

Comparative evaluation of antibacterial effects of aqueous extract of Garlic (*Allium sativum*) and Enrofloxacin following experimental infection with *Salmonella typhimurium* (PTCC: 1709) in broiler chickens

Rahmani-Dizgah, B.¹, Anzabi, Y.^{2*}, Rahmani-Kahnamoe, J.³

1- D.V.M. Graduate, Faculty of Veterinary Medicine, TaMS.C., Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

2- Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, TaMS.C., Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

3- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, TaMS.C., Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

*Corresponding author's email: anzabi@iaut.ac.ir

(Received: 2024/11/5 Accepted: 2025/3/3)

Abstract

Infection with salmonella bacteria can lead to serious complications for the health of animals as well as humans, and providing effective control strategies is of particular importance. In recent years, the garlic plant (*Allium sativum*) has received widespread attention in the control of bacterial infections, including salmonella, due to its natural antibacterial properties. Therefore, the present study was conducted to compare the effects of aqueous extract of garlic and enrofloxacin antibiotic against experimental infection caused by *Salmonella typhimurium* (PTCC: 1709) in broilers. For this purpose, 35 broilers (in 5 groups) were used and antibiogram tests, determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and bactericidal concentration (MBC) and total bacterial counts were performed. It was found that experimental infection with the tested bacteria was obtained by using 0.8 ml of microbial suspension according to McFarland standard 1 and after 48 hours. Also, enrofloxacin was able to control the growth of the mentioned bacteria more effectively, so that in the penetration test in the well, the diameter of the non-growth zone was 49 mm and the MIC and MBC were equal to 0.00244% while the mentioned factors for the aqueous extract of garlic were 9 mm, 12.5 and 25%, respectively. On the other hand, there were relatively significant mortalities in the chickens of the positive control group and the group treated with enrofloxacin, while no mortalities were observed in the negative control group and the groups treated with garlic extract (in 2 different doses). It seems that the findings of the present study can be used as a source of scientific information to implement the use of garlic in the poultry industry to control *Salmonella* infection.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Antibacterial property, Aqueous extract of garlic, Broiler chicken, Enrofloxacin, *Salmonella* infection.

"مقاله پژوهشی"

DOI: 10.71499/jvcp.2025.1188976

ارزیابی مقایسه‌ای اثرات ضدباکتریایی عصاره^۱ آبی سیر (*Allium sativum*) و آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین متعاقب ایجاد عفونت تجربی توسط سالمونلا تایفی موریوم (PTCC:1709) در جوجه‌های گوشتی

بنیامین رحمانی‌دیزگاه^۱، یونس انزابی^{۲*}، جعفر رحمانی‌کهنمویی^۳

۱- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۳- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: anzabi@iaut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۸/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۳)

چکیده

آلودگی به باکتری سالمونلا می‌تواند به عوارض جدی برای سلامتی انسان‌ها و همچنین حیوانات منجر شود و ارایه راهکارهای مؤثر برای کنترل آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در سال‌های اخیر گیاه سیر (*Allium sativum*) به دلیل خاصیت ضدباکتریایی طبیعی، در کنترل عفونت‌های باکتریایی، از جمله سالمونلا، مورد توجه قرار گرفته است. تحقیق حاضر، با هدف ارزیابی مقایسه‌ای اثرات عصاره آبی سیر و آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین علیه عفونت تجربی ناشی از سالمونلا تایفی موریوم (PTCC:1709) در جوجه‌های گوشتی انجام شد. بدین منظور از تعداد ۳۵ قطعه جوجه گوشتی (در قالب ۵ گروه) و آزمون‌های آنتی‌بیوگرام، تعیین حداقل غلظت‌های ممانعت از رشد (MIC) و باکتری‌کشی (MBC) و نیز شمارش کلی استفاده شد. مشخص گردید که آلودگی تجربی توسط باکتری مورد آزمایش، با استفاده از مقدار ۰/۸ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی مطابق استاندارد ۱ مک فارلند و پس از ۴۸ ساعت حاصل می‌شود. همچنین آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین به طور مؤثرتری توانست باکتری سالمونلا تایفی موریوم را کنترل کند، به‌طوری‌که در آزمون نفوذ در چاهک، قطر منطقه عدم رشد ۴۹ میلی‌متری و MIC و نیز MBC معادل ۰/۰۰۲۴۴ درصد ایجاد کرد، درحالی‌که فاکتورهای مذکور برای عصاره آبی سیر به ترتیب ۹ میلی‌متر، ۱۲/۵ و ۲۵ درصد بود. از طرف دیگر در مورد جوجه‌های گروه کنترل مثبت و گروه تیمار با انروفلوکساسین، تلفات نسبتاً قابل توجهی وجود داشت، در حالی‌که در مورد گروه کنترل منفی و گروه‌های تیمار شده با عصاره سیر (در ۲ دوز مختلف)، تلفاتی مشاهده نشد. به نظر می‌رسد که یافته‌های تحقیق حاضر می‌تواند به‌عنوان منبع اطلاعات علمی، جهت کاربردی سازی استفاده از گیاه سیر در صنعت پرورش طیور به منظور کنترل آلودگی نسبت به باکتری سالمونلا مؤثر باشد.

کلیدواژه‌ها: جوجه گوشتی، عفونت سالمونلایی، انروفلوکساسین، عصاره آبی سیر، خاصیت ضدباکتریایی.

مقدمه

خانواده انتروباکتریاسه، شامل مجموعه‌ای از باکتری‌های گرم‌منفی است که بیش از ۵۰ جنس، ده‌ها گونه و هزاران سویه را در بر می‌گیرد که در همه‌جای کره زمین، مخصوصاً روده انسان و حیوانات یافت می‌شوند. سالمونلا، یکی از اعضای خانواده مذکور بوده و به عنوان یکی از عوامل اصلی بیماری‌های غذازاد و تلفات بسیار بالا در جهان مطرح است. باکتری مذکور از طریق مدفوع، ادرار و غذاهای آلوده منتقل می‌شود و می‌تواند بیماری‌هایی مانند سپتی‌سمی و عفونت روده‌ای ایجاد کند (Alvez et al., 2022). با توجه به این‌که گزارش‌ها نشان می‌دهد، آلودگی به باکتری سالمونلا، یکی از مسایل مهم و حیاتی در صنایع مرغداری و دامپروری است و می‌تواند به عوارض جدی برای سلامتی حیوانات و همچنین انسان‌ها منجر شود، بنابراین ارایه راهکارهای مؤثر برای کنترل و پیشگیری از آلودگی مذکور، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Khodadadeh-Jigheh and Anzabi, 2023).

آنتی‌بیوتیک‌ها داروهایی هستند که با کشتن یا مهار رشد باکتری‌ها، با عفونت‌های باکتریایی مقابله می‌کنند، اما استفاده نامناسب از آن‌ها می‌تواند منجر به مقاومت باکتریایی شود، لذا برای انتخاب مناسب‌ترین آنتی‌بیوتیک، از آزمون‌های اختصاصی لازم از جمله آنتی‌بیوگرام، تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد (minimum inhibitory concentrations; MIC) و نیز حداقل غلظت باکتری‌کشی (minimum bacterial concentrations; MBC) آن‌ها استفاده می‌شود (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control, 2021).

