DOI: 10.22092/vj.2019.122822.1477 شماره ۱۲۵ زمستان ۱۳۹۸

تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

اثرات نانو ذرات نقره بر سیستم ایمنی، خصوصیات بیوشیمیایی خون و جمعیت میکروبی روده در جوجه‌های گوشتی

• **سید داود شریفی (نویسنده مسئول)**

دانشیار گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

• **حامد زرگران اصفهانی**

آموخته کارشناسي ارشد گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۱۲-۰۶-۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: ۰۹-۱۱-۱۳۹۷

Email: sdsharifi@ut.ac.ir

چکیده

امروزه استفاده از آنتی بیوتیک‌ها به عنوان محرک رشد محدود شده است. نقره فلزی است که از گذشته‌های دور خواص ضدمیکروبی آن شناخته شده است و گفته می‌شود که با کاهش اندازه ذرات این فلز به مقیاس نانو خواص ضد میکروبی آن به شدت افزایش می‌یابد. هدف از انجام این آزمایش بررسی تأثیر نانوذرات نقره بر سیستم ایمنی و لیپیدهای خون و جمعیت میکروبی روده جوجه‌های گوشتی و مقایسه آن با آنتی‌بیوتیک فلاوومایسین بود. این آزمایش با استفاده از ۳۱۲ قطعه جوجه نر یک روزه سویه تجاری آربوراکرز در قالب یک طرح کاملا تصادفی با شش تیمار و چهار تکرار انجام شد. از محلول ppm ۲۰۰۰ نانو ذرات نقره به مقدار ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌لیتر در تن جیره و یا متر مکعب آب آشامیدني استفاده شد. يك تيمار بدون افزودني و يك تيمار حاوی فلاوومایسین به عنوان تيمارهاي شاهد در نظر گرفته شدند. افزودن ۸۰۰ میلی‌لیتر نانو ذرات نقره در جیره و یا آب آشامیدني منوسیت‌ها را افزایش داد (p<۰/۰۵). سطوح مختلف نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی، اثری بر مقدار کلسترول، لیپوپروتئین‌های کم چگال (LDL) و لیپوپروتئین‌های پر چگال (HDL) خون و جمعیت کلی فرم‌هاي ایلئوم نداشت ولی جمعیت کلستریدیوم‌هاي موجود در ایلئوم هنگام استفاده از ۸۰۰ میلی‌لیتر نانو ذرات نقره در جیره و یا آب آشامیدني افزایش یافت(p<۰/۰۵). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که استفاده از نانوذرات نقره به عنوان يك افزودني جهت كنترل باكتري‌هاي مضر موجود در دستگاه گوارش و تقویت سیستم ایمني جوجه‌هاي گوشتي مناسب نیست. تحقیقات بیشتر در این زمینه ضروري است.

کلمات کلیدی: جوجه گوشتی، صفات بیوشیمیایی خون، سیستم ایمنی، نانو ذرات نقره

www.SID.ir

Archive of SID

Veterinary Researches & Biological Products No 125 pp: 85-92

A study on the effects of silver nanoparticles as additive on immune system, blood biochemical properties and intestinal microflora of broiler chicks

By:Sharifi, SD., (Corresponding Author) Asscociate Professor, Department of Animal and Poultry Science, College of Abouraihan, University of Tehran, Tehran, Iran. and Zargaran Esfahani, H., MSc Student, Department of Animal and Poultry Science, College of Abouraihan, University of Tehran, Tehran, Iran .

Received: 2018-09-03 **Accepted: 2019-01-29**

Email: sdsharifi@ut.ac.ir

Today, the use of antibiotics is limited as a growth promoter. Silver has been known for its antimicrobial properties over the past, and it is said to increase its antimicrobial properties by decreasing the particle size to nano scale. The aim of this study was to evaluate the effect of silver nanoparticles on immune system and blood lipids and microbial population of broiler chickens and compare it with flavomycin. A total 312 day-old broilers (Arbor-Acre Plus) were used in a completely randomized design with 6 treatments diets and 4 replicates per each replicate. The nano-silver solution (2000 ppm) was used in 400 and 800 cc per ton diet or 1000lit water to prepare treatments. Two treatments with and without antibiotic (flavomycin 500g/t) were considered as control groups. Number of monocytes increased significantly in birds received diets or drinking water containing 800 ml silver nanoparticles ($p< 0.05$). Different levels of silver nanoparticles in diet or drinking water had not significant effects on concentration of cholesterol, low density lipoprotein (LDL) and high density lipoprotein (HDL) of serum and coliform bacteria in the ileum. But the number of cholestridia in the ileum of birds received 800 ml silver nanoparticles in diet or drinking water increased significantly ($p< 0.05$). The results indicate that silver nanoparticles are not suitable for using as feed additives to encourage immune system and control pathogenic bacteria in broilers gut. Further studies are needed.

