

جداسازی سالمونلا از زرده تخم مرغ های محلی شهرستان ارومیه

مجید امین زارع^{۱*}، مسلم فیروز نقدهی^۲، سهراب رسولی^۳، رضا دلشاد^۳

چکیده

گاستروآنتریت سالمونلایی معمولاً به دنبال بلع آب و غذای آلوده اتفاق می افتد و در بعضی از کشورها مثل ایالت متحده آمریکا در حدود ۱۵ درصد از عفونت های غذازاد را به خود اختصاص می دهد. درانتقال این بیماری، مواد غذایی خام با منشاء دامی بویژه گوشت و تخم مرغ حائز اهمیت فراوانی هستند. با توجه به اهمیت تخم مرغ در انتقال سالمونلوزیس و مصرف بالای تخم مرغ های محلی و غیر صنعتی در منطقه، همچنین پی بردن به میزان آلودگی سالمونلایی، تعداد ۱۰۰ نمونه تخم مرغ محلی از دست فروشی های سطح شهرستان ارومیه تهیه و در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه مورد بررسی قرار گرفتند. جداسازی سالمونلا منحصر از زرده تخم مرغ ها و با استفاده از روش های مندرج در رفرنس های هاریگان و BAM انجام شد. از ۱۰۰ تخم مرغ مورد بررسی، تعداد ۶ نمونه (۶ درصد) آلوده به سالمونلا تشخیص داده شدند. سپس نمونه های آلوده، با استفاده از آنتی سرم پلی والان گروه بندی سرمی شدند و در نهایت مشخص شد که همه سالمونلا های جدا شده، متحرک و متعلق به گروه سرمی D (سالمونلا آنتریتیدیس) می باشند. با توجه به آلودگی بالای تخم مرغ های محلی به سالمونلا و امکان ایجاد بیماری در صورت مصرف، لزوم اطلاع رسانی و اجتناب از مصرف مواد غذایی غیر پاستوریزه با منشاء دامی پیشنهاد می گردد.

واژگان کلیدی: آلودگی سالمونلایی، تخم مرغ محلی، ارومیه

مقدمه

سالمونلا سالهاست که عامل بیماری روده ای شناخته شده است و به عنوان مهمترین عامل مسمومیت غذایی قابل گزارش مطرح است. در سال های اخیر وقوع مسمومیت ناشی از این باکتری به صورت انبوه، و

۱- دانشجوی سال آخر دکترای دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه

۲- عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه

۳- کارشناس علوم آزمایشگاهی دامپزشکی

*-نویسنده مسئول majidaminzare@live.com

با وسیله انتقال جدید عفونت، یعنی تخم مرغ مشاهده شده است (۴). حتی مهمترین منبع آلودگی، غذاهای تهیه شده از تخم مرغ هایی که حرارت کافی ندیده اند، تشخیص داده شده است (۵).

در ایالات متحده آمریکا در یک دوره زمانی بین ۱۹۸۵-۱۹۸۹، تخم مرغ به عنوان منبع سالمونلوز، حدود ۸۰ درصد وقوع های غذازاد را تشکیل داده است؛ در این بین، سالمونلاهایی که به میزبان خاصی عادت نکرده اند همانند سالمونلا آنتریتیدیس و سالمونلا تایفی

۲- غنی سازی انتخابی: بعد از بهم زدن بطریها، به میزان ۱ میلی لیتر از هر بطری با رعایت شرایط سترون، به لوله‌های محتوی ۱۰ میلی لیتر از آبگوشت‌های سلنیت سیستین (SC) و راپاپورت- واسی لیادیس (RV) منتقل، سپس لوله های SC در ۳۷ درجه، ولی لوله های RV در ۴۲ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴-۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شدند.

۳- کشت در محیط جامد انتخابی: لوله های کدر شده در مرحله ۲، با احتیاط در یک مخلوط کن ورتکس، تکان داده شدند؛ سپس با استفاده از لوپ تلقیح در پلیت‌های آگار بیسموت سولفیت (BS)، آگار گزیلوز لیزین دزوکسی کلات (XLD) و آگار هکتون آنتریک (HE) کشت خطی و در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴-۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شدند.

