تاثیر مصرف خوراکی نانو سیلور روی بازده تولید، برخی فراسنجه های خونی و بیوشیمیایی سرم در جوجه گوشتی

محمد رحیمی *[۱]، محبوبه طالبی مهردار[۲]

چکیده

از دیرباز تاکنون نقره به علت خواص ضد باکتریایی خود شهرت یافته است. در واقع نانوذرات نقره به علت رهایش یون نقره چنین خاصیتی را علیه باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی از خود نشان می‌دهند و بعنوان افزودنی در جیره طیور کاربرد وسیع دارد. در مورد اثرات ضد باکتریایی این ترکیب پژوهش‌ها نتایج ضد و نقیضی را عنوان می کنند که حاکی از اثرات مفید ضد باکتریایی نیست. به منظور این پژوهش روی۲٤۰ قطعه جوجه نر یک روزه که به شش گروه با چهار تکرار تقسیم شدند انجام شد. گروه مورد آزمایش عبارت بودند از: جیره شاهد(بدون افزودنی)، جیره حاوی ppm ۱۰ آنتی بیوتیک آویلامایسین، جیره حاوی ٤۰۰ میلی لیتر نانو ذرات نقره در هر تن خوراک، جیره حاوی ۸۰۰ میلی لیتر نانو ذرات نقره در هر تن خوراک، جیره حاوی ٤۰۰ میلی لیتر نانو ذرات نقره در هر متر مکعب آب آشامیدنی، جیره حاوی ۸۰۰ میلی لیتر نانو ذرات نقره در هر متر مکعب آب آشامیدنی و به بررسی تأثیر نانوذرات نقره بر فاکتور رشد و بازده بدن و برخی فراسنجه های خونی و سرمی و جمعیت میکروبی دستگاه گوارش (ایلئوم) جوجه‌های گوشتی و مقایسه اثرات ضد باکتریایی و محرک رشد آن با آنتی‌بیوتیک آویلامایسین پرداخته شد. نتایج حاکی از افزایش معنی‌دار (۰/۰۵>P) مونوسیت‌ها و مصرف خوراک جوجه‌ها و افزایش جمعیت کلستریدیوم‌ها و کاهش معنی دار غلظت تری گلیسرید در گروه ۸۰۰ میلی لیترنانو ذرات نقره در جیره و آب بود(۰/۰۵> P) ولی تاثیر آن بر افزایش وزن جوجه‌ها و ضریب تبدیل غذایی آن‌ها معنی‌دار نبود. به نظر می‌رسد نانوذرات نقره بر خلاف آن چه تصور می شود به عنوان یک افزودنی محرک رشد برای کنترل باکتریهای مضر در دستگاه گوارش طیور و تقویت سیستم ایمنی، افزایش ضریب تبدیل غذایی جوجه های گوشتی مناسب نیست.

واژگان کلیدی: جوجه گوشتی، فراسنجه‌های خونی و سرمی، سیستم ایمنی، نانو ذرات نقره

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/٤/۱٦ تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۹/۱۷

مقدمه

افزودنی‌های غذایی دسته ای از مواد مختلف هستند که برای اهداف مختلف در جیره حیوانات استفاده می‌شوند. ترکیبات ضد میکروبی از جمله آنتی‌بیوتیک ها از افزودنی-هائی هستند که برای سال‌های متمادی جهت بهبود رشد و بازده، محافظت پرندگان از اثرات نامطلوب میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا و همچنین درمان بیماری‌ها در صنعت طیور استفاده می‌شوند. (۱). امروزه به دلیل استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها و رعایت نکردن دوره پرهیز از مصرف آن‌ها، مقاومت میکروبی نگرانی جدید جهانی جهت بهداشت و سلامت دام و انسان به شمار می رود(۲). لذا جهت دستیابی به عملکرد مطلوب و حفظ سلامتی و بهداشت طیور یافتن جایگزینی مناسب برای آنتی بیوتیک ها ضروری است.

نانوتکنولوژی به عنوان یکی از پیشرفته ترین علوم در عصر حاضر، درتمام زوایای حیات جانوری، گیاهی، زیست محیطی و صنعتی نفوذ نموده و افق جدیدی را در علوم طبیعی باز کرده است. با تغییر اندازه ذرات از میکرومتر به نانومتر($۱۰^{-۹}$ متر یا یک میلیاردیم متر) به خاطر افزایش نسبت سطح به حجم تمام خواص فیزیکی و شیمیایی تغییر نموده و واکنش پذیری ذره به شدت افزایش می یابد. نقره فلزی است که از گذشته های دور خواص ضدمیکروبی آن شناخته شده است. با کاهش اندازه ذرات این فلز به مقیاس نانو خواص آن به شدت افزایش می یابد. اتصال این ذرات به پروتئین‌های حاوی گوگرد در سطح غشای باکتری‌ها، امکان ورود و تغییر در مورفولوژی و زنجیره تنفسی باکتری را فراهم می‌کند و

*۱- گروه بیوشیمی دانشگاه پیام نور استان تهران (rahimimohamad54@yahoo.com)
۲- استاد گروه بیوشیمی دانشگاه پیام نور استان تهران

