بررسی آلودگی اندام های مختلف طیور کشتار شده در استان آذربایجان غربی به باکتری *سالمونلا*

احد قاسمی[1]، مسلم نیریز نقدهی[2]

۱. دانشجوی دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

۲. بخش بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

***نویسنده مسئول:** *ahad.gasemi@gmail.com*

چکیده

امروزه صنعت طیور نقش بسیار مهمی در تأمین پروتئین مورد نیاز بشر ایفا می‌کند.یکی از عواملی که سلامت فرآورده‌های غذایی طیور را به مخاطره می‌اندازد، باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه به ویژه سالمونلا می‌باشد. سالمونلا منبع مهم آلودگی غذاهای انسانی و عامل بیماری زا در انسان‌ها است. هدف از این تحقیق بررسی مقایسه‌ای آلودگی به باکتری سالمونلا در اندام‌های مختلف قلب، کبد، سنگدان، چربی اطراف کلواک به روش کشت باکتریایی در طیور کشتارشده در استان آذربایجان غربی می‌باشد.با این هدف با مراجعه به ۱۲ کشتارگاه استان آذربایجان غربی، از چهار قسمت قلب، کبد، سنگدان و چربی اطراف کلواک طیور کشتاری در شرایط استریل نمونه‌گیری بعمل آمد و در محیط کشت غنی کننده سلنیت F براث تلقیح شد پس از ٢٤ ساعت انکوباسیون و غنی‌سازی به محیط‌های کشت مکانکی آگار، (سالمونلا شیگلا آگار) و XLD که محیط کشت انتخابی هستند برده شد. از مجموع ۱۷۲۸ نمونه که از هر قسمت ٤٣٢ نمونه‌گیری شد ٣٦٠ نمونه آلوده به سالمونلا بود که شامل ۱۹۸ مورد از چربی اطراف کلواک، ۳۸ مورد قلب، ۵۳ مورد کبد و ۷۱ مورد سنگدان جداسازی گردید. باتوجه به گستردگی منابع آلودگی با سالمونلا لازم است به منظور کنترل این باکتری بیماری‌زا آزمایش‌های باکتری شناسی و سرولوژیک از کشتارگاه‌ها و افراد شاغل در صنعت طیور به عمل آورده شود.

کلمات کلیدی: انتروباکتریاسه، سالمونلا ، کشت

مقدمه

باکتری سالمونلا متعلق به خانواده آنتروباکتریاسه بوده و اکثرا سروتیپ‌های آن پاتوژن‌های بالقوه برای انسان و بسیاری از حیوانات می‌باشند. بیش از ٢٤٥٠ سروتیپ سالمونلا شناسایی شده‌اند که تنها ۱۰درصد از این سروتیپ‌ها از طیور جداسازی گردیدند که در بین آن‌ها (S.typhimurium) و (S.entritidis) مهم‌ترین و متداول-ترین آنها می‌باشند.در سال ۱۹۸۰ شیوع (S.hadar) در طیور به اوج رسید،ولی بعد از چند سال فراوانی آن کاهش یافت. اما به نظر می‌رسد که اهمیت آن در سال‌های اخیر در طیور رو به افزایش است. در طی سال های ١٩٦٨-١٩٧٤ میزان شیوع (S.typhimurium) و (S.senfetenberg) در طیور افزایش یافت. در سال‌های اخیر شیوع فاز تیپ چهار سالمونلا انتریتیدیس در طیور مشکلات زیادی را در کشورهای اروپای مرکزی و غربی به وجود آورده است (Zahraei Salehi, 1999) به نظر می‌رسد که در طیور چرخش بین سروتیپ‌های مختلف وجود دارد و در دوران

