مقایسه میزان آلودگی به *اشریشیا کلی* در گوشت مرغ پرورش یافته در شرایط عادی و بدون آنتی بیوتیک

سعید دهقانی قهفرخی[۱]، مجید غلامی آهنگران[۲*]، ابراهیم رحیمی[۳]

۱. دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲. بخش بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۳. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

***نویسنده مسئول**: *mgolamia1388@yahoo.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۲۰

چکیده

وجود بقایای آنتی بیوتیکی و سایر ترکیبات شیمیایی در گوشت مرغ یکی از اصلی‌ترین نگرانی مصرف کنندگان این منبع پروتئینی است. در این مطالعه به منظور بررسی ارتباط بین مصرف آنتی بیوتیک و آلودگی گوشت مرغ، در تابستان ۱۳۹۳، ۱۰ مرغداری واقع در استان اصفهان که به شکل عادی اقدام به پرورش جوجه گوشتی کرده بودند و نیز ۵ فارم پرورش جوجه گوشتی بدون مصرف آنتی بیوتیک از ابتدای دوره پرورش پایش شدند. در پایان دوره پرورش، در مرحله کشتار، از یک قطعه عضله سینه مرغ و محتویات کامل یک سکوم نمونه گیری شد. درصد آلودگی به *اشریشیا کلی* در عضلات و شمارش تعداد کلنی *اشریشیا کلی* در محتویات سکومی در دو گروه پرورش یافته در شرایط عادی و بدون آنتی بیوتیک محاسبه شد و به ردیابی *اشریشیا کلی* مولد شیگاتوکسین با PCR پرداخته شد. هم‌چنین، میزان آلودگی گوشت و تعداد کلنی *اشریشیا کلی* در محتویات سکومی فارم‌های با سابقه کلی باسیلوز و بدون سابقه رخداد کلی باسیلوز نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد درصد آلودگی گوشت به *اشریشیا کلی* و تعداد کلنی *اشریشیا کلی* در محتویات سکومی در دو گروه پرورش یافته در شرایط عادی و بدون آنتی بیوتیک تفاوت معنی دار ندارد اما این شاخص‌ها در مرغ‌های با سابقه کلی باسیلوز به طور معنی دار بیشتر از مرغ‌های بدون سابقه کلی باسیلوز است ($P<0.05$). در این مطالعه سویه *اشریشیاکلی* مولد شیگاتوکسین ردیابی نشد. بطورکلی، این مطالعه نشان داد آلودگی میکروبی در مرغ‌هایی که منجر به مصرف آنتی بیوتیک می شود می تواند بر کیفیت بهداشتی گوشت تأثیر بگذارد لذا لازم است ضمن رعایت زمان پرهیز از مصرف آنتی بیوتیک‌ها، دوره پرهیز از مصرف گوشت بعد از عفونت‌های باکتریایی به منظور کاهش اجرام میکروبی و جلوگیری از انتقال آن‌ها به زنجیره غذایی انسان مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: *اشریشیا کلی*، آنتی بیوتیک، گوشت مرغ.

مقدمه

باکتری *اشریشیا کلی* جزء فلور طبیعی دستگاه گوارش است و تمام پرندگان و حیوانات خون‌گرم به طور معمول این باکتری را از طریق مدفوع دفع می‌نمایند. در هر گرم مدفوع پرندگان حدود یک میلیون باکتری *اشریشیا کلی* وجود دارد که حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد این باکتری‌ها بیماری‌زا هستند (Nolan et al., 2013). متأسفانه در فرایند خارج سازی امعاء و احشا پس از کشتار پرندگان، آلودگی گوشت با باکتری‌های بیماری‌زای دستگاه گوارش مانند *اشریشیا کلی* اجتناب ناپذیر است. سروتیپ‌های تولید کننده شیگاتوکسین که مهم‌ترین آن‌ها سروتیپ O157 می باشد می‌تواند باعث اسهال و کولیت خونریزی دهنده در انسان شوند و زندگی انسان را از طریق ایجاد سندرم اورمیک خونریزی دهنده و پورپورای ترومبوتیک ترومبوسیتوپنیک به خطر بیندازند. اگرچه درصد آلودگی گوشت طیور نسبت به *اشریشیا کلی* توکسین‌زا در جوامع مختلف بسیار پایین ارزیابی شده است (Mead, 2004) اما گزارشاتی از رخداد بیماری با سروتیپ-های فاقد ژن شیگاتوکسین نیز در انسان وجود دارد (Schmidt et al., 1999). لذا با توجه به احتمال رخداد