درنهایت با اثرگذاری بر فرآیند مرگ سلولی منجر به مرگ عامل بیگانه می‌شود (٦). باکتری‌ها نسبت به این ذرات مقاومت پیدا نمی‌کنند بنابراین اثرگذاری بر طیف وسیعی از باکتری‌ها میسر خواهد بود. به علاوه این ذرات پس از اثر در نقطه هدف بر میکروارگانیسم‌های دیگر نیز تأثیر می‌گذارند. با توجه به خواص ضد میکروبی نانوذرات نقره، به نظر می رسد که بتوان از این ماده به عنوان افزودنی برای کنترل فعالیت میکروبی دستگاه گوارش طیور به جای آنتی بیوتیک ها استفاده نمود. پژوهش های محدودی در خصوص تأثیر این ترکیبات به عنوان افزودنی در جیره دام و طیور وجود دارد. این پژوهش ها نتایج ضد و نقیضی را عنوان می کنند بعنوان مثال در پژوهشی نشان دادند که افزودن نانوسیلور به خوراک، هیچ تاثیری بر عملکرد و افزایش وزن در خوک‌ها(٦) و جوجه های گوشتی(٨) ندارد. در مطالعه ای دیگر بیان کردند که اضافه کردن نانوذرات نقره در آب آشامیدنی بلدرچین ها اثرات تخریبی بر سلولهای جاذب پرزهای دوازدهه ندارد و جمعیت لاکتوباسیل ها را در روده افزایش می دهد(٩). کاهش تعداد و اندازه فولیکول های لنفاوی غده بورس در جنین مرغ در اثر تزریق این ماده به داخل تخم مرغ های نطفه دار گزارش شده است(١٠). نانوذرات دارای آثار بیولوژیک متعدد مفید یا مضری هستند بعنوان مثال افزایش درازمدت سطح گلوکز خون گزارش شده است که موجب آسیب بسیاری از بافت ها و بویژه رگهای خونی می شود و همین امر ممکن است به نتایجی چون حمله قلبی، سکته مغزی و بیماریها ی کلیوی منجر شود(٨).

این پژوهش با هدف بررسی اثرات نانو ذرات نقره بعنوان افزودنی پرکاربرد در جیره طیور بعنوان محرک رشد و از بین برنده باکتری های مضر دستگاه گوارش انجام شد. همچنین اثرات آن در مقایسه با آنتی بیوتیک آویلامایسین بعنوان جایگزینی برای آنتی بیوتیک، مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه به بررسی برخی فراسنجه های خونی و بیوشیمیایی سرم به منظور بررسی اثرات آن بر روی ارگان-های داخلی و رشد و بازده بدن و جمعیت میکروبی دستگاه گوارش (انتهای روده کوچک، ایلئوم) جوجه‌های گوشتی نر یک روزه سویه تجاری آربوراکرز پلاس و مقایسه خاصیت ضد باکتریایی و محرک رشد آن با آنتی بیوتیک آویلامایسین انجام شد.

مواد و روش‌کار

تهیه نانوذرات نقره: نانو ذرات نقره کروی با میانگین ١٠ نانومتر و با غلظت ٥٠٠ ppm استوک از شرکت نانو دانش کاسپین خریداری شد. تهیه نانو ذرات نقره با روش شیمیایی و با استفاده از احیای سیترات انجام شد. سپس با روش رقیق سازی سریالی(serial dilution) از استوک اصلی غلظت های مورد نظر تهیه شد.

حیوانات مورد آزمایش: این پژوهش بر روی ٢٤٠ قطعه جوجه نر گوشتی یک روزه سویه تجاری آربوراکرز پلاس بصورت تصادفی با شش گروه و چهار تکرار انجام شد. آب و غذا در تمام مدت بطور آزاد در اختیار جوجه‌ها بوده و در شبانه روز ٢٤ ساعت نور تأمین شد. واکسیناسیون تا قبل از ٢٠ روزگی انجام شد. جیره برای سه دوره آغازین، رشد و پایانی مطابق احتیاجات مواد مغذی توصیه شده سویه تجاری با استفاده از نرم افزار UFFDA تنظیم گردید(جدول١). گروه مورد آزمایش عبارت بودند از: جیره شاهد(بدون افزودنی)، جیره حاوی ١٠ ppm آنتی بیوتیک آویلامایسین، جیره حاوی ٤٠٠ میلی لیتر نانو ذرات نقره در هر تن خوراک، جیره حاوی ٨٠٠ میلی لیتر نانو ذرات نقره در هر تن خوراک، جیره حاوی ٤٠٠ میلی لیتر نانو ذرات نقره در هر متر مکعب آب آشامیدنی، جیره حاوی ٨٠٠ میلی لیتر نانو ذرات نقره در هر متر مکعب آب آشامیدنی.

