نشریه دامپزشکی
(پژوهش و سازندگی)
شماره ۹۴، بهار ۱۳۹۱

بررسی میزان آلودگی کندوهای زنبور عسل استان آذربایجان شرقی با باکتری *Paenibacillus larvae* و بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی آنها در خلال سال های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶

• **ناصر رزم آرایی**(نویسنده مسئول)
آزمایشگاه فارماکولوژی مرکز تحقیقات کاربرد دارویی، کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز،
بخش سلولی و مولکولی، موسسه تحقیقات کاربرد دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
• **حسین بابایی**
آزمایشگاه فارماکولوژی مرکز تحقیقات کاربرد دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
• **مصطفی مرادی**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی
•**مجتبی محرمی**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی
• **ایرج خلیلی**
موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شعبه شمالغرب
• **لعیا فروغی**
کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
تاریخ دریافت: خرداد ماه ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: دی ماه ۱۳۹۰
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۴۳۹۱۱۲۴۳
Email: nasserrazmaraii@yahoo.com

چکیده

بیماری لوک آمریکائی یکی از مهم ترین بیماری باکتریائی زنبور عسل بوده که در صورت عدم تشخیص و درمان به موقع، می‌تواند موجب تلفات شـدیدی درزنبورسـتان ها می گردد. عامل بیماری باسـیل گرم مثبت اسـپور داری بنام *Paenibacillus larvae* مـی باشـد. این باسـیل کاتالاز منفی بوده واسـپورآن بسـیار مقاوم می باشـد. مطالعه حاضر طی سـال هـای ۱۳۸۶ - ۱۳۸۵ در زنبورستان های ۱۵ شهرستان، استان آذربایجان شرقی انجام گردید. در این بررسی تعداد ۱۰۰ زنبورستان و از هر زنبورستان تعداد ۵ کندوی زنبورعسـل بطور تصادفی انتخاب شـدند. نتایج این بررسی نشـان دادکه: از مجموع ۱۰۰ زنبورستان استان، فقط از سه زنبورستان باکتری *B.larvae* جدا گردید و نتایج بررسی های آنتی بیوگرام به ترتیب از حساسیت این باکتری ها به: به تتراسیکلین، اکسی تترا سایکلین، سولفادیمیدین، تایلوزین، جنتامایسین، استرپتومایسین و پنی سیلین را نشان داد.

کلمات کلیدی: لوک آمریکایی، *Paenibacillus larvae*، مقاومت آنتی بیوتیکی، زنبور عسل

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 94 pp: 11-17

Study on prevalence and antibiogram of American foulbrood in honey bee hives of east Azarbaijan province between 2007-2008

By: N.Razmaraee, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Northwest Branch (Corresponding Author; Tel: +989143971243), Babaee H. Pharmacology Faculty of Medical Sciences University, Tabriz, Moradi M. and Moharmi M., Razi Vaccine and Serum Research Institute Karaj. Khalili F. Razi Vaccine and Serum Research Institute Northwest Branch Foroughi L. Medical Sciences University of Tabriz, Aras International Branch.

American foulbrood disease (AFB) is one of the most important bacterial diseases of honey bee can be caused severe losses in apiaries. AFB caused by *Paenibacillus larvae* a Gram positive and spore-forming bacterium. This study was taken placed in 15 area of east Azerbaijan province of IRAN between 2006-2007 years. In this study, 500 bee hives were randomly selected from 100 apiaries. Standard Bacteriological tests was performed to isolate Paenibacillus larvae Identification and Antibiogram tests were done on approved isolates. The results of this study revealed that, three apiaries were infected by Paenibacillus larvae and they were sensitive to the Oxytetracycline, Tetracycline, Doxycycline, Sulphadimidine, Taylosin, Gentamicin, Streptomycin and Penicillin respectively. Finally, it was demonstrated that the rate of AFB in apiaries of east Azerbaijan province is low and isolated bacteria were sensitive to the most antibiotics.

