عزل وتحديد الحمولات الميكروبية لشرائح البصل *Allium cepa* L. المقطّع في ظروف الجو المحيط من خلال الفحص الجرثومي

زهراء بيدق[1]* و المثنى حسن[1]

(1). مركز بحوث اللاذقية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية GCSAR، سورية.

(*للمراسلة الباحث: د. زهراء بيدق zahraaok2@hotmail.com هاتف:00963991454922).

تاريخ الاستلام:2023/08/13 تاريخ القبول:2024/01/28

المُلخّص

أُجريت بعض التجارب حول استخدام أقراص من شرائح البصل *Allium cepa* L. المقطع التي تم توزيعها ضمن أماكن مختلفة في ظروف الجو المحيط حيث عُلّقت على ارتفاع 1.5 m، وذلك بغرض التعرف على الأنواع الجرثومية والجراثيم المدمصة على سطح شرائح البصل، حيثُ وضعت شرائح البصل بنصف قطر 2.5 cm في 3 أماكن مختلفة من حيث طبيعة استخدام المكان وبمعدل 3 مكررات في كل من (غرفة المكتب – غرفة المعيشة – غرفة حمامات عامة)، وبعد ثلاثة أيام من التعليق تم سحب العينات وترقيمها ونقلها لمخبر الفحص الجرثومي في مديرية التموين في اللاذقية لدراسة المعايير التالية: (التعداد العام للجراثيم – اختبارات خاصة ببعض أنواع الجراثيم الممرضة)، إن أهم البيئات التي استخدمت في البحث هي : بيئة الآغار المغذي Nutrient Agar (NA)، وبيئة Violet Red Bile Glugose Agar (VRB) ووسط بيرد باكر (Baird Parker Agar) ووسط Salmonella Tetrathionate Broth، حضّنت العينات في درجات حرارة محددة تناسب أنواع الجراثيم الهدف المراد التعرف عليها تراوحت بين 37 °C− 44 وحضنت لمدة 24 ساعة و48 ساعة، أظهرت النتائج أن العينات المعلقة في غرف المكاتب والمعيشة والحمامات العامة وخلال ثلاث أيام فقط؛ كانت تحوي تعداد جرثومي عالي مقارنة بالشاهد (أخذت العينات للهضم مباشرة)، إذ بلغت أعلاها 3.2×10^3 جرثومة لكل 1 g من عينات غرف الحمامات بينما أدناها بلغ 3.0×10^3 جرثومة لكل 1 g في عينة غرف المعيشة وذلك على بيئة NA بينما كان الشاهد يحوي 5.0×10^2 جرثومة لكل 1 g، بينما احتوت عينات المكاتب وغرفة المعيشة على أنواع مجموعة بكتريا مجموعة الكوليفورم Coliform ومنها الإشيرشيا القولونية *Escherichia coli*، بينما خلت جميع العينات من جراثيم المكورات العنقودية الذهبية *Staphylooccus aureus* والسالمونيلا *Salmonella*.

الكلمات المفتاحية: البصل، الجراثيم القولونية، الإشيرشيا القولونية، *Salmonella*، *Staphylooccus*.

المُقدمة:

ينتمي البصل *Allium cepa* L. إلى العائلة الزنبقية Liliaceae وهو نبات عشبي معمر ينمو عن طريق الريزومات أو الأبصال أو الجذور اللحمية المنتفخة أو الدرنات، ويحمل في سطحه السفلي جذوراً عرضية ليفية تعلوها الأوراق الشحمية التي تشكّل قواعد الأوراق والتي تتضخم عند نضج النبات لخزنها الغذاء وتحاط بغلاف فتكّون البصلة التي تعد الجزء المستعمل (عرموش، 1998).

يعد نبات البصل أحد النباتات الأكثر فائدة طبية خاصة للقلب وتقوية المناعة، و يرجع ذلك غالبا إلى احتوائه على نسبة عالية من مضادات الأكسدة والمركبات التي تحوي على الكبريت والتي لها تأثير مضاد للأكسدة ومضاد للالتهابات وقد ارتبط بتقليل خطر الإصابة بالسرطان، وانخفاض مستويات السكر في الدم، وتحسين صحة العظام(Al-asadi, 2021).

بالإضافة إلى علاج التهاب المفاصل والروماتيزم وعلاج الأمراض الجلدية (Sharqui and Al-Obaidi, 2002). وقد بيّنَ العديد من الباحثين أن الزيوت الأساسية لنبات البصل لها تأثيرات مضادة لنمو كل من الفطريات والخمائر ولاسيما أنواع *Trichophyton* spp. (Pyun and Shin, 2006). كما أكد باحثون أيضاً أنَّ لمستخلصات البصل تأثيراً في أنواع مختلفة من البكتريا وخاصةً التي كانت معزولة من اللوزتين والجراثيم الممرضة من الفم (حسين، 2001).

