مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۷، دوره ۶۳، شماره ۳، ۱۳۹-۱۳۳

تأثیر آنتی بادی استخراج شده از تخم مرغ و پروبیوتیک در پیشگیری از عفونت سالمونلا انتریتیدیس در جوجه‌های گوشتی

زهرا مقدم شیراز[۱] شعبان رحیمی[۱]* تقی زهرایی صالحی[۲]

۲) گروه پرورش و تولید طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران - ایران.
۳) گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۷ فروردین ماه ۱۳۸۵، پذیرش نهایی: ۳۰ دی ماه ۱۳۸۶)

چکیده

به منظور ارزیابی تأثیر مصرف پروبیوتیک و ایمونوگلوبولین (IgY) اختصاصی سالمونلا انتریتیدیس در پیشگیری از عفونت سالمونلوز در جوجه های گوشتی ابتدا تعداد چهار قطعه مرغ لگهورن سفید (۳۳ هفتگی) با پادگن کامل سالمونلا انتریتیدیس (SE) به روش عضلانی و زیر جلدی ایمن شدند. غلظت پروتئینی پادگن پس از سونیکه کردن $500 \mu g\ ml^{-1}$ بود. در تزریق نخست، از ۲۵۰ میکروگرم پادگن همراه با ۲۵۰ میکروگرم ماده آدجوانت کامل فروند (نسبت ۱:۱) استفاده شد. دو زیاد آور، دو مرتبه و در فواصل ۱۴ روز با ماده آدجوانت ناقص فروند تزریق شد. خونگیری و جمع آوری تخم مرغ ها ۲۰ روز پس از نخستین تزریق انجام گرفت. در طول دوره ایمونیزاسیون، فعالیت پادتن ضد سالمونلا انتریتیدیس (IgY و IgG) در زرده و سرم با تست الایزا تعیین شد. سپس تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه نر یک روزه گوشتی (سویه راس ۳۰۸) در ۸ گروه، هر گروه شامل ۳ تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ قطعه پرنده به مدت ۵۶ روز پرورش داده شدند. هشت گروه آزمایشی به صورت S ,P ,A ,SP ,SA ,PA ,SPA ,C مشخص شدند. در چهار گروه به عنوان گروه های چالشی (S)، در سن ۷ روزگی، ۴ پرنده به طور تصادفی انتخاب و با ۰/۵ میلی لیتر از محلول سوسپانسیون SE حاوی 1×10^{6} CFU باکتری به روش دهانی چالش داده شدند. پرندگان در گروه های (A)، از یک روزگی تا پایان دوره آزمایش، روزانه مقدار ۱۵ میلی لیتر زرده حاوی پادتن، را دریافت داشتند. گروه های حاوی پروبیوتیک (P) تا سن ۲۱ روزگی مقدار ۰/۱ درصد جیره و از ۲۱ تا ۵۶ روزگی مقدار ۰/۵ درصد جیره، پروبیوتیک دریافت نمودند. گروه شاهد (C) بدون چالش باکتری و فاقد تیمارهای پادتن و پروبیوتیک بود. به منظور بررسی عملکرد پرندگان وزن بدن و مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی به طور هفتگی محاسبه شد. طرح به شکل کاملاً تصادفی اجرا شد. در این طرح از برنامه آماری SAS برای داده های پارامتری و از مربع کای برای داده های ناپارامتری استفاده شد. بالاترین تیتر پادتن پلی کلونال در زرده و سرم به ترتیب ۲۰ و ۵۵ روز پس از نخستین تزریق بدست آمد. میزان دفع باکتری در مدفوع پرندگان، در گروه های حاوی A، P و A-P، به طور معنی داری کاهش یافت ($p<0/01$). در گروه های حاوی A و A-P، تعداد شمارش باکتری در سکوم به طور معنی داری پایین بود ($p<0/01$). همچنین در گروه های چالشی حاوی A، P و A-P، جداسازی باکتری از اندام های کبد، طحال و ایلئوم، کمتر بود. در هیچ دوره ای از آزمایش در بین گروه های مختلف از نظر میانگین وزن بدن، میانگین مصرف خوراک روزانه، ضریب تبدیل غذایی و میزان مرگ و میر اختلاف معنی داری وجود نداشت ($p>0/05$). در سن ۴۹ روزگی و در دوره پایانی در گروه های حاوی A، P و A-P میانگین افزایش وزن بدن به طور معنی داری بالاتر بود ($p<0/05$). میانگین ضریب تبدیل غذایی در گروه های حاوی A، P و A-P در سن ۵۶ روزگی بهبود یافت.

واژه‌های کلیدی: ایمونوگلوبولین Y، ایمونوگلوبولین G، سالمونلا انتریتیدیس، الایزا، پروبیوتیک.

مقدمه

اپیدمیولوژی پیچیده عفونت سالمونلایی به علت منابع عفونت متعدد، گستردگی میزبان‌ها و سروتیپ‌ها، وجود حاملین طبیعی، پخش باکتری از طریق مدفوع و آلودگی گسترده آن می باشد. ازبیش از ۲۵۵۰ سروتیپ سالمونلای شناخته شده (۲۰) حدود ده درصد از طیور جدا شده اند که در این بین سالمونلا تیفی موریوم و سالمونلا انتریتیدیس متداولترین آنها می‌باشند و بسیاری از عفونت های ناشی از این سروتیپ‌ها منشاء غذایی دارند (۲۲). سالمونلا انتریتیدیس (SE) Salmonella enteritidis عامل انتروکولیت (گاستروآنتریت، مسمومیت غذایی) به عنوان شایع ترین عفونت سالمونلایی در انسان می باشد. مصرف آنتی‌بادی‌های اختصاصی علیه پاتوژن های میزبان هم در انسان و هم در حیوانات، به عنوان روش جالبی به منظور ایجاد ایمنی پاسیو و افزایش مقاومت در مقابل عوامل بیماری زا محسوب می‌شود (۶،۱۳) ایمونوگلوبولین Y (IgY) مهم ترین آنتی بادی موجود در زرده تخم مرغ طیور می باشد. IgY به عنوان جانشین برای آنتی بادی‌های پستانداران که به طور معمول در تحقیقات مورد استفاده قرار می‌گیرند، مطرح می‌شود. روش ساده خالص سازی و نشاندار کردن این ملکول از زرده تخم مرغ، عدم نیاز به خونگیری از حیوان، کاهش استرس، اجرای بهتر آزمایش‌های ایمونولوژیکی، پتانسیل بالای IgY در پیشگیری و درمان بیماری‌ها از جمله مزایای استفاده از آن در مقایسه با آنتی‌بادی‌های پستانداران می باشند (۲۱، ۱۵). در تجویز خوراکی IgY، ممکن است آنتی‌بادی تحت pH اسیدی معده دناتوره و با پروتئازهایی مثل پپسین و تریپسین، کیموتریپسین، کربوکسی پپتیداز و الاستاز تجزیه شود اما قطعات حاصل هنوز قابلیت اتصال و خنثی‌سازی آنتی‌ژن را داشته و بخش‌هایی از