2019-2021). انروفلوکساسین آنتی‌بیوتیکی از خانواده

فلوروکینولون‌هاست که به‌طور گسترده در دامپزشکی برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم‌منفی و گرم‌مثبت استفاده می‌شود که از طریق مهار آنزیم DNA ژیراز (DNA gyrase) باکتری‌ها عمل کرده و با اثرگذاری بر همانند سازی و عملکرد DNA، رشد و تکثیر باکتری‌ها را متوقف می‌سازد. با این حال، بروز مقاومت باکتری‌ها به فلوروکینولون‌ها از جمله انروفلوکساسین، در سال‌های اخیر، به‌عنوان یک چالش مهم در بهداشت عمومی مطرح شده‌است (Grabowski et al., 2022). لذا در حال حاضر مقابله با مقاومت آنتی‌بیوتیکی با استفاده از جایگزین‌هایی نظیر گیاهان دارویی و مخصوصاً ترکیبات موثره آن‌ها، بسیار مهم و حیاتی گزارش شده‌است. بر این اساس استفاده هوشمندانه از آنتی‌بیوتیک‌ها و نیز جایگزین‌های آن‌ها در روند درمان و پیشگیری، بسیار اهمیت دارد (Friedman, 2015).

گیاه سیر به عنوان منبع ارزشمندی از عناصر ماکرو و میکرو از جمله پتاسیم، فسفر، آهن، منگنز، سلنیوم، و انادیم، مس و روی شناخته می‌شود که مقادیر متفاوتی از عناصر مذکور در ساختار سیر کشت‌شده در مناطق مختلف جهان وجود دارد (Polyakov et al., 2020). در سال‌های اخیر، عصاره سیر به عنوان یک ماده ضد میکروب طبیعی مؤثر شناخته شده و مورد تأیید قرار گرفته است (Anzabi, 2016; Chand, 2021; Bekele and Gebisa, 2022; Nada et al., 2022)، چراکه گیاه سیر حاوی حدود ۲۰۰۰ ترکیب زیست فعال مختلف از جمله ترکیبات گوگردی فرار مانند دی‌الیل سولفید (DADS) و دی‌الیل تری‌سولفید (DATS)، عصاره‌های روغنی، فیبرهای غذایی، قند،

تایفی‌موریوم (PTCC:1709) و ارزیابی مقایسه‌ای توانایی آن‌ها علیه عفونت تجربی حاصله از باکتری مذکور بود.

مواد و روش‌ها

-تهیه عصاره آبی سیر: مطالعه حاضر از نوع تجربی توصیفی بود که در سال ۱۴۰۲ در دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تبریز انجام گرفته است. بدین منظور ابتدا هویت علمی گیاه سیر (*Allium sativum*) خریداری شده از منطقه تالش استان گیلان از طریق مراجعه به هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان (33690451) تأیید شد. سپس حبه‌های تازهٔ سیرهای مذکور پس از پوست‌گیری، خرد شده و در شرایط سایه خشک گردیدند. در مرحله بعد، حبه‌های خردشده، با آب مقطر استریل آغشته شده و به مدت ۴۸ ساعت در آن غوطه‌ور شدند. پس از این مرحله، عصاره آبی سیر مطابق روش توصیه‌شده توسط بکله و گیبیزا جدا شده و در دمای ۵۰ درجه سلسیوس تا خشک‌شدن کامل تحت فرآیند گرمادهی توسط دستگاه گرمخانه (پارس آزمون، ایران) قرار گرفت (Bekele and Gebisa, 2022). در نهایت ۱۰۰ میلی‌لیتر از عصاره به‌دست‌آمده برای انجام آزمون‌های *in vivo* و *in vitro* مورد نظر، در یخچال نگه‌داری شده و استفاده گردید.

-سوش میکروبی استفاده‌شده: سوش میکروبی استفاده‌شده در تحقیق حاضر، سروتیپ استاندارد باکتری *سالمونلا تایفی‌موریوم* با کد PTCC:1709 بود که با سفارش به مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (تهران، ایران) خریداری و تأمین شده‌بود.

فلاونوئیدها و پکتین است که دارای خواص ضداکسیدان، ضدسرطان، ضد میکروب، ضدالتهاب و درعین حال، محافظتی برای قلب و سیستم ایمنی بدن هستند (Chand, 2021; Bekele and Gebisa, 2022). چندین میکروارگانیسم بیماری‌زای مهم وجود دارد که شیوع بیماری از راه تماس و مصرف غذاهای با منشأ طیور، غالباً با آن‌ها ارتباط دارد که از شایع‌ترین آن‌ها، بیشتر سروتیپ‌های باکتری *سالمونلا/یتتریکا* می‌باشند (Antunes et al., 2016) و بر این اساس گوشت مرغ و تخم‌مرغ آلوده از مهم‌ترین منابع انتقال آن‌ها به انسان محسوب می‌شوند (Miranzadeh et al., 2012; Haji, 2021). گزارش شده است که سالمونلوزیس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی مشترک انسان و حیوانات، با گستردگی جهانی است که مشکلات فراوانی را از نظر بهداشتی و اقتصادی در اکثر کشورها ایجاد می‌نماید. در واقع انواع سروتیپ‌های *سالمونلا/یتتریکا* به عنوان باکتری مشترک بین انسان و حیوانات، می‌توانند عفونت‌های سالمونلایی را ایجاد کنند و بر این اساس، محصولات طیور، از جمله منابع بالقوه برای انتقال آن می‌باشند (Munck et al., 2020; Alvez et al., 2022; Kong et al., 2022).

با توجه به اهمیت مطالب ذکرشده و با توجه به این‌که، برای کاربردی کردن مصرف اسانس‌های گیاهی در طب مکمل، بررسی اثرات ضد میکروبی آن‌ها در ممانعت از رشد باکتری‌های بیماری‌زا در محیط آزمایشگاهی و مدل حیوانی ضرورت دارد، لذا هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی اثرات ضدباکتریایی اسانس آبی سیر در مقایسه با آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین بر سویه استاندارد باکتری *سالمونلا*

- آماده‌سازی و بررسی عدم آلودگی جوجه‌ها: تعداد ۳۵ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه از یک مزرعه پرورشی واقع در جاده اهر- تبریز (استان آذربایجان شرقی) خریداری شده و پس از حمل به مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تبریز، ضمن قرارگیری در داخل ۷ جعبه کوچک تمیز با امکان هوادهی مناسب دسته‌بندی شدند، به‌طوری‌که هر جعبه شامل ۵ قطعه جوجه بود. برای اطمینان از سالم بودن جوجه‌ها، بلافاصله در روز اول تحقیق، به مقدار کافی از مدفوع همه جوجه‌ها نمونه‌برداری شده و داخل ظروف استریل قرار گرفته در کیف مخصوص حمل نمونه‌های میکروبی (cool box)، به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشکده دامپزشکی ارسال گردید. نمونه‌های مدفوع پس از غنی‌سازی اختصاصی در محیط تتراتیونات به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سلسیوس، با برداشت مقدار کافی از آن، در محیط XLD (Xylose Lysine Deoxycholate) کشت خطی منطقه‌ای داده شدند و در ادامه و پس از گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت در دمای ۴۳ درجه سلسیوس، مشاهده پرگنه‌های قرمز و تولید گاز H_2S ، نشانه حضور باکتری سالمونلا تلقی شد (Markey, et al., 2013). لازم به ذکر است که همه محیط‌های کشت استفاده شده، ساخت شرکت مرک (Merck, Germany) و دستگاه گرمخانه استفاده شده هم ساخت شرکت ممرت (Mermert, Germany) بودند. همچنین وزن تمامی جوجه‌ها نیز در روز اول به‌وسیله ترازوی دقیق آزمایشگاهی (Matheo, China) اندازه‌گیری شد (میانگین وزن جوجه‌ها در محدوده ۱۵۰ گرم ثبت گردید). آب و غذا به صورت آزاد در دسترس