وفي نفس الوقت أصبح هناك الكثير من المغالطات حول مدى إمكانية أن يوفر نبات البصل بيئة ملائمة للكثير من الجراثيم، حيثُ انتشرت في الآونة الأخيرة أخبار كثيرة عن البصل وهل يساعد على نمو الجراثيم المنقولة بالهواء أم لا؟

وقد اختلف الكثير من العلماء والخبراء في ذلك، فبعضهم أشار إلى أنَّ البصل ليس بيئة حاضنة للبكتريا إلا إن تعرّض لعوامل ملوّثة من مصدرها، كالري بمياه ملوثة وعدم غسلها جيداً قبل استهلاكها، أو إن قُطّعت على نفس لوح تقطيع اللحوم أو من خلال الأدوات المستخدمة في تقطيعها والتي قد تكون ملوثة، أو لربما أن اليدين بحد ذاتها هي التي قد تكون ملوثة، وبذلك يكون بعض العلماء قد نفى أن يكون البصل مغناطيساً جاذباً للجراثيم مستنداً إلى أدّلة علمية واضحة، إلا أن بعضهم الآخر ذكرَ أنه عند تقطيع البصل يجفُّ سطحه مباشرةً، مما يقلّص نسبة الرطوبة التي تحتاجها البكتريا للنمو، كما أنَّ نمو الجراثيم يحتاج بدوره إلى مصدر تلوث وليس من البكتريا المتواجدة في الجو المحيط، بينما أشارت جمعية منتجي وتجار وموزعي البصل الأمريكية أن التعاطي مع البصل بشكل صحيح لا يجعل منه مادّة سامة، كما يمكن الاحتفاظ به في الثلاجة في مستوعب ضغط يصل حتى سبعة أيام(LQAS, 2013).

ولذلك فقد أتى هذا البحث للجزم ومعرفة متى سيكون مفيداً ومتى يكون ضاراً أو من الخطأ أن يتم تناوله بطريقة غير صحيحة مما يؤذي الصحة العامة.

أهداف البحث:

اتجهنا في هذا البحث للتعرف على الأنواع البكتيرية والبكتيريا الممرضة المدمصّة على سطح شرائح البصل الموجودة في الوسط الهوائي (الجو المحيط)، بهدف دراسة أهم المعايير والصفات المخبرية التي تمكننا من خلال العمل المخبري على التأكيد على تواجد هذه الأنواع وتوضيح خطورتها وتفادي استخدام الأبصال الملوثة أو نبات البصل المروي بمياه الصرف الصحي.

مواد البحث، وطرائقه:

<u>عينة البحث:</u>

شملت عينة البحث شرائح من البصل التي وضعت بنصف قطر 2.5 Cm والمعلقّة باستخدام خيوط على ارتفاع 1.5 m في ثلاث أماكن مختلفة من حيث طبيعة استخدام المكان وبمعدل ثلاث مكررات لكل مكان موزعة كالتالي: (غرفة مكتب رقم 1، غرفة مكتب

رقم 2، غرفة مكتب رقم 3، غرفة حمامات عامة رقم 1، غرفة حمامات عامة رقم 2، غرفة حمامات عامة رقم 3، غرفة معيشة رقم 1، غرفة معيشة رقم 2، غرفة معيشة رقم 3)، بالإضافة لعينة الشاهد التي شملت شرائح بصل سليمة وطازجة بمعدل ثلاث مكررات أيضاً (بحيث تم دراسة العينات مباشرة).

أنواع البيئات المستخدمة:

- بيئة الآغار المغذي NA: وهو وسط تعداد عام للجراثيم يعطي صورة عامة عن العينة المدروسة.
- بيئة Violet Red Bile Glugose Agar (VRB) وهو وسط للكشف عن:

أ- تعداد جراثيم المجموعة القولونية Coli Form وذلك عند التحضين عند الدرجة 37 ^{o}C (VRB 37 ^{o}C).

ب- الكشف عن جراثيم الإشيرشيا القولونية *Escherichia coli* ذلك عند التحضين عند الدرجة 44 ^{o}C(VRB 44 ^{o}C).

- وسط بيرد- باركر Baird Parker Agar (BP): وسط يفيد في معرفة وجود الجراثيم العنقودية الذّهبية *Staphylooccus aureus*.

وسط Salmonella Tetrathionate Broth : وهو وسط إغناء انتقائي لجراثيم السالمونيلا

- *Salmonella* وذلك لكون هذه الجراثيم ضعيفة.

أ- يؤخذ 10 g من العينة في كيس يحوي فلتر ثم يضاف ماء الببتون Peptone Water وتكمل إلى 100 ml.

ب- توضع بعدها العينة ضمن الهاضمة لمدة 30 ثانية.

ت- يوضع مقدار 1 ml. من المحلول الناتج باستخدام الماصة في كل طبق بتري معد من البيئات المحضرة سابقاً (NA, VRB 37, VRB 44, BP)

1- استخدمت بيئة Nutrient Agar (NA) للتعداد الجرثومي: تحضن لمدة 24-48 ساعة عند درجة الحرارة 37 ^{o}C.

2- الوسط المستخدم للكشف عن أنواع الكوليفورم والإشيرشيا االقولونية: وهي بكتيريا تشكل مستعمرات على وسط VRB في الدرجة 30 -37 درجة مئوية والتي تعطي بالاختبارات التأكيدية غاز نتيجة تخمر سكر اللاكتوز.

يؤخذ 10 g من العينة ونكمل إلى 100 ml. من وسط مرق البيبتون ويكون التركيز 1/10 ثم نأخذ 1 ml. من الوسط المتجانس بعد عملية الهضم في الهاضمة ويوضع في طبق بتري ثم يصب وسط مغذي VRB وذلك بعد تبريده بدرجة حرارة 44-47 ^{o}C.

