

بررسی آلودگی سالمونلا انتریتیدیس در گوشت مرغ و بلدرچین عرضه‌شده در استان خوزستان

زهرا متقی^۱، حسین خدابنده شهرکی^۲، مهلا الهی نیا^{۲*} رضا سلطانی^۱

۱. دانشجوی دکتری بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲. مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

*نویسنده مسئول: mahlaelahinia@gmail.com

چکیده

سالمونلوز، توسط باکتری‌های جنس سالمونلا ایجاد شده و یکی از شایع‌ترین بیماری‌های ناشی از مواد غذایی است که با اسهال، تب خفیف، تهوع، دردهای شکم و حتی مرگ، همراهی می‌شود. این مطالعه به منظور جداسازی و شناسایی سروتیپ‌های شایع سالمونلا در گوشت مرغ و بلدرچین انجام شد. به این منظور ۱۰۰ نمونه گوشت شامل ۵۰ نمونه گوشت مرغ و ۵۰ نمونه گوشت بلدرچین از مراکز توزیع در سطح استان خوزستان جمع‌آوری و پس از کشت و جداسازی سالمونلا و استخراج ژنوم، با روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۵ مورد از مجموع ۱۰۰ نمونه به گونه‌ی سالمونلا انتریتیدیس آلوده بودند. با توجه به نتایج حاصل، اعمال نظارت‌ها و آزمون‌های میکروبی دوره‌ای و تدابیر بیشتر از سمت مسئولین اداره دامپزشکی استان به منظور کاهش میزان آلودگی میکروبی بسیار حائز اهمیت است.

کلمات کلیدی: سالمونلا انتریتیدیس، گوشت مرغ، گوشت بلدرچین

در سال‌های اخیر با توجه به پیشرفت‌های انجام‌گرفته در علوم پزشکی و فناوری مواد غذایی، هنوز هم بیماری‌های منتقله از طریق غذا به‌عنوان یک مشکل عمده برای سلامت انسان محسوب می‌شوند. (۲،۱) سالمونلوزیس بیماری زئونوز از شایع‌ترین عفونت‌های غذایی در جهان است و از گستردگی بالایی در کشورهای جهان برخوردار بوده و خسارات زیادی را در ابعاد مختلف بهداشتی و اقتصادی به جوامع انسانی وارد می‌کند (۳،۲). این بیماری به‌وسیله سروتیپ‌های مختلف باکتری سالمونلا از خانواده آنتروباکتریاسه ایجاد می‌شود. باکتری‌های جنس سالمونلا اجرام میله‌ای کوتاه، گرم منفی و به‌اندازه‌ی ۲/۵-۴ میکرون هستند که فاقد کپسول، دارای تاژک اطرافی (به‌استثنا سالمونلا گالیناروم و سالمونلا پولوروم که غیرمتحرک اند و اغلب دارای خار یا فیمبریه می‌باشند. سالمونلا قادر به ایجاد عفونت در طیف وسیعی از موجودات زنده از جمله انسان و پرندگان می‌باشند و از نظر بیوشیمیایی و سرولوژیکی بسیار متنوع هستند (۴). طبقه‌بندی این میکروارگانیسم‌ها پیچیده است، چراکه به‌جای یک‌گونه مشخص مجموعه‌ای از گونه‌های مختلف را تشکیل می‌دهد. اعضای این جنس را می‌توان بر اساس اپیدمیولوژی، نوع میزبان، واکنش‌های بیوشیمیایی و ساختار آنتی‌ژن‌های O,Vi,H در صورت وجود طبقه‌بندی کرد (۲). عفونت در انسان متعاقب مصرف غذای آلوده اتفاق می‌افتد. سندرم‌های بالینی ایجادشده توسط سالمونلاها، به دو گروه اصلی تب تیفوئید و سالمونلوز غیر تیفوئیدی تقسیم می‌شوند. تقریباً سالمونلاهای غیر تیفوئیدی از بیشتر رده‌های حیوانی جدا می‌شوند که ماکیان و فرآورده‌های آن‌ها مهم‌ترین منشأ عفونت انسانی بوده و از بیماری آندمیک ایران به‌حساب می‌آیند (۵،۶). علائم بیماری در انسان به سروتیپ سالمونلا و شرایط میزبان بستگی داشته و می‌تواند به‌صورت مسمومیت غذایی، گاستروانتریت، تب تیفوئید و گاهی سپتی سمی بروز کند و حتی در صورت آلودگی شدید باعث تلف شدن مبتلایان نیز بشود. (۳،۷) مطالعات انجام‌شده آلودگی بالای مواد غذایی و بخصوص محصولات گوشتی را به این میکروارگانیسم در

