# اثر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی روی پاسخ آماسی روده در جوجه گوشتی

مریم لطفی قرایی[۱]، دکتر حمیدرضا کازرانی[۲]، دکتر جلیل مهرزاد[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.
[۲]دانشیار بخش فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.
[۳]دانشیار بخش میکروبیولوژی و ایمنی شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران.

**چکیده**

میکروارگانیسم‌های مفید موجود در دستگاه گوارش می‌توانند اثرات مفیدی روی بهبود سیستم ایمنی و عملکرد حیوان به‌جای گذارند. در همین راستا استفاده از مکمل‌های پروبیوتیک در جیره طیور در دهه‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. این مطالعه با هدف بررسی اثر باکتری پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی (*Pediococcus acidilactici*) روی سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی صورت گرفته است. در این پژوهش، سطح بیان ژن اینترلوکین ۱- بتا (IL-1β) به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم وضعیت ایمنی حیوان بررسی شد. جوجه‌ها در دو گروه آزمایشی مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه شاهد جیره غذایی فاقد پروبیوتیک دریافت نمود، در حالی که گروه آزمون جیره غذایی حاوی پروبیوتیک (پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی) دریافت نمود. هر گروه شامل ٦ تکرار و در هر تکرار ٤٠ قطعه جوجه‌گوشتی مورد مطالعه قرار گرفتند. در پایان دوره پرورش (سن ٤٢ روزگی)، ٦ جوجه از هر گروه به‌طور تصادفی انتخاب شده و بیان ژن IL-1β در بافت روده به‌روش واکنش زنجیره پلیمراز زمان واقعی (RT-PCR) بررسی شد. اینترلوکین ۱- بتا در گروهی که با پروبیوتیک تغذیه شده بود در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. این پژوهش نشان می‌دهد پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی می‌تواند به‌طور مؤثری پاسخ آماسی در جوجه گوشتی را تنظیم نماید.

**واژگان کلیدی: پروبیوتیک، جوجه گوشتی، پدیوکوکوس اسید لاکتیسی، التهاب روده، IL-1β.**

## مقدمه

صنعت طیور در بسیاری از کشورها به یک فعالیت مهم اقتصادی تبدیل شده است. در مقیاس های بزرگ سیستم پرورش، که در آن طیور در معرض شرایط استرس زا قرار می گیرید، مشکلات مربوط به بیماری ها و اغلب بدتر شدن شرایط زیست محیطی رخ می دهد و منجر به زیان های اقتصادی جدی می گردد (Kabir, 2009). در همین راستا استفاده از عوامل ضد میکروبی مثل پروبیوتیک به عنوان یک عامل پیشگیرانه مطرح است (Nava, Bielke, Callaway, & Castaneda, 2005). پروبیوتیک ها عبارت است از میکروارگانیسم های زنده ای که چنانچه در مقادیر کافی مصرف شوند، اثرات مفیدی روی سلامت میزبان به جای می‌گذارند (Hotel & Cordoba, 2001). به بیانی دقیق‌تر، پروبیوتیک ها میکروارگانیسم‌های غیر بیماری زا و غیر سمی در طبیعت هستند که چنانچه به روش گوارشی تجویز شوند، روی سلامتی میزبان اثرات مطلوبی به جای می گذارند (Guillot, 1998). نحوه‌ی عمل پروبیوتیک‌ها در طیور شامل حفظ فلور طبیعی روده از طریق حذف رقابتی و آنتاگونیستی میکروارگانیزم‌های مضر (Awad, Böhm, Razzazi-Fazeli, Ghareeb, & Zentek, 2006; Yin et al., 2010)، تغییر متابولیسم بدن با افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، کاهش فعالیت آنزیمی باکتریایی و تولید آمونیاک (Jeong & Kim, 2014; Lee, Kim,

(Lillehoj, Jang, & Lee, 2015) و تحریک سیستم ایمنی (Apata, 2008; Brisbin et al., 2008) می‌باشد. مکانیزم عمل پروبیوتیک روی موکوس سیستم ایمنی جوجه به طور کامل واضح نیست. با این حال پذیرفته شده است که پروبیوتیک اثر تنظیمی روی ایمنی دارد (Edens, 2003; Ng, Hart, Kamm, Stagg, & Knight, 2008).

اثرات تنظیمی ایمنی در طیور از طریق دو مسیر است: ۱- ازطریق میکروبیوتا، که در این صورت پروبیوتیک در طول دیواره‌ی روده حرکت می کند و در یک محدوده تکثیر پیدا می‌کند. ۲- آنتی ژن آزاد شده از ارگانیزم ها باعث تحریک سیستم ایمنی می گردد (Havenaar & Spanhaak, 1994). ایمنی ذاتی (غیراختصاصی) نخستین خط دفاعی بدن است و پروبیوتیک‌ها از طریق تحریک رسپتورهای سیستم ایمنی ذاتی، باعث فعال شدن یک سری سیگنال‌ها و در نتیجه افزایش بیان برخی میانجی‌ها و نهایتاً شروع پاسخ ایمنی می گردد (Awad et al., 2006). اجزای سیستم ایمنی ذاتی از طریق گیرنده‌های خود قادر به شناسایی میکروارگانیسم‌ها یا فرآورده‌های آنها هستند و با اتصال به مسیرهای انتقال پیام، منجر به فعال سازی فاکتورهای نسخه برداری و بیان ژن‌های مهم در پاسخ‌های ایمنی ذاتی می شوند.

