

جدا سازی برخی از باکتری های ایجاد کننده عفونت کیسه زرده در تعدادی از مرغداری های اطراف شهرستان مشهد

دکتر پژمان بهاری چهارده^۱ *، رویا جاجوندیان^۱، دکتر مهرناز راد^۲

چکیده

عفونت کیسه زرده یکی از بیماری های مهم در جوجه های گوشتی در سنین زیر ده روزگی می باشد و در بسیاری از مرغداری های کشور شایع است. لذا شناسایی عوامل ایجاد کننده و راه های پیشگیری آن اهمیت زیادی دارد. در پژوهش حاضر تعداد ۲۱۰ قطعه جوجه ی گوشتی زیر ده روز مبتلا به عفونت کیسه زرده از سی مرغداری اطراف مشهد که به شبکه دامپزشکی استان خراسان و کلینیک دانشکده دامپزشکی ارجاع داده شده بود مورد بررسی قرار گرفتند. از هر مرغداری ۷ قطعه جوجه انتخاب شدند و مواد زرده ای آنها بصورت مخلوط در محیط های کشت انتخابی و غنی کننده جهت شناسایی باکتری های خانواده انتروباکتریاسه ایجاد کننده عفونت کیسه زرده کشت داده شدند و سپس جهت تفکیک جنس های مختلف از محیط های کشت افتراقی استفاده گردید.

باکتری های جدا شده به تفکیک هر مرغداری تعیین گردیدند. از هیجده مرغداری ۶۰٪ اشیریشیا کلی و پروتئوس، از چهار مرغداری ۱۳،۳۳٪ اشیریشیا کلی و پروتئوس و سالمونلا، از سه مرغداری ۱۰٪ اشیریشیا کلی و پروتئوس و کلبسیلا، از یک مرغداری ۳،۳۳٪ اشیریشیا کلی و سودوموناس و از چهار مرغداری ۱۳،۳۳٪ اشیریشیا کلی به صورت خالص جدا گردیدند.

واژه های کلیدی: انتروباکتریاسه، عفونت کیسه زرده، جوجه گوشتی

مقدمه

عفونت کیسه زرده از متداول ترین علل مرگ جوجه در ده روز اول زندگی است که با تلفاتی بین ۵ تا ۱۰ درصد و حتی تا ۱۰۰ درصد نیز همراه است. با توجه به فقدان عروق خونی داخل کیسه زرده، سیستم ایمنی و حتی آنتی بیوتیک ها قادر به حذف باکتری هایی که در مراحل مختلف جوجه کشی سبب آلودگی تخم مرغ شده اند، نمی باشند. در نتیجه تکثیر باکتری ها و ورود آنها به خون، مرگ و میر شدید جوجه ها رخ می دهد (۲).

باکتری های مختلف از جمله: اشیریشیا کلی، پروتئوس، سودوموناس، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوک؛ کلبستریدیا

Isolation of some bacteria from yolk sac infection in some poultry houses in suburb of Mashhad

Bahary. P¹, Jajvandian.R¹, Rad.M²

1.School of veterinary medicine. Islamic Azad University. Branch of Bojnourd, Bajnord, Iran
2.School of veterinary medicine. Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Yolk sac infection is one of the important diseases in broiler chickens before 10 days old. Since the disease is prevalent in many flocks in Iran. The identification of causal agents and recognizing preventive and control methods are important.

A total of 210 chickens of 10 days old with yolk sac infection from 30 flocks in suburbs of Mashhad were experimented. Chickens were referred to the clinic of veterinary school and governmental clinic of Khorasan veterinary network. The combination of 7 yolk contents from each flock firstly were cultured into the enrichment and selective media for isolation of probable enterobacteriaceae, and then different genera were identified by using differential media. Isolated bacteria from each flock were: Escherichia coli and proteus from 18 flocks (60%), Escherichia coli, proteus and salmonella from 4 flocks (13.33%), Escherichia coli and klebsiella from three flocks (10%), Escherichia coli and pseudomonas from one flock (3.33%) and the Escherichia coli was isolated from 4 flocks as a pure culture (13.33%)

Key words: Enterobacteriaceae, yolk sac infection, broiler chicken

و... می توانند سبب عفونت کیسه زرده گردند که در این بین E. coli می تواند به عنوان عامل فرصت طلب ثانویه نیز وارد عمل شود. تحقیقات نشان داده اند که باکتری های گرم منفی در ایجاد عفونت نقش مهم تری ایفا می کنند (۳) (۷)، که می تواند به موارد زیر مرتبط باشد:

الف: دفاع ضد میکروبی تخم مرغ: باکتری های گرم منفی بر دفاع ضد میکروبی تخم مرغ غلبه می کنند، در صورتی که باکتری های گرم مثبت حساس تر می باشند (۸).
 لایه های پوششی تخم مرغ، نوعی دفاع مکانیکی در مقابل ورود باکتری ها ایجاد کننده ابتدا کوتیکول مانع ورود باکتری می شود. ضخامت این لایه در تخم مرغ های مختلف متفاوت است. سپس پوسته قرار دارد که بهترین مانع را ایجاد می کند و فقط از منافذ بزرگ آن باکتری ها می توانند وارد شده؛ غشاهای داخلی را آلوده نمایند (۴).

این نوع دفاع خاصیت باکتری کشی ندارد. از لحاظ دفاع شیمیایی آلبومین و ترکیبات آن نقش به سزایی ایفا می کنند که در این بین می توان به لیزوزیم، کن آلبومین (Conalbumin) و pH قلیایی آن اشاره داشت (۸)، لیزوزیم سبب حذف دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت می شود (۶) و کن آلبومین، آهن را از دسترس میکروارگانیسم ها خارج می کند.

pH آلبومین نیز در ابتدای تخم گذاری ۷/۶-۷/۹ است که بعد از مدتی به علت از دست رفتن دی اکسید کربن از ۹ بیشتر می شود که این pH برای بیشتر میکروارگانیسم ها غیر قابل تحمل است (۸). در این بین سرعت رشد بیشتر باکتری های گرم منفی نسبت به گرم مثبت را نیز نباید از نظر دور داشت (۱۴).

فاکتور دما نیز از جمله عواملی است که در غلبه ی باکتریایی نقش مهمی دارد به نحوی که در دمای ۲۲ درجه ی سانتی گراد غالب باکتری ها و سودوموناس در ۳۷ درجه ی سانتی گراد باکتری غالب را اشریشیا کلی تشکیل می دهد (۱۴).

از میان باکتری های گرم منفی می توان به خانواده مهم انتروباکتریاسه اشاره داشت که باکتری های هوازی یا بی هوازی اختیاری میله ای شکل و بدون هاگی را شامل می شوند که در محیط های کشت مصنوعی رشد مطلوبی دارند. گونه های متحرک دارای تازک های پری تریش اند.

این خانواده با تخمیر گلوکز تولید اسید و گاز کرده، واکنش اکسیداز منفی داشته و بجز موارد خواص کاتالاز تولید می کنند و در احیای نیترات به نیتريت نقش دارند (۲).

این باکتری ها بر اساس بیماری به سه گروه تقسیم می شوند:
 الف: هفده جنس با اهمیت ناشناخته

ب: پاتوژن های فرصت طلب شامل کلبسیلا، انتروباکتر، پروتئوس، سراتیا، ادواردسیلا، سیتروباکتر، مورگانلا، شیگلا

ج: پاتوژن های اصلی شامل سالمونلا، اشریشیاکلی و یرسینیا (۱۰).

مواد و روش کار

در این تحقیق، جوجه های گوشتی از ۳۰ مرغداری اطراف مشهد که به اداره کل دامپزشکی استان خراسان رضوی و کلینیک دانشکده دامپزشکی مشهد فرستاده شده بودند، مورد مطالعه قرار گرفتند. از هر مرغداری ۷ جوجه در سن زیر ۱۰ روز و مبتلا به عفونت کیسه زرده جهت کشت انتخاب شدند.

به منظور کشت مستقیم، پس از باز کردن لاشه، با اسکالپل داغ سطح کیسه زرده سوزانده شد و با پیپت پاستور استریل از هر جوجه مقداری از مواد زرده ای برداشته شد و به صورت مخلوط مبتلایان هر مرغداری در محیط مک کانکی و S.S آگار کشت داده شد. پس از ۱۸-۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه پرگنه های رشد یافته خالص سازی شدند و روی محیط کشت های تفریقی انتقال داده شد، نتایج به طور مستقل برای هر مرغداری در جداول مخصوص ثبت گردید. جهت جداسازی سالمونلا که احتیاج به یک محیط غنی کننده دارد از روش زیر استفاده شد:

ابتدا نمونه ها به محیط سلنیت F انتقال یافت و مدت ۲۴-۱۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد، سپس با استفاده از آنس استریل مقداری از مایع سلنیت F در محیط های مک کانکی آگار و S.S آگار کشت داده شد و پس از

بحث

همانگونه که گفته شد باکتری های گرم منفی بیشترین میزان آلودگی را در ایجاد عفونت کیسه زرده به عهده دارند (۱۳، ۷) واز آنجایی که خانواده انترو باکتریاسه هم جزء بزرگی از باکتری های گرم منفی راتشکیل می دهند و منشا آنها بیشتر روده و مدفوع طیور است، به عنوان ملاک های تاکید بر این خانواده در نظر گرفته شد. نتایج تحقیقات سارما و چوداری نیز نشان می دهد که در عفونت کیسه زرده باکتری های انترو باکتریاسه و باکتری پزودوموناس بیشترین نقش را دارند (۱۳، ۷).

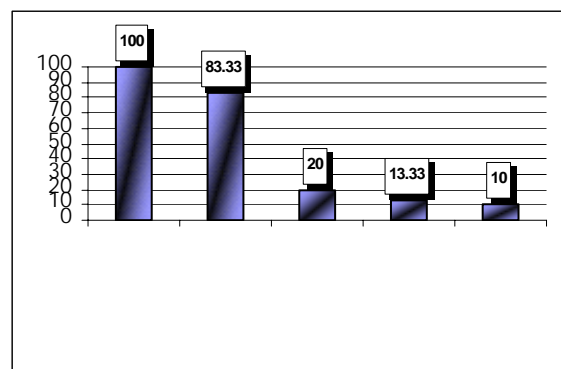
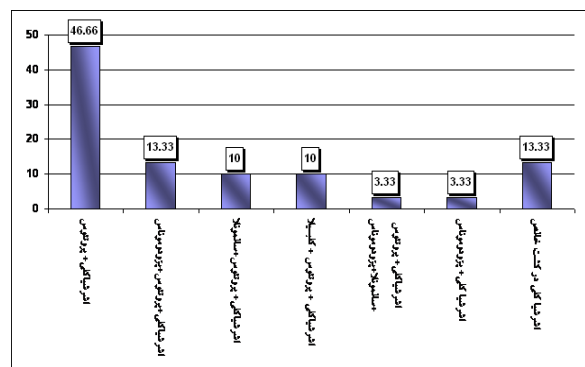
در پژوهش حاضر نیز بیشتر اعضای خانواده انترو باکتریاسه از عفونت کیسه زرده جدا شدند که شامل اشریشیاکلی، پروتئوس، سالمونلا وکلبسیلا به ترتیب فراوانی می باشد. در نتیجه تحقیق سارما و همکاران علاوه بر باکتری های فوق سیتروباکتر با فراوانی ۵ درصد و آنتروباکتر با فراوانی ۴ درصد نیز از عفونت کیسه زرده جدا شده اند (۱۳، ۷).

در این بین، اشریشیاکلی با فراوانی ۱۰۰ درصد مهم ترین عامل جدا شده از عفونت کیسه زرد در این پژوهش است. بیماری زایی این باکتری به اعتقاد مونتگومری و همکاران به دو دسته قابل تقسیم است: دسته اول غیر مهاجم بوده در نتیجه عفونت و مرگ و میر ناچیزی در جوجه ها ایجاد می کنند. لکن آلودگی به این دسته با کاهش قابل توجه رشد در جوجه های مبتلا همراه است. گروه دوم مهاجم یا کشنده بوده و بسته به مرحله آلودگی یا به میزان تلفات متفاوتی همراه خواهد بود به نحوی که در صورت آلودگی اولیه پوسته تخم مرغ در اثر کشیده شدن باکتری ها به داخل تخم در نتیجه سرد شدن و عدم نفوذ مواد ضد عفونی کننده به داخل تخم، آلودگی با مشکلات بسیاری همراه خواهد بود. آلودگی در روز اول انکوباسیون با ۸ درصد تلفات عنوان شده است. آلودگی در روز ۱۸ انکوباسیون به علت انتقال تخم از ستر به هچر؛ ۲۲ درصد تلفات گزارش شده

قرار گرفتن در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴-۱۸ ساعت پرگنه های بدست آمده به محیط کشت های تشخیص افتراقی انتقال یافت و نتایج بدست آمده در جداول مخصوص ثبت گردید.