Keyword: Broiler chicks, Blood biochemical properties, Immune system, Silver nanoparticles

مقدمه

امروزه استفاده از افزودنی‌ها جهت بهبود رشد، تولید مطلوب و افزایش بهره‌وری خوراک، بسیار متداول می‌باشد. ترکیبات ضدمیکروبی از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها از افزودنی‌هائی هستند که برای سال‌های متمادی جهت بهبود رشد و عملکرد، محافظت پرندگان از اثرات نامطلوب میکروارگانیسم‌های بیماریزا و غیر بیماریزا و همچنین درمان بیماری‌ها در صنعت طیور استفاده می‌شوند. آنتی‌بیوتیک‌ها با کنترل و یا محدود نمودن رشد باکتری‌های بیماری‌زا (نظیر کلستریدیم پرفرینجنس) و یا جلوگیری از رشد و جایگزینی گونه‌های متعددی از باکتری‌های غیر بیماری‌زای موجود در دستگاه گوارش طیور(نظیر لاکتوباسیل ها، بیفیدو باکترها و باکتروئیدها) و در نتیجه کاهش متابولیت‌های میکروبی مضر مانند آمونیاک و دیگر ترکیبات سمی ازت دار در روده، سبب بهبود عملکرد می‌شوند (۱۹). بنابراین اثرات سودمند آنتی بیوتیک‌ها، ناشی از اثر آن‌ها بر جمعیت میکروبی مجرای روده می‌باشد. به این ترتیب ممکن است هضم ویا قابلیت دسترسی مواد مغذی مانند کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها را بهبود داده و از این طریق بر صفات بیوشیمیایی خون تاثیر گذارند (۱۷). امروزه به دلیل نگرانی از ایجاد مقاومت میکروبی در برابر آبیوتیک‌ها کاربرد آنها در بیشتر نقاط دنیا محدود شده است (۲۰). لذا جهت دستیابی به عملکرد مطلوب و حفظ سلامتی و بهداشت طیور یافتن جایگزینی مناسب برای آنتی بیوتیک‌ها ضروری است. اسیدهاي آلي، پرو و پری بیوتیک‌ها و همچنین اسانس‌های گیاهي ترکیباتی مي‌باشند که با ایجاد تغییر در فلور میکروبی دستگاه گوارش و کاهش باکتری‌های بیماری‌زا در دیواره روده، تولید ترکیبات سمي توسط آن‌ها را کاهش داده و موجب تغییر در مرفولوژي دیواره روده و بهبود هضم و جذب و در نهایت افزایش عملکرد می‌شوند (۱۲).

نانوتکنولوژی به عنوان یکی از پیشرفته‌ترین علوم در عصر حاضر، در تمام 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(۹-۱۰ متر یا یک میلیاردیم متر) به خاطر افزایش نسبت سطح به حجم تمام خواص فیزیکی و شیمیایی تغییر نموده و واکنش‌پذیری ذره به شدت افزایش می‌یابد. نقره فلزی است که از گذشته‌های دور خواص ضدمیکروبی آن شناخته شده است. با کاهش اندازه ذرات این فلز به مقیاس نانو خواص آن به شدت افزایش می یابد. نانوذرات نقره یون‌ها Ag+ ساطع می‌کنند که با پیوندهای HS- دیواره

www.SID.ir

Archive of SID

میکروارگانیسم‌ها وارد واکنش شده و تولید AgS- کرده موجب مرگ آن‌ها می‌شود. نانوذرات نقره می‌توانند در فعالیت آنزیم‌هاي تنفسي و سیستم انتقال الکترون اختلال ایجاد نمایند. به علاوه می‌توانند با اتصال به سطح باکتري‌ها وایجاد تغییر در ساختمان غشاء موجب مرگ باکتري‌ها شوند (۱۴و ۱۸). نانو ذرات نقره در محیط آزمایشگاهی اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی دارند و مي‌توانند از طریق سازوکارهای یونی و کاتالیستی گونه‌های مختلف میکروبی را از بین ببرند (۹). حساسیت و عدم پایداري باکتري‌هاي *Staphylococcus cereus*، *E. coli* و *Bacillus subtilis* به نانو نقره نشان داده شده است (۲). این ذرات به عنوان حامل اکسیژن عمل می‌نمایند و از این راه باعث کاهش میکروارگانیسم‌هاي بي هوازي و همچنین موجب افزایش در جمعیت میکروارگانیسم‌هایی که توانایی زندگی در حضور فشار اکسیژن تقلیل یافته را دارند مخصوصا لاکتوباسیل‌ها می‌گردند (۷ و ۱۶) علیرغم توانائي این ماده در از بین بردن میکروب‌ها، گزارش‌هاي زیادي نیز در خصوص اثرات سمي این ماده در انسان و حیوانات وجود دارد (۴ و ۱۰).

