



بررسی تاثیر باکتری های پروبیوتیکی در کاهش عفونت سالمونلا انتریتیدیس در بلدرچین ژاپنی

خدیجه بذرافشان^۱، محمد امیر کریمی ترشیزی^{۲*}، شعبان رحیمی^۳، زبیده هاشم زاده^۴

۱: دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس، ۲: عضو هیات علمی دانشگاه تربیت مدرس و ۳: دانشجوی دکتری تربیت مدرس

* نویسنده مسئول:

چکیده

در این آزمایش به منظور بررسی تاثیر باکتری های پروبیوتیکی بر کاهش سالمونلا انتریتیدیس در بلدرچین ژاپنی تعداد ۱۰۸ بلدرچین خریداری شد. جوجه ها در ۶ گروه ۱۸ تایی قرار گرفتند. از باکتری های باسیلوس لیشنی فرمیس، باسیلوس سوبتیلیس، پدیوکوکوس اسیدی لاکتسی و لاکتوباسیلوس پلانتروم استفاده شد. در یک روزگی با توجه به نوع تیمار آزمایشی از طریق گاوژ دهانی مقدار ۱۰۰ میکرولیتر (۷/۸×۱۰^۷CFU/ml) تعلیق باکتری های پروبیوتیکی را دریافت کردند. از روز سوم به استثنای گروه آزمایشی شاهد سایر گروه ها به طور روزانه در آب آشامیدنی به میزان تقریبی ۱۰^۹ CFU در هر لیتر آب از باکتری های منتخب دریافت می نمودند. در روز دوم تمام پرندگان گروه های متفاوت بجز گروه شاهد منفی از طریق دهانی با ۰/۱ میلی لیتر سالمونلا انتریتیدیس (۱۰^۷ CFU/ml) چالش داده شدند. نمونه گیری یک و چهارده روز بعد از چالش از لوزه سکومی انجام شد. در گروه هایی که از باسیلوس لیشنی فرمیس و باسیلوس سوبتیلیس و همچنین لاکتوباسیلوس پلانتروم استفاده شده بود چهارده روز بعد از چالش آلودگی سالمونلا کاملاً حذف شده بود. استفاده از پروبیوتیک ها باعث افزایش مقاومت پرندگان در برابر عفونت سالمونلا می شود.

واژگان کلیدی: پروبیوتیک، بلدرچین ژاپنی، گاوژ دهانی، سالمونلا.

مقدمه

سالیان متمادی در صنعت طیور از محرک های رشد مانند آنتی بیوتیک ها به طور گسترده برای بهبود عملکرد و سلامتی طیور استفاده می شد، با ممنوعیت مصرف آنتی بیوتیکها در سالهای اخیر، استفاده از ترکیبات جایگزین آنها مانند پروبیوتیکها رواج یافته است. پروبیوتیکها مکمل های میکروبی زنده ای هستند که از طریق بهبود تعادل میکروبی روده بر میزبان اثرات مفیدی را اعمال می کنند. در تعدادی از تحقیقات گزارش شده است که استفاده از پروبیوتیکها باعث بهبود عملکرد طیور می شود. تحریک سیستم ایمنی، رقابت با میکروب های بیماری زا در روده، تولید آنزیم های گوارشی، سنتز ویتامینهای گروه B و افزایش تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه از سایر اثرات مثبت این باکتری ها می باشد (Fuller et al., 1989).

ادنز و همکاران در سال ۱۹۹۷ بهبود وزن بدن و کاهش درصد تلفات را در گروه دریافت کننده لاکتوباسیلوس روتری از طریق تزریق به تخم مرغ نسبت به گروه شاهد گزارش نمودند. در تحقیق دیگری کشت نامعلوم سکومی را از طریق تزریق به تخم مرغ در روز ۱۸ انکوباسیون و نیز گاوژ دهانی به جوجه های تازه هچ شده تجویز کردند و گزارش نمودند که روش گاوژ دهانی در کاهش میزان سالمونلا نسبت به گروه تزریق به تخم مرغ و شاهد مؤثرتر می باشد. پیونینک و نورمی در سال ۱۹۸۲ برای اولین بار از آنروسل برای مصرف کشت های حذف رقابتی استفاده نمودند و کاهش کلنی های سالمونلا، افزایش مقاومت پرنده و بهبود عملکرد در پی استفاده از این روش گزارش شد.