بیماری‌های ذکر شده در انسان، پیش‌گیری و کنترل این آلودگی واجد اهمیت ویژه است. مطالعات نشان داده است امکان تجمع این باکتری در مخاط و محتویات سکومی وجود دارد (Mead, 2004). به نظر می‌رسد استفاده از رژیم‌های خاص غذایی و دارویی می تواند جمعیت بار میکروبی دستگاه گوارش پرندگان را تحت تأثیر قرار دهد و در بهداشت و سلامتی طیور و بطور غیر مستقیم در بهداشت و سلامتی انسان موثر باشد. آنتی بیوتیک‌ها در کنترل مشکلات عفونی طیور به وفور در صنعت پرورش طیور استفاده می گردند. مطالعات نشان داده است که استفاده از آنتی بیوتیک‌ها به عنوان محرک رشد می تواند جمعیت مفید را افزایش و جمعیت مضر دستگاه گوارش را کاهش دهد. اگرچه مصرف آنتی بیوتیک‌ها مزایای زیادی در صنعت پرورش طیور دارد و به عنوان محرک رشد، پیشگیری و درمان بیماری‌های عفونی استفاده می شود اما استفاده از این ترکیبات شیمیایی می تواند مشکلات عدیده ای را در مصرف کنندگان گوشت طیور ایجاد کند به طوری که بقایای آنتی بیوتیک‌ها در گوشت مرغ منجر به ایجاد واکنش‌های افزایش حساسیت، اختلالات متابولیکی، مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها و جهش زایی در انسان می گردد. از آنجایی که امروزه بیشتر از آنتی بیوتیک‌ها برای کنترل عفونت‌های میکروبی استفاده می شود مصرف آنتی بیوتیک‌ها در گله-های مبتلا شده به بیماری‌های عفونی می‌تواند وضعیت آلودگی لاشه و گوشت را تغییر دهد. لذا در این بررسی سعی شده است میزان آلودگی گوشت مرغ در فارم‌های پرورش بدون آنتی بیوتیک و فارم‌های پرورش یافته در شرایط عادی و با تاریخچه ابتلا به کلی باسیلوز مورد مقایسه قرار گیرد.

مواد و روش کار

نمونه گیری

در تابستان ۱۳۹۳، به مدت ۶ ماه، ۱۰ عدد مرغداری واقع در استان اصفهان، که به شکل عادی پرورش جوجه گوشتی داشتند پایش شدند و اطلاعات پایه شامل تغذیه، نوع و زمان رخداد بیماری‌ها و داروهای مصرفی در طول دوره پرورش ثبت شد. سپس در پایان دوره پرورش در محیط کشتارگاه به ازای هر فارم ۱۰ قطعه پرنده به شکل تصادفی نمونه گیری شد. در همین بازه زمانی با کسب اطلاع قبلی از ۵ فارم پرورش مرغ بدون آنتی بیوتیک نیز با شرایط ذکر شده نمونه گیری شد. نمونه‌ها شامل یک قطعه عضله سینه مرغ و محتویات کامل یک سکوم بود که پس از تخلیه امعا و احشا اقدام به نمونه گیری شد. نمونه‌ها در ظروف مجزا جمع آوری شد و در کنار یخ منتقل گردید.

شناسایی *اشریشیا کلی*

به منظور شناسایی باکتری *اشرشیا کلی* در نمونه مورد نظر با سواب یا آنس استریل در کنار شعله با تلقیح بر روی نمونه مورد نظر بر روی محیط کشت مک کانکی بصورت خطی کشت داده می‌شود و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری می شود. در صورت رویت شدن پرگنه‌های لاکتوز مثبت (صورتی رنگ)، از پرگنه‌های مشکوک بر روی محیط EMB به صورت خطی کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد انکوبه می‌شود. پرگنه‌های لاکتوز مثبت که بر روی محیط EMB ایجاد جلای سبز فلزی نموده اند به صورت اولیه به عنوان باکتری *اشریشیا کلی* شناسایی می‌گردند. سپس بر روی این پرگنه‌ها تست‌های افتراقی IMVIC انجام می‌شود. در صورتی که از لحاظ تست‌های بیوشیمیایی تولید ایندول، احیای متیل رد،VP و احیای سیترات به صورت مثبت، مثبت، منفی، منفی باشند به عنوان *اشریشیا کلی* شناسایی می‌گردند (Feng et al., 2002).

شمارش *اشریشیا کلی*

۲۵ گرم از نمونه مورد آزمایش را در یک کیسه استریل انداخته و به ان ۲۲۵ میلی لیتر اب پپتونه اضافه می‌کنیم و به مدت ۳ تا ۵ دقیقه خوب بهم می‌زنیم. سپس از لوله‌های

ازمایش سریال رقت یک به ده تهیه می کنیم. برای هر یک از رقت‌ها دو پلیت خالی استریل در نظر می‌گیریم و با همان شماره‌های مربوط به لوله‌های متناظر کد گذاری می‌کنیم. از هر رقت یک میلی لیتر به هر پلیت اضافه نموده و ۲۵ میلی لیتر محیط کشت مک کانگی ذوب شده اضافه نموده و پلیت‌ها را در کنار شعله به صورت دورانی چرخش می‌دهیم تا مورد داخل پلیت با محیط کشت مخلوط و یکنواخت شود. پلیت‌های کشت شده را در ازمایشگاه به حال خود رها نموده تا محیط درون آن‌ها سفت شود سپس به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری می‌کنیم و کلنی‌های لاکتوز مثبت را شمارش کرده و در رقت مربوطه ضرب کرده و به صورت تعداد کلنی به ازای هرگرم نمونه گزارش می‌گردد (Feng et al., 2002). به منظور تایید کلنی‌های لاکتوز مثبت بر روی محیط مک کانکی به عنوان *اشریشیا کلی*، از ۵ کلنی مشکوک به محیط EMB انتقال داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری می‌کنیم. علاوه بر آن پرگنه‌های مشکوک به *اشریشیا کلی* را از لحاظ تست‌های افتراقی IMVIC نیز مورد بررسی قرار می‌دهیم. پرگنه‌های لاکتوز مثبت صورتی که در محیط EMB ایجاد جلای سبز فلزی کنند و از لحاظ اندول و MP مثبت باشند و از لحاظ VP و احیای ستیرات منفی باشند به عنوان *اشریشیا کلی* شناسایی می‌گردند (Feng et al., 2002).

