

تعیین عوامل باکتریایی موجود در پوسته و زرده تخم‌مرغ‌های با پوسته آلوده و تمیز عرضه‌شده در تبریز

منصور خاکپور^{۱*}، مجتبی بزرگ‌نیا^۲

۱- گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران.

۲- دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات: khakpour@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۰/۱/۲۴ پذیرش نهایی: ۹۰/۴/۳۱)

چکیده

بیماری‌های مشترک باکتریایی جزو مهم‌ترین بیماری‌های عفونی انسان محسوب می‌شوند. در این بین بیماری‌های قابل انتقال از غذا دارای اهمیت ویژه‌ای هستند. از بین مواد غذایی با منشأ دامی، تخم‌مرغ به دلیل نوع استفاده در محصولات غذایی مانند سس‌ها، چاشنی‌های غذایی، بستنی و انواع غذاها که ممکن است به صورت خام یا نیم‌پز مورد استفاده قرار گیرد همواره می‌تواند به صورت بالقوه منشأ آلودگی و انتقال بیماری‌ها به انسان باشد. در این پژوهش با مراجعه به مرغداری‌های اطراف تبریز با نمونه‌برداری از تولیدات روزانه، تعداد ۱۲۰ عدد تخم‌مرغ انتخاب و در شرایط کاملاً استریل به آزمایشگاه منتقل شدند. بعد از انجام مراحل کشت (استفاده از محیط‌های کشت برین هارت براث، برین هارت آگار، بلاد آگار، آبگوشت تتراتیوات، آبگوشت سلنیت F، آبگوشت تیو گلیکولات، XLD آگار، سالمونلا شیگلا آگار و...) رنگ‌آمیزی گرم، تست‌های اکسیداز و کاتالاز، باکتری‌های موجود بر روی پوسته و داخل زرده جداسازی و مورد شناسایی قرار گرفت. از بین ۱۲۰ نمونه مورد بررسی، در ۱۹ مورد (۱۵/۸۳٪) آلودگی زرده به اثبات رسید. از این تعداد ۷۳/۶۸٪ را گرم منفی‌ها و ۲۶/۳۱٪ را گرم مثبت‌ها شامل می‌شدند. بیشترین سهم گرم منفی‌های زرده به سودوموناس با فراوانی ۸/۳٪ و گرم مثبت‌ها باسیلوس با فراوانی ۴/۱۶٪ تعلق داشت. همچنین از نمونه‌های اخذشده از پوسته ۱۱۹ مورد از ۱۲۰ نمونه پوسته دارای آلودگی‌های باکتریایی بودند که ۹۹/۱۶٪ کل نمونه‌ها را تشکیل می‌داد. از این میان ۲۳/۵۵٪ نمونه‌ها گرم منفی و ۷۶/۴۴٪ گرم مثبت بودند. بیشترین سهم گرم منفی‌های پوسته مربوط به جنس سودوموناس با فراوانی ۱۸/۳۳٪ در کل پوسته‌ها بود، اشریشیا با ۱۰/۸۳٪، پروتئوس با ۵/۸۳٪ و سیتروباکتر با ۴/۱۶٪ در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. از میان گرم مثبت‌های جداسازی شده از پوسته بیشترین سهم متعلق به باسیلوس با فراوانی ۸۰٪ بود و استافیلوکوک با ۳۴/۱۶٪، استرپتوکوک با ۱۵٪، رودوکوک با ۹/۱۶٪ و میکروکوک با ۷/۵٪ در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. براساس نتایج حاصله از این تحقیق می‌توان گفت که استفاده و مصرف تخم‌مرغ‌های با پوسته کثیف در محصولات غذایی یک ریسک جدی برای سلامت انسان محسوب می‌شود و می‌تواند منجر به ایجاد بیماری‌های غذازاد باکتریایی شود.

واژه‌های کلیدی: عوامل باکتریایی، تخم‌مرغ، پوسته، زرده

مقدمه

بیماری‌های زئونوز باکتریایی از با اهمیت‌ترین بیماری‌های عفونی می‌باشند (Tabatabayi, 2001) به‌طوری‌که سه بیماری سالمونلوز، سل و بروسلوز مهم‌ترین معضل عفونی جوامع انسانی محسوب می‌شوند (Quinn, 2002).