با توجه به خواص ضدمیکروبی نانوذرات نقره، به نظر می‌رسد که بتوان از این ماده به عنوان افزودنی برای کنترل فعالیت میکروبی دستگاه گوارش طیور به جای آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده نمود. گزارشات محدودی در خصوص تأثیر کاربرد این ترکیبات به عنوان افزودنی در دام و طیور وجود دارد. نشان داده شده است که افزودن نانوسیلور به خوراک، هیچ تاثیري بر عملکرد و افزایش وزن در خوک‌ها (۶) و جوجه‌های گوشتی (۲۱) ندارد. گزارش شده است که افزودن نانوذرات نقره در آب آشامیدنی بلدرچین‌ها اثرات تخریبی بر سلول‌های جاذب پرزهای دوازدهه ندارد ولی جمعیت لاکتوباسیل‌ها را در روده افزایش می‌دهد (۱۶). کاهش تعداد و اندازه فولیکول‌های لنفاوی غده بورس در جنین مرغ در اثر تزریق این ماده به داخل تخم مرغ‌های نطفه‌دار،گزارش شده است (۷).

امروزه از نانو ذرات نقره در دامپروری برای شتشوی و ضدعفونی پستان و سم دام، ساختمان‌ها لباس‌ها استفاده می‌شود. با این‌حال، علی رغم اثرات ضدمیکروبی این ترکیب در محیط آزمایشگاه، استفاده از آن به عنوان افزودنی در تغذیه دام و طیور به مطالعات بیشتری نیاز دارد. لذا این آزمایش به منظور بررسی امکان کاربرد نانوذرات نقره به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد و مطالعه اثر آن بر فعالیت میکروبی دستگاه گوارش، سیستم ایمنی و صفات بیوشیمیایی خون، در جوجه های گوشتی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۳۱۲ قطعه جوجه نر یک روزه از سویه تجاری آربوراکرز پلاس در قالب یک طرح کاملا تصادفی با شش تیمار، چهار تکرار استفاده شد. جیره‌های آزمایشی بر پایه ذرت و کنجاله سویا برای سه دوره آغازین، رشد و پایانی و مطابق احتیاجات مواد مغذی توصیه شده سویه تجاری با استفاده از نرم‌افزار UFFDA تنظیم گردید (جدول۱). از محلول نانو نقره (با غلظت۲۰۰۰ PPM) تولیدی در داخل کشور به عنوان منبع نانوذرات و به مقدار ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌لیتر در هر تن خوراک و یا مترمکعب آب آشامیدنی استفاده شد. علاوه بر گروه شاهد یک تیمار حاوی فلاوومایسین نیز به منظور مقایسه اثرات نانوذرات نقره با آنتی‌بیوتیک‌ها در نظر گرفته شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: جیره شاهد (بدون افزودنی)، جیره حاوی فلاومایسین (۵۰۰ گرم در هر تن)، جیره حاوی ۴۰۰ میلی‌لیتر نانو ذرات نقره در هر تن خوراك، جیره حاوی ۸۰۰ میلی لیتر نانو ذرات نقره در هر تن خوراک، جیره حاوی ۴۰۰ میلی‌لیتر نانو ذرات نقره در هر متر مکعب آب آشامیدنی، جیره حاوی ۸۰۰ میلی‌لیتر نانو ذرات نقره در هر متر مکعب آب آشامیدنی.

