

## تأثیر تغذیه با زئولیت بر جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی

محمد دخیلی<sup>۱\*</sup>، الهام یزدی زاده البرز<sup>۲</sup>، محمد یگانه پرست<sup>۳</sup>، مهدی خجسته<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱/۵

### چکیده

در این بررسی تأثیر جیره‌های حاوی ۵/۱۰ و ۱/۵ درصد زئولیت طبیعی و ۱ درصد زئولیت صنعتی (آنزیمیت) برابر میکروبی جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفته است. ۴۰۰ جوجه یکروزه گوشتی خریداری و به طور تصادفی در ۲۰ پن (۵ تیمار با ۴ تکرار) بطور مساوی تقسیم شدند. تیمار شاهد فقط جیره پایه دریافت کرد. همه جوجه‌ها تحت شرایط یکسان نگه داری و آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. در سن ۴۲ روزگی ۲ جوجه از هر واحد کشتار و از روده آنها نمونه گیری شد. نمونه‌ها با روش رقت سریال در محیط بلاد آگار و EMB کشت داده و بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در ۳۷ درجه تعداد کلنی‌های رشد یافته بررسی شد. pH نمونه‌های روده نیز ارزیابی شد. سپس از پلیت‌های رشد یافته با کتری ایشرشیاکلی با روش‌های بیوشیمیایی شناسایی و تست آنتی بیوگرام بر روی آنها با ۱۳ نوع آنتی بیوتیک انجام گرفت. نتایج نشان داد که در مقایسه با گروه شاهد استفاده از زئولیت موجب تغییر PH به طور معنی داری نشده و در کل میکروبهای موجود در روده نیز تاثیری نداشته است ( $P > 0.05$ )، اما تعداد اتر و باکتریاسه‌ها در روده به شکل معنی داری کاهش یافته است ( $P < 0.05$ ). همچنین در تست آنتی بیوگرام در دریافت کننده‌های زئولیت مقاومت نسبت به پنی سیلین و اریترومايسين بیشترین و نسبت به جنتامایسین کمترین بود.

**واژگان کلیدی:** زئولیت، میکروبهای روده ای، جوجه‌های گوشتی.

### مقدمه

است. از طرفی بیماریهای روده در صنعت طیور اهمیت زیادی دارد زیرا در شرایط حاد موجب تلفات سنگین و کاهش عملکرد و در حالت ملایم بدون بروز علائم موجب کاهش کارایی تولید و لطمه اقتصادی می‌شود. (۲) که آلودگی محصول تولیدی را موجب می‌شود. بنابراین جایگزین‌های مختلف بدون داشتن آثار سوء لازم است. (۱۱)

در پرورش طیور صنعتی، تغذیه و سلامت دستگاه گوارش رابطه نزدیکی با هم دارند. از طرف دیگر فرمول جیره و مدیریت خوراک‌دهی با تأثیر بر هضم و جذب، در عملکرد نهایی نیز اثر می‌گذارد. عوارض و بیماریهای گوارشی ناشی از تغذیه نامناسب و محیط

از سال ۲۰۰۶ استفاده از آنتی بیوتیک در تغذیه دام تقریباً در تمامی کشورهای عضو اتحادیه اروپا به طور کامل قطع شده است از طرفی تمایل مصرف کنندگان به استفاده از محصولات ارگانیک رو به افزایش است (حتی برای درمان کمتر از آنتی بیوتیک استفاده می‌شود). (۱)، لذا فعالیت فشرده‌ای برای بدست آوردن جایگزین مناسب برای آنتی بیوتیک‌ها لازم و ضروری

۱- استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، دانشکده پزشکی، قم، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم پایه، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران

۳- مربی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، قم، ایران

\*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Dr-dakhili@yahoo.com

کارگیری وسیع آن‌ها جهت کاهش میزان تولید گازهای زیان آور و همچنین کنترل رطوبت بستر در سالن‌های پرورش طیور گردیده است که از نتایج آن افزایش ضریب تبدیل و سلامتی پرندگان بوده است (۱۴۰۱ و ۱۴۰۸).