۴- پلیت‌هایی که دارای پرگنه های مشکوک به سالمونلا بودند، انتخاب و جهت انجام آزمایشات متابولیکی، ابتداء در آگار مغذی (NA) بصورت خطی کشت داده شدند؛ سپس این پرگنه ها، به لوله‌های TSI¹ و LIA² منتقل و در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴-۱۸ ساعت گرمخانه گذاری شدند. باکتریهای تیبیک جنس سالونلا، در قسمت مورب لوله‌های TSI، قلیا (قرمز) و در قسمت تحتانی این لوله‌ها، اسید (زرد) همراه با سولفید هیدروژن و گاز تولید می‌کنند. همچنین این باکتریها، در قسمت تحتانی لوله‌های LIA، قلیا (ارغوانی) همراه با H₂S و گاز تولید می‌نمایند. در مرحله بعد برای اطمینان از جداسازی سالمونلا، همچنین مشاهده نتایج سایر آزمایشات بیوشیمیایی خانواده آنتروباکتریاسه، از لوله های مثبت TSI، در آگارهای اوره و سیمون سترات، همچنین در برات‌های MR-VP و پپتون واتر (اندول) کشت داده شدند. همچنین در این مرحله، برای تشخیص متحرک یا غیر متحرک بودن سالمونلاهای جدا شده، در محیط SIM³

موریوم، مهمترین گونه‌های دخیل در این بیماری محسوب می‌شوند (۴). سالمونلا آنتریتیدیس می‌تواند محتویات تخم مرغ را در نتیجه عفونت بافت تولید مثل مرغان تخم‌گذار آلوده نماید. بنظر می‌رسد مکان عمده عفونت، قسمت فوقانی اویدوکت باشد. در محتویات تخم‌مرغ، مهمترین مکان های آلودگی، یا غشاء زرده (وتیلین) یا آلبومن یا سفیده احاطه کننده آن می باشد. در تخم‌مرغ‌های تازه، فقط تعداد اندکی سالمونلا وجود دارد چون آلبومن یک محیط فقیر از نظر آهن است. رشد سالمونلا فقط زمانی بوقوع خواهد پیوست که در اثر نگهداری، تغییراتی در نفوذپذیری غشاء زرده اتفاق افتد که در نتیجه آن، سالمونلا ها به محتویات زرده وارد خواهند شد (۱۳). با توجه به اینکه مرغ‌های محلی اکثرا در شرایط غیر بهداشتی و غیر صنعتی پرورش یافته، همچنین کتتری هم بر تغذیه آنها اعمال نمی‌شود لذا تخم‌مرغ‌های حاصله می‌توانند حاوی آلودگی سالمونلایی بیشتری باشند. بنا بر اهمیت موضوع، پژوهشی پیرامون تعیین میزان آلودگی سالمونلایی زرده تخم‌مرغ‌های محلی مصرفی شهرستان ارومیه بعمل آمد.

مواد و روش کار

برای جداسازی و شناسایی سالمونلا از روشهای مندرج در منابع هاریگان (۱۲) و BAM (۸) استفاده شد. تعداد ۱۰۰ نمونه تخم مرغ از دست فروشی های سطح شهرستان ارومیه طی ۵ مرحله جمع آوری و آزمایش شدند. ابتداء تخم مرغ ها به مدت ۳۰ دقیقه در الکل ۷۰ درصد قرار داده شدند تا اینکه پوسته آنها از هر گونه آلودگی موجود پاکسازی شود، سپس با رعایت شرایط سترون، زرده تخم مرغ ها تفکیک و بترتیب مراحل زیر کشت داده شدند:

۱- پیش غنی سازی یا احیاء: زرده تخم‌مرغ‌ها پس از جداسازی در شرایط سترون، به بطری‌های شیشه‌ای حاوی آبگوشت پپتون دار منتقل و در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند.