خاصی سروتیپی جایگزین سروتیپ دیگر می‌شود (Bilvert et al., 1997).به‌طور کلی طیور و فرآورده‌های آن به عنوان منبع اصلی عفونت‌های سالمونلا در انسان می‌باشد. سروتیپ تیفی موریوم و انتریتیدیس متداول‌ترین سروتیپ‌های مرتبط با مقاومت نسبت به سفالوسپورین‌ها می‌باشند. جداسازی آنها از دام و طیور به عنوان منبع اولیه غذا، نشان می‌دهد که عفونت انسان بیشتر از این طریق است ((Alert et al., 2006. بنابراین کنترل عفونت‌های سالمونلا برای سلامت طیور و صنایع تبدیلی غذا اهمیت دارد و معیارهای مؤثر کنترل و پیشگیری برای کاهش آلودگی سالمونلا در طیور باید در مزارع طیور آغاز گردد. این کنترل نیاز به روش‌های تشخیصی سریع و مطمئن دارد. روش‌های مختلفی برای شناسایی سالمونلا در کنار روش‌های کشت قراردادی وجود دارد که بطور مستقیم روی نمونه اخذ شده اجرا می‌گردد. روش‌های کشت قراردادی برای جستجوی سالمونلا معمولاً چهار مرحله دارد: پیش غنی‌سازی، غنی‌سازی انتخابی، استفاده از محیط‌های انتخابی و تأیید با روش‌های سرولوژیکی و بیوشیمیایی (Kingston, 1981).در مطالعه انجام شده توسط McGibbon و همکاران دو محیط کشت Rappaport Vassiliadis (RV) حاوی تریپتون و RV حاوی Soyapeptone برای جداسازی سالمونلا از کبد مرغان آلوده مورد مقایسه قرار گرفت، و نشان داده شد که محیط دوم اندکی بهتر می‌باشد، ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود (McGibbon et al., 1984) . در مطالعه دیگر چهار محیط غنی‌سازی برای جداسازی سالمونلا از محصولات آلوده طیور مورد استفاده قرار گرفت که در بین این محیط‌ها،RV و Kiman بسیار مؤثرتر از دو محیط Selenite-cystine و Muller-Kauffmann tetrathionate گزارش شد (Guerin et al., 2005).از سوی دیگر برای شناسایی و تأیید سالمونلا روش‌های مولکولی مثل PCR نیز بسیار مورد استفاده قرار گرفته است. Gooding and Choudary در سال ۱۹۹۹ پنج جفت پرایمر مختلف را بر اساس جستجوی ۵ ژن برای تشخیص جنس سالمونلا مورد ارزیابی قرار دادند که جفت پرایمر مربوط به Repeat sequence با محصول ۱۹۹ جفت باز برای تشخیص اکثر سویه‌های سالمونلا مناسب‌تر از بقیه تشخیص داده شد (Gooding and Choudary, 1999) از روش‌های مولکولی برای شناسایی گونه سالمونلا نیز استفاده می‌شود. Soumet و همکاران از روش Multiplex PCR برای شناسایی گونه‌های انتریتیدیس و تیفی موریوم از سواپ‌های نمونه‌برداری شده از مزارع طیور استفاده کردند.این روش از حساسیت بیشتری نسبت به روش باکتریولوژیک برخوردار می‌باشد (Soumet, et al., 1999) . در مطالعه ترکاو و آوگوستین روش PCR بر اساس ۱٦ S RNA ریبوزومی برای جستجوی اختصاصی S. enterica مورد استفاده قرار گرفت که نتیجه آن موفقیت‌آمیز بود (Trkov and Avgustin, 2003). هدف از این مطالعه تحقیق بررسی مقایسه‌ای آلودگی به باکتری سالمونلا در اندام‌های مختلف قلب، کبد، سنگدان، چربی اطراف کلواک به روش کشت باکتریایی در طیور کشتاری کشتارگاه‌های صنعتی استان آذربایجان غربی می‌باشد.

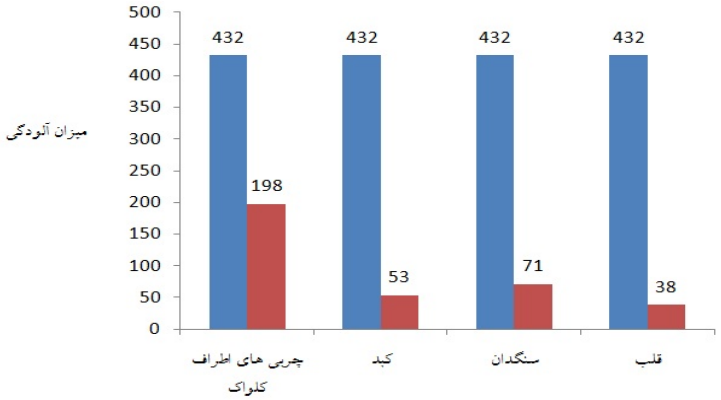
مواد و روش کار

پژوهش حاضر در سه ماهه اول سال ۱۳۹۰ با مراجعه به ۱۲ کشتارگاه استان آذربایجان غربی عمل نمونه‌برداری از چهـار