نتایج

در صد فراوانی باکتری های جدا شده از عفونت کیسه ی زرده در سی مرغداری در نمودارهای ۲ او خلاصه شده است. همانگونه که مشاهده می شود، اشریشیاکلی از سی مرغداری «۱۰۰ درصد»، پروتئوس از ۲۵ مرغداری «۸۳/۳۳ درصد»، سودوموناس از شش مرغداری «۲۰ درصد»، سالمونلا از چهار مرغداری «۱۳/۳۳ درصد»، کلبسیلا از سه مرغداری «ده درصد» جدا گردید. درصد فراوانی توام عوامل باکتریال مورد مطالعه در عفونت کیسه زرده در مرغداریهای مورد مطالعه در نمودار ۲ خلاصه شده است.



است. پس از تولد به علت عدم التیام ناف یا التهاب ناف یا مهاجرت باکتری از روده تلفات ممکن است تا ۹۰ درصد نیز برسد (۹).

روزاریو و همکاران نیز اشرشیا کلی را به عنوان متداول ترین پاتوژن در طیور معرفی کرده و وجود سروتپ های متفاوتی در آن را خاطر نشان ساخته اند که با پراکنش جغرافیائی اختصاصی از مهمترین عوامل بیماری زا در کیسه زرده در مناطق مختلف مطرح می باشند. بنا به یافته های این پژوهشگران ژن هائی که در مناطق مختلف سبب بروز عفونت می شوند ممکن است متفاوت باشند (۱۱).

فراوانی حضور سالمونلا در این پژوهش، ۱۳/۳۳ درصد بدست آمده است که بیشتر از درصد گزارش شده توسط سارما و چوداری و همکاران می باشد (۱۳، ۷). یوسفی و همکاران (۵) با مطالعات بیوشیمیائی و سرولوژیک علاوه بر روش کشت، میزان آلودگی را بیشتر و معادل ۳۳ درصد گزارش نموده اند (۵). از آنجائی که عفونت کیسه زرده با سالمونلا سبب آلودگی محیط پرورش شده و از طریق انتقال افقی به سایر جوجه ها امکان ابتلای کل گله به سالمونلوز وجود دارد بنابراین توجه به این باکتری حائز اهمیت بالینی و اقتصادی بوده به نظر می رسد تحقیقات وسیع تری برای تعیین میزان دقیق تر آلودگی و نقش این باکتری در طیور حائز اهمیت ویژه ای است که باید مد نظر سایر محققین قرار گیرد.

میزان فراوانی پروتئوس در عفونت کیسه زرده در تحقیق حاضر ۸۳/۳۳ درصد بدست آمده که بسیار بیشتر از نتایج گزارش شده توسط سارما و چوداری است (۱۳، ۷). آلودگی با این باکتری باافزایش مرگ و میر و کاهش جوجه درآوری توأم است، لیکن نقش مستقیم آن در مرگ و میر جنینی و جوجه ها کاملاً مشخص نیست. اهمیت عمده ی باکتری، انفجار تخم مرغ به علت تولید گاز و در نتیجه بالا رفتن فشار داخلی تخم مرغ در هچری است که سبب آلودگی شدید هچری و آلودگی سایر تخم مرغ ها می

گردد (۱۳، ۱). این امر نه فقط باعث انتشار باکتری پروتئوس بین دیگر تخم مرغ ها می شود بلکه باعث انتشار سایر عوامل میکروبی به صورت کمپلکس در تخم مرغ های منفجر شده می شود. بر این اساس به نظر می رسد یکی از علل بالا بودن میزان فراوانی پروتئوس در مرغداری های مورد پژوهش حاضر به همین خاطر باشد.

میزان فراوانی کلبسیلا در تحقیق حاضر ۱۰ درصد بدست آمده است که تقریباً مشابه نتایج سارما و چوداری است (۱۳، ۷). این باکتری بیشتر به عنوان یک عامل فرصت طلب مطرح بوده است تا یک عامل بیماری زای اولیه، لیکن تحقیقات ساراکیبی و همکاران، نشان دهنده بیماری زا بودن این میکروب دارد. این محققین نشان دادند که آلودگی با کلبسیلا نه تنها باعث مرگ و میر در ستر و هچری می شود؛ بلکه انتقال آن از جوجه های آلوده به سالم در اولین روزهای پس از تولد در هچری نیز روی داده و با مرگ و میر بالائی توأم خواهد بود (۱۲).