افزایش وزن، مصرف غذا و ضریب تبدیل غذایی به صورت هفتگی تا پایان دوره پرورش اندازه گیری شد. در پایان دوره آزمایش، از هر واحد آزمایشی دو پرنده به صورت تصادفی انتخاب و مقدار ٤ سی سی خون از طریق سیاهرگ بال از هر پرنده اخذ شد. نیمی از نمونه های خون گرفته شده به منظور شمارش گلبول های سفید و همچنین تیتر آنتی بادی نیوکاسل اختصاص داده شد. به منظور اندازه گیری عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل نمونه خونی به آهستگی درون لوله‌های استریل درب دار ریخته شد و در مخزن حاوی یخ به آزمایشگاه انتقال یافت. در آزمایشگاه با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سرم خون جدا شده و سپس عیار پادتن علیه واکسن نیوکاسل به روش HI (Hemagglutination inhibition) مورد اندازه گیری قرار گرفت. در نیم دیگر نمونه های خون اخذ شده میزان کلسترول، تری گلیسرید، HDL و LDL ، آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز سرم به کمک کیت‌های تجاری پارس آزمون و به روش طیف سنجی اندازه گیری شد(۱۵). در روز ٢٤ پرورش از هر تیمار ۲ جوجه به صورت تصادفی توزین، کشتار و پس از بازکردن محوطه بطنی پانکراس، سنگدان، کبد، و چربی حفره بطنی موجود در شکم و اطراف سنگدان و روده‌ها جدا شده و توزین گردید. به منظور بررسی جمعیت میکروبی دستگاه گوارش، از انتهای روده کوچک (ایلئوم) هر پرنده یک قطعه ۱۵ سانتی متری جدا شد و برای کشت باکتریایی به آزمایشگاه ارسال شد. تعداد کل باکتری‌ها، فراوانی گونه‌های *لاکتوباسیل*، کلی‌فرم‌ها و *کلستریدیوم‌ها* در محتویات ایلئوم تعیین شد. برای تعیین تعداد کل باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر نمونه مورد مطالعه از روشی معروف به روش برید(Breed) استفاده شد(١٦). برای این منظور از لوله حاوی بافر که نمونه اولیه به میزان ۳ گرم در ۱۰ سی سی در آن حل شده بود استفاده شد که از آن، میزان یک میلی‌لیتر به داخل لوله درب‌دار دیگری منتقل و برای از بین‌بردن باکتری‌ها به آن چند قطره فرمالین اضافه شد. سپس مقدار ۰/۰۱ میلی‌لیتر از آن به روی لام مخصوص و بر روی سطحی به وسعت یک سانتیمترمربع پخش شد. لام در حرارت محیط خشک و نمونه‌ها با استفاده از شعله تثبیت گردیدند. سپس چند قطره رنگ کریستال ویوله بر روی آن ریخته و پس از ۱۰ ثانیه با آب شسته شد. بعد از خشک کردن لام، به کمک میکروسکوپ تعداد باکتری‌ها در ۵ فیلد میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰۰ شمارش گردید و میانگین گرفته شد. هر میدان میکروسکوپی یک پنج هزارم سانتی‌متر مربع است بنابراین مشاهده هر باکتری نمایانگر ۵۰۰۰ باکتری در یک سانتی‌متر مربع و به عبارت دیگر۵۰۰/۰۰۰ باکتری در هر سانتی‌متر مکعب نمونه است(۳). برای تعیین فراوانی *لاکتوباسیل‌ها*، *کلستریدیوم‌ها* و *کلی‌فرم‌ها* به ترتیب از محیط‌های کشت Rogosa Agar(merck,Germany) Germany,05413)، Reinforced colesteridium Agar(Merck, 05410) و Salmonella-Shigella Agar(Merck,Germany, 7667) استفاده شد. محیط‌های کشت مذکور پس از آماده شدن به پتری دیش منتقل شدند. در مورد *کلستریدیوم‌ها* چون شمارش کلنی‌ها از طریق کشت نمونه اولیه میسر نبود، ابتدا نمونه های همراه بافر به مدت یک هفته در یخچال قرار داده شدند تا وارد مرحله هاگ شوند. سپس نمونه از یخچال خارج و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. این عمل برای اطمینان به از بین رفتن سایر باکتری‌های غیر هاگ زای موجود در نمونه ها انجام شد. سپس برای شمارش به کشت هاگ ها آنها اقدام شد. برای تعیین تعداد باکتری ها از روش شمارش کلنی استفاده شد. بدین منظور از نمونه اولیه به کمک بافر فسفات، ۱۳ سری رقت با ضریب رقیق سازی ۱۰، تهیه شد. از هر کدام از رقت‌ها ۱۰۰ میکرولیتر به هر کدام از محیط‌های کشت اختصاصی تلقیح شد. برای ایجاد

جدول ۱- ترکیب جیره های آزمایشی در دوره های آغازین، رشد و پایانی*

مواد خوراکی(٪)	دوره آغازین(۱۴-۱ روزگی)	دوره رشد(۲۸-۱۵ روزگی)	دوره پایانی(۴۲-۲۹ روزگی)
ذرت	۶۷/۲	۶۶/۸	۷۱/۶
کنجاله سویا	۳۲/۸	۲۷/۸	۲۳/۴
روغن	--	۱/۲	۲
پوسته صدف	۱/۴	۱/۴	۱/۴
دی کلسیم فسفات	۱/۴	۱/۲	۰/۹
نمک	۰/۲	۰/۲	۰/۲
مکمل ویتامینی**	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی**	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی -ال متیونین	۰/۱۷	۰/۰۸	۰/۱۰
اجزاء محاسبه شده			
میزان انرژی (Kcal/Kg)	۳۰۵۰	۳۱۰۰	۳۱۵۰
درصد پروتئین	۲۱/۹۲	۱۹/۳۸	۱۷/۷۲

