University of Tehran Press

Journal of Veterinary Research

Homepage: jvr.ut.ac.ir

Online ISSN: 2251-6190

Research Article

Evaluation of the Effect of Three Types of Disinfectants and Their Application Methods on Reducing Experimental Contamination of *Salmonella* Enteritidis in Broiler Feed

Amir Janfadah[1]✉, Seyed Ahmad Madani[2]✉, Seyed Mohammad Mehdi Hashemian[3]✉, Mohammad Reza Mohammadian[2]✉, Mohammad Torabi[3]✉, Mahdiyeh Mohammadi Mazlaghani[3]✉

[1] *Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*
[2] *Department of Animal and Poultry Health and Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*
[3] *Central Veterinary Laboratory, Tehran, Iran*

***Received:** 31 Dec 2025, **Reciver in revised from:** 3 Mar 2026, **Accepted:** 10 Mar 2026, **Available online**: 21 Jun 2026*

10.22059/jvr.2025.401705.3538 **J Vet Res, Volume 81, Number 2, 2026, 79-88**

Abstract

BACKGROUND: Feed contamination with *Salmonella* is one of the most important bacterial contaminations and a major route for transmission of this bacterium to flocks. Feed disinfection is a common method for controlling such contamination.
OBJECTIVES: This study, conducted under in vitro condition to evaluate the effects of three disinfectants, Termin-Gold (aldehydes and organic acids), formalin, and Nanosil-Dan (hydrogen peroxide and silver nanoparticles), and two application methods (addition to the complete feed at production or to the premix 1 week before final mixing) on the elimination of *Salmonella* Enteritidis from broiler feed.
METHODS: The experiment was carried out in a randomized design with 3 replicates. Six treatments were included: control feed, formalin in premix, formalin in final feed, Nanosil-Dan in final feed, Termin-Gold in premix, and Termin-Gold in final feed. After the disinfectants were added, feeds were inoculated with *Salmonella* Enteritidis at approximately 10^7 CFU/100 g. Contamination was applied at two time points (immediately after production and after one week of storage), and bacterial counts were monitored until no colony growth was observed.
RESULTS: The efficacy of disinfectants depended on the timing of contamination and the method of application. In immediate contamination, Nanosil-Dan prevented growth from hour zero and showed a significant difference compared with other treatments ($P<0.05$). Formalin treatments achieved complete elimination within 24 h, whereas the control group showed only a relative reduction from 2.72×10^4 to 5.50×10^3 CFU. All treatments resulted in complete growth inhibition within 48 h. When contamination was applied 1 week after production, formalin reduced colony counts immediately and eliminated growth within 24 h, whereas growth in the control persisted up to 216 h. Nanosil-Dan showed a delayed effect, eliminating growth at 96 h. Termin-Gold had irregular reductions and did not differ significantly from the control.
CONCLUSIONS: Despite the relative effectiveness of all three disinfectants in reducing contamination, their efficiency depends on the time and method of application. Nanosil-Dan was immediately effective, but the lasting effect of formalin was superior. Termin-Gold exhibited comparatively lower performance. Nonetheless, the results should be confirmed in further studies, especially in field trials.

Keywords: Broiler, Disinfectant, Feed contamination, Premix, *Salmonella* Enteritidis

Copyright © The Author(s). Publisher: University of Tehran Press Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Corresponding author: Seyed Ahmad Madani, Tel/Fax: +9821-61117179

How to cite this article:

Janfadah A, Madani S A, Hashemian S M M, Mohammadian M R, Torabi M, Mohammadi Mazlaghani M. Evaluation of the effect of three types of disinfectants and their application methods on reducing experimental contamination of *Salmonella* enteritidis in broiler feed. Journal of Veterinary Research, 2026; 81(2): 79-88. doi: 10.22059/jvr.2025.401705.3538

Figure Legends and Table Captions

Table 1. The effects of three feed disinfectants with two application methods either in main mixing and/or in premixing on colony enumeration average of *Salmonella* Enteritidis per gram of broiler feed contaminated immediately after production (average ± standard deviation). a,b: Two columns of means with the same letter are not significantly different from each other ($P<0.05$).
Table 2. Residual effects of three feed disinfectants applied either to the final feed mix or to the premix on the mean *Salmonella* Enteritidis colony counts in broiler feed contaminated 1 week after production (average ± standard deviation). a,b: Two columns of means with the same letter are not significantly different from each other ($P<0.05$).

مجله تحقیقات دامپزشکی
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: ۶۱۹۰-۲۲۵۱
انتشارات دانشگاه تهران
مقاله پژوهشی

ارزیابی اثر سه نوع ضدعفونی‌کننده و روش استفاده از آن‌ها بر کاهش آلودگی تجربی *سالمونلا* انتریتیدیس در خوراک جوجه‌های گوشتی

امیر جانفداه[۱]، سیداحمد مدنی[۲]، سید محمدمهدی هاشمیان[۳]، محمدرضا محمدیان[۲]،

محمد ترابی[۳]، مهدیه محمدی‌مزلقانی[۳]

[۱] *دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران*
[۲] *گروه بهداشت و تغذیه دام و طیور، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران*
[۳] *آزمایشگاه دامپزشکی مرکزی، تهران، ایران*

تاریخ دریافت: ۱۰ دی ۱۴۰۴، **تاریخ بازنگری:** ۲ اسفند ۱۴۰۴، **تاریخ پذیرش:** ۱۹ اسفند ۱۴۰۴، **تاریخ انتشار:** ۳۱ خرداد ۱۴۰۵

دوره ۸۱، شماره ۲، ۱۴۰۵، ۸۸-۷۹

10.22059/jvr.2025.401705.3538

چکیده

زمینه مطالعه: آلودگی خوراک به *سالمونلا* یکی از مهم‌ترین آلودگی‌های باکتریایی و از راه‌های اصلی انتقال این باکتری به گله‌ها است. ضدعفونی خوراک از روش‌های رایج در کنترل این آلودگی به شمار می‌رود.

هدف: مطالعه حاضر تحت شرایط آزمایشگاهی با هدف بررسی تأثیر سه نوع ضدعفونی‌کننده مختلف شامل ترمین‌گلد (ترکیبات آلدهیدی و اسیدهای آلی)، فرمالین و نانوسیل‌دان (هیدروژن پراکسید و نانوذرات نقره) و دو روش مصرف (افزودن به خوراک کامل در زمان تولید یا افزودن به پیش‌مخلوط یک هفته قبل از ترکیب نهایی) بر حذف *سالمونلا* انتریتیدیس از خوراک جوجه‌های گوشتی انجام شد.