1 - Triple sugar iron agar

2 - Lysine iron agar

3 - Sulfide-Indole-Motility

کشت داده شدند.

۵- جهت تمایز گونه‌های سالمونلا، از آنتی سرم پلی والان (عرضه شده توسط موسسه پژوهشی و تولیدی بهار افشان) ویژه شناسایی گونه‌های سالمونلا استفاده شد.

نتایج

در این تحقیق، از ۱۰۰ زرده تخم‌مرغ مورد بررسی، تعداد ۶ مورد (۶ درصد) آلوده به سالمونلا تشخیص داده شدند. تمامی سالمونلاهای جدا شده، با آنتی سرم گروه D1 (O9) واکنش آگلوتیناسیون نشان دادند. نتایج آزمایش حرکت (Motility) نشان داد که سالمونلاهای جدا شده متحرک بوده و به گروه سالمونلاهای غیر متحرک (پولوروم و گالیناروم) متعلق نیستند.

بحث

در تحقیقی که در کره جنوبی جهت تعیین حضور سرووارهای سالمونلا در تخم مرغ و جوجه کبابی های خام انجام شد؛ بطور کلی، تعداد ۱۶۲۰ تخم مرغ و ۲۷ جوجه کبابی خام مورد آزمایش قرار گرفتند که زرده هیچکدام از تخم مرغ‌های مورد مطالعه حاوی جرم سالمونلا نبودند ولی اشریشیاکولای، اشریشیا هرمانی و سیتروباکتر فروندی از پوسته تخم‌مرغ‌ها جداسازی شدند. سرووارهای سالمونلا از ۲۵/۹ درصد جوجه کبابی‌ها جدا شدند که سروتیپ‌های جدا شده عبارت بودند از: سالمونلا آنتریتیدیس، سالمونلا ورشو و سالمونلا ویرجینیا (۱۰). در مطالعه‌ای که در آرکانزاس ایالت متحده انجام شد، محتویات و پوسته ۱۲۰۰ تخم‌مرغ از نظر آلودگی به سالمونلا بررسی شدند که فقط در ۱۲ تخم مرغ آلودگی خارجی با سالمونلا هایدلبرگ یافت شد، در حالیکه محتویات هیچکدام از تخم‌مرغ‌ها آلودگی سالمونلایی نداشتند (۱۵). در تحقیق دیگری بیش از ۵۷۰۰ تخم مرغ از ۱۵ گله آلوده شده

بطور طبیعی با سالمونلا آنتریتیدیس، از نظر حضور این جرم در پوسته و محتویات تخم مرغ مورد آزمایش قرار گرفتند که محتویات ۳۲ تخم مرغ (۰/۶ درصد) آلوده بودند (۱۳).

poppe در سال ۱۹۹۲، ۱۴۰۴ تخم مرغ را از چند گله مرغ تخم‌گذار در کانادا مورد بررسی قرار داد که سالمونلا آنتریتیدیس فقط در یک مورد از پوسته تخم‌مرغ جدا گردید (۱۴). شریف در سال ۱۹۹۷، با نمونه‌گیری از ۱۰۰ تخم‌مرغ بومی و تخم اردک در عراق، سالمونلا تایفی موریوم را در ۶ درصد موارد از پوسته تخم اردک‌ها جدا کرد (۱۶). در بررسی دیگر که توسط جعفری و همکاران در سال ۱۳۸۳-۱۳۸۲ بر روی تخم مرغ‌های بومی شهرستان اهواز انجام گرفت، ۵ درصد نمونه‌های آزمایش شده آلوده به سالمونلا تشخیص داده شدند. که از این میزان، یک درصد از محتویات تخم مرغ جداسازی شده بود (۱).

تحقیق دیگری نیز در سال ۱۳۶۳ در شهرستان شیراز انجام گرفت که طی آن از ۵۰۰ نمونه اخذ شده، تعداد ۳ نمونه مثبت تشخیص داده شد که سالمونلای جدا شده از زرده تخم مرغ فقط در یک مورد از گونه سالمونلا تایفی موریوم بوده است (۲).