Keywords: Bacillus larva, American foulbrood, Antibiogram, Honey bee, MYPGP agar

مقدمه

ایـن بیماری وابسـته به فصل خاصی نمی باشـد. عامل بیماری نوعی باسیل اسپوردار بنام *Paenibacillus larvae* می باشد. اسپور این باسیل بسیار مقاوم اسـت (۲۲،۱۹). تنها میزبان این باسیل، لاروها و شفیره های زنبورهـای کارگر می باشـند(۷). آلودگی از طریق غذای آلوده به اسـپور بیماری، به لاروهای سالم منتقل میشود و اغلب ناقلان بیماری، زنبور های جوان پرستار یا زنبورهایی که حجره ها را تمیز نموده و لاشه تلف شده ها را به خارج از کندو منتقل می کنند، می باشند(۱۴). در برنامه های پیشگیری و کنتـرل این بیماری باید به انتقـال عمودی آن نیز توجه نمود (۱۵). این بیماری از کشورهای مختلف دنیا گزارش شده است (۱۱، ۱۶، ۲۷) . برای تشـخیص این بیماری می توان از روش های مولکولی بسـیار دقیق مانند PCR، استفاده نمود (۲۵).

برخی ازگزارشـات بیمـاری در زنبورسـتان های کشـور عبارتند از: گزارش بیماری در سـال ۱۳۷۳ توسـط عراقی در استان آذربایجان غربی (۴)، عقیلی و همکاران در سـال ۱۳۸۰از اسـتان چهارمحال بختیاری (۶) و عظیمـی و همکاران در ۱۳۸۶ از اسـتان همـدان (۵) وگزارش آلودگی زنبورسـتان های نواحی شمالی استان تهران توسط یوسفی و همکاران در سال ۱۳۸۶می باشد(۸).

در معده لارو زنبور، فرم اسـپور به فرم باسـیل تبدیل می شـود. رشد باسـیل در بدن لاروها موجب ایجاد بیماری شده و و تلفات در کندو شروع می شـود و موجب مرگ لاروها در مرحله پیش شـفیرگی می گردد(۳). سـرعت انتشار بیماری متناسـب با تعداد لاروهای مرده می باشد و زمانی که بیماری در کندو گسترش یافت وتعداد لاروهای مرده افزایش پیدا کرد دیگر زنبورها از بیرون کشیدن آنها صرف نظر می کنند و از طرفی چون بر جمعیت کندو افزوده نمی شود کندو ضعیف شده و از بین می رود.(۴)

اسپور بیماری در مقابل نور آفتاب، خشکی، حرارت، سرما و ضدعفونی های عادی و عمل ضدعفونی عسل بسیار مقاوم است (۲۹). در اثرآلودگی، لاروهـا در مرحله پیش شـفیره ای مـرده، به رنگ قهـوه ای درآمده و در نهایت خشک می شوند و به صورت یک پوسته در می آیند که حذف آنها از سـطح شان ها کار مشکلی است. معمولاً در این بیماری پوشش محدب سـلول ها فرورفته شده وپس از پیشرفت بیماری سـوراخ می گردد. یکی دیگر از علائم مشـخصه این بیماری بوی خاصی است که از سلول آلوده به مشـام می رسد. این بو ممکن اسـت تا یک متری کندویی که درب آن را برداشـته اند استشمام شود(۱، ۲). وقتی چوب کبریتی درون سلول حاوی شفیره فاسد شده وارد شود این شفیره به میزان چند سانتی متر چون ماده لزجی کش می آید (۴).

مواد و روش ها

با فـرض آلودگـی ۵۰ درصدی زنبورسـتان های اسـتان آذربایجان شـرقی و با اسـتفاده از فرمول آماری محاسـبه تعداد نمونـه ها از فرمول $n=z^2p\,(1-p)$ تعییـن گردید. d^2 تعداد ۱۰۰ زنبورسـتان در کل اسـتان انتخـاب گردیـد و در هـر زنبورسـتان از تعـداد ۵ کندو نمونـه برداری گردیـد. نمونـه ها در خلال سـال هـای ۱۳۸۵و ۱۳۸۶ طی دو سـال از زنبورستان های ۱۵ شهراز استان آذربایجان شرقی جمع آوری شد. برای تعیین زنبورسـتان های مورد نظـر، از جدول اعداد تصادفی اسـتفاده شـد و از هر زنبورسـتان تعـداد ۵ کندو به صـورت کاملاً تصادفی مـورد بازدید و نمونـه بـرداری قرار گرفت و با تکمیل پرسشـنامه، اطلاعات مربوط به هر زنبورستان که شامل اطلاعات کافی در مورد زنبوردار و وضعیت زنبورستان جمع آوری گردید و بعد از انجام آزمایشات لازم نتایج حاصله در فرم های مربوطه ثبت شد. پس از تعیین کندوهای مورد بازرسی، ا زهر کدام از آنها چهار نمونه به شرح زیر گرفته شد.

