

ارزیابی اثرگذاری دو روش القای کلی باسیلوز و درمان با فلورفنیکل بر برخی فراسنجه های بیوشیمیایی سرم در جوجه های گوشتی

فاطمه حسینی^۱، طهورا شمالی^۲، نجمه مصلح^{۳*}، سعید نظیفی^۴

۱. دانش‌آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۲. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۳. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.

پذیرش: ۸ اسفندماه ۱۴۰۲

دریافت: ۴ تیرماه ۱۴۰۲

چکیده

این مطالعه اثر دو روش داخل نایی و زیر پوستی القای کلی باسیلوز و درمان با فلورفنیکل را بر فراسنجه های سرمی جوجه گوشتی مقایسه می کند. ۱۲۵ جوجه گوشتی ۳۵ روزه به ۳ گروه کنترل (سالم، کنترل القای داخل نایی، کنترل القای زیرجلدی) و ۴ گروه تجربی (القای داخل نایی، القای داخل نایی و دریافت کننده پادزیست، القای زیرپوستی، القای زیرپوستی و دریافت کننده پادزیست) دسته بندی شدند. سه روز پس از درمان، از همه گروه ها خونگیری انجام شد. فعالیت CPK در چهار گروه تجربی افزایش معنی داری نسبت به گروه های کنترل نشان داد. اسید اوریک در دو گروه القای زیرپوستی، القای زیرپوستی و دریافت کننده پادزیست افزایش معنی داری نسبت به گروه های کنترل داشت. سدیم در گروه القای داخل نایی و دریافت کننده پادزیست افزایش معنی داری نسبت به گروه های کنترل نشان داد. میزان پتاسیم، فسفر، AST، LDH و GGT گروه های تیمار نسبت به گروه های کنترل تغییر معنی داری نداشت ($p > 0.05$). روی هم رفته، آسیب کلیوی در پرندگان تلقیح شده با روش زیرپوستی در مقایسه با روش داخل نایی با توجه به میزان اسیداوریک به عنوان فراسنجه سرمی عملکرد کلیه، قابل توجه است. هر دو روش چالش، آسیب کبدی چندان را با توجه به فراسنجه های کبدی ایجاد نمی کنند، در صورتیکه افزایش شدید آنزیم کراتین فسفوکیناز در هر دو روش چالش دیده می شود. فلور فنیکل فراسنجه های سرمی پرندگان دچار کلی باسیلوز (بجز میزان سدیم در روش داخل نایی) را چندان تغییر نمی دهد.

واژه های کلیدی: فراسنجه های سرمی، کبد، کلیه، جوجه گوشتی، فلورفنیکل، کلی باسیلوز

مقدمه

آمونیاک و غیره ایجاد می شود، اما امروزه دانشمندان بر این عقیده هستند که APEC را می توان به عنوان یک بیماریزای اولیه نیز به شمار آورد (۱۹). نشانه های بالینی در کلی باسیلوز چندان ویژه نیست و می تواند تحت تاثیر سن ماکیان، مدت زمان عفونت، اندام درگیر شده و درگیری با سایر عفونت ها قرار گیرد (۱۶).

کبد به طور مستقیم از طریق گردش خون ورید باب به روده متصل است و به طور مداوم در معرض محصولات باکتریایی (مانند آندوتوکسین اشیریشیا کلای و لیپوپلی ساکارید ها) قرار می گیرد (۵). آسیب کبدی به دنبال آلودگی تجربی با اشیریشیا کلای در ماکیان گوشتی گزارش شده است که با افزایش معنی دار فعالیت آنزیم های AST

عامل ایجاد کلی باسیلوز در جوجه ها باکتری اشیریشیا کلای بیماریزای پرندگان (*Avian coli* (APEC) *Pathogenic Escherichia* است که در تمام سنین ایجاد بیماری می کند. بیماری شکل های بالینی گوناگونی داشته و به صورت سپتی سمی، آماس کیسه های هوایی، پریتونیت، سندرم سر متورم، سالیپنژیت و غیره دیده می شود. کلی باسیلوز می تواند درگیری با عفونت های ویروسی مانند نیوکاسل، برونشیت و گامبورو را پیچیده تر کند (۱۶). در گذشته چنین تصور می شد که این بیماری در ماکیان صنعتی به صورت ثانویه و در نتیجه عوامل زمینه ساز مانند عفونت های ویروسی، استرس، میزان بالای



تجویز اشیریشیا کلای برای ایجاد مدل عفونت کلی باسیلوز در دستگاه تنفس جوجه‌ها، از دیدگاه آسیب های بافتی با یکدیگر مقایسه شد. نتایج این تحقیق نشان داد که راه تجویز بر پیامدهای آسیب شناختی بیماری اثر زیادی دارد (۲۰). متأسفانه در هیچ یک از این مطالعات انجام شده، ارزیابی مقایسه ای اثرهای این روش‌ها بر فراسنجه های سرمی از جمله فراسنجه های مربوط به کبد و کلیه و نیز پاسخ به درمان به عنوان یکی از نکات مهم در ارزیابی مدل‌ها، به شمار نیامده است.

دامنه گسترده ای از پادزیست ها در پرورش طیور صنعتی در سراسر جهان استفاده می شوند. وجود مقاومت‌های دارویی چندگانه، لزوم آنتی‌بیوتیک درمانی درست و منطقی در کلی باسیلوز طیور را نشان می‌دهد (۲۷ و ۱۰). فلورفنیکل یک پادزیست با دامنه اثر گسترده است که در حیوانات تولیدکننده غذا از جمله طیور گوشتی امکان مصرف دارد (۱۰). در شرایط بالینی تجویز فلورفنیکل معمولاً به صورت خوراکی و به مدت چند روز انجام می‌شود. پژوهشگران به واکاوی اثرهای فلورفنیکل بر اندام‌ها و بافت‌های پارانشیمی مختلف بدن پرداخته‌اند و دریافته اند که این دارو می‌تواند سبب آسیب کبد و کلیه در موش شود. افزایش ازت اوره خون همراه با کاهش آل‌بومین ادرار و افزایش سطح گلوکز خون در موش‌ها دیده شده است (۲۸). فلورفنیکل غلظت بالای در کلیه‌ها و ریه‌ها داشته و دگرگشته های آن بیشتر بوسیله کلیه‌ها دفع می‌شود (۲). این دارو در دوزهای مختلف سبب افزایش معنی‌دار نیتروژن اوره خون، اسید اوریک، کراتینین در سرم و مالون دی آلدئید در کلیه جوجه‌های گوشتی شده است اما می‌تواند سبب کاهش گلوکوتایون و سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در کلیه‌ها نیز شود (۲۹). افزایش معنی‌دار 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. (۲۴).