جوجه‌ها قرار گرفت و دمای محیط نگهداری آن‌ها، در محدوده ۳۶ درجه سلسیوس تنظیم شد. برای تهیه هوای محیط، دستگاه هواده و هواکش مناسب هم تعبیه شد. لازم به ذکر است که در همه مراحل تحقیق حاضر، کلیه پروتکل‌های لازم جهت کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی و نیز همه ملاحظات اخلاقی مورد تایید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات، رعایت گردید.

- نحوه انجام آزمون انتشار از چاهک جهت بررسی فعالیت ضدباکتریایی ترکیبات مورد آزمایش (آزمون آنتی‌بیوگرام): در بخش بررسی‌های آزمایشگاهی (in vitro) تحقیق حاضر، ابتدا جهت بررسی فعالیت ضد-باکتریایی آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر بر روی سوش مورد نظر از باکتری سالمونلا، از آزمون نفوذ عصاره و آنتی‌بیوتیک به چاهک براساس روش کربی-بویر، استفاده گردید (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control, 2021).

- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی از رشد (minimum inhibition concentration; MIC) ترکیبات مورد آزمایش: حداقل غلظت بازدارندگی از رشد عصار آبی تهیه‌شده از گیاه سیر و نیز آنتی‌بیوتیک مورد نظر، به روش میکروورق‌سازی مایع و با استفاده از میکروپلیت ۹۶ چاهکی تعیین شد. بدین منظور، ابتدا در همه چاهک‌های ردیف‌های لازم، به‌طور جداگانه مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هیتون براث (Merck, Germany) را اضافه نموده، سپس ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی تهیه‌شده با رقت ۰/۵ مک فارلند، به همه چاهک‌ها اضافه شد. در ادامه به هرکدام از چاهک‌های شماره ۱ تا شماره ۱۴، مقدار ۱۰۰

میکرولیتتر از رقت‌های متوالی (serial two-fold dilutions) از عصاره و آنتی‌بیوتیک مورد آزمایش (معادل ۰/۱۹۵ الی ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اضافه گردید. لازم به ذکر است که چاهک شماره ۱۵ فقط حاوی سوسپانسیون باکتریایی به عنوان شاهد باکتری و چاهک شماره ۱۶ حاوی محیط کشت مولر هیتون براث به اضافه سوسپانسیون باکتریایی، به عنوان کنترل محیط کشت (کنترل منفی) و چاهک شماره ۱۷ حاوی محیط کشت مذکور به اضافه عصاره و یا آنتی‌بیوتیک (بسته به مورد)، به عنوان کنترل ماده (کنترل مثبت)، با حجم نهایی مشابه حجم نهایی دیگر چاهک‌ها، در نظر گرفته شد. در نهایت پس از مخلوط کردن یکنواخت محتویات همه چاهک‌ها توسط شیکر صفحه‌ای، میکروپلیت به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از طی مدت مذکور، محتویات چاهک‌ها از نظر وجود یا عدم وجود کدورت مورد بررسی قرار می‌گرفتند و رقت چاهکی که حاوی کمترین غلظت (بالاترین رقت) از عصاره یا آنتی‌بیوتیک مورد آزمایش بود و باعث جلوگیری از رشد باکتری شده بود (مشاهده عدم ایجاد کدورت)، به عنوان حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری مورد آزمایش توسط ترکیب مورد نظر (MIC)، ثبت می‌شد (Maghsoudi and Saeidi, 2020; Bekele and Gebisa, 2022; Siddique et al., 2022).

- تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی (minimum bactericidal concentration; MBC) ترکیبات مورد آزمایش: جهت سنجش حداقل غلظت باکتری‌کشی عصاره و آنتی‌بیوتیک مورد آزمایش، از غلظت‌های معادل MIC هریک از ترکیبات مورد آزمایش و نیز یک غلظت کمتر و یک غلظت بیشتر از غلظت مربوط به

MIC ترکیبات مورد آزمایش که در مرحله قبل تعیین گردیده بود، استفاده شد. بدین منظور در شرایط کاملاً استریل و در نزدیکی شعله به مقدار کافی از ترکیبات فوق با غلظت‌های ذکر شده، بوسیله آنس برداشت گردید و جداگانه در سطح ۳ محیط کشت جامد عصاره قلب و مغز (Merck, Germany) به صورت نقطه‌ای کشت داده شد. در ادامه و پس از گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت، بالاترین رقتی از ترکیب مورد آزمایش (کمترین غلظت) که منجر به عدم رشد باکتری مورد نظر شده بود، به عنوان حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) هریک از ترکیبات مورد آزمایش، در نظر گرفته شد (Maghsoudi and Saeidi, 2020; Bekele and Gebisa, 2022; Siddique et al., 2022).

- روش شمارش کلی سالمونلاها: در تحقیق حاضر برای دقت بیشتر در ارزیابی میزان آلودگی تجربی سالمونلایی براساس شمارش کلی باکتری‌ها، از روش MPN (the most probable number) نیز همزمان با کشت و جداسازی باکتری سالمونلا تایفی موریوم استفاده گردید، به این صورت که با استفاده از ۰/۵ گرم از هر نمونه مدفوع و بافر فسفات استریل، سوسپانسیون مدفوعی ۱۰ درصد تهیه شد و سپس از رقت حاصله، ۰/۵ میلی‌لیتر برداشت کرده و مطابق پروتکل توصیف شده توسط سازمان استاندارد ملی ایران عمل گردید (Iranian National Standardization Organization: 1810-1, 2019).

- نحوه ایجاد عفونت تجربی سالمونلایی در جوجه‌های گوشتی مورد آزمایش: در ادامه تحقیق و در مرحله ایجاد عفونت تجربی اولیه، در روز پنجم تحقیق (پس از اطمینان از سالم بودن جوجه‌ها)، تعداد ۵ قطعه

جوجه تحت عنوان گروه پایلوت انتخاب گردید و با استفاده از مقادیر ۰/۵ و ۰/۸ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی با غلظتی معادل استاندارد شماره ۱ مک‌فارلند (3×10^8 cells/mL)، تهیه‌شده از کشت تازه باکتری *سالمونلا تایفی‌موریوم* (PTCC:1709)، عمل آلوده‌سازی را با سرنگ انسولینی که در سر آن فیدر مخصوص غذادهی به جوجه‌ها نصب شده بود، با عمل گاواژ انجام گردید. لازم به ذکر است که جهت اطمینان از بلیده‌شدن مناسب و کامل محتویات سرنگ توسط جوجه، به همه جوجه‌های مورد آزمایش در این مرحله، مدت ۳ ساعت گرسنگی و تشنگی داده‌شده بود. -نمونه‌گیری بعد از ایجاد عفونت تجربی اولیه: در ساعات ۲۴، ۴۸ و ۷۲ (روزهای ششم، هفتم و هشتم) بعد از آلوده‌سازی تجربی، مشابه پروتکل استفاده شده در روز اول، نمونه‌گیری از مدفوع همه جوجه‌ها انجام گردید تا زمان ایجاد آلودگی و دوز مورد نیاز جهت آلودگی به‌دست آید، به‌طوری‌که بعد از مشاهده پرگنه‌های مربوط به باکتری سالمونلا در محیط کشت XLD، اقدام به درمان شد و داده‌های حاصله از مرحله پایلوت، نقشه راهی برای انجام آلودگی تجربی و شروع درمان در گروه‌های آلوده و تیمار گردیدند.