۱- زنبور بالغ: تعداد ۴۰ عدد زنبور عسل بالغ را از روی قاب های حاوی لارو و شفیره برداشته و در ظروف مناسب جمع‌آوری شد.

۲- لارو و شـفیره: از هر کندو حدود ۲۵ سـانتی متر مربع سلول های

مومی حاوی لارو و شفیره را با تیغه اسکالپل بریده و در ظرف نمونه‌گیری مناسب به آزمایشگاه انتقال داده شد (ترجیحاً از قاب هائی انتخاب می‌شوند که حاوی تعدادی سلول خالی در کنار سلول های سربسته می‌باشند).

۳- عسل: از هر کندو حدود ۲۵ سانتی متر مربع از سلول های مومی سربسته حاوی عسل را با تیغه اسکالپل برش داده و در ظروف نمونه‌گیری مناسب به آزمایشگاه انتقال داده شد.

۴- گرده گل: از هر کندو حدود ۲۵ سانتی متر مربع از سلول های مومی حاوی گرده گل را با تیغه اسکالپل برش داده و در ظروف نمونه‌گیری مناسب به آزمایشگاه انتقال داده شد.

پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه در اسرع وقت آنها را به شیوه زیر آماده نموده و در محیط کشت مناسب کشت داده شد(۱۸).

- نمونه‌های زنبور بالغ: زنبوران بالغ زنده را قبل از آزمایش توسط ماده بیهوش کننده، کشته و برای از بین بردن اسپور باکتری های سطح بدن آنها، آنها را در الکل متانول انداخته تا ضدعفونی شوند. سپس تعداد ۳۰ عدد زنبور را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل له کرده و با استفاده از یک تکه توری یا تنریب آنها را صاف کرده و در داخل ویال های شیشه‌ای ریخته شدند.

- لارو و شفیره: تعداد ۳۰-۲۰ عدد لارو و شفیره را در داخل ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل له کرده و طبق روش فوق عمل شد.

- عسل: عسل داخل سلول های مومی را صاف کرده و آنها را در داخل مقداری آب مقطر استریل حل نموده و طبق روش های قبل در داخل ویال های شیشه‌ای ریخته شدند.

- گرده گل : گرده گل را از داخل سلول های مومی بیرون آورده و در مقداری آب مقطر استریل حل گرده و در داخل ویال های شیشه‌ای ریخته شدند.

برای از بین بردن باکتری های فاقد اسپور از حرارت مرطوب استفاده گردید با توجه به اینکه باکتری پنی باسیلوس لاروا اسپور دار بوده و اسپور آن قادر به تحمل دمای زیر ۱۰۰ درجه می‌باشد. لذا برای از بین بردن سایر باکتریهای فاقد اسپور، ویال های شیشه‌ای حاوی نمونه‌های آماده شده را در داخل حمام آب گرم ۹۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده، بطوری که آب روی ویال ها را پوشانده بود (۱۸، ۱۹، ۲۸).

برای کشت نمونه‌ها محیط کشت MYPGP آگار استفاده شد. بعد از ریختن محیط ها در داخل پلیت‌های شیشه‌ای و آماده شدن آنها برای کشت، با استفاده از سوآپ استریل یا ریختن چند قطره از محتویات هر یک از ویال ها در روی پلیت‌های جداگانه و پخش کردن آن در روی محیط کشت اقدام به کشت نمونه‌ها گردید. مشخصات هریک از نمونه‌ها و کد زنبورستان پشت پلت‌ها یادداشت شد. پلت‌های آماده شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز قرار داده شدند. (البته بعد از ۱۸ ساعت می‌توان باکتری های رشد کرده را مشاهده نمود ولی ۳ روز مدت زمان مناسبی برای رشد کامل باکتری است (۱۷).

بعد از سه روز قرار دادن پلیت‌ها در داخل انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد تک تک آنها را به دقت مورد مشاهده قرار داده و تعداد کلنی‌های باکتری رشد کرده را به دقت شمارش کرده و در فرم های مربوط به هر نمونه و زنبورستان ثبت شد. در مرحله بعد اقدام به رنگ‌آمیزی گرم باکتری های رشد کرده نموده و هر یک از نمونه‌ها به دقت بررسی شدند و نتایج مشاهدات میکروسکوپی هر یک از پلیت ها، ثبت گردید.