* برای تهیه جیره های حاوی نانو ذرات نقره به جیره های مذکور مقادیر ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی لیتر در تن محلول ۲۰۰۰ PPM آن اضافه شد. ** هرکیلو گرم مکمل ویتامینی حاوی ۴۴۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A ، ۷۲۰۰۰ واحد بین المللی ویتامینD، ۱۴۴۰۰میلی‌گرم ویتامین E، ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامینK، ۶۴۰ میلی‌گرم کوبالامین، ۶۱۲ میلی گرم تیامین، ۳۰۰۰میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۴۸۹۶ میلی‌گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲۱۶۰ میلی‌گرم نیاسین ، ۶۱۲ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۲۰۰۰ میلی‌گرم بیوتین و ۲۶۰ گرم کولین کلراید می باشد. هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی۶۴/۵ گرم منگنز، ۳۳/۸گرم روی، ۱۰۰ گرم آهن، ۸ گرم مس، ۶۴۰ میلی‌گرم ید، ۱۹۰ میلی‌گرم کبالت و ۸ گرم سلنیوم می‌باشد.

محیط بی هوازی، پس از کشت نمونه، مقداری از همان محیط کشت به صورت لایه نازکی بر روی نمونه کشت شده اضافه شد. پلت‌ها پس از تلقیح، به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد منتقل شدند. دوره انکوباسیون تا زمان تشخیص کلنی های کامل ادامه یافت. این زمان در مورد باکتری‌های مختلف مورد مطالعه بین ۲۴ تا ۹۶ ساعت متغیر بود. پس از طی زمان انکوباسیون تعداد کلنی‌ها بر روی پلیت های مربوط به رقت‌هایی که تعداد کلنی‌هایی بین ۳۰ تا ۳۰۰ عدد داشتند، شمارش شدند. در نهایت با ضرب نمودن تعداد کلنی‌ها در ضریب رقت، تعداد باکتری‌ها محاسبه شد(۳) برای تبدیل داده های CFU به فرم LOG_{10} از نرم افزار SigmaState استفاده شد. داده های حاصل به کمک برنامه نرم افزاری SAS (نسخه ۹) و مطابق مدل آماری زیر تجزیه و میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن مقایسه شدند:

$$Yij = \mu + Ti + eij$$

در این رابطه Yij: مقدار هر مشاهده، μ: میانگین جامعه، Ti: اثر تیمار و eij: خطای آزمایش می باشد.

نتایج

گروه های مورد آزمایش در مقایسه با گروه شاهد تاثیر معنی داری ($P < ۰/۰۵$) بر تیتر آنتی بادی علیه بیماری نیوکاسل، تعداد گلبول های سفید خون، فراوانی هتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها، بازوفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها نداشتند(جدول۳). ولی فراوانی منوسیت‌ها در جوجه‌هائی که سطح ۸۰۰ میلی‌لیتر نانو ذرات نقره در جیره و یا آب آشامیدنی دریافت نمودند به طور معنی داری افزایش یافت($P < ۰/۰۵$). در این آزمایش هیچ گونه باند هتروفیلی و یا لنفوسیت غیر طبیعی که به ترتیب ناشی از اختلال در تولید هتروفیل‌ها و یا لنفوسیت‌های خونی است مشاهده نشد.

جدول۲- اثرات نانو ذرات نقره و آنتی بیوتیک روی پارامترهای بیوشیمیایی سرم

تیمار	کلسترول	تری گلیسرید	گلوکز	HDL Mg/dl	LDL Mg/dl	آلانین آمینوترانسفراز	آسپارتات آمینو ترانسفراز
شاهد	۱۳٤	۱۱۳/٦	۲۳۰	۱۰۱/٦	۱۸/۳	۸/٥	۲٥۹/۲٥
آویلامایسین	۱٦۲	۱۲۳	۲۲۱/۲۳	۱۰٥/۱	۲۲/۹	۹/۲۳	۲٦۲/٥
نانو نقره(٤۰۰میلی لیتر بر تن) خوراک	۱۲۸	۱۱۱	۱۷٦/۸	۱۰۹	۱۷/٤	۱۱/۷٥	۲۲٤/۲٥
نانو نقره(۸۰۰میلی لیتر بر تن) خوراک	۱۳٥/۳	۱۱۰	۱۷۹/٦	۱۰۷/۳	۱٦/۱	۱۲/۲٥	۲۱۷/۷٥
نانو نقره(٤۰۰میلی لیتر بر متر مکعب) آب آشامیدنی	۱٤٦/۲	۱۲۱	۱۷۲/۳۱	۱۰۹/۳	۱۷/۱	۱۱	۲۲۹
نانو نقره(۸۰۰میلی لیتر بر متر مکعب) آب آشامیدنی	۱۱٥/۳	۱۰۹	۱۸۷۸	۱۱۰	۱٦/٤	۱۱/۳۲	۲۲۹/۳۲
خطای معیار میانگین	۲/۲٥	۲/۱٦	۱/۰٥	۰/۷۱	۳/۰٦	۱/۲	٥/۲۲

