نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۳۳، زمستان ۱۴۰۰
ص‌ص: ۱۰۳~۱۱۶

بررسی اثرات سین‌بیوتیکی و پروبیوتیکی افزودن دو مکمل غذایی به جیره، بر عملکرد و پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی چالش یافته و بدون چالش با سالمونلا تیفی موریوم

• **کامبیز فاضل نیا[1]، جعفر فخرائی[1*]، حسین منصوری یار احمدی[1]، کیومرث امینی[2]**

۱گروه علوم دامی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران.
۲گروه میکروب شناسی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران.

تاریخ دریافت : آبان ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش : خرداد ۱۴۰۰

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۸۳۶۰۷۱۵۷
Email: fakhraei@iau-arak.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ASJ.2021.352377.2110

چکیده

در این پژوهش تأثیر سین‌بیوتیکی و پروبیوتیکی دو مکمل تولیدی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران در جیره بر عملکرد رشد و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی چالش یافته با *سالمونلا* تیفی‌موریوم مورد ارزیابی قرار گرفت. ۳۶۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی سویه راس ۳۰۸ در قالب ٦ تیمار با ٦ تکرار و ۱۰ جوجه‌ی گوشتی در هر تکرار بررسی شدند. این مطالعه به‌صورت فاکتوریل و بر پایه‌ی طرح کاملا تصادفی با استفاده از دو فاکتور چالش (چالش و عدم چالش) و افزودنی‌ها (بدون افزودنی، افزودن ۰/۲ گرم برکیلوگرم مکمل غذایی مورد بررسی) انجام شد. پروبیوتیک حاوی *باسیلوس سوبتیلیس*، *باسیلوس لیکنی فورمیس و ساکارومایسس سرویزیه* بود. سین‌بیوتیک نیز حاوی همین باکتری‌ها و فروکتان‌ها بود. عملکرد رشد شامل خوراک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل غذایی و شاخص تولید محاسبه شد. میزان ایمونوگلوبین‌های G و M نیز همچنین بررسی شدند. نتایج نشان داد که چالش با *سالمونلا*، به‌ترتیب باعث کاهش شاخص تولید، خوراک مصرفی و افزایش وزن روزانه و افزایش ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با جوجه‌های چالش نیافته شد (P<۰/۰۱). چالش با *سالمونلا*، میزان ایمونوگلوبین‌های G و M را در مقایسه با تیمارهای چالش نیافته کاهش داد (P<۰/۰۱). افزودن این دو مکمل غذایی به جیره خوراک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه، شاخص تولید و پاسخ‌های ایمنی را در مقایسه با تیمارهای عدم دریافت افزایش دادند (P<۰/۰۱). استفاده از ۰/۲ گرم بر کیلوگرم از مکمل‌های غذایی تولیدی این سازمان می‌تواند به دلیل ویژگی‌های پروبیوتیکی و سین‌بیوتیکی منجر به بهبود عملکرد رشد و پاسخ ایمنی برای مقابله با چالش‌های عفونی در جوجه‌های گوشتی - شود.

واژه‌های کلیدی: سالمونلا، شاخص‌های عملکردی، ایمونوگلوبین‌ها، تلفات، جوجه‌های گوشتی.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 133 pp: 103-116

Investigation of probiotic and synbiotic effects of dietary inclusion of two dietary supplements on growth performance and immune responses of broiler chicks challenged with *Salmonella* Typhimurium

By: Kambiz Fazelnia[1], Jafar Fakhraei[1]*, Hossein Mansoori Yarahmadi[1], Kumarss Amini[2]
1: Department of Animal Science, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran.
2: Department of Microbiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

Received: November 2020 **Accepted: June 2021**

This study was conducted to investigate the synbiotic and probiotic effects of two dietary supplements produced by Iran Scientific and Industrial Research Organization on growth performance and immune responses of broiler chicks challenged with *Salmonella* Typhimurium. 360 Ross 308 broiler chicks were studied in 6 treatments with 6 replications and 10 broiler chicks per replicate. This study was conducted in a factorial arrangement based on completely randomized design with 2 factors of challenge (challenge and non-challenge) and additives (lack of additive, 0.2 g/kg dietary supplement). Probiotic was containing *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, and *Saccharomyces cerevisiae*. Synbiotic was contained same bacteria and fructans. Growth performance, including average daily feed intake (ADFI), average daily gain (ADG), feed conversion ratio (FCR), production index, and immunoglobulins G and M were investigated. The results showed that challenge with *Salmonella* decreased ADFI, ADG and production index compared to non-challenged broiler chicks (P<0.001). Challenge decreased the levels of immunoglobulins G and M compared to non-challenged broiler chicks (P<0.001). However, the results showed that dietary inclusion of supplements increased production index, ADFI and ADG and immunity compared to non-treated broiler chicks (P<0.001). In conclusion, the use of 0.2 g/kg of dietary supplements produced by this organization improves growth performance and immune responses against infectious challenges in broiler chicks due to their probiotic and synbiotic properties.

Key words: *Salmonella*, performance indexes, Immunoglobulins, mortality, broiler chicks.

مقدمه

دستگاه گوارشی دام‌ها و طیور، یکی از مهم‌ترین دستگاه‌های بدن برای برای حفظ سیستم ایمنی می‌باشد (Laptev و همکاران، ۲۰۱۹). دستگاه گوارش، خط مقدم مبارزه علیه عوامل بیماری‌زای وارد شده به‌داخل بدن میزبان می‌باشد (Fisinin and Surai, ۲۰۱۳). *سالمونلا تیفی‌موریوم*، یکی از پاتوژن‌های دستگاه گوارش است (Finstad و همکاران، ۲۰۱۲) و باعث تلفات در حیوانات و مرگ‌ومیر در انسان‌ها می‌شود (Mora و همکاران، ۲۰۱۹). در صنعت طیور، کنترل کردن *سالمونلا* به چندین دلیل مهم است. در درجه‌ی اول، *سالمونلا* با ایمنی غذایی مرتبط است. این باکتری باعث ایجاد بیماری‌های غذا زاد می‌شود و اثرات منفی روی سلامت عمومی دارد. در درجه‌ی دوم باعث مقاومت آنتی میکروبی می‌شود. سوما، این باکتری باعث ایجاد محدودیت‌هایی برای واردات و صادرات گوشت و تخم‌مرغ می‌شود. بنابراین، *سالمونلا* اثرات اقتصادی منفی روی صنعت طیور دارد (Pulido-Landínez، ۲۰۱۹). *سالمونلا* همچنین باعث ایجاد آسیب‌های بافتی روده‌ای در تمام بخش‌های روده‌ای مشاهده می‌شوند (Olkowski و همکاران، ۲۰۰۸). این نوع آسیب معمولا در ۲ تا ۶ هفتگی سن جوجه‌های گوشتی گزارش شده است، زیرا میزان آنتی‌بادی‌های مادری به‌مرور کاهش می‌یابد و سیستم ایمنی نیز هنوز کامل نشده است (Cooper و همکاران، ۲۰۱۳). التهاب‌های بافت روده‌ای، باعث ایجاد آسیب‌های شدید به سیستم روده‌ای از طریق آسیب به بافت محیطی روده می‌شود و باعث کاهش هضم و

