✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۳۹، تابستان ۱۳۷۷

بررسی میزان آلودگی سالمونلائی طیور گوشتی ذبح شده در کشتارگاههای شیراز و تعیین سروتیپ آنها

● **عبداله حسین‌خان ناظر**، استادگروه بهداشت و کنترل مواد غذائی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز
● **رویا فیروزی**، استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز
● **کوکب ابراهیمی‌مطلق**، دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز
تاریخ دریافت: اردیبهشت ۷۷

چکیده
بر روی ۲۵۰ لاشه مرغ ذبح شده در کشتارگاههای مختلف شهر شیراز، آزمایش باکتریولوژیکی برای جداسازی سالمونلا انجام شد. نه قسمت هر لاشه برای این منظور انتخاب گردید که عبارتند از: سطح خارجی و داخلی لاشه، محتویات سکوم، روده، چینه‌دان، کیسه‌صفرا، کبد، کلیه و طحال. بنابراین جمعاً بر روی ۲۲۵۰ نمونه، آزمایشات باکتریولوژیک انجام گرفت. از ۲۵۰ لاشه مورد آزمایش، ۲۱ لاشه (۸/۴٪) حداقل یک نمونه و حداکثر سه نمونه آلوده به سالمونلا بودند. از ۲۲۵۰ نمونه مورد آزمایش ۲۷ نمونه (۱/۲٪) باکتری سالمونلا جدا شد که سکوم حداکثر میزان آلودگی (۲/۸٪) را نشان داد. در نتایج حاصله از تیپ‌کردن سالمونلاهای جدا شده، بالاترین میزان آلودگی ناشی از سروتیپ انتریتیدیس (۴۲/۸٪) گزارش شد و پس از آن سروتیپهای تیفی‌موریوم (۲۸/۵٪)، موان چن (۱۹٪) و بیرکن‌هد (۹/۵٪) به ترتیب بیشترین میزان آلودگی را داشتند.

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 39, PP: 98-100

Isolation and identifications of salmonellae serotypes from broilers slaughtered in Shiraz slaughterehouse

By: Nazer A.H.K., Firuzy R. and Ebrahimi Mollagh, K. school of veterinary medicine, Shiraz university.

Bacteriological examination was carried out on 250 broiler samples slaughtered in slaughterehouse of Shiraz. Nine sites were examined from each carcass including: external & internal surfaces of carcasses, ceacum contents, intestinal contents, corp contents, gall bladder, liver tissue, kidney tissue and spleen. 2250 samples were considered for bacteriological examination. Out of 250 carcasses cultured, 21 (8.4 percent) were contaminated on one or more sites with salmonella. Salmonellae were isolated from 27 (1.2 percent) out of 2250 samples examined. The highest isolation rate was from ceacal contents (2.8 percent) and least isolation rate was from gall bladder (zero). Serotyping of salmonellae isolates showed that the highest contamination rate was due to *S. enteritidis* (42.8 percent), then *S. typhimorium* (28.5 percent), *S. muenchen* (19 percent) and *S. birkenhead* (9.5 percent), respectively.

مقدمه

گوشت طیور منبع بسیار غنی از مواد غذائی می‌باشد و به همین جهت محیط مناسبی برای رشد و تکثیر باکتریهای مختلفی است که می‌توانند در انسان باعث بروز عفونت یا مسمومیت‌زائی (Intoxication) شوند. مسمومیت‌های غذائی ناشی از مصرف گوشت طیور علاوه بر ایجاد هزینه‌های هنگفت درمانی موجب بروز تلفات در انسان نیز می‌گردند. گزارشات موجود حاکی از این واقعیت است که در میان عوامل مولد مسمومیت‌های غذائی، سالمونلاها به علت گستردگی میزبان، تعداد سروتیپ‌ها و وجود ناقلین طبیعی از همه شایع‌تر بوده و سالانه موجب بروز ضررهای اقتصادی فراوان و تلفات انسانی می‌گردند (۹ و ۱۳).

