نحوه پیشگیری از سالمونلوز طیور (*Salmonella typhimurium*) با استفاده از اثر رقابتی *Lactobacillus bulgaricus*

دکتر عبدالله حسین‌خان ناظر، دکتر فضل‌الله موسوی نسب مبارکه

اعضای هیأت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز

چکیده

جهت بررسی نقش L.bulgaricus در پیشگیری از بیماری سالمونلوز طیور ایجاد شده توسط S. typhimurium همچنین تاثیر آن در پاکسازی لاشه و نیز مقایسه ابتدائی طیور بومی ایران با جوجه‌های صنعتی از نظر میزان حساسیت به بیماری سالمونلوز، تعداد ۸۲ قطعه جوجه بومی یکروزه در سه گروه L-T (آلوده به سالمونلا و درمان شده توسط لاکتوباسیل)، L-T-L (آلوده به سالمونلا و پیشگیری و درمان شده توسط لاکتوباسیل) و کنترل (آلوده به سالمونلا) و ۲۳ قطعه جوجه صنعتی یکروزه در گروه صنعتی مورد آزمایش قرار گرفتند.

کاربرد L. bulgaricus تاثیر قابل توجهی در کاهش دفع سالمونلا و سرعت و میزان پاک شدن لاشه در گروههای L-T، L-T-L داشت و این تاثیر در گروه L-T-L بوضوح نمایان‌تر بود. همچنین مصرف لاکتوباسیل میانگین وزنی گروههای آزمایش را به میزان چشمگیری نسبت به گروه کنترل افزایش داد.

میزان دفع سالمونلا در جوجه‌های صنعتی شدیدتر از گروه کنترل و همچنین در آزمایشات پس از مرگ درصد آلودگی روده کور آنها بیش از گروه کنترل بود در حالیکه کبد و طحال آلودگی کنترل را از خود نشان دادند.

مقدمه

از میان باکتریهای بیماریزای طیور، سالمونلاها دارای اهمیتی خاص می‌باشند. در طیور باکتریهای جنس سالمونلا عوارضی را تحت نام کلی سالمونلوز بوجود می‌آورند. این نام در برگیرندهٔ مجموعه‌ای از امراض حاد و مزمن است که توسط سروتیپ‌های مختلف این جنس در طیور ایجاد می‌گردد. سه بیماری عمده ناشی از سالمونلاها در طیور عبارتند از:

۱- بیماری پولوروم (اسهال سفید باسیلی) که عامل آن *S. pullorum* می‌باشد.

۲- بیماری تیفوئید مرغان که عامل آن *S. gallinarum* است.

۳- بیماری پاراتیفوئید مرغان که توسط طیف وسیعی از سروتیپ‌های متحرک ایجاد می‌گردد. این بیماریها همه ساله در صنعت مرغداری باعث بروز تلفات و خسارات شدید اقتصادی می‌گردند. برای پیشگیری و مبارزه با این بیماریها راه‌های متعددی وجود دارد که متداولترین آنها استفاده از داروهای ضد باکتریائی می‌باشد. به طور کلی آنتی بیوتیک‌ها، سولفونامیدها و نیتروفوران‌ها در این زمینه مورد استفاده قرار می‌گیرند ولی استفاده از این داروها اثرات سوء جانبی مخصوص خود را بدنبال دارد که مهمترین آنها بروز مقاومت داروئی و بوجود آمدن باکتریهای مقاومی است که خطرات زیادی برای سلامت اجتماع بدنبال دارد. بعلاوه استفاده غیر صحیح از این داروها و عدم قطع آنها در مهلت مقرر، قبل از ارائه طیور به بازارهای مصرف باعث باقی ماندن دارو در گوشت و مصرف انسان می‌گردد.

وجود این معایب محققین را به این فکر انداخته است تا از روش‌های دیگر درمانی و کنترل برای مبارزه با این بیماری استفاده کنند. به عنوان مثال ایمن‌سازی طیور علیه بیماری تیفوئید مرغان توسط واکسن کشته در آمریکا و واکسن زنده تخفیف حدت یافته در اروپا را می‌توان ذکر کرد. در مورد عفونت‌های پاراتیفوئید نیز واکسن‌های کشته و زنده تخفیف حدت یافته وجود دارد. اندوتوکسین باکتری *S. typhimurium* نیز به عنوان واکسن توسط [illegible]روسکوت و سجنانی (۱۹۷۲) و نیز تروسکوت و [illegible]ریارز (۱۹۷۲) مورد آزمایش قرار گرفت و تاثیر آن به اثبات رسید (۷).