برای حصول نتیجه قطعی از حضور یا عدم حضور باکتری *Paenibacillus larvae*، باکتری های مشکوک از نظر باکتری فوق با استفاده از تست های تفریقی گلوکز، کازئین، ژلاتین، اندول، کاتالاز و سیترات مورد بررسی قرار گرفتند. این باکتری دارای تست هیدرولیز گلوکز، هیدرولیز کازئین، ژلاتین را هیدرولیز، اندول منفی،۵ کاتالاز منفی ستیرات منفی است (۱۸، ۲۱، ۲۴).

تست آنتی‌بیوگرام

برای اینکه از میزان حساسیت باکتری *Paenibacillus larvae* جدا شده در برابر آنتی‌بیوتیک های رایج در زنبورداری ها اطمینان حاصل گردد، با کشت اختصاصی باکتری فوق در محیط MYPGP و استفاده از دیسک های آنتی‌بیوتیکی شامل: تتراسیکلین، اکسی تترا سایکلین، استرپتومایسین، تایلوزین، جنتامایسین و سولفادیمیدین (شرکت پاتن طب) تست آنتی بیوگرام مطابق دستور العمل شرکت سازنده انجام گردید.

در نهایت با ثبت نتایج در جداول مربوط به تک تک زنبورستان های و مقایسه آنها با یکدیگر، میزان آلودگی زنبورستان های هر شهرستان تعیین گردید.

نتایج

از مجموع ۱۰۰ زنبورستان مورد مطالعه مربوط به ۱۵ شهرستان استان آذربایجان شرقی، تعداد ۳ زنبورستان به ترتیب مربوط به شهرهای چاریماق، هریس، کلیبر با باکتری *Paenibacillus larvae* آلوده بودند. شکل های ۱ ،۲،۳ و ۴ به ترتیب مربوط به رشد باکتری را در داخل محیط کشت، حجره های کندو های درگیر، باکتری های رنگ آمیزی شده و منظره کش آمدن لاروهای مبتلای مرده می باشد آلودگی عسل دو مورد از سراب و هریس، آلودگی موم دو مورد از کلیبرو هریس و آلودگی لارو سه مورد مربوط به کلبر و سراب و هریس و آلودگی زنبور یک مورد از کلیبر گزارش گردید که نتیجه بررسی ها در جدول ۱ نشان داده شده است:

بحث

بیماری لوک آمریکایی همه ساله خسارات زیادی را به صنعت زنبورداری وارد می سازد و نه تنها منجر به نابودی یک کلنی شده بلکه در صورت عدم تشخیص و درمان سریع کندوهای مبتلا می تواند به سرعت در تمام زنبورستان گسترش یافته و ظرف مدت کوتاهی موجب بروز تلفات شدید در تمام زنبورستان ها گردد.

استان آذربایجان شرقی با داشتن تعداد ۴۱۰/۰۰۰ کندوی مدرن و حدود ۱۹۸/۰۰۰ کندوی بومی یکی از بزرگترین سایت های تولید و پرورش زنبور عسل و فراورده های آن می باشد و یکی از بالاترین ارقام تولید عسل در کشور را داراست. جداسازی اسپور باکتری *Paenibacillus larvae* از سه زنبورستان که بترتیب در شهرهای کلیبر، هریس و چاریماق انجام گردید. در شهر های فوق سیستم زنبورداری بیشتر بسمت سیستم های سنتی گرایش دارد وزنبور داران بیشتر به کمک تجربیات شخصی خود و یا سایر زنبورداران مشغول بکار در حرفه زنبورداری هستند با بررسی اطلاعات موجود در