عفونت سالمونلائی در حیوانات اهلی سلامت صنایع غذائی و بهداشت عمومی را به خطر می‌اندازد و به عنوان یک بیماری مهم عفونی مشترک بین انسان و دام، تشخیص و درمان آن حائز اهمیت می‌باشد. توزیع سروتیپ‌های سالمونلا از یک منطقه جغرافیائی با منطقه دیگر متفاوت است ولی *S. typhimorium* در دنیا گسترده است (۱۲). از این نظر که اکثریت سالمونلاها برای انسان و دام شدیداً بیماری‌زا هستند بنابراین یک جنبه مهم اپیدمیولوژیکی سالمونلا احتمال بروز عفونت‌های انسانی است که از منابع دامی منشأ گرفته است (۵)، لذا تعیین سروتیپ‌های سالمونلا از نظر بررسیهای اپیدمیولوژیکی حائز اهمیت است.

هدف از تحقیق حاضر بررسی میزان آلودگی سالمونلائی طیور گوشتی ذبح شده و تعیین سروتیپ آنها در سطح شهر شیراز می‌باشد تا وضعیت آلودگی در منطقه و نیز توزیع سروتیپ‌های سالمونلا مشخص گردد.

مواد و روشها

الف - محیط‌های کشت

در این بررسی از محیط‌های مغذی و اختصاصی جهت جداسازی سالمونلا مانند محیط آبگوشت سلنیت F، محیط آگار سبز درخشان، محیط آگار مک کانکی استفاده گردید. همچنین جهت تشخیص قطعی باکتری سالمونلا از محیط‌های افتراقی متعددی مانند محیط آگار سیترات، محیط آبگوشت لیزین، محیط آبگوشت مانیتول، محیط حرکت، محیط اوره، محیط آگار سه قندی آهن‌دار، محیط متیل‌رد - وژپروسکور، محیط اندول و نیز معرف کوواکس استفاده به عمل آمد.

ب - جمع‌آوری نمونه‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها طی چندین مرحله مراجعه به کشتارگاههای مختلف شهر شیراز انجام گرفت و در هر نوبت به طور تصادفی ۲۰ لاشه مرغ از خط کشتار بعد از پرکنی و قبل از تخلیه امعاء و احشاء انتخاب می‌گردید و در مجموع ۲۵۰ لاشه مرغ مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌گیری از ۹ قسمت مختلف از هر لاشه مرغ شامل سطوح داخلی و خارجی لاشه، محتویات سکوم وروده، محتویات چینه‌دان، محتویات کیسه صفرا و قطعاتی از کبد، طحال و کلیه انجام گرفت. نمونه‌برداری از سطح خارجی و داخلی لاشه با استفاده از سواپ استریل انجام می‌گرفت و سواپ به داخل شیشه‌های درب‌دار محتوی ۱۰ سی‌سی از محیط سلنیت F وارد می‌شد. از قسمتهای عمقی بافت کلیه، کبد و طحال بعد از سوزاندن سطح بافتها قطعه کوچکی جدا نموده و در شیشه حاوی سلنیت F انداخته می‌شد.

ج - روش کشت و جداسازی

شیشه‌های حاوی سلنیت F به مدت ۲۴ ساعت در

گرمخانه ۳۷ درجه‌سانتیگراد قرار داده می‌شدند سپس توسط لوپ از نمونه‌های مذکور در محیط‌های جامد آگار سبز درخشان کشت داده می‌شد و مجدداً به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه قرار می‌گرفت. از محیطهائی که پس از گذشت زمان انکوباسیون در اثر رشد باکتری برنگ ارغوانی درآمده بودند جهت کشت مجدد در محیط آگار مک کانکی استفاده می‌شد و پس از کشت کلنی مورد نظر محیطها به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری می‌شد. برای تشخیص تفریقی بین سالمونلا و دیگر اعضاء خانواده انتروباکتریاسه که قادر به تخمیر قندلاکتوز نبوده‌اند از واکنش‌های بیوشیمیائی مختلف مثل MRVP، اوره، TSI، لیزین و تخمیر قند مانیتول استفاده گردید و نمونه‌هائی که نتایج بیوشیمیائی آنها به شرح ذیل بود بعنوان سالمونلا شناسایی می‌شد (۱۳):

