مجله علمی پژوهشی «علوم و فناوری‌های پدافند نوین»
سال دهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸؛ ص ۲۰۲-۱۹۵

# ارزیابی اقدامات پدافند غیرعامل در کاهش آلودگی به *سالمونلا* در لاشه طیور کشتارگاه‌های صنعتی استان تهران

**حسین هنری[۱*]، علی مقامی[۲]، شهرام نظریان[۳]، محمدرضا اکبری[۴]، سید مجتبی آقایی[۵]**

۱- دانشیار، ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، ۳- استادیار، ۴- دانشجوی دکتری، ۵- کارشناسی ارشد، دانشگاه امام حسین (ع)

(دریافت: ۹۷/۰۲/۱۵، پذیرش: ۹۷/۰۷/۱۸)

## چکیده

یکی از حوزه‌های پدافند زیستی، حوزه تهدیدات دام و طیور است و ارزیابی مخاطرات میکروب‌های بیماری‌زا منتقل‌شده از مواد غذایی ازجمله *سالمونلا*، دارای اهمیت بالایی است. گوشت مرغ، فرآورده مناسبی برای انتقال آلودگی این بیماری به مصرف‌کنندگان بوده و به‌عنوان مخزن *سالمونلا* محسوب می‌شود. هدف از این مطالعه، کاهش آلودگی سالمونلایی در لاشه‌های طیور بود که با تغییر در تولید و فراوری اتفاق افتاد. در این مطالعه طی سال‌های ۱۳۹۳-۱۳۹۶، از ۳۸۳ قطعه طیور، به‌صورت تصادفی نمونه‌گیری شد. پس از مراحل خالص‌سازی و جداسازی کشت‌های مشکوک، سالمونلاهای جداشده به‌وسیله آزمایش‌های بیوشیمیایی، سرولوژیکی و *PCR* تائید شدند. از مجموع نمونه‌ها، تعداد ۱۵مورد، ازنظر آلودگی به سالمونلا مثبت بودند. با اعمال دستورالعمل‌های سازمان دامپزشکی کشور، میزان آلودگی به شدت کاهش یافت.کاهش آلودگی‌های سالمونلایی، در قطعه‌های طیور، ناشی از کنترل بهداشتی، بسته‌بندی و شناسنامه‌دار کردن لاشه مرغ‌ها در کشتارگاه‌های صنعتی است. عدم رعایت عمدی و غیرعمدی مباحث بهداشتی در زنجیره تولید تا مصرف مرغ‌ها خسارت جبران‌ناپذیری را تحمیل خواهد نمود.

**کلیدواژه‌ها:** *سالمونلا*، پدافند زیستی، PCR

# Evaluation of Passive Defence Actions in Reducing *Salmonella* Infection in the Poultry Carcass of Industrial Slaughterhouses in Tehran Province

**H. Honari*, A. Maghami, S. Nazarian, M. Akbari, S. M. Aghaie**
Imam Hossein University
(Received: 05/05/2018; Accepted: 10/10/2018)

## Abstract

One of the areas of biological defense is livestock and poultry threats and assessing the health risks of foodborne germs, including *Salmonella*, is of great importance in many aspects. Chicken meat is a good product for the transmission of this infection to consumers and is considered as a *salmonella* reservoir. The aim of this study is to reduce *salmonella* contamination in poultry carcasses which happened with the change in production and processing. In a study during 2014-2017, 383 pieces of poultry were randomly sampled. After the stages of purification and isolation of suspicious cultures, isolated *Salmonella* were confirmed by biochemical, serological and PCR tests. With using PCR method, 15 samples were positive for *Salmonella*. By applying the Instructions of the country's veterinary organization, the rate of polution has fallen sharply. Reducing *salmonella* contamination in poultry pieces is due to health control, packaging and identification of chicken carcasses in industrial slaughterhouses. Intentional and unintentional nonconformity with health issues in the production chain to chicken consumption will impose irreparable damage.

**Keywords:** *Salmonella*, PCR, Biological Defense

*Corresponding Author E-mail: honari.hosein@gmail.com

## ۱. مقدمه

پدافند غیرعامل از قدمتی به اندازه تاریخ زندگی انسان برخوردار است. وجود تهدیدات مواد غذایی و حوادث در دوره‌ها و نقاط مختلف دنیا همواره موردتوجه پیشینیان بوده است [۱]. تأمین سلامت غذا در کنار تلاش برای تهیه آن از اهمیتی دوچندان برخوردار است. مسئولیت مهم دولت‌ها، تأمین سلامت زنجیره غذایی از مزرعه تا سفره است و برای عملی کردن آن همکاری وسیعی بین بخش‌های مختلف لازم است. یکی از مهم‌ترین روش‌های پایش سلامت این زنجیره، ثبت و گزارش دهی بیماری‌های عفونی منتقله از غذا و مسمومیت‌های غذایی است چرا که افزایش بروز و شیوع این بیماری‌ها لزوم بازنگری سیاست‌های غذایی و بهداشتی را به دنبال خواهد داشت. صنعت مرغداری در کشور دارای اهمیت به سزایی است. بر اساس گزارش وزارت جهاد کشاورزی، ۲ میلیون و ۹۲ هزار تن مرغ گوشتی و ۹۴۰ هزار تن تخم‌مرغ در سال ۱۳۹۵ در کشور تولید شده است که این میزان تولید، جایگاه ویژه صنعت مرغداری در امنیت غذایی را نشان می‌دهد. پدیده جهانی‌شدن و افزایش مسافرت‌ها و توسعه گردشگری، افزایش مصرف غذا در خارج از منزل در جوامع مختلف و حملات بیوتروریستی احتمالی، بیماری‌های منتقله از غذا را به‌عنوان یک مشکل بهداشتی جهانی مطرح کرده است [۳-۲]. آلودگی عمدی آب و مواد غذایی به‌عنوان یکی از راه‌های انتشار عوامل عفونی در بین جمعیت هدف مطرح است [۴].

