University of Tehran Press

Journal of Animal Production

Online ISSN: 2382-994X

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

Effect of esophageal gavage of anti-enterococcus bacteriophage on productive performance, ileal microbial population, and nutrient digestibility of laying hens

Somayeh Zeinali[1] | Mohammad Amir Karimi Torshizi[2]✉ | Farid Shariatmadari[3]

1. Poultry Science Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. E-mail: szeinali@ut.ac.ir
2. Corresponding Author, Poultry Science Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. E-mail: karimitm@modares.ac.ir
3. Poultry Science Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. E-mail: shariatf@modares.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 12 January 2023
Received in revised form: 7 June 2023
Accepted: 9 June 2023
Published online: 6 July 2023

Keywords:
Bacteriophage,
Blood biochemistry,
Egg production performance,
Enterococcus,
Intestinal microbial population,
Laying hen lipid utilization.

ABSTRACT

Introduction Bacteria of the intestinal tract may have a profound impact on lipids' digestion and utilization. The proposed mechanism for reduced lipids digestibility is the de-conjugation of bile salts, via bacterial bile salt hydrolase (BSH) enzyme activity. The activity of BSH is well recognized in some genera of lactic acid bacteria like *Enterococci*. Bacteriophages are recognized as bacteria-eating viruses, which are host specific in contrast to antibiotics. We find bacteriophages that lysis the laying hen's intestinal *Enterococci*. It is expected that oral administration of bacteriophage lessens the negative impact of *Enterococci* BSH activity on lipids digestion.

Materials and Methods A total of 240 high-line W-36 laying hens aged 50 weeks were tested in six treatments with five replications and eight pieces in each replication for eight weeks in a completely randomized design. Treatments include, 1) control (basal diet without additives), 2) basal diet + antibiotic (virginiamycin), 3) basal diet + lipid-lowering drug (atorvastatin), 4) basal diet + bile salt powder, 5) basal diet + oral gavage of *Enterococcus* bacteria, and 6) basal diet + oral gavage of bacteriophage against *Enterococcus*.

Results and Discussion The results showed that the group receiving the lipid-lowering drug (atorvastatin) had significantly the lowest percentage of egg production, the lowest egg mass, and the highest feed conversion rate ($P<0.05$). *Enterococcus* bacteria and atorvastatin had the same performance, although *Enterococcus* bacteria did not increase the feed conversion rate as much as the lipid- atorvastatin, it performed poorly compared to the bacteriophage. The use of phage in poultry improved performance. No significant effect among treatments was observed in albumin, glucose, uric acid, calcium, and phosphorus. The level of cholesterol, triglyceride, total protein, and globulin in the atorvastatin group was lower compared to the antibiotic and bile salt groups ($P<0.05$). Cholesterol and triglyceride levels were higher in the antibiotic, bacteriophage, and bile salt powder treatments than in the other treatments ($P<0.05$). The lowest concentration of uric acid was observed in the control group and the highest percentage of hematocrit was observed in the bacteriophage and control groups. The role of antibiotic and bile salt in the rest of the reports was the same as bacteriophage but regarding the increase of hematocrit in bacteriophage treatment, phages showed their superiority in this field ($P<0.05$). The total number of aerobic bacteria, lactic acid bacteria, enterococcus, and coliforms in the bacteriophage group was less than in the bacteria group ($P<0.05$). However, the digestibility of crude protein was not significantly different between bacteriophage and bacteria groups ($P<0.05$). The total population of aerobic bacteria was lower in antibiotic and bacteriophage treatments. This study demonstrated the ability to use bacteriophage to reduce the population of specific bacteria. The population of lactic acid bacteria was higher than other treatments in bacteria treatment. Bacteriophage had been more effective to reduce the population of *Enterococcus* bacteria than other treatments. A close competition between antibiotics and bacteriophage was observed. Regarding the reduction of the *E.coli* bacteria population, it showed the appropriate ability of bacteriophage to replace the antibiotics. The digestibility of ether extract and dry matter in the bacteriophage was higher than in the bacteria group. The dry matter digestibility in antibiotic and bacteriophage is similar, but bile salt powder was not similar to bacteriophage in this case, and the dry matter in bile salt powder was the lowest ($P<0.05$).

Conclusion Based on the results, oral bacteriophage could improve dry matter digestibility and reduce the *Enterococcus* bacteria population without a significant impact on production performance in laying hens.

Cite this article: Zeinali, S., Karimi Torshizi, M. A., & Shariatmadari, F. (2023). Effect of esophageal gavage of anti-enterococcus bacteriophage on productive performance, ileal microbial population, and nutrient digestibility of laying hens. *Journal of Animal Production*, 25 (2), 201-213. DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2023.353765.623725

© The Author(s).
Publisher: University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2023.353765.623725

انتشارات دانشگاه تهران

تولیدات دامی

Homepage: https://jap.ut.ac.ir/

شاپا الکترونیکی: ۲۳۸۲-۹۹۴x

تأثیر گاواژ مری باکتریوفاژ پاد– انتروکوکوس بر عملکرد تولیدی، جمعیت میکروبی ایلئوم و قابلیت هضم مواد مغذی در مرغ‌های تخمگذار

سمیه زینلی[۱] | محمد امیر کریمی ترشیزی[۲]✉ | فرید شریعتمداری[۳]

۱. گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: szeinali@ut.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: karimitm@modares.ac.ir

۳. گروه پرورش و مدیریت طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: shariatf@modares.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۳/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۹

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۴/۱۵

کلیدواژه‌ها:
باکتریوفاژ،
بیوشیمی خون،
تولید تخم‌مرغ،
مهار انتروکوکوس،
میکروب‌های روده.

چکیده

اثر افزودن گاواژ مری باکتریوفاژ و باکتری انتروکوکوس در چینه‌دان و هم‌چنین افزودن جیره‌ای آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین، داروی کاهنده چربی آتورواستاتین و پودر نمک‌های صفراوی گاوی بر عملکرد تولیدی و قابلیت هضم مواد مغذی با استفاده از ۲۴۰ قطعه مرغ تخمگذار های‌لاین به‌مدت هشت هفته در قالب طرح کاملاً تصادفی بررسی شد. نتایج نشان داد که تیمار آتورواستاتین کم‌ترین مصرف خوراک، درصد تولید تخم‌مرغ و توده تخم‌مرغ و بالاترین ضریب تبدیل خوراک را داشت (P<۰/۰۵). پرندگان دریافت‌کننده آتورواستاتین، سطح کلسترول، تری‌گلیسیرید، پروتئین کل و گلوبولین پایین‌تری در مقایسه با تیمارهای حاوی آنتی‌بیوتیک و پودر نمک‌های صفراوی داشتند (P<۰/۰۵). کم‌ترین غلظت اوریک‌اسید در پرندگان شاهد و بالاترین درصد هماتوکریت در پرندگان دریافت‌کننده باکتریوفاژ و شاهد مشاهده شد (P<۰/۰۵). شمار کل باکتری‌های هوازی، باکتری‌های اسید لاکتیک، انتروکوکوس و کلی‌فرم‌ها در پرندگان دریافت‌کننده باکتریوفاژ کم‌تر از پرندگان دریافت‌کننده انتروکوکوس بود (P<۰/۰۵). اگرچه، قابلیت هضم پروتئین خام بین تیمارهای باکتریوفاژ و باکتری انتروکوکوس اختلاف معنی‌داری نداشت، اما قابلیت هضم چربی خام و ماده خشک در پرندگان دریافت‌کننده باکتریوفاژ بیش‌تر از پرندگان دریافت‌کننده باکتری انتروکوکوس بود (P<۰/۰۵). براساس نتایج حاصل، گاواژ مری باکتریوفاژ پاد–انتروکوکوس بدون تأثیر بر عملکرد تولیدی، موجب کاهش جمعیت باکتری انتروکوکوس و بهبود قابلیت هضم ظاهری ماده خشک در مرغ‌های تخمگذار می‌شود.