واکنشهای بیوشیمیائی	نتیجه
ایندول	-
متیل‌رد	+
وژپروسکور	-
سیترات	+
لیزین	+
اوره	-
مانیتول	+
تی‌اس آی	قلیا
اسید،گاز مثبت،	H2S مثبت

د- تعیین سروتیپهای سالمونلا

بعد از شناخت قطعی از باکتری مورد نظر، سالمونلاهای جدا شده برای تعیین سروتیپ تحت آزمایش آگلوتیناسیون سریع بر روی لام با استفاده از آنتی‌سرمهای H و O قرار گرفتند. کلیه آزمایشهای سریع بر روی لام بوسیله آزمایش آگلوتیناسیون در لوله نیز تائید شدند (۳). سروتیپ‌های سالمونلا براساس جدول کافمن - وایت مشخص گردیدند (۶).

نتایج

در بررسی حاضر از ۲۵۰ لاشه ذبح شده در کشتارگاههای مختلف شهر شیراز در مجموع ۲۲۵۰ نمونه از ۹ قسمت مختلف هر لاشه نمونه‌برداری شد. از این تعداد نمونه ۲۷ مورد (۱/۲ درصد) باکتری سالمونلا جدا گردید. براساس جدول شماره ۱ بیشترین موارد آلودگی سالمونلائی مربوط به سکوم با ۲/۸ درصد آلودگی و پس از آن ۵ مورد (۲ درصد) آلودگی مربوط به سطح خارجی لاشه و ۴ مورد (۱/۶ درصد) آلودگی مربوط به سطح داخلی لاشه بود. از نمونه‌های اخذ شده از کیسه صفرا هیچ مورد آلودگی سالمونلائی جدا نگردید. نتایج حاصل از تعیین تیپ سالمونلاهای جدا شده از نمونه‌های تحت مطالعه نشان می‌دهد که در مجموع چهار سروتیپ متفاوت سالمونلا از لاشه‌های آلوده جدا شده است (جدول ۲). جدول ۳ درصد سروتیپهای مختلف جدا شده از لاشه‌های مورد بررسی را نشان می‌دهد. بر این اساس *S. entritidis* با ۴۲/۸٪ آلودگی، *S. typhimorium* با ۲۸/۵٪ آلودگی، *S. muenchen* با ۱۹٪ آلودگی و *S. birkenhead* با ۹/۵٪ آلودگی حائز اهمیت می‌باشند.

جدول شماره ۱- درصد سالمونلاهای جداشده از اندامهای مختلف نمونه گیری شده از ۲۵۰ لاشه مرغ ذبح شده در کشتارگاههای شهر شیراز

اندام	تعداد نمونه	تعداد مثبت	درصد
خارج لاشه	۲۵۰	۵	۲/۰۰
داخل لاشه	۲۵۰	۴	۱/۶
سکوم	۲۵۰	۷	۲/۸
روده	۲۵۰	۲	۰/۸
چینه‌دان	۲۵۰	۳	۱/۲
کیسه صفرا	۲۵۰	-	-
کبد	۲۵۰	۱	۰/۴
کلیه	۲۵۰	۲	۰/۸
طحال	۲۵۰	۳	۱/۲
مجموع	۲۲۵۰	۲۷	۱/۲

جدول شماره ۲- سروتیپ سالمونلاهای جدا شده از اندامهای مختلف نمونه گیری شده لاشه مرغهای ذبح شده در کشتارگاههای مختلف شهر شیراز