شناسایی *اشریشیا کلی* مولد شیگاتوکسین

بعد از شناسایی و تأیید اشریشیا کلی، به طور تصادفی از یک تا سه پرگنه جدا شده برای شناسایی *اشریشیا کلی* مولد شیگاتوکسین استفاده شد و به مدت یک شبانه روز در محیط LB براث در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس با جوشاندن به مدت ۱۰ دقیقه و سانتریفوژ در دور ۱۰۰۰۰ به مدت یک دقیقه DNA استخراج شد. محلول رویی به عنوان DNA الگو در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. (Gholami-Ahangaran and Zia-Jahromi, 2014). به منظور سنتز cDNA، ۵ میکرولیتر DNA استخراج شده باکتری به مخلوط واکنش در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر اضافه شد. مخلوط واکنش شامل شامل یک میکرولیتر از هر پرایمر (با غلظت ۲۵ پیکومول) (CinnaGen, Iran)، یک میکرولیتر از هر dNTP (با غلظت ۰/۲ میلی مول) (Fermentase)، ۵ میکرولیتر ۱۰X PCR buffer ، ۲ میکرولیتر Mgcl2 (با غلظت ۵۰ میلی مول) و ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq Polymerase (۱ واحد در هر میکرولیتر) (Fermentase) بود (Gholami-Ahangaran and Zia-Jahromi, 2014). برای شناسایی ژن‌های شیگاتوکسین ۱ و۲ *اشریشیا کلی* از زوج پرایمرهای منتشر شده استفاده شد (Blanco et al., 2004). توالی پرایمرهای مورد استفاده، دمای Annealing و اندازه قطعه تکثیر شده در جدول ۱ آمده است. محصول تکثیر شدهٔ نهایی به روش الکتروفورز در ژل آگارز ۱٪ رنگ شده با اتیدیوم بروماید، با تابش اشعه UV مشاهده شد.

جدول ۱- اختصاصات پرایمرهای مورد استفاده

ژن	پرایمر	توالی پرایمر	طول محصول PCR	دمای ذوب پرایمر	
Stx1	Vt1	CGC TGA ATG TCA TTC GCT CTG C	۳۰۲	۵۵	Blanco et al., 2004
	Vt2	CGT GGT ATA GCT ACT GTC ACC			
Stx2	Vt1	CCT CGG TAT CCT ATT CCC GG	۵۱۶	۵۵	
	Vt2	CTG CTG TGA CAG TGA CAA AAC GC			

آنالیز آماری

برای بررسی اختلاف میانگین داده‌ها از آزمون بررسی اختلاف واریانس یک‌طرفه داده‌ها استفاده شد و در صورت وجود اختلاف برای بررسی میزان اختلاف از آزمون آماری توکی استفاده شد. جهت بررسی ارتباط بین پارامترهای مورد بررسی از آزمون آماری نیکویی برازش (کا دو) استفاده شد. داده‌ها با نرم افزارSigma State 2.0 و با ضریب اطمینان $p<0.05$ بررسی شده و به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند.

نتایج

میزان آلودگی گوشت

الف- میزان آلودگی به *اشریشیا کلی* در گوشت مرغ بدون آنتی بیوتیک و مرغ پرورش یافته در شرایط عادی

متوسط میزان آلودگی گوشت مرغ‌های پرورش یافته در شرایط عادی و بدون آنتی بیوتیک، به ترتیب ۴۰ و ۲۸ درصد است که مقایسه درصد آلودگی به *اشریشیا کلی* در گوشت مرغ بدون آنتی بیوتیک و مرغ پرورش یافته در شرایط عادی نشان می دهد هیچ گونه اختلاف معنی دار بین دو گروه مورد مطالعه وجود ندارد ($P = 0.122$).

ب- میزان آلودگی به *اشریشیا کلی* در گوشت مرغ عادی با و بدون سابقه بیماری کلی باسیلوز

درصد آلودگی گوشت مرغ پرورش یافته با سابقه بیماری کلی باسیلوز و بدون سابقه کلی باسیلوز، به ترتیب ۴۸ و ۳۲ درصد است که مقایسه درصد آلودگی به *اشریشیا کلی* در گوشت مرغ عادی با و بدون سابقه بیماری کلی باسیلوز نشان می دهد آلودگی گوشت در مرغ های با سابقه بیماری کلی باسیلوز به طور معنی‌دار بیشتر است ($P=0.049$).