تلقیح جمعیت‌های مختلف باکتریایی به جوجه های تازه متولد شده نقش تعیین کننده‌ای در شکل گیری میکروبیوم روده‌ای دارد (Chen, Cheng, & Wang, 2013). این امر همچنین بیان ژن‌های میزبان را تحت تاثیر قرار می دهد، به گونه‌ای که پروبیوتیک باعث افزایش بیان ژن گیرنده‌های درگیر در سیستم ایمنی ذاتی نظیر سایتوکاین های IL-1β، IL-12 و INF-γ در روده ی طیور می‌گردد. این سایتوکاین ها از طریق تحریک آزادسازی سایر سایتوکاین ها و میانجی ها از سلول های ایمنی سبب بروز پاسخ های ایمنی می گردند (Lee et al., 2015)

در مطالعه‌ی پیش رو با توجه به نقش محرک‌های ایمنی در میزبان، با استخراج RNA از نمونه های نرمال و تیمار و سپس سنتز cDNA و انجام RTqPCR، میزان بیان کلیدی ترین مولکول آماسی بدن طیور در سطح mRNA جهت بررسی اثر تنظیمی پروبیوتیک پدیوکوکوس اسید لاکتیسی بررسی شد.

## مواد و روش ها

در این پژوهش از دو گروه شامل ٦ تکرار و در هر تکرار ٤٠ قطعه جوجه گوشتی نر راس ۳۰۸ یک روزه به شرح زیر استفاده شد:

گروه ۱: این گروه هیچ گونه تیمار خاصی دریافت نکرد و به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد.

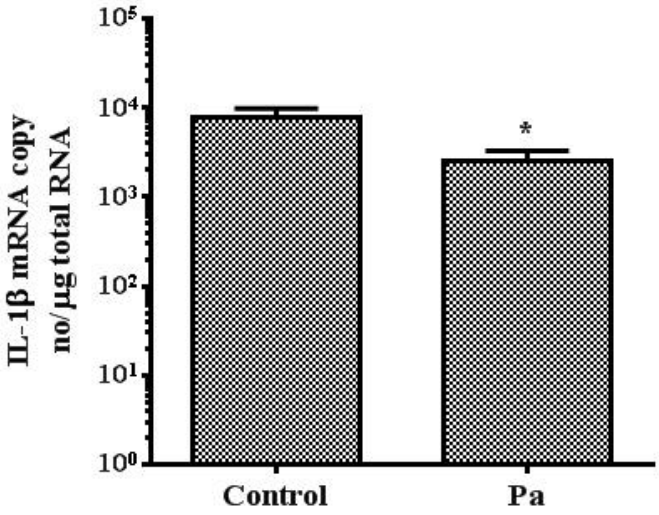
گروه ۲: این گروه تا پایان دوره‌ی پرورش (٤٢ روز) پروبیوتیک پدیوکوکوس اسید لاکتیسی دریافت نمود.

جوجه ها در پایان ٤٢ روزگی از طریق جابجایی گردن (cervical dislocation) کشته شدند و از بافت روده کوچک نمونه‌های مورد نظر جمع آوری شده و به سرعت به تانک نیتروژن منتقل گردید. سپس این نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در فریزر منهای ۸۰ نگهداری شدند. استخراج RNA توسط کیت Total RNA Isolation Kit (شرکت دنازیست آسیا، مشهد، ایران) مطابق با دستور سازنده انجام شد و کیفیت RNA بر روی ژل آگارز نیز مورد بررسی قرار گرفت. سپس سنتز cDNA از آنها طبق دستور کار کیت Thermo fisher scientific صورت گرفت. به منظور سنجش بیان ژن IL-1β در گروه تیمار، واکنش qPCR با اواگرین انجام شد.

## نتایج و بحث

از نقطه نظر تغذیه، عملکرد خوب رشد باید بر اساس مکمل های غذایی مناسب باشد. از سویی، وضعیت ایمونولوژیک سیستم مخاطی روده میتواند روی فعالیت سیستم ایمنی عمومی تاثیرگذار باشد. در نتیجه وضعیت ایمونولوژیک خوب در ارتقای ایمنی

طیور، به ویژه ایمنی روده و جذب موثر مواد غذایی، مفید است (Li et al., 2018). تجویز خوراکی روزانه پروبیوتیک پدیوکوکوس اسید لاکتیسی از بدو تولد بمدت حدود ٤٠ روز به جوجه های گوشتی می تواند تاثیر به سزایی در تنظیم آماس روده ای آنها بگذارد. این موضوع با استفاده از روش qPCR و آنالیز مولکول مادر آماس یعنی IL-1β در سطح mRNA مشاهده شد (رجوع به شکل ١). همچنین در طول دوره پرورش این پروبیوتیک روی سایر فاکتور های رشد و سلامتی جوجه‌ها تاثیر بسیار مفیدی به جا گذاشت (نتایج در اینجا نیامده است).