در سال‌های اخیر به موارد کاربرد زئولیت‌های طبیعی اهمیت خاص داده شده است و برنامه‌هایی برای استفاده از زئولیت‌های رسوبی در بسیاری از کارهای صنعتی و کشاورزی در دست اقدام است. با توجه به اینکه زئولیت اثر خود را در بهبود عملکرد تولید و کاهش بیماری نشان داده است و در این خصوص با توجه به موجود بودن معادن زئولیت در استان قم، بررسی استفاده از آن در خوراک و تاثیر بر بار میکروبی روده طیور با توجه به اینکه هیچ گونه تحقیق در مورد آن انجام نشده بود هدف این مطالعه قرار گرفت.

### مواد و روش کار

این مطالعه بر روی ۴۰۰ جوجه خروس انجام گرفت که به طور تصادفی در ۲۰ پن آزمایشی توزیع شدند. جوجه‌ها به صورت آزاد به دانه و آب و نور دائمی ۲۴ ساعته دسترسی داشتند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار به ازای هر تیمار انجام گرفت. جوجه‌ها تا پایان یک هفتگی با جیره غذایی یکسان تغذیه شدند و پس از آن در پن‌ها توزیع شدند. عامل نوع جیره در ۴ سطح مورد استفاده قرار گرفت. جیره پایه بر اساس احتیاجات غذایی طیور آماده گردید (جدول ۱).

آلوده، خصوصاً در دوران رشد اولیه جوجه‌ها مشکل‌سازتر است. برای دستیابی به عملکرد مطلوب در مزارع صنعتی پرورش مرغ و نیز برآورد اهداف اقتصادی لازم است با تغذیه مناسب و ایجاد محیط بهداشتی، در تأمین سلامت دستگاه گوارش کوشش کرد.

موانع فیزیکی مانع ورود ارگانسیم‌ها و مواد خارجی به دستگاه گردش خون و نیز مانع رسیدن آنها به امعاء و احشاء شده و در نتیجه به سلامت روده کمک می‌کنند. شرایط محیطی غیر بهداشتی و تغذیه نامناسب، با افزایش هجوم عوامل خارجی، می‌تواند با ایجاد اختلال در موانع فیزیکی، حیوان را مورد حمله قرار دهد. مهمترین عواملی که می‌توانند سبب به خطر افتادن و یا از بین رفتن سلامت دستگاه گوارش شوند عبارتند از: بیماریها، انواع سموم یا توکسین‌ها، استرس، کمبودهای تغذیه‌ای، به هم خوردن تعادل میکروبی فلور طبیعی روده و کاهش مصرف خوراک.

در روشهای غذایی مدرن به طیور، ماده‌های افزودنی غذا را در جایگاه اول اهمیت قرار می‌دهند. مواد افزودنی به غذا فقط محرک رشد و بالابرنده بازدهی غذا نمی‌باشند، بلکه سلامتی طیور نیز میتواند بواسطه این مواد بهبود یابد. پروبیوتیکها، آنزیمها، مکمل‌های آمینواسید و مواد معدنی موجود، افزودنی‌های جدید برای استفاده متخصصان تغذیه در جیره‌های طیور میباشد که اگر بصورت مناسبی بکار برده شوند، اثرات مثبتی در بهره‌گیری از مواد غذایی دارند (۱۵).