در کل دوره آزمایش، ۲۴ ساعت نور در شبانه روز تأمین شد و آب و غذا در تمام مدت بطور آزاد در اختیار جوجه‌ها بود. برنامه واکسیناسیون توصیه شده در منطقه (نیوکاسل، گامبرو و لاسوتا) تا قبل از ۲۰ روزگي انجام شد. افزایش وزن، مصرف غذا و ضریب تبدیل غذایی به صورت هفتگی تا پایان دوره پرورش اندازه‌گیری شد. در پایان هفته پنجم دوره آزمایش بعد از اعمال دو ساعت گرسنگي، از هر واحد آزمایشی دو پرنده با وزن نزدیک به میانگین انتخاب و مقدار ۴ سي‌سي خون از طریق سیاهرگ بال از هر پرنده گرفته شد. نیمی از نمونه‌های خون گرفته شده برای بررسی فراوانی گلبول‌های سفید و همچنین تیتر آنتی‌بادی نیوکاسل اختصاص داده شد. لذا جهت جلوگیری از انعقاد، به آنها سیترات سدیم اضافه و به آزمایشگاه ارسال شد. سرم نمونه‌های اختصاص یافته برای بررسی صفات بیوشیمیائی، پس از ارسال به آزمایشگاه، به کمك سانتریفوژ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۵ دقیقه جدا شد. میزان کلسترول، تری گلیسرید، HDL و LDL سرم به کمك کیت‌هاي تجاري پارس آزمون و به روش آنزیمي-کلرمتري اندازه‌گیری شد (۱۵). به منظور بررسی جمعیت میکروبی دستگاه گوارش، در انتهاي دوره پرورش از هر واحد آزمایشي یک پرنده به طور تصادفی انتخاب و به روش انسانی کشتار شد. بلافاصله پس از کشتار محوطه شکمی باز و از انتهاي روده کوچك (ایلئوم) هر پرنده يك قطعه ۱۵ سانتی‌متری جدا شد. بعد از بستن دو انتهاي آن با نخ، در نایلون زیپ-کیپ شماره‌گذاري شده، قرار داده شد و سپس با استفاده از فلاکس حاوی یخ، براي کشت باکتریایي به آزمایشگاه ارسال شد. تعداد کل باکتري‌ها، فراواني گونه‌هاي لاکتوباسیل، کلي‌فرم‌ها و کلستریدیوم‌ها در محتویات ایلئوم تعیین شد. براي تعیین تعداد کل باکتري‌ها در هر ميلي‌ليتر نمونه مورد مطالعه از روشي معروف به روش برید (Breed) استفاده شد (۱). براي این منظور از لوله حاوي بافر که نمونه اولیه در آن حل شده بود مقدار يك ميلي‌ليتر به داخل لوله دربدار دیگري منتقل و براي از بین‌بردن باکتري‌ها به آن چند قطره فرمالین اضافه شد. سپس مقدار ۰/۰۱ ميلي‌ليتر از آن به روي لام مخصوص و بر روي سطحي به وسعت يك سانتیمترمربع پخش شد. لام در حرارت محیط خشك و نمونه‌ها با استفاده از شعله تثبیت گردیدند. سپس چند قطره رنگ کریستال ویوله بر روي آن ریخته و پس از ۱۰ ثانیه با آب شسته شد. بعد از خشك کردن لام، به کمك میکروسکوپ تعداد باکتري‌ها در ۵ خانه شمارش گردید و میانگین گرفته شد. هر میدان میکروسکوپي يك پنج هزارم سانتي‌متر مربع است بنابراین مشاهده هر باکتري نمایانگر ۵۰۰۰ باکتري در يك سانتي‌متر مربع و به عبارت دیگر۵۰۰/۰۰۰ باکتري در هر سانتي‌متر مکعب نمونه است(۳). براي تعیین فراواني لاکتوباسیل‌ها، کلستریدیوم‌ها و کلي‌فرم‌ها به ترتیب از محیط‌هاي کشت Reinforced Rogosa Agar(merck,05413)، colesteridium Agar(Merck, 05410) و Salmonella- Shigella Agar(Merck, 7667) استفاده شد. محیط‌هاي کشت مذکور پس از آماده

www.SID.ir

Archive of SID

شدن به پتري ديش منتقل شدند. در مورد كلستريديوم‌ها چون شمارش كلني‌ها از طريق كشت نمونه اوليه ميسر نبود، ابتدا نمونه‌هاي همراه بافر به مدت يك هفته در يخچال قرار داده شدند تا وارد مرحله هاگ شوند. سپس نمونه از يخچال خارج و به مدت ۱۰ دقيقه در دماي ۵۵ درجه سانتي‌گراد قرار داده شدند. اين عمل براي اطمينان به از بين رفتن ساير باكتري‌هاي غير هاگ‌زاي موجود در نمونه‌ها انجام شد. سپس براي شمارش به كشت هاگ‌ها آنها اقدام شد. براي تعيين تعداد باكتري‌ها از روش شمارش كلني استفاده شد. به همين منظور از نمونه اوليه به كمك بافر فسفات، ۱۳ سري رقت با ضريب رقيق‌سازي ۱۰، تهيه شد. از هر كدام از رقت‌ها ۲۰۰ ميكروليتر به هر كدام از محيط‌هاي كشت اختصاصي تلقيح شد. براي ايجاد محيط بي‌هوازي، پس از كشت نمونه، مقداري از همان محيط كشت به صورت لايه نازكي بر روي نمونه كشت شده اضافه شد. پلت‌ها پس از تلقيح، به انكوباتور با دماي ۳۷ درجه سانتي‌گراد منتقل شدند. دوره انكوباسيون تا زمان تشخيص كلني‌هاي كامل ادامه يافت. اين زمان در مورد باكتري‌هاي مختلف مورد مطالعه بين ۲۴ تا ۹۶ ساعت متغير بود. پس از طي زمان انكوباسيون تعداد كلني‌ها بر روي پليت‌هاي مربوط به رقت‌هايي كه تعداد كلني‌هايي بين ۳۰ تا ۳۰۰ عدد داشتند، شمارش شدند. در نهايت با ضرب نمودن تعداد كلني‌ها در ضريب رقت، تعداد باكتري‌ها محاسبه شد(۳). داده هاي حاصل به كمك برنامه نرم‌افزاري SAS (نسخه ۹) و مطابق مدل آماري زير تجزيه و ميانگين ها با آزمون چند دامنه‌اي دانكن مقايسه شدند:

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

در اين رابطه Yij: مقدار هر مشاهده، μ: ميانگين جامعه، Ti: اثر تيمار و eij: خطاي آزمايش می باشد.