- نحوه تعیین دوز تیمارسازی جوجه‌ها: مقادیر لازم جهت تیمارکردن گروه‌های آلوده‌شده تجربی توسط ترکیبات مورد نظر در تحقیق، با استفاده از غلظت‌های مؤثره به‌دست‌آمده با آزمون‌های MIC و MBC و نیز با تکیه بر یافته‌های پژوهش‌های مرتبط، مخصوصاً براساس غلظت پیشنهادی برای آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین، محاسبه و به‌دست آمد (Sang et al., 2016; Li et al., 2017; Bekele and Gebisa, 2022; Wang et al., 2022)، بدین صورت که برای عصاره

آبی سیر نسبت ۳۰ به ۷۰ و برای آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین نسبت ۱۰ به ۹۰ انتخاب شد. همچنین دوز لازم برای تیمار، براساس یافته‌های حاصله از آلوده‌سازی تجربی جوجه‌های پایلوت، مقادیر ۰/۵ و ۱ میلی‌لیتر برای عصاره سیر، ۱ میلی‌لیتر برای آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و برای انجام تیمار ترکیبی با استفاده از هر دو ماده مذکور نیز در مجموع، مقدار ۱ میلی‌لیتر از مقادیر مساوی آن‌ها تعیین شد.

-تقسیم‌بندی گروه‌های آزمایش: در روز نهم، بعد از بررسی و تبیین نتایج مربوط به جوجه‌های گروه پایلوت، جوجه‌های باقیمانده به ۶ گروه، به شرح زیر تقسیم‌بندی شد که هرگروه شامل ۵ قطعه جوجه بود: گروه اول (A)، شامل جوجه‌های سالم و بدون تیمار (کنترل منفی).

گروه دوم (B)، شامل جوجه‌های آلوده‌شده تجربی و بدون تیمار (کنترل مثبت).

گروه سوم (C)، شامل جوجه‌های آلوده تجربی و تیمارشده با دوز ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره آبی سیر.

گروه چهارم (D)، شامل جوجه‌های آلوده تجربی و تیمارشده با دوز ۱ میلی‌لیتر از عصاره آبی سیر.

گروه پنجم (E)، شامل جوجه‌های آلوده تجربی و تیمارشده با دوز ۱ میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین.

گروه ششم (F)، شامل جوجه‌های آلوده تجربی و تیمارشده با دوز ۱ میلی‌لیتر از ترکیب مساوی عصاره آبی سیر و آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین.

- نحوه آلوده‌سازی تجربی جوجه‌های گروه‌های آزمایش: بدین منظور در روز نهم، همه جوجه‌های گروه‌های B، C، D، E و F با استفاده از مقدار ۰/۸ میلی‌لیتر (براساس مقدار تعیین‌شده در گروه پایلوت) از سوسپانسیون

میکروبی تهیه‌شده از کشت تازه باکتری سالمونلا تایفی‌موریوم (PTCC:1709)، با غلظتی معادل استاندارد شماره ۱ مک فارلند، به‌روش گاوژ از راه دهان، آلوده‌سازی شدند. در ادامه تحقیق و در روز دهم، فقط غذادهی و آب‌دهی به جوجه‌ها انجام شد و فعلاً نمونه‌گیری از مدفوع جوجه‌ها انجام نگرفت، چراکه با توجه به داده‌های حاصله از پایلوت، مدت ۲۴ ساعت، زمان کافی جهت آلوده شدن تجربی جوجه‌ها نبود.

-مراحل تیمار جوجه‌ها و نمونه‌گیری: در روز یازدهم تحقیق، ابتدا مطابق پروتکل در نظر گرفته شده از روز اول تحقیق، نمونه‌گیری مدفوع از جوجه‌ها انجام شد. همچنین این روز اولین روز شروع تیمار در نظر گرفته شد، چرا که مدت ۴۸ ساعت از آلودگی تجربی جوجه‌ها گذشته بود. بدین منظور عمل تیمار و درمان هر یک از جوجه‌های مربوط به گروه‌های مختلف ذکرشده، جداگانه و به صورت گاوژ دهانی، با استفاده از مقادیر تعیین شده برای آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر، انجام گردید.

-پایش تیمار انجام‌گرفته و ارزیابی نتایج: در روز دوازدهم تحقیق (روز دوم تیمار) نمونه‌گیری مدفوع (مطابق پروتکل) انجام شد و همزمان همچنین رنگ مدفوع و وضعیت ظاهری جوجه‌ها نیز بررسی شد. در ادامه، عمل درمان و نمونه‌گیری از مدفوع جوجه‌ها تا روز هفدهم دوره تحقیق (روز هفتم تیمار) ادامه یافت. لازم به ذکر است که روز چهارم تیمار برای مشاهده تاثیرات درمان سه‌روزه و نهایتاً روز هشتم تیمار هم برای مشاهده تاثیرات درمان هفت‌روزه (کل دوره درمان)، در گروه‌های مختلف تیمار در نظر گرفته شد.

-تحلیل آماری داده‌ها: برای تحلیل داده‌ها از بسته نرم‌افزاری SPSS نسخه ۱۹ استفاده شد. همچنین جهت بررسی و مقایسه تفاوت‌های مشاهده‌شده در میزان MIC و MBC آنتی‌بیوتیک و عصاره آبی سیر، از آمار توصیفی و نیز برای یافتن ارتباط بین میانگین قطر مناطق عدم رشد باکتری در قبال عصاره و آنتی‌بیوتیک، از آزمون آماری پساواریانس دانکن در دامنه معنی‌داری $p < 0/05$ استفاده گردید.

یافته‌ها

-نتایج مربوط به سلامت جوجه‌ها و عدم آلودگی به باکتری سالمونلا: نتایج حاصله از بررسی آزمایشگاهی کشت مدفوع جوجه‌های خریداری‌شده به‌وضوح بیانگر سالم بودن جوجه‌ها و عاری از آلودگی اولیه آن‌ها به باکتری سالمونلا بود چرا که نشانه‌ای از رشد باکتری سالمونلا در محیط‌های غنی‌کننده و جداکننده اختصاصی مربوطه، مشاهده نشد.