روش‌کار: مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. شش تیمار، شامل خوراک کنترل، فرمالین در پیش‌مخلوط، فرمالین در مخلوط نهایی، نانوسیل‌دان در مخلوط نهایی، ترمین‌گلد در پیش‌مخلوط و ترمین‌گلد در مخلوط نهایی بررسی شدند. خوراک‌ها پس از افزودن ضدعفونی‌کننده‌ها با *سالمونلا* انتریتیدیس به میزان تقریبی 10^7 CFU/100g آلوده گردیدند. آلودگی در دو بازه زمانی (بلافاصله پس از تولید و پس از یک هفته نگهداری) اعمال شد و شمارش باکتری تا زمان عدم رشد پیگیری گردید.

نتایج: در آلودگی بلافاصله پس از تولید، نانوسیل‌دان از همان ساعت صفر موجب عدم رشد گردید و تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P<0/05$). تیمارهای فرمالین طی ۲۴ ساعت به عدم رشد رسیدند. درحالی‌که در گروه کنترل طی ۲۴ ساعت کاهش نسبی (از $2/72\times10^4$ به $5/50\times10^3$ CFU) مشاهده شد. همه تیمارها تا ۴۸ ساعت به عدم رشد در محیط کشت دست یافتند. در آلودگی یک هفته پس از تولید، تیمارهای فرمالین موجب کاهش فوری شمارش کلونی شدند و طی ۲۴ ساعت عدم رشد داشتند. درحالی‌که در گروه کنترل رشد *سالمونلا* تا ۲۱۶ ساعت ادامه یافت. نانوسیل‌دان با تأخیر اثر گذاشت و عدم رشد کامل در ۹۶ ساعت ایجاد کرد. ترمین‌گلد کاهش نامنظم داشت و ازنظر آماری تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نشان نداد.

نتیجه‌گیری نهایی: با وجود تأثیر نسبی هر سه ضدعفونی‌کننده در کاهش آلودگی، عملکرد آن‌ها به زمان و روش مصرف وابسته بود. نانوسیل‌دان سریع‌تر و در زمان کوتاه‌تر مؤثر بود، اما اثر ابقایی کمتر از فرمالین داشت. ترمین‌گلد عملکرد نسبی ضعیف‌تری داشت. تأیید این نتایج نیازمند مطالعات تکمیلی، به‌ویژه در شرایط مزرعه است.

کلمات کلیدی: آلودگی خوراک، پیش‌مخلوط، *سالمونلا* انتریتیدیس، جوجه گوشتی، ضدعفونی‌کننده، آلودگی خوراک

کپی‌رایت © نویسندگان. ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

نویسنده مسئول: *سیداحمد مدنی، گروه بهداشت و تغذیه دام و طیور، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران*

مقدمه

آلودگی باکتریایی، به‌ویژه آلودگی *سالمونلا* در خوراک طیور، به‌عنوان یک عامل مهم در انتقال این عامل بیماری‌زا به پرندگان و درنتیجه، ورود آن به زنجیره غذایی انسانی شناخته شده است (۱، ۲). این آلودگی‌ها نه‌تنها سلامت انسان را تهدید می‌کنند، بلکه می‌توانند به کاهش تولید و کیفیت جوجه‌ها و همچنین خسارات اقتصادی به صنعت طیور منجر شوند (۳). باتوجه‌به پیامدهای جدی آلودگی *سالمونلا*، برطرف کردن این مشکل نیازمند انجام اقدامات پیشگیرانه مؤثر است (۴). Ricke و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان دادند فرمالدهید جهت مقابله با آلودگی *سالمونلا* در حین فرآوری خوراک می‌تواند به شکل مؤثری مورد استفاده قرار گیرد (۵). مطالعات Selby و همکاران در سال ۲۰۲۳ نشان داد ضدعفونی کردن خوراک مرغ‌های مادر گوشتی با یک محصول حاوی فرمالدهید، به‌طور مؤثری بار میکروبی خوراک و بار باکتریایی و قارچی سطح پوسته تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار را کاهش می‌دهد (۶). نتایج همچنین حاکی از آن است که ضدعفونی کردن خوراک با فرمالدهید تأثیر مثبتی بر کیفیت جوجه‌درآوری و زنده‌مانی جوجه‌ها تا ۷ روز دارد. خوراک مکمل‌شده با فرمالدهید هیچ‌گونه اثر سوئی بر عملکرد تولیدمثلی و باروری پرندگان نداشته و باعث بهبود کیفیت تخم‌های تفریخ‌شده در مرغان مادر مسن نیز شده است (۷). در همین راستا، مطالعه Kaaviani و همکاران در سال ۲۰۲۲ نشان داد استفاده از خیساب ذرت فرآوری‌شده با فرمالدهید در جیره غذایی بره‌ها، عملکرد و تولید پروتئین میکروبی را کاهش می‌دهد و موجب کاهش تجزیه پروتئین در شکمبه می‌شود (۸).

استفاده از ترکیبات ضدعفونی‌کننده نوین و بی‌خطر برای بهینه‌سازی کیفیت خوراک دام، اخیراً مورد توجه قرار گرفته است (۹). به‌طور مثال، مطالعات نشان داده‌اند مخلوطی از فرمالدهید و اسید پروپیونیک به میزان ۳ گرم در هر کیلوگرم خوراک بر جمعیت باکتریایی طبیعی در خوراک خوک تأثیر دارد (۱۰). همچنین ضدعفونی کردن خوراک مرغ‌های مادر با ترکیبات تجاری نظیر ترمین-۸ که حاوی ۱۸ درصد فرمالدهید و ۴/۷ درصد اسید پروپیونیک است، به‌طور مؤثری جمعیت باکتریایی و قارچی را در خوراک کاهش داد (۷). علاوه‌براین، نانوسیل‌دان به‌عنوان یک ترکیب نوین حاوی هیدروژن پراکسید و نانوذرات نقره معرفی شده که مکانیسم احتمالی آن، شامل تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تخریب غشای میکروبی است. این ویژگی‌ها موجب شده است نانوسیل‌دان به‌عنوان یک جایگزین بالقوه و ایمن در کنترل آلودگی‌های خوراک طیور مورد توجه قرار گیرد (۱۱، ۱۲). اهمیت استفاده از روش‌های ضدعفونی نوین باتوجه‌به نگرانی‌های بهداشتی درمورد پاتوژن‌ها و باقی‌مانده مواد شیمیایی در خوراک، غیرقابل‌چشم‌پوشی است. مطالعات نشان می‌دهند استفاده از ضدعفونی‌کننده‌های مؤثر به‌عنوان روش‌های کلیدی در کنترل آلودگی‌های میکروبی، به‌ویژه *سالمونلا*، در خوراک طیور، نقش بسزایی دارد (۱۳). علاوه‌براین، افزودن ضدعفونی‌کننده‌ها به خوراک می‌تواند بهبود چشمگیری در کاهش باکتری‌های خطرناک ایجاد کند و به سلامت دام‌ها کمک نماید (۱۴)؛ بنابراین به نظر می‌رسد سرمایه‌گذاری در این روش‌ها و تحقیق درزمینه آثار آن‌ها، از ضروریات صنعت دامپروری و تأمین امنیت غذایی به شمار می‌آید.

