میزان آلودگی جوجه‌های مرغداریهای صنعتی اهواز به سروتیپهای سالمونلا

● **عبدالرحمان پولادگر**، عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام خوزستان
● **جلیل وندیوسفی**، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات و سرم سازی رازی

✓ **پژوهش و سازندگی، شماره ۳۵، تابستان ۱۳۷۶**

چکیده

با توجه به اهمیت بیماری سالمونلوز در بهداشت عمومی و توجه به این نکته که همواره جوجه و مرغ به عنوان یکی از عوامل اصلی شیوع و انتقال بیماری در جامعه شناخته شده است و به منظور مشخص کردن میزان آلودگی و شناسایی سروتیپ‌های شایع سالمونلا در جوجه‌های مرغداریهای صنعتی اهواز مطالعه‌ای انجام گرفته است. برای انجام این مطالعه که از آبانماه ۱۳۷۲ به مدت ۱۵ ماه به طول انجامید از ۹۳ واحد مرغداری در مناطق مختلف اهواز ۴۹۳ نمونه از جوجه‌های گوشتی تهیه شد و به روش باکتریولوژیک بررسی و به روش سرولوژیک، تایپینگ و تأیید گردیدند. ۹۲ مورد میکروب سالمونلا متعلق به ۵ سروتیپ و چهار گروه پادگنی از ۲۳ واحد مرغداری جداسازی و تأیید شده است. سروتیپهای جداسازی شده شامل *S. enteritidis* از گروه پادگنی D_1 (۲۶/۸ درصد) *S. newport* از گروه پادگنی C_2 (۴۰ درصد)، *S. rostock* از گروه پادگنی D (۱۵ درصد)، *S. typhimorium* از گروه پادگنی B (۱۵ درصد) و *S. paratyphi*-B از گروه پادگنی B (۳/۲ درصد) که تماماً جزو سالمونلاهای متحرک هستند، بوده است. سروتیپهای غالب، *S. newport* و پس از آن *S. enteritidis* می‌باشد.

مقدمه

افزایش مصرف سرانه پروتئین حیوانی و افزایش و توسعه بی سابقهٔ مراکز پرورش و تولید طیور به عنوان یکی از منابع ارزشمند و باصرفه، در سالیان اخیر در کشورمان باعث شده که بیماریهای بسیاری ناشی از این توسعه و تراکم مجتمع‌های پرورش طیور در مناطق مختلف کشور شیوع پیدا کند. بویژه آلودگی‌های سالمونلایی که طیور اغلب به طور قابل ملاحظه‌ای حامل این نوع آلودگی برای انسان واقع می‌شوند (Gryles-۱۹۸۶ و Clarke-۱۹۹۱-Tauxe)، گستردگی میزبانها، تعداد سروتیپها و وجود حاملین طبیعی باعث شده که بیماری سالمونلوز از همهٔ بیماریهای میکروبی ناشی از مصرف مواد غذایی در انسان شایعتر بوده و طیور و فرآورده‌های آنها مهمترین منابع انتقال این بیماری و موجب مسمومیت غذایی در انسان باشند.

بیماریهایی که در اثر مصرف مواد غذایی آلوده با سالمونلا ایجاد می‌شوند نه تنها در کشورهای در حال توسعه بلکه حتی در کشورهای توسعه یافته نیز یک مشکل اساسی است و اهمیت زیادی دارند. این نوع بیماریها عموماً در نتیجه تغییر عادت غذایی، طریقهٔ عرضه کردن مواد غذایی، زمان تولید، ذخیره و توزیع مواد غذایی اتفاق می‌افتد و زیانهای اقتصادی فراوانی به سلامت عمومی جامعه و صنعت غذایی وارد می‌کند.

بنابراین شناسایی و کنترل سالمونلوز از نظر بهداشت عمومی اهمیت فراوان داشته و علیرغم همه اقدامات انجام شده در امور بهداشتی، هنوز سالمونلوز به عنوان یک معضل در صنعت مرغداری محسوب می‌گردد. در سال ۱۹۸۸ گزارش کمیته، سازمان بهداشت جهانی WHO که بر روی کنترل سالمونلوز مطالعه کرده‌اند، بر نقش بهداشت محصولات غذایی با منشأ دامی و مشکلاتی که در این زمینه وجود دارد تأکید کرده است.