ثم يمزج العينة مع وسط الزرع بحذر وبشكل دائري ويترك المزيج حتى يتصلب ثم تحضن عند الدرجة 37 ^{o}C ± 1 لمدة 24 ساعة.

2-1 الاختبار التأكيدي: تم إجراء الاختبار التأكيدي (Brilliant green Bile lactose Broth) بعد انتهاء مدة التحضين، بأخذ مسحة من المستعمرة النموذجية بواسطة ابرة الزرع إلى أنبوب الاختبار الحاوي على 10 مل من هذا الوسط وفيه أنبوب درهم مقلوب ومعقم ثم حضن الأنبوب عند 37 oC وفحص بعد 24 و 48 ساعة يدل إنتاج المستعمرات للغاز في الأنابيب على أن البكتريا تابعة لمجموعة الكوليفورم.

2-2 للكشف عن النوع الجرثومي الإشيرشيا القولونية: حضنت أطباق بتري أخرى بنفس الطريقة السابقة من وسط VRB عند درجة حرارة 44 ^{o}C.

3–بيئة BP (وسط بيرد باكر): وهو وسط يفيد في معرفة وجود الجراثيم العنقودية الذّهبية: حضنت أطباق بتري لمدة 48 ساعة عند درجة حرارة 37 ^{o}C.

<u>طريقة الكشف عن جراثيم السالمونيلا:</u> :

تعد جراثيم السالمونيلا جراثيم ضعيفة لذلك تستخدم بيئة Salmonella Tetrathinate Broth وهو وسط إغناء انتقائي يستخدم للكشف عن بكتيريا السالمونيلا يتم تحضيره كما يلي:

أ– يوضع 25 g. من العينة النباتية وتكمل إلى 250 ml. من محلول Salmonella Tetrathinate Broth ثم تحضن عند درجة حرارة 37 ^{o}C لمدة 18–24 ساعة.

ب– يؤخذ من الوسط السابق بواسطة إبرة زرع حلقية (إبرة التلقيح) وتخطط على وسط سالمونيلا شيكيلا آغار *Salmonella Shigella* Agar (S.S Agar) وهي بيئة تفريقية لـ *Salmonella* و *Shigella* حيث أن الـ *Salmonella* تأخذ لون البيئة (شفاف) مع وجو لون أسود في لمركز نتيجة تحلل مواد موجودة في البيئة ينتج عنها غاز H_2S و الـ *Shigella* تأخذ مستعمراتها لون الوسط (شفاف).

ت– نقلب الأطباق وتوضع في حاضنة عند درجة حرارة 37 ^{o}C لمدة 18–24 ساعة.

ث– ظهور المستعمرات الجرثومية عديمة اللون تدل على مستعمرات سلبية اللاكتوز أما المستعمرات إيجابية اللاكتوز تكون زهرية إلى حمراء ذات مركز أسود وذلك نتيجة انطلاق غاز H_2S ووفق النتائج المتشكلة والمرئية يتم متابعة الاختبار التأكيدي المناسب لها.

ج– الاختبار التأكيدي هو اختبار (Triple Suger Iron Agar): حيثُ يتم بأخذ مسحة من المستعمرة النموذجية الايجابية بواسطة إبرة وخز وتغرز في أنبوب TSI ثم تُسحب الإبرة وتخطط مع بقاء السطح المائل للوسط داخل الأنبوب فتظهر السالمونيلا بلون أصفر داخل أنبوبTSI مع بقاء السطح المائل بلون أحمر وانطلاق غاز الكبريت في المنتصف وذلك في حال إيجابية الاختبار.

<u>التحليل الاحصائي:</u>

اعتمد البحث على استخدام لغة البرمجة R في التحليل الإحصائي للبيانات الأولية التي تم جمعها وتبويبها من خلال العمل المخبري، وذلك لإجراء تحليل التباين الأحادي لمعرفة الفروق المعنوي بين العينات المدروسة.

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج العمل المخبري إمكانية عزل وتحديد الحِمل الميكروبيولوجي المتمثل بوجود جراثيم ممرضة مدمصة على جميع شرائح البصل التي تم تعليقها في الأماكن المستهدفة في الدراسة، والمتمثلة بغرف المكتب وغرف الحمامات العامة وغرف المعيشة، وقد تمثلت هذه الجراثيم بمجموعة جراثيم الكوليفورم Coliform التي ظهرت على جميع شرائح البصل المعلّقة، في حين تبيَّن وجود بكتريا الإشيرشيا القولونية في عينة واحدة من عينات المكاتب وعينتين من عينات الحمامات العامة، في حين لم يتبيّن وجود ادمصاص لجراثيم المكورات العنقودية الذهبية على شرائح البصل في جميع العينات المدروسة. ويوضح الجدول الآتي متوسط تعداد وأنواع جراثيم الصحة العامة ضمن العينة المدروسة:

الجدول (1): متوسط تعداد وأنواع جراثيم الصحة العامة ضمن عينات شرائح البصل المدروسة ضمن أماكن مختلفة :