زئولیت‌ها بلورهای آلومینو سیلیکات هیدراته می‌باشند که دارای کاتیون‌هایی از خانواده فلزات قلیایی خاکی هستند و ساختمان سه بعدی نامحدود دارند. از ویژگی‌های این ترکیب تبدلات کاتیونی و دارا بودن قابلیت برگشت پذیر جذب و دفع آب، بدون ایجاد تغییر عمده در ساختمان مولکولی است. (۱۳ و ۹)

خصوصیات فیزیکو شیمیایی زئولیت، موجب به

### جدول ۱- فرمول جیره‌های غذایی و ترکیب مواد مغذی موجود در جیره‌ها

درصد / واحد		
پایانی	آغازین	
(۲۱ تا ۴۲ روزگی)	(۲۱ تا ۲۱ روزگی)	
۶۰/۷۰	۵۳/۸	ذرت
۳۲/۲۰	۳۸/۷	سویا
۳	۳	روغن سویا
۲/۰۳	۱/۶۳	کربنات کلسیم
۱/۱۳	۱/۷۲	دی سی پی
۰/۵	۰/۵	مکمل (وینامین + املاح)
۰/۲۳	۰/۴۴	نمک
۰/۰۶	۰/۱۴	متیونین
۰/۰۵	۰/۰۷	لیزین
۳۰۵۵	۳۰۰۰	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم خوراک)
۱۹/۰۹	۲۱/۵۴	پروتئین خام
۰/۸۵	۰/۹۳	کلسیم
۰/۳۳	۰/۴۵	فسفر
۲/۵۷	۲/۰۷	نسبت کلسیم به فسفر
۱۶۰/۰۳	۱۳۹/۲۷	نسبت انرژی به پروتئین

توزین جوجه‌ها در ابتدای آزمایش و پایان دوره آغازین و رشد و توزین خوراک مصرفی به صورت هفتگی انجام می‌گرفت. متوسط افزایش وزن و مصرف خوراک روزانه و ضریب تبدیل غذایی دوره آغازین، رشد و کل دوره محاسبه و آمار گیری می‌شد. تلفات واحدهای آزمایشی به صورت روزانه ثبت می‌گردید. در طی مدت نگهداری جوجه‌ها تلفات در بین آن‌ها وجود داشت و به ناچار جوجه‌های مریض نیز از جامعه آماری خارج شدند. آزمایش تا ۴۲ روزگی در مرکز تحقیقات شهید خوراکچیان وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قم انجام گرفت.

در ۴۲ روزگی از هر واحد محتویات روده ۲ جوجه خروس ذبح شده جمع‌آوری شد و به آزمایشگاه انتقال و یک گرم از آن وزن و به روش رقت سریال در محیط کشت EMB از رقت ۶ و ۷ و ۸ و در محیط بلاد آگار از رقت‌های ۹ و ۱۰ و ۱۱ به روش پورپلیت کشت داده شد (۱۶) و بعد از انکوبه ۲۴ ساعته در ۳۷°C پلیت‌هایی که کلنی در آنها رشد کرده بررسی شدند و تعداد کلونی‌ها در پلیتهای مناسب (۳۰۰-۳۰ کلنی) شمارش شد و با روش‌های آماری تعداد باکتری در گرم محاسبه گردید (۶). نمونه‌ها با نمونه‌های حاصل از نمونه شاهد مقایسه شدند. PH محتویات روده نیز اندازه‌گیری و با هم مقایسه شد. نتایج بر روی اکسل برده شد و با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۱۰ و با روش آزمون چند دامنه ای Danken تجزیه و تحلیل انجام شد.

برای شناسایی نوع میکروارگانیسم‌ها از تستهای بیوشیمیایی استفاده شد. سپس بدلیل اهمیت اثرشیاکلی در ایجاد بیماریهای روده‌ای بر روی جدایه‌های این باکتری تست مقاومت آنتی بیوتیکی به روش انتشار دیسک با ۱۳ نوع آنتی بیوتیک؛ سفیکسین (CFM5)، جنتامایسین (GM10)، آمپی سیلین (AM10)، نورفلوکساسین (NOR10)، اریترومایسین (E15)، ریفامپیسین (RA5)، پنی سیلین (P10)، استرپتومایسین (S10)، کلرامفنیکل

در آزمایش مقدار زئولیت اضافه شده به صورت ۱/۵ درصد و ۱ درصد و ۱/۵ درصد در جیره‌های مختلف بود و در یک تیمار زئولیت صنعتی (۱٪) استفاده شد. در جمع ۵ نوع تیمار مختلف ایجاد شد تیمار شاهد هیچ زئولیتی دریافت نکرد (جدول ۲).