*) نویسنده مسؤول: تلفن: ۴-۴۴۱۹۴۹۱۱-۰۲۱ نمابر: ۴۴۱۹۶۵۲۴-۰۲۱ Email:rahimi_s@modares.ac.ir

آنتی‌بادی همچنان دست نخورده باقی می‌مانند(۶). مولکول IgY محیط انکوباسیون با pH=۲ و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد را تحمل می کند، همچنین فعالیت ایمونولوژیکی IgY با عملیات پاستوریزاسیون در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت سه و نیم دقیقه تحت تأثیر قرار نمی گیرد، همچنین پس از جداسازی IgY از زرده می توان آن را در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ سال بدون هیچ کاهش معنی داری در تیتر آنتی بادی، ذخیره و نگهداری نمود (۱۳). اما بررسی استفاده از مواد حفاظتی مختلف از جمله سوکروز و کپسولدار کردن ژلاتینی IgY بر کارایی آن در مصارف خوراکی پیشنهاد می‌شود. از سوی دیگر نقش پروبیوتیک ها در زمینه سلامتی روده جوجه‌های گوشتی، به ایجاد تعادل میکروبیولوژیکی آن مربوط می شود که با تکثیر خود و با رقابت با پاتوژن‌ها در چسبیدن به مکان های اتصالی موجود بر روی سلول های اپی تلیال روده ای ایفای نقش می نماید (۱۹، ۱۲).

مواد و روش کار

واکسیناسیون پرندگان تخم‌گذار: چهار قطعه مرغ لگهورن سفید(۳۳ هفتگی) به عنوان گروه اول انتخاب شدند. به هر مرغ ۵۰۰ میکروگرم از مخلوط آنتی‌ژن و ماده آدجوانت کامل فروند(به نسبت ۱:۱) در چند ناحیه زیرجلدی از عضله سینه(۲۵۰ میکروگرم) و نیز داخل عضله ران مرغ(۲۵۰ میکروگرم) تزریق شد. تزریق یادآور در دو نوبت در فواصل ۲ هفته ای پس از نخستین ایمونیزاسیون انجام گرفت. ایمنوژن به همراه آدجوانت ناقص فروند برای تزریق های یادآور استفاده شد. در کل دوره آزمایشی به طور همزمان به چهار قطعه مرغ لگهورن سفید(۳۳ هفتگی) به عنوان گروه دوم(شاهد)، محلول سرم فیزیولوژی استریل تزریق شد.

زمان و نحوه خونگیری: بیست روز پس از نخستین تزریق، از ناحیه ورید بال پرندگان در هر دو گروه اول و دوم خونگیری به عمل آمد(۲ml) و نمونه های سرمی جهت انجام تست ELISA تهیه شدند. بیست و پنج روز پس از نخستین تزریق، تخم‌مرغ ها جمع‌آوری شدند و به منظور تعیین تیتر IgY، عمل استخراج و تخلیص IgY از زرده‌ها انجام شد.

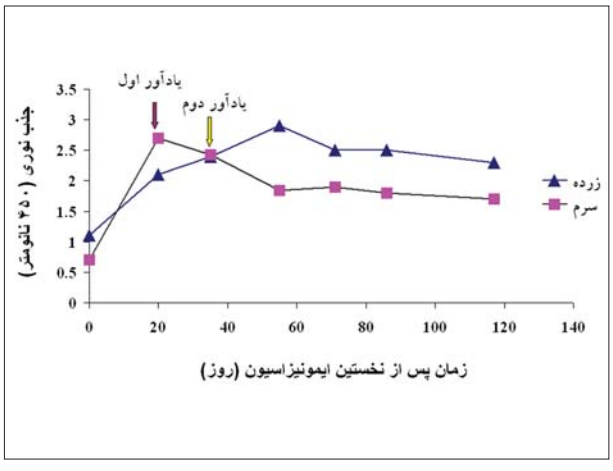
تهیه پادگن O سالمونلا انتریتیدیس: سروتیپ SE که به صورت لیوفیلیزه از بانک میکروبی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج تهیه شده بود مورد استفاده قرار گرفت. از این باکتری در محیط مایع برین هارت کشت داده شد و جهت اطمینان از خلوص آن رنگ‌آمیزی گرام انجام گرفت. از محیط مایع فوق بر روی مک‌کانکی کشت داده شد و سپس پرگنه‌های مشکوک به سالمونلا بر روی TSI(محیط سه قندی آهن دار) و اوره کشت داده شدند(۲۲). پس از تأیید باکتری در این محیط کشت ها، یک لوپ کامل از کشت ۲۴ ساعته و خالص باکتری بر روی TSI، تحت شرایط استریل بر روی آگار برین هارت کشت خطی داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، با سرم فیزیولوژی استریل شیرابه‌ای از کشت‌ها تهیه شد. شیرابه حاصل درون بشر و در داخل ظرف حاوی قطعات یخ در دستگاه Sonicator قرار گرفت. غلظت پروتئینی محلول آنتی‌ژن با روش برادفورد $500 \mu g\ ml^{-1}$ تعیین شد.

استخراج آنتی‌بادی از زرده تخم‌مرغ: برای مصارف خوراکی آنتی بادی در جوجه های گوشتی IgY تخلیص نشد، بلکه مطابق روش Fulton و همکاران در سال ۲۰۰۲ زرده تخم‌مرغ به طور کامل از سفیده جدا شد و غشاء محافظ زرده نیز خارج شد. هم حجم زرده به دست آمده محلول PBS [HPo_4 (0.02 M) Na_2، (0.15 M)NaCl، pH=7.2] اضافه کرده و مخلوط حاصل به مدت ۳ دقیقه با سرعت بالا در دستگاه مخلوط کن همگن شد و سپس در ۱۸۰۰×g در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۵ دقیقه سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ سه لایه تشکیل شد. لایه چربی بسیار نازک سطحی خارج شد و محلول شناوری که بین لایه سطحی و رسوب تشکیل شده و حاوی IgY بود، جمع‌آوری و رسوب حاصل دور ریخته شد(۱۰).