با توجه به مطالب بالا ، اهداف مطالعه حاضر شامل مقایسه اثرگذاری دو مدل القای کلی باسیلوز (با دو روش مختلف داخل نایی و زیر پوستی) بر فراسنجه های کبدی (AST، LDH و GGT) و کلیوی (اوریک اسید) و نیز CPK، سدیم ، پتاسیم ، فسفر سرم جوجه‌های گوشتی

و ALT در سرم جوجه های آلوده شده به روش داخل نایی با باکتری اشیریشیا کلای O27 همراه بوده است (۱). دیگر پژوهشگران، افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های ALT و AST در سرم ماکیان گوشتی آلوده شده به اشیریشیا کلای به روش داخل صفاقی و نیز آسیب هیستوپاتولوژیک کبد را در این بیماری گزارش کرده اند (۵). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳ نیز انجام شد افزایش معنی دار میزان فعالیت آنزیم‌های ALT و AST و نیز اسید اوریک در سرم جوجه‌های گوشتی آلوده شده به اشیریشیا کلای به روش خوراکی گزارش شد (۲۴). همچنین، در مطالعه ای که به تازگی بوسیله الشناوی و همکاران انجام شده آلوده سازی جوجه ها با باکتری اشیریشیا کلای O17 به روش خوراکی باعث افزایش معنی دار میزان آنزیم های ALT و GGT در مقایسه با گروه کنترل سالم شد (۹). کلیه‌ها می‌توانند از راه‌های گوناگون مانند دستگاه گوارش و نیز گردش خون (به صورت سیستمیک) به باکتری اشیریشیا کلای آلوده شده، یا اینکه از راه توکسین‌ها یا آنزیم‌های تولید شده بوسیله باکتری آسیب دیده شوند. آسیب های ماکروسکوپی و میکروسکوپی ناشی از باکتری اشیریشیا کلای در کلیه طیور گزارش شده است (۳).

اگرچه بیش از یک قرن از نخستین توصیف بیماری کلی باسیلوز در طیور می‌گذرد، اما هنوز "نقاط تاریک" زیادی درباره روند بیماری‌زایی آن وجود دارد (۱۳). به منظور درک فرایند و سیر بیماری، بهینه سازی راهکارهای درمانی، ارزیابی پاسخ‌های ایمنولوژیک و شناخت راهکارهای درمانی، استفاده از مدل‌های درون تنی ضروری به نظر می‌رسند. دسته بزرگی از مدل‌های حیوانی، مدل‌های تجربی یا القایی می‌باشند. (۸). تا کنون در پژوهش های گوناگون چند روش متفاوت مانند روش زیرپوستی، داخل نایی، آئروسول، داخل بینی، داخل کیسه هوایی، داخل وریدی و داخل صفاقی برای ایجاد کلی باسیلوز در ماکیان گوشتی استفاده شده اند (۲۳، ۲۲، ۱۷). به نظر می‌رسد که لازم است این مدل‌ها از نظر شکل ظاهری، روند بیماری‌زایی و سبب شناسی و نیز توانایی پیشگویی در شرایط برخورد با بیماری و پاسخ به درمان مقایسه شوند. در مطالعه پائودل و همکاران در سال ۲۰۲۱ ، سه روش مختلف داخل نایی، آئروسول و داخل بینی



۳. گروه کنترل تلقیح زیرپوستی (SCC) که محیط کشت استریل را به صورت زیرپوستی در ناحیه کشاله ران دریافت کردند.

۴. گروه تلقیح باکتری به روش داخل نایی (IT) که باکتری با دوز مشخص شده را به صورت داخل نایی دریافت کردند.

۵. گروهی که باکتری را به صورت داخل نایی دریافت کردند و داروی فلورفنیکل نیز به آن‌ها تجویز شد (ITF).

۶. گروه تلقیح باکتری به روش زیرپوستی (SC) که باکتری با دوز مشخص شده را به صورت زیر پوستی دریافت کردند.

۷. گروهی که باکتری را به صورت زیرپوستی دریافت کردند و داروی فلورفنیکل نیز به آن‌ها تجویز شد (SCF).

گروه‌های ITF و SCF پس از ظهور علائم بالینی (حدود ۱۲ ساعت پس از تلقیح باکتری)، داروی فلورفنیکل (فلوئورفن رویان® ۱۰٪، رویان دارو، ایران) را با دوزاژ پیشنهادی شرکت سازنده (یک لیتر در هر ۱۰۰۰ لیتر آب آشامیدنی) دریافت کردند.

در روز ۳ پس از شروع درمان با دارو، بوسیله‌ی سرنگ از ورید بال ۷ قطعه پرنده در هر گروه خونگیری انجام شد. خون در لوله آزمایش بدون ماده ضدانعقاد ریخته شده و بی درنگ به آزمایشگاه فرستاده شد. بوسیله‌ی دستگاه سانتریفیوژ HERMLE Z 200 A ، با دور rpm 2500 به مدت ۵ دقیقه سرم جدا شده، به میکروتیوب انتقال داده شد. سرم‌ها تا زمان انجام آزمون‌های تکمیلی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. سپس با دستگاه Auto analyzer alpha classic -AT++ ساخت کشور آلمان، فرا سنج‌های سرمی ارزیابی شد. سنجش فعالیت آنزیم‌های AST ، GGT ، LDH ، CPK و نیز سنجش میزان اسید اوریک و فسفر سرم با کیت‌های تجاری ساخت شرکت پارس آزمون انجام شد. فراسنج‌های سدیم و پتاسیم با استفاده از دستگاه photometer Flame فاطر الکترونیک ساخت کشور ایران، اندازه‌گیری شدند.

