

پایان نامه دکترای عمومی

ارزیابی تاثیر دو مدل القای کلی باسیلوز و درمان با فلورفینیکل بر پارامترهای بیوشیمیایی کبد و کلیه در جوجه‌های گوشتی

فاطمه حسینی



استادان راهنما:

دکتر طه‌ورا شمالی

دکتر نجمه مصلح

دانشکده دامپزشکی - بخش علوم پایه



دانشکده دامپزشکی
پایان نامه دکترای عمومی در رشته
دامپزشکی

ارزیابی تاثیر دو مدل القای کلی باسیلوز و درمان با فلورفنیکل بر
پارامترهای بیوشیمیایی کبد و کلیه در جوجه‌های گوشتی

به کوشش
فاطمه حسینی

استادان راهنما
دکتر طه‌ورا شمالی
دکتر نجمه مصلح

بهمن ۱۴۰۱

رسالة محمد

به نام خدا

تعهدنامه

این جانب فاطمه حسینی به شماره دانشجویی ۹۳۳۲۸۷۴ دانشجوی مقطع دکتری عمومی تأیید می‌کنم که این پایان‌نامه حاصل پژوهش خودم است و در مواردی که از منابع دیگران استفاده شده، نشانی دقیق و مشخصات کامل آن را نوشته‌ام. همچنین اظهار می‌نمایم که تحقیق و موضوع پایان‌نامه‌ام تکراری نیست و موارد زیر را نیز تعهد می‌کنم:

۱- بدون کسب مجوز دانشگاه شیراز و اجازه از استادان راهنما، تمام یا قسمتی از دستاوردهای پایان‌نامه خود را در مجامع و رسانه‌های علمی اعم از همایش‌ها و مجلات داخلی و خارجی به صورت مکتوب یا غیرمکتوب منتشر ننمایم.

۲- اسامی افراد خارج از کمیته‌پایان‌نامه را بدون اجازه استادان راهنما به جمع نویسندگان مقاله‌های مستخرج از پایان‌نامه اضافه نکنم.

۳- از درج نشانی یا وابستگی کاری (affiliation) نویسندگان سازمان‌های دیگر (غیر از دانشگاه شیراز) در مقاله‌های مستخرج از پایان‌نامه بدون تأیید استادان راهنما اجتناب نمایم.

همه حقوق مادی و معنوی این اثر مطابق با آیین‌نامه مالکیت فکری، متعلق به دانشگاه شیراز است. چنانچه مبادرت به عملی خلاف این تعهدنامه محرز گردد، دانشگاه شیراز در هر زمان و به هر نحو مقتضی حق هرگونه اقدام قانونی را در استیفای حقوق خود دارد.

فاطمه حسینی

امضا و تاریخ: ۱۴۰۱/۱۱/۱۷



به نام خدا

ارزیابی تاثیر دو مدل القای کلی باسیلوز و درمان با فلورفینیکل بر
پارامترهای بیوشیمیایی کبد و کلیه در جوجه‌های گوشتی

به کوشش
فاطمه حسینی

پایان نامه

ارائه شده به دانشگاه شیراز به عنوان بخشی از فعالیت‌های تحصیلی لازم
برای اخذ درجه دکترای عمومی

در رشته
دامپزشکی

دانشگاه شیراز

شیراز

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی کمیته پایان نامه، با درجه: عالی

..... دکتر طه‌ورا شمالی، استاد بخش علوم پایه (استاد راهنما)
..... دکتر نجمه مصلح، دانشیار بخش علوم درمانگاهی (استاد راهنما)
..... دکتر سعید نظیفی، استاد بخش علوم درمانگاهی (استاد مشاور)
..... دکتر مهدی فاضلی، استاد بخش علوم پایه (داور متخصص داخلی)

بهمن ۱۴۰۱

مهر آفرین، آفتاب بزرگ، همتش به بلندای چرخ گردان، از سرزمین کنعان تا دیار مهربانان مهران،
سعادت ما را به ایزد و حدان سپرد...د

تقدیم پدر و مادر عزیزم و خانواده مهربانم که مهر بی دریغشان همواره روشنای مسیر زندگیم بود.

سپاس‌گزاری

سپاس‌ خدای را که هرچه داریم از اوست و به طریق علم و دانش رهنمونمان شد و به همنشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه‌چینی از علم و معرفت را روزی‌مان ساخت.

با تقدیر و تشکر شایسته از اساتید فرهیخته و فرزانه سرکار خانم‌ها دکتر نجمه مصلح و دکتر طه‌ورا شمالی، که راهنمایی این پژوهش را تقبل فرموده و با نکته‌های دلاویز و گفته‌های بلند، صحیفه‌های سخن را علم‌پرور نمود و همواره راهنما و راهگشای نگارنده در تمامی مراحل پایان‌نامه بوده است.

از استاد عزیز و فرزانه جناب آقای دکتر سعید نظیفی که در سمت استاد مشاور، راهنما و راهگشای اینجانب بوده‌اند کمال تقدیر و تشکر را دارم.

و در نهایت از تمامی اساتید و دانشجویان عزیزی که در این مسیر مرا مورد لطف خود قرار دادند کمال تقدیر و تشکر را دارم.

چکیده

ارزیابی تاثیر دو مدل القای کلی باسیلوز و درمان با فلورفنیکل بر پارامترهای بیوشیمیایی کبد و کلیه در جوجه‌های گوشتی

به کوشش

فاطمه حسینی

پیشینه: کلی باسیلوز شایع‌ترین عفونت باکتریایی در ماکیان به شمار می‌رود که موجب عفونت‌های تنفسی و سیستمیک شدید و اسهال در پرنده‌گان شده و بروز خسارت‌های مالی قابل توجه در صنعت پرورش طیور ایجاد می‌نماید. مدل‌های مختلف درون تنی جهت مطالعه ویژگی‌های این بیماری اهمیت زیادی دارد. هدف: هدف از مطالعه حاضر مقایسه تاثیر دو مدل القای کلی باسیلوز (با دو روش داخل نایی و زیرپوستی) بر پارامترهای کبدی و کلیوی جوجه‌های گوشتی و نیز ارزیابی اثر فلورفنیکل بر پارامترهای مذکور در هر دو روش القا می‌باشد. روش کار: باکتری اش‌ریشیا کلای O2 حساس به فلورفنیکل در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت. ۱۲۵ قطعه جوجه گوشتی در سن ۳۵ روزگی به طور تصادفی به ۴ گروه تجربی ۲۰ تایی و ۳ گروه کنترل ۱۵ تایی تقسیم شدند که شامل گروهی که باکتری را به صورت داخل نایی دریافت کردند (IT)، باکتری را به صورت داخل نایی دریافت کردند و داروی فلورفنیکل برای آن‌ها تجویز شد (ITF)، باکتری را به صورت زیرپوستی دریافت کردند (SC)، باکتری را به صورت زیرپوستی دریافت کردند و داروی فلورفنیکل برای آن‌ها تجویز شد (SCF)، و گروه‌های کنترل می‌شوند. در این مطالعه گروه‌های تجربی با تعداد $10^8 \times 7/1$ CFU باکتری/پرنده آلوده شدند و گروه‌های درمان شده با فلورفنیکل بلافاصله پس از ظهور نشانه‌های بالینی دریافت کردند. سه روز پس از درمان با دارو از هر گروه از ۷ قطعه پرنده به صورت تصادفی نمونه خون اخذ شد. جهت ارزیابی پارامترهای کبدی، فعالیت آنزیم‌های LDH، AST، CK و جهت ارزیابی پارامترهای کلیوی، فاکتورهای Sodium، Uric acid، Amylase، Potassium و Phosphorus در سرم اندازه‌گیری شد. میزان پروتئین تام سرم و نیز آلبومین و گلوبولین سرم نیز اندازه‌گیری شد. از کیت‌های تجاری جهت اندازه‌گیری پارامترهای مذکور استفاده شد. در نهایت داده‌ها با نرم افزار GraphPad Prism 6 آنالیز شده و با استفاده از آزمون

آماری ANOVA مقایسه بین گروه‌ها صورت پذیرفت. نتایج: تغییرات CK در چهار گروه تیمار افزایش معناداری نسبت به گروه‌های کنترل نشان داد. آمیلاز کاهش معناداری در گروه SC نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد. اوریک اسید در دو گروه SC و SCF افزایش معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل نشان داد. سدیم در گروه ITF افزایش معناداری نسبت به گروه‌های کنترل نشان داد. تغییرات میزان پروتئین تام سرم و گلوبولین سرم در گروه‌های IT، SC و SCF افزایش معناداری را نسبت به گروه‌های کنترل نشان دادند. پتاسیم، فسفر، آلبومین سرم، AST و LDH در هیچکدام از گروه‌های تیمار نسبت به گروه‌های کنترل تغییرات معناداری نشان نداد. نتیجه‌گیری: در کل به نظر می‌رسد که استفاده از مدل‌های مختلف القای کلی باسیلوز می‌تواند باعث تفاوت‌های قابل توجه از نظر تاثیر بر فاکتورهای سرمی کبدی و کلیوی جوجه‌های گوشتی شود. به گونه‌ای که پارامترهای کلیوی در پرندگان تلقیح شده با روش زیرپوستی تغییرات قابل توجهی داشتند، در صورتی که پرندگان چالش داده شده به روش داخل نایی تغییرات قابل توجهی در پارامترهای کلیوی نداشتند. اما افزایش شدید کراتین کیناز در تمامی گروه‌های تیمار مشاهده شد که احتمالاً به دلیل سمی ناشی از بیماری بوده است. نکته دیگر اینکه پاسخ به درمان بعنوان یکی از معیارهای ایده آل بودن مدل‌های حیوانی، در روش القای داخل نایی بهتر از روش زیر پوستی است.

واژگان کلیدی: پارامترهای کبدی و کلیوی، جوجه گوشتی، فلورفنیکل، کلی باسیلوز

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: مقدمه و هدف	۱
فصل دوم: کلیات	۵
۱-۲- کلی باسیلوز	۵
۲-۲- دوره کمون بیماری	۷
۳-۲- ویژگی‌های بیوشیمیایی اش‌ریشیا کلای	۷
۴-۲- حدت و پاتوژنز	۸
۱-۴-۲- چسبنده‌ها	۸
۲-۴-۲- مهاجم‌ها	۹
۳-۴-۲- سیستم‌های جذب آهن	۹
۴-۴-۲- پروتکتین‌ها	۱۰
۵-۴-۲- توکسین‌ها	۱۱
۶-۴-۲- سیستم‌های دوجزئی	۱۲
۷-۴-۲- سیستم QS	۱۲
۸-۴-۲- تنظیم کننده‌های رونویسی	۱۳
۹-۴-۲- سیستم‌های ترشح	۱۳
۱۰-۴-۲- ژن‌های مرتبط با متابولیسم	۱۴
۵-۲- استراتژی‌های کنترل	۱۴
۱-۵-۲- مدیریت و اقدامات امنیت زیستی	۱۵
۲-۵-۲- آنتی‌بیوتیک	۱۶
۱-۲-۵-۲- فلورفنیکل	۱۶
۳-۵-۲- واکسن‌ها	۱۷
۴-۵-۲- پروبیوتیک‌ها	۱۸
۵-۵-۲- محرک‌های ایمنی ذاتی	۱۸
۶-۵-۲- مهارکننده‌های رشد و حدت APEC	۱۸
۷-۵-۲- پپتیدهای ضد میکروبی	۱۹

- ۶-۲-۱۹..... تست‌های تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی
- ۶-۲-۱۹..... (Macrodilution) Macrobroth or Tube-dilution method
- ۶-۲-۲۰..... Microdilution
- ۶-۲-۳۰..... Antimicrobial gradient method
- ۶-۲-۴۱..... Disk diffusion test
- ۶-۲-۷۲..... فاکتورهای مورد ارزیابی در سرم
- ۶-۲-۱۷۲..... فاکتورهای کبدی
- ۶-۲-۱۷۱-۱..... آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)
- ۶-۲-۱۷۱-۲..... کراتین کیناز (CK)
- ۶-۲-۱۷۱-۳..... لاکتات دهیدروژناز (LDH)
- ۶-۲-۱۷۲-۲..... فاکتورهای کلیوی
- ۶-۲-۱۷۲-۱..... آمیلاز (Amylase)
- ۶-۲-۱۷۲-۲..... اوریک اسید (Uric Acid)
- ۶-۲-۱۷۲-۳..... سدیم (Sodium)
- ۶-۲-۱۷۲-۴..... پتاسیم (Potassium)
- ۶-۲-۱۷۲-۵..... فسفر (Phosphorus)
- ۶-۲-۱۷۳-۳..... پروتئین‌های سرم
- ۶-۲-۱۷۳-۱..... پروتئین تام سرم (Total Protein)
- ۶-۲-۱۷۳-۲..... آلبومین (Albumin)
- ۶-۲-۱۷۳-۳..... گلوبولین‌ها (Globulin)
- ۶-۲-۸۲..... برخی پژوهش‌های پیشین درباره کلی باسیلوز در ایران
- ۶-۲-۹۲..... تاثیر مدل‌های مختلف القای باکتری در سیر بیماری

فصل سوم: مواد و روش کار ۳۹

- ۳-۱-۳۹..... مواد و وسایل مورد نیاز
- ۳-۲-۴۱..... باکتری چالش
- ۳-۳-۴۲..... دوز باکتری جهت تلقیح
- ۳-۴-۴۲..... طرح آزمون
- ۳-۵-۴۳..... فاکتورهای مورد ارزیابی
- ۳-۱-۵-۴۳..... ارزیابی فاکتورهای کبدی

۴۴	۳-۵-۱-۱- اندازه‌گیری AST با کیت پارس آزمون
۴۴	۳-۵-۱-۲- اندازه‌گیری CK با کیت پارس آزمون
۴۵	۳-۵-۱-۳- اندازه‌گیری LDH با کیت پارس آزمون
۴۵	۳-۵-۲- ارزیابی فاکتورهای کلیوی
۴۵	۳-۵-۲-۱- اندازه‌گیری Amylase با کیت پارس آزمون
۴۶	۳-۵-۲-۲- اندازه‌گیری Uric Acid با کیت پارس آزمون
۴۷	۳-۵-۲-۳- اندازه‌گیری Sodium با آزمون فلیم فوتومتري
۴۸	۳-۵-۲-۴- اندازه‌گیری Potassium با آزمون فلیم فوتومتري
۴۸	۳-۵-۲-۵- اندازه‌گیری Phosphorus با کیت پارس آزمون
۴۹	۳-۵-۳- اندازه‌گیری فاکتورهای دیگر
۴۹	۳-۵-۳-۱- اندازه‌گیری پروتئين تام با کیت پارس آزمون
۴۹	۳-۵-۳-۲- اندازه‌گیری آلبومين با کیت پارس آزمون
۵۰	۳-۵-۳-۳- اندازه‌گیری گلوبولين
۵۰	۳-۶- آناليز آماری داده‌ها

فصل چهارم: نتایج ۵۱

۵۱	۴-۱- نتایج اندازه‌گیری آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)
۵۲	۴-۲- نتایج اندازه‌گیری کراتين کیناز (CK)
۵۳	۴-۳- نتایج اندازه‌گیری لاکتات دهیدروژناز (LDH)
۵۴	۴-۴- نتایج اندازه‌گیری آمیلاز (Amylase)
۵۵	۴-۵- نتایج اندازه‌گیری اوریک اسید (Uric Acid)
۵۶	۴-۶- نتایج اندازه‌گیری سدیم
۵۷	۴-۷- نتایج اندازه‌گیری پتاسیم
۵۸	۴-۸- نتایج اندازه‌گیری فسفر (Phosphorus)
۵۹	۴-۹- نتایج اندازه‌گیری میزان پروتئين تام سرم (Total Protein)
۶۰	۴-۱۰- نتایج اندازه‌گیری آلبومين (Albumin) سرم
۶۱	۴-۱۱- نتایج اندازه‌گیری گلوبولين سرم
۶۲	۴-۱۲- بحث و نتیجه‌گیری

منابع ۷۰

فهرست جدول

صفحه

عنوان

جدول ۳-۱- نحوه بندی براساس روش چالش با باکتری و مصرف داروی فلورفنیکل۴۳

فهرست تصویرها

صفحه

عنوان

- تصویر ۳-۱- تست حساسیت آنتی بیوتیکی بر روی محیط مولر هینتون ۴۱
- تصویر ۳-۲- اساس آزمایش کیت AST پارس آزمون ۳۶
- تصویر ۳-۳- اساس آزمایش کیت CPK پارس آزمون ۴۴
- تصویر ۳-۴- اساس آزمایش کیت Amylase پارس آزمون ۴۶
- تصویر ۳-۵- روش TBHBA در اندازه گیری Uric Acid با کیت پارس آزمون ۴۷

فهرست تصویرها

صفحه	عنوان
۵۱.....	نمودار ۱-۴- تغییرات آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) در گروه‌های مورد مطالعه
۵۲.....	نمودار ۲-۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری کراتین کیناز (CK) در گروه‌های مورد مطالعه،
	نمودار ۳-۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری لاکتات دهیدروژناز (LDH) در
۵۳.....	گروه‌های مورد مطالعه.
۵۴.....	نمودار ۴-۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری آمیلاز (Amylase) در گروه‌های مورد مطالعه
	نمودار ۵-۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری اوریک اسید (Uric acid) در گروه‌های مورد
۵۵.....	مطالعه
۵۶.....	نمودار ۶-۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری سدیم در گروه‌های مورد مطالعه
۵۷.....	نمودار ۷-۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری پتاسیم در گروه‌های مورد مطالعه
۵۸.....	نمودار ۸-۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری فسفر (Phosphorus) در گروه‌های مورد مطالعه
	نمودار ۹-۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری پروتئین تام سرم (Total Protein) در گروه‌های
۵۹.....	مورد مطالعه.
	نمودار ۱۰-۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری آلبومین (Albumin) سرم در گروه‌های مورد
۶۰.....	مطالعه
	نمودار ۱۱-۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری گلوبولین (Globulin) سرم در گروه‌های مورد
۶۱.....	مطالعه

فصل اول

مقدمه و هدف

Avian Pathogenic Escherchia Coli (APEC) عامل ایجاد کلی باسیلوز در جوجه‌ها به شمار می‌رود، که به عنوان پاتوژن اولیه یا ثانویه است و در تمام سنین ایجاد بیماری می‌نماید. بیماری اشکال متفاوتی داشته و به صورت سپتی سمی، التهاب کیسه‌های هوایی، پریتونیت، سندرم سر متورم، سالپنژیت و غیره دیده می‌شود. کلی باسیلوز می‌تواند درگیری با سایر عفونت‌های ویروسی نظیر نیوکاسل، برونشیت و گامبورو را پیچیده‌تر کند (آلبرت و همکاران، ۲۰۲۰). در گذشته چنین تصور می‌شد که این بیماری در ماکیان صنعتی به صورت ثانویه و در نتیجه عوامل زمینه‌ساز مانند عفونت‌های ویروسی، استرس، میزان بالای آمونیاک و غیره ایجاد می‌شود، اما امروزه دانشمندان بر این عقیده هستند که APEC را می‌توان به عنوان یک پاتوژن اولیه نیز در نظر گرفت. نشانه‌های بالینی در کلی باسیلوز چندان اختصاصی نیست و می‌تواند تحت تاثیر سن ماکیان، مدت زمان عفونت، ارگان درگیر شده و درگیری با سایر عفونت‌ها قرار گیرد. در گله‌های ماکیان گوشتی ۴ تا ۸ هفته می‌تواند سپتی سمی (کلی سپتی سمی) ایجاد کرده و منجر به مرگ شود (لی و همکاران، ۱۹۹۸). کلی باسیلوز می‌تواند از طریق دهانی (معمولا از طریق غذا، آب آشامیدنی)، گرد و غبار و یا وسایل آلوده به باکتری انتقال یابد. گرد و غبار آشیانه نگهداری ماکیان می‌تواند حاوی 10^5 تا 10^6 باکتری اشریشیا کلای در گرم باشد که می‌تواند از طریق دستگاه تنفس وارد شده و باعث آلودگی دستگاه تنفس شود (داویدسون و دیویس، ۱۹۸۷). به منظور درک فرایند و سیر بیماری، بهینه سازی راهکارهای درمانی، ارزیابی پاسخ‌های ایمنولوژیک و شناخت استراتژی‌های درمانی، استفاده از مدل‌های درون تنی ضروری

به نظر می‌رسد. دسته بزرگی از مدل‌های حیوانی، مدل‌های تجربی یا القایی^۱ می‌باشند. معمولاً پارامترهای مختلفی در انتخاب مدل‌های حیوانی در نظر گرفته می‌شوند که شامل مواردی نظیر هزینه، راحتی انجام کار، قابلیت تعمیم دادن نتایج به گونه‌ی هدف، میزان قرابت ژنتیکی بین مدل و گونه هدف، میزان شباهت فرایندهای زیستی دخیل در فرایند بیماری، ملاحظات اخلاقی و پاسخ به درمان می‌باشد (داویدسون و دیویس، ۱۹۸۷). چند روش متفاوت نظیر روش زیرپوستی، داخل نایی، آئروسول، داخل بینی، داخل کیسه هوایی، داخل وریدی و داخل صفاقی در مطالعات مختلف برای القای کلی باسیلوز در ماکیان گوشتی جهت پژوهش مورد استفاده قرار گرفته است (صالحی و همکاران، ۲۰۱۲). به نظر می‌رسد که لازم است این مدل‌ها از نظر شکل ظاهری، پاتوژنز و اتیولوژی و نیز قابلیت پیشگویی در شرایط مواجهه با بیماری و پاسخ به درمان مورد مقایسه قرار گیرند. در مطالعه پائودل و همکاران در سال ۲۰۲۱، سه روش مختلف داخل نایی، آئروسول و داخل بینی تجویز اشیریشیا کلای جهت ایجاد مدل عفونت کلی باسیلوز در دستگاه تنفس جوجه‌ها، از نظر ایجاد ضایعات پاتولوژیک با یکدیگر مقایسه شد. نتایج این تحقیق نشان داد که راه تجویز بر نتیجه پاتولوژیک بیماری تاثیر زیادی دارد. یک مدل تجربی جهت ایجاد مدل کلی باسیلوز برپایه تجویز آئروسول اشیریشیا کلای در مرغان مادر گوشتی توسط کرومان و همکاران در سال ۲۰۲۱ پیشنهاد شد. لازم به توضیح است که هر کدام از مدل‌های تجربی القای کلی باسیلوز درجاتی از موفقیت و محدودیت به همراه داشته است و متأسفانه در هیچ یک از این مطالعات انجام شده، ارزیابی مقایسه‌ای اثرات این روش‌ها بر پارامترهای مربوط به کبد و کلیه و نیز پاسخ به درمان به عنوان یکی از پارامترهای مربوط به ارزیابی مدل‌ها، لحاظ نشده است. آسیب کبدی نظیر احتقان سینوزوئیدهای کبدی، سیاهرگ‌های مرکزی و پورتال، تجمع و نفوذ سلول‌های لنفاوی تک هسته‌ای و خونریزی به دنبال آلودگی تجربی با کلی باسیلوز در ماکیان گوشتی گزارش شده است. افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های AST و ALT در سرم ماکیان گوشتی آلوده شده به روش تجربی داخل نایی با باکتری اشیریشیا کلای O27 نشان داده شده است (ابوالحامد و همکاران، ۲۰۲۲). همچنین میزان پروتئین تام سرم، آلبومین و گلوبولین و نیز نسبت آلبومین به گلوبولین کاهش معنی‌داری نشان داد (ابوالحامد و همکاران، ۲۰۲۲). افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های AST و ALT در سرم ماکیان گوشتی آلوده شده به اشیریشیا کلای به روش داخل صفاقی و نیز آسیب هیستوپاتولوژیک کبد گزارش شده است (بائو و همکاران، ۲۰۲۱). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ انجام شد افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های ALT و AST، مقدار پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین و نیز اسید اوریک در سرم جوجه‌های گوشتی آلوده شده به اشیریشیا کلای

¹ Induced or experimental models

با روش خوراکی گزارش شد (شاهین و الفر، ۲۰۱۳).

کلیه‌ها از ارگان‌های مهم در دفع متابولیت‌های سمی تولید شده در بدن می‌باشند که می‌توانند از راه‌های مختلف نظیر دستگاه گوارش و کلواک و نیز از طریق سیستم گردش خون (به صورت سیستمیک) به باکتری اشیریشیا کلای آلوده شده و از طریق توکسین‌ها یا آنزیم‌های تولید شده توسط باکتری مورد آسیب قرار گیرند (میرالس، ۲۰۱۵). جراحات ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک ایجاد شده توسط باکتری اشیریشیا کلای در طیور گزارش شده است (آندایای و همکاران، ۲۰۱۸). به دنبال آلودگی تجربی با اشیریشیا کلای O27 به صورت داخل نایب جراحات کلیوی نظیر احتقان عروق بینابینی و تغییرات دژنراتیو اپیتلیوم کلیه در روز سه پس از تلقیح و خونریزی در بافت بینابینی در روز ۶ پس از تلقیح گزارش شده است (ابوالحامد و همکاران، ۲۰۲۲).

طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها در پرورش طیور صنعتی در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرند. باکتری‌های APEC معمولاً نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر تتراسایکلین‌ها، سولفونامیدها، آمپی‌سیلین و استرپتومایسین مقاوم هستند و لازم است قبل از درمان حتماً تست‌های تعیین حساسیت صورت پذیرد. متأسفانه به دلیل انتقال افقی ژن‌های مقاومت، ایجاد مقاومت در باکتری‌هایی مانند اشیریشیا کلای روبه گسترش است (شیائو و همکاران، ۲۰۲۱). وجود مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در اشیریشیا کلای‌های جدا شده از ماکیان در ایران بارها گزارش شده است. از جمله در پژوهش‌های انجام‌شده توسط جهان تیغ و همکاران در سال ۲۰۲۰ حدود ۹۵٪ از اشیریشیا کلای‌های جدا شده از ضایعات مربوط به کلی باسیلوز جوجه‌های گوشتی در منطقه سیستان ایران نسبت به تتراسایکلین مقاوم بودند. این میزان در مورد سیپروفلوکساسین ۸۸/۳٪ و در مورد کوتریموکسازول ۸۶/۷٪ بوده است (جهان تیغ و همکاران، ۲۰۲۰). همچنین در پژوهش صورت‌گرفته توسط بخشی و همکاران در سال ۲۰۱۷ حدود ۸۲٪ درصد باکتری‌های اشیریشیا کلای جدا شده از جوجه‌های گوشتی دچار کلی باسیلوز در استان یزد به اریترومایسین مقاوم بودند. درصد مقاومت در مورد سیپروفلوکساسین و انروفلوکساسین به ترتیب ۸۶ و ۸۷ درصد بوده است (بخشی و همکاران، ۲۰۱۷). طالبیان و همکاران (۲۰۱۴) مقاومت حدود ۳۵ درصد و صابری‌فر و همکاران (۲۰۰۸) مقاومت ۳۹ درصد در اشیریشیا کلای‌های جدا شده از جوجه‌های گوشتی نسبت به فلورفنیکل مشاهده کردند. وجود مقاومت‌های دارویی چندگانه، لزوم آنتی‌بیوتیک درمانی صحیح و منطقی در کلی باسیلوز طیور را نشان می‌دهد (طالبیان و همکاران، ۲۰۱۴) (صابری فر و همکاران، ۲۰۰۸)

فلورفنیکل یک آنتی‌بیوتیک وسیع الطیف است که کاربرد قابل توجهی در دامپزشکی دارد و از طریق مهار سنتز پروتئین، آنزیم پپتیدیل ترانسفراز را مهار می‌کند. این دارو فاقد گروه پارانیتریولی کلرامفنیکل بوده و بنابراین موجب آنمی آپلاستیک در انسان‌ها نمی‌شود و در نتیجه

در حیوانات تولیدکننده غذا از جمله طیور گوشتی امکان مصرف دارد (فودی و همکاران، ۲۰۱۳). در شرایط بالینی تجویز فلورفنیکل معمولاً به صورت خوراکی و به مدت چند روز انجام می‌شود. بر طبق دستورالعمل برچسب دارو، فلورفنیکل در عفونت‌های کلی باسیلوزی، پاستورلوزیس^۱، کوریزیای عفونی^۲، عفونت‌های استافیلوکوکی^۳، عفونت‌های ناشی از اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال^۴ یا هر عامل عفونی دیگر که حساس به فلورفنیکل باشد در جوجه‌های گوشتی با دوزاژ ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در آب آشامیدنی به مدت ۳ تا ۵ روز کاربرد دارد. محققان به تجزیه و تحلیل اثرات فلورفنیکل بر اندام‌ها و بافت‌های پارانیشیمی مختلف بدن پرداخته‌اند و دریافتند که می‌تواند منجر به آسیب کبد و کلیه در موش شود. افزایش ازت اوره خون همراه با کاهش آلبومین ادرار و افزایش سطح گلوکز خون در موش‌ها مشاهده شده است (تورتون و همکاران، ۱۹۹۹). فلورفنیکل غلظت بالای در کلیه‌ها و ریه‌ها داشته و متابولیت‌های آن به طور عمده توسط کلیه‌ها دفع می‌شود (عفیفی و ابوسود، ۱۹۹۷). این دارو در دوزهای مختلف موجب افزایش معنی‌دار، نیتروژن اوره خون، اسید اوریک، کراتینین در سرم و مالون دی آلدئید در کلیه جوجه‌های گوشتی شده است اما می‌تواند موجب کاهش گلوکوتایون و سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز در کلیه‌ها هم بشود (وانگ و همکاران، ۲۰۲۱). افزایش معنی‌دار مقدار پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین و نیز اسید اوریک در سرم جوجه‌های گوشتی آلوده شده به اشیریشیا کلای با روش خوراکی و درمان شده با فلورفنیکل نسبت به گروه چالش به تنهایی، گزارش شده است. جوجه‌هایی که با فلورفنیکل درمان شده بودند کاهش معنی‌دار اسید اوریک، ALT و AST در در مقایسه با گروه چالش نشان دادند (هازم و حافظ، ۲۰۱۳). رابطه متقابل بین باکتری، ترکیب آنتی‌باکتریال و میزبان از جمله فاکتورهای مورد ارزیابی در برنامه‌های درمان با آنتی‌بیوتیک می‌باشند. به طور کلی اهداف مطالعه حاضر شامل موارد زیر است:

- ۱- مقایسه تاثیر دو مدل القای کلی باسیلوز (با دو روش مختلف داخل نایی و زیر پوستی) بر پارامترهای کبدی و کلیوی جوجه‌های گوشتی
- ۲- ارزیابی احتمالی تاثیر فلورفنیکل تجویز شده در دوزاژ معمول جهت درمان کلی باسیلوز سیستمیک (با دو روش مختلف داخل نایی و زیر پوستی) در جوجه‌های گوشتی، بر پارامترهای کبدی و کلیوی

¹ Pasteurellosis

² Infectious coryza

³ Staphylococcal infections

⁴ Ornithobacterium rhinotracheale

فصل دوم

کلیات

۲-۱- کلی باسیلوز

اشریشیا کلای بیماری‌زای پرندگان (APEC)^۱، اشریشیا کلای بیماری‌زای خارج روده‌ای (ExPEC)^۲، عفونت‌های موضعی و سیستمیک متنوعی را در طیور از جمله ماکیان، بوقلمون، اردک و بسیاری دیگر از گونه‌های پرندگان ایجاد می‌کند (دهمولین و فیبرادر، ۱۹۹۹). شایع‌ترین علائم ناشی از APEC در پرندگان پری‌هیپاتیت، التهاب کیسه‌های هوایی، پریکاردیت، پریتونیت، سالپنژیت، کولی‌گرانولوما، آمفالیت، سلولیت و استئومیلیت/آرتریت؛ است که معمولاً به عنوان کلی باسیلوز پرندگان شناخته می‌شوند (دزیوا و استیون، ۲۰۰۸). این باکتری سندرم سر متورم در جوجه‌ها و کمپلکس استئومیلیت در بوقلمون را ایجاد می‌کند (دزیوا و استیون، ۲۰۰۸). کلی باسیلوز از علت‌های اصلی مرگ و میر (تا ۲۰٪) و عوارض در صنعت طیور بوده و همچنین منجر به کاهش تولید گوشت (کاهش ۲ درصدی وزن زنده، ۲/۷٪ افزایش ضریب تبدیل خوراک) و کاهش تولید تخم مرغ (تا ۲۰٪)، کاهش نرخ جوجه درآوری و افزایش حذف لاشه (تا ۴۳٪) در زمان کشتار می‌شود (ملاتا، ۲۰۱۳). همچنین APEC باعث افزایش مرگ و میر (تا ۵۲/۵٪) در جوجه‌های جوان می‌شود (ملاتا، ۲۰۱۳). در مجموع، همراه با در نظر گرفتن هزینه‌های درمان، APEC برای صنعت طیور صدها میلیون دلار زیان اقتصادی در سراسر جهان به همراه دارد (قونعیم و همکاران، ۲۰۱۴).