نقاط مختلف ایران نشان داده است. (۳-۱) اولین مورد مربوط به وقوع مسمومیت غذایی ناشی از سالمونلا توسط گارت‌تر در آلمان در سال ۱۸۸۸ گزارش شد. (۸،۹) گوشت و فرآورده‌های آن بخصوص گوشت مرغ یکی از منابع انتقال آلودگی به انسان محسوب می‌شوند. بنابراین از آنجایی که تعیین میزان آلودگی مرغ و بلدرچین عرضه شده به سالمونلا می‌تواند مسئولین بهداشتی را در اعمال برنامه‌های پیشگیرانه و کنترلی و در نهایت کاهش آلودگی مواد غذایی به این پاتوژن یاری کند، این مطالعه با هدف بررسی فراوانی آلودگی به سالمونلا در گوشت مرغ و بلدرچین عرضه شده در بازار مصرف استان خوزستان انجام گرفت.

مواد و روش کار

نمونه گیری

در این مطالعه تعداد ۵۰ نمونه مرغ و ۵۰ نمونه بلدرچین تازه از مراکز مجاز توزیع کننده محصولات گوشتی در استان خوزستان تهیه شد. نمونه‌ها از قسمت ران، کبد و سنگدان مرغ و بلدرچین اخذ و هر نمونه در کیسه پلاستیکی جداگانه بسته بندی شده و در کنار یخ به آزمایشگاه مرکز تحقیقات مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انتقال داده شد.

جداسازی باکتری

نمونه‌های تهیه شده در محیط غنی کننده سلنیت F به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد کشت داده شد و بعد از رشد، در دو محیط افتراقی مک کانکی آگار (MC) و سالمونلا- شیگلا آگار (SS) کشت داده شدند. پرگنه‌های مشکوک به سالمونلا را که کلنی‌های بی رنگ با مرکز سیاه هستند. جهت تأیید تشخیص با روش IMViC و کشت در محیط TSI، اوره و Iron Lysin Agar مورد ارزیابی قرار گرفتند. (۱۰).

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)

هرکدام از پرایمرهای F و R (۰/۳ میکرولیتر)، آنزیم ۰/۲ میکرولیتر) Smar Taq DNA Polymerase و ۱۹/۵ میکرولیتر آب مقطر صورت گرفت. واکنش PCR انجام شد. برنامه واکنش زنجیره پلیمرز برای تکثیر ژن ۱۶srRNA بدین شرح بود. ۵ دقیقه دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سلسیوس، سپس محصولات طی ۳۵ سیکل (دناتوراسیون در ۳۵ درجه سلسیوس برای ۳۰ ثانیه، اتصال در ۵۸ درجه سلسیوس برای ۸ دقیقه و گسترش در ۷۲ درجه سلسیوس برای ۳۰ ثانیه) تکثیر یافتند. ۴ میکرولیتر از محصولات واکنش زنجیره پلیمرز در ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شده و سپس بارنگ آمیزی DNA safe stain مشاهده شدند.