رهنما در سال ۱۳۷۷ با بررسی وضعیت آلودگی ۱۰۰ عدد تخم‌مرغ خوراکی از مناطق ۴ گانه تهران، سالمونلا آنتریتیدیس را از محتویات یک تخم مرغ جدا نمود (۶).

حیمی و همکاران نیز در سال ۱۳۷۶ با بررسی آلودگی ۱۲۰۰ عدد تخم مرغ، سالمونلا آنتریتیدیس را در ۹ مورد (کمتر از یک درصد) از زرده جدا کردند (۳).

همانگونه که از مقالات بر می‌آید میزان آلودگی سالمونلایی در پوسته تخم‌مرغ‌ها به مراتب بیشتر از محتویات آن بوده، همچنین میزان آلودگی (هم داخلی و هم خارجی) در تخم‌مرغ‌های محلی بیشتر از تخم‌مرغ‌های صنعتی می‌باشد؛ همچنین سالمونلا آنتریتیدیس عمده سروتیپی از سالمونلاست که از

به مواد غذایی تهیه شده در آشپزخانه که این روش کاربردی ترین روش جهت جلوگیری از انتقال سالمونلوزیس ناشی از تخم مرغ است (۴).

۳- استفاده از واکسن روغنی غیرفعال سالمونلا نظیر S.E Bacterin جهت ایمن سازی گله‌ها در مقابل سالمونلا آنتریتیدیس و جلوگیری از انتقال عفونت مزبور از طریق تخمدان (۷).

۵- بررسی وجود آلودگی در طیور بومی و تخم‌مرغ‌های حاصل از آنها از طریق اجرای برنامه‌های منظم همراه با مشارکت و هماهنگی مسئولین اجرائی بهداشتی جهت کنترل آلودگی‌های سالمونلایی در طیور بومی و جمع آوری مرغان بومی از مناطق آلوده.

منابع

- ۱- جعفری، ر.ع. فضل‌ار، ع. دلیران‌نیا، ع. (۱۳۸۵): بررسی آلودگی سالمونلایی در تخم‌مرغ‌های بومی مصرفی در اهواز. مجله دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، شماره ۱۳، صفحه ۶۳-۵۸.
- ۲- جمشیدی، ا. ع. (۱۳۶۳): بررسی میزان آلودگی سالمونلایی در تخم‌مرغ‌های مصرفی شیراز و اهمیت آن از نظر بهداشت عمومی. چکیده پایان نامه‌های دانشگاه شیراز، دانشکده دامپزشکی، صفحه ۶۲.
- ۳- حیمی، پ. (۱۳۷۶): میزان پراکندگی سالمونلایی زرده تخم مرغ‌های مصرفی استان تهران. فصل‌نامه جامعه دامپزشکان ایران، سال پنجم شماره دهم، صفحه ۳۰-۲۷.
- ۴- رضوی‌ر، و. (۱۳۸۲): میکروب‌های بیماری‌زا در مواد غذایی و اپیدمیولوژی مسمومیت‌های غذایی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ دوم، شماره ۲۴۳۱، صفحه ۷۶-۶۰.

تخم‌مرغ‌ها جدا سازی شده است. در تحقیق حاضر نیز از ۱۰۰ زرده مورد بررسی، سالمونلا آنتریتیدیس از ۶ مورد جداسازی شد که نشان دهنده میزان آلودگی ۶ درصدی در محتویات تخم‌مرغ‌های محلی شهرستان ارومیه می‌باشد.

نتایج این تحقیق، حاکی از وجود ناقلین به ظاهر سالم در میان مرغان بومی است که حاصل وجود چنین مرغان آلوده‌ای، تخم‌مرغ آلوده می‌باشد. همچنین شواهد علمی نشان می‌دهد که هیچگونه ارتباطی بین حضور این باکتری در پوسته و در محتویات تخم‌مرغ وجود ندارد (۱۱) به عبارت دیگر آلودگی محتویات تخم مرغ می‌تواند به تنهایی دیده شود و حاصل عفونت دستگاه تولید مثل باشد (۹).