افزودن سطوح مختلف نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی تاثیر معنی داری (P <۰/۰٥) بر کلسترول و LDL خون جوجه ها در مقایسه با گروه شاهد نداشت(جدول۲). نانوذرات نقره غلظت تری گلیسرید خون جوجه‌ها را کاهش داد به طوری که این کاهش هنگام استفاده از دوز ۸۰۰ میلی لیتر نانوذرات در جیره یا آب آشامیدنی معنی‌دار بوده است (P <۰/۰٥). افزودن آنتی بیوتیک به جیره غلظت کلسترول، تری گلیسریدها و LDL سرم خون جوجه ها را به طور معناداری افزایش داد(P <۰/۰٥).

جدول۳- اثرات نانو ذرات نقره بر تیتر انتی بادی علیه نیوکاسل و تعداد و فراوانی انواع گلبول های سفید خون در جوجه های گوشتی

	هتروفیل (درصد)	لنفوسیت (درصد)	مونوسیت (درصد)	ائوزینوفیل (درصد)	گلبول های سفید(میلی‌متر مکعب/10^3)	تیتر نیوکاسل
شاهد	۳٤	٦۳	۲/۲	۱/۳	۲۱/۱۹	۳/۳۳
آویلامایسین	۳۳/۵	٦۳	۲	۱/۵	۲۱/۹۵	۳/۳۳
نانو نقره(٤۰۰میلی لیتر بر تن) خوراک	۳۲	٦۳/۳	۲/٤	۱	۲۱/۵۵	۳/٦٦
نانو نقره(۸۰۰میلی لیتر بر تن) خوراک	۳۲/٦	٦۳/٤	۳	۱/٦	۲۱/۸٤	۳/۳۳
نانو نقره(٤۰۰میلی لیتر بر متر مکعب) آب آشامیدنی	۳۲/۷	٦۳	۳/۳	۱	۲۱/۲۰	۳/۳۳
نانو نقره(۸۰۰میلی لیتر بر متر مکعب) آب آشامیدنی	۳۳	٦۳/۱	۳/۱	۱/۵	۲۱/٦۸	۳
خطای معیار میانگین	۰/۳	۰/۷	۰/۰۰۵	۰٤ ۰/	۰/۳۱	۰/٦

افزودن سطوح مختلف نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی تاثیر معنی‌داری (P <۰/۰۵) بر جمعیت کلی-فرم‌های رودۀ جوجه‌ها در مقایسه با گروه شاهد نداشت(جدول۲). تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد تاثیر معنی داری (P <۰/۰۵) را بر جمعیت لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکترهای روده نداشتند.افزودن ٤۰۰ سی سی نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی اثر معنی داری(P <۰/۰۵) برجمعیت کلستریدیوم‌های روده آن ها در مقایسه با گروه شاهد نداشت، اما کاربرد ۸۰۰ سی سی نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی افزایش معنی‌داری

(P <۰/۰۵) را برجمعیت کلستریدیوم‌های روده آن ها در مقایسه با گروه شاهد نشان داد.

جدول٤- اثر نانو ذرات نقره و آنتی بیوتیک بر جمعیت باکتریایی موجود در ایلئوم (LOG CFU_{10})

تیمار	کلی فرم	کلستریدیوم	لاکتوباسیلوس
شاهد	^{a}٥/٤٦	^{b}٧/٣٥	٧/٩٠
آویلامایسین	^{b}٥/١٦	^{c}٧/١٤	٧/٨٩
نانو نقره (٤٠٠ml/ton خوراک)	^{a}٥/٥١	^{b}٧/٣٨	٧/٩٣
نانو نقره (٨٠٠ml/ton خوراک)	^{a}٥/٥٣	^{a}٧/٥١	٧/٩٥
نانو نقره(٤٠٠ml/m^{3} آب	^{a}٥/٥٢	^{b}٧/٣٧	٧/٩٢
نانو نقره(٨٠٠ml/m^{3} آب	^{a}٥/٥٣	^{a}٧/٥٠	٧/٩٤
SEM	٠/٠٢	٠/٠٣	٠/٠٢

$^{a-c}$: اعداد در هر ستون با حروف غیر مشابه با هم اختلاف معنی دار دارند (P <۰/۰۵).SEM :خطای معیار میانگین

جدول ٥- اثر تیمارهای آزمایشی بر خوراک مصرفی (FI)گرم، افزایش وزن(BW) گرم و ضریب تبدیل غذایی (FCR)

تیمار	FI	BW	FCR
شاهد	^{A}٤٣٩٧/٤	^{B}٢٤٤٢/٤٦	١/٨٠
آویلامایسین	٤٢٥٨/٥١	٢٤٠٢/٣٨	١/٩٣
نانو نقره (٤٠٠ml/ton خوراک)	^{B}٤٥٨٠/٢	^{C}٢٤٥٣/٢٣	١/٨٧
نانو نقره (٨٠٠ml/ton خوراک)	^{B}٤٦٢٥/٥٢	^{C}٢٤٦٠/٣٧	١/٩٢
نانو نقره(٤٠٠ml/m^{3} آب آشامیدنی)	^{B}٤٤٨٢/٥٣	^{C}٢٥٠٥/٥٠	١/٨٥
نانو نقره(٨٠٠ml/m^{3} آب آشامیدنی)	^{B}٤٥٩٢/٠٢	^{C}٢٦٠٢/٠٣	١/٩٤

$^{a-c}$: اعداد در هر ستون با حروف غیر مشابه با هم اختلاف معنی دار دارند (P <۰/۰۵).