همچنین سرویس آزمایشگاه بهداشت عمومی در سالهای ۱۹۸۸ و ۱۹۹۰ گزارش داده که سروتیپهای مختلف سالمونلا از عوامل مهم ایجاد کننده مسمومیت غذایی در انسان هستند.

در کشور ما نیز ارقام فزاینده تلفات در مرغداریها که گاهی تا ۸۰ درصد گله هم می‌رسد، علاوه بر خسارات هنگفت اقتصادی ناشی از هزینه دارویی، تلفات جوجه‌ها و مرغ‌ها، کاهش وزن جوجه‌ها، در نهایت آلودگی مواد غذایی و کمبود پروتئین را باعث گردیده و از طریق انتقال آلودگی، گسترش بیماری و بروز مسمومیتهای غذایی در انسان صدمات جبران ناپذیری بر بهداشت تغذیه و سلامت جامعه وارد می‌کند.

مواد و روش کار

شهرستان اهواز و حومه - ۱۵۰ واحد مرغداری دارای پروانه بهره‌برداری و کد داشته که معمولاً ۱۱۰ واحد آنها فعال بوده و به طور متوسط ۸۰۰۰۰۰ تا یک میلیون جوجه گوشتی را در ماه پرورش می‌دهند.

برای شروع کار و انجام مطالعات ابتدا اطلاعات کلی از مرغداریهای موجود در سطح منطقه (اهواز و حومه) را جمع‌آوری کرده و با توجه به تعداد واحدها، ظرفیت و موقعیت جغرافیایی آنها تقسیم‌بندی شدند. پس از تهیه و تدوین فرمهای پرسشنامه و آزمایشگاهی برای هر واحد مرغداری یک پرونده جداگانه تشکیل و بتدریج عملیات نمونه‌برداری انجام می‌شد.

نمونه‌ها یا مستقیماً از مرغداری‌ها گرفته می‌شد و یا توسط مرغدار و براساس راهنمایی‌های ارائه شده به آنها، تهیه و به آزمایشگاه انتقال داده می‌شد.

در آزمایشگاه بلافاصله پس از انجام مقدمات و آماده‌سازی نمونه‌ها، از محتویات روده و کبد و کیسه زرده در محیط سلنیت - F که روز قبل تهیه شده و در شیشه‌های یونیورسال تقسیم شده بود، به عنوان محیط غنی‌کننده، کشت داده می‌شد. بدین ترتیب که ابتدا بوسیله کاردک داغ سطح کبد، روده و کیسهٔ زرده را سوزانیده و با استفاده از پی پت پاستور استریل و در جوار شعله نمونه در محیط سلنیت کشت داده می‌شد. تمام کشتها در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت یک شب قرار گرفته روز بعد، از کشتهای مایع سلنیت - F به میزان یک آنس (حدود ۰/۱ سی‌سی) بر روی محیط‌های آگاراس‌اس و مکانکی کشت خطی داده می‌شد.

محیط‌های کشت داده شده را به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری کرده و پس از رشد میکربها، کلنی‌های مشکوک که مشخصات گروه سالمونلا را داشتند، انتخاب می‌گردید.

بدین ترتیب که در محیط مکانکی کلنی‌های ریز، مدور و بیرنگ و شفاف (لاکتوز منفی) و در محیط اس‌اس کلنی‌های ریز، مدور و بیرنگ تا صورتی کمرنگ و نیمه شفاف گاهی با مرکز سیاهرنگ را انتخاب و مجدداً بر روی محیطهای آگاراس‌اس و مکانکی به صورت خطی کشت داده و در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده تا کشت خالص از یک کلنی به دست آید.