نتايج

تيمارهای آزمايشی در مقايسه با گروه شاهد تاثير معنی‌داری بر تيتر آنتی‌بادی عليه بيماری نيوكاسل، تعداد گلبول‌های سفيد خون، فراواني هتروفيل‌ها، لنفوسيت‌ها، بازوفيل‌ها و ائوزينوفيل‌ها نداشتند (جدول۲). ولي فراواني منوسيت‌ها در جوجه‌هائي كه سطح ۸۰۰ ميلي‌ليتر نانو ذرات نقره در جيره و يا آب آشاميدنی دريافت نمودند به طور معنی‌داری افزايش يافت ($p<0/05$). در اين آزمايش هيچ گونه باند هتروفيلی و يا لنفوسيت غير طبيعي كه به ترتيب ناشي از اختلال در توليد هتروفيل‌ها و

جدول ۱- تركيب جيره های آزمايشی در دوره های آغازين، رشد و پايانی*

مواد خوراكی(٪)	دوره آغازين(۱۴-۱ روزگی)	دوره رشد(۲۸-۱۵ روزگی)	دوره پايانی(۴۲-۲۹ روزگی)
ذرت	۶۷/۲	۶۶/۸	۷۱/۶
كنجاله سويا	۲۹/۳	۲۷/۸	۲۳/۴
روغن	--	۲	۲
پوسته صدف	۱/۴	۱/۴	۱/۳
دی كلسيم فسفات	۱/۴	۱/۲	۰/۹
نمک	۰/۲	۰/۲	۰/۲
مكمل ويتامينی**	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مكمل معدنی**	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی -ال متيونين	۰/۱۷	۰/۱۰	۰/۱۰
اجزاء محاسبه شده			
ميزان انرژی (Kcal/Kg)	۳۰۵۰	۳۱۰۰	۳۱۵۰
درصد پروتئين	۲۱/۹۲	۱۹/۳۸	۱۷/۷۲

* برای تهيه جيره های حاوی نانو ذرات نقره به جيره های مذكور مقادير ۴۰۰ و ۸۰۰ ميلی ليتر در تن محلول ۲۰۰۰ PPM آن اضافه شد. ** هركيلو گرم مكمل ويتاميني حاوي ۴۴۰۰۰۰۰ واحد بين المللي ويتامين A، ۷۲۰۰۰ واحد بين المللي ويتامينD، ۱۴۴۰۰ميلي‌گرم ويتامين E، ۲۰۰۰ ميلي‌گرم ويتامينK، ۶۴۰ ميلي‌گرم كوبالامين، ۶۱۲ ميلي گرم تيامين، ۳۰۰۰ميلي‌گرم ريبوفلاوين، ۴۸۹۶ ميلي‌گرم اسيد پانتوتنيك، ۱۲۱۶۰ ميلي‌گرم نياسين ، ۶۱۲ ميلي‌گرم پيريدوكسين، ۲۰۰۰ ميلي‌گرم بيوتين و ۲۶۰ گرم كولين كلراید مي باشد. هر كيلوگرم مكمل معدني حاوي۶۴/۵ گرم منگنز، ۳۳/۸ گرم روي، ۱۰۰ گرم آهن، ۸ گرم مس، ۶۴۰ ميلي‌گرم يد، ۱۹۰ ميلي‌گرم كبالت و ۸ گرم سلنيوم مي‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

یا لنفوسیت‌های خونی است مشاهده نشد.
افزودن سطوح مختلف نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی تاثیر معنی‌داری بر کلسترول و LDL خون جوجه‌ها در مقایسه با گروه شاهد نداشت (جدول۳). افزودن نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی غلظت تری گلیسرید خون جوجه‌ها را کاهش داد به طوري كه اين كاهش هنگام استفاده از سطح ۸۰۰ ميلي ليتر نانوذرات در جيره يا آب آشاميدني معني‌دار شد($p<۰/۰۵$).
افزودن آنتی‌بیوتیک به جیره غلظت کلسترول، تری گلیسریدها و LDL سرم خون جوجه‌ها افزایش داد ($p<۰/۰۵$). افزودن سطوح مختلف نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی تاثیر معنی‌داری بر جمعیت کلی فرم‌های رودۀ جوجه‌ها در مقایسه با گروه شاهد نداشت (جدول۴). تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد تاثیر معنی‌داری را بر جمعیت لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکترهای روده نداشتند.افزودن ۴۰۰ سی‌سی نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی اثر معنی‌داری برجمعیت کلستریدیوم های روده آن‌ها در مقایسه با گروه شاهد نداشت، اما کاربرد ۸۰۰ سی‌سی نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی افزایش معنی‌داری را برجمعیت کلستریدیوم‌های روده آن‌ها در مقایسه با گروه شاهد نشان داد.