استناد: زینلی، سمیه؛ کریمی ترشیزی، محمد امیر و شریعتمداری، فرید (۱۴۰۲). تأثیر گاواژ مری باکتریوفاژ پاد– انتروکوکوس بر عملکرد تولیدی، جمعیت میکروبی ایلئوم و قابلیت هضم مواد مغذی در مرغ‌های تخمگذار. *نشریه تولیدات دامی*، ۲۵ (۲)، ۲۰۱-۲۱۳.

DOI: https://doi.org/10.22059/jap.2023.353765.623725

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

CC BY NC

۱. مقدمه

باکتری‌های روده، نقش مهمی در هضم و جذب مواد مغذی، سیستم ایمنی و حفظ میزبان از عوامل بیماری‌زا دارند. تکثیر و استقرار جمعیت میکروبی مفید روده افزون بر جلوگیری از رشد باکتری‌های بیماری‌زا موجب تحریک و توسعه سیستم ایمنی میزبان می‌شود (Sarrami *et al*., 2022).

مطالعات مختلف نشان داده است که باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک نظیر لاکتوباسیل‌ها و انتروکوکوس‌ها حدود ۹۵ درصد از جمعیت باکتری‌های روده را تشکیل می‌دهند (Sarrami *et al*., 2022). به‌خوبی شناخته شده است که لاکتوباسیلوس‌ها دارای اثر مثبتی بر عملکرد و سلامت دستگاه گوارش پرنده می‌باشند (Apajalahti & Vienola, 2016).

کاهش تعداد باکتری‌های بیماری‌زا می‌تواند به‌عنوان یک راه‌کار در افزایش جمعیت باکتری‌های مفید از طریق کاهش رقابت بین این دو گروه باکتری در نظر گرفته شود (Sarrami *et al*., 2022). باکتری‌های جنس انتروکوکوس به‌عنوان بخش مهمی از باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک شناخته می‌شوند که اثرات پروبیوتیکی آن‌ها بر سلامت حیوان از طریق تنظیم میکروب‌های دستگاه گوارش می‌باشد. نشان داده شده است که مکمل‌سازی جیره با سویه انتروکوکوس فاسیوم موجب بهبود عملکرد رشد حیوان از طریق تولید اسیدهای آلی و مهار باکتری‌های بیماری‌زا می‌شود (Zhang *et al*., 2019).

با این‌حال، نگرانی‌هایی در مورد بعضی از سویه‌های انتروکوکوس در به‌وجودآمدن بیماری‌های بسیاری از جمله سپتی‌سمی، تورم روده، بیماری‌های تنفسی و عفونت‌های دستگاه ادراری وجود دارد. در طول سالیان گذشته برخی گونه‌های باکتری انتروکوکوس که قابلیت اکتساب مقاومت در برابر پادزیست‌ها را داشته‌اند، به‌عنوان عامل بیماری‌زا شناخته شده‌اند (نوری رایگانی و همکاران، ۱۳۹۴).

برای هضم لیپیدها در دستگاه گوارش، وجود نمک‌های صفراوی در مراحل تشکیل امولسیون و میسل ضروری است. گونه‌های باکتریایی موجود در دستگاه گوارش مانند کلستریدیوم‌ها، باکتریوئیدها، بیفیدوباکترها و انتروکوکوس‌ها می‌توانند با تولید آنزیم‌های هیدرولاز نمک‌های صفراوی، گلیسین و تائورین را از مولکول‌های نمک‌های صفراوی برداشته و آن‌ها را غیرمزدوج کنند و در نهایت موجب تبدیل آن‌ها به متابولیت‌های مختلف شوند. این تغییر توسط باکتری‌ها موجب کاهش جذب طبیعی چربی و دفع نمک‌های صفراوی غیرمزدوج از راه مدفوع می‌شود. گزارش شده است که مهار فعالیت آنزیم هیدرولاز نمک‌های صفراوی می‌تواند موجب بهبود متابولیسم لیپید و در نهایت بهبود عملکرد حیوان شود (Geng *et al*., 2020).

باکتریوفاژها (فاژها یا باکتری خوارها) ویروس‌هایی هستند که به باکتری‌ها حمله می‌کنند و از طریق تکثیر در سلول‌های باکتری در چرخه کافتی (لیتیک) خود موجب تولید باکتریوفاژهای جدید در سلول میزبان شده و باعث مرگ آن‌ها می‌شوند. باکتریوفاژها در اوایل دهه ۱۹۰۰ میلادی کشف شدند و تقریباً از آن زمان به‌منظور مقابله با عفونت‌های باکتریایی مورداستفاده قرار گرفتند، اما پس از کشف آنتی‌بیوتیک‌ها و گسترش استفاده از آن‌ها در خوراک دام و طیور و غذای انسانی به فراموشی سپرده شدند. با این‌حال، امروزه با توجه به بروز مشکلات در استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله پیدایش باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، محققین به استفاده از باکتریوفاژها تمایل پیدا کرده‌اند (احمدی و همکاران، ۱۳۹۴).

اگرچه در مورد کاربرد و مصرف باکتریوفاژها در صنعت طیور تردیدهایی وجود دارد، اما انتظار می‌رود که باکتریوفاژها در عصر مقاومت چندداروییی بتوانند جایگزین مفیدی برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشند. بر این اساس، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر گاواژ مری باکتریوفاژ علیه انتروکوکوس و مقایسه آن با آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین، داروی آتورواستاتین (به‌عنوان داروی کاهنده چربی خون)، پودر صفرای گاوی و باکتری انتروکوکوس فکالیس بر عملکرد تخمگذاری، قابلیت هضم مواد مغذی از جمله چربی و هم‌چنین جمعیت میکروبی منتخب ایلئومی طرح‌ریزی شد.

۲. روش‌شناسی پژوهش

برای جداسازی باکتریوفاژ پاد–انتروکوکوس (باکتریوفاژی که قادر است باکتری انتروکوکوس را به‌عنوان میزبان شناسایی و آن را از طریق چرخه کافتی از بین ببرد)، یک گرم از نمونه مدفوع طیور در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر SM (سالین منیزیم) همگن شد. محلول همگن‌شده به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس در ۱۲۰۰۰ ×g سانتریفیوژ شد. محلول سانتریفیوژشده از پالایه با قطر منافذ ۰/۲۲ میکرومتر گذارنده شد و ۲۵۰ میکرولیتر از آن با ۵۰ میکرولیتر از باکتری انتروکوکوس (سه ساعت کشت در محیط مایع انفوزیون مغز و قلب (Merck, Germany) به لوله جدید که در آن چهار میلی‌لیتر محیط کشت انفوزیون مغز و قلب به‌همراه آگار نرم مذاب بود اضافه شد.

بلافاصله پس از مخلوط‌کردن، نمونه روی پتری‌دیش با پایه آگارز (Serva, Germany) ریخته شد. پس از تشکیل پلاک و مشاهده آن، پلاک‌های با شکل و اندازه‌های مختلف با استفاده از پیپت پاستور جداسازی و در لوله‌های حاوی محیط کشت براث انفوزیون مغز و قلب و باکتری انتروکوکوس غنی شد (نوری رایگانی و همکاران، ۱۳۹۴). این مراحل، به‌منظور خالص‌سازی باکتریوفاژهای جداسازی‌شده، چهار مرتبه تکرار شدند. برای تعیین عیار (تعداد ذرات) تعلیق باکتریوفاژی پس از تهیه باکتریوفاژها، ابتدا رقت‌های سریالی ۱۰ تایی از $۱۰^{-۱}$ تا $۱۰^{-۱۰}$ تهیه شدند. پس از ترکیب نسبت چهار به یک از هر رقت و کشت باکتری (به‌مدت سه ساعت) به محیط کشت آگار نرم انفوزیون مغز و قلب مذاب، هر کدام از آن‌ها به‌طور جداگانه به پتری دیش با پایه آگارز اضافه شدند. پس از شمارش پلاک‌های تشکیل شده در رقت مناسب عیار تعلیق باکتریوفاژی محاسبه گردید (احمدی و همکاران، ۱۳۹۴).