تخلیص ایمونوگلوبولین Y: به منظور اطمینان از حفظ تیتر بالای IgY در داخل زرده تخم‌مرغ ها، آزمایش الایزا انجام گرفت و جهت تعیین تیتر آنتی بادی، تخلیص IgY از زرده تخم‌مرغ براساس روش پولسون و با استفاده از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ انجام شد(۱۸).

آزمایش الایزا: به طور مختصر، آنتی‌ژن کامل *SE* در داخل چاهک های پلیت الایزا کوت(Coating) شد و پس از گرمخانه گذاری پلیت(به مدت یک شب)، نمونه های زرده بر روی چاهک ها ریخته شد، همچنین به منظور بررسی واکنش غیر اختصاصی (NSB)، IgY نرمال(از قبل خریداری شده)، در چند چاهک ریخته شد. پس از گرمخانه گذاری، پروتئین‌های اتصال نیافته توسط شست و شو با بافر الایزا برداشته شدند. در انکوباسیون مرحله بعدی دومین آنتی‌بادی کونژوگه شده با آنزیم (Chicken-IgY-HRP-Anti) به چاهک ها اضافه شد. بعد از گرمخانه گذاری و شست و شو با بافر الایزا، محلول رنگزا TMB(Tetra-Methyl Benzidine) به داخل چاهک ها افزوده شد. ادامه رنگ پذیری با اضافه کردن HCl متوقف شد. شدت رنگی شدن که مستقیماً با غلظت آنتی‌بادی IgY در نمونه‌ها متناسب بود، توسط دستگاه الایزاریدر قرائت شد.

آزمایش بر روی جوجه‌های گوشتی: تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه نر گوشتی یک روزه (سویه راس۳۰۸) در ۸ گروه، هر گروه شامل ۳ تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ قطعه پرنده به مدت ۵۶ روز پرورش داده شدند. هشت گروه آزمایشی به صورت Control (C)، Salmonella probiotic Antinbody (SPA)، (PA) Probiotic Antibody، Salmonella Antinbody (SA)، probiotic (SP) Salmonella؛ Antibody (A)، Probiotic (P) و Salmonella (S) مشخص شدند. در چهار گروه به عنوان گروه های چالشی(S)، در سن ۷ روزگی، ۴ پرنده به طور تصادفی انتخاب و با ۰/۵ میلی لیتر از محلول سوسپانسیون SE حاوی 1×10^{6} CFU باکتری به روش دهانی چالش داده شدند. پرندگان در گروه‌های (A)، از یک روزگی تا پایان دوره آزمایش، هر روز مقدار ۱۵ میلی لیتر زرده حاوی آنتی بادی را در یافت داشتند(۱/۵ml/bird/day) و این مقدار زرده توسط سمپلر و یا سرنگی که به جای سوزن آن لوله لاستیکی باریکی وصل شده بود،



نمودار ۱- تیتر آنتی بادی علیه سالمونلا انتریتیدیس در سرم و زرده با روش الایزا.

به هر پرنده خورانده می شد. گروه های حاوی پروبیوتیک (P) تا سن ۲۱ روزگی مقدار ۰/۱ درصد جیره و از ۲۱ تا ۵۶ روزگی مقدار ۰/۵ درصد جیره، پروبیوتیک دریافت داشتند (محتوی $۲/۵\times۱۰^{۷}$ CFU در هر گرم از باکتری های، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، انتروکوکوس دورانی و بیفیدیوباکتریوم ترموفیلوم). گروه شاهد (C) بدون چالش باکتری و فاقد تیمارهای آنتی بادی و پروبیوتیک بود.

تست آلودگی میکروبی جوجه های یک روزه: در بدو ورود جوجه ها به سالن ۱۰ قطعه به طور تصادفی انتخاب و آزمایش های باکتریولوژی از اندام های داخلی (کبد ـ طحال ـ روده ـ قلب) به منظور تأیید عدم آلودگی به سالمونلا انجام شد.

ارزیابی عملکرد جوجه های گوشتی: وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی بر مبنای روز مرغ انجام گرفت. همچنین در صورت مشاهده تلفات، علت مرگ و میر مورد بررسی قرار گرفت.

تهیه سوسپانسیون سالمونلا انتریتیدیس به منظور چالش خوراکی: از کشت ۲۴ ساعته و خالص باکتری، در داخل ۹ml آبگوشت برین هارت (BHI) کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، با تعیین سری رقت به روش pour plate شمارش کلنی ها انجام گرفت(۷). سپس معادل دوز چالشی موردنظر ۱×۱۰^{۶} CFU ml^{-1} از سوسپانسیون اولیه باکتری در آبگوشت BHI، رقیق شد.

نمونه برداری از اندام های داخلی: در سن ۲۱، ۲۸ و ۳۵ روزگی، از کلیه پن ها یک قطعه پرنده به طور تصادفی انتخاب و ذبح شدند. امعاء و احشاء پرنده ها در شرایط استریل جدا شده و با استفاده از پنس، قیچی و اسکالپل استریل، نمونه‌برداری از سکوم، کبد، طحال و ایلئوم انجام گرفت. پس از همگن نمودن نمونه ها یک لوپ کامل از آنها به داخل آبگوشت سلنیت اف منتقل شدند و حدود ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار گرفتند. از هر کدام از نمونه های داخل سلنیت اف، بر روی محیط انتخابی مک‌کانکی به روش خطی کشت داده شد، سالمونلاها در این محیط پرگنه های بی رنگ تولید می کنند. جهت انجام آزمایش های بیوشیمیایی تکمیلی کلنی های

جدول ۱- تأثیر پروبیوتیک و آنتی بادی بر میزان دفع سالمونلا در مدفوع جوجه های گوشتی در گروه های چالش شده با باکتری (۱×۱۰^{۶} CFU). حروف S، A و P به ترتیب نماد سالمونلا، آنتی بادی و پروبیوتیک هستند. ** نماد معنی دار ($p<۰/۰۱$) و ns نماد غیر معنی دار است.

سن (روز)	۱۴ روزگی			۲۱ روزگی			۲۸ روزگی			۳۵ روزگی		
تیمار	تعداد	مثبت	درصد	تعداد	مثبت	درصد	تعداد	مثبت	درصد	تعداد	مثبت	درصد
S	۳۰	۱۴	۴۶	۳۰	۶	۲۰	۲۷	۴	۱۴	۲۶	۰	۰
SP	۳۰	۱۳	۴۳	۳۰	۴	۱۳	۲۷	۳	۱۱	۲۷	۰	۰
SA	۳۰	۹	۳۰	۲۹	۳	۱۰/۳	۲۶	۰	۰	۲۶	۰	۰
SPA	۲۹	۸	۲۷/۵	۲۹	۲	۶	۲۶	۰	۰	۲۵	۰	۰
منبع تغییرات	احتمال											
تیمار	۲ **			**			**			ns		

مشکوک به سالمونلا از روی محیط مک‌کانکی بر روی TSI و اوره کشت داده شد. برای تعیین گروه نمونه های سالمونلا مثبت از آنتی‌سرم های چند ارزشی و آنتی‌سرم O سالمونلا گروه D استفاده شد.