گرچه موارد ذکر شده فوق نشان می‌دهد که نوعی مقاومت علیه سالمونلاها را می‌توان با واکسیناسیون تحریک نمود ولی بنظر نمی‌آید چنین اقداماتی هرگز بتواند در برنامه‌های ریشه کنی این بیماریها از گله‌های طیور جای مهمی داشته باشد (۷).

مسئله بقایای داروئی ناشی از وجود آنتی‌بیوتیک‌ها در لاشه و نیز مقاومت باکتری‌ها و خطرات ناشی از آن برای سلامت عمومی و عدم موفقیت عملی واکسیناسیون فکر مبارزه بیولوژیک را بوجود آورد.

در این زمینه از دهه گذشته اقداماتی با استفاده از فلور میکروبی روده طیور بالغ و مایعات بدست

آمده از دستگاه گوارش آغاز گردید. بعداً بتدریج با کتریهای دیگری برای این منظور مورد استفاده قرار گرفتند.

این باکتریها به طور خالص و یا چندگانه در زمانهای خاصی به طیور خورانده شدند تا با مکانیسم‌های گوناگون از جایگزینی یا تکثیر پاتوژن‌ها در روده جلوگیری کنند یا آنها را با بهم زدن شرایط محیطی غیر فعال کرده و یا کلاً از بین ببرند که البته این مکانیسم‌ها با توجه به نوع باکتری مورد استفاده متفاوت می‌باشد و بدین ترتیب مبارزه بیولوژیک و روش دفع رقابتی (Competitive exclusion) با کتریهای بیماریزا پایه‌ریزی شد که تابه امروز مطالعه روش‌های گوناگون آن در مراکز تحقیقاتی کشورهای مختلف جهان ادامه دارد.

از جمله باکتریهائی که برای این منظور مورد استفاده قرار گرفته‌اند، باکتریهای جنس لاکتوباسیل می‌باشند. لاکتوباسیل‌ها در مقایسه با سایر باکتریهائی که در اینگونه آزمایشات نقش مشابهی به عهده دارند، مانند کشت‌های محتویات روده و یا عصاره مدفوع و غیره بدلیل عدم بیماریزائی از ارزش خاصی برخوردارند.

نظر به جاذبه علمی موضوع و اهمیت جایگزینی مبارزه بیولوژیک بجای داروها و با توجه به اینکه کارهای انجام شده در این زمینه با استفاده از لاکتوباسیل‌ها صرفاً در خارج از کشور و بر روی نژادهای خارجی طیور انجام شده است، بنظر رسید که شاید کاری در این زمینه بر روی جوجه‌های بومی بتواند در جهت پیگیری تحقیقات قبلی پیرامون اثر رقابتی لاکتوباسیل‌ها در جلوگیری از بیماری سالمونلوز طیور مفید واقع گردد. از اینرو مطالعه نحوه پیشگیری از سالمونلوز طیور با استفاده از اثر رقابتی (*L. bulgaricus*) انتخاب گردید تا اهداف ذیل ضمن انجام آن پیگیری شوند:

۱- بررسی میزان کارائی لاکتوباسیل در پیشگیری از سالمونلوز طیور.

۲- مطالعه توانائی لاکتوباسیل در پاکسازی لاشه طیور هنگام عرضه به بازار.

۳- بررسی استعداد طیور بومی ایران، پذیرش لاکتوباسیل و پاسخگوئی به این روش درمانی.

۴- مقایسه ابتدائی طیور بومی با طیور صنعتی از نظر میزان حساسیت به عفونت ناشی از *S. typhimurium*.

مواد و روش کار

دان مورد نیاز جهت این تحقیق از کارخانه دان مرغی جهاد سازندگی استان فارس تهیه گردید. آزمایش باکتریولوژی بر روی نمونه‌هائی از دان انجام و عدم آلودگی آن به سالمونلا ثابت شد. باکتری *S. typhimurium* که از طیور مبتلا به سالمونلوز جدا شده بود ابتدا در محیط TSB (Tryptone Soya broth Oxoid CM 120) کشت و بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد با روش رقت سری شمارش و تعداد $۲/۵\times۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی‌لیتر در محیط TSB تشخیص داده شد.