تعداد کلنی *اشریشیا کلی* در محتویات سکومی

الف- تعداد کلنی *اشریشیا کلی* در محتویات سکومی در مرغ بدون آنتی بیوتیک و مرغ عادی

تعداد کلنی‌های اشریشیا کلی در محتویات سکومی مرغ‌های پرورش یافته در شرایط بدون آنتی بیوتیک و شرایط عادی، به ترتیب ۵/۲ و ۶/۷ است که مقایسه درصد تعداد کلنی *اشریشیا کلی* در محتویات سکومی در مرغ بدون آنتی بیوتیک و مرغ عادی نشان می دهد هیچ گونه اختلاف معنی‌دار بین دو گروه مورد مطالعه وجود ندارد ($P=0.053$).

ب- تعداد کلنی *اشریشیا کلی* در محتویات سکومی در مرغ عادی با و بدون سابقه بیماری کلی باسیلوز

تعداد کلنی‌های اشریشیا کلی در محتویات سکومی مرغ های با سابقه کلی باسیلوز و بدون سابقه کلی باسیلوز، به ترتیب ۷/۶ و ۵/۸ است که مقایسه تعداد کلنی *اشریشیا کلی* در محتویات سکومی در مرغ عادی با و بدون سابقه بیماری کلی باسیلوز نشان می دهد آلودگی گوشت در مرغ های با سابقه بیماری کلی باسیلوز به طور معنی دار بیشتر است ($P=0.042$).

ارتباط بین مصرف آنتی بیوتیک و آلودگی گوشت مرغ

آنالیز داده‌ها نشان می دهد در ۴۰ مورد مصرف آنتی بیوتیک و آلودگی گوشت وجود دارد درحالی‌که در ۱۴ مورد بدون مصرف آنتی بیوتیک آلودگی گوشت وجود داشته است. علاوه بر آن، در ۶۰ مورد با سابقه مصرف آنتی بیوتیک آلودگی گوشت وجود نداشته و در ۳۶ مورد بدون سابقه مصرف آنتی بیوتیک آلودگی وجود نداشته است. به‌طور کلی، آنالیز داده ها نشان می دهد ارتباطی بین مصرف آنتی بیوتیک و آلودگی گوشت مرغ وجود ندارد ($P=0.20$).

ارتباط بین سابقه رخداد کلی باسیلوز و آلودگی گوشت مرغ

آنالیز داده‌ها نشان می دهد در ۲۴ مورد رخداد کلی باسیلوز و آلودگی گوشت وجود دارد درحالی‌که در ۱۴ مورد بدون سابقه کلی باسیلوز آلودگی گوشت وجود داشته است. علاوه بر آن، در ۲۶ مورد با سابقه کلی باسیلوز، آلودگی گوشت وجود نداشته و در ۳۴ مورد بدون سابقه کلی باسیلوز آلودگی وجود نداشته است. آنالیز داده ها نشان می دهد

ارتباطی بین رخداد کلی باسیلوز و آلودگی گوشت مرغ وجود ندارد (P=0.64).

ردیابی *اشریشیا کلی* مولد شیگاتوکسین

الکتروفورز محصولات PCR نشان داد که قطعات ۳۰۲ و ۵۱۶ جفت بازی مربوط به ژن شیگاتوکسین ۱ و ۲ در هیچ نمونه مورد آزمایش تکثیر نشده و لذا هیچ کدام از سویه‌های اشریشیا کلی جدا شده از گوشت بدون آنتی بیوتیک و مرغ عادی مربوط به تیپ مولد شیگاتوکسین نبودند.

بحث

در بین پروتئین‌های حیوانی، گوشت طیور در بین مصرف کنندگان از جایگاه خاصی برخوردار است. گوشت طیور منبع غنی از پروتئین، آهن، فسفر و ویتامین D است. قیمت پایین تر و چربی کمتر این منبع پروتئینی در مقایسه با سایر پروتین‌های حیوانی باعث مصرف گسترده تر آن شده است (North and Bell, 1990). آنتی بیوتیک‌ها بطور گسترده به منظور پیشگیری ، درمان و محرک رشد درصنعت پرورش دام و طیور استفاده می شوند. یکی از معضلات اساسی در استفاده از آنتی بیوتیک‌ها وجود باقیمانده دارویی در گوشت و فرآورده های دام و طیور مورد مصرف انسان است که می تواند منجر به جهش و متعاقباً سرطان زایی، ناقص الخلقه زایی و مقاومت دارویی و آلرژی شود (Mead, 2004). از مهمترین آلاینده های شیمایی مواد غذایی که از اهمیت بالایی در سلامت انسان برخوردار است باقیمانده های آنتی بیوتیکی در مواد غذایی هستند که متاسفانه استفاده از این ترکیبات به طور روز افزون در صنعت دامپروری و پرورش طیور رشد داشته است به‌طوری‌که عدم نظارت کافی بر مصرف آنتی بیوتیک‌ها منجر به مصرف خودسرانه و افسار گسیخته دارو با دوزهای بالا و عدم رعایت دوره پرهیز از مصرف داروها شده است. لذا اخیراً علاقه مصرف کنندگان به استفاده از مرغ بدون آنتی بیوتیک افزایش یافته است چراکه تصور می شود این محصولات سالم‌تر هستند و امنیت مصرف بالاتری نسبت به محصولات عادی دارند. (غلامی آهنگران و همکاران، ۱۳۹۴).