العينات		التعداد الجرثومي العام (بيئة NA)	الجراثيم القولونية (بيئة VRB °C 37)	جراثيم *E.coli* (بيئة VRB 44 °C)	جراثيم المكورات العنقودية الذهبية (بيئة BP)	جراثيم السالمونيلا (بيئة Salmonella Tetrathinate (Broth
غرفة مكتب	1	$^{g}1.0\times 10^{4}$	$^{c}3.0\times 10^{3}$	1.5×10^{2}	-	-
	2	$^{i}3.0\times 10^{3}$	$^{f}3.7\times 10^{2}$	-	-	-
	3	$^{h}8.8\times 10^{3}$	$^{ef}4.9\times 10^{2}$	-	-	-
غرفة حمامات	1	$^{d}2.0\times 10^{4}$	$^{g}1.0\times^{2} 10$	7.0×10^{2}	-	-
	2	$^{f}1.4\times 10^{4}$	$^{e}6.0\times 10^{2}$	-	-	-
	3	$^{a}3.2\times^{4} 10$	$^{d}1.0\times 10^{3}$	9.0×10^{2}	-	-
غرفة معيشة	1	$^{c}2.4\times 10^{4}$	$^{b}3.2\times 10^{3}$	-	-	-
	2	$^{e}1.6\times 10^{4}$	$^{a}9.0\times 10^{3}$	-	-	-
	3	$^{b}\ 2.5\times 10^{4}$	$^{g}1.0\times 10^{2}$	-	-	-
الشاهد		$^{j}\ 5.0\times 10^{3}$	$^{ef}4.4\times 10^{2}$	-	-	-

أولاً– التعداد الجرثومي العام:

لحساب التعداد الجرثومي العام تمَّ اعتماد طريقة الصبّ بالأطباق كما تم توضيحه في طريقة العمل، وسجل النتائج من خلال عدّ الأطباق التي فيها عدد مستعمرات يتراوح بين 10×3.0 – 3.0×10^{2} مستعمرة وفق التخفيف المستخدم، حيث تم تقدير عدد الجراثيم لكل 1 g من العينة المهضومة بواسطة ضرب مقلوب التخفيف في معدل المستعمرات لطبقين على الأقل، وتعتبر هذه الطريقة إحدى الطرق العالمية لحساب عدد الجراثيم في الأغذية والمعتمدة في العمل المخبري من قبل طاقم ضمان جودة المختبرات الأمريكية في مكتب علوم الصحة العامة التابع لقسم الزراعة في الولايات المتحدة (LQAS, 2013).

ومن خلال إجراء تحليل التباين الأحادي لمعرفة الفروق المعنوية في التعداد الجرثومي العام للعينات المدروسة في أماكن توزعها على الغرف، تبيَّنَ وجود فروق معنوية بين العينات المدروسة، حيثُ بلغت قيمت (F=891.8)، كما هو موضح في الجدول الآتي:

الجدول (2). تحليل التباين الأحادي للتعداد الجرثومي العام بين العينات المدروسة في أماكن توزعها على الغرف

One Way ANOVA	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
r	9	2.741e+09	304533667	891.8	<2e-16***
Residuals	20	6.830e+06	341500		
Signif. codes: 0	'***' 0.001	'**' 0.01	'*' 0.05	'.' 0.1	' ' 1

كما أظهرت نتائج المقارنات الزوجية بين العينات المدروسة وجود فروق معنوية بين جميع العينات في أماكن توزعها على الغرف، حيثُ بلغ متوسط التعداد الجرثومي العام الأعلى في غرفة حمامات رقم (3) وبمتوسط قدره (3.2×10^{4})، وبفارق معنوي عن غرفة المعيشة رقم(3) التي بلغ متوسط التعداد الجرثومي العام (2.5×10^{4})، في حين بلغ متوسط التعداد الجرثومي العام الأدنى في عينة الشاهد بما قدره (5.0×10^{2})، كما هو موضح في الجدول رقم (1)، وقد بلغت قيمة معامل الاختلاف (CV = 3.81)، وأقل فرق معنوي (LSD = 995.3). وهذا يدلُّ على تأثير المكان في الحمولات الميكروبية لشرائح البصل، مما يبين أهمية الاعتناء بنظافة المكان الذي يتم فيه تخزين البصل، سواء في أماكن التخزين الخاصة بالتسويق لدى التجار، أو بأماكن التخزين في المنزل.

وقد توافقت هذه النتيجة مع (Arikekpar and Alade, 2022) عند العزل والتعرف على الجراثيم من البصل المكشوف والمقطع، حيثُ بيَّنت نتائج الدراسة أن بعض الجراثيم المسببة للأمراض ايجابية الغرام يمكن عزلها من البصل عند تقشيرها وتركها