L. bulgaricus مورد استفاده از طریق کشت چند نمونه ماست در محیط آگار لاکتوباسیل در شرایط میکروآئروفیلیک تهیه شد. جهت خورانیدن به جوجه‌ها باکتری مربوطه در محیط شیر کشت، و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط میکروآئروفیلیک در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری و پس ازشمارش باکتریها، مشاهده شد که در هر میلی‌لیتر از شیر تعداد $۲/۲\times۱۰^{۸}$ باکتری *L. bulgaricus* می‌باشد.

از جوجه‌ها در هنگام ورود نمونه مدفوع گرفته شد و آلوده نبودن آنها به سالمونلا مشخص گردید. در این مطالعه سه گروه جوجه وجود داشت، گروه اول فقط یک دوز لاکتوباسیل به صورت پیشگیری دریافت نمودند که با حروف L-T به آنها اشاره خواهد شد. گروه دوم علاوه بر یک دوز پیش‌گیری در روز اول مطالعه، دوز لاکتوباسیل هم پس از آلودگی با سالمونلا در روزهای ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۴ بعد از شروع آزمایش دریافت کردند که با حرف L-T-L مشخص شدند.

گروه سوم، گروه کنترل بود که لاکتوباسیل دریافت ننمودند.

دوز لاکتوباسیل خورانیده شده در این مطالعه در همه موارد ثابت و معادل $۲/۲\times۱۰^{۶}$ واحد تشکیل دهنده کلنی بود.

هر گروه در یک اطاق به سه زیر گروه ۱۰ قطعه‌ای تقسیم شد که به طور مجزا در اطاقکهای جدا گانه نگهداری می‌شدند. زیر گروههای ۱، ۲ و ۳ همه گروهها به ترتیب دوزهای $۲/۵\times۱۰^{۸}$ و $۲/۵\times۱۰^{۸}$ و $۲/۵\times۱۰^{۸}$ واحد تشکیل دهنده کلنی از *S. typhimurium* را در روز چهارم دریافت نمودند.

در اثر تلفاتی که در روز اول بوقوع پیوست، تعداد جوجه‌ها در گروهها تغییر نمود، بنحوی که در گروه L-T زیر گروه یک دارای ۹ قطعه و در زیر گروههای ۲ و ۳ هر کدام ۸ قطعه جوجه باقی ماند.

در گروه L-T-L نیز تعداد جوجه‌ها در همه زیر گروهها به ۹ قطعه کاهش یافت.

علاوه بر ۳ گروه فوق یک گروه جوجه صنعتی نیز وجود داشت که مانند گروه کنترل فقط سالمونلا را با همان ۳ دوز در ۳ زیر گروه خود دریافت نمودند.

در روزهای ۶، ۱۰، ۱۶ و ۲۴ از مقعد جوجه‌های هر سه گروه توسط سوآب نمونه مدفوع گرفته شد. سوآب‌ها به محیط سلنیت $۱۰^{\circ}F$ (Oxoid CM 395) انتقال و بعد از ۲۴ ساعت در حرارت ۳۷ درجه‌سانتیگراد در گرمخانه بر روی محیط آگار سبز درخشان (Oxoid CM 263) کشت و نتایج آن بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت نگهداری در گرمخانه قرائت می‌گردید.

پس از ذبح جوجه‌ها در ۳۳ روزگی، آلودگی اندامهای کبد، طحال و روده کور به سالمونلا در گروه‌های مختلف با یکدیگر مقایسه شد.

قبل از کشتار، جوجه‌ها وزن شدند. و متوسط وزنی آنها با گروه کنترل مقایسه گردید.

طرح کل این آزمایش در جدول شماره ۱ آمده است.

نتایج

نتایج این بررسی حول دو محور اصلی تنظیم گشته است.

الف - تعداد طیوری که سالمونلا را دفع می‌نماید.

ب - میزان آلودگی اندامهای مختلف طیور به سالمونلا.