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات سه نوع ضدعفونی‌کننده خوراک (ترکیب تجاری ترمین گلد شرکت رویان دارو، فرمالین، و نانوسیل‌دان شرکت کیمیا فام) در دو وضعیت مختلف (افزودن به پیش‌مخلوط و خوراک کامل) طراحی شده است. در این مطالعه، خوراک‌های تهیه‌شده با *سالمونلا* انتریتیدیس سویه استاندارد ATCC 13076 در آزمایشگاه آلوده شدند و اثرات ضدعفونی‌کننده‌ها بر روی خوراک آلوده مورد بررسی قرار گرفت. در فرایند تولید خوراک به‌طور معمول پیش از مخلوط نمودن اجزای حجیم خوراک، مانند ذرت و کنجاله سویا، اغلب پیش‌مخلوطی از ریزمغذی‌های جیره تولید می‌شود که درنهایت این پیش‌مخلوط را به نسبت مناسب به مخلوط نهایی جیره در یک میکسر اضافه می‌نمایند. ضدعفونی‌کننده‌های مورد استفاده در خوراک را می‌توان در یکی از دو مرحله ساخت پیش مخلوط و یا در مخلوط نهایی خوراک اضافه نمود. باتوجه‌به اینکه تاکنون مطالعه‌ای برای مقایسه تفاوت در کفایت آثار ضدمیکروبی این دو روش اضافه کردن ضدعفونی‌کننده به خوراک انجام نشده بود، در مطالعه حاضر ضمن مقایسه سه ضدعفونی‌کننده در کاهش آلودگی *سالمونلا* در خوراک، اثربخشی روش یا زمان افزودن این ضدعفونی‌کننده‌ها بر روی *سالمونلا* انتریتیدیس در خوراک طیور هم مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش کار

در مطالعه حاضر سه نوع ضدعفونی‌کننده خوراک، شامل ترکیب تجاری ترمین گلد حاوی ترکیبات آلدهیدی و اسیدهای آلی (شرکت رویان دارو، سمنان، ایران)، فرمالین حاوی محلول ۳۷ درصد فرمالدهید در آب (شرکت پتروشیمی پارس، عسلویه، ایران) و ترکیب تجاری نانوسیل‌دان، حاوی هیدروژن پراکسید و نانوذرات نقره (شرکت کیمیا فام، تهران، ایران) مورد مقایسه قرار گرفتند. خوراک پایه مورداستفاده شامل جیره آغازین معمول طیور بر پایه ذرت و کنجاله سویا براساس نیازهای تغذیه‌ای سویه راس ۳۰۸ بود که از مواد اولیه با کیفیت معمول موجود در بازار و فاقد هرگونه ترکیبات محرک رشد و کوکسیدیواستات تهیه گردید. تفاوت میان گروه آزمایشی، در نوع و زمان افزودن ضدعفونی‌کننده‌ها به خوراک بود. در دو حالت متفاوت، ضدعفونی‌کننده‌ها یا در میکسر اصلی به خوراک افزوده شدند یا ابتدا به پیش‌مخلوط اضافه شده و برای یک هفته در دمای محیط با دمای تقریبی ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۲۰ تا ۴۰ درصد نگهداری شدند، سپس به خوراک نهایی افزوده شدند. خوراک‌های بررسی‌شده در مطالعه حاضر در شش تیمار مختلف آماده شدند: تیمار ۱ دان فاقد هرگونه ضدعفونی‌کننده بود (کنترل). تیمار ۲، دان حاوی ۲ کیلوگرم ترمین‌گلد در هر تن خوراک کامل بود که ضدعفونی‌کننده به میکسر اصلی در زمان تولید دان افزوده شد. تیمار ۳، دان حاوی ۲۰ لیتر محلول ۲ درصد نانوسیل‌دان در هر تن خوراک در زمان تولید دان در میکسر اصلی بود. تیمار ۴، دان حاوی ۲ کیلوگرم فرمالین در هر تن خوراک کامل بود که فرمالین به میکسر اصلی اضافه گردید. تیمار ۵، حاوی ۲ کیلوگرم فرمالین بود که به ازای تولید هر تن دان به پیش‌مخلوط اضافه شد. پیش‌مخلوط حاوی ضدعفونی‌کننده بعد از ۷ روز برای تولید یک تن خوراک کامل مورد استفاده قرار گرفت. تیمار ۶، دان حاوی ۲ کیلوگرم ترمین‌گلد در پیش‌مخلوط بود که پس از یک هفته برای تولید یک تن خوراک کامل استفاده شد. پس از افزودن ضدعفونی‌کننده‌ها و تهیه خوراک، از هر تیمار ۱۰۰۰ گرم نمونه برداشت و به آزمایشگاه انتقال داده شد. کلیه تیمارها ازنظر وجود یا عدم وجود آلودگی به *سالمونلا* براساس دستورالعمل استاندارد ۲۰۲۴ سازمان غذا و داروی ایالات متحده (Food and Drug Administration) ارزیابی شدند (۱۵). هیچ‌یک از تیمارها پیش از فرایند آلوده‌سازی، حاوی آلودگی *سالمونلایی* نبودند. برای ارزیابی اثربخشی و ماندگاری ضدعفونی‌کننده‌ها، ۱۰۰ گرم از نمونه‌های هر تیمار در دو زمان مشخص (بلافاصله پس از تولید و یک هفته پس از تولید) با 10^{7} CFU/100g *سالمونلا* انتریتیدیس سویه ATCC 13076 (تهیه‌شده از گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران) آلوده شدند. تلقیح باکتری‌ها براساس کشت فعال (log phase) انجام شد. آلودگی خوراک با *سالمونلا* انتریتیدیس براساس دستورالعمل RIVM سال ۲۰۱۹ صورت گرفت (۱۳). در این روش، ۱۰۰ گرم نمونه در ظروف شیشه‌ای استریل قرار داده شد. سپس یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی حاوی 10^{7} CFU به هر نمونه اضافه و به‌مدت ۵ دقیقه به‌خوبی مخلوط شد. برای جست‌وجو و شمارش *سالمونلا* در تیمارهای آلوده‌شده، ۱۰ گرم از هر تیمار با ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک استریل مخلوط و در دو رقت 10^{-2} و 10^{-3} تهیه شد. سپس از هر رقت به‌صورت مجزا و دوگانه، ۰/۱ میلی‌لیتر بر روی پلیت‌های XLD آگار کشت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بعد از یک شب گرمخانه‌گذاری، کلونی‌های *سالمونلا* براساس ویژگی‌های ظاهری شناسایی و شمارش شدند (۱۶).