مكشوفة على خزائن المطبخ، وبالتالي فإن تقطيع البصل إلى شرائح وتركه مكشوفاً في الهواء أو الاحتفاظ به لعدة أيام قبل استخدامه ليس أمراً صحيّاً ويجب تجنب ذلك. كما توافقت النتائج مع دراسة (Agi *et al.* , 2020) لمعرفة التلوث الجرثومي للبصل المقطع والمكشوف على ثلاثين عينة بصل صحيّة وطازجة موزعة على مواقع التعرض التي شملت غرف المعيشة، والمرافق العامة، والمطابخ، والثلاجة، حيثُ أظهرت النتيجة بعد التلقيح والتعرف على الكائنات الحية الدقيقة المستزرعة عزل كل من *Pseudomonas* sp. و *Klebsiella* sp. و *Staphylococcus* sp. و *Escherichia coli* و *Bacillus cereus* و *Enterobacter* sp. و *Aspergillus* sp.، حيثُ تمَّ عزل أكبر عدد من الجراثيم بنسبة 40٪ من اثني عشر عينة اختبار لكل منها. كما أن الجراثيم التي تم عزلها جميعها مسببة للأمراض، مثل *Staphylococcus* sp. و *Bacillus* sp. وهي المسؤولة عن حدوث التسمم الغذائي، بالإضافة لبعض الكائنات الحية الأخرى المسببة لتلف البصل، لذلك كان من المستحسن استخدام البصل بشكل فوري عند تقطيعه وعدم تركه مقطعاً ومكشوفاً قبل استهلاكه. كذلك توافقت النتيجة مع (Maxcy and Arnold, 1972) في دراستهم لمعرفة الجودة الميكروبية لحلقات البصل، والتي بيَّنت أن الكائنات الحية الدقيقة قادرة على النمو في حلقات البصل غير المجمدة على درجات حرارة 5 ^{o}C .

ثانياً– مجموعة الجراثيم القولونية (Coliform Bacteria):

تُعرَّف الجراثيم القولونية على أنها عصيات لا هوائية، سالبة الغرام، غير متبوغة، تُخمّر اللاكتوز بقوة إلى حمض وغاز عند 35 ± 2 ^{o}C خلال 24 أو 48 ساعة، وتنتمي البكتريا القولونية عموماً إلى أربعة أجناس من (Enterobacteriaceae) هي: *Citrobacter freundii* و*Enterobacter cloacae* و*Enterobacter aerogenes* و *E. coli* و *Klebsiella pneumonia* ، كذلك ترتبط البكتريا القولونية بأمعاء القولون للحيوانات ذوات الدم الحار، بينما يرتبط البعض الآخر بالمواد النباتية، ويعتبر وجودها في الأطعمة مؤشراً إلى أن الظروف الصحية غير كافية ومناسبة لمسببات الأمراض المعوية (Halkman and Halkman, 2014).

إنَّ ظهور المستعمرات الحمراء الضاربة للوردي التي لا يقل قطرها عن 0.5 ملم دلَّ على وجود مستعمرات نموذجية للكوليفورم، وبعد إجراء الاختبار التأكيدي (Brilliant green Bile lactose Broth) تبيَّنَ أن المستعمرات قد أنتجت غاز في الأنابيب مما أكد النتيجة الايجابية للاختبار بوجود أنواع بكتيريا مجموعة الكوليفورم فيها.

ومن خلال إجراء تحليل التباين الأحادي لمعرفة الفروق المعنوية في تعداد الكوليفورم للعينات المدروسة في أماكن توزعها على الغرف، تبيَّنَ وجود فروق معنوية بين العينات المدروسة، حيثُ بلغت قيمت (F=2263)، كما هو موضح في الجدول الآتي:

الجدول (3): تحليل التباين الأحادي لتعداد الكوليوفورم بين العينات المدروسة في أماكن توزعها على الغرف

One Way ANOVA	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
r	9	206104800	22900533	2263	<2e-16***
Residuals	20	202400	10120		
Signif. codes: 0	'***' 0.001	'**' 0.01	'*' 0.05	'.' 0.1	' ' 1

وقد أظهرت نتائج المقارنات الزوجية بين العينات المدروسة وجود فروق معنوية بين العينة الموجودة في غرفة المعيشة رقم (2) عن جميع العينات الأخرى، حيثُ بلغ متوسطها (9.0×10^{3})، وكذلك تبيَّنَ من جهة وجود فروق معنوية بين العينات في غرفة معيشة رقم (1) بمتوسط (3.2×10^{3}) وغرفة مكتب رقم (1) بمتوسط (3.0×10^{3}) وغرفة حمامات عامة رقم (3) بمتوسط قدره (1.0×10^{3})، وكذلك بينها وبين باقي العينات من جهةٍ أخرى، في حين لم يظهر وجود فروق معنوية بين العينات غرفة مكتب رقم (3)، وغرفة مكتب رقم (2)، وعينة الشاهد التي بلغ متوسطها (4.4×10^{2})، كما لم يتبين وجود فروق معنوية بين عينة غرفة

معيشة رقم (3) وغرفة حمامات رقم (1) بالرغم من وجود الفروق المعنوية بينها وبين جميع العينات الأخرى، كما هو موضح في الجدول رقم (1)، وقد بلغت قيمة معامل الاختلاف (CV = 5.49)، وأقل فرق معنوي (LSD = 171.3). وهذا يبين أنَّ تقطيع البصل وتركه لفترة قبل استخدامه، يجعل من شرائح البصل المقطّع مسبباً رئيسياً للأمراض المعوية للإنسان، إلا اذا تمَّ عزله عن الهواء تماماً وحفظه في الثلاجة على درجة حرارة أقل من 5 درجة مئوية.