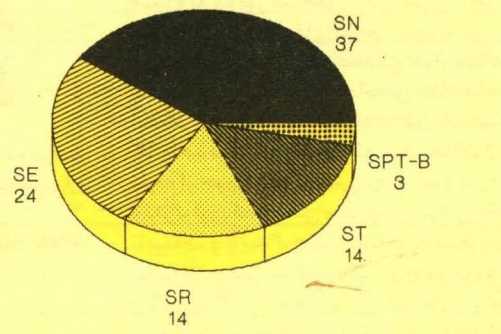
روز سوم از این کشت‌های خالص بوسیله آنس مستقیم در محیط TSI و SIM و دیگر محیطهای تفریقی و بیوشیمیایی مانند سیمون سیترات، اوره، MR-VP، لاکتوز، مالتوز، مانیتول، گلوکز، ساکاروز و D-گزیلوز کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه قرار داده می‌شد. روز بعد نمونه‌هایی که واکنش مندرج در جداول شماره ۱ و ۲ را نشان می‌دادند به عنوان سالمونلا انتخاب و جهت انجام آزمایشات تکمیلی و تأییدی، نگهداری شدند.

پس از جداسازی اولیه میکربها، نمونه‌ها جهت تأیید تشخیص و سروتایپینگ به بخش میکروبشناسی مؤسسهٔ حصارک ارسال و نتایج به صورت مکتوب دریافت گردید.

نتایج

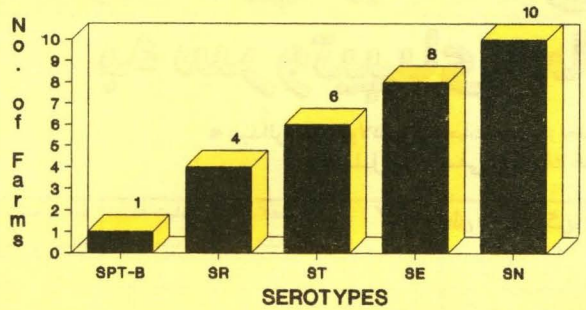
در این مطالعه که از یکم آبانماه ۱۳۷۲ و به مدت ۱۵ ماه انجام گرفته جمعاً از ۹۳ واحد مرغداری در مناطق مختلف اهواز ۴۹۳ مورد نمونه‌برداری شده که از ۲۳ واحد مرغداری از این تعداد ۹۲ میکرب متعلق به ۵

نمودار فراوانی سروتیپ‌های مختلف سالمونلا در واحدهای مرغداری اهواز و حومه(۷۳-۱۳۷۲)



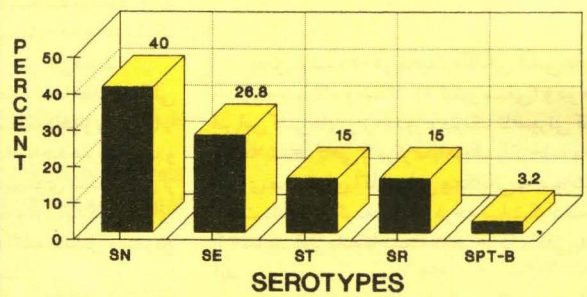
SN: Sal. newport SE: Sal. enteritidis
SR: Sal. rostock ST: Sal. typhimorium
SPT-B: Sal. para typhi-B

توزیع فراوانی سروتیپهای مرغداری‌های اهواز (۷۳-۱۳۷۲)



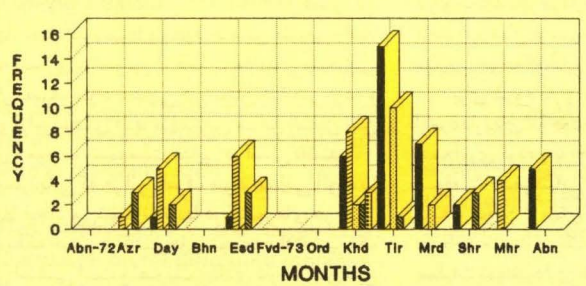
SN: Sal, newport SE: Sal. enteritidis
SR: Sal. rostock ST: Sal. typhimorium
SPT-B: Sal. para typhi-B

نسبت درصد سروتیپهای جدا شده به کل سروتیپها



SN: Sal. newport SR : Sal. rostock
SE: Sal.enteritidis ST: Sal.typhimorium
SPT-B: Sal.para typhi-B

فراوانی سروتیپ‌ها در ماههای مختلف در طول دوره مطالعه



سروتیپ مختلف خانواده سالمونلای جداسازی شده توسط بخش میکربشناسی مؤسسهٔ رازی حصارک تأیید گردیده است. سروتیپهای جداسازی و تأیید شده شامل:

۱- *S. enteritids* از گروه پادگنی D_1 (۲۴ مورد)
۲- *S. rostock* از گروه پادگنی D (۱۴ مورد)
۳- *S. newport* از گروه پادگنی C_2 (۳۷ مورد)
۴- *S. typhimorium* از گروه پادگنی B (۱۴ مورد)
۵- *S. paratyphi* B از گروه پادگنی B (۳ مورد) که تماماً جزو سالمونلاهای متحرک هستند، بوده است.

