

CZU:619:616.98:579.842.14

**MICROFLORA OUĂLOR DE CONSUM ȘI RISCURILE DE CONTAMINARE CU
SALMONELLA SPP.**

*JUNCU OLGA, STARCIUC NICOLAE, OSADCI NATALIA, MALANCEA
NICOLAE, SPATARU TUDOR, MANCIU ALEXANDRU, CIUCLEA AUREL*

Universitatea Agrară de Stat din Moldova

ABSTRACT. The goal of the proposed research was to determine the load and diversity of bacterial flora of poultry eggs to the Central Agricultural Market of Chisinau from different poultry companies inside the country and analyze the risks of contamination of eggs with pathogenic microorganisms in specially with Salmonella spp. Samples were taken from the surface of the eggs and from the interior surface of the commercial buildings and were performed on nutrient media

like: peptone agar, nutrient medium Endo, Levin, Salmonella Shigela Agar, Saburo agar. As a result, the bacteriological investigations demonstrated the presence of various combinations of conditional pathogenic micro-organisms in all samples collected from the surface of poultry eggs and from the interior objects from the commercial buildings. The associations found where: Streptococcus, Staphylococcus, E. coli, Salmonella and microscopic fungal. Isolation of Salmonella and E. coli colonies from the surface of eggs indicates the presence of the risk of toxiinfections and require a careful monitoring of the entire launcher production and marketing of poultry eggs to determine the critical points of eggs contamination with pathogenic micro-organisms.

Key words: eggs, microbial colonies, culture media, samples.

INTRODUCERE

Ouăle sunt alimente valoroase din punct de vedere nutritive și din acest considerent sunt pe larg folosite în consumul uman cât și în industrie la fabricarea pastelor făinoase, a produselor de patiserie, în obținerea prafului de ouă etc. Cu referire la aspectul microbiologic, ouăle conțin o microfloră facultativ patogenă transmisă de la păsările bolnave și o microfloră de alterare care ajunge în ou prin contaminare externă. Structural oul prezintă la suprafață un strat de mucină, solubil în apă, cu efect bactericid. La 1-2 săptămâni de la obținere, efectul bactericid se pierde. Sub stratul de mucină se găsește coaja poroasă, cu pori suficient de mari, pentru a permite trecerea celulelor microbiene [1,4]. Sub coajă se găsește membrana cu conținut ridicat în cheratină, permeabilă pentru vaporii de apă și pentru celulele de dimensiuni mici. Sporii de mușcăi cu dimensiuni mari nu trec prin membrana internă. Albușul se prezintă sub forma unui amestec coloidal cu pH =9,3, nefavorabil dezvoltării bacteriilor. El nu este un mediu bun pentru multiplicarea bacteriilor deoarece conține lizozim, conalbumina, avidina, substanțe cu efect antimicrobian asupra bacteriilor pozitive pe care le lezează. În albuș mai sunt prezenți inhibitori ai proteazelor vegetale/microbiene ca de exemplu ovostina, cistatina, ovomucoidul. Prin formarea unui strat vâscos între coajă și gălbenuș, albușul împiedică răspândirea microorganismelor. De asemenea în interiorul albușului există o rețea de fibre formate ca rezultat al interacțiunii între lizozim și ovomucină. Însa gălbenușul reprezintă un mediu excelent pentru înmulțirea microorganismelor, are un pH=6,9, este bogat în substanțe nutritive și nu conține substanțe cu efect inhibitor. Experiențele de inoculare artificială în gălbenuș a bacteriilor din genul *Salmonella* au stabilit că acestea se înmulțesc foarte bine și pot ajunge la valori de 10^8 /g gălbenuș[3,5].