بحث

مطالعات اندکی در مورد تاثیر نانوذرات نقره بر عملکرد، سیستم ایمنی، فلور میکروبی دستگاه گوارش و لیپیدهای سرم در حیوانات (بخصوص جوجه‌های گوشتی) انجام شده است. در این تحقیق استفاده از ۸۰۰ سی سی نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی سبب افزایش معنی‌داری در تعداد منوسیت‌ها در مقایسه با سایر تیمارها شد. در طی عفونت پاتوژنیک، مونوسیت‌ها برای کشتن پاتوژن‌ها جمع شده که این باعث التهاب می‌شود. حال چنانچه این عفونت در روده اتفاق افتد سبب ضخیم شدن دیواره روده می‌شود. بنابرین وجود مونوسیت زیاد در خون نشان‌دهنده نوعی عفونت است.
گلبول‌های سفید با کموتاکسی جذب بافت‌های ملتهب می‌شوند. مواد شیمیایی مختلف در بافت‌ها می‌توانند مونوسیت‌ها را به سمت خود بکشانند، که این پدیده را کموتاکسی گویند. سموم باکتریایی یکی از مهم‌ترین موادی است که باعث کموتاکسی می‌شود (۸). بنابرین ممکن است به دلیل بالا بودن معنی‌دار کلستریدیوم‌ها در تیمارهای حاوی ۸۰۰ سی‌سی نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی و در نتیجه ایجاد پدیده کموتاکسی، منجر به تحریک بدن در ساخت بیشتر منوسیت‌ها شده باشد. از سویی دیگر نانو ذرات نقره از طریق تولید رادیکال‌های فعال اکسیژنی، ممکن است موجب آسیب سلولی شده و در نتیجه‌ی پدیده کموتاکسی (ناشی از آزاد شدن مواد شیمیایی داخل سلولی) باعث افزایش ساخت و هجوم مونوسیت‌ها شوند. سایر فاکتورهای ایمنی بیشتر مربوط به ایجاد عفونت در خون می‌باشد که در این تحقیق بین تیمارهای آزمایشی تفاوتی وجود نداشت. در همین رابطه، در آزمایشی با تزریق نانوذرات نقره داخل تخم مرغ اثر این ترکیب را بر توسعه غده بورس فابرسیوس مطالعه و نشان داده شد که نانوذرات نقره بر رشد جنینی تأثیری ندارد ولی تعداد و اندازه فولیکول‌های لنفی در غده بورس را کاهش می‌دهد (۷).
استفاده از سطوح مختلف نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی تاثیری بر صفات بیوشیمیایی خون نداشت. اما بررسی

جدول ۲- اثر نانو ذرات نقره بر تیترآنتي بادي عليه نيوكاسل و تعداد و فراوانی انواع گلبولهای سفید خون در جوجه‌هاي گوشتي

تیمار	هتروفیل(٪)	لنفوسیت(٪)	مونوسیت(٪)	ائوزینوفیل(٪)	گلبولهای سفید (عدد در هرمیلی لیتر)	تیتر نیوکاسل
شاهد	۳۳/۵	۶۳	۲/۲b	۱/۳	۲۱۰۶۳/۳	۳/۳۳
فلاوومایسین	۳۳/۴	۶۳	۲b	۱/۶	۲۱۱۲۳/۳	۳/۳۳
نانو نقره (ml/ton۴۰۰ خوراک)	۳۲/۶	۶۳/۵	۲/۴b	۱/۵	۲۱۳۲۳/۳	۳/۶۶
نانو نقره (ml/ton۸۰۰ خوراک)	۳۲/۹	۶۳	۳/۱a	۱	۲۱۳۹۰	۳/۳۳
نانو نقره(ml/m^{3}۴۰۰ آب آشامیدنی)	۳۲/۷	۶۳/۴	۲/۳b	۱/۶	۲۱۱۵۰	۳/۳۳
نانو نقره(ml/m^{3}۸۰۰ آب آشامیدنی)	۳۳	۶۳/۱	۳/۱a	۰/۸	۲۱۴۸۰	۳
SEM	۰/۷۲	۰/۷۲	۰/۰۰۵	۰/۰۴	۱۳۵/۵۲	۰/۶۰

a-b: اعداد در هر ستون با حروف غیر مشابه با هم اختلاف معنی دار دارند ($P<۰/۰۵$).
SEM: خطاي معيار ميانگين ها.

www.SID.ir

Archive of SID

داده‌های معنی‌دار نشده هنگام استفاده از ۸۰۰ سی‌سی نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی کاهش کلسترول و تری گلیسرید را نشان داد که ممکن است به دلیل دکنژوگه شدن اسیدهای صفراوی و در نتیجه کاهش هضم و جذب چربی‌ها باشد. فلور میکروبي موجب تبدیل بیولوژیکي اسیدهاي صفراوي شده و با دکونژوگه کردن و دهیدروکسیله کردن صفرا در جذب چربي توسط حیوان اختلال ایجاد مي‌کند (۲۰). دراین تحقیق تیمارهای آزمایشی اثری بر HDL نداشتند که با سایر گزارشات همخوانی دارد (۱۱).