برای تعیین ماهیت حدت باکتریوفاژهای پاد–انتروکوکوس از بین ۵۰ نوع باکتریوفاژ به‌دست‌آمده، قطرات ۱۰ میکرولیتری از هر باکتریوفاژ خالص‌شده به یک پلیت با آگار دو لایه، حاوی باکتری حساس مربوطه منتقل شد. پس از آن، یک باکتریوفاژ که دارای فعالیت ضد باکتریایی وسیع، بزرگ‌ترین اندازه پلاک، تعداد باکتریوفاژ بیش‌تر در هر پلاک و دارای شفافیت بالای پلاک بود به‌عنوان باکتریوفاژ منتخب با حدت بالا انتخاب شد (نوری رایگانی و همکاران، ۱۳۹۴). به‌منظور تکثیر باکتریوفاژ منتخب، به‌طور خلاصه، ابتدا مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه باکتریوفاژ انتخاب شد و با ۵۰ میکرولیتر باکتری میزبان در پنج میلی‌لیتر محیط کشت براث انفوزیون مغز و قلب مخلوط شد. این مخلوط به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. بعد از آن، نمونه به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ ×g سانتریفیوژ شد. پس از صاف کردن محلول سانتریفیوژشده با استفاده از پالایه ۰/۲۲ میکرومتر، باکتریوفاژهای تکثیرشده در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند (نوری رایگانی و همکاران، ۱۳۹۴).

به‌منظور جداسازی انتروکوکوس‌ها نمونه مدفوع تازه مرغ تخمگذار با استفاده از قاشقک سترون گرفته شد. یک گرم از نمونه مدفوع در شرایط بدون آلودگی به لوله‌های حاوی نُه میلی‌لیتر محلول سالین نرمال سترون منتقل و تا هشت مرتبه به شکل متوالی با عامل رقت یک دهم رقیق شد. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت در بشقابک کشت به‌همراه ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت استرپتوکوکوس کی‌اف آگار (Merck, Germany) مذاب مکمل شده با محلول یک درصد تترازولیوم هیدروکلرید (Merck, Germany) ریخته شد. نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. برای اطمینان از رشد مناسب انتروکوکوس‌ها در نمونه‌ها، بررسی رشد و ویژگی‌های ریخت‌شناسی آن‌ها، رنگ‌آمیزی گرم، تولید کاتالاز و تحمل نسبت به نمک طعام انجام شد. در تمامی مراحل از باکتری انتروکوکوس فکالیس ۵۱۲۹۹ به‌عنوان استاندارد استفاده شد (نوری رایگانی و همکاران، ۱۳۹۴).

برای انجام مزرعه‌ای مطالعه حاضر، تعداد ۲۴۰ قطعه مرغ تخمگذار های‌لاین W۳۶ با سن ۵۰ هفته در شش تیمار و پنج تکرار (هشت پرنده در هر تکرار) به‌مدت هشت هفته موردآزمایش قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱– تیمار

شاهد، تغذیه با جیره پایه براساس ذرت-کنجاله سویا، ۲- جیره پایه+ ۰/۵ گرم در کیلوگرم آنتی‌بیوتیک ویرجینامایسین ۱۰ درصد، ۳- جیره پایه+ ۰/۳ گرم بر کیلوگرم قرص آتورواستاتین ۴۰ میلی‌گرم- شرکت داروسازی آریا- ایران، ۴- جیره پایه+ ۰/۴ گرم در کیلوگرم پودر صفرای گاوی، ۵- جیره پایه+ گاواژ مری باکتری انتروکوکوس فکالیس (یک میلی‌لیتر، 10^{8} واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر)، ۶- جیره پایه+ گاواژ مری دو میلی‌لیتر باکتریوفاژ علیه انتروکوکوس (یک‌بار در روز با غلظت 10^{7} واحد تشکیل‌دهنده پلاک در هر میلی‌لیتر) برای مدت ۵۶ روز بودند. انتخاب مقدار داروی آتورواستاتین براساس دوز مؤثر در نتایج پژوهش‌های منتشرشده قبلی بود (Elkin & Rogler, 1990; Elkin *et al*., 2003; Kim*et al*., 2004; Kumar *et al*., 2012).

گاواژ به‌صورت روزانه توسط سرسوزن خمیده گاواژ شماره ۱۸ با انتهای مدور که روی سرنگ یکبار مصرف یک میلی‌لیتری نصب شده بود در محل مری انجام شد. مشخصات جیره آزمایشی و ترکیب شیمیایی آن در جدول (۱) آورده شده است. با توجه به اهمیت بررسی قابلیت هضم چربی در این آزمایش در تنظیم جیره از ۴/۸۴ درصد روغن استفاده شد. برنامه نوری برای کل دوره آزمایشی به‌صورت ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی تنظیم شد. دسترسی پرندگان به آب و خوراک در کل دوره آزمایشی به‌صورت آزاد بود. میزان تولید تخم‌مرغ و میانگین وزن آن به‌صورت روزانه برای هر واحد آزمایشی به‌طور جداگانه تا انتهای دوره آزمایشی ثبت شد. درصد تولید تخم‌مرغ براساس تعداد تخم‌مرغ‌های تولیدی و تعداد مرغ‌های مربوط به هر واحد آزمایشی محاسبه شد. وزن توده تخم‌مرغ تولیدی از طریق ضرب متوسط وزن تخم‌مرغ در درصد تولید محاسبه شد. مصرف خوراک آن‌ها نیز برای محاسبه ضریب تبدیل خوراک ثبت شد. هم‌چنین وزن پرندگان موجود در هر قفس در ابتدا و انتهای آزمایش اندازه‌گیری شد.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی

مواد خوراکی	(کیلوگرم در هر صد کیلوگرم)
ذرت	۵۰/۴۱
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین)	۳۱/۴۵
روغن سویا	۴/۸۴
کربنات کلسیم	۱۰/۲۵
دی‌کلسیم فسفات	۱/۷۷
مکمل ویتامینی[۱]	۰/۲۵
مکمل معدنی[۱]	۰/۲۵
دی ال متیونین	۰/۲۸
نمک طعام	۰/۳۵
جوش شیرین	۰/۱۴
مواد مغذی محاسبه شده	
انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۸۵۰
پروتئین خام (درصد)	۱۷/۷۸
لیزین (درصد)	۰/۹۷
متیونین (درصد)	۰/۵۷
متیونین + سیستین (درصد)	۰/۸۴
ترئونین (درصد)	۰/۶۸
کلسیم (درصد)	۴/۳۷
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۴۴
سدیم (درصد)	۰/۲۰

۱. هر کیلوگرم مکمل حاوی ۳۶۰۰۰۰۰ واحد ویتامین A، ۸۰۰۰۰۰ واحد ویتامین D3، ۱۴۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۸۰۰ میلی‌گرم ویتامین K3، ۷۱۰ میلی‌گرم B1، ۲۶۴۰ میلی‌گرم B2، ۱۱۷۶ میلی‌گرم B6، ۴۰۰ میلی‌گرم B9، ۶ میلی‌گرم B12، ۱۱۸۸۰ میلی‌گرم نیاسین، ۳۹۲۰ میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، ۴۰ میلی‌گرم بیوتین و ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید. هر کیلوگرم حاوی ۳۹۶۸۰ میلی‌گرم منگنز، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۳۳۸۸۰ میلی‌گرم روی، ۴۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۳۹۷ میلی‌گرم ید و ۸۰ میلی‌گرم سلنیوم.