Este cunoscut faptul ca ouăle pot fi contaminate pe cale internă, de la organismul păsărilor în perioada de formare a ouălor la nivelul aparatului reproducător (ovare, oviduct, cloacă) și de la contactul cu obiectele din mediu (aerul, echipamentul, ambalajul, personalul, transportul etc.) Cel mai frecvent în contaminarea internă se implică următoarele genuri de microorganisme precum: genul *Salmonella* cu speciile: *Salmonella enteridis*, *Salmonella galinarium* care se pot înmulți în gălbenuș, pot să provină de la păsări bolnave sau prin contaminarea externă, care prin urmare pot duce la toxiinfecție alimentară[2,6]. De menționat că ouăle de găină au o contaminare redusă (0-7%), iar ouăle de rață pot fi contaminate în proporție de 1-26%, în special predomină contaminarea cu genul *Proteus*, cu specia *Proteus mirabilis*, care în concentrații mari produc toxiinfecții alimentare. genul *Clostridium*, cu specia *Clostridium perfringens*, poate proveni și din contaminarea externă, Contaminarea externă are loc după expulzarea oului, și are o pondere de aproximativ 90% din totalul microbiotei. Numărul de microorganisme pe coajă este în medie de 100000 în funcție de gradul de igienă, cu predominarea bacteriilor din enul *Micrococcus* care rezistă bine pe coaja uscată a oului, bacterii patogene transmisibile prin dejecții, aer, aparținând genurilor *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Escherichia* [1,3].

Reușind din cele menționate, scopul cercetărilor noastre a fost de a stabili prezența și diversitatea microflorei ouălor precum și riscul de contaminare a ouălor cu *Salmonella spp*

MATERIAL ȘI METODĂ

Materialul de cercetare au servit ouăle de consum prelevate de la unitățile comerciale specializate în comercializarea ouălor în unitățile comerciale din Piața Agicolă Centrală din mun. Chișinău, livrate

de la întreprinderile avicole specializate în producerea ouălor de consum din republică, în special: SRL “Intervetcom”, or. Cimișliea, SRL “Redi Agro, r-l Dondușeni, s. Tîrnova, SRL “Dant Agro, r-l Ungheni, s. Pîrlița, SRL “Solar Nord”, r-l Edineț, s. Gordinești, SRL Avicola Rîșcani, s. Corlăteni, SRL “Pasărea Argintie”, mun. Chișinău, s. Ciorescu”.

Au fost prelevate câte trei probe în mod aleatoriu de la fiecare lot de ouă și expediate în laborator pentru examinare. Concomitent au fost prelevate probe de pe ambalaj și din încăperea. În total în perioada 01 aprilie - 01 august 2018 au fost prelevate 78 de probe. Însămânțările au fost efectuate pe mediile nutritive: agarul peptonat, bulionul peptonat, mediul Endo, mediul Levin, mediul Saburo și Salmonella Sighiella agar (SSA). La 24 și 48 de ore de incubare în termostat la temperatura +37°C, au fost studiate tipul și morfologia coloniilor microbiene și au fost preparate frotiuri din coloniile microbiene, colorate prin metoda Gram și examinate la microscopul biologic (10x80).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele cercetărilor bacteriologice sunt prezentate selectiv din numărul probelor cercetate și reflectate parțial pe figurile 1-6. Pe figura 1 sunt prezentate coloniile de *Streptococi* și *Stafilococi*, pe mediul agarul peptonat, unde însămânțările au fost efectuate din lavajele de pe suprafața ouălor, cât și din lavajele de pe suprafețele încăperilor.

Numărul coloniilor bacteriene au variat în limitele de la 77 la 256 în cazul când însămânțările au fost efectuate de pe suprafața ouălor și de la 166 la 300 colonii în cazul când însămânțările au fost efectuate din lavajele prelevate de pe suprafețele încăperilor.

Pe figura 2 sunt prezentate coloniile de *E. coli*, care în mai multe cazuri au fost izolate din lavajele prelevate de pe suprafețele încăperilor, avînd valori în limitele 4-66 colonii, iar din lavajele prelevate de pe suprafața ouălor, numărul coloniilor a variat în limitele 0- 44 colonii.

Monitorizarea prezenței coloniilor de *Salmonella* s-a efectuat prin însămânțări pe mediul bismut sulfid agar și Salmonella Sighiella agar.