با توجه به جدول شماره ٥ استفاده از نانو ذرات نقره موجب افزایش معنی دار (P <۰/۰۵) مصرف خوراک جوجه‌های تغذیه شده گردید(P <۰/۰۵) که این امر به نوبه خود افزایش وزن جوجه ها را در پی داشت. بهترین افزایش وزن مربوط به نانو نقره(٨٠٠ML/M^{3} آب) بود که ضریب تبدیل غذایی متمایل به معنی دار بود. (P <۰/۰۵). مقایسه اثر تیمارهای آزمایشی در جدول ٦ نشان داد اثر تیمارها روی صفاتی همچون وزن پانکراس، سنگدان خالی، کبد، چربی بطنی معنی‌دار نبودند. (P <۰/۰۵)

جدول٦- اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن پانکراس، سنگدان خالی، کبد و چربی بطنی در ٢٤ روزگی

تیمار	پانکراس	سنگدان خالی	کبد	چربی
شاهد	۰/۳۳	۱/۹۵	۲/۵۲	
آویلامایسین	۰/۳۵	۱/۹۷	۲/٤٦	
نانو نقره (٤۰۰ml/ton خوراک)	۰/۳٤	۱/۹۷	۲/٤٦	
نانو نقره (۸۰۰ml/ton خوراک)	۰/۳٦	۱/۸۷	۲/۳۷	
نانو نقره(٤۰۰ml/m^3 آب آشامیدنی)	۰/۳۷	۷/۵۰	۷/۹٤	
نانو نقره(۸۰۰ml/m^3 آب آشامیدنی)	۰/۳۷	۰/۰۳	۰/۰۲	

بحث

از آنجا که روش‌های سنتز نانوذرات پیچیده نیستند و حتی به صورت بیولوژیکی از طریق قارچ‌ها و باکتری‌ها تولید می‌شوند و در مقادیر کنترل شده اثرات سمیت بر سلول‌های انسانی ندارند، طرفداران بسیاری را به خود جلب کرده‌اند. به علاوه خواص ضد باکتریایی و عدم ایجاد مقاومت در برابر میکروارگانیسم‌ها، باعث شده است که این مواد جایگزین خوبی برای آنتی بیوتیک‌ها به شمار روند. بارزترین ویژگی این ذرات سمیت دو گانه است این بدان معناست که در مقابل باکتری‌ها اثرات سمی از خود بروز می‌دهند و در مقابل برای بدن زیست سازگارند(۱۰).

پژوهش های محدودی در مورد تاثیر نانوذرات نقره بعنوان یک افزودنی پرکاربرد بر عملکرد، سیستم ایمنی، فلور میکروبی دستگاه گوارش و لیپیدهای سرم در حیوانات (بخصوص جوجه های گوشتی) انجام شده است. در این پژوهش مشاهده شد افزودن ۸۰۰ سی سی نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی جوجه های گوشتی سبب افزایش معنی داری در تعداد منوسیت ها در مقایسه با سایر گروه‌ها شد. در طول عفونت پاتوژنیک، منوسیت ها برای کشتن پاتوژن ها جمع شده که این باعث التهاب می شود. حال چنانچه این عفونت در روده اتفاق افتد سبب ضخیم شدن دیواره روده می شود (۱۱).

مواد شیمیایی مختلف در بافت ها می توانند مونوسیت ها را به سمت خود بکشانند، که این پدیده را کموتاکسی گویند. سموم باکتریایی یکی از مهمترین موادی است که باعث کموتاکسی می شود(۱۲). بنابرین ممکن است دلیل بالا بودن معنی دار کلستریدیوم ها در گروه های حاوی ۸۰۰ سی سی نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی در نتیجه ایجاد پدیده کموتاکسی که منجر به تحریک بدن در ساخت بیشتر منوسیت ها می شود باشد. یون نقره به دلیل اندازه کمی که دارد سطح تماس بیشتری با فضای بیرون دارد و تاثیر بیشتری بر غشاهای آزاد دارد از طرفی مکانیسم فیزیولوژیک احتمالی ایجاد شده توسط نانو ذرات نقره را می توان به تولید رادیکال آزاد اکسیژن فعال نسبت داد. با توجه به خواص ویژه گلبول های سفید در تغییر شکل یا دیاپدز هنگام عبور از رگ های خونی و هم چنین گرایش ان ها به سمت حاشیه رگ های خونی، گلبول های سفید با دو مکانیسم فوق از تغییرات معنی داری در غلظت های پایین مثل ٤۰۰ PPM از نانو ذرات نقره مصون مانده باشند. سایر فاکتور های ایمنی بیشتر مربوط به ایجاد عفونت در خون می باشد که در این تحقیق بین تیمار های آزمایشی تفاوتی وجود نداشت. در پژوهشی با تزریق نانو ذرات نقره به داخل تخم مرغ مشاهده کردند نانو ذرات نقره بر رشد جنینی تأثیری ندارد ولی تعداد و اندازه فولیکولهای لنفی در غده بورس را کاهش می دهد(۱۲).

غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی هیچ تاثیری بر صفات بیوشیمیایی خون نداشت. استفاده از ۸۰۰ سی سی نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی جوجه های گوشتی کاهش کلسترول و تری گلیسرید را نشان داد که معنی دار نبودند. علت این امر ممکن است به دلیل دکنژوگه شدن اسیدهای صفراوی کنژوگه و در نتیجه کاهش هضم و جذب چربی ها باشد، فلور میکروبی موجب تبدیل بیولوژیکی اسیدهای صفراوی شده و با دکونژوگه کردن و دهیدروکسیله کردن صفرا در جذب چربی توسط حیوان اختلال ایجاد می‌کند (۱۳). دراین پژوهش گروه های آزمایشی هیچ اثری بر HDL نداشتند که با سایر گزارشات همخوانی دارد(١٤).

خواص ضد میکروبی نانو ذرات نقره و استفاده مفید از آن در بیوتکنولووژی و مهار اختصاصی میکروب ها در مطالعات مختلفی بررسی شده اند(۱۵). به طوری که نانو ذرات نقره می توانند با مهار سیستم تنفسی باکتری ها بر متابولیسم و نیز فرایندهای تولید مثل میکروارگانیسم ها اثر گذار باشند. و باعث ایجاد آسیب هایی در غشای سلولی باکتری ها گردند. در این پژوهش هنگام استفاده از ۸۰۰ سی سی نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی جوجه های گوشتی نه تنها تعداد باکتری های موجود در ایلئوم کاهش نیافت، بلکه تعداد کلستریدیوم ها که یکی از انواع باکتری های مضر دستگاه گوارش هستند را نیز افزایش داد. به نظر می رسد که نحوه اثرگذاری این ترکیب در محیط زنده (*In Vivo*) با محیط آزمایشگاه متفاوت باشد. نانو ذرات نقره با اختلالی که در روند هضم و جذب مواد مغذی ایجاد می کنند ممکن است با فراهم کردن محیطی مناسب برای میکروارگانیسم ها موجب افزایش تعداد آن ها شده باشند (١٦). در بین فلزات طبیعی یون نقره دارای خواص ضد میکروبی شدید علیه بسیاری از گونه های فعال باکتریایی است(۷) بر این اساس امروزه توجه بسیاری از پژوهشگران را به استفاده از نانو ذرات نقره در صنعت دام و طیور به خود معطوف ساخته است. ویژگی های مورفولوژیک روده مقدار جذب مواد مغذی را تحت تاثیر قرار می دهد. و بعنوان یک سد در مقابل پاتوژن ها و عوامل شیمیایی عمل می نماید.(۲۱). نتایج پژوهش حاضر با مطالعه ای در خصوص عدم تأثیر نانوذرات نقره بر تعداد باکتری های سکوم بلدرچین همخوانی دارد(۱۷) ولی با پژوهش های دیگر دیگر مبنی بر کاهش تعداد کلستریدیوم ها و لاکتوباسیل ها ی موجود در دستگاه گوارش جوجه های گوشتی(٦)، ویا افزایش در تعداد لاکتوباسیل‌های موجود در روده کور بلدرچین(١٦) در اثر استفاده از نانوذرات نقره همخوانی ندارد. احتمالا ترکیب ذرات فلز نقره با HCL و تولید AgCl به هنگام عبور از معده(۱۸) و یا جذب نانوذرات نقره در بخش های بالائی روده کوچک و قبل از رسیدن به ایلئوم، موجب کاهش اثرات ضد میکروبی آن شده است. در پزوهشی گزارش شده که میزان نقره بافت‌ها بعد از مصرف نانوذرات آن، ناچیز گزارش شده است(٦)، قابلیت رسوب این ترکیب در بافتها به ویژه کبد نیز گزارش شده است(۱۹). ثابت شده است که فلور میکروبی دستگاه گوارش می تواند تاثیر قابل توجهی بر سلامتی و بهره بری طیور گوشتی داشته باشد بدین ترتیب هر گونه اختلال در فلور میکروبی طبیعی به علت عوامل بیماری‌زا می تواند باعث کاهش رشد شود. در پژوهشی که توسط چلوپکا و همکاران (٦) صورت گرفت نشان دادند که نانو ذرات نقره به دلیل عملکرد چندگانه ضد میکروبی یکی از موثر ترین نانو ذرات فلزی دارای خاصیت ضد میکروبی است. پژوهش های مختلفی اثرات ضد میکروبی نانو ذرات نقره را تایید کردند که باکتری های پاتوژن نظیر باسیلوس سوبتیلیس و ای کلای را از بین می برد(۹،۱۲). ممکن است نانو ذرات نقره موجب افزایش امونیاک و سایر محصولات نیتروژنی سمی در روده به