از طرف دیگر یکی از چالش‌های عمده بهداشتی محصولات طیور، آلودگی گوشت و فرآورده‌های آن با انواع میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و مولد فساد است. اگر شرایط کشتار، فرآوری، حمل و نگهداری گوشت مناسب نباشد باکتری‌های مولد فساد و بیماریزا به سرعت رشد کرده و باعث افت کیفیت گوشت می‌شوند و سلامت و بهداشت عمومی نیز در معرض خطر قرار می‌گیرد. بنابراین رهیافت هایی که بتواند بار میکروبی گوشت و فرآورده‌های جانبی آنرا در فرآیند کشتار، بسته بندی و عرضه کاهش دهد می‌تواند باعث افزایش کیفیت بهداشتی گوشت و در نتیجه باعث افزایش مدت نگهداری گوشت گردد (زین الدینی و همکاران، ۱۳۹۵). اگرچه استفاده از محصولات بدون آنتی بیوتیک می تواند تا حدودی نگرانی مربوط به بقای آنتی بیوتیکی و انتقال ژن‌های مربوط به مقاومت آنتی بیوتیکی در فرآورده‌های گوشتی را برطرف کند (غلامی آهنگران و همکاران، ۱۳۹۴) اما تاکنون مطالعات مدونی درخصوص وضعیت میکروبی محصولات بدون آنتی بیوتیک و مقایسه آن‌ها با فرآورده‌های عادی صورت نگرفته است لذا در مطالعه اخیر به مقایسه بار میکروبی دستگاه گوارش و درصد آلودگی لاشه مرغ در دو حالت پرورش در شرایط عادی و مرغ بدون آنتی بیوتیک پرداخته شده است. نتایج مطالعه اخیر نشان می دهد درصد آلودگی گوشت در پرورش مرغ بدون آنتی بیوتیک ۲۸٪ و در شرایط عادی ۴۰٪ است که بدنبال آنالیز آماری، تفاوت معنی دار بین این دو مشاهده نمی شود. از آنجایی که آلودگی گوشت می تواند ناشی از میزان آلودگی دستگاه گوارش باشد عدم تفاوت معنی دار در جمعیت *اشریشیا کلی* سکوم می تواند این عدم وجود تفاوت معنی دار را توجیه کند. در ارتباط با مقایسه آلودگی گوشت طیور بدون آنتی بیوتیک و عادی معدود گزارشاتی در دسترس