APEC می‌تواند روی همه گونه‌های پرندگان، در هر مدلی از سیستم‌های تولید تاثیر بگذارد (گوایبرابا و اسکولر، ۲۰۱۵). همچنین در تمام گروه‌های سنی جوجه‌ها (۹/۵۲٪ تا ۳۶/۷۳٪)

¹ Avian pathogenic *Escherichia coli*

² Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*

شایع است (لطف الکبیر، ۲۰۱۰). جوجه‌های گوشتی بین سنین ۴ تا ۶ هفتگی بیشتر مستعد می‌شوند (دهمولین و فیبرادر، ۱۹۹۹)، در صورتی که پولت‌ها در طول دوره رشد و همچنین تخم‌گذاری، به ویژه در حوالی اوج تولید تخم و اواخر دوره تولید می‌توانند تحت تاثیر قرار بگیرند (دهمولین و فیبرادر، ۱۹۹۹). APEC همچنین توانایی ایجاد عفونت سیستمیک در جوجه‌ها را دارد. APEC می‌تواند به عنوان پاتوژن اولیه یا پاتوژن ثانویه و به دنبال عفونت‌های ویروسی نظیر برونشیت عفونی (IBV)^۱، بیماری نیوکاسل (ND)^۲، آنفلوآنزای پرندگان (AIV)^۳، بیماری مایکوپلاسمایی مانند مایکوپلازما گالی سپتیکوم (MG)^۴، بیماری‌های سرکوب کننده سیستم ایمنی مانند بیماری بورس عفونی (IBD)^۵ و تنش‌های محیطی (ازدحام بیش از حد، سطح بالای گرد و غبار و آمونیاک) با ورود ازدو راه دهانی و تنفسی باعث ایجاد بیماری شود (گوانامین و همکاران، ۲۰۱۴). مطالعات نشان می‌دهند که APEC می‌تواند در مجاری گوارشی و تنفسی جوجه‌ها بدون ایجاد کردن بیماری کلونیزه شود و فقط در صورت وجود عوامل استرس‌زا از جمله عوامل مرتبط با استرس تولید، سرکوب سیستم ایمنی و عفونت‌های هم‌زمان، به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب، به مکان‌های خارج روده منتقل بشوند (ویلیام و ویگلی، ۲۰۱۴). APEC از طریق سلول‌های آسیب دیده نای باشند و اپیتلیوم روده در حضور عوامل استرس‌زا، به دستگاه تنفسی و دستگاه گوارشی حمله کرده و به جریان خون و اندام داخلی وارد می‌شود (گواییرابا و اسکولر، ۲۰۱۵). جوجه‌ها از راه آب و غذای حاوی باکتری، آلوده شده و باکتری می‌تواند به سایر پرندگان از راه مسیر مدفوعی-دهانی^۶ یا آئروسول منتقل شود (دهمولین و فیبرادر، ۱۹۹۹). مطالعات اخیر نشان داده که APEC، به ویژه جدایه‌های متعلق به توالی‌های ST95 و ST131 یا سرورگروه‌های O1، O2 و O18 به عنوان یک پاتوژن بالقوه مشترک بین انسان و دام مطرح هستند. همچنین منبع یا مخزن عفونت‌های خارج روده‌ای در انسان نیز می‌باشند (بلانگر و همکاران، ۲۰۱۱؛ لیو و همکاران، ۲۰۱۸؛ مارکلند و همکاران، ۲۰۱۵). APEC شباهت‌های ژنتیکی با ExPEC در انسان، Uropathogenic *E. coli* (UPEC) و Neonatal Meningitis *E. coli* (NMEC) دارد. همچنین دارای ژن‌های تعیین کننده حدت UPEC و NMEC با توانایی ایجاد عفونت ادراری (UTI) و مننژیت در مدل‌های موش و موش صحرایی نیز هست. علاوه بر این، تشخیص پلاسمیدهای Col V (colicin v) اختصاصی APEC در جدایه‌های ExPEC انسانی، امکان انتقال APEC از طیور به انسان را مطرح می‌کند.

¹ Infectious bronchitis virus

² Newcastle disease

³ Avian influenza viruses

⁴ Mycoplasma gallisepticum

⁵ Infectious bursal disease

⁶ Fecal-oral

بنابراین، APEC یک پاتوژن مهم برای صنعت طیور و بهداشت عمومی جامعه می‌باشد (ملاتا، ۲۰۱۳؛ تیوندال و همکاران، ۲۰۱۰).

۲-۲- دوره کمون بیماری

فاصله میان عفونت تا شروع علائم بالینی در بین انواع اختصاصی بیماری‌هایی که اشیشیا کلای ایجاد می‌کند، متفاوت است. دوره کمون کوتاه است و زمانی که طیور را به حالت آزمایشی با تعداد بالایی از ارگانسیم‌های حاد مواجهه بدهند، بین ۱ تا ۳ روز خواهد بود. در شرایط فیلد، بیشتر متداول است که با یک عامل مستعد کننده مثل برونشیت عفونی در ماکیان و آنتریت هم‌وزیک در بوقلمون‌ها، کلی سپتی سمی ۷-۵ روز بعد رخ دهد (دزیوا و استیون، ۲۰۰۸).

۲-۳- ویژگی‌های بیوشیمیایی اشیشیا کلای

اشیشیا کلای در محیط رشد مغذی معمولی به طور هوازی یا غیرهوازی در دمای بین ۱۸ تا ۴۴ درجه سانتی‌گراد رشد می‌کند. این باکتری کربوهیدرات را تخمیر می‌کند و گاز تولید می‌کند. این اسید و گاز تولیدی حاصل تخمیر گلوکز، مالتوز، مانیتول، زایلوز، گلیسرول، رامنوز، سوربیتول و آرابینوز می‌باشد اما از تخمیر دکستروز، نشاسته و یا اینوزیتول تولید نمی‌شود. تعویض کردن سوربیتول با لاکتوز در محیط مک کانکی آگار برای تمایز دادن بین اشیشیا کلای O157:H7 از سایر اشیشیا کلای‌ها مفید می‌باشد زیرا در حالت معمول O157:H7 سوربیتول را تخمیر نمی‌کند و در مقایسه با جدایه‌های اشیشیا کلای پرگنه با ظاهری صورتی ندارد. اکثر جدایه‌های اشیشیا کلای لاکتوز را تخمیر می‌کنند، اما سویه‌هایی از اشیشیا کلای نیز جدا می‌شوند که لاکتوز را تخمیر نمی‌کنند و باید آن‌ها را از سالمونلا تمایز بدهیم زیرا سالمونلا هم لاکتوز را تخمیر نمی‌کند. تخمیر آدونیتول، سوکروز، سالیسین، رافینوز و دولسیتول متغیر است. جدایه‌هایی که رافینوز و سوربوز را تخمیر می‌کنند، تلفات بالایی در آزمون مرگ جنین ایجاد می‌کنند (مونتگومری، جونز، بویل، لوو، ۲۰۰۵). اشیشیا کلای ایندول تولید می‌کند، واکنش مثبت برای متیل قرمز دارد و نیترات را به نیتريت احیا می‌کند. اکسیداز منفی است و هیدروژن سولفید در محیط Kligler's iron تولید نمی‌کند. اشیشیا کلای در محیط کشت سیترات رشد نمی‌کند. این آزمون‌های بیوشیمیایی می‌توانند برای تمایز دادن بین اشیشیا کلای و سایر گونه‌های اشیشیا (بتلهیم، ۱۹۹۴) و باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه (اوینگ، ۱۹۸۶) استفاده شوند.

۲-۴- حدت و پاتوژنز

APEC مکانیسم‌ها و فاکتورهای حدت متفاوتی برای ایجاد کلی باسیلوز در طیور دارد (باربیری و همکاران، ۲۰۱۷؛ دزیوا و استیون، ۲۰۰۸؛ گوارا و همکاران، ۲۰۱۸؛ جیانگ و همکاران، ۲۰۱۵؛ لی و همکاران، ۲۰۲۰؛ ما و همکاران، ۲۰۱۴). این عوامل شامل چسبنده‌ها، مهاجم‌ها، پروتکتین‌ها، سیستم‌های جذب آهن، توکسین‌ها، سیستم‌های دو جزئی^۱، سیستم Quorum Sensing تنظیم کننده‌های رونویسی، سیستم‌های ترشح و ژن‌های مرتبط با متابولیسم هستند. این عوامل نقش‌های متفاوتی در عفونت‌های APEC دارند، به عنوان مثال اتصال به سلول‌های میزبان، تهاجم به سلول‌های میزبان، بقا در داخل سلول‌های فاگوسیت کننده (ماکروفاژها)، کلونیزه شدن بافت‌ها، تداوم در جریان خون، تکثیر و همانندسازی در داخل سلول‌ها، آسیب سلولی، جداسازی فلزات از مایعات بدن برای رشد، مقاومت در برابر فعالیت باکتری کشی سرم و استرس‌های اکسیداتیو و محیطی، تحرک و تشکیل بیوفیلم از جمله این موارد هستند (باربیری و همکاران، ۲۰۱۷؛ دزیوا و استیون، ۲۰۰۸؛ گوارا و همکاران، ۲۰۱۸؛ جیانگ و همکاران، ۲۰۱۵؛ لی و همکاران، ۲۰۲۰؛ ما و همکاران، ۲۰۱۴).

۲-۴-۱- چسبنده‌ها

چسبنده‌ها، زائده‌ها یا اجزای روی سطح سلولی باکتری‌ها می‌باشند که چسبندگی یا چسبیدن به سلول‌های دیگر یا سطوح را معمولاً در میزبانی که آن را آلوده کرده اند را آسان می‌کند (دزیوا و استیون، ۲۰۰۸؛ ساروسکا و همکاران، ۲۰۱۹). چسبندگی برای کلونیزه شدن در میزبان جدید مورد نیاز می‌باشد و یکی از قدم‌های لازم در پاتوژنز عفونت باکتریایی نیز هست (دزیوا و استیون، ۲۰۰۸؛ ساروسکا و همکاران، ۲۰۱۹). چسبندگی در APEC بیشتر توسط فیمبریا نوع ۱، فیمبریا P و فیمبریا S تسهیل می‌شود. (دزیوا و استیون، ۲۰۰۸؛ ساروسکا و همکاران، ۲۰۱۹). چندین ژن کدکننده این فیمبریاها و چسبنده‌های دیگر شامل *fimC*، *fimH* (نوع ۱ فیمبریا)، *papA*، *papC*، *papEF*، *papGI*، *papGII*، *papGIII*، *felA* (فیمبریا P)، *sfa/sfaS* (فیمبریا S)، *focGE* (فیمبریا F_{1C})، *afaIBC* (فاقد فیمبریا)، *dpfA*، *dpf0141*، *lpf0154* (فیمبریا قطبی بلند)، *mat/ecpA* (فیمبریلین)، *flgE* (تاژک قلاب دار)، *crl*، *csg* (کرلی)، *tsh* (هماگلوتینین حساس به دما)، *bmaE* (هماگلوتینین M)، *hrrA/hrrA/hek* (آگلوتینین مقاوم به حرارت)، *iha* (چسبنده همولوگ IrgA)، *yqiG* (پروتئین ناشر غشای خارجی) و *kii* (ژن‌های کد کننده کپسول K) در APEC ذکر شده است (اسلم و همکاران، ۲۰۱۴؛ آوادو و همکاران،

¹ Two component regulatory system

۲۰۲۰؛ آزام، موهسین و سالیمی، ۲۰۱۹؛ دپایوا و همکاران، ۲۰۱۶؛ دلانوی و همکاران، ۲۰۲۱؛ وانگ و همکاران، ۲۰۱۶؛ میسل و همکاران، ۲۰۱۷؛ موحامد و همکاران، ۲۰۱۸). این چسبنده‌ها همچنین باعث تحرک، تشکیل بیوفیلم و بقای APEC در ماکروفاژها نیز می‌باشند (ساروسکا و همکاران، ۲۰۱۹). علاوه بر این، ژن کدکننده فیمبریا، *ffcO*، چسبندگی، کلونیزاسیون و مقاومت در برابر تنش‌های محیطی را آسان می‌سازد (وانگ و همکاران، ۲۰۱۶). این در حالی است که *yadC*، چسبندگی، بقای درون سلولی و تحرک را زیاد می‌کند (ورما و همکاران، ۲۰۱۶). به طور مشابه، ژن چسبندگی انتقال خودکار (*upaB aatB aatA*) به چسبندگی، کلونیزاسیون و تشکیل بیوفیلم کمک می‌کند (ژوگه و همکاران، ۲۰۱۵). نشان داده شده است که چندین ژن دیگر (*fdeC* و *ecpR*، *yjhB*، *rluD*، *fdtA*) نیز، مسئول چسبندگی به رده‌های سلولی ماکیان و انسان می‌باشند (علی و همکاران، ۲۰۲۰).

۲-۴-۲- مهاجم‌ها

مهاجم‌ها دسته ای از پروتئین‌ها هستند که با ورود پاتوژن‌ها به سلول‌های میزبان مرتبط هستند (دزیوا و استیون، ۲۰۰۸). مهاجم‌ها در مرحله اولیه عفونت نقش دارند (ساروسکا و همکاران، ۲۰۱۹). ژن‌های متعددی مهاجم‌ها را کد می‌کنند، (*ibeA*، *ibe10*)، *ibeB*، *tia* و *gimB* در جدایه‌های APEC گزارش شده‌اند (ونگ و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه بر این، مهاجم‌ها به مقاومت APEC در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از ماکروفاژها، تشکیل بیوفیلم، کلونیزاسیون و تکثیر در میزبان نیز کمک می‌کنند (شاهوی وانگ و همکاران، ۲۰۱۲). ژن *yehO* در تحرک، چسبندگی، تهاجم، تشکیل بیوفیلم و بیان پروتئین‌های غشایی و ژن‌های متابولیسم نیز نقش دارد (پیلاتی و همکاران، ۲۰۱۶).

۲-۴-۳- سیستم‌های جذب آهن

آهن یک ریز مغذی ضروری می‌باشد. زمانی که باکتری به میزبان حمله می‌کند یا در آن کلونیزه می‌شود، آهن برای رشد و تکثیر باکتری مورد نیاز می‌باشد (ساروسکا و همکاران، ۲۰۱۹). APEC سیستم‌های مختلفی برای جذب آهن دارد که شامل چندین سیدروفور (آئروباکتین^۱، سالموچلین^۲، یرسینیا باکتین^۳) و ناقل‌هایی برای جداسازی آهن از مایعات بدن می‌باشد (دزیوا و استیون، ۲۰۰۸). چندین ژن کدکننده سیستم‌های جذب و انتقال آهن شامل *aerJ*، *iutA*، *iucCD* (آئروباکتین)، *iroBCDEN* (سالموچلین)، *fyuA* (یرسینیا باکتین)،

¹ Aerobactin

² Salmochelin

³ Yersiniabactin

feoB، *mntH* (نقل کننده آهن و منگنز^۱)، *irp2* (پروتئین تنظیم کننده آهن^۲)، *sitABC* (انتقال دهنده یون آهن^۳)، *fepC* (نقل کننده انتروباکتین آهن^۴)، *ireA* (ژن حدت تنظیم شده با آهن^۵)، *chua* (گیرنده همین غشای خارجی^۶) و *bfr* (باکتریوفیتین^۷) در APEC وجود دارد (اسلم و همکاران، ۲۰۱۴؛ آوادو و همکاران، ۲۰۲۰؛ آزام، موهسین و سالیمی، ۲۰۱۹؛ دپایوا و همکاران، ۲۰۱۶؛ دلانوی و همکاران، ۲۰۲۱؛ وانگ و همکاران، ۲۰۱۶؛ میسل و همکاران، ۲۰۱۷؛ موحامد و همکاران، ۲۰۱۸). این سیدروفورها و ناقل‌ها همچنین واسطه چسبندگی APEC، تهاجم، مقاومت در برابر استرس‌های محیطی، بیان ژن‌های بیماری‌زای دیگر، کلونیزاسیون و تداوم در میزبان نیز می‌باشند (صبری، ۲۰۰۸). همچنین سنتز انتروباکتین و ژن‌های انتقال (*entE* و *entS*)^۸ در هماهنگی با ژن کدکننده پروتئین جریانی غشای خارجی (*tolC*)^۹، تهاجم، کلونیزاسیون و زنده ماندن باکتری را نیز آسان تر می‌سازد (مو و همکاران، ۲۰۲۰).

۲-۴-۴- پروتکتین‌ها^{۱۰}

پروتکتین‌ها از باکتری‌ها در مقابل سیستم ایمنی میزبان و نیز شرایط نامطلوب مختلف حفاظت می‌کنند (دزیوا و استیون، ۲۰۰۸). محافظ‌ها شامل کپسول‌های باکتریایی، پروتئین‌های غشای بیرونی و اجزای لیپوپولی‌ساکارید (LPS)^{۱۱} می‌باشند و محافظت در برابر بلعیده شدن فاگوسیتی توسط ماکروفاژها و اثر باکتری‌کشی با واسطه کمپلمان در سرم میزبان را فراهم می‌سازند (ساروسکا و همکاران، ۲۰۱۹). چندین ژن کدکننده پروتکتین‌ها شامل *iss* (افزایش بقای سرمی^{۱۲})، *traT* (پروتئین مقاومت در برابر کمپلمان^{۱۳})، *ompT* (پروتئاز غشای خارجی^{۱۴})، *kpsMT* (K1)، *kpsMTII*، *kpsMTIII*، *neuC*، *neuS*، *neuD* (کپسول^{۱۵})، *kfiC-K5* (گلیکوزیل ترانسفراز^{۱۶}) و *betA* (کولین دهیدروژناز^{۱۷}) در APEC وجود دارد (سیلورا و همکاران، ۲۰۱۶).

¹ Iron and Manganese transporter

² Iron regulatory proteins

³ Ferrous iron transport protein B

⁴ Ferric enterobactin transporter

⁵ Iron regulated virulence genes

⁶ Outer membrane hemin receptor

⁷ Bacterioferritin

⁸ Enterobactin transporter

⁹ Outer membrane efflux protein

¹⁰ Protectins

¹¹ Lipopolysaccharide

¹² Increased serum survival

¹³ Complement resistance protein

¹⁴ Outer membrane protease

¹⁵ Capsule

¹⁶ Glycosyltransferase

¹⁷ Choline dehydrogenase

این محافظها افزون بر محافظت در برابر دفاع میزبان، واسطه چسبندگی APEC، تهاجم، بقای درون سلولی، کلونیزاسیون و تکثیر در میزبان نیز می‌باشند (هجار و همکاران، ۲۰۱۷). پروتئین‌های غشای خارجی شامل YbjX و PagP نیز در مقاومت در برابر استرس‌های محیطی، تهاجم و بقای درون سلولی ایفای نقش می‌کنند (سانگ و همکاران، ۲۰۲۰). همچنین، OmpA، از دیگر پروتئین‌های غشای خارجی می‌باشد که باعث افزایش بقای APEC در ماکروفاژها می‌شود (نیلسن و همکاران، ۲۰۲۰). ژن‌های شرکت کننده در بیوسنتز LPS، شامل *wzy* (O-آنتی‌ژن پلی‌مراز) و *waaL* (O-آنتی‌ژن لیگاز^۱)، بقای درون سلولی و مقاومت در برابر فاگوسیتوز و استرس‌های محیطی همراه با چسبندگی، تهاجم، کلونیزاسیون، تحرک و تشکیل بیوفیلم را آسان می‌سازد (زواتو و همکاران، ۲۰۱۹). ژنی که در بیوسنتز لیپید A نقش دارد یا همان *lpxM* (میریستویل ترانسفراز^۲)، در تهاجم، بقای درون سلولی، کلونیزاسیون و تنظیم بیان ژن‌های سایتوکاین و تولید نیتریک اکساید ایفای نقش می‌کند (هازو و همکاران، ۲۰۱۳). *sodA* (سوپراکسید دسموتاز^۳) از APEC در برابر دفاع میزبان با واسطه گونه‌های اکسیژن فعال (ROS^۴) محافظت می‌کند و باعث افزایش تشکیل بیوفیلم می‌شود (گائو و همکاران، ۲۰۱۹).

۲-۴-۵- توکسین‌ها

توکسین‌ها سم‌های بیولوژیکی هستند که به توانایی باکتری برای حمله کمک می‌کنند و به بافت‌ها آسیب می‌زنند (ساروسکا و همکاران، ۲۰۱۹). چند ژن کدکننده انواع توکسین شامل *hlyE*، *hlyA*، *hlyF* (همولایزین^۵)، *vat* (توکسین انتقال‌دهنده خودکار واکوئل کننده^۶)، *sat*، *cdtB*، *cdtS* (فاکتورکشنده سلول طولانی کننده^۷)، *astA*، EAST-1 (انتروتوکسین مقاوم به حرارت^۸)، *stx2f* (یک نوع شیگا توکسین^۹)، *pic* (انتقال‌دهنده خودکار سرین پروتئاز^{۱۰})، *espC* (سرین پروتئاز^{۱۱}) و *ace4/35* (استیل کولین استراز^{۱۲}) می‌باشند که در APEC حضور دارند (ابراهیم و همکاران، ۲۰۱۹). هم‌چنین این توکسین‌ها باعث آسان‌تر شدن کلونیزاسیون، تحرک،

¹ O-antigen polymerase

² O-antigen ligase

³ Myristoyl transferase

⁴ Superoxide dismutase

⁵ Reactive oxygen species

⁶ Hemolysin

⁷ Vacuolating Autotransporter Toxin

⁸ Cytolethal distending toxin

⁹ *E.coli* heat stable enterotoxin 1

¹⁰ Shiga toxin

¹¹ Serine protease autotransporter

¹² Serine protease

¹³ Acetylcholinesterase

تشکیل بیوفیلیم، آگلوتیناسیون، القای واکوئل دار شدن و تشکیل وزیکول‌های غشای بیرونی می‌شوند (موراسه و همکاران، ۲۰۱۶).

۲-۴-۶- سیستم‌های دوجزئی

سیستم‌های دو جزئی (TCS)^۱ عمده پروتئین‌های سیگنالی در باکتری‌ها می‌باشند که به باکتری‌ها این توانایی را می‌دهد تا با تغییر بیان ژن‌ها به تغییرات محیطی پاسخ بدهند (هانگ و همکاران، ۲۰۱۶). یک TCS غشایی به عنوان PhoPQ در شکل‌گیری بیوفیلیم، تحرک، چسبندگی، مهاجم، بقای درون سلولی، انتشار سیستمیک، بیان ژن‌های حدت و ژن‌های مرتبط با تشکیل تاژک، انتقال‌دهنده‌های ABC، Quorum-Sensing، ABC و کموتاکسی باکتریایی ایفای نقش می‌کند (لی و همکاران، ۲۰۲۰). یک TCS غشایی دیگر (BasSR) نیز در تشکیل بیوفیلیم، حدت و کلونیزاسیون APEC در مدل‌های درون‌تنی نقش دارد (یو و همکاران، ۲۰۲۰). KdpDE (یک TCS تنظیم‌کننده انتقال پتاسیم)، میانجی‌گر بیان ژن‌های مرتبط با تاژک (فلاژل^۲)، تشکیل فلاژلوم و تحرک است (رحیم و همکاران، ۲۰۲۰). به همین ترتیب RstAB، یک TCS تنظیم‌کننده متابولیسم نیتروژن، در جذب آهن و مقاومت به اسید است که بقای داخل سلولی و کلونیزاسیون را تسهیل می‌کند (گائو و همکاران، ۲۰۲۰). یکی دیگر از TCSها، BarA-UvrY می‌باشد که باعث چسبندگی، مهاجم، ماندگاری، بقای داخل سلولی، مقاومت در برابر فعالیت باکتری‌کشی سرم میزبان و استرس اکسیداتیو، تنظیم تولید اگزوپلی‌ساکارید و بیان فیمبریا P و type1 می‌شود (هرن و همکاران، ۲۰۰۶).

۲-۴-۷- سیستم QS^۳

این سیستم یک نوع خودالقاکننده (مولکول‌های آلی کوچک هورمون مانند) مبتنی بر سیستم ارتباطی سلول به سلول در باکتری‌ها می‌باشد که بیان ژن‌های مختلف مرتبط با تحرک، تشکیل بیوفیلیم، حدت و غیره را تنظیم می‌کند (بین و همکاران، ۲۰۱۹). QS در APEC توسط مولکول Autoinducer-2 (AI-2) سنتز شده از LuxS عملکرد دارد و توسط اپران LsrABCDFGK تنظیم می‌شود (پلانیاندی و همکاران، ۲۰۱۳).

¹ Two Component Systems

² Flagella

³ Quorum Sensing

۲-۴-۸- تنظیم کننده‌های رونویسی

AutA و AutR، دو تنظیم کننده رونویسی می‌باشند که باعث بیان کپسول K1 و سیستم‌های مقاومت به اسید^۱ در باکتری اشیریشیا کلای می‌شوند. همچنین باکتری را به گونه‌ای با شرایط محیطی وفق می‌دهند که عفونت‌زایی باکتری آسان‌تر اتفاق بیفتد (ژوگ و همکاران، ۲۰۱۶). FNR (احیا کننده فومارات و نترات^۲)، از دیگر تنظیم کننده‌های رونویسی می‌باشد که چسبندگی، تهاجم، بیان فیمبریا نوع ۱ و سیستم ترشحی VI^3 راحت‌تر می‌کند (باربری و همکاران، ۲۰۱۷). McbR (فاکتور رونویسی اشیریشیا کلای YncC^4) از عوامل موثر بر پاسخ به استرس و تشکیل بیوفیلم می‌باشد (یو و همکاران، ۲۰۱۹). در صورتی که، *tyrR* (یک تنظیم کننده رونویسی دخیل در بیوسنتز و انتقال آمینواسیدهای آروماتیک)، باعث افزایش تهاجم، تحرک و بقای درون سلولی می‌شود (de Paiva et al., 2016). *YjzQ* (تنظیم کننده رونویسی از خانواده LuxR) در حرکت تاژک نقش دارد (ویبه و همکاران، ۲۰۱۵) و *RfaH* (یک رونویسی کننده Anti-terminator)، در تهاجم، بقای درون سلولی و مقاومت نسبت به فعالیت باکتری کشی سرم نقش دارد (گائو و همکاران، ۲۰۱۳).

۲-۴-۹- سیستم‌های ترشح^۵

سیستم‌های ترشح، سیستم‌های مرتبط با سلول می‌باشند که روی غشای باکتریایی نمایان شده و عملکرد آن‌ها ترشح پروتئین‌هایی به سمت سلول‌های میزبان می‌باشد، که منجر به آسیب به سلول‌های میزبان خواهد شد (ما و همکاران، ۲۰۱۴؛ ونگ و همکاران، ۲۰۱۷). پروتئین‌های مترشحه با مسموم کردن مستقیم سلول میزبان و یا با تقویت اتصال به سلول میزبان، ایجاد جایگاه تکثیر با مهار منابع و همچنین رقابت با سایر میکروارگانیسم‌ها، حدت باکتریایی را افزایش می‌دهند. در میان سیستم‌های مختلف ترشح باکتریایی، دو سیستم ترشحی (نوع III و VI) در بیماری‌زایی APEC همکاری دارد (ما و همکاران، ۲۰۱۴؛ ونگ و همکاران، ۲۰۱۷) نقش تنظیم کننده‌ها (*EtrA* و *YqeI*) و *EivC* (*ATPase*) از سیستم ترشح نوع III (*ETT2*) در تحرک، چسبندگی، بقای درون سلولی، تکثیر، کلونیزاسیون، مقاومت در برابر فاگوسیتوز و فعالیت باکتری کشی سرم، بیان ژن‌های فیمبریا و کاهش پاسخ سایتوکاین‌های پیش التهابی می‌باشند (ما و همکاران، ۲۰۱۴؛ ونگ و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین، اجزای مختلف سیستم

¹ Acid resistance systems

² Fumarate and nitrate reducer

³ Secretion system VI

⁴ *E. coli* transcription factor YncC

⁵ Secretion systems

ترش‌حی نوع VI، DotU (پروتئین عبور و مرور اندامک^۱)، IcmF (فاکتور تکثیر داخل سلولی^۲)، Hcp (پروتئین تنظیم مشترک همولیز^۳)، CpxA، CpxR (سیستم پاسخ به استرس پوشش^۴)، VrgG (میانجی رقابت بین باکتریایی)، چسبندگی، تهاجم، بقای درون سلولی، کلونیزاسیون، تحرک، تشکیل بیوفیلم، تولید فیمبریا نوع ۱، مقاومت در برابر فعالیت باکتری‌کشی سرم سلول میزبان باکتری و تعدیل پاسخ‌های درون سلولی میزبان (IL-8, IL-1β) نقش دارند (دپیس و همکاران، ۲۰۱۱؛ دلانوی و همکاران، ۲۰۲۱؛ دینگ و همکاران، ۲۰۱۸؛ مات و همکاران، ۲۰۱۴؛ متر و همکاران، ۲۰۱۸؛ سانگ هو و همکاران، ۲۰۲۰؛ شائوهووی و همکاران، ۲۰۱۴؛ یی و همکاران، ۲۰۱۹).

۲-۴-۱۰- ژن‌های مرتبط با متابولیسم

انواعی از ژن‌های مرتبط با متابولیسم باکتریایی در پاتوژن باکتری APEC شرکت می‌کنند (جیانگ و همکاران، ۲۰۱۵). اپران^۵ *acs-yjeH-actP*، کدکننده سیستم جذب استات است که باعث می‌شود بقای درون سلولی، تکثیر، کلونیزاسیون و تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی و نیتریک اکساید تسهیل شود (ژوگ و همکاران، ۲۰۱۸). *PotE* (انتقال دهنده پوتریسین^۶)، در بیوسنتز پلی آمین و انتقال پوترسین دخالت دارد و *NirC* (انتقال دهنده نیتريت^۷)، متابولیسم نیتروژن و سم‌زدایی سیتوپلاسمی را انجام می‌دهد. *PotE* و *NirC* باعث واسطه‌گری در چسبندگی و کلونیزاسیون می‌شوند (گونه را و همکاران، ۲۰۱۸). *ArcA* (کنترل کننده تنفس هوازی^۸) دخیل در انتقال و متابولیسم سیترات، در تحرک و کموتاکسی موثر است (جیانگ و همکاران، ۲۰۱۵).

۲-۵- استراتژی‌های کنترل

به طور کلی کنترل عفونت‌های APEC در طیور متکی به آنتی‌بیوتیک درمانی و واکسیناسیون، مدیریت عوامل استرس‌زای محیطی، به کارگیری اقدامات امنیت زیستی، و واکسیناسیون گله در برابر بیماری‌های ویروسی و سرکوب کننده سیستم ایمنی است (مولین و فربرادر، ۱۹۹۹). پروبیوتیک‌ها، باکتریوفازها و جایگزین‌های مختلف جدید (محرک‌های ایمنی ذاتی،

¹ Organelle trafficking protein

² Intracellular multiplication factor

³ Hemolysis co-regulation protein

⁴ Envelope stress response system

⁵ Operon

⁶ Putrescine transporter

⁷ Nitrite transporter

⁸ Aerobic respiratory control

مهارکننده‌های حدت و رشد و پپتیدهای ضد میکروبی) هم با هدف توسعه پیشگیری و درمان موثر برای کنترل کلی باسیلوز در جوجه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است (ونگ و همکاران، ۲۰۱۷).

۲-۵-۱- مدیریت و اقدامات امنیت زیستی

مدیریت عوامل استرس‌زای محیطی از جمله آمونیاک و گرد و غبار در مرغداری‌ها با حفظ بستر خوب و کیفیت هوا، برخی از عوامل کلیدی در جلوگیری از آلودگی APEC در مرغداری‌ها می‌باشد (مولین و فربرادر، ۱۹۹۹). تهویه مناسب و نیز حفظ دما، رطوبت و تراکم بهینه پرندگان منجر به کاهش استرس محیطی در جوجه‌ها می‌شود. حذف عوامل مستعدکننده با واکسیناسیون جوجه‌ها علیه MG^۱، IBV^۲، NDV^۳ و IBD^۴ نیز از بروز عفونت‌های APEC می‌کاهد. تغذیه خوب و پرندگان با سیستم ایمنی تقویت شده نیز می‌تواند در کاهش بروز کلی باسیلوز نقش داشته باشد (مولین و فربرادر، ۱۹۹۹). علاوه بر این، انتقال عمودی APEC را می‌توان در سطح پرورش یا در بالای هرم تولید با اقدامات مداخله‌ای مختلف از جمله توسعه نژادهایی با افزایش مقاومت در برابر عفونت‌های APEC، تمیز کردن و ضد عفونی کردن تخم‌های جوجه‌کشی و به حداقل رساندن استفاده از تخم‌مرغ‌های قرار گرفته بر روی زمین کاهش داد (کریستنسن و همکاران، ۲۰۲۱). انتقال افقی APEC را می‌توان با استفاده از سیستم‌های تولید تمام پر-تمام خالی^۵، حذف جوجه‌های ضعیف در هفته اول به صورت سیستماتیک و اجرای برنامه‌های بهداشتی موثر کنترل کرد (کریستنسن و همکاران، ۲۰۲۱). اقدامات امنیت زیستی مناسب و کارآمد همراه با خوراک و آب (دارای کلر) عاری از آلودگی و ضد عفونی سالن‌های طیور، کارخانه‌های خوراک دام، تجهیزات مزرعه و اماکن برای جلوگیری از ورود APEC به مزارع ضروری می‌باشد (دیوا و استیونس، ۲۰۰۸). اقدامات امنیت زیستی از جمله جلوگیری از دسترسی ناقلانی مانند مگس خانگی، پرندگان وحشی و جوندگان نیز برای دور نگه داشتن APEC از تاسیسات مرغداری ضروری می‌باشد (کریستنسن و همکاران، ۲۰۲۱).

¹ *Mycoplasma gallisepticum*

² Infectious bronchitis virus

³ Newcastle disease virus

⁴ Infectious bursal disease

⁵ All-in-all-out

۲-۵-۲- آنتی بیوتیک

آنتی بیوتیک‌ها معمولاً در موارد کنترل عفونت‌های APEC در صنعت طیور مورد استفاده قرار می‌گیرند (آگونوس و همکاران، ۲۰۱۲). بسیاری از آنتی بیوتیک‌های مختلف، مانند تتراسایکلین‌ها (تتراسایکلین، اکسی تتراسایکلین، کلر تتراسایکلین)، سولفونامیدها (سولفادیمتوکسین، تری متوپریم، سولفادیازین، سولفامتازین، سولفاکینوکسالین، اورمتوپریم)، آمینوگلیکوزیدها (آپرامایسین، جنتامایسین، نئومایسین، اسپکتینومایسین)، سفالوسپورین‌ها (سفتیوفور)، کینولون‌ها (دانوفلوکساسین، سارافلوکساسین، انروفلوکساسین)، پلی میکسین‌ها (کولیستین)، کلرامفنیکل‌ها (فلورفنیکول)، ماکرولیدها (اریترومایسین) و لینکوزامیدها (لینکومایسین) در صنعت طیور در سراسر جهان برای کنترل عفونت‌ها استفاده شده است (آگونوس و همکاران، ۲۰۱۲). مقاومت APEC به آنتی بیوتیک‌های متعدد نیز گزارش شده است که استفاده از این آنتی بیوتیک‌ها را محدود می‌کند و چالش پیش رو در استفاده از این آنتی بیوتیک‌ها را به خوبی نشان می‌دهد. داده‌ها حاکی از مقاومت APEC تقریباً به تمام کلاس‌های آنتی بیوتیک‌ها، به جز کارباپنم‌ها^۱ می‌باشد. اخیراً مقاومت به امپی پنم^۲ نیز مطرح شده بود (هایاشی و همکاران، ۲۰۱۹). این مقاومت بیشتر در آنتی بیوتیک‌های آمپی سیلین، تتراسایکلین، تری متوپریم، سولفامتوکسازول و استرپتومایسین وجود دارد. سطح بالایی از مقاومت APEC به آنتی بیوتیک‌های مهم، مانند بتالاکتام‌ها و کولیستین نیز رخ داده است که ممکن است به دلیل انتقال باکتری‌ها و ژن‌های مقاوم به آنتی بیوتیک از طریق زنجیره غذایی، خطر بالایی برای انسان به همراه داشته باشد (عثمان و همکاران، ۲۰۱۸).