پرسشنامه ها مشخص شد که در هر سه مورد این افراد، دارای تحصیلات پایین بوده، هیچکدام از این افراد با دکترهای دامپزشک موجود در منطقه ارتباط کاری نداشته، از وسایل و جمعیت های سایر زنبورداران براحتی و بدون کمترین رعایت اصول بهداشتی استفاده می نمایند و براحتی بین این زنبورستان و سایر زنبورستان ها کندو های مستعمل مبادله می گشت (۲، ۳، ۴). با توجه به اسپور مقاوم این بیماری از یک سو و عدم آشنایی این زنبورداران با اصول صحیح زنبورداری از سوی دیگر بروز انواع بیماری ها، بویژه بیماری نوزما در این زنبورستان ها دور از انتظار نبود. میزان تولید عسل در این زنبورستان ها در مقایسه با میانگین تولید عسل در استان در ازای هرکندو نیز پایین تر بود. در سال ۱۳۷۳گزارش عراقی و همکاران در خصوص میزان آلودگی در زنبورستان ها در استان آذربایجان غربی ۴۷ درصد در نمونه های عسل و ۱۴ درصد در نمونه های لارو وشفیره را شامل می شد بود که علت را ، اپیدمی بیماری در سال ۱۳۷۰ می دانست که اسپور باکتری در منطقه باقی مانده بود (۴). البته از علل احتمالی دیگر بالا بودن میزان آلودگی در استان آذربایجان غربی، می توان به داشتن مرز مشترک با کشورهای ترکیه و عراق باشد که احتمال ورود بیماری از کشورهای فوق وجود دارد. عقیلی و همکاران در سال های ۱۳۷۷ و ۱۳۷۸ در استان چهار محال بختیاری آلودگی عسل ۵/۳۵ و آلودگی لارو ها ۱/۸ درصد گزارش نمودند(۶)، در سال ۱۳۸۶ در استان همدان ۳ درصد زنبورستان های مورد مطالعه توسط عظیمی و همکاران (۵) گزارش گردید و در سال ۱۳۸۶ یوسفی وهمکاران در استان تهران آلودگی لارو ها را ۱ درصد و آلودگی موم ها را ۵ /۰ گزارش نموده است(۸).

گزارش بیماری در استان همدان ۳ درصد زنبورستان های مورد مطالعه و همچنین نمونه های آلوده مربوط به عسل و لاروها بود در حالی که میزان آلودگی زنبورستان های تحت مطالعه در استان چهار محال بختیاری میزان آلودگی ۵/۳۵ درصد عسل و میزان آلودگی لاروها ۱/۸ درصد گزارش گردیده است (۶) و در مطالعه یوسفی میزان آلودگی موم و لارو در زنبورستان های تحت مطالعه غرب تهران (کرج و ساوجبلاق) به ترتیب ۱ درصد و۰/۵ درصد بود (۸). نتایج بررسی حاضر در استان آذربایجان شرقی نشان دهنده آلودگی ۲ درصدی عسل، ۲ درصدی موم، ۳ درصدی لاروها و ۱ درصدی زنبورهای بالغ بودکه در مقایسه با بررسی های انجام گرفته در استان آذربایجانغربی و استان چهار محال بختیاری پایین تر بود ولی با نتایج استان همدان همخوانی داشت ولی بیشتر از گزارش آلودگی غرب استان تهران بود. عراقی علت بالا بودن آلودگی در استان آذربایجان غربی را مربوط به، اپیدمی بیماری در سال ۱۳۷۰ می دانست که اسپور باکتری در منطقه باقی مانده بود (۴). البته از علل احتمالی دیگر بالا بودن میزان آلودگی در استان آذربایجان غربی، می توان به داشتن مرز مشترک با کشورهای ترکیه و عراق باشد که احتمال ورود بیماری از کشور های فوق وجود دارد. از علل مهم دیگر مربوط به وجود اختلاف در نتایج می تواند شرایط اقلیمی استان های مختلف، مناطق کوچ زنبورستان ها، همچنین مقاومت نسبی برخی از زنبورستان ها به بیماری، همچنین مسائل بهداشتی و مدیریتی زنبورستان ها باشد. نتایج آنتی بیوگرام از حساسیت باکتری های *Paenibacillus larvae* جداشده ترتیب به تتراسیکلین، اکسی تترا سایکلین، سولفادیمیدین، تایلوزین و جنتامایسین، استرپتومایسین و پنی سیلین بود که اغلب منابع این امر را تایید می نمایند (۵). در صنعت زنبورداری مصرف آنتی بیوتیک ها عمدتاً بر علیه بیماری های لوک آمریکائی و لوک اروپائی می باشد در کشورهای اروپایی زنبورداران مجاز به استفاده از آنتی بیوتیک های محدودی می باشند. با ایجاد محدودیت در عرضه و مصرف آنتی بیوتیک در زنبورستان ها و ارائه آموزش های علمی به زنبوردارا نمی توان از ایجاد سویه های مقاوم باکتری در برابر آنتی بیوتیک ها جلوگیری کرد و همچنین باقی مانده آنتی بیوتیک در عسل به حداقل رساند. درتعداد زیادی از کشورهای اتحادیه اروپا میزان حداکثر باقی مانده مجاز آنها مشخص نشده است، که بدین معنی است که اجازه مصرف به عسل های واجد باقی مانده آنتی بیوتیک ها داده نمی شود. با این حال تعدادی از کشورهای اروپائی از جمله سوئیس، انگلیس و بلژیک محدوده هائی را تعیین نموده اند که در حد تا ۰۵/ میلی گرم در کیلوگرم برای هر گروه آنتی بیوتیک است. در آمریکا اکسی تترا سایکلین تنها دارویی است که مجوز استفاده برای پیشگیری و کنترل بیماری لوک آمریکایی را در زنبورستان ها دارد (۲۶). براساس گزارش Alippi در سال ۱۹۹۶، از تعداد ۹۱ مورد *Paenibacillus larvae* جدا شده از زنبورستان های کشور آرژانتین، میزان مقاومت سویه های جدا شده به اکسی تتراسایکلین ۴۵ درصد بود Alippi و همکاران در سال ۲۰۰۵ عدم وجود مقاومت دارویی *Paenibacillus larvae* جداشده به آنتی بیوتیک تایلوزین را گزارش نمودند (۱۰). مطالعه دیگر درکشور برزیل توسط Bastos و همکاران تاثیر بسیار بالای آنتی بیوتیک های تایلوزین و اکسی تتراسایکلین بر روی پنی باسیلوس لاروا گزارش گردید (۱۳).