فعالیت ضد میکروبی نقره از طریق بلوکه کردن سیستم انتقال الکترون، تغییر عملکرد غشاء باکتریایی و ممانعت از همانندسازی DNA در محیط آزمایشگاه (*In Vitro*) نشان داده شده است. واکنش یون‌های نقره با گروه‌های تیول موجود در آنزیم‌ها و پروتئین‌ها به عنوان عامل اصلی فعالیت ضدمیکروبی یون‌های نقره شناخته شده است با اینحال سازوکارهای دیگری نظیرایجاد پیوندهای هیدروژن با سایر اجزاء سلولی نیز ممکن است در این امر دخالت داشته باشند (۱۸). در این تحقیق هنگام استفاده از ۸۰۰ سی سی نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی نه تنها تعداد باکتری‌های موجود در ایلئوم کاهش نیافت، بلکه تعداد کلستریدیوم‌ها که یکی از انواع باکتری‌های مضر

جدول ۳- اثر نانو ذرات نقره و آنتی بیوتیک روی کلسترول، تری گلیسرید، (HDL و LDL (mg/dl

تیمار	کلسترول	تری گلیسرید	HDL	LDL
شاهد	۱۵۴^{b}	۱۱۴/۶^{b}	۱۰۹/۶	۱۸/۳^{b}
فلاوومایسین	۱۸۴^{a}	۱۲۲^{a}	۱۱۰/۱	۲۲/۹^{a}
نانو نقره (ml/ton۴۰۰ خوراک)	۱۴۸^{b}	۱۱۲^{bc}	۱۰۹	۱۷/۴^{b}
نانو نقره (ml/ton۸۰۰ خوراک)	۱۴۵/۳^{b}	۱۱۰^{c}	۱۰۸/۳	۱۶/۱^{b}
نانو نقره(ml/m^{3}۴۰۰ آب آشامیدنی)	۱۴۶/۶^{b}	۱۱۱^{bc}	۱۰۹/۳	۱۷/۱^{b}
نانو نقره(ml/m^{3}۸۰۰ آب آشامیدنی)	۱۴۵/۳^{b}	۱۰۹^{c}	۱۰۹	۱۶/۴^{b}
SEM	۲/۵۹	۱/۱۷	۱/۲۲	۰/۷۱

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

SEM : خطاي معیار میانگین ها

جدول۴- اثر نانو ذرات نقره و آنتی بیوتیک بر جمعیت باکتریایی موجود در ایلئوم (LOG۱۰))*

a

تیمار	کلی فرم	کلستریدیوم	لاکتوباسیلوس	بیفیدوباکتر
شاهد	۵/۴۶a	۷/۳۵^{b}	۷/۹۰	۷/۳۸
فلاوومایسین	۵/۱۶^{b}	۷/۱۴^{c}	۷/۸۹	۷/۳۶
نانو نقره (ml/ton۴۰۰ خوراک)	۵/۵۱^{a}	۷/۳۸^{b}	۷/۹۳	۷/۴۰
نانو نقره (ml/ton۸۰۰ خوراک)	۵/۵۳^{a}	۷/۵۱^{a}	۷/۹۵	۷/۳۹
نانو نقره(ml/m^{3}۴۰۰ آب آشامیدنی)	۵/۵۲^{a}	۷/۳۷^{b}	۷/۹۲	۷/۳۹
نانو نقره(ml/m^{3}۸۰۰ آب آشامیدنی)	۵/۵۳^{a}	۷/۵۰^{a}	۷/۹۴	۷/۴۰
SEM	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۴

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

SEM: خطای معیار میانگین‌ها

www.SID.ir

Archive of SID

دستگاه گوارش هستند را نیز افزایش داد. بنابراین به نظر می‌رسد که نحوه اثرگذاری این ترکیب در محیط زنده (In Vivo) با محیط آزمایشگاه متفاوت باشد. مکانیسم عمل نانو ذرات نقره بر میکروارگانیسم‌ها در دستگاه گوارش مشخص نیست، اما به هر ترتیب ممکن است به دلیل بی‌اثر شدن در دستگاه گوارش و یا فراهم کردن محیطی مناسب برای میکروارگانیسم‌ها موجب افزایش تعداد آن‌ها شده باشند که شاید این موضوع با اختلالی که احتمالا نانو ذرات نقره در روند هضم و جذب مواد مغذی ایجاد می‌کنند در ارتباط باشد (۹). نتایج آزمایش حاضر با گزارش در خصوص عدم تأثیر نانوذرات نقره بر تعداد باکتری‌های گرم منفی سکوم بلدرچین همخوانی دارد (۱۶) ولی با گزارشات دیگر مبنی بر کاهش کلستریدیوم‌ها و لاکتوباسیل‌های موجود در دستگاه گوارش (۶)، و یا افزایش در تعداد لاکتوباسیل‌های موجود در روده کور (۱۶) در اثر استفاده از نانوذرات نقره همخوانی ندارد. احتمالا ترکیب ذرات فلز نقره با HCl و تولید AgCl به هنگام عبور از معده (۲) و یا جذب نانوذرات نقره در بخش‌های بالائی روده کوچک و قبل از رسیدن به ایلئوم، موجب کاهش اثرات ضدمیکروبی آن شده است. با وجودی که میزان نقره بافت‌ها بعد از مصرف نانوذرات آن، ناچیز گزارش شده است (۶)، قابلیت رسوب این ترکیب در بافت‌ها به ویژه کبد نیز گزارش شده است (۲۱). استفاده از ۸۰۰ سی‌سی نانو ذرات نقره در جیره و آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی ممکن است موجب رشد میکروارگانیسم‌هایی شوند که مقادیر زیادی آمونیاک و سایر محصولات نیتروژنی سمی را در روده تولید می‌کنند .این موضوع ممکن است با محدودیت احتمالی که نانو ذرات نقره در شکستن پروتئین‌ها ایجاد می‌کنند تشدید شود (۹). آمونیاک و سایر ترکیبات نیتروژنه نظیر تری متیل آمین ممکن است سمی بوده و باعث کاهش رشد شوند (۱۷).