۲-۵-۲-۱- فلورفنیکل

فلورفنیکل از لحاظ ساختاری مرتبط با تی‌آمفنیکل است. با این حال، فلورفنیکل دارای فلوئور در موقعیت کربن^۳ می‌باشد. جایگزینی مولکول فلوئور در این موقعیت، تعداد واکنش‌های استیلایسیون^۳ باکتریایی را کاهش داده و باعث مقاومت بیشتر این آنتی بیوتیک در برابر باکتری‌ها در فرایند غیرفعال سازی می‌باشد. فلورفنیکل نسبت به کلرآمفنیکل یا تی‌آمفنیکل، در مقابل بسیاری از ارگانیسیم‌ها در شرایط آزمایشگاهی قوی تر می‌باشد. این نتایج با مطالعات قبلی که نشان می‌دهد احتمالاً مکانیسم‌های مقاومت برای فلورفنیکل در مقایسه با کلرآمفنیکل، کمتر باشد، همخوانی دارد (اسکوارتز، کرنبرگ، دوبلت و کلونگارت، ۲۰۰۴).

¹ Carbapenems

² Imipenem

³ Acetylation reactions

لیست باکتری‌های حساس برای فلورفنیکل، با همان لیستی که قبلاً برای کلرآمفنیکل ذکر شده است یکسان می‌باشد. با این حال، همانطور که قبلاً گفته شد، برخی از باکتری‌های مقاوم به کلرآمفنیکل به دلیل غیرفعال شدن آن توسط استیل‌اسیون این امکان وجود دارد که به فلورفنیکول حساس باشند. با توجه به پیشنهاد سینگر و همکاران (۲۰۰۴)، نقطه مقاومت فلورفنیکل در طیور را بیشتر از $32 \mu\text{g/ml}$ بر اساس MIC تعریف می‌کنند (سینگر و همکاران، ۲۰۰۴). مزیتی که فلورفنیکل برای تجویز به حیوانات تولید کننده غذایی دارد این است که فاقد گروه پارانیترو است. این گروه می‌تواند در القای آنمی آپلاستیک مرتبط با استفاده از کلرآمفنیکل در انسان ایفای نقش کند. بنابراین، اگر بقایایی در حیوانات تحت درمان با فلورفنیکل اتفاق بیفتد، هیچ خطر سلامتی عمومی خطرناک نخواهد داشت. با این حال، ممکن است فلورفنیکل هنوز بتواند یک فرم وابسته به دوز از سرکوب برگشت‌پذیر مغز استخوان با استفاده طولانی مدت یا دوزهای بالا را ایجاد کند. چنین واکنش‌هایی در نتیجه مصرف معمول فلورفنیکل در حیوانات گزارشی نداشته است و احتمالاً به این دلیل است که به ندرت برای مدت طولانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (سینگر و همکاران، ۲۰۰۴).

۲-۵-۳- واکسن‌ها

واکسن‌های زنده ضعیف شده و نوترکیب برای محافظت از جوجه‌ها در برابر عفونت‌های APEC بررسی شده‌اند. در گذشته، واکسن‌های غیرفعال مورد آزمایش قرار می‌گرفتند. مطالعات اخیر بیشتر بر ارزیابی واکسن‌های زنده ضعیف شده و نوترکیب در جوجه‌ها انجام شده است. با استفاده از این واکسن‌ها، درجات مختلف حفاظت، از هیچ تا جزئی تا کامل، حاصل شده است. در بین واکسن‌های متعدد آزمایش شده، فقط دو واکسن (واکسن زنده تخفیف یافته *E. coli* Poulvac® aroAΔ O78 APEC و واکسن غیرفعال *E. coli* Nobilis® حاوی آنتی‌ژن‌های فیمبریا F11 و فلاژل FT به صورت تجاری در حال حاضر برای استفاده در جوجه‌ها در برخی کشورهای دنیا استفاده می‌شود. با این حال، اشکال عمده این واکسن‌ها عدم محافظت در برابر عفونت ناهمگن APEC می‌باشد. واکسن ایده‌آل APEC باید توانایی محافظت متقاطع در برابر چندین سروتیپ APEC را فراهم کند و با روش‌های ایمن سازی انبوه در سطح کله‌های طیور، مانند روش‌های خوراکی (خوراکی یا آب) یا راه‌های اسپری قابلیت استفاده را داشته باشد (گونائیم و همکاران، ۲۰۱۴).

۲-۵-۴- پروبیوتیک‌ها

پروبیوتیک‌های متفاوتی از نظر اثربخشی، برای جلوگیری از عفونت APEC در ماکیان مورد بررسی قرار گرفته است (احمد، ۲۰۱۹؛ ونگ و همکاران، ۲۰۱۷؛ دینگ و همکاران، ۲۰۱۹؛ ردویک، استرومبرگ، ونگور و ملاتا، ۲۰۲۰). کارایی *Lactobacillus plantarum* B1 در برابر عفونت *E. coli* (K88) با مصرف مکمل در خوراک جوجه‌های گوشتی (2×10^9 CFU/kg) ارزیابی شده است (ونگ و همکاران، ۲۰۱۷). جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با *Lactobacillus plantarum* B1 به صورت قابل توجهی کاهش تعداد *E. coli* در سکوم و افزایش عملکرد رشد، افزایش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت، افزایش غلظت sIgA مخاط ایلیوم و افزایش تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید سکوم را نشان داد. همچنین، مکمل *Enterococcus faecalis*-1 به طور قابل توجهی منجر به بهبود عملکرد رشد و پاسخ ایمنی، کاهش مرگ و میر و کاهش تهاجم اندام‌های احشایی توسط APEC O78، شده است (تارابیس، السید، شهاتا و دیاب، ۲۰۲۰). با استفاده از مخلوط پروبیوتیک‌ها در جوجه‌ها، کاهش علائم ایرساکولیت، پری‌هپاتیت و پریکاردیت حاصل شده و بار APEC کمتری در خون نشان دادند (ردویک و همکاران، ۲۰۲۰). این مطالعات همچنین نشان داد که پروبیوتیک‌های مختلف متعلق به جنس *Lactobacillus*، *Bacillus*، *Clostridium* و *Pediococcus* در پیشگیری از عفونت‌های APEC و همچنین بهبود عملکرد رشد، حفظ فلور روده سالم و تقویت ایمنی مخاطی روده موثر است. حتی اگر این پروبیوتیک‌ها به طور مخصوص برای APEC استفاده نشده باشند، می‌توانند بروز عفونت‌های APEC را در مرغداری‌ها به دلیل اثر گسترده آن‌ها در برابر پاتوژن‌های روده‌ای کاهش بدهند (ردویک و همکاران، ۲۰۲۰).

۲-۵-۵- محرک‌های ایمنی ذاتی

عملکرد محرک‌های ایمنی ذاتی، به عنوان الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن (PAMPs)^۱ و اتصال به گیرنده‌های تشخیص الگو (PRR)^۲ باعث فعال شدن پاسخ‌های ایمنی ذاتی می‌شود. در نتیجه از ایجاد عفونت در میزبان جلوگیری می‌کند (گونواردن و همکاران، ۲۰۲۰).

۲-۵-۶- مهارکننده‌های رشد و حدت APEC

برخلاف آنتی‌بیوتیک‌هایی که رشد باکتری را مهار می‌کنند، مهارکننده‌های بیماری‌زا با مهار مکانیسم‌های حدت، مانند سیستم QS، باعث خلع یا تضعیف پاتوژن‌ها می‌شوند. بنابراین،

^۱ Pathogen associated molecular patterns

^۲ Pattern Recognition Receptors

مهارکننده‌های حدت می‌توانند بر محدودیت‌های آنتی‌بیوتیک‌های فعلی غلبه داشته باشند. همچنین باعث مقاومت میزبان و از بین بردن باکتری‌های معمولی و حساس کردن پاتوژن‌ها به دفاع طبیعی میزبان شود. بنابراین، آن‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های معمولی برتری دارند (توتسیکا، ۲۰۱۷). مهارکننده‌های رشد دارای داربست‌های جدید با اهداف ضدباکتری نوین‌تر، با احتمال کمتری برای ایجاد مقاومت، می‌توانند عوامل ضدباکتری جدیدی را نوید بخش باشند (بلت، ۲۰۱۹).

۲-۵-۷- پپتیدهای ضد میکروبی

پپتیدهای ضد میکروبی که به عنوان دسته جدیدی از عوامل درمانی هستند، پپتیدهای کوتاه و به طور کلی دارای بار مثبت می‌باشند. پپتیدهای ضد میکروبی دارای عملکرد ضد میکروبی سریع و انتخابی می‌باشند، حتی در برابر باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، با تمایل کم به ایجاد مقاومت، آنها را کاندیدی ایده‌آل برای توسعه ترکیبات ضدباکتری نشان می‌دهد (ماهلاپو، هاکنسون، رینستند و بوجورن، ۲۰۱۶).

۲-۶- تست‌های تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی

۲-۶-۱- Macrobroth or Tube-dilution method (Macrodilution)

از قدیمی‌ترین روش‌های تست‌های حساسیت ماده ضد میکروبی می‌باشند (اریکسون و شرین، ۱۹۷۱). این روش، شامل تهیه رقت‌های دو برابری آنتی‌بیوتیک‌ها (مانند، $1, 2, 4, 8$ و 16) در لوله‌های دارای محیط کشت مایع^۱ می‌باشد (جرگسون، ۱۹۹۹). لوله‌های حاوی آنتی‌بیوتیک با سوسپانسیون باکتری استاندارد شده $10^5 \times 1-5$ CFU/ml مخلوط می‌شود و پس از انکوباسیون شبانه در 35°C ، کدورت لوله‌ها برای رشد باکتری‌ها بررسی می‌شوند. کمترین غلظت آنتی‌بیوتیک که از رشد جلوگیری کرده باشد را به عنوان MIC^۲ (حداقل مقدار بازدارنده) آنتی‌بیوتیک بیان می‌شود. دقت این روش، به اندازه یک غلظت دو برابری بالاتر یا پایین‌تر بیان می‌شود، به این دلیل که عمده تهیه رقت‌های سریالی آنتی‌بیوتیک، به تمرین دستی فرد وابسته است (بالوز، ۱۹۷۴). مزیت این تکنیک، تولید یک نتیجه کمی (MIC) است. از معایب اصلی این روش، کار زیاد و دستی تهیه محلول‌های آنتی‌بیوتیک برای هر آزمایش، احتمال خطا در آماده سازی محلول‌های آنتی‌بیوتیک، و مقدار نسبتاً زیاد معرف‌ها و فضای مورد نیاز برای هر آزمایش می‌باشد.

¹ Broth dilution

² Minimum inhibitory concentrations

۲-۶-۲- Microdilution

کوچک سازی و مکانیزه کردن آزمون، با استفاده از سینی‌های پلاستیکی کوچک و یکبار مصرف، آزمایش رقت سازی برات را کاربردی و محبوب می‌کند که به آن اصطلاحاً روش Microdilution می‌گویند. سینی‌های استاندارد شامل ۹۶ چاهک می‌باشند که هر کدام دارای حجم ۰/۱ میلی‌لیتر است که امکان آزمایش تقریباً ۱۲ آنتی‌بیوتیک در محدوده ۸ رقت دو برابری در یک سینی را فراهم می‌سازد (جرگنسن، ۱۹۹۹؛ رلر، ونستین، جرگنسن و فرارو، ۲۰۰۹). پنل‌های Microdilution معمولاً با استفاده از ابزارهای توزیعی که حجم دقیق آنتی‌بیوتیک‌های از پیش وزن شده و رقیق شده در محیط برات را به داخل چاهک‌های جداگانه سینی‌ها از ظروف با حجم زیاد تقسیم می‌کنند، تهیه می‌شوند. صدها سینی یکسان را می‌توان از یک مجموعه اصلی رقت در مدت زمانی کوتاه آماده کرد. تلقیح پنل‌ها با استاندارد CFU/ml $10^5 \times 5$ ، با استفاده از یک دستگاه یک‌بار صورت می‌گیرد که ۰/۱ تا ۰/۰۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی استاندارد را به هر چاه سینی Microdilution انتقال می‌دهد یا با استفاده از یک توزیع کننده مکانیزه اجرا می‌شود. بعد از انکوباسیون، حداقل مقدار بازدارنده با استفاده از یک دستگاه مشاهده دستی و یا خودکار جهت بازرسی هر کدام از چاهک‌های پنل برای تشخیص رشد باکتری تعیین شده است (جرگنسن، ۱۹۹۹). از مزایای روش Microdilution می‌توان تعیین حداقل مقدار بازدارنده، تکرارپذیری و راحتی داشتن پنل‌های آماده و صرفه‌جویی در معرف‌ها را نام برد. عیب اصلی این روش، عدم انعطاف پذیری انتخاب داروی موجود در پنل‌های تجاری استاندارد می‌باشد.

۲-۶-۳- Antimicrobial gradient method

روش انتشار گرادیان ضد میکروبی، از اصل ایجاد شیب غلظت ماده ضد میکروبی در محیط آگار به عنوان تعیین حساسیت میکروبی بهره می‌برد. در این روش از نوارهای نازک پلاستیکی استفاده می‌شود که از سمت زیرین آن با شیب غلظت آنتی‌بیوتیکی خشک شده آغشته شده و در سطح بالایی مقیاس غلظت را درجه‌بندی می‌کند. ممکن است ۵ یا ۶ نوار به صورت شعاعی بر روی سطح یک صفحه آگار ۱۵۰ میلی‌متری تلقیح شده با یک سوسپانسیون ارگانیسم استاندارد، مانند آنچه برای آزمایش انتشار دیسک استفاده می‌شود، قرار بگیرد. پس از انکوباسیون شبانه، آزمایش‌ها را از بالای صفحه می‌خوانند. حداقل مقدار بازدارنده از برخورد قسمت پایین ناحیه مهار رشد بیضی شکل با نوار تست تعیین می‌گردد. این روش، به دلیل توانایی در آزمایش داروهایی که آزمایشگاه مورد انتخاب قرار می‌دهد، دارای انعطاف‌پذیری خوبی می‌باشند. این روش، بهترین روش برای موقعیت‌هایی می‌باشد که در آن یک MIC برای

تنها ۱ یا ۲ دارو نیاز دارد و یا زمانی که یک ارگانیسیم سخت‌رشد که نیازمند محیط غنی یا خاص انکوباسیون است مورد آزمایش قرار گرفته است (مانند پنی‌سیلین و سفتریاکسون با پنوموکوک). به صورت کلی، نتایج روش انتشار شیب ضد میکروبی، به خوبی با MICهای روش رقت سازی چه در محیط برات و چه در محیط آگار همخوانی دارد. با این حال، هنگام آزمایش یک ترکیب ارگانیسیم-ماده ضد میکروبی معین با این روش، تمایل یک طرفه نسبت به MIC بالاتر یا پایین‌تر وجود خواهد داشت. این می‌تواند یک کمبود بالقوه را نشان بدهد، زمانی که معیارهای تفسیر MIC استاندارد حاصل از آزمایش رقیق سازی برات را در MICهای این آزمون اعمال بشود، ممکن است یکسان نباشند (پراکش، لوپس و جرگنسن، ۲۰۰۸).

۲-۶-۴ Disk diffusion test

روش حساسیت انتشار دیسک، ساده و کاربردی می‌باشد و به خوبی استاندارد سازی شده (جرگنسن، ۱۹۹۹؛ فرارو، ۲۰۰۰؛ بائر، شرین و تراک، ۱۹۶۶). این آزمایش با اعمال تلقیح تقریباً $10^8 \times 1-2$ CFU/ml باکتری بر روی سطح یک پلیت مولر-هینتون آگار بزرگ (۱۵۰ میلی‌متر قطر) انجام می‌گیرد. حداکثر ۱۲ دیسک آنتی‌بیوتیک کاغذی با غلظت ثابت، بر روی سطح آگار تلقیح شده قرار می‌گیرند. پلیت‌ها به مدت زمان ۱۶-۲۴ ساعت در دمای 35°C انکوبه می‌شوند. مناطق بازدارنده رشد در اطراف هر کدام از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با واحد میلی‌متر اندازه‌گیری می‌شود. قطر منطقه با حساسیت سویه ایزوله و سرعت انتشار دارو در محیط آگار ارتباط دارد. قطر ناحیه هر کدام از داروها با استفاده از معیارهای منتشر شده توسط موسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI¹) تفسیر می‌شوند (وین، ۲۰۰۸). نتایج آزمون انتشار دیسک کیفی می‌باشند، به این دلیل که به جای یک MIC از آزمایش، یک دسته از حساسیت (حساس، نیمه‌حساس و مقاوم) مشتق شده است. از مزایای روش دیسک می‌توان به سادگی تست بدون نیاز به تجهیزات خاص، ارائه نتایج طبقه‌بندی شده که به راحتی توسط تمام کیلینیسین‌ها قابل تفسیر می‌باشد و انعطاف‌پذیری در انتخاب دیسک برای آزمایش، اشاره نمود. این روش، کم هزینه‌ترین روش در بین تمام روش‌های حساسیت می‌باشد. از معایب تست انتشار دیسک، می‌توان عدم مکانیزه کردن و تنظیم خودکار آزمایش را نام برد. همچنین همه باکتری‌های سخت رشد را نمی‌توان با این روش به طور دقیق مورد آزمایش قرار داد (فرارو، ۲۰۰۰).

¹ Clinical and Laboratory Standards Institute

۲-۷- فاکتورهای مورد ارزیابی در سرم

فاکتورهای مورد مطالعه در این پژوهش شامل فاکتورهای کبدی، کلیوی، پروتئین‌های خون از جمله پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین می‌باشد.

۲-۷-۱- فاکتورهای کبدی

۲-۷-۱-۱- آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)^۱

آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) یک آنزیم ترانس آمیناز است که تبدیل آسپاراتات و آلفا کتوگوتارات به اگزالواستات و گلوتامات را کاتالیز می‌کند. آنزیم AST قبلاً به عنوان سرم گلوتامات اگزالات ترانس آمیناز (SGOT) شناخته می‌شد و در همه‌ی بافت‌ها به جز استخوان وجود دارد و بالاترین سطح آن در کبد و ماهیچه‌های اسکلتی پرندگان است. غلظت AST پس از کبودی، ضربه، نکروز، عفونت یا نئوپلازی کبد یا ماهیچه افزایش می‌یابد. آنزیم AST متناسب با میزان آسیب سلولی در مایع مغزی نخاعی، ترشحات و ترانسودات یافت می‌شود. غلظت‌های پایین AST نیز در ادرار یافت می‌شود اما برای تشخیص آسیب کلیوی مفید نیست (ایوانز، ۲۰۰۹). AST با استفاده از روش اکسیداسیون NADH اندازه‌گیری می‌شود. پراکنش آنزیم در بافت‌های مختلف یکسان نیست. علت مهم و عمده افزایش این آنزیم در پرندگان بیماری‌های کبدی هستند که به دلیل فعالیت بالای این آنزیم در کبد پرندگان می‌باشد. معمولاً افزایش این آنزیم در طیور به فعالیت بالای ۲۷۵ واحد بین المللی در لیتر اطلاق می‌شود. در طیور این آنزیم ویژه کبد نیست اما با این حال افزایش فعالیت آن در آسیب‌های مربوط به کبد در ماکیان، بوقلمون، طوطی و اردک گزارش شده است. از مهمترین علل افزایش این آنزیم در پرندگان قفسی، بیماری کبدی عنوان شده است (ایوانز، ۲۰۰۹). افزایش فعالیت غیرطبیعی این آنزیم در کمبود سلنیوم و یا متیونین و آسیب کبدی به ویژه تب طوطی^۲ یا ویروس پاچکو^۳ دیده می‌شود، بنابراین توصیه می‌شود برای بررسی میزان آسیب کبدی در طیور میزان فعالیت این آنزیم مورد اندازه‌گیری قرار گیرد (دین، ۱۹۸۶). منبع اولیه آنزیم، کبد، کلیه و ماهیچه‌ها هستند. اگر هر سه فاکتور AST، CK و LDH اندازه‌گیری شود، شاخص مناسبی برای آسیب عضلانی می‌باشد. آسیب سلول‌های کبدی می‌تواند در اثر مواردی از قبیل استفاده از سفالوسپورین‌ها، مترونیدازول، دگزامتازون، بیماری‌های اندوکراینایی مانند پرکاری تیروئید، عفونت‌ها و التهاب‌ها نظیر عفونت‌های باکتریایی و یا آسیب‌های ویروسی همانند هرپس

^۱ Aspartate aminotransferase

^۲ Parrot fever

^۳ Pacheco virus

ویروس‌ها باشد. نیمه عمر AST طولانی‌تر از CK می‌باشد. بنابراین بعد از یک آسیب عضلانی CK می‌تواند به میزان عادی بازگردد در حالی که میزان AST همچنان بالاست. در یک آسیب عضلانی یا کبدی، AST آخرین آنزیمی است که افزایش می‌یابد (۷۲ ساعت پس از آسیب دیدگی میزان آنزیم AST بالا می‌رود) و همچنین آخرین آنزیمی است که به میزان نرمال بازمی‌گردد (ابراهیم و همکاران، ۲۰۲۲)

۲-۷-۱-۲- کراتین کیناز (CK)

کراتین کیناز (CK) یا کراتین فسفوکیناز (CPK)، آنزیمی است که فسفوریلاسیون کراتین را کاتالیز می‌کند. کراتین کیناز یک دایمر است که به عنوان ایزوآنزیم با بیشترین فعالیت در ماهیچه (CK-MM)، قلب (CK-MB) و مغز (CK-BB) وجود دارد (ترال و همکاران، ۲۰۲۲). شکل دیگری از آنزیم CK در میتوکندری (CK-Mt) وجود دارد. توزیع ایزوآنزیم‌های CK بین بافت‌ها و گونه‌ها متفاوت است. کراتین کیناز در سرم، پلاسما و ادرار یافت می‌شود و در اثر نکرور یا بیماری عضلانی افزایش می‌یابد. کراتین کیناز یک آنزیم درون سلولی است که در بیشترین مقدار در عضلات اسکلتی، میوکاردا و مغز وجود دارد. مقادیر کمتری در سایر بافت‌های احشایی رخ می‌دهد. در طول انقباض عضلانی، ATP برای تشکیل آدنوزین دی فسفات (ADP) مصرف می‌شود و این ADP دوباره توسط آنزیم CK با استفاده از فسفوکراتین به عنوان اهدا کننده فسفات به ATP فسفریله می‌شود فسفوکراتین ترکیب اصلی فسفریله موجود در عضلات است که هشت برابر بیشتر از ATP است (ترال و همکاران، ۲۰۲۲). فعالیت آنزیم توسط ADP اضافی، اورات، سیستئین و یون‌های فلزی مانند Mn^{2+} ، Ca^{2+} ، Zn^{2+} و Cu^{2+} مهار می‌شود. Mg^{2+} برای فعالیت CK مورد نیاز است اما بیش از حد آن فعالیت CK را مهار می‌کند. CK تبدیل کراتین را کاتالیز می‌کند و ATP را برای ایجاد فسفوکراتین (PCr) و ADP مصرف می‌کند. این واکنش آنزیم CK برگشت‌پذیر است و بنابراین می‌توان گفت ATP می‌تواند از PCr و نیز ADP هم تولید شود. افزایش AST پلاسما بدون افزایش CK نشان دلالیت بر بیماری کبدی در پرنده دارد. AST نیمه عمر طولانی‌تری نسبت به CK دارد که بعد از آسیب کبدی تا مدت طولانی‌تری می‌زانش بالا می‌ماند. آنزیم CK در رابطه با آسیب عضلانی مانند تزریق داخل ماهیچه‌ای و یا کاتابولیسم بدن مانند کاهش وزن مرتبط با بیماری‌ها تغییر می‌یابد. نیمه عمر این آنزیم حداکثر ۱۶ ساعت می‌باشد (ترال و همکاران، ۲۰۲۲).

۲-۷-۱-۳- لاکتات دهیدروژناز (LDH)

لاکتات دهیدروژناز (LDH) آنزیمی است که به طور گسترده در سلول‌های سیستم‌های زنده مختلف توزیع می‌شود که در آن در متابولیسم کربوهیدرات نقش دارد و تبدیل لاکتات و پیرووات با سیستم کوآنزیمی $NAD^+/NADH$ را کاتالیز می‌کند. سلول‌های بافت منبع مستقیم ایزوآنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز هستند که به طور طبیعی در پلاسما و سرم خون حیوانات و انسان‌ها توزیع می‌شوند و مشخصات واضحی تولید می‌کنند. این مشخصات به غلظت ایزوآنزیم درون سلولی در تمام بافت‌ها بستگی دارد که در نتیجه تخریب طبیعی سلول‌ها به مخزن مشترک لاکتات دهیدروژنازها در پلاسما و سرم کمک می‌کنند (کلین و همکاران، ۲۰۲۰). لاکتات دهیدروژناز به طور گسترده در بدن توزیع می‌شود، فعالیت‌های زیادی در قلب، کبد، ماهیچه‌های اسکلتی، کلیه و گلبول‌های قرمز دارد، در حالی که به مقادیر کمتری در ریه، ماهیچه صاف و مغز فعالیت دارد. به دلیل فعالیت‌های گسترده آن در بسیاری از بافت‌های بدن، LDH در انواع اختلالات افزایش می‌یابد. شرایط زیادی وجود دارد که به افزایش فعالیت LDH کمک می‌کند. افزایش مقدار کل LDH یک یافته غیراختصاصی است. بنابراین، سنجش‌های LDH هنگامی که به فراکسیون‌های ایزوآنزیمی جدا می‌شوند، اهمیت بالینی بیشتری به خود می‌گیرند (کلین و همکاران، ۲۰۲۰). فعالیت LDH و الگوهای سرم و بافت و ترکیب آن، تغییرات زیادی را بین گونه‌ها نشان می‌دهد. این تفاوت‌ها اجازه استفاده از فعالیت‌های کاتالیزوری ایزوآنزیم‌های LDH را از گونه‌ای به گونه دیگر نمی‌دهد. در عوض، الگوی ایزوآنزیم‌های LDH سرم باید با توجه به منشاء گونه‌ای آن که به ویژه در دامپزشکی مهم است، تفسیر شود. تعیین فعالیت کل LDH و الگوی ایزوآنزیمی آن در سرم پستانداران به یکی از شاخص‌های بیوشیمیایی در ارزیابی اختلالات اندام تبدیل شده است. هنگامی که محتوای سلول‌ها از بافت به پلاسما آزاد می‌شود، مانند آسیب سلولی، الگوی ایزوآنزیم LDH سرم به نفع نمایه اندام آسیب دیده (بافت) تغییر می‌کند که می‌تواند در عمل تشخیصی استفاده شود (کلین و همکاران، ۲۰۲۰). ایزوآنزیم‌های آن می‌تواند در تشخیص منبع موثر در افزایش مقدار این فاکتور کمک کننده باشد. به علت فعالیت بالای لاکتات دهیدروژناز در گلبول‌های قرمز پرندگان، همولیز می‌تواند باعث افزایش میزان این فاکتور شود. این آنزیم در پرندگان شاخص مناسب‌تری نسبت به ALT به منظور تشخیص آسیب کبدی می‌باشد (کلین و همکاران، ۲۰۲۰).

۲-۷-۲- فاکتورهای کلیوی

فاکتورهای کلیوی که در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفتند شامل آمیلاز (Amylase)، سدیم (Sodium)، اوریک اسید (Uric acid)، پتاسیم (Potassium) و فسفر (Phosphorus) می‌باشد.

۲-۷-۲-۱- آمیلاز (Amylase)

آمیلازها آنزیم‌های پروتئینی هستند و به سه زیرگروه آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز، و گاما آمیلاز تقسیم‌بندی می‌شوند. آمیلاز آلفا^۱ (آلفا آمیلاز^۲)، آنزیمی است که پیوندهای آلفا را در پلی ساکاریدهایی مانند نشاسته و گلیکوژن هیدرولیز نموده و به گلوکز یا مالتوز تبدیل می‌کند. آلفا آمیلاز شکل اصلی آمیلاز در انسان و سایر پستانداران است. این آنزیم همچنین در جوانه‌های حاوی نشاسته نیز وجود دارد و توسط بسیاری از قارچ‌ها ترشح می‌شود. این آنزیم یک متالوآنزیم حاوی کلسیم است که در غیاب کلسیم به طور کامل می‌تواند فعالیت کند. اگر چه آمیلاز در بیشتر بافت‌ها وجود دارد اما این آنزیم عمدتاً در عصاره پانکراس و بزاق یافت می‌شود و هر یک از این بافت‌ها آلفا آمیلاز خاص خود را دارند و می‌توانند با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ویژه‌ی خود از یکدیگر تشخیص داده شوند. آمیلاز موجود در بزاق، مولکول‌های بزرگ و نامحلول نشاسته را به مولکول‌های کوچک‌تر و قابل حل و در نهایت به مالتوز و دکسترین تجزیه می‌کند. این شکل از آمیلاز، پتیالین نیز نامیده می‌شود. شرایط بهینه برای فعالیت پتیالین دمای بدن انسان و pH معادل ۷ است. آلفا آمیلاز موجود در پانکراس، پیوندهای گلیکوزیدی (1-4) α در آمیلوز را به دکسترین، مالتوز و مالتوتریوز می‌شکند. سطح خونی این آنزیم در آسیب سلول‌های پانکراس در بیماری پانکراتیت و سایر بیماری‌های پانکراس مانند انسداد مجاری پانکراس و نیز در تومورهای مربوط به غدد بزاقی افزایش می‌یابد. در پانکراتیت حاد پرندگان، مقدار آمیلاز سرم در مدت ۱۲-۲ ساعت افزایش یافته در مدت ۷۲-۱۲ ساعت به اوج می‌رسد و در عرض ۳-۴ روز به علت پاکسازی آن توسط کلیه‌ها به وضعیت طبیعی می‌گردد. در واقع سطح آمیلاز سرم ۱-۲ روز پس از بهبود مرحله‌ی حاد بیماری، به حد طبیعی باز می‌گردد. اندازه‌گیری آمیلاز در سرم و ادرار آزمون‌های حساسی هستند اما جهت تشخیص اختلالات پانکراس ویژه نیستند زیرا سایر بیماری‌های غیر پانکراسی هم می‌توانند سطح آمیلاز را در سرم و ادرار پرندگان افزایش دهند. برای مثال در انفارکتوس کلیه، انسداد روده، ایسکمی مزانتر و اختلالات وخیم روده‌ای هم مقدار آمیلاز افزایش می‌یابد پس باید علاوه بر آزمون‌های

¹ Alpha amylase

² α-amylase

فوق به علایم بیماری هم توجه ویژه شود (موسکا و همکاران، ۲۰۰۸). تغییرات متوسط تا شدید آنزیم به طور واضحی وابسته به بیماری‌های گوارشی (مانند التهاب روده یا مسمومیت با روی) و یا بیماری‌های کلیوی وابسته به کاهش فیلتراسیون کلیه است. مواقعی که ۴ بار میزان حداکثری آنزیم آمیلاز ثبت می‌شود، در بیماری‌های وابسته به پانکراس دیده شده است (لینگ و همکاران، ۲۰۱۶).