در بین بیماری‌های زئونوز بیماری‌های منتقله از غذا از اهمیت ویژه‌ای از نظر بهداشت عمومی برخوردار می‌باشند به‌طوری‌که امروزه با توجه به معضل افزایش بیماری‌های نوپدید و بازپدید مثل سل، بروسلوز، آنفولانزا و ویبریوها که اغلب توسط مواد غذایی به انسان انتقال پیدا می‌کنند لزوم ایجاد همکاری حرفه‌ای مابین پزشکان و دامپزشکان جهت ارتقاء سطح سلامت جامعه، بیش از پیش احساس می‌شود (Tabatabayi, 2001). از بین مواد غذایی با منشأ دامی تخم‌مرغ به‌دلیل نوع استفاده در تولیدات غذایی مانند: سس‌ها، چاشنی‌های غذایی، بستنی و انواع غذاها که ممکن است به‌صورت خام و یا نیم‌پز مورد استفاده قرار گیرد، همواره می‌تواند به‌صورت بالقوه منشأ آلودگی و انتقال بیماری‌ها به انسان باشد (March, 1969). به‌طوری‌که امروزه مطالعات گسترده‌ای در این زمینه صورت می‌گیرد و برخی عوامل عفونی باکتریایی نظیر: سالمونلا، کمپیلوباکتر، یرسینیا و ... اغلب از طریق تخم‌مرغ آلوده به انسان منتقل می‌شود که به‌عنوان یک مشکل بهداشتی حتی در جوامع پیشرفته محسوب می‌شود (Favier, 2008) به‌طوری‌که در دهه ۸۰ شیوع بالای سالمونلوز در انگلستان باعث شد تا در یک دوره

زمانی مصرف تخم‌مرغ در این کشور ممنوع اعلام شود (Tabatabayi, 2001). از سوی دیگر مطالعات گسترده در زمینه کاهش آلودگی‌های تخم‌مرغ از طریق استفاده از مواد ضدعفونی‌کننده، پرتو فرابنفش، پرتو گاما و روش‌های حرارتی نشان‌دهنده اهمیت موضوع می‌باشد (De Reu, 2005; Favier, 2008).

با توجه به موارد فوق شناسایی عوامل باکتریایی موجود در تخم‌مرغ‌های عرضه‌شده به بازار از یک طرف می‌تواند امکان تدوین یک برنامه اصولی و مدون در کنترل و پیشگیری بیماری‌های ناشی از این مواد غذایی را فراهم کند و از طرف دیگر می‌تواند محکی باشد بر برنامه‌هایی که در مؤسسات تولید و عرضه تخم‌مرغ در جهت کاهش آلودگی‌ها صورت می‌گیرد.

پژوهش حاضر در نظر دارد نوع عوامل باکتریایی موجود در تخم‌مرغ‌های عرضه‌شده در بازار تبریز را که به مدفوع آلوده هستند شناسایی و در کنار آن مقایسه‌ای با آلودگی‌های تخم‌مرغ‌های تمیز انجام دهد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه با مراجعه به ۳ مرکز تولیدکننده تخم‌مرغ که محصولات آن روانه بازار تبریز می‌گردد، با نمونه‌برداری از تولیدات روزانه اعم از تخم‌مرغ‌های آلوده به مدفوع و پاک، تعداد ۱۲۰ عدد تخم‌مرغ جمع‌آوری گردید. بدین ترتیب که از هر شانه تخم‌مرغ که حاوی تخم‌مرغ‌های آلوده بودند به‌صورت جداگانه در شرایط استریل تخم‌مرغ‌ها برداشته و بعد از قرار دادن آنها در کیسه‌های نایلونی در بسته استریل، در کوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه میکروبیولوژی

۱ سی سی از زرده نمونه برداری و به ۲ محیط برین هارت برات و تیوگلیکولات انتقال داده شد. (لازم به ذکر است که برین هارت برات بعد از انتقال زرده با لرزاننده (Shaker) کاملاً مخلوط هم زده شد). برین هارت برات های کشت داده شده از زرده و پوسته برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری شدند.

سپس، محیط های غنی سازی برین هارت برات کشت شده با نمونه های پوسته و زرده، جهت بررسی شواهد رشد باکتری در آن مورد بازرسی قرار گرفتند، در ادامه کار در صورت مشاهده رشد باکتری با نشانه ایجاد کدورت در محیط، ۲ مسیر مورد پی گیری قرار گرفت:

۱- در مسیر اول، بعد از نمونه برداری از محیط غنی سازی با آنس استریل در محیط بلاداگار به صورت خطی کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور گرم خانه گذاری گردید. بعد از سپری شدن این مدت کلنی های رشد یافته بر روی این محیط بررسی گردیدند. در صورت رؤیت بیش از یک نوع کلنی بر روی محیط، اقدام به انجام کشت خالص سازی گردید بدین صورت که با استفاده از یک آنس استریل از هر نوع کلنی متفاوت رشد یافته، بر روی یک محیط عمومی مغذی همچون بلاداگار یا برین هارت آگار کشت خطی داده و برای ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس گرم خانه گذاری گردید. بعد از اتمام مرحله خالص سازی، برای رسیدن به جنس باکتری جدا شده، مبادرت به انجام رنگ آمیزی گرم، کشت در محیط OF، تست های کاتالاز، اکسیداز و همچنین کشت در محیط

دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز ارسال گردید. ضمناً از هر کدام از شانیه های حاوی تخم مرغ آلوده، تعداد ۲ عدد تخم مرغ سالم به عنوان شاهد به همان روش به آزمایشگاه منتقل شد.