بررسی آماری داده‌ها با نرم افزار Graphpad prism 6 انجام گرفت. داده‌های بدست آمده از اندازه‌گیری فرا سنج‌های سرمی در گروه‌های مختلف توسط روش ANOVA یک طرفه و در ادامه با آزمون مقایسه‌ای

می‌باشد. همچنین اثرگذاری احتمالی فلورفنیکل تجویز شده در دوزاژ معمول درمان کلی باسیلوز سیستمیک در جوجه‌های گوشتی، بر فراسنج‌های سرمی بالا ارزیابی می‌شود.

مواد و روش کار

در این پژوهش از باکتری اشریشیا کلای گروه سرمی O2 جدا شده از طیور و تهیه شده از موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی استفاده شد. باکتری استفاده شده بر پایه روش انتشار دیسک، به پادزیست فلورفنیکل حساس بود. برای تازه سازی و داشتن مقدار دلخواه پرگنه برای زنجیره مراحل پیوسته آبی که در زیر به آن اشاره شده است، در ابتدا باکتری بر روی محیط آگار خون دار و محیط آگار مغذی کشت داده شده و سپس در گرم خانه در دمای C° ۳۷ به مدت ۱۸-۴۸ ساعت قرار داده شد. دوز باکتری استفاده شده در این مطالعه بر اساس پژوهش‌های پیشین (۲۲) به میزان $10^8 \times 7/1$ CFU/mL باکتری به ازای هر قطعه پرنده (هر پرنده ۱ میلی لیتر) در نظر گرفته شد.

در شروع مطالعه، شمار ۱۲۵ قطعه جوجه گوشتی یک روزه با میانگین وزنی ۴۲ گرم از نژاد تجاری کاب ۵۰۰ و از هر دو جنس، خریداری شد و در سالن و اتاق‌هایی که شرایط ایمنی زیستی در آن‌ها رعایت شده بود، نگه‌داری شد. در طول آزمایش دسترسی آزاد به آب و غذا برای همه گروه‌ها فراهم بود. درجه حرارت اتاق در طول هفته اول پرورش $32 \pm 0/5$ 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 نگه‌داشته شد. برنامه روشنایی پیوسته در طول این دوران برای جوجه‌ها به کار گرفته 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 (گروه‌های آزمون) و ۳ گروه ۱۵ تایی (گروه‌های کنترل) به شرح زیر تقسیم شدند:

۱. گروه کنترل منفی (NC) که هیچ گونه تیمار خاصی دریافت نکردند.

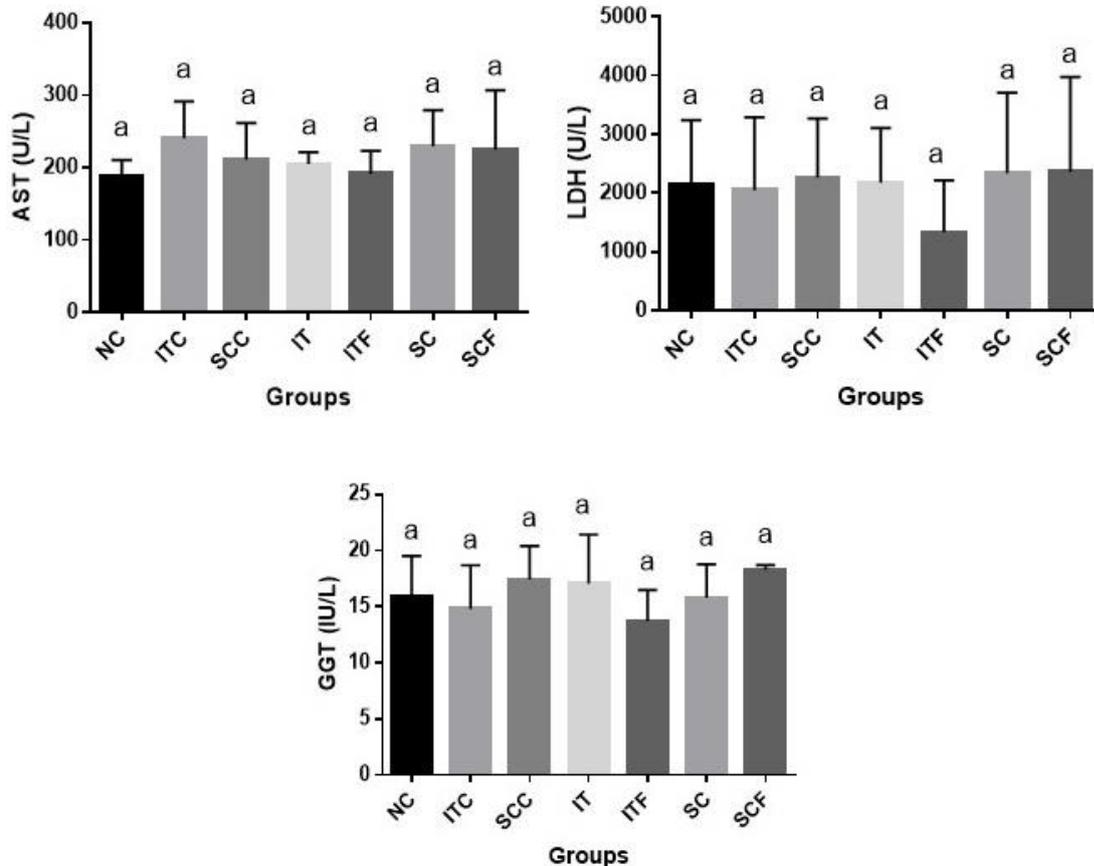
۲. گروه کنترل تلقیح داخل نایی (ITC) که محیط کشت استریل را به صورت داخل نایی دریافت کردند.