۲-۲-۷-۲- اوریک اسید (Uric Acid)

اوریک اسید محصول متابولیسم پورین است. در انسان و پستانداران درجه بالاتر، تمایل به حفظ سطوح بالای اوریک اسید سرم به دلیل از دست دادن اوریکاز وجود دارد که اوریک اسید را به آلانتوئین محلول در آب تبدیل می‌کند. افزایش غلظت اوریک اسید در سرم یا افزایش غلظت اوریک اسید ادرار (هیپراوریکوزوری^۱) می‌تواند منجر به نقرس و نفرولیتیاژیس اوریک اسید^۲ شود و خطر ابتلا به فشار خون، بیماری مزمن کلیوی و بیماری‌های قلبی عروقی را افزایش دهد. در پرندگان و خزندگان، اوریک اسید هدف اصلی است. این پروتئین توسط کبد تولید می‌شود و توسط لوله‌های کلیه دفع می‌شود. اختلال در دفع نشانه‌ای از بیماری کلیوی است. با این حال، سطوح طبیعی اوریک اسید را می‌توان در حالت‌های اولیه بیماری مشاهده کرد. تقریباً ۹۰ درصد اوریک اسید توسط لوله‌های پروگزیمال در گونه‌های پرندگان ترشح می‌شود. اوریک اسید دفع شده از کلواک عبور می‌کند و دوباره به سمت راست روده و سکوم بازگردانده می‌شود و در آنجا توسط باکتری‌ها تجزیه شده و دوباره جذب می‌شود. برای مشاهده افزایش اوریک اسید، حداقل ۶۰ درصد از عملکرد کلیه باید از بین برود. تعریف هیپراوریسمی^۳ به شرح زیر است: "غلظت اسید اوریک پلاسما بالاتر از حد محاسبه شده حلالیت اورات سدیم در پلاسما." برای اکثر پرندگان و خزندگان، این حد حلالیت معمولاً حدود ۱۱ میلی گرم در دسی لیتر (۶۰۰ میکرومول در لیتر) تخمین زده می‌شود (هاف و همکاران، ۲۰۰۸). ماده دفعی اصلی نیتروژن در پرندگان به صورت اوریک اسید است. تزریق آمونیاک یا گلوتامین باعث افزایش غلظت اوریک اسید در گردش خون پرندگان می‌شود. آنزیم‌های چرخه اسید اوریک در کبد و کلیه پرندگان یافت می‌شود، به عنوان مثال، فعالیت فسفریبوزیل پیروفسفات آمیدوترانسفراز و گزانتین دهیدروژناز در کبد و کلیه پرندگان وجود دارد. گلوتامین برای تشکیل اسید اوریک بسیار مهم است. جای تعجب نیست که گلوتامیناز (کاتالیزگر گلوتامین به گلوتامات) در کبد پرندگان یا

¹ Hyperuricosuria

² Uric acid nephrolithiasis

³ Hyperuricemia

وجود ندارد یا در سطوح بسیار پایین است. اندام اصلی در تشکیل اسید اوریک، کبد است. سلول‌های کبدی مرغ در شرایط آزمایشگاهی نیز سنتز اوریک اسید را نشان اند. کلیه نیز حدود ۱۷ درصد از اوریک اسید موجود در ادرار پرندگان را سنتز می‌کند. اسید اوریک از اسیدهای آمینه گلوتامین، گلیسین و آسپاراتات تشکیل شده است (ترال و همکاران، ۲۰۲۲). به دلیل حلالیت آبی کم اوریک اسید و نمک‌های اوریک اسید، پتانسیل رسوب آن‌ها از محلول وجود دارد. به دلیل جذب آب و ترشح اورات، غلظت نمک‌ها در لوله پروگزیمال از حد حلالیت آنها فراتر می‌رود. از تشکیل کریستال با اتصال آنیون اورات به آلومین سرم در لومن توبول جلوگیری می‌شود. مقدار کمی آلومین از سد فیلتراسیون گلومرولی عبور می‌کند، زیرا که این سد در پرندگان اجازه عبور برخی از ماکرومولکول‌ها مانند آلومین را می‌دهد (ترال و همکاران، ۲۰۲۲). ادرار پرندگان ۱۰۰ برابر بیشتر از ادرار پستانداران حاوی پروتئین است (۵ میلی گرم در میلی لیتر در مقابل ۰/۰۵ میلی گرم در میلی لیتر) (جینز و براون، ۱۹۹۷). در اوایل توبول پروگزیمال، ساختارهای کوچک و کروی شکل شروع به شکل‌گیری می‌کنند. ادرار نهایی حالب حاوی آرایه‌ای (قطر ۱-۱۴ میکرومولار) از این ساختارهای کروی است. تجزیه و تحلیل شیمیایی این کره‌ها نشان می‌دهد که آنها از حدود ۶۵٪ اورات تشکیل شده‌اند. هنگامی که کره‌ها برش داده می‌شوند و با میکروسکوپ الکترونی مشاهده می‌شوند، هیچ کریستالی از اوریک اسید مشاهده نمی‌شود. این نشان دهنده اتصال شیمیایی اورات به آلومین سرم است که اورات را از محلول خارج کرده و از تشکیل کریستال جلوگیری می‌کند. علاوه بر این، از آنجایی که اورات در محلول نیست، مانند اوره در ادرار پستانداران، به اسمولالیت ادرار نهایی کمک نمی‌کند. این امر این نکته را برجسته می‌کند که پرندگان و پستانداران را نمی‌توان به طور مستقیم با نسبت اسمولی ادرار به پلاسما مقایسه کرد زیرا محصولات نهایی مربوط به متابولیسم نیتروژن به طور نامساوی در اسمولالیت کل ادرار نقش دارند (جینز و براون، ۱۹۹۷). افزایش اوریک اسید سنتز شده در کبد پرندگان، مرتبط با اختلال در عملکرد کلیه، نقرس، افزایش سطح ویتامین‌آ، کم‌آبی است. در پرندگان شکاری افزایش فیزیولوژیک این فاکتور ۱۲ ساعت بعد از تغذیه رخ می‌دهد. توبول‌های کلیه قسمت زیادی از اوریک اسید را حذف می‌کنند. اگر نیمی از کلیه آسیب ببیند، روی میزان اوریک اسید اثر خواهد داشت. سنجش اوریک اسید تست حساسی برای بیماری‌های کلیوی نیست. کاهش سطح اوریک اسید می‌تواند در نتیجه نارسایی کبد یا گرسنگی باشد. افزایش این فاکتور می‌تواند بعد از یک وعده غذایی با میزان پروتئین بالا، گرسنگی طولانی مدت و یا نکرورز بافتی رخ بدهد (جنز، ۲۰۱۵)

۲-۷-۲-۳- سدیم (Sodium)

سدیم اولین الکترولیت فعال اسمزی در پلاسما و ادرار پرندگان می‌باشد. سدیم در روده جذب شده و سپس به کلیه وارد می‌شود و پس از پالایش گلومرولی دفع می‌شود. پرندگان به سدیم نیاز دارند پس به داخل پلاسما جذب شده و یا توسط لوله‌های کلیه دفع می‌شود. پرندگان می‌توانند از طریق غدد نمکی میزان قابل توجهی سدیم دفع کنند. در اکثر پرندگان دریایی غده‌های نمکی در بالای حفره‌ی چشم قرار گرفته است. مجراهای این غدد ترشحات خود را به درون حفره بینی می‌فرستند. ترشحات سدیمی بینی فقط در پرندگان دریایی نیست. در پرندگانی مانند کبک صحرائی و شترمرغ نیز در پاسخ به افزایش حرارت دیده می‌شود. غلظت سدیم در بیشتر پرندگان بین ۴۵۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌مول در لیتر می‌باشد. بیماری کلیوی می‌تواند منجر به تغییر میزان سدیم شود. هیپرناتری در اثر افزایش نمک و کاهش ناگهانی آب رخ می‌دهد (ترال و همکاران، ۲۰۲۲).

۲-۷-۲-۴- پتاسیم (Potassium)

پتاسیم کاتیون اصلی داخل سلولی می‌باشد. مواردی مانند همولیز و عدم جداکردن به موقع سرم از لخته سبب افزایش کاذب میزان پتاسیم می‌شود. معمولاً افزایش پتاسیم خون در پرندگان به زمانی گفته می‌شود که غلظت این فاکتور در خون به میزان بیش از ۴ میلی‌مول در لیتر برسد که در نتیجه نارسایی کبد، کاهش ترشح پتاسیم، اسیدوز و نکرور بافتی شدید رخ می‌دهد. کاهش پتاسیم می‌تواند ناشی از بی‌اشتهایی، کاهش اکسیژن طولانی مدت، اسهال و آلكالوز باشد. عدم تعادل پتاسیم ممکن است سبب ضعف ماهیچه‌ها و یا اختلال قلبی شود (ترال و همکاران، ۲۰۲۲).

۲-۷-۲-۵- فسفر (Phosphorus)

فسفر پلاسما از طریق دفع کلیوی و تحریک پاراتورمون تنظیم می‌شود. پرندگانی که جوان و در حال رشد هستند در مقایسه با بالغین فسفر بیشتری دارد. هیپوفسفاتی در پرندگان به فسفر کمتر از ۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر گفته می‌شود. این وضعیت در کمبود ویتامین D_3 ، هیپوکسمی، سوء جذب، گرسنگی و درمان طولانی مدت با کورتیکواستروئیدها اتفاق می‌افتد. سبب اختلالاتی که در پستانداران سبب هیپوفسفاتی می‌شوند، در پرندگان مشاهده نشده است. هیپرفسفاتی در پرندگان یعنی فسفر بیشتر از ۷ میلی‌گرم در لیتر. در هیپرپاراتیروئیدیسم، بیماری‌های کلیوی به دلیل کاهش فیلتراسیون گلومرولی و افزایش ویتامین D_3 به دلیل افزایش بازجذب فسفر از روده، نیز هیپرفسفاتی داریم (ترال و همکاران،

۲-۷-۳- پروتئین‌های سرم

پروتئین‌های خون شامل صدها پروتئین با طیف وسیعی از فعالیت‌ها و ساختارهای متفاوت می‌باشند. این پروتئین‌ها بر اساس الکتروفورز به پرآلبومین، آلبومین، آلفاگلوبولین و بتاگلوبولین تقسیم می‌شوند (فلدمان و همکاران، ۲۰۰۰). اعمال فیزیولوژیک پروتئین‌های خون عبارت‌اند از:

۱- منبع اسیدهای آمینه در بافت‌های بدن

۲- حفظ فشار اسمزی کلوییدی

۳- ایجاد یک محیط بازی جهت تنظیم اسید و باز بدن

۴- انتقال مجموعه وسیعی از مولکول‌ها و یون‌ها

۵- تنظیم پاسخ‌های التهابی

۶- حفظ خاصیت هموستازی بدن

سنتز بیشتر پروتئین‌های خون از جمله آلبومین، آلفا، بتا و گاما گلوبولین در کبد صورت می‌گیرد. ارگان‌های لنفاوی از محل‌های اصلی تولید گاماگلوبولین به شمار می‌رود. غلظت این پروتئین‌ها نشانگر تعادل میان غلظت پروتئین‌های داخل و خارج عروق می‌باشد. این مقادیر نشان دهنده میزان پروتئین ذخیره بدن نمی‌باشد. نیمه عمر این پروتئین‌ها به گونه حیوان ارتباط دارد (فلدمان و همکاران، ۲۰۰۰).

۲-۷-۳-۱- پروتئین تام سرم (Total Protein)

غلظت طبیعی پروتئین پلاسما در پرندگان کمتر از پستانداران است و معمولاً بین ۲ تا ۴۵ گرم در لیتر متغیر است. آلبومین که ۴۰ تا ۵۰ درصد از کل پروتئین پلاسما را در پرندگان تشکیل می‌دهد، در کبد تولید می‌شود. سایر پروتئین‌های پلاسما نیز در کبد تولید می‌شوند شامل پروتئین‌های حمل و نقل، پروتئین‌های انعقادی، فیبرینوژن، آنزیم‌ها و هورمون‌ها هستند. ایمونوگلوبولین‌های تولید شده توسط لنفوسیت‌های B و سلول‌های پلاسما نشان دهنده یک جزء مهم از غلظت کل پروتئین پلاسما هستند. غلظت طبیعی پروتئین پلاسما برای حفظ فشار اسمزی کلوییدی طبیعی ضروری است که حجم و pH طبیعی خون را حفظ می‌کند. مرغ‌ها درست قبل از تولید تخم، افزایش قابل توجهی در غلظت پروتئین کل پلاسما نشان می‌دهند. این هیپرپروتئینمی ناشی از استروژن با افزایش ویتلوژنین و لیپوپروتئین‌ها که برای تولید زرده ضروری هستند همراه است. این پروتئین‌ها در کبد تولید می‌شوند، در خون منتقل می‌شوند و

به تخمک‌های تخمدان وارد می‌شوند. روش بیورت روش انتخابی برای تعیین غلظت پروتئین کل پلاسما یا سرم در پرندگان است. این روش زمانی که غلظت کل پروتئین بین ۱ تا ۱۰ گرم در دسی‌لیتر (۱۰۰-۱۰ گرم در لیتر) باشد، نتایج دقیق و قابل تکراری را ارائه می‌دهد. از آنجایی که پروتئین‌های سرم در درجه اول مسئول تغییرات در ضریب شکست هستند، معمولاً از یک انکسارسنج برای به دست آوردن غلظت کل پروتئین پلاسما یا سرم در پرندگان استفاده می‌شود. رفرکتومترهای جبران‌شده با دما، و همچنین آن‌هایی که دما جبران نمی‌شوند، تمایل دارند غلظت کل پروتئین را بیش از حد تخمین بزنند. غلظت بالای گلوکز و کروموژن‌ها در پلاسمای پرندگان و همچنین لیپمی و همولیز بر دقت روش رفرکتومتری تأثیر می‌گذارد که اغلب برای تخمین سریع غلظت پروتئین پلاسما استفاده می‌شود. روش بیورت، با این حال، دقیق‌تر است (ترال و همکاران، ۲۰۲۲). کاهش سطح پروتئین تام می‌تواند مرتبط با سن در پرندگان جوان باشد. همچنین در سوء تغذیه و سوء جذب مواد غذایی، بیماری‌های کلیوی، بیماری‌های کبدی و خون‌ریزی‌های مزمن کاهش پروتئین تام رخ می‌دهد. افزایش میزان پروتئین تام ممکن است به علت دهیدراسیون، تحریک سیستم ایمنی و فرآیند تخمگذاری در پرندگان ماده باشد (جنز، ۲۰۱۵).

۲-۷-۳-۲- آلبومین (Albumin)

آلبومین پروتئین اصلی موجود در سرم است که حدود ۶۰ درصد از کل پروتئین را تشکیل می‌دهد و نقش آن در کشت سلولی توسط فرانسیس (۲۰۱۰) بررسی شده است. نقش اصلی آلبومین اتصال و انتقال لیپیدها، یون‌های فلزی، اسیدهای آمینه و سایر عوامل، کنترل pH و عملکرد آن به عنوان یک آنتی‌اکسیدان است. همچنین به نظر می‌رسد که آلبومین در کشت سلولی به عنوان محافظ در برابر تنش‌های فیزیکی هوادهی و تحریک نقشی ایفا می‌کند، اگرچه توضیح این اثر چندان واضح نیست. جایگزینی آلبومین در سرم را می‌توان با استفاده از آلبومین نوترکیب به دست آورد، اما همانطور که فرانسیس استدلال می‌کند، به سختی با اهداف یک محیط بدون پروتئین سازگار است. بنابراین، گنجاندن آلبومین نوترکیب در تخمیر سلولی پستانداران در مقیاس تولید به تجزیه و تحلیل مزایای اقتصادی گنجاندن آنها بستگی دارد و بنابراین، وابسته به فرآیند خواهد بود. آلبومین در کبد سنتز می‌شود. عملکردهای آلبومین شامل ایجاد یک اثر اسمزی کلونیدی و تسهیل انتقال مواد مغذی و هورمون‌های چربی دوست است. به عنوان مثال، آلبومین به لیپیدها، از جمله اسیدهای چرب، متصل، انتقال و توزیع می‌کند. در حضور آلبومین، جذب اسیدهای چرب اشیاع شده، مانند پالمیتات، توسط سلول‌های قلبی جنین جوجه افزایش می‌یابد. تغییراتی در غلظت پلاسمایی آلبومین با وضعیت فیزیولوژیکی وجود دارد. به عنوان مثال، القای پوست اندازی اولیه با کاهش دوره نوری و خروج

غذا برای ۴۸ ساعت منجر به کاهش غلظت آلبومین در پلاسما اما افزایش گلوبولین می‌شود. ریتم‌های روزانه غلظت آلبومین پلاسما مشخص است. علاوه بر این، غلظت پلاسمایی آلبومین در ماده‌های تخمگذار کاهش می‌یابد (ترال و همکاران، ۲۰۲۲).

۲-۷-۳- گلوبولین‌ها (Globulin)

واکنش‌های میزبان در مقابله با عفونت، التهاب یا آسیب‌های مکانیکی متنوع می‌باشد. این واکنش‌ها شامل تب، افزایش گلبول‌های سفید خون، تغییرات هورمونی، ترشح هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی و تعادل منفی ازت خون می‌باشد. در محلی که ضایعات مانند آسیب بافت یا هجوم میکروارگانیسم‌ها رخ می‌دهد، یکسری جواب توسط خود بافت داده می‌شود مثلاً سیتوکین‌های پیش التهابی آزاد شده و سیستم عروقی و سلول‌های التهابی شروع به فعالیت می‌کنند. تمامی این عوامل منجر به تولید سیتوکین‌های بیشتر و سایر واسطه‌های التهابی مانند عامل نکروز کننده تومور، اینترلوکین ۱ و اینترلوکین ۶ می‌شود. سیتوکین‌ها باعث فعال شدن تعدادی از گیرنده‌ها روی سلول‌های مختلف هدف شده و منجر به یک واکنش عمومی در بدن می‌شود که متعاقب آن فعال شدن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنالی و در نهایت کاهش ترشح هورمون رشد و یکسری تغییرات فیزیکی است که به صورت تب، بی‌اشتهایی، تعادل منفی نیتروژن و کاتابولیسم سلول‌های ماهیچه‌ای خود را نمایش می‌دهد (فلدمان و همکاران، ۲۰۰۰).

۲-۸- برخی پژوهش‌های پیشین درباره کلی باسیلوز در ایران

در مطالعه‌ی طالبیان و همکاران (۲۰۱۴)، ۳۱۸ سویه بیماری‌زا از اشریشیا کلای (APEC) جدا شده از گله‌های گوشتی تجاری مبتلا به سپتی سمی، از نظر مقاومت ضد میکروبی با اهمیت دامپزشکی و انسانی با روش انتشار دیسک مورد بررسی قرار گرفته است. مقاومت‌های چندگانه به عوامل ضد میکروبی در تمام ایزوله‌ها مشهود بوده است. مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها بدین حالت بود که: تایلوزین (۸۸/۶۸٪)، اریترومايسين (۷۱/۷٪)، اکسی تتراسایکلین (۴۳/۴٪)، سولفادمتوکسین-تری‌متوپریم (۳۹/۶۲٪)، انروفلوکساسین (۳۷/۷۴٪)، فلورفنیکل (۳۵/۸۵٪)، کلر تتراسایکلین (۳۳/۹۶٪)، داکسی سایکلین (۱۶/۹۸٪)، دیفلوکساسین (۳۲/۰۸٪)، دانوفلوکساسین (۲۸/۳۰٪)، کلرآمفنیکل (۲۰/۷۵٪)، سیپروفلوکساسین (۷/۵۵٪) و جنتامایسین (۵/۶۶٪) مقاومت نشان دادند. این مطالعه مقاومت در برابر عوامل ضد میکروبی را که به طور معمول در طیور استفاده می‌شوند نشان داده است، در حالی که مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌هایی که تنها در انسان استفاده می‌شوند یا در طیور کمتر مورد استفاده قرار

می‌گیرند، به طور قابل توجهی کمتر بوده است. این مطالعه بر بروز باکتری *E. coli* مقاوم به چند دارو، در بین جوجه‌های گوشتی بیمار در ایران تاکید کرده است. داده‌ها بیانگر خطرات نسبی استفاده از مواد ضد میکروبی در صنعت طیور می‌باشد. نتیجه دیگر این بود که استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها باید در مرغداری‌ها محدود شود تا مقاومت آنتی‌بیوتیکی کاهش یابد (طالبیان، خردمند، خامسی پور، ربیعی، ۲۰۱۴).

در مطالعه‌ای که توسط صابرفر و همکاران (۲۰۰۸) انجام گرفت، تعداد ۱۳۵ مورد جوجه گوشتی برای جداسازی و سنجش حساسیت ضد میکروبی *E. coli* مورد بررسی و کشت قرار گرفته است. از ۱۰۳ مورد *E. coli* جدا شد (۷۶/۳٪) و از ۳۲ مورد رشد *E. coli* مشاهده نشده است (۲۳/۷٪). مقاومت‌های چندگانه در همهی جدایه‌ها مشهود بود. همهی جدایه‌ها به تیمولین، تیلوزین و باسیتراسین به طور یکنواخت مقاومت نشان دادند. سطح پایینی از مقاومت به جنتامایسین (۱۲٪)، کانامایسین (۱۰٪) و فلورفنیکل (۳۹٪) به دست آمد. درصد مقاومت به تیمولین، باسیتراسین، تیلوزین، کلستین و اریترومایسین (۹۹٪)؛ تتراسایکلین (۹۶٪)، اکسی‌تتراسایکلین (۹۳٪)، فلومکویین (۸۷٪)، نئومایسین (۸۷٪)، لینکواسپکتین (۷۹٪)، دیفلوکساسین (۷۸٪)، انروفلوکساسین (۷۶٪)، کوتریموکسازول (۷۲٪)، کلرامفنیکل (۵۲٪) و آمپی‌سیلین (۴۹٪) مشاهده شد. داده‌ها سطح بالایی از مقاومت چندگانه را در میان جدایه‌های *E. coli* ایرانی نشان داد. همچنین به نظر می‌رسد الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌هایی که از نظر بالینی برای صنعت طیور مهم هستند باید تحت پایش قرار گیرد (صابرفر، پوراکبری، چابک‌دوان، دولت‌شاهی، ۲۰۰۸).

در مطالعه‌ای که توسط جهان‌تیغ و همکاران (۲۰۲۰) در سیستان انجام گرفت، نشان داده شد که بیشترین نوع شیوع مقاومت دارویی به تتراسایکلین با ۹۵٪ و کمترین آن به جنتامایسین با ۲۱/۷٪ بوده است. شیوع مقاومت ضد میکروبی در بین آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش تفاوت معنی‌داری داشته است ($p < 0/001$). همچنین تفاوت آماری معنی‌داری بین شیوع ژن‌های *tet* مشاهده شده است ($p < 0/001$). ایزوله‌های *tetD* مثبت و حساسیت آنتی‌بیوتیکی به تتراسایکلین، تفاوت آماری معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p = 0/017$). در نهایت با توجه به نتایج، گفته شده است که *tetA* شایع‌ترین ژن مقاومت به تتراسایکلین می‌باشد و وجود *tetD* و حساسیت آنتی‌بیوتیکی به تتراسایکلین ارتباط معنی‌داری در *E. coli* جدا شده از عفونت‌های کلی باسیلوزیس داشته است (جهان تیغ، صمدی، دیزاجی، سالاری، ۲۰۲۰).

در مطالعه‌ای که توسط نجفی و همکاران (۲۰۱۹) انجام گرفت، ۱۰۰ ایزوله *E. coli* جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری و ۱۰۰ ایزوله *E. coli* از جوجه‌های مبتلا به کلی باسیلوز برای حضور شایع‌ترین ژن‌های کد کننده حدت از جمله *sfa*، *papGII*، *ompT*، *iutA* و *iss* توسط واکنش زنجیره‌ای مولتی‌پلکس پلیمرز بررسی شدند. فراوانی ژن‌های کدکننده *sfa*

iutA، *ompT*، *papGII* و *iss* در ایزوله‌های APEC به ترتیب ۰٪، ۶۷٪، ۶۳٪، ۸۹٪ و ۸۹٪، در حالی که فراوانی این ژن‌های کدکننده در ایزوله‌های UPEC به ترتیب ۱۸٪، ۴۰٪، ۴۰٪، ۷۴٪ و ۴۸٪ بوده است. به جز *afa*، فراوانی سایر ژن‌های کدکننده در APEC بیشتر از ایزوله‌های UPEC بوده است. شایع‌ترین فاکتورهای حدت در ایزوله‌های *E.coli* بررسی شده است که *iutA* شایع‌ترین ژن کدکننده در UPEC و *iss* شایع‌ترین ژن کدکننده در APEC گزارش شد. در نهایت بیان شد که یافتن توزیع ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی می‌تواند برای شناسایی شباهت‌ها و تفاوت‌های بین جدایه‌های APEC و UPEC به منظور ارائه شواهد قابل توجهی از ویژگی‌های بیماری‌زایی و تهدیدات بالقوه مشترک بین انسان و دام کمک کننده باشد (نجفی، رحیمی، نیکوصفت، ۲۰۱۹).

۲-۹- تاثیر مدل‌های مختلف القای باکتری در سیر بیماری

تا به حال روش‌های مختلفی برای القای کلی باسیلوز در جوجه‌های گوشتی استفاده شده است که از جمله آن‌ها می‌توان روش‌های زیر پوستی، داخل نایی، داخل بینی، آئروسول، داخل وریدی، داخل کیسه هوایی، داخل صفاقی را نام برد. هر کدام از روش‌های ذکر شده تاثیرات متفاوتی بر روند علائم و نیز آزمون‌های آزمایشگاهی داشته است. در زیر، برخی پژوهش‌ها که در این زمینه متفاوت بوده‌اند، ذکر شده است.

در مطالعه‌ی نورتن و همکاران (۲۰۰۰)؛ آزمایشی برای مشاهده اثرات ۱۰ جدایه مختلف اشريشيا کلای پرندگان در جوجه‌های گوشتی ۳ روزه پس از جوجه‌کشی پس از تجویز زیرجلدی صورت گرفت. جدایه‌ها در اصل از منابع مختلف طیور در سراسر ایالات متحده به دست آمده بودند. جوجه‌ها از راه زیرجلدی روی سطح شکمی القا شده بودند و در فاصله‌های ۷ روزه به مدت ۳ هفته کالبدگشایی می‌شدند. سلولیت در همه‌ی کیسه‌های دریافت کننده *E.coli* با منشا زیرجلدی ایجاد شده بود، که بالاترین میزان بروز آن، ۲ هفته بعد از القا در پرندگان بهبود یافته‌ای بود که ایزوله‌ای را دریافت کرده بودند که در چالش آزمایش قبلی با آن مواجه شده بودند. سلولیت در هفته اول پس از آلودگی در درصد کمی از پرندگان در دو تیمار دریافت کننده *E.coli* با منشاء روده‌ای مشاهده شده بود، اگرچه ضایعات بعد از هفته اول بعد از القا از گروه ناپدید شده بودند. سپتی سمی شایع‌ترین عارضه چالش بود و صرف نظر از اینکه کدام ایزوله تزریق شده بود، مشاهده شد. جوجه‌هایی که در معرض جدایه‌ها با منشأ سلولیت قرار گرفته بودند، بیشتر از پرندگانی که با *E.coli* با منشأ غیر سلولیتی به چالش کشیده شدند، دچار سپتی سمی شده بودند. نهایتاً، داده‌ها نشان دادند که بعید به نظر می‌رسد سلولیت در اوایل زندگی پرنده رخ بدهد، زیرا پرندگان جوانی که در معرض *E.coli* قرار بگیرند اغلب دچار سپتی سمی خواهند شد (نورتن، ماکلین، مک مورتری، ۲۰۰۰).

در مطالعه‌ای توسط شین و همکاران (۲۰۰۲) انجام گرفت؛ فارماکوکینتیک فلورفینیکل در جوجه‌های گوشتی سالم (۹ مورد) و نیز در جوجه‌های گوشتی آلوده به اشریشیا کلای (۲۷ مورد) پس از تزریق داخل وریدی (IV)، عضلانی (IM) و خوراکی در دوز ۳۰ mg/kg مورد بررسی قرار گرفتند. عفونت به صورت مصنوعی در جوجه‌های گوشتی ۳۵ روزه با تزریق داخل صفاقی *E.coli* به میزان $10^9 \times 1/3$ CFU القا شده بود. پس از تجویز IV فلورفینیکل در جوجه‌های سالم، کینتیک وضعیت فلورفینیکل با معادله متناسب توصیف شده است. در جوجه‌های گوشتی بیمار، کاهش حذف نیمه عمر دارو و حجم پخش به وضوح مشاهده شد. پارامترهای فارماکوکینتیک مانند کلیرانس کل بدن و نواحی زیر منحنی غلظت پلازما در جوجه‌های سالم و آلوده به اشریشیا کلای قابل مقایسه بودند. نیمه عمر حذفی فلورفینیکل (t_{1/2})، ۱۲۹ دقیقه، فراهمی زیستی سیستماتیک ۰.۸۷٪ و ۰.۷۱٪ پس از تجویز خوراکی و عضلانی گزارش شد (شین، وو، هو، جیانگ، ۲۰۰۲).

در مطالعه‌ای که توسط گیس و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد؛ ۲۰ سویه جدایه *E.coli* مورد آزمایش در تست‌های قبلی، در مدل‌های چالش زیر جلدی و داخل نایی به منظور تعیین اینکه آیا با نتایج چالش‌های قبلی مثل سنجش مرگ و میر جنین (ELA¹) و یا مدل چالش درون رگی، با این مدل‌ها مرتبط هستند یا خیر، مورد بررسی قرار گرفتند. همبستگی مشاهده شده بین دو آزمایش قبلی ELA و مدل زیرجلدی به صورت ترکیبی از درصد morbidity/mortality برای مدل زیرجلدی و اولین آزمایش ELA برابر با $r=0.792$ ، $p<0.0001$ و برای دومین آزمایش ELA برابر با $r=0.738$ ، $p<0.0002$ گزارش شد. نتیجه‌های چالش درون رگی همبستگی بیشتری با نتایج چالش زیرجلدی نشان داد ($r=0.894$ ، $p<0.0001$). نتایج مرگ و میر چالش درون رگی کمی با نتایج چالش داخل نایی همبستگی نشان داد ($r=0.4810$ ، $p=0.0319$). چندین ایزوله با مدل‌های چالش متفاوت، در توانایی خود در ایجاد morbidity/mortality اختلاف داشتند. نتایج mortality و morbidity چالش درون رگی و زیرجلدی و نتایج تلفات آزمون ELA همگی به طور مثبت با ایزوله‌هایی از *E.coli* که می‌توانند Colicin V (ColIV) تولید کنند، مرتبط بود. نتایج تلفات چالش داخل نایی ارتباط کمی با تولید ColIV نشان داد. نتایج قبلی بیانگر این مطلب بود که ELA به خوبی با حالت چالش درون رگی مرتبط است. همچنین این مطالعه بیانگر این مطلب است که ELA دارای ارتباط خوبی با مدل چالش زیرجلدی است. نهایتاً، نتیجه‌گیری مطالعه این بود که مدل‌های چالش ELA، درون رگی و زیرجلدی به طور مشابه توانایی تمایز بین جدایه‌های *E.coli* خطرناک و بی‌ضرر پرندگان را بروز می‌دهند (گیس، پترمن، والی، ۲۰۰۴).

¹ Embryo lethality assay

در مطالعه‌ای که توسط ولکرز و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد، این مطالعه برای ارزیابی هوموپاتی به طور کلی صورت گرفت. در هر دو آزمایش، سه گروه از جوجه‌های گوشتی که در سن ۸ روزگی به اشیریشیا کلای (O78:K80) به صورت داخل نایی آلوده شدند، با ترکیب‌های مختلف داروهای هومیوپاتیک درمان شدند. گروه‌ها به صورت گروه کنترل، گروه آلوده و گروه تحت درمان با داکسی‌سایکلین تعریف شدند. آزمایش‌ها فقط در دوز *E. coli* تفاوت داشت. اثر بخشی درمان بر اساس تلفات، افزایش وزن بدن و ضایعات کلی باسیلوز ارزیابی شده بود. در دو آزمایش داکسی‌سایکلین از مرگ و میر جلوگیری کرده بود و ضایعات *E. coli* و رشد ضعیف را کاهش داده بود. هیچ کدام از گروه‌های تحت درمان هومیوپاتیک با توجه به هر یک از پارامترها با گروه کنترل غیردارویی و آلوده، تفاوت معنی‌داری نشان نداد. نهایتاً نتیجه‌گیری این بود که استفاده از این داروهای هومیوپاتیک برای درمان کلی باسیلوز در جوجه‌های گوشتی توجیهی ندارد. همچنین، هیچ اثر قابل توجهی از این داروها مشاهده نشد (ولکرز، تلوو، مادین، ون اک، ۲۰۰۵).

مطالعه‌ای توسط هاف و همکاران (۲۰۰۶) صورت گرفت؛ در این پژوهش، دو مطالعه برای تعیین اثربخشی باکتیروفاژ SPR02 و DAF6 در تیتراهای مختلف برای درمان کلی باسیلوز در جوجه‌ها انجام گرفت. در مطالعه اول، گروه‌ها شامل ۱- گروه کنترل، ۲- گروهی که تزریق عضلانی باکتیروفاژهای SPR02 و DAF6 داشت، ۳- گروه چالش شده با *E. coli* از طریق کیسه هوایی و ۴- گروه چالش شده با *E. coli* از راه کیسه هوایی به همراه درمان با تیتراهای متفاوت با باکتیروفاژ SPR02 و DAF6 بود. پرندگان چالش شده با *E. coli* $10^4 \times 6$ CFU باکتری به کیسه هوایی سینه‌ای طرف چپ، در سن ۷ روزگی القا شدند. بلافاصله بعد از چالش، با تزریق داخل عضلانی در ران چپ با 10^2 pfu و 10^4 ، 10^6 ، $10^8 \times 4$ از باکتیروفاژهای SPR02 و DAF6 تحت درمان قرار گرفته بودند. مطالعه دوم نیز با مطالعه اول مشابه بود، تفاوت در این بود که دوز *E. coli* القایی به $10^4 \times 9$ افزایش یافت و تیتراهای درمانی به 10^2 pfu و 10^4 ، 10^6 ، $10^8 \times 9$ کاهش یافته بود. میزان تلفات در مطالعه اول و دوم در پرندگان تحت چالش با *E. coli*، به ترتیب ۴۷٪ و ۴۸٪ گزارش شد. تنها درمان موثر با باکتیروفاژ در مطالعه، درمان با حداکثر تیتراژ (10^8) باکتیروفاژ SPR02 بود که میزان قابل توجهی مرگ و میر را از ۴۸ و ۴۷ درصد در پرندگانی که فقط با *E. coli* (کنترل مثبت) به چالش کشیده شده بودند، به تنها ۷ درصد در هر دو مطالعه کاهش داد، که با درمان‌های گروه کنترل منفی بدون چالش تفاوت زیادی نداشتند. این مطالعات نشان دادند که برای درمان داخل عضلانی موثر با باکتیروفاژ SPR02، مقادیر متفاوتی از ضریب 10^4 عفونت در این مدل تجربی کلی باسیلوز لازم است. باکتیروفاژ با تیتراژ کافی می‌تواند عوامل درمانی موثر و جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های باکتریایی در نظر گرفته شود (هاف، رث، دونوگه، ۲۰۰۶).

در مطالعه‌ای که توسط صالحی و همکاران (۲۰۱۲) انجام گرفت؛ سعی شده بود که پتانسیل یک نوع واکسن ΔaroA مشتق شده از سویه O78:K80 کلی باسیلوز بیماری‌زای پرندگان که شامل ژن افزایش بقای سرمی می‌باشد مورد بررسی قرار گیرد. ۴۹۰ قطعه جوجه برای ارزیابی حدت جهش یافته‌های ΔaroA انتخاب شده بودند. ۳۰ جوجه به ۳ گروه تقسیم بندی شد و ۰/۵ میلی‌لیتر PBS یا سوسپانسیون باکتری حاوی 10^7 CFU از سویه‌های جهش یافته یا والدین از روش زیرجلدی تزریق شد. ضایعات ماکروسکوپی و میزان تلفات در گروه‌های متفاوت در طول هفته بعد از چالش ثبت شده بود. جهت ارزیابی ایمنی و ایمنی‌زایی جهش یافته‌های ژن ΔaroA ، سه گروه ۲۰ تایی جوجه با ۲۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری حاوی 10^8 CFU سویه جهش یافته از طریق آئروسول در روزهای ۱ و ۱۴ واکسیناسیون شدند، در حالی که دو گروه دیگر PBS با سویه وحشی گرفتند. ضایعات ماکروسکوپی و میزان تلفات در گروه‌های مختلف تا ۲۱ روزگی ثبت شد. این کار برای ارزیابی محافظت‌کنندگی واکسیناسیون در برابر چالش صورت گرفت. جوجه‌هایی که در روز ۱ و ۱۴ واکسن خورده بودند، در روز ۲۱، به صورت داخل عضلانی با سویه‌های همولوگ و هترولوگ چالش داده شد. نتایج حاکی از آن بود که حدت سویه‌های جهش یافته ΔaroA کمی بدخیم است، اما ایمن است و باعث کاهش وزن، تلفات و ضایعات پس از واکسیناسیون نشده بود. پاسخ آنتی‌بادی در دو گروه کنترل و جهش یافته‌ها مشابه بودند. واکسیناسیون باعث القای ایمنی هومورال قابل توجهی نشده بود. سویه جهش یافته نتوانسته بود برای جوجه‌ها اثر محافظتی در مقابل چالش‌های همولوگ و هترولوگ داشته باشد. این موضوع را می‌توان به عوامل مختلفی مانند مقدار بالای آنتی‌بادی‌های مادری در دو هفته اول زندگی و روش واکسیناسیون نسبت داد (صالحی و همکاران، ۲۰۱۲).