جذب مواد غذایی و عملکرد در جوجه‌های گوشتی و افزایش زیان‌های اقتصادی می‌شود (Van Immerseel و همکاران، ۲۰۰۹). Jazi و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که چالش با *سالمونلا تیفی‌موریوم*، عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی را از طریق کاهش جمعیت لاکتوباسیلوسی و ریخت‌شناسی روده، کاهش داد. بنابراین بایستی سعی شود تا اثرات منفی این باکتری، کاهش یابد. آنتی‌بیوتیک‌ها معمولا برای تخفیف دادن اثرات منفی *سالمونلا تیفی موریوم* استفاده شد، ولی استفاده از آنتی بیوتیک بدلیل مقاومت میکروبی با محدودیت روبه‌رو شده است (Huyghebaert و همکاران، ۲۰۱۱: Gaucher و همکاران، ۲۰۱۵). استفاده از ساختارهای پروبیوتیک و سین‌بیوتیک به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها، راهکاری مناسب برای کاهش دادن مقاومت میکروبی می‌باشد (He و همکاران، ۲۰۱۹).

پروبیوتیک‌ها، اثرات مثبتی را از طریق افزایش دادن تولید مواد آنتی میکروبی باکتریوسین‌ها و کلی‌سین‌ها، و بهبود دادن سیستم ایمنی روده‌ای نشان می‌دهند (Adhikari and Kim, ۲۰۱۷). سین‌بیوتیک‌ها، اثرات مثبتی روی عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی از طریق افزایش دادن جمعیت باکتری‌های سودمند، نشان داده‌اند (Naghi و همکاران، ۲۰۱۷). سین‌بیوتیک‌ها ترکیبی از پروبیوتیک‌ها و سین بیوتیک‌ها هستند. سین‌بیوتیک‌ها، اثرات مثبت‌شان را از طریق فراهم کردن سوبسترا برای تخمیر باکتریایی، تولید مواد آنتی باکتریایی، مداخله در سیستم ایمنی و رقابت با عوامل بیماری‌زا برای اتصال روی گیرنده‌ها در سیستم روده‌ای نشان می‌دهند (Adil and Magray, ۲۰۱۲).

سالمونلا تیفی‌موریوم اثرات منفی روی سیستم ایمنی و عملکرد رشد از طریق تأثیر گذاشتن روی دستگاه گوارشی و مخصوصا روده‌ها می‌گذارد. از طرفی پروبیوتیک‌ها و سین بیوتیک‌ها می‌توانند عملکرد رشد و ایمنی را از طریق تأثیر مثبت روی روده‌ها بهبود بخشند. بنابراین پژوهش حاضر به بررسی تأثیر سین‌بیوتیکی و پروبیوتیکی دو مکمل تولیدی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران بر عملکرد رشد و پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی چالش یافته با *سالمونلا تیفی‌موریوم* پرداخته شده است و نتایج به‌دست آمده با جوجه‌های چالش نیافته مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

جوجه‌های گوشتی

در این پژوهش اثرات سین‌بیوتیکی و پروبیوتیکی افزودن ۰/۲ گرم بر کیلوگرم از دو مکمل تولیدی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران از به جیره بر عملکرد رشد و پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی چالش یافته با *سالمونلا تیفی‌موریوم* مورد ارزیابی قرار گرفت. تعداد ۳۶۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی سویه راس ۳۰۸ در قالب ۶ تیمار با ۶ تکرار و ۱۰ جوجه‌ی گوشتی در هر تکرار بررسی شدند. این پروژه در قالب طرح کاملا تصادفی با آزمایش فاکتوریل دو فاکتوره اجرا شد. فاکتور اول چالش (اعمال چالش و عدم چالش) و فاکتور دوم نوع افزودنی (بدون افزودنی، افزودن ۰/۲ گرم برکیلوگرم از هر مکمل با خواص پروبیوتیکی و سین بیوتیکی مورد بررسی) بودند.

جوجه‌ها در سن ۲۱ روزگی با سالمونلا چالش یافتند. قبل و بعد از القای چالش، دو جوجه گوشتی از هر تیمار برای بررسی وجود *سالمونلا*، بررسی شد و وجود *سالمونلا* در جوجه‌های گوشتی از طریق بررسی *سالمونلا* در روده انجام شد و قبل از القای چالش تأیید نشد. برای القای چالش، جوجه‌های گوشتی (سه تیمار) با سوسپانسیونی ۰/۵۰ میلی لیتری حاوی $۱۰^{۶}$ ×۱واحد تشکیل کلنی/گرم *سالمونلا* تیفی‌موریوم و با استفاده از درنچر اتوماتیک به‌صورت دهانی تلقیح شد. سویه‌ی *سالمونلا تیفی‌موریوم* (ATCC 14028) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (تهران-ایران) تهیه شد. بعد از تهیه‌ی *سالمونلا تیفی‌موریوم*، روی یک محیط کشت اختصاصی کشت شد و برای ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد (Jazi و همکاران، ۲۰۱۹). جوجه‌های گوشتی از نظر علائم تب، اسهال، از دست دادن اشتهاء، و تشنگی بعد از تلقیح *سالمونلا*، پایش شدند.

این مطالعه در تابستان سال ۱۳۹۸ در یک واحد پرورش جوجه‌ی گوشتی در شهرستان اراک انجام شد. در این آزمایش از ۳۶ قفس با ابعاد ۱۰۰×۱۰۰×۴۵ سانتی‌متر مجهز به آبخوری و دانخوری