در انتهای دوره آزمایشی، نمونه خون از طریق سیاهرگ وداج گرفته و به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰ ×g سانتریفیوژ شد و سرم خون پس از جداسازی در ۲۰- درجه سلسیوس برای آنالیز بیوشیمیایی نگهداری شد. آلبومین، گلوبولین، پروتئین کل، تری‌گلیسیرید، گلوکز، کلسترول، اسیداوریک، کلسیم و فسفر توسط روش اسپکتروفتومتری با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون، تهران، ایران) اندازه‌گیری شدند. جذب نوری نمونه‌ها و استاندارد با استفاده از میکروپلیت ریدر (BioTec Epoch; BioTec, USA) قرائت و درنهایت غلظت متابولیت‌ها براساس میزان جذب نوری و غلظت در استاندارد محاسبه شد. به‌منظور بررسی جمعیت میکروبی، یک گرم از فضولات تازه دفع‌شده برداشته شد. سری رقت متوالی ($۱۰^{-۱}$ تا $۱۰^{-۸}$) در بافر فسفات سالین تهیه شد. برای شمارش کل باکتری‌های هوازی، باکتری‌های اسید لاکتیک، باکتری‌های انتروکوکوس و اشریشیاکلی، ۰/۱ میلی‌لیتر از سه رقت آخر به‌ترتیب در محیط کشت‌های پلیت کانت آگار (Merck, Germany)، ام. آر. اس. آگار (Merck, Germany)، کی. اف. آگار (Merck, Germany) و مک‌کانکی آگار (Merck, Germany) کشت شدند. کلونی‌های ظاهر شده، پس از ۲۴ الی ۷۲ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و در شرایط هوازی شمارش شدند (Vosoogh Sharifi *et al*., 2022).

چهار روز قبل از جمع‌آوری نمونه فضولات، پنج گرم اکسید تیتانیوم در هر کیلوگرم جیره افزوده و برای عادت‌پذیری در اختیار پرندگان قرار گرفت. در روز چهارم ابتدا سینی جمع‌آوری کود تمیز شد و هر دو ساعت یک بار فضولات تازه دفع‌شده به‌مدت هشت ساعت جمع‌آوری و به یخچال منتقل شدند. در پایان زمان جمع‌آوری، نمونه‌های هر واحد آزمایشی با هم مخلوط و همگن شدند و حدود ۵۰ گرم نمونه تا زمان اندازه‌گیری‌های بعدی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده پس از مخلوط‌شدن، در آون و با دمای ۶۰ درجه سلسیوس خشک شد. نمونه‌های خوراک و فضولات برای تعیین قابلیت هضم ماده خشک، چربی خام و پروتئین خام مطابق با رویه‌های استاندارد AOAC آنالیز شدند (Helrich, 1990).

برای اندازه‌گیری میزان نشانگر، پس از به‌دست‌آوردن منحنی کالیبراسیون با استفاده از محلول‌های استاندارد در طول موج ۴۱۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway 6320D spectrophotometer, UK)، محلول‌های تهیه‌شده از نمونه‌ها قرائت و تعیین غلظت شد. سپس، قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد (Geng *et al*., 2020).

$$DD= (1-[(ID\times AF)/(IF\times AD)] \times 100)$$ رابطه ۱)

که در این رابطه، DD، درصد قابلیت هضم ایلئومی ماده مغذی جیره؛ ID، غلظت مارکر در جیره؛ AF، غلظت مارکر در محتویات ایلئوم؛ IF، غلظت مواد مغذی در مواد هضمی ایلئوم و AD، غلظت ماده مغذی در جیره است.

داده‌های حاصل با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) برای مدل رابطه (۲) تجزیه و میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح آماری پنج درصد مقایسه شد.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$ رابطه ۲)

در این مدل اجزا عبارتند از Y_{ij}، مقدار هر مشاهده؛ μ، میانگین جمعیت؛ T_i، اثر تیمار iام؛ e_{ij}، اثر باقیمانده (اثر خطا) می‌باشد.

۳. یافته‌های پژوهش و بحث

در جدول (۲)، تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های عملکردی شامل مصرف خوراک روزانه، میانگین وزن تخم‌مرغ، ضریب تبدیل خوراک، درصد تولید و توده تخم‌مرغ در کل دوره تولیدی آورده شده است. مصرف خوراک، ضریب تبدیل

خوراک، درصد تولید و توده تخم‌مرغ تولیدی تحت تأثیر تیمارها قرار گرفتند (P<۰/۰۵). مصرف خوراک در مرغ‌هایی که آتورواستاتین دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه شاهد و سایر تیمارها، غیر از گروه دریافت‌کننده باکتری انتروکوکوس کاهش یافت (P<۰/۰۵). سایر گروه‌های آزمایشی در مصرف خوراک روزانه با یکدیگر و شاهد تفاوتی نداشتند. ضریب تبدیل خوراک مرغ‌هایی که آتورواستاتین دریافت کردند بیش‌تر از بقیه گروه‌ها (به‌جز گروه شاهد و آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین) بود (P<۰/۰۵). گروه‌های تیمارشده با صفرای گاوی، باکتری انتروکوکوس و هم‌چنین باکتریوفاژ ضریب تبدیل خوراک مشابه‌هم ولی کم‌تر از مرغان دریافت‌کننده داروی آتورواستاتین داشتند (P<۰/۰۵). هم‌چنین درصد تولید تخم‌مرغ، وزن تخم‌مرغ و توده تخم‌مرغ تولیدی در مرغ‌هایی که با جیره حاوی آتورواستاتین تغذیه شدند کم‌تر از بقیه پرندگان بود (P<۰/۰۵). در توافق با نتایج پژوهش حاضر، گزارش شده است که افزودن ۰/۰۶ درصد آتورواستاتین به جیره مرغ‌های تخمگذار موجب کاهش وزن تخم‌مرغ و افزایش ضریب تبدیل خوراک شد (Kim *et al*., 2004). هم‌چنین در مطالعه دیگری کاهش معنی‌دار وزن تخم‌مرغ و مصرف خوراک روزانه در مرغ‌های تغذیه‌شده با سطوح مختلف آتورواستاتین گزارش شده است (Elkin & Rogler, 1990). کاهش در فراسنجه‌های عملکردی شامل مصرف خوراک، تولید تخم‌مرغ و وزن تخم‌مرغ در زمان تجویز ۶۰ میلی‌گرم آتورواستاتین در ۱۰۰ گرم خوراک به‌مدت ۲۰ روز در مرغ‌های تخمگذار نشان داده شده است (Elkin *et al*., 2003).

گزارش شده است که استفاده از آتورواستاتین در مرغ‌های تخمگذار موجب افزایش مصرف خوراک و ضریب تبدیل می‌شود (Kumar *et al*., 2012)، اما در پژوهش حاضر افزایش ضریب تبدیل ناشی از کاهش توام وزن و درصد تولید تخم‌مرغ بود، زیرا مصرف خوراک در این گروه کاهش معنی‌داری را نشان داد. آتورواستاتین به‌عنوان آنزیم مصنوعی ۳-هیدروکسی-۳-متیل‌گلوتاریل کوآنزیم‌آ ردوکتاز (HMG-CoA reductase) از گروه داروهای استاتین می‌باشد که از طریق مهار آنزیم HMG-CoA ردوکتاز از تولید کلسترول جلوگیری می‌کند (Kumar *et al*., 2012). دلیل کاهش عملکرد مرغ‌های تخمگذار در نتیجه استفاده از آتورواستاتین مشخص نیست، اما احتمال دارد که مهار HMG-CoA و کاهش تولید و جذب لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار کم منجر به کاهش وزن زرده و تخم‌مرغ و هم‌چنین کاهش نرخ تولید تخم‌مرغ شود (Elkin *et al*., 1999)، کاهش اشتها به‌عنوان یک اثر جانبی برای داروهای کاهنده سطح کلسترول گزارش شده است (Kumar *et al*., 2012).