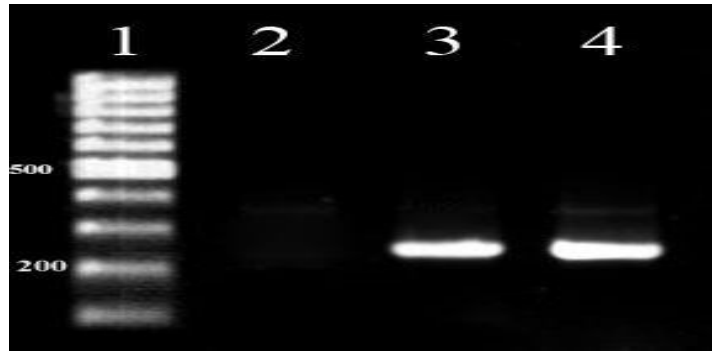
به منظور استخراج DNA از باکتری‌های مورد مطالعه از روش جوشاندن استفاده شد. برای این منظور ۲۵ میکرولیتر از کشت یک شبه باکتری در محیط مایع قلب مغز با ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر به مدت ۱۲ دقیقه جوشانده شد و پس از ۱ دقیقه سانتریفیوژ در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، مایع رویی به عنوان منبع DNA استفاده شد. بعد از استخراج DNA، با استفاده از زوج پرایمرهای طراحی شده مربوط به ژن ۱۶ srRNA سالمونلا انتریتیدیس (جدول ۱)، تشخیص قطعی ایزوله‌ها انجام شد. واکنش PCR برای هر ژن در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر متشکل از DNA استخراج شده یک میکرولیتر، ۱۰x PCR buffer (۲/۵ میکرولیتر)، Mix dNTP (۰/۵ میکرولیتر) (۱۰ mM)، Mgcl2 (۵۰ mM) (۰/۷۵ میکرولیتر)

جدول ۱: توالی پرایمرهای مربوط به ردیابی ژن ۱۶srRNA سالمونلا انتریتیدیس

ژن	توالی پرایمر (۵'–۳')	اندازه محصول (bp)	مرجع	دمای اتصال پرایمرها
16srRNA	S1: GCCGTACACGACCTTATAGA S4: ACCGTACACGACCTTATAGA	۲۵۰	۱۱	۵۸

جدول ۲: نتایج بدست آمده از کشت میکروبی و بررسی مولکولی نمونه‌ها

نوع نمونه	تعداد نمونه‌ها	تعداد نمونه‌های مثبت در کشت	تعداد نمونه‌های مثبت در PCR
مرغ	۵۰	۶ (۱۲ درصد)	۴ (۸ درصد) سالمونلا انتریتیدیس، ۲ (۴ درصد) گونه‌های دیگر
بلدرچین	۵۰	۲ (۴ درصد)	۱ (۲ درصد) سالمونلا انتریتیدیس، ۱ (۲ درصد) گونه‌های دیگر



نصویر شماره ۱: نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگارز چاهک شماره ۱ مارکر ۱۰۰bp، چاهک شماره ۲ کنترل منفی و چاهک‌های شماره ۳ و ۴ نمونه‌های مثبت *سالمونلا انتریتیدیس*

بحث

سالمونلا انتریتیدیس و در ۲۴ نمونه آلودگی به *سالمونلا تایفی* موریوم گزارش گردید. (۱۴) در مطالعه دیگر توسط یوسفی تعداد ۱۴۰ نمونه از مرغ‌های پرکنده و آماده فروش در شهر همدان جهت جداسازی انواع گونه‌های *سالمونلا* مورد آزمایش میکروبی قرار گرفتند که از این تعداد ۷۰ عدد را مرغ‌های منجمد و ۷۰ عدد دیگر را مرغ‌های تازه تشکیل می‌دادند. نمونه‌ها از پوست و ماهیچه برداشته ۱۲ مورد (۸/۶ درصد) از مرغ‌های آزمایش شده آلوده تشخیص داده شدند. میزان آلودگی در مرغ‌های تازه بیش از منجمد بود و شایع‌ترین گونه‌های جدا شده *سالمونلا تیفی* موریوم و *سالمونلا انتریتیدیس* بودند (۱۵).