درپوش‌دار استفاده شد. جوجه‌ها با وزن اولیه‌ی ۲±۴۲ گرم خریداری شدند. برنامه‌ی نوردهی شامل ۲۳ ساعت نور: ۱ ساعت تاریکی بود. آب و خوراک در روزهای اول به‌صورت آزاد و تمام وقت فراهم شد. شیوه‌های بهداشتی قبل از جوجه ریزی انجام شد. تمام جوجه‌های گوشتی (۳۶۰ قطعه) یک جیره‌ی برپایه‌ی ذرت-سویا را در طول دوره‌ی آزمایشی دریافت کردند. دوره‌های آزمایشی شامل آغازین (۱۰-۱ روزگی)، رشد (۲۴-۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) بود (جدول ۱) و براساس کاتالوگ راس تهیه شد (Aviagen, ۲۰۱۴). اجزای جیره نیز بر اساس روش‌های استاندارد، آنالیز شیمیایی شدند (AOAC ۲۰۰۰). در این مطالعه، از روز اول پرورش، به دو بخش (۱۸۰ تایی) تقسیم شدند و در دو سالن مجزا نگهداری شدند. شرایط پرورشی برای هردو گروه کاملا مشابه بود و تنها تفاوت در القای چالش با *سالمونلا* بود که در سن ۲۱ روزگی، یک سالن با *سالمونلا* آلوده شد و سالن دیگر آلوده نشد. در ابتدای آزمایش، جوجه‌ها به ۶ تیمار و ۶ تکرار و ۱۰ پرنده در هر تیمار تقسیم شدند. جوجه‌های گوشتی ۶ تیمار آزمایشی را دریافت کردند. تیمارهای آزمایشی از روز ۲۱ تا ۴۲ روزگی آزمایش به‌صورت زیر اعمال شدند. سه تیمار چالش یافته با سالمونلا با عنوان مثبت و سه تیمار چالش نیافته با سالمونلا با عنوان منفی در ابتدای آن به شرح زیر مشخص شدند.

- تیمار ۱: جوجه‌های چالش یافته با *سالمونلا*که هیچ نوع مکملی دریافت نکردند (کنترل مثبت).
- تیمار ۲: جوجه‌های چالش یافته با *سالمونلا* و تغذیه شده با ۰/۲ گرم برکیلوگرم مکمل با خواص پروبیوتیکی مورد ارزیابی (پروبیوتیک مثبت).
- تیمار ۳: جوجه‌های چالش یافته با *سالمونلا* و تغذیه شده با ۰/۲ گرم بر کیلوگرم مکمل با خواص سین‌بیوتیکی مورد ارزیابی (سین بیوتیک مثبت).
- تیمار ۴: جوجه‌های چالش نیافته با *سالمونلاکه* هیچ نوع مکملی دریافت نکردند (کنترل منفی).
- تیمار ۵: جوجه‌های چالش نیافته با *سالمونلا* و تغذیه شده با ۰/۲ گرم بر کیلوگرم مکمل با خواص پروبیوتیک مورد ارزیابی (پروبیوتیک منفی).
- تیمار ۶: جوجه‌های چالش نیافته با *سالمونلا* و تغذیه شده با ۰/۲ گرم بر کیلوگرم مکمل با خواص سین‌بیوتیکی مورد ارزیابی(سین بیوتیک منفی).

پروبیوتیک مورد استفاده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (تهران-ایران) تهیه شد و هر دوز یک میلی لیتری حاوی 10^5 ×۴ واحد تشکیل کلنی/گرم از *باسیلوس سوبتیلیس*، 10^9 ×۳ واحد تشکیل کلنی/گرم از *باسیلوس لیکنی فورمیس و* 10^8 ×۱واحد تشکیل کلنی/گرم از *ساکارومایسس سرویزیه* بود. سین‌بیوتیک نیز حاوی همین باکتری‌ها بود و تنها حاوی ۵ درصد از فروکتان‌ها بود.

عملکرد رشد

عملکرد رشد در روز ۴۲ بررسی شد. برای بررسی عملکرد رشد خوراک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک مصرفی نیز به‌صورت زیر محاسبه شد. همچنین تعداد تلفات نیز در نظر گرفته شد.

$$\frac{\text{کل مصرف خوراک در یک دوره زمانی مشخص}}{\text{وزن کل جوجه‌ها در ابتدای همان دوره- (وزن تلفات در همان دوره+ وزن کل جوجه‌ها در انتهای همان دوره)}}$$

شاخص تولید با استفاده از فرمول زیر بررسی شد (Momeni، ۲۰۱۴)

شاخص تولید=(درصد ماندگاری×میانگین افزایش وزن روزانه)/(ضریب تبدیل خوراک مصرفی×۱۰)

پاسخ‌های ایمنی

برای بررسی پاسخ‌های ایمنی، میزان ۰/۱۰ میلی‌لیتر از محلول گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) ۲۵٪ به ماهیچه‌ی سینه‌ی دو پرنده‌ی هر تکرار در روز ۳۵ تزریق شد، نمونه‌های خون یک هفته بعد جمع‌آوری شد، سرم تهیه شد و نمونه‌ها در فریزر نگهداری شدند. نمونه‌ها برای تیتر آنتی‌بادی، میزان ایمونوگلوبین-های G و M با استفاده از روش He و همکاران (۲۰۲۰) بررسی

شدند. خلاصه، سرم به داخل لوله‌های میکروسانتریفیوژ پیپت و با قرار گرفتن در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه غیر فعال شد. پلیت‌های مخصوص میکروتیتر- هماگلوتیناسیون[1] V شکل تهیه شد. این پلیت‌ها دارای ۹۶ چاهک در دوازده ستون و هشت ردیف است. برای ارزیابی آنتی بادی تام، ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات داخل چاهک‌های اول میکروتیتر ریخته شد و مقدار ۵۰ میکرولیتر از سرم یک نمونه آزمایشی به آن اضافه گردید. به این ترتیب به هر پلیت هفت نمونه سرم اضافه شد. به ردیف اول هیچ سرمی اضافه نشد تا به عنوان شاهد فقط محتوی PBS به اضافه سوسپانسیون SRBC باشد. سپس پلیت‌ها به طور محکم بسته و به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شد. در ادامه نمونه‌ها از انکوباتور خارج و ۵۰ میکرولیتر PBS به ۱۱ چاهک باقی‌مانده هر ردیف اضافه شد. از محتویات چاهک اول هر ردیف ۵۰ میکرولیتر برداشته و به چاهک دوم آن اضافه گردید. این عمل در چاهک‌های دوم تا دوازدهم تکرار شد. به این ترتیب غلظت آنتی‌بادی در سرم نمونه‌ها از چاهک اول تا دوازدهم به طور پیوسته به نصف کاهش یافت. در نهایت ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون ۲/۵ درصد SRBC به همه چاهک‌ها اضافه شد و پلیت‌ها مجددا به مدت ۳۰ دقیقه انکوباسیون شد. تیتر IgM (حساس به مرکاپتواتانول) و IgG (مقاوم به مرکاپتواتانول) طی روند مشابهی اندازه‌گیری شد، با این تفاوت که ۵۰ میکرولیتر ۲- مرکاپتواتانول به چاهک اول هر ردیف اضافه شد.