شکل ١– اثر پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی (Pa) بر بیان ژن IL-1β.

**Figure 1-effect of *Pediococcus acidilactici* on IL-1β gene expression**

با توجه به تأثیر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیسی روی سطح بیان ژن IL-1β در روده ی کوچک جوجه‌ها به نظر می‌رسد این پروبیوتیک موجب کاهش التهاب و آماس روده ای در جوجه‌های گوشتی گردد.

**تقدیر و تشکر**: این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد صورت پذیرفته است (طرح پژوهشی شماره ٤٠٤١٦).

**References**

1. Apata, D. (2008). Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of Lactobacillus bulgaricus. Journal of the Science of Food and Agriculture, 88(7), 1253-1258 .
2. Awad, W., Böhm, J., Razzazi-Fazeli, E., Ghareeb, K., & Zentek, J. (2006). Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens. Poultry Science, 85(6), 974-979.
3. Brisbin, J. T., Zhou, H., Gong, J., Sabour, P., Akbari, M. R., Haghighi, H. R., . . . Sharif, S. (2008). Gene expression profiling of chicken lymphoid cells after treatment with *Lactobacillus acidophilus* cellular components. Developmental & Comparative Immunology, 32(5), 563-574.
4. Chen, S., Cheng, A., & Wang, M. (2013). Innate sensing of viruses by pattern recognition receptors in birds. Veterinary Research, 44, 82.
5. Edens, F. (2003). An alternative for antibiotic se in poultry: probiotics. Brazilian Journal of Poultry Science, 5(2), 75-97.
6. Guillot, J. F. (1998). Les probiotiques en alimentation animale. Cahiers Agricultures, 7(1), 49-54.
7. Havenaar, R., & Spanhaak, S. (1994). Probiotics from an immunological point of view. Current Opinion in Biotechnology, 5(3), 320-325.
8. Hotel, A., & Cordoba, A. (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Prevention, 5(1), 1-10.

9. Jeong, J. S., & Kim, I. H. (2014). Effect of astaxanthin produced by Phaffia rhodozyma on growth performance, meat quality, and fecal noxious gas emission in broilers. Poultry Science, PS3847.
10. Kabir, S. (2009). The role of probiotics in the poultry industry. International Journal of Molecular Sciences, 10(8), 3531-3546.
11. Lee, K.-W., Kim, D. K., Lillehoj, H. S., Jang, S. I., & Lee, S.-H. (2015). Immune modulation by Bacillus subtilis-based direct-fed microbials in commercial broiler chickens. Animal Feed Science and Technology, 200, 76-85.
12. Li, Y., Lei, X., Yin, Z., Guo, W., Wu, S., & Yang, X. (2018). Transgenerational effects of paternal dietary Astragalus polysaccharides on spleen immunity of broilers. International Journal of Biological Macromolecules, 115, 90-97.
13. Nava, G., Bielke, L., Callaway, T., & Castaneda, M. (2005). Probiotic alternatives to reduce gastrointestinal infections: the poultry experience. Animal Health Research Reviews, 6(01), 105-118.
14. Ng, S., Hart, A., Kamm, M., Stagg, A., & Knight, S. C. (2008). Mechanisms of action of probiotics: recent advances. Inflammatory Bowel Diseases, 15(2), 300-310.
15. Yin, Y., Lei, F., Zhu, L., Li, S., Wu, Z., Zhang, R., . . . Wang, X. (2010). Exposure of different bacterial inocula to newborn chicken affects gut microbiota development and ileum gene expression. The ISME Journal, 4(3), 367-376.

# The effect of the probiotic, *Pediococcus acidilactici*, on the intestinal inflammatory response in broiler chicks

**Maryam Lotfi Gharaie[1], Dr Hamid Reza Kazerani[2], Dr Jalil Mehrzad[3]**

1- MSc student of Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2- Associate professor, Departmetn of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3- Associate professor, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

**Abstract**

The helpful gastrointestinal microbiota may exert beneficial effects on the immune system and the performace of the animals. Accordingly, there has been great attention towards the use of probiotic supplements in poultry diet during recent decades. This study aimed to investigate the effect of *Pediococcus acidilactici* on the immune system of broiler chicks. In this research, the level of expression of interleukin-1β (IL-1β), as one of the most important markers of animal immunity, was investigated. Two groups of chicks were studied: the control group received a diet with no probiotic. The test grop, however, received a probiotic, *Pediococcus acidilactici*, as a supplement. Each group contained 6 replicates and each replicate was composed of 40 broiler chicks. At the end of experimental period (age 42d), 6 chicks out of each group were randomly selected for the evaluation of IL-1β gene expression via RT-PCR method. The expression of IL-1β was significantly lower in the test group compared to the control. This study shows the probiotic bacteria, *Pediococcus acidilactici*, may effectively modulate the inflammatory response in broiler chicks.

**Keyword: probiotic, broiler chick, *Pediococcus acidilactici*, intestinal inflammation, interleukin 1-β.**