



دانشکده دامپزشکی

پایان نامه دکتری حرفه‌ای دامپزشکی

شماره ثبت : ۴۴۴

تعیین میزان آلودگی کلیفرمی و شناسایی انواع کلیفرم‌ها و سالمونلای جدا شده  
از آغوز مورد استفاده در تغذیه گوساله‌های نوزاد گاوداری‌های شیری مشهد

به کوشش:

مریم عاملی

استاد راهنما:

دکتر غلامرضا محمدی

استاد مشاور:

دکتر محمد محسن زاده

آذر ماه ۱۳۹۱

صلى الله عليه وسلم

## اظهار نامه

اینجانب **مریم عاملی** دانشجوی دوره دکتری حرفه‌ای دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، نویسنده پایان‌نامه با عنوان **تعیین میزان آلودگی کلیفرمی و شناسایی انواع کلیفرم‌ها و سالمونلای جدا شده از آغوز مورد استفاده در تغذیه گوساله‌های نوزاد گاوداری‌های شیری مشهد تحت راهنمایی آقای دکتر غلامرضا محمدی** متعهد می‌شوم:

- تحقیقات در این پایان‌نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهش‌های محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان‌نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد و مقالات مستخرج با نام «دانشگاه فردوسی مشهد» و یا «Ferdowsi University of Mashhad» به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان‌نامه تأثیرگذار بوده‌اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است، اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ و امضای دانشجو:

### مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم‌افزارها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

به نام خدا

## گواهی اعضای کمیته ی پایان نامه

تعیین میزان آلودگی کلیفرمی و شناسایی انواع کلیفرم ها و سالمونلای جدا شده از  
آغوز مورد استفاده در تغذیه گوساله های نوزاد گاوداری های شیری مشهد

به کوشش:

**مریم عاملی**

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه فردوسی مشهد به عنوان بخشی از فعالیت های تحصیلی لازم جهت اخذ  
درجه دکتری حرفه ای دامپزشکی

در رشته:

**دامپزشکی**

از دانشگاه فردوسی مشهد

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی کمیته ی پایان نامه، با درجه: عالی نمره: ۱۹/۶۹

استاد راهنما: دکتر غلامرضا محمدی (استاد گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)

استاد مشاور: دکتر محمد محسن زاده (دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)

داور پایان نامه: دکترسید علیرضا تقوی رضوی زاده (استادیار گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی  
مشهد)

داور پایان نامه: دکتر جمشیدی (دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)

آذر ماه ۱۳۹۱

# بارپاس فراوان از

خداوند مهربان را که مراد میر عام و دانش قرار داد

او که بوقضا بنشد و بنریاس من انزاید

تقدیم بہ

بارگاہِ ملکہ و قیامِ ثامنِ اہلبیت

حضرت امام رضا (ع)

تقدیم بہ

پدر و مادر بریار عزیز، درگذرید و کلام پیرایغ وجودشان رو شکر راه من در سبب مشکلات بوده است و با

حمایت های بی دریغ خود در طی این سالها مشوق من بوده اند.

تقدیرم به

خواهر عزیزم فاطمه،

بگنجد درم مد

و همه مرهمه با محمد حسین

که وجودشان بر سرشار از عشق و پندارت و موفقیتهایشان آرزوی من است

با تقدیر و تشکر از

جناب آقای دکتر محمد مدی

ارتقا در این زمان بزرگوارم که با صبر و سکون با این در پیر و دن این مریم یاریم دادند

جناب آقای دکتر محمد زاده

ارتاده شاور ار جہ کدھم بار اہنما این یں بنویش ہر اہنہی کردند

جناب آقای دکتر جرشیدی و جناب آقای دکتر رضوی زاده

کہ ز حرت داوری این پایان نامہ را بہ عمدہ گرفتند

و تمام اساتید در دورہ شش سالہ تخریصیام

باریاسک زاری و آرزوی موفقیت برای دورتان عزیزم

فرز انعمتی سہینفور بہ ہندناز زوروزی، فرزان روشن روان

فریدہ بروی اعظم حیدر زادہ مرضہ و لادہ میری

و تمام ہر کلاسچایم در رودی ۸۵



## چکیده

تعیین میزان آلودگی کلیفرمی و شناسایی انواع کلیفرم‌ها و سالمونلای جدا شده از آغوز مورد استفاده در تغذیه گوساله‌های نوزاد گاوداری های شیری مشهد

به کوشش :