تحلیل آماری

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به‌صورت فاکتوریل و با دو فاکتور انجام گرفت. فاکتورهای این مطالعه شامل چالش با *سالمونلا* در دو سطح چالش و عدم چالش و همچنین فاکتور افزودنی‌ها در سه سطح شامل عدم افزودن پروبیوتیک و سین-بیوتیک، افزودن پروبیوتیک و افزودن سین‌بیوتیک بود. داده ها با نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن با یکدیگر مقایسه شدند. مدل آماری این طرح به صورت زیر بود:

$$Yijk = \mu + Si + Aj + (S.A)ij + eijk$$

در این فرمول، μ میانگین کلّ مشاهدات، Si اثر *سالمونلا*، Aj اثر افزودنی‌ها، $(S.A)_{ij}$ اثر متقابل بین افزودنی‌ها و *سالمونلا* و eijk خطای آزمایش بود. برای بررسی تلفات از آزمون کروسکال-والیس با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد.

نتایج

جوجه‌های گوشتی از نظر علائم تب، اسهال، از دست دادن اشتهاء، و تشنگی بعد از تلقیح *سالمونلا*، پایش شدند و نشانه‌ای از این علائم مشاهده نشد. با این‌حال، وجود سالمونلا در روده بعد از القای چالش تأیید شد، درحالی‌که در گروه‌های غیرچالشی تأیید نشد.

اثرات ساده و متقابل پروبیوتیک و سین‌بیوتیک با چالش بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی چالش یافته با *سالمونلا* در جدول ۲ نشان داده شده است. چالش با *سالمونلا* اثرات منفی بر شاخص تولید، خوراک مصرفی افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک مصرفی داشت ($P<0/01$). اثرات مثبت افزودن مکمل غذایی با خصوصیات سین‌بیوتیکی و پروبیوتیکی را بر خوراک مصرفی، شاخص تولید، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک مصرفی را نشان داد ($P<0/01$). در پژوهش حاضر اثرات متقابل معنی‌داری بین چالش و افزودنی‌های پروبیوتیک و سین‌بیوتیک بر صفات خوراک مصرفی ($P<0/01$) و ضریب تبدیل خوراک مصرفی ($P<0/05$) مشاهده شد. این نتایج نشان داد که سین‌بیوتیک و پروبیوتیک نه تنها در شرایط چالشی اثرات مثبتی داشتند، بلکه در شرایط غیرچالشی نیز توانستند اثرات مثبتی بر بهبود عملکرد رشد داشته باشند. در مقایسه با تیمار کنترل مثبت، افزودن پروبیوتیک و سین‌بیوتیک به جیره توانست به‌طور معنی-داری ضریب تبدیل خوراک مصرفی را بهبود بخشد. بیشترین شاخص تولید، افزایش وزن روزانه و خوراک مصرفی مربوط به جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با سین‌بیوتیک در شرایط عدم چالش بود و پایین‌ترین ضریب تبدیل خوراک مصرفی نیز مربوط به این تیمار بود.

نتایج برای تأثیر پروبیوتیک و سین‌بیوتیک بر درصد تلفات جوجه-

[1]. Hemagglutination

های گوشتی چالش یافته با *سالمونلا* در نمودار ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بیشترین تلفات در گروه کنترل مثبت مشاهده شد (P<۰/۰۵) و پایین‌ترین میزان تلفات از لحاظ عددی در تیمار سین‌بیوتیک بدون چالش مشاهده شد (P<۰/۰۵). با این‌حال تیمارهای سین‌بیوتیک مثبت و منفی، کنترل منفی و پروبیوتیک منفی، اختلاف معنی‌داری را از لحاظ آماری نشان ندادند (P<۰/۰۵). در مجموع، چالش با *سالمونلا*، تلفات را افزایش داد ولی افزودن پروبیوتیک و سین‌بیوتیک به جیره، این تلفات را کاهش داد. در تیمارهای بدون چالش، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

اثرات تیمارهای آزمایشی بر پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ نشان داده شده است. براساس نتایج به‌دست آمده، چالش با *سالمونلا* میزان ایمونوگلوبین‌ها را به‌طور قابل توجهی کاهش داد (P<۰/۰۱). افزودن پروبیوتیک و مخصوصا سین‌بیوتیک به جیره توانست به‌شکل قابل توجهی پاسخ‌های ایمنی را بهبود بخشد (P<۰/۰۱). هرچند که جوجه‌های چالش نیافته، پاسخ‌های ایمنی بهتری را از خود نشان دادند (P<۰/۰۱).

بحث

سالمونلا تیفی‌موریوم باعث زیان‌های اقتصادی در صنعت طیور می‌شود و آنتی‌بیوتیک‌های تجاری معمولا برای کنترل آن استفاده می‌شوند. از طرفی دیگر، *سالمونلا* با ایمنی غذایی مرتبط است و باعث ایجاد بیماری‌های غذا زاد می‌شود، که اثرات منفی روی سلامت انسان نیز دارد. همچنین، این باکتری باعث ایجاد محدودیت‌هایی برای واردات و صادرات گوشت و تخم‌مرغ می‌شود و در برخی کشورها، به غذاهای آلوده با این باکتری اجازه‌ی واردات داده نمی‌شود (Pulido-Landínez، ۲۰۱۹). افزودنی‌های خوراکی ایمن همانند پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و سین‌بیوتیک در صنعت طیور استفاده می‌شوند و بیماری‌های مختلف روده‌ای را کنترل می‌نمایند (Eeckhaut و همکاران، ۲۰۱۶). القای چالش با *سالمونلا* اثرات منفی بر عملکرد و شاخص تولید داشت، ولی افزودن پروبیوتیک به سین‌بیوتیک به جیره توانست این اثرات منفی را کاهش دهد. مشابه با یافته‌های این پژوهش، مطالعات قبلی نیز نشان دادند که *سالمونلا* اثرات منفی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی نشان داد (Jazi و همکاران، ۲۰۱۸: ۲۰۱۹). کاهش عملکرد در جوجه‌های گوشتی چالش یافته با *سالمونلا*، به علت از دست رفتن اشتها، جذب پایین مواد مغذی، آسیب القاء شده در روده‌ها، استفاده‌ی بیشتر از مواد مغذی برای کمک به سیستم ایمنی و پاسخ‌های التهابی می‌باشد (Shao و همکاران، ۲۰۱۶). دلیل احتمالی دیگر برای کاهش عملکرد، تأثیر منفی *سالمونلا* بر پرزهای روده می‌باشد که مانع از جذب بیشتر مواد مغذی برای رشد می‌شود. نتایج به‌دست آمده از این مطالعه، همسو با نتایج گزارش شده توسط مطالعات قبلی برای پری‌بیوتیک‌ها (Jazi و همکاران، ۲۰۱۸: ۲۰۱۹) و سین‌بیوتیک‌ها (Chen و همکاران، ۲۰۱۸) می‌باشد. همسو با نتایج این مطالعه، Chen و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که افزودن سویه‌های پروبیوتیکی به جیره‌ی جوجه‌های گوشتی توانست عملکرد رشد منفی متأثر از چالش با *سالمونلا* را به‌طور معنی‌داری بهبود دهد. این محققین بهبود عملکرد رشد را به کاهش جراحات روده‌ای، پیشگیری از بیماری و کمک به فلور میکروبی روده توسط پروبیوتیک نسبت دادند. در مطالعه‌ای، مورا و همکاران (۲۰۱۹) در نشان دادند که مکمل‌سازی سین‌بیوتیک توانست به‌طور معنی‌داری اثرات منفی چالش با *سالمونلا* را بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی کاهش دهد و آن‌را به بهبود ریخت‌شناسی روده، کاهش التهاب روده‌ای و کمک به جذب مواد غذایی نسبت دادند. تأثیر مثبت افزودن پروبیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک بر عملکرد رشد در شرایط چالش به این دلیل است که این افزودنی‌ها سیستم ایمنی را بهبود می‌بخشند و از این طریق مانع از مصرف خوراک بیشتر برای پاسخ ایمنی می‌شوند و این کار را از طریق افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس‌های روده‌ای انجام می‌دهند. این افزودنی‌ها همچنین باعث افزایش احتباس مواد مغذی و تولید برخی متابولیت‌ها می‌شوند که نهایتا باعث بهبود عملکرد رشد می‌شوند (He و همکاران، ۲۰۱۹). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزودن سین‌بیوتیک‌ها به جیره تأثیر بهتری را بر عملکرد رشد در مقایسه با پروبیوتیک‌ها نشان داد. تفاوت سین‌بیوتیک با پروبیوتیک‌های مورد استفاده در این مطالعه مربوط به فروکتان‌ها