-نتایج بررسی روز و دوز آلودگی تجربی سالمونلایی در جوجه‌ها: در روز اول، دوزهای ۰/۵ و ۰/۸ میلی‌لیتر از غلظت معادل استاندارد ۱ مک فارلند سوش میکروبی استفاده‌شده، توانایی ایجاد آلودگی در جوجه‌ها را نداشتند و هیچ‌گونه یافته آزمایشگاهی از آلودگی مشاهده نشد. اما در روز دوم، تغییرات آشکاری مشاهده شد به‌طوری‌که استفاده از دوز ۰/۸ میلی‌لیتر، آلودگی تجربی را ایجاد کرد که این الگو در روز سوم نیز ادامه یافت (اما استفاده از دوز ۰/۵ میلی‌لیتر از روز سوم، آلودگی تجربی را حاصل کرد) و مشخص گردید که دوز ۰/۸ میلی‌لیتر پس از حدود ۴۸ ساعت، قادر به ایجاد آلودگی مؤثر در جوجه‌ها می‌شود (جدول ۱).

این الگو نشان‌دهنده نیاز به زمان بیشتر برای تثبیت باکتری‌ها و ایجاد آلودگی تجربی بود و به عنوان مرجع‌ای برای تعیین مقدار لازم در مرحله ایجاد آلودگی تجربی، مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۱- نتایج مربوط به آزمون‌های تعیین روز و دوز آلودگی تجربی سالمونلایی در مطالعه

روز دوره آزمایشی	دوز استفاده‌شده از باکتری	نتیجه آلودگی تجربی
اول	۰/۵ میلی‌لیتر از غلظت ۱ مک فارلند	-
	۰/۸ میلی‌لیتر از غلظت ۱ مک فارلند	-
دوم	۰/۵ میلی‌لیتر از غلظت ۱ مک فارلند	-
	۰/۸ میلی‌لیتر از غلظت ۱ مک فارلند	+
سوم	۰/۵ میلی‌لیتر از غلظت ۱ مک فارلند	+
	۰/۸ میلی‌لیتر از غلظت ۱ مک فارلند	+

(+): نشان‌دهنده آلودگی به سویه آزمایش شده از باکتری سالمونلا تایفی‌موریوم می‌باشد.

(-): نشان‌دهنده عدم آلودگی به سویه آزمایش شده از باکتری سالمونلا تایفی‌موریوم می‌باشد.

ترکیب ذکرشده تشکیل گردید، نشان‌دهنده توانایی آن‌ها در مهار رشد باکتری مورد آزمایش بود، هر چند یافته‌های مذکور نشان دادند که در شرایط آزمایشگاهی، آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین به طور موثرتری توانست از رشد سویه مورد آزمایش باکتری سالمونلا تایفی‌موریوم جلوگیری کند.

- نتایج مربوط به تعیین فعالیت ضدباکتریایی آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر به روش انتشار از چاهک: آزمایش‌های انجام‌شده با استفاده از روش انتشار از چاهک برای بررسی تأثیر آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر علیه سویه استاندارد باکتری سالمونلا تایفی‌موریوم (PTCC:1709) نشان داد که هر دو ماده دارای فعالیت، علیه باکتری مذکور هستند و طبق اطلاعات ارائه شده در جدول ۲، قطر مناطق مهاری که اطراف چاهک‌های مربوط به دو

جدول ۲- نتایج آزمون نفوذ در چاهک آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر بر باکتری سالمونلا تایفی‌موریوم

ماده مورد آزمایش	قطر منطقه عدم رشد در اطراف چاهک	نتیجه آزمون
آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین	۴۶ میلی‌متر	حساسیت بالای باکتری (S)
عصاره آبی سیر	۹ میلی‌متر	حساسیت متوسط باکتری (I)

S: sensitive, I: intermediate

حداقل غلظت کشندگی آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر بر سویه استاندارد باکتری سالمونلا تایفی‌موریوم در مطالعه می‌باشد که در آن‌ها مقادیر مثبت گزارش شده برای حداقل غلظت بازدارندگی و

- نتایج مربوط به سنجش حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر: جداول ۳ و ۴ یافته‌های مربوط به تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و

ارایه شده، ملاحظه می‌شود که هر دو ترکیب آزمایش شده در تحقیق حاضر دارای اثرات بازدارنده و کشنده علیه باکتری مذکور بوده‌اند.

حداقل غلظت کشندگی، نشان‌دهنده غلظت‌هایی هستند که به ترتیب از رشد و تکثیر باکتری مذکور جلوگیری کرده و منجر به کشندگی آن شده‌اند. بر اساس نتایج

جدول ۳- نتایج آزمون‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین بر باکتری مورد آزمایش

شماره	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷
چاهک																	
مقدار ماده	۰	۵	۲۵	۱۲۵	۶۲۵	۳۱۲۵	۱۵۶۲۵	۷۸۱۲۵	۳۹۰۶۲۵	۱۹۵۳۱۲۵	۹۷۶۵۶۲۵	۴۸۸۲۸۱۲۵	۲۴۴۱۴۰۶۲۵	۱۲۲۰۷۰۳۱۲۵	۶۱۰۳۵۱۵۶۲۵	۳۰۵۱۷۵۷۸۱۲۵	شاهد ماده
استفاده شده (درصد)	۰	۵	۲۵	۱۲۵	۶۲۵	۳۱۲۵	۱۵۶۲۵	۷۸۱۲۵	۳۹۰۶۲۵	۱۹۵۳۱۲۵	۹۷۶۵۶۲۵	۴۸۸۲۸۱۲۵	۲۴۴۱۴۰۶۲۵	۱۲۲۰۷۰۳۱۲۵	۶۱۰۳۵۱۵۶۲۵	۳۰۵۱۷۵۷۸۱۲۵	شاهد محیط
حداقل غلظت بازدارندگی	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
حداقل غلظت کشندگی	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

(+): نشان دهنده جلوگیری از رشد باکتری است.

(-): نشان دهنده عدم جلوگیری از رشد است.

جدول ۴- نتایج آزمون‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی سیر بر باکتری مورد آزمایش

شماره	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷
چاهک																	
مقدار ماده	۰	۵	۲۵	۱۲۵	۶۲۵	۳۱۲۵	۱۵۶۲۵	۷۸۱۲۵	۳۹۰۶۲۵	۱۹۵۳۱۲۵	۹۷۶۵۶۲۵	۴۸۸۲۸۱۲۵	۲۴۴۱۴۰۶۲۵	۱۲۲۰۷۰۳۱۲۵	۶۱۰۳۵۱۵۶۲۵	۳۰۵۱۷۵۷۸۱۲۵	شاهد ماده
استفاده شده (درصد)	۰	۵	۲۵	۱۲۵	۶۲۵	۳۱۲۵	۱۵۶۲۵	۷۸۱۲۵	۳۹۰۶۲۵	۱۹۵۳۱۲۵	۹۷۶۵۶۲۵	۴۸۸۲۸۱۲۵	۲۴۴۱۴۰۶۲۵	۱۲۲۰۷۰۳۱۲۵	۶۱۰۳۵۱۵۶۲۵	۳۰۵۱۷۵۷۸۱۲۵	شاهد محیط
حداقل غلظت بازدارندگی	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
حداقل غلظت کشندگی	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+): نشان دهنده جلوگیری از رشد باکتری است.

(-): نشان دهنده عدم جلوگیری از رشد است.