Pe figurile 3 și 4 și 5 se observă prezența coloniilor de *Salmonella* în special, în cazul când însămânțările au fost efectuate din lavajele prelevate de pe suprafața ouălor avînd valori în limitele 22-145 colonii, cu o creștere mai intensivă pe mediul Salmonella Sighiella agar, iar în cazul însămânțărilor efectuate din lavajele de pe suprafețele încăperilor, numărul coloniilor a fost mai mic și a variat de la 12 la 110 colonii.

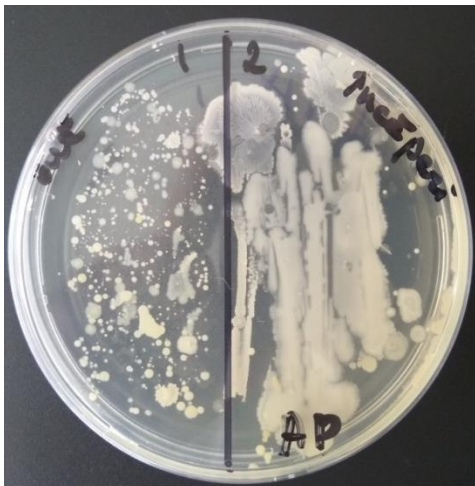


Fig. 1 Colonii de Streptococi (mediul agarul peptonat)

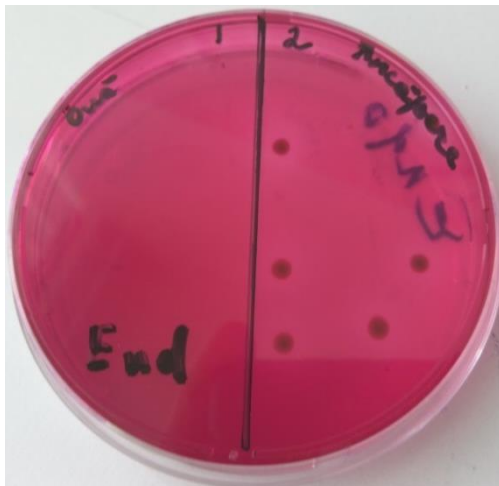


Fig. 2 Colonii de *E. coli* pe mediul Endo (lavaje de pe suprafețele încăperii)

La peste 20% din probele examinate atât din lavajele prelevate de pe suprafața ouălor cât și de pe suprafețele încăperilor comerciale au fost stabilită prezența coloniilor de fungi microscopici, care de regulă aveau un aspect pufos, de culoare surie - cenușie, concrescute pe suprafața mediului nutritiv (fig. 6).

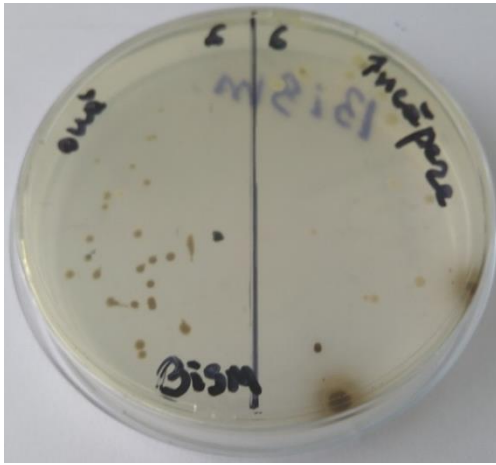


Fig.3 Colonii de *Salmonella* (lavaje de pe suprafața ouălor pe mediul bismut sulfit agar

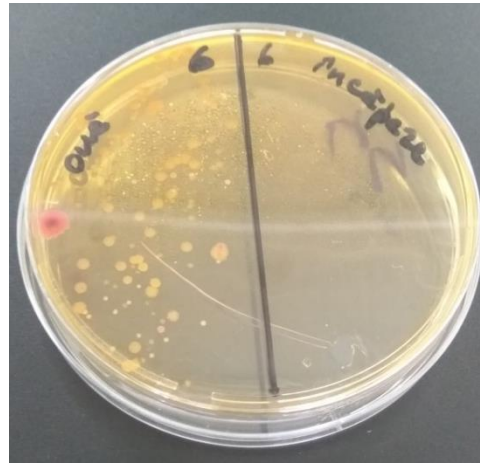


Fig. 4 Colonii de *Salmonella* (lavaje de pe suprafața ouălor) pe mediul SSA



Fig.5 Colonii de *Salmonella* (lavaje de pe suprafața încăperii) pe mediul bismut sulfit agar