نتایج

در بررسی فراسنجه های کبدی، شکل ۱ میزان فعالیت سرمی آنزیم های AST و LDH و GGT را در گروههای مختلف نشان می دهد.

تکمیلی Tukey آنالیز و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شد. سطح معنی دای در تمام مقایسه ها ($p < 0.05$) در نظر گرفته شد.

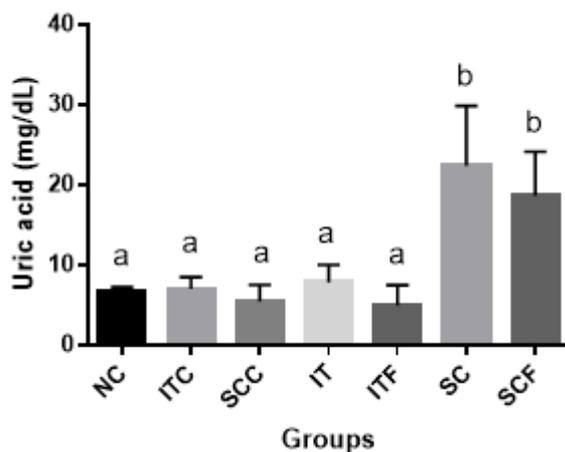


شکل ۱- میزان فعالیت سرمی آنزیم های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT) (میانگین و انحراف معیار) در گروههای مختلف، حروف مشابه در بالای ستون ها نشانگر نبود تفاوت معنی دار میان گروهها می باشد ($p > 0.05$). NC: گروه کنترل سالم بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا پادزیست، 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 پادزیست، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF: گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده پادزیست.

با یکدیگر و با گروه کنترل تفاوت معنی داری ندارند ($p > 0.05$).

در ارزیابی فراسنجه های کلیوی، شکل ۲ میزان اسید اوریک در گروههای مختلف نشان داده شده است.

اندازه گیری فعالیت سرمی هر سه آنزیم نشان داد بین گروههای کنترل در این فراسنجه ها تفاوت معنی داری وجود نداشته ($p > 0.05$) و همچنین گروههای تیمار نیز

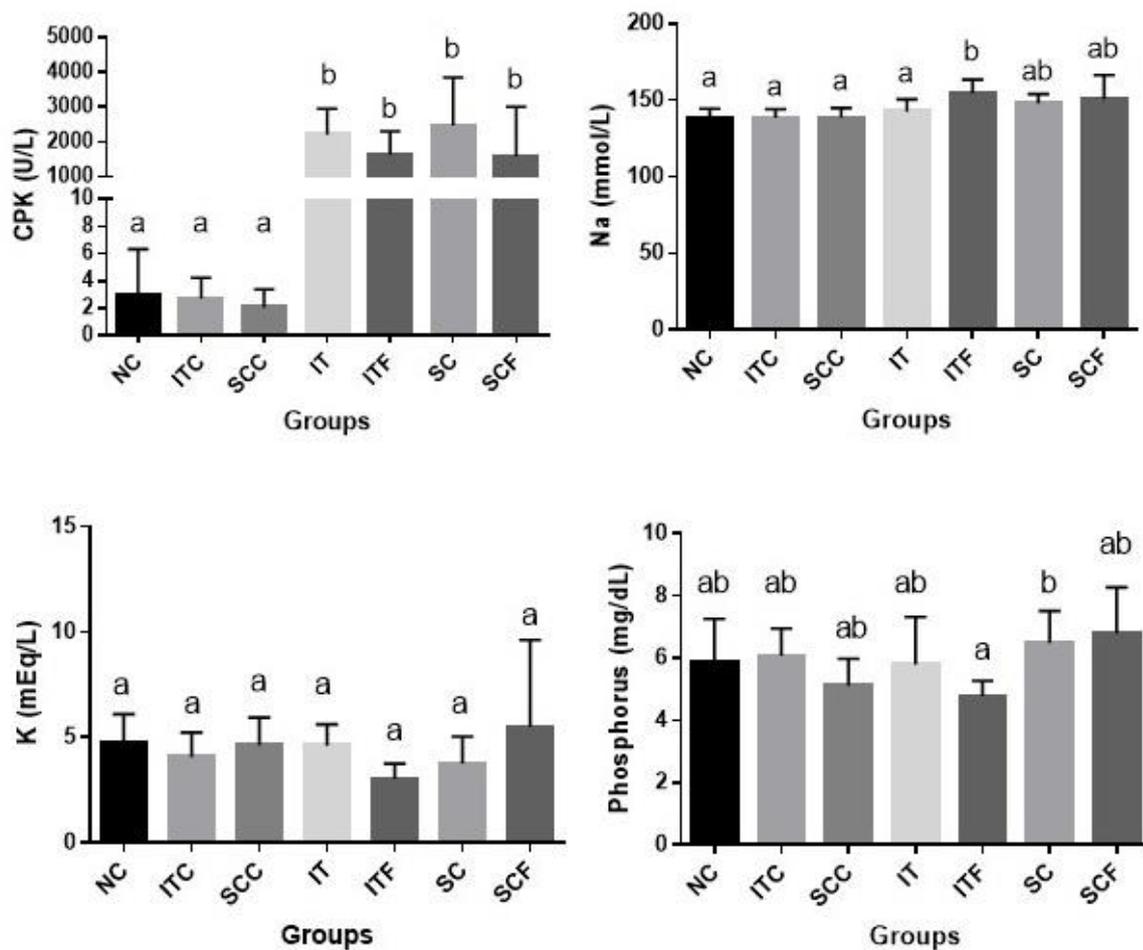


شکل ۲- مقادیر اسید اوریک (میانگین و انحراف معیار) در گروه‌های مختلف، حروف نامشابه در بالای ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار میان گروه‌ها در این فراسنجه‌ها می‌باشد ($p < 0.05$). NC: گروه کنترل سالم بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا پادزیست، ITC: گروه کنترل برای روش القای داخل نایی، SCC: گروه کنترل برای روش القای زیرجلدی، IT: گروه القا شده به روش داخل نایی، ITF: گروه القا شده به روش داخل نایی و دریافت کننده پادزیست، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF: گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده پادزیست.