سالمونلوزیس یکی از بیماری‌های عمده ناشی از مواد غذایی است که منجر به نگرانی‌هایی در سطح بهداشت عمومی شده است [۵]. این باکتری با بیش از ۲۵۰۰ سروتیپ جزء دومین موارد از بیماری‌های ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده در آمریکا و در ایران دومین عامل ایجادکننده اسهال در انسان است[۷-۶]. از بین سروتیپ های مختلف *سالمونلا*، سروتیپ های *اینتریتیدیس* و *تیفی موریوم* در مقام اول عفونت یا مسمومیت غذایی قرار دارند [۷]. حدود ۴۰ درصد از کل مسمومیت‌های غذایی را جنس *سالمونلا* ایجاد می‌نماید. عمده‌ترین مواد غذایی مسئول در انتقال *سالمونلا* در کشور ایران تخم‌مرغ و گوشت مرغ است. گزارش سازمان بهداشت جهانی نشان می‌دهد که در کشورهای در حال توسعه هر ساله از هر ۱۰۰۰ نفر، ۵ مورد ابتلا به *سالمونلا* دیده می‌شود. همچنین از میان ۱۶ میلیون بیمار مبتلا به تیفوئید، ۶۰۰ هزار نفر در اثر این بیماری جان خود را از دست می‌دهند [۸].

باکتری *سالمونلا* در دستگاه گوارش پرندگان، جوندگان و پستانداران وجود دارد و عمدتاً از طریق مواد غذایی و شرایط میزبان، در افراد مبتلا به فرم حاد بیماری با علائم اسهال، درد شکمی، استفراغ و در فرم مزمن با علائم آرتریت، اندو کاردیت، پنومونی و عفونت دستگاه اداری ظاهر می‌شود [۹].

طیوری که به کشتارگاه‌ها ارسال می‌گردند می‌توانند حامل باکتری‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا در پوست، پرها و نیز در محتویات روده‌ها باشند. این باکتری‌ها می‌توانند طی مراحل مختلف فرایند تولید گوشت طیور به سایر لاشه‌ها منتقل شوند [۱۰]. در پروسه کشتار طیور، آب مورد استفاده در قسمت پرکنی، پیش سردکن و سردکن (چیلر) می‌تواند موجب انتقال متقابل باکتری‌ها گردد [۱۱].

تعیین حضور *سالمونلا* در مواد غذایی با استفاده از روش کشت مرسوم، مستلزم صرف وقت به مدت چندین روز است. امروزه روش PCR ابزار مناسب در تشخیص پروکاریوت ها و یوکاریوت ها است. در گزارش‌های مختلفی برای تشخیص جنس *سالمونلا* و گونه‌های مختلف آن از ژن‌های حدت کروموزومی *invA* [۱۲]، ژن‌های حدت پلاسمیدی مانند *ipaB* [۱۳]، ژن‌های رمز کننده سنتز فلاژلین مانند *fliC* [۱۴]، و ژن فیمبریال مانند *prot6A* [۱۵]، استفاده شده است.

مطالعات نشان داده که با ژن‌های *rfbJ,fljB,invA,fliC* می‌توان *سالمونلا تیفی موریوم* و با استفاده از ژن‌های *spv,sefA* *سالمونلا انتریتیدیس* را شناسایی کرد [۱۶]. در مطالعه‌ای نظریان و همکاران با روش PCR و با استفاده از ژن هدف *invA* جنس *سالمونلا* و سروتایپ های *تیفی موریوم*، *اینفنتیس*، *انتریتیدیس* را با ژن‌های، *fliC*، *sdfI*، *fljB*، را شناسایی کردند.

با اعمال چرخه پدافند زیستی در کشتارگاه‌های صنعتی می‌توان آلودگی مرغ‌های کشتار شده را کاهش داد. هدف از این مطالعه تعیین بحرانی‌ترین نقاط مراحل کشتارگاه‌ها به آلودگی *سالمونلا* و انتقال این آلودگی به محصولات خروجی و ارائه راه‌کارهای پیشگیری و کنترل آلودگی از منظر پدافند غیرعامل بود که با شناسنامه‌دار کردن مرغ‌های کشتار شده در کشتارگاه درصد آلودگی به صفر نزدیک شد. با اعمال محدودیت‌های قرنطینه‌ای از آلودگی عمدی *سالمونلایی* جلوگیری خواهد شد.

## ۲. روش تحقیق

### ۲-۱. جمع‌آوری نمونه‌ها

در این مطالعه توصیفی– مقطعی، از سال۱۳۹۳ لغایت۱۳۹۶ نمونه‌گیری از لاشه‌های طیور ۶ واحد کشتارگاهی به‌صورت تصادفی به مدت چهار سال به عمل آمد. درمجموع ۳۸۳ نمونه اخذشده از سینه و ران لاشه، هرکدام به وزن ۱۵۰گرم در شرایط

استریل جهت انجام آزمون میکروبی به‌منظور تشخیص *سالمونلا* به آزمایشگاه انتقال داده شد.

### ۲-۲. آزمون میکروبی و بیوشیمیایی

از ۳۸۳ نمونه اخذشده در سال‌های ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۶ نمونه‌های تهیه‌شده در محیط غنی کننده سلنیت F به مدت ۲۴ ساعت در ۴۳ درجه سلسیوس کشت داده شد و بعد از رشد، در دو محیط افتراقی مک کانگی آگار (MC) و *سالمونلا شیگلا* آگار (SS) کشت داده شدند. پرگنه های مشکوک به *سالمونلا* را که کلنی‌های بی‌رنگ با مرکز سیاه هستند جهت تائید تشخیص به روش *IMVic* و کشت در محیط TSI، اوره و Lysin Iron Agar آزمایش و باکتری‌های جداشده که دارای واکنش مثبت و منفی در آزمایش *IMVic* و واکنش الکالین/اسید با H2S ضعیف در محیط TSI بودند انتخاب گردیدند و پس از کشت در محیط جامد BHI در یخچال ۴ درجه سلسیوس قرار داده شدند.