### جدول ۲- مشخصات تیمارها

شماره تیمار	۱	۲	۳	۴	۵
آنزیمیت (زئولیت صنعتی)	-	زئولیت طبیعی	زئولیت طبیعی	زئولیت طبیعی	زئولیت طبیعی
مقدار افزودنی	۰	۰/۵٪	۱٪	۱/۵٪	۱٪

## بحث

از سال‌ها قبل صنعت طیور نقش مهمی در تامین نیازهای تغذیه ای بشر داشته است و در حدود یک چهارم از کل فراورده‌های گوشتی را از سال ۲۰۰۰ به خود اختصاص می‌دهد. این موضوع نشان می‌دهد سلامت طیور باید بسیار مورد توجه قرار بگیرد. به منظور کاهش تعداد باکتریها در محیط پرند، مدیریت صحیح و اجرای اقدامات بهداشتی ضروری است. آنتی‌بیوتیک که به عنوان محرک رشد به خوراک طیور اضافه می‌شود به تثبیت جمعیت میکروبی روده و بهبود عملکرد عمومی پرند کمک می‌کند و از استقرار برخی باکتریهای بیماریزای اختصاصی روده جلوگیری می‌کند. اما مصرف طولانی مدت و گسترده انواع آنتی بیوتیکها در طب انسانی و دامی، به تدریج موجب اعمال فرایند انتخاب ژنتیکی سویه‌های مقاوم باکتریها و قابلیت انتقال ژن مقاومت به باکتریهای حساس می‌شود به طوریکه سلامت دام مصرف کننده آنتی بیوتیک و انسان مصرف کننده محصولات دامی در معرض خطر جدی قرار می‌گیرد.

*E. coli* های مقاوم به آنتی بیوتیک می‌توانند بعداً به انسان از طریق غذا یا تماس مستقیم با حیوان منتقل شوند. این میکروبیهای مقاوم ممکن است به عنوان یک منبع بالقوه در انتقال مقاومت آنتی میکروبیال به پاتوژنهای انسانی عمل کنند ( ۵ و ۶ ). امروزه در پی افزایش این مقاومت میکروبی و هزینه‌های سنگین درمان بیماری، محققین در پی یافتن ترکیباتی هستند که بتوانند آنها را به جای آنتی بیوتیکها در رژیم غذایی پرندگان استفاده کنند. با توجه به اینکه زئولیت اثر خود را در بهبود عملکرد تولید و کاهش بیماری نشان داده است می‌تواند با بررسی‌های لازم مورد توجه و استفاده قرار گیرد. ولی در این خصوص هیچ گونه تحقیقی انجام نشده و با توجه به موجود بودن معادن زئولیت در ایران، و ارزان بودن آن بررسی استفاده از آن در خوراک و تاثیر بر بار میکروب‌های روده می‌تواند از هزینه‌های

(C30)، تتراسیکلین (TE30)، کانامایسین (K30)، سیپروفلوکساسین (CP5) و نئومایسین (N30) تولید پادتن طب انجام گرفت و نتایج با نمونه شاهد مقایسه شد. (۳)