در تایلند، میزان شیوع گونه‌های *سالمونلا* در لاشه‌ی مرغ معادل ۸/۳ درصد (۱۶) گزارش شده است و در مطالعه‌ی دیگری از ۱۲۱ نمونه بافت مرغ و ۴۰ نمونه تخم مرغ فرآوری شده، ۷ مورد *سالمونلا* جدا شد (۱۷). در مطالعه‌ای که در کشور مصر انجام گرفت، گونه‌های *سالمونلا* در ۵ مورد (۲۰ درصد) از گوشت گاو چرخ شده یخ زده، ۹ مورد (۳۶ درصد) از پای مرغ منجمد شده و ۱۳ مورد (۵۲ درصد) از نمونه‌های فیله منجمد جدا گردید (۱۸) مطالعات قبلی نشان دادند که *سالمونلا انتریتیدیس* و *سالمونلا تیفی* موریوم شایع‌ترین سروتیپ‌های *سالمونلا* هستند که در انسان باعث بیماری می‌شوند (۱۹).

در سه استان شمالی ویتنام از ۲۶۸ گوشت طیور نمونه برداری انجام شده است که ۱۱۵ نمونه ۴۲/۹ درصد از نظر *سالمونلا*

باکتری *سالمونلا* یکی از شایع‌ترین پاتوژن‌های منتقله از راه مواد غذایی است که در انسان و حیوان ایجاد بیماری می‌نماید. محصولات گوشتی آلوده، منبع اصلی *سالمونلا* معرفی شده‌اند و به گزارش سازمان بهداشت جهانی، سالیانه بالغ بر ۱۶ تا ۳۳ میلیون مورد بیمار و ۵۰۰ تا ۶۰۰ هزار مرگ ناشی از *سالمونلا* اتفاق می‌افتد. این مسئله به عنوان یک معضل بزرگ بهداشتی در کشورهای در حال توسعه از جمله کشور ما مطرح می‌باشد. در مطالعه حاضر از ۱۰۰ نمونه گوشت شامل ۵۰ نمونه مرغ و ۵۰ نمونه بلدرچین مورد بررسی، ۵ مورد (۵ درصد) مربوط به *سالمونلا انتریتیدیس* شناسایی شد. در حالی که در تحقیق انجام شده توسط نصرتی و همکاران در ۲۰۱۲ به منظور بررسی شیوع سروتیپ‌های *سالمونلا تیفی* موریوم، تیفی و *انتریتیدیس* در مواد غذایی در مرکز درمانی بیمارستان مفید آلودگی گوشت گاو به *سالمونلا* ۸/۸ درصد گزارش گردید. (۱۲). در پژوهش انجام شده توسط سلطان دلال و همکاران که روی نمونه‌های گوشت مرغ و قرمز صورت گرفت، ۴۷/۸ درصد از نمونه‌های گوشت مرغ و ۲۸/۸ درصد از نمونه‌های گوشت قرمز به *سالمونلا* آلوده بودند. در این بررسی سروتیپ غالب مربوط به *سالمونلا تامپسون* (۵۴/۹ درصد) و *سالمونلا انتریتیدیس* (۹/۸ درصد) بوده است. (۱۳) در تحقیق انجام شده توسط چادهاری و همکاران که بر روی ۲۷۰ نمونه گوشت صورت گرفت، در ۳۷ نمونه (۱۳/۷ درصد) آلودگی به *سالمونلا* گزارش گردید که ۱۳ نمونه (۳۵/۱۳ درصد) به

مثبت

میکروبی مواد غذایی اهمیت خاصی دارد. سالمونلوز از بیماری‌های عفونی مشترک بین انسان و دام می‌باشد و افزایش شیوع آن بین انسان و حیوان، مخصوصاً در دهه‌های اخیر، اهمیت بیماری را دوچندان می‌نماید. برای جلوگیری از آلودگی سالمونلا، برنامه‌های نظارتی موردنیاز است.

تشکر و قدر دانی

نویسندگان مطالعه‌ی حاضر، از جناب آقای دکتر منوچهر مؤمنی شهرکی مسئول محترم مرکز تحقیقات تغذیه و غذاهای ارگانیک و کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد کمال تشکر را دارند.

تعارض منافع

بین نویسندگان هیچ تعارضی وجود ندارد.