### ۲-۳. استخراج DNA، PCR و الکتروفورز افقی

برای استخراج DNA از باکتری‌های موردمطالعه، از روش جوشاندن استفاده شد. برای این منظور ۲۵ میکرولیتر از کشت باکتری در محیط مایع با ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد و پس از ۵ دقیقه سانتریفیوژ در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه مایع رویی به‌عنوان منبع DNA استفاده شد. آزمایش PCR جهت شناسایی باکتری *سالمونلا* و ردیابی *سالمونلا انتریتیدیس* در قالب PCR انجام گرفت. ردیابی حضور انواع ژن‌های حدت در این دو گونه شامل ژن‌های *invA. FljB* در *سالمونلا انفیتیس* و ژن‌های *spv,sdfI* در *سالمونلا انتریتیدیس* با استفاده از زوج پرایمرهای قبلاً گزارش شده [۱۷]، انجام گرفت (جدول۱). جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلی مراز و تکثیر قطعات ژنی موردنظر از دستگاه PCR با حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer 10X، ۱ میلی مول MgCl2، ۱۵۰ میکرومول dNTP، ۴۰۰ پیکومول از زوج پرایمر های F,R، ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymease و ۱ میکرولیتر از DNA مربوط به هر نمونه استفاده شد. برنامه حرارتی مورداستفاده جهت ردیابی ژن‌های حدت در *سالمونلا تیفی موریوم* عبارت بود از یک سیکل ۹۴ درجه در ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹۵ درجه ۴۵ ثانیه، ۵۸ درجه ۵۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۶۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۵ دقیقه و در مورد ردیابی ژن‌های حدت در *سالمونلا انتریتیدیس* برنامه حرارتی مورداستفاده عبارت بود از یک سیکل ۹۵ درجه ۵ دقیقه ، ۳۵ سیکل تکراری ۹۴ درجه ۴۵ ثانیه، ۵۸ درجه ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه ۶۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۵ دقیقه. در هر مرحله از واکنش زنجیره‌ای پلی مراز جهت ردیابی محصول موردنظر از ژل یک درصد آگارز حاوی اتیدیوم بروماید استفاده شد . ۵ میکرولیتر از محصول PCR مربوط به هر نمونه در بافر ۰TBE X ۰/۵در ولتاژ ۸۰ ولت به مدت ۴۵ دقیقه ، الکتروفورز گردید. در این آزمایش واکنش PCR [ ۱۸-۱۷] از پرایمر های زیر استفاده شده است.

**جدول ۱.** تعین توالی پرایمر های گونه‌های سالمونلا حاصل از واکنش [۱۷]

| منبع | دمای اتصال | طول قطعه | توالی پرایمر | ژن هدف | باکتری هدف |
|---|---|---|---|---|---|
| ۱۹ | ۶۰ | ۲۸۵ | *F:GTGAAATTATCGCCACGTTCGGGCAA*<br>*R:TCATCGCACCGTCAAAGGAACC* | InvA | *Salmonella .spp* |
| ۲۱،۲۰ | ۵۶ | ۳۰۴ | *F:TGTGTTTTATCTGATGCAAGAGG*<br>*R:TGAACTACGTTCGTTCTTCTGG* | SdfI | *S.enteritidis* |
| ۲۲ | ۵۶ | ۷۳۴ | *F: AACAACGACAGCTTATGCCG*<br>*R: CCACCTGCGCCAACGCT* | FljB | *S.infantis* |

### ۲-۴. اقدامات پدافند زیستی برای کاهش آلودگی مرغ های کشتار شده در کشتارگاه‌های استان تهران

با توجه به آلودگی بالای مرغ‌های کشتار شده در کشتارگاه‌های صنعتی استان تهران در سال‌های ۹۳-۹۴ بسته‌بندی و شناسنامه‌دار کردن محصول خروجی از کشتارگاه توسط سازمان دامپزشکی کشور اجباری شد.

## ۳. نتایج و بحث

### ۳-۱. نمونه‌برداری از واحدهای کشتارگاهی

در سال‌های ۹۶-۹۳ از ۶ واحد کشتارگاهی استان تهران، ۳۸۳ مورد نمونه‌برداری انجام گرفت. با کشت اولیه بر روی محیط کشت‌های مختلف *سالمونلا* تعداد نمونه‌های آلوده مشخص شد(جدول ۲). همان‌طور که در جدول ۲ دیده می‌شود بیش‌ترین

درصد آلودگی مربوط به سال ۱۳۹۴ و کمترین میزان آن نیز در سال ۹۶ بوده است. بر طبق نتایج جدول، شیب کاهش درصد آلودگی از سال ۹۴ تا ۹۶ مشاهده می‌شود. با اجرای دستورالعمل سازمان دامپزشکی توسط کشتارگاه‌های صنعتی میزان آلودگی به‌طرف صفر متمایل شده است. با استفاده از بارکد ملی روی کلیه محصولات کشتارگاه‌های صنعتی به‌راحتی می‌توان تشخیص داد که کالا متعلق به کدام مزرعه یا تولیدکننده، کشتارگاه و توزیع‌کننده است. برای حمایت از مصرف‌کنندگان به‌عنوان اولویت اصلی و بحث مبارزه با قاچاق، عدم رعایت عمدی و غیرعمدی مباحث بهداشتی در زنجیره تولید تا مصرف مرغ‌ها مهم‌ترین موضوع شفافیت شدن کالاها در بازار است؛ اینکه کالا از کجا آمده و سیر مراحل توزیع آن به چه صورت است و شناسنامه‌دار کردن کالاها بوده که این گام کلیدی به‌وسیله سازمان دامپزشکی کشور به‌صورت دستورالعمل به زنجیره تولید گوشت مرغ در کشور ابلاغ شد. کاهش شیب آلودگی از سال ۹۴ تا ۹۶ در کشتارگاه‌ها ناشی از اجباری شدن دستورالعمل سازمان دامپزشکی توسط کشتارگاه‌های صنعتی بوده است.