با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده، می توان این طور نتیجه گرفت که استفاده از باکتری های پروبیوتیکی می تواند در کاهش آلودگی سالمونلایی مؤثر واقع شود. هدف از انجام این تحقیق بررسی تاثیر باکتری های پروبیوتیکی مختلف در پیشگیری از عفونت سالمونلا انتریتیدیس در بلدرچین ژاپنی می باشد.

مواد و روش

برای انجام طرح تعداد ۱۰۸ جوجه بلدرچین یکروزه خریداری شد و در گروه های آزمایشی ۱۸ تایی طبقه بندی شدند. پرندگان در یک روزگی تعلیق باکتری های مختلف با توجه به نوع تیمار آزمایشی از طریق گاوژ دهانی مقدار ۱۰۰ میکرولیتر (۷/۸×۱۰^۷CFU/ml) دریافت کردند. بعد به داخل قفس هایی با

^۱ Colony Forming Unit

^۲ Colony Forming Unit



۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

ابعاد ۹۵×۴۵×۴۰ سانتی متر منتقل شدند. از روز سوم به استثنای گروه آزمایشی شاهد سایر گروه‌ها به طور روزانه در آب آشامیدنی به میزان تقریبی 10^9 CFU در هر لیتر آب از باکتری های منتخب دریافت می نمودند.

در روز دوم تمام پرندگان گروه‌های متفاوت بجز گروه شاهد منفی از طریق دهانی با ۰/۱ میلی لیتر سالمونلا انتریتیدیس (10^7 CFU/ml) چالش داده شدند (Mead et al., 2000). داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یک و چهارده روز بعد از چالش با سالمونلا، از هر تیمار ۴ پرنده به صورت تصادفی انتخاب و به روش انسانی با استفاده از گاز CO_2 بیهوش شدند. جهت نمونه برداری ابتدا لوزه سکومی سمت راست هر پرنده به تنهایی جدا و عمل غنی سازی روی آنها انجام شد. غنی سازی نمونه‌ها با استفاده از بافر آب پیتونه و آبگوشت راپاپورت وازیلیدیس^۱ انجام شد. بعد از غنی سازی یک لوپ از کشت را روی محیط XLD^۲ آگار به صورت خطی کشت داده و مجدد در داخل گرمخانه قرار گرفتند و بعد از ۲۴ ساعت نتایج به صورت وجود و یا عدم وجود کلنی های سیاه رنگ سالمونلا انتریتیدیس روی محیط کشت ثبت شد (Bell and Kyriakides, 2002).

نتایج و بحث

همان گونه که در جدول ۱ مشخص شده است پس از چهارده روز درصد آلودگی در گروه‌های دریافت کننده باسیلوس ها و لاکتوباسیلوس پلاتاروم به صفر رسید و همچنین میزان آلودگی نسبت به یک روز بعد از چالش کاهش یافته است.

مکانیسم‌هایی که باعث مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا توسط باکتری‌های پروبیوتیکی می‌شود عبارتند از فعالیت ضد میکروبی مستقیم از طریق تولید باکتریوسین‌ها، اسیدهای آلی (اسید لاکتیک، استیک اسید) پراکسید هیدروژن، ترکیبات پروتئینی مانند باکتریوسین و یا سایر پپتیدها با حجم مولکولی پایین، چربی و متابولیت‌های امینواسید و اسید فنیل لاکتیک و ترکیبات دیگری مانند روترین (Cheikhoussef et al., 2009; Bau et al., 2008).