در مطالعه‌ای که توسط پودل و همکاران (۲۰۲۱) انجام گرفت؛ تاثیر سه روش القای عفونت، متفاوت در محل قرارگیری ماده تلقیحی در دستگاه تنفس، بررسی شد. جوجه‌های دو هفته‌ای از طریق آئروسول، داخل بینی یا داخل نایی با یک سویه APEC با برچسب lux آلوده شده بودند و به‌طور متوالی همراه با پرندگان غیر آلوده نمونه‌برداری انجام شد. در روز ۱ و ۳ روز پس از عفونت، نسبت کبد یا طحال به وزن بدن در همه گروه‌های آلوده به طور قابل توجهی بیشتر از گروه کنترل منفی بوده است، در حالی که در روز ۷ بعد از چالش، چنین تفاوت‌هایی در هر دو اندام در گروه آلوده شده از روش آئروسول معنی‌دار بوده است. سویه عفونی ۱ روز بعد از چالش، در نای و ریه کلونیزه شده بود و تا روز ۷ پس از چالش ادامه داشته است. در بین گروه‌های آلوده، پرندگانی که از راه داخل بینی القا شدند، ۱ روز بعد از چالش، بار باکتریایی در ریه‌ها به طور معنی‌داری کمتر بوده است. بافت شناسی نشان می‌دهد که مستقل از مسیر عفونت، ضایعات بیشتر در اندام‌های تنفسی تحتانی (ریه‌ها و کیسه‌های هوایی) دیده شده که با پنومونی و ایرساکولیت نمود پیدا کرده است. پرندگانی که از روش آئروسول آلوده شده بودند،

بالاترین میانگین امتیاز ضایعه را در ریه داشتند در حالی که گروه داخل بینی خفیف ترین تغییرات پاتولوژیک را ایجاد کرده بودند و تفاوت بین دو گروه در ۱ روز بعد از چالش به طور قابل توجهی معنی دار بوده است. در طحال، نفوذ هتروفیل‌ها در پرندگان مبتلا برجسته بوده است. نکته جالب این بود که نای‌ها از نظر پاتولوژیک تحت تاثیر قرار نگرفته بودند. در مجموع، نتایج اهمیت مسیر عفونت را نشان می‌دهد، که آئروسول مناسب ترین راه برای القای ضایعات پاتولوژیک کلی باسیلوز بدون وجود عوامل مستعدکننده می‌باشد. همچنین، سویه APEC با برجسب lux از جدایه‌های بومی جدا شد که امکان تمایز و شمارش دقیق را فراهم می‌کند (پاودل و همکاران، ۲۰۲۱)

در مطالعه‌ای که توسط ابوالحامد و همکاران (۲۰۲۲) انجام گرفت؛ در سنین ۱۹، ۲۰ و ۲۱ روزگی دو گروه از پرندگان به روش داخل نای تلقیح شدند. جهت نمونه برداری از خون پرندگان و بافت‌های بدن از جمله کبد، کلیه و طحال نمونه پاتولوژی اخذ شده و فاکتورهای کبد و کلیه از جمله AST، ALT و نیز اوریک اسید به همراه پروتئین‌های خون مورد بررسی و اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از آن بود که فعالیت آنزیم‌های AST، ALT و نیز اوریک اسید افزایش داشته است اما میزان پروتئین‌های خون دچار کاهش شده بودند. نهایتاً این پژوهش به این نتیجه اشاره می‌کند که باکتری APEC O27 همانطور که نتایج هیستوپاتولوژی تایید می‌کند، باعث تغییر فاکتورهای مربوط به عملکرد کبد و کلیه می‌شود (ابوالحامد و همکاران، ۲۰۲۲).

فصل سوم

مواد و روش کار

۳-۱- مواد و وسایل مورد نیاز

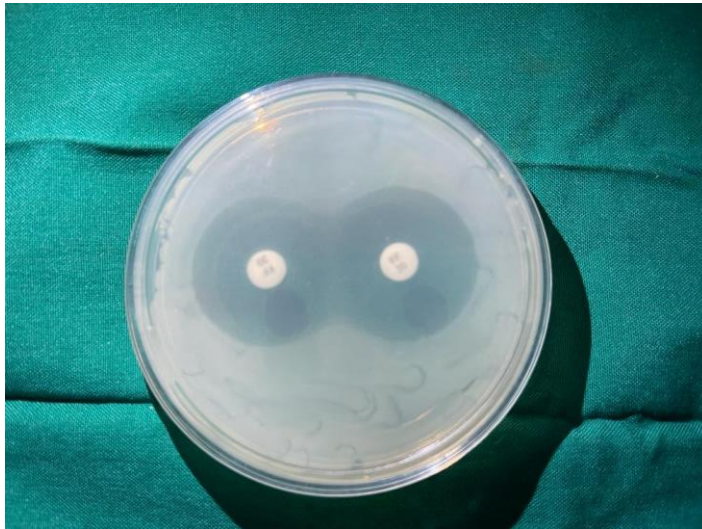
- ۱۲۵ قطعه جوجه گوشتی نژاد تجاری کاب (شرکت طیور فارس، شیراز، ایران)
- دان پلت (سوپر استارتر، پیش دان، میان دان، پایان دان؛ شرکت ۲۱ بیضاء فارس)
- دانخوری و آبخوری
- ماده ضد عفونی کننده
- ترازو دیجیتال معمولی و دیجیتال آزمایشگاهی
- بخاری یا هیتر
- دستگاه تهویه
- دماسنج
- قفس نگهداری برای جوجه‌ها
- قیچی
- لامپ
- لوله آزمایش و راک
- الکل و پنبه
- اتوکلاو
- سوآب
- پلیت
- لوپ
- سمپلر و سر سمپلر

- آب مقطر
- ارلن
- بلاد آگار
- نوترینت آگار
- مولر هیلتون آگار
- تایمر
- فلورفنیکل با خلوص ۹۸/۹ درصد (داروسازی بهرود اتک، ایران)
- داروی فلورفنیکل جهت مصرف طیور (رویان دارو، ایران)
- دیسک آنتی بیوتیک فلورفنیکل ۳۰ میلی گرمی (پادتن طب، تهران)
- چراغ الکی
- دستکش نسوز
- یخچال
- شیشه یونیورسال
- پیپت و استوانه مدرج
- پنس
- نرمال سالین
- پیپت پاستور
- انکوباتور
- سرنگ
- لوله آزمایش
- دستگاه اتوآنالایزر AT⁺⁺⁺ - alpha classic ساخت کشور آلمان
- دستگاه سانتریفیوژ
- میکروتیوب
- کیت AST شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران
- کیت CK شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران
- کیت LDH شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران
- کیت Amylase شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران
- کیت Uric acid شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران
- کیت phosphorus شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران
- کیت آلبومین شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران
- کیت پروتئین تام شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران

- دستگاه فلیم فوتومتر فاطر الکترونیک ساخت کشور ایران
- محلول استاندارد پتاسیم
- محلول استاندارد سدیم
- محلول بلانک پتاسیم
- محلول بلانک سدیم

۳-۲- باکتری چالش

در این پژوهش از باکتری *E.coli* گروه سرمی O2 جدا شده از طیور استفاده شد که از موسسه واکسن و سرم سازی رازی تهیه شد. برای تازه سازی و داشتن مقدار دلخواه کلنی برای سلسله مراحل پیوسته آتی که در زیر به آن اشاره شده است، در ابتدا باکتری مستقیماً بر روی محیط بلاد آگار و محیط نوترینت آگار کشت داده شد و سپس در انکوباتور در دمای 37°C به مدت ۱۸-۴۸ ساعت قرار داده شد. باکتری مورد استفاده به آنتی بیوتیک فلورفنیکل طبق روش انتشار دیسک، حساس بود (صابری و همکاران، ۱۴۰۱).



تصویر ۳-۱- تست حساسیت آنتی بیوتیکی بر روی محیط مولر هینتون

۳-۳- دوز باکتری جهت تلقیح

دوز باکتری مورد استفاده در این مطالعه طبق پژوهش‌های پیشین (صابری و همکاران، ۱۴۰۱) به میزان $10^8 \times 7/1$ CFU/ml باکتری به ازای هر قطعه پرنده (هر پرنده ۱ میلی لیتر) در نظر گرفته شد.

۳-۴- طرح آزمون

در شروع مطالعه، تعداد ۱۲۵ قطعه جوجه گوشتی یک روزه از هر دو جنس به صورت مخلوط از نژاد تجاری کاب ۵۰۰ که میانگین وزن آن‌ها ۴۲ گرم بود، خریداری شد و در سالن و اتاق‌هایی که شرایط ایمنی زیستی در آن‌ها رعایت شده بود، نگه داری شد. در طول آزمایش دسترسی آزاد به آب و غذا برای همه گروه‌ها فراهم بود. شرایط پرورش در طول دوره بدین صورت بود که درجه حرارت اتاق در طول هفته اول پرورش $26 \pm 0/5$ درجه سانتی گراد بود و سپس دمای اتاق در هر هفته ۱/۵ درجه کاهش می‌یافت تا اینکه به ۲۶ درجه رسید و از آن به بعد دما ثابت ماند. برنامه روشنایی پیوسته در طول این دوران برای جوجه‌ها اعمال شد. جوجه‌ها با استفاده از جیره‌های فرموله شده بر اساس نیازهای غذایی نژاد مربوطه تغذیه شدند. در سن ۳۵ روزگی جوجه‌ها به صورت تصادفی به ۴ گروه ۲۰ تایی و ۳ گروه ۱۵ تایی تقسیم و وزن کشتی شدند (جدول ۳-۱):

- ۱- گروهی که باکتری با دوز مشخص شده را به صورت داخل نایی دریافت کردند (IT)، ۲۰ قطعه پرنده در دو زیر گروه ۱۰ تایی در این گروه قرار گرفت.
- ۲- گروهی که باکتری را به صورت داخل نایی دریافت کردند و داروی فلورفنیکل برای آن‌ها تجویز شد (ITF)، ۲۰ قطعه پرنده در دو زیر گروه ۱۰ تایی در این گروه قرار گرفت.
- ۳- گروهی که باکتری را به صورت زیرپوستی دریافت کردند (SC)، ۲۰ قطعه پرنده در دو زیر گروه ۱۰ تایی در این گروه قرار گرفت.
- ۴- گروهی که باکتری را به صورت زیرپوستی دریافت کردند و داروی فلورفنیکل برای آن‌ها تجویز شد (SCF)، ۲۰ قطعه پرنده در دو زیر گروه ۱۰ تایی در این گروه قرار گرفت.
- ۵- گروه کنترل که محیط کشت استریل را به صورت داخل نایی دریافت کردند (ITC)، ۱۵ قطعه پرنده در این گروه قرار گرفت.
- ۶- گروه کنترل که محیط کشت استریل را به صورت زیرپوستی دریافت کردند (SCC)، ۱۵ قطعه پرنده در این گروه قرار گرفت.
- ۷- گروه کنترل منفی که هیچ گونه تیماری دریافت نکرد (C)، ۱۵ قطعه پرنده در این گروه قرار گرفت.

ارزیابی تاثیر دو مدل القای کلی باسیلوز و درمان با فلورفنیکل بر پارامترهای ...

گروه‌های ۲ (ITF) و ۴ (SCF) پس از ظهور علائم بالینی، داروی فلورفنیکل (رویان دارو، ایران) در آب آشامیدنی با دوز ۱ ml/۱۰۰۰ ml طبق توصیه شرکت سازنده، دریافت کردند.

جدول ۳-۱- نحوه گروه بندی براساس روش چالش با باکتری و مصرف داروی فلورفنیکل

مصرف دارو	چالش با باکتری		گروه‌ها
	زیرپوستی	داخل نایی	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	+	IT
+	<input type="checkbox"/>	+	ITF
<input type="checkbox"/>	+	<input type="checkbox"/>	SC
+	+	<input type="checkbox"/>	SCF
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	∅	ITC
<input type="checkbox"/>	∅	<input type="checkbox"/>	SCC
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	C

∅: تلقیح با محیط کشت استریل

در روز ۳ پس از درمان با دارو، بوسیله‌ی سرنگ از ورید بال ۷ قطعه پرنده در هر گروه خونگیری انجام شد. خون در لوله آزمایش فاقد ماده ضدانعقاد ریخته شده و بلافاصله به آزمایشگاه ارسال شد. بوسیله‌ی دستگاه سانتریفیوژ HERMLE Z 200 A، با دور ۲۵۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سرم جدا شده و به میکروتیوب انتقال داده شد. سرم‌ها تا زمان انجام آزمون‌های تکمیلی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. سپس با دستگاه Auto analyzer AT⁺⁺ - alpha classic ساخت کشور آلمان، فاکتورهای مورد نظر در سرم ارزیابی شد. فاکتورهای کبدی شامل سنجش فعالیت آنزیم‌های AST، LDH و CK و فاکتورهای کلیوی شامل Phosphorus، Uric Acid، Amylase، پروتئین تام و آلبومین می‌باشد. فاکتورهای سدیم و پتاسیم با استفاده از دستگاه Flame photometer فاطر الکترونیک ساخت کشور ایران، ارزیابی شد.

۳-۵- فاکتورهای مورد ارزیابی

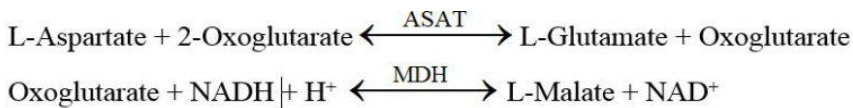
۳-۵-۱- ارزیابی فاکتورهای کبدی

جهت ارزیابی پارامترهای کبدی، فعالیت آنزیم‌های AST، LDH و CK بوسیله‌ی کیت‌های شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران، مورد بررسی قرار گرفت.

۳-۵-۱-۱- اندازه‌گیری AST با کیت پارس آزمون

کیت GOT/AST پارس آزمون جهت اندازه‌گیری مقدار کمی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) که قبلاً به نام گلوتامیک اگزال استیک ترانس آمیناز (GOT) نامیده می‌شد، از نمونه‌های سرمی یا پلاسمایی با روش فتومتریک می‌باشد. این آنزیم مهمترین آنزیم‌های گروه آمینوترانسفرازها یا ترانس آمینازها هستند که با انتقال واحدهای آمین α - Keto acid را به آمینواسیدها کاتالیز می‌کند سطح این آنزیم همانطور که در آسیب‌های پارانشیم کبدی افزایش می‌یابد، در صدمات قلبی یا ماهیچه‌ای نیز افزایش پیدا می‌کند.

اساس آزمایش کیت GOT/AST پارس آزمون به شرح تصویر ۳-۲ است:



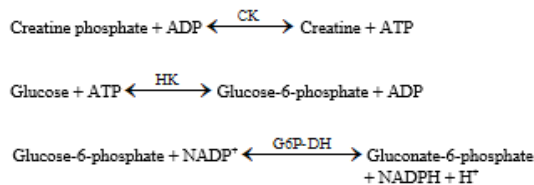
تصویر ۳-۲- اساس آزمایش کیت AST پارس آزمون

این کیت جهت اندازه‌گیری AST تا تغییرات جذب نوری ۰/۱۶ در دقیقه (۳۰۰ U/L) طراحی شده و در مواردی که مقدار تغییرات جذب نوری بیش از ۰/۱۶ در دقیقه باشد باید نمونه به نسبت ۱ بعلاوه ۹ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۱۰ ضرب شود. دقت و حساسیت کیت به این صورت می‌باشد که حداقل مقدار AST قابل اندازه‌گیری ۲ واحد بین المللی در لیتر می‌باشد.

۳-۵-۱-۲- اندازه‌گیری CK با کیت پارس آزمون

کیت CPK پارس آزمون مناسب جهت تشخیص کمی آنزیم CK در سرم یا پلاسما با روش فتومتریک می‌باشد. آنزیم CK ایزوآنزیم‌هایی با بیشترین فعالیت در ماهیچه (CK-MM)، قلب (CK-MB) و مغز (CK-BB) دارد.

اساس آزمایش به شرح تصویر ۳-۳ است:



تصویر ۳-۳- اساس آزمایش کیت CPK پارس آزمون

ارزیابی تاثیر دو مدل القای کلی باسیلوز و درمان با فلورفنیکل بر پارامترهای ...

ویژگی‌ها و کارایی تست: این کیت جهت اندازه‌گیری CPK تا تغییرات جذب نوری ۰/۲۵ در دقیقه (یا ۱۰۳۱) طراحی می‌شود و در مواردی که مقدار تغییرات جذب نوری بیش از ۰/۲۵ در دقیقه باشد باید نمونه به نسبت ۱ بعلاوه ۱۰ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۱۱ ضرب شود.

حساسیت: حداقل مقدار CPK قابل اندازه‌گیری ۱ واحد بین‌المللی در لیتر می‌باشد.

۳-۱-۵-۳- اندازه‌گیری LDH با کیت پارس آزمون

این کیت مناسب، جهت اندازه‌گیری میزان LDH از نمونه سرم و یا پلاسما با روش فتومتریک می‌باشد. این آنزیم دارای پنج ایزوآنزیم مختلف است و عمل آن تسریع واکنش‌های تبدیل - Lاکتات و پیرووات است. LDH در سیتوپلاسم تمامی بافت‌های بدن یافت می‌شود. اما غلظت‌های بالاتر آن در بافت‌های کبدی، قلبی و ماهیچه‌های اسکلتی، و غلظت‌های پایین‌تر در بافت‌های پانکراس، کلیه، معده و گلبول‌های قرمز دیده می‌شود. افزایش پاتولوژیک فعالیت LDH در بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های قلبی، کبدی، خونی، ماهیچه‌ای، سرطان‌ها و حمله قلبی در انسان دیده می‌شود. از این رو نتایج انجام این تست در کنار تست‌های تشخیصی آنزیم‌هایی مانند AST ارزشمند می‌شود.

اساس آزمایش: $\text{Lactate} + \text{NAD}^+ \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{NADH} + \text{پیرووات}$

حساسیت کیت: حداقل مقدار LDH قابل اندازه‌گیری ۵ واحد بین‌المللی در لیتر می‌باشد.

۳-۲-۵-۳- ارزیابی فاکتورهای کلیوی

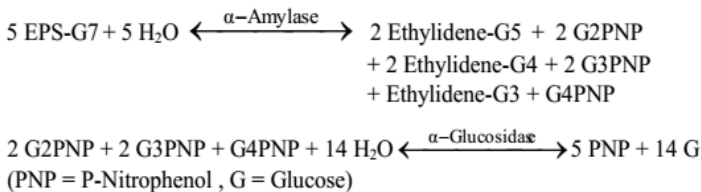
جهت ارزیابی پارامترهای کلیوی، فاکتورهای Potassium، Sodium، Uric Acid، Amylase و Phosphorus در سرم بوسیله کیت‌های پارس آزمون مربوطه اندازه‌گیری شد.

۳-۱-۲-۵-۳- اندازه‌گیری Amylase با کیت پارس آزمون

آلفا آمیلازها آنزیم‌های هیدرولیتیک هستند که نشاسته را به مالتوز تبدیل می‌کنند و در بدن انسان از اندام‌های مختلف منشاء می‌گیرند. آمیلاز پانکراتیک توسط پانکراس تولید و در مجرای روده آزاد می‌گردد. آمیلاز بزاقی در غدد بزاقی ساخته شده و به بزاق می‌ریزد. آمیلاز توسط کلیه از گردش خون حذف شده و از طریق ادرار دفع می‌شود. بنابراین افزایش آمیلاز سرم منجر به افزایش آمیلاز ادراری می‌گردد. اندازه‌گیری آلفا آمیلاز سرم و ادرار بیشتر برای تشخیص بیماری‌های لوزالمعده و پیشرفت عوارض آنها در انسان انجام می‌شود. اندازه‌گیری فعالیت آلفا آمیلاز یک آزمایش اختصاصی برای تشخیص بیماری‌های لوزالمعده نیست، به عنوان مثال در اورپیون و نارسایی‌های کلیه (به دلیل عدم دفع آمیلاز از طریق ادرار) نیز میزان

آمیلاز سرم افزایش می یابد. بنابراین برای تشخیص پانکراتیت حاد لازم است میزان لیپاز نیز اندازه گیری شود.

در این روش (EPS- 4,6) ethylidene-(G7)-p-nitrophenyl-(G1)- α -D-maltoheptaoside توسط آلفا آمیلازها به قطعات مختلفی شکسته می شود. در مرحله دوم این قطعات توسط گلوکوزیداز هیدرولیز شده و تولید گلوکز و p-nitrophenol را شاهد هستیم. افزایش جذب نوری، مربوط به میزان فعالیت هر دو نوع آمیلاز (پانکراتیک و بزاقی) می باشد. اساس آزمایش به شرح تصویر ۳-۴ می باشد.



تصویر ۳-۴- اساس آزمایش کیت Amylase پارس آزمون

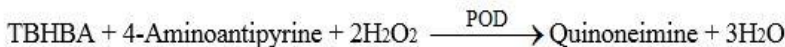
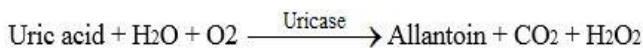
این کیت جهت اندازه گیری آلفا آمیلاز تا تغییرات جذب نوری ۲۴۰۰ در دقیقه طراحی شده است. در مواردی که تغییرات جذب نوری بیش از ۰/۲۴ در دقیقه و یا ۱۵۰۰ U/l باشد باید نمونه به نسبت ۱ به علاوه ۱۰ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۱۱ ضرب شود. حساسیت: حداقل مقدار آلفا آمیلاز قابل اندازه گیری ۳ واحد بین المللی در لیتر می باشد.

۳-۲-۵-۲- اندازه گیری Uric Acid با کیت پارس آزمون

کیت اوریک اسید پارس آزمون مناسب، جهت اندازه گیری مقدار کمی Uric Acid از نمونه سرم، پلاسما و ادرار با روش فوتومتریک می باشد. اسید اوریک و نمک های آن محصول نهایی متابولیسم پورین هستند. مهم ترین بیماری که در اثر افزایش اسید اوریک ایجاد می شود نقرس است که در این بیماری افزایش اسید اوریک باعث تشکیل کریستال های سدیم اورات در اطراف مفاصل می گردد. همچنین مقادیر بالای اسید اوریک به عنوان یک ریسک فاکتور غیرمستقیم برای بیماری های کرونر قلبی در انسان محسوب می گردد. عواملی چون بیماری های کلیوی، نقص در تصفیه کلیوی، استفاده از الکل، گرسنگی و استفاده از بعضی داروها می توانند باعث افزایش اسید اوریک شوند. کاهش مقادیر اسید اوریک به ندرت در نواقص ارثی متابولیکی دیده می شود.

روش عملکرد کیت: آنزیمی، کالریمتری با استفاده از روش TBHBA به شرح تصویر ۳-۵

می‌باشد.



تصویر ۳-۵- روش TBHBA در اندازه‌گیری Uric Acid با کیت پارس آزمون

این کیت جهت اندازه‌گیری اسید اوریک در محدوده ۰/۰۷ تا ۱۵ میلی گرم در دسی لیتر طراحی شده و در مواردی که مقدار اسید اوریک بیش از ۱۵ میلی گرم در دسی لیتر باشد باید نمونه به نسبت ۱ بعلاوه ۱ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۲ ضرب شود.

۳-۲-۵-۳- اندازه‌گیری Sodium با آزمون فلیم فوتومتري

از فلیم فوتومتر برای اندازه‌گیری لیتیم، سدیم و پتاسیم و نیز کلسیم در مایعات بدن استفاده می‌شود. در فلیم فوتومتر نمونه به کمک اکسیژن فشرده (هوا) به‌صورت قطرات ریز یکنواخت به درون شعله اسپری می‌شود. لیتیم رنگ قرمز، سدیم رنگ زرد، پتاسیم رنگ بنفش، روبیدیوم رنگ قرمز و منیزیم رنگ آبی در شعله ایجاد می‌کند. این رنگ‌ها جزء خصوصیات اتم‌های فلزی می‌باشد که به‌صورت کاتیون در محلول وجود داشته‌اند. نمک‌های فلزی در داخل شعله تبخیر شده و به‌سرعت به اتم‌های گازی تفکیک می‌شوند. وقتی دما از حد بحرانی بالاتر می‌رود اتم‌های گازی، انرژی جذب می‌کنند و این انرژی موجب برانگیختگی الکترون‌ها از یک تراز انرژی به تراز بالاتر می‌شود. الکترون‌ها در حالت برانگیخته ناپایدار بوده و انرژی اضافی را آزاد نموده و به حالت پایدار می‌رسند. این انرژی به‌صورت نور آزاد می‌شود. نور حاصله دارای سطوح انرژی متفاوت یا خطوط اسپکتروم برای هر عنصر اختصاصی می‌باشد. شدت نور ساطع شده در هر طول‌موج مشخص با مقدار اتم‌های فلزی برانگیخته نسبت مستقیم داشته و می‌توان آن را با فیلترهای نوری مناسب و فتودتکتور اندازه‌گیری کرد. در حالت عادی رابطه بین غلظت عنصر پراکنده شده و شدت نور در یک طول‌موج مشخص، خطی می‌باشد. نور به‌کاررفته باید دارای انرژی کافی باشد تا روش اندازه‌گیری حساسیت کافی داشته باشد؛ برای مثال کاتیون‌هایی مثل کلسیم در شعله معمولی به مقدار کمتری تصحیح می‌شوند و مقدار نور ایجادشده حساسیت کافی برای روش فلیم فوتومتر را ندارد؛ اما برای فلزاتی که به‌آسانی در شعله تحریک می‌شوند مثل فلزات قلیایی (سدیم، پتاسیم، لیتیم) تنها ۵-۱٪ اتم‌های حاضر محلول در شعله تحریک می‌شوند. حتی با این درصد کم اتم‌های تحریک‌شده، این روش برای اندازه‌گیری فلزات قلیایی

به قدر کافی حساس می‌باشد.

تمام ظروف شیشه‌ای مورد مصرف باید از نوع شیشه‌های بروسلیکات و تمام ظروف پلی اتیلنی باید دارای مشخصات مطابق با استاندارد ASTM باشد. جهت اندازه‌گیری این فاکتور از محلول استاندارد آماده Sodium و پیپت سرنگی استفاده می‌شود. محلول استاندارد Sodium، ۱۴۰ meq/L می‌باشد. محلول استاندارد و نمونه‌ها به نسبت ۱ به ۲۰۰ با آب مقطر رقیق می‌شود و برای بلانک از آب مقطر استفاده می‌شود. سپس با دستگاه Flame photometer فاطر الکترونیک اندازه‌گیری سدیم انجام شد.

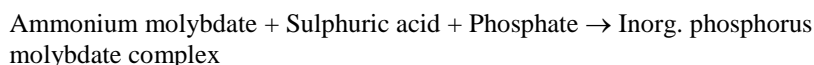
۳-۵-۲-۴- اندازه‌گیری Potassium با آزمون فلیم فوتومتر

مطابق اساس ذکر شده در اندازه‌گیری سدیم، برای اندازه‌گیری پتاسیم نیز از دستگاه Flame photometer فاطر الکترونیک استفاده شد. تمام ظروف شیشه‌ای مورد مصرف باید از نوع شیشه‌های بروسلیکات و تمام ظروف پلی اتیلنی باید دارای مشخصات مطابق با استاندارد ASTM باشد. جهت اندازه‌گیری این فاکتور از محلول استاندارد آماده Potassium و پیپت سرنگی استفاده می‌شود. محلول استاندارد Potassium، ۵ meq/L می‌باشد. محلول استاندارد و نمونه‌ها به نسبت ۱ به ۲۰۰ با آب مقطر رقیق می‌شود و برای بلانک از آب مقطر استفاده می‌شود. سپس با دستگاه Flame photometer فاطر الکترونیک اندازه‌گیری پتاسیم انجام شد.

۳-۵-۲-۵- اندازه‌گیری Phosphorus با کیت پارس آزمون

کیت فسفر پارس آزمون مناسب جهت تشخیص Phosphorus در سرم، پلاسما و ادرار با روش فتومتریک می‌باشد. فسفر در بدن تنها به شکل فسفات وجود دارد. بیشترین تجمع آن به اشکال غیرآلی در استخوان‌ها است. همچنین در سلول‌ها به صورت فسفولیپید، اسیدهای نوکلئیک و آدنوزین تری فسفات که عامل انتقال انرژی است نیز هستند. فسفر در پلاسما به شکل فسفات کلسیم است. بنابراین سطح فسفر پلاسما شدیداً به میزان کلسیم موجود در پلاسما بستگی دارد. کاربرد اندازه‌گیری فسفر در سرم و ادرار، در تشخیص اختلالات کلیوی، استخوانی و غدد پاراتیروئیدی است. افزایش مقادیر فسفر در آسیب‌های کلیوی، هیپوپاراتیروئیدیسم، هیپوپاراتیروئیدیسم کاذب و کمبود فسفات کلسیم در استخوان‌ها و سلول‌ها وجود دارد. کاهش فسفر در سوء جذب، هایپر پاراتیروئیدیسم و کمبود ویتامین D مشاهده می‌شود.

اساس آزمایش اندازه‌گیری Phosphorus به شرح معادله زیر است.



این کیت جهت اندازه گیری فسفر در محدوده ۰/۳ تا ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر طراحی شده و در مواردی که مقدار فسفر بیش از ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر باشد باید نمونه به نسبت ۱ بعلاوه ۱ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۲ ضرب شود. حداقل مقدار فسفر قابل اندازه گیری ۰/۳ میلی گرم در دسی لیتر می باشد.

اسید آسکوربیک تا غلظت ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر، تری گلیسیرید تا غلظت ۲۰۰۰ میلی گرم در دسی لیتر، بیلی روبین تا غلظت ۶۰ میلی گرم در دسی لیتر و هموگلوبین تا غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در دسی لیتر باعث تداخل در آزمایش نمی شوند.

۳-۵-۳- اندازه گیری فاکتورهای دیگر

میزان پروتئین تام سرم، آلومین و گلوبولین سرم نیز بوسیله کیت های پارس آزمون مربوطه اندازه گیری شد.

۳-۵-۳-۱- اندازه گیری پروتئین تام با کیت پارس آزمون

کیت توتال پروتئین پارس آزمون مناسب، جهت اندازه گیری مقدار کمی پروتئین تام سرم با روش فوتومتریک می باشد. اندازه گیری غلظت پروتئین تام سرم تست مفیدی برای تشخیص بسیاری از نارسایی ها است. کاهش غلظت پروتئین تام سرم در اثر سنتز ناقص پروتئین در کبد، جذب ناقص روده ای، از دست دادن پروتئین در اثر عملکرد نادرست کلیه و سوء تغذیه ایجاد می گردد. افزایش پروتئین تام در ناهنجاری های بدخیم مزمن، سیروز کبدی و دهیدراتاسیون دیده می شود.

اساس: در این آزمایش پروتئین در محیط قلیایی با یونهای مس تشکیل یک کمپلکس لاجوردی رنگ می دهد. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار پروتئین در نمونه می باشد. این کیت جهت اندازه گیری پروتئین تام در محدوده ۰/۵ تا ۱۵ گرم در دسی لیتر طراحی شده و در مواردی که مقدار پروتئین تام بیش از ۱۵ گرم در دسی لیتر باشد باید نمونه به نسبت ۱ بعلاوه ۱ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۲ ضرب شود. حداقل مقدار پروتئین تام قابل اندازه گیری ۰/۵ گرم در دسی لیتر می باشد.

۳-۵-۳-۲- اندازه گیری آلومین با کیت پارس آزمون

آلومین یکی از مهم ترین پروتئین های انتقال دهنده در پلاسما است که مواد گوناگونی را حمل می کند و اصلی ترین نقش را در فشار اسمزی پلاسما دارد. اندازه گیری آلومین سرمی برای تشخیص و بررسی بیماری های کبدی مانند سیروز کبدی، انجام می شود که می توان به کمک

کیت آلومین پارس آزمون مقدار کمی آن را بدست آورد. به علاوه میزان آلومین ملاکی برای تعیین سلامت و وضعیت تغذیه است و برای تشخیص سوء تغذیه و تعیین وضعیت تغذیه بیماران استفاده می‌گردد.

اساس آزمایش: در این آزمایش آلومین موجود در سرم با BROMOCRESOL GREEN (در pH اسیدی) یک کمپلکس رنگی سبز-آبی ایجاد می‌کند. شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار آلومین در نمونه می‌باشد.

این کیت جهت اندازه گیری آلومین در محدوده ۰/۲ تا ۶ گرم در دسی لیتر طراحی شده و در مواردی که مقدار آلومین بیش از ۶ گرم در دسی لیتر باشد باید نمونه به نسبت ۱ بعلاوه ۱ با سرم فیزیولوژی رقیق و جواب آزمایش در عدد ۲ ضرب شود.

تری گلیسیرید تا غلظت ۵۰۰ میلی گرم در دسی لیتر، بیلی روبین تا غلظت ۴۰ میلی گرم در دسی لیتر، اسید آسکوربیک تا غلظت ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر و هموگلوبین تا غلظت ۴۰۰ میلی گرم در دسی لیتر باعث تداخل در آزمایش نمی‌شوند.

۳-۵-۳- اندازه گیری گلوبولین

میزان گلوبولین سرم از حاصل تفریق آلومین از پروتئین تام سرم به دست می‌آید (ابوالحامد و همکاران، ۲۰۲۲؛ نظیفی، ۱۹۹۷).

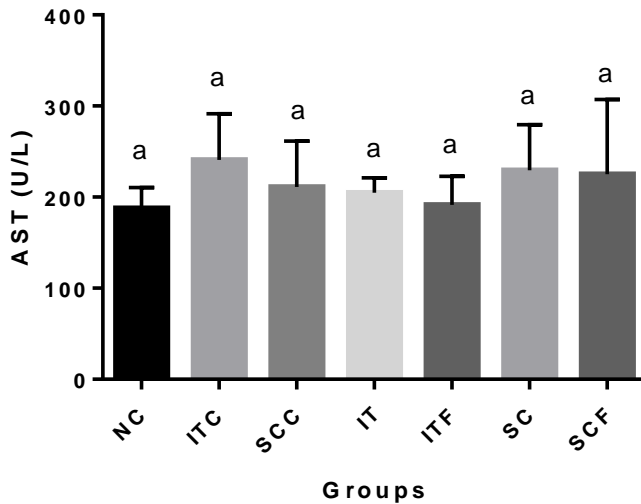
۳-۶- آنالیز آماری داده‌ها

آنالیز داده ها توسط نرم افزار Graphpad prism 6 انجام گرفت. داده‌های بدست آمده از اندازه‌گیری فاکتورهای سرمی در گروه‌های مختلف توسط روش ANOVA یک طرفه و در ادامه با آزمون مقایسه‌ای تکمیلی Tukey آنالیز و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شد.

فصل چهارم

نتایج

۱-۴- نتایج اندازه‌گیری اسپارتات آمینوترانسفراز (AST)
نتایج حاصل از اندازه‌گیری سرمی اسپارتات آمینوترانسفراز (AST) در گروه‌های مختلف به شرح نمودار ۱-۴ می‌باشد.