**جدول۲.** تعداد و درصد کل آلودگی باکتریایی نمونه‌های اخذشده از واحدها

| سال | واحد ۱ | | واحد ۲ | | واحد ۳ | | واحد ۴ | | واحد ۵ | | واحد ۶ | | تعداد کل نمونه | تعداد آلوده باکتری | درصد |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | تعداد نمونه | آلوده | تعداد نمونه | آلوده | تعداد نمونه | آلوده | تعداد نمونه | آلوده | تعداد نمونه | آلوده | تعداد نمونه | آلوده | | | |
| ۹۳ | ۵۰ | ۱۵ | ۵ | ۳ | --- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | ۵۵ | ۱۸ | ۳۳ |
| ۹۴ | ۱۵ | ۲ | ۲۰ | ۵ | ۲۵ | ۵ | ۱۵ | ۵ | ۵ | ۰ | ۲۰ | ۵ | ۱۰۰ | ۲۲ | ۲۲ |
| ۹۵ | ۳۵ | ۰ | --- | -- | ۱۳ | ۰ | ۱۶ | ۰ | ۴۵ | ۰ | ۲۱ | ۰ | ۱۳۰ | ۳ | ۲ |
| ۹۶ | ۳۵ | ۰ | --- | -- | --- | -- | ۳۰ | ۰ | ۳۰ | ۰ | ۳ | ۰ | ۹۸ | ۰ | ۰ |
| جمع | ۱۳۵ | ۱۷ | ۲۵ | ۸ | ۳۸ | ۵ | ۶۱ | ۵ | ۸۰ | ۰ | ۴۴ | ۵ | ۳۸۳ | ۴۳ | ۱۱ |
| ٪ | ۱۲/۵ | | ۳۲ | | ۱۳ | | ۸ | | ۰ | | ۱۱ | | | ۱۱ | |

ارزیابی مخاطرات میکروب‌های بیماری‌زای منتقله از مواد غذایی ازجمله *سالمونلا* از مرحله پرورش لاین، مرغ اجداد گوشتی، مرغ مادر گوشتی تا مصرف گوشت مرغ از ابعاد مختلف برای کشورهای جهان، از اهمیت بالایی برخوردار است. گسترش موارد ابتلا انسانی و همچنین درگیری گله‌های پرورش مرغ مادر، جوجه‌کشی‌ها، مزارع پرورش مرغ گوشتی و فرآورده‌های تولید شده به این بیماری و خسارات اقتصادی و اجتماعی بالایی که به اقتصاد ملی و بین‌المللی وارد می‌کند، سازمان‌ها را واداشته تا نسبت به تدوین برنامه‌های جامع و کاربردی و راهکارهای مناسب برای کاهش و درنهایت حذف این عوامل اقدام کنند. برای ایجاد امنیت غذایی، نگهداری مرغ‌های لاین از اولویت‌های استراتژیک یک کشور محسوب می‌شود. گستردگی میزبان‌ها، تعدد سروتیپ ها و وجود حاملان طبیعی باعث شده که بیماری سالمونلوز از همه میکرو ب های ناشی از مواد غذایی در انسان شایع‌تر بوده و طیور و فرآورده‌های آن‌ها مهم‌ترین منابع ایجادکننده مسمومیت غذایی در انسان باشند. بررسی حاضر نشان می‌دهد با برنامه‌ریزی صحیح در مراحل پرورش می‌توان از انتشار آن جلوگیری کرد. اصولاً انتقال بیماری به گله‌های مادر و نتایج آن‌ها از راه‌های مختلف، نظیر آلودگی پوسته تخم‌مرغ، ماشین جوجه‌کشی، بستر سالن پرورشی، خوراک و آب آلوده، جوندگان نظیر موش، پرندگان آزاد و کارگران به‌صورت عمدی و غیرعمدی می‌تواند انجام بگیرد. مصرف دارو در درمان بیماری سالمونلوز زمینه تکثیر *سالمونلاهای* مقاوم به دارو و انتقال آن به انسان را فراهم آورده است.

مطالعات نشان می‌دهد ریشه‌کنی و حذف *سالمونلا* از محیط پرورش، یکی از راه‌حل‌های اصولی برای کنترل سالمونلوزیس ناشی از مواد غذایی است و در زنجیره غذایی دوره رشد یا پرورش، یکی از سطوح مهم آلودگی محسوب می‌شود. از زمان تولید تخم‌مرغ نطفه‌دار در مزارع مرغ مادر و سپس گذراندن مراحل ستری و هچری تخم‌مرغ در کارخانه‌های جوجه‌کشی و درنهایت خرید و انتقال جوجه یک‌روزه گوشتی و نگهداری و پرورش آن برای یک دوره، ۵۰ ـ ۶۰ روزه تا رسیدن به وزن مطلوب موردنظر برای مصرف را می‌توان طول این دوره محسوب نمود. آلودگی مرغ مادر به سالمونلا باعث انتقال عمودی آن، از طریق تخم‌مرغ به جوجه‌های گوشتی شده و یکی از منابع مهم آلودگی جوجه‌های گوشتی پرورشی محسوب می‌شود [۲۳]. برای جلوگیری از هر نوع آلودگی محوطه جوجه‌کشی، باید مطمئن شد

که آلودگی توسط پرندگان بالغ و کارگرانی که با پرندگان آلوده، در تماس هستند وارد محوطه نگردد و از ورود بازدیدکنندگان به محوطه جلوگیری به عمل آید. جعبه‌های حمل‌ونقل جوجه‌ها بایستی جدید و خودروهای حمل‌ونقل کاملاً تمیز و ضدعفونی شده باشند [۹].

### ۳-۲. نتایج واکنش زنجیرهای پلی مراز PCR

از روش زنجیره‌های پلی مراز جهت ردیابی سروارهای *سالمونلا انتریتیدیس* و تعیین فراوانی حضور انواع ژن‌های حدت در سویه جداشده از گوشت مرغ استفاده شده است. در این بررسی ۱۵ مورد از ۴۳ نمونه گوشت مرغ آلوده به‌عنوان گونه از جنس *سالمونلا* تشخیص داده شدند. استفاده از روش PCR نشان داد که ۱۵ نمونه مثبت (۳۹درصد) *سالمونلا*، از۱۵ نمونه مثبت دو سوش مربوط به *سالمونلا انتریتیدیس*( ۱۳/۳ ٪)،۱ سوش *سالمونلا اینفیتیس*(۶/۶ ٪ ) و باقی مانده مربوط به سایر گونه‌های *سالمونلا* بوده است(۸۰٪) (نمودار ۱).