جدول ۱: تاثیر برخی باکتری‌های پروبیوتیکی بر کاهش میزان

سالمونلا ۱ و ۱۴ روز پس از چالش

تعداد پرنده های آلوده/ تعداد کل پرنده های چالش داده شده		
زمان پس از چالش (روز)		
تیمار	یک روز	چهارده روز
	لوزه سکومی	لوزه سکومی
شاهد منفی	۰/۵ (۰)	۰/۴ (۰)
شاهد مثبت	۳/۵ (۶۰)	۲/۴ (۵۰)
باسیلوس لیشنی فرمیس	۲/۵ (۴۰)	۰/۴ (۰)
باسیلوس سوتیلیس	۱/۵ (۲۰)	۰/۴ (۰)
پدیوکوکوس اسیدی لاکتیزی	۳/۵ (۶۰)	۲/۴ (۵۰)
لاکتوباسیلوس پلاتاروم	۲/۵ (۴۰)	۰/۴ (۰)
مقدار احتمال	**	**

**=($P < 0.01$)

^۱ Rappaport Vasalide

^۲ Xylose Lysine Dextrocholate Agar



با توجه به مکانیسم های شرح داده شده و با توجه به نتایج بدست آمده در آزمایشگاه، علت کاهش سالمونلا توسط باکتری ها می تواند به علت توانایی اتصال و استقرار آنها به اپیتلیوم و اشغال جایگاه های اتصال و همچنین تا حدودی تجمع با باکتری های بیماری زا باشد. در سال ۲۰۰۴ مصطفی به مقایسه برخی از باکتری های اسید لاکتیک جداسازی شده از یک محصول پروبیوتیکی تجاری و باسیلوس سوبیتیلیس در مهار رشد سالمونلا تیغی موربوم و اشیریشیا کولای پرداخت. وی نتیجه گرفت که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در میان باکتری های اسیدلاکتیک مورد آزمایش بالاترین توانایی را در مهار رشد باکتری های بیماری زای مورد بررسی دارد. در سال ۲۰۰۱ مایی و همکاران به ارزیابی باکتری های محصول پروبیوتیکی تجاری در کاهش سالمونلا انتریدیس در شرایط *in vivo* پرداختند. آنها بیشترین تاثیر را در گروه دریافت کننده انتروکوکوس فاسیوم مشاهده کردند. بررسی ادلمن و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان داد که *Lactobacillus crispatus* توانایی مهار رشد اشیریشیا کولای را در آزمایشگاه دارد.

نتیجه گیری کلی

به طور کلی تجویز باکتری های پروبیوتیکی به میزان قابل توجهی میزان آلودگی سالمونلا را در جوجه های جوان بلدرچین کاهش می دهد. علاوه بر کاهش میزان آلودگی تاثیرات مثبت استفاده از پروبیوتیک ها در عملکرد، بهبود سیستم ایمنی نیز مشاهده شده است.

منابع

- 1. Bell, C. and Kyriakides, A. (2002).** *Salmonella* a practical approach to the organism and its control in foods. Practical Food Microbiology Series. London. UK.
Bifidobacterium longum ATCC 15708 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. *Digestive Diseases and Sciences*,. **45**: 1617–1622.
- 2. Cheikhoussef, A., Pogori, N., Chen, W. and Zhang, H. (2008).** Antimicrobial proteinaceous compounds obtained from bifidobacteria: From production to their application. *International Journal of Food Microbiology*. **125** : 215–222
- 3. Edens, F.W., C.R. Parkhurst, I.A. Casas, and W.J. Dobrogosz. 1997.** Principles of *ex ovo* competitive exclusion and *in ovo* administration of *Lactobacillus reuteri*. *Poultry Science*. 76:179-196.
- 4. Edelman, S., Leskela, S., Ron, E., Apajalahti, J. and Korhonen, T. K. (2003).** *In vitro* adhesion of an avian pathogenic *Escherichia coli* O78 strain to surfaces of the chicken intestinal tract and to ileal mucus. *Vet. Microbiol.* **91**: 41-56.
- 5. Fuller, R. 1989.** A review: Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*. 66:365-378.
- 6. Mead, G.C. 2000.** Prospects for competitive exclusion treatment to control *Salmonellas* and other food borne pathogens in poultry. *Veterinary Journal*. 159:111-123.
- 7. Pivnick, H. and E. Nurmi. 1982.** The Nurmi concept and its role in the control of *Salmonella* in poultry. In: R. Davis (Ed.). *Developments in Food Microbiology*. 1. Applied Science Publishers. London, pp. 41-70.