نمونه‌ها در زمان صفر (بلافاصله پس از آلودگی) و هر ۲۴ ساعت تا زمانی که شمارش کلونی به سطح غیرقابل‌شناسایی رسید، مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) با سه تکرار برای هر تیمار انجام شد. داده‌ها ابتدا با آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) تحلیل شدند و سپس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن (Duncan) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد.

جدول ۱. اثر سه ضدعفونی‌کننده خوراک در دو حالت افزودن ضدعفونی‌کننده در مخلوط اصلی و یا افزودن آن به پیش‌مخلوط بر میانگین تعداد کلونی‌های *سالمونلا* انتریتیدیس در هر گرم خوراک جوجه گوشتی متعاقب آلوده‌سازی بلافاصله پس از تولید.

زمان (ساعت) / تیمارهای آزمایشی (نوع دان)	میانگین±انحراف‌معیار					
	شاهد	ترمین‌گلد خوراک	نانوسیل‌دان	فرمالین خوراک	فرمالین پیش‌مخلوط	ترمین‌گلد پیش‌مخلوط
۰	(۲/۲۷±۲/۲۳)×$10^{۴a}$	(۱/۷۵±۱/۷۷)×$10^{۲b}$	عدم رشد^{c}	(۵/۵۰±۶/۴۰)×$10^{۲bc}$	(۵/۰۰±۷/۱۰)×$10^{۲bc}$	(۳/۴۰±۰/۵۶)×$10^{۲b}$
۲۴	(۵/۵۰±۰/۷۱)×$10^{۳a}$	(۱/۰۰±۱/۴۰)×$10^{۲b}$	عدم رشد^{b}	عدم رشد^{b}	(۵/۰۰±۷/۱۰)×$10^{۲b}$	(۱/۰۰±۱/۴۰)×$10^{۲b}$
۴۸	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}

a,b: دو ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با هم ندارند ($P<۰/۰۵$).

جدول ۲. اثر ابقایی سه ضدعفونی‌کننده خوراک در دو حالت افزودن ضدعفونی‌کننده در مخلوط اصلی و یا افزودن آن به پیش‌مخلوط بر میانگین تعداد کلونی‌های *سالمونلا* انتریتیدیس در هر گرم خوراک جوجه گوشتی متعاقب آلوده‌سازی یک هفته پس از تولید دان.

گروه‌های آزمایشی (نوع دان) / زمان (ساعت)	میانگین±انحراف‌معیار				
	شاهد	ترمین گلد خوراک	نانوسیل‌دان	فرمالین خوراک	فرمالین پیش‌مخلوط	ترمین‌گلد پیش‌مخلوط
۰	(۳/۳۵±۳/۰۴۱)×۱۰^{۳ab}	(۴/۷۰±۳/۲۵)×۱۰^{۳ab}	(۹/۴۰±۶/۴۹)×۱۰^{۳a}	(۱/۷۵±۰/۳۵)×۱۰^{۳b}	(۷/۶۰±۶/۲۲)×۱۰^{۳ab}	(۹/۱۰±۴/۱۰)×۱۰^{۳a}
۲۴	(۳/۵۰±۳/۵۳۵)×۱۰^{۳a}	(۰/۹۰±۰/۱۴)×۱۰^{۳ab}	(۱/۲۰±۰/۲۸)×۱۰^{۳ab}	عدم رشد^{b}	عدم رشد^{b}	(۰/۳۰±۰/۴۲)×۱۰^{۳b}
۴۸	(۱/۱۰±۰/۱۴۱)×۱۰^{۳a}	(۰/۶۵±۰/۹۲)×۱۰^{۳a}	(۰/۰۵±۰/۰۷)×۱۰^{۳a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	(۰/۱۵±۰/۲۱)×۱۰^{۳a}
۷۲	(۳/۰۰±۰/۱۴۱)×۱۰^{۳a}	(۰/۹۵±۰/۰۷)×۱۰$^{۳ ab}$	عدم رشد^{b}	عدم رشد^{b}	عدم رشد^{b}	(۰/۳۵±۰/۴۹)×۱۰^{۳b}
۹۶	(۱/۱۵±۰/۲۱۲)×۱۰^{۳a}	(۲/۲۵±۱/۰۶)×۱۰^{۳a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	(۱/۲۰±۱/۱۳)×۱۰^{۳a}
۱۲۰	(۸/۰۵±۰/۰۷۰)×۱۰^{۳a}	(۱/۳۵±۱/۹۱)×۱۰^{۳ab}	عدم رشد^{b}	عدم رشد^{b}	عدم رشد^{b}	(۰/۰۵±۰/۰۷)×۱۰^{۳b}
۱۴۴	(۱/۱۵±۰/۲۱۲)×۱۰^{۳a}	(۲/۰۵±۱/۳۴)×۱۰^{۳a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	(۱/۲۰±۱/۱۳)×۱۰^{۳a}
۱۶۸	(۱/۲۵±۰/۰۷)×۱۰^{۴a}	(۱/۰۰±۱/۴۱)×۱۰^{۳b}	عدم رشد^{b}	عدم رشد^{b}	عدم رشد^{b}	عدم رشد^{b}
۱۹۶	(۰/۴۰±۰/۵۶۵)×۱۰^{۳a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}
۲۲۰	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}	عدم رشد^{a}

a,b: دو ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با هم ندارند ($P<۰/۰۵$).

نتایج

نتایج حاصل از شمارش کلونی‌های *سالمونلا* انتریتیدیس در تیمارهای شش‌گانه تحت دو شرایط آلودگی در جداول ۱ و ۲ ارائه گردیده است.