در آزمایشگاه هر بار تعداد مشخصی تخم مرغ تحت آزمایش قرار گرفت بدین صورت که پس از انتقال تخم مرغ ها به آزمایشگاه، در شرایط استریل در کنار شعله، تخم مرغ ها از کیسه استریل خارج گردید. با کشیدن سوآب آغشته به سرم فیزیولوژی استریل بر روی پوسته تخم مرغ ها، از آنها نمونه تهیه و به محیط برین هارت برات (آبگوشت قلب و مغز گوساله) به منظور غنی سازی انتقال داده شد، بعد از نمونه برداری از پوسته، تخم مرغ ها به صورت جداگانه به منظور ضد عفونی در داخل بشرهای استریل حاوی الکل ۷۰٪ که قبل از شروع آزمایش آماده شده بود قرار گرفتند به نحوی که آسیبی به پوسته آن وارد نشود. تخم مرغ ها به مدت ۱ ساعت در این شرایط رها شدند تا با ضد عفونی کامل پوسته احتمال آلودگی به هنگام شکستن پوسته و نمونه برداری از زرده به حداقل برسد. برای تهیه نمونه از زرده تخم مرغ به ترتیب زیر عمل شد:

تخم مرغ ها از درون بشر بیرون آورده شده و برای جلوگیری از ورود الکل به داخل محتویات تخم مرغ در هنگام شکستن، سطح تخم مرغ با تامپون استریل به خوبی خشک گردید و در کنار شعله چراغ الکلی و به کمک یک پنس استریل پوسته تخم مرغ شکسته شده سپس به کمک یک سمپلر با سر سمپلر استریل مقدار

مشاهده رشد باکتری و ایجاد کدورت در این محیط، اقدام به کشت خطی در یک محیط عمومی همچون برین هارت آگار یا بلاداآگار و انکوباسیون در ۳۷ درجه سلسیوس در جار بی‌هوای حاوی گازپک A برای ۲۴-۴۸ ساعت گردید در ادامه در صورت مثبت بودن رشد باکتری در این محیط مبادرت به انجام رنگ‌آمیزی گرم و تست‌های تفریقی اکسیداز و کاتالاز و کشت در محیط OF به منظور تشخیص تفریقی کلستریدیوم‌ها با سایر باکتری‌ها من جمله استفیلوکوک که هوازی-بی‌هوازی اختیاری است گردید. (لازم به ذکر است که کلستریدیوم باسیل گرم مثبت، فرمنتاتیو و اکسیداز و کاتالاز منفی است که در پژوهش ما یافت نگردید).

یافته‌ها

میزان آلودگی باکتریایی در پوسته

جدول ۱: فراوانی آلودگی در پوسته

فراوانی %	آلودگی در پوسته
۹۹/۱۶	درکل تخم‌مرغ‌ها
۹۸/۸۲	در تخم‌مرغ‌های با پوسته کثیف
۱۰۰	در تخم‌مرغ‌های با پوسته تمیز

جدول ۲: مقایسه درصد آلودگی کل پوسته در ۲ گروه تخم‌مرغ با پوسته تمیز و آلوده

حالت	Z	پارامتر
n.s	$0.64 < 1/96$	مقایسه میزان آلودگی در پوسته

n.s غیرمعنی‌دار

P<0.05 .S

P<0.01 .SS

مک کانکی آگار برای تفریق جنس آن‌دسته از باکتری‌ها که در رنگ‌آمیزی، گرم منفی بودند، گردید.

۲- در مسیر دوم به دلیل اهمیت جنس سالمونلا در آلودگی‌های غذایی و خطر بالای آن برای سلامتی جوامع انسانی، به‌طور جداگانه به بررسی و جستجوی این باکتری گرم منفی پرداخته شد.

بدین صورت که با نمونه‌برداری از برین هارت براث با استفاده از آنس استریل مبادرت به کشت در محیط مایع آبگوشت سلنیت و آبگوشت تتراتیونات گردید. پس از طی شدن زمان ۱۸-۱۵ ساعته انکوباسیون در ۳۷ درجه سلسیوس از آنها در محیط X.L.D آگار، کشت خطی به عمل آمد (محیط انتخابی گرم منفی‌ها و افتراقی برای سالمونلا) و با گذشت زمان ۲۴ ساعته انکوباسیون، محیط‌های کشت‌شده XLD آگار مورد بازرسی قرار گرفت. در صورت مشاهده کلنی‌های هم‌رنگ محیط کشت، شفاف با مرکز سیاه (SH₂) با مشکوک شدن به خانواده سالمونلا به بررسی توانایی تجزیه اوره و لیزین و تولید رسوب SH₂ در آنها و همچنین کشت در محیط‌های افتراقی سالمونلا شامل: مالنات، سیمون سترات، SIM، تریپل شوگرآیرون آگار و MR-VP و در نهایت با تأیید سالمونلا مبادرت به انجام تست‌های تأیید تشخیصی با آنتی‌سرم پلی‌والان گردید.