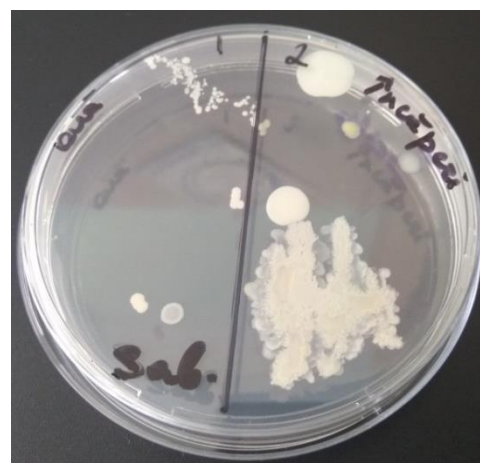


Fig.6 Colonii de fungi microscopici (lavaje de pe suprafața ouălor și încăperea)

Din coloniile microbiene obținute pe mediile nutritive de cultură au fost preparate frotiuri,, colorate după metoda Gram și examinate la microscopul biologic, ob. 10x80. Rezultatele acestor investigații sunt prezentate pe figurile 7-10. Pe figura 7 se observă o microfloră care este reprezentată de *Streptococi*, plasați dispersat câte unul sau în lanțisor și de *Stafilococi* care sunt plasați în câmpul microscopului în formă de grămezi, cu forma sferică, de culoare albastră. O floră asociată de fungi, care au forma unor filamente de culoare albastră, plasate în special pe centrul câmpului microscopic, cu o asociere de bacili în formă de bastonașe de culoare roză, plasați practic pe tot câmpul microscopic, caracteristici pentru *E. coli*. Pe figura 9 este reprezentată o asociere de microorganisme preponderent constituită de *Salmonella* și *E. coli*, morfologic caracterizată cu prezența unor bastonașe de culoare roză, iar pe figura 10 se observă prezența unei flore asociate de *E. coli*, *Salmonella* (bacili de culoare roză) și fungi microscopici(filamente de culoare albastră).