است و عمده مطالعات بر روی سالمونلا و کمپیلوباکتر متمرکز شده است. طبق اطلاعات موجود گزارشی در ارتباط با مقایسه آلودگی گوشت مرغ در دو گروه مرغ بدون آنتی بیوتیک و پرورش یافته در شرایط عادی وجود ندارد اما این عدم وجود اختلاف آماری در مطالعه اخیر، گاهاً در مورد سالمونلا نیز مشاهده شده است به طوریکه Lestari و همکاران به مقایسه میزان آلودگی در گوشت مرغ ارگانیک و شرایط عادی در ایالت لویزیانای آمریکا پرداختند و نشان دادند که درصد آلودگی *سالمونلا* در شرایط ارگانیک و عادی با هم تفاوت ندارد (Lestari et al., 2009). هم چنین، Mollenkopf و همکاران در سال ۲۰۱۴ با بررسی ۲۳۱ عضله سینه بسته بندی شده و عرضه شده در ایالت‌های اهایو، میشیگان و پنسیلوانیا به عدم وجود اختلاف آماری در درصد آلودگی عضلات با *سالمونلا* در سیستم پرورشی ارگانیک، بدون آنتی بیوتیک و شرایط عادی اشاره کرده است (Mollenkopf et al., 2014). به هر حال گزارشات متضادی در خصوص آلودگی بیشتر *سالمونلا* در محصولات طیور بدون آنتی بیوتیک (Zhang et al., 2011) و حتی مرغ ارگانیک (Cui et al., 2005) و نیز پرورش آزاد (Bailey et al., 2005) و گاهی برعکس (Alali et al., 2010) وجود دارد. اگرچه در بیشترگزارشات به مقایسه وضعیت آلودگی سالمونلا پرداخته شده است اما از آنجایی که *اشریشیا کلی* بیماریزا برای دستگاه گوارش و بیماری زای خارج گوارشی با منشا طیور در سلامت انسان حایز اهمیت است مطالعه اخیر اختصاصاً در مورد آلودگی *اشریشیا کلی* انجام شده است که برای اولین بار به بررسی آلودگی گوشت مرغ بدون آنتی بیوتیک و طیور پرورش یافته در شرایط عادی پرداخته است. بررسی ارتباط بین مصرف آنتی بیوتیک و آلودگی لاشه در مطالعه اخیر نشان داد که هیچ رابطه معنی دار بین مصرف آنتی بیوتیک در دوره پرورش و وجود آلودگی اشریشیا کلی در گوشت مرغ وجود ندارد به عبارتی آلودگی گوشت مرغ با *اشریشیا کلی* در فرایند کشتار به دلیل آلودگی های متقاطع و گاها تماس با محتویات گوارشی امری اجتناب ناپذیر است و ربطی به مصرف یا عدم مصرف انتی بیوتیک در طول پرورش ندارد. به عبارتی آلودگی با *اشریشیا کلی* حتی در سیستم های پرورش بدون آنتی بیوتیک نیز به عنوان یک دغدغه و نگرانی بهداشتی گوشت طیور مطرح است. علاوه بر آن بررسی ارتباط رخداد بیماری کلی باسیلوز و آلودگی گوشت مرغ نیز نشان می دهد در بین این دو پارامتر ارتباطی وجود ندارد به عبارتی صرف نظر از اینکه در طول دوره پرورش آلودگی کلی باسیلوز رخ داده باشد یا نه امکان آلودگی لاشه با *اشریشیاکلی* وجود دارد اما با توجه به درصد بالاتر آلودگی لاشه در گله های با سابقه بیماری کلی باسیلوز می توان بیان کرد که احتمال آلودگی لاشه در گله هایی که سابقه بیماری کلی باسیلوز دارند بیشتر است. به منظور بررسی وضعیت آلودگی *اشریشیا کلی* وروتوکسوژنیک در سویه های جدا شده از لاشه مرغ‌های بدون آنتی بیوتیک و پرورش یافته در شرایط عادی، از تکنیک حساس و دقیق PCR استفاده شد. نتایج مطالعه اخیر نشان داد که در هیچ مورد از ۱۵۰ مورد اشریشیا کلی جدا شده از ۱۵ فارم مرغ بدون آنتی بیوتیک و عادی، ژن‌های تولیدکننده شیگاتوکسین ردیابی نشد و در هر دو دسته مرغ با و بدون آنتی بیوتیک از لحاظ وضعیت *اشریشیا کلی* مولد شیگاتوکسین تفاوتی دیده نمی شود. در مورد ردیابی *اشریشیا کلی* توکسوژنیک در مدفوع مرغ ، گوشت گرم، محصولات جانبی مرغ، گوشت بسته بندی شده، محصولات آماده طبخ و حتی غذاهای با منشا طیور مطالعات متعددی انجام شده است. در ۹ مطالعه که با روش‌های معمول باکتری شناسی و ژنومی به تشخیص *اشریشیا کلی* توکسوژنیک پرداخته شده است هیچ گونه شواهدی از وجود این باکتری در مدفوع مرغ، گوشت گرم، محصولات جانبی و محصولات آماده طبخ وجود ندارد (Heuvelink et al., 1996; Heuvelink et al., 1999;

Chapman et al., 1997; Bohaychuk et al., 2006) و تنها در دو گزارش شواهدی از وجود *اشریشیا کلی* توکسوژنیک با منشا مرغ یافت شده است به طوری که Doyl & Schoeni در سال ۱۹۸۷ توانستند در ۱/۵ ٪ از ۲۶۳ مورد گوشت بسته بندی شده طیور کانادا O157H7را ردیابی کنند (Doyl and Schoeni, 1978). همچنین Suthienkul و همکاران در سال ۱۹۹۰ فقط در یک مورد از ۱۰۷ مورد غذای آماده با منشا مرغ ژن شیگاتوکسین ۱ و ۲ را ردیابی کردند (Suthienkul et al., 1990). لذا در این دو گزارش مثبت، تشخیص *اشریشیا کلی* توکسوژنیک مربوط به گوشت بسته بندی شده مرغ و غذای با منشا طیور بوده است که در هر دو حالت ممکن است این فرآورده‌های مربوط به گوشت مرغ در طی مراحل آماده سازی و فرآوری در اثر آلودگی‌های متقاطع آلوده شده باشند. به هرحال مرور مطالعات قبلی نشان می دهد عدم وجود *اشریشیا کلی* توکسوژنیک در مرحله کشتار و قبل از چیلر یافته غیر منتظره نیست و با اکثر مطالعات قبلی هم خوانی دارد و هم راستا است .لذا به نظر می رسد اگرچه اکثر گزارشات از آلودگی گوشت و مدفوع نشخوارکنندگان با *اشریشیا کلی* توکسوژنیک وجود دارد اما احتمال بسیار پایین آلودگی گوشت مرغ و احیانا آلودگی متقاطع گوشت مرغ با مدفوع نیز وجود دارد به طوریکه Beery و همکاران بیان کردند *اشریشیا کلی* O157H7 به عنوان یکی از سروتیپ های *اشریشیا کلی* توکسوژنیک می تواند در سکوم جوجه‌ها کلونیزه شود و هر چند ماه یکبار از طریق مدفوع دفع گردد (Beery et al., 1985).