-نتایج مقایسه‌ای تاثیر تیمارها بر اساس یافته‌های کشت در محیط XLD و روش شمارش کلی MPN در گروه‌های مختلف: بر اساس نتایج مشاهده شده در محیط XLD، در نمونه‌های مدفوع جوجه‌های گروه کنترل منفی (A)، از ابتدای تحقیق تا انتها، جواب

کشت کاملاً منفی بود و جوجه‌های سالم مذکور، غیرآلوده باقی مانده بودند. همچنین در نمونه‌های مدفوع جوجه‌های گروه کنترل مثبت (B)، از ابتدا تا انتهای تحقیق جواب کشت مثبت بود و جوجه‌های آلوده شده مذکور، آلوده باقی مانده بودند. اما در گروه تیمار شده با

مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره آبی سیر (C)، نمونه‌های مدفوع جوجه‌ها از روز اول تا روز هفتم دارای بار میکروبی بودند، با این حال، در نمونه‌گیری روز هشتم، جواب کشت منفی شده و غیرآلوده به سالمونلا بودند. همچنین در گروه تیمار شده با مقدار ۱ میلی‌لیتر از عصاره آبی سیر (D)، نمونه‌های مدفوع جوجه‌ها از روز اول تا روز ششم، بار میکروبی داشتند، اما در نمونه‌گیری روز هفتم، جواب کشت منفی شده و غیرآلوده به سالمونلا بودند. در گروه تیمار شده با مقدار ۱ میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین (E)، نمونه‌های مدفوع جوجه‌ها در روزهای اول و دوم بار میکروبی داشتند، ولی در نمونه‌گیری مربوط به روز-های سوم تا هشتم تیمار، جواب کشت میکروبی کاملاً منفی شده و غیرآلوده به سالمونلا بودند. بالاخره در گروه تیمار شده با مقدار ۱ میلی‌لیتر از ترکیب آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر (F)، جواب کشت نمونه‌های مدفوع جوجه‌ها از روز اول تا چهارم، مثبت بود، در حالی‌که در نمونه‌گیری مربوط به روزهای پنجم تا هشتم تیمار، جواب کشت منفی شده و لذا غیرآلوده به سالمونلا بودند.

از طرف دیگر براساس نتایج مشاهده‌شده در روش شمارش کلی MPN، در نمونه‌های مدفوع جوجه‌های گروه کنترل منفی (A)، از ابتدای تحقیق تا انتها، بار میکروبی سالمونلایی صفر بود و جوجه‌های سالم مذکور، غیرآلوده باقی مانده بودند. در گروه کنترل مثبت (B)، نمونه‌های مدفوع جوجه‌های کنترل مثبت، از نظر آلودگی به سالمونلا مثبت بودند ولی بار میکروبی نمونه‌های مذکور، با گذشت زمان در دوره تحقیق، نزولی شده بود. همچنین در گروه تیمار شده با مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره آبی سیر (C)، تا روز هفتم

تیمار، بار میکروبی مشاهده شد، اما نهایتاً در روز هشتم، بار میکروبی کاملاً صفر شد. در نمونه‌های گروه C هم با گذشت زمان، سیر نزولی بار میکروبی مشاهده گردید. در مورد نمونه‌های مدفوع جوجه‌های گروه تیمار شده با مقدار ۱ میلی‌لیتر از عصاره آبی سیر (D)، از ابتدای درمان تا روز ششم، بار میکروبی مشاهده شد، ولی نهایتاً در روزهای هفتم و هشتم تیمار، بار میکروبی کاملاً صفر شد. در نمونه‌های گروه D نیز با گذشت زمان، سیر نزولی بار میکروبی مشاهده گردید. اما در گروه تیمار شده با مقدار ۱ میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین (E)، در ابتدای درمان یعنی تا روز دوم تیمار، بار میکروبی در نمونه‌های مدفوع جوجه‌ها مشاهده شد. اما در نهایت، از روز سوم تا هشتم، بار میکروبی کاملاً صفر شد. بالاخره در مورد نمونه‌های مدفوع جوجه‌های گروه تیمار شده با مقدار ۱ میلی‌لیتر از ترکیب آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر (F)، مشاهده گردید که تا روز چهارم دوره تیمار، بار میکروبی قابل ملاحظه وجود دارد، اما از روز پنجم تا روز هشتم، بار میکروبی کاملاً صفر شد و روند نزولی بار میکروبی هم ثبت گردید. نتایج ارایه‌شده در این قسمت از تحقیق با این‌که نشان‌دهنده کارایی عصاره آبی سیر و آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین در کاهش بار میکروبی و کنترل آلودگی به باکتری مورد آزمایش بودند و نیز استفاده از ترکیب دو ماده فوق هم، اثر بخشی بیشتری را نشان داد، اما بایستی توجه کرد که کارایی آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین به عنوان داروی انتخابی، به تنهایی به مراتب بالاتر ثبت شد.

- نتایج مربوط به ارزیابی تلفات جوجه‌ها در طول دوره تحقیق: در جوجه‌های گروه کنترل منفی (A)، یعنی جوجه‌های سالم بدون دخالت درمانی، تلفاتی وجود

در واقع نتایج این بخش تحقیق حاضر نشان داد که زمان و دوز آلودگی به باکتری در آلودگی تجربی می‌تواند به‌طور موثری تحت تأثیر قرار گیرد و انتخاب دوز مناسب می‌تواند در بهبود نتایج آلودگی تجربی مؤثر باشد.

از طرف دیگر نتایج حاصله از آزمون‌های مختلف سنجش توانایی ضد میکروبی در شرایط آزمایشگاهی در تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر خاصیت ممانعتی بر باکتری سالمونلا دارد، به‌طوری‌که ملاحظه گردید استفاده از آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر باعث ایجاد مناطق مهار رشدی شده که قطر آن‌ها به ترتیب ۴۶ میلی‌متر و ۹ میلی‌متر بود. البته درعین حال در طی تحقیق حاضر مشخص گردید که آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین دارای توانایی مهار رشد بیشتری نسبت به عصاره آبی سیر بوده‌است (جدول ۲).

یافته‌های آزمون‌های MIC و MBC تحقیق حاضر هم‌راستا با برخی از گزارشات قبلی، نشان دادند که هم آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و هم عصاره آبی سیر، توانایی ممانعتی و کنترلی بر رشد و بقا باکتری *سالمونلا تایفی‌موریوم* را دارند (Choudhary, et al., 2022; Anzabi, 2016; Grabowski et al., 2022). به‌طوری‌که براساس اطلاعات ارائه‌شده در جدول ۳، استفاده از آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین با غلظت ۰/۰۲۴۴ درصد، تا چاهک سیزدهم میکروپلیت استفاده‌شده در تحقیق، عدم رشد باکتری را نشان داد و نیز با استفاده از عصاره آبی سیر هم تا غلظت مربوط به چاهک چهارم (۱۲/۵ درصد)، عدم رشد باکتری مشاهده شد ولی در رقت‌های بالاتر رشد باکتری‌ها

نداشت. اما در جوجه‌های گروه کنترل مثبت (B) (جوجه‌های آلوده‌شده تجربی بدون دخالت درمانی)، تعداد ۵ قطعه تلفات مشاهده گردید (۱۰۰ درصد). ولی در مورد جوجه‌های گروه‌های تیمار شده با مقادیر ۰/۵ و ۱ میلی‌لیتر از عصاره آبی سیر (C و D)، تلفات صفر بود. جالب این‌که در گروه تیمار شده با مقدار ۱ میلی‌لیتر از آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین (E)، در روز دوم تعداد ۲ قطعه و در روز سوم هم تعداد ۴ قطعه از جوجه‌ها تلف شدند. البته در سایر روزهای دوره تحقیق، تلفاتی مشاهده نگردید. بالاخره در مورد جوجه‌های گروه تیمار شده با مقدار ۱ میلی‌لیتر از ترکیب آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر (F)، هیچ تلفاتی مشاهده نشد.