شمارش باکتری در محتویات سکوم: در سنین ۲۱ و ۲۸ روزگی نمونه های محتویات سکوم به طور جداگانه بر روی فویل آلومینیومی توزین شده و در حدود یک گرم از آن داخل لوله حاوی ۹ml سرم فیزیولوژی استریل قرار داده شد و برای شمارش تعداد باکتری هر نمونه سکومی از روش Miles and Misra استفاده شد(۴) و نتایج حاصل با روش Pour plate مقایسه شدند(۲۱).

محاسبه فاکتور محافظتی (Protection Factor) : این فاکتور از تقسیم مقادیر log_{10} شمارش تعداد سالمونلا در گروه کنترل چالشی بر log_{10} تعداد باکتری در گروه تیمار چالش شده محاسبه شد(۸).

نمونه برداری از کلواک: به منظور تعقیب دفع سالمونلا انتریتیدیس از مدفوع پرنده های چالشی در سنین ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ روزگی نمونه های سواب کلواک از همه پرنده های موجود در کل پن های آزمایشی تهیه شد. سواب ها در داخل لوله های حاوی آبگوشت سلنیت اف به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار گرفتند. پس از این مدت، یک لوپ کامل از هر نمونه بر روی آگار مک‌کانکی به روش خطی کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، از کلنی های بی‌رنگ مشکوک به سالمونلا در محیط مک‌کانکی، بر روی محیط TSI و اوره کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نتایج قرائت شد.

نتایج

مطابق نمودار (۱) بالاترین تیتر آنتی بادی پلی کلونال در سرم و زرده با استفاده از روش الایزا به ترتیب ۲۰ و ۵۵ روز پس از نخستین تزریق بدست آمد.

دفع سالمونلا در مدفوع پرندگان در گروه های چالشی: نتایج حاصل از آنالیز داده های مربوطه با آزمون کای اسکوئر یک اختلاف معنی داری را بین گروه های مختلف چالش شده، در روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روزگی نشان داد

جدول۲- تأثیر پروبیوتیک وآنتی بادی بر تعداد باکتری سالمونلا در محتویات سکوم جوجه‌های گوشتی در گروه‌های چالش شده با باکتری (1×10^{6} CFU).حروف S، A و P به ترتیب نماد سالمونلا، آنتی‌بادی و پروبیوتیک هستند.** نماد معنی دار ($p<0/01$).abc میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری دارند.

تیمار۱	تعداد باکتری بر حسب لگاریتم واحد تشکیل دهنده کلنی به ازای هر گرم مدفوع		فاکتور محافظتی (PF)
	۲۱روزگی	۲۸روزگی	۲۸روزگی	۲۱روزگی
S	۵/۲۶^{c}	۳/۹۸^{c}	-	-
SA	۱/۲۳^{a}	۰/۲۷^{a}	۴/۲۷	۱۴/۷۷
SP	۲/۹۲^{b}	۱/۹۸^{b}	۱/۸	۲
SPA	۱/۱۲^{a}	۰/۳۸^{a}	۴/۶۹	۱۰/۴۷
منابع تغییرات	احتمال			
تیمار	**	**		

جدول ۳- تأثیر آنتی بادی و پروبیوتیک بر میزان تهاجم سالمونلا انتریتیدیس به‌اندام‌های داخلی. حروف S، A و P به ترتیب نماد سالمونلا، آنتی‌بادی و پروبیوتیک هستند. * تعداد موارد مثبت سالمونلا انتریتیدیس و ** تعداد پرندگان ذبح شده

تیمار۱	۲۱روزگی			۲۸روزگی			۳۵روزگی		
	کبد	طحال	ایلئوم	کبد	طحال	ایلئوم	کبد	طحال	ایلئوم
S	۳*/۳**	۳/۳	۳/۳	۲/۲	۱/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
SP	۳/۳	۲/۳	۲/۳	۲/۲	۱/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
SA	۱/۳	۱/۳	۰/۳	۱/۲	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
SPA	۲/۳	۱/۳	۰/۳	۱/۲	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳

جدول۴- اثر استفاده از پروبیوتیک و آنتی بادی بر میانگین افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف بر حسب گرم. حروف S، A و P به ترتیب نماد سالمونلا، آنتی‌بادی و پروبیوتیک هستند. * نماد معنی دار ($p<0/01$) و ns نماد غیر معنی دار است .abc میانگین‌های با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار از نظر آماری می‌باشند.