علاوه بر آن نتایج تاثیر لاکتوباسیل در افزایش وزن جوجه‌ها و همچنین حساسیت طیور بومی و صنعتی به *S. typhimurium* نیز مورد توجه قرار گرفته است.

در جدول شماره ۲ تعداد و درصد طیور دفع کننده سالمونلا در گروههای مختلف مقایسه شده‌اند، همانطور که ملاحظه می‌شود، دو گروه آزمایش (L.T. و L.T.L) جوجه‌ها در دفع میکرب سالمونلا روند

جدول ۱ طرح کلی آزمایش[۱]

نام گروه	شماره زیر گروه	تعداد اعضاء	تعداد دوز لاکتوباسیل	روزهای تلقیح لاکتوباسیل (سن به روز)	دوز لاکتوباسیل دریافتی (cfu)	دوز سالمونلای دریافتی (cfu)
L - T	۱	۹	۱	۱	$۲/۲\times۱۰^{۸}$	$۲/۵\times۱۰^{۸}$
	۲	۸	۱	۱	$۲/۲\times۱۰^{۸}$	$۲/۵\times۱۰^{۸}$
	۳	۸	۱	۱	$۲/۲\times۱۰^{۸}$	$۲/۲\times۱۰^{۸}$
L - T - L	۱	۹	۶	۱،۶،۸،۱۰،۱۲،۱۴	$۲/۲\times۱۰^{۸}$	$۲/۲\times۱۰^{۸}$
	۲	۹	۶	۱،۶،۸،۱۰،۱۲،۱۴	$۲/۲\times۱۰^{۸}$	$۲/۵\times۱۰^{۸}$
	۳	۹	۶	۱،۶،۸،۱۰،۱۲،۱۴	$۲/۲\times۱۰^{۸}$	$۲/۵\times۱۰^{۸}$
کنترل	۱	۱۰	-	-	-	$۲/۵\times۱۰^{۸}$
	۲	۱۰	-	-	-	$۲/۵\times۱۰^{۸}$
	۳	۱۰	-	-	-	$۲/۵\times۱۰^{۸}$
صنعتی	۱	۱۰	-	-	-	$۲/۵\times۱۰^{۸}$
	۲	۸	-	-	-	$۲/۵\times۱۰^{۸}$
	۳	۷-۶	-	-	-	$۲/۵\times۱۰^{۸}$

۱- در این آزمایش تعداد دوز سالمونلا و روز تلقیح آن در همه زیر گروهها ثابت و معادل یک دوز بوده که در روز چهارم تلقیح گردیده است.

کاهشی نشان می‌دهند و روند این کاهش در گروه L.T.L سریع‌تر است. گروههای کنترل و صنعتی که هیچکدام لاکتوباسیل دریافت نکرده‌اند با وجود تفاوتهائی، تعداد دفع کنندگان افزایش می‌یابد و این افزایش در گروه صنعتی بخصوص در نمونه گیری چهارم شدیدتر و بارزتر است.

متوسط وزنی گروه‌های مختلف در جدول ۳ با یکدیگر مقایسه شده است. بطوریکه مشاهده می‌گردد. متوسط وزنی دو گروه L.T.L،L.T نسبت به گروه کنترل افزایش نشان می‌دهد. در مورد گروه صنعتی متوسط وزنی پائین‌تر می‌باشد.

میزان آلودگی اندامهای گونا گون به سالمونلاها در گروه‌های مختلف در جدول شماره ۴ مقایسه شده است. بیشترین میزان آلودگی بدون در نظر گرفتن نوع اندام در گروه کنترل و کمترین میزان آن در گروه L.T.L دیده می‌شود. در گروه کنترل نسبت به گروه صنعتی درصد نمونه‌های کبد و طحال آلوده بالاتر است در حالیکه نمونه‌های روده کور آلوده درصد بالاتری را در گروه صنعتی نسبت به گروه کنترل دارا می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه تعداد و درصد طیور دفع کننده سالمونلا در گروه‌های مختلف مشخص شده با کشت مدفوع.