## نتایج

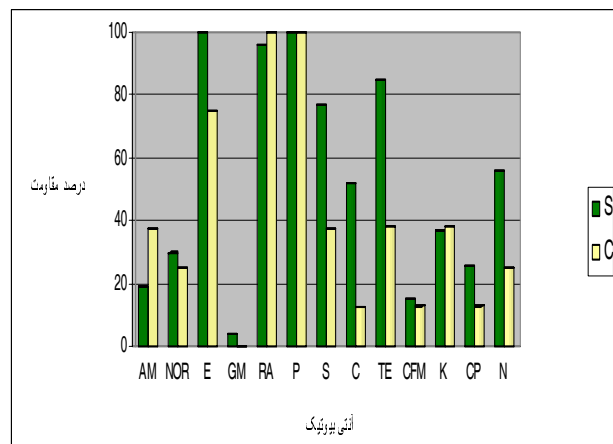
برای بدست آوردن تعداد باکتریها در یک گرم از نمونه روده از فرمول زیر استفاده شد. (۷)  
عکس ضریب رقت × تعداد کلنی = تعداد باکتریها در یک گرم

میانگین pH نمونه‌های روده در هر تیمار در جدول ۴ آمده است.

جدول ۳- میانگین PH نمونه‌های روده در هر تیمار

تیمار	۱	۲	۳	۴	۵
Ph روده	۵/۵۹	۵/۳۵	۴/۸۳	۴/۸۴	۵/۴۷

باکتریان اشرشیاکلی از پلیت‌های رشد یافته با تست‌های بیو شیمیایی جدا شدند و مقاومت آنتی بیوتیکی آنها سنجیده شد. ۲۷ باکتری از تیمارهای دریافت کننده زئولیت بدست آمد و ۸ باکتری از نمونه‌های شاهد. درصد مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های مصرفی در نمودار ۱ آمده است.



نمودار ۱- درصد مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های مصرفی (S: جدایه‌های از نمونه‌های دریافت کننده زئولیت و C: جدایه‌های از نمونه‌های شاهد)

این صنعت بکاهد. منطقه خاص با نتایج مشابه در همان منطقه مقایسه گردد چون الگوی مصرف آنتی بیوتیکها در مناطق مختلف با هم متفاوت است. همینطور پیشنهاد می شود این مرحله از کار بر روی باکتری های دیگر که از کشت ها جدا می شوند نیز انجام گیرد.

## تشکر و قدردانی

در نهایت جا دارد از همکاری صمیمانه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قم که تمام امکانات را برای ما فراهم کردند و از کارکنان این مرکز سپاسگزاری کنیم.

## منابع

- ۱- افشار مازندران، ن.، رجب، ا (۱۳۸۱): پروبیوتیکها و کاربرد آنها در تغذیه دام و طیور. چاپ دوم. انتشارات نوربخش، تهران ص ۹۰-۳۵
- ۲- فرخوی، م. (۱۳۷۵): راهنمای کامل پرورش طیور. چاپ سوم. واحد آموزش و پژوهش معاونت کشاورزی سازمان اقتصادی کوثر، تهران ص ۱۰۵-

۵۳

- 3- Akond, M., Hassan, S., (2009): Antibiotic resistance of Escherichia Coli isolated from poultry and poultry environment Bangladesh, A.J.Envi.Sci 5(1):47-52,
- 4- Doetkott, D.M., Nolan, L.K., Giddings, C.W., Berry, D.L., (1996): Large Plasmids of avian Escherichia coli isolates. Avian Dis. 90: 927-930.
- 5- Gross, W.G., (1994): Diseases due to Escherichia coli in poultry. In Escherichia coli in domestic animals and humans. Edited by CL Gyles. CAB International, Wallingford, UK. PP: 237-259