تیمارها و دوره‌های پرورش	افزایش وزن روزانه (گرم)				مصرف خوراک روزانه (گرم)				ضریب تبدیل غذایی				درصد تلفات			
دوره / تیمار	آغازین	رشد	پایانی	کل	آغازین	رشد	پایانی	کل	آغازین	رشد	پایانی	کل	آغازین	رشد	پایانی	کل
S	۳۰/۳۷	۷۴/۹۵	۶۵/۷۷^{ab}	۵۷/۳۹	۵۴/۶۱	۱۵۳/۶۶	۲۰۹/۴۴	۱۳۴/۷۵	۱/۸۱	۲/۰۵	۳/۱۸	۲/۳۵	۰	۳	۰	۳
SP	۳۰/۴۵	۷۱/۰۳	۶۳/۱۹^{b}	۵۵/۱۷	۵۰/۷۱	۱۵۵/۷۴	۱۹۲/۱۰	۱۳۹/۶۷	۱/۶۷	۲/۱۹	۳/۰۴	۲/۳۵	۰	۰	۶	۶
SA	۳۲/۱۶	۷۵/۹۷	۶۴/۱۶^{b}	۵۹/۰۳	۵۲/۱۲	۱۵۵/۹۸	۲۰۳/۴۴	۱۳۳/۲۵	۱/۶۲	۲/۰۷	۲/۹۹	۲/۲۶	۳	۰	۳	۶
SPA	۳۲/۸۹	۷۸/۳۹	۷۴/۷۸^{a}	۶۱/۹۸	۵۲/۶۱	۱۶۲/۲۶	۲۰۹/۱۴	۱۳۷/۴۰	۱/۶۰	۲/۰۶	۲/۷۹	۲/۲۲	۳	۳	۶	۱۲
C	۳۱/۴۶	۷۰/۸۰	۶۷/۶۷^{ab}	۵۶/۶۱	۵۱/۶۵	۱۴۸/۸۹	۲۰۶/۸۵	۱۳۱/۱۷	۱/۶۴	۲/۱۰	۳/۰۶	۲/۳۱	۰	۳	۱	۴
P	۳۲/۸۵	۸۰/۰۴	a۷۳/۷۱	۶۲/۳۵	۵۴/۳۹	۱۶۱/۷۴	۲۰۸/۷۲	۱۳۷/۶۹	۱/۶۵	۲/۰۲	۲/۸۲	۲/۲۱	۳	۳	۳	۹
A	۳۱/۵۹	۷۶/۱۹	۷۱/۹۹^{ab}	۵۹/۹۴	۵۳/۲۱	۱۵۶/۳۸	۲۱۰/۴۵	۱۳۵/۶۲	۱/۶۸	۲/۰۵	۲/۹۲	۲/۲۶	۳	۳	۰	۶
PA	۳۱/۴۱	۷۷/۴۰	۷۳/۳۵^{a}	۶۰/۷۱	۵۰/۶۶	۱۵۵/۰۲	۲۰۸/۹۹	۱۳۳/۸۴	۱/۶۱	۲/۰۱	۲/۸۵	۲/۲۰	۳	۰	۳	۶
SEM	۰/۴۰	۱/۰۴	۱/۱۸	۰/۷۷	۰/۶۵	۱/۳۸	۳/۰۵	۱/۱۴	۰/۲۰	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۰۸	۰/۰۰۷	۰/۰۱۰	۰/۰۱۳
منبع تغییرات																
تیمار	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns[۳]	ns	ns	ns	ns[۳]	ns	ns	ns

($p<0/01$). مطابق جدول (۱) در سن ۱۴ روزگی یعنی ۷ روز پس از چالش

۱- S سالمونلا، A آنتی بادی، P پروبیوتیک، C کنترل

۲- SEM - اشتباه معیار میانگین ها

۳- ns غیر معنی‌دار ($p>0/05$)

۴- * معنی دار ($p<0/05$)

abc میانگین‌های با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار از نظر آماری می‌باشند.

خوراکی باکتری گروه S و SAP به ترتیب با ۴۶ و ۲۷/۵ درصد بالاترین و پایین ترین درصد پرندگان ناقل باکتری را داشته‌اند. در ۲۱ روزگی یعنی ۲ هفته پس از چالش، درصد موارد مثبت در گروه‌های S، SP، SA، SPA به ترتیب ۲۰، ۱۳، ۱۰/۳ و ۶ درصد بوده است. در ۲۸ روزگی در گروه‌های SA و SPA هیچ یک از پرندگان باکتری را دفع ننموده، در حالی که ۱۴ درصد گروه S و ۱۱ درصد گروه SP همچنان ناقل باکتری بوده‌اند. در ۳۵ روزگی هیچ کدام از گروه‌های چالشی، موارد مثبت سالمونلا از نمونه سواب کلواک را نداشتند (جدول۱).

شمارش باکتری در محتویات سکوم پرندگان در گروه‌های چالشی: در سن ۲۱ و ۲۸ روزگی بین گروه‌های چالشی از نظر تعداد باکتری اختلاف معنی‌دار ($p<0/01$) مشاهده شد. مطابق جدول (۲) گروه S همواره بیشترین و گروه SA و SPA کمترین تعداد باکتری را در محتویات سکوم داشتند. مقادیر شمارش باکتری در گروه SP در هر دو دوره نمونه‌برداری بیشتر از گروه‌های SA و SPA بود، لذا از نظر آماری تأثیر معنی‌دار آنتی‌بادی ضد سالمونلا انتریتیدیس در کاهش تکثیر باکتری در گروه‌های چالشی وجود دارد ($p<0/01$).

مقادیر فاکتور محافظتی (PF) در گروه‌های چالشی: مطابق جدول (۲) مقادیر PF در ۲۱ روزگی (۱۴ روز پس از چالش) در گروه‌های SA, SPA بیشتر از ۴ بوده در حالی که در گروه SP پایین تر (PF=۱/۸) بوده است. همچنین در ۲۸ روزگی (۲۱ روز پس از چالش) مقادیر PF در گروه‌های SA, SP, SPA به ترتیب ۱۰/۴۷، ۲، ۱۴/۷۴ بوده است که گروه SP پایین ترین و گروه SA بالاترین

مقدار فاکتور محافظتی را داراست.

نمونه‌برداری از اندام‌های داخلی: بر اساس نتایج حاصل در جدول (۳) موارد مثبت باکتری در گروه‌های SA و SPA در هر دو دوره نمونه‌گیری در سن ۲۱ و ۲۸ روزگی همواره کمتر از گروه‌های S و SP بود. طحال و کبد در اکثر پرندگان تا ۲ هفته پس از چالش (تا ۲۱ روزگی) از نظر سالمونلا مثبت بوده و به مرور زمان موارد مثبت باکتری در این دو ارگان کمتر شد. در ۳۵ روزگی از هیچ یک از اندام ها در هیچ گروه آزمایشی، باکتری جداسازی نشد. در هر چهار گروه چالش شده، در مورد ایلئوم اکثر نمونه‌ها از نظر سالمونلا منفی بوده‌اند، به استثنای ۲۱ روزگی که موارد مثبت ایلئوم فقط در گروه‌های S و SP مشاهده شد.

عملکرد جوجه‌های گوشتی

افزایش وزن روزانه: مطابق جدول (۴) با وجود برخی نوسانات و ناهماهنگی‌ها در میانگین افزایش وزن روزانه در گروه‌های مختلف آزمایشی، در دوره پایانی، میانگین افزایش وزن روزانه گروه SPA به طور معنی داری بیشتر از SA و SP بوده است($p<۰/۰۵$). در گروه‌های چالشی و غیر چالشی فقط با حضور توأم آنتی بادی و پروبیوتیک بیشترین مقدار افزایش وزن روزانه مشاهده شد، لذا آنتی بادی و پروبیوتیک دارای فعالیت سینرژیسمی بوده‌اند.

روزانه: مطابق جدول (۴) در هیچ یک از دوره های پرورشی میانگین مصرف خوراک روزانه گروه های آزمایشی از نظر آماری اختلاف معنی داری نداشته است($P<۰/۰۵$). اما، در دوره رشد، پایانی و کل دوره آزمایشی، از نظر عددی گروه‌های دریافت کننده پروبیوتیک (چالشی و غیر چالشی) نسبت به گروه C مصرف خوراک روزانه بالاتری داشتند.