در رابطه با سرنوشت محیط‌های کشت بی‌هوای تیوگلیکولات، بعد از انجام کشت مستقیم از زرده، درب لوله‌ها به‌دقت بسته شده و درجه سلسیوس مورد انکوباسیون قرار گرفت. بعد از سپری شدن این مدت محیط‌ها مورد بازرسی قرار گرفتند. در صورت

میزان آلودگی در زرده

جدول ۷: مقایسه درصد آلودگی باکتری‌های گرم منفی در پوسته ۲ گروه تخم‌مرغ با پوسته تمیز و آلوده

پارامتر	Z	حالت
E.Coli	$0.51 < 1/96$	n.s
Enterobacter	$1/126 < 1/96$	n.s
Citrobacter	$0.46 < 1/96$	n.s
Proteus	$0.89 < 1/96$	n.s
Salmonella	$0.64 < 1/96$	n.s
Bordetella	$0.64 < 1/96$	n.s
Pseudomonas	$4/65 > 1/96$	SS
ActinoBacillus	$0.91 < 1/96$	n.s
Francisella	$0.91 < 1/96$	n.s
Aeromonas	$0.64 < 1/96$	n.s

n.s: غیرمعنی دار P<0.05 :S P<0.01 :SS

جدول ۸: فراوانی باکتری‌های گرم مثبت (gr+) پوسته

جنس	فراوانی در تخم‌مرغ‌ها کل	فراوانی در تخم‌مرغ‌های با پوسته آلوده	فراوانی در تخم‌مرغ‌های با پوسته تمیز
Bacillus	۸۰	۸۱/۱۷	۷۷/۱۴
Staphylococcus	۳۴/۱۶	۴۳/۵۲	۱۱/۴۲
Streptococcus	۱۵	۱۵/۲۹	۱۴/۲۸
Rhodococcus	۹/۱۶	۹/۴۱	۸/۵۷
LactoBacillus	۰/۸۳	۱/۱۷	-
Eryseopelotrix	۳/۳۳	۳/۵۲	۲/۷۵
Micrococcus	۷/۵	۱۰/۵۸	-
Corynebacter	۳/۳۳	۴/۷۰	-
مخمر	۰/۸۳	۱/۱۷	-

n.s: غیرمعنی دار
P<0.05 :S
P<0.01 :SS

جدول ۹: مقایسه درصد آلودگی باکتری‌های گرم مثبت در پوسته ۲ گروه تخم‌مرغ با پوسته تمیز و آلوده

پارامتر	Z	حالت
Bacillus	$0.50 < 1/96$	n.s
Staphylococcus	$3.37 > 1/96$	SS
Streptococcus	$0.14 < 1/96$	n.s
Rhodococcus	$0.14 < 1/96$	n.s
Lactobacillus	$0.64 < 1/96$	n.s
Eryseopelotrix	$0.18 < 1/96$	n.s
Micrococcus	$2.00 > 1/96$	S
Corynebacter	$0.64 < 1/96$	n.s
مخمر	$0.64 < 1/96$	n.s

n.s: غیرمعنی دار P<0.05 :S P<0.01 :SS

جدول ۳: فراوانی آلودگی در زرده

فراوانی %	الودگی در زرده
۱۵/۸۳	درکل تخم‌مرغ‌ها
۱۶/۴۷	در تخم‌مرغ‌های با پوسته کثیف
۱۴/۲۸	در تخم‌مرغ‌های با پوسته تمیز

جدول ۴: مقایسه درصد آلودگی کل زرده در دو گروه تخم‌مرغ با پوسته تمیز و آلوده

پارامتر	Z	حالت
مقایسه میزان آلودگی در زرده	$0.3 < 1/96$ (P-Value 0.05)	n.s

جدول ۵: فراوانی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت سطح پوسته

فراوانی %	نوع باکتری‌های سطح پوسته
۲۳/۵۵	گرم منفی (gr-)
۷۶/۴۵	گرم مثبت (gr+)

جدول ۶: فراوانی باکتری‌های گرم منفی (gr-) پوسته

خانواده	جنس	فراوانی در فراوانی در تخم‌مرغ‌های با پوسته آلوده	فراوانی در تخم‌مرغ‌های با پوسته تمیز
Enterobacteriaceae	E.coli	۱۰/۸۳	۱۱/۷۶
	Enterobacter	۲/۵	۳/۵۲
	CitroBacter	۴/۱۶	۴/۷۰
	Proteus	۵/۸۳	۷/۰۵
	Salmonella	۰/۸۳	۱/۱۷
	Bordetella	۰/۸۳	۱/۱۷
	Pseudomonas	۱۸/۳۳	۵/۸۸
	Actinobacillus	۱/۶۶	۲/۳۵
	Francisella	۱/۶۶	۲/۳۵
	Aeromonas	۰/۸۳	۱/۱۷