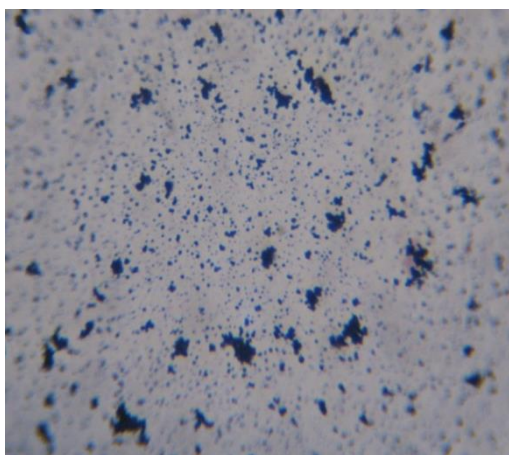


Fig.7 *Streptococi* și *Stafilococi*

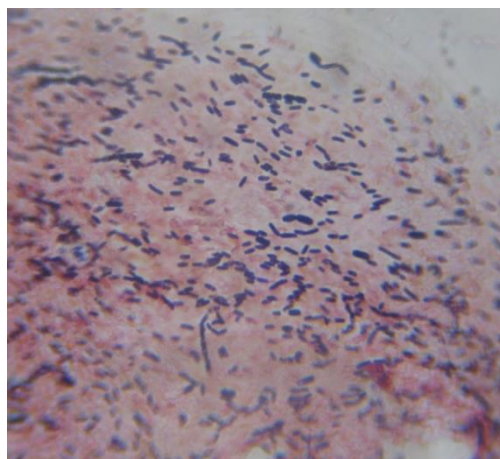


Fig. 8 Floră asociată de fungi și *E. coli*

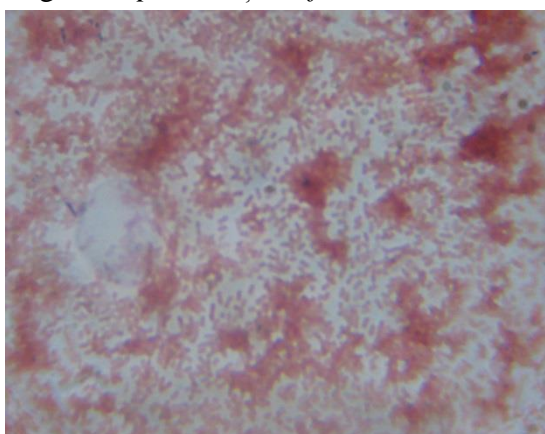


Fig. 9 Microfloră asociată de *Salmonella* și *E. coli*

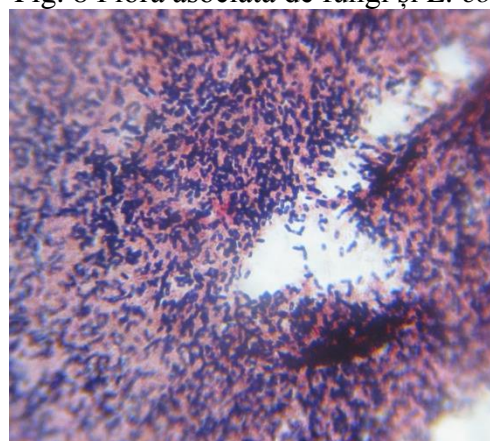


Fig. 10 Microfloră asociată de *Salmonella*, *E. coli* și fungi

CONCLUZII

1. Investigațiile bacteriologice au demonstrat prezența unei asocieri diverse de microorganisme condiționat patogene la peste 80% din probele examinate, atât de pe suprafața ouălor cât și de pe suprafețele încăperilor comerciale destinate pentru vânzarea ouălor de consum, fiind constituită în special din *Streptococi*, *Stafilococi*, *E. coli*, *Salmonella* și fungi microscopici.

2. Izolarea coloniilor de *Salmonella* și *E. coli* de pe suprafața ouălor denotă faptul prezenței riscului de apariție a toxiinfecțiilor alimentare la consumatori și impune o monitorizare minuțioasă a întregului lanț de producere și comercializare a ouălor de pasăre în vederea stabilirii punctelor critice de contaminare a ouălor cu microorganisme patogene.

BIBLIOGRAFIE

1. Arnold M.E., Martelli F., McLaren I., Davies R.H. Estimation of the rate of egg contamination from Salmonella-infected chickens. *Zoonosis. Public Health.* 2014, 61(1):18-27.
2. Durul B., Acar S., Bulut E., Kyere E.O., Soyer Y. Subtyping of Salmonella Food Isolates Suggests the Geographic Clustering of Serotype Telaviv. *Foodborne Pathog. Dis.*, 2015, 12, p. 958–965.
3. Keerthirathne T.P., Ross K., Fallowfield H., Whiley H. A Review of temperature, pH, and other factors that influence the survival of Salmonella in mayonnaise and other raw egg products. *J. Food Prot.* 2012, 75(3):465-71.
4. Kottwitz L.B., Leão J.A, Back A., Rodrigues Ddos P, Magnani M, de Oliveira T.C. Commercially laid eggs vs. discarded hatching eggs: contamination by Salmonella spp. *Braz J. Microbiol.* 2013; 44(2):367-70.
5. Mouttotou N., Ahmad S., Kamran Z., Koutoulis K.C.. Prevalence, Risks and Antibiotic Resistance of Salmonella in Poultry Production Chain. In. Tech; Rijeka, Croatia. 2017, p. 215–234.
6. Zhu J.1, Li J., Chen J. Survival of Salmonella in home-style mayonnaise and acid solutions as affected by acidulate type and preservatives. *Pathogens.* 2016, 18;5(4).