توافقت النتيجة مع دراسة (Asrul *et al.* , 2021) المتمثلة بإعداد تقرير عن وجود بكتريا معوية في الكراث في إندونيسيا، وقد أظهرت النتائج أنَّ التعرف على العزلات المظهرية كان لها خصائص مشابهة لخصائص *Enterobacter cloacae*، مما تسبب في تلف البصل، وهو ما يؤشر إلى امكانية وجود الجراثيم القولونية في البصل المقطع والمسببة للأمراض المعوية للإنسان. كما توافقت النتيجة مع دراسة (Zaid *et al.* , 2011) في تقريرهم عن تسوس البصل المعوي الذي تسببه *Enterobacter cloacae* في نيويورك، حيثُ تبيَّنَ من خلال التحديد المبدئي على مورفولوجيا المستعمرات (مستعمرات محدبة، كريمية اللون، قطرها من 2 إلى 3 مم بعد الحضانة عند درجة 28 درجة مئوية لمدة يوم واحد على OEM) أنها كانت مشابهة لتشكل السلالات المرجعية (*E. cloacae* ATCC 23355) و (*E. cloacae* ATCC 13047)، مما دلَّ على تواجد المسببات المرضية المعوية في شرائح البصل المدروسة، وذلك أتت النتيجة متوافقة مع دراسة (Liu *et al*, 2015) في أول تقرير عن مرض البصل الناجم عن الالتهاب الرئوي *Klebsiella* في الصين، حيثُ أظهرَ البصل المقطع تغيراً في اللون البني المائي، وعند عزل الجراثيم من الأنسجة المريضة تمَّ تحديدها على أنها *Klebsiella* من خلال تسلسل RNA الرايبوزومي، وتبيَّنَ أنها الجراثيم المسؤولة عن تعفن البصل بشكل طبيعي.

ثالثاً– جراثيم الإشيرشيا القولونية (*Escherichia coli*):

هي جراثيم يتم عزلها وتفريقها عن أنواع الجراثيم القولونية (Coliform Bacteria) بالاختبارات التأكيدية السريعة IMViC (إندول، أحمر الميثيل، فوغس بروسكاور، سترات) وذلك لقدرتها على إنتاج الإندول من التربتوفان عند الدرجة 44 درجة مئوية خلال 24 ساعة، حيث تظهر المستعمرات بلون أحمر قرمزي وبقطر من 2–3 ملم، تكون مستديرة محدبة لمّاعة كمستعمرات نموذجية، بالإضافة إلى اختبار السترات أو اختبار أحمر المتيل.

وقد أظهرت النتيجة المخبرية لتجربتنا وجود جراثيم الإشيرشيا القولونية (*E.Coli*) في ثلاث عيّنات من شرائح البصل المقطّع وهي عينة غرفة الحمامات رقم (3) وبلغ متوسط تعدادها (10^2 × 9.0)، وكذلك في غرفة الحمامات رقم (1) بمتوسط يصل إلى (10^2 × 6.0)، وغرفة مكتب رقم (1) بمتوسط قدره (10^2 × 1.5). مما يبين أهمية الانتباه إلى النظافة واستخدام المطهرات في الحمامات العامة وذلك لوجود جراثيم الإشيرشيا القولونية الخطرة على حياة الإنسان.

توافقت النتيجة مع دراسة (Agi *et al*., 2020) حيثُ تمَّ عزل جراثيم الإشيرشيا القولونية (*Escherichia coli*) من شرائح البصل المقطعة والمكشوفة من ثلاث عينات اختبار. كما توافقت النتيجة مع دراسة (Ortiz, 2015) لمعرفة النشاط المضاد للميكروبات للبصل ضد اثنين من مسببات الأمراض المنقولة بالغذاء وهي جراثيم الإشيرشيا القولونية والمكورات العنقودية الذهبية، وقد تبيَّنَ أنها لم تكن فعّالة ضد جراثيم الإشيرشيا القولونية، وبالتالي يمكن للبصل أن يُساهم في نقل المسببات المرضية لجراثيم الإشيرشيا القولونية.

رابعاً – جراثيم المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*):

تظهر جراثيم المكورات العنقودية الذهبية على شكل مستعمرات على وسط BP (البيرد باركر) كمستعمرات نموذجية دائرية الشكل أو غير نموذجية أو كليهما على سطح زرع انتقائي، وتكون ملساء محدبة رطبة لها قوام دهني عند لمسها بإبرة الزرع قطرها يتراوح بين 1.5–3 ملم لونها رمادي أو أسود تحيط بها هالة حلقية بيضاء اللون يتلوها حلقة أخرى خارجية شفافة قطرها حوالي 5 ملم . تعطي هذه الجراثيم نتيجة إيجابية باستخدام اختبار تخثر بلازما الدم. وقد أظهرت نتائج التحليل المخبري خلو شرائح البصل جميعها من المكورات العنقودية الذهبية، حيثُ كانت النتيجة سلبية وبالتالي لم نضطر لإجراء اختبار تخثر بلازما الدم.

وقد توافقت النتيجة مع دراسة (Ortiz, 2015) وقد تبيَّنَ أن البصل قد أظهر خصائص جيدة ضد الجراثيم العنقودية الذهبية. كما توافقت مع دراسة (ابراهيم وآخرون، 2019) في دراسة التأثير المُضاد الجرثومي لمستخلص البصل المائي على جراثيم (*Staphylococcus aureus*) المعزولة من التهاب الأذن الوسطى، حيثُ تبيَّن وجود تأثير مثبط لنمو المكورات العنقودية الذهبية، ويختلف هذا التأثير تبعاً لفترة التحضين.