ضریب تبدیل غذایی: مطابق جدول (۴) در هیچ دوره ای از نظر آماری اختلاف معنی داری بین مقادیر ضریب تبدیل غذایی در بین گروه های مختلف آزمایشی مشاهده نشد و در گروه های مختلف آزمایشی، در دوره آغازین تغییرات میانگین ضریب تبدیل غذایی روزانه مشابه میانگین افزایش وزن و مصرف خوراک روزانه روند مشخصی نداشته است اما در دوره رشد، پایانی و کل دوره آزمایشی، گروه‌های P,PA,SPA از نظر عددی ضریب تبدیل غذایی مشابه و بهتر از گروه S داشتند، لذا در گروه‌های چالشی و غیر چالشی، حضور توأم آنتی بادی و پروبیوتیک موجب بهبود عملکرد حیوان و کاهش ضریب تبدیل غذایی گشته است.

میزان مرگ و میر: در هیچ یک از مراحل انجام آزمایش، نشانه بالینی عفونت سالمونلایی در هیچ پرنده‌ای مشاهده نشد و مطابق جدول (۴) در بین گروه های مختلف از نظر درصد مرگ و میر اختلاف معنی داری مشاهده نشد($p>۰/۰۵$).

بحث

در بین بیماری های طیور، سالمونلوز از بیماری هایی است که علاوه بر ضررهای اقتصادی در زمینه پرورش طیور، از بیماری های عفونی مشترک بین انسان و دام می باشد و افزایش شیوع آن بین انسان و حیوان مخصوصاً در دهه‌های اخیر و ظاهراً عدم توانایی در کنترل بیماری از نظر انتشار آن، اهمیت بیماری را دو چندان می نماید(۱۴، ۷) با توجه به اثر مهم دفع سالمونلا از مدفوع در انتشار جانبی آلودگی سالمونلایی در طیور، چنین به نظر می رسد که روش پیشگیری از عفونت با مصرف آنتی بادی و پروبیوتیک مؤثر واقع شده است زیرا در کل دوره آزمایشی گروه S به عنوان گروه کنترل منفی (فاقد آنتی بادی - پروبیوتیک) بالاترین درصد آلودگی را در کلواک داشته است. در گروه‌های SA و SPA در مقایسه با S و SP، پرندگان در مدت زمان کوتاه تری ناقل باکتری بوده‌اند و تا قبل از سن ۲۸ روزگی دفع سالمونلا از مدفوع متوقف شده است، در حالی که گروه‌های S و SP همچنان در سن ۲۸ روزگی حامل باکتری در مدفوع بوده‌اند. در ۱۴ و ۲۱ روزگی درصد موارد مثبت آلودگی در کلواک پرندگان گروه SPA نسبت به SP و SA کمتر بوده و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بوده است که بیانگر فعالیت سینرژیسمی بین پروبیوتیک و آنتی بادی در کاهش استقرار باکتری در دستگاه گوارش پرنده می باشد که با نتایج بسیاری از آزمایش‌ها (۹، ۸، ۷) مطابقت دارد. در کل در هر چهار گروه چالشی در سن ۳۵ روزگی تمام نمونه‌های سواب کلواک از نظر سالمونلا منفی بودند و این بیانگر روند پاک شدن خود به خودی باکتری در دستگاه گوارش پرنده می‌باشد که با آزمایش Heres و همکاران در سال ۲۰۰۳ مطابقت دارد(۱۲).

مطابق نتایج حاصل از این تحقیق، در روزهای ۱۴ و ۲۱ پس از چالش سالمونلا، مقدار عددی شمارش باکتری در سکوم گروه SA و SPA مشابه بوده، لذا پروبیوتیک و آنتی بادی در ارتباط با کاهش تکثیر سالمونلا در لومن سکوم از نظر آماری فعالیت سینرژیسمی معنی‌داری نداشته‌اند که با نتایج حاصل از بررسی های Fulton و همکاران در سال ۲۰۰۲ و Tellez و همکاران در سال ۲۰۰۱ مغایرت دارد(۲۱، ۱۰). اما Balevi و همکاران در سال ۲۰۰۱ اظهار داشت که عدم تأثیر معنی دار پروبیوتیک‌ها در کاهش تکثیر پاتوژن‌ها در دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی را می‌توان به انتخاب نامناسب میکروارگانیسم‌های موجود در آن و غیر اختصاصی بودن سویه، گونه و جنس میکروارگانیسم ها ربط داد(۳). Morishita و همکاران در سال ۱۹۹۲ اظهار داشتند که در شرایط بهینه پرورشی و مدیریتی، قابلیت استقرار میکروارگانیسم های پروبیوتیک ها در دستگاه گوارش مهم ترین عامل در توانایی آنها در رقابت با پاتوژن ها محسوب می شود(۱۶). Fuller در سال ۱۹۸۹ نشان داد که عدم توانایی یک میکروارگانیسم در استقرار در محل (دستگاه گوارش) ممکن است یک ناتوانایی ذاتی بوده و یا به نحوی با حضور فلور طبیعی مرتبط باشد. تحمل در برابر pH پایین روده کوچک پس از حفظ بقا در محیط سنگدان، نیز مؤثر می باشد(۹). ممکن است عوامل دیگری مانند دمای مطلوب برای رشد و مقاومت در برابر اسیدهای چرب غیر اشباع نیز در بروز پدیده استقرار در محل نقش داشته باشد(۱).

بر اساس نتایج Corrier و همکاران در سال ۱۹۹۵ گروه های حاوی آنتی بادی و پروبیوتیک یا آنتی بادی به تنهایی، در مقایسه با گروه های حاوی

پروبیوتیک به تنهایی، نقش محافظتی بهتری داشته اند، که تا حدودی با نتایج حاصل از شمارش باکتری در سکوم، در بررسی ما مطابقت دارد. احتمال دارد که نقش آنتی بادی در ممانعت از تکثیر باکتری در سکوم بیشتر مطرح بوده باشد و پروبیوتیک در این ارتباط نقش ضعیف تری داشته است (۸).

مطابق بررسی Methner و همکاران در سال ۱۹۹۵ مصرف دوزهای بالاتر آنتی ژن در چالش خوراکی مشابه حالت طبیعی ایجاد عفونت در پرنده نخواهد بود، به ویژه اینکه عفونت زایی در بافت‌های مختلف هم در جوجه‌های جوان و هم در مرغ ها با چالش دوزهای خیلی پایین تر نیز گزارش شده است(۱۵). لذا بر این اساس، ما در این تحقیق دوز متوسط چالش را در نظر گرفتیم.