نام گروه	تعداد اعضاء	روزهای نمونه گیری (سن به روز)							
		۶		۱۰		۱۶		۲۴	
		تعداد	٪	تعداد	٪	تعداد	٪	تعداد	٪
L - T	۲۵	۱۰	۴۰	۹	۳۶	۴	۱۶	۳	۱۲
L - T - L	۲۷	۱۱	۴۰/۷	۹	۳۳/۳	۵	۱۸/۵	۰	۰
کنترل	۳۰	۳	۱۰	۲	۶/۷	۴	۱۳/۳	۹	۳۰
صنعتی		۴/۲۳	۱۷/۴	۳/۲۲	۱۳/۶	۲/۲۲	۹/۱	۱۵/۲۲	۶۸/۲

بحث

هدف اصلی این آزمایش بررسی قدرت رقابتی *L. bulgaricus* در پیش‌گیری از سالمونلوز طیور ناشی از سالمونلوز ناشی از *S. typhimurium* بود که با دو معیار اساسی دفع سالمونلا در مدفوع و میزان آلودگی اندامهای طحال، کبد و روده کور به این باکتری مورد ارزیابی قرار گرفت.

طبق نتایج منعکس شده در جدول ۲ تعداد دفع کنندگان سالمونلا در دو گروه L.T و L.T.L بتدریج در طی دفعات نمونه گیری رو به کاهش میگذارد که سیر آن در گروه L. T. L سریعتر است به طوریکه در نمونه گیری چهارم هیچکدام از طیور این گروه سالمونلا را در مدفوع خود دفع نمی‌نمایند. در این گروه، همه زیر گروه‌ها همین روند کاهشی را نشان می‌دهند ولی در زیر گروه دوم از گروه L.T. الگوی مشخصی وجود ندارد.

Fuller (۱۹۷۷) اثر رقابتی لاکتوباسیل بر علیه *E. coli* را در بدن جوجه‌ها مورد بررسی قرار داد و مشاهده نمود که لاکتوباسیل باعث کاهش استقرار این باکتری در چینه دان می‌گردد و نتیجه گرفت که لاکتوباسیل با دوز بزرگتر یا مساوی 10^7 واحد تشکیل دهنده کلنی می‌تواند از رشد نامحدود این باکتری جلوگیری کند (۴). همچنین Watkins و همکاران (۱۹۸۲) اثر مهاری *L. acidiophilus* را علیه *E. coli* دربدن جوجه‌های عاری از باکتری بررسی نمودند و گزارش نمودند که سویه‌های بکار رفته در آزمایش آنها، میزان مرگ و میر را از ۱۰۰٪ به صفر رساند. همچنین میزان دفع این باکتری از مدفوع نیز کاهش یافت. آنها خاطر نشان ساختند که استفاده از لاکتوباسیل به عنوان پیشگیری موثرتر از استفاده درمانی بود (۱۳).

در کار دیگری Watkins و Miller (۱۹۸۳) *L. acidophilus* را به صورت دوزهای پیشگیری و درمان به جوجه‌های عاری از میکروب خورانده و اثر آنرا در پیشگیری از آلودگی با *S. typhimurium* و *Sta. aureus* بررسی نمودند و اعلام داشتند در مواردی که لاکتوباسیل به عنوان دوزپیشگیری خورانده شده بود، به میزان قابل توجهی از مرگ و میر و دفع پاتوژن‌ها کاسته و همچنین در کاهش تعداد پاتوژن جدا شده از محتویات چینه دان موثر بوده است (۱۳).

بسیاری از محققین دیگر نیز اثر مهاری لاکتوباسیل‌ها و دیگر ارگانیسمها را در مبارزه با باکتریهای بیماریزای روده‌ای در طیور و حیوانات دیگر بررسی نموده و آنرا موثر یافته‌اند (۱۰، ۹، ۸ و ۱).

باتوجه به اینکه دو گروه آزمایش با گروه کنترل در همه شرایط محیطی نژادی و پرورشی و نیز دریافت دوز سالمونلا یکسان بوده‌اند و تنها تفاوت آنها در دریافت دوز لاکتوباسیل بوده است، علت بروز این اختلافات در نتایج را باید دراثر رقابتی لاکتوباسیل بر علیه سالمونلا جستجو نمود.