در سین‌بیوتیک‌ها می‌باشد. مطالعات قبلی نیز نشان داده‌اند که فروکتان‌ها ریخت‌شناسی روده را بهبود بخشیدند و از این طریق باعث بهبود عملکرد رشد شدند (Mora و همکاران، ۲۰۱۹). پری‌بیوتیک‌ها باعث بهبود عملکرد پروبیوتیک‌ها می‌شوند و از این طریق اثرات خود را نشان می‌دهند. در مجموع چالش با *سالمونلا* از طریق اثر گذاشتن روی مصرف خوراک و بهبود جمعیت میکروبی روده اثرات منفی خود را نشان می‌دهند، ولی پروبیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها این اثرات منفی را تا حد امکان تخفیف دادند.

چالش با *سالمونلا*، اثرات منفی روی سیستم ایمنی هومورال نشان داد، ولی افزودن پروبیوتیک و سین‌بیوتیک اثرات منفی را بر پاسخ‌های ایمنی کاهش داد. مطالعات قبلی نشان دادند که *سالمونلا* اثرات منفی روی سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی دارد (Jazi و همکاران، ۲۰۱۸: ۲۰۱۹). سالمونلا یک عامل بیماری‌زا است و سیستم ایمنی هومورال را درگیر خود می‌سازد و تولید مداوم آنتی‌بادی، تیتر آنتی‌بادی و ایمونوگلوبین‌ها را کاهش می‌دهد. *سالمونلا* اثرات منفی روی جمعیت باکتری‌های لاکتیک اسیدی می‌گذارد و از این طریق حیوان را مستعد آلوده شدن با *سالمونلا* می‌کند (Shojadoost و همکاران، ۲۰۱۲). همسو با نتایج این مطالعه، هان و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که چالش با *سالمونلا* اثرات منفی روی پاسخ‌های ایمنی داشت و تیتر آنتی‌بادی‌های G و A را کاهش داد. این محققین در توجیه نتایج خود بیان کردند که چالش با *سالمونلا*، اثرات منفی روی لنفوسیت‌ها دارد و همچنین باعث افزایش بیان انترلوکین‌ها می‌شود و از این طریق اثرات منفی روی ایمنی جوجه‌های گوشتی به‌جای می‌گذارد. همچنین، همسو با یافته‌های این مطالعه، نای و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که چالش با *سالمونلا* تیفی‌موریوم اثرات منفی روی پاسخ‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی از طریق افزایش آسیب به ساختار روده را داشت. در رابطه با تأثیر پروبیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها بر بهبود پاسخ‌های ایمنی، مطالعات قبلی تأثیر مثبت پروبیوتیک‌ها و سین-بیوتیک‌ها را در شرایط طبیعی و چالش گزارش کرده‌اند (Mora و همکاران، ۲۰۱۹: Jazi و همکاران، ۲۰۱۹: Fatahi و همکاران، ۲۰۱۷). پروبیوتیک‌های باسیلوسی سیستم ایمنی را از طریق تعامل با سلول‌های پوششی روده بهبود می‌بخشند (Gheisari ۲۰۰۶ and Kholeghipour,). همسو با نتایج این مطالعه، Al-Khalaifa و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که این پروبیوتیک‌ها به‌طور معنی‌داری اثرات منفی *سالمونلا* را بر پاسخ‌های ایمنی کاهش دادند و باعث افزایش تیتر آنتی‌بادی و افزایش گلبول‌های سفید مخصوصا لنفوسیت‌ها شدند. این محققین، بهبود پاسخ‌های ایمنی را به خاصیت آنتی باکتریالی پروبیوتیک‌ها نسبت دادند. He و همکاران (۲۰۱۹) نیز نشان دادند که اثرات پروبیوتیک‌ها بر بهبود سیستم ایمنی، مربوط به تعامل آن‌ها با سلول‌های پوششی بافت روده است و همچنین نشان دادند که پروبیوتیک‌های دارای توانایی تحریک سیستم ایمنی هستند و از این طریق به بهبود سیستم ایمنی کمک می‌کنند. این محققین همچنین نشان دادند که پروبیوتیک‌ها مانع از کلونیزاسیون *سالمونلا*، از طریق رقابت با آن می‌شوند و از این طریق به تقویت پاسخ ایمنی کمک می‌کنند.

اثر بهتر سین‌بیوتیک‌ها در مقایسه با پروبیوتیک‌ها احتمالا مربوط به ساختار پری‌بیوتیک می‌باشد که به افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها و متعاقبا سیستم ایمنی کمک می‌کند.