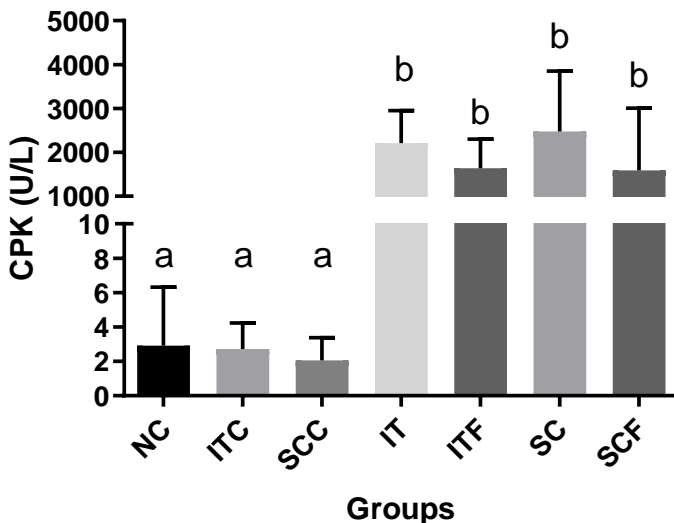
نمودار ۱-۴ - تغییرات اسپارتات آمینوترانسفراز (AST) در گروه‌های مورد مطالعه، حروف مشابه نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار میان گروه‌ها در این پارامتر می‌باشد ($p > 0.05$).

(NC): گروه کنترل نرمال بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا آنتی بیوتیک، ITC: گروه کنترل برای روش القای داخل نایی، SCC: گروه کنترل برای روش القای زیرجلدی، IT: گروه القا شده به روش داخل نایی، ITF: گروه القا شده به روش داخل نایی و دریافت کننده آنتی بیوتیک، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF: گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده آنتی بیوتیک)

نتایج آنالیز آماری حاصل از اندازه‌گیری اسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) نشان داد، بین گروه‌های کنترل در این داده تفاوت معناداری وجود ندارد ($p > 0.05$). همچنین گروه‌های تیمار نیز با گروه کنترل تفاوت معناداری نداشتند ($p > 0.05$).

۴-۲- نتایج اندازه‌گیری کراتین کیناز (CK)

نتایج حاصل از اندازه‌گیری کراتین کیناز (CK) به شرح نمودار ۴-۲ می‌باشد.



نمودار ۴-۲- نتایج حاصل از اندازه‌گیری کراتین کیناز (CK) در گروه‌های مورد مطالعه،

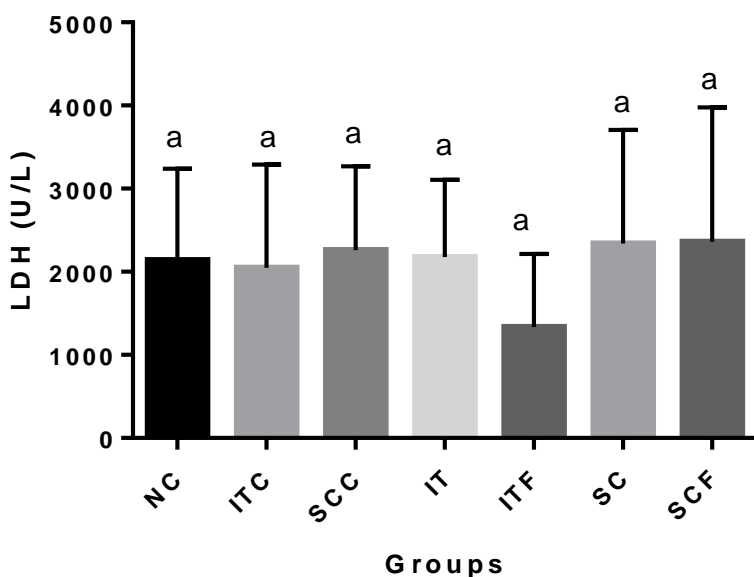
حروف نامشابه نشانگر تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

(NC): گروه کنترل نرمال بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا آنتی بیوتیک، ITC: گروه کنترل برای روش القای داخل نایی، SCC: گروه کنترل برای روش القای زیرجلدی، IT: گروه القا شده به روش داخل نایی، ITF: گروه القا شده به روش داخل نایی و دریافت کننده آنتی بیوتیک، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF: گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده آنتی بیوتیک)

آنالیز آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری کراتین کیناز (CK) نشان داد، سه گروه کنترل با یکدیگر تفاوت معناداری ندارند ($p > 0.05$) اما هر چهار گروه تیمار با گروه‌های کنترل تفاوت معناداری نشان می‌دهند. به طوری که شاخص معناداری در این دو گروه با مقایسه IT با ITC و SC با SCC، ($p < 0.0001$) می‌باشد. همچنین با مقایسه بین SC با SCF و IT با ITF، این مقایسه معنادار نبوده است ($p > 0.05$).

۳-۴- نتایج اندازه‌گیری لاکتات دهیدروژناز (LDH)

نتایج حاصل از اندازه‌گیری لاکتات دهیدروژناز (LDH) به شرح نمودار ۳-۴ می‌باشد.



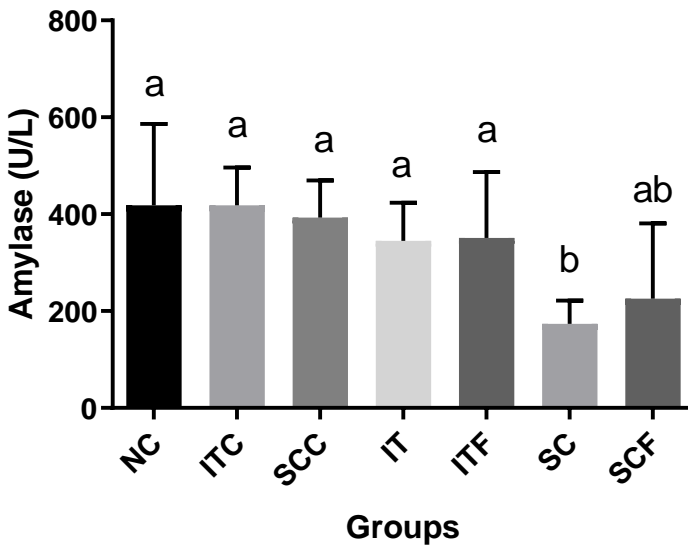
نمودار ۳-۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری لاکتات دهیدروژناز (LDH) در گروه‌های مورد مطالعه، حروف مشابه نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار میان گروه‌ها در این پارامتر می‌باشد ($p > 0.05$)

(NC): گروه کنترل نرمال بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا آنتی بیوتیک، ITC: گروه کنترل برای روش القای داخل نایی، SCC: گروه کنترل برای روش القای زیرجلدی، IT: گروه القا شده به روش داخل نایی، ITF: گروه القا شده به روش داخل نایی و دریافت کننده آنتی بیوتیک، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF: گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده آنتی بیوتیک)

آنالیز آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری لاکتات دهیدروژناز (LDH) نشان داد، گروه‌های کنترل با هم تفاوت معناداری در این فاکتور ندارند ($p>0.05$). همچنین چهار گروه تیمار نیز با گروه‌های کنترل تفاوت معناداری نداشتند ($p>0.05$).

۴-۴- نتایج اندازه‌گیری آمیلاز (Amylase)

نتایج حاصل از اندازه‌گیری آمیلاز (Amylase) به شرح نمودار ۴-۴ می‌باشد.



نمودار ۴-۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری آمیلاز (Amylase) در گروه‌های مورد مطالعه، حروف نامشابه نشانگر تفاوت معنی‌دار میان گروه‌ها در این پارامتر می‌باشد ($p<0.05$)

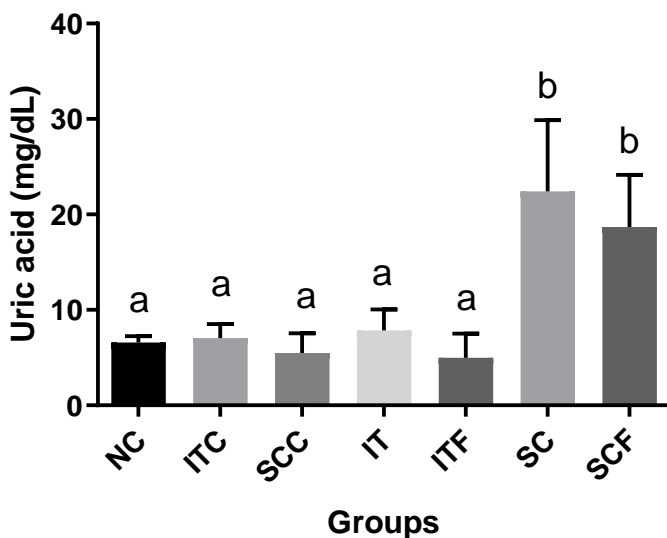
(NC: گروه کنترل نرمال بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا آنتی بیوتیک، ITC: گروه کنترل برای روش القای داخل نایی، SCC: گروه کنترل برای روش القای زیرجلدی، IT: گروه القا شده به روش داخل نایی، ITF: گروه القا شده به روش داخل نایی و دریافت کننده آنتی بیوتیک، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF: گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده آنتی بیوتیک)

آنالیز آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری آمیلاز (Amylase) نشان داد تفاوت معناداری میان گروه‌های کنترل وجود ندارد ($p>0.05$). همچنین نشان داد گروه SC نسبت به گروه SCC تفاوت معناداری نشان می‌دهد ($p=0.0012$) درحالی که تفاوت گروه IT با ITC و نیز IT

با ITF و SC با SCF معنادار نیست ($p > 0.05$).

۴-۵- نتایج اندازه‌گیری اوریک اسید (Uric Acid)

نتایج حاصل از اندازه‌گیری اوریک اسید (Uric Acid) به شرح نمودار ۴-۵ می‌باشد.



نمودار ۴-۵- نتایج حاصل از اندازه‌گیری اوریک اسید (Uric acid) در گروه‌های مورد مطالعه،

حروف نامشابه نشانگر تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

(NC: گروه کنترل نرمال بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا آنتی

بیوتیک، ITC: گروه کنترل برای روش القای داخل نایی، SCC: گروه کنترل برای روش

القای زیرجلدی، IT: گروه القا شده به روش داخل نایی، ITF: گروه القا شده به روش

داخل نایی و دریافت کننده آنتی بیوتیک، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF:

گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده آنتی بیوتیک)

نتایج حاصل از مقایسه اوریک اسید (Uric acid) در گروه‌های مختلف نشان داد بین اعضای

گروه‌های کنترل تفاوت معناداری وجود ندارد ($p > 0.05$). مقایسه گروه IT با گروه ITC

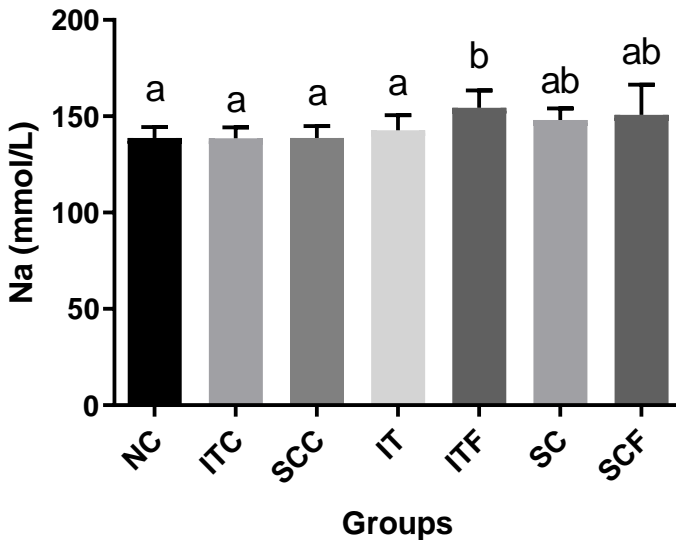
تفاوت معناداری را نشان نمی‌دهد ($p > 0.05$)، درحالی که مقایسه بین گروه

گروه SC و SCC تفاوت معناداری را نشان می‌دهد ($p < 0.0001$). همچنین بین گروه‌های IT

با ITF و SC با SCF معنادار نیست ($p > 0.05$).

۴-۶- نتایج اندازه‌گیری سدیم

نتایج حاصل از اندازه‌گیری سدیم در نمودار ۴-۶ نشان داده شده است



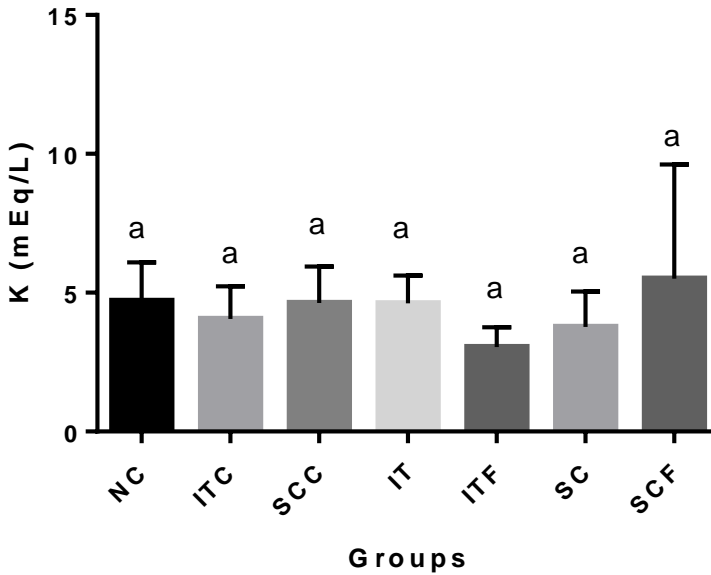
نمودار ۴-۶ نتایج حاصل از اندازه‌گیری سدیم در گروه‌های مورد مطالعه، حروف نامشابه نشانگر تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

NC: گروه کنترل نرمال بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا آنتی بیوتیک، ITC: گروه کنترل برای روش القای داخل نایی، SCC: گروه کنترل برای روش القای زیرجلدی، IT: گروه القا شده به روش داخل نایی، ITF: گروه القا شده به روش داخل نایی و دریافت کننده آنتی بیوتیک، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF: گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده آنتی بیوتیک

نتایج حاصل از اندازه‌گیری سدیم در گروه‌های مختلف نشان داد بین اعضای گروه‌های کنترل تفاوت معناداری وجود ندارد ($p > 0.05$). تفاوت بین دو گروه IT و SC با گروه‌های کنترل معنادار نبود ($p > 0.05$). تفاوت بین گروه ITF با IT معنادار بوده است ($p = 0.0141$). همچنین تفاوت بین گروه SC با SCF نیز معنادار نبود ($p > 0.05$).

۷-۴- نتایج اندازه‌گیری پتاسیم

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان پتاسیم به شرح نمودار ۴-۷ می‌باشد.



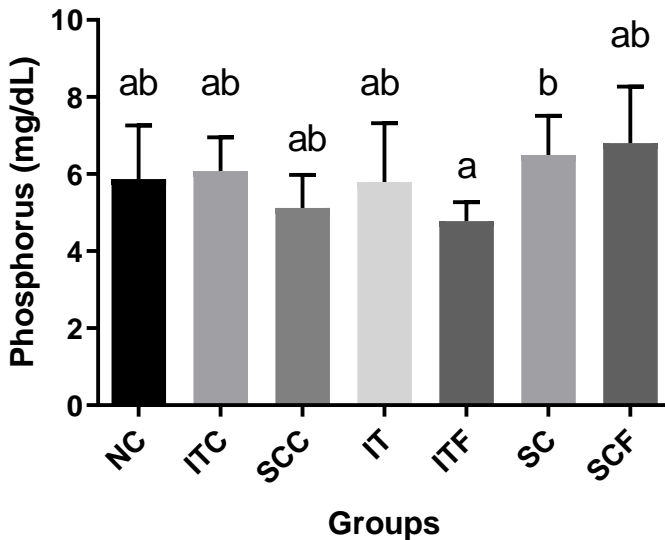
نمودار ۴-۷ نتایج حاصل از اندازه‌گیری پتاسیم در گروه‌های مورد مطالعه، حروف مشابه نشانگر عدم تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشد ($p > 0.05$)

(NC: گروه کنترل نرمال بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا آنتی بیوتیک، ITC: گروه کنترل برای روش القای داخل نایی، SCC: گروه کنترل برای روش القای زیرجلدی، IT: گروه القا شده به روش داخل نایی، ITF: گروه القا شده به روش داخل نایی و دریافت کننده آنتی بیوتیک، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF: گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده آنتی بیوتیک)

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پتاسیم نشان داد بین گروه‌های کنترل تفاوت معناداری را نشان نداد ($p > 0.05$). همچنین چهار گروه تیمار نیز با گروه‌های کنترل تفاوت معناداری نداشتند ($p > 0.05$).

۴-۸- نتایج اندازه‌گیری فسفر (Phosphorus)

نتایج حاصل از اندازه‌گیری فسفر (Phosphorus) به شرح نمودار ۴-۸ می‌باشد.



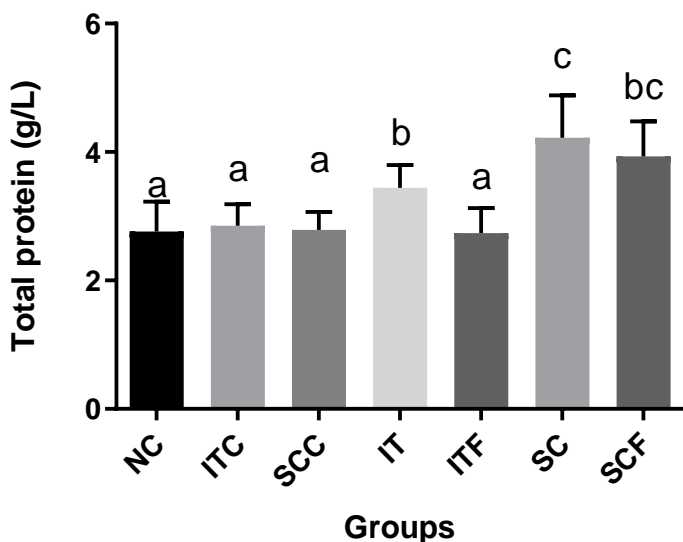
نمودار ۴-۸ نتایج حاصل از اندازه‌گیری فسفر (Phosphorus) در گروه‌های مورد مطالعه، حروف نامشابه نشانگر تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

NC: گروه کنترل نرمال بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا آنتی بیوتیک، ITC: گروه کنترل برای روش القای داخل نایی، SCC: گروه کنترل برای روش القای زیرجلدی، IT: گروه القا شده به روش داخل نایی، ITF: گروه القا شده به روش داخل نایی و دریافت کننده آنتی بیوتیک، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF: گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده آنتی بیوتیک

نتایج حاصل از اندازه‌گیری فسفر (Phosphorus) نشان داد بین گروه‌های کنترل تفاوت معناداری را نشان نداد ($p > 0.05$). همچنین چهار گروه تیمار نیز با گروه‌های کنترل تفاوت معناداری نداشتند ($p > 0.05$). مقایسه بین گروه‌های SC و ITF تفاوت معناداری را نشان می‌دهد ($p = 0.0201$).

۹-۴- نتایج اندازه‌گیری میزان پروتئین تام سرم (Total Protein)

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پروتئین تام سرم (Total Protein) در نمودار ۹-۴ نشان داده شده است.



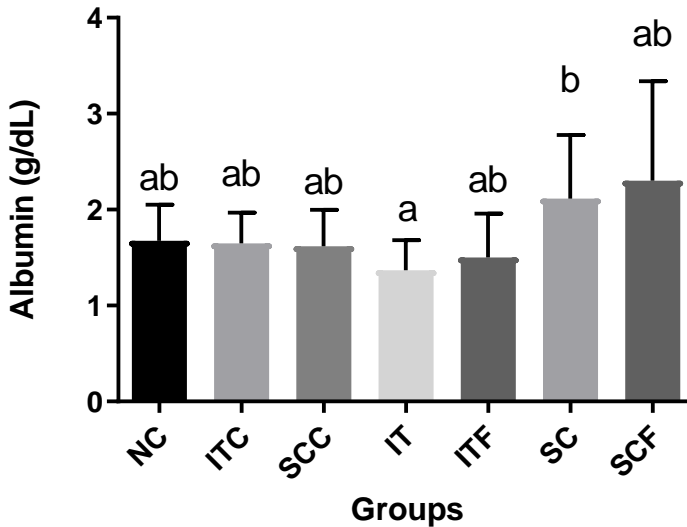
نمودار ۹-۴- نتایج حاصل از اندازه‌گیری پروتئین تام سرم (Total Protein) در گروه‌های مورد مطالعه، حروف نامشابه نشانگر تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

NC: گروه کنترل نرمال بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا آنتی بیوتیک، ITC: گروه کنترل برای روش القای داخل نایی، SCC: گروه کنترل برای روش القای زیرجلدی، IT: گروه القا شده به روش داخل نایی، ITF: گروه القا شده به روش داخل نایی و دریافت کننده آنتی بیوتیک، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF: گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده آنتی بیوتیک

نتایج حاصل از اندازه‌گیری پروتئین تام سرم (Total Protein) در گروه‌های مختلف نشان داد بین اعضای گروه کنترل تفاوت معناداری وجود ندارد ($p > 0.05$). مقایسه گروه IT با ITC ($p = 0.0117$) و SC با SCC ($p < 0.0001$) تفاوت معناداری نشان می‌دهد. همچنین تفاوت میان گروه ITF با IT ($p = 0.0128$) نیز معنادار بود اما ITF مشابه گروه‌های کنترل بود ($p > 0.05$), همچنین در مقایسه میان گروه‌ها SCF با SC تفاوت معنادار نبود ($p > 0.05$), اما گروه SCF با گروه‌های کنترل تفاوت معناداری نشان داد ($p = 0.0024$).

۴-۱۰- نتایج اندازه‌گیری آلبومین (Albumin) سرم

نتایج حاصل از اندازه‌گیری آلبومین (Albumin) سرم در نمودار ۴-۱۰ نشان داده شده است.



نمودار ۴-۱۰ نتایج حاصل از اندازه‌گیری آلبومین (Albumin) سرم در گروه‌های مورد مطالعه،

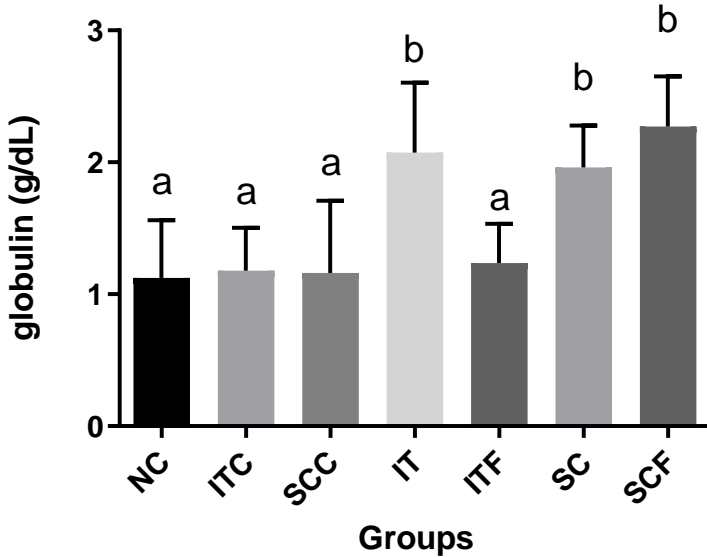
حروف نامشابه نشانگر تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$)

(NC: گروه کنترل نرمال بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا آنتی بیوتیک، ITC: گروه کنترل برای روش القای داخل نایی، SCC: گروه کنترل برای روش القای زیرجلدی، IT: گروه القا شده به روش داخل نایی، ITF: گروه القا شده به روش داخل نایی و دریافت کننده آنتی بیوتیک، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF: گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده آنتی بیوتیک)

نتایج حاصل از اندازه‌گیری آلبومین (Albumin) سرم نشان داد بین گروه‌های کنترل تفاوت معناداری وجود ندارد ($p > 0.05$). همچنین چهار گروه تیمار نیز با گروه‌های کنترل تفاوت معناداری نداشتند ($p > 0.05$). مقایسه بین گروه‌های SC و IT تفاوت معناداری را نشان می‌دهد ($p = 0.0128$).

۴-۱۱- نتایج اندازه‌گیری گلوبولین سرم

نتایج حاصل از اندازه‌گیری گلوبولین (Globulin) سرم در نمودار ۴-۱۱ نشان داده شده است.



نمودار ۴-۱۱- نتایج حاصل از اندازه‌گیری گلوبولین (Globulin) سرم در گروه‌های مورد مطالعه، حروف نامشابه نشانگر تفاوت آماری معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

(NC): گروه کنترل نرمال بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا آنتی بیوتیک، ITC: گروه کنترل برای روش القای داخل نایی، SCC: گروه کنترل برای روش القای زیرجلدی، IT: گروه القا شده به روش داخل نایی، ITF: گروه القا شده به روش داخل نایی و دریافت کننده آنتی بیوتیک، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF: گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده آنتی بیوتیک)

آنالیز آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری گلوبولین (Globulin) نشان داد، سه گروه کنترل با یکدیگر تفاوت معناداری ندارند ($p > 0.05$). مقایسه نتایج گروه‌های IT ($p < 0.0001$) و SC ($p = 0.0008$) با گروه‌های کنترل تفاوت معناداری نشان می‌دهند. شاخص معناداری در مورد دو گروه IT و ITF به صورت معنی‌دار بود ($p = 0.0212$), در حالی که مقایسه دو گروه SC با SCF معنی‌دار نبود ($p > 0.05$).

۴-۱۲- بحث و نتیجه گیری

در مطالعات مختلف روش‌های متفاوتی برای القای کلی باسیلوز در جوجه‌های گوشتی بکار رفته است که از آن جمله می‌توان به روش‌های زیر پوستی، داخل نایی، داخل بینی، آئروسول، داخل وریدی، داخل کیسه هوایی، داخل صفاقی اشاره کرد. نتایج به دست آمده از این پژوهش‌ها نشان دهنده این مساله می‌باشد که هرکدام از این روش‌ها با درجاتی از موفقیت و محدودیت مواجه می‌باشد. در مطالعه حاضر دو مدل القای کلی باسیلوز (داخل نایی و زیر پوستی) در طیور گوشتی از نظر برخی پارامترهای سرمی مرتبط با کبد و کلیه و نیز اثر فلورفیکل بر پارامترهای مذکور در هر دو روش القا به صورت موفقیت آمیزی مورد مقایسه قرار گرفتند. با توجه به نتایج به دست آمده از ارزیابی پارامترهای مورد نظر به نظر می‌رسد تلقیح باکتری ایکلاهی سویه O2 از طریق دو روش داخل نایی و تزریق زیر پوستی از نظر معیارهای مورد مقایسه در این مطالعه دارای نتایج متفاوت و قابل مقایسه‌ای بوده است.

سنجش فعالیت آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) در سرم اگرچه به عنوان یکی از پارامترهای تعیین بیماری‌های کبدی در پرندگان به کار گرفته می‌شوند، اما این آنزیم اختصاصی آسیب سلول‌های کبد نیست. در واقع فعالیت این آنزیم به عنوان یک شاخص بسیار حساس اما غیر اختصاصی عملکرد کبد در پرندگان به کار گرفته می‌شود افزایش عملکرد آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) نیز اگرچه می‌تواند نشانگر آسیب کبدی باشد اما این آنزیم ویژگی پایینی برای نشان دادن آسیب‌های کبدی دارد (هارر، ۲۰۰۲). در مطالعه حاضر القای کلی باسیلوز با هر دو روش داخل نایی و زیرپوستی موجب ایجاد تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت سرمی دو آنزیم AST و LDH در گروه‌های بیمار در مقایسه با گروه‌های کنترل نشد. همچنان درمان با آنتی‌بیوتیک نیز تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت این آنزیم‌ها ایجاد نمود. در مطالعه صورت گرفته توسط شارما و همکاران در سال ۲۰۱۵، سوسپانسیون باکتری اشریشیا کلای سویه O78 به مرغ‌های ۱۹۲ روزه به میزان 10^7 CFU با روش داخل صفاقی تزریق شد و نمونه‌گیری ۲ و ۴ روز بعد از القای باکتری انجام دادند. نتایج پژوهش یادشده، افزایش معنی‌داری در فعالیت سرمی آنزیم‌های AST و LDH در این مرغ‌ها را نشان داد (شارما و همکاران، ۲۰۱۵). در مطالعه شاهین و الفر در سال ۲۰۱۳، باکتری *E. coli* سویه O78 به طیور ۲۳ روزه به روش خوراکی و میزان 10^9 CFU/ml داده شد و در روزهای ۲ و ۴ پس از تلقیح خون‌گیری انجام دادند که موجب افزایش معنی‌دار AST در هر دو نوبت نمونه‌گیری شده است (شاهین و الفر، ۲۰۱۳). اما در مطالعه صورت گرفته توسط طباطبایی و همکاران در سال ۲۰۱۵، القای باکتری اشریشیا کلای O157: H7 به میزان 10^8 CFU با تزریق زیرپوستی به جوجه‌های ۳۲ روزه و نمونه‌گیری سه روز پس از تلقیح، موجب ایجاد تغییر معناداری در فعالیت سرمی LDH و AST در مقایسه با جوجه‌های سالم نشد (طباطبایی و همکاران، ۲۰۱۵). به نظر

می‌رسد که روش القای کلی باسیلوز تاثیر مهمی در ایجاد آسیب کبدی ناشی از این باکتری داشته باشد. احتمالاً در روش داخل صفاقی در مقایسه با روش‌های زیرپوستی و داخل نایی، کبد سریع‌تر در مواجهه با تعداد بالای باکتری قرار گرفته و متعاقباً آسیب کبدی شدیدتری ایجاد می‌شود. در مطالعه صابری و همکاران در سال ۱۴۰۱، جوجه‌های دچار کلی باسیلوز القا شده با روش داخل نایی و زیرپوستی مورد مطالعه قرار گرفت که در کالبد گشایی ضایعات خاصی در کبد مشاهده نشده بود. ضایعات کبدی در مطالعه صابری و همکاران محدود به پری هپاتیت بود و پارانیشیم کبد سالم بود (صابری و همکاران، ۱۴۰۱). در کل موارد فوق می‌تواند دلیلی برای غیرمعنی‌دار بودن تغییرات دو پارامتر کبدی AST و LDH در جوجه‌های دچار کلی باسیلوز در مطالعه حاضر باشد. از آنجایی که هر دو مطالعه شارما و همکاران (۲۰۱۵) به روش داخل صفاقی و شاهین و الفر (۲۰۱۳) به روش خوراکی، از باکتری سویه O78 کردند و افزایش فعالیت آنزیم AST و ضایعات کبدی مشاهده شد، این احتمال نیز وجود دارد که سویه‌ی باکتری مورد استفاده نیز بر روی پارامترهای کبدی اثرگذار بوده باشد. در این مطالعه درمان با فلورفینیکل میزان فعالیت آنزیم AST را در مقایسه با گروه کنترل مثبت تغییر نداد. در مطالعه شاهین و الفر در سال ۲۰۱۳، باکتری *E. coli* سویه‌ی O78 به طيور ۲۳ روزه به روش خوراکی به میزان 10^9 CFU/ml داده شد و برای درمان از فلورفینیکل استفاده شده است که نشان داد داروی فلورفینیکل میزان فعالیت آنزیم AST را کاهش داده است (شاهین و الفر، ۲۰۱۳). در مطالعه حاضر هیچ گونه تغییری در میزان فعالیت آنزیم AST در گروه‌های درمان شده با فلورفینیکل در مقایسه با گروه‌های چالش داده شده مشاهده نشد.

آنزیم کراتین کیناز (CK) یک آنزیم اختصاصی ماهیچه است که می‌تواند در پرندگان به منظور نشان دادن آسیب سلول‌های ماهیچه‌ای استفاده شود. نکته بسیار مهم این است که عفونت‌های سیستمیک که موجب آسیب عضلانی یا قلبی شوند نیز می‌توانند موجب افزایش قابل توجه فعالیت این آنزیم شوند (کمپبل، ۱۹۸۸). در مطالعه حاضر افزایش بسیار شدید میزان فعالیت سرمی آنزیم CK در پرندگان چالش داده شده با باکتری اشیریشیا کلای در مقایسه با گروه‌های کنترل مشاهده شد. طباطبایی و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵، افزایش معنی‌دار آنزیم CK را در سرم جوجه‌های دچار کلی باسیلوز گزارش کردند (طباطبایی و همکاران، ۲۰۱۵). در مطالعه صورت گرفته توسط داروسا و همکاران در سال ۲۰۱۹، گزارش شد که میزان فعالیت آنزیم CK در سرم مرغ‌های تخم‌گذار که دارای علائم بالینی بیماری کلی باسیلوز بودند در مقایسه با مرغ‌های سالم افزایش محسوسی نشان می‌دهد. در این مطالعه درمان مرغ‌ها با نورفلوکساسین و کلیستین، CK سرم در این پرندگان را کاهش داد (داروسا و همکاران، ۲۰۱۹). اما در مطالعه حاضر تجویز فلورفینیکل کاهش قابل توجهی در ضایعات آنزیم CK در مقایسه با گروه‌های درمان نشده ایجاد ننمود. غلامی آهنگران و همکاران در سال

۲۰۲۲، نشان دادند که تجویز فلورفینیکل به جوجه‌های ۲۱ روزه سالم موجب افزایش مختصر و غیرمعنی‌دار میزان CK سرمی در مقایسه با جوجه‌های سالم می‌شود (غلامی آهنگران و همکاران، ۲۰۲۲). در مطالعه صابری و همکاران در سال ۱۴۰۱، جوجه‌های دچار کلی باسیلوز القا شده با روش داخل نایی و زیرپوستی مورد مطالعه قرار گرفت که در کالبد گشایی سلولیت در سلول‌های عضلانی و همچنین جراحات کالبدگشایی قلب نظیر پریکاردیت مشاهده شده بود اما میوزیت ذکر نشده بود (صابری و همکاران، ۱۴۰۱). در مطالعه حاضر احتمالاً افزایش شدید آنزیم CK به دلیل سپتی سمی ناشی از بیماری بوده است.