بحث و نتیجه‌گیری

با بررسی نتایج به‌نظر می‌رسد فراوانی بالای باسیلوس، استافیلوکوکوس و سودوموناس می‌تواند ناشی از آلودگی‌های محیطی باشد چرا که این باکتری‌ها علاوه‌براین که جزو مهم‌ترین و فراوان‌ترین باکتری‌های موجود در محیط و غشاهای طبیعی می‌باشند، نسبت به شرایط بد محیطی نیز مقاومت بالایی دارند (به‌ویژه استافیلوکوکوس و سودوموناس)، همچنین از دلایل بالا بودن میزان این باکتری‌ها می‌توان به رشد ساده و سریع آنها در مقایسه با سایر باکتری‌ها اشاره کرد که باعث می‌شود نمونه‌های بیشتری در قیاس با باکتری‌های سخت رشد جدا شوند. Kaleidari و همکاران با انجام پژوهشی در سال ۱۳۸۵ این‌طور بیان داشتند که باسیلوس‌ها به‌طور طبیعی در مدفوع وجود دارند و آلودگی پوسته تخم‌مرغ از طریق مدفوع در بالا بردن میزان جداسازی این دسته از باکتری‌ها حائز اهمیت است (Kaleidari, 2005). در درجه بعدی اهمیت، بالا بودن میزان آلودگی به انتروباکتریاسه در پژوهش حاضر می‌تواند ناشی از آلوده شدن تخم‌مرغ به ترشحات دستگاه گوارش در کلواک مرغ در حین تخمگذاری باشد. میزان بالای این دسته از باکتری‌ها در مدفوع، بالا بودن درصد جداسازی آنها را در پژوهش حاضر توجیح می‌کند. به‌ویژه بالا بودن نسبی این باکتری‌ها در تخم‌مرغ‌های با پوسته آلوده در این تحقیق موید مطلب فوق است.

با بررسی نتایج پژوهش‌های مشابه و مقایسه آن با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی‌های فراوانی در این زمینه مشاهده می‌گردد.

جدول ۱۰: فراوانی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت آلوده‌کننده زرده

نوع باکتری‌های آلوده‌کننده زرده	فراوانی %
گرم منفی (gr-)	۷۳/۶۸
گرم مثبت (gr+)	۲۶/۳۱

جدول ۱۱: فراوانی باکتری‌های گرم منفی (gr-) زرده

با پوسته تمیز	با پوسته آلوده	کل تخم‌مرغ‌ها	جنس
۲/۸۵	۱/۱۷	۱/۶۶	Acinetobacter
-	۱/۱۷	۰/۸۳	Enterobacter
۲۰	۳/۵۲	۸/۳	Pseudomonas
-	۱/۱۷	۰/۸۳	ActinoBacillus

جدول ۱۲: مقایسه درصد آلودگی باکتری‌های گرم منفی در زرده دو گروه تخم‌مرغ با پوسته تمیز و آلوده

حالت	Z	پارامتر
n.s	$0/65 < 1/96$	Acinetobacter
n.s	$0/64 < 1/96$	Enterobacter
SS	$2/97 > 1/96$	Pseudomonas
n.s	$2/97 > 2/5$	ActinoBacillus

n.s غیرمعنی‌دار

S: $P < 0.05$

SS: $P < 0.01$

جدول ۱۳: فراوانی باکتری‌های گرم مثبت (gr+) زرده

با پوسته تمیز	با پوسته آلوده	کل تخم‌مرغ‌ها	جنس
-	۵/۸۸	۴/۱۶	Bacillus

جدول ۱۴: مقایسه درصد آلودگی باکتری‌های گرم مثبت در زرده ۲ گروه تخم‌مرغ با پوسته تمیز و آلوده

حالت	Z	پارامتر
n.s	$1/47 < 1/96$	Bacillus

n.s غیرمعنی‌دار

S: $P < 0.05$

SS: $P < 0.01$

سدهای فیزیکی و شیمیایی متعددی است که در جلوگیری از نفوذ باکتری‌ها نقش مهمی دارد که احتمال رسیدن آلودگی به زرده را به حداقل می‌رساند. از طرف دیگر برای نفوذ آلودگی از پوسته به محتویات تخم مرغ فاکتور زمان بسیار مؤثر هست.

در پژوهش ما، ۱۵/۸۳٪ آلودگی در زرده به اثبات رسید. از این تعداد، بیشترین سهم به سودوموناس با فراوانی ۸/۳٪ تعلق داشت. لازم به ذکر است که ۷۳/۶۸٪ آلودگی زرده ناشی از باکتری‌های گرم منفی بود که حدود ۳ برابر بیشتر از فراوانی باکتری‌های گرم مثبت جداگردیده از زرده است (۲۶/۳۱٪) و این درحالی است که میزان این فراوانی‌ها روی پوسته دقیقاً عکس این حالت است (گرم منفی ۲۳/۵۵٪ و گرم مثبت ۷۶/۴۵٪) این تفاوت را می‌توان تا حدود زیادی به‌خاطر قدرت ضدباکتریایی سفیده دانست. که به دلیل داشتن لیزوزیم باعث تخریب دیواره باکتری‌های گرم مثبت شده و مانند سدی از میزان نفوذ و رشد این باکتری‌ها می‌کاهد. همچنین De Reu و همکاران در سال ۲۰۰۶ با انجام تحقیقی نشان دادند که اغلب باکتری‌های نفوذی به زرده، جزو دسته گرم منفی‌ها، متحرک و غیرخوشه‌ای (تکی) بودند و بیشترین سهم را سودوموناس‌ها تشکیل می‌دادند که کاملاً با پژوهش ما تطابق دارد (De Reu, 2006).