جدول ۲. تأثیر باکتریوفاژ، آنتی‌بیوتیک، آتورواستاتین، صفرا و انتروکوکوس بر عملکرد تولیدی مرغ‌های تخمگذار سویه های لاین W36 از سن ۵۰ تا ۵۷ هفتگی

تیمار	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز)	میانگین وزن تخم‌مرغ (گرم)	ضریب تبدیل	تولید تخم‌مرغ (درصد)	توده تخم‌مرغ تولیدی (گرم/پرنده/روز)
شاهد	۱۰۳/۳۰[a]	۶۱/۶۷[a]	۱/۸۶[ab]	۹۰/۱۸[a]	۵۵/۶۷[a]
آنتی‌بیوتیک[1]	۹۲/۰۷[a]	۵۹/۷۱[ab]	۱/۷۷[ab]	۸۷/۱۰[a]	۵۲/۰۵[a]
آتورواستاتین	۷۵/۹۲[b]	۵۵/۷۱[b]	۱/۹۴[a]	۷۰/۲۴[b]	۳۹/۱۶[b]
صفرای گاوی	۹۷/۲۶[a]	۶۳/۳۳[a]	۱/۷۰[b]	۹۰/۱۸[a]	۵۷/۱۱[a]
انتروکوکوس	۹۰/۲۴[ab]	۵۹/۰۸[ab]	۱/۷۲[b]	۸۸/۹۹[a]	۵۲/۵۰[a]
باکتریوفاژ	۹۲/۷۸[a]	۵۹/۱۵[ab]	۱/۷۳[b]	۹۰/۴۸[a]	۵۳/۵۴[a]
خطای استاندارد میانگین‌ها	۳/۳۸	۰/۹۸	۰/۰۴	۲/۶۹	۲/۴۸
سطح احتمال معنی‌داری	۰/۰۰۲	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳

۱. آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

تأثیر تیمارهای آزمایشی روی برخی از فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون مرغ‌های تخمگذار در جدول (۳) نشان داده شده است. در بین فراسنجه‌های اندازه‌گیری‌شده، سطح آلبومین، اوریک‌اسید، کلسیم، فسفر و نسبت کلسیم به فسفر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. پرندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی آتورواستاتین و هم‌چنین دریافت باکتری در مقایسه با مرغ‌هایی که از جیره حاوی آنتی‌بیوتیک ویرجینامایسین تغذیه شدند، مقدار کلسترول خون پایین‌تری داشتند (P<۰/۰۵). غلظت تری‌گلیسیرید در مرغ‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی آتورواستاتین و دریافت‌کننده باکتری کم‌تر از تیمارهای دیگر بود (P<۰/۰۵). هم‌چنین پروتئین کل سرم در مرغ‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی آتورواستاتین کم‌تر از پرندگان دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک، پودر صفرا و باکتری بود (P<۰/۰۵). در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی، کم‌ترین سطح گلوبولین نیز در تیمار آتورواستاتین مشاهده شد. سطح اوریک‌اسید در همه تیمارها نسبت به گروه شاهد به‌طور غیر معنی‌داری افزایش عددی نشان داد. هم‌چنین بالاترین سطح هماتوکریت در گروه‌های شاهد و دریافت‌کننده باکتریوفاژ مشاهده شد (P<۰/۰۵). مشابه با نتایج مطالعه حاضر، گزارش شده است افزودن جیره‌ای آتورواستاتین موجب کاهش محتوای کلسترول و تری‌گلیسیرید در پلاسمای مرغ‌های تخمگذار در مقایسه با گروه شاهد می‌شود (Kumar *et al*., 2012). با این‌حال، در مطالعه دیگری نشان داده است که استفاده از سطوح پراواستاتین تأثیری بر غلظت پلاسمایی کلسترول ندارد (Kim *et al*., 2004).

اثرات ضد چربی آتورواستاتین در خون، از طریق مهار سنتز کلسترول و هم‌چنین کاهش غلظت لیپوپروتئین‌های با چگالی کم نشان داده شده است (Elkin *et al*., 1999). اگرچه مکانیسم دقیق کاهش تری‌گلیسیرید توسط آتورواستاتین نامشخص است، گزارش شده است که آتورواستاتین موجب کاهش جذب کلسترول در پرندگان می‌شود (Golrokh *et al*., 2016). پروبیوتیک‌ها می‌توانند از طریق اتصال به کلسترول به‌وسیله غشای سلولی خود و جلوگیری از تشکیل میسل‌های کلسترول در روده موجب کاهش کلسترول شوند. هم‌چنین، کاهش فعالیت HMG-CoA و دکنژوگه‌شدن نمک‌های صفراوی و کاهش بازجذب آن‌ها و هم‌چنین کاهش بازجذب کلسترول به‌دلیل کاهش حلالیت اسیدهای صفراوی از دلایل کاهش کلسترول در زمان تجویز پروبیوتیک‌ها عنوان شده است (Panda *et al*., 2006).

جدول ۳. تأثیر باکتریوفاژ، آنتی‌بیوتیک، آتورواستاتین، صفرا و انتروکوکوس روی برخی از فراسنجه‌های بیوشیمیایی مرغ‌های تخمگذار سویه های‌لاین W36 از سن ۵۰ تا ۵۷ هفتگی

تیمار	آلبومین (گرم/دسی‌لیتر)	کلسترول (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	گلوکز (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	پروتئین کل (گرم/دسی‌لیتر)	گلوبولین (گرم/دسی‌لیتر)	اوریک‌اسید (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	کلسیم (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	فسفر (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	کلسیم/ فسفر	هماتوکریت (درصد)
شاهد	۲/۷۵	۱۲۷/۰۱^{ab}	۲۰۸/۲۳	۹۲۷/۱۳^{a}	۶/۲۱^{ab}	۳/۴۵^{a}	۶/۰۶	۱۶/۱۸	۶/۹۱	۲/۳۵	۳۱/۳۳^{a}
آنتی‌بیوتیک[1]	۲/۹۱	۱۴۵/۳۱^{a}	۲۰۸/۲۳	۱۰۲۹/۷۴^{a}	۶/۷۳^{a}	۳/۸۲^{a}	۷/۶۵	۱۷/۳۹	۷/۳۱	۲/۴۰	۲۴/۰۰^{c}
آتورواستاتین	۳/۰۱	۸۰/۱۶^{c}	۲۰۳/۵۰	۵۶۹/۳۷^{b}	۵/۵۰^{b}	۲/۴۹^{b}	۶/۳۴	۱۴/۷۴	۶/۰۷	۲/۴۳	۳۰/۳۳^{b}
صفرای گاوی	۲/۸۹	۱۱۴/۹۰^{abc}	۲۱۱/۴۵	۱۰۳۳/۹۳^{a}	۷/۶۶^{a}	۳/۸۱^{a}	۷/۶۶	۱۶/۲۶	۶/۳۹	۲/۵۹	۲۸/۳۳^{c}
انتروکوکوس	۲/۸۸	۹۳/۴۳^{bc}	۲۱۰/۲۳	۶۵۸/۴۲^{b}	۶/۶۴^{a}	۳/۷۶^{a}	۷/۱۷	۱۴/۵۵	۶/۷۴	۲/۱۸	۳۰/۳۳^{b}
باکتریوفاژ	۲/۹۱	۱۳۲/۷۶^{ab}	۲۱۵/۶۳	۹۳۰/۵۰^{a}	۶/۱۷^{ab}	۳/۲۵^{ab}	۷/۴۰	۱۶/۲۴	۶/۹۶	۲/۳۸	۳۲/۰۰^{a}
خطای استاندارد میانگین‌ها	۰/۰۹	۱۰/۱۶	۵/۴۰	۶۳/۵۴	۰/۲۴	۰/۲۸	۰/۶۰	۰/۷۰	۰/۴۳	۰/۱۲	۰/۲۷
سطح احتمال معنی‌داری	۰/۵۴	۰/۰۰۰۶	۰/۷۳	<۰/۰۰۱	۰/۰۰۷	۰/۰۱	۰/۲۸	۰/۰۷	۰/۴۱	۰/۳۷	<۰/۰۰۱

۱. آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

پروتئین‌ها نقش مهمی در نگهداری تعادل اسید- باز در خون دارند. ارزیابی سطح پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین می‌تواند برای بررسی عملکرد کبد مفید باشد. کاهش پروتئین کل و عدم تغییر میزان آلبومین سرمی در نتیجه تغذیه جوجه‌های گوشتی با آتورواستاتین به مقدار ۲۰ گرم در کیلوگرم جیره گزارش شده است که مشابه با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد (Tavakolinasab *et al*., 2020).