جدول ۱- جیره‌های آزمایشی در دوره‌های مختلف

اجزا (گرم/کیلوگرم)	آغازین	رشد	پایانی
ذرت	۵۸۴/۱۶	۶۰۹/۹۳	۶۵۷/۰۹
کنجاله سویا	۲۵۰/۰۵	۲۱۰/۱۱	۱۷۹/۱۲
کنجاله گلوتن ذرت	۷۰/۲۶	۷۸/۰۸	۷۱/۱۰
پودر ماهی (۶۸٪ پروتئین خام)	۴۹/۰۰	۵۱/۰۰	۳۲/۰۰
روغن سویا	۱۸/۴۰	۱۵/۰۶	۱۵/۱۲
دی کلسیم فسفات	۷/۹۰	۱۰/۰۸	۹/۶۳
کلسیم کربنات	۵/۰۰	۷/۰۰	۵/۱۰
مکمل ویتامینه-مواد معدنی	۵/۱۰	۱۰/۲۰	۲۰/۱۷
نمک	۳/۲۲	۲/۸۵	۴/۱۰
دی- ال متیونین	۲/۲۱	۲/۱۶	۲/۱۹
ال- لیزین	۱/۴۵	۰/۸۵۶	۰/۸۲۱
ال-ترئونین	۱/۱۸	۱/۳۲	۱/۴۲۱
سدیم بیکربنات	۱/۱۶	۰/۸۱۵	۰/۸۰۸
ال-آرژینین	۰/۸۲۱	۰/۵۵۵	۰/۵۴۱
ترکیب شیمیایی محاسباتی			
انرژی متابولیسمی**kcal/kg**	۳/۰۰۰	۳۱۰۰	۳۲۰۰
پروتئین (درصد)	۲۳/۰۰	۲۱/۵۰	۱۹/۵۰
کلسیم (گرم/کیلوگرم)	۹/۵۸	۸/۶۹	۷/۶۰
فسفرقابل دسترس (درصد)	۷/۵۳	۶/۸۵	۶/۴۵
سدیم (گرم/کیلوگرم)	۱/۷۸	۱/۷۹	۱/۸۰
متیونین (گرم/کیلوگرم)	۵/۰۹	۴/۶۹	۴/۲۷
متیونین+سیستئین (گرم/کیلوگرم)	۸/۱۹	۷/۵۹	۶/۹۹
لیزین (گرم/کیلوگرم)	۱۲/۷۹	۱۱/۴۹	۱۰/۲۸
تعادل آنیون-کاتیونی (میلی اکی والان/کیلوگرم)	۲۴۸/۲۰	۲۳۰/۵۱	۲۱۳/۲۱

هر ۲/۵ کیلوگرم از مکمل معدنی حاوی مقادیر خالص ذیل می باشد: منگنز ٦٦٠٠٠ میلی‌گرم، آهن ۳۳۰۰۰ میلی‌گرم ، روی ٦٦٠٠٠ میلی‌گرم، مس ۸۸۰۰ میلی‌گرم،ید ۹۰۰ میلی‌گرم،سلنیم ۳۰۰ میلی‌گرم. هر ۲/۵ کیلوگرم از مکمل ویتامینه حاوی مقادیر خالص ذیل می باشد:ویتامین A ۷۷۰۰۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین B1 ۱۵۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B2 ٤٤٠٠ میلی‌گرم، ویتامین B3 ۵۵۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B6 ۳۰۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B12 ۸/۸ میلی‌گرم، ویتامین D3 ۳۳۰۰۰۰۰ میلی‌گرم، ویتامین E ٦٦٠٠ میلی‌گرم، ویتامین K3 ۵۵۰ میلی‌گرم، ویتامین B9 ۱۱۰ میلی‌گرم، ویتامین B5 ۲۲۰۰۰ میلی‌گرم، ویتامین H2 ۵۵ میلی‌گرم، کولین کلراید ۲۷۵۰۰۰ میلی‌گرم و آنتی اکسیدان ۱۰۰ میلی‌گرم.

جدول ۲ -اثرات اصلی و متقابل پروبیوتیک و سین‌بیوتیک با چالش بر خوراک مصرفی روزانه، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک مصرفی در سن ۴۲ روزگی

گروه‌ها	گرم/پرنده/روز			شاخص تولید
	افزایش وزن	خوراک مصرفی	ضریب تبدیل غذایی	
اثرات اصلی[1]				
چالش				
عدم چالش	۶۹/۱۱±۲/۸۷^{a}	۱۱۶/۲۲±۱/۹۴^{a}	۱/۷۰±۰/۰۷^{b}	۴۰۱/۳۶±۱۰/۰۷^{a}
اعمال چالش	۶۱/۷۲±۳/۱۹^{b}	۱۱۲/۵۵±۲/۷۴^{b}	۱/۸۴±۰/۰۶^{a}	۳۲۸/۵۱±۱۱/۰۶^{b}
نوع افزودنی				
بدون افزودنی	۶۱/۹۱±۴/۲۵^{c}	۱۱۳/۰۸±۰/۸۱^{c}	۱/۷۱±۰/۰۷^{c}	۳۲۷/۲۵±۱۲/۱۷^{c}
افزودن پروبیوتیک	۶۵/۵۸±۴/۰۱^{b}	۱۱۴/۵۰±۱/۹۷^{b}	۱/۷۵±۰/۰۷^{b}	۳۶۸/۱۴±۱۱/۶۶^{b}
افزودن سین‌بیوتیک	۶۸/۷۵±۳/۶۷^{a}	۱۱۵/۵۸±۱/۲۴^{a}	۱/۸۵±۰/۰۷^{a}	۳۹۹/۴۲±۹/۸۷^{a}
ارزش معنی داری				
چالش	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
نوع افزودنی	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
چالش× نوع افزودنی	۰/۴۸۲	۰/۰۰۰	۰/۰۲۴	۰/۴۳۷
خطای استاندارد	۰/۷۹۹	۰/۴۵۸	۰/۰۱۶	۸/۱۶
اثرات متقابل تیمارها				
کنترل منفی	۶۳/۵۸±۱/۴۷^{c}	۱۱۶/۶۶±۰/۸۱^{a}	۱/۷۹±۰/۰۴^{c}	۳۶۱/۹۰±۱۷/۵۹^{c}
کنترل مثبت	۵۸/۰۰±۰/۸۹^{e}	۱۰۹/۵۰±۱/۳۷^{b}	۱/۹۱±۰/۰۲^{a}	۲۹۲/۶۱±۱۸/۶۳^{e}
پروبیوتیک منفی	۶۹/۳۳±۱/۰۳^{b}	۱۱۶/۱۶±۰/۷۵^{a}	۱/۶۹±۰/۰۲^{c}	۴۰۲/۶۰±۱۰/۰۱^{b}
پروبیوتیک مثبت	۶۱/۸۳±۰/۷۵^{d}	۱۱۲/۸۳±۱/۱۶^{c}	۱/۸۱±۰/۰۶^{b}	۳۳۳/۶۸±۱۳/۷۶^{d}
سین بیوتیک منفی	۷۲/۱۶±۰/۷۵^{a}	۱۱۵/۸۳±۱/۱۶^{a}	۱/۶۲±۰/۰۲^{d}	۴۳۹/۶۰±۱۰/۰۷^{a}
سین بیوتیک مثبت	۶۵/۳۳±۱/۰۳^{c}	۱۱۵/۳۳±۱/۳۶^{a}	۱/۷۹±۰/۰۲^{b}	۳۵۹/۲۴±۱۰/۹۶^{c}

حروف مختلف در هر ستون (a-e) اختلاف معنی‌دار در همان ستون را در سطح ۵ درصد نشان می‌دهد.