ردیف	شماره لاشه	اندام	نوع سالمونلای جدا شده	گروه پادگنی
۱	۸	خارج لاشه	تیفی موریوم	B1
۲	۱۳	طحال	تیفی موریوم	B1
۳	۲۹	چینه‌دان	تیفی موریوم	B1
۴	۳۹	طحال	بیرکن هد	C1
۵	۵۰	سکوم	تیفی موریوم	B1
۶	۶۷	سکوم	انتریتیدیس	D1
۷	۷۱	روده	انتریتیدیس	D1
۸	۸۵	طحال	موان چن	C2
۹	۹۳	خارج لاشه	بیرکن هد	C1
۱۰	۱۳۲	خارج لاشه	موان چن	C2
۱۱		داخل لاشه	مواد چن	C2
۱۲		کلیه	موان چن	C2
۱۳	۱۳۵	داخل لاشه	انتریتیدیس	D1
۱۴		کبد	انتریتیدیس	D1
۱۵	۱۴۱	کلیه	انتریتیدیس	D1
۱۶		داخل لاشه	انتریتیدیس	D1
۱۷		روده	انتریتیدیس	D1
۱۸	۱۷۹	خارج لاشه	انتریتیدیس	D1
۱۹	۱۸۷	سکوم	موان چن	C2
۲۰	۱۹۲	سکوم	انتریتیدیس	D1
۲۱	۲۰۳	سکوم	تیفی موریوم	B1
۲۲	۲۱۰	چینه‌دان	انتریتیدیس	D1
۲۳	۲۱۶	چینه‌دان	انتریتیدیس	D1
۲۴	۲۱۸	داخل لاشه	انتریتیدیس	D1
۲۵		سکوم	انتریتیدیس	D1
۲۶	۲۳۹	خارج لاشه	تیفی موریوم	B1
۲۷	۲۴۳	سکوم	موان چن	C2

جدول شماره ۳- درصد سروتیپ‌های سالمونلاهای جدا شده از لاشه‌های مورد بررسی

ردیف	نوع سروتیپ	تعداد لاشه‌های مثبت	درصد لاشه‌های مثبت
۱	انتریتیدیس	۹	۴۲/۸
۲	تیفی موریوم	۶	۲۸/۵
۳	موان چن	۴	۱۹
۴	بیرکن‌هد	۲	۹/۵

بحث

براساس نتایج به دست آمده از این تحقیق بیشترین درصدسروتیپهای جدا شده از نمونه‌های تحت مطالعه *S. entritidis* و سپس *S. typhimorium* بوده‌اند (جدول شماره ۳). در تحقیقاتی که طی سالهای ۱۹۸۱ تا ۱۹۸۵ توسط Barrell - Rae انجام گرفته ارتباط میان سروتیپهای جدا شده از انسان و فرآورده‌های گوشتی بررسی شد و نتایج نشان داد که غالب

سروتیپهای جدا شده از انسان *S. typhimorium* و *S. entritidis* بودند. همچنین مشخص شد که ۲۸ درصد از سالمونلاهای جدا شده مربوط به گوشت طیور بوده است (۴). Rampling و همکاران در سال ۱۹۸۹ *S. entritidis* را به میزان ۵۸ درصد از جوجه‌های گوشتی تحت مطالعه جدا نمودند (۸). دشتی در سال ۱۳۶۳ میزان آلودگی لاشه‌های مرغ آماده بر عرضه در شهر شیراز به *S. typhimorium* را ۵/۶ درصد گزارش نمود (۲). مؤذنی جولا و همکاران در سال ۱۳۷۱ میزان آلودگی جوجه‌های به سن حداکثر یک هفته را برابر ۳۶ درصدگزارش نمودند (۱). همانطور که ملاحظه می‌شود میزان آلودگی سالمونلائی در جوجه‌های تحت مطالعه این محققین به مراتب بالاتر از مطالعه حاضر می‌باشد و دلیل آنرا می‌توان پاک شدن طیور از این ارگانیسم در اثر افزایش سن و مرور زمان بیان نمود. آنها همچنین سروتایپ‌های جدا شده از جوجه‌ها نظیر *S. enteritidis* را به میزان ۳۲/۲۲ درصد *S. typhimorium* را ۱۱/۱۱ درصد و *S. munchen* را ۹/۱۷ درصد به دست آوردند که با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر همخوانی دارد. در سال ۱۹۸۷ یک مورد جداسازی *S. munchen* توسط Nicklas در یک بررسی بر روی ۵ جوجه یک روزه گزارش گردید (۷).