در استان خوزستان عموماً در فصول سرد و معتدل مرغداری رواج داشته و در فصول گرم به علت گرمای بیش از حد محیط و مشکل بودن کنترل دما در سالنها، جوجه‌ریزی کمتر انجام می‌شود.

علاوه بر سروتیپهای سالمونلا، میکروبهای دیگر نیز از نمونه‌های تهیه شده جداسازی گردیده که به تفکیک در جداول شماره ۵ مشخص گردیده است.

بحث

با توجه به نتایج به دست آمده میزان آلودگی در این مطالعه ۱۸/۶ درصد محاسبه گردیده و توسط ۵ سروتیپ مختلف سالمونلا در مرغداریهای اهواز و حومه ایجاد شده است.

این میزان آلودگی قابل توجه به سالمونلا نشانگر این است که برای آلودگی سالمونلایی، منابع بالقوه بسیاری وجود دارد و اکثریت گله‌های مرغ و مرغداریهای مختلف در معرض خطر آلودگی با سروتیپهای مختلف سالمونلا قرار دارند.

اگر چه مرغ و محصولات آن به عنوان منبع اصلی آلودگی‌های سالمونلایی معرفی شده و در بسیاری از منابع بر این نکته تأکید شده ولی با توجه به شدت و وسعت آلودگی باید اذعان داشت که اصولاً انتقال بیماری به جوجه‌ها و مرغها از طرق دیگر می‌تواند صورت گیرد. از جمله این عوامل می‌تواند ماشین جوجه‌کشی آلوده - آلودگی پوستهٔ تخم مرغ، آلودگی سالن پرورش مرغها، خوراک و آب آلوده، جوندگان (که به عنوان مخزن آلودگی عمل می‌کنند)، پرندگان آزاد (ناقلین مکانیکی)، کارگران مرغداریها و پرسنل شاغل در مرغداریها و

همچنین ویزیتورها، وسایل حمل و نقل طیور و محصولات آن و غیره صورت می‌گیرد. در این مطالعه سروتیپهای مختلف سالمونلا جداسازی گردیده که از بین آنها *S. newport* و *S. enteritids*، سروتیپهای غالب منطقه محسوب و عامل اصلی تلفات و آلودگی در جوجه‌های گوشتی بویژه در سنین اولیه پرورش تعیین گردیده‌اند.

لازم به ذکر است که برخی از نمونه‌ها به بیش از یک سروتیپ آلودگی داشته یعنی آلودگی کمپلکس و چندتایی در آنها وجود داشته است این موضوع نشان می‌دهد که ممکن است در یک مقطع زمانی بیش از یک نوع سروتیپ در ایجاد بیماری در یک مرغداری دخالت داشته باشد. *S. newport* با ۴۰ درصد فراوانترین سروتیپ جدا شده در این مطالعه بوده همچنین *S. enteritids* با ۲۶/۸ درصد، از فراوانی قابل توجهی برخوردار بوده است.

S. enteritids از پاتوژنهای مهم بوده که در طیور سبب ایجاد بیماری شده و از عوامل مهم ایجاد مسمومیت غذائی در انسان شناخته گردیده است.

در چند ساله اخیر در کانادا، آلودگی با *S. enteritids* در انسان افزایش یافته است. این افزایش آلودگی از ۴/۲ درصد در سال ۱۹۷۶ به ۹/۲ درصد در سال ۱۹۸۹ و به ۱۲/۵ درصد در سال ۱۹۹۱ رسیده است. *S. enteritids* به‌عنوان دومین عامل آلودگی پس از سروواریته‌های معمول دیگر از جمله *S. typhimorium* (۲۰/۳ درصد) محسوب می‌گردد. از مهمترین دلایل افزایش وقوع بیماری در کانادا، طیور و محصولات طیور بوده است. شروع آلودگی در جوجه‌ها در نتیجه آلودگی وسیع در گله‌های مرغ مادر گوشتی و تخمگذار است و متعاقب آن باعث انتشار آلودگی در مرغداریها و در نهایت سبب ایجاد آلودگی در انسان می‌شود.