خامساً– جراثيم السالمونيلا (*Salmonella*):

تم ملاحظة وجود مستعمرات عديمة اللون أي سلبية اللاكتوز بالإضافة إلى وجود بعض المستعمرات بلون زهري إلى حمراء مع مركز أسود نتيجة انطلاق غاز الكبريت وبالتالي فهي مستعمرات إيجابية اللاكتوز. لذلك كان لا بد من إجراء اختبار تأكيدي وهو اختبار (Triple Suger Iron Agar) وقد كانت النتائج سلبية، حيثُ بدت المستعمرات شفافة ومُحاطة بهالة سوداء، كما كانت نتائج اختبار TSI غير نموذجية لبكتريا السالمونيلا.

وبالتالي تم تأكيد خلو شرائح البصل من بكتريا السالمونيلا.

وقد كانت نتائجنا متوافقة مع نتيجة دراسة (Kabrah *et al*. ,2016) حيث بينت دراستهم تأثير البصل المُضاد للبكتريا، لثلاثة أنواع من البصل هي البصل الأحمر والأخضر والأبيض، من خلال تحضير تراكيز مختلفة لاختبار ستة أنواع من البكتريا استناداً لمشاركتها الشائعة في التسبب بالأمراض الجرثومية المعدية بين الناس الذين يعيشون في المملكة العربية السعودية، وشملت البكتريا المختبرة المكورات العنقودية الذهبية بنوعيها المقاومة للميثيسيلين (MRSA) والحساسة للميثيسيلين (MSSA)، والإشيرشيا القولونية (*E.Coli*) والزائفة الزنجارية (*P. aeruginosa*) وأنواع (*Klebsiella* spp.) والسالمونيلا (*Salmonella* spp.)، وقد أظهرت النتائج أنَّ الأنواع الثلاثة من البصل كان لها تأثير مثبط على نمو جميع الجراثيم التي تمَّ فحصها، لكن تأثيرها المضاد للبكتريا يختلف باختلاف نوع البصل وتركيزه في الماء وكذلك نوع البكتريا المختبرة. وبالتالي وافقت هذه النتيجة دراستنا في التأثير المُضاد للبصل على نمو جراثيم المكورات العنقودية الذهبية والسالمونيلا، في حين خالفتها من ناحية جراثيم الإشيرشيا القولونية وأنواع البكتريا القولونية (الكوليفورم)، حيثُ ظهرت أنواع هذه الجراثيم في شرائح البصل المقطّع التي تمَّ اختبارها في دراستنا.

الاستنتاجات:

1– تأثرت الحمولات الميكروبيولوجية لشرائح البصل بحسب أماكن توزعها في عينة الدراسة، حيثُ دلَّ على ذلك الفروق المعنوية للتعداد الجرثومي العام بين جميع العينات، مما يبين تأثير نظافة المكان الذي يتم فيه تخزين البصل.

2– قلّة العناية بشروط النظافة والصحة العامة في جميع أماكن الغرف التي شملتها عينة الدراسة، وبشكل خاص غرف الحمامات العامة التي تعكس سوء تجهيزها وترميمها.

3- يُسهم البصل المقطّع في نقل المسببات المرضية لجراثيم الإشريشيا القولونية، كما أنَّ ظهور هذا النوع من الجراثيم يؤكد عدم نظافة غرف الحمامات العامة، فضلاً عن احتمالية ري محصول البصل بمياه الصرف الصحي غير المعالجة.

4- إنَّ تقطيع البصل وتركه لفترة قبل استخدامه يُسهم في نمو الجراثيم القولونية، مما يجعل من شرائح البصل المقطّع مسبباً رئيسياً للأمراض المعوية للإنسان، إلا إذا تمَّ عزله تماماً عن الهواء في درجات حرارة منخفضة أقل من ^{o}C.

5- للبصل تأثير مضاد على نمو كل من جراثيم المكورات العنقودية الذهبية وبكتريا السالمونيلا، مما يبين أهمية مستخلصات البصل في العلاجات الطبية لهذه الأنواع من الجراثيم.

المقترحات:

1- العناية بشروط الصحة والنظافة العامة في أماكن تخزين البصل سواء لدى التجار أو التخزين المنزلي للاستهلاك.

2- استخدام المُطهرات والاهتمام بنظافة الأماكن العامة وخاصة الحمامات العامة في الأماكن التي شملتها عينة الدراسة.

3- استخدام البصل الطازج بشكل مباشر في الطعام دون تعريضه لفترة طويلة للجو المحيط حيث يعد البصل وسطاً ملائماً للكثير من الجراثيم.

4- متابعة تنفيذ الأبحاث العلمية وتوفير الإمكانيات اللازمة لتحديد أنواع أخرى من البكتريا التي يُمكن أن يُسهم البصل في عزلها والتعرف عليها.

5- الاهتمام بموضوع التأثير المُضاد لمستخلصات البصل على نمو جراثيم المكورات العنقودية الذهبية وجراثيم السالمونيلا في العلاجات الطبية.

المراجع:

ابراهيم، ريم نعيم ومصطفى سامي ومحمد وتمارا هاشم زيدان(2019). دراسة التأثير المُضاد البكتيري لمستخلص البصل المائي على بكتريا (*Staphylococcus aureus*) المعزولة من التهاب الأذن الوسطى. مجلة العلوم الزراعية العراقية، المجلد (50)، العدد (4)، الصفحات: 1186-1192.

حسين، سهى أحمد (2001). التأثير البايولوجي لبعض المستخلصات النباتية ومكوناتها الفعالة في نمو ثلاث أنواع من الجراثيم المعزولة من اللوزتين. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل، العراق.