از آنجایی که ۵ گله‌های کشتار شده در شرایط عادی در طی دوره پرورش در سن ۴۰-۳۰ روزگی آلوده به کلی باسیلوز بودند مقایسه جمعیت *اشریشیا کلی* سکوم در گله‌های آلوده با کلی باسیلوز و غیر آلوده نشان داد که گله‌های با سابقه کلی باسیلوز به طور معنی دار جمعیت *اشریشیا کلی* سکوم و درصد آلودگی لاشه بیشتری نسبت به جوجه هایی داشتند که سابقه کلی باسیلوز نداشتند. طبق اطلاعات موجود، هیچ گونه گزارش مشابهی در تایید یا رد این یافته وجود ندارد. بهر حال این یافته که جمعیت *اشریشیا کلی* دستگاه گوارش در جوجه های آلوده به کلی باسیلوز به طور معنی دار بالاتر است مشخص نیست که به صورت ثانویه به دنبال کلی باسیلوز رخ داده است یا به شکل اولیه جمعیت بالای *اشریشیا کلی* دستگاه گوارش منجر به بیماری گردیده است. اگرچه تقدم و تاخر این دو مقوله مشخص نیست و نیاز به مطالعات تجربی دارد اما این نکته حایز اهمیت است که گوشت‌های فرآوری شده از مرغ‌های آلوده به کلی باسیلوز آلودگی بالاتری در مقایسه با مرغ‌های غیر آلوده دارند. بطور کلی این مطالعه نشان داد که آلودگی به *اشریشیا کلی* در گوشت مرغ بدون آنتی بیوتیک و پرورش یافته در شرایط عادی تفاوتی ندارد اما به نظر می رسد آلودگی‌های میکروبی در گله‌هایی که منجر به مصرف آنتی بیوتیک می شود می تواند بر کیفیت بهداشتی لاشه‌ها تأثیر بگذارد لذا لازم است ضمن رعایت زمان پرهیز از مصرف آنتی بیوتیک‌ها، دوره پرهیز از مصرف گوشت بعد از عفونت‌های باکتریایی به منظور کاهش اجرام میکروبی و جلوگیری از انتقال اجرام مقاوم به زنجیره غذایی انسان مد نظر قرار گیرد.

منابع

۱. زین الدینی، ا.، غلامی آهنگران، م. و رحیمی ا. (۱۳۹۵). ارزیابی جمعیت *اشریشیا کلی* روده و گوشت مرغ با اضافه سازی آویشن و دارچین به خوراک طیور. مجله میکروب شناسی مواد غذایی، سال دوم، شماره ۶، صفحه ۴۷-۳۹.

۲. غلامی آهنگران، م.، قاسمی پیربلوطی، ع.، فراست، م. و فصیحی، خ. (۱۳۹۴). مطالعه اثر ضدمیکروبی برخی از عصاره های گیاهی روی *اشریشیا کلی* جداشده از موارد کلی باسیلوز طیور. نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی، دوره ۱۱، شماره اول، پیاپی ۳۰، صفحه ۱۰-۱.

3. Alali, W.Q., Thakur, S., Berghaus, R.D., Martin, M.P. and Gebreyes, W.A. 2010. Prevalence and distribution of *Salmonella* in organic and conventional broiler poultry farms. Foodborne Path Dis. 7(11):1363-1371.

4. Bailey, J.S. and Cosby, D.E. 2005. *Salmonella* prevalence in free-range and certified organic chickens. J Food Prot 68(11): 2451–2453.

5. Beery, J.T., Doyle, M.P. and Schoeni, J.L. 1985. Colonization of chicken cecae by *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. Appl Environ Microbiol. 49(2): 310-315.

6. Blanco, M., Padola, N.L., Krüger, A., Sanz, M.E., Blanco, J.E., González, E.A., Dahbi, G., Mora, A., Bernárdez, M.I., Etcheverría, A.I., Arroyo, G.H., Lucchesi, P.M.A., Parma, A.E. and Blanco, J. 2004. Virulence genes and intimin types of shiga-toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle and beef products in Argentina. Int Mic. 7(4): 269-276.

7. Bohaychuk, V.M., Gensler, G.E., King, R.K., Manninen, K.I., Sorensen, O., Wu, J.T., Stiles, M.E. and McMullen, L.M. 2006. Occurrence of Pathogens in Raw and Ready-to-Eat Meat and Poultry Products Collected from the Retail Marketplace in Edmonton, Alberta, Canada. J Food Prot. 9(7): 2176-2182.

8. Chapman, P.A., Siddons, C.A., Gerdan-Malo, A.T. and Harkin, M.A. 1997. A 1-year study of *Escherichia coli* O157 in cattle, sheep, pigs and poultry. Epidemiol Infect. 119(2): 245–250.

9. Cui, S., Ge, B., Zheng, J. and Meng, J. 2005. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. and Salmonella serovars in organic chickens from Maryland retail stores. Appl Environ Microbiol. 71(7): 4108–4111.

10. Doyle, M.P. and Schoeni, J.L. 1987. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. Appl Environ Microbiol. 53(10): 2394–2396.