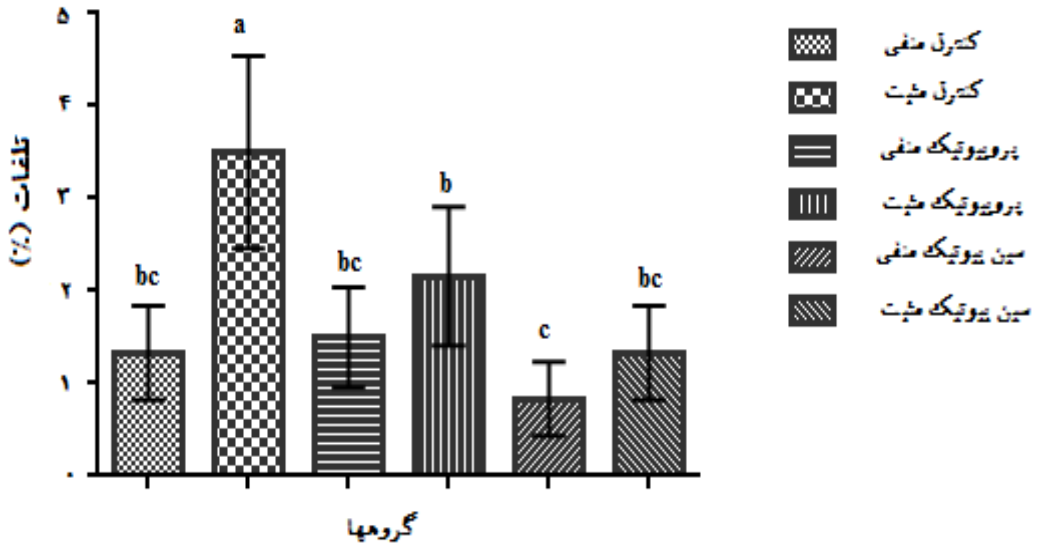
[1] سطوح سین بیوتیک و پروبیوتیک مورد استفاده در جیره، ۰/۲ گرم بر کیلوگرم در نظر گرفته شد.

جدول ۳- اثرات اصلی و متقابل پروبیوتیک و سین‌بیوتیک با چالش بر میزان ایمونوگلوبین‌ها (نانوگرم/میلی‌لیتر) جوجه‌های گوشتی چالش یافته با *سالمونلا*

گروه‌ها	ایمونوگلوبین **G**	ایمونوگلوبین **M**
اثرات اصلی[1]		
چالش		
عدم چالش	۹۶۳/۴۴±۲۵/۸۷^{a}	۳۰۹/۶۱±۶/۹۰^{a}
اعمال چالش	۸۶۶/۲۲±۳۳/۲۹^{b}	۲۹۶/۴۴±۸/۵۰^{b}
نوع افزودنی		
بدون افزودنی	۸۹۴/۰۰±۶۲/۹۳^{c}	۲۹۶/۴۱±۱۰/۰۴^{c}
افزودن پروبیوتیک	۹۱۵/۴۱±۶۲/۲۷^{b}	۳۰۲/۸۳±۷/۸۷^{b}
افزودن سین‌بیوتیک	۹۳۵/۰۸±۱۰/۴۷^{a}	۳۰۹/۸۳±۳/۹۴^{a}
ارزش معنی داری		
چالش	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
نوع افزودنی	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
چالش× نوع افزودنی	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰
خطای استاندارد	۹/۵۲	۱/۵۵
اثرات متقابل تیمارها		
کنترل منفی	۹۵۲/۶۶±۱۶/۱۴^{a}	۳۰۵/۸۳±۲/۶۴^{c}
کنترل مثبت	۸۳۵/۳۳±۱۴/۱۳^{c}	۲۸۷/۰۰±۱/۴۱^{e}
پروبیوتیک منفی	۹۷۳/۵۰±۳/۹۸^{a}	۳۰۹/۸۳±۳/۰۶^{b}
پروبیوتیک مثبت	۸۵۷/۳۳±۲۰/۴۹^{c}	۲۹۵/۸۳±۳/۰۷^{d}
سین بیوتیک منفی	۹۶۴/۱۶±۳۹/۵۵^{a}	۳۱۳/۱۶±۱/۳۲^{a}
سین بیوتیک مثبت	۹۰۶/۰۰±۲/۸۰^{b}	۳۰۶/۵۰±۲/۴۲^{a}

حروف مختلف در هر ستون (a-e) اختلاف معنی‌دار در همان ستون را در سطح ۵ درصد نشان می‌دهد.

[1] سطوح سین بیوتیک و پروبیوتیک مورد استفاده در جیره، ۰/۲ گرم بر کیلوگرم در نظر گرفته شد.



نمودار ۱ اثرات پروبیوتیک و سین‌بیوتیک بر درصد تلفات جوجه‌های گوشتی چالش یافته با سالمونلا.
حروف مختلف (a-c) اختلاف معنی‌دار در همان ستون را در سطح ۵ درصد نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به‌دست آمده، چالش با *سالمونلا* اثرات منفی بر عملکرد، شاخص تولید و پاسخ ایمنی داشت و باعث افزایش تلفات شد، ولی افزودن ۰/۲ گرم بر کیلوگرم از دو مکمل تولیدی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران در جیره به دلیل ویژگی‌های پروبیوتیکی و سین‌بیوتیکی، توانست پاسخ‌های ایمنی را بهبود بخشد، تأثیر منفی *سالمونلا* را بر عملکرد رشد کاهش دهد و اثرات مثبتی بر شاخص تولید، عملکرد و سیستم ایمنی جوجه‌ها در هر دو شرایط چالشی و غیر چالشی نشان دهند.

منابع

Adhikari, P.A. and Kim, W.M. (2017). Overview of prebiotics and probiotics: focus on performance, gut health and immunity–a review. *Annals of Animal Science*. 17: 949-966.

Adil, S. and Magray, S.N. (2012). Impact and manipulation of gut microflora in poultry: A review. *Journal of Animal Science and Veterinary Advance*. 6: 873–877.