آمیلاز یکی از مواردی است که دفع کلیوی دارد و بنابراین آسیب به کلیه و مواردی که منجر به تغییر فیلتراسیون گلومرولی می‌شود، منجر به کاهش آمیلاز سرم می‌شود. در کنار بیماری‌های کلیوی، دهیدراسیون نیز می‌تواند منجر به کاهش آمیلاز سرم شود (نظیفی، ۱۹۹۷). آمیلاز به صورت غیرفعال یا از طریق ترشح شدن از سیستم ادراری دفع می‌شود. هر علتی که باعث ایجاد ازوتمی شود برای مثال کاهش فیلتراسیون گلومرولی کلیه، آسیب سلول‌های کلیوی و نارسایی کلیوی ممکن است منجر به تغییرات غلظت سرمی آمیلاز شود (لینگ و همکاران، ۲۰۱۶). در مطالعه حاضر گروه آلوده شده به روش زیرپوستی کاهش معناداری را در مقایسه با گروه‌های کنترل نشان داد، در حالیکه تفاوت بین میزان آمیلاز گروه آلوده شده با روش داخل نایی و گروه‌های کنترل معنی‌دار نبود. مقایسه‌ی میزان آمیلاز بین گروه تلقیح شده با باکتری به روش زیرپوستی (SC) و گروهی که پس از القای زیرپوستی داروی فلوفنیکل دریافت کردند (SCF)، تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. در مطالعه لینگ و همکاران در سال ۲۰۱۶، اثرات مکمل غذایی پروبیوتیک کلستریودیوم بوتیریوم بر عملکرد رشد، پاسخ ایمنی و سرمی آنزیم‌ها در جوجه‌های گوشتی چالش شده با اشیریشیا کلای K88 به روش خوراکی مورد مطالعه قرار گرفت که چالش با اشیریشیا کلای به طور قابل توجهی فعالیت آمیلاز را در گروه‌های آلوده به باکتری کاهش داد اما تفاوت معنی‌داری در فعالیت آمیلاز بین گروه‌های دریافت کننده پروبیوتیک با گروه‌های کنترل در طول کل آزمایش مشاهده نشد (لینگ و همکاران، ۲۰۱۶). همسو با مطالعه لینگ و همکاران به نظر می‌رسد روش القای باکتری تاثیر قابل توجهی در تغییرات آمیلاز دارد به طوری که در روش زیرپوستی میزان آمیلاز به شدت تحت تاثیر قرار می‌گیرد. همچنین داروی فلورفینیکل اثر مناسبی جهت بازگرداندن آمیلاز به سطح طبیعی داشته است. در پژوهش صابری و همکاران (۱۴۰۱)، در مشاهده علائم بالینی، عدم تمایل به خوردن آب و در بررسی کالبدگشایی، آسیب به کلیه‌ها در گروه تلقیح شده به روش زیرپوستی مشاهده شده است در حالی که علائم کالبدگشایی در گروه تلقیح شده به روش داخل نایی، آسیب کلیوی را نشان نداده بود. این عوامل احتمالاً می‌تواند دلیلی برای کاهش آمیلاز در گروه تلقیح شده به روش زیرپوستی باشد.

اسید اوریک توسط کبد تولید شده و از طریق کلیه‌ها دفع می‌شود. اگر اسید اوریک به درستی از جریان خون خارج نشود، شروع به متبلور شدن کرده و در نقاط مختلف بدن پرنده جمع می‌شود. این به خودی خود سمی یا مضر نیست، اما تجمع کریستال‌ها می‌تواند به شدت به بافت‌ها آسیب برساند. اندازه‌گیری اوریک اسید شاخصی از سلامت کلیه پرندگان است (لایفوت و همکاران، ۲۰۰۸). در مطالعه حاضر گروه‌هایی که با روش زیرپوستی چالش داده شدند در مقایسه با روش داخل نایی و همچنین گروه‌های کنترل افزایش معناداری را در این فاکتور سرمی نشان دادند. در مطالعه گادبول و همکاران در سال ۲۰۱۸، تعداد نود مرغ ۳۰ روزه بوسیله باکتری اشیریشیا کلای به روش خوراکی چالش داده شدند و دو گروه با سفالکسین کورکومین تحت درمان قرار گرفتند و ۵ روز پس از درمان خون‌گیری انجام دادند. در این مطالعه سطوح سرمی اسید اوریک گروه چالش یافته با اشیریشیا کلای در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافت (گادبول و همکاران، ۲۰۱۸). در مطالعه حاضر همسو با مطالعه گادبول و همکاران (۲۰۱۸)، افزایش میزان اوریک اسید در گروه‌های چالش داده شده به روش زیرپوستی مشاهده شد، درحالی‌که تغییرات اوریک اسید در گروه تلقیح شده به روش داخل نایی معنی‌دار نبوده و هم سطح با گروه کنترل بود. با توجه به تغییرات رخ داده، احتمالاً روش تلقیح در تغییرات میزان اوریک اسید موثر می‌باشد. در مطالعه ابراهیم و همکاران در سال ۲۰۲۲، عملکردهای سد روده و بیان ژن مرتبط با سیتوکین‌ها با پیامدهای کاهش شدت عفونت ایجاد شده توسط اشیریشیا کلای سویه O78، بررسی شد. در این پژوهش در سن ۱۴ روزگی با روش خوراکی از 10^8 CFU/ml باکتری جهت تلقیح استفاده شد و یک هفته بعد خون‌گیری انجام شده است. در نتایج این مطالعه پرندگان چالش داده شده با اشیریشیا کلای افزایشی در فعالیت اسید اوریک نشان دادند که می‌تواند به دلیل اثرات مضر عفونت باکتریایی بر بافت کلیه باشد (ابراهیم و همکاران، ۲۰۲۲). در مطالعه شاهین و الفر در سال ۲۰۱۳، باکتری *E. coli* سویه O78 به طيور ۲۳ روزه به روش خوراکی و میزان 10^9 CFU/ml داده شد و برای درمان از فلورفنیکل استفاده شده است و در روزهای ۲ و ۴ پس از تلقیح خون‌گیری انجام دادند. در گروه چالش یافته با باکتری، افزایش میزان اوریک اسید معنی‌دار بود. همچنین در پژوهش این محققین مقایسه‌ی میزان اوریک اسید بین گروه درمان شده با فلورفنیکل و گروه چالش یافته با باکتری بدون درمان با فلورفنیکل، کاهش میزان اوریک اسید در گروه درمان شده را نشان داد که از اثرات درمانی دارو ذکر شده است (شاهین و الفر، ۲۰۱۳). همراستا با مطالعه صابری و همکاران (۱۴۰۱)، که آسیب شدید کلیه و همچنین رسوب اورات را در کالبدگشایی گروه تلقیح شده به روش زیرپوستی مشاهده کردند، افزایش اوریک اسید در مطالعه حاضر نیز احتمالاً به دلیل آسیب کلیوی در گروه تلقیح شده به روش زیرپوستی می‌باشد. از آنجا که در گروه تلقیح شده به روش داخل نایی تغییرات اوریک اسید معنی‌دار نبود، به نظر می‌رسد روش

تلقیح تاثیر قابل توجهی در تغییرات اوریک اسید دارد. در مطالعه حاضر هیچ گونه تغییری در میزان اوریک اسید سرم در گروه‌های درمان شده با فلورفنیکل در مقایسه با گروه‌های چالش داده شده مشاهده نشد.

سدیم و پتاسیم نقش مهمی در حفظ تعادل اسید و باز بدن و همچنین فشار اسمزی در مایعات بدن دارند. این فرآیندها نتیجه کنش هم افزایی هر دو عنصر است و تعریف نقش هر یک از اجزای جداگانه بدون شناخت و در نظر گرفتن عنصر دیگر دشوار است. حفظ این مقدار توسط دو عامل اصلی تعادل و نسبت الکترولیت ها در خوراک، تولید اسید درون زا و سطح فعالیت کلیوی تعیین می‌شود. عدم تعادل الکترولیت بسیار نادر است، زیرا سیستم بافر کننده بدن مقدار pH فیزیولوژیکی طبیعی را حفظ می‌کند (بالوس و همکاران، ۲۰۱۶). پتاسیم خون از طریق کلیه‌ها و تحت تاثیر هورمون آلدسترون دفع می‌شود. درحالی که آلدسترون باعث حفظ شدن سدیم در خون و عدم دفع آن از کلیه‌ها می‌شود که در این حالت افزایش میزان سدیم خون را نشان می‌دهد. این افزایش میزان سدیمی می‌تواند در مواردی مانند دهیدراسیون و آسیب کلیه‌ها بروز پیدا کند (نظیفی، ۱۹۹۷). کمبود پتاسیم در عمل به ندرت مشاهده می‌شود زیرا مخلوط‌های استاندارد خوراک طیور حاوی بیش از ۱٪ پتاسیم هستند و خوراک که ۰/۱٪ پتاسیم دارد، از لحاظ سطح پتاسیمی فقیر در نظر گرفته می‌شود (بالوس و همکاران، ۲۰۱۶). در مطالعه حاضر مقایسه‌ی بین سطح سرمی پتاسیم در گروه‌های چالش یافته با باکتری و و گروه‌های چالش یافته با باکتری و درمان شده با فلورفنیکل، نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. در مطالعه گادبول و همکاران در سال ۲۰۱۸، اثر زردچوبه بر تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی سرم طیور ۳۰ روزه پس از عفونت با باکتری *E. coli* سویه O78 به میزان ۱۰^۶ CFU/ml به شیوه خوراکی، بررسی شد که نتایج مطالعه نشان داد تفاوت معنی‌داری در میزان پتاسیم سرم، میان گروه‌های چالش یافته با باکتری و درمان شده با زردچوبه نسبت به گروه کنترل وجود ندارد (گادبول و همکاران، ۲۰۱۸). در مطالعه حاضر همسو با مطالعه گادبول و همکاران (۲۰۱۸)، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های چالش یافته با باکتری و درمان شده با فلورفنیکل نسبت به گروه‌های کنترل مشاهده نشد. غلامی آهنگران و همکاران در سال ۲۰۲۲، نشان دادند سطح پتاسیم سرم متعاقب تجویز فلورفنیکل به جوجه‌های ۲۱ روزه سالم، تغییر معنی‌دار ندارد (غلامی آهنگران و همکاران، ۲۰۲۲). در مطالعه حاضر همسو با مطالعه غلامی آهنگران و همکاران (۲۰۲۲)، تغییرات پتاسیم سرم گروه‌های دریافت کننده فلورفنیکل در مقایسه با گروه‌هایی که دارو دریافت نکرده بودند و نیز گروه کنترل معنی‌دار نیست.

در مطالعه گادبول و همکاران در سال ۲۰۱۸، تغییرات سطح سرمی سدیم گروه چالش یافته با باکتری و گروه کنترل، معنی‌دار نبود (گادبول و همکاران، ۲۰۱۸). در مطالعه‌ی حاضر همسو با مطالعه‌ی گادبول و همکاران (۲۰۱۸)، سطح سدیم در گروه‌های چالش یافته با باکتری

تغییرات غیرمعنی داری با گروه کنترل نشان می‌دهند. در مطالعه‌ی غلامی آهنگران و همکاران (۲۰۲۲)، یکی از معیارهای ارزیابی اثرات ترکیبی فلورفینیکول و لاسالوسید، بررسی ویژگی هیستوپاتولوژیک کبد و کلیه و فعالیت آنزیمی کبد و کلیه به عنوان دو اندام هدف در متابولیسم و دفع اکثر داروها از جمله فلورفینیکول و لاسالوسید، بود. مقایسه اسید اوریک (به عنوان شاخص آنزیمی فعالیت کلیه)، سدیم و پتاسیم نشان می‌دهد که مصرف همزمان این دو ترکیب ممکن است بار متابولیکی بیشتری بر کلیه وارد کند، که منجر به افزایش غیرمعنی‌دار سطح سدیم سرم در گروه‌های دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک می‌شود. نتایج هیستوپاتولوژیک کلیه در مطالعه‌ی غلامی آهنگران و همکاران (۲۰۲۲)، افزایش غیرمعنی‌دار آسیب‌های بافت شناسی کلیه در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده دارو را نشان می‌دهند. در مطالعه حاضر همسو با مطالعه غلامی آهنگران و همکاران (۲۰۲۲)، افزایش غیرمعنی‌دار سدیم در گروه تلقیح شده به روش زیرپوستی و دریافت‌کننده فلورفینیکل (SCF) نسبت به گروه تلقیح شده به روش زیرپوستی (SC) وجود داشت. همچنین سطح سرمی سدیم در گروه‌های چالش یافته به روش داخل نایی و دریافت‌کننده فلورفینیکل (ITF) نسبت به گروه چالش یافته با باکتری به روش داخل نایی (IT)، افزایش معنی‌داری را نشان داد. به نظر نمی‌رسد روش القای باکتری اثری بر میزان سدیم سرم داشته باشد. داروی فلورفینیکل می‌تواند اثرات جانبی خود را به شکل افزایش سطح سرمی سدیم نشان دهد.

فسفر یک ماده معدنی ضروری برای جوجه‌های گوشتی است و نقش مهمی در بافت‌های نرم و سخت بدن دارد (ملو و همکاران، ۲۰۱۲). در مطالعه کومار و همکاران در سال ۲۰۰۳، جهت ارزیابی اثرات اکراتوکسین بر روی جوجه‌های گوشتی ۱۴ روزه مبتلا به اشیریشیا کلای سویه O78، هر پرند به میزان نیم میلی لیتر با سوسپانسیون باکتری 10^7 CFU/ml به صورت خوراکی چالش داده و خون‌گیری ۲، ۳ و ۵ روز پس از چالش انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد تغییرات فسفر در گروه‌های چالش داده شده و گروه کنترل معنی‌دار نبوده است (کومار و همکاران، ۲۰۰۳). در مطالعه حاضر همسو با مطالعه کومار و همکاران تغییرات معنی‌داری در مقایسه فسفر گروه‌های تیمار و کنترل مشاهده نشد. بنابراین به نظر نمی‌رسد که روش تلقیح باکتری اثری روی تغییرات فسفر سرم داشته باشد. همچنین درمان با داروی فلورفینیکل در هر دو روش تلقیح تأثیری بر میزان فسفر سرمی نداشته است.

پروتئین‌های خون نقش‌های فیزیولوژیکی متعددی در بدن و حفظ هموستاز دارند. تعیین غلظت آن‌ها در پرندگان برای ارزیابی وضعیت سلامت و بهبودی و همچنین وضعیت بدن از اهمیت استثنایی برخوردار است (توتوا و همکاران، ۲۰۱۹). التهاب یا آسیب بافتی باعث آزاد شدن سیتوکین‌های التهابی مانند IL-1، IL-6 و فاکتور نکروز کننده تومور می‌شود که غلظت پروتئین تام سرم را تغییر می‌دهد. همچنین دهیدراسیون نیز می‌تواند موجب افزایش پروتئین

تام سرم شود (نظیفی و همکاران، ۲۰۱۱). در مطالعه شاهین و الفر در سال ۲۰۱۳ که باکتری *E. coli* سویه O78 به طیور ۲۳ روزه به روش خوراکی به میزان 10^9 CFU/ml داده شد و برای درمان از فلورفنیکل استفاده شده و در روزهای ۲ و ۴ پس از تلقیح خون‌گیری انجام دادند، پروتئین تام و آلبومین و گلوبولین کاهش معنی‌داری یافته بود (شاهین و الفر، ۲۰۱۳). در مطالعه کرومان و همکاران در سال ۲۰۲۲، که طیور ۲۳ روزه به روش خوراکی با باکتری *E. coli* سویه O78 به میزان 10^9 CFU/ml چالش داده شد، میزان آلبومین و پروتئین تام تغییرات معنی‌داری را نشان نداد (کرومان و همکاران، ۲۰۲۲). در مطالعه کرومان و همکاران در سال ۲۰۲۲، که طیور ۲۹ هفته به روش خوراکی با باکتری *E. coli* سویه ST117 به میزان 10^9 CFU/ml چالش داده شد، تغییرات آلبومین و پروتئین تام معنی‌دار نبود اما افزایش معنی‌داری در سطح سرم آمیلوئید A و هاپتوگلوبولین که پروتئین‌های فاز حاد هستند، رخ داده که در نتیجه التهاب بوده است (کرومان و همکاران، ۲۰۲۲). در مطالعه حاضر پروتئین تام و گلوبولین سرم در هر دو گروه تلقیح شده به روش زیرپوستی و داخل نایی، افزایش معنی‌داری در سطح پروتئین تام سرم نشان دادند. همچنین مقایسه بین گروه‌های درمان شده با فلورفنیکل نسبت به گروه‌های تلقیح شده با باکتری، کاهش معنی‌دار سطح پروتئین تام و گلوبولین سرم گروه تلقیح یافته با باکتری و درمان شده با فلورفنیکل (ITF) را نسبت به گروه تلقیح شده به روش داخل نایی (IT) نشان می‌دهد. این پارامترها در گروه‌های تلقیح شده به روش زیرپوستی (SC) با گروه تلقیح شده به روش زیرپوستی و درمان شده با فلورفنیکل (SCF) تغییر معنی‌داری نداشت. تغییرات آلبومین در هیچ کدام از گروه‌های تیمار تغییرات معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نداشتند. در مطالعه حاضر همسو با مطالعه کرومان و همکاران تغییر معنی‌داری در مقادیر آلبومین مشاهده نشد. تغییرات میزان گلوبولین و پروتئین تام سرم بر اساس پژوهش نظیفی و همکاران (۲۰۱۱) به دلیل التهاب ناشی از روند بیماری و نیز دهیدراسیون می‌باشد. همان گونه که در مطالعه صابری و همکاران (۱۴۰۱) ذکر شده دهیدراسیون در لاشه‌ها مشهود بوده است. به نظر می‌رسد روش تلقیح و همچنین سویه باکتری اثر زیادی بر تغییرات پروتئین‌های سرمی دارد به طوری که در مطالعه‌ی شاهین و الفر (۲۰۱۳) گروه‌های چالش یافته با باکتری سویه O78 به روش خوراکی تغییرات معنی‌داری در میزان سرمی پروتئین تام نشان ندادند. در حالی که در مطالعه شارما و همکاران (۲۰۱۵) که سویه O78 با روش داخل صفاقی تزریق شد، افزایش معنی‌دار گلوبولین سرم و کاهش معنی‌دار آلبومین و پروتئین تام سرم داشتند. همچنین در مطالعه کرومان و همکاران (۲۰۲۲) که مرغ‌ها با باکتری *E. coli* سویه ST117 به روش خوراکی چالش داده شد، تغییرات آلبومین و پروتئین تام معنی‌دار نبود. در مطالعه حاضر نیز روش تلقیح بر تغییرات پروتئین تام سرم و گلوبولین سرم اثرگذار بود. اثرگذاری داروی فلورفنیکل در کاهش روند التهاب و بهبود بیماری در کاهش

معنی‌دار گلوبولین سرم در گروه تلقیح شده با باکتری و درمان شده با فلورفنیکل (ITF) را نسبت به گروه تلقیح شده به روش داخل نایی (IT) نشان از اثرگذاری این آنتی‌بیوتیک در درمان این بیماری دارد. همسو با مطالعه صابری و همکاران (۱۴۰۱) که ذکر کردند گروه تلقیح شده با باکتری و درمان شده با فلورفنیکل (ITF) روند بهبود و شرایط بهتری نسبت به سایر گروه‌های تیمار داشتند، مطالعه حاضر نیز این روند را نشان می‌دهد.

در کل به نظر می‌رسد که استفاده از مدل‌های مختلف القای کلی باسیلوز می‌تواند باعث تفاوت‌های قابل توجه از نظر تاثیر بر فاکتورهای سرمی کبدی و کلیوی جوجه‌های گوشتی شود. به گونه‌ای که پارامترهای کلیوی در پرندگان تلقیح شده با روش زیرپوستی تغییرات قابل توجهی داشتند، در صورتی که پرندگان چالش داده شده به روش داخل نایی تغییرات قابل توجهی در پارامترهای کلیوی نداشتند. همچنین افزایش شدید آنزیم کراتینین که در همه گروه‌های تیمار مشاهده شد احتمالاً به دلیل سمی ناشی از بیماری بوده است. نکته دیگر اینکه پاسخ به درمان بعنوان یکی از معیارهای ایده آل بودن مدل‌های حیوانی، در روش القای داخل نایی بهتر از روش زیر پوستی است.

- Abu El Hammeda W, Hamdy S, EL-Shemya A, Fotouha A, Soad M. Nasra and Mohamed I. Dessouky (2022). Prophylactic Effect of Oregano in Chickens Experimentally Infected with Avian Pathogenic *Escherichia coli* O27 with Special Reference to Hematology, Serum Biochemistry, and Histopathology of Vital Organs (2022). Egyptian Journal of Chemistry , Egypt. J. Chem. Vol. 65, No. 6 pp. 269 - 282
- Afifi, N., & El- Sooud, K. A. (1997). Tissue concentrations and pharmacokinetics of florfenicol in broiler chickens. *British poultry science*, 38(4), 425-428.
- Agunos, A., Léger, D., & Carson, C. (2012). Review of antimicrobial therapy of selected bacterial diseases in broiler chickens in Canada. *The Canadian Veterinary Journal*, 53(12), 1289.
- Alber, A., Morris, K. M., Bryson, K. J., Sutton, K. M., Monson, M. S., Chintoan-Uta, C., . . . Kaiser, P. (2020). Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) strain-dependent immunomodulation of respiratory granulocytes and mononuclear phagocytes in CSF1R-reporter transgenic chickens. *Frontiers in immunology*, 10, 3055.
- Ali, A., Kolenda, R., Khan, M. M., Weinreich, J., Li, G., Wieler, L. H., . . . Schierack, P. (2020). Novel avian pathogenic *Escherichia coli* genes responsible for adhesion to chicken and human cell lines. *Applied and environmental microbiology*, 86(20), e01068-01020.
- Allan, B., Wheler, C., Köster, W., Sarfraz, M., Potter, A., Gerdts, V., & Dar, A. (2018). In ovo administration of innate immune stimulants and protection from early chick mortalities due to yolk sac infection. *Avian Diseases*, 62(3), 316-321.
- Andayan NPS, Iriani Setyawati I. and Martin Joni M (2018). Kidney Histopathology of *Gallus gallus domesticus* Infected by *E. coli* in Denpasar, Bali . *Advances in Tropical Biodiversity and Environmental Sciences* Vol. 2 No. 1: 14-17.
- Aslam, M., Toufeer, M., Bravo, C. N., Lai, V., Rempel, H., Manges, A., & Diarra, M. S. (2014). Characterization of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from retail poultry meats from Alberta, Canada. *International Journal of Food Microbiology*, 177, 49-56.
- Awad, A. M., El-Shall, N. A., Khalil, D. S., El-Hack, M. E. A., Swelum, A. A., Mahmoud, A. H., . . . Sedeik, M. E. (2020). Incidence, pathotyping, and antibiotic susceptibility of avian pathogenic *Escherichia coli* among diseased broiler chicks. *Pathogens*, 9(2), 114.
- Azam, M., Mohsin, M., Johnson, T. J., Smith, E. A., Johnson, A., Umair, M., & Saleemi, M. K. (2020). Genomic landscape of multi-drug resistant avian pathogenic *Escherichia coli* recovered from broilers. *Veterinary microbiology*, 247, 108766.
- Azam, M., Mohsin, M., & Saleemi, M. K. (2019). Virulence-associated genes and antimicrobial resistance among avian pathogenic *Escherichia coli* from colibacillosis affected broilers in Pakistan. *Tropical animal health and production*, 51(5), 1259-1265.

- Baker, C. N., Stocker, S. A., Culver, D. H., & Thornsberry, C. (1991). Comparison of the E Test to agar dilution, broth microdilution, and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(3), 533-538.
- Bakhshi M, Ebrahimi F, Nazarian S, Tarverdizade Y, Sadeghi D. Identification of *E.coli* O157:H7 by Using Specific Primers for rfbE and stx2b Genes. *Iran South Med J*. 2017; 20 (3) :267-277
- Baloš, M. Ž., Jakšić, S., Knežević, S., & Kapetanov, M. (2016). Electrolytes–sodium, potassium and chlorides in poultry nutrition. *Archives of Veterinary Medicine*, 9(1), 31-42.
- Balows, A. (1974). *Current techniques for antibiotic susceptibility testing*: Charles C. Thomas Publisher.
- Bao J, Yan Zhang Y, Zhang L, Gong X, Shi W, Liu L,^Z and Wang X (2021) Therapeutic effect of Schisandrin A on avian colibacillosis through gut-liver axis. *Poultry Science* 100:101371. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101371>
- Barbieri, N. L., Vande Vorde, J. A., Baker, A. R., Horn, F., Li, G., Logue, C. M., & Nolan, L. K. (2017). FNR regulates the expression of important virulence factors contributing to the pathogenicity of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 265.
- Bauer, A., Kirby, W., Sherris, J. C., & turck. (1966). turck, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4), 493.
- Bélanger, L., Garenaux, A., Harel, J., Boulianne, M., Nadeau, E., & Dozois, C. M. (2011). *Escherichia coli* from animal reservoirs as a potential source of human extraintestinal pathogenic *E.coli*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 62(1), 1-10.
- Belete, T. M. (2019). Novel targets to develop new antibacterial agents and novel alternatives to antibacterial agents. *Human Microbiome Journal*, 11, 100052.
- Bettelheim, K. (1994). Biochemical characteristics of *Escherichia coli*.
- Casella, T., M. Haenni, N. K. Madela, Alk De, P. L. Kalir, Aln De, D. Costa, M. Jean-Yves, and Nmc Lelles. 2018. Extended-spectrum cephalosporin- resistant *Escherichia coli* isolated from chickens and chicken meat in Brazil is associated with rare and complex resistance plasmids and pandemic ST lineages. *J. Antimicrob. Chemother.* 73:3293–3297.
- Casotti, G., Lindberg, K. K., & Braun, E. J. (2000). Functional morphology of the avian medullary cone. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 279(5), R1722-R1730.
- Charlton, B.R., A.B. Bermudez, M. Boulianne, D.A. Halvorson, J.S. Jeffrey, L.J. Newman, J.E. Sander, and P.S. Wakenell. 2000. *Avian Disease Manual*. 5ed. American Association of Avian Pathologists. Pennsylvania, USA.
- Christensen, H., Bachmeier, J., & Bisgaard, M. (2021). New strategies to prevent and control avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Avian Pathology*, 50(5), 370-381.
- Citron, D. M., Ostovari, M., Karlsson, A., & Goldstein, E. (1991). Evaluation of the E test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(10), 2197-2203.
- Collingwood, C., Kemmett, K., Williams, N., & Wigley, P. (2014). Is the concept of

- avian pathogenic *Escherichia coli* as a single pathotype fundamentally flawed? *Frontiers in veterinary science*, 1, 5.
- Cui, Z.-Q., Wu, Z.-M., Fu, Y.-X., Xu, D.-X., Guo, X., Shen, H.-Q., . . . Fu, B.-D. (2016). Autoinducer-2 of quorum sensing is involved in cell damage caused by avian pathogenic *Escherichia coli*. *Microbial pathogenesis*, 99, 247-252.
- Davidson MK, Lindsey JR, Davis JK. Requirements and selection of an animal model. *Isr J Med Sci*. 1987 Jun;23(6):551-5. PMID: 3312096.
- de Brito, B. G., Gaziri, L. C. J., & Vidotto, M. C. (2003). Virulence factors and clonal relationships among *Escherichia coli* strains isolated from broiler chickens with cellulitis. *Infection and Immunity*, 71(7), 4175-4177.
- de Pace, F., de Paiva, J. B., Nakazato, G., Lancellotti, M., Sircili, M. P., Stehling, E. G., . . . Sperandio, V. (2011). Characterization of IcmF of the type VI secretion system in an avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) strain. *Microbiology*, 157(Pt 10), 2954.
- de Paiva, J. B., da Silva, L. P. M., Casas, M. R. T., Conceição, R. A., Nakazato, G., de Pace, F., . . . da Silveira, W. D. (2016). In vivo influence of in vitro up-regulated genes in the virulence of an APEC strain associated with swollen head syndrome. *Avian Pathology*, 45(1), 94-105.
- de Paiva, J. B., Leite, J. L., da Silva, L. P. M., Rojas, T. C. G., de Pace, F., Conceição, R. A., . . . da Silveira, W. D. (2015). Influence of the major nitrite transporter NirC on the virulence of a Swollen Head Syndrome avian pathogenic *E. coli* (APEC) strain. *Veterinary microbiology*, 175(1), 123-131.
- Dein, F. J., Carpenter, J. W., Clark, G. G., Montali, R. J., Crabbs, C. L., Tsai, T. F., & Docherty, D. E. (1986). Mortality of captive whooping cranes caused by eastern equine encephalitis virus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 189(9), 1006-1010.
- Delannoy, S., Schouler, C., Souillard, R., Yousfi, L., Le Devendec, L., Lucas, C., . . . Galliot, P. (2021). Diversity of *Escherichia coli* strains isolated from day-old broiler chicks, their environment and colibacillosis lesions in 80 flocks in France. *Veterinary microbiology*, 252, 108923.
- Dho-Moulin, M., & Fairbrother, J. M. (1999). Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Veterinary research*, 30(2-3), 299-316.
- Ding, S., Wang, Y., Yan, W., Li, A., Jiang, H., & Fang, J. (2019). Effects of *Lactobacillus plantarum* 15-1 and fructooligosaccharides on the response of broilers to pathogenic *Escherichia coli* O78 challenge. *PLoS One*, 14(6), e0212079.
- Ding, X., Zhang, Q., Wang, H., Quan, G., Zhang, D., Ren, W., . . . Zhu, G. (2018). The different roles of hcp1 and hcp2 of the type VI secretion system in *Escherichia coli* strain CE129. *Journal of basic microbiology*, 58(11), 938-946.
- Docherty, D. E. (1986). Mortality of captive whooping cranes caused by eastern equine encephalitis virus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 189(9), 1006-1010.
- Dou, X., Gong, J., Han, X., Xu, M., Shen, H., Zhang, D., . . . Zou, J. (2016). Characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated in eastern China. *Gene*, 576(1), 244-248.
- Dziva, F., & Stevens, M. P. (2008). Colibacillosis in poultry: unravelling the molecular basis of virulence of avian pathogenic *Escherichia coli* in their natural hosts. *Avian Pathology*, 37(4), 355-366.