علت اثری که بر افزایش رشد میکروارگانیسم های خاص تولید کننده آمونیاک می گذارند شوند و ممکن است این متابولیت های سمی سبب کاهش رشد شوند(۲۰) با توجه به نتایج حاضر ممکن است مصرف نانو ذرات نقره به صورت مکمل برای کاهش چربی خون در بیماران دچار سندروم هیپرلیپیدمی و متابولیک مفید باشد برای اثبات دقیق این موضوع و شناسایی مکانیسم تاثیر کاهشی نانو ذرات نقره بر تری گلیسرید خون انجام مطالعه بیشتری ضروری است. با توجه به نتایج مطالعه حاضر به نظر می رسد نانو ذرات نقره که به عنوان یک افزودنی محرک رشد در جوجه های گوشتی مصرف می شود برای کنترل باکتری‌های مضر در دستگاه گوارش طیور و تقویت سیستم ایمنی و افزایش ضریب تبدیل غذایی جوجه گوشتی مناسب نیست.

فهرست منابع

1. Scott, D. F. and P. D. Michael. 2012. Sub-therapeutic levels of antibiotics in poultry feeds and their effects on weight gain, feed efficiency, and bacterial cholyltaurine hydrolase activity. Applied Environmental microbiology 331-336
2. Wakeman, G. W. 2005. AGP alternatives- part II. Dietary strategies to influence bacterial microflora. World Poultry 21: 28-29
3. Percival, S L, P. G. Bowler and D. Russell. 2018. Bacterial resistance to silver in wound care. Journal of Hospital Infection 60: 1–7
4. Sondi, I. and S. B. Sondi. 2019. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for gram-negative bacteria. Journal of Colloid and Interface Science 275: 77–182
5. Hoet, P. H., I. Bruske-Hohlfeld and O. V. Salata. 2004. Nanoparticles-known and unknown health risks. Journal of Nanobiotechnology 2: 12-14
6. Hollinger, M. A. 2020. Toxicological aspects of topical silver pharmaceuticals. Critical Review Toxicology 26:255–60
7. Benn, T. M. and P. Westerhoff. 2008. Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics. Environmental Science and Technology 42: 4133-4139
8. Zargaran esfahani, H., S. D. Sharifi, A. Barin, and A. Afzalzadeh. 2010. Influence of Silver Nanoparticles on Performance and Carcass Properties of Broiler Chicks. Iranian Journal of Animal science 41:137-141(In Persian).
9. Sawosz, E., M. Binek, M. Grodzik, S. P. Ziellin, M. Szmidt, T. Niemiec and A. Chwaiibog . 2017. Influence of hydrocolloidal silver nanoparticles on gastrointestinal microflora and morphology of enterocytes of quails. Archives of Animal Nutrition 61: 444 – 451
10. Grudzien, M. and E. Sawosz. 2019. The influence of silver nanoparticles on chick embryo development and bursa Fabricius morphology. Journal of Animal Feed and Science 15: 111 – 115
11. Grudzien, M. and E. Sawosz. 2006. The influence of silver nanoparticles on chick embryo development and bursa Fabricius morphology. Journal of Animal Feed and Science 15: 111 – 115
12. Wakeman, G. W. 2016. AGP alternatives-part II. Dietary strategies to influence bacterial microflora. World Poultry 21: 28-29
13. Khosravi, A., F. Boldaji, B. Dastar and S. Hasani. 2017. The Use of Some Feed Additives as Growth Promoter in Broilers Nutrition. International Journal of Poultry Science 7: 1095-1099
14. Sondi, I. and S. B. Sondi. 2015. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for gram-negative bacteria. Journal of Colloid and Interface Science 275: 77–182

15.Hoet, P. H., I. Bruske-Hohlfeld and O. V. Salata. 2004. Nanoparticles-known and unknown health risks. Journal of Nanobiotechnology 2: 12-14
16.Vincent, C.H. The direct or breed method for counting bacteria in tomato catsup pulp or paste. Journal of bacteriology. 3(2).
16.Sawosz, E., M. Binek, M. Grodzik, S. P. Ziellin, M. Szmidt, T. Niemiec and A. Chwaiibog . 2010. Influence of hydrocolloidal silver nanoparticles on gastrointestinal microflora and morphology of enterocytes of quails. Archives of Animal Nutrition 61: 444 – 451
17.Atiyeh, B. S., M. Costagliola, S.N. Hayek, and S. A. Dibo. 2018. Effect of silver on burn wound infection control and healing. Review of the Literature Burns 33: 139–148.
18.Fondevila M., R. Herrer, M. C. Casallasa, L. Abeciaa, J. J. Duchab. 2020. Silver nanoparticles as a potential antimicrobial additive for weaned pigs. Animal Feed Science and Technology 150: 259-269
19.Hoet, P. H., I. Bruske-Hohlfeld and O. V. Salata. 2004. Nanoparticles-known and unknown health risks. Journal of Nanobiotechnology 2: 12-14
20.Scott, D. F. and P. D. Michael. 1987. Sub-therapeutic levels of antibiotics in poultry feeds and their effects on weight gain, feed efficiency, and bacterial cholyltaurine hydrolase activity. Applied Environmental microbiology 331-336.