Al-Khalaifa, H., Al-Nasser, A., Al-Surayee, T., Al-Kandari, S., Al-Enzi, N., Al-Sharrah, T., Ragheb, G., Al-Qalaf, S. and Mohammed A. (2019). Effect of dietary probiotics and prebiotics on the performance of broiler chickens. *Poultry Science*. 98: 4465-4479.

AOAC. (2000). Official methods of analysis. Washington DC: Association of Official Analytical Chemist.

Aviagen. Ross 308 broiler. (2014). Nutrition specification. Newbridge, Midlothian, Scotland, UK: Ross Breeders Limited.

Chen, C., Li, J., Zhang, H., Xie, Y., Xiong, L., Liu, H. and Wang, F. (2020). Effects of a probiotic on the growth performance, intestinal flora, and immune function of chicks infected with *Salmonella* pullorum. *Poultry Science*. 99: 5316-5323.

Chen, F., Gao, S.S., Zhu, L.Q., Qin, S.Y. and Qiu, H.L. (2018). Effects of dietary *Lactobacillus rhamnosus* CF supplementation on growth, meat quality, and microenvironment in specific pathogen-free chickens. *Poultry Science.* 97: 118–123.

Cooper, K.K., Songer, J.G. and Uzal, F.A. (2013). Diagnosing clostridial enteric disease in poultry. *Journal of Veterinary Diagnosis Investigation.* 25: 314–327.

Eeckhaut, V., Wang, J., Van Parys, A., Haesebrouck, F., Joossens, M., Falony, G., Raes, J. and Ducatelle, R. (2016). The probiotic butyricicoccus pullicaecorum reduces feed conversion and protects from potentially harmful intestinal microorganisms and necrotic enteritis in broilers. *Frontier Microbiology.* 7: 1–9.

Fatahi, M.M., Ebeid, T.A., Al-Homidan, I., Soliman, N.K. and Abou-Emera, O.K. (2017). Influence of probiotic supplementation on immune response in broilers raised under hot climate. *British Poultry Science.* 58: 512–516.

Finstad, S., O'Bryan, C.A., Marcy, J.A., Crandall, P.G. and Ricke, S.C. (2012). Salmonella and broiler processing in the United States: Relationship to foodborne salmonellosis. *Food Research International.* 45: 789–794.

Fisinin, V.I. and Surai, P. (2013). Gut immunity in birds: Facts and reflections (review). *Sel'skokhozyaistvennaya Biology.* 4: 3–25.

Gaucher, M.-L., Quessy, S., Letellier, A., Arsenault, J. and Boulianne, M. (2015). Impact of a drug-free program on broiler chicken growth performances, gut health, Clostridium *perfringens* and *Campylobacter* jejuni occurrences at the farm level. *Poultry Science.* 94: 1791–1801.

Gheisari, A.A. and Kholeghipour, B. (2006). Effect of dietary inclusion of live yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth performance, immune responses and blood parameters of broiler chickens. In Proceedings of the XII European Poultry Conference, Verona, Italy, 9 November.

He, S., Yin, Q., Xiong, Y., Liu, D. and Hu, H. (2020). Effects of dietary fumaric acid on the growth performance, immune response, relative weight and antioxidant status of immune organs in broilers exposed to chronic heat stress. *Czech Journal of Animal Science.* 65: 104–113.

He, T., Long, S., Mahfuz, S., Wu, D., Wang, X., Wei, X. and Piao, X. (2019). Effects of probiotics as antibiotics substitutes on growth performance, serum biochemical parameters, intestinal morphology, and barrier function of broilers. *Animals.* 9: 985-991.

Huyghebaert, G., Ducatelle, R. and Van Immerseel, F. (2011). An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *Veterinary Journal.* 187: 182–188.

Jazi, V., Foroozandeh, A.D., Toghyani, M., Dastar, B., Rezaie Koochaksaraie, R., Toghyani, M. (2018). Effects of *Pediococcus acidilactici*, mannan-oligosaccharide, butyric acid and their combination on growth performance and intestinal health in young broiler chickens challenged with *Salmonella* Typhimurium. *Poultry Science.* 97:2034–2043.

Jazi, V., Mohebodini, H., Ashayerizadeh, A., Shabani, A. and Barekatain, R. (2019). Fermented soybean meal ameliorates *Salmonella* Typhimurium infection in young broiler chicks. *Poultry Science.* 0:1–13.

Laptev, G., Filippova, V.A., Kochish, I.I., Yildirim, E.A., Ilina, L.A., Dubrovin, A.V., Brazhnik, E.A., Novikova, N.I., Novikova, O.B., Dmitrieva, M.E., Smolensky, V.I., Surai, P.F., Grin, D.K. and Romanov, M.N. (2019). Examination of the expression of immunity genes and bacterial profiles in the caecum of growing chicks infected with *Salmonella enteritidis* and fed a phytobiotic. *Animals*. 9: 615-623.

Momeni, M. (2014). New topics in operations research. 6th ed. Moallef Publications, Tehran, Iran, 10-50.

Mora, L.Z., Nuño, K., Vázquez-Paulino, O., Avalos, H., Castro-Rosas, J., Gómez-Aldapa, C., Angulo, C., Ascencio, F. and Villarruel-López, A. (2019). Effect of a synbiotic mix on intestinal structural changes, and *Salmonella Typhimurium* and *Clostridium perfringens* colonization in broiler chicks. *Animals* 9: 777-785.

Naghi, A.S., Ghasemi, H.A. and Taherpour, K. (2017). Evaluation of Aloe vera and synbiotic as antibiotic growth promoter substitutions on performance, gut morphology, immune responses and blood constitutes of broiler chicks. *Animal Science Journal*. 88: 306–313.

Olkowski, A.A.,Wojnarowicz, C., Chirino-Trejo, M., Laarveld, B. and Sawicki, G. (2008). Sub-clinical necrotic enteritis in broiler chicks: Novel etiological consideration based on ultra-structural and molecular changes in the intestinal tissue. *Research in Veterinary Science.* 85: 543–553.

Pulido-Landínez, M. (2019). Food safety-Salmonella update in broilers. *Animal Feed Science and Technology.* 250: 53–58.

Shao, Y., Wang, Z., Tian, X., Guo, Y. and Zhang, H. (2016). Yeastˆ1 2- d -glucans induced antimicrobial peptide expressions against Salmonella infection in broiler chickens. *International Journal of Biological Macromolecule.* 85:573–584.

Shojadoost, B., Vince, A.R. and Prescott, J.F. (2012). The successful experimental induction of necrotic enteritis in chickens by *Clostridium perfringens*: A critical review. *Veterinary Research.* 43: 1-15.

Van Immerseel, F., Rood, J.I., Moore, R.J. and Titball, R.W. (2009). Rethinking our understanding of the pathogenesis of necrotic enteritis in chicks. *Trends in Microbiology.* 17: 32–36.