در گروه S، بالاترین سطح عفونت در ارگان‌ها تا ۱۴ روز پس از چالش باکتری بوده است. در مطالعه م Methner در سال ۱۹۹۵ بیشترین سطح آلودگی در کبد و طحال ۷ روز پس از چالش (۱۵) و مطابق آزمایش Bjerrum و همکاران در سال ۲۰۰۳ حدود ۳-۲ روز پس از چالش بوده است (۴). به استناد نتایج بسیاری از محققان، پاک سازی اندام ها از سالمونلا بیشتر به سن پرنده به هنگام چالش بستگی دارد تا به زمان سپری شده از چالش و میزان عفونت ایجاد شده و تهاجم باکتری به اندام‌های داخلی علاوه بر دوز چالش شده و سن پرنده، تحت تأثیر بسیاری از فاکتورها از قبیل تیپ فاژ سرو تیپ مورد نظر و سویه باکتری قرار دارد، اما در بررسی ما فقط یک سویه خاص از باکتری و یک سن معین (۷ روزگی) در جوجه های گوشتی جهت چالش با باکتری در نظر گرفته شد، لذا انجام آزمایشات تکمیلی، جهت بررسی فاکتورهای مذکور، از جمله سنین مختلف چالش در جوجه ها، دوزهای مختلف چالش باکتری، پیشنهاد می شود. همچنین، مطابق بررسی های Bjerrum و همکاران در سال ۲۰۰۳ ایجاد عفونت ناشی از سالمونلا و ظهور نشانی های بالینی و بروز ضایعات هیستوپاتولوژیک به عوامل مختلفی از جمله بیماری زایی جرم، مقاومت و ایمنی میزبان، بهداشت محیط، مصرف بی رویه آنتی بیوتیک ها و تغییر فلور طبیعی روده بستگی دارد (۴).

بررسی‌های Baba و همکاران در سال ۱۹۹۱ در ارتباط با چالش خوراکی جوجه‌های گوشتی با سالمونلا انتریتیدیس نشان داد که در مقایسه با سکوم که در آن باکتری در مدت زمان زیادی قابل جداسازی است، در ایلئوم زمان عبور باکتری خیلی سریع تر است و تنها با پیش غنی سازی محتویات ایلئوم موفق به جداسازی باکتری شدند(۲) و در آزمایش ما هم تقریباً عفونت بسیار کمی در ایلئوم مشاهده شد.

عملکرد جوجه‌های گوشتی: در مقاله‌های مختلف مورد مطالعه توسط نگارنده، در اکثر موارد تأثیر توأم پروبیوتیک و آنتی بادی اختصاصی سالمونلا، بر تکثیر و کلونیزه شدن باکتری در سکوم و تهاجم آن به اندام‌های داخلی بر اساس دوزهای مختلف چالشی و در سن‌های مختلف، مورد بررسی قرار گرفته و در این ارتباط میزان مرگ و میر و علائم کلینیکی عفونت نیز مد نظر بوده است، اما در کمتر مواردی بحث عملکرد پرنده مطرح شده است و در اکثر موارد هم نتایج ضد و نقیض بوده‌اند، زیرا فاکتورهای مدیریتی و محیطی مختلفی در این ارتباط نقش داشته‌اند(۲۱، ۸)

در کل شاید بتوان گفت که در گروه های چالشی و غیرچالشی فقط با حضور توأم آنتی بادی و پروبیوتیک، بیشترین مقدار افزایش وزن روزانه مشاهده شد، لذا آنتی بادی و پروبیوتیک در ارتباط با افزایش وزن بدن دارای فعالیت سینرژیسمی بوده اند که با نتایج بررسی های Tellez و همکاران در سال ۲۰۰۱ مطابقت دارد(۲۱).

بر اساس نتایج حاصل از بررسی های Balevi و همکاران در سال ۲۰۰۱ پروبیوتیک اختصاصی طیور با تثبیت نمودن جمعیت میکروبی مفید دستگاه گوارش و مشارکت دادن این میکروارگانیسم ها در هضم اجزای مواد خوراکی اثر مثبتی بر روی بهبود میانگین مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه خواهد داشت(۳). بررسی های Burkholder و Patterson در سال ۲۰۰۳ نقش مثبت پروبیوتیک ها را در بهبود مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی بیان نمود(۱۷).

مطابق نتایج حاصل از این تحقیق ضریب تبدیل غذایی در گروه های حاوی آنتی بادی و پروبیوتیک به تنهایی یا تؤام با هم بهبود یافت که با نتایج بررسی های Clancy در سال ۲۰۰۳ مطابقت دارد(۷). از طرف دیگر میزان رشد و تکثیر سالمونلا در این گروه ها کاهش یافت که بر اساس بررسی های Bolder و همکاران در سال ۲۰۰۲ حرکت کند خوراک به طرف پایین دستگاه گوارش (بهبود بازدهی خوراک) موجب افزایش مدت زمان تماس میکروارگانیسم ها با اسیدهای چرب فرار روده شده و لذا احتمال از بین رفتن پاتوژن ها را افزایش می دهد(۵).

بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیقق مصرف توأم پریمالاک و IgY اختصاصی ضد سالمونلا انتریتیدیس در جوجه های گوشتی چالش شده با باکتری موجب کاهش تکثیر سالمونلا در محتویات سکوم و در نتیجه کاهش دفع آن از مدفوع گردید. همچنین آلودگی لاشه در کشتارگاه و انتشار باکتری در محیط کاهش یافت. لذا برای پیشگیری و کنترل بهتر سالمونلوز علاوه بر توجه به روش های مدیریتی و واکسیناسیون، از روش مصرف خوراکی پادتن IgY اختصاصی (ایمنی اکتسابی پاسیو) نیز می توان استفاده نمود.

References

1. Afshar Mazandaran, N., Rajab, A., Kiaei, M. (2002) Probiotic and their use in animal nutrition (PROBIOTICS the scientific basis, Edited by Roy Fuller). Norbakhsh Publications, p. 110-240.
2. Baba, E. S., Nagaishi, T. F., Arakawa, A. (1991) The role of intestinal microflora on the prevention of Salmonella colonization in gnotobiotic chickens. Poultry Sci. 70: 1902-1970.
3. Balevi, T., Coskun, B., kurtoglu, V., etingul, Q. S. (2001) Effect of dietary probiotic on performance

and humoral immune response. Brit Poultry Sci. 42: 456-461.