مریم عاملی

این مطالعه با هدف تعیین میزان آلودگی کلیفرمی و شناسایی کلیفرم‌ها و سالمونلای جدا شده در آغوز خورنده شده به گوساله های شیری نوزاد در گاوداری های شیری مشهد انجام گرفت. در این مطالعه تعداد ۱۰۰ نمونه آغوز در زمان خوراندن اولین بار آغوز به گوساله ها جمع آوری و مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه های آغوز از ۴ گاوداری و طی ۵ ماه جمع آوری شدند. از روش های معمول میکروب شناسی برای تعیین کمی میزان آلودگی کلیفرمی آغوز و شناسایی جدایه های باکتریایی آغوز استفاده گردید. نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که از ۱۰۰ نمونه مورد بررسی تعداد ۵۹ نمونه آغوز (۵۹٪) آلوده به کلیفرم بودند. میزان کلی آلودگی باکتریایی و کلیفرمی در نمونه های مورد بررسی به طور میانگین  $10^5$  و  $3/5 \times 10^3$  CFU/ml بود. انواع باکتری های گرم منفی جدا شده شامل : اشریشیاکلی ۲۸ (۴۵/۴۷٪)، سیتروباکتر دایورسوس ۲۳ (۳۰/۹۸٪)، سیتروباکتر فروندی ۶ (۱۰/۱۶٪)، پروتئوس وولگاریس ۶ (۱۰/۱۶٪)، سراتیا مارسنس ۳ (۵/۰۸٪) و انتروباکتر آئروجنز ۲ (۳/۳۸٪)، سالمونلا انترایتیدیس ۳ (۵/۰۸٪) بودند. خطر نسبی (RR) ابتلا به بیماری در گوساله های تغذیه شده با آغوز آلوده به کلیفرم ۲/۹۵ بیشتر از گوساله هایی است که با آغوز آلوده به کلیفرم تغذیه نشده بودند [خطر نسبی=۲/۹۵ ، فاصله اطمینان= ۱/۶۷۳-۵/۲۱۷]. همچنین میزان آلودگی کلیفرمی آغوز با گله در ارتباط بود ( $P=0.047$ ). با توجه به این که آلودگی باکتریایی آغوز می تواند منجر به بیماری های گوساله بعد از تولد شود و با جذب غیرفعال آنتی بادی های آغوز تداخل ایجاد نماید ارزیابی کیفی و بهداشتی آن از اهمیت بسزایی برخوردار است. استراتژی تولیدکنندگان باید بر محور مدیریت کاهش میزان آلودگی باکتریایی آغوز مورد استفاده در تغذیه گوساله ها متمرکز گردد. همه تولیدکنندگان باید به رعایت بهداشت توجه نمایند تا آلودگی باکتریایی آغوز در طی مراحل جمع آوری، ذخیره سازی و تغذیه به حداقل ممکن برسد.

واژه های کلیدی: آغوز، آلودگی باکتریایی، کلیفرم، سالمونلا، گوساله های شیری نوزاد

## فهرست مطالب

تعیین میزان آلودگی کلیفرمی و شناسایی انواع کلیفرم‌ها و سالمونلای جدا شده از آغوز مورد استفاده در تغذیه گوساله‌های نوزاد گاوداری‌های شیری