عرموش، هاني (1998). الأمراض الشائعة والتداوي بالأعشاب. مطبعة دار النفائس، بيروت، لبنان.

Agi, V.; C. Aleru-Obogai; and P. Agba (2020). Studies on Microbial Contamination of Cut and Exposed Onions. Journal of Advances in Microbiology. Vol (20), No (5), pp: 1-11, ISSN: 2456-7116, DOI: 10.9734/JAMB/2020/v20i530239.

Al-asadi, T (2021). Medical Use Of Onion. Research gate, DOI:10.13140 / RG.2.229335.

Arikekpar, I.; and A. Tolulope (2022). Isolation and identification of bacteria from exposed and sliced Allium cepa (onions). Journal of Microbiology & Experimentation, Volume (10), Issue (6), pp: 224-227.

Asrul, A.; T. Arwiyanto; B.Hadisutrisno; J Widad and A. Mollah (2021). First report of *enterobacter cloacae* in shallot (*Allium cepa* L. Aggregatum group) in Indonesia. IOP Conf. Series; Earth and Environmental Science 681(2021)012048. Doi: 10.1088/1755-1315/681/1/012048.

Halkman, H.B.D.; and A.K. Halkman (2014). Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition). Pages 358-363, ISBN 9780123847331, Ankara University, Ankara, Turkey.

Kabrah, A.; A. Faidah; H. Ashshi, ;S. Ahmed and A. Turkistani (2016). Antibacterial Effect of Onion. Scholars Journal of Applied Medical Sciences (SJAMS).Vol (4), No (IID), Pp: 4128-4133. DOI:10.21276/sjams.2016.4.11.53.

Laboratory Quality Assurance Staff (LQAS). (2013). Laboratory Guidebook Notice of Change. office of Public Health Science, United States Department of Agriculture.

Liu, S.; L. Mingfa; Y. Gu; and J. Zhou (2015). First Report of Bulb Disease of Onion Caused by Klebsiella pneumonia in China. Plant Disease, APS Journals. Volume (99), No (12). PDIS+/-. cw05.DOI:10.1094/PDIS-05-15-0513-PDN.

Maxcy, R.B; and R.G. Arnold (1972). Microbiological Quality Of Breaded Onion Ringsl. Milk Food Technol Journal, Vol(35), No (2), pp: 63-66.

Ortiz, M. (2015). Antimicrobial activity of onion and ginger against two food borne pathogens *Escherichia coli* and staphylococcus Aureus.MOJ Food Process Technol, Volume (1), No(4), Pp:98-106. DOI: 10.15406/mojfpt.2015.01.00021

Pyun, M.S; and S. Shin (2006). Antifungal effects of the volatile oils from Allium plants against Trichophyton species and synergism of the oils with ketoconazole. Phytomedicine, 13: 394-400.

Sharquie, K.E.; and H.L. Al-Obaidi (2002). Onion juice (*Allium cepa* L.) a new topical treatment for alopeciareata. J. Dermatol., (6): 343-346.

Zaid, A.; J. Bonasera; and S. Beer (2011). First Report of Enterobacter Bulb Decay of Onions Caused by Enterobacter cloacae in New York. Plant Disease. Volume (95), No (12), Pp: 1581-1581. DOI:10.1094/PDIS-05-11-0375.

Isolation and Determination of Microbiological Loads of Sliced Onion Slices *Allium cepa* L. Under Ambient Conditions Through Bacterial Examination

Zahraa Baidaq [(1)*] and Al-Mouthana Hasan[(1)]

(1). General Commission for Scientific Agricultural Research (GCSAR), Latakia, Syria.

(*Corresponding Author: Dr. Zahraa Baidaq zahraaok2@hotmail.com).

Received: 13/08/2023 Accepted:28/01/2024

Abstract

Some experiments were conducted on the use of Sliced onion (*Allium cepa* L.) that were distributed in different places in ambient conditions, as they were hanged at a height of 1.5 m, in order to identify the bacterial species adsorbed on the surface of the onion slices, The onion slices were placed with a diameter of 2.5 cm In 3 different places in terms of the nature of the use of the place, with an average of 3 replications in each of (office room _ living room _ public bathroom), and after three days of hanging, samples were drawn, numbered, and transferred to the laboratory for bacterial examination in the Supply Directorate in Lattakia to study the following criteria: (The total count of bacteria - special tests for some types of pathogenic bacteria). The most important media that were used in the research were: Nutrient Agar (NA), Red Bile Glucose Agar Violet (VRB), Baird Parker Agar, and Salmonella Tetrathionate Broth. The samples were incubated at specific temperatures suitable for the types of target bacteria to be identified, ranged between 37-44 oC and was incubated for 24 and 48 hours. The results showed that the samples were hanged in office and living rooms, and public bathrooms, and within only three days; It had a high bacterial count compared to the control (samples were taken for direct digestion), as it reached the highest 3.2×10^3 bacteria per 1g of the bathroom samples, While the lowest was 3.0×10^3 germs per 1g in the living room sample on Nutrient Agar NA, while the control contained 5.0×10^2 bacteria per 1 g, while the office and living room samples contained types of coliform group bacteria, including Escherichia coli, while all samples were free of Staphylococcus aureus and *Salmonella*.

Keywords: Onion, Coliform, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*.