- Ericsson, H. M., & Sherris, J. C. (1971). Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta pathologica et microbiologica scandinavica*(Suppl. 217).
- Ewing, W. H. (1986). Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae. *Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae*. (Edition 4).
- Feldmann, A., Schafer, M. K. H., Garten, W., & Klenk, H. D. (2000). Targeted infection of endothelial cells by avian influenza virus A/FPV/Rostock/34 (H7N1) in chicken embryos. *Journal of virology*, 74(17), 8018-8027.
- Ferraro, M. J. (2000). *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*: NCCLS.
- Fodey, T.L., George, S.E., Traynor, I.M., Delahaut, P., Kennedy, D.G., Elliott, C.T., Crooks, S.R., 2013. Approaches for the simultaneous detection of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine using immunochemical techniques. *J. Immunol. Methods* 393, 30–37
- Gao, Q., Su, S., Li, X., Wang, H., Liu, J., & Gao, S. (2020). Transcriptional analysis of RstA/RstB in avian pathogenic *Escherichia coli* identifies its role in the regulation of hdeD-mediated virulence and survival in chicken macrophages. *Veterinary microbiology*, 241, 108555.
- Gao, Q., Xia, L., Wang, X., Ye, Z., Liu, J., & Gao, S. (2019). SodA contributes to the virulence of avian pathogenic *Escherichia coli* O2 strain E058 in experimentally infected chickens. *Journal of Bacteriology*, 201(6), e00625-00618.
- Gao, Q., Xu, H., Wang, X., Zhang, D., Ye, Z., Gao, S., & Liu, X. (2013). RfaH promotes the ability of the avian pathogenic *Escherichia coli* O2 strain E058 to cause avian colibacillosis. *Journal of Bacteriology*, 195(11), 2474-2480.
- Gao, Q., Ye, Z., Wang, X., Mu, X., Gao, S., & Liu, X. (2015). RstA is required for the virulence of an avian pathogenic *Escherichia coli* O2 strain E058. *Infection, Genetics and Evolution*, 29, 180-188.
- Ghunaim, H., Abu-Madi, M. A., & Kariyawasam, S. (2014). Advances in vaccination against avian pathogenic *Escherichia coli* respiratory disease: potentials and limitations. *Veterinary microbiology*, 172(1-2), 13-22.
- Gibbs, P. S., Petermann, S. R., & Wooley, R. E. (2004). Comparison of several challenge models for studies in avian colibacillosis. *Avian Diseases*, 48(4), 751-758.
- Godbole, P. V., Hajare, S. W., Bhosale, P., Hedau, M., Ingawale, M. V., Ingole, R. S., ... & Bhojane, N. M. (2018). Effect of curcumin on hemato-biochemical alterations after induced *E.coli* infection in broilers. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1), 484-486.
- Goonewardene, K., Ahmed, K. A., Gunawardana, T., Popowich, S., Kurukulasuriya, S., Karunarathna, R., . . . Foldvari, M. (2020). Mucosal delivery of CpG-ODN mimicking bacterial DNA via the intrapulmonary route induces systemic antimicrobial immune responses in neonatal chicks. *Scientific reports*, 10(1), 1-17.
- Guabiraba, R., & Schouler, C. (2015). Avian colibacillosis: still many black holes. *FEMS microbiology letters*, 362(15), fmv118.
- Guerra, P. R., Herrero-Fresno, A., Pors, S. E., Ahmed, S., Wang, D., Thøfner, I., . . . Olsen, J. E. (2018). The membrane transporter PotE is required for virulence in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Veterinary microbiology*, 216, 38-

- Han, Y., Han, X., Wang, S., Meng, Q., Zhang, Y., Ding, C., & Yu, S. (2014). The waaL gene is involved in lipopolysaccharide synthesis and plays a role on the bacterial pathogenesis of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Veterinary microbiology*, 172(3-4), 486-491.
- Hayashi, W., Tanaka, H., Taniguchi, Y., Iimura, M., Soga, E., Kubo, R., . . . Nagano, Y. (2019). Acquisition of mcr-1 and cocarriage of virulence genes in avian pathogenic *Escherichia coli* isolates from municipal wastewater influents in Japan. *Applied and environmental microbiology*, 85(22), e01661-01619.
- Hejair, H. M., Ma, J., Zhu, Y., Sun, M., Dong, W., Zhang, Y., . . . Yao, H. (2017). Role of outer membrane protein T in pathogenicity of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Research in veterinary science*, 115, 109-116.
- Herren, C. D., Mitra, A., Palaniyandi, S. K., Coleman, A., Elankumaran, S., & Mukhopadhyay, S. (2006). The BarA-UvrY two-component system regulates virulence in avian pathogenic *Escherichia coli* O78: K80: H9. *Infection and Immunity*, 74(8), 4900-4909.
- Huang, M. B., Baker, C. N., Banerjee, S., & Tenover, F. (1992). Accuracy of the E test for determining antimicrobial susceptibilities of *staphylococci*, *enterococci*, *Campylobacter jejuni*, and gram-negative bacteria resistant to antimicrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(12), 3243-3248.
- Huff, G. R., Huff, W. E., Rath, N. C., Anthony, N. B., & Nestor, K. E. (2008). Effects of *Escherichia coli* challenge and transport stress on hematology and serum chemistry values of three genetic lines of turkeys. *Poultry science*, 87(11), 2234-2241.
- Huff, W., Huff, G., Rath, N., Balog, J., & Donoghue, A. (2003). Evaluation of aerosol spray and intramuscular injection of bacteriophage to treat an *Escherichia coli* respiratory infection. *Poultry science*, 82(7), 1108-1112.
- Huff, W., Huff, G., Rath, N., & Donoghue, A. (2006). Evaluation of the influence of bacteriophage titer on the treatment of colibacillosis in broiler chickens. *Poultry science*, 85(8), 1373-1377.
- Ibrahim, R. A., Cryer, T. L., Lafi, S. Q., Basha, E.-A., Good, L., & Tarazi, Y. H. (2019). Identification of *Escherichia coli* from broiler chickens in Jordan, their antimicrobial resistance, gene characterization and the associated risk factors. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 1-16.
- Jahantigh, M., Samadi, K., Dizaji, R. E., & Salari, S. (2020). Antimicrobial resistance and prevalence of tetracycline resistance genes in *Escherichia coli* isolated from lesions of colibacillosis in broiler chickens in Sistan, Iran. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 1-6.
- Janes, D. N., & Braun, E. J. (1997). Urinary protein excretion in red jungle fowl (*Gallus gallus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 118(4), 1273-1275.
- Jiang, F., An, C., Bao, Y., Zhao, X., Jernigan, R. L., Lithio, A., . . . Nolan, L. K. (2015). ArcA controls metabolism, chemotaxis, and motility contributing to the pathogenicity of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 83(9), 3545-3554.
- Jones, M. P. (2015). Avian hematology. *Clinics in laboratory medicine*, 35(3), 649-659.
- Jorgensen, J. H. (1999). Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion

- methods. *Manual of clinical microbiology*.
- Jorgensen, J. H., Ferraro, M. J., McElmeel, M., Spargo, J., Swenson, J. M., & Tenover, F. C. (1994). Detection of penicillin and extended-spectrum cephalosporin resistance among *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates by use of the E test. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(1), 159-163.
- Kaikabo, A., AbdulKarim, S., & Abas, F. (2017). Evaluation of the efficacy of chitosan nanoparticles loaded ΦKAZ14 bacteriophage in the biological control of colibacillosis in chickens. *Poultry science*, 96(2), 295-302.
- Klein, R., Nagy, O., Tóthová, C., & Chovanová, F. (2020). Clinical and diagnostic significance of lactate dehydrogenase and its isoenzymes in animals. *Veterinary medicine international*, 2020.
- Kromann S, Olsen RH, Bojesen AM, Jensen HE, Thøfner I. Development of an aerogenous *Escherichia coli* infection model in adult broiler breeders. *Sci Rep*. 2021 Oct 1;11(1):19556. doi: 10.1038/s41598-021-98270-8. PMID: 34599201; PMCID: PMC8486767.
- Kumar, A., Jindal, N., Shukla, C. L., Pal, Y., Ledoux, D. R., & Rottinghaus, G. E. (2003). Effect of ochratoxin A on *Escherichia coli*-challenged broiler chicks. *Avian diseases*, 47(2), 415-424
- Lee, M.D. and H.A. Lawrence. 1998. Colibacillosis in a Laboratory Manual for The Isolation and Identification of Avian Pathogen. American Association of Avian Pathologist. Pennsylvania, USA.
- Lei, Z., Liu, Q., Yang, S., Yang, B., Khaliq, H., Li, K., . . . Chen, P. (2018). PK-PD integration modeling and cutoff value of florfenicol against *Streptococcus suis* in pigs. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 2.
- Li, Q., Yin, L., Xue, M., Wang, Z., Song, X., Shao, Y., . . . Qi, K. (2020). The transcriptional regulator PhoP mediates the tolC molecular mechanism on APEC biofilm formation and pathogenicity. *Avian Pathology*, 49(3), 211-220.
- Li, X.-d., Chi, S.-Q., Wu, L.-Y., Liu, C., Sun, T., Hong, J., . . . Yu, D.-J. (2019). PK/PD modeling of Ceftiofur Sodium against *Haemophilus parasuis* infection in pigs. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 1-10.
- Li, X.-S., Wang, G.-Q., Du, X.-D., Cui, B.-A., Zhang, S.-M., & Shen, J.-Z. (2007). Antimicrobial susceptibility and molecular detection of chloramphenicol and florfenicol resistance among *Escherichia coli* isolates from diseased chickens. *Journal of Veterinary Science*, 8(3), 243-247.
- Li, Y., Dai, J., Zhuge, X., Wang, H., Hu, L., Ren, J., . . . Tang, F. (2016). Iron-regulated gene *ireA* in avian pathogenic *Escherichia coli* participates in adhesion and stress-resistance. *BMC Veterinary Research*, 12(1), 1-10.
- Li, Y., Wang, H., Ren, J., Chen, L., Zhuge, X., Hu, L., . . . Dai, J. (2016). The *YfcO* fimbriae gene enhances adherence and colonization abilities of avian pathogenic *Escherichia coli* in vivo and in vitro. *Microbial pathogenesis*, 100, 56-61.
- Liu, C. M., Stegger, M., Aziz, M., Johnson, T. J., Waits, K., Nordstrom, L., . . . Statham, S. (2018). *Escherichia coli* ST131-H 22 as a Foodborne Uropathogen. *MBio*, 9(4), e00470-00418.
- Longcope, C., Feldman, H. A., McKinlay, J. B., & Araujo, A. B. (2000). Diet and sex hormone-binding globulin. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(1), 293-296
- Lutful Kabir, S. (2010). Avian colibacillosis and salmonellosis: a closer look at

- epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns. *International journal of environmental research and public health*, 7(1), 89-114.
- Ma, J., Bao, Y., Sun, M., Dong, W., Pan, Z., Zhang, W., . . . Yao, H. (2014). Two functional type VI secretion systems in avian pathogenic *Escherichia coli* are involved in different pathogenic pathways. *Infection and Immunity*, 82(9), 3867-3879.
- Ma, S. T., G. J. Ding, X. W. Huang, Z. W. Wang, L. Wang, M. L. Yu, W. Shi, Y. P. Jiang, L. J. Tang, Y. G. Xu, and Y. J. Li. 2018. Immunogenicity in chickens with orally administered recombinant chicken-borne *Lactobacillus saerimneri* expressing FimA and OmpC antigen of O78 avian pathogenic *Escherichia coli*. *J. Med. Microbiol.* 67:441–451.
- Maciel, J. F., Matter, L. B., Trindade, M. M., Camillo, G., Lovato, M., de Ávila Botton, S., & de Vargas, A. C. (2017). Virulence factors and antimicrobial susceptibility profile of extraintestinal *Escherichia coli* isolated from an avian colisepticemia outbreak. *Microbial pathogenesis*, 103, 119-122.
- Mahlapuu, M., Håkansson, J., Ringstad, L., & Björn, C. (2016). Antimicrobial peptides: an emerging category of therapeutic agents. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 6, 194.
- Markland, S., LeStrange, K., Sharma, M., & Kniel, K. (2015). Old friends in new places: exploring the role of extraintestinal *E. coli* in intestinal disease and foodborne illness. *Zoonoses and Public Health*, 62(7), 491-496.
- Matter, L. B., Ares, M. A., Abundes- Gallegos, J., Cedillo, M. L., Yáñez, J. A., Martínez- Laguna, Y., . . . Girón, J. A. (2018). The CpxRA stress response system regulates virulence features of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Environmental microbiology*, 20(9), 3363-3377.
- Mellata, M. (2013). Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends. *Foodborne pathogens and disease*, 10(11), 916-932.
- ¹ Mello, H. H. D. C., Gomes, P. C., Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Rocha, T. C. D., Almeida, R. L. D., & Calderano, A. A. (2012). Dietary requirements of available phosphorus in growing broiler chickens at a constant calcium: available phosphorus ratio. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41, 2323-2328.
- Mireles, A., Kim, S., & Klasing, K. (2005). An acute inflammatory response alters bone homeostasis, body composition, and the humoral immune response of broiler chickens. *Poultry science*, 84(4), 553-560.
- Mireles N.M., J.R. Johnson, B. Johnston, R. Curtiss and M. Mellata. 2015. Zoonotic potential of *Escherichia coli* isolates from retail chicken meat products and eggs. *Appl Environ Microbiol.* 81(3):1177-1187. <https://doi.org/10.1128/AEM.0352-14> PMID: 25480753.
- Mohamed, L., Ge, Z., Yuehua, L., Yubin, G., Rachid, K., Mustapha, O., . . . Karine, O. (2018). Virulence traits of avian pathogenic (APEC) and fecal (AFEC) *E. coli* isolated from broiler chickens in Algeria. *Tropical animal health and production*, 50(3), 547-553.
- Montgomery, R. D., Jones, L. S., Boyle, C. R., Luo, Y., & Boyle, J. A. (2005). The embryo lethality of *Escherichia coli* isolates and its relationship to various in vitro attributes. *Avian Diseases*, 49(1), 63-69.
- Mosca, M., Boniglia, C., Carratù, B., Giammarioli, S., Nera, V., & Sanzini, E.

- (2008). Determination of α -amylase inhibitor activity of phaseolamin from kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) in dietary supplements by HPAEC-PAD. *Analytica chimica acta*, 617(1-2), 192-195.
- Mu, X., Gao, R., Xiao, W., Gao, Q., Cao, C., Xu, H., . . . Liu, X. (2020). EntE, EntS and TolC synergistically contributed to the pathogenesis of APEC strain E058. *Microbial pathogenesis*, 141, 103990.
- Murase, K., Martin, P., Porcheron, G., Houle, S., Helloin, E., Pénary, M., . . . Oswald, E. (2016). HlyF produced by extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* is a virulence factor that regulates outer membrane vesicle biogenesis. *The Journal of Infectious Diseases*, 213(5), 856-865.
- Najafi, S., Rahimi, M., & Nikousefat, Z. (2019). *Extra intestinal pathogenic Escherichia coli from human and avian origin: Detection of the most common virulence-encoding genes*. Paper presented at the Veterinary Research Forum.
- Nazifi saeid, Hematology and biochemistry of birds, 1st edition, Shiraz university - shiraz, (1997)
- Nazifi, S., Tabande, M. R., Hosseinian, S. A., Ansari-Lari, M., & Safari, H. (2011). Evaluation of sialic acid and acute-phase proteins (haptoglobin and serum amyloids A) in healthy and avian infection bronchitis virus-infected chicks. *Comparative clinical pathology*, 20(1), 69-73.
- Nielsen, D. W., Ricker, N., Barbieri, N. L., Allen, H. K., Nolan, L. K., & Logue, C. M. (2020). Outer membrane protein A (OmpA) of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *BMC research notes*, 13(1), 1-7.
- Nielubowicz G.R. and H.L. 2010. Mobley Host–pathogen interactions in urinary tract infection. *Nature Rev Urol*. 7: 430–441. This review compares the strategies used by two important uropathogens, *E. coli* and *P. mirabilis*, the host response to each pathogen, and the current treatments and therapies to prevent UTIs. [PubMed: 20647992]
- Nolan L.K , J.-P. Vaillancourt, N.L. Barbieri, C.M. Logue. Colibacillosis. D.E. Swayne (Ed.), *Diseases of Poultry*, Wiley Online Library, Ames, IA (2020), pp. 770-830
- Norton, R., Macklin, K., & McMurtrey, B. (2000). The association of various isolates of *Escherichia coli* from the United States with induced cellulitis and colibacillosis in young broiler chickens. *Avian Pathology*, 29(6), 571-574.
- Osman, K. M., Kappell, A. D., Elhadidy, M., ElMougy, F., El-Ghany, W. A. A., Orabi, A., . . . Moussa, I. M. (2018). Poultry hatcheries as potential reservoirs for antimicrobial-resistant *Escherichia coli*: A risk to public health and food safety. *Scientific reports*, 8(1), 1-14.
- Paixao, A., Ferreira, A., Fontes, M., Themudo, P., Albuquerque, T., Soares, M., de Sá, M. C. (2016). Detection of virulence-associated genes in pathogenic and commensal avian *Escherichia coli* isolates. *Poultry science*, 95(7), 1646-1652.
- Palaniyandi, S., Mitra, A., Herren, C. D., Zhu, X., & Mukhopadhyay, S. (2013). LuxS contributes to virulence in avian pathogenic *Escherichia coli* O78: K80: H9. *Veterinary microbiology*, 166(3-4), 567-575.
- Paudel, S., Fink, D., Abdelhamid, M. K., Zöggeler, A., Liebhart, D., Hess, M., & Hess, C. (2021). Aerosol is the optimal route of respiratory tract infection to induce pathological lesions of colibacillosis by a lux-tagged avian pathogenic *Escherichia coli* in chickens. *Avian Pathology*, 50(5), 417-426.
- Peng, L.-Y., Yuan, M., Cui, Z.-Q., Wu, Z.-M., Yu, Z.-J., Song, K., . . . Fu, B.-D.

- (2018). Rutin inhibits quorum sensing, biofilm formation and virulence genes in avian pathogenic *Escherichia coli*. *Microbial pathogenesis*, *119*, 54-59.
- Pilatti, L., de Paiva, J. B., Rojas, T. C. G., Leite, J. L., Conceição, R. A., Nakazato, G., & Dias da Silveira, W. (2016). The virulence factor ychO has a pleiotropic action in an Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) strain. *BMC microbiology*, *16*(1), 1-11.
- Prakash, V., Lewis, J., & Jorgensen, J. (2008). Vancomycin MICs for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates differ based upon the susceptibility test method used. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *52*(12), 4528-4528.
- Redweik, G. A., Stromberg, Z. R., Van Goor, A., & Mellata, M. (2020). Protection against avian pathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella* Kentucky exhibited in chickens given both probiotics and live *Salmonella* vaccine. *Poultry science*, *99*(2), 752-762.
- Reller, L. B., Weinstein, M., Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical infectious diseases*, *49*(11), 1749-1755.
- Saberfar, E., Pourakbari, B., Chabokdavan, K., & Dolatshahi, F. T. (2008). Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* Isolated from Iranian Broiler Chicken Flocks, 2005–2006. *Journal of Applied Poultry Research*, *17*(2), 302-304.
- Sabri, M., Caza, M., Proulx, J., Lymberopoulos, M. H., Brée, A., Moulin-Schouleur, M., . . . Dozois, C. M. (2008). Contribution of the SitABCD, MntH, and FeoB metal transporters to the virulence of avian pathogenic *Escherichia coli* O78 strain χ 7122. *Infection and Immunity*, *76*(2), 601-611.
- Saha, O., Hoque, M. N., Islam, O. K., Rahaman, M. M., Sultana, M., & Hossain, M. A. (2020). Multidrug-resistant avian pathogenic *Escherichia coli* strains and association of their virulence genes in Bangladesh. *Microorganisms*, *8*(8), 1135.
- Salehi, T. Z., Tabatabaei, S., Karimi, V., Fasaei, B. N., Derakhshandeh, A., & Jahromi, O. A. N. (2012). Assessment of immunity against avian colibacillosis induced by an *aroA* mutant containing increased serum survival gene in broilers. *Brazilian Journal of Microbiology*, *43*, 363-370.
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Książczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut pathogens*, *11*(1), 1-16.
- Schwarz, S., Kehrenberg, C., Doublet, B., & Cloeckaert, A. (2004). Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS microbiology reviews*, *28*(5), 519-542.
- Sgariglia, E., Mandolini, N. A., Napoleoni, M., Medici, L., Fraticelli, R., Conquista, M., . . . Capuccella, M. (2019). Antibiotic resistance pattern and virulence genes in avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) from different breeding systems. *Veterinaria Italiana*, *55*(1), 27-33.
- Shaheen, H. M., & El-Far, A. H. (2013). Evaluation of the therapeutic efficacy of pefloxacin and florfenicol combination in broilers experimentally challenged by *Escherichia coli*. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, *23*(2), 396-404.
- Shen, J., Wu, X., Hu, D., & Jiang, H. (2002). Pharmacokinetics of florfenicol in healthy and *Escherichia coli*-infected broiler chickens. *Research in veterinary*

- science*, 73(2), 137-140.
- Sidorenko, S. (1993). Fifth European congress on clinical microbiology and infectious diseases. *Antibiotiki i khimioterapii= Antibiotics and chemotherapy [sic]*, 38(6), 78-83.
- Silveira, F., Maluta, R., Tiba, M., de Paiva, J., Guastalli, E., & da Silveira, W. (2016). Comparison between avian pathogenic (APEC) and avian faecal (AFEC) *Escherichia coli* isolated from different regions in Brazil. *The Veterinary Journal*, 217, 65-67.
- Singer, R. S., Patterson, S. K., Meier, A. E., Gibson, J. K., Lee, H. L., & Maddox, C. W. (2004). Relationship between phenotypic and genotypic florfenicol resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(10), 4047-4049.
- Song, X., Hou, M., Jiang, H., Shen, X., Xue, M., Shao, Y., . . . Tu, J. (2020). Hcp2a of type VI secretion system contributes to IL8 and IL1 β expression of chicken tracheal epithelium by affecting APEC colonization. *Research in veterinary science*, 132, 279-284.
- Song, X., Hou, M., Tu, J., Xue, M., Shao, Y., Jiang, H., . . . Qi, K. (2019). Outer membrane proteins YbjX and PagP co-regulate motility in *Escherichia coli* via the bacterial chemotaxis pathway. *Research in veterinary science*, 125, 279-284.
- Song, X., Qiu, M., Jiang, H., Xue, M., Hu, J., Liu, H., . . . Qi, K. (2020). ybjX mutation regulated avian pathogenic *Escherichia coli* pathogenicity through stress-resistance pathway. *Avian Pathology*, 49(2), 144-152.
- Stevens, L. (1996). *Avian biochemistry and molecular biology*. Cambridge university press
- Tabatabaei, S. M., Badalzadeh, R., Mohammadnezhad, G. R., & Balaei, R. (2015). Effects of Cinnamon extract on biochemical enzymes, TNF- α and NF- κ B gene expression levels in liver of broiler chickens inoculated with *Escherichia coli*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 35, 781-787.
- Talebiyan, R., Kheradmand, M., Khamesipour, F., & Rabiee-Faradonbeh, M. (2014). Multiple antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens in Iran. *Veterinary medicine international*, 2014.
- Tarabees, R., El-Sayed, M. S., Shehata, A. A., & Diab, M. S. (2020). Effects of the probiotic candidate *E. faecalis*-1, the poulvac *E. coli* vaccine, and their combination on growth performance, caecal microbial composition, immune response, and protection against *E. coli* O78 challenge in broiler chickens. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12(3), 860-872.
- Tarabees, R., Gafar, K. M., El-Sayed, M. S., Shehata, A. A., & Ahmed, M. (2019). Effects of dietary supplementation of probiotic mix and prebiotic on growth performance, cecal microbiota composition, and protection against *Escherichia coli* O78 in broiler chickens. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11(3), 981-989.
- Thomrongsuwannakij, T., Blackall, P. J., Djordjevic, S. P., Cummins, M. L., & Chansiripornchai, N. (2020). A comparison of virulence genes, antimicrobial resistance profiles and genetic diversity of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolates from broilers and broiler breeders in Thailand and Australia. *Avian Pathology*, 49(5), 457-466.
- Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (Eds.). (2022).

- Veterinary Hematology, Clinical Chemistry, and Cytology*. John Wiley & Sons.
- Tivendale, K. A., Logue, C. M., Kariyawasam, S., Jordan, D., Hussein, A., Li, G., Nolan, L. K. (2010). Avian-pathogenic *Escherichia coli* strains are similar to neonatal meningitis *E. coli* strains and are able to cause meningitis in the rat model of human disease. *Infection and Immunity*, 78(8), 3412-3419.
- Totsika, M. (2017). Disarming pathogens: benefits and challenges of antimicrobials that target bacterial virulence instead of growth and viability. In (Vol. 9, pp. 267-269): Future Science.
- Tu, J., Huang, B., Zhang, Y., Zhang, Y., Xue, T., Li, S., & Qi, K. (2016). Modulation of virulence genes by the two-component system PhoP-PhoQ in avian pathogenic *Escherichia coli*. *Polish journal of veterinary sciences*(1).
- Tu, J., Hue, T., Qi, K., Shao, Y., Huang, B., Wang, X., & Zhou, X. (2016). The *irp2* and *fyuA* genes in High Pathogenicity Islands are involved in the pathogenesis of infections caused by avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Polish journal of veterinary sciences*, 19(1).
- Turton, J.A., Yallop, D., Andrews, C.M., Fagg, R., York, M., Williams, T.C., 1999. Haemotoxicity of chloramphenicol succinate in the CD-1 mouse and Wistar Hanover rat. *Hum. Exp. Toxicol.* 18, 566–576.
- Vandekerchove, D., P. De-Herd, H. Laevens, and F. Pasmans (2004) Colibacillosis in caged layer hens: characteristics of the disease and the aetiological agent. *Avian Pathology*. 33(1): 117-125.
- Varga, C., Brash, M. L., Slavic, D., Boerlin, P., Ouckama, R., Weis, A., . . . Guerin, M. T. (2018). Evaluating virulence-associated genes and antimicrobial resistance of avian pathogenic *Escherichia coli* isolates from broiler and broiler breeder chickens in Ontario, Canada. *Avian Diseases*, 62(3), 291-299.
- Velkers, F. C., Te Loo, A., Madin, F., & Van Eck, J. (2005). Isopathic and pluralist homeopathic treatment of commercial broilers with experimentally induced colibacillosis. *Research in veterinary science*, 78(1), 77-83.
- Verma, R., Rojas, T. C. G., Maluta, R. P., Leite, J. L., da Silva, L. P. M., Nakazato, G., & Dias da Silveira, W. (2016). Fimbria-encoding gene *yadC* has a pleiotropic effect on several biological characteristics and plays a role in avian pathogenic *Escherichia coli* pathogenicity. *Infection and Immunity*, 84(1), 187-193.
- Wang, S., Bao, Y., Meng, Q., Xia, Y., Zhao, Y., Wang, Y., . . . Han, X. (2015). IbeR facilitates stress-resistance, invasion and pathogenicity of avian pathogenic *Escherichia coli*. *PLoS One*, 10(3), e0119698.
- Wang, S., Dai, J., Meng, Q., Han, X., Han, Y., Zhao, Y., . . . Yu, S. (2014). DotU expression is highly induced during in vivo infection and responsible for virulence and Hcp1 secretion in avian pathogenic *Escherichia coli*. *Frontiers in microbiology*, 5, 588.
- Wang, S., Liu, X., Xu, X., Yang, D., Wang, D., Han, X., . . . Peng, D. (2016). *Escherichia coli* type III secretion system 2 ATPase EivC is involved in the motility and virulence of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Frontiers in microbiology*, 7, 1387.
- Wang, S., Niu, C., Shi, Z., Xia, Y., Yaqoob, M., Dai, J., & Lu, C. (2011). Effects of *ibeA* deletion on virulence and biofilm formation of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 79(1), 279-287.

- Wang, S., Peng, Q., Jia, H., Zeng, X., Zhu, J., Hou, C., . . . Qiao, S. (2017). Prevention of Escherichia coli infection in broiler chickens with Lactobacillus plantarum B1. *Poultry science*, 96(8), 2576-2586.
- Wang, S., Shi, Z., Xia, Y., Li, H., Kou, Y., Bao, Y., . . . Lu, C. (2012). IbeB is involved in the invasion and pathogenicity of avian pathogenic Escherichia coli. *Veterinary microbiology*, 159(3-4), 411-419.
- Wang, S., Xu, X., Liu, X., Wang, D., Liang, H., Wu, X., . . . Yu, S. (2017). Escherichia coli type III secretion system 2 regulator EtrA promotes virulence of avian pathogenic Escherichia coli. *Microbiology*, 163(10), 1515-1524.
- Wang, S., Zeng, X., Yang, Q., & Qiao, S. (2016). Antimicrobial peptides as potential alternatives to antibiotics in food animal industry. *International journal of molecular sciences*, 17(5), 603.
- Wang, X., Cao, C., Huan, H., Zhang, L., Mu, X., Gao, Q., . . . Liu, X. (2015). Isolation, identification, and pathogenicity of O142 avian pathogenic Escherichia coli causing black proventriculus and septicemia in broiler breeders. *Infection, Genetics and Evolution*, 32, 23-29.
- Wang, X., Han, C., Cui, Y., Li, S., Jin, G., Shi, W., & Bao, Y. (2021). Florfenicol causes excessive lipid peroxidation and apoptosis induced renal injury in broilers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 207, 111282.
- Wayne, P. (2008). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Ninth Informational Supplement.
- Wayne, P. (2018). Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.
- Wiebe, H., Gürlebeck, D., Groß, J., Dreck, K., Pannen, D., Ewers, C., . . . Schnetz, K. (2015). YjjQ represses transcription of flhDC and additional loci in Escherichia coli. *Journal of Bacteriology*, 197(16), 2713-2720.
- Xiao X, Lan W, Zhao Y, Li R, Liu Y, Liu J, Wang Z. In vivo Pharmacokinetic and Pharmacodynamic (PK/PD) Modeling and Establishment of the PK/PD Cutoff of Florfenicol Against Pasteurella multocida in Ducks. *Front Microbiol*. 2021 Jan 11;11:616685.
- Xu, H., Ling, J., Gao, Q., He, H., Mu, X., Yan, Z., . . . Liu, X. (2013). Role of the lpxM lipid A biosynthesis pathway gene in pathogenicity of avian pathogenic Escherichia coli strain E058 in a chicken infection model. *Veterinary microbiology*, 166(3-4), 516-526.
- Xu, X., Sun, Q., & Zhao, L. (2019). Virulence factors and antibiotic resistance of avian pathogenic in eastern China. *Journal of Veterinary Research*, 63(3), 317-320.
- Xue, M., Raheem, M. A., Gu, Y., Lu, H., Song, X., Tu, J., . . . Qi, K. (2020). The KdpD/KdpE two-component system contributes to the motility and virulence of avian pathogenic Escherichia coli. *Research in veterinary science*, 131, 24-30.
- Xue, M., Xiao, Y., Fu, D., Raheem, M. A., Shao, Y., Song, X., . . . Qi, K. (2020). Transcriptional regulator YqeI, locating at ETT2 locus, affects the pathogenicity of avian pathogenic Escherichia coli. *Animals*, 10(9), 1658.
- Yi, Z., Wang, D., Xin, S., Zhou, D., Li, T., Tian, M., . . . Yu, S. (2019). The CpxR regulates type VI secretion system 2 expression and facilitates the interbacterial competition activity and virulence of avian pathogenic Escherichia coli. *Veterinary research*, 50(1), 1-12.

- Yin, L., Li, Q., Xue, M., Wang, Z., Tu, J., Song, X., . . . Liu, H. (2019). The role of the *phoP* transcriptional regulator on biofilm formation of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Avian Pathology*, *48*(4), 362-370.
- Yu, L., Li, W., Qi, K., Wang, S., Chen, X., Ni, J., . . . Xue, T. (2019). *McbR* is involved in biofilm formation and H₂ O₂ stress response in avian pathogenic *Escherichia coli* X40. *Poultry science*, *98*(9), 4094-4103.
- Yu, L., Wang, H., Han, X., Li, W., Xue, M., Qi, K., . . . Shang, F. (2020). The two-component system, BasSR, is involved in the regulation of biofilm and virulence in avian pathogenic *Escherichia coli*. *Avian Pathology*, *49*(6), 532-546.
- Zhang, Z., Jiang, S., Liu, Y., Sun, Y., Yu, P., Gong, Q., . . . Zhuge, X. (2020). Identification of *ireA*, 0007, 0008, and 2235 as TonB-dependent receptors in the avian pathogenic *Escherichia coli* strain DE205B. *Veterinary research*, *51*(1), 1-10.
- Zhao Q., Wang Y., Wang S., Wang Z., Du X. D., Jiang H., et al. (2016). Prevalence and abundance of florfenicol and linezolid resistance genes in soils adjacent to swine feedlots. *Sci. Rep.* 6:32192.
- Zhao, S., Wang, C.-L., Chang, S.-K., Tsai, Y.-L., & Chou, C.-H. (2019). Characterization of *Escherichia coli* isolated from day-old chicken fluff in taiwanese hatcheries. *Avian Diseases*, *63*(1), 9-16.
- Zhu-Ge, X.-k., Pan, Z.-h., Tang, F., Mao, X., Hu, L., Wang, S.-h., . . . Dai, J.-j. (2015). The effects of *upaB* deletion and the double/triple deletion of *upaB*, *aatA*, and *aatB* genes on pathogenicity of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Applied microbiology and biotechnology*, *99*(24), 10639-10654.
- Zhugue, X., Sun, Y., Jiang, M., Wang, J., Tang, F., Xue, F., . . . Dai, J. (2019). Acetate metabolic requirement of avian pathogenic *Escherichia coli* promotes its intracellular proliferation within macrophage. *Veterinary research*, *50*(1), 1-18.
- Zhugue, X., Tang, F., Zhu, H., Mao, X., Wang, S., Wu, Z., . . . Fan, H. (2016). AutA and AutR, two novel global transcriptional regulators, facilitate avian pathogenic *Escherichia coli* infection. *Scientific reports*, *6*(1), 1-14.
- ZhuGe, X., Wang, S., Fan, H., Pan, Z., Ren, J., Yi, L., . . . Dai, J. (2013). Characterization and functional analysis of AatB, a novel autotransporter adhesin and virulence factor of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, *81*(7), 2437-2447.
- Zhugue, X., Zhou, Z., Jiang, M., Wang, Z., Sun, Y., Tang, F., . . . Dai, J. (2021). Chicken- source *Escherichia coli* within phylogroup F shares virulence genotypes and is closely related to extraintestinal pathogenic *E. coli* causing human infections. *Transboundary and Emerging Diseases*, *68*(2), 880-895.
- Zuo, J., Tu, C., Wang, Y., Qi, K., Hu, J., Wang, Z., . . . Han, X. (2019). The role of the *wzy* gene in lipopolysaccharide biosynthesis and pathogenesis of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Microbial pathogenesis*, *127*, 296-303.
- Zuo, J., Yin, H., Hu, J., Miao, J., Chen, Z., Qi, K., . . . Jiang, W. (2019). Lsr operon is associated with AI-2 transfer and pathogenicity in avian pathogenic *Escherichia coli*. *Veterinary research*, *50*(1), 1-15.

Abstract

Evaluation of the Effect of Two Infection Models of Colibacillosis and Treatment with Florfenicol on Liver and Kidney Biochemical Parameters in Broilers

By
Fateme Hosseini

Background: Colibacillosis is the most common bacterial infection in poultry, which causes severe respiratory and systemic infections and diarrhea in birds and causes significant financial losses in the poultry industry. It is very important to use different in vivo models to study the characteristics of this disease. **Aims:** The aims of this study is to compare the effect of two colibacillosis induction models (intratracheal and subcutaneous methods) on the liver and kidney parameters of broiler chickens, and evaluate the effect of florfenicol on the mentioned parameters in both induction methods. **Methods:** florfenicol sensitive *Escherichia coli* O2 bacteria, used in this research. 125 broiler chickens at the age of 35 days were randomly divided into 4 experimental groups contain 20 chicken and 3 control groups contain 15 in each one, which included the group that inoculated with the bacteria intratracheally (IT), inoculated the bacteria intratracheally and received florfenicol (ITF), inoculated the bacteria subcutaneously (SC), inoculated the bacteria subcutaneously and they received florfenicol (SCF) and the control groups. The experimental groups were infected with 7.1×10^8 CFU of bacteria/bird, and the groups treated with florfenicol received florfenicol in drinking water immediately after the appearance of clinical signs. Three days after treatment, blood samples were randomly taken from each group of 7 birds. In order to evaluate liver parameters, AST, LDH and CK enzymes activity and to evaluate kidney parameters, Amylase, Uric acid, Sodium, Potassium and Phosphorus factors were measured in serum. Total serum protein, serum albumin and globulin were also measured. Commercial kits were used to measure the mentioned parameters. Finally, the data was analyzed with GraphPad Prism 6 software and comparison between groups was made using ANOVA statistical test. **Results:** CK changes in the four treatment groups showed a significant increase compared to the control groups. Amylase showed a significant decrease in SC group compared to other groups. Uric acid in both SC and SCF groups showed a significant increase compared to the control groups. Sodium in the ITF group showed a significant increase compared to the control groups. Serum globulin and total protein levels in SC, IT and SCF groups showed a significant increase compared to the control groups. Potassium, Phosphorus, Albumin, AST and LDH changes did not show significant differences in the treatment groups compared to the control groups. **Conclusion:** It seems that the use of different induction methods can cause significant differences in liver and kidney factors in broilers challenged with *Escherichia coli*. In such a way that kidney injuries were more significant in birds inoculated by subcutaneous method, while the factors of kidney in birds challenged intratracheally were not

significant. But severe increase in creatine kinase was observed in all treatment groups, which was probably due to septicemia caused by the disease. The response to the treatment, which is one of the criteria for the ideality of animal models, showed that the intratracheal induction method is better than the subcutaneous method.

Keywords: Broiler, Colibacillosis, Florfenicol, Liver and Kidney Parameters

In the Name of God

**Evaluation of the Effect of Two Infection Models of
Colibacillosis and Treatment with Florfenicol on Liver
and Kidney Biochemical Parameters in Broilers**


By
Fateme Hosseini


Thesis
Submitted to Shiraz University in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Doctor of Veterinary Medicine (D.V.M.)


In
Veterinary Medicine

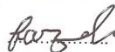
Shiraz University
Shiraz
Islamic Republic of Iran

Evaluated and Approved by the Thesis Committee as: Excellent

 T. Shomali (Ph.D.), Prof. of the Dept. of Basic Sciences
(Supervisor)

 N. Mosleh (Ph.D.), Associate Prof. of the Dept. of Clinical
Sciences (Supervisor)

 S. Nazifi (Ph.D.), Prof. of the Dept. of Clinical Sciences
(Advisor)

 M. Fazeli (Ph.D.), Prof. of the Dept. of Basic Science
(Internal Examiner)

February 2023



Shiraz University

**School of Veterinary Medicine
D.V.M. Thesis in
Veterinary Medicine**

**Evaluation of the Effect of Two Infection Models of
Colibacillosis and Treatment with Florfenicol on Liver
and Kidney Biochemical Parameters in Broilers**

**By
Fateme Hosseini**

**Supervised by
Tahoorah Shomali (Ph.D.)
Najmeh Mosleh (Ph.D.)**

February 2023



DVM Thesis

Evaluation of the Effect of Two Infection Models of Colibacillosis and Treatment with Florfenicol on Liver and Kidney Biochemical Parameters in Broilers

Fateme Hosseini

Supervised by:
Tahoora Shomali, PhD
Najmeh Mosleh, PhD

School of Veterinary Medicine- Department of Basic sciences

February 2023