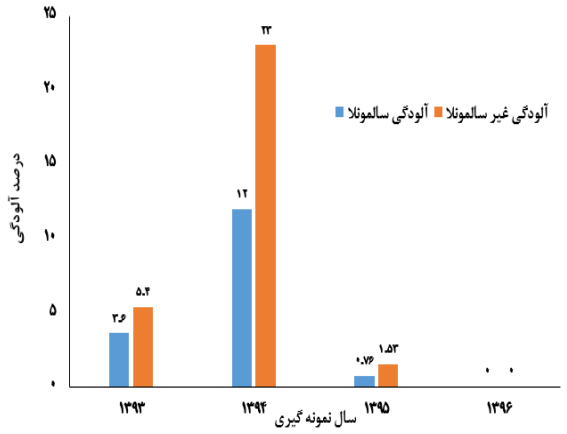
### ۳-۳. نتایج PCR و الکتروفورز افقی

واکنش زنجیره‌ای پلیمر از جهت تشخیص ژن *invA*، در نمونه های آلوده انجام شد. حضور باندهای روشن به اندازه‌های ۲۸۴ جفت بازی، *سالمونلا* بودن نمونه‌ها مورد تائید قرار گرفتند (شکل ۱).

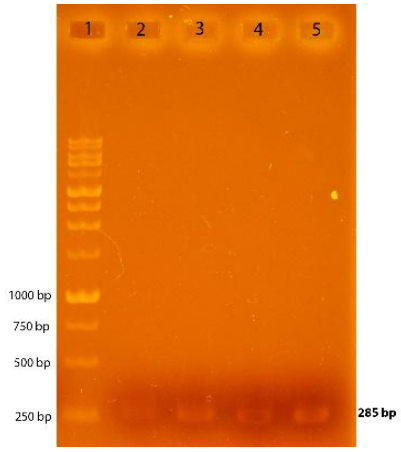
واکنش زنجیره‌ای پلیمر از جهت حضور ژن،*fljB* ، در سوش های *سالمونلا* جداسازی شده انجام شد. حضور باندهای روشن به اندازه های ۷۳۴ جفت بازی، سویه *سالمونلا اینفیتیس* بودن نمونه‌ها مورد تائید قرار گرفتند(شکل۳).

واکنش زنجیره‌ای پلیمر از جهت حضور ژن *SdfI* در سوش های *سالمونلا* جداسازی شده انجام شد. حضور باندهای روشن به اندازه های ۳۰۴ جفت بازی، سویه *سالمونلا انتریتیدیس* بودن نمونه‌ها مورد تائید قرار گرفتند (شکل۲).

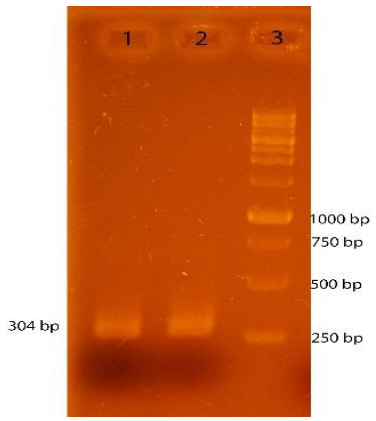
نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که واکنش زنجیره‌ای پلی مراز می‌تواند به‌عنوان یک روش دقیق برای تشخیص و شناسایی سالمونلا در نمونه گوشت مرغ استفاده شود. گوشت طیور یکی از منابع پروتئینی موردعلاقه برای انسان است که مصرف آن در دهه‌های اخیر در بسیاری از کشورهای جهان افزایش یافته است. مصرف سرانه مرغ در ایران ۲۵ کیلوگرم است. برخی دلایل برای محبوبیت گوشت طیور شامل ارزان بودن، کم بودن محتوای چربی و ارزش غذایی بالایی آن است [۲۴].



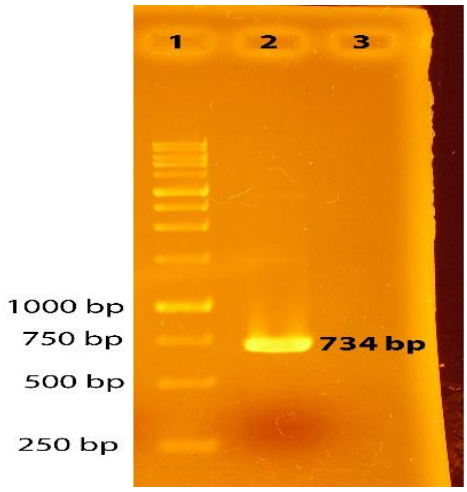

**نمودار ۱.** تعداد و درصد کل آلودگی باکتریایی نمونه‌های اخذشده از واحدها بر اساس سال




**شکل ۱.** واکنش زنجیره‌ای پلیمر از جهت تشخیص ژن‌های حدت در سوش های *سالمونلا* جداسازی شده از لاشه مرغ، ستون ۱) مارکر یک کیلو جفت بازی، ستون ۲، ۳، ۴ و ۵) حضور باندهای روشن به اندازه‌های ۲۸۴ جفت بازی مربوط به ژن*invA*




**شکل ۲.** واکنش زنجیره‌ای پلیمر از جهت تشخیص *سالمونلا* در لاشه مرغ M، ستون۳) مارکر یک کیلو جفت بازی، ستون ۱ و ۲) حضور باندهای روشن به اندازه‌های ۳۰۴ جفت بازی مربوط به ژن*SdfI* *سالمونلا انتریتیدیس*




**شکل ۳.** واکنش زنجیره‌ای پلیمر از تصویر ژل الکتروفورز ،ردیف۱ مارکر یک کیلو جفت بازی ردیف ۲ *سالمونلا اینفیتیس* (۷۳۴bp)

در بسیاری از کشورها یکی از چالش‌های بزرگ برای صنعت طیور، آلودگی این محصول با میکروارگانیسم‌های عوامل بیماری‌زا مانند *سالمونلا* است[۲۵]. *سالمونلا* به‌عنوان یک پاتوژن منتقل‌شونده از مواد غذایی مطرح بوده و یک معضل بزرگ در بهداشت جامعه در دنیا به‌حساب می‌آید. بر اساس گزارش سازمان کنترل و پیشگیری بیماری‌های آمریکا (CDC) سالانه ۴۰۰۰۰ مورد سالمونلوزیس گزارش می‌شود. بعلاوه سالمونلوز غیر تیفوئیدی به‌عنوان دومین عامل عفونت‌های زئونوتیک منتقله از مواد غذایی در اروپا گزارش شده است [۲۶]. *سالمونلا انتریتیدیس* و *سالمونلا تیفی موریوم* بیش‌ترین موارد جداسازی از مواد غذایی را در شیوع‌های اتفاق افتاده در امریکا و اروپا نشان داده‌اند [۲۶].

