعة الرئيسية المسمى حالة الدم بيتا او المسمى بذيغان Listenolysino - LLO ( Geneva,1980 ) ( Troutt,1997 ) ، ( Betaltaemolysin ) .

وقد بينت احدى الدراسات ان 33% من الحيوانات تطرح جرثومة *Listeria* في برازها وان كانت لا تبدي اعراض مرضية ( Weber,1995 ) ، ( AL-Haj Ali,1995 ) ، ( Lida,1998 ) ، ( March,2001 ) .

أظهرت بعض الدراسات ان معدل نمو بكتريا *Listeria* بدرجة حرارة 25م° اقل من معدل النمو بدرجة حرارة 37م° .

1- Baetz,A.L, Wesly. I.V.and steves .M.G. the use of listeriolysin in an ELIS A, askintest and a lymphocyte blastogenesis assay on sheep experimentally infected with listera monocytogens.

2- Beuchat .L.and Ryu.J.produce handing and processing praetices . Emerg Infect Dis 3:459-465.1997.

3- Zaki,M; Daoud , A.S AL-Saleh ,Q.and Abd-ALRasool . M.M.Bacteria meningitis in the newborn : a Kuwaiti experience .J.Trop. pediatr. 36:63-65.1990.

4- Oladepo.D.K. Candlsh ,A.A.and Stimson , W.H.Detection of listeria monocytogens using polyclonal antibody letters in Applied Microbiology .14:26-29. 1992 .

5- WHO Working group .Food borne listeriosis WHO/EHE/FOS 88.5.Geneva . 1980 (Abstrast) .

6-Trout H.fand Osburn .B.I.(1997) Meat from dairy cows . possible microbiological hazards and risks Rev. Sci.Tech , 16:405.

7- Weber, A, potel, J, SCHAFFNER, SIR, Prell, A. and Dat Zamn, C. 1995 .Studies on the occurrence of Listeria monocytogens in fecal samles of domestic companion anamls .Zentrallbal .Hyg. Vmweltmed . 198: 117 ( Abstract)

8- Al-Haj ,Ali, A (1995) . Isolation and serological characterization of listeria monocytoenes from chikens in Jordan .M.Sc Thesis , University of Jordan (11) .

9- Lida, T, Kanzkai , M; Nakama Ajkokubo , y: Marryama, T. and kaneuchi , c. (1998) . Detection of Listeria monocytogens in human , animals and foods . T.Vet. Med. SCi , 60:1341-1343.

10- FDA/Center for food safty and Applied Nutrition . March , (2001) processing paraneters heeded to control pathogens in cold – smoked fish potential hazard in cold – smoked fish : Listeria monocytogens.