عفونت کیسه زرده ناشی از عملکرد اشرشیاکلی و پروتئوس در ۶۰ درصد موارد این پژوهش دیده شده است که توسط چوداری و همکاران گزارش نشده است (۷) و در گزارش سارما ۱۰ درصد عنوان شده است که بسیار کمتر از میزان گزارش شده در این پژوهش می باشد (۱۳). احتمال دارد این مطلب به نوعی مرتبط با روش کار و کشت مخلوط عفونت کیسه زرده در جوجه های مختلف باشد.

عفونت کیسه زرده ناشی از عملکرد توأم اشرشیاکلی + پروتئوس + سالمونلا در تحقیق حاضر ۱۳/۳۳ درصد است که توسط سارما ۵ درصد گزارش شده است (۱۳).

عفونت توأم اشرشیاکلی + پروتئوس + کلبسیلا در پژوهش حاضر ۱۰ درصد بدست آمده است که توسط سارما گزارش نشده است (۱۳).

به نظر می رسد تحقیقات انگشت شماری در زمینه بررسی آلودگی باکتریائی کیسه زرده در جوجه های گوشتی صورت گرفته است که افق های وسیع و نوینی را برای تحقیق سایر

contamination of the hen's egg: review. Journal of food protection, 46(12): 1092-1098

9.Montgomery.R , Lenaruzi.A (1999): Consequence to chicks hatched from Escherichia coli inoculated embryos. Avian disease,43:553-563

10.Quian.P.J, Carter.M.E (1994):Clinical veterinary microbiology,209-236

11.Rosario.C.C, Lopez.AC, Tellez.IG, Nararro.O.A; Anderson.RC; EslavaCC (2004):Serotyping and virulence genes detection in Escherichia coli isolated from fertile eggs, dead-in-shell embryos, and chickens with Yolk sac infection. Avian Dis.48 (4): 791-802

12.Sarakbi.T: Klbesiella(1989): Akiller in the hatchery. International hatchery practice, 3(5): 19-21

13.Sarma. D; Char. NL; Rao. MRK(1985): Acoprehedive study on bacterial flora isolated from yolk sac infection (omphalitis) in chicks. Indian Journal of poultry science, 20(4): 262-266

14.Seviouir.E; Board.KG (1974):The behavior of mixed bacterial infections in the shell membranes of the hen's egg. British poultry science, 13:33-43

علاقمندان می تواند فراهم نماید. موارد زیر می تواند در تحقیقات بعدی به روشن شدن هر چه بیشتر ابهامات موجود کمک شایانی نماید:

- بررسی وجود باکتری های بی هوازی از جمله کلستریدیوم

کشت انفرادی از عفونت کیسه زرده در جوجه های گوشتی

- بررسی وجود باکتری های گرم مثبت در ایجاد عفونت کیسه زرده

- عیین سروتیپ های اشرشیا کلی در ایجاد عفونت

- بررسی تفاوت های احتمالی جغرافیائی با مطالعه در مناطق مختلف کشور

فهرست منابع

۱. بزرگمهری فرد.م.(۱۳۷۱):آلودگی های تخم مرغ و هچری و کنترل آن. چکاوک :۴۳،۳۵-۱۳
۲. بزرگمهری فرد.م. ح (۱۳۷۹): بیماری های طیور، ص ۶۷-۲
۳. صدیقی.ن.(۱۳۷۷): باکتری تهدیدی مخفی. چکاوک ۳۷۱، ص ۱۲۹-۱۲۳
۴. فرخوی.م،خلیلی سیگارودی.ت،نیک نفس.ف.(۱۳۷۵): راهنمای کامل پرورش طیور، ۱۰۲-۱۰۰
۵. یوسف بیگی(۱۳۷۵):،بررسی عفونت های سالمونلائی کیسه زرده در جوجه های گوشتی منطقه ارومیه. سومین کنگره بیماری های قابل انتقال بین انسان و حیوان. مشهد

6.Board R.G(1966):The course of microbial infection of the hen's egg. Journal Applied Bacteriology,29.319-341

7.Choudhury.B (1993):Studies on yolk sac infection in poultry, antibiogram of isolates and correlation between in vitro and in vivo drug action. Indian journal of Animal Health, 32(1): 21-23

8.Mayes.FI, Takeballi.M(1983): Microbial