در حالت اول، یعنی زمانی که خوراک بلافاصله پس از تولید آلوده شد، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). در این شرایط، تیمار ۳ (نانوسیل‌دان) از همان ساعت صفر هیچ کلونی *سالمونلایی* نشان نداد و عدم رشد روی محیط XLD آگار همان ابتدا تأیید شد. در تیمار ۴ (فرمالین خوراک) و تیمار ۵ (فرمالین پیش‌مخلوط) در ساعت صفر به‌ترتیب حدود (۵/۵۰±۶/۴۰)×۱۰^{۲} و (۵/۰۰±۷/۱۰)×۱۰^{۲} کلونی *سالمونلا* شمارش شد که طی ۲۴ ساعت به مرحله عدم رشد رسید. در تیمار ۲ (ترمین‌گلد خوراک) و تیمار ۶ (ترمین‌گلد پیش‌مخلوط) نیز در ساعت صفر بین (۱/۷۵±۱/۷۷)×۱۰^{۳} تا (۳/۴۰±۰/۵۶)×۱۰^{۳} کلونی *سالمونلا* مشاهده گردید، اما طی ۲۴ تا ۴۸ ساعت به کاهش محسوس رسیدند. تیمار ۱ (کنترل) در ابتدا بیشترین میزان آلودگی را نشان داد (میانگین حدود (۲/۲۷±۲/۲۳)×۱۰^{۴} کلونی *سالمونلا*) که در ۲۴ ساعت به (۳/۵۰±۳/۵۳)×۱۰^{۳} کلونی *سالمونلا* کاهش یافت و در ۴۸ ساعت به عدم رشد روی محیط XLD آگار رسید. درمجموع در این بخش همه تیمارها نهایتاً طی ۴۸ ساعت به مرحله عدم رشد رسیدند.

در حالت دوم، یعنی زمانی که خوراک پس از یک هفته نگهداری در انبار، آلوده گردید، روند متفاوتی مشاهده شد. در ساعت صفر، تیمار ۳ (نانوسیل‌دان) حدود (۹/۴۰±۶/۴۹)×۱۰^{۳} کلونی *سالمونلا* داشت و کاهش تدریجی آن تا ۹۶ ساعت ادامه یافت که درنهایت به عدم رشد روی محیط XLD آگار منجر شد. تیمارهای ۴ و ۵ (فرمالین خوراک و فرمالین پیش‌مخلوط) در ابتدا به‌ترتیب (۱/۷۵±۱/۷۶)×۱۰^{۳} و (۷/۶۰±۶/۲۲)×۱۰^{۳} کلونی *سالمونلا* داشتند، اما طی ۲۴ ساعت هیچ رشد *سالمونلایی* مشاهده نشد ($P<۰/۰۵$). تیمار ۱ (کنترل) در ساعت صفر حدود (۳/۳۵±۳/۰۴)×۱۰^{۳} کلونی *سالمونلا* داشت و رشد آن در طول دوره آزمایش تداوم یافت، به گونه‌ای که بقای *سالمونلا* تا ساعت ۲۱۶ ثبت گردید. تیمارهای ۲ و ۶ (ترمین‌گلد خوراک و ترمین‌گلد پیش‌مخلوط) رفتار نامنظم‌تری نشان دادند؛ به‌طوری‌که در برخی زمان‌ها تعداد کلونی‌ها بین ۹/۰۰×۱۰^{۲} تا بیش از ۲/۰۰×۱۰^{۳} کلونی باقی ماند و الگوی یکنواختی از حذف مشاهده نشد. به‌طورکلی بررسی نتایج نشان داد زمان آلودگی و نوع ضدعفونی‌کننده تأثیر مستقیمی بر بقای *سالمونلا* داشت. تیمارهای حاوی فرمالین در هر دو شرایط آزمایشی توانستند طی مدت کوتاهی کلونی‌ها را حذف کنند و ازنظر آماری اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشتند ($P<۰/۰۵$). موارد تیمار نانوسیل‌دان نیز در حالت اول حذف فوری *سالمونلا* را نشان داد، اما در حالت دوم عدم رشد در محیط XLD آگار پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون با تأخیر بیشتری (۹۶ ساعت) به دست آمد. در مقابل، تیمار کنترل بالاترین میزان بقای آلودگی را نشان داد و تا پایان دوره آزمایش حضور کلونی‌های *سالمونلا* در آن ادامه یافت.

در شرایط آلودگی بلافاصله پس از تولید، تیمار نانوسیل‌دان از همان ساعت صفر موجب عدم رشد *سالمونلا* شد، تیمارهای فرمالین

طی ۲۴ ساعت به عدم رشد رسیدند، تیمار ترمین‌گلد خوراک در ۴۸ ساعت و ترمین‌گلد پیش‌مخلوط در ۲۴ ساعت به عدم رشد دست یافتند، درحالی‌که تیمار کنترل نیز در ۴۸ ساعت عدم رشد نشان داد. در شرایط آلودگی یک هفته پس از تولید، تنها تیمارهای فرمالین طی ۲۴ ساعت، عدم رشد نشان دادند؛ نانوسیل‌دان در ۹۶ ساعت به این مرحله رسید، درحالی‌که ترمین‌گلد خوراک تا ۱۶۸ ساعت و ترمین‌گلد پیش‌مخلوط تا ۱۹۶ ساعت همچنان رشد *سالمونلا* را حفظ کردند و در تیمار کنترل نیز رشد تا ۲۱۶ ساعت ادامه یافت. به‌طورکلی، نتایج نشان داد زمان آلودگی و نوع ضدعفونی‌کننده از عوامل تعیین‌کننده در بقای *سالمونلا* می‌باشند و در این میان، تیمارهای حاوی فرمالین سریع‌ترین و پایدارترین اثر را در ایجاد عدم رشد *سالمونلا* روی محیط XLD آگار نسبت به سایر تیمارها ارائه دادند.

بحث

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد استفاده از سه نوع ضدعفونی‌کننده مختلف در خوراک طیور به کاهش معنی‌دار شمارش *سالمونلا* انتریتیدیس نسبت به تیمار کنترل منجر گردید ($P<۰/۰۵$). این امر نشان می‌دهد حتی در شرایط آزمایشگاهی کنترل‌شده، نقش مواد ضدعفونی‌کننده در پیشگیری از رشد و تکثیر *سالمونلا* بسیار چشمگیر است. اهمیت این موضوع زمانی برجسته‌تر می‌شود که خوراک طیور به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین مسیرهای انتقال آلودگی در مزارع پرورش شناخته می‌شود (۱۷). مطالعات بین‌المللی نیز بارها بر این نکته تأکید کرده‌اند که آلودگی خوراک منبعی کلیدی برای شیوع *سالمونلا* در زنجیره غذایی است و استفاده از مواد ضدعفونی‌کننده می‌تواند زنجیره انتقال را به‌طور مؤثر قطع کند (۱۳).