مشهد

مقدمه ..... ۱

### فصل اول : مروری بر تحقیقات انجام شده

۱-۱- تعریف آغوز..... ۶

۲-۱- اهمیت آغوز..... ۶

۳-۱- ترکیبات آغوز..... ۷

۳-۱-۱- مواد مغذی آغوز..... ۷

۳-۱-۱-۱- پروتئین های آغوز..... ۸

۳-۱-۱-۱-۱- کارئین..... ۸

۳-۱-۱-۲- پروتئین های آب پنیر..... ۹

۳-۱-۱-۲-۱- بتالاکتوگلوبولین..... ۹

۳-۱-۱-۲-۱-۱- آلفالاکتالبومین..... ۱۰

۳-۱-۱-۲-۱-۱-۱- ایمونوگلوبولین های آغوز..... ۱۰

۳-۱-۱-۲-۱-۱-۱- انتقال و پیدایش ایمونوگلوبولین های آغوز..... ۱۰

۳-۱-۱-۲-۱-۱-۱-۱- فاکتورهای موثر بر روی میزان ایمونوگلوبولین های آغوز..... ۱۱

- ۱۱.....۱-۳-۱-۱-۲-۴- آلبومین
- ۱۲.....۱-۳-۱-۱-۳- لاکتوفرین
- ۱۳.....۱-۳-۱-۱-۴- پروتئین های متصل به ویتامین
- ۱۳.....۱-۳-۱-۲- آنزیم های آغوز
- ۱۴.....۱-۳-۱-۲- لاکتوپراکسیداز
- ۱۴.....۱-۳-۱-۲- لیزوزیم
- ۱۵.....۱-۳-۱-۳- قند آغوز
- ۱۵.....۱-۳-۱-۳- چربی آغوز
- ۱۶.....۱-۳-۱-۵- مقادیر ماکرومینرال ها و ریز مغذی ها
- ۱۸.....۱-۳-۱-۶- ویتامین ها
- ۱۹.....۱-۱-۲- ترکیبات غیر مغذی آغوز
- ۱۹.....۱-۱-۳- هورمون ها
- ۲۰.....۱-۳-۲-۲- لکوسیت های مادری در آغوز
- ۲۱.....۱-۴-۱- جذب آغوز
- ۲۳.....۱-۴-۱- بسته شدن روده
- ۲۷.....۱-۵-۱- مدیریت آغوز
- ۲۳.....۱-۵-۱- کیفیت آغوز
- ۲۴.....۱-۵-۱-۱- فاکتورهای موثر بر کیفیت آغوز
- ۲۵.....۱-۵-۱-۲- ارزیابی وزن مخصوص آغوز
- ۲۶.....۱-۵-۱-۳- اندازه گیری کیفیت آغوز با رفرکتومتر
- ۲۶.....۱-۵-۲- کمیت آغوز
- ۲۷.....۱-۵-۳- زمان تغذیه با آغوز

- ۲۸.....ذخیره سازی آغوز.....۴-۵-۱
- ۲۹.....جایگزین های آغوز.....۵-۵-۱
- ۳۰.....لوله خوراندن آغوز.....۶-۵-۱
- ۳۱.....بررسی FPT در گوساله ها.....۶-۱
- ۳۱.....۱-۶-۱ آنالیز مشکلات FPT.....
- ۳۲.....۷-۱ آلودگی باکتریایی آغوز.....
- ۳۳.....۱-۷-۱ منابع آلودگی آغوز.....
- ۳۳.....۲-۷-۱ پیشگیری از آلودگی آغوز.....
- ۳۴.....۳-۷-۱ کشت آغوز.....
- ۳۴.....۱-۳-۷-۱ اهداف کشت آغوز.....
- ۳۵.....۴-۷-۱ باکتری های آغوز.....
- ۳۵.....۱-۴-۷-۱ انتروباکتریاسه.....
- ۳۷.....۱-۱-۴-۷-۱ اشرشیاکلی.....
- ۳۹.....۲-۱-۴-۷-۱ سالمونلا.....
- ۴۰.....۳-۱-۴-۷-۱ یرسینیا.....
- ۴۰.....۴-۱-۴-۷-۱ کلبسیلا.....
- ۴۱.....۵-۴-۱-۷-۱ انتروباکتر.....
- ۴۱.....۶-۴-۱-۷-۱ پروتئوس.....
- ۴۱.....۷-۴-۱-۷-۱ سیتروباکتر.....
- ۴۲.....۸-۴-۱-۷-۱ سراتیا.....
- ۴۲.....۸-۱ مروری بر پژوهش های پیشین.....

## فصل دوم : مواد و روش ها

- ۴۸-۱-۲- مواد و وسایل.....
- ۴۸-۲-۲- نمونه گیری و جمع آوری نمونه.....
- ۴۹-۳-۲- جمعیت مورد مطالعه.....
- ۴۹-۴-۲- تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی آغوز.....
- ۵۰-۵-۲- شمارش تعداد کل باکتری های هوازی مزوفیلیک.....
- ۵۰-۶-۲- شمارش کلیفرم ها.....
- ۵۰-۷-۲- شناسایی کلیفرم ها.....
- ۵۲-۸-۲- شناسایی باکتری های جنس سالمونلا.....
- ۵۴-۹-۲- بررسی وضعیت سلامت گوساله ها.....
- ۵۴-۱۰-۲- آنالیز آماری نتایج.....

## فصل سوم : نتایج

- ۵۶-۱-۳- خصوصیات فیزیکوشیمیایی آغوز در گله های مختلف.....
- ۵۷-۲-۳- تعداد کل باکتری های مزوفیلیک هوازی.....
- ۵۷-۳-۳- میزان آلودگی کلیفرمی.....
- ۵۷-۴-۳- انواع کلیفرم ها و سالمونلای جدا شده.....
- ۵۸-۵-۳- ارتباط بین میزان آلودگی کلیفرمی آغوز با جنس گوساله، زنده ماندن گوساله، شکم زایش مادران، مدیریت گله و سلامت گوساله.....
- ۵۹-۱-۵-۳- توزیع نرمال آلودگی کلیفرمی.....
- ۵۹-۲-۵-۳- ارتباط آلودگی کلیفرمی آغوز با جنسیت گوساله با آزمون من ویتنی.....
- ۵۹-۳-۵-۳- ارتباط آلودگی کلیفرمی آغوز با جنسیت گوساله با آزمون مربع کای.....
- ۶۰-۴-۵-۳- ارتباط آلودگی کلیفرمی آغوز با زنده ماندن گوساله ها.....