4. Bjerrum, L., Engberg, R. M., pedersen, K. (2003) Infection models for Salmonella typhimurium DT110 in Day-old and 14-Day-old broiler chickens, kept in isolators. Avian Dis. 47: 1474-1480.
5. Bolder, N. M., Janss, L. L. G., Putirulan, F. F., Wagenaar, J. A. (2002) Resistance of broiler outbred lines to infection with Salmonella enteritidis. Avian Pathol. 31: 581-591.
6. Carlander, D. (2002) Avian IgY antibody, in vitro and in vivo. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine. Acata Universitatis Upsaliensis. Uppsala Sweden.
7. Clancy, R. (2003) Immunobiotics and the probiotic evolution. FEMS Immunol Med Mic. 38: 9-12.
8. Corrier, D. E., Nisbet, D. J., Scanlan, C. M., Deloach, J. R. (1995) Control of salmonella typhimurium colonization in broiler chicks with a continuous-flow characterized mined culture of cecal bacteria. Poultry Sci. 74:916-924.
9. Fuller, R. (1989) Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol. 66:365-378.
10. Fulton, R. M., Nersessian, B. N., Reed, W. M. (2002) Prevention of Salmonella enteritidis infection in commercial ducklings by oral chicken Egg-Derived Antibody alone or in combinaiton with probiotics. Poultry Sic. 81: 34-40.
11. Gurtler, M., Methner, U., Fehlhaber, K. (2004) Growth of Salmonella enteritidis in Yolk from eggs laid by immunized hens. Int. J. Food Mic. 90: 107-113
12. Heres, L., Wagenaar, J. A., Knapen, F. V. , Bert, A. P. (2003) Passage of Salmonella through the crop and gizzard of broiler chickens fed with fermented liquid feed. Avian Pathol. 32: 173-181.
13. Kruger, C. (2004) Passive immunization against oral pathogens. From the division of clinical immunology at the department of laboratory medicine and center for oral biology at NOVUM, Institute of odontology. Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden.
14. Larsson, A. (2003) Salmonella. Int Poultry Prod. 10: 23-25.
15. Methner, U., Koch, H., Meyer, H. (1995) Model for experimental efficacy testing of control measures against Salmonella infections in Poultry. Avian Dis. 35: 809-819.
16. Morishita, T. Y., Lam, K. M., Mccapes, R. H. (1992) The microbiological ecology of the turkey jejunum. Vet. Methods. 14:233-240.
17. Patterson, J. A., Burkholder, K. M. (2003) Application of prebiotics and probiotics in poultry production. Poultry Sci. 82: 627-631.
18. Polson, A. (1990) Isolation of IgY from the Yolks of eggs by a chloroform polyethylene glycol procedure. Immunol. Invest. 19: 253-258.
19. Rahimi, Sh., Khaksefidi, A., Mousavi,T. (2003) Effect of probiotic and antibiotic on immune system of broilers. J. Fac. Vet. Med.Univ. Tehran. 58: 1-4.
20. Sim, J. S., Lee, E. N., Sunwoo H. H., Manninen, K. (2001) IgY Technology : Egg antibodies for food production. Department of Agricultural, Food and Nutritional Science, University of Alberta, and Animal Health Laboratary, Alberta Agriculture, Edmonton, AB, Canada.
21. Tellez, G., petrone, V. M., Escorcia, M., Morishita, T. Y., Cobb, C. W. and Villasenor, L. (2001) Evaluation of avian - specific probiotic and Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium and Salmonella heidelberg- specific antibodies on cecal colonization and organ invasion of Salmonella enteritidis in broiler. J Food Protect. 64: 287-291.
22. Zahraei Salehi, T. (1999) Salmonella. Tehran University Publications. p.9-120.

J.Vet.Res. 63,3:133-139,2008

THE EFFECT OF EGG DERIVED SPECIFIC ANTIBODY AND PROBIOTIC ON PREVENTION OF *SALMONELLA ENTERITIDIS* INFECTION IN BROILER CHICKENS

Moghaddam Shiraz, Z.[1], Rahimi,Sh.[1]*, Zahraei Salehi,T.[2]

[1]*Department of Poultry Science, College of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran- Iran.*

[2]*Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.*

(Received 5 April 2006 , Accepted 19January 2008)

Abstract:

To evaluate the effect of probiotic (Primalac) and *Salmonella enteritidis*-specific IgY on prevention of *Salmonella enteritidis* infection in broiler chickens, four 33 week-old Single Comb White Leghorn hens were hyperimmunized with *Salmonella enteritidis* (SE) whole cell antigens obtained by ultrasonication and administrated at a protein concentration of 500 μg/ml after centrifugation. Primary immunization was performed with 250μg of the antigen prepared in equal volume of Freunds complete adjuvant and saline. Booster injections were done each 14 days for twice, using incomplete Freunds adjuvant. Bleedings were performed 20 days after first injection and eggs were collected. The presence of anti-Salmonella antibody IgY and IgG in egg yolk and serum respectively, was monitored by ELISA, during the immunization period. Body weight, feed intake and feed conversation were determined. Then two hundred forty male "Ross "day-old chicks were randomly assigned to 8 groups and 3 replications of 10 birds were grown for 56 days of experiment. Eight experimental groups identified with, S, P, A, SP, SA, AP, SPA, C. Four birds from four challenged groups(S), were orally inoculated with 0.5 Ml of S. enteritids that contained 1×10^6 cfu / ml on day 7. The groups that supplemented with antibody (A), received 15 ml of yolk contained antibody(1.5 ml/bird/day), from day 1 to end of the experiment. The probiotic treated groups(P) were received probiotic, 0.1% of feed and 0.5% of feed, during 1-21 and 22-56 days of experimental period respectively. One group as control(C) did not receive any treatment of probiotic and antibody. The test was completely randomized designed. In this project the SAS statistical program for parameter data and χ^2 test for non- parameter data. The results indicated that high titer polyclonal antibody may be obtained 20 days and 55 days after first immunization, in serum and egg yolk respectively. A-treated, P-treated and A-P treated groups had significantly lower fecal shedding ($P<0.01$). The antibody alone and A-P treated groups had a significantly lower concentration of SE cecal colonization. Antibody alone and A-P treated groups had a lower isolation of SE from the liver, spleen and ileume. There were no significant differences ($P>0.05$) in the mean body weight, mean daily feed intake, feed conversation ratio and mortality rate among the experimental groups at any period of experiment, but in the A-, P-, and A-P treated groups, daily weight gain significantly increased during finisher period and at day 49 ($p<0.05$).

Key words: IgY, IgG, *Salmonella enteritidis*, ELISA, Probiotic.

***Corresponding author's email: rahimi_s@modares.ac.ir, Tel: 021-44194911-4, Fax: 021-44196524**