بررسی مقایسه‌ای دو شرایط آلودگی (بلافاصله پس از تولید و یک هفته پس از تولید) نشان داد زمان آلودگی نقش مهمی در اثربخشی ضدعفونی‌کننده‌ها دارد. در آلودگی بلافاصله پس از تولید، تیمار نانوسیل‌دان از همان ساعت صفر موجب عدم رشد کلونی‌های *سالمونلا* در محیط XLD آگار گردید و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P<۰/۰۵$). چنین الگویی از کاهش *سالمونلا* نشان‌دهنده آن است که ترکیبات حاوی عوامل اکسیدکننده و نانوذرات، به‌ویژه نانوذرات نقره، باتوجه‌به توانایی نفوذ به دیواره سلولی باکتری و ایجاد تغییرات ساختاری در غشا و مسیرهای متابولیکی آن، می‌توانند سرعت اثر مناسبی در کاهش جمعیت اجرام عفونی داشته باشند (۱۱). این ضدعفونی‌کننده‌ها با اختلال در فعالیت‌های حیاتی باکتری، مانند تنفس سلولی و سنتز پروتئین و درنهایت رشد و تکثیر آن موجب توقف در رشد و ادامه حیات باکتری می‌شوند (۱۸). شواهد علمی موجود نیز این مکانیسم را تأیید کرده و نشان داده‌اند نانوذرات نقره به‌دلیل سطح تماس بالا و واکنش‌پذیری زیاد، اثرات ضدباکتریایی سریعی از خود بروز می‌دهند؛ بنابراین حضور این ترکیبات می‌تواند توضیح مناسبی برای اثربخشی سریع نانوسیل‌دان در شرایط آلودگی بلافاصله پس از تولید خوراک باشد (۱۲).

در شرایط آلودگی یک هفته پس از انبار، شمار کلونی در ابتدا حدود $۹/۴۰\pm۶/۴۵)\times۱۰^{۳}$ بود و عدم رشد روی محیط XLD آگار تنها پس از ۹۶ ساعت حاصل شد. این یافته می‌تواند بیانگر آن باشد که ترکیبات فعال موجود در این ضدعفونی‌کننده، به‌ویژه پراکسید هیدروژن که نقش کلیدی در خاصیت ضدباکتریایی آن دارد (۱۹)، طی دوره نگهداری خوراک دچار افت پایداری یا کاهش کارایی می‌شوند. درواقع تغییرات شیمیایی احتمالی یا واکنش این ترکیبات با اجزای جیره ممکن است به کاهش تدریجی اثر مهاری منجر گردد (۲۰)؛ بنابراین هرچند نانوسیل‌دان در آلودگی بلافاصله پس از تولید عملکرد سریعی داشت، اما در شرایط انبارداری طولانی‌تر، کارایی آن محدودتر بوده و حذف کامل *سالمونلا* با تأخیر بیشتری صورت گرفت.

در مقابل، تیمارهای حاوی فرمالین در هر دو شرایط آزمایشی اثربخشی سریع و پایداری قابل‌توجهی از خود نشان دادند. در مرحله نخست، شمار کلونی‌های *سالمونلا* طی مدت ۲۴ ساعت به مرحله عدم رشد محیط XLD آگار رسید و در مرحله دوم نیز الگوی مشابهی مشاهده شد. این نتایج همسو با مطالعات متعددی است که پایداری و ماندگاری اثر ضدباکتریایی فرمالین را در مهار رشد *سالمونلا* گزارش کرده‌اند (۲۱، ۲۲). مکانیسم شناخته‌شده این ترکیبات به تخریب دیواره سلولی، ایجاد تغییر در نفوذپذیری غشا و مهار مسیرهای متابولیکی حیاتی باکتری نسبت داده می‌شود؛ فرایندهایی که نهایتاً توان زنده‌مانی و تکثیر باکتری را به‌طور کامل از بین می‌برند (۲۳). براین‌اساس فرمالین را می‌توان ضدعفونی‌کننده‌ای پایدار و مؤثر دانست که استفاده از آن تنها در چارچوب استانداردها و ملاحظات بهداشتی مجاز است و به‌ویژه برای خوراک با دوره انبارداری طولانی مناسب به نظر می‌رسد. بااین‌حال برای ارائه توصیه‌های قطعی در شرایط واقعی مزارع، انجام مطالعات میدانی تکمیلی ضروری است.

ازسوی‌دیگر، تیمارهای حاوی ترمین‌گلد (تیمارهای ۲ و ۶) اگرچه در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری در شمار کلونی‌های

سالمونلا ایجاد کردند، اما روند کاهش آن‌ها منظم و پایدار نبود؛ به‌طوری‌که در برخی بازه‌ها افت قابل‌توجهی مشاهده شد. درحالی‌که در زمان‌های دیگر تعداد کلونی‌ها تقریباً ثابت مانده یا حتی با نوساناتی همراه بود. این رفتار نامنظم نشان می‌دهد ترکیبات فعال ترمین‌گلد، به‌ویژه اسید پروپیونیک، تنها در شرایط خاصی مانند دمای مناسب، زمان تماس کافی یا غلظت بهینه حداکثر اثر ضدباکتریایی خود را بروز می‌دهند (۲۴). یافته‌های پیشین نیز این وابستگی شدید به شرایط محیطی را تأیید کرده‌اند و نشان داده‌اند کارایی اسیدهای آلی، ازجمله اسید پروپیونیک، مستقیماً تحت تأثیر عوامل فیزیکوشیمیایی خوراک و جیره قرار می‌گیرد (۲۳، ۲۵)؛ بنابراین می‌توان استنباط کرد اثربخشی ترمین‌گلد در مقایسه با فرمالین و نانوسیل‌دان محدودتر است و دستیابی به نتایج مطلوب، نیازمند شرایط کنترلی دقیق‌تری می‌باشد.

یکی از یافته‌های قابل‌توجه مطالعه، عدم رشد *سالمونلا* محیط XLD آگار در تیمار شاهد طی ۴۸ ساعت نخست بود. به‌طوری‌که پس از ۴۸ ساعت رشد *سالمونلا* به‌طور کامل متوقف شد. این پدیده می‌تواند حاصل مجموعه‌ای از عوامل محیطی و فیزیولوژیک باشد. نخست، خشکی خوراک و کاهش فعالیت آبی از مهم‌ترین محدودکننده‌های بقا و تکثیر *سالمونلا* محسوب می‌شوند (۲۶). شواهد علمی نشان داده‌اند *سالمونلا* در محیط‌های کم‌رطوبت مانند خوراک‌های خشک توان زنده‌مانی بسیار محدودی دارد و در مدت کوتاهی جمعیت آن به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد (۲۷). دوم، احتمال وجود ترکیبات مهارکننده طبیعی یا افزودنی‌های ناشناخته در جیره نیز مطرح است که می‌توانند اثر بازدارنده‌ای بر رشد *سالمونلا* داشته باشند (۲۵). سوم، بخشی از سلول‌های باکتری ممکن است وارد حالت «زنده ولی غیرقابل‌کشت» شده باشند؛ حالتی که در آن سلول‌ها ازنظر متابولیکی فعال باقی می‌مانند، اما قادر به تشکیل کلونی روی محیط‌های کشت استاندارد نیستند، درحالی‌که امکان احیای مجدد در شرایط مناسب وجود دارد (۲۸). علاوه‌براین، میکروفلورای لاکتیکی بومی نیز با تولید اسیدهای آلی و باکتریوسین‌ها، شرایط را به زیان *سالمونلا* تغییر می‌دهد (۲۹). به نظر می‌رسد ترکیب این عوامل موجب توقف رشد در تیمار کنترل شده است؛ موضوعی که نیازمند بررسی‌های تکمیلی است.