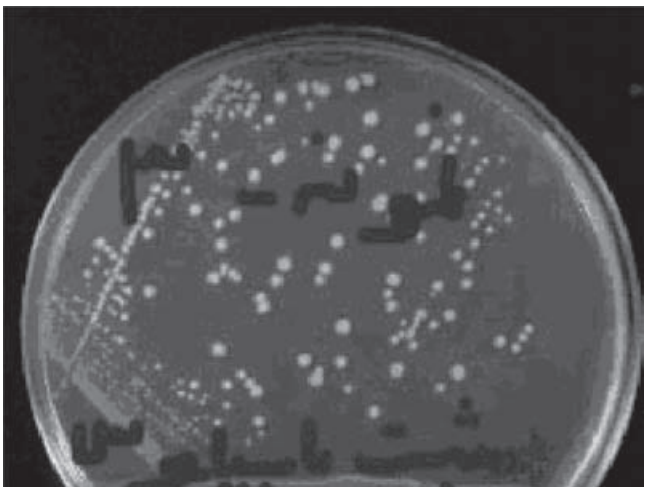
گزارشات زیادی از این بیماری در کشور ترکیه وجود دارد که می توان به گزارش kaftanoglu در سال، که ۱۹۸۶ آلودگی ۵ درصدی کندو های مورد مطالعه را نشان می دهد (۲۰). Aydin در سال ۱۹۹۹که آلودگی ۱۴/۱۴ درصد از عسل های کندوهای مورد مطالعه را گزارش نمود (۱۲). و در سال ۲۰۰۲ Ozkirim آلودگی ۴ درصدی از این باکتری را از عسل های مناطق مختلف ترکیه را گزارش نموده است (۲۳). وجود مرز مشترک با این کشور و احتمال انتقال بیماری از این طریق به کشور می تواند مطرح باشد. به علت مشکلات مربوط به کشت و آلودگی های محیط کشت با سایر باکتری های اسپوردار، معمولاً کار با این باکتری مشکل است و با توجه به اسپور بسیار مقاوم این باکتری بایستی که تمام محیط های کشت شده و وسایل آلوده قبل از دورریزی و یا استفاده مجدد، اتوکلاو شوند و در صورت عدم رعایت موارد ذکر شده احتمال انتشار بیماری در منطقه با منشاء آزمایشگاهی وجود خواهد داشت به نظر می رسد برای پیشگیری از بیماری لزوم آموزش صحیح زنبورداران در این رابطه و نظارت و کنترل کوچ های فصلی و ممانعت از کوچ زنبورداران به مناطق آلوده (۲۹) کشور می تواند از مهم ترین راهکارهای مبارزه با این بیماری باشد البته پایش سالیانه بیماری در مناطقی از کشور که قبلا این بیماری را داشته اند نیز بسیار مفید خواهد بود و در انتها مطالعه مولکولی بیماری در جمعیت های زنبورستان های کشور پیشنهاد می گردد که می تواند راهکارهای عملی را در پیشگیری و کنترل این بیماری محسوب می گردد.