قسمت قلب، کبد، سنگدان و چربی‌های اطراف کلواک طیور کشتار شده انجام گرفت. همه نمونه‌ها پس از اخذ در ظروف پلاستیکی استریل به آزمایشگاه باکتری‌شناسی دانشگاه منتقل شدند. در ابتدا همه نمونه‌ها در محیط کشت آبگوشت سلنیت F براث که محیط کشت اولیه و غنی‌کننده برای رشد سالمونلا می‌باشد کشت داده شد. پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون و غنی‌سازی، نمونه‌ها به محیط کشت انتخابی برای سالمونلا که عبارتند از محیط کشت مکانکی آگار، بلاد آگار و SS آگار یا سالمونلا شیگلا آگار منتقل شد. پس از ۲٤ ساعت انکوبه کردن و غنی‌سازی به مشاهده محیط‌های کشت پرداخته شد. در مشاهده محیط‌های کشت، کلنی‌های بی‌رنگ یا تقریباً سفید رنگ با مرکزی تیره و سیاه رنگ به عنوان سالمونلا تشخیص داده شد. برای تائید، کلنی‌های مشکوک به محیط کشت افتراقی اوره و TSI (تریپر شوگر آیرون آگار) انتقال داده شد. نمونه‌هایی که در این دو محیط کشت افتراقی دارای مشخصات اوره منفی (-)، SH_2 مثبت(+) و لاکتوز منفی(-) و گلوکز مثبت (+) بودند نمونه‌های آلوده تلقی شدند و بقیه نمونه‌ها عاری از هر گونه آلودگی بودند که در این بررسی ۳٦۰ نمونه آلوده به سالمونلا (اوره منفی، SH_2 مثبت، لاکتوز منفی و گلوکز مثبت) جداسازی شد.

نتایج

تعداد ۱۷۲۸ نمونه در طول این ۳ ماه از چهار قسمت قلب، کبد، سنگدان، چربی‌های اطراف کلواک اخذ شد. کل نمونه-ها قبل از مرحله سرد کردن اخذ گردید که از مجموع ۱۷۲۸ نمونه (که از هر قسمت شامل ٤۳۲ نمونه برداشته شد) ۳٦۰ نمونه‌ی آلوده به باکتری سالمونلا جداسازی گردید. از مجموع ۳٦۰ نمونه سالمونلایی(۲۰.۸۳درصد)، ۱۹۸ مورد (۵۵درصد) از چربی اطراف کلواک، ۳۸ مورد (۱۰.۵۵درصد) از قلب، ۵۳ مورد (۱٤.۷۲درصد) از کبد و ۷۱ مورد (۱۹.۷۳درصد) از سنگدان جداسازی گردید (نمودار ۱).



نمودار۱- میزان آلودگی اندام های طیور کشتار شده در استان آذربایجان غربی به باکتری سالمونلا به تفکیک اندام

بحث

لزوم سالم بودن غذاهایی با منشأ دامی از نظر میکروبیولوژی موضوعی است که اخیراً تبلیغات زیادی در مورد آن صورت گرفته است که این امر منجر به بروز نگرانی زیادی در مورد سلامتی غذاهای با منشأ دامی به ویژه طیور گردیده است. بیماری‌های مشترک (زئونوز) سالمونلوز را هم شامل می شود، طیور نیز یک منبع پروتئین اقتصادی و با کیفیت بالاست که مصرف آن در جوامع کنونی رو به افزایش است. تاکنون بیش از ۲۵۰۰ سروتیپ سالمونلا شناخته شده است و طیور اصلی‌ترین مخزن سالمونلاها را در طبیعت تشکیل می‌دهند که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته است. طبق این بررسی و بررسی‌های سایرین می‌توان گفت که آلودگی گوشت طیور به سالمونلا تقریباً اجتناب ناپذیر است و اغلب مرغ‌های کشتار شده اعم از تازه یا منجمد کم و زیاد به سالمونلا آلوده می‌باشند (Hadian Rasnani et al., 1997). در صورتی‌که اصول بهداشتی و مدیریتی صحیح در محیط فارم طیور رعایت شود از آلودگی تخم مرغ به میزان زیادی کاسته خواهد شد. با توجه به اینکه باکتری سالمونلا فلور طبیعی دستگاه گوارش اکثر حیوانات می‌باشد لذا جدا سازی باکتری از چربی‌های اطراف مقعد و مدفوع دال بر آلودگی زیاد نمی‌باشد ولی با توجه به آلودگی اعضای دیگر مانند سنگدان، قلب و کبد می‌توان منشأ آلودگی را سایر عوامل مؤثر مانند آلودگی پرسنل کشتارگاه یا دستگاه‌های موجود در کشتارگاه دانست که جهت رفع این مشکل می-توان آزمایشگاه‌های باکتری‌شناسی و سرولوژیک از کشتارگاه‌ها و افراد شاغل در صنعت طیور به‌عمل آورد. همچنین می‌توان از مواد ضد عفونی کننده در حین کشتار، بعد از کشتار و استریل نمودن محیط کشتارگاه استفاده نمود. طی مطالعات انجام گرفته در سال ۱۳۷٦ میزان آلودگی به باکتری سالمونلا در لاشه‌های مرغ قبل از سرد کردند ۵۷/۵ درصد و بعد از سرد کردن ۷۰ درصد گزارش شده است (Hadian Rasnani et al., 1997). طبق مطالعات انجام گرفته در سال ۱۳۸٦ بر روی میزان شیوع آلودگی میکروبی گوشت‌های قرمز و مرغ بسته‌بندی و غیر بسته‌بندی در خرده‌فروشی‌ها و فروشگاه‌های زنجیره‌ای جنوب تهران میزان آلودگی به سالمونلا را در گوشت مرغ ۱۷/۸۱ درصد گزارش نموده است (Sooltan Daalal, et al., 2006) . Roy و همکاران(۲۰۰۲) از حدود ٤۷٤۵ نمونه، ۵٦۹ نمونه آلوده به سالمونلا جدا کردند و شیوع سالمونلوز ناشی از مصرف مرغ‌های آلوده را در شمال غربی اقیانوسیه ۱۱/۱۹درصد اعلام کردند که در ۵/۱۵ درصد موارد عامل ایجاد سالمونلوز، سالمونلا انتریتیدیس بیان شد (Roy et al., 2002) و همکاران در سال ۱۹۸۹ نمونه‌های آلوده به باکتری سالمونلا را از بستر در مزارع مرغ اروپا جدا کردند (Cowden et al., 1989) . در سال ۱۹۹٦ آلودگی مزارع مرغ را به باکتری سالمونلا ۱۱/۷ درصد گزارش شده است که بیشترین گونه جدا شده سالمونلا انتریتیدیس بود (Davis & Wray, 1996). نتایج نشان می‌دهد با توجه به اینکه استان آذربایجان غربی یکی از قطب‌های صادرات بزرگ فراورده‌های دامی و طیور در کشور می‌باشد، لذا باید از شیوع باکتری سالمونلا و دیگر باکتری‌های بیماری‌زا دسته انتروباکتریاسه جلوگیری نموده و کنترل شیوع بیماری به منظور پیشگیری از ابتلا و ایجاد خسارات ناشی از آن در