- ۳-۵-۵- ارتباط آلودگی کلیفرمی آغوز با تعداد شکم زایش ..... ۶۰
- ۳-۵-۶- ارتباط آلودگی کلیفرمی آغوز با گله استفاده از آزمون کراس کال والیس ..... ۶۰
- ۳-۵-۷- ارتباط آلودگی کلیفرمی آغوز با گله استفاده از آزمون مربع کای ..... ۶۰
- ۳-۵-۸- ارتباط آلودگی کلیفرمی آغوز با سلامت گوساله ..... ۶۱

#### فصل چهارم: بحث ، نتیجه گیری و پیشنهادها

- ۴- بحث و نتیجه گیری و پیشنهادها ..... ۶۳
- ۴-۱- بحث ..... ۶۳
- ۴-۲- نتیجه گیری ..... ۶۸
- ۴-۲- پیشنهادها ..... ۶۹

منابع و مأخذ ..... ۷۰

ضمائم ..... ۸۳

## فهرست جدول ها

صفحه

عنوان و شماره

---

جدول ۱-۱ : ترکیبات آغوز و شیر.....	۷
جدول ۲-۱ : غلظت ماکرومینرال ها در شیر کامل و آغوز.....	۱۷
جدول ۳-۱ : غلظت عناصر کمیاب خاص در شیر کامل و آغوز.....	۱۸
جدول ۴-۱ : درصد آنتی بادی های موجود در شیر براساس تعداد زایمان گاو شیری.....	۲۴
جدول ۱-۲ : خصوصیات گله های گاو شیری مورد استفاده در این مطالعه.....	۴۹
جدول ۲-۲ : شناسایی اعضای خانواده انتروباکتریاسه بر اساس آزمون های بیوشیمیایی.....	۵۳
جدول ۱-۳ : نتایج واکاوی خصوصیات فیزیکی شیمیایی ۱۰۰ نمونه آغوز اخذ شده از ۴ گله گاو شیری.....	۵۶
جدول ۲-۳ : باکتری های گرم منفی جدا شده از ۱۰۰ نمونه آغوز گرفته شده از ۴ گله گاو شیری.....	۵۸
جدول ۳-۳ : بررسی توزیع نرمال بار آلودگی کلیفرمی آغوز.....	۵۹
جدول ۴-۳ : بررسی ارتباط آلودگی کلیفرمی آغوز با جنسیت گوساله.....	۵۹
جدول ۵-۳ : بررسی ارتباط آلودگی کلیفرمی آغوز با زنده ماندن گوساله.....	۶۰
جدول ۶-۳ : بررسی ارتباط آلودگی کلیفرمی آغوز با مدیریت گله.....	۶۱
جدول ۷-۳ : بررسی ارتباط آلودگی میکروبی آغوز با سلامت گوساله.....	۶۱

ۛ  
((مقدمه))



آغوز اولین شیر ترشح شده بعد از زایمان و پس از یک دوره خشکی و استراحت پستان است. آغوز مهم ترین غذا در ابتدای زندگی گوساله ها محسوب شده و مصرف آن ضروری است زیرا منشاء ایمنی غیر فعال است که جهت سلامت گوساله ها بسیار مهم است. گوساله هایی که نمی توانند مقدار مناسب آغوز را دریافت کنند نسبت به گوساله هایی که مقدار کافی آغوز خورده اند ۶ برابر بیشتر در معرض خطر بیماریها و ۳-۵ برابر بیشتر در معرض خطر مرگ قرار دارند (۱). در آغوز با کیفیت خوب، مقدار ماده خشک دو برابر و مقدار پروتئین ۴-۵ برابر میزان آن در شیر است. همچنین از نظر میزان انرژی، ویتامین های A, D, E و چربی، نیز آغوز بسیار مهم است، زیرا گوساله های متولد شده مقدار پایینی از این مواد را دارند. مقدار پایین لاکتوز موجب کاهش وقوع اسهال می شود. پس از دوشش ابتدایی روز زایمان، دوشش های بعدی (۵ دوشش ابتدای شیر دهی) مرحله انتقالی محسوب شده و ترکیب آغوز به تدریج ترکیب شیر را پیدا می کند (۲). درصد آنتی بادی ها در روند رو به شیر شدن آغوز به سرعت کاهش می یابند (۳).