میان این دو گروه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$).

در شکل شماره ۳ میزان فعالیت آنزیم CPK، سدیم، پتاسیم و نیز فسفر سرمی در گروه‌های مختلف نشان داده شده است.

اندازه‌گیری میزان اوریک اسید سرمی نشان داد تفاوت معنی‌داری میان گروه‌های کنترل وجود ندارد ($p > 0.05$). میزان اسید اوریک در دو گروه SC و SCF به نحو معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود ($p < 0.01$) حال آنکه



شکل ۳- میزان فعالیت سرمی آنزیم کراتین فسفوکیناز (CPK) و مقادیر سدیم، پتاسیم و فسفر (میانگین و انحراف معیار) در گروه‌های مختلف، حروف نامشابه در بالای ستون‌ها نشانگر تفاوت معنی‌دار میان گروه‌ها در این فراسنج‌ها می‌باشد ($p < 0.05$). NC: گروه کنترل سالم بدون دریافت هرگونه محیط کشت یا باکتری یا پادزیست، 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 پادزیست، SC: گروه القا شده به روش زیرجلدی، SCF: گروه القا شده به روش زیرجلدی و دریافت کننده پادزیست.

$p =$ همچنین تفاوت بین گروه SC با SCF نیز معنی دار نبود ($p > 0.05$). میزان پتاسیم و فسفر بین چهار گروه تیمار با گروه‌های کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). اما میزان فسفر سرمی در گروه SC بصورت معنی‌داری بیشتر از گروه ITF بود ($p = 0.02$).

بحث

همانگونه که پیشتر در بخش نتایج گفته شد تفاوت معنی‌داری در هیچ یک از فراسنج‌های اندازه‌گیری شده در این مطالعه، میان گروه‌های کنترل دیده نشد. این رخداد بیانگر آن است که فرایند تلقیح محیط کشت بدون باکتری

سه گروه کنترل از نظر تمامی فراسنج‌های بالا با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p > 0.05$). در هر چهار گروه تیمار میزان CPK بصورت معنی‌داری بیشتر از گروه‌های کنترل بود (در تمام موارد $p < 0.001$). گروه‌های تیمار شده با پادزیست در مقایسه با گروه‌هایی که پادزیست دریافت نکرده و فقط با روش‌های زیر پوستی یا داخل نایی چالش داده شده بودند تفاوت معنی‌داری در این فراسنج‌ها نشان ندادند ($p > 0.05$). در اندازه‌گیری سدیم تفاوت بین دو گروه IT و SC با گروه‌های کنترل معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). هر چند دو گروه ITF و IT تفاوت معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0.01$).



بکار رفته بود، طباطبایی و همکاران (۲۰۱۵) تغییر معنی داری در فعالیت سرمی LDH و AST جوجه‌ها بیمار ندیدند (۲۶). به نظر می‌رسد که روش القای کلی باسیلوز اثرگذاری مهمی در ایجاد آسیب کبدی ناشی از این باکتری داشته باشد. شاید در روش‌های خوراکی و داخل صفاقی در مقایسه با روش‌های زیرپوستی و داخل نایی، کبد سریع‌تر در مواجهه با تعداد بالای باکتری قرار گرفته و به دنبال آن آسیب کبدی شدیدتری ایجاد می‌شود. همراستا با این امر، در مطالعه صابری و همکاران در سال ۲۰۲۳، که در آن جوجه‌های دچار کلی باسیلوز القا شده با روش داخل نایی و زیرپوستی مطالعه شدند، آسیب‌های جدی در کالبد گشایی کبد جوجه‌ها دیده نشده و ضایعات محدود به پری هپاتیت بود (۲۲).

از سوی دیگر، این احتمال نیز وجود دارد که سویه‌ی باکتری استفاده شده نیز بر روی فراسنجه‌های کبدی اثرگذار بوده باشد. در مطالعه صورت گرفته توسط ابوالحامد و همکاران در سال ۲۰۲۲ (۱) اگرچه باکتری اشیریشیا کلای O27 به روش داخل نایی به جوجه‌ها تلقیح شد، برخلاف مطالعه حاضر میزان فراسنجه‌های سرمی کبدی مانند ALT و AST افزایش یافت. این امر نیز می‌تواند به دلیل تفاوت سویه باکتری استفاده شده در دو پژوهش باشد.

آنزیم CPK یک آنزیم ویژه ماهیچه است که می‌تواند در پرندگان برای 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 چشمگیر فعالیت این آنزیم شوند (۶). در مطالعه حاضر افزایش بسیار شدید میزان فعالیت سرمی آنزیم CPK در پرندگان آلوده شده با باکتری اشیریشیا کلای در مقایسه با گروه‌های کنترل مشاهده شد. طباطبایی و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵، افزایش معنی‌دار آنزیم CPK را در سرم جوجه‌های دچار کلی باسیلوز گزارش کردند (۲۶). در مطالعه صورت گرفته توسط داروسا و همکاران در سال ۲۰۱۹، گزارش شد که میزان فعالیت آنزیم CPK در سرم مرغ‌های تخم‌گذار که دارای نشانه‌های بالینی بیماری کلی باسیلوز بودند در مقایسه با مرغ‌های سالم افزایش چشمگیری نشان می‌دهد (۷). در

چه از راه زیرپوستی و چه از راه داخل نایی تاثیری بر این فراسنجه‌ها در مقایسه با کنترل سالم ندارد.