در مطالعه دیگری مشخص شد که استفاده از داروی آتورواستاتین تأثیر معنی‌داری بر غلظت پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین نداشت (El-Boushy *et al*., 2013).

افزایش میزان پروتئین کل و گلوبولین ممکن است به کاهش فشار متابولیک کبد مربوط باشد. افزایش غلظت پروتئین کل و گلوبولین در زمان هایپرلیپیدمی به‌عنوان نتیجه‌ای از آسیب کبدی گزارش شده است (Zuberu *et al*., 2017). افزایش اندک و غیر معنی‌دار اوریک‌اسید در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با شاهد ممکن است با متابولیسم نیتروژن در کبد و هم‌چنین دفع در کلیه ارتباط داشته باشد. مشخص شده است که چالش بلدرچین‌های ژاپنی با سویه‌های انتروکوکوس موجب افزایش میزان اوریک‌اسید سرم شد. این محققان تحت تأثیر قرارگرفتن کنش طبیعی کبد و کلیه در اثر حضور باکتری را دلیلی بر افزایش اوریک‌اسید عنوان کرده‌اند (نوری رایگانی و همکاران، ۱۳۹۴).

هماتوکریت شاخصی است که نسبت گلبول‌های قرمز موجود در خون را مشخص می‌کند. کاهش این شاخص نشان‌دهنده وجود ناکافی گلبول‌های قرمز در خون است که می‌تواند نشانه‌ای از وجود ناهنجاری‌های مختلف مانند اختلالات گوارشی و آسیب کلیه باشد. نشان داده شده است که باکتریوفاژ در مقایسه با آنتی‌بیوتیک موجب بهبود خصوصیات خونی از جمله هماتوکریت در مواجهه با عفونت سالمونلایی شده است (Grabowski *et al*., 2022). تأثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی فضولات در جدول (۴) ارائه شده است. تیمارهای شاهد، آنتی‌بیوتیک و باکتریوفاژ در مقایسه با تیمارهای آتورواستاتین، پودر نمک‌های صفراوی و باکتری انتروکوکوس، دارای جمعیت کم‌تری برای کل باکتری‌های هوازی بودند ($P<۰/۰۵$). هم‌چنین جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک در مرغ‌های دریافت‌کننده باکتری انتروکوکوس بیش‌تر از سایر پرندگان بود ($P<۰/۰۵$). کم‌ترین تعداد باکتری‌های انتروکوکوس در گروه دریافت‌کننده باکتریوفاژ و بیش‌ترین تعداد آن در گروه دریافت‌کننده باکتری انتروکوکوس و مرغ‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی آتورواستاتین مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). هم‌چنین تعداد باکتری اشریشیاکلی در تیمار آتورواستاتین در مقایسه با شاهد و تیمارهای دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک و باکتریوفاژ بیش‌تر بود ($P<۰/۰۵$). حفظ تعادل جمعیت میکروبی دستگاه گوارش موجب افزایش عملکرد پرندگان از طریق استقرار جمعیت میکروبی مفید و جلوگیری از رشد باکتری‌های بیماری‌زا، تحریک و توسعه سیستم ایمنی و هم‌چنین افزایش تولید محصولات متابولیک موردنیاز پرنده مانند اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و ویتامین‌ها می‌شود (Sarrami *et al*., 2022).

حذف و یا کاهش اثرات منفی باکتری‌های بیماری‌زا توسط آنتی‌بیوتیک‌ها و یا جایگزین‌های مناسب آن‌ها هم‌چون باکتریوفاژها، باعث افزایش دسترسی مواد مغذی برای پرنده می‌شود. باکتری‌های مضر موجود در فلور میکروبی با میزبان بر سر مواد مغذی رقابت کرده و از طریق تأثیر بر قابلیت هضم مواد مغذی مانند چربی و ویتامین‌های محلول در چربی موجب افت عملکرد پرنده می‌شوند (Engberg *et al*., 2000). گزارش شده است که افزودن باکتریوفاژ به جیره جوجه‌های گوشتی باعث کاهش جمعیت باکتری‌های کلی‌فرم به‌عنوان باکتری‌های بیماری‌زا و افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها شد (Sarrami *et al*., 2022). مشابه با مطالعه حاضر، کاهش جمعیت باکتری‌های انتروکوکوس در محتوای ایلئومی در زمان چالش باکتریوفاژی بلدرچین‌های ژاپنی نشان داده شده است (نوری رایگانی و همکاران، ۱۳۹۴). باکتری‌های انتروکوکوس به‌عنوان بخشی از باکتری‌های تولیدکننده اسید

لاکتیک شناخته می‌شوند. گزارش شده است که گونه‌های مختلف انتروکوکوس موجب افزایش کلونیزاسیون باکتری‌های اسید لاکتیک در ایلئوم پرندگان شده است (Royan, 2018). کاهش جمعیت باکتری‌های انتروکوکوس در زمان چالش با باکتریوفاژ نشان می‌دهد که باکتریوفاژ به‌خوبی توانسته موجب کاهش این گروه از باکتری‌ها در دستگاه گوارش پرندگان تحت آزمایش شود.

جدول ٤. تأثیر باکتریوفاژ، آنتی‌بیوتیک، آتورواستاتین، صفرا و انتروکوکوس بر جمعیت میکروب‌های انتخابی فضولات در مرغ‌های تخمگذار سویه های‌لاین W36 از سن ۵۰ تا ۵۷ هفتگی (لگاریتم واحد تشکیل کلنی در هر گرم)

تیمار	کل باکتری‌های هوازی	باکتری‌های اسید لاکتیک	باکتری‌های *انتروکوکوس*	*اشریشیا کلی*
شاهد	۷/۷۲^{c}	۷/۴۸^{c}	۷/۰۸^{b}	۶/۹۹^{c}
آنتی‌بیوتیک[1]	۷/۴۳^{d}	۷/۵۹^{b}	۷/۰۸^{b}	۶/۸۳^{c}
آتورواستاتین	۸/۴۹^{a}	۷/۵۹^{b}	۷/۵۱^{a}	۸/۳۴^{a}
صفرای گاوی	۸/۳۴^{b}	۷/۵۵^{bc}	۷/۲۶^{b}	۷/۹۵^{ab}
انتروکوکوس	۸/۳۶^{b}	۷/۷۴^{a}	۷/۶۹^{a}	۸/۱۹^{ab}
باکتریوفاژ	۷/۴۳^{d}	۷/۵۷^{bc}	۶/۸۰^{c}	۷/۶۱^{b}
خطای استاندارد میانگین‌ها	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۵	۰/۱۳
سطح احتمال معنی‌داری	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱

۱. آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین

a: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

با توجه به نتایج جدول (۵)، قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند (P<۰/۰۵). بر این اساس، قابلیت هضم ظاهری ماده خشک در پرندگانی که آنتی‌بیوتیک و باکتریوفاژ دریافت کردند از سایر پرندگان بالاتر بود (P<۰/۰۵). قابلیت هضم چربی در تیمارهای باکتریوفاژ و آنتی‌بیوتیک بیش‌تر از تیمارهای باکتری انتروکوکوس و آتورواستاتین بود (P<۰/۰۵). در پرندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی آتورواستاتین و هم‌چنین در پرندگان دریافت‌کننده باکتری انتروکوکوس قابلیت هضم پروتئین در مقایسه با مرغ‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی آنتی‌بیوتیک کاهش یافت (P<۰/۰۵).