به نظر می‌رسد *L. bulgaricus* با تولید اسید لاکتیک محیط دستگاه گوارش را هر چند به صورت موضعی و در اطراف خود، اسیدی کرده و به این صورت شرایط را برای زندگی و بقاء سالمونلا نامناسب نموده و به تدریج آنها را از بین برده است.

Watkins و همکاران (۱۹۸۲) گزارش نمودند که لاکتوباسیل‌ها اثر مهاری خود را در مورد دفع باکتریهائی مانند *E. coli* از راه تولیداتی که در محیط ریزبینی (Microscopic) خود بوجود می‌آورند اعمال می‌کنند. به عبارت دیگر pH دستگاه گوارش به دلیل اثر لاکتوباسیل‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای تغییر نمی‌کند (این امر خود ناشی از قابلیت بافری دستگاه گوارش است) بلکه لاکتوباسیل اثر مهاری خود را به صورت موضعی از راه تولید اسیدلاکتیک ایفاء می‌کند بدون آنکه pH سطحی روده را به میزان قابل توجهی تغییر بدهند (۱۳).

نتایج نشان می‌دهند که تعداد دفع کنندگان سالمونلا، در دو گروه آزمایش در دو نمونه گیری اول بنحو چشمگیری بیش از جوجه‌های گروه کنترل می‌باشد ولی در دو نمونه گیری بعدی در روزهای ۱۶ و ۲۴ جریان کاملاً بر عکس می‌شود و دو گروه آزمایش شدیداً سیر نزولی طی می‌کنند در حالیکه گروه کنترل سیر صعودی دارد. در این رابطه بنظر می‌رسد که لاکتوباسیل در روزهای اول جایگزینی (قبل از تلقیح سالمونلا) کلنی‌های کمتری در دستگاه گوارش داشته است و این تعداد کم کلنی بنحوی شرایط را برای رشد و استقرار سالمونلا که در روز چهارم به طیور خورانده شد، مناسب‌تر نموده است. چنین نظری قبلاً توسط Barnes و همکاران (۱۹۸۰) گزارش شده است. آنها اظهار داشتند که به نظر می‌رسد استقرار لاکتوباسیل شرایط بهتری را برای رشد سالمونلا ایجاد می‌کنند (۳).

و به این دلیل سالمونلاها در وحله اول تعداد بیشتری از طیور این گروه‌ها را نسبت به گروه کنترل آلوده نموده اندولی با افزایش کلنی‌های لاکتوباسیل در روده که ناشی از توانائی استقرار این باکتری در حضور پاتوژن‌هاست، تولید اسید افزایش یافته است و شرایط برای زیست سالمونلا شدیداً نامناسب شده است. چنانکه در دو نمونه گیری بعدی شاهد پاک شدن تدریجی طیور از سالمونلا می‌باشیم. در این مورد Fuller (۱۹۷۷) اعلام داشت که *L. acidophilus* می‌تواند در حضور *E. coli* در روده ازدیاد حاصل کند (۵). این نظریه توسط Watkins و همکاران (۱۹۸۲) نیز مورد تائید قرار گرفت.

علت شدت و سرعت بیشتر روند کاهشی تعداد دفع کنندگان در گروه L.T.L نسبت به گروه L.T را باید دوزهای متوالی لاکتوباسیل دانست که باعث افزایش تعداد لاکتوباسیل‌ها در روده و در نتیجه تشدید مکانیسم‌های فوق گشته‌اند. این نتایج، یافته‌های Watkins و همکاران (۱۹۸۲) را تائید می‌کند. آنها گزارش نمودند که دوز درمانی لاکتوباسیل میزان دفع *E. coli* را کاهش نداد ولی دوز پیشگیری همراه

جدول ۳- مقایسه متوسط وزنی گروه‌های مختلف بر حسب گرم

شماره زیر گروه	دوزسالمونلای دریافتی (cfu)	نام گروه		
		L -T	L-T-L	کنترل	صنعتی
۱	$2/5\times10^4$	۲۳۷	۲۳۶	۱۹۹	۱۸۰/۶
۲	$2/5\times10^6$	۲۴۱	۲۴۵	۱۹۸	۱۷۶
۳	$2/5\times10^8$	۲۳۸	۲۴۰	۲۱۵/۴	۱۶۰/۳
کل گروه	-	۲۳۸/۶	۲۴۰/۳	۲۰۴/۱	۱۷۲/۲