11. Feng, P., Weagant, S. and Grant, M. 2002. Bacteriological Analytical Manual. 8th edition, US FDA Centre for Food Safety and Applied Nutrition Publishing, Maryland, USA, 175.

12. Gholami-Ahangaran, M. and Zia-Jahromi N. 2014. Identification of shiga toxin and intimin genes in *Escherichia coli* detected from canary (*Serinus canaria domestica*). Toxicol Indt Health. 30(8): 724-727.

13. Heuvelink, A. E., Wernars, K. and de Boer, E. 1996. Occurrence of *Escherichia coli* O157 and Other Verocytotoxin-Producing *E. coli* in Retail Raw Meats in the Netherlands. J Food Prot. 12(6): 1267-1272.

14. Heuvelink, A.E., Zwartkruis-Nahuis, J.T.M., van den Biggelaar, F.L.A.M., van Leeuwen, W.J. and de Boer, E. 1999. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughter pigs and poultry. Int J Food Mic. 52(1–2): 67–75.

15. Lestari, S.I., Han, F., Wang, F. and Ge, F. 2009. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serovars in conventional and organic chickens from Louisiana retail stores. J Food Prot. 72(6): 1165–1172.

16. Mead, G.C. 2004. Microbiological quality of poultry meat: a review. Braz J Poult Sci. 7(3): 135-142.

17. Mollenkopf, D.F., Cenera, J.K., Bryant, E.M., King, C.A., Kashoma, I., Kumar, A., Funk, J.A., Rajashekara, G. and Wittum, T.E. 2014. Organic or Antibiotic-Free Labeling Does Not Impact the Recovery of Enteric Pathogens and Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli* from Fresh Retail Chicken. Foodborne Pathog Dis. 11(12): 920-929.

18. Nolan, L.K., Barnes, H.J., Vaillancourt, J.P., Abdul-Aziz, T. and Logue, C.M. 2013. Colibacillosis. In: Swayne, D.E., Glisson, J.R., McDougald, L.R., Venugopal, N., Nolan, L. (eds.), Disease of Poultry. 13th edition, Wiley-Blackwell, Massachusetts, pp. 751-807.

19. North, M.O., Bell, D.D. 1990. Commercial chicken production manual. 4th edition, Springer, New York, USA, 78.

20. Schmidt, H., Scheef, J., Huppertz, H.I., Frosch, M. and Karch, H. 1999. *Escherichia coli* O157:H7 and O157:H(-) strains that do not produce Shiga toxin: phenotypic and genetic characterization of isolates associated with diarrhea and hemolytic-uremic syndrome. J Clinic Mic. 37(11): 3491-6.

21. Suthienkul, O., Brown, J.E., Seriwatana, J., Tienthongdee, S., Sastravaha, S. and Echeverria, P. 1990. Shiga-like-toxin-producing *Escherichia coli* in retail meats and cattle in Thailand. Appl Environ Microbiol. 56(4): 1135–1139.

22. Zhang, J., Massow, A., Stanley, M., Papariella, M., Chen, X., Kraft, B. and Ebner, P. 2011. Contamination Rates and Antimicrobial Resistance in *Enterococcus* spp. *Escherichia coli*, and *Salmonella* Isolated from No Antibiotics Added–Labeled Chicken Products. Foodborne Pathog Dis. 8(11): 1147-1152.

The comparison of *Escherichia coli* contamination rate in meats of conventional chickens and without antibiotic chickens

Dehghani Ghahfarokhi S[1], Gholami Ahangaran M[2*], Rahimi E[3]

1. Graduated of Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2. Department of Poultry Diseases, Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
3. Department of Food Hygiene, Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

[*]**Corresponding author:** *mgolamia1388@yahoo.com*

Accepted: 14 September 2017 Received: 12 April 2017

Abstract

The residue of antibiotics and other chemical compounds in chicken meat is one of main concerns in consumers of this protein source. In this research, for study of correlation between antibiotic consumption and chicken meat contamination, in summer of 2014, 10 chicken farms in Isfahan province that reared under conventional condition and 5 chicken farms that reared broilers under without antibiotic consumption were monitored from start of growing period. At end of growing period, in slaughter stage, one piece of breast muscle and cecum content were sampled. The percentage of carcass contamination and number of *Escherichia coli* (*E.coli*) in cecal content were determined in chickens reared under conventional and without antibiotic condition. Also, the shigatoxogenic *E.coli* was examined by PCR. Furthermore, the carcass contamination and *E.coli* colony count in cecal content in chickens with or without colibacillosis background were determined. The results showed that the chicken meat contamination to *E.coli* and the *E.coli* population in cecal content in chickens reared under conventional condition were not significant different from chickens reared without antibiotic, while these indices in chickens with colibacillosis history were significant higher than chickens without colibacillosis history. In this study the shigatoxogenic *E.coli* was not detected. In overall, this study revealed microbial infection in chicken farms that lead to antibiotic consumption could decrease hygienic quality of chicken meat. Therefore, in addition to controlling of withdrawal time for antibiotic consumption, the withdrawal time for infections incidence must be observed for decrease the risk of transmission of pathogens along the food chain of human.

Keywords: *Escherichia coli*, chicken meat, antibiotic.