به‌طورکلی نتایج نشان داد هر سه ضدعفونی‌کننده در کاهش *سالمونلا* اثربخش بودند، اما تفاوت‌ها در زمان و پایداری اثر مشهود بود. نانوسیل‌دان در شرایط تازه تولید عملکرد سریع‌تری داشت، درحالی‌که فرمالین در هر دو مرحله آزمایش اثربخشی پایدار و یکنواخت نشان داد. تیمارهای ترمین‌گلد کارایی کمتری داشتند و عدم رشد کلونی روی XLD در آن‌ها نامنظم و کندتر بود. درنهایت، تیمار شاهد بدون ضدعفونی‌کننده نشان داد عوامل محیطی، مانند خشکی خوراک یا ترکیبات مهارکننده ناشناخته نیز می‌توانند در کاهش جمعیت *سالمونلا* نقش داشته باشند. این یافته‌ها تأکید می‌کنند که علاوه‌بر انتخاب نوع ضدعفونی‌کننده، شرایط نگهداری و ترکیب خوراک نیز باید در برنامه‌های کنترل آلودگی مورد توجه قرار گیرند.

براساس نتایج مطالعه حاضر پیشنهاد می‌شود، در شرایطی که خوراک مدت طولانی انبار می‌شود، استفاده از فرمالین با رعایت الزامات قانونی در اولویت قرار گیرد؛ درحالی‌که نانوسیل‌دان می‌تواند به‌عنوان یک گزینه سریع‌الاثر در خوراک تازه تولیدشده استفاده شود.

نتیجه‌گیری نهایی: نتایج مطالعه حاضر نشان داد کارایی ضدعفونی‌کننده‌های موردبررسی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع ترکیب و زمان آلودگی خوراک قرار دارد. در تیمار شاهد (فاقد ضدعفونی‌کننده) بقای *سالمونلا* طولانی‌تر بود و حذف کلونی‌ها با تأخیر رخ داد، که اهمیت استفاده از ضدعفونی‌کننده‌های مؤثر را آشکار می‌سازد. در شرایطی که آلودگی خوراک بلافاصله پس از تولید القا شد، نانوسیل‌دان با عدم رشد روی XLD از همان ساعت صفر، اثربخشی سریع‌تری نشان داد. فرمالین نیز طی ۲۴ ساعت به عدم رشد روی XLDرسید و پایداری عملکرد خود را تأیید کرد. در مقابل، تیمارهای ترمین‌گلد روندی نامنظم و ناپایدار داشتند و نتوانستند به‌طور یکنواخت رشد *سالمونلا* را مهار کنند.

در شرایطی که آلودگی خوراک پس از یک هفته انبارداری اعمال شد، تیمارهای حاوی فرمالین همچنان عملکرد برتری داشتند و توانستند طی مدت کوتاهی رشد *سالمونلا* را متوقف کنند، درحالی‌که نانوسیل‌دان عدم رشد روی XLD را با تأخیر (۹۶ ساعت) نشان داد. تیمارهای ترمین‌گلد در این شرایط نیز کارایی ضعیف‌تری داشتند.

به‌طورکلی، نتایج نشان داد فرمالین در هر دو مرحله آزمایش، عملکردی پایدار و یکنواخت در مهار *سالمونلا* داشت و به‌ویژه در شرایط آلودگی پس از نگهداری خوراک، گزینه‌ای کارآمدتر محسوب می‌شود. نانوسیل‌دان نیز در آلودگی بلافاصله پس از تولید به‌عنوان

یک ضدعفونی‌کننده سریع‌الاثر مؤثر بود، هرچند پایداری آن در شرایط ذخیره‌سازی طولانی‌مدت کمتر بود. ترمین‌گلد نسبت به دو ترکیب دیگر اثربخشی محدودتری نشان داد. باوجوداین یافته‌ها، لازم است تأکید شود کاربرد خوراکی فرمالین با محدودیت‌های قانونی و ایمنی در برخی کشورها مواجه است و استفاده از آن نیازمند رعایت دستورالعمل‌های بهداشتی و ملی است. در ایران نیز استفاده از این ترکیبات نیازمند نظارت و چارچوب‌های قانونی مشخص است. انتخاب ضدعفونی‌کننده باید متناسب با شرایط تولید و انبارداری خوراک انجام گیرد و نتایج آزمایشگاهی باید با تحقیقات میدانی و مطالعات کاربردی تکمیل شوند تا بتوان توصیه‌های قطعی برای صنعت دام و طیور ارائه داد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از اعضای محترم هیئت‌علمی و کارشناسان آزمایشگاه گروه بهداشت خوراک دام دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، همچنین مسئولین و کارشناسان آزمایشگاه دامپزشکی مرکزی و تمام عزیزانی که به هر نحو در به ثمر رسیدن مطالعه حاضر یاری‌رسان بوده‌اند، قدردانی می‌کنند.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافعی در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

References

1. Morita T, Ohyagi N, Matsuura J, Kawaguchi T, Ishizaki N. *Salmonella* contamination and hazard analysis in a storage facility for feed materials in Japan. J Appl Microbiol. 2022;133(5):2966-78. doi: 10.1111/jam.15744

2. Shariat NW, Larsen BR, Schaeffer C, Richardson KE. Animal feed contains diverse populations of *Salmonella*. J Appl Microbiol. 2022;132(6):4476-85. doi: 10.1111/jam.15525

3. Redhead AK, Noor Azman NFI, Toomer OT. Peanut skins as a natural antimicrobial feed additive to reduce the transmission of *Salmonella* in poultry meat produced for human consumption. J Food Prot. 2022;85(11):1555-63. doi: 10.4315/JFP-21-421

4. Renu S, Han Y, Renukaradhya GJ. Chitosan-adjuvanted *Salmonella* subunit nanoparticle vaccine for poultry delivered through drinking water and feed. Carbohydr Polym. 2020;243:116434. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116434

5. Ricke SC. Formaldehyde and other antimicrobials in animal feeds: Safety considerations and current practices. J Anim Sci. 2019;97(10):4104-13. doi: 10.1093/jas/skz323 PMID: 31541247