در هر صورت، نتایج این تحقیق بیانگر وجود سروتیپ‌های سالمونلا در گله‌های مرغان بومی منطقه می‌باشد که می‌تواند زنگ خطری برای پرورش پرندگان بومی و تهدیدی برای سلامت جامعه انسانی باشد.

با توجه به بالا بودن آلودگی سالمونلایی در تخم‌مرغ‌های محلی و همچنین بالا بودن میزان مصرف این تخم‌مرغ‌ها در منطقه و امکان ایجاد سالمونلوزیس، لذا به منظور کاهش خطرات ناشی از سالمونلا می‌توان اقدامات زیر را پیشنهاد نمود:

- ۱- با پخت تخم‌مرغ به میزان کافی (70°C به مدت ۱۰ دقیقه) سالمونلا از بین می‌رود. غذاهای حاوی تخم مرغ را باید طوری حرارت داد که مرکز آنها به این میزان درجه حرارت برسد، پس خوب پختن تخم‌مرغ‌ها به طور قابل توجهی از بروز مسمومیت‌های غذایی انسان در ارتباط با مصرف تخم مرغ می‌کاهد. همچنین سالمونلاها در حرارت 60°C تکثیر پیدا نمی‌کنند، در نتیجه با نگهداری تخم‌مرغ‌ها در یخچال و خروج آنها فقط در زمان نیاز می‌توان تا حدودی رشد و تکثیر سالمونلا را به تاخیر انداخت (۵).
- ۲- آموزش مردم نسبت به خطرات ناشی از سالمونلوزیس و روش‌های پیشگیری از انتقال سالمونلا

- ۵- رکنی، ن. (۱۳۸۶): اصول بهداشت مواد غذایی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ ششم، شماره ۲۲۰۸، صفحه ۱۰-۴.
- ۶- رهنما، ش. (۱۳۷۷): بررسی سروتیپ‌های مختلف سالمونلا در تخم مرغ و تعیین ارتباط زنجیره این سروتیپ‌ها در انسان. پایان‌نامه دانشجویی شماره ۳۲۶، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، صفحه ۸۲.
- ۷- میرسلیمی، س. م. (۱۳۷۴): سالمونلا انتریتیدیس، اهمیت انتشار، کنترل و پیشگیری. فصل‌نامه علمی- تخصصی طیور، دوره ۴، شماره ۱، صفحات ۴۰-۲.
- 8- Bacteriological Analytical Manual. (2007): salmonella. U.S. Food and Drug Administration.
- 9- Bygrave A. C. and Gallagher J. (1989): Transmission of salmonella enteritidis in poultry. Veterinary Records, 124:333-340.
- 10- Chang, Y. H. (2000): Prevalence of Salmonella spp. In poultry broilers and shell eggs in Korea. Journal of Food Protection. 63(5):655-658.
- 11- Gast T. J. and Rowe B. H. (1998): salmonella enteritidis phage type 4 and hens eggs Lancet. 1:280.
- 12- Harrigan, W. F. (1998): Laboratory Methods in Food Microbiology. 3rd edition, Academic Press. pp:180-186.
- 13- Humphrey, T.J. et al. (1991): Numbers of Salmonella enteritidis in the contents of naturally contaminated hens eggs. Epidemiology and infection. 106(3):489-496.
- 14- Poppe, J. (1992): Salmonella in laying hens and eggs from flocks with salmonella in their environment. Canadian Journal of Veterinary Research. 56(3): 226-243.
- 15- Schutz, G.E. et al. (1996): Prevalence of Salmonella enteritidis in poultry shell eggs in Arkansas. Southern Medical Journal. 89(9): 889-891.
- 16- Shareef h.(1997): Recording of two types of salmonella from eggs of range rearing hens and ducks. Iraqi Journal of Veterinary Science. 12(2) :25-28.