بوده‌اند. شایع‌ترین سالمونلاهای جدا شده در این بررسی سرووارهای سالمونلا آناتوم، سالمونلا تیفی موریوم، سالمونلا ردینگ و سالمونلا انتریتیدیس، به ترتیب ۱۵/۸ درصد، ۹/۱ درصد، ۷/۵ درصد، ۶/۲ درصد بوده‌اند. بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی نسبت به تتراسیکلین ۵۸/۵ درصد، سولفامیدها ۵۸/۱ درصد، استرپتومایسین ۴۷/۳ درصد، آمپی سیلین ۳۹/۸ درصد، کلرآمفینکل ۳۷/۳ درصد و نالیدیکسیک ۲۷/۸ درصد گزارش شده است. در این تحقیق هیچ کدام از جدایه‌ها نسبت به سفنازیدیم مقاومت نشان نداده‌اند. (۲۰)

نتیجه گیری

سالمونلا یکی از مهم‌ترین علت‌های شیوع بیماری‌های ناشی از غذا در جهان است. مهم‌ترین سروتیپ جدا شده از انسان سالمونلا تیفی موریوم و انتریتیدیس است. بنابراین، کنترل



منابع

- 1- Soltan dallal M, Vahedi S, Zeraati H, Bakhtiari R, Izadpoor F, Khalife gholi M, et al. Comparison of the prevalence of microbial contamination of red meat and poultry packaging and non-packaging of retail and chain stores in southern Tehran. *J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci.* 2007 spring;15(1): 35-43[Full text in Persian]
- 2- Ranjbar R, Naghouni A, Panahi Y, Izadi M. Antibiotic sensitivity of Salmonella strains isolated from clinical cases less than ten antibiotics used in the treatment of Salmonella infection. *Iran J Infect Dis Trop Med.*2009; 14: 41-46[Full text in Persian]
- 3- Niazi shahraki S, Rokni N, Razavilar V, Bahonar A, Akhondzadeh A. Quantitative and qualitative assess of ment of poultry carcasses contaminated with Salmonella in Tehran's industrial slaughterhouses. *J.Vet.Res.* 2008;62(6):385-389 [Full text in Persian]
۴. طباطبایی، عبدالمحمد حسنی و فیروزی، رؤیا (۱۳۸۰). بیماری‌های باکتریایی دام. انتشارات دانشگاه تهران، صفحه 522
۵. سلطان دلال، محمدمهدی (۱۳۸۶). مقایسه میزان شیوع آلودگی میکروبی گوشت‌های قرمز و مرغ بسته بندی و غیر بسته بندی در خرده فروشی‌ها و فروشگاه‌های زنجیره‌ای جنوب تهران. *مجله‌ی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید صدوقی یزد، دوره‌ی. پانزدهم، شماره‌ی اول، صفحات ۴۳-۳۵*
۶. شاپوری، رضا؛ رهنما، مهدی و اقبالزاده، شبنم (۱۳۸۸). بررسی شیوع سروتیپ‌های سالمونلا در گوشت مرغ و تخم مرغ و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی آن در شهر زنجان. *فصلنامه علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، شماره‌ی ۶، جلد ۲، صفحات ۷۱-۶۳*
7. Delshad R. Isolation and detection of serotype and antimicrobial resistance profile of salmonella spp from feces, heart, ovaries and liver of slaughtered poultry in industrial abattoir of Urmia. [Msc Thesis]. Islamic Azad university of Shabestar; 2013 [Full text in Persian]
8. Amirmozaffari N, Rahmani Z, Iesazadeh Kh. Evaluation of the level of contamination with salmonella spp. in red meat, chicken and domestic and industrial eggs produced in Talesh city and assessment of their antibiotic resistance pattern, Iran. *Qom univ med sci J.* 2013;7(5): 60-65. [Full text in Persian]
9. Shapoori R, Rahnama M, Eghbalzade Sh. Prevalence of Salmonella serotypes in poultry meat and eggs and determine antibiotic sensitivity in the Zanjan city. *jbsazu.* 2009 summer;6(2)3:63-71 [Full text in Persian]
10. Emadi C.S, Hasanzadeh M, Bozorg M.M, Mirzaei S. Characterization of the Salmonella isolates from backyard chickens in north of Iran, by serotyping, multiplex PCR and antibiotic resistance analysis. 2009; 64 (2): 77-83. [In Persian].
11. Nayebe N, Ghorashi S A, Harzandi N, Shamsara M, Tabarai B, Bakhtiari A. Diagnostic value of PCR method for detection of Salmonella enteritidis contamination in poultry products in Karaj. *Medical sciences.* 2011;21(1):32-37.
12. Nosrati S, Sabokbar A, Dezfolian M, Tabarra B. & Fallah F. Prevalence of Salmonella typhimurium, typhi and enteritidis in food in Mofid hospital. *Research in medicine.* 2011;36(1):43-48.
13. Soltan Dalal MM, Taremi M, Gachkar L, et al. Characterization of antibiotic resistant patterns of salmonella serotypes isolated from beef and chicken samples in tehran. *Jundishapur journal of microbiology.* 2009;2(4(S.N. 5)):124-131.
14. Chaudhary JH, Nayak JB, Brahmhatt MN, Makwana PP. Virulence genes detection of Salmonella serovars isolated from pork and slaughterhouse environment in Ahmedabad, Gujarat. *Veterinary world.* 2015;8(1):121.
۱۵. یوسفی مشعوف، رسول. (۱۳۷۹). بررسی شیوع آلودگی سالمونلایی در مرغ‌های عرضه شده برای مصرف در همدان.