اندازه‌گیری مقادیر GGT در پرندگان یک روش مناسب ارزیابی عملکرد کبد در نظر گرفته می‌شود. افزایش فعالیت این آنزیم، نشان دهنده آسیب سلولی کبد است (۶). هرچند فعالیت آنزیم AST سرم به عنوان یکی از فراسنجه‌های شناسایی بیماری‌های کبدی در پرندگان به کار گرفته می‌شود، 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 مطرح می‌شود. افزایش عملکرد آنزیم LDH نیز اگرچه می‌تواند نشانگر آسیب کبدی باشد اما این آنزیم ویژگی پایینی برای نشان دادن آسیب‌های کبد دارد (۱۴). در مطالعه حاضر القای کلی باسیلوز با هر دو روش داخل نایی و زیرپوستی سبب دگرگونی معنی‌داری در میزان فعالیت سرمی این آنزیم‌ها در گروه‌های بیمار در مقایسه با گروه‌های کنترل نشد. همچنین درمان با پادزیست تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های گفته شده ایجاد نمود. بنابراین بنظر می‌رسد ایجاد کلی باسیلوز با هر دو مسیر بکار گرفته شده در مطالعه حاضر بر آنزیم‌های کبد تاثیری نداشته و سبب ایجاد آسیب کبدی چشمگیر نمی‌شود. همچنین درمان با فلورفنیکل نقشی در ایجاد تغییرات آنزیمی ندارد. در مطالعات پیشین که در آن‌ها روش‌های دیگری برای القای کلی باسیلوز در جوجه‌ها بکار گرفته شده نتایج متفاوت بوده‌اند. بطوریکه در مطالعه شارما و همکاران در سال ۲۰۱۵، که در آن سوسپانسیون باکتری اشیریشیا کلای سویه O78 به روش داخل صفاقی به مرغان تزریق شد، افزایش معنی‌داری در فعالیت سرمی آنزیم‌های AST و LDH دیده شد (۲۵). همچنین شاهین و الفر (۲۰۱۳)، افزایش معنی‌دار AST سرم را در جوجه‌ها به دنبال تلقیح باکتری اشیریشیا کلای سویه‌ی O78 به روش خوراکی گزارش کردند (۲۴). همسو با آن، آلشنای و همکاران پس از آلوده سازی جوجه‌ها با باکتری اشیریشیا کلای به روش خوراکی، افزایش آنزیم‌های سرمی شامل GGT و ALT را نشان دادند (۹). اما در مطالعه‌ای که در آن شبیه به مطالعه حاضر، روش زیرپوستی برای تلقیح باکتری اشیریشیا کلای به جوجه‌ها





مطالعه حاضر نیز احتمالاً افزایش شدید آنزیم CK به دلیل سپتی سمی ناشی از بیماری بوده است.

درمان مرغ‌های دچار کلی باسیلوز با نورفلوکسازین، فعالیت CPK سرم را در این پرندگان کاهش داده است (۷). اما در مطالعه حاضر تجویز فلورفنیکل کاهش چشمگیری در فعالیت آنزیم CPK در مقایسه با گروه‌های درمان نشده ایجاد نمود. غلامی آهنگران و همکاران در سال ۲۰۲۲، نشان دادند که تجویز فلورفنیکل به جوجه‌های ۲۱ روزه سالم موجب افزایش مختصر و غیرمعنی‌دار میزان CPK سرمی در مقایسه با جوجه‌های سالم می‌شود (۱۱). بنابراین عدم کاهش CPK در جوجه های درمان شده با فلورفنیکل در مطالعه حاضر، می‌تواند به دلیل نقش این پادزیست در افزایش فعالیت آنزیم گفته شده باشد.

اسید اوریک بوسیله کبد تولید شده و از راه کلیه‌ها دفع می‌شود. اگر اسید اوریک به درستی از جریان خون بیرون نرود، شروع به بلوری شدن کرده و در نقاط مختلف بدن پرنده انباشته می‌شود. انباشت بلورها می‌تواند به شدت به بافت‌ها آسیب برساند. اندازه‌گیری اوریک اسید شاخصی از سلامت کلیه پرندگان است (۲۱). در مطالعه گادبول و همکاران در سال ۲۰۱۸، مرغان با باکتری اشیریشیا کلای به روش خوراکی چالش داده شدند. این پژوهشگران گزارش کردند که سطح سرمی اسید اوریک گروه چالش یافته با اشیریشیا کلای در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۱۲). ابراهیم و همکاران نیز در سال ۲۰۲۲، افزایش میزان اسید اوریک سرم پرندگان چالش داده شده با اشیریشیا کلای به روش خوراکی را نشان دادند (۱۵). همسو با این مطالعه‌ها، در مطالعه حاضر افزایش میزان اوریک اسید در گروه‌های چالش داده شده به روش زیرپوستی مشاهده شد، اما میزان اوریک اسید در گروه تلقیح شده به روش داخل نایی از دید آماری هم سطح با گروه کنترل بود. بنابراین، احتمالاً روش تلقیح در تغییرات میزان اوریک اسید و شدت آسیب کلیوی تاثیر گذار می‌باشد. از آنجا که تلقیح باکتری در مطالعه حاضر در ناحیه کشاله ران انجام شد، احتمالاً بار بالای باکتری به سرعت از راه دستگاه باب کلیوی وارد کلیه‌ها شده و سبب آسیب جدی گردیده است. همچنین در مطالعه حاضر هیچ گونه تغییری در میزان اوریک اسید

سرم در گروه‌های درمان شده با فلورفنیکل در مقایسه با گروه‌های چالش داده شده و درمان نشده مشاهده نشد که می‌تواند حاکی از عدم توانایی فلورفنیکل در کاهش دادن آسیب‌های ناشی از باکتری بر کلیه باشد.