جدول ۵. تأثیر باکتریوفاژ، آنتی‌بیوتیک، آتورواستاتین، صفرا و انتروکوکوس بر درصد قابلیت هضم ظاهری مدفوعی ماده خشک، چربی خام و پروتئین خام مرغ‌های تخمگذار سویه های‌لاین W36 از سن ۵۰ تا ۵۷ هفتگی

تیمار	ماده خشک (درصد)	چربی خام (درصد)	پروتئین خام (درصد)
شاهد	۶۶/۸۴^{c}	۷۵/۲۱^{bc}	۷۱/۶۹^{ab}
آنتی‌بیوتیک[1]	۷۹/۴۴^{a}	۸۳/۳۲^{a}	۷۲/۳۶^{a}
آتورواستاتین	۷۱/۱۰^{bc}	۷۰/۶۰^{cd}	۶۹/۶۶^{bc}
صفرای گاوی	۶۶/۸۴^{c}	۷۰/۱۶^{bcd}	۷۰/۱۰^{abc}
انتروکوکوس	۷۴/۱۲^{b}	۶۸/۹۷^{d}	۶۹/۲۸^{c}
باکتریوفاژ	۷۹/۶۶^{a}	۷۹/۵۴^{ab}	۷۰/۹۶^{abc}
خطای استاندارد میانگین‌ها	۱/۱۵	۱/۸۲	۰/۶۹
سطح احتمال معنی‌داری	<۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۲۶

۱. آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین

a: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ستون معنی دار است (P<۰/۰۵).

قابلیت هضم ماده خشک در برگیرنده هضم اجزای چربی، ترکیبات نیتروژنه، کربوهیدرات‌ها و مواد معدنی می‌باشد. با توجه به این‌که قابلیت هضم چربی و پروتئین خوراک تحت تأثیر تیمارها قرار گرفته است و فرض پژوهش حاضر بر تأثیرپذیری قابلیت هضم چربی از تیمارهای مورد آزمایش استوار است، لذا تأثیر تیمارهای آزمایشی بر قابلیت هضم چربی

در پژوهش حاضر دارای اهمیت بالایی است. قابلیت هضم ماده خشک درتیمار آنتی‌بیوتیک و باکتریوفاژ مشابه است، اما صفرای گاوی در این مورد مشابه باکتریوفاژ عمل نکرده است. تأثیر ضد باکتری صفرا می‌تواند از طریق تغییر جمعیت باکتریایی نرمال موجب کاهش در قابلیت هضم ماده خشک شده باشد. اگرچه استفاده از پروبیوتیک‌ها می‌تواند تأثیر مثبتی بر جمعیت میکروبی دستگاه گوارش داشته باشد. با این‌حال، ممکن است پروبیوتیک‌ها باعث افزایش رقابت بر سر مواد مغذی شوند. بیان شده است که فلور میکروبی تغییر یافته توسط پروبیوتیک‌ها باعث کاهش قابلیت هضم چربی‌ها می‌شود (Moser & Savage, 2001). اسیدهای صفراوی و نمک‌های آن برای هضم و جذب مطلوب چربی‌ها موردنیاز است. نمک‌های صفراوی کنژوگه نقش مهمی در امولسیفه‌کردن، هضم و جذب چربی‌ها در روده کوچک دارند. مشخص شده است که نمک‌های صفراوی در زمان بالابودن جمعیت انتروکوکوس فکالیس تحت کاتابولیسم قرار گرفته و دکنژوگه می‌شوند (Moser & Savage, 2001).

دکنژوگه‌شدن اسیدهای صفراوی باعث کاهش غلظت و حلالیت آن‌ها شده و در نتیجه موجب کاهش هضم و جذب چربی‌ها می‌شوند (Pereira *et al*., 2003). نشان داده شده است که افزایش اسیدهای صفراوی دکنژوگه به‌دلیل فعالیت آنزیم هیدرولاز نمک‌های صفراوی تحت تأثیر افزایش جمعیت باکتری‌های انتروکوکوس، کلستریدیا و اشرشیا کلی موجب کاهش قابلیت هضم چربی شد (Knarreborg *et al*., 2002). در مطالعه حاضر پایین‌بودن قابلیت هضم چربی در تیمارهای باکتری انتروکوکوس و پودر صفرا ممکن است به افزایش جمعیت باکتری‌های انتروکوکوس در هر دو گروه مرتبط باشد. با توجه به مطالعات گذشته این احتمال وجود دارد که افزایش جمعیت باکتری‌های انتروکوکوس در دستگاه گوارش از طریق افزایش فعالیت آنزیم هیدرولاز نمک‌های صفراوی موجب کاهش قابلیت هضم چربی‌ها شود (Knarreborg *et al*., 2002; Pereira *et al*., 2003). آنتی‌بیوتیک‌ها از طریق حفظ مواد مغذی از تخریب باکتری‌ها، افزایش جذب مواد مغذی از طریق تأثیر بر مورفولوژی دستگاه گوارش، کاهش تولید مواد سمی توسط باکتری‌های مضر و کاهش آسیب به دستگاه گوارش موجب بهبود قابلیت هضم مواد مغذی می‌شوند (Feighner & Dashkevicz, 1987). نشان داده شده است که آنتی‌بیوتیک‌ها از طریق کاهش فعالیت باکتری‌های کاهنده رشد مانند لاکتوباسیلوس سالیواروس موجب کاهش فعالیت آنزیم هیدرولاز نمک‌های صفراوی و در نتیجه بهبود قابلیت هضم چربی می‌شوند (Knarreborg *et al*., 2002).

براساس نتایج حاضر، مشخص شد که افزایش جمعیت باکتری‌های انتروکوکوس در ایلئوم تحت تأثیر تجویز دهانی این باکتری به مرغ‌های تخمگذار موجب کاهش قابلیت هضم مواد مغذی از جمله چربی شد. با این‌حال، استفاده از باکتریوفاژ علیه انتروکوکوس موجب کاهش قابل توجه جمعیت باکتری‌های انتروکوکوس شد و پس از تیمار آنتی‌بیوتیک بهترین تیمار برای بالابردن قابلیت هضم چربی می‌باشد، اما افزایش قابلیت هضم چربی تیمار باکتریوفاژ نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نبود. بنابراین تأثیر باکتریوفاژ منتخب، در کاهش جمعیت باکتری میزبان در دستگاه گوارش مورد انتظار است. در سایر پژوهش‌های انجام‌شده در مورد باکتریوفاژهای کافتی نیز کاهش جمعیت باکتری میزبان به فراوانی گزارش شده است (احمدی و همکاران، ۱۳۹۴؛ نوری رایگانی و همکاران، ۱۳۹۴).

۴. نتیجه‌گیری

در این پژوهش استفاده خوراکی از باکتریوفاژ پاد–انتروکوکوس توانست از طریق مهار موفق جمعیت این باکتری‌ها قابلیت هضم چربی جیره را تا حدودی بهبود دهد. براساس نتایج این مطالعه می‌توان باکتریوفاژ پاد–انتروکوکوس را به‌عنوان بهبوددهنده هضم ظاهری ماده خشک در کنار سایر عوامل با اثر مشابه (آنتی‌بیوتیک، گیاهان دارویی، برخی مواد معدنی)

قلمداد نمود و برای استفاده بهینه از منابع چربی جیره نیز از آن بهره جست. برای استفاده از باکتریوفاژ پاد-انتروکوکوس به‌عنوان یک افزودنی خوراکی نیاز به بررسی‌های جامع‌تر می‌باشد.