در سال ۲۰۰۳، Cook و همکاران با انجام مطالعه‌ای بر روی عفونت‌های منتقل‌شونده از طریق پوسته تخم مرغ، گزارش نمودند که در ۱۶٪ موارد، باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه از پوسته جدا

در تحقیق Seviour و همکاران در سال ۱۹۷۳، باسیلوس‌ها به‌ویژه باسیلوس سرئوس و باسیلوس سوبتیلیس از پوسته جداسازی گردید که فراوانی باسیلوس سرئوس جداگردیده از پوسته ۱۶/۴۱٪ بود (Seviour, 1972).

کلیدری و همکاران در سال ۱۳۸۵ با کار بر روی ۱۲۰ عدد تخم مرغ قابل جوجه‌کشی، میزان آلودگی پوسته را ۹۶/۶۶٪ و میزان آلودگی را در زرده ۳/۳٪ گزارش نمودند. همچنین بیشترین میزان باکتری جداشده از جنس باسیلوس با فراوانی ۸۶/۶٪ و در درجه بعدی اهمیت استافیلوکوک با فراوانی ۱۹/۹٪ می‌باشد. همچنین بر طبق نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق Bruce و همکاران در سال ۱۹۷۸ عمده باکتری‌های آلوده‌کننده پوسته تخم مرغ‌های هیچ نشده شامل: استرپتوکوک، استافیلوکوک، سودوموناس، میکروکوک، باسیلوس و خانواده انتروباکتریاسه بودند که با پژوهش ما هم‌خوانی دارد (Kaleidari, 2005).

De Reu و همکاران در سال ۲۰۰۶ با انجام تحقیقی روی پوسته تخم مرغ‌ها، بیشترین باکتری جدا شده را سودوموناس با فراوانی ۶۰٪ اعلام نمودند، همچنین Musgrove و همکاران در سال ۲۰۰۸ با نمونه برداری از پوسته تخم مرغ‌ها، بیشترین باکتری غیرخانواده انتروباکتریاسه را سودوموناس ذکر نمودند که با بیشترین باکتری گرم منفی جداشده از پوسته در پژوهش ما هم‌خوانی دارد (De Reu 2006; Musgrove, 2007).

در ارتباط با میزان پایین آلودگی زرده در مقایسه با پوسته نکات ذیل قابل توجه می‌باشد. تخم مرغ دارای

جداسازی سالمونلا از پوسته یا محتویات نشدند (Ching, 1991; Jones, 2007; Ozyer, 1999; Shareef, 1997). در رابطه با آلودگی محتویات به سالمونلا در پژوهش ما، مورد مثبتی یافت نگردید که با تحقیق Chapman و همکاران که در سال ۱۹۹۸ بر روی ۱۰۰۰ عدد تخم‌مرغ اخذشده از گله‌ای با آلودگی طبیعی به سالمونلا تیپ‌موریوم انجام شد و موفق به جداسازی سالمونلا از محتویات تخم‌مرغ نشدند هم‌خوانی دارد (Chapman, 1988).

Hayemi و همکاران در سال ۱۳۷۶ با نمونه‌گیری از ۱۲۰۰ عدد تخم‌مرغ در تهران ۹ مورد سالمونلا با فراوانی کمتر از ۱٪ از محتویات تخم‌مرغ‌ها جدا کردند. همچنین در پژوهشی که در سال ۱۳۸۲ توسط جعفری و همکاران بر روی ۳۰۰ تخم‌مرغ بومی مصرفی در اهواز انجام گرفت، ۱/۶۶٪ آلودگی سالمونلایی از محتویات تشخیص داده شد (Hayemi, 1997; Jaafari, 2006).

بر طبق نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق Musgrove و همکاران در سال ۲۰۰۷، این محققین این‌گونه بیان داشتند که انتقال از پوسته نقش مهمی در آلودگی محتویات به سالمونلا انتریتیدیس ندارد (Musgrove, 2007).

با مطالعه نتایج، مشخص می‌شود که آلوده بودن یا نبودن پوسته به مدفوع نمی‌تواند دلیل بر عدم وجود باکتری باشد. نکته‌ای که می‌بایست مورد توجه قرار گیرد این است که آلوده بودن پوسته به مدفوع می‌تواند منجر به افزایش تعداد باکتری بر روی پوسته شده و ریسک آلوده کردن محتویات را افزایش دهد. همان‌طور که De Reu و همکاران در

شده‌اند که در این بین بیشترین موارد شامل اشریشیاکولای و پروتئوس و در درجه بعدی اهمیت سراتیا، سیتروباکتر، انتروباکتر و یرسینیا بودند. همچنین باکتری سودوموناس در ۱۵٪ پوسته‌ها و ۲۲٪ زرده‌ها گزارش شده است و باسیلوس‌ها با ۳۹٪ فراوانی بیشترین باکتری جداشده از پوسته بودند و در نهایت باکتری‌های جنس استریتوکوک، استافیلوکوک و میکروکوک در ۲۰٪ پوسته‌ها گزارش شدند (Cook, 2003).