جدول ۴- مقایسه تعداد و درصد اندامهای مختلف آلوده به سالمونلا در گروههای مختلف پس از ذبح در ۲۳ روزگی

نام گروه	تعداد اعضاء	اندام آلوده					
		طحال		کبد		روده کور	
		تعداد	٪	تعداد	٪	تعداد	٪
L-T	۲۵	۴	۱۶	۴	۱۶	۱	۴
L-T-L	۲۷	۱	۳/۷	۰	۰	۰	۰
کنترل	۳۰	۶	۲۰	۷	۲۳/۳	۳	۱۰
صنعتی	۲۲	۱	۴/۵	۰	۰	۴	۱۸/۲

دوزهای متوالی بعدی، باعث کاهش دفع این باکتری گردید (۱۱). در حقیقت لاکتوباسیل با این مکانیسم‌ها، به سیستم ایمنی بدن برای مبارزه با سالمونلا کمک کرده است.

افزایش تعداد دفع کنندگان در گروه کنترل احتمالاً به این دلیل بوده است که طیور آلوده پیوسته باکتری را دفع نموده و در نتیجه تعداد آنها در محیط زیاد شده و طیور دیگر بتدریج باکتری را از بستر همراه غذا خورده و چون عامل پیشگیری کننده‌ای مانند لاکتوباسیل وجود نداشته آلوده شده‌اند و به این ترتیب تعداد طیور آلوده و در نتیجه دفع کنندگان افزایش یافته است.

همچنانکه در جدول ۲ منعکس است، سیر افزایشی تعداد دفع کنندگان در گروه جوجه‌های صنعتی نسبت به گروه سالمونلا را در محیط دفع نموده و جوجه‌های سالم آنرا همراه غذا خورده‌اند. علت آلودگی بیشتر این گروه نسبت به گروه کنترل که بخصوص در نمونه گیری چهارم بوضوح قابل تشخیص است، ممکن است بدلیل حساسیت بیشتر طیور صنعتی به سالمونلا و یا به دلیل استقرار بیشتر سالمونلا در روده کور این گروه نسبت به گروه کنترل (جدول ۴) باشد که متعاقباً بحث خواهد شد.

اثر دیگری که از لاکتوباسیل در این آزمایش دیده شد، اضافه وزنی معادل ۳۵/۴ گرم بود که در گروههای آزمایش نسبت به گروه کنترل بدست آمد (جدول ۳). در این مورد لاکتوباسیل توسط مکانیزمهای خود، بخصوص کاهش pH محیط را اولاً برای باکتریهای بیماریزای روده‌ای که تولید سم می‌نمایند و ثانیاً برای سالمونلا نامناسب نموده است در نتیجه کاهش تعداد این باکتری‌ها در روده باعث کاهش حجم متابولیت‌های آنها شده و انرژی لازم برای خنثی نمودن این متابولیت‌ها، به مصرف تولید رسیده و باعث افزایش وزن این جوجه گردیده است.

از نظر آلودگی اندامها، کمترین آلودگی در گروه L.T.L دیده می‌شود که دوزهای متوالی لاکتوباسیل دریافت کرده است. گروه کنترل که لاکتوباسیل دریافت نکرده است بالطبع بیشترین آلودگی را نشان داده است و گروه L.T در حد فاصل بین این دو گروه قرار دارد.

در این مورد گزارشی که در آن آلودگی کبد و طحال بررسی شده باشد وجود ندارد ولی آلودگی روده کور به برخی پاتوژن‌ها و پاکسازی آن توسط لاکتوباسیل توسط محققین چندی بررسی شده است که نتایج آنها با نتایج این آزمایش سازگاری ندارد. از جمله Adler و Damassa (۱۹۸۰) گزارش نمودند که در آزمایش آنها لاکتوباسیل قادر به محافظت روده کور جوجه‌های تازه از تخم در آمده در مقابل استقرار *E. coli* نبودند (۲) هم چنین Soerjadie و همکاران (۱۹۸۱) گزارش نمودند که درمان با لاکتوباسیل تعداد سالمونلای چسبیده به مخاط روده کور را کاهش نداد (۱). پس از آن در کار مشابهی توسط Watkins و Miler (۱۹۸۳) اعلام شد که دوزهای پیشگیری *L. acidophilus* نتوانست تعداد *S. typhimurium* جدا شده از روده کور مقعد را کاهش دهد (۳).