افزایش میزان سدیم سرم می‌تواند در مواردی مانند کم آبی بدن و آسیب کلیه‌ها بروز پیدا کند (۲۱). کمبود پتاسیم در عمل به ندرت مشاهده می‌شود زیرا مخلوط‌های استاندارد خوراک طیور حاوی بیش از ۱٪ پتاسیم هستند (۴). در مطالعه حاضر سطح سرمی پتاسیم و سدیم در گروه‌های چالش یافته با باکتری و گروه‌های چالش یافته با باکتری و درمان شده با فلورفنیکل، نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. همسو با مطالعه حاضر، گادبول و همکاران در سال ۲۰۱۸، تفاوت معنی‌داری در میزان پتاسیم و سدیم سرم طیور تلقیح شده با باکتری/اشیریشیا کلای با پرندگان سالم ندیدند (۱۲). همچنین غلامی آهنگران و همکاران در سال ۲۰۲۲، نشان دادند سطح پتاسیم سرم متعاقب تجویز فلورفنیکل به جوجه‌های ۲۱ روزه سالم، تغییر معنی‌داری ندارد (۱۱) که همراستا با مطالعه حاضر می‌باشد.

در مطالعه حاضر سطح سرمی سدیم در گروه چالش یافته به روش داخل نایی و دریافت‌کننده فلورفنیکل (ITF) نسبت به گروه چالش یافته با باکتری به روش داخل نایی (IT)، افزایش معنی‌داری را نشان داد. متأسفانه با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه دلیل این امر مشخص نبوده و نیازمند مطالعات بعدی می‌باشد.

در مطالعه کومار و همکاران در سال ۲۰۰۳، تفاوت میزان فسفر میان جوجه‌های گوشتی ۱۴ روزه آلوده شده به اشیریشیا کلای سویه O78 با روش خوراکی و گروه کنترل معنی‌دار نبوده است (۱۸). در مطالعه حاضر نیز هیچ یک از روش‌های القای سبب تغییر معنی در فسفر سرم جوجه‌ها در مقایسه با گروه‌های کنترل نشد. بنابراین به نظر می‌رسد القای کلی باسیلوز با روش‌های گفته شده تاثیری بر میزان فسفر سرمی جوجه‌ها ندارد.

در مجموع به نظر می‌رسد که استفاده از روش‌های مختلف برای القای کلی باسیلوز می‌تواند باعث ایجاد تفاوت از نظر اثرگذاری بر کبد و کلیه جوجه‌های گوشتی شود هرچند هر دو روش میزان فعالیت CPK را به شدت افزایش می‌دهند. در روش زیرپوستی آسیب کلیوی



- Requirements and selection of an animal model. *Israel journal of medical sciences*. 1987; 23(6):551-5.
9. El-Shenawy FA, El-Sherbeny EME, Kassem S. Efficacy of zinc oxide and copper oxide nanoparticles on virulence genes of avian pathogenic *E. coli* (APEC) in broilers. *BMC Vet Res*. 2023; 19(1):108.
 10. Fodey TL, George SE, Traynor IM, Delahaut P, Kennedy DG, Elliott CT, Crooks SR. Approaches for the simultaneous detection of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine using immunochemical techniques. *Journal of immunological methods*. 2013; 393(1-2): 30-7.
 11. Gholami-Ahangaran M, Karimi-Dehkordi M, Namjoo A, Shojaei H, Ahmadi-Dastgerdi A. The co-administration effects of florfenicol and lasalocid on performance, biochemical and pathological parameters of muscle, heart, liver, kidney and sciatic nerve in broiler chickens. *Veterinary Medicine and Science*. 202; 8(1):211-8.
 12. Godbole PV, Hajare SW, Bhosale P, Hedau M, Ingawale MV, Ingole RS, Kuralkar P, Bhojane NM. Effect of curcumin on hemato-biochemical alterations after induced *E. coli* infection in broilers. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2018; 7(1): 484-6.
 13. Guabiraba R, Schouler C. Avian colibacillosis: still many black holes. *FEMS microbiology letters*. 2015 Aug 1;362(15):fnv118.
 14. Harr KE. Clinical chemistry of companion avian species: a review. *Veterinary clinical pathology*. 2002; 31(3): 140-51.
 15. Ibrahim D, Eldemery F, Metwally AS, Abd-Allah EM, Mohamed DT, Ismail TA, Hamed TA, Al Sadik GM, Neamat-Allah AN, El-Hamid A, Marwa I. Dietary eugenol nanoemulsion potentiated performance of broiler chickens: Orchestration of digestive enzymes, intestinal barrier functions and cytokines related gene expression with a consequence of attenuating the severity of *E. coli* O78 infection. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022; 9:540.
- مشاهده می شود در صورتیکه در روش داخل نایی کلیه ها چندان تحت تاثیر قرار نمی گیرند. هر دو روش ایجاد عفونت سبب آسیب کبدی نمی شوند و بنابراین در صورت نیاز به ایجاد آسیب کبدی در مدل های کلی باسیلوز جوجه های گوشتی، این دو روش کاربردی و مفید نخواهند بود. تجویز فلور فنیکل اثراتی بر فراسنجه های سرمی سنجیده شده در پرندگان دچار کلی باسیلوز (بجز میزان سدیم در روش داخل نایی) ندارد.