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زنجان، سال هشتم، شماره ۳۳، صفحه ۴۷-۵۱.

16. Shanmugasamy, M., Velayutham, T., and Rajeswar, J. 2011. Inv A gene specific PCR for detection of Salmonella from broilers. *Vet World*. 4: 562-564.

17. Taddele Menghistu, H., Rathore, R., Dhama, K., and Kumar Agarwal, R. 2011. Isolation, Identification and Polymerase Chain Reaction (PCR) Detection of Salmonella Species from Field Materials of Poultry Origin. *Int J Microbiol Res.* 2: 135-142.

18. Hassanein, R., Hassan Ali, S.F., AbdEl-Malek, A.M., Mohamed, M.A., and Elsayh, K.I.

2011. Detection and identification of Salmonella species in minced beef and chicken meats by using Multiplex PCR in Assiut city. *Vet World* 4: 5-11.

19. Aktas, Z., Martin, D., Kayacan, C.B., Diren, S., and Threlfall, E.J. 2007. Molecular characterization of Salmonella Typhimurium and Salmonella Enteritidis by plasmid analysis and pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Antimicrob Agent.* 30: 541-545

20. Thai, T.A.; Hirai, T.; Lun, N.T. and Yamauchi, R. (2012). Antibiotic resistance profiles of Salmonella serovars isolated from retail pork and chicken meat in Northern Vietnam. *International Journal of Food Microbiology*, 15: 147-151.



Investigation of *Salmonella enteritidis* contamination in chicken and quail meat sold in Khuzestan province

Zahra Motaghi ¹, Hossein Khodabandeh Shahraki ², Mahla Elahinia^{2*}

1. Ph.D student of food hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran
2. Nutrition and Organic Products Research Center, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

* Corresponding author Email: mahlaelahinia@gmail.com

Abstract

Salmonellosis is caused by *Salmonella* bacteria and is one of the most common food-borne diseases that is accompanied by diarrhea, mild fever, nausea, abdominal pain and even death. This study was conducted in order to isolate and identify common *Salmonella* serotypes in chicken and quail meat. For this purpose, 100 meat samples, including 50 chicken meat and 50 quail meat samples, were collected from distribution centers in Khuzestan province and after cultivation and isolation of salmonella and genome extraction, they were analyzed by polymerase chain reaction method. The results showed that 5 out of 100 samples were infected with *Salmonella enteritidis*. According to the results, it is very important to apply periodic microbial monitoring and tests and more measures from the officials of the provincial veterinary department in order to reduce the amount of microbial contamination.

Key words: *Salmonella enteritidis*, chicken meat, quail meat