در بررسی حاضر بیشترین موارد آلودگی سالمونلائی مربوط به سکوم با ۲/۸ درصد آلودگی بوده است (جدول شماره ۱). Shrif و همکاران در سال ۱۹۹۶ طی یک بررسی بر روی ۱۵۰ نمونه سکوم ۳۶ مورد (۲۴ درصد) سالمونلا جدا نمودند (۱۱). دشتی در سال ۱۳۶۳ میزان سکوم آلوده به *S. typhimorium* را ۰/۸ درصد گزارش نمود و احتمال حامل بودن طیور را به لوکالیزه شدن سالمونلا در یک کانون منتسب نمود (۶). سالمونلا در طی مراحل سیر خود در بدن ابتدا از اندامهای لنفاوی مثل طحال جایگزین می‌شود و سپس به تدریج از آن نواحی به سایر قسمتها نفوذ می‌کند و از آنجا بداخل لاشه گسترش می‌یابد. در این بررسی از ۴ مورد آلودگی سطح داخلی لاشه (۱/۶ درصد)، آلودگی در قسمتهای دیگر از جمله کبد، کلیه و سکوم هم وجود داشت. لوکالیزه شدن سالمونلا در نقاط مختلف بدن باعث آلودگی تمام لاشه در ضمن پرکنی، تخلیه احشاء و شستشوی لاشه می‌گردد و بدین ترتیب آلودگی می‌تواند از یک لاشه به لاشه‌های دیگر نیز منتقل شود و در صورت عدم پخت کافی و نگهداری در شرایط مناسب، باکتری در لاشه تکثیر و تزاید یافته و موجب مسمومیت غذائی می‌گردد. Zakarija و همکاران در سال ۱۹۸۸ در طی تحقیقاتی که بر روی گوشت طیور کشتار شده و آلوده به *S. typhimorium* انجام دادند مشخص نموده‌اند که باکتری قادر است حدود ۲۵۰ روز در حرارت ۴+ تا ۱۰- درجه سانتیگراد و حدود ۲۰۰ روز در حرارت ۲۵- درجه سانتیگراد زنده بماند. بنابر این آلودگی گوشت طیور به *S. typhimorium* پس از ذبح از نظر بهداشت عمومی حائز اهمیت است (۱۶).

براساس نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر آلودگی سطح خارجی لاشه با میزان ۲ درصد بعد از سکوم بیشترین موارد آلودگی را نشان می‌دهد (جدول شماره ۱). همچنین مشخص شده است که در ۴ مورد از ۵ مورد آلودگی تنها در سطح خارجی لاشه وجود داشته و با توجه به اینکه هیچگونه منبع عفونت سالمونلائی در داخل لاشه وجود نداشت لذا احتمال آلودگی ثانویه ناشی از تماس دست آلوده کارگر و یا تماس چاقوی آلوده با سطح خارجی لاشه وجود دارد. Valdes و همکاران در سال ۱۹۸۶ لاشه‌های طیور تازه کشتار شده در کشتار گاههای سنتی و صنعتی را از لحاظ آلودگی سالمونلائی مورد بررسی قرار دادند که در این رابطه ۳۳ درصد آلودگی در کشتارگاههای سنتی ۱۹/۵ درصد آلودگی در کشتارگاههای صنعتی را گزارش نمودند و لزوم مراقبت بیشتر بر چگونگی رعایت شرایط بهداشتی در کشتارگاهها جهت جلوگیری از آلودگی ثانوی لاشه طیور را متذکر شدند (۱۵).