منابع

1. Abu El Hamed W, Soufy H, EL-Shemy A, Fotouh A, Nasr SM, Dessouky MI. 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. *Egyptian Journal of Chemistry*. 2022; 65(6):269-82.
2. Afifi NA, El-Sooud KA. Tissue concentrations and pharmacokinetics of florfenicol in broiler chickens. *British poultry science*. 1997 Sep 1;38(4):425-8.
3. Andayani NK, Setyawati I, Joni M. Kidney histopathology of *Gallus gallus domesticus* infected by *E. coli* in Denpasar, Bali. *Advances in Tropical Biodiversity and Environmental Sciences*. 2018; 2(1): 14-7.
4. Baloš MŽ, Jakšić S, Knežević S, Kapetanov M. Electrolytes-sodium, potassium and chlorides in poultry nutrition. *Archives of Veterinary Medicine*. 2016; 9(1):31-42.
5. Bao J, Zhang Y, Zhang L, Gong X, Shi W, Liu L, Wang X. Therapeutic effect of Schisandrin A on avian colibacillosis through gut-liver axis. *Poultry Science*. 2021 Oct 1;100(10):101371.
6. Campbell TW. Avian hematology and cytology. State University Press; 1988.
7. da Rosa G, Da Silva AS, Souza CF, Baldissera MD, Mendes RE, Araujo DN, Alba DF, Boiago MM, Stefani LM. Impact of colibacillosis on production in laying hens associated with interference of the phosphotransfer network and oxidative stress. *Microbial pathogenesis*. 2019; 130:131-6.
8. Davidson MK, Lindsey JR, Davis JK.



- containing increased serum survival gene in broilers. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2012; 43: 363-70.
24. Shaheen HM, El-Far AH. Evaluation of the therapeutic efficacy of pefloxacin and florfenicol combination in broilers experimentally challenged by *Escherichia coli*. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2013; 23(2): 396-404.
25. Sharma V, Jakhar KK, Nehra V, Kumar S. Biochemical studies in experimentally *Escherichia coli* infected broiler chicken supplemented with neem (*Azadirachta indica*) leaf extract. *Vet World*. 2015;8 (11): 1340-5.
26. Tabatabaei SM, Badalzadeh R, Mohammadnezhad GR, Balaei R. 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*. 2015; 35: 781-7.
27. Talebiyan R, Kheradmand M, Khamesipour F, Rabiee-Faradonbeh M. Multiple antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens in Iran. *Veterinary medicine international*. 2014; 2014.
28. Turton JA, Yallop D, Andrews CM, Fagg R, York M, Williams TC. Haemotoxicity of chloramphenicol succinate in the CD-1 mouse and Wistar Hanover rat. *Human & experimental toxicology*. 1999; 18(9): 566-76.
29. Wang X, Han C, Cui Y, Li S, Jin G, Shi W, Bao Y. Florfenicol causes excessive lipid peroxidation and apoptosis induced renal injury in broilers. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2021; 207: 111282.
16. Kathayat D, Lokesh D, Ranjit S, Rajashekara G. Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC): An Overview of Virulence and Pathogenesis Factors, Zoonotic Potential, and Control Strategies. *Pathogens*. 2021; 10(4): 467.
17. Kromann S, Olsen RH, Bojesen AM, Jensen HE, Thøfner I. Development of an aerogenous *Escherichia coli* infection model in adult broiler breeders. *Scientific Reports*. 2021;11 (1): 19556.
18. Kumar A, Jindal N, Shukla CL, Pal Y, Ledoux DR, Rottinghaus GE. Effect of ochratoxin A on *Escherichia coli*-challenged broiler chicks. *Avian diseases*. 2003; 47(2):415-24.
19. Nolan LK, Vaillancourt JP, Barbieri NL, Logue CM. "Colibacillosis," In: Swayne DE, ed *Diseases of Poultry*. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell (2020). p. 770–830.
20. Paudel S, Fink D, Abdelhamid MK, Zöggeler A, Liebhart D, Hess M, Hess C. 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*. 2021; 50(5): 417-26.
21. Sabater M, Forbes N. Avian haematology and biochemistry 2. *Biochemistry. In Pract.*, 2015, 37 ;139-142 <https://doi.org/10.1136/inp.g6976>
22. Saberi A, Mosleh N, Shomali T, Naziri Z. A Comparative Study on Two Infection Models of Colibacillosis in Broilers: Clinical Features, Pathogenesis, and Response to Therapy. *Avian Dis*; 2023; 67 (3): 261–268.
23. Salehi TZ, Tabatabaei S, Karimi V, Fasaei BN, Derakhshandeh A, Jahromi OA. Assessment of immunity against avian colibacillosis induced by an *aroA* mutant



Evaluation of the effect of two colibacillosis induction methods and treatment with florfenicol on selected serum biochemical parameters in broiler chickens

Fatemeh Hosseini¹; Tahoor Shomali²; Najmeh Mosleh^{3*}; Saied Nazifi³

1. DVM Graduated Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.
2. Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.
3. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz- Iran.

Accepted: 27 February 2024 *Received:* 28 June 2023

Summary

This study compares the effect of two colibacillosis induction methods including intratracheal and subcutaneous routes and treatment with florfenicol on serum parameters of broilers. One hundred and twenty five 35-day-old broilers were divided into 3 control groups (healthy, intratracheal induction control, subcutaneous induction control) and 4 experimental groups (intratracheal induction, intratracheal induction and antibiotic treated, subcutaneous induction, subcutaneous induction and antibiotic treated). Three days after treatment, blood sampling from all groups was performed. CPK activity in the four experimental groups showed a significant increase compared to the control groups. Uric acid in two groups of subcutaneous induction and subcutaneous induction with antibiotic treatment had a significant increase compared to the control groups. Sodium showed a significant increase in the intratracheal induction with antibiotic treatment group compared to the control groups. Potassium, phosphorus, AST, LDH and GGT in the treatment groups did not change significantly compared to the control groups ($p < 0.05$). Taken together, kidney damage in birds inoculated by subcutaneous method is higher than intratracheal method according to the level of uric acid as a serum parameter of kidney function. Both challenge methods do not result in liver damage according to liver parameters, while a strong increase in CPK activity is present in both challenge methods. Florfenicol does not significantly change the serum parameters of birds with colibacillosis (except the amount of sodium in the intratracheal method).

Keywords: serum parameters, kidney, liver, broiler, florfenicol, colibacillosis

*Corresponding author: nmosleh@shirazu.ac.ir