آلودگی می‌تواند در حین زنجیره تولید فرآورده‌های طیوری مانند کشتار و خالی کردن شکم در لاشه ماکیان اتفاق افتد که یک فاکتور ریسک بالقوه برای انتقال این باکتری است [۲۷]. سروتیپ های مختلف از این باکتری در پرندگان مختلف همچون مرغ، بوقلمون، اردک، غاز، گنجشک و سایر پرندگان اهلی و وحشی جدا شده است. در سال‌های اخیر از طریق غذا به‌ویژه گوشت مرغ اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است، مهم‌ترین و متداول‌ترین سروتیپ ها این گروه شامل، *سالمونلا تیفی موریوم* و *سالمونلا آنتریتیدیس* است [۲۸]. *سالمونلا* در شیر خام گوسفند، بز و گله گوشتی طیور گزارش شده است [۳۰-۲۹]. مطالعات انجام‌شده بر روی گنجشک نشان از عدم جداسازی *سالمونلا* بود [۳۱]. ترویج روش‌های تشخیص سریع باعث کند شدن شیوع بیماری در مزارع پرورش طیور در منطقه و کشور خواهد شد. دور کردن پرندگان اهلی و وحشی از اولویت‌های کاری مرغداران است.

### ۳-۴. اقدامات پدافند غیرعاملی در زنجیره تولید تا مصرف

**آسیب‌پذیری مرغ مادر تا جوجه یک‌روزه :** از مراحل بسیار مهم در تولید گوشت مرغ روند پرورش مرغ مادر است. از نکات بحرانی در این مرحله انتخاب جوجه یک‌روزه با کیفیت مناسب از کارخانه مرغ اجداد که ازنظر بیماری عاری از آلودگی باشد. در این دوره با توجه به اینکه دوره پرورش مرغ و خروس جداگانه است رعایت اصول بهداشتی اهمیت فراوانی دارد یکی از آسیب‌پذیرترین موارد پرورش این دوره، آب است که در کلیه مراحل پرورش مورداستفاده قرار می‌گیرد و در صورت داشتن آلودگی اثرات جبران‌ناپذیری خواهد داشت. محل نمونه‌گیری آب، باید از محل ورود آب سالن اخذ شود. آب باید در یک آزمایشگاه واجد صلاحیت ازلحاظ میکروبی و شیمیایی، بررسی شود. با نمونه‌گیری میکروبی از کارگران ضریب آلودگی سالمونلایی بشدت کاهش خواهد یافت.

**ارزیابی ضدعفونی صورت گرفته در سالن، کیفیت آب و دان:** مهم‌ترین خطری که پس از تخم‌گذاری جنین را تهدید می‌کند خطر آلودگی باکتریایی است که به‌محض سرد شدن تخم‌مرغ هوا به درون آن کشیده شده در صورت آلودگی، بستر این آلودگی به داخل تخم‌مرغ انتقال می‌یابد. یکی از مراحل تولید گوشت مرغ، جوجه‌کشی و تولید جوجه یک‌روزه است. کارخانه‌های جوجه‌کشی نقش بسیار مهمی در میزان جوجه درآوری دارد. درصد جوجه درآوری معیاری برای بیان کارایی جوجه‌کشی است. یکی از آسیب‌پذیرترین مراحل تولید گوشت مرغ ازنظر پدافندی مرحله جوجه‌کشی است. با توجه به مراحل مختلف جوجه‌کشی، عدم رعایت دستورالعمل‌ها در هر مرحله موجب خسارات جبران‌ناپذیر در تولید جوجه یک‌روزه می‌شود و درصد جوجه درآوری را به پایین‌ترین حد و جوجه‌هایی با کیفیت پایین می‌شود. ساختمان کارخانه جوجه‌کشی باید از مناطق پرتراکم طیور دور و قابل شستشو و ضدعفونی باشد و به شبکه حمل‌ونقل عمومی نزدیک بوده و نیروی انسانی لازم داشته باشد. از منابع مهم آلودگی جوجه‌کشی از منظر پدافند غیرعامل تخم‌مرغ آلوده، تمامی کارگران و بازدیدکنندگان است. اهمال در زنجیره به‌صورت عمدی می‌تواند اتفاق بیفتد.

**آسیب‌پذیری جوجه یک‌روزه تا کشتارگاه:** با توجه به اینکه عوامل بیماری‌زا به‌صورت مکانیکی و باد به‌سرعت قابل‌انتقال هستند بنابراین ساختمان مرغداری باید بر اساس اصول بهداشتی و مطابق با دستورالعمل دامپزشکی احداث شود. بر اساس مطالعات صورت گرفته آب نقش اساسی در انتقال بیماری دارد علاوه بر آب مصرفی باید مرغداری دور از رودخانه احداث شود زیرا رودخانه محل تجمع پرندگان مهاجر بوده و باعث