بحث و نتیجه‌گیری

در طی تحقیق حاضر مشخص گردید که آلودگی تجربی با سویه سالمونلای مورد آزمایش، با استفاده از مقدار ۰/۸ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی تهیه‌شده با غلظت معادل استاندارد ۱ مک‌فارلند از آن و پس از ۴۸ ساعت حاصل می‌شود (جدول ۱). بر خلاف برخی گزارشات قبلی، آلودگی تجربی با استفاده از مقادیر ۰/۵ میلی‌لیتر و ۰/۸ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری *سالمونلا تایفی‌موریوم* با غلظت معادل ۱ مک‌فارلند، در ۲۴ ساعت بعد از آلودگی، مشاهده نشد (Sang et al., 2016; Li et al., 2017; Bekele and Gebisa, 2022; Wang et al., 2022).

از طرف دیگر بر اساس عدم مشاهده تلفات در استفاده از دوز ۰/۸ میلی‌لیتر در مرحله پایلوت، دوز مذکور برای بررسی تغییرات بار میکروبی در طی مرحله آلودگی تجربی تحقیق انتخاب شد (جدول ۱).

حاصل شده بود (جدول ۴). همچنین بررسی نتایج شمارش باکتریایی به روش MPN نیز، مشابه برخی تحقیقات انجام شده، تأثیر مثبت استفاده از آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر بر کنترل بار باکتریایی را نشان داد (Anzabi, 2016; Li et al., 2017)، به‌طوری‌که در طی تحقیق حاضر هم در محیط‌های کشت مربوط به نمونه‌های مدفوع جوجه‌های تیمار شده با آنتی‌بیوتیک فوق و عصاره آبی سیر، میزان کمتری از باکتری سالمونلا رشد کرده بود و بار میکروبی به‌طور محسوس کاهش داشت. در این راستا تأثیر آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و نیز عصاره آبی سیر به تنهایی بر رشد باکتری سالمونلا تایفی‌موریوم در جوجه‌ها بررسی شده و نتایج تحقیقات قبلی هم نشان داده که هر دو ترکیب ذکر شده توانایی مهار رشد باکتری فوق را دارند و می‌توانند در کنترل آلودگی و بهبود سلامت جوجه‌ها از نظر آلودگی سالمونلایی مؤثر باشند. همچنین نتیجه‌گیری کلی از مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که عصاره آبی سیر و آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین دارای خواص ضد میکروبی قابل توجهی هستند و می‌توانند به‌طور مؤثری در کنترل و مهار رشد باکتری‌ها، به‌ویژه سالمونلا تایفی‌موریوم، مؤثر باشند. نتایج حاصله از آزمایش‌های مختلف در این خصوص نشان داده که استفاده از ترکیبات فوق، به‌ویژه در دوزهای مختلف، توانایی مهار رشد باکتری را دارند و می‌توانند به‌عنوان پتانسیل‌های درمانی مورد استفاده قرار گیرند (Zhang et al., 2019). اما در عین حال، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از ترکیب آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و عصاره آبی سیر می‌تواند تأثیر مثبت بیشتری در کاهش رشد باکتری سالمونلا داشته باشد.

در این خصوص اعلام شده، علی‌رغم این‌که استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن است که مدت زمان درمان را کاهش دهند، اما از نظر تلفات، این امر غالباً به نفع نیست. به عبارت دیگر، به نظر می‌رسد که در طی تحقیق حاضر، ترکیب عصاره آبی سیر و آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین، هم از نظر زمان و هم از نظر تلفات، مؤثرتر عمل کرده است. همچنین گزارش شده که وضعیت جسمانی جوجه‌هایی که به تنهایی با عصاره سیر تیمار شده‌اند، بسیار بهتر بوده و لذا سرحال‌تر بوده‌اند. عقیده بر این است که این موضوع ممکن است به دلیل عملکرد دیگر ترکیبات معدنی و مواد مغذی موجود در سیر باشد که وضعیت سلامت و ایمنی جوجه‌ها را بهبود داده است (Bazaraliyeva et al., 2022; Luan et al., 2022; Zhang et al., 2022; Adams et al., 2023).

نتیجه‌گیری نهایی این‌که در طی تحقیق حاضر، در مورد جوجه‌های گروه کنترل منفی و گروه‌های تیمار شده با عصاره سیر (در ۲ دوز مختلف) تلفاتی مشاهده نشد که به‌نظر می‌رسد این امر نشان‌دهنده اثر مثبت عصاره آبی سیر در جلوگیری از تلفات جوجه‌ها است، چرا که در گروه کنترل مثبت و گروه تیمار با انروفلوکساسین، تلفات نسبتاً قابل توجهی وجود داشت. البته چون هدف اصلی از انجام تحقیق حاضر بررسی تأثیر عصاره آبی سیر و آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین و نیز ترکیب آن دو بر میزان خاصیت ضدباکتریایی علیه سویه استاندارد از باکتری سالمونلا تایفی‌موریوم (PTCC:1709) و به طبع آن ممانعت از آلودگی تجربی ایجاد شده بود و ارزیابی مقایسه‌ای تلفات در مورد جوجه‌های گروه‌های مختلف تحقیق، هدف اصلی تحقیق ما نبود، لذا به نظر می‌رسد

پرورش طیور و نیز کنترل آلودگی‌های سالمونلایی مربوطه، مؤثر باشند.

سپاسگزاری

اطلاعات مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه مصوب ۱۴۰۱/۱۰/۱۲ به شماره ۱۵۰۲۱۰۲۰۱۲۷۹ در گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی است. لذا نویسندگان از مجموعه حوزه معاونت محترم پژوهش و فن‌آوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تبریز، مخصوصاً کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های میکروبی‌شناسی و کلینیکال پاتولوژی دانشکده دامپزشکی، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچگونه تضاد منافع ندارند.