جدول ۱- نتایج *Paenibacillus larvea* جدا شده از زنبورستان های استان آذربایجان شرقی

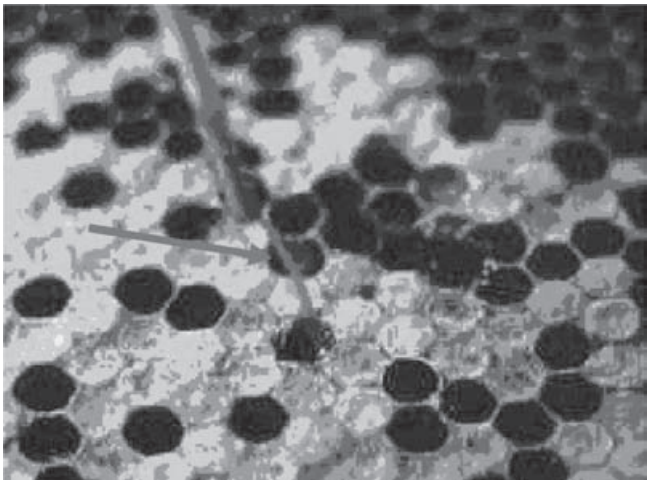
ردیف	شهرستان	تعداد زنبور ستان (بالای ۳۰۰ کندو)	تعداد زنبورستان انتخاب شده	نتیجه بررسی			
				عسل	موم	لارو	زنبور
۱	اهر	۱۶۲	۵	-	-	-	-
۲	بستان آباد	۳۱	۴	-	-	-	-
۳	تبریز	۳۲۹	۱۰	-	-	-	-
۴	جلفا	۶۶	۴	-	-	-	-
۵	چاریماق	۸	۳	-	-	-	-
۶	سراب	۱۴۷	۷	+	-	+	-
۷	شبستر	۲۲۴	۱۱	-	-	-	-
۸	کلیبر	۲۳۵	۱۲	-	+	+	+
۹	عجب شیر	۹۰	۴	-	-	-	-
۱۰	مراغه	۴۷۱	۱۱	-	-	-	-
۱۱	مرند	۱۲۴	۷	-	-	-	-
۱۲	میانه	۱۸۰	۸	-	-	-	-
۱۳	هریس	۱۵	۳	+	+	+	-
۱۴	هشترود	۲۲	۶	-	-	-	-
۱۵	ورزقان	۱۷	۵	-	-	-	-

جدول ۲- نتایج *Paenibacillus larvea* جدا شـده به تفکیک از عسـل، موم، لارو و زنبورهای زنبورستان های اسـتان آذربایجان شـرقی نتایج این بررسـی بیانگر آلودگی ۲ درصدی عسـل هـا، آلودگی ۲ درصدی مـوم هـا، آلودگی ۳ درصدی لاروهـا و آلودگی یک درصدی زنبورهای بالغ می باشـد و نتایج مربوط به آنتی بیوگرام نشـان داد که تفاوتی در میزان حساسـیت *Paenibacillus larvea* جدا شده وجود نداشت و تمام پنی باسـیلوس لارواهای جدا شـده از نقاط مختلف اسـتان به تریب به تتراسـیکلین، اکسی تترا سایکلین، سولفادیمیدین، تایلوزین و جنتامایسین، استرپتومایسین و پنی سیلین حساس بودند.

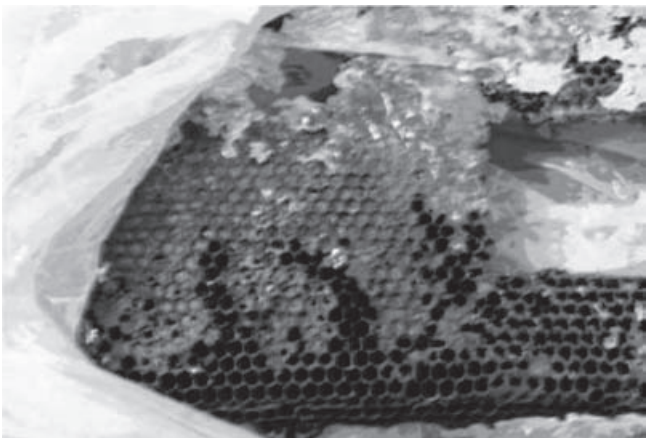
ردیف	شهرستان	نتیجه بررسی			
		عسل	موم	لارو	زنبور
۱	هریس	+	+	+	-
۲	چاریماق	+	-	+	-
۳	کلیبر	-	+	+	+