در ایرلند شمالی نیز در طی یک دوره (۱۹۹۱-۱۹۷۹) مطالعه انجام گرفته، نشان داده شده که سروتیپهای غالب سالمونلا در طیور منطقه عبارتند از: *S. typhimurium* (۲۲٪)، *S. virshow* (۱۲/۶) و *S. enteritids* (۱۱/۷ درصد).

نقطه اوج بیماری بین سالهای ۸۷-۱۹۸۶ با افزایش وقوع آلودگی به وسیله *S. enteritids* و *S. typhimorium* بوده است.

در آرژانتین از سال ۱۹۸۶ تا شش ماهه اول سال ۱۹۹۳ تعداد ۱۵۰ مورد شیوع مسمومیت غذایی که بیش از شش هزار نفر را مبتلا کرده گزارش شده است. در این دوره *S. typhimorium* و *S. auraninburg* دو سرواریته غالب به عنوان شیوع این مسمومیت غذایی بوده‌اند (۱۹۸۲ Binsztein و همکاران) و این وضعیت در طول سالیان بعد هم باقیمانده است. منبع مهم آلودگی در این کشور مرغ بوده است. در انگلستان تا سال ۱۹۴۲ مهمترین سالمونلاهای مسمومیت‌زا عبارت بوده از *S. tompson*، *S. enteritidis*، *S. typhimorium*، *S. newport* و چند سالمونلای دیگر ولی به تدریج سالمونلاهای مسمومیت‌زای دیگر نیز جدا شده است. در حال حاضر بیشتر توجه معطوف به سروتیپهایی از سالمونلا از جمله *S. typhimorium* و *S. enteritids* است که از نظر بهداشت عمومی و انسانی اهمیت زیادی دارند. طی مطالعه‌ای که در عربستان صورت گرفته ۱۶ سروتیپ سالمونلا شناسایی شده که شش مورد آنها از بستر و خوراک به دست آمده است. از این تعداد ۵ سروتیپ، فراوانی بیشتری داشته و عبارتند از: *S. concord* (۱۷ درصد) *S. coelen* (۱۶ درصد) - *S. livingstone* (۱۵ درصد) - *S. manhatan* (۱۲ درصد) و *S. paratyphi* B واریته Java (۸/۷ درصد) (Avian disease 1983-27:3,616-622).

گزارشات متعدد دیگر از کشورهای خاورمیانه، آمریکا، اروپا و غیره تصدیق می‌کنند که در مرغ و محصولات طیور تأکید اصلی بر سالمونلوز و میکرب سالمونلا بویژه *S. enteritids* و *S. typhimorium* است.

چنانکه ملاحظه می‌شود تنوع سروتیپهای سالمونلای جداسازی شده در این مطالعه با نتایج بررسیها و گزارشاتی که توسط دیگر محققین از سایر نقاط جهان داده شده مشابهت و تطابق دارد. این نکته نشان می‌دهد که میزان آلودگی مرغداریها با توجه به افزایش مصرف سرانه گوشت مرغ تا چه اندازه می‌تواند در شیوع بیماری و مسمومیت در انسان دخیل باشد. چون جوجه‌های گوشتی در مزارع پرورشی به ندرت علایم بالینی ناشی از آلودگی با سالمونلا را در روزهای اول پرورش بروز می‌دهند. به همین دلیل احتمالاً به عنوان منبع اصلی آلودگی فرآورده‌های طیور محسوب شده و انجام اقداماتی در جهت کنترل بیماری را مشکل می‌سازد. در این مطالعه میزان شیوع سالمونلوز و نوع سروتیپهای شایع در مرغداریهای اهواز مشخص گردیده ولی کانون و منبع آلودگی سالمونلایی برای مرغداریها مشخص نبوده و تعیین نگردیده است. بنابراین نیاز به بررسیها و مطالعات اپیدمیولوژیک جهت تعیین منبع واقعی ایجاد آلودگی و ارتباطات مربوطه می‌باشد.