انتقال آلودگی است. در طول دوره پرورش تهویه مناسب، استفاده غیرمتعارف آنتی‌بیوتیک و نبود حصار کشی مناسب اطراف مرغداری از نقاط آسیب‌پذیر هستند که باید رعایت شود. تراکم بالای جوجه‌ها در سالن‌های پرورش و نگهداری بیش‌ازحد طبیعی باعث مشکلات و خسارات عظیم اقتصادی در مرحله اول پرورش مرغ گوشتی و باعث انتقال و شیوع عوامل باکتریایی به‌ویژه *سالمونلا* می‌شود. یکی دیگر از راه‌های انتقال از طریق مادر به تخم‌مرغ است و باعث مرگ جنین می‌شود. درصورتی‌که جنین آلوده، زنده به دنیا بیاید در چند روز اول تلف شده و باعث انتشار آلودگی خواهد شد. جهت پیشگیری از وقوع بیماری‌های ناشی از عوامل *سالمونلائی* روش‌های زیادی وجود دارد ولی یکی از بهترین روش‌ها استفاده از واکسیناسیون و انتقال ایمنی غیرفعال است. روش دوم استفاده از افشانه‌های حاوی باکتری‌های بی‌ضرر روده‌ای است که بر روی مواد غذایی جوجه‌ها می‌توان پاشید. این امر موجب جایگزینی به‌موقع این باکتری در روده جوجه‌ها و مهار قرارگیری باکتری *سالمونلا* در روده آن‌ها می‌شود.

**آسیب‌پذیری گوشت مرغ در مراحل مختلف آماده‌سازی:** فرایند کشتار در کشتارگاه می‌تواند لاشه طیور سالم را درگیر آلودگی کند. در حین فرآوری در کشتارگاه، حضور پرندگان با پوست کثیف و آلوده به ترکیبات مدفوعی به دلیل انتقال آلودگی از تجهیزات به لاشه و همچنین آئروسل‌های موجود در هوا منجر به افزایش بار کلی میکروبی لاشه‌ها می‌شود. هرکدام از مراحل فرآوری، توزیع، نگهداری، سرو و پخت ماده غذایی در کاهش و یا افزایش میزان آلودگی نقش داشته است. در این میان عملیات کشتارگاه حائز اهمیت بیشتر بوده و در گسترش آلودگی بسیار نقش‌آفرین هستند. کنترل ورود و خروج افراد غیرمسئول به سالن کشتارگاه، ضدعفونی مناسب با دز مؤثر، افزایش تعداد دوش شستشو لاشه در داخل سالن، تعویض آب چیلر، استفاده از تخلیه خودکار و قطع کامل ارتباط سالن کشتار با قسمت تخلیه مرغ زنده و قسمت بسته‌بندی و شناسنامه‌دار کردن لاشه مرغ‌ها از راهکارهای مناسب پدافندی جهت کاهش آلودگی است.

## ۴. نتیجه‌گیری

آلودگی‌های *سالمونلایی* را با قرنطینه، کنترل بهداشتی، بسته‌بندی اجباری و شناسنامه‌دار کردن و بارکدگذاری لاشه مرغ‌ها در کشتارگاه‌های صنعتی می‌توان فراوانی آن را به صفر نزدیک نمود و وقوع آلودگی احتمالی را ردیابی کرد. آلودگی سالمونلایی در زنجیره تولید تا مصرف به‌صورت عمدی قابل‌تصور بوده که با تقویت این زنجیره و اعمال محدودیت‌ها می‌توان از آلودگی عمدی جلوگیری نمود. اندازه‌گیری میزان آلودگی *سالمونلایی* در زنجیره تولید مرغ به نحوه مدیریت مدیران و برنامه ریزان در شناسایی نقاط خطرساز و تأثیرگذار و ارائه راهکارهای بهبود و ارتقاء عملکرد این مراحل، کمک خواهد کرد.

## ۵. مرجع‌ها


[1] Vedadhir, A.; Ranjbar, A. "Food Security and Sustainable Food and Nutrition in the Light of Security in Natural Resources: Lessons from the Anthropological Investigations in the World"; Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology 2018, 13, 183-192.

[2] Doustmohammadian, A.; Omidvar, N. "Food and Nutrition Literacy and Sustainable Nutrition Concepts"; Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology 2018, 13, 139-146.

[3] Mead, P. S.; Slutsker, L.; Dietz, V.; McCaig, L. F.; Bresee, J. S.; Shapiro, C.; Griffin, P. M.; Tauxe, R. V. "Food-Related Illness and Death in the United States"; Emerg. Infect. Dis. 1999, 5, 607-625.

[4] Tavakoli, H.; Sarafpor, R.; Samadi, M. "Water, Food, Bio-terrorism"; J. Mil. Med. 1384, 7, 75- 82.

[5] Defreitas, C. G.; Santana, A. P.; Dasilva, P. H.; Gonçalves, V. S.; Barros. M. A.; Torres, F. A.; Murata L. S.; Perecmanis, S. "PCR Multiplex for Detection of Salmonella Enteritidis, Typhi and Typhimurium and Acurrence in Poultry Meat"; Int. J. Food. Microbiol. 2010, 139, 15-22.

[6] Feasey, N. A.; Dougan, G.; Kingsley, R. A.; Heyderman, R. S.; Gordon, M. A. "Invasive Non-typhoidal Salmonella Disease: an Emerging and Neglected Tropical Disease in Africa"; Lancet 2012, 379, 2489–2499.

[7] Silver, N.; Best, S.; Jiang, J.; Thein, S.; "Selection of Housekeeping Genes for Gene Expression Studies in Human Reticulocytes Using Real-time PCR"; J. BMC. Mol. Biol. 2006, 7, 33.

[8] Ranjbar, R.; Torabi, R.; Mirzaie, A. "Molecular Typing of Salmonella Enteritidis Strains Isolated in Several Laboratory Centers in Tehran By ERIC-PCR"; J. Kurdistan Univ. Med. Sci. 2013, 18, 77-85 [In Persian].

[9] White, D. G.; Zhao, S.; Sudler, R.; Ayers, S.; Friedman, S.; Chen, S. "The Isolation of Antibiotic-Resistant Salmonella from Retailground Meats"; N. Engl. J. Med. 2001, 345, 1147-1154.

[10] Amavisit, P.; Browning, G. F.; Lightfood, D.; Anderson, C. S. "Rapid PCR Detection of Salmonella in Horse Faecal Samples"; J. Vet. Microbiol. 2001, 79, 63-74.

[11] Capita, R.; Alonso-Calleja, C.; Garcia-Fernandez, M. C.; Moreno, M. "Trisodium Phosphate (TSP) Treatment for Decontamination of Poultry"; Food. Sci. Tech. Int. 2002, 8, 11-24.