گوساله ها در زمان تولد سطح ناچیزی از ایمونوگلوبولین را دارند (۴). دلیل این است که جفت نشخوارکنندگان مانع انتقال آنتی بادی های مادری به جنین در طی آبستنی می شود (۵). بنابراین دریافت کلاستروم غنی از ایمونوگلوبولین نقش بنیادی در انتقال ایمنی غیر فعال دارد. جذب روده ای ایمونوگلوبولین به داخل گردش خون در گوساله ها نقش حفاظتی در برابر بیماری های سیستمیک دارد، در حالی که باقی ماندن ایمونوگلوبولین در روده فقط ایمنی موضعی ایجاد می کند (۶). علاوه بر این ها کلاستروم نقش بیولوژیک مهمی در تامین مواد مغذی و سایر فاکتورهای اصلی دارد (۷).

در مطالعات مختلف انجام شده میکروارگانیسم های پاتوژن زیادی از جمله:  
*Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (۸) *Mycoplasma spp* (۹)  
*Escherichia coli* (۱۰) *Campylobacter spp* (۱۱) *Listeria monocytogenes*  
*Salmonella spp* (۱۲) (۶) از کلاستروم جدا شده اند. حضور باکتری های زنده در دستگاه گوارش گوساله باعث کاهش جذب ایمونوگلوبولین ها توسط سلول های اپیتلیال روده (۱۳) و افزایش خطر ایجاد FPT<sup>۱</sup> (نقص در ایمنی غیرفعال مادری) می شود. ایمنی حفاظتی ناکافی

<sup>۱</sup> . Failure passive transfer

می تواند منجر به بیماری های کشنده و وخیم (۱۴) و ضررهای اقتصادی قابل توجه به پرورش دهندگان گاو شیری شود (۱۵). در مطالعه ای که در سال های اخیر در ایالات متحده صورت گرفته میزان مرگ و میر گوساله های شیری ماده، قبل از شیر گیری ۷/۸٪ تعیین شده است (۱۶).

کارشناسان توصیه کرده اند که کلستروم تازه ای که به گوساله ها خورانده می شود شامل کمتر از  $1 \times 10^5$  CFU/ml تعداد باکتری ها و کمتر از  $1 \times 10^4$  CFU/ml تعداد کلیفرم ها باشد، مطالعات نشان داده که میانگین سطح آلودگی باکتریایی در اکثر گله ها، بطور قابل توجهی بالاتر از میزان استاندارد تعیین شده است (۱۷).

بیماری های مختلفی مانند یون، لکوز و سالمونلوز می توانند توسط آغوز از مادر به گوساله منتقل شوند. منشا آلودگی آغوز عبارت از سه منبع می باشد :

۱. آلودگی پستان به مدفوع
۲. آلودگی آغوز بعد از جمع آوری توسط ظروف و یا ابزار خوراندن آن
۳. عدم ذخیره سازی و نگهداری مناسب آغوز (۱۸).

## اهداف تحقیق

۱. تعیین میزان آلودگی کلی فرمی
۲. تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آغوز
۳. تعیین هویت انواع کلی فرم ها و سالمونلای جدا شده از آغوز خورانده شده به گوساله های نوزاد در گاوداری های شیری مشهد
۴. بررسی ارتباط بین میزان آلودگی کلی فرمی آغوز با گله، جنس گوساله و تعداد زایش مادر و سلامت گوساله در یک هفته اول حیات گوساله

## اهمیت موضوع تحقیق

با توجه به اهمیت آغوز در بهبود سلامت گوساله ها بعد از زایش و امکان انتقال عوامل عفونی به گوساله هایی که از آغوز ناسالم استفاده می کنند و مرگ و میر گوساله ها و ضرر اقتصادی که از این ناحیه متوجه دامدار خواهد شد و به لحاظ اینکه تا بحال هیچ گونه پژوهشی در رابطه با شناسایی باکتری های گرم منفی موجود در آغوز در گاوداری های شیری مشهود و حومه صورت نگرفته است، انجام این تحقیق امکان ارزیابی ارتباط بین آلودگی باکتری های کلیفرمی آغوز را با گله، جنس گوساله و تعداد زایش مادر و سلامت گوساله در یک هفته اول حیات گوساله فراهم می سازد.

# فصل اول

## مروری بر تحقیقات انجام شده