در ارتباط با عوامل مهم بیماری‌زای منتقل‌شونده توسط تخم‌مرغ به‌ویژه سالمونلا در پژوهش حاضر تنها یک مورد مثبت از پوسته به‌دست آمد که آن هم از سرووار انتریتیدیس بود و هیچ سالمونلایی از زرده جداسازی نگردید. جمشیدی با انجام تحقیقی در سال ۱۳۶۳ بر روی پانصد عدد تخم‌مرغ مصرفی، تنها ۱ مورد سالمونلا و Poppe و همکاران در سال ۱۹۹۲ با نمونه‌برداری از چهارده هزار تخم‌مرغ اخذشده از چند گله تخم‌گذار در کانادا فقط ۱ مورد سالمونلا انتریتیدیس از پوسته جدا کردند (Poppe, 1992).

Jones و همکاران در سال ۲۰۰۷ با نمونه‌برداری از تخم‌مرغ‌های مصرفی، میزان ۱/۱٪ سالمونلا از پوسته، Shareef و همکاران با ارزیابی صد عدد تخم‌مرغ بومی و تخم اردک در عراق، ۶٪ سالمونلا تیپ‌موریوم از پوسته و Ching-Lee و همکاران در سال ۱۹۹۱ با بررسی تخم‌مرغ‌های خوراکی در هاوایی ۹/۴٪ سالمونلا از پوسته جداسازی کردند. Ozyer و همکاران در سال ۱۹۹۲ با تحقیق بر روی ۴۰۰ عدد تخم‌مرغ صنعتی موفق به

جداسازی باکتری از تخم مرغ‌های با پوسته آلوده بیشتر بود هرچند برخی از لحاظ آماری معنی دار نبودند به‌ویژه در مورد خانواده انتروباکتریاسه، جنس باسیلوس، استافیلوکوک، استرپتوکوک. اما نتایج از لحاظ آماری در مورد برخی از این جنس‌ها همچون استافیلوکوک و میکروکوک معنی دار بودند.

تنها استثناء، جداسازی بیشتر جنس سودوموناس در گروه با پوسته تمییز می‌باشد. با توجه به نتایج خام، متوجه می‌شویم که اغلب موارد مربوط به نمونه‌های اخذ شده از یکی از مراکز می‌باشد که می‌تواند ناشی از آلودگی بالای محیطی این مرکز باشد.

۲- در ارتباط با آلودگی زرده در دو گروه مورد آزمایش، میزان جداسازی باکتری در گروه با پوسته آلوده بیشتر بود، به‌ویژه در مورد باکتری‌های گرم مثبت هیچ مورد مثبتی در گروه با پوسته تمییز جدا نشد درحالی‌که در ۵/۸۸٪ موارد، گروه با پوسته آلوده، باکتری گرم مثبت جدا گردید.

در مورد باکتری‌های گرم منفی نیز فراوانی انتروباکتریاسه در گروه با پوسته آلوده بیشتر بود. جداسازی سودوموناس بیشتر در گروه با پوسته تمییز ناشی از نحوه نمونه‌برداری می‌باشد که در بالا توضیح داده شد.

با توجه به نتایج فوق به‌نظر می‌رسد که آلوده نبودن پوسته به مدفوع نمی‌تواند در مصرف تخم مرغ به‌صورت خام یا نیم‌پز اطمینان‌بخش باشد. وجود آلودگی مدفوعی بر روی پوسته تخم مرغ باعث افزایش تعداد باکتری بر روی آن گشته و ریسک آلودگی محتویات تخم مرغ به‌ویژه در زمان شکستن تخم مرغ را در پی خواهد داشت. عدم

سال ۲۰۰۶ در تحقیق خود این‌گونه نتیجه‌گیری کردند که پوسته تخم مرغ‌های مورد نفوذ قرار گرفته (دارای ترک) در مقایسه با پوسته‌های مورد نفوذ قرار نگرفته و همچنین محتویات تخم مرغ‌های آلوده به مدفوع در مقایسه با محتویات تخم مرغ‌های غیرآلوده، به‌طور مشخصی میزان بالاتری از آلودگی باکتریایی را نشان می‌دهند. Jones و همکاران با انجام تحقیقی در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که تخم مرغ‌های شسته‌شده تجاری به‌طور مشخصی دارای آلودگی کمتری از لحاظ جمعیت باکتریایی نسبت به تخم مرغ‌های نشسته هستند. نکته دیگری که از نظر سلامت جامعه واجد اهمیت است این مسأله است که بالا بودن میزان آلودگی پوسته در هنگام شکستن پوسته تخم مرغ به‌منظور استفاده از تخم مرغ به‌صورت خام، می‌تواند باعث آلودگی محتویات و بروز آلودگی گردد (De Reu, 2006; Jones, 2007).