6. Selby CM, Beer LC, Graham BD. Evaluation of the impact of formaldehyde fumigation during the hatching phase on contamination in the hatch cabinet and early performance in broiler chickens. Poult Sci. 2023;102(7):102594. doi: 10.1016/j.psj.2023.102594

7. Avila LP, Sweeney KM, Schaeffer C, Holcombe N, Selby C, Montiel E, et al. Broiler breeder feed treatment with a formaldehyde-based sanitizer and its consequences on reproduction, feed and egg contamination, and offspring livability. J Appl Poult Res. 2023;32(2):100330. doi: 10.1016/j.japr.2023.100330

8. Kaaviani S, Doost Nobar R, Aghdam Shahrivar H, Mahari Sis N. Effects of replacing soybean meal with different levels of processed corn germ on growth performance, rumen parameters, and purine derivatives in Lorri Bakhtiari lambs. J Res Ruminant Anim. 2022;10(1):1-16. doi: 10.29252/jrra.2022.10.1.1

9. Ioannidis K, Batty C, Turner C, Smith D, Mannocci F, Deb S. A laboratory study to assess the formation of effluent volatile compounds and disinfection by-products during chemomechanical preparation of

infected root canals and application of activated carbon for their removal. Int Endod J. 2021;54(4):529-39. doi: 10.1111/iej.13455 PMID: 33346373

10. Sbardella M, Perina DP, Andrade C, Longo FA, Miyada VS. Effects of a dietary added formaldehyde-propionic acid blend on feed enterobacteria counts and on growing pig performance and fecal formaldehyde excretion. Cienc Rural. 2015;45(3):474-9. doi: 10.1590/0103-8478cr20131402

11. Yin IX, Zhang J, Zhao IS, Mei ML, Li Q, Chu CH. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and their application in dentistry. Int J Nanomedicine. 2020;15:2555-62. doi: 10.2147/IJN.S246764 PMID: 32368182

12. Tao H, Ali MA, Alizadeh A, Sharma K, Almojil SF, Almohana AI, et al. Using nanoparticles for performance enhancement of a solar energy-driven power/hydrogen cogeneration plant based on thermochemical cycles: Multi-aspect analysis and environmental assessment. Energy Convers Manag. 2023;285:117076. doi: 10.1016/j.enconman.2023.117076

13. Obe T, Boltz T, Kogut M, Ricke SC, Brooks LA, Macklin K, et al. Controlling *Salmonella*: Strategies for feed, the farm, and the processing plant. Poult Sci. 2023;102(12):103086. doi: 10.1016/j.psj.2023.103086

14. Eze DC, Eze CP, Okwor EC, Ezema C, Ogbonna IO, Omeje EO, et al. Effect of formaldehyde antimicrobial feed additive on the immune competence of chickens experimentally infected with a known Newcastle disease virus strain. Comp Clin Pathol. 2018;27(3):679-84. doi: 10.1007/s00580-018-2637-0

15. U.S. Food and Drug Administration (FDA). *Salmonella*. In: Bacteriological Analytical Manual (BAM). 8th ed. Silver Spring, MD, USA: FDA; 2024. p.1-33.

16. Paniel N, Noguer T. Detection of *Salmonella* in food matrices, from conventional methods to recent aptamer-sensing technologies. Foods. 2019;8(9):371. doi: 10.3390/foods8090371 PMID: 31547226

17. Visscher CF, Klein G, Verspohl J, Beyerbach M, Stratmann-Selke J, Kamphues J. *Salmonella* in poultry feed: A risk for the food chain? J Appl Poult Res. 2018;27(2):251-8. doi: 10.3382/japr/pfx067

18. González-Fernández S, Blanco-Agudín N, Rodríguez D, Fernández-Vega I, Merayo-Lloves J, Quirós LM. Silver nanoparticles: A versatile tool against infectious and non-infectious diseases. Antibiotics. 2025;14(3):289. doi: 10.3390/antibiotics14030289 PMID: 25871615

19. Chen X, Zhang L, Li J, Gao F, Zhou G. Hydrogen peroxide-induced change in meat quality of the breast muscle of broilers is mediated by ROS generation, apoptosis, and autophagy in the NF-κB signal pathway. J Agric Food Chem. 2017;65(19):3986-94. doi: 10.1021/acs.jafc.7b00437

20. Zun M, Dwornicka D, Wojciechowska K, Swiader K, Kasperek R, Rządkowska M, et al. Kinetics of the decomposition and the estimation of the stability of 10% aqueous and non-aqueous hydrogen peroxide solutions. Curr Issues Pharm Med Sci. 2014;27(4):213-6. doi: 10.1515/cipms-2015-0017

21. Roca A, Rodríguez-Herva JJ, Duque E, Ramos JL. Physiological responses of *Pseudomonas putida* to formaldehyde during detoxification. Microb Biotechnol. 2008;1(2):158-69. doi: 10.1111/j.1751-7915.2007.00014 PMID: 21261874

22. Klein VJ, Irla M, López MG, Brautaset T, Brito LF. Unravelling formaldehyde metabolism in bacteria: Road towards synthetic methylotrophy. Microorganisms. 2022;10(2):220. doi: 10.3390/microorganisms10020220 PMID: 35161416

23. Ruan J, Wang J, Yang C, Liu W, He F, Zhong B. Biodegradation enhancement of high concentrations formaldehyde waste gas and verification of the metabolic mechanism. Ecotoxicol Environ Saf. 2023;255:115857. doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115857 PMID: 37088338

24. Ricke SC. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. Poult Sci. 2003;82(4):632-9. doi: 10.1093/ps/82.4.632 PMID: 12710485

25. Khan SH, Tawab A, Adil S. Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition: a review. Indian J Anim Res. 2016;50(4):577-85.

26. Beuchat LR, Komitopoulou E, Beckers H, Betts RP, Bourdichon F, Fanning S, et al. Low-water activity foods: Increased concern as vehicles of foodborne pathogens. J Food Prot. 2013;76(1):150-72. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-211 PMID: 23317872

27. Podolak R, Enache E, Stone W, Black DG, Elliott PH. Sources and risk factors for contamination, survival, persistence, and heat resistance of *Salmonella* in low-moisture foods. J Food Prot. 2010;73(10):1919-36. doi: 10.4315/0362-028X-73.10.1919 PMID: 21067682

28. Oliver JD. The viable but nonculturable state in bacteria. J Microbiol. 2005;43(Spec No):93-100. PMID: 15765072

29. Anjana A, Tiwari SK. Bacteriocin-producing probiotic lactic acid bacteria in controlling dysbiosis of the gut microbiota. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:851140. doi: 10.3389/fcimb.2022.851140