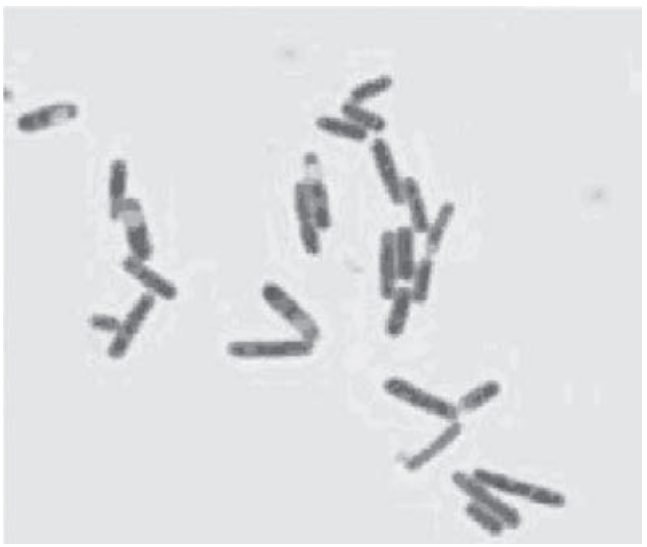
شکل ۱- پرگنه های *Paenibacillus larvea* در محیط کشت



شکل ۴ - منظره کش آمدن لاروهای مبتلای مرده



شکل ۲- منظره ای از حجره های مبتلا به بیماری



شکل ۳- منظره از باکتری *Paenibacillus larvea* رنگ امیزی شده (×۱۰۰۰)

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از زحمات بیدریغ جناب آقای مهندس نومی، مسئول اموردام استان آذربایجان شرقی وکارشناسان محترم امور دام شهرستان های مختلف استان و همچنین کارشناسان بخش های زنبورعسل و میکروب شناسی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی تشکر و قدر دانی می شود که جز با همکاری، همدلی و مساعدت این عزیزان انجام تحقیق میسر نبود.

منابع مورد استفاده

۱- توسلی،م. (۱۳۸۰) حشره شناسی دامپزشکی، (ترجمه) تالیف:ریچارد، وال. ودیوید، شیرر. انتشارات دانشگاه ارومیه.

۲- نیاپاشا، م.ی. (۱۳۸۶) بررسی آلودگی به گونه های مختلف هایپودرما در گاومیش در کشتارگاه ارومیه پایان نامه دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی ارومیه،شماره ۷۶۴

۳- سام کوکیایی،آ. (۱۳۸۵) بررسی آلودگی به میاز جلدی در گاو در کشتارگاه ارومیه،پایا ن نامه دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی ارومیه، شماره ۷۶۴.

3- Anwar, M. (2002) *studieson epidemiology ,economic sighnificance and chemotherapy of hypodermosis in cattle and buffaloes*. Higher Education Commission Pakeistan.pp:137

4- Araujo,C.N.,(1994) *Etuded hypoderma lineatum:* aspects epidemiologiques interaction hoste-parasite .Diss.:thesid doctoral, Brna.

5- Aynur,G.,et. al, (2000) A survey of hypodermosis cattle slaughtered in Turkey. *Turk I vet animi sci*, 24, 429_430

6- Boulard,C. (2002) *Durably controlling bovine hypodermosis, veterinary research*, pathologie aviare et parasitiologie ,france,2002,33,455-446

7- Cozma, v. and suuteu. E. (1995) *Epidemiology and aetiology of bovine hypodermosis in northwestern Romania*. proc. of a symposium symposium of cost 811 projrct of Erupean communities, held on sept.8_10,Brussels.pp.65_68.

8- Karatepe, m., Karatepe, B., (2008) hypodermosis in cattle slaughtered in nigdevprovince,turkey. *Trop anime health prod.*.40(6):383_386

9- Kotoch,R., et. al. (2005) Increasing incidence of hypodermosis in kangra valley of himachal Pradesh. *Journal of veterinary parasitology*,volume:19

10- Metelista, V.K. and Karelin, S.T. (1993) Problem veterinarnoi-*santitarii-i-Ekologii*, 2:96_101.

11- Murtaz, U.hasa., m. uhammad nisar khan, z.afar iqbal, zharahmad,. I. (2008) surveillance of cattle hypodermosis in district chakwal; Pakistan. *international journal of agriculture and biology*: vol.10,no.3 pp:337_339

12- Nicolas-Gaulard, I.; Moire, N.; Boulard, C.; (1995) Effect of the parasite enzyme hypodermin A on bovine lymphocyte prolifretion and interleukin 2

13- Otify,Y.Z. and Mansour, N.K. (1944) hypodermosis among animals fumishing meat production in green mountain –libya. assiut vet.met.J.,32:54-63.

14- zump,f., (1965) myiasis in man and animal .old word, butterwo London .pp.189_242