۵. تشکر و قدردانی

از همکاری آقای مهندس علیرضا ایوک‌پور و آقای دکتر حمید راعی در این پژوهش، هم‌چنین از معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس در تأمین امکانات پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۶. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۷. منابع

احمدی، مصعب؛ کریمی ترشیزی، محمد امیر؛ رحیمی، شعبان (۱۳۹۴)، جداسازی باکتریوفاژ لیتیک از مدفوع طیور و ارزیابی کارایی آن در کاهش سالمونلا انتریتیدیس در شرایط *In vitro* و *In vivo*، مجله میکروب شناسی پزشکی ایران. ۹(۳)، ۳۷-۴۷.

نوری رایگانی، جلیل؛ کریمی ترشیزی، محمد امیر؛ رحیمی، شعبان؛ مددگر، امید (۱۳۹۴). کارایی باکتریوفاژ در کنترل بیولوژیکی کلونیزاسیون انتروکوکی بلدرچین. *تولیدات دامی*، ۱۷(۲)، ۱۹۹-۲۰۹.

References

Ahmadi, M., Karimi Torshizi M. A., & Rahimi, S. (2015). Isolation of lytic bacteriophage from poultry's feces and evaluation of its efficiency to reduce *Salmonella enteritidis* in vitro and in vivo. *The Iranian Journal of Microbiology*, 9(3), 37-47. (In Persian).

Apajalahti, J., & Vienola K. (2016). Interaction between chicken intestinal microbiota and protein digestion. *Animal Feed Science and Technology*, 221, 323-330.

Association of Official Analytical Chemists. (1990). In: Helrich, K. (Ed.), *Official Methods of Analysis of the AOAC*, 15th ed. AOAC, Arlington, VA, USA.

El-Boushy, E., Abdalla, O., Risha, E., & EL-Nagar, A. (2013). Studies on dietary hypocholesterolemic agent in broilers. *Suez Canal Veterinary Medical Journal*, 18(1),13-26.

Elkin, R. G., & Rogler, J. C. (1990). Reduction of the cholesterol content of eggs by the oral administration of lovastatin to laying hens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(8), 1635-1641.

Elkin, R. G., Furumoto, E. J., & Thomas, C. R. (2003). Assessment of egg nutrient compositional changes and residue in eggs, tissues, and excreta following oral administration of atorvastatin to laying hens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3473-3481.

Elkin, R. G., Yan, Z., Zhong, Y., Donkin, S. S., Buhman, K. K., Story, J. A., Turek, J. J., Porter, Jr., R. E., Anderson, M., Homan, R., & Newton, R. S. (1999). Select 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors vary in their ability to reduce egg yolk cholesterol levels in laying hens through alteration of hepatic cholesterol biosynthesis and plasma VLDL composition. *The Journal of Nutrition*, 129(5), 1010-1019.

Engberg, R. M., Hedemann, M. S., Leser, T. D., & Jensen, B. B. (2000) Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. *Poultry Science*, 79(9), 1311-1319.

Feighner, S. D., & Dashkevicz, M. P. (1987). Subtherapeutic levels of antibiotics in poultry feeds and their effects on weight gain, feed efficiency, and bacterial cholyltaurine hydrolase activity. *Applied Environmental Microbiology,* 53, 331-336.

Geng, W., Long, S. L., Chang, Y. J., Saxton, A. M., Joyce, S. A., & Lin, J. (2020). Evaluation of bile salt hydrolase inhibitor efficacy for modulating host bile profile and physiology using a chicken model system. *Scientific Reports*, 10(1), 1-20.

Golrokh, A. J., Bouyeh, M., Seidavi, A., van den Hoven, R., Laudadio, V., & Tufarelli, V. (2016). Effect of different dietary levels of atorvastatin and L-carnitine on performance, carcass characteristics and plasma constitutes of broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*, 53(3), 201-207. (In Persian).

Grabowski, Ł., Węgrzyn, G., Węgrzyn, A., & Podlacha, M. (2022). Phage therapy vs. the use of antibiotics in the treatment of salmonella-infected chickens: comparison of effects on hematological parameters and selected biochemical markers. *Antibiotics*, 11(12), 1787.

Kim, J. H., Hong, S. T., Lee, H. S., & Kimt, H. J. (2004). Oral administration of pravastatin reduces egg cholesterol but not plasma cholesterol in laying hens. *Poultry Science*, 83(9),1539-1543.

Knarreborg, A., Engberg, RM., Jensen, SK., & Jensen, BB. (2002). Quantitative determination of bile salt hydrolase activity in bacteria isolated from the small intestine of chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(12), 6425-8.

Kumar, S., Tyagi, P. K., Prasad, Y., Shrivastav, A. K., Shrivastava, H. P., Mandal, A. B, Tyagi, P. K., Deo, C., & Singh, R. (2012). Effect of dietary addition of pharmacological drugs on the production performance and plasma lipid profile and egg cholesterol content of laying hens. *Indian Journal of Poultry Science*, 47(2), 158-163.

Moser, S. A., & Savage, D. C. (2001). Bile salt hydrolase activity and resistance to toxicity of conjugated bile salts are unrelated properties in lactobacilli. *Applied Environmental Microbiology*, 67, 3476-3480.

Noori Raygani, J., Karimi Torshizi, M. A., Rahimi, S., & Madadgar, O. (2015). Efficiency of bacteriophage in biocontrol of enterococcal colonization of quail. *Animal Production*, 17(2),199-209. (In Persian).

Panda, A. K., Rao, S. V. R., Raju, M. V., & Sharma, S. R. (2006). Dietary supplementation of *Lactobacillus sporogenes* on performance and serum biochemico-lipid profile of broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*, 43(3), 235-240.

Pereira, D. I., McCartney, A. L., & Gibson, G. R. (2003). An in vitro study of the probiotic potential of a bile-salt-hydrolyzing *Lactobacillus fermentum* strain, and determination of its cholesterol-lowering properties. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(8), 4743-52.

Royan, M. (2018). The use of enterococci as probiotics in poultry. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 8(4), 559-565.

Sarrami, Z., Sedghi, M., Mohammadi, I., Kim, W. K., & Mahdavi, A. H. (2022). Effects of bacteriophage supplement on the growth performance, microbial population, and PGC-1α and TLR4 gene expressions of broiler chickens. *Scientific Reports*, 12(1), 1-13.

Tavakolinasab, F., Khosravinia, H., & Masouri, B. (2020). Effects of milk thistle, artichoke and olive extracts in comparison with atorvastatin and gemfibrozil on liver function in broiler chicken. *Poultry Science Journal*, 8(1), 109-117.

Vosoogh Sharifi, O., Karimi Torshizi, M. A., Rahimi, S., Dalimi Asl, A., & Raei, H. (2022) Strain differences in effects of dietary supplementation with *Aspergillus niger* cultures in protein-reduced diets on performance, plasma biochemistry and meat lipid oxidation of broilers. *Animal Production Science*. 63(2), 142-151.

Zhang, Y., Ma, W., Zhang, Z., Liu, F., Wang, J., Yin, Y., & Wang, Z. (2019). Effects of *Enterococcus faecalis* on egg production, egg quality and caecal microbiota of hens during the late laying period. *Archives of Animal Nutrition*, 73(3), 208-221.

Zuberu, J., Saleh, M. I., Alhassan, A. W., Adamu, B. Y., Aliyu, M., & Iliya, B. T. (2017). Hepatoprotective effect of camel milk on poloxamer 407 induced hyperlipidaemic Wistar rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 5(7), 852-858.