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از شورای محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز و همچنین آقای دکتر یحیی تهمتن عضو شورای تحقیقات جهاد استان فارس تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

۱- مؤذنی جولا، غلامرضا، جلیل وندیوسفی، نسرین نوذری و شهره فرشاد ۱۳۷۳. شناسائی سروتیپهای سالمونلاهای شایع جوجه‌ها در شیراز، نشریه پژوهش و سازندگی شماره ۲۴، ص ۷۳-۷۱.

۲- دشتی رحمت آبادی، محمد حسین ۱۳۶۳، بررسی آلودگی سالمونلائی در طیور گوشتی مرغداریهای صنعتی شیراز و حومه و اهمیت آن از نظر بهداشت عمومی، پایان نامه برای دریافت دکترای دامپزشکی از دانشگاه شیراز. صفحه ۵۳-۴۸.

3- Baron E.J., Peterson L.R., Finegold S.M., 1994. Bailey and scott's diagnostic microbiology, 9th edition. Mosby yearbook, inc. PP: 383.

4- Barrell R.A.E., 1987. Isolation of salmonella from humans and foods in the manchester area: 1981-1985. Epidemiology and infection. 98: 277-287.

5- Buxton A., and Fraser G., 1977. Animal microbiology vol: 1. First edition. Oxford, Blackwell scientific publications. PP: 93-131.

6- Holt J.G., 1986. Bergey's manual of systemic bacteriology. Williams and Wilkins. Second edition PP: 427-446.

7- Nicklas W., 1987. Introduction of salmonella into a centralized laboratory animal facility by infected day old chicks. Laboratory animals. 21(2): 161-163.

8- Rampling A., Anderson J.R., Upson R., Peters E., Ward L.R., Rowe B., 1989. *Salmonella enteritidis* phage types infection of broiler chickens: A hazard to public health. Lancet. 19: 436-438.

9- Razi N., and Roohie P., 1971. Salmonella septicemia in new borne infants. Shiraz medical J. 2(2): 415-421.

10- Residbegovic E., Mulamekic N., Gagic A., Maslic Strizak D., Kavazovic A., Muhovic A., 1991. Prevalance and aetiology of salmonellosis on poultry farm in Bosnia and Hercegovina in the period 1988-1991. Veteinary Sarajevo. 40(1): 35-42.

11- Shrif L., Abdulaziz T., Sedik M.F., 1996. Prevalance of salmonella inbroiler ceca and carcasses in northern Jordan. Assiut veterinary medical journal 35: 76-81.

12- Timoney J.F., Gillespie J.H., Scott F.W., Barlough J.E., 1988. Hagan and bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. 8th ed. Constock pubishing associates, London. PP: 74-85.

13- Todde E., 1978. Food borne disease in six countries. A comparison. Journal food protection. 41: 559-565.

14- Quinn P.J., Carter M.E., Markey B. and Carter G.R., 1994., Clinical veterinary microbiology. Wolfe publishing. An inprint of Mosby. PP: 209-236.

15- Valdes Amey E., Rodrigues Mauriz C., Leyva castiollo V., Velazquez Gutierrez J., Fandion cossio N., 1986. Isolation of salmonella in fresh poultry slaughtered in Havana city. Revista cubana de higiene epidemiologia. 24(4): 475-480.

16- Zakarija D., Panjevic D., Dobric D., 1988. Persistance of *Salmonella typhimorium* in poultry meat under various environment conditions. Veterinarski glansnik. 42(4): 227-229.