[12] Malorny, B.; Hoorfar, J.; Bunge, C.; Helmuth, R. "Multicenter Validation of the Analytic Accuracy of Salmonella PCR: Toward Aninternational Standard"; Appl. Environ. Microbiol. 2003, 69, 290-296.

[13] Malorny, B.; Hoorfar, J.; Hugas, M.; Heuvelink, A.; Fach, P.; Ellerbroek, L.; Bunge, C.; Dorn, C.; Helmuth R. "Inter Laboratory Diagnostic Accuracy of a Salmonella Specific PCR-basedmethod"; Int. J. Food. Microbiol. 2003, 89, 241-249.

[14] Oliveira, S. D.; Santos, L. R.; Schuch, D. M.; Silva, A. B.; Salle, C. T.; Canal, C. W. "Detectionand Identification of salmonellas from Poultry Related Samples by PCR"; J. Vet. Microbiol. 2002, 87, 25-35.

[15] Murphy, R. Y.; Duncan, L. K.; Johnson, E. R.; Davis, M. D.; Smith, J. N. "Thermal Nactivation D and Z Values of Salmonella Serotypes and Listeria Innocua in Hicken Patties, Chicken_Tenders, Franks, Beef Patties and Blended Beef and Urkey Patties"; J. Food. Prot. 2002, 65, 53-60.

[16] Chashni, S.; Hassanzadeh, M.; Fard, M.; Mirzaie, S. "Characterization of the Salmonella Isolates from Backyard Chickens in North of Iran, by Serotyping, Multiplex CR and Antibiotic Resistance Analysis"; Archives of Razi Institute 2009, 64, 77-83.

[17] Moghadam, A.; Nazarian, S.; Amani, J. "Identification and Assessment of Salmonella Typhimurium, Enteritidis Serotypes in Clinical from Medical Centers of Kerman Provionce"; Iran Med. Microbiol. 2017, 11, 1-8.

[18] MehrAzin, H.; Honari, H.; Saadati, M.; Alizadeh, H.; Nazarian, Sh. "Production of Polyclonal Antibody against Domain 4 of Protective Antigen of Bacillus Anthracis in Laboratory Animals"; Passive Defence Sci. 2011, 2, 19-25.

[19] Rahn, K.; De Grandis, S. A.; Clarke, R. C.; McEwen, S. A.; Galán, J. E.; Ginocchio, C. "Amplification of an invA Gene Sequence of Salmonella Typhimurium by Polymerase Chainreaction as a Specific Method of Detection of Salmonella"; Mol. Cell. Probes 1992, 6, 271-279.

[20] Agron, P. G.; Walker, R. L.; Kinde, H.; Sawyer, S. J.; Hayes, D. C.; Wollard, J.; Andersen G. L. "Identification by Subtractive Hybridization of Sequences Specific for Salmonella Enterica Serovar Enteritidis"; Appl. Environ. Microbiol. 2001, 67, 4984–4991.

[21] De Freitas, C. G.; Santana, A. P.; Da Silva, P. H. C.; Gonçalves, V. S. P.; Barros, M.; Torres, F. A. G.; Murata, L. S.; Perecmanis, S. "PCR Multiplex for Detection of Salmonella Enteritidis, Typhi and Typhimurium and Occurrence Inpoultry Meat"; Int. J. Food. Microbiol. 2010, 139, 15–22.

[22] Kardos, G.; Farkas, T.; Antal, M.; Nógrády, N.; Kiss, I. "Novel PCR Assay for Identification of Salmonella Enterica Serovar Infantis"; J. Lett. Appl. Microbiol. 2007, 45, 421–425.

[23] Rahn, K.; DeGrandis, S.; Clarke, R.; Mcewen, S. "Amplification of an invA Gene Sequence of Salmonella Typhimurium by Polymerase Chain Reaction as a Specific Method of Detection of Salmonella"; Mol. Cell. Probe. 1992, 6, 271-279.

[24] Rob, L.; Andrew, H.; Peter. C. "Risk Profile: Salmonella (Non Typhoid) in Poultry (Whole and Pieces) October Prepared as Part of a New Zealand Food Safety Authority Contract for Scientific Services"; MPI Technical Paper, 2011.

[25] Keener, K. M.; Bashor, M. P.; Curtis, P. A.; Sheldon, B. W.; Kathariou, S. "Comprehensive Review of Campylobacter and Poultry Processing"; Compr. Rev. Food. Sci. F. 2006, 3, 105-116.

[26] European Food Safety Authority—EFSA. "The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-Borne Outbreaks in 2009"; www.efsa.europa.eu/en/ fsajournal/pub/2090.htm, 2011.

[27] Muth, M. K.; Fahimi, M.; Karns, S. A. "Analysis of Salmonella Control Performance in U.S. Young Chicken Slaughter and Pork Slaughter Establishments"; J. Food. Prot. 2009, 72, 6–13.

[28] Akbarian, R.; Peighambari, S. M.; Barin, A. "Serologic Profile of Salmonella enteritidis in Poultry Flocks of IRAN"; J. Vet. Res. 2009, 64, 109-113.

[29] Shaigannia, S.; Rostami, F.; Safarpour Dehkordi, F.; Rahimi, E.; Yahaghi, E.; Khodaverdi Darian, E.; Moghadam, M. B. "Isolation and Evaluation Virulence Factors of Salmonella Typhimurium and Salmonella Enteritidis in Milk and Dairy Products"; Iran. J. Med. Microbiol. 2014, 8, 54-61.

[30] Hemmatzadeh, F.; Salemi, A. "Introduction of Salmonella-Isolates from Human and Animal Cases with Epidemiological Attitude towards Salmonellosis In Chahar-Mahal Akhtiyari State"; J. Vet. Res. 1995, 49, 83-91.

[31] Haghbin Nazarpak, H.; Firozi, S.; Asgari Badoii M. "Evaluation of Contamination Rate of Sparrows in Industrial Fields Rearing Broilers by Salmonella Serovers in Babol"; Vet. Microbiol. 2010, 7, 11-16.