اختلافی که در کار این محققین با نتایج حاضر دیده می‌شود احتمالاً بدلیل گونه و سویه لاکتوباسیل مصرفی آنهاست، زیرا فقط لاکتوباسیل‌هائی برای اینکار مفید هستند که بتوانند محیطهای گوناگون دستگاه گوارش در سر راه خود را تحمل کنند و قادر باشند در حضور نمک‌های صفراوی کلنی تشکیل بدهند (۴).

از سوی دیگر ظاهراً روده کور نژادهای خارجی نسبت به طیور بومی محیط بهتری جهت استقرار سالمونلا فراهم می‌نمایند (جدول ۴) و این امر کار لاکتوباسیل را در مبارزه با سالمونلا مشکل می‌نماید. بعلاوه این موضوع می‌تواند تعداد بیشتر دفع کنندگان در این گروه را توجیه کند.

آلودگی بیشتر روده کور و پائین بودن میزان آلودگی کبد و طحال در گروه صنعتی نسبت به گروه کنترل می‌تواند به دلیل اختلافات نژادی مانند بافت شناسی و بیوشیمیائی در این اندامها باشد.

سپاسگزاری

لازم به ذکر است که هزینه مربوط به این پروژه (۶۷-VE-485-249) توسط شورای محترم تحقیقات دانشگاه شیراز تامین گردیده است که بدینوسیله قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

۱- بزرگمهری فرد، محمدحسن و قادر حبیبی، غلام ۱۳۶۰، مطالعه اثر فلور طبیعی روده مرغان بالغ در پیشگیری سالمونلا در جوجه، نامه دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، دوره (۳۷)، شماره (۲)، تهران.

2- Adler, H. E. and A. J. Da massa 1980. Effect of ingested lactobacilli on salmonella infantis *E. coli* and on intestinal flora. posted vents and chick growth. Avian dis. 24: 868-878.

3- Barnes, E. M.,C. S. Impey. and D. M. Cooper 1980. Manipulation of the crop and intestinal flora of the newly hatched chick. Am. J. Clin. Nutr. 2426- 2433.

4- Fuller, R., 1975. Nature of the determinant responsible for the adhesion of lactobaci'li to chicken crop epithelium cells. J. Gen. Microbiol. 87: 245-250.

5- Fuller, R. 1977. The importance of lactobacil i in maintaining normal microbiol. Balance in the crop- Br. poultry sci. 18: 85-94.

6- Hqwley, H. B., P. A. Shepard and D. M. Wheater 1959. Factors affecting the inplantation of lactobacilli in the intestine. J. Appl. Bacteriol. 22: 360-367.

7- Hofstad, M. S., H. J. Barnes, B. W., Calnek, W. M., Rejd, H. W., Yoder 1984, Diseases of poultry. Eight ed, PP: 65-129, Iowa State University press.

8- Intizarov, M. M. 1973. Antagonism between lactobacillus, *E. coli* and *Bacillus antharcoides* (in GI tract). Veterinariya, Mosco, No 2- 41-42.

9- Joyne- Willians, D. J. and R. Fuller 1971, In phisiology and biochemistry of the domestic fowl. Academic press, london.

10- Robert, J. M. 1971. A lyophilized prevention of l. bifidud pharmacological study. Treatment trial in enteric disturbances in the dog,calf and pig. National veterinaire de luon. PP. 95.

11- Soerjadie, A. S., S. M., Stehman, G. H. Snoeyenbos, O. M. Weinack, and C. F. Smyser 1981. The influence of lactobacilli on the competitive exclusion of paratyphoid salmonella in chickens. Avian disease 25: 1027-1033.

12- Watkins, B. A. B. F,. Miller and D. H. Neil 1982, In vivo inhibitory effects of *L. acidophilus* against pathogenic *E. coli* in gnotobiotic chicks. poultry science. 61: 1298-1308.

13- Watkins, B. A. and B. F. Miller 1983, Competitive gut exclusion of avian pathogens by *L. acidophilus* chicks. poultry science. 62: 1772- 1779.