نتیجه‌گیری کلی

نتايج حاصل از اين آزمايش نشان داد كه نانوذرات نقره تأثير مثبتي در كنترل باكتري‌هاي مضر موجود در دستگاه گوارش و تقويت سيستم ايمني جوجه‌هاي گوشتي ندارد و استفاده از آن به عنوان افزودني جايگزين آنتي‌بيوتيك‌هاي محرک رشد مناسب نيست. تحقيقات بيشتر در اين زمينه و همچنين يافتن روش‌هاي مناسب استفاده از اين تركيب ضد ميكروبي در صنعت طيور ضروري است.

منابع مورد استفاده

1. Ale Mohammad, M. M. 1986. Practical Microbiology. First publication, Tehran university press.

2. Atiyeh, B. S., M. Costagliola, S.N. Hayek, and S. A. Dibo. 2007. Effect of silver on burn wound infection control and healing. Review of the Literature Burns 33: 139–148.

3. Baron, E. J., and S. M. Finegold. 1990. Diagnostic Microbiology. 8th Edition. The C.V. Mos by Company. Torento, Canada.

4. Benn, T. M. and P. Westerhoff. 2008. Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics. *Environmental Science and Technology* 42: 4133-4139

5. Esteive, G. E. J., V. A. M. Brufau, and A. K. Perez. 1997. Bioefficacy of enzyme preparations containing beta-glucanese and xylanase activities in broiler diets based on barley or heat, in combination with flavomycin. *Poultry Science* 76 : 1728-1737

6. Fondevila M., R. Herrer, M. C. Casallasa, L. Abeciaa, J. J. Duchab. 2008. Silver nanoparticles as a potential antimicrobial additive for weaned pigs. *Animal Feed Science and Technology* 150: 259-269

7. 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

8. Guyton, A. C. and J. E. Hall. 2006. Text Book of Medical Physiology. 11th Edition. Elsevier Inc.

9. Hoet, P. H., I. Bruske-Hohlfeld and O. V. Salata. 2004. Nanoparticles-known and unknown health risks. *Journal of Nanobiotechnology* 2: 12-14

10. Hollinger, M. A. 1996. Toxicological aspects of topical silver pharmaceuticals. *Critical Review Toxicology* 26:255–60

11. Khosravi, A., F. Boldaji, B. Dastar and S. Hasani. 2008. The use of some feed additives as growth promoter in broilers nutrition. *International Journal of Poultry Science* 7: 1095-1099

12. Leeson, S. and J. D. Summers. 2001. Scott's nutrition of Chickens. 4th Edition. University Books. Canada.

13. Nollet, L. 2005. AGP alternatives-part I. EU close to a future without antibiotic growth promoters. *World's Poultry*, 21: 14-15.

14. Percival, S L, P. G. Bowler and D. Russell. 2005. Bacterial resistance to silver in wound care. *Journal of Hospital Infection* 60: 1–7

15. Qureshi, A. A., Z. Din, N. Abuirmeileh, W. C. Burger, Y. Ahmad and C. Elson. 1983. Suppression of avian hepatic lipid metabolism by solvent extracts of garlic: Impact on serum lipids. *Journal of Nutrition* 113: 1746-55

16. Sawosz, E., M. Binek, M. Grodzik, S. P. Ziellin, M. Szmidt, T. Niemiec and A. Chwaiibog . 2007. Influence of hydrocolloidal silver nanoparticles on gastrointestinal microflora and morphology of enterocytes of quails. *Archives of Animal Nutrition* 61: 444 – 451

17. 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

18. Sondi, I. and S. B. Sondi. 2004. 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

19. Tannock, G.W. 1997. Modification of the normal microbiota by diet, stress, antimicrobial agents, and probiotics. Pages 434–465, In: Gas-trointestinal Microbiology, vol. 2. Gastrointestinal Mi-

www.SID.ir

Archive of SID

crobes and Host Interactions. R. I. Mackie, B. A. White and R. E. Isaacson,(ed.) Chapman and Hall, New York, NY.
20. Wakeman, G. W. 2005. AGP alternatives- part II. Dietary strategies to influence bacterial microflora. *World Poultry* 21: 28-29
21. 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).

www.SID.ir