فرآورده‌های دامی و طیور منطقه ضروری می‌باشد. با توجه به نتایج حاصله از این تحقیق و مقایسه آن با گزارشات سایر محققین میزان شیوع باکتری سالمونلا در گله‌های کشتاری استان رقم قابل توجهی می‌باشد و توجه هرچه بیشتر دامپزشکان و مدیریت کشتارگاه‌ها را نسبت به برطرف نمودن عوامل زمینه ساز اصلی می‌طلبد.

References

1. Alert, G., Barrett, T., Butaye, P., Cloeckaert, A., Mulvey, M., and Withe, D. 2006. Salmonella resistant to extended- spectrum Cephalosporon: Prevalence and epidemiology. Microb. Infect. 32: 14-17.
2. Bilvert, D., Salvat, G., Humbert, F., and Colin, P. 1997. Evaluation Of A new enrichment broth for the isolation of Salmonella spp. From poultry products. Int. J. Food Microbiol 216: 38-211.
3. Cowden, J., Lynch, D., Joseph, C., Mawar, S., and Rower, B. 1989. Case-Control study of infection with Salmonella entritidis phage type 4 in England. B. M. J. 121: 114-117.
4. Davis, R., and Wray, C. 1996. Mice and carriers of Salmonella in persistently infected poulty units. Vet. Rec. 22: 18-22.
5. Gooding, C., and Choudary, P. 1999. Comparison of different primers for rapid detection of salmonella using the polymerase chain reaction. Mol. Cell. Probes. 32: 18.
6. Guerin, M., Mavtin, S., and Darlington, G. 2005. Temporal study of salmonella serovars in animal in Alberta between 1990-2002. Can. J. Vet. Res.
7. Hadian Rasnani, Z., Oghabi, F., and Valayi, N. 1997. Prevalence of Salmonella contamination of poultry carcasses in the slaughter house industry and its impact on the amount of cold immersion, Faiz, 4 .
8. McGibbon, L., Quail, E., and Fricker, C. 1984. Isolation of Salmonella using two forms of Rappaport- Vassiliadis medium and brilliant green agar. Int. J. Food Microbiol. 12: 32-35.
9. Soumet, C., Ermel, G., Rose, N., Rose, V., Drouin, P., and Salvat, G. 1999. Evaluation of a multiplex PCR assay for simultaneous identification of *Salmonella* sp., *Salmonella entritidis* and *Salmonella typhimurium* from environmental swabs of poultry houses Lett. Appl. Microbiol. 51: 12-15.
10. Trkov, M., and Avgustin, G. 2003. An improved 16s rRNA based PCR methood for the specific detection of Salmonella Entrica. Int. J. Food Microbiol. 18: 19-23.
11. Zahraei Salehi, T. 1999. Salmonella (1st ed.). Iran: Tehran University Press.