در ارتباط با نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از آزمون آماری Z موارد ذیل قابل ذکر است:

۱- مقایسه درصد آلودگی کل پوسته در دو گروه مورد آزمایش (تخم مرغ‌های با پوسته آلوده و تمییز) در دو سطح اطمینان ۹۵٪ و ۹۹٪ با توجه به P-Value اختلاف معنی دار نیست. این نتایج نشان‌دهنده این مطلب می‌باشد که آلوده بودن و یا نبودن پوسته به مدفوع نمی‌تواند دلیلی بر بودن یا نبودن باکتری باشد. در ارتباط با مقایسه جداگانه هر کدام از جنس‌های باکتریایی تقریباً در ارتباط با تمامی جنس‌ها میزان

سپاسگزاری

از آقای ابراهیم شرقی کارشناس محترم آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز قدردانی می‌گردد.

استفاده از تخم‌مرغ‌های به شدت آلوده از لحاظ ظاهری و همچنین شستشوی با دقت تخم‌مرغ‌های با آلودگی ظاهری کمتر قبل از شکستن آن جهت دسترسی به محتویات به منظور کاهش ریسک انتقال عوامل باکتریایی به محتویات، اکیداً توصیه می‌شود.

منابع

- Chapman, P.A., Rhodes, P. and Rylands, W.(1988). *Salmonella typhimurium* phage type 141 infections in Sheffield during 1984 and 1985: association with hens' eggs. *Epidemiology and infection*, 101: 75-82.
- Ching-Lee, M.R. and Katz, A.R. (1991). Salmonella egg survey in Hawaii. Evidence for routine bacterial surveillance. *American Journal of Public Health*, 81(60): 764-766.
- Cook Mark, I., Beisinger Steven, R., Toranzos Gary, A., Rodriguez Roberto, A. and Arendt, W.J. (2003). Trans-shell infection by pathogenic micro-organism reduces the shelf life of non-incubated bird's eggs: a constraint on the onset of incubation. *Proceedings of the Royal Society*, 270: 2233-2240.
- De Reu, K., Grijspeerdt, K., Herman, L., Heyndrickx, M., Uyttendaele, M., Debevere, J., Putirulan, F.F. and Bolder, N.M. (2005). The effect of a comercial UV disinfection system on the bacterial load of shell eggs. *Letters in applied Microbiology*, (42): 144-148.
- De Reu, K., Grijspeerdt, K., Messens, W., Heyndrickx, M., Uyttendaele, M., Debevere, J. and Herman, L. (2006). Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. *British Poultry Science*, 46(2): 142-149.
- Favier, G.I., Escudero, M.E. and De Guzman, A.M.S. (2008). Thermal inactivation of *Yersinia Enterocolitica* in liquid egg products. *Journal of Food Safety*, 28: 157-169.
- Jaafari, R., Fazlara, A. and Dalirannia, A. (2006). An investigation into Salmonella contamination of native hens eggs in Ahvaz, *Iranian Veterinary journal*, 2: 58-63.
- Jones, D.R. and Musgrove, M.T. (2007). Pathogen prevalence and microbial levels associated with restricted shell eggs. *Journal of Food Protection*, 70(9): 2004-2007.
- Hayemi, P., Hadian, Z. and Velaii, N. (1997). The distribution of Salmonella infection in egg yolks consumed in Tehran Province, *Iran Veterinary Association Journal*, 10: 27-30.
- Kalidari, G.A., Pourakhondi Darzi, H. and Hashemitabar, G.R. (2005). Isolation and identification of facultative aerobic- anaerobic gram-positive bacteria in hatching eggs. *Journal of Veterinary Research*, 61:115-118.
- March, B.E. (1969). Bacterial infection of washed and unwashed eggs with reference to Salmonellae. *Applied Microbiology*, 17: 98-101.
- Musgrove, M.T., Northcutt, J.K., Jones, N.A. and Harrison, M.A. (2007). Enterobacteriaceae and Related Organisms Isolated from Shell Eggs Collected During Commercial Processing. *Poultry Science*, 87: 1211-1218.
- Ozyer, M. and Inal, U. (1999). Studies on the isolation of Salmonella from eggs. *Etlik-Veterinary Microbiology-Dergisi*, 7(2): 109-115.

- Poppe, C., Johnson, R.P., Forsbery, C.M. and Irwin, R.I. (1992). *Salmonella enteritidis* and other Salmonellae in laying hens and eggs from flocks with Salmonella in their environment. Canadian Journal of Veterinary Research, 56(3): 226-232.
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, M.E., Donnelly, W.J. and Leonard, F.C. (2002). Veterinary Microbiology Disease by Blackwell Science, 2: 176-180.
- Seviour Elizabeth, M., Sykes Felicity, R. and Board, R.G. (1972). A microbiological survey of the incubated eggs of chickens and waterfowl. British Poultry Science, 13: 549-556.
- Shareef, A.M., Al-Sanjary, R.A. and Hassan, A.A. (1997). Recovery of two types of Salmonella from eggs of range rearing hens and ducks. Iraqi Journal of Veterinary Science, 10(2): 25-28.
- Tabatabayi, A.H. and Firouzi, R. (2001). Diseases of animals due to Bacteria. Tehran University Press, pp. 255-259 [In Farsi].

Archive of SID