بررسی های ما نشان داد با وجود اینکه زئولیت در تعداد کل باکتری های موجود در روده کوچک و PH آن تاثیری معنی دار نداشته است ( $P > 0.05$ ) اما توانسته تعداد باکتری های گرم منفی روده را به شکل معنی داری ( $P \leq 0.05$ ) کاهش دهد که این کاهش در عملکرد طیور و ضریب تبدیل غذایی آنها تاثیر منفی نداشته است. Gunal و همکاران در سال ۲۰۰۶ نیز با اضافه کردن عصاره گیاهی و نمکهای معدنی به جیره توانستند به این کاهش دست پیدا کنند (۶). اما برای دستیابی به اطلاعات قابل استناد باید چنین آزمایشی به شکل گسترده و در چند مرغداری انجام گیرد. بعلاوه اینک مصداق چنین پژوهشی را ما نیافتیم، نمی توانیم تمام زوایای آن را به بحث بگذاریم اما پیشنهاد می کنیم به علت نتایج کاربردی که از این چنین تحقیقاتی بدست می آید و صنعتگران ما می توانند از آن بهره مند شوند، تحقیقات در این زمینه ادامه پیدا کند.

در این پژوهش از نمونه های رشد یافته تعدادی ایکولای جدا و آنتی بیوگرام شد. نتایج نشان داد که این جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیکهای پنی سیلین و ریفا مپسین بیشترین مقاومت را دارند. در بنگلادش Akond و همکاران در سال ۲۰۰۹ در نمونه های مختلف از طیور سالم (بدون تغذیه خاص) از محل های متفاوت نیز همین نتیجه را بدست آوردند (۳). کمترین مقاومت را نیز ما در برابر سفیکسین و جنتامایسین بدست آوردیم. Akond و همکاران در سال ۲۰۰۹ کمترین مقاومت را در برابر جنتامایسین و نورفلوکساسین بدست آورده بودند (۳). Aggad در سال ۲۰۱۰ نیز بر روی ایکولای های عامل کلی باسیلوس

کمترین مقاومت را نسبت به جنتامایسین گزارش کرد (۱۲). این می تواند مویید عدم تاثیر زئولیت بر مقاومت آنتی بیوتیکی ایکولای ها باشد. اما باید در نظر داشت بهتر است نتایج مقاومت آنتی بیوتیکی میکروبها در یک

- 6- Gunal, M., Yayli, G., Kaya, O., Sulak, O., (2006): The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *Int. Poultry Sci.*, 5: 149-155
- 7- Harrigan, W.F., (1998): *Laboratory methods in food microbiology*, 3rd edn., academic press, San Diego, pp. 432.
- 8- Kubena, L.F., Harvey, R.B., Phillips, T.D., Clement, B.A., (1993): effect of hydrated sodium calcium aluminosilicates on aflatoxicosis in broiler chickens. *Poult. Sci.* 72: 651.
- 9- Mumpton, F.A., (1994): *mineralogy and geology of natural zeolite*. department of the earth science. New York, USA.
- 10- Olver, M.D., (1997): Effect of feeding clinoptilolite (zeolite) on the performance of three strains of laying hens. *Br. Poultry Sci.* 38: 221.
- 11- Santos, A.A., Ferket, P., (2006): Effect of nutrition on gut microflora colonization. 33rd Annual Carolina Poultry Nutrition Conference, September, 26-27
- 12- Sharada, R., Wilfred Ruban, S., (2010): isolation, characterization and Antibiotic resistance pattern of *Escherichia Coli* isolated from poultry, *A.E. J. Sci. R.* 5(1): 18-22.
- 13- Tomlinson, A.A.G., (1998): modern zeolites, structure and function in detergents and petrochemicals. *Trans tech ltd. UK.* 1-16.
- 14- Vest, L., Shutze, J., (1984): Influence of feeding zeolites to poultry under field condition. In *zeo . Agriculture: use of natural zeolites in Agriculture and aquaculture*. W.G. Pond and F.A. Mumpton. Eds., Westview press, Boulder, Colorado. 211.
- 15- [www. Featured Poultry Articles At Poulvet.com](http://www.FeaturedPoultryArticlesAtPoulvet.com)
- 16- Xia, M., Hu, S., Xu, C.H., (2004): Effects of copper-bearing montmorillonite growth performance digestive, enzyme activities, and intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poult. Sci.* 83: 1868-1875.