که بررسی این امر می‌تواند به عنوان موضوعی جالب برای بررسی در تحقیقات آتی، مورد کاوش و ارزیابی دقیق‌تر قرار گیرد! در واقع یافته‌های علمی مذکور می‌تواند به ما کمک کند تا بهترین شرایط و مقادیر استفاده از عصاره سیر را برای کنترل آلودگی باکتریایی در جوجه‌های پرورشی تعیین کنیم و نیز برای بهبود سلامت و عملکرد جوجه‌ها از آن بهره‌مند شویم. البته به نظر می‌رسد که جهت توجیه و توصیف کامل راهکارهای کنترل و پیشگیری از آلودگی سالمونلایی در جوجه‌های پرورشی، بررسی جزء به جزء ترکیبات موجود در عصاره‌های مختلف سیر بایستی در تحقیقات آینده، مد نظر قرار گیرد چرا که یافته‌های حاصله در این خصوص احتمالاً بتوانند به عنوان منبع اطلاعات علمی، جهت تأیید و کاربردی سازی استفاده از ترکیبات موثره موجود در گیاه سیر، در صنعت

منابع

- Adams, J.R.G., Mehat, J., La Ragione, R. and Behboudi, S. (2023). Preventing bacterial disease in poultry in the post-antibiotic era: a case for innate immunity modulation as an alternative to antibiotic use. *Front Immunology*, 3(3): 14-19.
- Alves, Â., Santos-Ferreira, N., Magalhães, R., Ferreira, V. and Teixeira P. (2022). From chicken to salad: Cooking salt as a potential vehicle of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* cross-contamination. *Food Control*, 1(2): 137-159.
- Antunes, P., Mourão, J., Campos, J. and Peixe, L. (2016). Salmonellosis: The role of poultry meat. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(2): 110-121.
- Anzabi, Y. (2016). Evaluation of Antibacterial Effect of Some Standard Antibiotics and The Aqueous Extracts of *Berberis Vulgaris*, *Allium Cepa* L. and *Allium Sativum* L. on *Clostridium Perfringens* Isolates. *Journal of Veterinary Microbiology*, 12(2): 105-117. [In Persian]
- Bazaraliyeva, A., Moldashov, D., Turgumbayeva, A., Kartbayeva, E., Kalykova, A., Sarsenova, L. et al. (2022). Chemical and biological properties of bio-active compounds from garlic (*Allium sativum*). *Pharmacia*, 69(4): 955-964.
- Bekele, D. and Gebisa, G. (2022). Antibacterial Activity of Garlic (*Allium Sativum*) on *Salmonella*, *Shigella*, and *E.coli*. *Research Square*, 11(1): 1-14.

- Chand, B. (2021) Antibacterial effect of Garlic (*Allium sativum*) and Ginger (*Zingiber officinale*) against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhi*, *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 6(6): 2481-2491.
- Choudhary, S., Noor, M.U., Hussain, M.S., Mishra, M. and Tyagi, S. (2022). Pharmacological properties and phytoconstituents of Garlic (*Allium sativum* L.): A review. Biological Sciences, 2(4): 338-346.
- European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC) (2019). The European Union one health zoonoses report. EFSA Journal, 17(12): 26-59.
- European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC) (2021). The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. EFSA Journal, 20(1): 69-71.
- Friedman, M. (2015) Antibiotic-resistant bacteria: Prevalence in food and inactivation by food-compatible compounds and plant extracts. Journal of Agricultural Food Chemistry, 63(15): 3805-3822.
- Grabowski, L., Gaffke, L., Pierzynowska, K., Cyske, Z., Choszcz, M., Węgrzyn, G., *et al.* (2022). Enrofloxacin- The Ruthless Killer of Eukaryotic cells or the Last Hope in the Fight against Bacterial Infections? International Journal of Molecular Sciences, 23(7): 36-48.
- Iranian National Standardization Organization, 1810-1 (2019). Microbiology of the food Chain- Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella-Part 1: Detection of Salmonella spp., 1th. Ed. (ICS: 07.100.30), pp:11-22. [In Persian]
- Khodadadeh-Jigheh, A. and Anzabi, Y. (2023). Rapid recognition of typhoid and non-typhoid Salmonella in poultry samples using multiple polymerase chain reaction method (multiplex-PCR). Journal of Comprative Pathobiology, 20(2): 4121-4130. [In Persian]
- Kong-Ngoen T., Santajit, S., Tunyong, W., Pumirat, P., Sookrung, N., Chaicumpa, W., *et al.* (2022). Antimicrobial Resistance and Virulence of Non-Typhoidal Salmonella from Retail Foods Marketed in Bangkok, Thailand. Foods, 11(5): 661-669.
- Li, J., Hao, H., Cheng, G., Wang, X., Ahmed, S., Shabbir, M.A., *et al.* (2017) The effects of different Enrofloxacin dosages on clinical efficacy and resistance development in chickens experimentally infected with *Salmonella Typhimurium*. Scientific reports, 7(1): 1-2.
- Luan, Y., Chen, K., Zhao, J. and Cheng, L. (2022). Comparative study on synergistic toxicity of Enrofloxacin combined with three antibiotics on proliferation of THLE-2 cell. Antibiotics, 16;11(3): 394-399.
- Maghsoudi, A. and Saeidi S. (2020). Evaluation of Antimicrobial Activity of Ethanol Extract of Nine Zagros Native Medicinal Plants Against *Salmonella Typhimurium*. Journal of Veterinary Research, 75(3): 380-389. [In Persian]
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A. and Maguire, D. (2013). Clinical Veterinary Microbiology. Second ed. Mosby- Elsevier Ltd. London, U.K., pp: 255-266.
- Miranzadeh, H., Zahraei Salehi, T. and Karimi, V. (2012). The count of aerobic mesophil bacteria and isolate Salmonella spp on egg in Isfahan. Veterinary Researches & Biological Products, 36(1):31-35. [In Persian]
- Miranzadeh, H., Zahraei Salehi, T. and Karimi, V. (2012). The count of aerobic mesophil bacteria and isolate Salmonella spp on egg in Isfahan. Veterinary Researches & Biological Products, 36(1): 31-35. [In Persian]
- Munck, N., Smith, J., Bates, J., Glass, K., Hald, T. and Kirk, M.D. (2020). Source attribution of Salmonella in Macadamia nuts to animal and environmental reservoirs in Queensland, Australia. Foodborne Pathogens and Disease, 17(5): 357-364.
- Nada, H., Khatab, R., Hashem, A., Elhifnawi, H. and Ashraf, E. (2022). In vitro enhancement of Ciprofloxacin, Tobramycin, and Nystatin activity by irradiated aqueous garlic extract against multidrug-resistant pathogens causing otitis media. Arab Journal of Nuclear Sciences and Applications, 55(1): 132-146.

-
- Polyakov, A., Alekseeva, T. and Muravieva, I. (2020). The elemental composition of garlic (*Allium sativum* L.) and its variability. In E3S Web of Conferences, EDP Sciences, 175: 10-16.
 - Sang, K., Hao, H., Huang, L., Wang, X. and Yuan, Z. (2016). Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of Enrofloxacin against *Escherichia coli* in broilers. *Frontiers in veterinary science*, 7(2): 80-89.
 - Siddique, M., Waqas, M., Imran, M. and Ali, S. (2022). Synergistic antibacterial efficacy of Enrofloxacin and Garlic extract against multidrug-resistant *Salmonella enterica* isolated from poultry. *Journal of Applied Microbiology*, 132(4): 2183-2193.
 - Wang, S., Huang, A., Gu, Y., Li, J., Huang, L., Wang, X., *et al.* (2022) Rational Use of Danofloxacin for treatment of *Mycoplasma gallisepticum* in Chickens based on the clinical breakpoint and Lung microbiota shift. *Antibiotics*, 11(3): 403-409.
 - Zhang, Q., Sun, X., Wang, T., Chen, B., Huang, Y., Chen, H. and Chen, Q. (2019). The Postembryonic development of the immunological barrier in the Chicken spleens. *Journal of Immunological Reserch*, 15(5): 62-69.