جدول شماره ۱- وضعیت کشت در نمونه‌های مشکوک به سالمونلا در محیط‌های بیوشیمیایی

TSI	اوره	SIM			MR	VP
		ایندول	حرکت	سیمون سیترات		
$\frac{ALK}{AC}$ H_2S CO_2	-	-	+	+	+	-

جدول شماره ۲- وضعیت کشت در نمونه‌های مشکوک به سالمونلا در محیطهای تفریقی

مانیتول	مالتوز	لاکتوز	آرابینوز	ساکاروز	گلوکز	D-گزیلوز
+	+	-	+	-	+	+

جدول شماره ۳- توزیع فراوانی سروتیپهای جداسازی شده در مرغداریهای اهواز

سروتیپ	تعداد	تعداد نمونه آزمایش شده	تعداد واحد* مرغداری	٪ سروتیپهای جداسازی شده
SE	۲۴	۴۹۳	۸	۴/۸۶
SN	۳۷	۴۹۳	۱۰	۵/۷
St	۱۴	۴۹۳	۶	۲/۸
SR	۱۴	۴۹۳	۱	۲/۸
SPt-B	۳	۴۹۳	۱	۰/۶
	۹۲		۲۹	۱۸/۶۲

* از برخی واحدها بیش از یک سروتیپ جداسازی گردیده است.

جدول شماره ۴- فراوانی و درصد سروتیپهای جداسازی شده نسبت به کل سروتیپها

سروتیپ	گروه پادگنی	پادگن O	ساختمان پادگنی H		تعدادجداسازی شده	درصد
			فاز یک	فاز دو		
S. newport	C_2	۸ و ۶	e,h	۲و۱	۳۷	۴۰
S. enteritids	D_1	1,9,12	g,m	-	24	26.8
S. typhimorium	B	۱، ۴، ۵ و ۱۲	i	۲و۱	۱۴	۱۵
S. rostock	D	۱، ۹ و ۱۲	u,p,g	-	۱۴	۱۵
B *S. paratyphi*	B	۱، ۴، ۵ و ۱۲	b	۲و۱	۳	۳/۲
					۹۲	۱۰۰

جدول شماره ۵

سالمونلا	گلی‌باسیل	پروتئوس	ادواردسیلا	انتروباکتر	گونه‌های انتریک KCL	الکالیژنس	سودوموناس	اسپرژیلوس	منفی‌ازنظر عوامل میکروبی
۲۷۳/۹۲	۹۹	۲۹	۱۰	۱۱	۱۴	۷	۲۰	۶	۴۲

منابع مورد استفاده

۱- استرآبادی، امیرهوشنگ، مسمومیت غذایی به وسیله گروه سالمونلاها - مجله جامعه دامپزشکان ایران، سال اول مهر ماه ۱۳۵۱ - شماره چهارم.

۲- اعتمادی، هرمزدیار - باکتری شناسی پزشکی (با اطلس رنگی) - ترجمه - تهران - انتشارات جهاد دانشگاهی مهر ماه ۱۳۷۱، چاپ اول - ۴۷۳ صفحه.

۳- پزشکیان - کنترل سالمونلا، گذشته، حال و آینده - نشریه صنایع مرغ مادر - سال دوم تیر ماه ۱۳۷۳ - شماره ۲۰ صفحه ۱۱-۷.

۴- مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی - مهر ماه ۱۳۷۰ - روش جستجو و شناسایی سالمونلاها - تجدید نظر دوم چاپ پنجم.

5- Baily W.R., and Scott, E.G., 1974. Diagnositc microbiology, 4th ed., P: 135-161, The C.V. Mosby Company, USA.

6- Fantasia, M., and Filrtici, E., 1994. *S. enteritidis* in Italy international J. of Food Microbiology, 21, P: 7-13.

7- Menzie, F.D. Neil, S.D. Good all, E.A., McIlroy, S.D., 1994. Avian salmonella infections in northern Ireland, 1979-1991 - Preventive Vet. Med., 19, P: 119-128.

8- Poppe, C., 1994. *Salmonella enteritidis* in Canada, International journal of food microbiology, 21, P: 1-5.

9- Shoko Suzuki, 1994. Pathogenecity of *Salmonella enteritidis* in poultry, Int. jou. of food microbiology 21, 89-105.